



(21)申請案號：101125690

(22)申請日：中華民國 101 (2012) 年 07 月 17 日

(51)Int. Cl. : C07D471/04 (2006.01)

C07D487/04 (2006.01)

A61K8/49 (2006.01)

A61K31/4192 (2006.01)

A61K31/437 (2006.01)

A61P17/16 (2006.01)

A61P17/18 (2006.01)

A61Q19/08 (2006.01)

(71)申請人：高雄醫學大學(中華民國) KAOHSIUNG MEDICAL UNIVERSITY (TW)

高雄市三民區十全一路 100 號

(72)發明人：王志鈺 WANG, JEH JENG (TW) ; 胡婉萍 HU, WAN PING (TW) ; 李文俊 LEE,

WEN CHUN (TW) ; 謝欣祐 HSIEH, HSIN YU (TW)

(74)代理人：蔡清福

(56)參考文獻：

US 2010/0144814A1

審查人員：魏鳳鳳

申請專利範圍項數：9 項 圖式數：5 共 20 頁

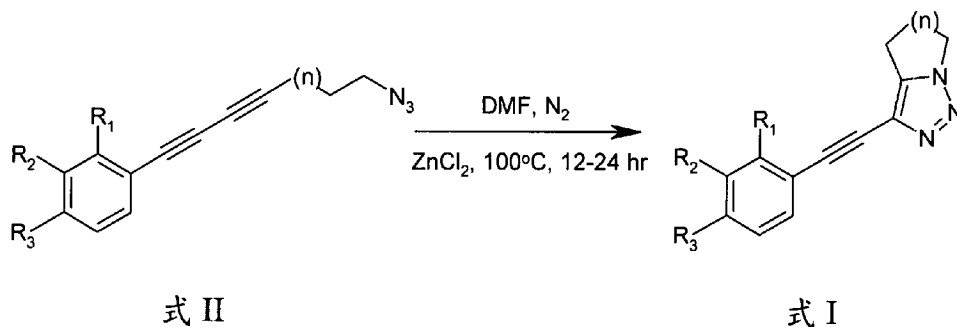
(54)名稱

3-PED4HPT 衍生物之合成與抗光老化活性之評估

SYNTHESIS AND ANTIPHOTOAGING ACTIVITY OF NOVEL 3-PED4HPT DERIVATIVES

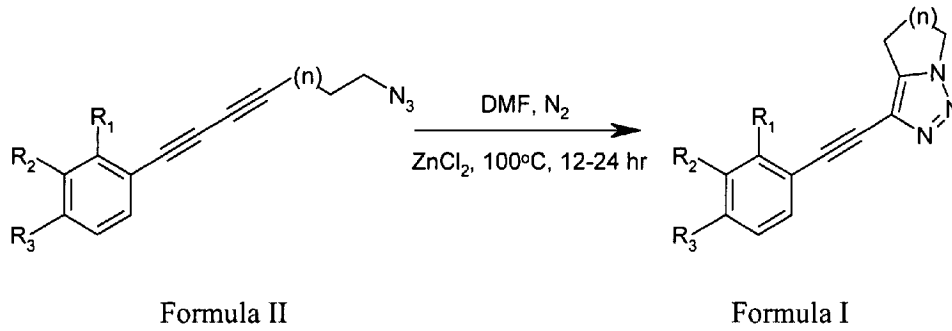
(57)摘要

本發明揭示一種用於處理皮膚光老化且包含式 I 三唑衍生物之醫藥組合物，以及式 I 三唑衍生物之製備方法，其係以式 II 起始物與氯化鋅反應而得。式 II 起始物及式 I 衍生物的 R₁、R₂ 與 R₃ 可分別為氫、鹵素、甲基、乙基、硝基、甲氧基、氨基或三鹵甲基等基團，且 n 為 1 或 2。式 I 衍生物能抑制紫外光 A 引起的皮膚纖維母細胞之傷害，降低纖維母細胞的 ROS、MMP-1 及/或 SA-β-Gal 表現量，及/或提高 ATP、粒線體膜電位、TIMP-1 及/或 COL1α1 表現量。因此式 I 衍生物具有處理、治療、改善皮膚光老化的潛能，而應用於醫療、醫學美容、美容、護膚、調理膚質、化妝品、彩妝產品等產業上。

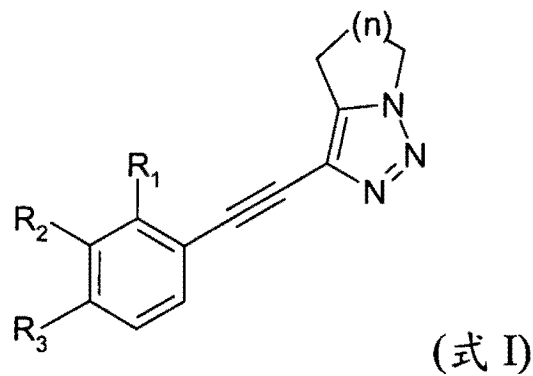


Disclosed herein are a pharmaceutical composition for treating the premature aging of skin (photoaging) and including a triazole derivative of formula I, as well as the preparation method of the derivative of formula I. The method is performed by reacting a starting material of formula II with ZnCl₂ to afford the derivative

of formula I. Each of R_1 , R_2 and R_3 in formulas I and II may be the moiety, such as -H, -X, -CH₃, -C₂H₅, -NO₂, -OCH₃, -NH₂ and -CX₃, and n denotes to 1 or 2. Derivatives of formula I can suppress UVA-induced damage in fibroblasts, decrease the levels of ROS, MMP-1 and/or SA- β -Gal, and/or increase the levels of ATP, mitochondrial membrane potential, TIMP-1 and/or COL1 α 1 in fibroblasts. Therefore, derivatives of formula I have the potential in the treatment, therapy and improvement on photoaging, and can be applied in industries, such as medical treatment, medical cosmetics, beauty, skin care, skin recuperation, cosmetics and color cosmetics, for example.



特徵化學式：



發明專利說明書

(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：101125690

※申請日：101.7.17

※IPC 分類：

C07D 471/04 (2006.01)

C07D 487/04 (2006.01)

A61K 8/49 (2006.01)

A61K 31/4192 (2006.01)

A61K 31/437 (2006.01)

A61P 17/16 (2006.01)

A61P 17/18 (2006.01)

A61Q 19/08 (2006.01)

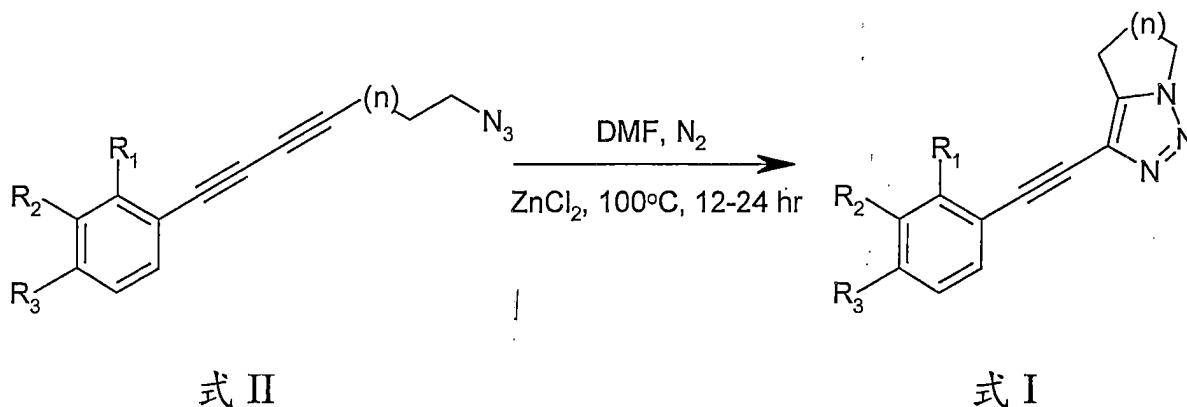
一、發明名稱：(中文/英文)

3-PED4HPT 衍生物之合成與抗光老化活性之評估

SYNTHESIS AND ANTIPHOTOAGING ACTIVITY OF NOVEL 3-PED4HPT
DERIVATIVES

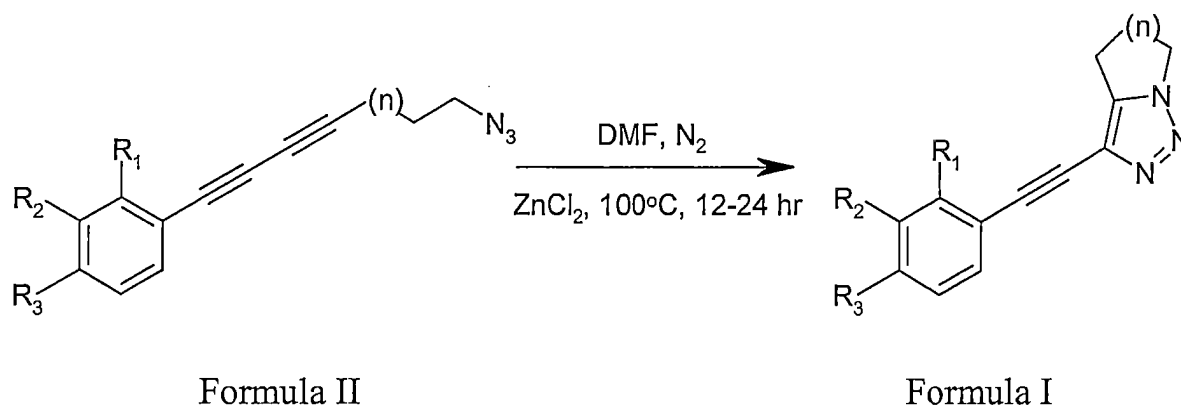
二、中文發明摘要：

本發明揭示一種用於處理皮膚光老化且包含式 I 三唑衍生物之醫藥組合物，以及式 I 三唑衍生物之製備方法，其係以式 II 起始物與氯化鋅反應而得。式 II 起始物及式 I 衍生物的 R₁、R₂ 與 R₃ 可分別為氫、鹵素、甲基、乙基、硝基、甲氧基、氨基或三鹵甲基等基團，且 n 為 1 或 2。式 I 衍生物能抑制紫外光 A 引起的皮膚纖維母細胞之傷害，降低纖維母細胞的 ROS、MMP-1 及/或 SA-β-Gal 表現量，及/或提高 ATP、粒線體膜電位、TIMP-1 及/或 COL1α1 表現量。因此式 I 衍生物具有處理、治療、改善皮膚光老化的潛能，而應用於醫療、醫學美容、美容、護膚、調理膚質、化妝品、彩妝產品等產業上。



三、英文發明摘要：

Disclosed herein are a pharmaceutical composition for treating the premature aging of skin (photoaging) and including a triazole derivative of formula I, as well as the preparation method of the derivative of formula I. The method is performed by reacting a starting material of formula II with ZnCl_2 to afford the derivative of formula I. Each of R_1 , R_2 and R_3 in formulas I and II may be the moiety, such as $-\text{H}$, $-\text{X}$, $-\text{CH}_3$, $-\text{C}_2\text{H}_5$, $-\text{NO}_2$, $-\text{OCH}_3$, $-\text{NH}_2$ and $-\text{CX}_3$, and n denotes to 1 or 2. Derivatives of formula I can suppress UVA-induced damage in fibroblasts, decrease the levels of ROS, MMP-1 and/or SA- β -Gal, and/or increase the levels of ATP, mitochondrial membrane potential, TIMP-1 and/or COL1 α 1 in fibroblasts. Therefore, derivatives of formula I have the potential in the treatment, therapy and improvement on photoaging, and can be applied in industries, such as medical treatment, medical cosmetics, beauty, skin care, skin recuperation, cosmetics and color cosmetics, for example.

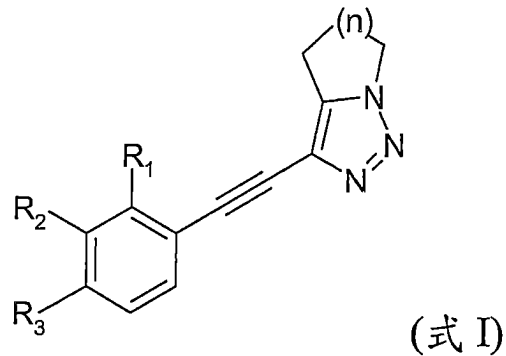


四、指定代表圖：

(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：



R₁、R₂、R₃ 為氫、鹵素、甲基、乙基、硝基、甲氧基、氨基或三鹵甲基等。n 值為 1 或 2。

六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本案係關於一種衍生物及其製備方法及用途，尤其係關於三唑衍生物及其製備方法及應用於處理皮膚光老化之用途。

【先前技術】

皮膚光老化(photoaging)主要因陽光中的紫外線照射所產生，它會使膚色變暗沉、皮膚鬆弛、皺紋產生、皮膚免疫能力下降，更有可能引致皮膚癌。即使是少量的紫外線亦會破壞膠原纖維(皮膚主要的結構性蛋白)，令一些不正常的彈性硬蛋白積聚，導致皮膚失去彈性。

皮膚光老化的症狀與真皮結締組織的組織變化及細微構造變化息息相關，這些變化包括酵素的分解以及減少新生成的膠原蛋白，使皮膚提早產生皺紋。而玻尿酸及蛋白多醣基質的改變也會導致細胞水含量減少而讓細胞鬆弛。此外紫外線引起的細胞外基質重組也強烈地影響細胞表現型，例如真皮纖維母細胞的重組能力(Rock and Fischer, *Der Hautarzt*, 2011, 62(8):591-597.)。

此外，維生素 C 及 E 已被用於藥用化妝品的配方中，但是由於維生素 C 及 E 在藥用化妝品中的濃度很低、而且在藥用化妝品開罐暴露於空氣及光線下將會降低維生素 C 及 E 的穩定度，而且維生素 C 及 E 的酯類形式或異構物形式將無法被皮膚吸收或有效地代謝，因此維生素 C 及 E 在抗由紫外線引起的紅斑、皮膚曬傷、曬黑、慢性紫外線光老化及皮膚癌上並沒有實際藥效(Burke, *Dermatologic Therapy*. 2007, 20(5): 314-321.)。

此外，Pallela 等人(Pallela et al., *Marine Drugs*. 2010, 8(4): 1189-1202)揭示了來自海洋生物的預防光線照射及抗光老化的化

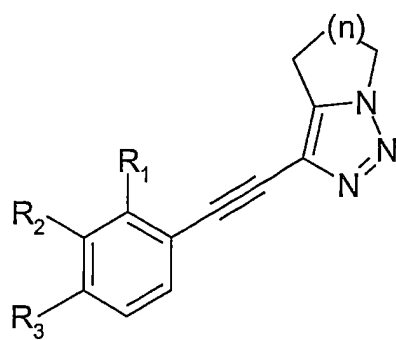
合物，例如由小珊瑚藻(*Corallina pilulifera*)的甲醇萃取物在人體真皮纖維母細胞中可藉由保護 DNA 及抑制基質金屬蛋白酶(MMP)而具有抗氧化能力及對紫外光 A 引起的氧化壓力有保護效果。Pallela 論文並揭示例如 eckol、mycosporine-glycine、palythene 等由海洋生物獲得的抗光老化物質，但其缺點在於藻類等海洋生物需進行養殖、採收、處理、萃取等程序，在工業製程上成本將相當高昂。

本案申請人鑑於習知技術中的不足，經過悉心試驗與研究，並一本鍥而不捨之精神，終構思出本案，能夠克服先前技術的不足，以下為本案之簡要說明。

【發明內容】

本發明為了尋找新穎的抗光老化衍生物或化合物，也為克服先前技術中抗光老化組成物不穩定、或需費時及費工萃取的缺點，製備出一系列能抗光老化之三唑衍生物。進一步而言，該一系列的三唑衍生物為 3-苯基乙炔基-5,6-二羥基-4 氫-吡咯[1,2-c][1,2,3]三唑衍生物(3-phenylethynyl-5,6-dihydro-4H-pyrrolo-[1,2-c][1,2,3]triazole，簡稱為 3-PED4HPT)。所合成的三唑衍生物能有效地處理、治療、改善皮膚光老化，而應用於醫療、醫學美容、美容、護膚、調理膚質、化妝品、彩妝產品等產業上。

本發明提供一種式 I 之三唑衍生物，以及提供一種用於處理皮膚光老化之醫藥組合物，包括如式 I 之三唑衍生物：

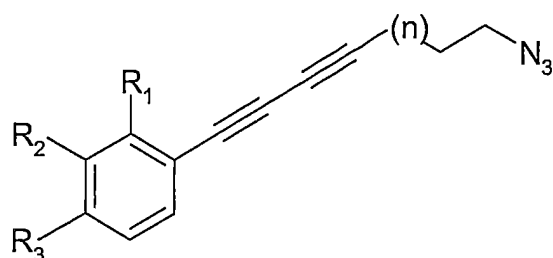


(式 I),

其中 R_1 、 R_2 、 R_3 分別為但不限制於氫、鹵素、甲基、乙基、硝基、甲氧基、氨基或三鹵甲基。鹵素可為氟、氯、溴或碘，三鹵甲基可為三氟甲基、三氯甲基、三溴甲基或三碘甲基。 n 值為 1 或 2， $n=1$ 表示該一個碳原子與其他碳原子及氮原子構成五環結構，而 $n=2$ 表示該兩個碳原子與其他碳原子及氮原子構成六環結構。

本發明還提供一種處理光老化的方法，包括將前述有效劑量之醫藥組合物給藥於需要之個體。而將導致個體細胞內的活性氧化物(ROS)、基質金屬蛋白酶-1 (MMP-1)及/或老化相關 β -半乳糖苷酶(SA- β -gal)的表現量下降，及/或三磷酸腺苷(ATP)、粒線體膜電位、金屬蛋白酶組織抑制因子-1 (TIMP-1)及/或第一型膠原蛋白 $\alpha 1$ (COL1 $\alpha 1$)的表現量上升。處理光老化之方法的目的包括但不限於醫療、醫學美容、美容、護膚、調理膚質等。

本發明還提供一種如式 I 之三唑衍生物之製備方法，包括：將如式 II 之起始物與氯化鋅進行反應，以獲得該三唑衍生物。



(式 II)

根據上述構想，起始物於氮氣環境下溶解於二甲基甲醯胺中，而且反應係於 100°C 進行至少 12 小時。在一具體實施例中，

是進行 12 至 24 小時。反應完成後，加入水溶液以終止反應。

本文的用語「衍生物(derivative)」係指一種分子中氫原子或取代基被其他原子或取代基取代而成為另一分子。本文若涉及到用語「化合物(compound)」，其係指由兩種或以兩種以上的分子以固定的莫耳比(或重量比)及於適當反應條件下，藉由化學鍵鍵結而成為另一分子。

本文的「3-PED4HPT 衍生物」或「三唑衍生物」藉由實施方式所揭示的製備方法而加以完成，而特定化合物的基團可另由其他基團取代，因此可依此精神製備出其他衍生物。因此本文中的「3-PED4HPT 衍生物」、「三唑衍生物」與「衍生物」可交叉使用。

本文的用語「紫外線」或「紫外光」包括近紫外線(紫外光 A，波長 320-400 nm)、中紫外線(紫外光 B，波長 290-320 nm)及遠紫外線(紫外光 C，波長 200-280 nm 或 200-290 nm)，但本發明具體實施例可適用但不限於紫外光 A，紫外光 B 及 C 亦可施用於本發明。

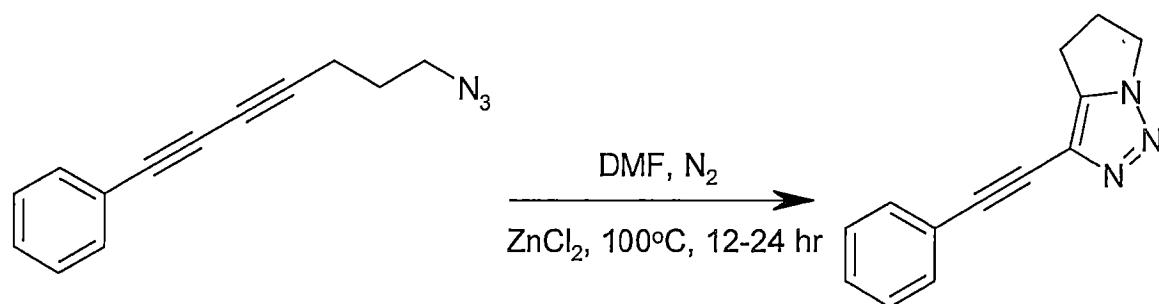
【實施方式】

本案所提出之發明將可由以下的實施例說明而得到充分瞭解，使得熟習本技藝之人士可以據以完成之，然而本案之實施並非可由下列實施例而被限制其實施型態，熟習本技藝之人士仍可依據除既揭露之實施例的精神推演出其他實施例，該等實施例皆當屬於本發明之範圍。

實驗一、製備 3-PED4HPT 衍生物

在一具體實施例中，在 100 毫升的圓底瓶中加入起始物(式 III，300 毫克，1.4 毫莫耳)以及 10 毫升的二甲基甲醯胺，通入氮

氣攪拌 5 分鐘後，加入氧化鋅(39 毫克，0.3 毫莫耳)加熱至 100°C 攪拌 12~24 小時，此時圓底瓶內顏色由透明白色轉變不透明藍黑色，點薄層色層分析片確定反應完成後，加入一次水溶液(50 ml) 終止反應。用乙酸乙酯萃取後，以管柱層析法(矽膠 0.040~0.633 毫米，乙酸乙酯/正己烷：1/100~1/3)進行純化分離，得到白色固體 243 毫克的衍生物 1，產率 81%，融點 67°C~69°C。反應方程式如下：



式 III

衍生物 1

衍生物 1 之性質： ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) : δ 7.56~7.51 (m, 2H), 7.54~7.32 (m, 3H), 4.35 (t, $J = 7.6\text{Hz}$, 2H), 3.01 (t, $J = 7.4\text{Hz}$, 2H), 2.83 (quintet, $J = 7.4\text{Hz}$, 2H)。 ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) : δ 144.12, 131.50 (2C), 128.52, 128.28 (2C), 123.98, 122.54, 92.67, 78.84, 46.85, 28.09, 20.79。

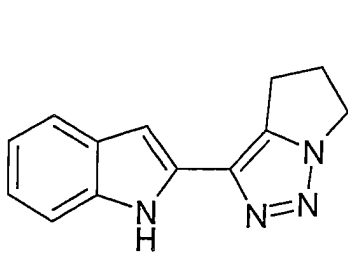
依據前述實驗方法的精神可製備出其他具有式 I 結構式的 3-PED4HPT 衍生物，如下表 1 所示。

表 1、3-PED4HPT 衍生物之範例

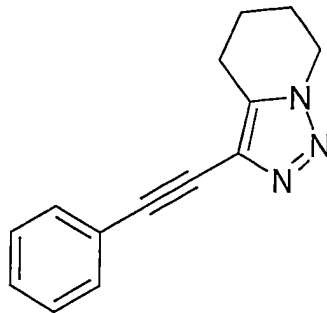
衍生物編號	分子量	儲存溶劑	化學式	R ₁	R ₂	R ₃
1	209.2465	DMSO	C ₁₃ H ₁₁ N ₃	H	H	H
2	224.2612	DMSO	C ₁₃ H ₁₂ N ₄	NH ₂	H	H
3	227.2370	DMSO	C ₁₃ H ₁₀ FN ₃	F	H	H
4	237.2997	DMSO	C ₁₅ H ₁₅ N ₃	H	H	C ₂ H ₅

5	239.2725	DMSO	$C_{14}H_{13}N_3O$	H	H	OCH ₃
6	254.2441	DMSO	$C_{13}H_{10}N_4O_2$	H	H	NO ₂
7	239.2725	DMSO	$C_{14}H_{13}N_3O$	H	OCH ₃	H
8	254.2441	DMSO	$C_{13}H_{10}N_4O_2$	H	NO ₂	H

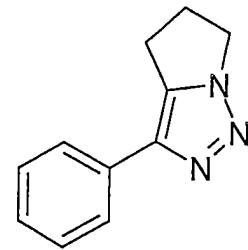
此外，本發明亦根據上述反應方程式合成出其他 3-PED4HPT 衍生物，包括衍生物 9 ($C_{13}H_{12}N_4$)、衍生物 10 ($C_{11}H_{11}N_3$, $R_1 = R_2 = R_3 = H$, $n = 2$)及衍生物 11 ($C_{11}H_{11}N_3$)，結構式分別如下：



衍生物 9



衍生物 10



衍生物 11

除了使用氯化鋅，在反應中也可使用氯化鐵、氯化鋁、三氯化硼等路易斯酸。

實驗二、細胞存活率

為了測定細胞的抗光老化程度，讓纖維母細胞(1×10^6 細胞/毫升)接受不同劑量的紫外光 A 照射，輻射劑量分別為 0、4、8、12 及 16 焦耳/平方公分，每一單位的紫外光 A (焦耳/平方公分)的照射時間為 3.5 分鐘，例如 4 焦耳/平方公分的紫外光 A 的照射時間為 14 分鐘。請參閱第 1 圖，其為紫外光 A 照射於纖維母細胞之輻射劑量與細胞存活率之關係圖。在第 1 圖中，8 至 16 J/cm^2 的紫外光 A 輻射劑量將顯著地抑制細胞存活率(與 0 J/cm^2 的對照組相較)，對細胞存活率具有抑制效果的最低紫外光 A 之劑量為 8 J/cm^2 。次低的紫外光 A 輻射劑量為 4 J/cm^2 ，而 4 J/cm^2 與 8 J/cm^2 之中間值為 6 J/cm^2 。此外，當紫外光 A 劑量等於或低於 6 J/cm^2

時，並未在顯微鏡下觀察到纖維母細胞的型態變化(結果未顯示)。因此，在後續實驗中以 6 J/cm^2 強度的紫外光 A 作為最大的輻射劑量。

實驗三、細胞內三磷酸腺苷(ATP)表現量

本實驗係測定與細胞能量、代謝調節、細胞訊息傳導等生理機制有關的細胞內 ATP 表現量，來判斷細胞的生理機制。將經一般培養之纖維母細胞(1×10^6 細胞/毫升)以不同的 $5 \mu\text{M}$ 3-PED4HPT 衍生物處理 4 小時，再接受 6 J/cm^2 強度、21 分鐘的紫外光 A。實驗組的細胞內相對 ATP 含量係與未接受紫外光 A 處理的組別(0 J/cm^2 ，對照組)之細胞內 ATP 含量進行計算而得，並以百分比示出。請參閱第 2 圖，其為以本發明之 3-PED4HPT 衍生物及紫外光 A 處理纖維母細胞後之 ATP 表現量，其中每個實驗組進行三次獨立實驗，以 * $p < 0.05$ 及 ** $p < 0.01$ 表示與對照組相較具有統計學上顯著性意義。在第 2 圖中，幾乎所有先經 3-PED4HPT 衍生物處理、再以紫外光 A 處理之組別，其纖維母細胞中的 ATP 表現量顯著上升(與僅以 6 J/cm^2 紫外光 A 處理之組別相較)。因此，本發明的 3-PED4HPT 衍生物確實可抗紫外光 A 照射所引起的光老化問題。而以 ATP 表現量最高的衍生物 7 及 11 進行後續實驗。

實驗四、活性氧化物(ROS)以及粒線體膜電位($\Delta\Psi_{mt}$)之測定

活性氧化物及粒線體膜電位係使用本技術領域所熟知的流式細胞技術測定。在測定活性氧化物方面，將纖維母細胞(1×10^6 細胞/毫升)以不同的 $5 \mu\text{M}$ 3-PED4HPT 衍生物處理 4 小時，再接受 6 J/cm^2 強度、21 分鐘的紫外光 A，之後再以螢光染劑 2',7'-二氯螢光雙醋酸鹽(2',7'-dichlorofluorescein-diacetate, DCFH-DA)染色，以流式細胞儀分析活性氧化物產生速率。而在測定粒線體膜電位方面，纖維母細胞接受同樣的 3-PED4HPT 衍生物及紫外光 A 處理

後，再以碘代 3,3'-二己氧基羰花青(3,3'-dihexyloxacarbocyanine iodide, DiOC₆)染色，立即以流式細胞儀測定粒線體膜電位。

請參閱第 3 圖(A)及第 3 圖(B)，其為以 3-PED4HPT 衍生物及/或紫外光 A 處理纖維母細胞後之(A) ROS 產生速率百分比及(B)粒線體膜電位百分比。與僅以紫外光 A 處理之組別相較，經 5 μM 衍生物 7 或 11 處理、再以紫外光 A 處理的纖維母細胞之活性氧化物下降，但粒線體膜電位上升。由於細胞或生物體暴露於紫外線或熱源等外界環境壓力下將導致活性氧化物產量增加，造成細胞抗氧化能力降低、細胞結構損傷及老化等現象(意即處於氧化壓力狀態)，本發明的衍生物 7 或 11 可降低紫外光 A 照射所產生的損傷而保護纖維母細胞。此外，細胞受到外界壓力而進入細胞凋亡程序時，促進細胞凋亡的蛋白會轉移至粒線體，使粒線體膜的通透性和完整性受到破壞，粒線體膜通透性轉運孔道(mitochondrial permeability transition pore, MPTP)打開而讓粒線體膜電位降低。由第 3 圖(B)可知，本發明的衍生物 7 或 11 的粒線體膜電位較紫外光 A 的組別還高，表示纖維母細胞受到保護而免於外界壓力，有效降低紫外光 A 照射所導致的細胞損傷。

實驗五、MMP-1、TIMP-1 及 COL1α1 基因表現量之測定

在細胞老化的機制中，MMP-1 表現量過高將導致皮膚細胞外的網狀結構(由膠原蛋白、彈性蛋白等組成)瓦解，造成皮膚細胞老化，因此 MMP-1 為膠原蛋白分解及老化的標誌。TIMP-1 則與 MMP-1 結合成為複合物，以調控、抑制 MMP-1 之表現。COL1α1 則為構成第一型膠原蛋白的一種組成物(又稱 pro-α1 鏈)，其與另一 pro-α1 鏈及由 COL1α2 基因轉譯之 pro-α2 鏈共同構成第一型膠原蛋白，由於第一型膠原蛋白為生物體(例如人類)中最大量的膠原蛋白，因此測定 MMP-1、TIMP-1 及 COL1α1 可得知細胞或生物

體受外界壓力或藥物之影響。

在實驗五中，將纖維母細胞(1×10^6 細胞/毫升)以不同的 $5 \mu\text{M}$ 3-PED4HPT 衍生物處理 4 小時，再接受 6 J/cm^2 強度、21 分鐘的紫外光 A。之後抽取纖維母細胞的 RNA，並以定量即時聚合酶鏈反應(qRT-PCR)測定基質金屬蛋白酶-1 (MMP-1)、金屬蛋白酶組織抑制因子-1 (TIMP-1)及第一型膠原蛋白 $\alpha 1$ (COL1 $\alpha 1$)之基因表現量，以分析 3-PED4HPT 衍生物及紫外光 A 對皮膚光老化機制之影響。

請參閱第 4 圖(A)至第 4 圖(C)，其為以 3-PED4HPT 衍生物或紫外光 A 處理纖維母細胞後之(A) MMP-1、(B) TIMP-1 及(C) COL1 $\alpha 1$ 之 mRNA 表現量，可知衍生物 7 或 11 可導致 MMP-1 mRNA 表現量降低、TIMP-1 mRNA 表現量增高及 COL1 $\alpha 1$ mRNA 表現量增高。整體而言衍生物 7 或 11 可保護纖維母細胞不受紫外線照射，從而避免或降低皮膚光老化的情形發生。

實驗六、老化相關 β -半乳糖苷酶(SA- β -gal)活性

老化相關 β -半乳糖苷酶 (senescence associated β -galactosidase, SA- β -gal)在 pH 6.0 環境下將老化細胞中的半乳糖苷分解為單糖，因此 SA- β -gal 可作為衰老及老化細胞的標誌。在試管內的細胞化學試驗中，細胞或生物體的 SA- β -gal 活性高低是藉由測定受質 X-gal (5-bromo-4-chloro-3-indolyl β -D-galactoside)是否被 SA- β -gal 切割而產生藍色沈澱物而定，例如 Lee 等人(Lee et al., Aging Cell, 2006. 5(2):187-195)所揭示的方法或依此改良的方法進行。

將纖維母細胞(1×10^6 細胞/毫升)以不同的 $5 \mu\text{M}$ 3-PED4HPT 衍生物處理 4 小時，再接受 6 J/cm^2 強度、21 分鐘的紫外光 A。接著，移除細胞培養液，以 PBS 清洗纖維母細胞，加入 3.7%福馬林固定

細胞。將新鮮配置的染劑溶液(於 PBS (pH 6.0)或檸檬酸緩衝液(pH 4.5)中含有 1 mg/mL X-gal、5 mM $K_3Fe[CN]_6$ 、5 mM $K_4Fe[CN]_6$ 、2 mM $MgCl_2$)與細胞於 37°C 隔夜培養，之後以水清洗細胞，在顯微鏡下觀察藍色沈澱物數量 (Lee et al., Aging Cell, 2006. 5(2):187-195)。

請參閱第 5 圖，其為以 3-PED4HPT 衍生物或紫外光 A 處理纖維母細胞後之老化細胞數量比較圖。經紫外光 A 照射的纖維母細胞表現出較強的 SA- β -gal 活性，而經衍生物 7 或衍生物 11 處理、再以紫外光 A 照射的纖維母細胞則能有效地抑制 SA- β -gal 活性，表示本發明的 3-PED4HPT 衍生物可保護纖維母細胞不受紫外光 A 所引起的光老化問題。

綜合上述，在本發明所合成的新穎三唑衍生物(3-PED4HPT)能降低皮膚纖維母細胞中活性氧化物、基質金屬蛋白酶-1 及/或老化相關 β -半乳糖苷酶的表現量，及/或提高三磷酸腺苷、粒線體膜電位、金屬蛋白酶組織抑制因子-1 及/或第一型膠原蛋白 $\alpha 1$ 的表現量。依前述合成方法所合成的一系列三唑衍生物具有處理、治療、改善皮膚光老化的潛能，而應用於醫療、醫學美容、美容、護膚、調理膚質、化妝品、彩妝產品等產業上。

本發明實屬難能的創新發明，深具產業價值，援依法提出申請。此外，本發明可以由本領域技術人員做任何修改，但不脫離如所附申請專利範圍所要保護的範圍。

【圖式簡單說明】

第 1 圖為紫外光 A 照射於纖維母細胞之輻射劑量與細胞存活率之關係圖。

第 2 圖為以本發明之 3-PED4HPT 衍生物及紫外光 A 處理纖維

母細胞後之 ATP 表現量。

第 3 圖(A)為以 3-PED4HPT 衍生物或紫外光 A 處理纖維母細胞後之 ROS 產生速率百分比。

第 3 圖(B)為以 3-PED4HPT 衍生物或紫外光 A 處理纖維母細胞後之粒線體膜電位百分比。

第 4 圖(A)為以 3-PED4HPT 衍生物或紫外光 A 處理纖維母細胞後之 MMP-1 之 mRNA 表現量。

第 4 圖(B)為以 3-PED4HPT 衍生物或紫外光 A 處理纖維母細胞後之 TIMP-1 之 mRNA 表現量。

第 4 圖(C)為以 3-PED4HPT 衍生物或紫外光 A 處理纖維母細胞後之 COL1 α 1 之 mRNA 表現量。

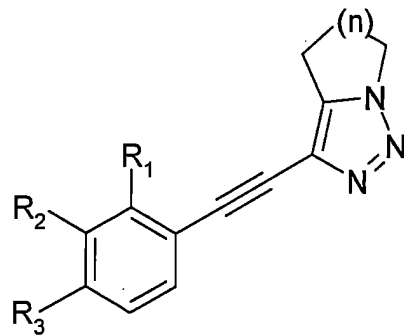
第 5 圖為以 3-PED4HPT 衍生物或紫外光 A 處理纖維母細胞後之老化細胞數量比較圖。

【主要元件符號說明】

無

七、申請專利範圍：

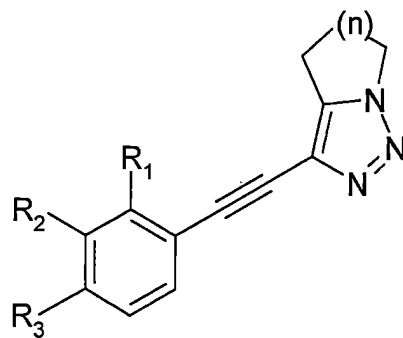
1. 一種用於處理皮膚光老化之醫藥組合物，包括如式 I 之三唑衍生物：



(式 I)，

其中 R₁、R₂ 與 R₃ 分別選自由氫、鹵素、甲基、乙基、硝基、甲氧基、氨基及三鹵甲基所組成的群組其中之一，且 n 為 1 或 2。

2. 一種如式 I 之三唑衍生物，



(式 I)，

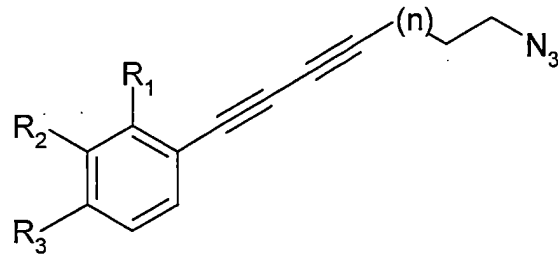
其中 R₁、R₂ 與 R₃ 分別選自由氫、鹵素、甲基、乙基、硝基、甲氧基、氨基及三鹵甲基所組成的群組其中之一，且 n 為 1 或 2。

3. 如申請專利範圍第 2 項所述的衍生物，其中該鹵素係選自由氟、氯、溴及碘所組成的群組其中之一。
4. 如申請專利範圍第 2 項所述的衍生物，其中該三鹵甲基係選自由三氟甲基、三氯甲基、三溴甲基及三碘甲基所組成的群組其中之一。

5. 一種如申請專利範圍第 2 項所述衍生物之製備方法，包括：

將如式 II 之一起始物與氯化鋅於 100°C 進行反應至少 12 小

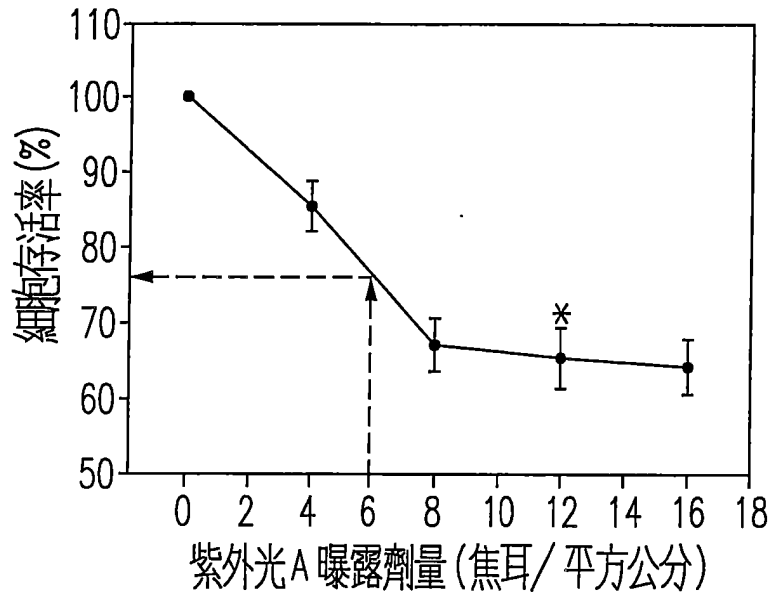
時，以獲得該三唑衍生物，



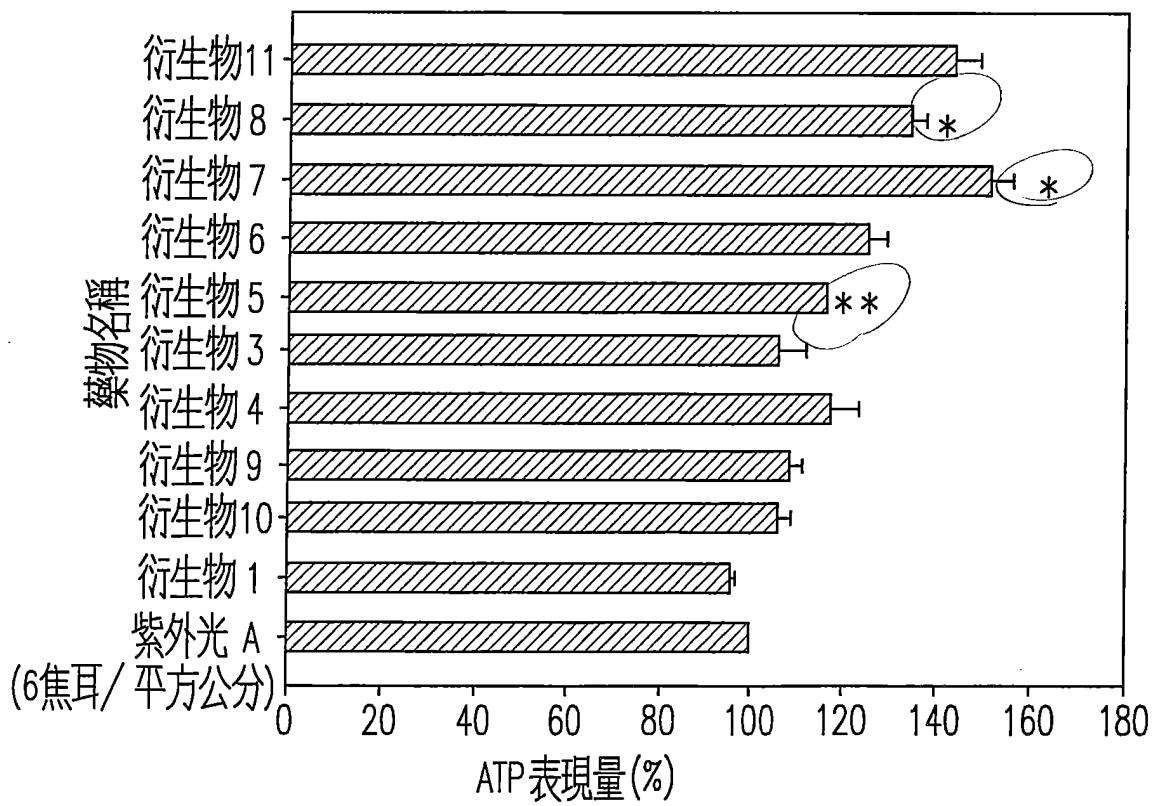
(式 II)。

- 6.如申請專利範圍第 5 項所述的製備方法，其中該起始物於一氮氣環境下溶解於二甲基甲醯胺中。
- 7.如申請專利範圍第 5 項所述的製備方法，其中該製備方法還包括：加入一水溶液以終止反應。
- 8.一種將根據申請專利範圍第 5 項所述之製備方法所獲得的式 I 之三唑衍生物用於製備處理皮膚光老化的藥物的用途。
- 9.如申請專利範圍第 8 項所述的用途，其中該藥物使皮膚的細胞內的活性氧化物(ROS)、基質金屬蛋白酶-1 (MMP-1)及老化相關β-半乳糖苷酶(SA-β-gal)中至少其中之一的表現量下降，或使該等細胞的三磷酸腺苷(ATP)、粒線體膜電位、金屬蛋白酶組織抑制因子-1 (TIMP-1)及第一型膠原蛋白α1 (COL1α1)中至少其中之一的表現量上升。

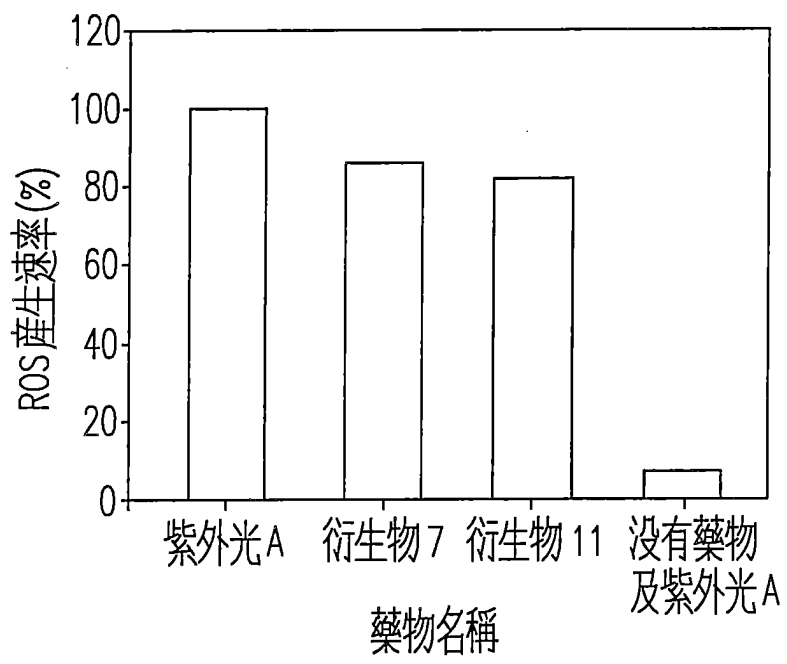
八、圖式：



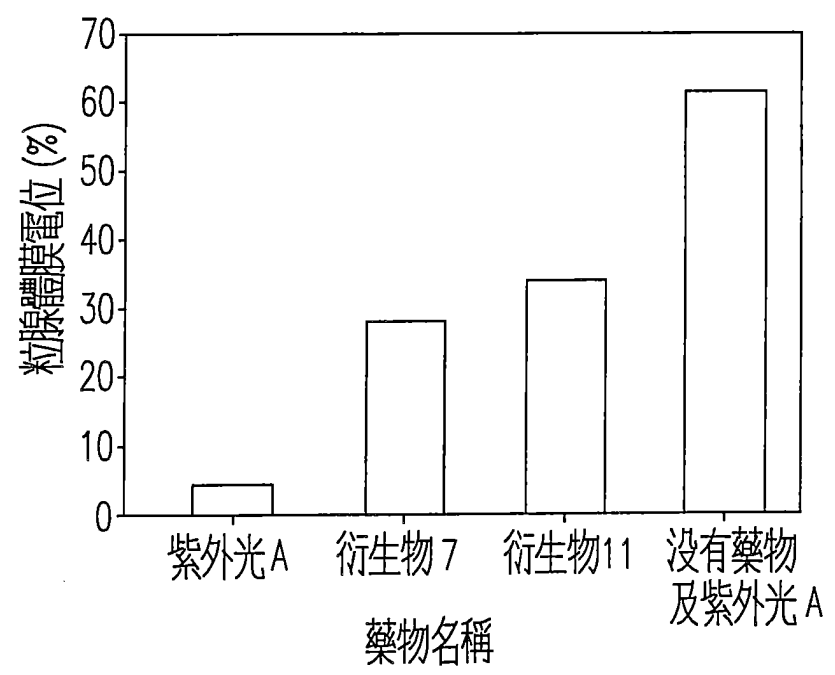
第 1 圖



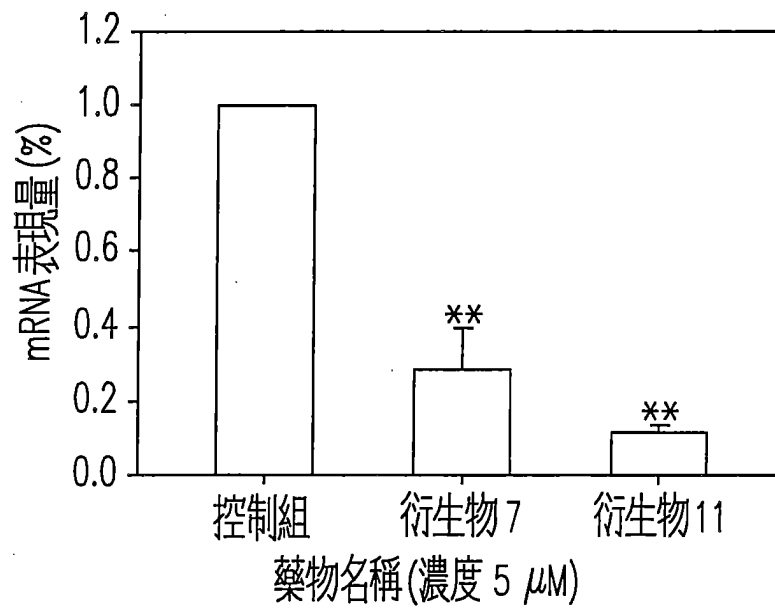
第 2 圖



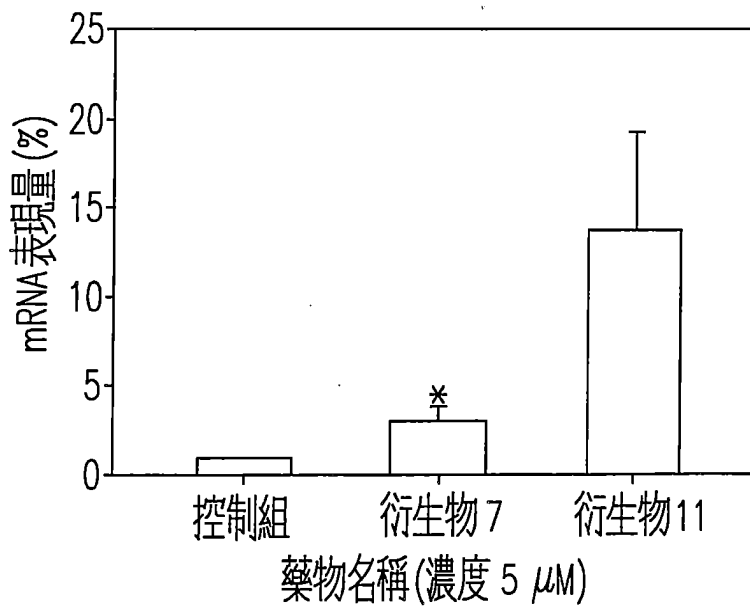
第3圖(A)



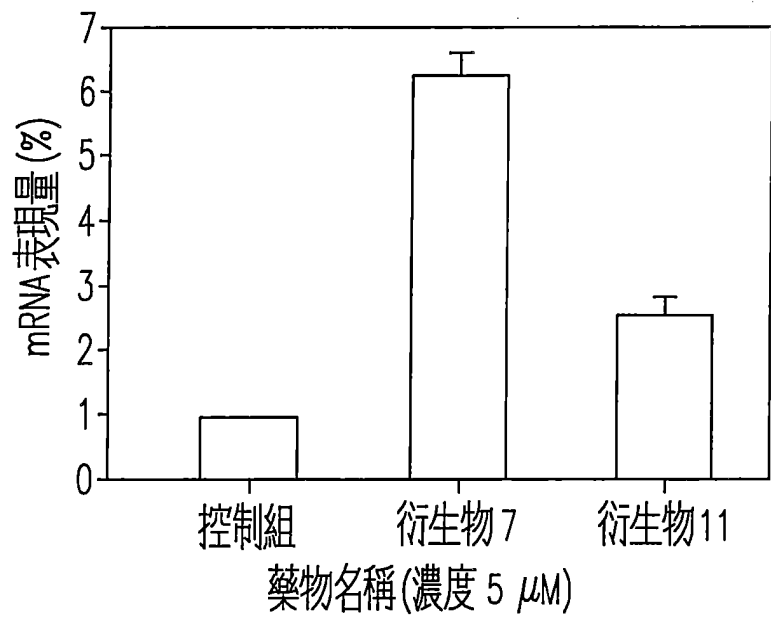
第3圖(B)



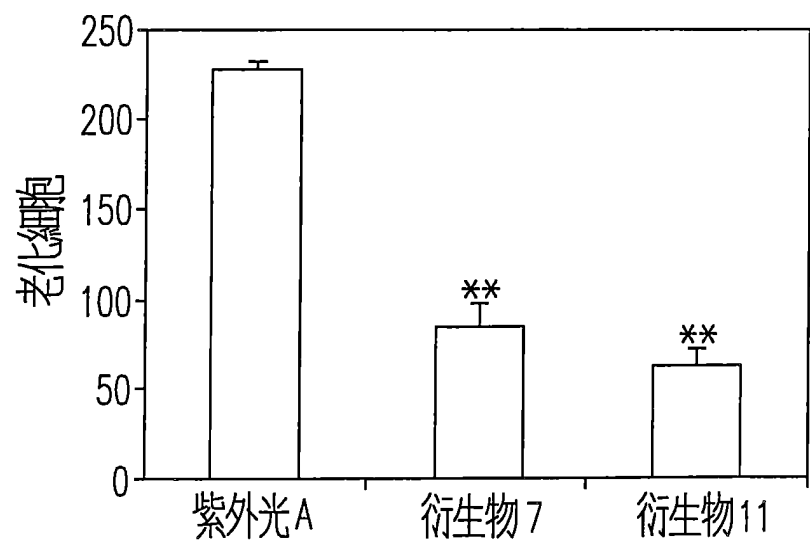
第 4 圖 (A)



第 4 圖 (B)



第 4 圖 (C)



第 5 圖