



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

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN) (11)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ



1-0042964

(51)^{2020.01} C07C 235/28; C07C 231/02; A61K 8/68; (13) B
A61Q 19/00

(21) 1-2020-02264

(22) 22/11/2017

(86) PCT/KR2017/013381 22/11/2017

(87) WO 2019/074158 A1 18/04/2019

(30) 10-2017- 0131556 11/10/2017 KR

(45) 27/01/2025 442

(43) 25/06/2020 387

(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); JEON, Seong Hyeon (KR); LEE, Jae Young (KR); LEE, Hye Ja (KR); KWON, Bo kyung (KR).

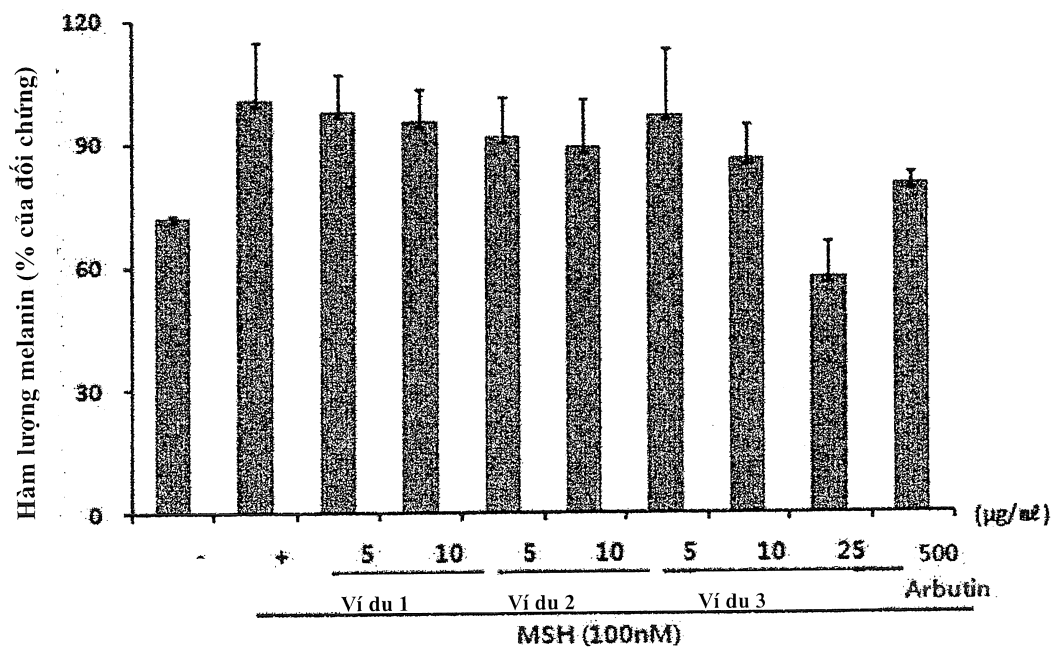
(74) Công ty TNHH Sở hữu trí tuệ Trần & Trần (TRAN & TRAN CO., LTD.)

(54) HỢP CHẤT XERAMIT GIẢ VÀ CHẾ PHẨM MỸ PHẨM CHỨA NÓ

(21) 1-2020-02264

(57) Sáng chế đề cập đến hợp chất xeromit giả và chế phẩm mỹ phẩm chứa hợp chất này. Hợp chất xeromit giả theo sáng chế có các tác dụng chống oxy hóa, kháng viêm, làm trắng da và làm ẩm. Ngoài ra, hợp chất xeromit giả theo sáng chế có thể được tổng hợp theo cách đơn giản và có lợi về mặt kinh tế và không có các vấn đề liên quan đến việc bào chế các chế phẩm mỹ phẩm do độ ưa nước thấp gây ra, do đó trở nên phù hợp với việc sử dụng làm mỹ phẩm.

[Fig.4]



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến hợp chất xeromit giả và việc sử dụng hợp chất này.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Da thực hiện chức năng ngăn sự thoát hơi ẩm và điều hòa nhiệt độ cơ thể của chúng ta và thực hiện các chức năng cảm giác và miễn dịch trong cơ thể của chúng ta. Cụ thể là, lớp sừng của da đóng vai trò là màng ngăn bảo vệ đối với các kích thích từ bên ngoài và sự xâm nhập của chất lạ. Da khỏe mạnh có bề mặt mịn và sáng, có tính đàn hồi, và tạo ra cảm giác về độ ẩm. Hàm lượng ẩm vốn có của da là yếu tố quan trọng nhất để quyết định kết cấu của da. Độ đàn hồi và các cảm giác về độ mềm và độ ẩm của da được duy trì bởi sự có mặt của độ ẩm trong lớp sừng của biểu bì, lớp ngoài cùng của da. Hàm lượng ẩm của lớp sừng được quyết định bởi màng bã nhờn, hỗn hợp lipit được tạo ra từ biểu bì, và bởi yếu tố làm ẩm tự nhiên (Natural Moisturizing Factor, viết tắt là NMF), hợp phần tan trong nước có mặt trong lớp sừng. Sự bay hơi độ ẩm ra khỏi biểu bì được mô tả bởi chức năng duy trì độ ẩm của các xeromit được tìm thấy trong các lipit gian bào. Được báo cáo rằng lớp sừng mất đi chức năng màng ngăn bảo vệ của nó ở nồng độ giảm của các xeromit trong da, gây ra các triệu chứng ở da, ví dụ, bệnh viêm da cơ địa và bệnh vẩy nến ((a) Fulmer amp; Kramer, *J. Invest. Derm.* 1986, 86, 598-602. (b) Tupker R. A. *et al.*, *Acta Derm. Venereol.* Stockh, 1990, 70, 1-5.). Ngoài ra, khi lượng các xeromit bị giảm, da có xu hướng trở nên khô và bề mặt da mất đi chức năng bảo vệ, dẫn đến kết quả là chất lạ

để dàng đi vào da và các bệnh nhiễm khuẩn thứ phát của da bị gây ra, dẫn đến sự thải bỏ da. Cụ thể là, chất đi vào khiến cho các xytokin được giải phóng ra khỏi các tế bào keratin, các tế bào Langerhans, và các tế bào melanin ở chân bì nông, dẫn đến các bệnh nhiễm khuẩn. Do đó, việc làm ẩm da có ý nghĩa quan trọng đối với việc duy trì và cải thiện các lớp bảo vệ da. Các hỗn hợp lipit sinh lý bao gồm các hợp chất xeramit được báo cáo là thúc đẩy sự phục hồi của chức năng lớp bảo vệ da bị tổn hại so với các chất làm ẩm thông thường. Do đó, vẫn có nhu cầu liên tục đối với các hỗn hợp lipit sinh lý như vậy. Cụ thể là, một số thử nghiệm lâm sàng bộc lộ rằng các hỗn hợp lipit sinh lý biểu hiện các tác dụng làm giảm nhẹ triệu chứng ở các bệnh nhân mắc bệnh viêm da cơ địa, tương tự với các chế phẩm steroid dùng bên ngoài có hiệu lực từ trung bình đến cao.

Vì tầm quan trọng của các xeramit đã được thừa nhận rộng rãi, nhiều công ty mỹ phẩm và dược phẩm đã tiến hành nghiên cứu về sự phát triển các sản phẩm các sản phẩm xeramit. Tuy nhiên, các xeramit tự nhiên lại khó chiết xuất và tinh chế, nên chúng có tính bất lợi về mặt kinh tế. Do đó, các công ty hàng đầu đã thực hiện nhiều nỗ lực để phát triển các xeramit giả mà tương tự về mặt cấu trúc với các xeramit được tìm thấy trong da và có thể tạo ra các tác dụng về mặt chức năng giống với các tác dụng về mặt chức năng của các xeramit tự nhiên.

Một số xeramit giả đã được phát triển bởi các công ty mỹ phẩm ở Hàn Quốc, kể cả Amorepacific Corp. (Công bố sáng chế Hàn Quốc số 2017-0076561, “tài liệu sáng chế 1”) và Coreana Cosmetics Co., Ltd. (Bằng độc quyền sáng chế Hàn Quốc số 10-0539965, “tài

liệu sáng chế 2”). Hai tài liệu sáng chế này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn toàn bộ. Tuy nhiên, các khó khăn trong việc điều chế các xeromit giả gây ra chi phí đáng kể, nên làm hạn chế việc sử dụng thông thường của chúng. Cũng đã biết rằng các hợp chất xeromit tự nhiên và các hợp chất xeromit giả hiện có bán trên thị trường có độ ưa nước và độ hòa tan thấp, khiến cho khó tạo ra các sản phẩm có độ tinh khiết cao.

Do đó, vẫn liên tục có nhu cầu đối với việc nghiên cứu nhằm mục đích phát triển các xeromit giả có các tính chất vật lý tốt hơn mà có thể được tạo ra theo cách đơn giản và có lợi về mặt kinh tế.

Các tài liệu đã biết

Các tài liệu sáng chế

Tài liệu sáng chế 1: KR10-2017-0076561 A (04.07.2017)

Tài liệu sáng chế 2: KR10-0539965 B1 (10.01.2006)

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

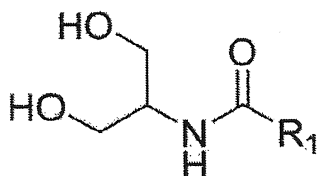
Vấn đề cần giải quyết bởi sáng chế

Sáng chế dự định đề xuất hợp chất xeromit giả tổng hợp mới mà có thể thúc đẩy hoạt tính sinh học để tăng cường độ đàn hồi của da và gây ra các tác dụng kháng viêm và làm trắng trong khi tránh được các khó khăn gặp phải khi bào chế các hợp chất xeromit tự nhiên do các vấn đề về tính kinh tế và độ ưa nước thấp của chúng.

Biện pháp giải quyết vấn đề

Sáng chế đã được thực hiện với nỗ lực giải quyết các vấn đề của lĩnh vực kỹ thuật đã biết và đề xuất hợp chất xeromit giả được thể hiện bởi Công thức 1:

[Công thức 1]

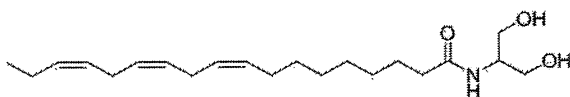


trong đó R₁ là gốc axit béo chưa no C₁₃-C₂₁ không chứa nhóm carboxyl.

Axit béo chưa no là axit myristoleic, axit palmitoleic, axit sapienic, axit oleic, axit elaidic, axit vacxenic, axit linoleic, axit linoelaidic, axit linolenic, axit arachidonic, axit eicosapentaenoic, axit eruxic hoặc axit docosaheptaenoic.

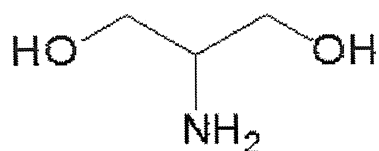
Hợp chất xeromit giả có thể được thể hiện bởi Công thức 2:

[Công thức 2]



Sáng chế cũng đề xuất phương pháp điều chế hợp chất xeromit giả bao gồm bước cho serinol được thể hiện bởi Công thức 3:

[Công thức 3]



phản ứng với halogenua của axit béo chưa no.

Sáng chế cũng đề xuất chế phẩm mỹ phẩm chống oxy hóa chứa hợp chất xeromit

giả làm thành phần hoạt tính.

Sáng chế cũng đề xuất chế phẩm mỹ phẩm kháng viêm chứa hợp chất xeromit giả làm thành phần hoạt tính.

Sáng chế cũng đề xuất chế phẩm mỹ phẩm làm trắng da chứa hợp chất xeromit giả làm thành phần hoạt tính.

Sáng chế cũng đề xuất chế phẩm mỹ phẩm làm ẩm da chứa hợp chất xeromit giả làm thành phần hoạt tính.

Hiệu quả của sáng chế

Hợp chất xeromit giả theo sáng chế có các tác dụng chống oxy hóa, kháng viêm, làm trắng da và làm ẩm. Ngoài ra, hợp chất xeromit giả theo sáng chế có thể được tổng hợp theo cách đơn giản và có lợi về mặt kinh tế và không có các vấn đề liên quan đến việc bào chế các chế phẩm mỹ phẩm do độ ưa nước thấp gây ra, do đó trở nên phù hợp với việc sử dụng trong các ứng dụng mỹ phẩm.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1 là đồ thị thể hiện hoạt tính ức chế của các hợp chất xeromit giả được điều chế trong Ví dụ 1-3 đối với sự sinh ra nitơ oxit (NO).

Fig.2 là đồ thị thể hiện hoạt tính ức chế của các hợp chất xeromit giả được điều chế trong Ví dụ 1-3 đối với sự sinh ra IL-6.

Fig.3 là đồ thị thể hiện hoạt tính ức chế của các hợp chất xeromit giả được điều chế

trong Ví dụ 1-3 đối với sự sinh ra PGE_2 .

Fig.4 là đồ thị thể hiện hoạt tính ức chế của các hợp chất xeramit giả được điều chế trong Ví dụ 1-3 đối với sự sinh ra melanin.

Fig.5 thể hiện các hình ảnh về các nhóm thí nghiệm và đối chứng được sử dụng để nghiên cứu tác dụng ức chế của các hợp chất xeramit giả được điều chế trong Ví dụ 1-3 đối với sự sinh ra melanin.

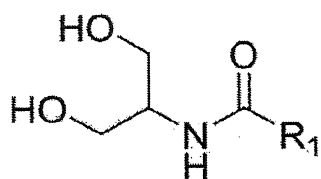
Mô tả chi tiết sáng chế

Sáng chế sẽ được mô tả chi tiết.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề cập đến hợp chất xeramit giả được thể hiện bởi

Công thức 1:

[Công thức 1]

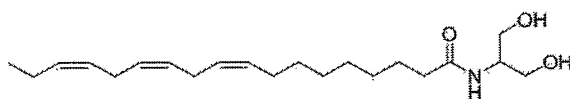


trong đó R_1 là gốc axit béo chưa no $\text{C}_{13}\text{-C}_{21}$ không chứa nhóm carboxyl.

Axit béo chưa no có thể là axit myristoleic, axit palmitoleic, axit sapienic, axit oleic, axit elaidic, axit vacxenic, axit linoleic, axit linoelaidic, axit linolenic, axit arachidonic, axit eicosapentaenoic, axit eruxic hoặc axit docosaheptaenoic.

Cụ thể là, axit béo chưa no là axit α -linolenic. Trong trường hợp này, hợp chất xeramit giả được thể hiện bởi Công thức 2:

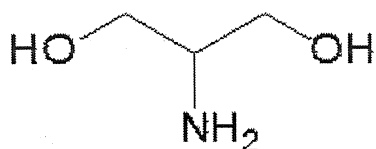
[Công thức 2]



Hợp chất có Công thức 2 được ưu tiên hơn vì nó có các tác dụng chống oxy hóa, kháng viêm và làm ẩm da tốt hơn so với hợp chất chứa gốc axit béo chưa no bất kỳ khác, và các chi tiết hơn nữa về hợp chất này có thể được tìm thấy trong phần Ví dụ thực hiện sáng chế sau đây.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến phương pháp điều chế hợp chất xeromit giả bao gồm bước cho serinol (2-amino-1,3-propanediol, số đăng ký CAS 534-03-2) được thể hiện bởi Công thức 3:

[Công thức 3]



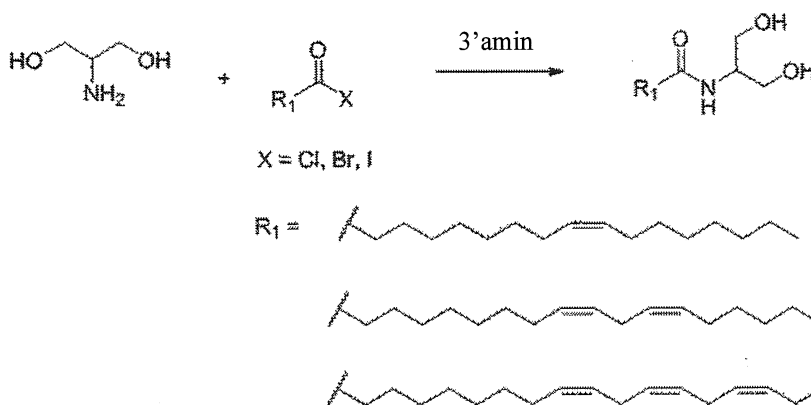
phản ứng với halogenua của axit béo chưa no.

Thiết kế cơ bản cho hợp chất xeromit giả theo sáng chế được dựa trên cơ sở các chất bất chước sinh học sử dụng serinol thay vì sphingosin (phytosphingosin) trong con đường tổng hợp sinh học của các xeromit tự nhiên.

Theo phương pháp theo sáng chế, serinol dùng làm nguyên liệu đầu được cho phản ứng với axit béo chưa no, ví dụ, axit oleic, axit linoleic hoặc axit linolenic. Khi axit béo chưa no là axit oleic, sản phẩm cuối là *N*-(1,3-dihydroxypropan-2-yl)oleamit. Khi axit béo chưa no là axit linoleic, sản phẩm cuối là (9*Z*,12*Z*)-*N*-(1,3-dihydroxypropan-2-yl)octadeca-

9,12-dienamit. Khi axit béo chưa no là axit linolenic, sản phẩm cuối là (9Z,12Z,15Z)-N-(1,3-dihydroxypropan-2-yl)octadeca-9,12,15-trienamit. Chi tiết về việc điều chế các sản phẩm cuối có thể được hiểu rõ khi tham khảo Sơ đồ 1:

[Sơ đồ 1]



Axit béo chưa no có thể là, ví dụ, axit myristoleic, axit palmitoleic, axit sapienic, axit oleic, axit elaidic, axit vacxenic, axit linoleic, axit linoelaidic, axit linolenic, axit arachidonic, axit eicosapentaenoic, axit eruxic hoặc axit docosaheptaenoic.

Các axit béo chưa no không phải là axit béo chưa no được thể hiện trên Sơ đồ 1 có thể được điều chế cơ bản dựa trên Sơ đồ 1 vì chúng chỉ khác về số lượng các nguyên tử cacbon và các liên kết đôi trong đó.

Halogenua của axit béo chưa no dùng để chỉ dẫn xuất axit béo chưa no được điều chế bằng cách thay thế gốc -OH của nhóm carboxyl trong axit béo chưa no tương ứng bằng nguyên tố halogen. Flo, clo, brom, iot hoặc astatin có thể được lấy làm ví dụ là halogen. Halogenua của axit béo chưa no có thể được điều chế bằng cách halogen hóa axit béo chưa no tương ứng. Các phương pháp tổng hợp đối với các halogenua của axit béo chưa no đã được người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này biết rõ và nên việc mô tả chi tiết

chúng được bỏ qua.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề cập đến chế phẩm mỹ phẩm chứa hợp chất xeromit giả làm thành phần hoạt tính.

Cụ thể là, phạm vi bảo hộ của sáng chế không bị giới hạn ở việc tổng hợp hợp chất xeromit giả và phương pháp điều chế hợp chất xeromit giả và có thể được mở rộng tới việc sử dụng hợp chất xeromit giả cho các ứng dụng mỹ phẩm do hiệu lực và tác dụng chống oxy hóa, kháng viêm, làm trắng da, và làm ẩm da của hợp chất xeromit giả. Do đó, sáng chế có ý nghĩa lớn về mặt kỹ thuật ở chỗ hợp chất xeromit giả có thể được sử dụng cho các ứng dụng mỹ phẩm do các tác dụng chống oxy hóa, kháng viêm, làm trắng da, và làm ẩm da của nó, không phụ thuộc vào việc nó có là hợp chất mới hay không. Nội dung chi tiết hơn nữa có thể được tìm thấy trong phần Ví dụ thực hiện sáng chế sau đây.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “chống oxy hóa” dùng để chỉ sự ức chế hoặc làm giảm nhẹ ứng suất oxy hóa, thuật ngữ “kháng viêm” dùng để chỉ sự ức chế hoặc làm giảm sự sinh ra các chất kháng viêm, thuật ngữ “làm trắng da” dùng để chỉ sự ức chế hoặc làm giảm sự sinh ra các sắc tố melanin trên da, và thuật ngữ “\ việc làm ẩm da” dùng để chỉ sự hỗ trợ hoặc góp phần vào việc duy trì độ ẩm trong da.

Chế phẩm mỹ phẩm theo sáng chế có thể được tạo hỗn hợp với một hoặc nhiều hợp phần đã được người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này biết rõ. Ví dụ về các hợp phần như vậy bao gồm dầu và chất béo, chất làm ẩm, chất làm mềm, chất hoạt động bề mặt, chất tạo màu hữu cơ và vô cơ, bột hữu cơ, chất hấp thụ tử ngoại (Ultra Violet, viết tắt

là UV), chất bảo quản, chất diệt khuẩn, chất chống oxy hóa, chất chiết thực vật, chất điều chỉnh độ pH, rượu, chất nhuộm màu, nước hoa, chất thúc đẩy tuần hoàn máu, chất truyền cảm giác lạnh, chất chống chảy mồ hôi, rượu tinh khiết, và vitamin (cụ thể là, vitamin C và tocopherol).

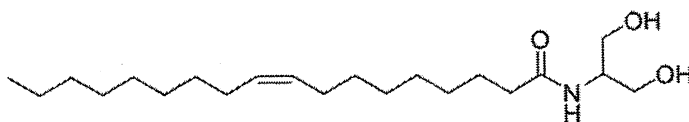
Chế phẩm mỹ phẩm theo sáng chế có thể có dạng dung dịch, nhũ tương hoặc hỗn hợp nhót. Chế phẩm mỹ phẩm theo sáng chế có thể được điều chế thành các dạng bào chế đã biết trong lĩnh vực, ví dụ, nhũ tương, kem, thuốc xức, thuốc gói, kem nền, tinh chất, và mỹ phẩm dùng cho tóc.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sáng chế sẽ được giải thích chi tiết hơn dựa vào các ví dụ sau đây, kể cả các ví dụ thực nghiệm. Tuy nhiên, lưu ý rằng các ví dụ này không được dự định làm giới hạn phạm vi bảo hộ của sáng chế.

Các ví dụ

Ví dụ 1: Điều chế *N*-(1,3-dihydroxypropan-2-yl)oleamit



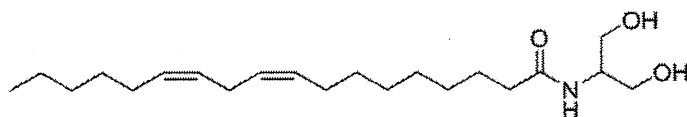
N-(1,3-dihydroxypropan-2-yl)oleamit
 Công thức hóa học: $C_{21}H_{41}NO_3$
 Trọng lượng phân tử: 355,56

25,51 g serinol và 47 ml triethylamin được cho vào bình phản ứng, và 100 ml etanol và 250 ml diclometan được thêm vào đó. Sau đó, nhiệt độ được giảm đến $\sim 5^{\circ}\text{C}$. Dung dịch

gồm 104 ml oleyl clorua và 100 ml diclometan được thêm từng giọt vào bình phản ứng. Dung dịch thu được được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 6 giờ. Dung dịch phản ứng được cô đặc ở áp suất giảm. Phần cô đặc được hòa tan trong 500 ml diclometan và được rửa bằng dung dịch axit clohydric 0,5N trong nước, dung dịch natri bicacbonat bão hòa trong nước, và nước. Lớp hữu cơ được làm khô bằng magie sulfat khan, lọc, cô đặc ở áp suất giảm để loại bỏ các dung môi hữu cơ, và kết tinh lại để tạo ra 83 g (hiệu suất 83%) hợp chất nêu ở đề mục ở dạng chất rắn màu vàng nhạt.

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7,41 (d, $J = 8$ Hz, 1H), 5,34-5,31 (m, 2H), 4,57-4,54 (m, 2H), 3,71-3,67 (m, 1H), 3,39-3,36 (m, 4H), 2,06 (t, $J = 7,4$ Hz, 2H), 1,99-1,98 (m, 4H), 1,48-1,45 (m, 2H), 1,29-1,24 (m, 20H), 0,86 (t, $J = 6,2$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 172,03, 129,60, 60,19, 52,70, 40,13, 35,39, 31,25, 29,10, 29,06, 28,80, 28,68, 28,65, 28,55, 26,59, 26,54, 25,30, 22,06, 13,92; FT-IR (rõ ràng) 3301 cm^{-1} , 2925 cm^{-1} , 2852 cm^{-1} , 1641 cm^{-1} , 1549 cm^{-1} , 1468 cm^{-1} , 1386 cm^{-1} , 1248 cm^{-1} , 1073 cm^{-1} , 1059 cm^{-1} ; MS(ESI): $m/z = 378,30$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

Ví dụ 2: Điều chế (9Z,12Z)-N-(1,3-dihydroxypropan-2-yl)octadeca-9,12-dienamit



(9Z,12Z)-N-(1,3-dihydroxypropan-2-yl)octadeca-9,12-dienamit

Công thức hóa học: $\text{C}_{21}\text{H}_{39}\text{NO}_3$

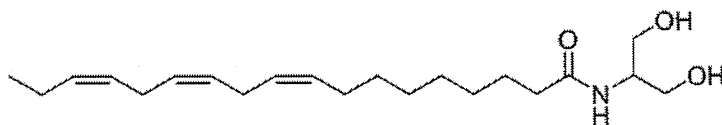
Trọng lượng phân tử: 353,55

0,9 g serinol và 2 ml triethylamin được cho vào bình phản ứng, và 3 ml metanol và

20 ml diclometan được thêm vào đó. Sau đó, nhiệt độ được giảm đến $\sim 5^{\circ}\text{C}$. Dung dịch gồm 3,0 g linoleoyl clorua và 20 ml diclometan được thêm từng giọt vào bình phản ứng. Dung dịch thu được được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 6 giờ. Dung dịch phản ứng được cô đặc ở áp suất giảm. Phần cô đặc được hòa tan trong 30 ml diclometan và được rửa bằng dung dịch axit clohydric 0,5N trong nước, dung dịch natri bicacbonat bão hòa trong nước, và nước. Lớp hữu cơ được làm khô bằng magie sulfat khan, lọc, cô đặc ở áp suất giảm, và kết tinh lại để tạo ra 2,8 g (hiệu suất 80%) hợp chất nêu ở đề mục ở dạng chất rắn màu vàng nhạt.

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7,41 (d, $J = 8$ Hz, 1H), 5,36-5,30 (m, 4H), 4,57-4,54 (m, 2H), 3,70-3,68 (m, 1H), 3,39-3,37 (m, 4H), 2,74 (t, $J = 6,2$ Hz, 2H), 2,08-1,99 (m, 6H), 1,48-1,45 (m, 2H), 1,32-1,25 (m, 16H), 0,88-0,86 (m, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 172,03, 129,70, 127,71, 60,19, 52,70, 40,13, 35,39, 30,87, 29,02, 28,70, 28,64, 28,58, 26,62, 26,58, 25,31, 25,18, 21,94, 13,89; FT-IR (rõ ràng) 3301 cm^{-1} , 2927 cm^{-1} , 2853 cm^{-1} , 1641 cm^{-1} , 1548 cm^{-1} , 1467 cm^{-1} , 1073 cm^{-1} , 1058 cm^{-1} ; MS(ESI): $m/z = 376,28$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

Ví dụ 3: Điều chế (9Z,12Z,15Z)-N-(1,3-dihydroxypropan-2-yl)octadeca-9,12,15-trienamit



(9Z,12Z,15Z)-N-(1,3-dihydroxypropan-2-yl)octadeca-9,12,15-trienamit
 Công thức hóa học: $\text{C}_{21}\text{H}_{37}\text{NO}_3$
 Trọng lượng phân tử: 351,53

0,9 g serinol và 2 ml triethylamin được cho vào bình phản ứng, và 3 ml metanol và 20 ml diclometan được thêm vào đó. Sau đó, nhiệt độ được giảm đến $\sim 5^{\circ}\text{C}$. Dung dịch gồm 3,0 g α -linoleoyl clorua và 20 ml diclometan được thêm từng giọt vào bình phản ứng. Dung dịch thu được được khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 6 giờ. Dung dịch phản ứng được cô đặc ở áp suất giảm. Phần cô đặc được hòa tan trong 30 ml diclometan và được rửa bằng dung dịch axit clohydric 0,5N trong nước, dung dịch natri bicacbonat bão hòa trong nước, và nước. Lớp hữu cơ được làm khô bằng magie sulfat khan, lọc, cô đặc ở áp suất giảm, và kết tinh lại để tạo ra 2,9 g (hiệu suất 82%) hợp chất nêu ở đề mục ở dạng chất rắn màu vàng nhạt.

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7,41 (d, $J = 8$ Hz, 1H), 5,36-5,30 (m, 6H), 4,57-4,54 (m, 2H), 3,70-3,69 (m, 1H), 3,38-3,32 (m, 4H), 2,79-2,37 (m, 4H), 2,08-2,02 (m, 6H), 1,48-1,45 (m, 2H), 1,30-1,26 (m, 6H), 0,93 (t, $J = 7,6$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ 172,53, 131,95, 130,37, 130,19, 128,39, 128,38, 128,20, 128,00, 127,44, 60,67, 53,18, 35,88, 31,36, 29,51, 29,18, 29,14, 29,06, 27,11, 27,06, 25,79, 25,66, 25,57, 22,44, 20,50, 14,58, 14,39; FT-IR (rõ ràng) 3300 cm^{-1} , 2928 cm^{-1} , 2853 cm^{-1} , 1641 cm^{-1} , 1548 cm^{-1} , 1467 cm^{-1} , 1424 cm^{-1} , 1387 cm^{-1} , 1248 cm^{-1} , 1073 cm^{-1} , 1058 cm^{-1} ; MS(ESI): $m/z = 374,27$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

Ví dụ 4 đến 6 - Bào chế các chế phẩm mỹ phẩm

Các chế phẩm mỹ phẩm được bào chế như được thể hiện ở Bảng 1. Từng hợp chất

trong số các hợp chất xeromit giả thu được từ Ví dụ 1-3 được hòa tan đồng đều trong toàn bộ chế phẩm tương ứng và không gây ra vấn đề nào khi được bào chế.

[Bảng 1]

Các hợp phần	Ví dụ so sánh	Ví dụ		
	1	4	5	6
Ví dụ 1	-	0,25	-	-
Ví dụ 2	-	-	0,25	-
Ví dụ 3	-	-	-	0,25
Butylen glycol	20,00	20,00	20,00	20,00
Glyxeryl stearat	4,44	4,44	4,44	4,44
Dicaprylyl carbonat	4,44	4,44	4,44	4,44
Các cocoglyxerit	4,44	4,44	4,44	4,44
Glyxerin	2,67	2,67	2,67	2,67
1,2-hexanediol	1,07	1,07	1,07	1,07
Rượu xetearylic	0,89	0,89	0,89	0,89
Phenoxyetanol	0,27	0,27	0,27	0,27
Tocopheryl axetat	0,09	0,09	0,09	0,09
Natri polyacrylat	0,09	0,09	0,09	0,09
Nước	Thêm vào cho đủ 100			

Các ví dụ thực nghiệm

Ví dụ thực nghiệm 1: Đánh giá hoạt tính ức chế của các hợp chất xeromit giả đối với sự sinh ra nitơ oxit (NO)

Hoạt tính ức chế của các hợp chất xeromit giả thu được từ Ví dụ 1-3 đối với sự sinh ra nitơ oxit (NO) được gây ra bởi lipopolysacarit (LPS) trong các tế bào đại thực bào được

ngiên cứu. 2-amino-4-methylpyridin (10 μ M) được sử dụng làm mẫu đối chứng dương. Trước tiên, NO syntaza được biểu hiện trong các tế bào đại thực bào RAW 264.7 được xử lý bằng LPS và lượng NO sinh ra được đo bằng phương pháp Griess. Chất phản ứng Griess (1% sulfanylamin, 0,1% *N*-(1-naphtyl)-etylendiamin dihydroclorua, 2,5% H_3PO_4) oxy hóa NO thành NO_2 . Nồng độ NO_2 được xác định từ đường chuẩn của NaNO_2 bằng cách đo độ hấp thụ ở bước sóng 540 nm. Cụ thể là, các tế bào đại thực bào RAW 264.7 được nuôi cấy trong môi trường DMEM cho đến khi thu được mật độ 1×10^5 tế bào/ml. Các tế bào được cho vào đĩa 48 lỗ và nuôi cấy trong 18 giờ. Sau khi các tế bào đã bám dính vào các lỗ, 20 μ l LPS (1 μ g/ml) và 100 μ l mỗi mẫu trong số các mẫu, kể cả 2-amino-4-methylpyridin ở dạng mẫu đối chứng dương, được thêm vào mỗi lỗ. Các tế bào được nuôi cấy trong 20 giờ và lượng NO sinh ra trong môi trường nuôi cấy được xác định bằng cách sử dụng chất phản ứng Griess.

Các kết quả được thể hiện trong Bảng 2 và trên Fig.1.

[Bảng 2]

		Khả năng sống của tế bào (%)
Ví dụ 1	5,0	100,99
	10,0	102,08
	25,0	102,14
	50,0	102,22
Ví dụ 2	5,0	100,35
	10,0	100,24
	25,0	100,09

	50,0	93,80
Ví dụ 3	5,0	95,72
	10,0	101,01
	25,0	96,58
	50,0	96,64
2-amino-4-methylpyridin	10 μ M	103,13

Khả năng sống của tế bào ở các tế bào đại thực bào Raw264.7 được đánh giá bởi thử nghiệm MTT để đánh giá độ gây độc tế bào của các hợp chất xeromit giả. Khi khả năng sống của tế bào là $\geq 80\%$ bởi thử nghiệm MTT, thì hợp chất xeromit giả được cho là không có tính độc tế bào. Khả năng sống của tế bào với các hợp chất xeromit giả là $\geq 95\%$ ở các nồng độ nằm trong khoảng 1-50 μ g/ml, chỉ báo rằng không có tính độc đối với các đại thực bào Raw264.7 (Bảng 1). Thử nghiệm khác đối với các tác dụng kháng viêm của các hợp chất xeromit giả được thực hiện ở các nồng độ nằm trong khoảng 1-50 μ g/ml.

Như có thể được thấy từ các kết quả ở Bảng 2 và trên Fig.1, hoạt tính ức chế của mỗi hợp chất trong số các hợp chất thu được từ Ví dụ 1-3 đối với sự sinh ra NO là thấp hơn so với hoạt tính của mẫu đối chứng dương 2-amino-4-methylpyridin nhưng lại được làm tăng theo cách phụ thuộc vào nồng độ.

Ví dụ thực nghiệm 2: Đánh giá hoạt tính ức chế của các hợp chất xeromit giả đối với sự sinh ra xytokin kháng viêm

Hoạt tính ức chế của các hợp chất xeromit giả thu được từ Ví dụ 1-3 đối với sự sinh ra IL-6 và PGE₂ được gây ra bởi lipopolysaccharit (LPS) trong các tế bào đại thực bào được

ngiên cứu. Dexametason ($10\text{ }\mu\text{M}$) được sử dụng làm mẫu đối chứng dương.

IL-6 và PGE_2 được sinh ra bởi một số hệ thống truyền tín hiệu nội bào được hoạt hóa bởi các chất kích thích như lipopolysaccharit (LPS) trong các tế bào đại thực bào. Khi được sinh ra quá mức, IL-6 và PGE_2 gây ra các đáp ứng viêm. Các hoạt tính kháng viêm của các hợp chất xeromit giả có thể được xác định bằng cách ức chế sự sinh ra quá mức IL-6 và PGE_2 bởi LPS. Các tế bào đại thực bào Raw264.7 được cho vào các đĩa 24 lỗ ở mật độ 3×10^5 tế bào/lỗ và nuôi cấy trong 24 giờ. Sau đó, các tế bào được xử lý bằng các nồng độ khác nhau của các mẫu và nuôi cấy trong 1 giờ. Mỗi lỗ được xử lý bằng LPS ở nồng độ $1\text{ }\mu\text{g/ml}$. Sau quá trình nuôi cấy 24 giờ, dịch nổi được thu gom và lượng IL-6 và PGE_2 sinh ra trong dịch nổi được đo.

Các kết quả được thể hiện trên Fig.2 và Fig.3.

Như có thể được thấy từ các kết quả trên Fig.2 và Fig.3, các hợp chất thu được từ Ví dụ 1-3 thể hiện các hoạt tính tương tự với mẫu đối chứng dương Dexametason và các hoạt tính ức chế phụ thuộc nồng độ đối với sự sinh ra IL-6 và PGE_2 .

Ví dụ thực nghiệm 3: Tác dụng ức chế của các hợp chất xeromit giả đối với sự sinh ra melanin

Tác dụng ức chế của các hợp chất thu được từ Ví dụ 1-3 đối với sự sinh ra melanin trong các tế bào được nghiên cứu (Chang và Chen, 2012).

Để dùng cho thực nghiệm tế bào, huyết thanh bào thai bò (fetal bovine serum, viết

tất là FBS) và môi trường Eagle cải biến của Dulbecco (Dulbecco's modified Eagle medium, viết tắt là DMEM) được mua từ Gibco (USA) và các tế bào u melanin B16F10 thu được từ chuột được mua từ Ngân hàng dòng tế bào Hàn quốc (Korean Cell Line Bank). Các tế bào được nuôi cấy trong môi trường DMEM (Gibco) được bổ sung 10% FBS (Gibco) và 1% chất kháng sinh-chất chống nấm (Gibco) trong tủ áp 5% CO₂ ở 37°C. Các tế bào được cấy chuyển mỗi 3-4 ngày. Các tế bào B16F10 nuôi cấy được tách ra bằng trypsin-EDTA 0,05%. 24 giờ sau khi các tế bào được cấy vào đĩa 24 lỗ ở cùng mật độ ($2,0 \times 10^4$ tế bào/lỗ), các tế bào được xử lý bằng α -MSH (100 nM) và mỗi thuốc thử nghiệm và được nuôi cấy trong 3 ngày. Các tế bào được xử lý bằng NaOH 1N và được để phản ứng trong 1 giờ để hòa tan hết melanin ra khỏi chúng. Độ hấp thụ được đo ở 405 nm để xác định lượng melanin. Arbutin (500 ppm) được sử dụng làm mẫu đối chứng dương. Các kết quả được thể hiện trên Fig.4 và Fig.5.

Như có thể được thấy từ các kết quả trên Fig.4 và Fig.5, hoạt tính của các hợp chất thu được từ Ví dụ 1-3 là tương tự hoặc cao hơn hoạt tính của mẫu đối chứng dương arbutin ở các nồng độ thấp. Các hợp chất thu được từ Ví dụ 1-3 thể hiện các hoạt tính ức chế phụ thuộc nồng độ đối với sự sinh ra melanin.

Ví dụ thực nghiệm 4: Khả năng làm ẩm da người già tăng của các hợp chất xeromit giả

Khả năng làm ẩm da của các thuốc xức được điều chế trong Ví dụ 4-6 và Ví dụ so sánh 1 được so sánh. Trước và 30 phút, 1 giờ, và 3 giờ sau khi bôi mỗi thuốc xức, các hàm

lượng ẩm ở da của 23 đàn ông và phụ nữ trưởng thành ở độ tuổi 20-50 được đo bằng cách sử dụng thiết bị Corneometer (Cutometer[®], Dual MPA580, Đức) ở các điều kiện nhiệt độ không đổi và độ ẩm không đổi (24°C, độ ẩm tương đối 40-50%). Đầu dò được áp vào bề mặt da và hàm lượng ẩm tại vị trí bề mặt được đo. Để có độ tin cậy cao hơn, phép đo được lặp lại ba lần và các trị số đo được được tính giá trị trung bình. Giá trị càng cao cho thấy sự có mặt của lượng ẩm càng lớn.

Các kết quả được thể hiện trong Bảng 3.

[Bảng 3]

	Hàm lượng ẩm ở da trước khi bôi (trung bình)	Hàm lượng ẩm ở da sau khi bôi (trung bình)	
		1 giờ sau khi bôi	3 giờ sau khi bôi
Ví dụ so sánh 1	28,9	43,9	41,8
Ví dụ 4	28,9	61,2	54,5
Ví dụ 5	28,9	60,1	57,4
Ví dụ 6	28,9	59,3	57,3

Các tính chất điện của lớp sừng thay đổi khi được hydrat hóa. Lớp sừng khô có độ dẫn điện thấp, và sự hydrat hóa làm gia tăng hằng số điện môi của lớp sừng, dẫn đến độ dẫn điện cao. Dựa trên sự việc là độ ẩm của da tỷ lệ với điện dung của da, thu được độ dẫn điện cao hơn ở da sau khi bôi mỗi thuốc xức trong số các thuốc xức thu được từ Ví dụ 4-6 so với trước khi bôi và sau khi bôi thuốc xức thu được từ Ví dụ so sánh 1 (xem Bảng 3), điều này chứng minh rằng các hợp chất xeromit giả thu được từ Ví dụ 1-3 là rất hữu hiệu

trong việc làm ẩm da.

Ví dụ thực nghiệm 5: Hàm lượng bã nhờn gia tăng của da

Sự gia tăng hàm lượng bã nhờn sau khi bôi các thuốc xúc thu được từ Ví dụ 4-6 và Ví dụ so sánh 1 được so sánh.

Các hàm lượng huyết thanh của da được đo bằng cách sử dụng thiết bị Sebumeter®SM815 (Cutometer®, Dual MPA580, Đức). Cụ thể là, đầu dò gắn với băng hấp thụ lipid trong mờ được ép nhẹ lên bề mặt da trong 30 giây sao cho băng hấp thụ lipid được đưa đến tiếp xúc với bề mặt da, và kết quả là, bã nhờn được hấp thụ vào băng hấp thụ lipid. Sau đó, đầu dò này được đẩy xuống tỷ vào thiết bị đo bã nhờn và hệ số truyền của nó được đo dựa trên độ phản xạ trắc quang. Phép đo được thực hiện một lần đối với bề mặt da. Hàm lượng bã nhờn được thể hiện bằng $\mu\text{g}/\text{cm}^2$.

Các kết quả được thể hiện trong Bảng 4.

[Bảng 4]

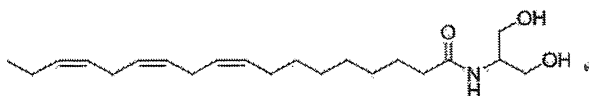
	Hàm lượng bã nhờn của da sau khi bôi (trung bình)	
	1 giờ sau khi bôi	3 giờ sau khi bôi
Ví dụ so sánh 1	68,6	44,3
Ví dụ 4	151,7	95,7
Ví dụ 5	165,5	91,1
Ví dụ 6	149,3	73,2

Các hàm lượng bã nhờn của da khi các thuốc xức thu được từ Ví dụ 4-6 được bôi nói chung cao hơn so với khi thuốc xức thu được từ Ví dụ so sánh 1 được bôi, điều này cho thấy rằng các hợp chất xeromit giả thu được từ Ví dụ 1-3 hỗ trợ làm ẩm da. Khả năng làm ẩm da của thuốc xức thu được từ Ví dụ 6 tương tự với khả năng của các thuốc xức thu được từ Ví dụ 4 và 5, trong khi hàm lượng bã nhờn của da sau khi bôi thuốc xức thu được từ Ví dụ 6 là tương đối thấp so với hàm lượng bã nhờn sau khi bôi các thuốc xức thu được từ Ví dụ 4 và 5.

YÊU CẦU BẢO HỘ

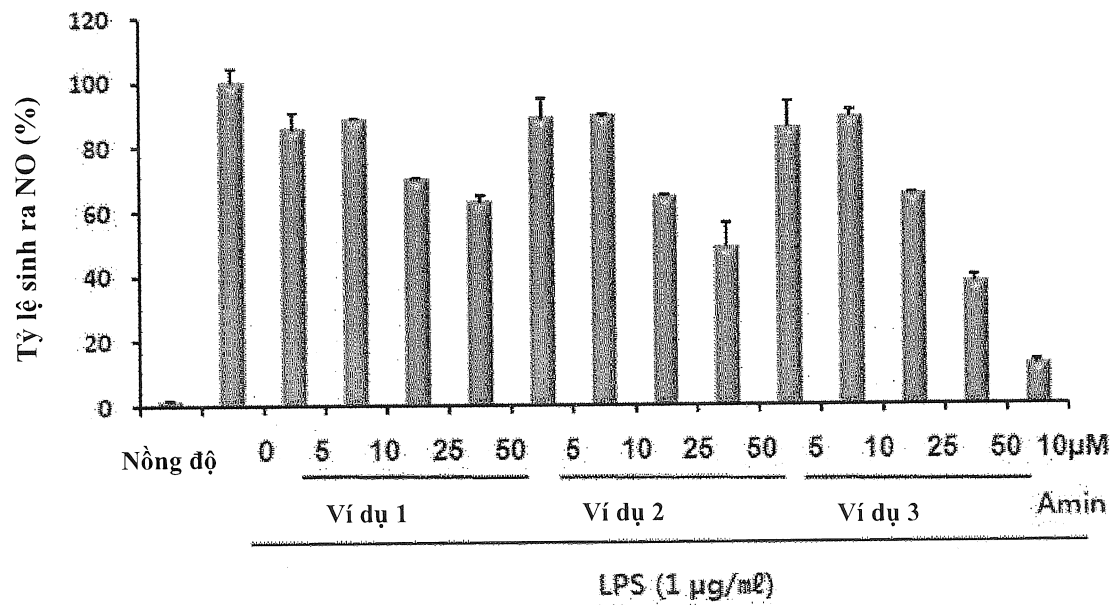
1. Hợp chất xeramit giả được thể hiện bởi Công thức 2:

[Công thức 2]

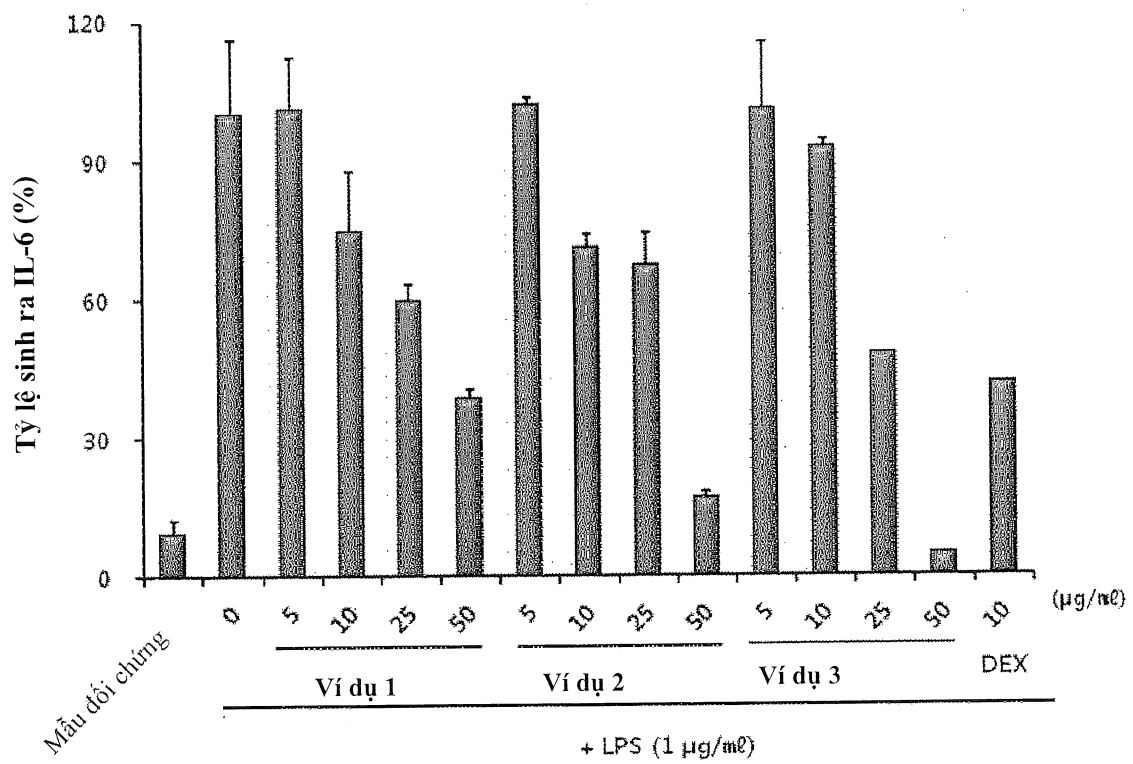


2. Chế phẩm mỹ phẩm chống oxy hóa bao gồm hợp chất xeramit giả theo điểm 1 làm thành phần hoạt tính.
3. Chế phẩm mỹ phẩm kháng viêm bao gồm hợp chất xeramit giả theo điểm 1 làm thành phần hoạt tính.
4. Chế phẩm mỹ phẩm làm trắng da bao gồm hợp chất xeramit giả theo điểm 1 làm thành phần hoạt tính.
5. Chế phẩm mỹ phẩm làm ẩm da bao gồm hợp chất xeramit giả theo điểm 1 làm thành phần hoạt tính.

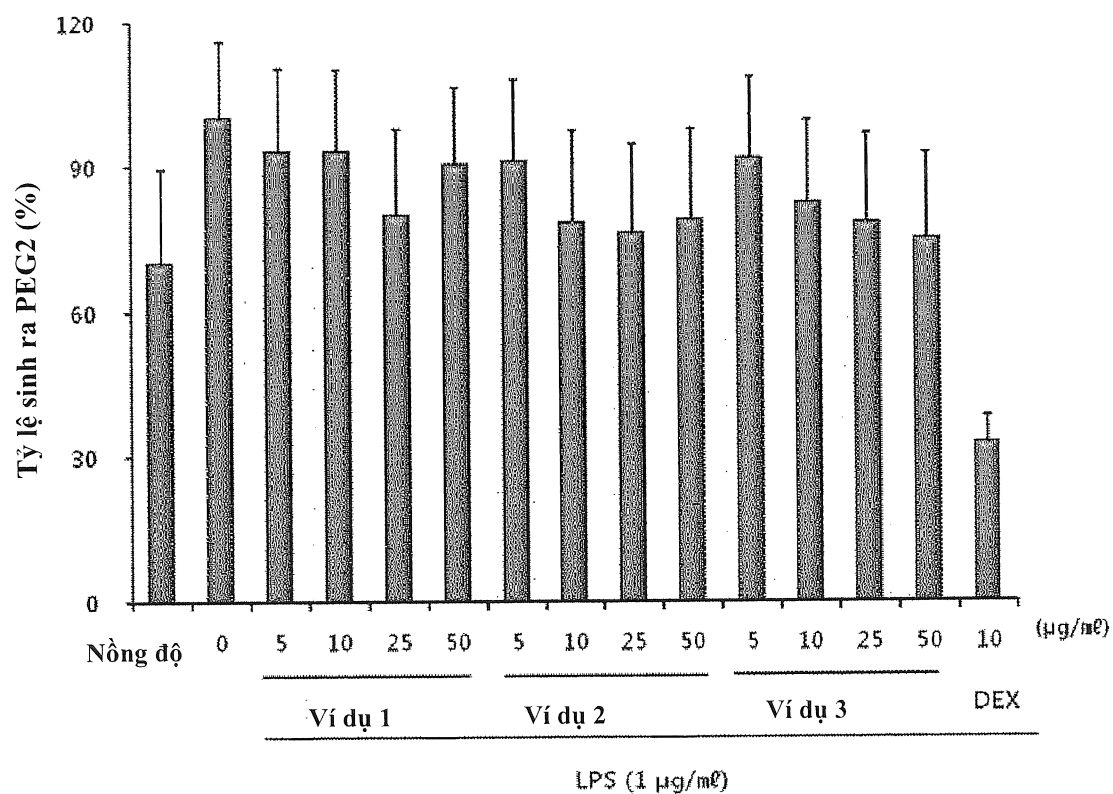
[Fig.1]



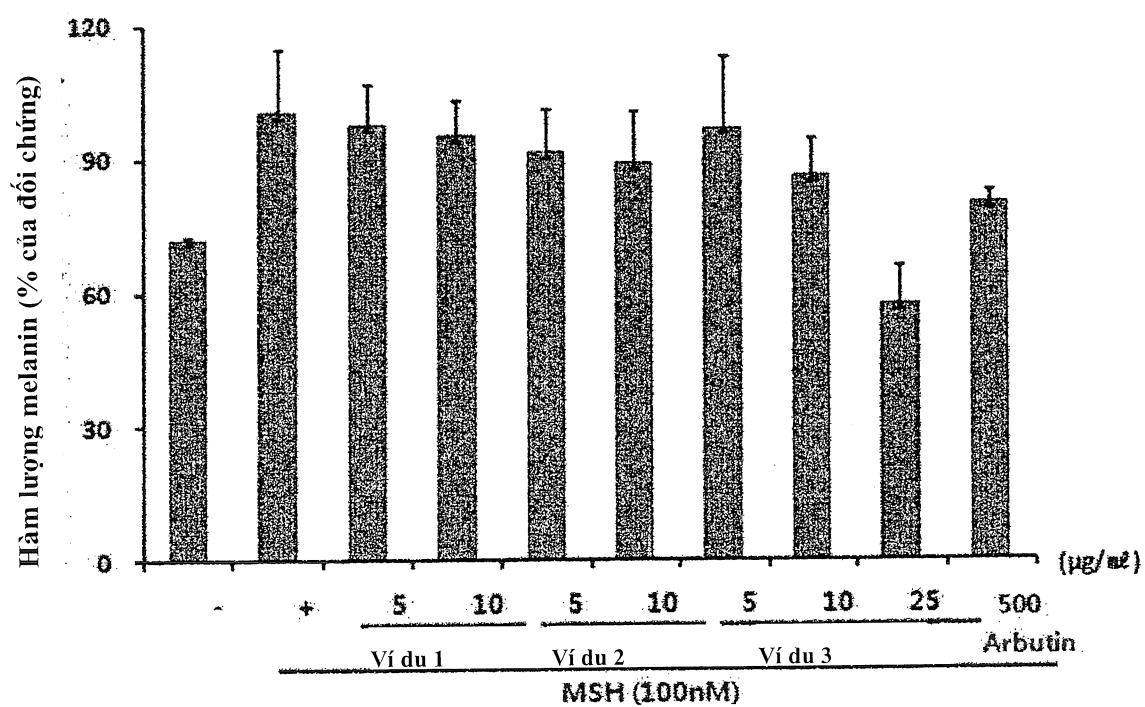
[Fig.2]



[Fig.3]



[Fig.4]



[Fig.5]

