



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102256930 B

(45) 授权公告日 2014. 03. 12

(21) 申请号 200980151867. 4

A61Q 9/00 (2006. 01)

(22) 申请日 2009. 12. 21

A61K 31/22 (2006. 01)

(30) 优先权数据

A61P 17/10 (2006. 01)

0858967 2008. 12. 22 FR

A61P 17/08 (2006. 01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

(56) 对比文件

2011. 06. 21

W0 9813330 A1, 1998. 04. 02, 第 4 页第 10-13 行.

(86) PCT国际申请的申请数据

W0 2006019186 A1, 2006. 02. 23, 参考例 2.

PCT/EP2009/067701 2009. 12. 21

W0 9813330 A1, 1998. 04. 02, 参考例 2.

(87) PCT国际申请的公布数据

CN 1105016 A, 1995. 07. 12, 全文.

W02010/072738 FR 2010. 07. 01

W0 2006019186 A1, 2006. 02. 23, 参考例 2.

(73) 专利权人 皮埃尔·法布尔皮肤化妆品公司

W0 0138288 A1, 2001. 05. 31, 第 5 页第 31

地址 法国布洛涅-比扬古

行-第 6 页第 2 行, 第 8 页第 29 行-第 35 行.

(72) 发明人 D·勒杜莱斯 S·多纳斯-马里诺

US 2008076699 A1, 2008. 03. 27, 权利要求

M-F·阿里耶斯

1-16.

审查员 赵愈林

(74) 专利代理机构 北京戈程知识产权代理有限公司 11314

代理人 程伟

(51) Int. Cl.

C07C 69/587 (2006. 01)

A61K 8/37 (2006. 01)

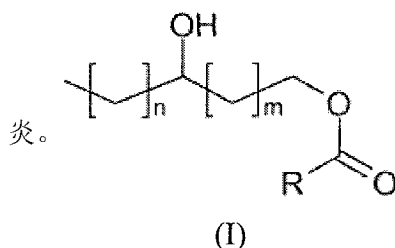
权利要求书2页 说明书14页 附图3页

(54) 发明名称

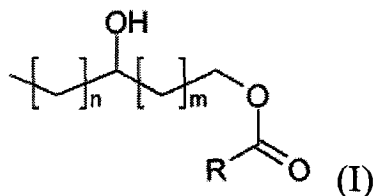
作为抗痤疮剂的多不饱和脂肪酸及二醇酯

(57) 摘要

本发明涉及以下式 (I) 的化合物: 其中 n 是 1 至 15 之间的整数, m 是 0、1、2 或 3, 并且 R 是选自 ω -3 和 ω -6 的多不饱和脂肪酸的烃链, 还涉及包含该化合物的药物或化妆品组合物, 以及制造和使用其的方法, 特别地用于治疗痤疮和脂溢性皮炎。



1. 下述通式 (I) 的化合物：



其中：

$-n$ 为 1 至 15 之间的整数,

$-m$ 为 0、1、2 或 3, 和

-R 为选自 ω -3 和 ω -6 多不饱和脂肪酸的多不饱和脂肪酸的烃链。

2. 根据权利要求 1 的化合物,其特征在于 n 为 1 至 10 之间。

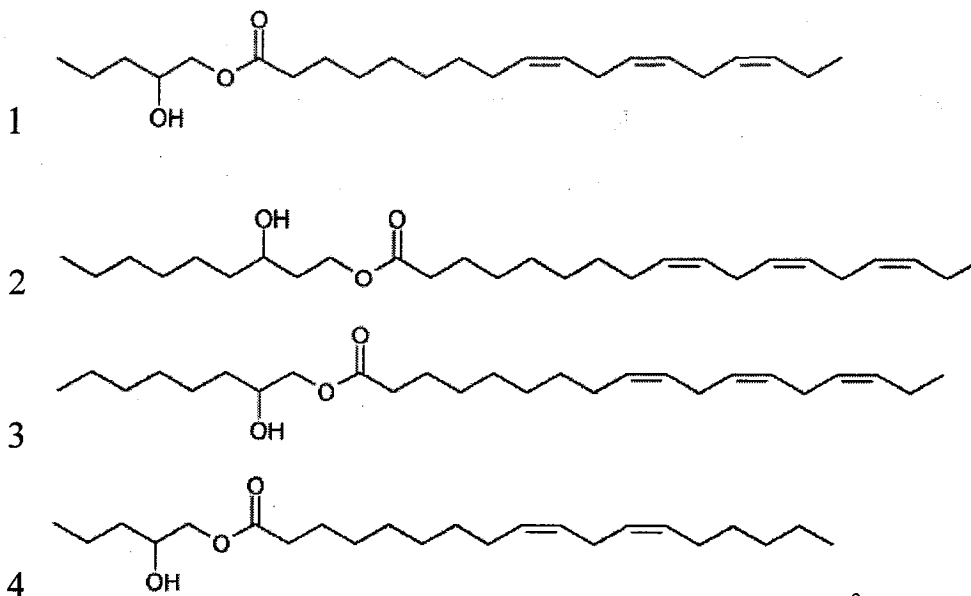
3. 根据权利要求 2 的化合物,其特征在于 n 为 1、2、3、4 或 5。

4. 根据权利要求 1 的化合物, 其特征在于 m 为 0 或 1。

5. 根据权利要求1的化合物,其特征在于所述多不饱和脂肪酸选自 α -亚麻酸、十八碳四烯酸、二十碳三烯酸、二十碳四烯酸、二十碳五烯酸、二十二碳五烯酸、二十二碳六烯酸、二十四五烯酸、二十四碳六烯酸、亚油酸、 γ -亚麻酸、二十碳二烯酸、二高- γ -亚麻酸、花生四烯酸、二十二碳四烯酸、二十二碳五烯酸、肾上腺酸和十八碳三烯酸。

6. 根据权利要求5的化合物,其特征在于所述多不饱和脂肪酸是 α -亚麻酸、十八碳四烯酸或亚油酸。

7. 根据权利要求 1 的化合物, 其特征在于其选自下述分子:



8. 根据权利要求 1 至 7 任意一项的化合物用于制备药物的用途,所述用途旨在治疗痤疮或脂溢性皮炎。

9. 一种药物或化妆品组合物,其包含与至少一种药学或化妆品可接受的赋形剂的联合的至少一种根据权利要求 1 至 7 任意一项的式 (I) 的化合物。

10. 根据权利要求 9 的药物或化妆品组合物, 其特征在于所述组合物包含相对于组合物总重量的 0.01 重量%至 10 重量%的所述一种或多种式 (I) 的化合物。

11. 根据权利要求 10 的药物或化妆品组合物,其特征 在于所述组合物包含相对于组合

作为抗痤疮剂的多不饱和脂肪酸及二醇酯

技术领域

[0001] 本发明涉及烷二醇和多不饱和脂肪酸,更特别地为 ω -3 或 ω -6 脂肪酸的酯,以及包含其的药物和化妆品组合物,及其制备方法和用途,特别是用于治疗痤疮或脂溢性皮炎的用途。

背景技术

[0002] 烷二醇是在许多领域比如化妆品和农业-食品中使用的化合物。可以特别地提及及其凭借其抑菌性质作为防腐剂的用途。因此,烷二醇构成了控制真菌和细菌定植及有助于保护许多化妆品或农业-食品的手段 (Faergemann J, Fredriksson T. Sabouraudia :1980 ; 18, 287-293)。这些二醇具有广谱活性,对于真菌和革兰氏阳性菌种类特别有效 (Harb NA, Toama MA. Drug Cosmet Ind :1976 ;118, 40)。而且,在微生物中几乎没有获得性抗性使烷二醇成为抗-耐药性策略发展中的重要工具,特别是对于金黄色葡萄球菌 (Faergemann J, Hedner T, Larsson P :2005 ;85, 203-205 ;WO 2004/112765)。最后,其非常好的耐受性使它们经常被使用且以超过几个百分比的剂量使用。

[0003] 特别地,1,2- 烷二醇具有抑菌活性,且被广泛地用作防腐剂 (JP-A-51091327) 或治疗其中微生物组分在病因学中起关键作用的病理学比如痤疮中使用 (US 6123953)。也描述了 1,2- 烷二醇的其它应用,例如凭借其防腐作用 (US 5516510 ;WO 2003/000220) 或抗真菌作用 (WO 2003/069994) 的有关体臭的防护性质。类似地,描述了 1,2- 烷二醇与其它化合物的组合,其中结果是协同抗微生物作用。因此,关于这点,已经要求保护控制引起体臭的微生物 (US 2005/228032) 或参与痤疮损害形成的微生物 (US 2007/265352, EP 1598064) 的组合。

[0004] 多不饱和脂肪酸 (PUFAs) 分为两类:欧米伽-3(ω -3) 和欧米伽-6(ω -6)。除了其代谢效应,它们能够修饰编码细胞内蛋白的基因的表达。PUFAs 的这种基因效应似乎是通过称为 PPARs (过氧化物酶体增殖物激活受体) 的核受体进行的。PPARs 属于核的类固醇激素受体家族。它们与视黄酸的类视色素 X 受体 (RXR) 形成杂二聚体,调节基因表达。因此, ω -3PUFAs 将是炎症性应答的负向调节剂,其通过诱导 $I\kappa B\alpha$ 的表达抑制 NF- κ B 活化通路, $I\kappa B\alpha$ 是 NF- κ B 通路的主要抑制剂 (Ren J and Chung SH. J Agric Food Chem. 2007 55 :5073-80)。而且, ω -3PUFAs 对于花生四烯酸的合成具有抑制作用,这对二十二碳六烯酸和二十碳五烯酸的合成有利 (Calder PC. Lipids :2001 ;36, 1007-24)。

[0005] 在痤疮期间,滤泡漏斗管中的过量皮脂代表痤疮丙酸杆菌 (*P. acnes*) 定植的有利环境。因此,可以确定毛囊皮脂腺管的痤疮丙酸杆菌定植的程度和出现小粉刺之间的相关性。而且,已经表明该定植在痤疮主体中的比健康主体中的更大 (Brown S, Shalita A. Acne vulgaris. Lancet 1998 ;351 :1871-6)。

[0006] 痤疮丙酸杆菌通过先天性免疫系统的受体诱导 NF- κ B 依赖性炎症细胞因子比如 IL-8 的生成。然后,这些介质特别地影响多核嗜中性粒细胞向炎症位置的移动,在此处它们的任务是杀死细菌。该炎症性应答是正常的,且对于消除感染组织中的病原体是必要的。

然而,过度的和不受控制的活化导致炎症性痤疮损害。因此,已经表明 IL-8 的水平与炎症性痤疮损害中动员的嗜中性粒细胞的数量有关 (Abd El All HS 等人,Diagn. Pathol. 2007 ; 2 :4)。

[0007] 痤疮患者中的细菌定植通常与炎症性痤疮损伤的出现有关:例如,与没有痤疮的主体中低定植的滤泡管相比,在高度定植的滤泡管中发现大量的多核嗜中性粒细胞和高水平的 IL-8。这些炎症标记的水平似乎与细菌接种量有关。但是许多疑问仍然没有回答,例如定植的原因和导致损伤形成的一系列步骤。无论如何,都证实了细菌定植作为疾病发展因素的作用。

[0008] 目前对于低度至中度或炎症性痤疮的治疗相当于与抗炎剂的结合局部施用作用于抗定植(特别是痤疮丙酸杆菌定植)的抗菌活性剂 (Shalita A., J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol. 2001 ;15 :43)。

[0009] 治疗通常是在一定量的炎症性痤疮损害出现之后才开始。

[0010] 抗痤疮治疗剂的主要问题之一是发现适应性治疗,也就是说其与痤疮的严重性相称,即随着起始细菌定植尽可能快地开始抗炎症性痤疮损害的发展。

发明内容

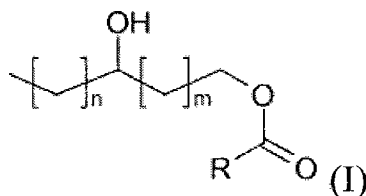
[0011] 因此,本发明人令人惊奇地发现烷二醇和多不饱和脂肪酸,特别是 ω -3 或 ω -6 多不饱和脂肪酸的酯,对于滤泡管中痤疮丙酸杆菌的起始定植具有抗菌作用和抗炎作用,其中该作用另外还与定植相称。

[0012] 实际上,证明烷二醇和 PUFA 酯特别地被细菌(痤疮丙酸杆菌)脂酶识别并切割,因此,通过酯键裂解,能够释放具有互补活性的两种活性剂,即能够控制痤疮丙酸杆菌定植的抗菌性二醇和阻断嗜中性粒细胞募集和因而阻断痤疮的炎症级联特征的抗炎性 PUFA。因此,这两种活性剂的释放诱导适应性反应,也就是说其随着起始定植与痤疮丙酸杆菌的定植相称,因而阻断负责炎症性痤疮损害出现的病理学的发展。另外,因为痤疮丙酸杆菌细菌存在于不具有痤疮损害的主体中,该酯通过随着粉刺的形成起作用且通过抑制痤疮的炎症性级联特征而也使得有可能预防痤疮损害的加重。

[0013] 这样的酯已经描述在文献中 (W0 98/18751 ;Sugiura 等人,, J. Biol. Chem. 1999, 274 (5), 2794-2801),但是没有描述其生物学性质。

[0014] 因此,本发明涉及下述通式 (I) 的化合物:

[0015]



[0016] 其中:

[0017] -n 为 1 至 15 之间的整数,优选 1 至 10 之间的整数,

[0018] -m 为 0、1、2 或 3,和

[0019] -R 是选自 ω -3 和 ω -6 多不饱和脂肪酸的多不饱和脂肪酸的烃链。

[0020] 在本发明的上下文中,“多不饱和脂肪酸”指包含 10 至 28 个、优选 16 至 24 个、更

优选 18 至 22 个碳原子（包括羧酸官能团的碳原子）和包含至少 2 个、优选 2 至 6 个 C = C 双键的直链羧酸 (R1CO₂H)，其中所述双键优选地具有顺式构型。

[0021] 在本发明的上下文中，“多不饱和脂肪酸的烃链”指连接于多不饱和脂肪酸 (R1CO₂H) 的酸官能团的烃链 (R1)。因此，R1 代表包含 9 至 27 个、优选 15 至 23 个、更优选 17 至 21 个碳原子和包含至少 2 个、优选 2 至 6 个 C = C 双键的直链烃，其中所述双键优选地具有顺式构型。因此，在下式的亚油酸的情况下：

[0022]



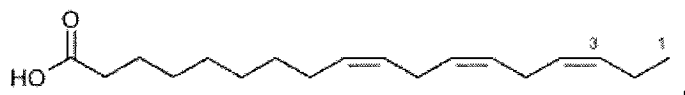
[0023] 考虑的烃链是下述链：

[0024]



[0025] 在本发明的上下文中，“ ω -3 脂肪酸”指如上述定义的多不饱和脂肪酸，其中链的第一个双键对应于从与羧酸官能团相对的结尾开始数的第三个碳-碳键，如下述 α -亚麻酸的情况下阐述的：

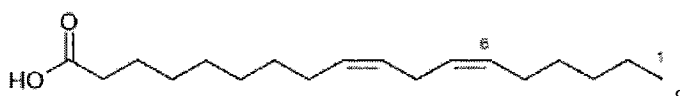
[0026]



[0027] 所述 ω -3 脂肪酸可以特别地为 α -亚麻酸、十八碳四烯酸、二十碳三烯酸、二十碳四烯酸、二十碳五烯酸、二十二碳五烯酸、二十二碳六烯酸、二十四碳五烯酸和二十四碳六烯酸，优选地，其为 α -亚麻酸或亚麻油酸，其具有抗炎性质。

[0028] 在本发明的上下文中，“ ω -6 脂肪酸”指如上述定义的多不饱和脂肪酸，其中链的第一个双键对应于从与羧酸官能团相对的结尾开始数的第六个碳-碳键，如下述 α -亚油酸的情况下阐述的：

[0029]



[0030] 所述 ω -6 脂肪酸可以特别地为亚油酸、 γ -亚麻酸、二十碳二烯酸、二高- γ -亚麻酸、花生四烯酸、二十二碳四烯酸、二十二碳五烯酸、肾上腺酸和十八碳三烯酸，优选地，其为亚油酸，其具有皮脂控制性质。

[0031] 特别地，n 可以是 1、2、3、4 或 5，优选 5。有利地， $n \geq 3$ ，优选地 $n \geq 5$ 。

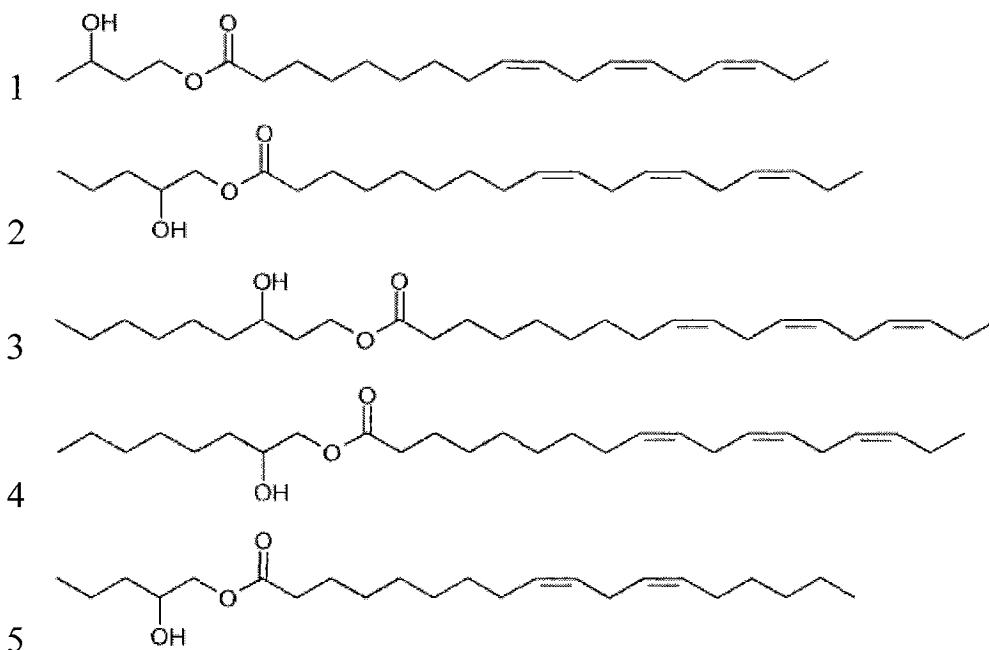
[0032] 有利地，m 为 0 或 1。

[0033] 有利地， $n+m \geq 3$ ，优选地 $n+m \geq 5$ 。

[0034] 有利地，所述烃链来自多不饱和脂肪酸，其选自 α -亚麻酸、十八碳四烯酸、二十碳三烯酸、二十碳四烯酸、二十碳五烯酸、二十二碳五烯酸、二十二碳六烯酸、二十四碳五烯酸、二十四碳六烯酸、亚油酸、 γ -亚麻酸、二十碳二烯酸、二高- γ -亚麻酸、花生四烯酸、二十二碳四烯酸、二十二碳五烯酸、肾上腺酸和十八碳三烯酸。优选地，所述多不饱和脂肪酸选自 α -亚麻酸、十八碳四烯酸和亚油酸，更优选地，选自 α -亚麻酸和亚油酸。

[0035] 特别地，本发明的化合物可以选自下述分子：

[0036]



[0037] 本发明进一步涉及如上定义的式 (I) 的化合物,其作为药物的用途,特别地旨在治疗痤疮或脂溢性皮炎。

[0038] 本发明进一步涉及如上定义的式 (I) 的化合物作为制备药物的用途,特别地旨在治疗痤疮或脂溢性皮炎的。

[0039] 本发明进一步涉及一种用于治疗痤疮或脂溢性皮炎的方法,其包括向需要其的人给予有效量的如上定义的式 (I) 的化合物。

[0040] 本发明进一步涉及一种药物或化妆品组合物,其包含至少一种如上定义的式 (I) 的化合物与至少一种药学或化妆品可接受的赋形剂结合,特别地适用于经皮给药。在本发明中,“药学或化妆品可接受的”指在药物或化妆品组合物的制备中有用的,并且通常是安全的、无毒的,既不是生物学不期望的也不是其它方面不期望的,并且其对于治疗或化妆品应用,特别是局部施用是可接受的。

[0041] 根据本发明的药物或化妆品组合物可以以通常用于局部施用的形式提供,也就是说特别地是洗剂、泡沫剂、凝胶剂、分散剂、乳剂、洗发剂、喷雾剂、浆液、面膜、沐浴乳或乳膏剂的形式,其含有能够特别地穿透皮肤以便改善有效成分的性质和可接近性的赋形剂。有利地,所述组合物是乳膏剂的形式。

[0042] 所述组合物除了包含根据本发明的一种或多种化合物之外,通常还包含生理学可接受的介质,通常是水基的或溶剂基的,例如基于醇、醚或乙二醇的。所述组合物还可以包含表面活性剂、螯合剂、防腐剂、稳定剂、乳化剂、增稠剂、胶凝剂、湿润剂、软化剂、微量元素、精油、芳香剂、着色剂、消光剂、化学或矿物质过滤剂、保湿剂或热水等。

[0043] 所述组合物可以进一步包含引起补充作用或可能的协同作用的其它有效成分。

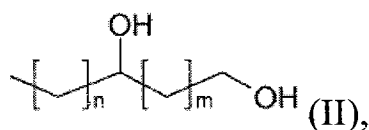
[0044] 有利地,根据本发明的组合物包含相对于组合物总重量的 0.01% 至 10% 重量、优选 0.1% 至 1% 重量的一种或多种式 (I) 的化合物。

[0045] 所述组合物更特别地旨在治疗痤疮或脂溢性皮炎。

[0046] 本发明进一步涉及一种用于痤疮或脂溢性皮炎的化妆品治疗的方法,其包括将如上定义的化妆品组合物施用于皮肤上。

[0047] 本发明进一步涉及一种制备如上定义的式 (I) 的化合物的方法,其是通过偶联选自其羧酸官能团是游离或活化形式的 ω -3 和 ω -6 脂肪酸的多不饱和脂肪酸,和下式 (II) 的二醇:

[0048]



[0049] 其中 n 为 1 至 15 之间的整数,优选 1 至 10 之间的整数,且 m 为 0、1、2 或 3。

[0050] 特别地, n 可以是 1、2、3、4 或 5,优选 5。有利地, $n \geq 3$, 且优选地 $n \geq 5$ 。

[0051] 有利地, m 为 0 或 1。

[0052] 有利地, $n+m \geq 3$, 且优选地 $n+m \geq 5$ 。

[0053] 在本发明的上下文中,“游离形式”指 PUFA 的羧酸官能团是未保护的,因而是 CO_2H 基团。因此, PUFA 是如前定义的 $\text{R1CO}_2\text{H}$ 形式。

[0054] 在本发明的上下文中,“活化形式”指修饰以便使其对于亲核试剂的活性更强的羧酸官能团。所述活化形式是本领域技术人员熟知的,并且可以特别地为酰氯 (COCl)。因此,酰氯形式的活化 PUFA 具有式 R1COCl 。

[0055] 根据本发明的第一个特别的实施方案,多不饱和脂肪酸以其游离酸形式使用。在这种情况下,偶联反应是在任选地与偶联助剂联合的偶联剂的存在下进行的,所述偶联剂选自二异丙基碳二亚胺 (DIC)、二环己基碳二亚胺 (DCC)、1-(3-二甲基氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐 (EDC)、羰基二咪唑 (CDI)、2-H-苯并三唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基脲六氟磷酸盐 (HBTU)、2-(1H-苯并三唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基脲四氟化碳 (TBTU) 和 O-(7-偶氮苯并三唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基脲六氟磷酸盐 (HATU),所述偶联助剂选自 N-琥珀酰亚胺 (NHS)、N-羟苯基三唑 (HOBT)、3,4-二氢-3-羟基-4-氧代-1,2,3-苯并三唑 (HOObt)、1-羟基-7-氮杂苯并三唑 (HOAt)、二甲基氨基吡啶 (DMAP) 和 N-羟基磺酸基琥珀酰亚胺 (Sulfo-NHS)。有利地,所述偶联是在碳二亚胺 (特别是 DIC、DCC 或 EDC) 和二甲基氨基吡啶的存在下进行的。优选地,所述偶联是在 1-(3-二甲基氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐或二异丙基碳二亚胺和二甲基氨基吡啶的存在下进行的。

[0056] 根据本发明的第二个特别的实施方案,所述多不饱和脂肪酸以其活化形式使用,并且更特别地以酰氯形式使用。在这种情况下,所述偶联反应有利地在吡啶和二甲基氨基吡啶的存在下进行。

[0057] 根据随后的非限制性实施例将更好地理解本发明。

附图说明

[0058] 图 1:炎症性痤疮损害中痤疮丙酸杆菌脂酶 (33kDa) 的检测 (M 对应于尺寸标记;A 对应于炎症性痤疮损害;B 对应于没有炎症的粉刺)。

[0059] 图 2:通过 2 小时培养之后,重组痤疮丙酸杆菌脂酶对本发明酯的水解的研究。浅灰色柱代表用 α -亚麻酸 3-羟丁基酯得到的结果,深灰色柱代表用 α -亚麻酸 2-羟基戊基酯得到的结果,黑色柱代表用 α -亚麻酸 2-羟基辛基酯得到的结果,白色柱代表用 α -亚麻酸 3-羟基壬基酯得到的结果,阴影线柱代表用三亚麻酸甘油酯得到的结果。

[0060] 图 3 :PUFAs 对 PMA/A23187 (促炎症反应试剂) 刺激的人 HaCaT 角质形成细胞的白细胞介素 8 释放的活性。

[0061] 图 4A、4B 和 4C :PUFAs 对 PMA/A23187 诱导的炎症性应答期间类花生酸类 (CYCLO : 环氧合酶代谢产物, LIPOX : 脂氧合酶代谢产物, AA : 花生四烯酸) 生成的影响。白色柱代表对照 (不含 PUFAs 的反应介质); 浅灰色柱对应于 $2.3 \mu\text{g/ml}$ PUFA 的活性; 暗灰色柱对应于 $11.5 \mu\text{g/ml}$ PUFA 的活性; 黑色柱对应于 $23 \mu\text{g/ml}$ PUFA 的活性。图 4A 对应于 α -亚麻酸, 图 4B 对应于十八碳四烯酸, 图 4C 对应于亚油酸。

具体实施方式

[0062] 使用的缩写:

[0063]

APCI	大气压化学电离
MIC	最低抑菌浓度
DPM	每分衰变数
ESI	电喷雾电离
HPLC	高效液相色谱
NMR	核磁共振
Rf	比移值
MS	质谱
CFU	菌落形成单位

[0064] 实施例 1 : 本发明的化合物的合成

[0065] 1. 1. 一般方法 A : 由不饱和脂肪酸开始

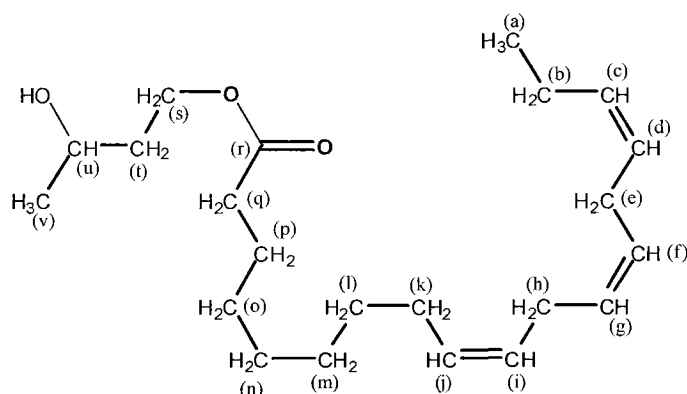
[0066] 在循环 N_2 下, 将不饱和脂肪酸置入 20ml 的无水 CH_2Cl_2 溶液中。然后, 直接加入碳二亚胺 (偶联剂) (1.1eq) 和二甲基氨基吡啶 (0.5eq)。在室温搅拌该介质 5-10 分钟之后, 加入二醇 (5eq)。在 N_2 下, 避光, 剧烈搅拌该介质 18 小时。然后, 用 CH_2Cl_2 提取有机相, 然后, 用饱和的 NaCl 溶液洗涤, 在 MgSO_4 上干燥, 过滤并浓缩。

[0067] 粗产物为黄色油状物, 通过开口柱色谱纯化, 使用硅胶 ($\varnothing$: $22 \times 3.5\text{cm}$) 并用 CHCl_3 作为溶剂。

[0068] 根据方法 A, 使用二异丙基碳二亚胺作为偶联剂制备下述三种产物。

[0069] 3-羟丁基 (9Z, 12Z, 15Z)-十八-9, 12, 15-三烯酸酯 ($\text{C}_{22}\text{H}_{38}\text{O}_3$) (α -亚麻酸 3-羟丁基酯)

[0070]



[0071] 纯化条件:洗脱梯度:CHCl₃/AcOEt:95/5,然后 CHCl₃/AcOEt:9/1

[0072] 半透明油状物(产率:69%)

[0073] R_f(CHCl₃/AcOEt:9/1) = 0.5

[0074] NMR(¹H, CDCl₃) δ (ppm): 0.98 (t, 3H, CH_{3(a)}); 1.22 (d, 3H, CH_{3(v)}); 1.31 (m, 8H, CH_{2(o, n, m, l)}); 1.6 (m, 2H, CH_{2(p)}); 1.8 (m, 2H, CH_{2(t)}); 2.1 (m, 4H, CH_{2(k, b)}); 2.3 (t, 2H, CH_{2(q)}); 2.8 (m, 4H, CH_{2(h, e)}); 3.85 (m, 1H, CH_(u)); 4.1-4.3 (m, 2H, CH_{2(s)}); 5.4 (m, 6H, CH_(c, d, f, g, i, j))。

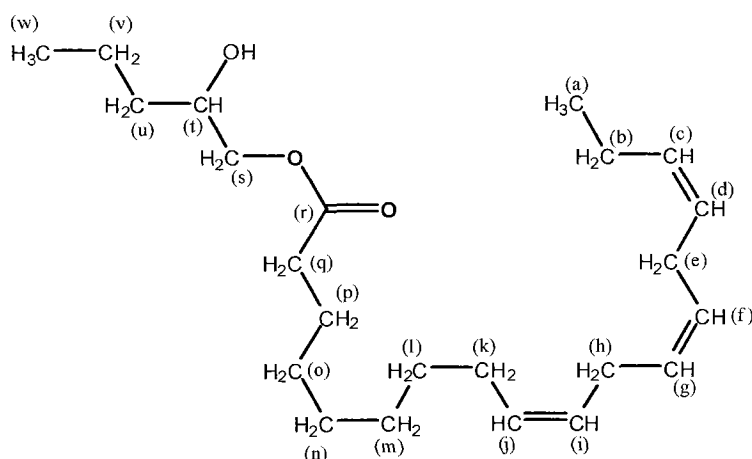
[0075] NMR(¹³C, CDCl₃) δ (ppm): 14.24 (CH_{3(a)}); 20.46 (CH_{2(b)}); 23.42 (CH_{3(v)}); 25.01 (CH_{2(p)}); 25.5 (CH_{2(e)}); 25.59 (CH_{2(h)}); 27.16 (CH_{2(k)}); 29.06 (CH_{2(o, n)}); 29.07 (CH_{2(m)}); 29.53 (CH_{2(l)}); 34.3 (CH_{2(q)}); 38.1 (CH_{2(t)}); 61.51 (CH_{2(s)}); 64.89 (CH_(u)); 127.08 (CH_(c)); 127.6 (CH_(j)); 128.22 (CH_(f)); 128.26 (CH_(g)); 130.22 (CH_(i)); 131.93 (CH_(d)); 174.2 (C=O_(r))。

[0076] MS:ESI+[M+H]⁺ = 351.2 (100%); [M+Na]⁺ = 373.3 (48%)

[0077] APCI+[M+H]⁺ = 351.2 (计算值 M = 350.2)

[0078] 2-羟基戊基(9Z,12Z,15Z)-十八-9,12,15-三烯酸酯 (C₂₃H₄₀O₃) (α-亚麻酸 2-羟基戊基酯)

[0079]



[0080] 纯化条件:CHCl₃/AcOEt:98/2

[0081] 半透明油状物(产率:45%)

[0082] R_f(CHCl₃/AcOEt:97/3) = 0.58

[0083] NMR(¹H, CDCl₃) δ (ppm): 1 (m, 6H, CH_{3(w, a)}); 1.25 (m, 10H, CH_{2(o, n, m, l, v)}); 1.5 (m, 4H, CH_{2(p, u)}); 1.65 (m, 4H, CH_{2(b, k)}); 2.1 (m, 2H, CH_{2(e)}); 2.4 (t, 2H, CH_{2(q)}); 2.8 (m, 2H, CH_{2(h)});

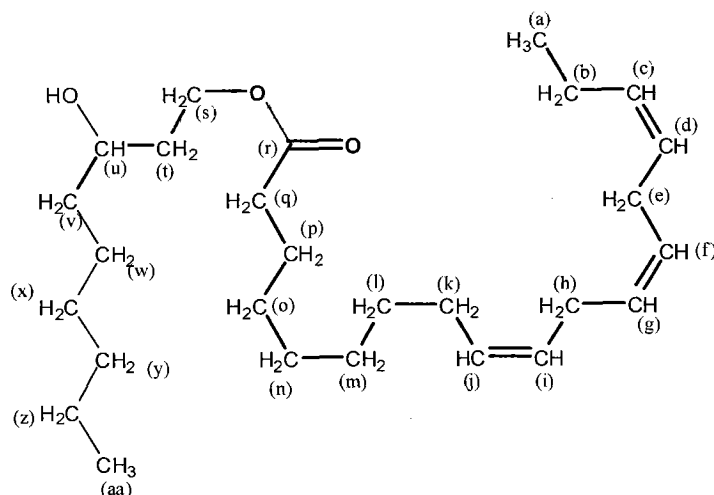
3. 9 (m, 1H, CH_(t)) ; 4. 1-4. 3 (m, 2H, CH_{2(s)}) ; 5. 4 (m, 6H, CH_(d, d, f, g, i, j)) 。

[0084] NMR (¹³C, CDCl₃) δ (ppm) : 14. 2 (CH_{3(a, w)}) ; 18. 6 (CH_{2(v, b)}) ; 25. 5 (CH_{2(p)}) ; 25. 5 (CH_{2(p)}) ; 27. 16 (CH_{2(e)}) ; 28. 9 (CH_{2(h)}) ; 29. 1 (CH_{2(k)}) ; 29. 4 (CH_{2(o, n)}) ; 29. 5 (CH_{2(m)}) ; 34. 17 (CH_{2(q)}) ; 35. 41 (CH_{2(u)}) ; 68. 53 (CH_(t)) ; 69. 76 (CH_{2(s)}) ; 128. 22 (CH_(c)) ; 129. 58 (CH_(j)) ; 130. 22 (CH_(f)) ; 130. 81 (CH_(i)) ; 131. 93 (CH_(d)) ; 174. 05 (C = O_(r)) 。

[0085] MS :APCI+[M+H]⁺ = 365. 1 (计算值 M = 364. 3)

[0086] 3-羟基壬基 (9Z, 12Z, 15Z)-十八-9, 12, 15-三烯酸酯 (C₂₇H₄₈O₃) (α-亚麻酸 3-羟基壬基酯)

[0087]



[0088] 纯化条件 :CHCl₃/AcOEt :96/4

[0089] 半透明油状物 (产率 :73%)

[0090] R_f (CHCl₃/AcOEt :97/3) = 0. 64

[0091] NMR (¹H, CDCl₃) δ (ppm) : 0. 95 (m, 3H, CH_{3(aa)}) ; 1 (m, 3H, CH_{3(a)}) ; 1. 4 (m, 16H, CH_{2(o, n, m, l, w, x, y, z)}) ; 1. 5 (m, 2H, CH_{2(v)}) ; 1. 6-1. 8 (m, 4H, CH_{2(p, t)}) ; 2 (m, 4H, CH_{2(k, b)}) ; 2. 3 (t, 2H, CH_{2(q)}) ; 2. 8 (m, 4H, CH_{2(h, e)}) ; 3. 7 (m, 1H, CH_(u)) ; 4. 1-4. 3 (m, 2H, CH_{2(s)}) ; 5. 4 (m, 6H, CH_(d, d, f, g, i, j)) 。

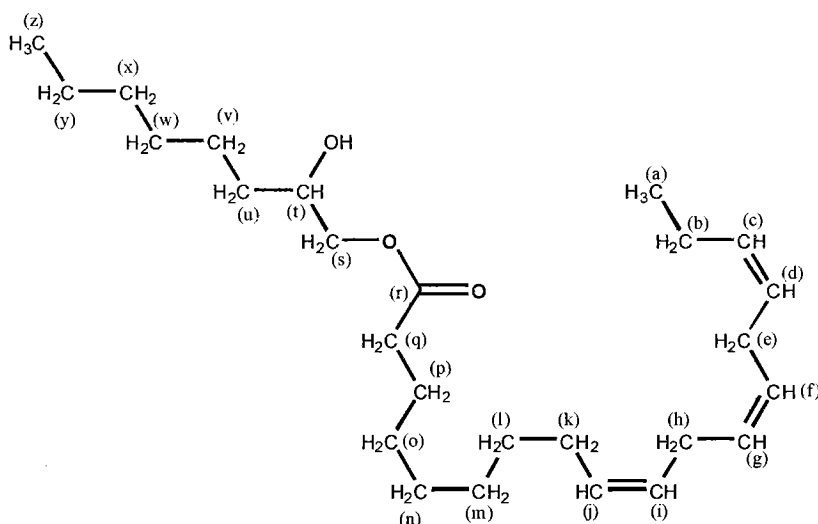
[0092] NMR (¹³C, CDCl₃) δ (ppm) : 14 (CH_{3(a, aa)}) ; 20. 4 (CH_{2(b)}) ; 22. 5 (CH_{2(z)}) ; 25. 09 (CH_{2(p)}) ; 25. 26 (CH_{2(w)}) ; 25. 58 (CH_{2(e, h)}) ; 27. 17 (CH_{2(k)}) ; 29. 06-29. 3 (CH_{2(x, o, n, m, l)}) ; 31. 7 (CH_{2(y)}) ; 34. 5 (CH_{2(q)}) ; 37. 45 (CH_{2(t)}) ; 37. 58 (CH_{2(v)}) ; 61. 59 (CH_{2(s)}) ; 68. 72 (CH_(u)) ; 127. 08 (CH_(c)) ; 127. 71 (CH_(j)) ; 128. 21 (CH_(f)) ; 128. 26 (CH_(g)) ; 130. 22 (CH_(i)) ; 131. 94 (CH_(d)) ; 174. 9 (C = O_(r)) 。

[0093] MS :ESI+[M+H]⁺ = 421. 1 (100%) ; [M+Na]⁺ = 443. 1 (92%)

[0094] 根据方法 A, 采用 1-(3-二甲基氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐作为偶联剂制备下述产物。

[0095] 2-羟基辛基 (9Z, 12Z, 15Z)-十八-9, 12, 15-三烯酸酯 (C₂₆H₄₆O₃) (α-亚麻酸 2-羟基辛基酯)

[0096]



[0097] 纯化条件: $\text{CHCl}_3/\text{AcOEt}$:98/2

[0098] 半透明油状物 (产率:37%)

[0099] $R_f(\text{CHCl}_3/\text{AcOEt}:98/2) = 0.72$

[0100] $\text{NMR} (^1\text{H}, \text{CDCl}_3) \delta$ (ppm): 0.88 (m, 3H, $\text{CH}_3_{(z)}$); 0.97 (t, 3H, $\text{CH}_3_{(a)}$); 1.31 (m, 16H, $\text{CH}_2_{(o, n, m, l, v, w, x, y)}$); 1.47 (m, 2H, $\text{CH}_2_{(u)}$); 1.65 (m, 2H, $\text{CH}_2_{(p)}$); 2.02 (m, 4H, $\text{CH}_2_{(b, k)}$); 2.4 (t, 2H, $\text{CH}_2_{(q)}$); 2.8 (m, 4H, $\text{CH}_2_{(e, h)}$); 3.9 (m, 1H, $\text{CH}_{(t)}$); 4.1-4.3 (m, 2H, $\text{CH}_2_{(s)}$); 5.4 (m, 6H, $\text{CH}_{(c, d, f, g, i, j)}$)。

[0101] $\text{NMR} (^{13}\text{C}, \text{CDCl}_3) \delta$ (ppm): 14.2 ($\text{CH}_3_{(a, w)}$); 18.6 ($\text{CH}_2_{(v, b)}$); 22.7 ($\text{CH}_2_{(y)}$); 25.5 ($\text{CH}_2_{(p)}$); 25.5 ($\text{CH}_2_{(p)}$); 27.16 ($\text{CH}_2_{(e)}$); 28.9 ($\text{CH}_2_{(h)}$); 29.1 ($\text{CH}_2_{(k)}$); 29.4 ($\text{CH}_2_{(o, n)}$); 29.5 ($\text{CH}_2_{(m)}$); 29.9 ($\text{CH}_2_{(w)}$); 31.7 ($\text{CH}_2_{(x)}$); 34.17 ($\text{CH}_2_{(q)}$); 35.41 ($\text{CH}_2_{(u)}$); 68.53 ($\text{CH}_{(t)}$); 69.76 ($\text{CH}_2_{(s)}$); 128.22 ($\text{CH}_{(c)}$); 129.58 ($\text{CH}_{(j)}$); 130.22 ($\text{CH}_{(f)}\text{CH}_{(g)}$); 130.81 ($\text{CH}_{(i)}$); 131.93 ($\text{CH}_{(d)}$); 174.05 ($\text{C}=\text{O}_{(r)}$)。

[0102] MS: $\text{APCI} + [\text{M} + \text{H}]^+ = 407.3$ (计算值 $\text{M} = 406.34$)

[0103] 1.2. 一般方法 B: 由多不饱和脂肪酸氯化物开始

[0104] 在循环氮气下, 将亚油酰氯 ($6.7 \times 10^{-3} \text{mol}$) 和二甲基氨基吡啶 (DMAP) (0.1eq) 加入到二醇 (5eq) 在吡啶 (20ml) 中的溶液中。在室温和避光下, 在 N_2 下剧烈搅拌 18 小时之后, 将反应介质除干。

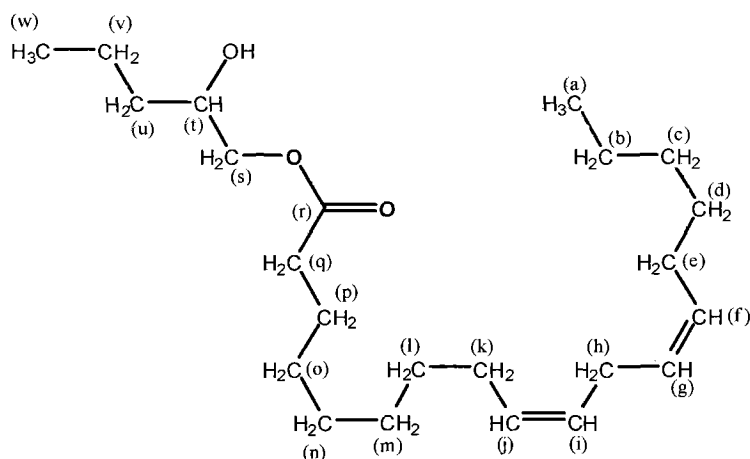
[0105] 然后, 用 AcOEt 萃取有机相, 然后, 用 H_2O 和 NH_4^+Cl^- 洗涤, 在 MgSO_4 上干燥, 过滤并浓缩。

[0106] 粗产物为棕色油状物, 其通过开口柱色谱纯化, 使用硅胶 ($\varnothing$: $22 \times 3.5 \text{cm}$) 并用 CHCl_3 作为溶剂。

[0107] 根据方法 B, 用戊烯二醇作为二醇制备下述产物。

[0108] 2-羟基戊基 (9Z,12Z)-十八-9,12-二烯酸酯 ($\text{C}_{23}\text{H}_{42}\text{O}_3$) (亚油酸 2-羟基戊基酯)

[0109]



[0110] 纯化条件:CHCl₃/AcOEt :98/2

[0111] 半透明油状物

[0112] R_f(CHCl₃/AcOEt :98/2) = 0.54

[0113] NMR(¹H, CDCl₃) δ (ppm) :0.9 (m, 6H, CH_{3(a, w)}) 1.3 (m, 16H, CH_{2(o, n, m, l, b, c, d, v)}) ;1.45 (m, 2H, CH_{2(u)}) ;1.65 (m, 2H, CH_{2(p)}) ;2 (m, 4H, CH_{2(k, e)}) ;2.3 (t, 2H, CH_{2(q)}) ;2.8 (m, 2H, CH_{2(h)}) ;3.8 (m, 1H, CH_(t)) ;4.1-4.3 (m, 2H, CH_{2(s)}) ;5.4 (m, 4H, CH_(f, g, i, j)) 。

[0114] NMR(¹³C, CDCl₃) δ (ppm) :14.2 (CH_{3(a, w)}) ;18.6 (CH_{2(v)}) ;22.6 (CH_{2(b)}) ;25 (CH_{2(p)}) ;25.6 (CH_{2(h)}) ;27.2 (CH_{2(e, h)}) ;29 (CH_{2(o)}) ;29.1 (CH_{2(n)}) ;29.3 (CH_{2(d)}) ;29.4 (CH_{2(m)}) ;29.6 (CH_{2(l)}) ;31.4 (CH_{2(c)}) ;34.1 (CH_{2(q)}) ;36.2 (CH_{2(u)}) ;69 (CH_{2(s)}) ;70 (CH_(t)) ;127.78 (CH_(g)) ;127.91 (CH_(i)) ;129.94 (CH_(f)) ;130.22 (CH_(j)) ;174.05 (C = O_(r)) 。

[0115] MS :ESI+[M+H]⁺ = 367.3 (100%) ;[M+Na]⁺ = 389.3 (80%)

[0116] 实施例 2 :根据本发明的组合物

[0117] 根据本发明的配方,以乳膏剂形式,其具有下述组成(量以相对于组合物总重量的重量百分数给出):

[0118]

量	化合物	功能
3	甘油	润湿剂
0.1	EDTA*二钠	螯合剂
0.35	苯氧乙醇	防腐剂
1	聚丙烯酸酯-13; 聚异丁烯; 聚山梨酯 20; 水 (由 SEPPIC 以名称 Sepiplus® 400 销售的混合物)	胶凝剂和稳定剂
4	硬脂酸甘油酯; PEG-100 硬脂酸酯 (由 SEPPIC 以名称 Simulsol® 165 销售的混合物)	乳化剂
1	鲸蜡醇	增稠因子
5	环戊硅氧烷	软化剂
3	三-2-乙基己酸甘油酯	软化剂
2	碳酸二辛酯	软化剂
1	根据本发明的二醇和 PUFA 酯	抗痤疮剂
0.27	氯苯甘油醚	防腐剂
2	聚甲基丙烯酸甲酯	消光粉末
0.1	芳香剂	芳香剂

[0119] *EDTA :乙二胺四乙酸

[0120] 实施例 3 :生物测定结果

[0121] 3. 1. 痤疮丙酸杆菌脂酶对本发明化合物的作用的研究

[0122] 首先,蛋白质印迹显示与采集自健康受试者的样品相比,痤疮丙酸杆菌脂酶强烈诱导患有痤疮的主体的炎性损害(见图 1)。

[0123] 其次,如下所述研究重组痤疮丙酸杆菌脂酶对本发明的化合物的作用。

[0124] 通过在 TRIS 缓冲液中以期望的浓度 (500 μ M) 培养基质进行酶促反应(在开始试验之前,在室温放置 1h),然后通过加入酶,并在 37°C 下培养引发反应。在 2ml 琥珀色玻璃小瓶中进行试验。通过不加入酶进行对照,以评价在缓冲液中基质可能的自发水解。在反应期间,在每个预期的时间,采集 10 μ l 样品,然后将其冷冻以淬灭反应。然后,用蒽基重氮甲烷 (ADAM) 衍生化释放的亚麻酸,蒽基重氮甲烷与脂肪酸形成荧光复合物。通过 HPLC 分离形成的产物,然后,使用标准范围的在相同条件下衍生化的市售亚麻酸定量。

[0125] 如图 2 所示,本发明的化合物在痤疮丙酸杆菌的存在下,发生水解反应,因为观察到形成了 α -亚麻酸。

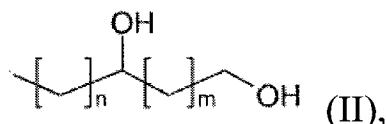
[0126] 因此,经痤疮丙酸杆菌的本发明化合物的水解释放出二醇和 PUFA。因此,所述脂酶

的表达是观察到本发明的化合物裂解和因而得到治疗作用的必要条件。另外,因为痤疮丙酸杆菌脂酶基本上存在于患有痤疮的主体中,如图 1 所示,本发明的化合物将能够对每个人产生适合的反应。

[0127] 3.2. 本发明化合物水解之后得到的二醇的抗菌活性的研究

[0128] 所述二醇具有下述通式 (II) :

[0129]



[0130] 其中 n 为 0 至 15 之间的整数, m 为 0、1、2 或 3。

[0131] 使用如下所述稀释法,用八种微生物菌株进行试验。

[0132] 使用在液体介质中的微量法测定最低抑菌浓度 (MICs)。在 96-孔微量培养板中进行试验产物在培养基 (Trypcase Soy Broth) 中的连续 1/2 稀释,最终体积 0.1ml。给每个孔接种 0.01ml 的以约 1×10^7 CFU/ml 滴定的细菌悬浮液。将微量培养板培养在最佳生长条件下, MIC 是目测可读的。

[0133] 下表 1 列出了用各种二醇得到的结果。标记“BS”的列代表抑菌活性,标记“BC”的列代表二醇的杀菌活性 (相当于 10mg/ml 浓度的 1%)。

[0134] 表 1

[0135]

细菌	1,3-丁二醇		1,2-戊二醇		1,2-辛二醇		1,3-壬二醇	
	BS	BC	BS	BC	BS	BC	BS	BC
金黄色葡萄球菌	20%	>20%	20%	20%	0.312%	0.312%	0.312%	0.312%
葡萄球菌表皮	10%	20%	10%	10%	0.312%	0.312%	0.312%	0.312%
痤疮丙酸杆菌	10%	20%	5%	20%	0.312%	0.312%	0.156%	0.312%
绿脓假单胞菌	10%	20%	5%	10%	0.312%	0.312%	0.625%	0.625%
大肠杆菌	10%	20%	5%-10%	20%	0.156%	0.156%	0.156%	0.625%
白色念珠菌	10%	10%	5%	5%	0.156%	0.312%	0.156%	0.156%
黑曲霉	10%	>20%	5%	20%	0.156%	0.625%	0.078%	0.625%
秕糠马拉癣菌	10%	20%	5%	10%	0.156%	0.312%	0.156%	0.312%

[0136] 观察到的抗菌作用与文献的一致:即,活性与二醇链的长度有关 (Frankenfeld JW, Mohan RR, Squibb RL. J Agric Food Chem. 1975 ;23 :418-425)。因此,1,3-壬二醇和 1,2-辛二醇在浓度范围为 6.25mg/ml 至 0.78mg/ml 具有抑菌和杀菌作用 (革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌、真菌),。应当注意到所述壬烷衍生物似乎对于痤疮丙酸杆菌菌株具有最明显的活性,特别地测得的抑菌和杀菌作用分别为 1.56mg/ml 和 3.12mg/ml。

[0137] 3.3. 1,2-辛二醇的抗菌活性动力学研究

[0138] 通过在使用试验溶液接触细菌悬浮液之后,计数残留菌落形成单位 (CFUs) 评价细菌经时间的致死率来研究 1,2-辛二醇的抗菌活性动力学。

[0139] 使用的菌株是：金黄色葡萄球菌 ATCC6538 和痤疮丙酸杆菌 ATCC6919。用于金黄色葡萄球菌 ATCC6538 的培养基是 Trypcase 大豆琼脂，而用于痤疮丙酸杆菌 ATCC6919 的培养基是 Schaedler 琼脂。临时在 1% 聚山梨酯 20 (qsp WFI) 中制备包含 1% 和 0.5% 的 1, 2- 辛二醇的储备溶液，然后，用 0.1N NaOH 溶液调节至 pH 7。

[0140] 用 50 μ l 以约 1×10^8 CFU/ml 滴定的细菌悬浮液接种 5ml 体积的每种储备溶液。

[0141] 在每个接触时间之后（测试的接触时间：5min, 15min, 30min 和 60min），通过采集用 9ml Trypcase 大豆液体培养基和 10% 聚山梨酯 80 中和的 1ml 等分试样计数残留的细菌。

[0142] 通过加入 1ml 的中和混合物和对相应琼脂板进行四次 1/10 连续稀释来进行计数。

[0143] 在 $36^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ ，对于金黄色葡萄球菌，将琼脂板培养在需氧气氛中，对于痤疮丙酸杆菌 (Generbag anaer, Biomerieux)，将琼脂板培养在无氧气氛中，培养 72 小时，然后计数 CFUs。

[0144] 下表 2 列出了得到的结果。

[0145] 表 2

[0146]

		金黄色葡萄球菌				痤疮丙酸杆菌			
		Log R				Log R			
浓度	pH	5 min	15 min	30 min	60 min	5 min	15 min	30 min	60 min
1%	7	>5.3	>5.3	>5.3	>5.3	>5	>5	>5	>5
0.5%	7	0.4	0.1	0.2	0.5	0.2	0.7	1.8	3
阴性对照： 1%聚山梨 酯 20 赋形 剂	6.5	0	0	0	0.1	0	0	0.2	0.3

[0147] -R 意味着“减少”。其指在试验溶液接触细菌悬浮液之后，接种细菌数量和残留细菌数量之间的比例。

[0148] 以下列两种浓度 0.5% 和 1%，在两种细菌种类（痤疮丙酸杆菌，金黄色葡萄球菌）上检测辛二醇的杀菌作用。在生理学 pH 和最低浓度（0.5%），在接触一小时之后，特别地观察到痤疮丙酸杆菌种群的 99.9% 以上的减少。

[0149] 3.4. 在水解本发明的化合物之后得到的 PUFAs 的抗炎活性的研究

[0150] 在 PMA/A23187 刺激的人角质形成细胞 (HaCaT) 上测试 PUFAs 的抗炎潜能。将得到的结果列在图 3、4A、4B 和 4C 中。

[0151] 评价在 PMA/A23187 触发的炎性过程期间，这些 PUFAs 诱导的类花生酸类和炎症细胞因子白细胞介素 8 生成的变化。

[0152] IL-8 分泌的研究（图 3）：

[0153] 在 PUFAs 的存在下，在 96-孔板上培养 HaCaT 细胞 24h，洗涤，然后用 PMA/A23187 刺激。在刺激 6h 之后，回收上清液，使用 OptEIA™ ELISA 试剂盒 (BD Pharmingen) 定量 IL-8。

[0154] 花生四烯酸 (AA) 代谢的研究（图 4A、4B、4C）：

[0155] 在 5% CO₂ 气氛下, 在 1 μCi [3H]AA 的存在下, 将 HaCaT 角质形成细胞培养在 24-孔板中 18 小时。为了测试 PUFAs 调节角质形成细胞炎症性应答的能力, 用 PUFAs 预处理 [3H]-标记的 HaCaT 细胞 24 小时, 洗涤, 然后用 500nM 的 PMA 和 1 μM 的 A23187 刺激 5 小时。通过柱色谱法萃取培养基中的 HaCaT 细胞释放的 [3H]AA 和代谢产物。在 N₂ 下, 蒸发洗脱液。将无水残余物收集在甲醇中, 并上样在预先在 100℃活化 1 小时的薄层二氧化硅板上。展开溶剂是乙酸乙酯 / 水 / 异辛烷 / 乙酸 (110 : 100 : 50 : 20, v/v) 混合物的有机相。通过 Berthold TLC 扫描仪鉴定 [3H]AA 和代谢产物 (6-酮基-前列腺素 F_{1α}, 6k-PGF_{1α}; 前列腺素 (PG)F_{1α} E2D₂; 血栓素 (TX)B₂, 白细胞三烯 (LT)B₄, C₄, D₄)。

[0156] 因此, 图 3 显示了某 PUFAs 对 PMA/A23187 刺激的 HaCaT 人角质形成细胞释放白细胞介素 8 (IL-8) 的活性。清楚地显示出 γ-亚麻酸, 特别是 α-亚麻酸对于刺激的角质形成细胞的 IL-8 分泌的抑制作用。

[0157] 类似地, 用 PUFA 比如 α-亚麻酸、十八碳四烯酸或亚油酸预培养的角质形成细胞显著地抑制花生四烯酸的释放, 以及炎症级联的环氧化和脂氧化代谢产物的释放 (图 4A、4B 和 4C)。

[0158] 因此, 得到的所有结果都证实了 ω-3 或 ω-6 多不饱和脂肪酸和特别地 α-亚麻酸的抗炎活性。

[0159] 因此, 根据本发明的化合物可以用于治疗痤疮。因为脂溢性皮炎的病因学模式具有与痤疮的类似性, 本发明的化合物也可以潜在地用于治疗脂溢性皮炎。实际上, 在该病理学情况下的炎症性应答起因的微生物, 马拉色氏霉菌属 (*Malassezia*) 在头皮上分泌脂肪酶 (DeAngelis YM 等人, *J Invest Dermatol.* 2007 ;127 ;2138-46), 其可以用于释放两种活性剂, 具有抗真菌性质的烷二醇和具有抗炎性质的 PUFA 比如 α-亚麻酸。而且, 某些脂肪酸比如亚油酸是核 PPARα 受体的活化剂, 其发挥显著的皮脂控制作用 (Downie MM 等人, *Br J Dermatol.* 2004 ;151 ;766-75)。因此, 二醇-亚油酸衍合物可特别地用于限制多种适应症比如痤疮和脂溢性皮炎中的皮脂溢出。

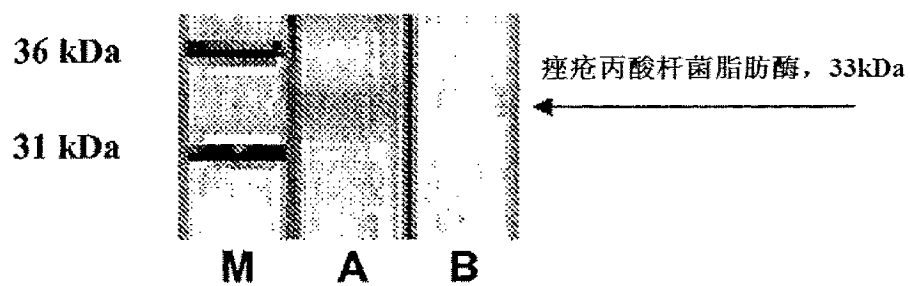


图 1

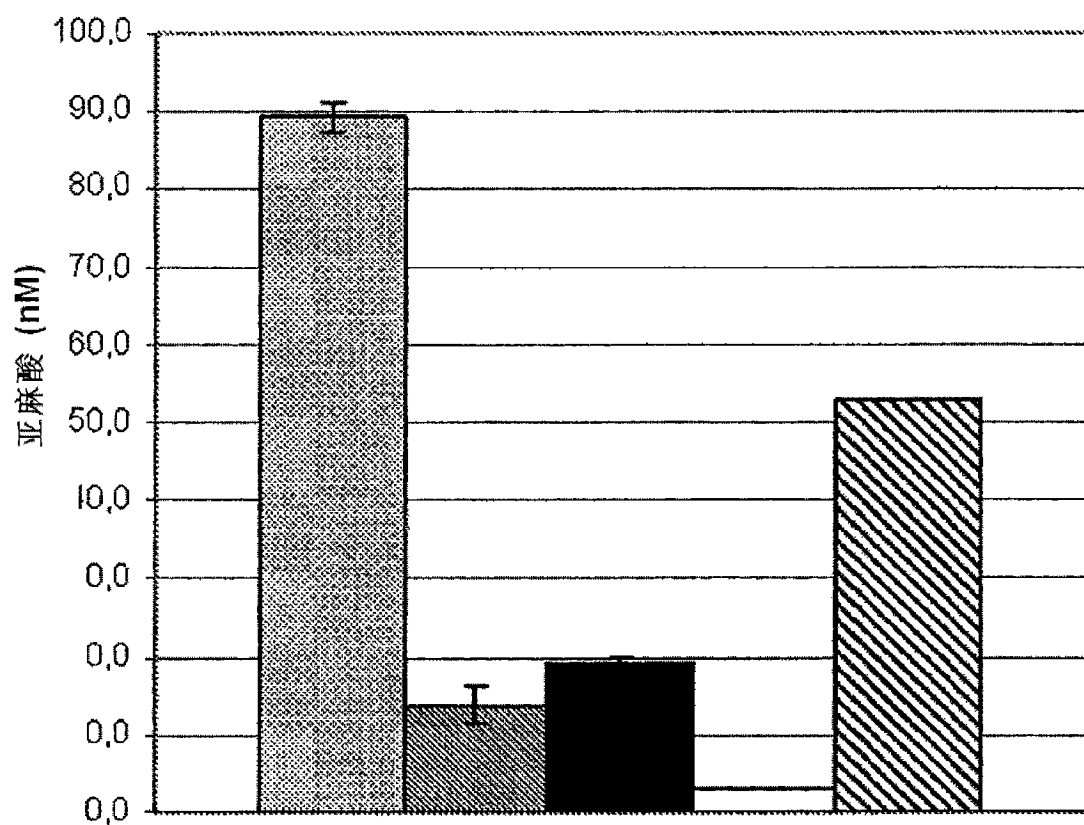


图 2

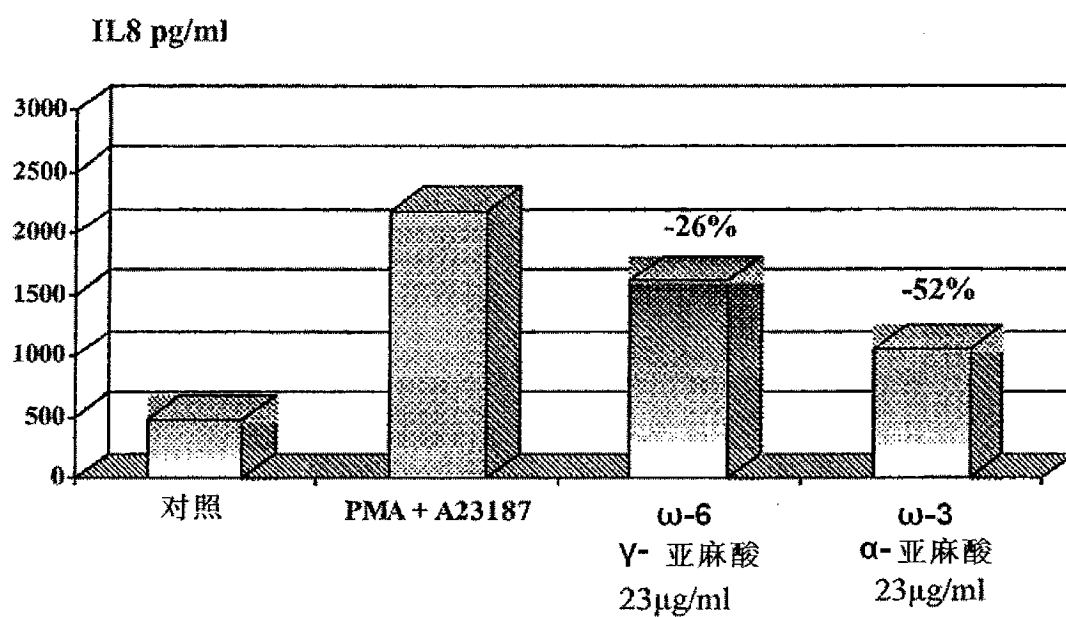


图 3

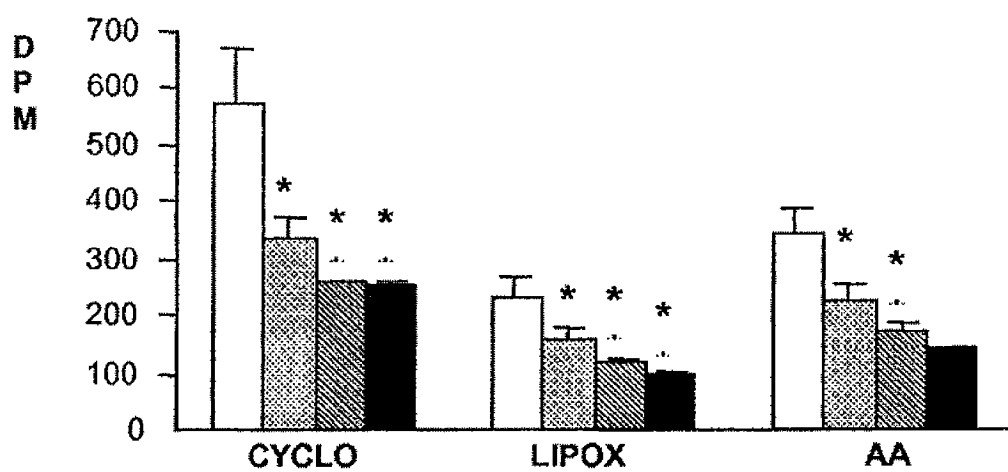


图 4A

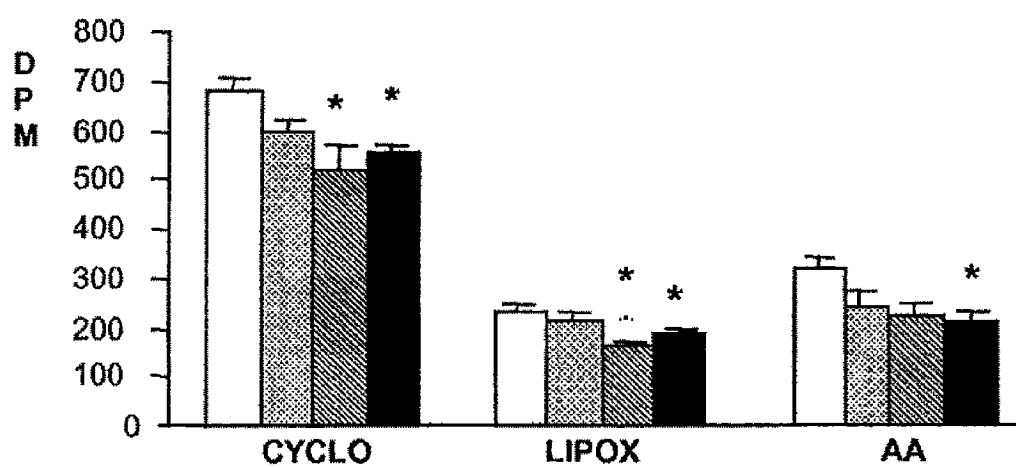


图 4B

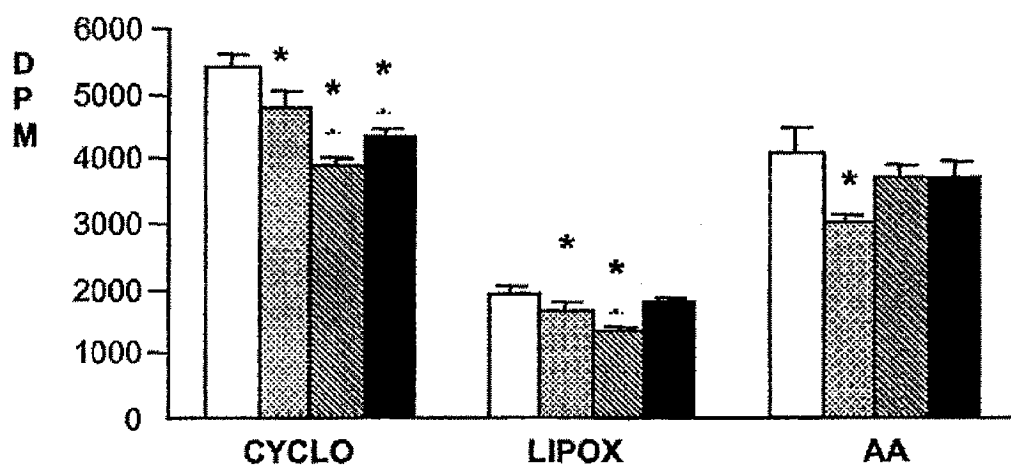


图 4C