



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201002734 A1

(43)公開日：中華民國 99 (2010) 年 01 月 16 日

(21)申請案號：098132688

(22)申請日：中華民國 91 (2002) 年 06 月 27 日

(51)Int. Cl.：

C07H15/04 (2006.01)

C07H15/14 (2006.01)

A61K8/60 (2006.01)

A61K8/68 (2006.01)

A61P17/16 (2006.01)

A61Q19/00 (2006.01)

(30)優先權：2001/06/28 日本 2001-196016

(71)申請人：花王股份有限公司 (日本) KAO CORPORATION (JP)

日本

(72)發明人：植松季榮 UEMATSU, RIE (JP)；中島史雄 NAKAJIMA, FUMIO (JP)；吉田雅宏 YOSHIDA, MASAHIRO (JP)；福永恭子 FUKUNAGA, KYOKO (JP)；原真理子 HARA, MARIKO (JP)；井上紳太郎 INOUE, SHINTARO (JP)；西村紳一郎 NISHIMURA, SHINICHIRO (JP)

(74)代理人：何金塗；何秋遠

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：3 項 圖式數：3 共 25 頁

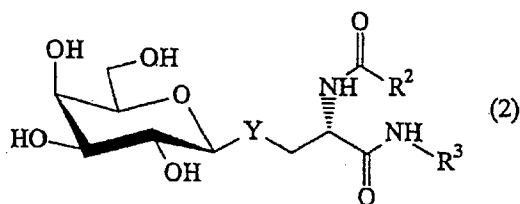
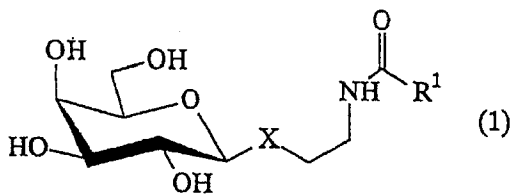
(54)名稱

粗糙皮膚改善劑

A AMELIORATING PREPARATION FOR ROUGH SKIN

(57)摘要

本發明係關於一種以下述一般式 (1) 或 (2) 所示之半乳糖苷神經醯胺同類物。



(其中，X、Y 為 S 或 O； R^1 、 R^2 為碳原子數 9~35 之烷基或烯基。 R^3 為碳原子數 2~30 之烷基或烯基。) 本發明係提供一種藉由活性化 β -葡萄糖腦苷酯酶以改善角質層穿透障礙之形成，其結果可望具有改善粗糙皮膚之效果，且易於取得之 β -葡萄糖腦苷酯酶活性化劑、皮膚外用劑及 β -葡萄糖腦苷酯酶活性化方法。



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201002734 A1

(43)公開日：中華民國 99 (2010) 年 01 月 16 日

(21)申請案號：098132688

(22)申請日：中華民國 91 (2002) 年 06 月 27 日

(51)Int. Cl.：

C07H15/04 (2006.01)

C07H15/14 (2006.01)

A61K8/60 (2006.01)

A61K8/68 (2006.01)

A61P17/16 (2006.01)

A61Q19/00 (2006.01)

(30)優先權：2001/06/28 日本 2001-196016

(71)申請人：花王股份有限公司 (日本) KAO CORPORATION (JP)

日本

(72)發明人：植松季榮 UEMATSU, RIE (JP)；中島史雄 NAKAJIMA, FUMIO (JP)；吉田雅宏 YOSHIDA, MASAHIRO (JP)；福永恭子 FUKUNAGA, KYOKO (JP)；原真理子 HARA, MARIKO (JP)；井上紳太郎 INOUE, SHINTARO (JP)；西村紳一郎 NISHIMURA, SHINICHIRO (JP)

(74)代理人：何金塗；何秋遠

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：3 項 圖式數：3 共 25 頁

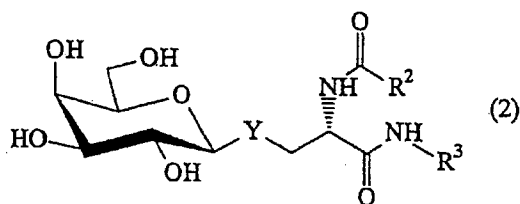
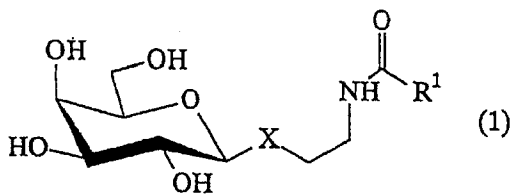
(54)名稱

粗糙皮膚改善劑

A AMELIORATING PREPARATION FOR ROUGH SKIN

(57)摘要

本發明係關於一種以下述一般式 (1) 或 (2) 所示之半乳糖苷神經醯胺同類物。



(其中，X、Y 為 S 或 O； R^1 、 R^2 為碳原子數 9~35 之烷基或烯基。 R^3 為碳原子數 2~30 之烷基或烯基。) 本發明係提供一種藉由活性化 β -葡萄糖腦苷酯酶以改善角質層穿透障礙之形成，其結果可望具有改善粗糙皮膚之效果，且易於取得之 β -葡萄糖腦苷酯酶活性化劑、皮膚外用劑及 β -葡萄糖腦苷酯酶活性化方法。

六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於一種新穎半乳糖苷神經醯胺同類物；使用這些之 β -葡萄糖腦苷酯酶活性化劑、皮膚外用劑及 β -葡萄糖腦苷酯酶活性化方法。進一步詳言之，係關於一種藉由特定之半乳糖苷神經醯胺同類物以活性化表皮中之 β -葡萄糖腦苷酯酶之 β -葡萄糖腦苷酯酶活性化劑、皮膚外用劑及 β -葡萄糖腦苷酯酶活性化方法。此等被期待用以改善粗糙皮膚及各種皮膚疾病。

【先前技術】

所謂粗糙皮膚（乾燥皮膚），一般係指經確認具有角質層細胞剝離現象之處於乾燥狀態的皮膚。此類粗糙皮膚之發生原因係膽固醇、神經醯胺、脂肪酸等之角質層細胞間脂質之溶析，以及肇因於紫外線、清潔劑之角質層細胞之變性或因表皮細胞之增殖・角化失衡所導致之角質層穿透障礙之形成不全等。以預防或治療此粗糙皮膚為目的，已進行供給角質層細胞間脂質成分或與其類似之合成角質層細胞間脂質、或投與表皮增殖因子（EGF; Epidermal Growth Factor）等之表皮細胞增殖・角化調節物質等之研究。

該角質層細胞間脂質，係由棘細胞層與粒層之細胞所生合成之層板顆粒，釋放於角質層正下方之細胞間隙，並延伸形成層板（lamella）結構，而擴散於細胞間隙者。層板顆粒雖係由葡萄糖苷神經醯胺、膽固醇、神經醯胺、磷脂質等所構成，但角質層細胞間脂質中幾乎不含葡萄糖苷神經醯胺。亦即，層板顆粒中之葡萄糖苷神經醯胺，因 β -葡萄糖腦苷酯酶而被水解並轉變為神經醯胺。而該神經醯胺形成層板結構之結果，做為

角質層細胞間脂質被認為可改善角質層穿透障礙之形成，具有粗糙皮膚防禦障礙之機能。例如，在 β -葡萄糖腦苷酯酶遺傳上完全缺失（deletion）之高歇病（Gaucher's disease）第2型之患者中，可觀察到病態之粗糙皮膚。又，藉由該表皮之組織學研究，確認角質層細胞間脂質之層板結構的異常。又，在 β -葡萄糖腦苷酯酶以人為方式使其缺失之轉殖基因小鼠中，亦確認角質層細胞間脂質之層板結構的異常與粗糙皮膚間之關連性。進一步，實驗中，在 β -葡萄糖腦苷酯酶受抑制時，亦觀察到粗糙皮膚與角質層細胞間脂質之層板構造的異常。根據此諸事實，一般認為在形成正常之角質層穿透障礙時，葡萄糖苷神經醯胺必須藉由 β -葡萄糖腦苷酯酶水解為神經醯胺。因此，藉由活性化 β -葡萄糖腦苷酯酶，被認為可改善角質層穿透障礙之形成，其結果可改善粗糙皮膚。

在此背景下，過去，已知自豚鼠脾臟所發現之SAP-2或人類高歇病脾臟所發現之Ala或SaposinC為 β -葡萄糖腦苷酯酶之活性化因子。

惟，此等活性化因子係蛋白質，外用此等以活性化表皮之 β -葡萄糖腦苷酯酶，存在經皮吸收性或安全上之重大問題。又，分離此等蛋白質以供產業上之利用，就成本面而言極為困難。

此外，已知 β -半乳糖苷神經醯胺為非蛋白質之 β -葡萄糖腦苷酯酶之活性化因子。

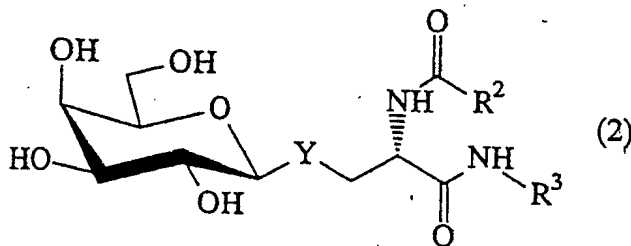
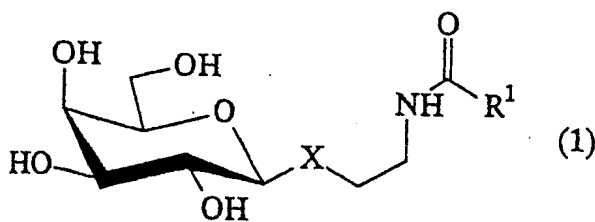
惟，實際上可利用之 β -半乳糖苷神經醯胺係來自牛腦萃取物，將此等用於外用時，在安全性上存在重大問題。又， β -半乳糖苷神經醯胺之大量合成極為困難，且成本過高，而為產業上利用時之缺點。

因此，本發明之目的係提供一種藉由活性化 β -葡萄糖腦苷酯酶以改善角質層穿透障礙之形成，其結果可望具有改善粗糙皮膚之效果，且易於取得之 β -葡萄糖腦苷酯酶活性化劑、皮膚外用劑及 β -葡萄糖腦苷酯酶活性化方法。

【發明內容】

因此，有鑑於上述狀況，本發明人等就解決習知問題之方法戮力研究，其結果發現：藉由下述之特定化合物，出乎意料地可極為容易、且強力地使表皮中之 β -葡萄糖腦苷酯酶活性化，而完成本發明。

亦即，本發明係一種下述一般式(1)或(2)所示之 β -半乳糖苷神經醯胺同類物；使用這些之 β -葡萄糖腦苷酯酶活性化劑、皮膚外用劑及 β -葡萄糖腦苷酯酶活性化方法。



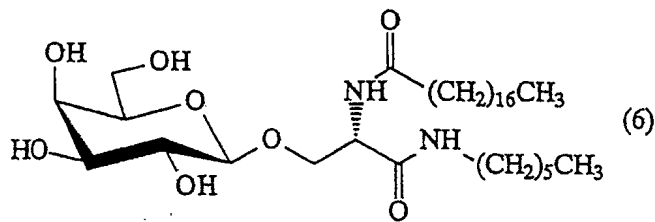
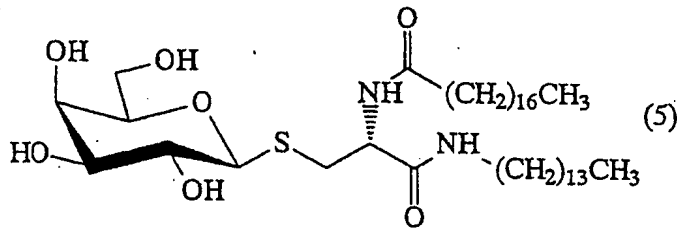
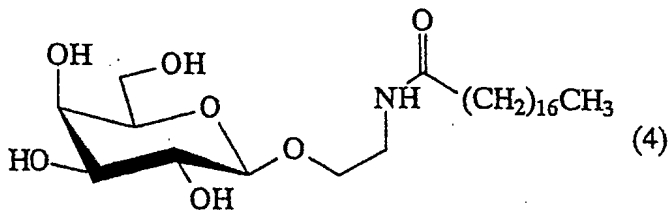
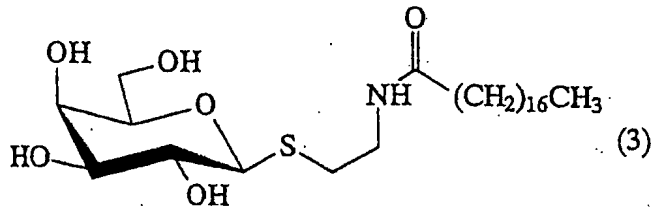
(其中，X、Y 為 S 或 O； R^1 、 R^2 為碳原子數 9~35 之烷基或烯基。 R^3 為碳原子數 2~30 之烷基或烯基。)

【實施方式】

實施發明之最佳型態

本發明所使用之半乳糖苷神經醯胺同類物，係由上述一般式(1)或(2)所示。X、Y 為硫原子或氧原子，就效果上而言，

以硫原子較佳。R¹及 R² 為碳原子數 9~35，較佳者為碳原子數 14~22，最佳者為碳原子數 16~20。R³ 為碳原子數 2~30，較佳者為碳原子數 14~22，最佳者為碳原子數 6~14。又，R¹、R²、R³ 可為飽和，亦可為不飽和。具體而言，可列舉下述一般式 (3) ~ (6) 之化學式所示者。



此等化合物，可輕易根據習知之醯胺合成方法而製得。例如，表示合成方法之概略時，具有兩股烷鏈之一般式 (2) 所示之化合物可以下述方法製得：在保護胺、羧酸部分之絲胺酸或半胱胺酸上，藉由轉葡萄糖作用引入半乳糖後，藉由胺基部分之去保護及縮合反應，引入一個烷基，其次，去除羧酸之保護基，並與三氯化磷作用形成酸氯化物後，再與一級胺反應。又

，具有單股化合物之一般式（1）所示之化合物亦可以相同方法製得。

本發明相關之 β -葡萄糖腦苷酯酶活性化劑係一種組合物，其係含有1種或2種以上上述一般式（1）或（2）所示之半乳糖苷神經醯胺同類物用以做為改善粗糙皮膚之有效成分。

本發明相關之 β -葡萄糖腦苷酯酶活性化劑、皮膚外用劑，可製成軟膏、化妝水、乳液、乳劑（milk）、粉撲（puff）劑、面膜、噴霧、泡沫、顆粒、粉末、凝膠等各種劑型。又，本發明中，所謂皮膚外用劑係以包含頭皮之身體所有皮膚為對象，包含沐浴劑。基材只要是一般所用之外用基劑即可，並無特殊限制。又，最終型態可做為化妝料、醫藥品、半藥品（quasi-drug）。

β -葡萄糖腦苷酯酶活性化劑、皮膚外用劑中，半乳糖苷神經醯胺同類物之混合量，以組成物總量為基準，以總組成量之0.005~5.0質量%為佳，以0.01~3.0質量%更佳。混合量未滿0.005質量%時，本發明之目的效果有時將不夠充分；反之，超過5.0質量%時，有時其增加量亦未能具有相對應效果之提升。

實施例

以下，藉由實施例以詳細說明。又，本發明未受限於以下之實施例。

實施例 1

N-〔2- β -D-吡喃半乳糖苷硫基-1-(十四基甲醯基)乙基〕十八醯基醯胺〔一般式（5）之化合物〕之製造

（1）將1,2,3,4,6-五-O-乙醯基- β -D-吡喃半乳糖苷 300mg 與2-(苜氧羰胺基)-3-氫硫丙酸甲酯 430mg 溶解於氯仿 4mL 中

，冷卻至 0℃ 後，添加三氟化硼二乙醚配位化合物 1.3mL，並在室溫下攪拌 20 小時。將氯仿添加於反應混合液中，以飽和碳酸氫鈉水溶液與飽和食鹽水洗淨。藉由以分取薄層層析法（展開溶媒：正己烷：乙酸乙酯 = 3：2）將殘渣予以精製，製得 2-(苜氧羰胺基)-3-(2,3,4,6-四-O-乙醯基-β-D-吡喃半乳糖苷硫基)丙酸甲酯 370mg。

(2) 將 2-(苜氧羰胺基)-3-(2,3,4,6-四-O-乙醯基-β-D-吡喃半乳糖苷硫基)丙酸甲酯 370mg 溶解於 1,4-二噁烷 5mL 與甲醇 5mL 之混合溶液中，再添加 20% 氫氧化鈉 200mg，並在氫氣流下攪拌 18 小時。使用析來得™ 過濾分開雜質後，將濾液予以減壓濃縮。將殘渣溶解於 DMF 6mL 中，添加硬脂酸 193mg、EDC [1-乙基-3-(3-二甲胺丙基)碳化二亞胺] 180mg、HOBt (1-羥苯並三唑) 140mg，在室溫下攪拌一晚。以乙酸乙酯萃取反應混合液，以 2 莫耳/L 鹽酸與飽和碳酸氫鈉水溶液洗淨後，以無水硫酸鎂將乙酸乙酯層予以乾燥，其次減壓下去除溶媒。最後藉由使用中壓管柱層析法（洗析溶媒：正己烷：乙酸乙酯 = 4：1）將所得之殘渣予以精製，製得 2-(十八醯胺基)-3-(2,3,4,6-四-O-乙醯基-β-D-吡喃半乳糖苷硫基)丙酸甲酯 313mg。

(3) 將 2-(十八醯胺基)-3-(2,3,4,6-四-O-乙醯基-β-D-吡喃半乳糖苷硫基)丙酸甲酯 313mg 溶解於吡啶 6mL 中，再添加碘化鋰 515mg 後，在氮氣氛圍環境下，加熱回流 4 小時。以乙酸乙酯萃取反應混合液後，以 2 莫耳/L 鹽酸洗淨後，以無水硫酸鎂將乙酸乙酯層予以乾燥，其次減壓下去除溶媒。最後藉由使用中壓管柱層析法（洗析溶媒：氯仿：甲醇 = 15：1）將所得之殘渣予以精製，製得 2-(十八醯胺基)-3-(2,3,4,6-四

-O-乙醯基 - β -D-吡喃半乳糖苷硫基)丙酸 247mg。

(4) 將 2-(十八醯胺基)-3-(2,3,4,6-四-O-乙醯基 - β -D-吡喃半乳糖苷硫基)丙酸 247mg 溶解於 DMF 4mL 中，添加正十四胺 80mg、EDC 100mg、HOBt 80mg，在室溫下攪拌 17 小時。以乙酸乙酯萃取反應混合液，以 2 莫耳/L 鹽酸與飽和碳酸氫鈉水溶液洗淨後，以無水硫酸鎂將乙酸乙酯層予以乾燥，其次減壓下去除溶媒。最後藉由使用中壓管柱層析法（洗析溶媒：正己烷：乙酸乙酯 = 3：1）將所得之殘渣予以精製，製得 N-[1-(十四基甲醯基)-2-(2,3,4,6-四-O- β -D-吡喃半乳糖苷硫基)乙基]十八醯基醯胺 278mg。

(5) 將 N-[1-(十四基甲醯基)-2-(2,3,4,6-四-O- β -D-吡喃半乳糖苷硫基)乙基]十八醯基醯胺 278mg 溶解於 THF 5mL 與甲醇 5mL 之混合溶媒中，添加觸媒量之 28% 甲醇鈉甲醇溶液，在室溫下攪拌 1 小時。使用陽離子交換樹脂（道愛克斯™ 50-X8）中和反應混合液後，過濾分開樹脂，並將濾液予以減壓濃縮。最後藉由以甲醇將殘渣予以結晶化，製得白色結晶之 N-[2-(β -D-吡喃半乳糖苷硫基)-1-(十四基甲醯基)乙基]十八醯基醯胺 202mg。

NMR (DMSO- d_6) δ : 0.86 (t, 3H, J=5.9Hz), 1.24 (s, 46H), 1.35-1.55 (m, 4H), 2.15-2.50 (m, 2H), 3.71 (bs, 1H), 4.24 (dt, 1H), 7.71 (bt, 1H), 7.92 (d, 1H, J=7.9Hz).

TOF-MS: m/z 768 (M+Na)⁺, 784 (M+K)⁺.

元素分析值 (以 $C_{41}H_{80}N_2O_7S \cdot 1/10H_2O$ 為準)

計算值 (%) C, 65.93; H, 10.82; N, 3.75; S, 4.29

實測值 (%) C, 65.67; H, 10.82; N, 3.68; S, 4.29.

實施例 2

N-〔2-(β -D-吡喃半乳糖苷氧基)乙基〕十八醯基醯胺〔一般式(4)之化合物〕之製造

(1) 將 1,2,3,4,6-五-O-乙醯基- β -D-吡喃半乳糖苷 1.8g 與 2-(苄氧羰胺基)乙醇 1.2g 溶解於 1,2-二氯乙烷 10mL 中，冷卻至 0℃ 後，添加三氟化硼二乙醚配位化合物 3.6mL，並在室溫下攪拌 17 小時。將氯仿添加於反應混合液中，以飽和碳酸氫鈉水溶液與飽和食鹽水洗淨。藉由以矽膠管柱層析法（洗析溶媒：正己烷：乙酸乙酯 = 3：1）將殘渣予以精製，製得 2-(2,3,4,6-O-四-苄醯基- β -D-吡喃半乳糖苷氧基)乙基胺基甲酸苄酯 1.3g。

(2) 將 2-(2,3,4,6-O-四-苄醯基- β -D-吡喃半乳糖苷氧基)乙基胺基甲酸苄酯 250mg 溶解於 1,4-二噁烷 3mL 與甲醇 3mL 之混合溶液中，再添加 20% 氫氧化鈉 170 mg，並在氫氣流下攪拌 18 小時。使用析來得™過濾分開雜質後，將濾液予以減壓濃縮。將殘渣溶解於 DMF 5mL 中，添加硬脂酸 123mg、EDC 90mg、HOBt 75mg，在室溫下攪拌一晚。以乙酸乙酯萃取反應混合液，以 2 莫耳/L 鹽酸與飽和碳酸氫鈉水溶液洗淨後，以無水硫酸鎂將乙酸乙酯層予以乾燥，其次減壓下去除溶媒。最後藉由使用矽膠管柱層析法（洗析溶媒：正己烷：乙酸乙酯 = 1：1）將所得之殘渣予以精製，製得 N-〔2-(2,3,4,6-四-O-苄醯基- β -D-吡喃半乳糖苷氧基)乙基〕十八醯基醯胺 103mg。

(3) 將 N-〔2-(2,3,4,6-四-O-苄醯基- β -D-吡喃半乳糖苷氧基)乙基〕十八醯基醯胺 103mg 溶解於 1,4-二噁烷 2mL 與甲醇 2mL 之混合溶液中，添加觸媒量之 28% 甲醇鈉甲醇溶液，在室溫下攪拌 4 小時。使用陽離子交換樹脂（道愛克斯™ 50-X8

) 中和反應混合液後，過濾分開樹脂，並將濾液予以減壓濃縮。最後藉由以甲醇將殘渣予以結晶化，製得白色結晶之 N-[2-(β -D-吡喃半乳糖苷氧基)乙基]十八醯基醯胺 59mg。

NMR (DMSO- d_6) δ : 0.84 (t, 3H, J=6.4Hz), 1.26 (s, 28H), 1.45-1.50 (m, 2H), 2.04 (t, 2H, J=7.5Hz), 3.40-3.50 (m, 3H), 3.61 (bs, 1H), 3.68 (dt, 1H, J=5.8, 10.2Hz), 4.05 (d, 1H, J=6.7Hz), 4.32, 4.56, 4.67, 4.81 (4bs, 4H), 7.72 (t, 1H, J=5.6Hz).

TOF-MS: m/z 512 (M+Na)⁺, 528 (M+K)⁺.

元素分析值 (以 $C_{26}H_{51}NO_7 \cdot 1/5H_2O$ 為準):

計算值 (%) C, 63.31; H, 10.50; N, 2.84

實測值 (%) C, 63.14; H, 10.22; N, 2.86.

實施例 3

N-[2-(β -D-吡喃半乳糖苷硫基)乙基]十八醯基醯胺 [一般式 (3) 之化合物] 之製造

(1) 將 2-(2,3,4,6-四-O-苯醯基- β -D-吡喃半乳糖苷硫基)乙基胺基甲酸苄酯 1.0g 溶解於甲醇 10mL 與 1,4-二噁烷 10mL 之混合溶液中，添加氫氧化鈣 1g，在氫氣流下攪拌 6 小時。使用析來得™ 過濾分開雜質後，將濾液予以減壓濃縮。將殘渣溶解於 DMF 10mL 中，添加硬脂酸 432mg、EDC 364mg、HOBT 257mg，在室溫下攪拌一晚。以氫仿稀釋反應混合液，以 2 莫耳/L 鹽酸與飽和碳酸氫鈉水溶液洗淨後，以無水硫酸鎂將氫仿層予以乾燥，其次減壓下去除溶媒。最後藉由使用矽膠管柱層析法 (洗析溶媒: 正己烷: 乙酸乙酯 = 3:1) 將所得之殘渣予以精製，製得 N-[2-(2,3,4,6-四-O-苯醯基- β -D-吡喃半乳糖苷硫基

)乙基]十八醯基醯胺 442mg。

(3) 將 N-[2-(2,3,4,6-四-O-苯醯基-β-D-吡喃半乳糖苷硫基)乙基]十八醯基醯胺 440mg 溶解於 1,4-二噁烷 10mL 與甲醇 15mL 之混合溶媒中，添加觸媒量之 28% 甲醇鈉甲醇溶液，在室溫下攪拌 2 小時。使用陽離子交換樹脂(道愛克斯™50-X8)中和反應混合液後，過濾分開樹脂，並將濾液予以減壓濃縮。最後藉由以甲醇將殘渣予以結晶化，製得白色結晶之 N-[2-(β-D-吡喃半乳糖苷硫基)乙基]十八醯基醯胺 209mg。

NMR (DMSO-d₆) δ: 0.84 (t, 3H, J=6.4Hz), 1.26 (s, 28H), 1.45-1.50 (m, 2H), 2.04 (t, 2H, J=7.5Hz), 3.40-3.50 (m, 3H), 3.61 (bs, 1H), 3.68 (dt, 1H, J=5.8, 10.2Hz), 4.05 (d, 1H, J=6.7Hz), 4.32, 4.56, 4.67, 4.81 (4bs, 4H), 7.72 (t, 1H, J=5.6Hz).

TOF-MS: m/z 512 (M+Na)⁺, 528 (M+K)⁺.

元素分析值 (以 C₂₆H₅₁NO₇ · 1/5H₂O 為準):

計算值 (%) C, 63.31; H, 10.50; N, 2.84

實測值 (%) C, 63.14; H, 10.22; N, 2.86.

實施例 4

N-[2-(β-D-吡喃半乳糖苷氧基)-1-(己基甲醯基)乙基]十八醯基醯胺 [一般式(6)之化合物] 之製造

(1) 將 2-(2,3,4,6-四-O-苯醯基-β-D-吡喃半乳糖苷硫基)乙基胺基甲酸苄酯 2.4g 與 3-羥基-2-(十八醯胺基)丙酸甲酯 1g 溶解於氯仿 35mL 中，冷卻至 0°C 後，添加 N-碘琥珀酸亞胺 1.4g 與三氟甲磺酸 0.13mL，在室溫下攪拌 3 小時。其次，將氯仿添加於反應液中，以飽和碳酸氫鈉水溶液與 10% 硫代硫酸

鈉水溶液洗淨。以無水硫酸鎂將氯仿層予以乾燥後，過濾分開硫酸鎂，並將濾液予以減壓濃縮。藉由以矽膠管柱層析法（洗析溶媒：正己烷：乙酸乙酯 = 3：1）將殘渣予以精製，製得 2-(十八醯胺基)-3-(2,3,4,6-四-O-苯醯基-β-D-吡喃半乳糖苷氧基)丙酸甲酯 1.4g。

(2) 將 2-(十八醯胺基)-3-(2,3,4,6-四-O-苯醯基-β-D-吡喃半乳糖苷氧基)丙酸甲酯 1.4g 溶解於吡啶 26mL 中，再添加碘化鋰 1.7g 後，在氮氣氛圍環境下，加熱回流 4 小時。將氯仿添加於反應混合液中，以 2 莫耳/L 鹽酸洗淨後，以無水硫酸鎂將氯仿層予以乾燥，其次減壓下去除溶媒。最後藉由使用矽膠管柱層析法（洗析溶媒：氯仿：甲醇 = 60：1）將所得之殘渣予以精製，製得 2-(十八醯胺基)-3-(2,3,4,6-四-O-苯醯基-β-D-吡喃半乳糖苷氧基)丙酸 940mg。

(3) 將 2-(十八醯胺基)-3-(2,3,4,6-四-O-苯醯基-β-D-吡喃半乳糖苷氧基)丙酸 940mg 溶解於 DMF 10mL 中，添加正己胺 120mg、EDC 285mg、HOBT 201mg，在室溫下攪拌 4 小時。將氯仿添加於反應混合液中，以 2 莫耳/L 鹽酸與飽和碳酸氫鈉水溶液洗淨後，以無水硫酸鎂將氯仿層予以乾燥，其次減壓下去除溶媒。最後藉由使用矽膠管柱層析法（洗析溶媒：正己烷：乙酸乙酯 = 3：1）將所得之殘渣予以精製，製得 N-[1-(己基甲醯基)-2-(2,3,4,6-四-O-苯醯基-β-D-吡喃半乳糖苷氧基)乙基]十八醯基醯胺 295mg。

(4) 將 N-[1-(己基甲醯基)-2-(2,3,4,6-四-O-苯醯基-β-D-吡喃半乳糖苷氧基)乙基]十八醯基醯胺 290mg 溶解於 1,4-二噁烷 5mL 與甲醇 5mL 之混合溶媒中，添加觸媒量之 28% 甲醇鈉甲醇溶液，在室溫下攪拌 3 小時。使用陽離子交換樹脂（道

愛克斯™50-X8) 中和反應混合液後，過濾分開樹脂，並將濾液予以減壓濃縮。最後藉由以蒸餾水將殘渣予以結晶化，製得白色結晶之 N-〔2-(β-D-吡喃半乳糖苷氧基)-1-(己基甲醯基)乙基〕十八醯基醯胺 144mg。

NMR (DMSO-d₆) δ : 0.85 (t, 3H, J=6.6Hz), 1.26 (s, 30H), 1.45-1.50 (m, 2H), 2.00-2.10 (t, 2H, J=7.2Hz), 2.55-2.70 (m, 2H), 3.20-3.25 (m, 2H), 3.30-3.40 (m, 2H), 3.45-3.50 (m, 2H), 3.68 (bs, 1H), 4.20 (d, 1H, J=9.0Hz), 4.37 (d, 1H, J=4.8Hz), 4.55 (d, 1H, J=5.4Hz), 4.76 (d, 1H, J=5.4Hz), 4.92 (d, 1H, J=5.4Hz), 7.84 (bt, 1H)。

TOF-MS : m/z 528 (M+Na)⁺, 544 (M+K)⁺。

元素分析值 (以 C₂₆H₅₁NO₆S 為準) :

計算值 (%) C, 61.75; H, 10.16; N2.77; S, 6.34

實測值 (%) C, 61.65; H, 10.10; N2.77; S, 6.35

實驗例 1 表皮細胞之 β-葡萄糖腦苷酯酶活性化能測定試驗

(1) 方法

(a) 培養表皮細胞

使用市售之人類正常表皮角化細胞 (Epidercell™ : 樂保公司製)。

(b) 細胞培養用培養基

使用 Medium154S (樂保公司製) 做為培養基，又使用添加劑 HKGS (樂保公司製) 添加其中以做為增殖因子。

(c) HEPES 緩衝液之調製

將 HEPES 7.15g、葡萄糖 1.8g、氯化鉀 0.22g、氯化鈉 7.7g、磷酸氫二鈉·12 水合物 0.27g 溶解於純水中，以 1 莫耳/L

氫氧化鈉水溶液調整為 pH7.4 後，加水至 1L。

(d) 細胞培養

在 Medium 154S 中將人類正常表皮細胞之細胞數調整至 2.5×10^4 個/mL 後，分別接種 4mL 於 60mm 膠原蛋白塗佈培養皿（法爾康公司製）中，並在 95% 空氣（V/V）-5% 二氧化碳氣體（V/V）之氛圍環境下，在 37°C 下靜置培養 4 日。

抽去培養上清液後，在各培養皿中，分別添加經添加上述實施例 1、2、4 所製得之各藥劑之濃度 $200 \mu\text{mol/L}$ 的乙醇溶液，且最終濃度為 $5 \mu\text{mol/L}$ 之 Medium 154S 4mL。其後，在 95% 空氣（V/V）-5% 二氧化碳氣體（V/V）之氛圍環境下，將該培養皿在 37°C 下靜置培養 4 日。又，以不含 β -半乳糖苷神經醯胺同類物而僅為單獨之乙醇做為比較例 1。

(e) 粗酵素液之萃取

抽去培養上清液，並以 1mL 之磷酸緩衝生理食鹽水洗淨 2 回後，以細胞刮杓（住友貝克萊德公司製）自培養皿中刮取細胞。添加含有 0.1mmol/L 苯甲磺醯氟之磷酸緩衝生理食鹽水，以超音波處理裝置（索尼司及馬爹力亞爾斯公司製）將細胞打碎，回收離心上清液做為粗酵素液。

(f) β -葡萄糖腦苷酯酶活性測定

以艾米爾與方德爾福爾克之方法（British Journal of Dermatology, 95 卷，第 271-274 頁，1976 年）為準進行測定。亦即，添加 100mmol/L 檸檬酸— 200mmol/L 磷酸緩衝液（pH5.6） $500 \mu\text{L}$ 與 10mmol/L 牛磺膽酸— 100mmol/L 檸檬酸— 200mmol/L 磷酸緩衝液（pH5.6） $500 \mu\text{L}$ 於粗酵素液 $50 \mu\text{L}$ 中，並在 37°C 下保溫 10 分鐘。其次，添加 0.5mmol/L 之 4-甲基傘形酮基- β -D 葡萄糖苷（西格瑪公司製） $50 \mu\text{L}$ ，在 37°C 下

保溫 60 分鐘。其後，添加 200mmol/L 碳酸鈉—碳酸氫鈉緩衝液 (pH10.5)，在激發波長 360nm、吸收波長 450nm 下測定螢光強度。酵素活性係根據由標準品之 4-甲基傘形酮 (西格瑪公司製) 之螢光強度所製作之校正曲線計算求得。

(2) 結果

如第 1 圖所示，N-〔2-(β -D-吡喃半乳糖苷氧基)乙基〕十八醯基醯胺〔實施例 2：一般式 (4) 所示之化合物〕、N-〔2- β -D-吡喃半乳糖苷硫基-1-(十四基甲醯基)乙基〕十八醯基醯胺〔實施例 1：一般式 (5) 所示之化合物〕、N-〔2-(β -D-吡喃半乳糖苷氧基)-1-(己基甲醯基)乙基〕十八醯基醯胺〔實施例 4：一般式 (6) 所示之化合物〕均被確認具有 β -葡萄糖腦苷酯酶活性化效果。

試驗例 2 小鼠之粗糙皮膚回復試驗

(1) 方法

(a) 實驗動物

使用試驗開始時為 9 週齡之無毛鼠 1 組共 5 隻。

(b) 測定裝置及條件

經皮水分蒸散量 (以下，略記為 TEWL)，係使用連續發汗測定裝置之海德魯格拉夫 AMU-100 (K&S 公司製) 進行如下之測定。將 1 平方公分之膠囊緊貼於皮膚，引入氮氣 (300mL/min) 於膠囊內，測定送入膠囊前與自膠囊回收後之氮氣中的水蒸氣量。由該值之差，算出每 1 分鐘 1 平方公分皮膚所蒸散之水分量 (mg/cm^2)，以做為 TEWL。

(c) 試驗物質與實驗方法

使用基劑 (丙二醇：乙醇 = 3：7)，將實施例 4 之化合物〔一般式 (6) 所示之化合物〕調製為濃度 0.1%、1.0%。將該

調整後之試驗物質 0.05mL，以 1 日 1 回、1 星期 5 回之頻率連續塗佈 TEWL 預先經測定之無毛鼠背部皮膚（直徑 2.5cm）4 星期。其後，自事先塗佈之最終塗佈起第 3 日照射 $0.15\text{J}/\text{cm}^2$ 之紫外線 B 波長（UVB）1 回。測定 UVB 照射前、照射後第 3 及 4 日之 TEWL，根據相對基劑塗佈前之 TEWL 的比率進行比較評估。

（2）結果

如第 2 圖及第 3 圖所示，N-〔2-（ β -D-吡喃半乳糖苷氧基）-1-（己基甲醯基）乙基〕十八醯基醯胺〔實施例 4 之化合物：一般式（6）之化合物〕在 1.0% 之濃度下，以 $p < 0.01$ （Dunnett 多重檢定）之危險率，相較於基劑單獨下，TEWL 值顯著減少，改善粗糙皮膚。

實施例 5

將實施例 1~4 所得之半乳糖苷神經醯胺同類物之 10% 乙醇溶液 10g，在水浴中加熱至 80°C ，並添加下述成分，製得 100g 之 4 種化妝水。

乳酸	0.3g
檸檬酸鈉	0.1g
甘油	2.0g
防腐劑、香料及界面活性劑	適量
純水	以 100g 為總量之殘餘量

產業上利用之可能性

如以上記載，顯而易見本發明可提供一種簡便且容易合成之表皮之 β -葡萄糖腦苷酯酶活性化劑。又，根據本發明可預防與防禦粗糙皮膚及改善各種皮膚疾病。

【圖式簡單說明】

第 1 圖所示為表皮細胞之 β - 葡萄糖腦苷酯酶活性化能測定試驗（試驗例 1）的結果。

第 2 圖所示為針對 UVB 所引起之粗糙皮膚，塗佈實施例 4 之化合物的效果（試驗例 2 之結果）。

第 3 圖所示為針對 UVB 所引起之粗糙皮膚，塗佈實施例 4 之化合物的效果（試驗例 2 之結果）。

【主要元件符號說明】

無。

發明專利說明書

PD1095745(3)

(本說明書格式、順序，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※ 申請案號：98132688 (由 91114141 分割)

※ 申請日：91.6.27

※IPC 分類：

C07H 15/4 (2006.01)
 C07H 15/4
 A61K 8/60 (2006.01)
 A61K 8/68 (2006.01)
 A61P 17/16 (2006.01)
 A61Q 19/00 (2006.01)

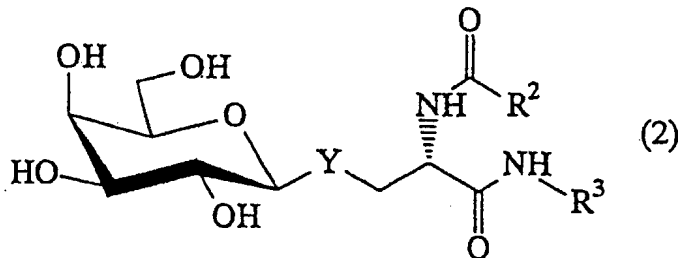
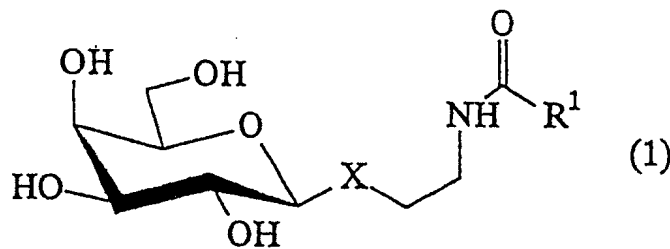
一、發明名稱：(中文/英文)

粗糙皮膚改善劑

A AMELIORATING PREPARATION FOR ROUGH SKIN

二、中文發明摘要：

本發明係關於一種以下述一般式(1)或(2)所示之半乳糖苷神經醯胺同類物。

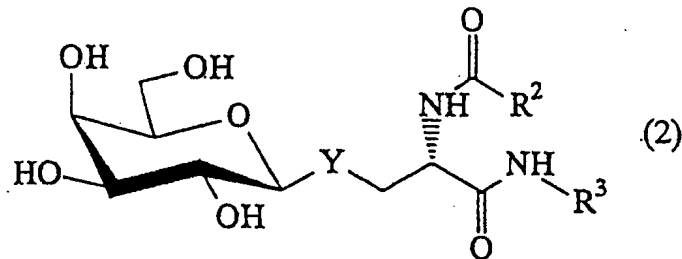
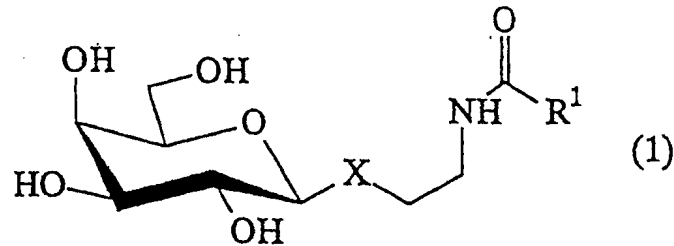


(其中，X、Y 為 S 或 O；R¹、R² 為碳原子數 9~35 之烷基或烯基。R³ 為碳原子數 2~30 之烷基或烯基。)

本發明係提供一種藉由活性化 β-葡萄糖腦苷酯酶以改善角質層穿透障礙之形成，其結果可望具有改善粗糙皮膚之效果，且易於取得之 β-葡萄糖腦苷酯酶活性化劑、皮膚外用劑及 β-葡萄糖腦苷酯酶活性化方法。

三、英文發明摘要：

The present invention is related to the compounds related with galactosylceramide which is represented by Formula (1) or (2).

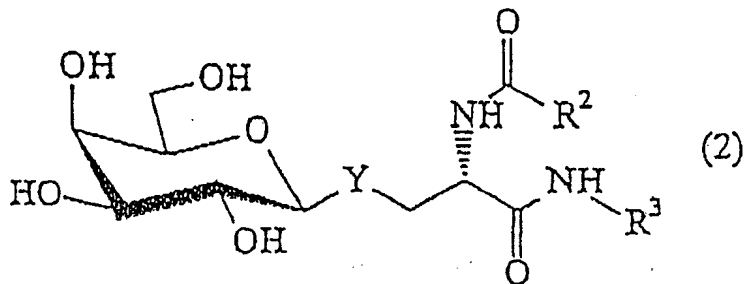
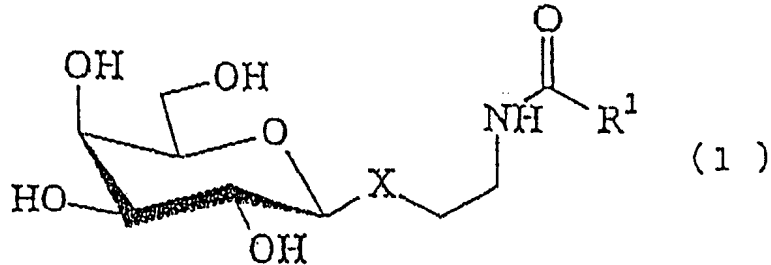


(wherein X, Y is S or O, R^1 , R^2 is a alkyl group or alkenyl group with carbon number of 9-35, and R^3 is a alkyl group or alkenyl group with carbon number of 2-30.)

The present invention provides a β -glucocerebrosidase activator which is easily available for the improvement of the formation of keratin transmission barrier by the activation of β -glucocerebrosidase and expected effect on the improvement of rough skin in result; a skin external preparation; and a method for the activation of β -glucocerebrosidase.

七、申請專利範圍：

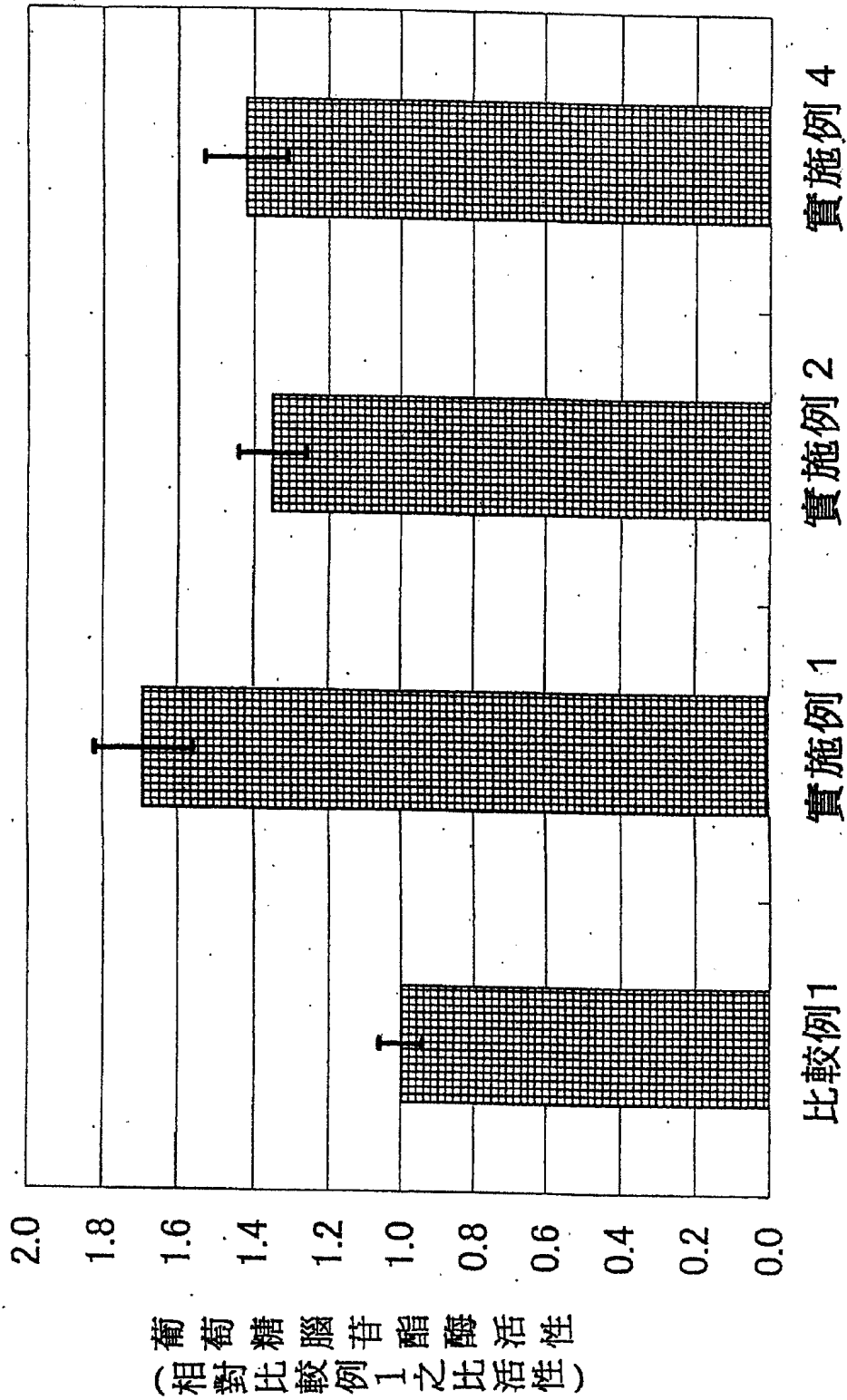
1. 一種皮膚組織之粗糙皮膚改善劑，其含有一般式(1)或(2)所示之半乳糖苷神經醯胺化合物，



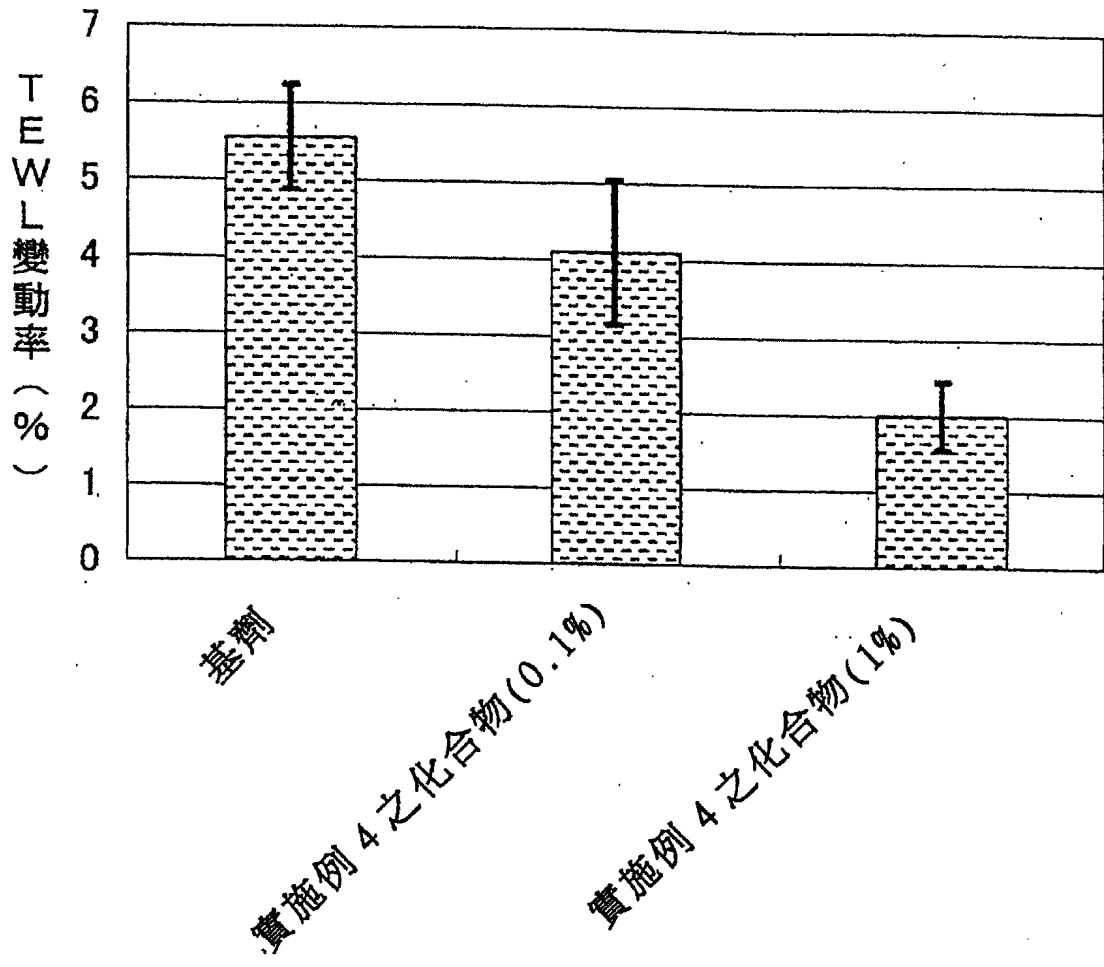
(其中，X、Y 為 S 或 O， R^1 、 R^2 為碳原子數 9~35 之烷基， R^3 為碳原子數 2~30 之烷基)。

2. 如申請專利範圍第 1 項之粗糙皮膚改善劑，其含有 0.005~5.0 質量%之一般式(1)或(2)所示之半乳糖苷神經醯胺化合物。
3. 如申請專利範圍第 1 項之粗糙皮膚改善劑，其含有 0.01~3.0 質量%之一般式(1)或(2)所示之半乳糖苷神經醯胺化合物。

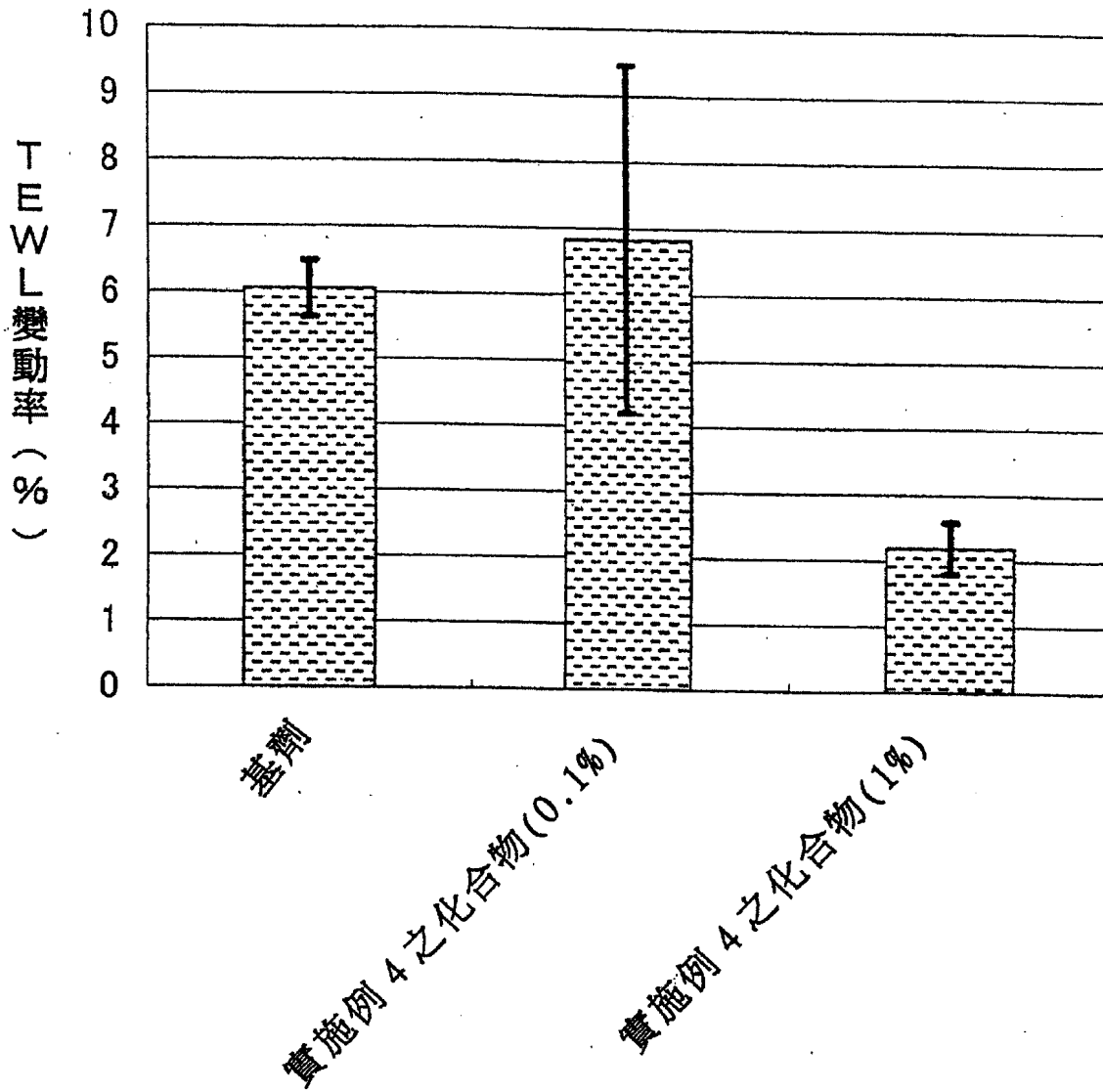
八、圖式：



第1圖



第 2 圖



第 3 圖

四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：無。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

無。

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

無。