

【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】

【0056】

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% CO₂ 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/cm² (DUKE GL40E ランプ) を照射した。37℃、5% CO₂ 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】0059

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0059】

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 のリバーゼ (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)-(CH₂)₁₄-COOH)、ヘキサデカン二酸ジルチン (ルチン-0-(C=O-(CH₂)₁₄-(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 ¹H NMR は：

¹H NMR : (400 MHz, DMSO d₆) : 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。