

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第3部門第2区分

【発行日】平成19年8月9日(2007.8.9)

【公表番号】特表2007-516937(P2007-516937A)

【公表日】平成19年6月28日(2007.6.28)

【年通号数】公開・登録公報2007-024

【出願番号】特願2006-515885(P2006-515885)

【国際特許分類】

**C 0 7 H 17/07 (2006.01)**

**C 0 7 H 17/075 (2006.01)**

**A 6 1 K 31/7048 (2006.01)**

**A 6 1 P 17/00 (2006.01)**

**A 6 1 P 25/04 (2006.01)**

**A 6 1 P 29/00 (2006.01)**

**A 6 1 P 37/02 (2006.01)**

**A 6 1 P 39/06 (2006.01)**

**A 6 1 P 9/00 (2006.01)**

**A 6 1 K 8/60 (2006.01)**

**A 6 1 K 8/49 (2006.01)**

**A 6 1 K 8/14 (2006.01)**

**A 6 1 K 8/11 (2006.01)**

**A 6 1 Q 17/04 (2006.01)**

**A 6 1 Q 19/06 (2006.01)**

**A 2 3 L 1/30 (2006.01)**

【F I】

C 0 7 H 17/07 C S P

C 0 7 H 17/075

A 6 1 K 31/7048

A 6 1 P 17/00

A 6 1 P 25/04

A 6 1 P 29/00

A 6 1 P 37/02

A 6 1 P 39/06

A 6 1 P 9/00

A 6 1 K 8/60

A 6 1 K 8/49

A 6 1 K 8/14

A 6 1 K 8/11

A 6 1 Q 17/04

A 6 1 Q 19/06

A 2 3 L 1/30 Z

【手続補正書】

【提出日】平成19年6月6日(2007.6.6)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0056

【補正方法】変更

【補正の内容】

## 【 0 0 5 6 】

ヒトのケラチン生成細胞を細胞増殖培養液 (DMEM + FCS) に接種し、37℃、5 % CO<sub>2</sub> で 3 日間培養した。次いで、細胞増殖培養液を、試験を行う成分を含有する平衡塩溶液に交換し、培養した細胞に UVB 50 mJ/cm<sup>2</sup> (DUKE GL40E ランプ) を照射した。37℃、5 % CO<sub>2</sub> で 1 日間培養した後、培養液中に放出された LDH 及び PGE2 を測定し、細胞の生存を確認するために蛍光プローブを用いて細胞 DNA を測定した。

## 【 手 続 補 正 2 】

【 補 正 対 象 書 類 名 】 明 細 書

【 補 正 対 象 項 目 名 】 0 0 5 9

【 補 正 方 法 】 変 更

【 補 正 の 内 容 】

## 【 0 0 5 9 】

ルチンとヘキサデカン二酸とのジエステル (ルチン-C16 二酸-ルチン) の合成

この反応は、250 ml の回分反応器中で行った。ルチン (10 g、16.4 mmol) とヘキサデカン二酸 (4.2 g、14.8 mmol) を、250 ml の t-アミルアルコールに溶解した。媒体を減圧下 (400 mbar) 80℃ で加熱した。一晩中、発生した蒸気を凝縮し、分子篩 (50 g) を充填したカラムを通して反応器に還流した。この処置により、反応器内の水分濃度は低かった (100 mM 未満)。その後、7.5 g の Candida antarctica の リパーゼ (Novozym 435) を添加した。

72 時間後、酵素をろ過によって回収した。次いで、溶媒の蒸発によって媒体を濃縮した。媒体は、ルチン (10.4 % )、ヘキサデカン二酸 (6.4 % )、ヘキサデカン二酸ルチン (45.1 % )、ヘキサデカン二酸ジルチン (38.1 % ) の混合物である。分取 HPLC による精製により、実施例 2 に記載のヘキサデカン二酸ルチン (ルチン-0-(C=O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>14</sub>-COOH)、ヘキサデカン二酸ジルチン (ルチン-0-(C=O)-(CH<sub>2</sub>)<sub>14</sub>-(C=O)-0-ルチン) 及びそれらの混合物に分離できた。

得られたヘキサデカン二酸ジルチンの <sup>1</sup>H NMR は：

<sup>1</sup>H NMR : ( 400 MHz, DMSO d<sub>6</sub> ) : 0.75 ( d, 6H ), 1.2 ( m, 22H ), 1.43 ( m, 4H ), 2.13 ( m, 4H ), 3.1-3.7 ( ブロード、22H ), 3.7 ( d, 1H ), 4.45 ( s, 2H ), 4.64 ( t, 2H ), 5.43 ( s, 2H ), 6.18 ( s, 2H ), 6.35 ( s, 2H ), 6.84 ( d, 2H ), 7.50 ( m, 4H ), 12.6 ( s, 2H, OH ) ppm

であった。