

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11) Número de publicación: **2 626 792**

51) Int. Cl.:

A61K 31/704 (2006.01)
A61K 31/575 (2006.01)
A61K 36/896 (2006.01)
A61P 3/06 (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01)
A61P 9/10 (2006.01)
A61P 9/12 (2006.01)
C07J 17/00 (2006.01)
C07J 53/00 (2006.01)
A61K 36/886 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **22.09.2006 PCT/JP2006/318813**
 87) Fecha y número de publicación internacional: **19.04.2007 WO07043305**
 96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.09.2006 E 06810426 (4)**
 97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.03.2017 EP 1930014**

54) Título: **Agente para mejorar la resistencia a la insulina**

30) Prioridad:

30.09.2005 JP 2005287885

45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

26.07.2017

73) Titular/es:

**MORINAGA MILK INDUSTRY CO., LTD. (100.0%)
 33-1, SHIBA 5-CHOME
 MINATO-KU, TOKYO 108-8384, JP**

72) Inventor/es:

**TANAKA, MIYUKI y
 MISAWA, ERIKO**

74) Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 626 792 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Agente para mejorar la resistencia a la insulina

Campo técnico

5 La presente invención se relaciona con un agente para mejorar la resistencia a la insulina, que contiene un compuesto que tiene un esqueleto de ciclolano como ingrediente activo, y un alimento o bebida que contiene al mismo. En particular, la presente invención se relaciona con un agente para mejorar la resistencia a la insulina, que tiene un efecto de controlar la producción de adipocitoquinas que son factores implicados en el inicio y exacerbación de la patosis en la que la resistencia a la insulina juega un papel, tal como ácido graso libre, plasminógeno inhibidor del activador, factor de necrosis tumoral, proteína quimioatrayente 1 de monocito y resistina, y se relaciona con un alimento o bebida que contiene el mismo.

Antecedentes de la técnica

15 La insulina es un tipo de hormonas producidas por las células β en los islotes de Langerhans del páncreas, y juega un papel importante en el mantenimiento de la homeostasis del cuerpo vivo, que afecta el metabolismo de los lípidos y el metabolismo de las proteínas, así como el metabolismo del azúcar a través de receptores de insulina que están presentes en los tejidos objetivo de insulina tales como músculos esqueléticos, hígado y grasas. Ejemplos de los efectos de la insulina en los tejidos diana respectivos incluyen la promoción de la absorción de glucosa de la sangre en las células musculares y los adipocitos, la promoción de la producción de glucógeno en los tejidos hepáticos y musculares, la inhibición de la gluconeogénesis en el hígado, la promoción de consumo de glucosa y síntesis de ácidos grasos en los adipocitos, e inhibición de la degradación de lípidos.

20 La resistencia a la insulina indica un estado en el que las células, órganos o individuos requieren cantidades mayores de insulina que las típicamente requeridas con el fin de obtener los respectivos efectos de la insulina, es decir, un estado de efectos dañados de la insulina donde disminuye la sensibilidad a la insulina. A partir de los resultados de investigaciones epidemiológicas anteriores, hipertensión, diabetes, hiperlipidemia (hipertrigliceridemia e hipo-HDL-colesterolemia), obesidad y similares se consideran patología en base a la resistencia a la insulina. La resistencia a la insulina causa efectos insuficientes de la insulina en el metabolismo del azúcar, resulta en hiperinsulinemia compensatoria para mantener el nivel de azúcar en sangre, por lo que la hiperglicemia y la intolerancia a la glucosa se producen y la diabetes se promueve por el agotamiento de las células β pancreáticas. Además, la hiperinsulinemia aumenta la activación de los nervios simpáticos y promueve la absorción de sodio del riñón para causar hipertensión, e induce hiperlipidemia posprandial e hiperuricemia, un aumento del inhibidor-1 del activador del plasminógeno (PAI-1) y similares.

35 Entre tanto, la resistencia a la insulina induce metabolismo lipídico anormal causado por los efectos insuficientes de la insulina, y el ácido graso libre (FFA) liberado de los adipocitos aumenta en el hígado para promover la síntesis de triglicéridos (TG), que resulta en hipertrigliceridemia. Adicionalmente, la actividad de la lipoproteína lipasa (LPL) que tiene generalmente una elevada sensibilidad a la insulina disminuye en el estado resistente a la insulina, por lo que la degradación del TG disminuye y la hipertrigliceridemia se exagera adicionalmente. Además, con la exacerbación de la diabetes, ocurren complicaciones tales como retinopatía, nefropatía y gangrena causadas por angiopatía, de manera que el infarto cardíaco y el infarto cerebral que son enfermedades arterioscleróticas se exageran, y la hipertensión agudiza las enfermedades cardiovasculares. Como se ha descrito anteriormente, se considera que la resistencia a la insulina está implicada de forma significativa en la exacerbación de la patología complicada (Documento de no patente 1).

45 En años recientes, a partir de los resultados del análisis de la expresión génica específica de órganos, se reveló que se segregan diferentes sustancias fisiológicamente activas a partir de tejidos grasos, y los tejidos grasos han sido reconocidos no sólo como tejidos de almacenamiento de energía sino también como el órgano endocrino más grande en un cuerpo vivo. Los factores endocrinos derivados de los tejidos grasos se denominan genéricamente adipocitoquinas y juegan un papel importante en el mantenimiento de la homeostasis en el metabolismo. Sin embargo, se considera que en un caso de obesidad, es decir, en un estado en el que se acumulan grasas, se produce y se secreta una cantidad excesiva o muy pequeña de adipocitoquinas y se interrumpe el equilibrio de las adipocitoquinas, que resulta en la resistencia a la insulina.

50 Las adipocitoquinas se clasifican en dos grupos: uno que mejora la sensibilidad a la insulina; y uno que provoca resistencia a la insulina, los ejemplos representativos del primer grupo incluyen adiponectina, leptina, AMPK (proteína quinasa dependiente de AMP) y similares. En particular, se ha informado de que la adiponectina tiene un efecto de anulación de la resistencia a la insulina y un efecto de inhibición de la gluconeogénesis en el hígado (Documento de no patente 2).

55 Entre los ejemplos de las adipocitoquinas que provocan resistencia a la insulina se incluyen el factor- α de necrosis tumoral (TNF- α), la proteína-1 quimioatrayente monocítica (MCP-1) que es una especie de quimioquina inflamatoria y la resistina además de las citadas FFA y PAI -1. En particular, se ha informado de que el TNF- α tiene un efecto de provocar la resistencia a la insulina que inhibe la fosforilación de tirosina de un receptor de insulina e IRS1 (sustrato 1 de receptor de insulina) en el mecanismo de transducción de señal de insulina de manera que se atenúa el efecto

de la insulina. Adicionalmente, se ha informado de que en el estado resistente a la insulina se aumenta el nivel de MCP-1 en un cuerpo vivo y se reducen ARNm de GLUT4 (transportador de glucosa-4) que es un portador transportador de glucosa, PPAR γ (receptor activado por proliferador de peroxisoma Γ) que es un receptor intranuclear, β 3AR (receptor β 3-adrenérgico) que es una especie de receptor de catecolamina tipo β de un adipocito, y α P2 (proteína 2 de adipocito que se une a ácidos grasos) que es una proteína de unión a ácidos grasos. Por lo tanto, se considera que MCP-1 es un agente causante de disminución de la sensibilidad a la insulina (Documentos de no patentes 3, 4 y 5).

Como agentes para mejorar la resistencia a la insulina, se han desarrollado agentes de biguanida que inhiben la gluconeogénesis principalmente en el hígado, y derivados de tiazolidina que mejoran la sensibilidad a la insulina de músculos y tejidos grasos. Estos agentes ya han sido permitidos como medicamentos para la diabetes, y también se usa para el tratamiento de la arteriosclerosis. Los derivados de tiazolidina representados por troglitazona y pioglitazona se consideran cada uno actuar como un ligando para el receptor activado por proliferador de peroxisoma (PPAR) que es un factor de transcripción de tipo receptor intranuclear para promover la diferenciación de adipocitos, mejorando así la resistencia a la insulina.

Además, se ha divulgado un agente para mejorar la resistencia a la insulina que contiene adiponectina o sus genes como ingrediente activo (Documento de Patente 1), un agente preventivo y/o terapéutico para enfermedades causadas por la resistencia a la insulina que contiene una sustancia que tiene afinidad al subtipo 3 del receptor de bombesina (BRS- 3) como un ingrediente activo (Documento de Patente 2), un agente reductor de ácidos grasos libres (FFA) que contiene un derivado de pirrol como un ingrediente activo (Documento de Patente 3) y similares, como agentes para mejorar la resistencia a la insulina. Además, se ha divulgado una composición para mejorar la resistencia a la insulina que contiene ácido acético y un ion o sal del mismo como ingrediente activo (Documento de Patente 4), un agente para mejorar la resistencia a la insulina que comprende un aceite graso que contiene diglicérido y/o monoglicérido (Documento de Patente 5) y similares, como los agentes que contienen una sustancia derivada de un alimento o bebida como un ingrediente activo.

Se ha sabido que los esteroides vegetales tales como β -sitosterol, campesterol y estigmasterol tienen un efecto decreciente sobre el colesterol en sangre por inhibición de la absorción de colesterol, y se ha intentado el uso práctico de los mismos añadiéndolos como una composición de grasa al aceite comestible. Además, se ha divulgado un agente antiobesidad y un agente mejorador del metabolismo de lípidos que contienen un compuesto de colesteno como ingrediente activo que se sintetiza usando esteroides vegetales tales como β -sitosterol y campesterol como material de partida (Documentos de patente 6 a 8, y Documento de no patente 6).

Además, se ha divulgado un promotor de secreción de adiponectina que contiene un extracto de al menos uno de salvado de arroz, hongo shimeji, crisantemo, centeno, abedul blanco y jasmín español (*Alpinia zeumber*) y triterpeno o cicloartol de tipo cicloartano y/o (24S)-24,25-dihidroxícicloartanol, que son derivados del triterpeno de tipo cicloartano, (Documento de patente 9).

El género *Aloe* perteneciente a la planta de liliaceae es un grupo de plantas que incluye *Aloe vera* (*Aloe barbadensis* Miller), *Aloe arborescens* (*Aloe arborescens* Miller var. *Natalensis* Berger) y similares, y se conoce empíricamente que tienen diversas eficacias. Por ejemplo, se divulgan agentes mejoradores de la inmunosupresión que contienen una fracción de butanol de un extracto de aloe o una aloína (Documento de Patente 10), un agente relacionado con la mejora de los niveles de glucosa en sangre (Documentos de Patente 11 a 14), un agente preventivo y de mejora para la obesidad (Documento de Patente 15) y similares, pero no se ha reportado el efecto de mejora sobre la resistencia a la insulina de las plantas pertenecientes al género *Aloe*. Se conocen promotores de secreción de adiponectina (Documento de Patente 16), pero no se mencionan 9,19-cilolanostan-3-ol y 24-metileno-9,19-cilolanostan-3-ol.

[Documento de Patente 1] Publicación Internacional NO.WO2003/63894 pamphlet

[Documento de Patente 2] Patente japonesa abierta al público NO.10-298100

[Documento de Patente 3] Patente japonesa abierta al público NO.08-12573

[Documento de Patente 4] Patente japonesa abierta al público NO.2002-193797

[Documento de Patente 5] Patente japonesa abierta al público NO.2001-247473

[Documento de Patente 6] Patente japonesa abierta al público NO.07-165587

[Documento de Patente 7] Patente japonesa abierta al público NO.11-193296

[Documento de Patente 8] Patente japonesa abierta al público NO.2001-240544

[Documento de Patente 9] Patente japonesa abierta al público NO.2005-68132

[Documento de Patente 10] Patente japonesa abierta al público NO.08-208495

[Documento de Patente 11] Patente japonesa abierta al público NO.59-214741

[Documento de Patente 12] Patente japonesa abierta al público NO.2003-286185

[Documento de Patente 13] Patente de EEUU No.4598069

[Documento de Patente 14] Publicación de solicitud de patente de EEUU No.2003/0207818

5 [Documento de Patente 15] Patente japonesa abierta al público NO.2000-319190

[Documento de Patente 16] Patente japonesa abierta al público NO.2005-068132

[Documento sin Patente 1] Insulin resistance and lifestyle-related diseases, Ed. Kazuaki Shimamoto, Shindan a Chiryosha, 2003, pp. 1-5

[Documento sin Patente 2] Adiposcience, vol.1, NO.3, 2004, pp. 247-257

10 [Documento sin Patente 3] Proceedings of the National Academy of Sciences, vol. 100, 2003, pp. 7265-7270

[Documento sin Patente 4] Nature, vol. 389, 1997, pp. 610-614

[Documento sin Patente 5] The Netherlands Journal of Medicine, vol.6, NO.6, 2003, pp. 194-212

[Documento sin Patente 6] Hormone Metabolism Research, vol. 37, 2005, pp. 79-83

Divulgación de la invención

15 El alcance de la presente invención está definido por las reivindicaciones adjuntas.

Con el uso del agente biguanida que es un agente convencional para mejorar la resistencia a la insulina, puede producirse disfunción gastrointestinal o raramente acidosis láctica. Adicionalmente, un derivado de tiazolidina es decir el mismo tipo del agente puede causar a veces efectos secundarios graves tales como retención de líquidos, aumento de peso corporal y disfunción hepática, por lo que su uso requiere atención adicional. Además, para la resistencia a la insulina en estados distintos de la diabetes o hiperglucemia, ha sido prácticamente difícil usar agentes antidiabéticos. Bajo dichas circunstancias, se puede ingerir sobre una base diaria un desarrollo de un material funcional que es excelente en seguridad, y se puede mejorar eficientemente la resistencia a la insulina con el menor dolor posible deseado.

20 En vista de los problemas anteriormente mencionados, los inventores de la presente invención han estudiado mecanismos de enfermedades relacionadas con el estilo de vida causadas por la resistencia a la insulina, tales como hipertensión, diabetes, hiperlipidemia (hipertrigliceridemia e hipo-HDL-colesterolemia) y obesidad, y han estudiado un agente relacionado con la prevención, mejora y similares de las enfermedades relacionadas con el estilo de vida, es decir, un agente para mejorar la resistencia a la insulina. Los inventores de la presente invención hicieron hincapié en adipocitoquinas que son factores implicados en el inicio y exacerbación de la resistencia a la insulina, y estudiaron asiduamente un material funcional novedoso capaz de mejorar la resistencia a la insulina controlando los factores antes mencionados. Como un resultado, los inventores de la presente invención hallaron que los compuestos que tenían un esqueleto de ciclolano tenían un efecto para controlar la producción de adipocitoquinas tales como ácido graso libre, TNF- α y MCP-1 en particular, un efecto eficiente para disminuir la producción de adipocitoquinas que provocan la resistencia a la insulina, por lo cual se mejora la resistencia a la insulina.

25 Con respecto a los efectos anteriormente mencionados de la presente invención, el Documento de Patente 9 describió únicamente el efecto preventivo del extracto vegetal sobre la diferenciación de adipocitos cultivados, una ruta de síntesis de un derivado de triterpeno de tipo cicloartán y un efecto de promoción del ergosterol sobre la secreción de adiponectina y no describe un efecto de promoción del triterpeno o cicloartenol de tipo cicloartano que es un derivado del mismo sobre la secreción de adiponectina. Además, no describió, ni divulgo que el efecto de mejora del ingrediente activo de la presente invención sobre la resistencia a la insulina en absoluto.

30 Adicionalmente, los inventores de la presente invención encontraron que el compuesto que tiene un esqueleto de ciclolano mejora directamente la resistencia a la insulina sin intervención de la propiedad de secreción de insulina o similares, mediante la investigación que usa una prueba de tolerancia a la insulina (prueba de esfuerzo de insulina), además del método clamp de glucosa, el método de glucosa de plasma en estado estacionario (SSPG) y el método de modelo mínimo que son métodos convencionales de evaluación de la resistencia a la insulina.

35 Dicha prueba de tolerancia a la insulina no se realiza en los Documentos de Patentes 1 a 5 anteriormente mencionados. Los inventores de la presente invención encontraron un efecto más ventajoso para mejorar la resistencia a la insulina, sin ser afectados por la propiedad de secreción de insulina, que los efectos convencionales para mejorar la resistencia a la insulina, y lograron la presente invención.

Un objetivo de la presente invención es proporcionar un agente para mejorar la resistencia a la insulina, que contiene un compuesto que tiene el esqueleto de ciclolanostano como ingrediente activo. Además, otro objetivo de la presente invención es proporcionar un alimento o bebida fisiológicamente funcional que contenga el agente para mejorar la resistencia a la insulina, tal como un alimento para uso específico de salud.

5 La primera invención de la presente solicitud para resolver los problemas antes mencionados es un agente para uso en el tratamiento de una enfermedad seleccionada de tolerancia anormal a la glucosa e hiperinsulinemia, que comprende un compuesto seleccionado entre el 9,19-ciclolanostan-3-ol y el 24-metileno-9,19-ciclolanostan-3-ol.

10 La segunda invención de la presente solicitud para resolver los problemas anteriormente mencionados es un alimento o bebida para uso en el tratamiento de una enfermedad seleccionada de tolerancia a la glucosa anormal e hiperinsulinemia, que comprende un compuesto seleccionado entre el 9,19-ciclolanostan-3-ol y el 24-metileno-9,19-ciclolanostan-3-ol, en la que el alimento o bebida contiene al menos 0.0001% en peso seco del compuesto.

15 La tercera invención de la presente solicitud para resolver los problemas anteriormente mencionados es el uso de un compuesto seleccionado de 9,19-ciclolanostan-3-ol y el 24-metileno-9,19-ciclolanostano-3 en la producción de un alimento o bebida que contiene al menos 0.0001% en peso seco del compuesto para tratar una enfermedad seleccionada de tolerancia anormal a la glucosa e hiperinsulinemia.

La cuarta invención de la presente solicitud para resolver los problemas anteriormente mencionados es un compuesto seleccionado de 9,19-ciclolanostan-3-ol y el 24-metileno-9,19-ciclolanostan-3-ol para su uso en el tratamiento de una enfermedad seleccionada entre tolerancia anormal a la glucosa y la hiperinsulinemia.

20 El agente y el alimento o bebida de la presente invención se pueden administrar o ingerir de manera segura, y pueden tener efectos preventivos sobre enfermedades relacionadas con el estilo de vida que se considera que son causadas por la resistencia a la insulina. Además, el ingrediente activo del agente de la presente invención se puede producir fácilmente a partir de una planta de la familia Liliaceae tal como Aloe vera (Aloe barbadensis Miller) que se puede ingerir de manera segura desde un punto de vista experiencial para alimentos y está fácilmente disponible.

Breve descripción del dibujo

25 La Fig. 1 es un gráfico que muestra el cambio en el nivel de glucosa en sangre en una prueba de tolerancia a la insulina.

Mejor modo para llevar a cabo la invención

30 A continuación, se explicarán en detalle realizaciones preferidas de la presente invención. Sin embargo, la presente invención no está limitada a las siguientes realizaciones preferidas y puede modificarse libremente dentro del alcance de la presente invención. Además, el porcentaje como se usa aquí indica la masa a menos que se especifique lo contrario.

El compuesto usado como ingrediente activo del agente (de aquí en adelante también denominado "agente de la presente invención") de la presente invención es seleccionado de 9,19-ciclolanostan-3-ol y 24-metileno-9,19-ciclolanostan-3-ol (de ahora en adelante también denominado "el compuesto de la presente invención").

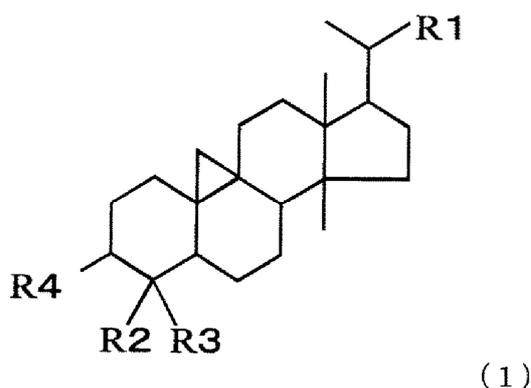
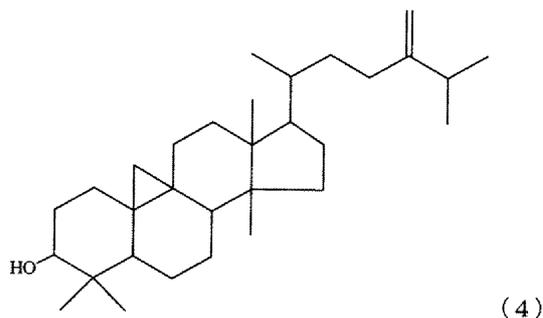
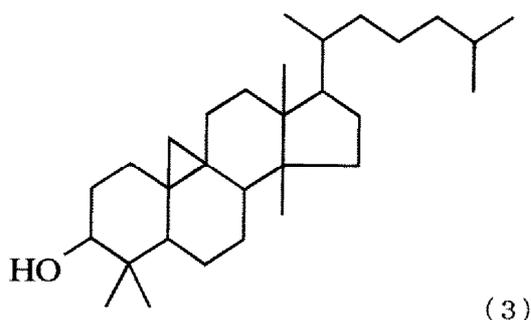
35 Es más preferido que una pureza del compuesto de la presente invención usado como ingrediente activo del agente de la presente invención sea del 100%. Sin embargo, la pureza puede ajustarse apropiadamente dentro de un intervalo en el que el agente tiene el efecto de tratar enfermedades causadas por la resistencia a la insulina.

40 Adicionalmente, la composición usada como el ingrediente activo del agente de la presente invención (de ahora en adelante también denominada "composición de la presente invención") tal vez un extracto de una planta de la familia Liliaceae o Gramineae, o una fracción de la misma que contiene al menos 0.001% en peso seco, preferiblemente 0.01% en masa seca o más, y más preferiblemente 0.1% en masa seca o más del compuesto anteriormente mencionado representado por la fórmula general (1). El límite superior del contenido del compuesto de la presente invención no está particularmente limitado, y puede ser, por ejemplo, preferiblemente 10% en masa, 50% en masa, 70% en masa o 90% en masa.

45 En la presente invención, masa seca indica una masa medida después de que un compuesto se seca por el método de secado definido por "Prueba de Perdida por Secado" que es un método de ensayo general como se describe en Japanese Pharmacopoeia, 14th Revision (Marzo 31 de 2001, El Ministerio de Salud, Trabajo y Bienestar Social, Notificación Ministerial No.111). Por ejemplo, la masa del compuesto de la presente invención puede determinarse de tal manera que: se separa aproximadamente 1 g del compuesto de la presente invención y se seca a 105°C durante 4 horas; y el resultante se enfría de pie en un desecador; y la masa del compuesto se pesa con escamas.

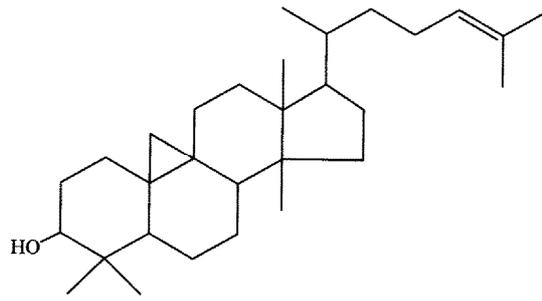
50 De acuerdo con una realización, el agente y el alimento o bebida que contiene el mismo contienen un compuesto seleccionado de 9,19-ciclolanostan-3-ol y 24-metileno-9,19-ciclolanostan-3-ol.

Los compuestos más preferidos como el compuesto anteriormente mencionado son los representados por las siguientes fórmulas, 9,19-ciclolanostan-3-ol (fórmula (3)) y 24-metileno-9,19-ciclolanostan-3-ol (fórmula (4)).

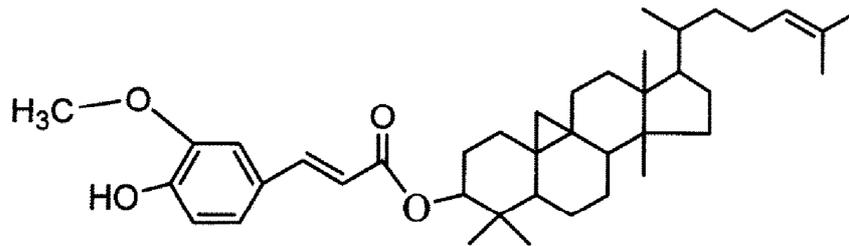


9, 19-ciclanostan-3-ol es un compuesto representado por la fórmula general (1) anteriormente mencionada en la que R2 y R3 son grupos metilo, R4 es un grupo hidroxilo y R1 es un grupo representado por $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$. Adicionalmente, el 24-metilen-9,19-ciclanostan-3-ol es un compuesto representado por la fórmula general (1) anteriormente mencionada en la que R2 y R3 son grupos metilo, R4 es un grupo hidroxilo y R1 es un grupo representado $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C}(\text{=CH}_2)\text{CH}(\text{CH}_3)_2$.

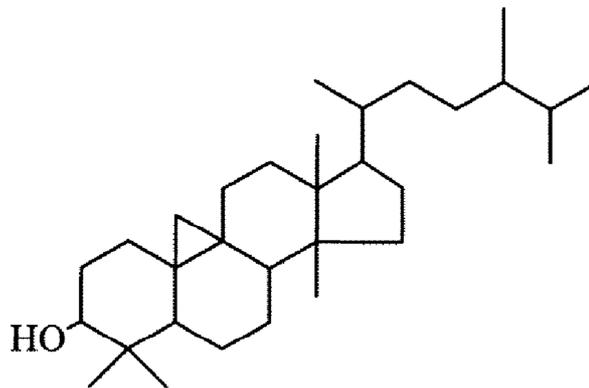
El compuesto de la presente invención puede producirse químicamente por un método de producción conocido. Por ejemplo, se han divulgado métodos para producir el cicloartenol (fórmula (5)) y 24-metilenocicloartanol (nombre trivial de 24-metilen-9,19-ciclanostan-3-ol) (fórmula (4)) en la patente japonesa abierta al público No. 57-018617, y un método para producir férulado de cicloartenol (fórmula (6)) a partir de γ -oryzanol y un método para sintetizar un compuesto que usa un hidrolizado del mismo como material de partida se han divulgado en la patente japonesa abierta al público No. 2003-277269. Además, cuando el fragmento de R1 de la fórmula general (1) contiene un doble enlace, pueden producirse diversos compuestos derivados usando una técnica de conversión de la porción de doble enlace en un aldehído por reacción de descomposición de ozono y unión de un fosfonato a la misma, una técnica de añadir hidrógeno a una porción de doble enlace, o una técnica de oxidación de la porción de doble enlace con ozono para convertirla en un aldehído o un ácido. Además, los métodos de producción no se limitan a métodos de síntesis química, y los compuestos pueden ser producidos biológicamente usando un microorganismo o similar. Alternativamente, pueden producirse utilizando enzimas derivadas de microorganismos.



(5)



(6)



(7)

5 El agente y el alimento o la bebida pueden contener un tipo o dos o más tipos arbitrarios de los compuestos antes

Es sabido que los compuestos que tienen el esqueleto de ciclolanostano están contenidos en plantas de las familias Liliaceae, Leguminosae, Gramineae, Solanaceae, Musaceae y así sucesivamente (véase *Phytochemistry*, EEUU, 1977, Vol. 16, pp.140-141) *Handbook of phytochemical Components de las hierbas GRAS y otras plantas económicas*, 1992, EE.UU., CRC Press, *Hager's Handbuch der Pharmazeutischen Praxis*, Vol. 2-6, 1969-1979, Alemania, Springer-Verlag Berlin). Por consiguiente, los compuestos se pueden producir extrayendo de estas plantas, una parte de las mismas o un homogeneizado de las mismas mediante un método tal como la extracción con un solvente orgánico o la extracción con agua caliente, y su concentración.

Específicamente, los ejemplos de la planta perteneciente a la familia Liliaceae incluyen plantas pertenecientes al género *Aloe* o *Allium*. Ejemplos de las plantas del género *Aloe* incluyen *Aloe vera* (*Aloe barbadensis* Miller), *Aloe ferox* Miller, *Aloe africana* Miller, *Aloe arborescens* Miller var. *Natalensis* Berger, *Aloe spicata* Baker y etc. En la producción de un compuesto de la presente invención o de una composición que contiene la misma, aunque se puede usar toda la planta antes mencionada, es preferible usar mesofilo (parte de gel transparente) de la misma. Dicha planta o una parte de la misma se rompe usando un homogeneizador o similares y, de este modo, se licúa, y el compuesto de la presente invención o una composición que contiene la misma se extrae del producto de ruptura usando un solvente orgánico o agua caliente. Ejemplos del solvente orgánico incluyen alcoholes tales como metanol, etanol y butanol; ésteres tales como acetato de metilo, acetato de etilo, acetato de propilo y acetato de butilo; cetonas tales como acetona y metil isobutil cetona; éteres tales como éter dietílico y éter de petróleo; hidrocarburos tales como hexano, ciclohexano, tolueno y benceno; hidrocarburos halogenados tales como tetracloruro de carbono, diclorometano y cloroformo; compuestos heterocíclicos tales como piridina; glicoles tales como etilenglicol; alcoholes polihídricos tales como polietilenglicol; solventes de nitrilo tales como acetonitrilo, mezclas de estos solventes y así

sucesivamente. Además, estos solventes pueden ser anhidros o hidratados. Entre estos solventes se prefieren la mezcla de acetato de etilo/butanol (3:1) y cloroformo/metanol (2:1).

Como método de extracción, puede usarse un método usado para la extracción usual de un componente de planta. Usualmente se emplea, por ejemplo, un método de reflujo de 1 a 300 partes en masa de un solvente orgánico con 1 parte en masa de planta fresca o planta seca con calentamiento a una temperatura igual o inferior al punto de ebullición del solvente y agitación o agitación, O un método para realizar la extracción por ultrasonificación a temperatura ambiente. Mediante el aislado de materias insolubles del licor de extracción que usa un método adecuado tal como filtración o centrifugación, se puede obtener un extracto crudo.

El extracto bruto se puede purificar mediante diversos tipos de cromatografía tales como cromatografía en columna de gel de sílice de fase normal o inversa. Cuando se usa un gradiente de mezcla de cloroformo/metanol en cromatografía en columna de gel de sílice de fase normal como un solvente de elución, el compuesto de la presente invención se eluye con una proporción de mezcla de cloroformo: metanol = aproximadamente 25: 1. Además, cuando se usa una mezcla de hexano/acetato de etilo (4:1) en cromatografía en columna de gel de sílice de fase inversa como solvente de elución, el compuesto de la presente invención se eluye en una fracción eluida en una etapa temprana. La fracción obtenida puede purificarse adicionalmente mediante HPLC o similar.

Además, el compuesto usado para la presente invención también puede producirse mediante un método de síntesis química o un método biológico o enzimático que usa microorganismos, enzimas o similares.

Si el compuesto o composición obtenido como se ha descrito anteriormente contiene realmente el compuesto de la presente invención se puede confirmar, por ejemplo, por espectrometría de masas (MS), espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN) o similares.

El compuesto de la presente invención se puede usar como un ingrediente activo del agente de la presente invención y un alimento o bebida que contiene el mismo como es. Además, se puede usar también como ingrediente activo del agente un extracto de solvente orgánico o un extracto de agua caliente de una planta que contiene el compuesto de la presente invención, o una fracción de la misma (en lo sucesivo denominado "extracto, etc.") y un alimento o bebida que contenga el mismo. Además, cuando el Aloe vera se usa como planta de la familia Liliaceae, se prefiere que el contenido total de aloína y aloe-emodina, que se contienen mucho en piel de hoja de Aloe vera, sea de 5 ppm o menos.

El extracto mencionado anteriormente, que debe estar contenido en el agente, contiene preferiblemente al menos 0.001% en peso seco, más preferiblemente 0.01 a 1% en masa seca, particularmente preferiblemente 0.05 a 1% en masa seca, del compuesto de la presente invención. Además, el extracto citado anteriormente, etc., que debe estar contenido en un alimento o bebida, contiene preferiblemente al menos 0.0001% en masa seca, más preferiblemente 0.001 a 1% en masa seca, de manera particular preferiblemente 0.005% a 1% en masa seca del compuesto de la presente invención. El extracto mencionado anteriormente puede contener dos o más tipos del compuesto de la presente invención. Además, el extracto antes mencionado, etc., puede ser una solución, o también puede liofilizarse o secarse por atomización de una manera convencional y almacenarse o usarse como polvo.

Como agente de la presente invención, el compuesto de la presente invención o la composición que contiene el mismo, tal como extracto, etc. per se, o los combinados con un vehículo farmacéuticamente aceptable pueden administrarse por vía oral o parenteral a un mamífero incluyendo humanos. En el agente de la presente invención, el compuesto de la presente invención puede ser una sal farmacéuticamente aceptable. Ejemplos de la sal farmacéuticamente aceptable incluyen tanto sales metálicas (sales inorgánicas) como sales orgánicas que incluyen, por ejemplo, las enumeradas en "Remington's Pharmaceutical Sciences", 17ª edición, p.1418, 1985. Ejemplos específicos de los mismos incluyen, pero no están limitados a, sales de ácidos inorgánicos tales como clorhidrato, sulfato, fosfato, difosfato e hidrobromato, y sales de ácidos orgánicos tales como malato, maleato, fumarato, tartarato, succinato, citrato, acetato, lactato, metanosulfonato, p-toluenosulfonato, pamoato, salicilato y estearato. Además, la sal puede ser una sal con un metal tal como sodio, potasio, calcio, magnesio y aluminio o una sal con un aminoácido tal como lisina. Además, los solvatos tales como los hidratos del compuesto anteriormente mencionado o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos también entran dentro del alcance de la presente invención.

La forma de dosificación del agente de la presente invención no está particularmente limitada y puede seleccionarse adecuadamente dependiendo del propósito terapéutico. Ejemplos específicos de los mismos incluyen tableta, píldora, polvo, solución, suspensión, emulsión, gránulos, cápsula, jarabe, supositorio, inyección, ungüento, parche, gota de ojo, gota nasal, etc. Para la preparación, se pueden usar aditivos generalmente usados en agentes habituales para mejorar la resistencia a la insulina como vehículos farmacéuticos tales como excipientes, aglutinantes, desintegrantes, lubricantes, estabilizantes, agentes saborizantes, diluentes, tensioactivos y disolventes para inyección. Además, mientras el efecto de la presente invención no se degrada, el compuesto de la presente invención, o el extracto, etc., que contiene el mismo, se pueden usar en combinación con otros agentes que tienen un efecto para mejorar la resistencia a la insulina.

Aunque la cantidad del compuesto de la presente invención o el extracto, etc. que contiene el mismo contenido en el agente de la presente invención, no está particularmente limitado y puede seleccionarse adecuadamente, la

cantidad puede ser, por ejemplo, al menos 0.001% en masa, preferiblemente de 0.01 a 1% en masa, particularmente de manera preferible de 0.05 a 1% en masa, en términos de la cantidad del compuesto de la presente invención.

5 Mejorar la resistencia a la insulina (el efecto de mejorar la sensibilidad a la insulina) indica un efecto para prevenir o mejorar varios efectos adversos sobre la salud causados por una disminución de la sensibilidad a la insulina, tales como enfermedades relacionadas con el estilo de vida. Específicamente, el agente de la presente invención inhibe eficientemente un aumento o producción de adipocitoquinas que provocan resistencia a la insulina, tales como inhibidor del activador del plasminógeno (PAI-1), ácido graso libre (FFA), factor de necrosis tumoral (TNF- α), MCP-1 y resistina, y tiene un efecto sobre la disminución de los riesgos, prevención, mejora o tratamiento de las enfermedades implicadas en la resistencia a la insulina. Por lo tanto, el agente para mejorar la resistencia a la insulina de la presente invención puede definirse como un agente para aumentar la sensibilidad a la insulina o un agente para controlar la producción de adipocitoquinas, en particular, un agente para controlar la producción de adipocitoquinas que provoca resistencia a la insulina.

15 Existen métodos para evaluar la resistencia a la insulina, como la prueba de clamp de glucosa, el método de glucosa en plasma en estado estacionario (SSPG), el método de modelo mínimo, un método de evaluación de la resistencia a la insulina mediante el cálculo de la resistencia a la insulina de evaluación de homeostasis modelo (HOMA-IR) del nivel de glucosa en sangre en ayunas y la concentración de insulina en sangre, y la prueba de tolerancia a la insulina. Cualquiera de los métodos antes mencionados puede usarse para la evaluación de la resistencia a la insulina, sin embargo, se prefiere usar la prueba de tolerancia a la insulina usando animales, porque la prueba no se ve afectada por la propiedad de secreción de insulina o similares y, pueden ser investigados directamente.

20 El compuesto de la presente invención tiene un efecto de aumento de la sensibilidad a la insulina, y por lo tanto puede prevenir o mejorar la patosis causada por la resistencia a la insulina. Por lo tanto, el compuesto puede usarse como un ingrediente activo del agente o un alimento o bebida que contiene el mismo. Además, la sensibilidad a la insulina también puede evaluarse midiendo una disminución en el nivel de glucosa en sangre después de la administración de insulina.

25 El agente para mejorar la resistencia a la insulina de la presente invención puede prevenir, mejorar o tratar diversas enfermedades, complicaciones y similares causadas por la resistencia a la insulina, y puede disminuir los riesgos de dichas enfermedades, complicaciones y similares. Además, el agente para mejorar la resistencia a la insulina de la presente invención se puede usar preferiblemente para un paciente cuya resistencia a la insulina es más agravada que la de una persona sana. Además, la resistencia a la insulina generalmente indica un estado donde el

30 Ejemplos de las diversas enfermedades causadas por la resistencia a la insulina incluyen hipertensión, hiperlipidemia, diabetes, tolerancia anormal a la glucosa, arteriosclerosis, hiperinsulinemia y obesidad. Ejemplos de complicaciones causadas por las enfermedades incluyen (a) ataque cerebrovascular, nefrosclerosis e insuficiencia renal causada por hipertensión, (b) arteriosclerosis y pancreatitis causada por hiperlipidemia, (c) retinopatía diabética, nefropatía, neuropatía y gangrena diabética causada por diabetes, y (d) ataque cerebrovascular, infarto cerebral, enfermedades cardiovasculares tales como angina de pecho e infarto cardiaco, nefropatía como uremia, nefrosclerosis e insuficiencia renal causada por arteriosclerosis. Además, los inventores de la presente invención han encontrado que el compuesto de la presente invención tiene un efecto de disminución del nivel de hemoglobina A1c y mejora de la hiperglucemia (documento WO2006/035525). Se prefiere que las enfermedades a las que se aplica el agente para mejorar la resistencia a la insulina de la presente invención no estén acompañadas con un estado donde el nivel de hemoglobina A1c este más alto que el de una persona sana.

35 Además, se espera que un agente de la presente invención tenga un efecto de inhibición de la producción y aumento de adipocitoquinas que provocan resistencia a la insulina, tal como TNF- α , MCP-1 y FFA. Por lo tanto, el agente de la presente invención puede tener un efecto de prevención y/o mejora de las enfermedades causadas por el aumento de las adipocitoquinas mencionadas anteriormente que incluyen enfermedades autoinmunes tales como artritis reumatoide, enfermedad de Crohn, enfermedades inflamatorias en diversos órganos tales como nefritis, pancreatitis, hepatitis y neumonitis, angiopatía, sepsis, caquexia del cáncer. De este modo, el agente de la presente invención se puede usar preferiblemente para un paciente en el que se mejora la producción de las adipocitoquinas, en particular un paciente en el que se mejora la producción de las adipocitoquinas que provocan la resistencia a la insulina.

45 El tiempo de administración del agente de la presente invención no está particularmente limitado y puede seleccionarse adecuadamente de acuerdo con el método para tratar una enfermedad objetiva. Además, la vía de administración se determina preferiblemente dependiendo de la forma de dosificación, edad, sexo y otras condiciones de los pacientes, gravedad de los síntomas de los pacientes y así sucesivamente. La dosificación del agente de la presente invención se selecciona adecuadamente dependiendo del régimen de dosificación, edad, sexo, gravedad de la enfermedad, otras condiciones de los pacientes y etc. La cantidad del compuesto de la presente invención como ingrediente activo se selecciona usualmente del intervalo de preferiblemente de 0.001 a 50 mg/kg/día, más preferiblemente de 0.01 a 1 mg/kg/día, como una dosificación tentativa. Además, cuando se usa un extracto, etc. que contiene el compuesto de la presente invención, el peso en seco del extracto, etc., se selecciona del intervalo de preferiblemente de 0.1 a 1000 mg/kg/día, más preferiblemente de 1 a 100 mg/kg/día, como una

cantidad tentativa. En cualquier caso, la dosificación puede ser ingerida, en un día, una o varias veces como porciones divididas.

5 El compuesto de la presente invención o la composición que contiene la misma se puede añadir a un alimento o bebida (una bebida o un alimento) para producir un alimento o bebida para uso en el tratamiento de una enfermedad seleccionada de tolerancia anormal a la glucosa e hiperinsulinemia. La forma y propiedad de los alimentos o bebidas no están particularmente limitadas en tanto que el efecto del ingrediente activo no se degrada, y el alimento o bebida puede ser ingerido oralmente, y puede ser producido de una manera convencional usando materias primas usualmente usado para alimentos o bebidas, excepto que se añade el ingrediente activo antes mencionado.

10 Además, la cantidad del compuesto de la presente invención o el extracto, etc. que contiene el mismo contenido en el alimento o bebida de la presente invención, no está particularmente limitado y puede seleccionarse adecuadamente. Por ejemplo, el compuesto de la presente invención o el extracto, etc. que contiene el mismo, está contenido en un alimento o bebida en una cantidad de al menos 0.0001% en masa, preferiblemente 0.001 a 1% en masa, más preferiblemente 0.005 a 1% en peso, en términos de la cantidad del compuesto de la presente invención.

15 El alimento o bebida de la presente invención se puede usar para diversas aplicaciones. Por ejemplo, puede usarse como alimento o bebida útil para disminuir o eliminar factores de riesgo de enfermedades relacionadas con el estilo de vida causadas por la resistencia a la insulina. Además, el alimento o bebida de la presente invención puede prevenir las enfermedades causadas por la resistencia a la insulina, por ejemplo, hipertensión, hiperlipidemia, diabetes y similares y puede disminuir los riesgos de estas enfermedades. Además, el alimento o bebida de la presente invención puede prevenir diversas complicaciones causadas por la resistencia a la insulina, por ejemplo,

20 ataque cerebrovascular, nefrosclerosis e insuficiencia renal causadas por hipertensión, arteriosclerosis, pancreatitis y similares causadas por hiperlipidemia, retinopatía diabética, nefropatía, neuropatía y gangrena diabética causada por diabetes, ataque cerebral, infarto cerebral, enfermedades cardiovasculares tales como angina de pecho e infarto cardiaco, nefropatía como uremia, nefrosclerosis e insuficiencia renal causada por arteriosclerosis, y puede disminuir los riesgos de estas enfermedades.

25 Además, se espera que el alimento o bebida de la presente invención tenga un efecto de inhibición de la producción y aumento de adipocitoquinas que provocan resistencia a la insulina, tales como TNF- α , MCP-1 y FFA. Por lo tanto, el agente de la presente invención puede tener un efecto de prevenir las enfermedades y disminuir los riesgos de estas enfermedades causadas por el aumento de las adipocitoquinas mencionadas anteriormente que incluyen enfermedades autoinmunes tales como artritis reumatoide, enfermedad de Crohn, enfermedades inflamatorias en diversos órganos tales como nefritis, pancreatitis, hepatitis y neumonitis, angiopatía, sepsis, caquexia del cáncer. De este modo, el alimento o bebida de la presente invención puede ser preferiblemente ingerido por un paciente en el que se mejora la producción de las adipocitoquinas anteriormente mencionadas, en particular un paciente en el que se mejora la producción de las adipocitoquinas que provocan resistencia a la insulina.

30

35 El alimento o bebida de la presente invención se comercializa preferiblemente como alimento o bebida unido con una indicación de que el alimento o bebida se usa para mejorar la resistencia a la insulina, por ejemplo "alimento o bebida que contiene un compuesto que tiene un efecto de mejora de la resistencia a la insulina indicado como "Para mejorar la resistencia a la insulina", "alimentos o bebidas que contienen un extracto de la planta indicado como "Para mejorar la resistencia a la insulina" o "alimentos o bebidas que contienen extracto de Aloe vera indicado como "Para mejorar la resistencia a la insulina" y similares. Además, debido a que el compuesto de la presente invención, y la composición que contiene el mismo tienen un efecto para mejorar la resistencia a la insulina, la indicación de "mejorar la resistencia a la insulina" se considera así que tiene un significado de "aumento de la sensibilidad a la insulina". Por lo tanto, el alimento o bebida de la presente invención puede indicarse como "Para aumentar la sensibilidad a la insulina". En otras palabras, la indicación de "Para mejorar la resistencia a la insulina" puede ser reemplazada por la indicación de "Para aumentar la sensibilidad a la insulina".

40

45 La formulación usada para dicha indicación no se limita necesariamente a la expresión "Para mejorar la resistencia a la insulina" o "Para aumentar la sensibilidad a la insulina", y cualquier otra expresión que exprese el efecto para aumentar la sensibilidad a la insulina, o el efecto para prevenir y mejorar la resistencia a la insulina, por supuesto, cae dentro del alcance de la presente invención. Como tal una formulación, por ejemplo, también es posible una indicación en base a diversos usos que permiten a los consumidores reconocer el efecto para mejorar la resistencia a la insulina o el efecto para aumentar la sensibilidad a la insulina. Los ejemplos incluyen la indicación de "Apto para aquellos que tienden a ser resistencia a la insulina" y "Útil para disminuir o eliminar los factores de riesgo (riesgos) de las enfermedades relacionadas con el estilo de vida".

50

55 El término "indicación" incluye todas las acciones para informar a los consumidores del uso mencionado anteriormente, y cualquier indicación que recuerde o analice el uso mencionado anteriormente cae dentro del alcance de la "indicación" de la presente invención sin importar su finalidad, contenido, artículo objetivo, medio etc. Sin embargo, la indicación se realiza preferiblemente con una expresión que permite a los consumidores reconocer directamente el uso antes mencionado. Ejemplos específicos incluyen acciones de indicación del uso mencionado anteriormente en bienes o paquetes de productos relacionados con el alimento o bebida de la presente invención, acciones de asignación, entrega, exhibición con el propósito de asignar o entregar o importar tales bienes o paquetes de mercancías indicadas con el uso anteriormente mencionado, visualización o distribución de anuncios,

60 listas de precios o documentos comerciales que relacionen las mercancías con indicación del uso mencionado

anteriormente, o suministrando información que incluye aquéllas como contenidos con indicación del uso mencionado anteriormente por un método electromagnético (Internet, etc.) y demás. La indicación es preferiblemente una indicación aprobada por la administración, etc. (por ejemplo, una indicación en una forma en base a una aprobación, que se califica sobre la base de cualquiera de los diversos sistemas legales proporcionados por la administración), y es particularmente preferible una indicación de los materiales publicitarios en los puntos de venta tales como paquetes, contenedores, catálogos, folletos y POP, otros documentos y demás.

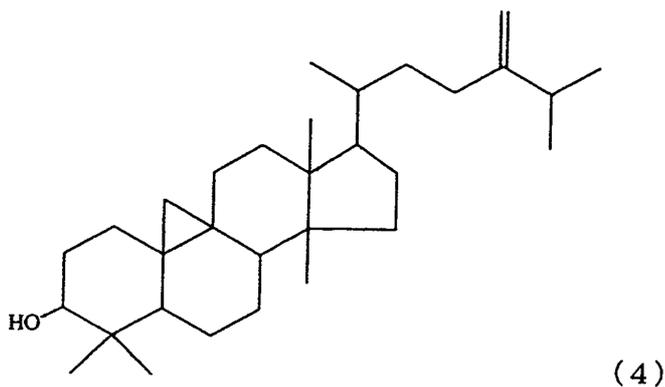
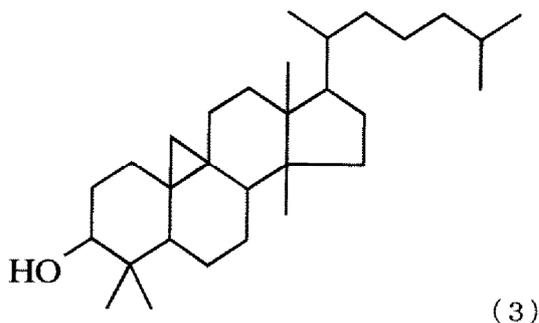
5 Los ejemplos de la indicación incluyen además indicaciones como alimentos saludables, alimentos funcionales, alimentos nutritivos entéricos, alimentos para usos dietéticos especiales, alimentos con propiedades funcionales de nutrientes, quasi-fármacos, y demás, así como indicaciones aprobadas por el Ministerio de Salud, Trabajo y Bienestar, por ejemplo, las indicaciones aprobadas sobre la base del sistema de alimentos para usos específicos de salud y sistemas similares. Ejemplos de estos últimos incluyen indicaciones como alimento para usos específicos de salud, indicaciones como alimento para usos específicos de salud con reivindicaciones de salud calificadas, indicaciones de influencia en estructuras y funciones corporales, indicaciones de reducción de reivindicaciones de riesgo de enfermedad y demás, y más precisamente los ejemplos incluyen indicaciones como alimentos para usos específicos de salud (especialmente indicaciones de uso para la salud) proporcionados en las regulaciones de aplicación de la Ley de Promoción de la Salud (Ministerio de Salud, Trabajo y Bienestar de Japón, Ordenanza Ministerial No. 86, 30 de abril de 2003) .

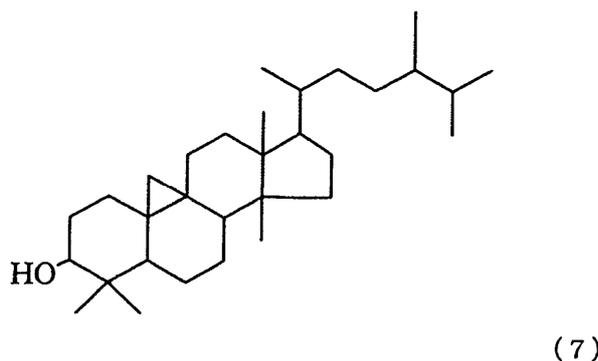
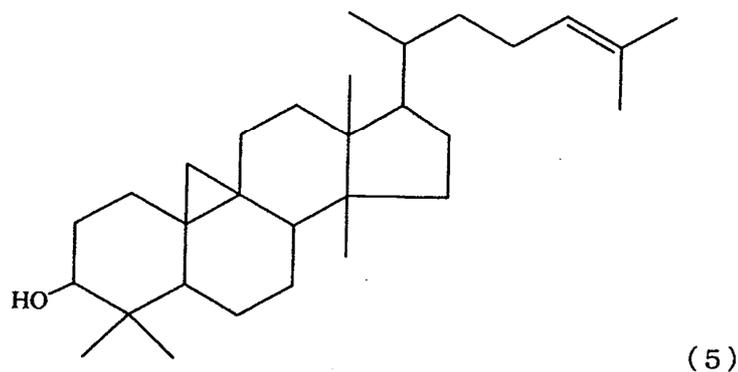
La presente invención se explicará más específicamente con referencia a los siguientes ejemplos.

A continuación se mencionan ejemplos de preparación de compuestos que tienen el esqueleto de ciclanostano.

20 **[Ejemplo de preparación 1]**

Se prepararon 9,19-ciclanostan-3-ol (fórmula (4)), cicloartenol (fórmula (5)) y 24-metilcicloartanol (fórmula (3) 7)) mediante el método descrito a continuación.





Se añadieron 250 ml de agua destilada, 50 g de hidróxido de sodio, 150 ml de isopropanol, 150 ml de etanol y 150 ml de metanol a 8,0 g de γ -oryzanol (Oryza Oil & Chemical Co., Ltd.) y la mezcla se calentó a reflujo con calentamiento durante 2 horas usando un calentador de manto. Después de la reacción, la mezcla de reacción se vertió en 1300 ml de agua, y los precipitados blancos producidos se aislaron mediante filtración por succión. Para lavar el álcali restante, se suspendió el residuo obtenido por filtración en 1000 ml de agua, y después se recogió de nuevo mediante filtración por succión. Este procedimiento se repitió dos veces y el residuo finalmente obtenido se liofilizó bajo presión reducida para obtener 5.91 g de un hidrolizado de orizanol. Este hidrolizado se purificó por HPLC para obtener 2435 mg de 9,19-ciclolanostan-3-ol y 1543 mg de 24-metileno-9,19-ciclolanostan-3-ol.

El 9,19-ciclolanostan-3-ol obtenido se usó para sintetizar cicloartenol. En una cantidad de 302 mg de 9,19-ciclolanostan-3-ol, se cargaron 150 ml de isopropanol y 1.0 g de catalizador en polvo de paladio/carbono al 5% en un autoclave sellado, se reemplazó la atmósfera interna por un gas nitrógeno y después se introdujo un gas hidrógeno con aplicación de 3 kg/cm² de presión. La mezcla se calentó con agitación, y cuando la temperatura alcanzó 50°C, la presión de hidrógeno se ajustó a 5 kg/cm². Con la suplementación de hidrógeno para el hidrógeno absorbido para mantener la presión, se dejó reaccionar durante 6 horas. La mezcla de reacción se filtró para retirar el catalizador, se concentró y luego se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (solvente de revelado: cloroformo al 100%) para obtener 275 mg de cicloartán. El 24-metil-cicloartanol se sintetizó usando 24-metileno-9,19-ciclolanostan-3-ol como material de partida. En una cantidad de 78 mg de 24-metileno-9,19-ciclolanostan-3-ol, se cargaron 150 ml de isopropanol y 1.0 g de un catalizador de paladio/carbono al 5% en polvo en un autoclave sellado, se reemplazó la atmósfera interna con un nitrógeno gaseoso, y luego se introdujo un gas de hidrógeno con aplicación de 3 kg/cm² de presión. A continuación, la mezcla se calentó con agitación, y cuando la temperatura alcanzó 50°C, la presión de hidrógeno se ajustó a 5 kg/cm². Con la suplementación de hidrógeno para el hidrógeno absorbido para mantener la presión de 5 kg/cm², se dejó reaccionar durante 6 horas. La mezcla de reacción se filtró para separar el catalizador, se concentró y luego se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (solvente de revelado: cloroformo al 100%) para obtener 69 mg de 24-metilcicloartanol.

A continuación se describen ejemplos de preparación de composiciones extraídas que contienen un compuesto que tiene el esqueleto de ciclolanostano que usa Aloe vera (Aloe barbadensis Miller) que pertenece a la planta de Liliaceae como material de partida.

30 [Ejemplo de preparación 2]

En una cantidad de 100 kg de Aloe vera sin cascara (Aloe barbadensis Miller) se licuó usando un homogeneizador, se añadieron 100 L de una mezcla éster de acetato de etilo/butanol (3: 1) y se agitó. La mezcla se dejó durante la noche para separar la mezcla de éster de acetato de etilo/butanol y la capa acuosa, y se recuperó la mezcla de éster de acetato de etilo/butanol. La composición extraída que contiene un compuesto que tiene el esqueleto de ciclolanostano, que se obtuvo mediante concentración de la mezcla de éster de acetato de etilo/butanol bajo presión reducida, pesó 13.5 g. La medida de LC-MS de esta composición reveló que el contenido de 9,19-ciclolanostan-3-ol era 10 mg, y el contenido de 24-metileno-9,19-ciclolanostan-3-ol era 70 mg.

[Ejemplo de preparación 3]

5 En una cantidad de 1 kg de polvo de Aloe vera se añadieron 10 L de una mezcla de cloroformo/metanol (2:1) y se sumergió durante la noche en la mezcla a temperatura ambiente y después se recuperó la mezcla de cloroformo/metanol. Los solventes orgánicos se eliminaron completamente de esta mezcla a 28°C para obtener 83 g de una composición que contenía un compuesto que tenía el esqueleto de ciclanostano. La medición de LC-MS de esta composición reveló que el contenido de 9,19-ciclanostan-3-ol era 25.8 mg, y el contenido de 24-metileno-9,19-ciclanostan-3-ol era 24 mg.

Ejemplo 1

10 Este ejemplo se realizó con el fin de evaluar un cambio en el nivel de ácido graso libre (FFA) en el suero sanguíneo causado por una aplicación del agente de la presente invención para mejorar la resistencia a la insulina mediante el uso de ratones AKR en los que la resistencia a la insulina se induce mediante la alimentación con una dieta rica en grasas.

(1) Preparación de muestras

15 Cada uno de 9,19-ciclanostan-3-ol y 24-metileno-9,19-ciclanostan-3-ol producido en el Ejemplo de Preparación 3 se disolvió en DMSO y cada concentración se ajustó a 1 µg/ml con agua destilada para así preparar las Muestras de Prueba 1 y 2. En este caso, la concentración final de DMSO se ajustó a 0.2%. Además, se preparó una solución sin las muestras de ensayo como una muestra negativa.

(2) Método de prueba

20 Se alimentaron preliminarmente ratones AKR machos de 6 semanas de edad (adquiridos de The Jackson Laboratory, EEUU) con una dieta de alto contenido en grasa (Research Diet, Inc.) durante 2 meses para inducir resistencia a la insulina. Estos ratones se dividieron en grupos, cada uno consistente en 8 ratones. Cada uno de los grupos de ratones se administró oralmente con 1 ml por 40 g de peso corporal (25 µg/kg de peso corporal) de las Muestras de Prueba 1, 2 o la muestra negativa una vez al día todos los días con una sonda. En el día 60 a partir de la iniciación de la administración de las muestras, se recogió sangre de los ratones bajo ayuno y se midió el nivel del ácido graso libre en suero mediante el uso de la prueba C de NEFA Wako (Wako Pure Chemical Industries, Ltd.).

(3) Resultados (Nivel de ácidos grasos libres en la sangre)

30 La Tabla 1 muestra los niveles de ácidos grasos libres en suero de ratones a los 60 días desde el inicio de la administración. En comparación con el grupo administrado con la muestra negativa, se observó que los niveles de ácidos grasos libres tienden a disminuir hasta el 81.1% en el grupo administrado con las Muestras de Prueba 1 o 2. Por lo tanto, se reveló que la administración del agente para mejorar la resistencia a la insulina de la presente invención disminuye el nivel sistémico del ácido graso libre y, por lo tanto, exhibe un efecto preventivo sobre la obtención de la resistencia a la insulina.

Tabla 1

Muestra	Ácido graso libre (mEq/l)	Muestra de prueba/Muestra negativa (%)
Muestra de prueba 1	1.20 ± 0.38	81.1
Muestra de prueba 2	1.20 ± 0.25	81.1
Muestra negativa	1.48 ± 0.17	-

35 Ejemplo 2

Este ejemplo se realizó con el fin de evaluar un efecto del agente para mejorar la resistencia a la insulina de la presente invención en cantidades de producción de TNF-α y MCP-1 en cada célula de tejido adiposo usando ratones AKR en los que la resistencia a la insulina es inducida por la alimentación con una dieta rica en grasas.

(1) Preparación de muestras

40 En el Ejemplo 2, se usaron las mismas Muestras de Prueba 1, 2 y la muestra negativa como las preparadas en el Ejemplo 1.

(2) Método de prueba

45 Se alimentaron preliminarmente ratones AKR machos de 6 semanas de edad (adquiridos de The Jackson Laboratory, EE.UU.) con una dieta rica en grasas (Research Diet, Inc.) durante 2 meses para inducir resistencia a la insulina. Estos ratones se dividieron en grupos, cada uno que consiste en 8 ratones. Cada uno de los grupos de

5 ratones se administró oralmente con 1 ml por 40 g de peso corporal (25 mg/kg de peso corporal) de la Muestra de Prueba 1, 2 o la muestra negativa una vez al día todos los días con una sonda. Al día 60 desde la iniciación de la administración de las muestras, se recogieron tejidos de grasas epididimales de los ratones bajo ayuno, y se añadieron 1 g de cada una de las grasas con 1.5 ml de medio D-MEM/F12 que contenía 0.5% de albúmina de suero bovino, seguido de cultivo a 37°C. Después de 1 hora del cultivo, se recogieron los sobrenadantes del cultivo y se midieron las concentraciones de TNF- α y MCP-1 en los sobrenadantes del cultivo mediante el método ELISA (Biosource).

(3) Resultados (cantidades de producción de TNF- α y MCP-1)

10 La Tabla 2 muestra las cantidades de producción de TNF- α de tejidos adiposos. La Tabla 3 muestra las cantidades de producción de MCP-1 de tejidos adiposos. Como es evidente a partir de estos resultados, se observaron efectos inhibidores significativos sobre la producción tanto de TNF- α como de MCP-1 en el grupo administrado con la Muestra de Prueba 1 ó 2 en comparación con el grupo administrado con la muestra negativa. A partir de los resultados del presente ejemplo, se reveló que la administración del agente para mejorar la resistencia a la insulina de la presente invención disminuye la producción de adipocitoquinas en los tejidos grasos que exacerbaban la resistencia a la insulina e impiden el desencadenamiento de la resistencia a la insulina. Además, los valores p en las tablas indican la probabilidad de significancia según la prueba de Tukey-Kramer.

Tabla 2

Muestra	TNF- α (pg/ml)	Valor p
Muestra de prueba 1	29.80 \pm 2.58*	0.0039
Muestra de prueba 2	33.59 \pm 0.59*	0.0365
Muestra negativa	37.89 \pm 2.56	-

En la Tabla, "*" Indica que hubo un efecto inhibitorio estadísticamente significativo sobre la producción de TNF- α .

Tabla 3

Muestra	MCP-1 (pg/ml)	Valor p
Muestra de prueba 1	89.83 \pm 6.16*	0.0018
Muestra de prueba 2	99.32 \pm 7.80*	0.0114
Muestra negativa	122.92 \pm 10.06	-

En la Tabla, "*" Indica que hubo un efecto inhibitorio estadísticamente significativo sobre la producción de MCP-1.

20

Ejemplo 3

Este ejemplo se realizó con el fin de evaluar un efecto mejorador del agente para mejorar la resistencia a la insulina de la presente invención sobre la sensibilidad a la insulina realizando una prueba de tolerancia a la insulina que usa ratones AKR en los que se induce resistencia a la insulina al alimentarse con una dieta rica en grasas.

25 (1) Preparación de muestras

En el Ejemplo 3, se usaron las mismas Muestras de Prueba 1, 2 y la muestra negativa como las preparadas en los Ejemplos 1 y 2.

(2) Método de prueba

30 Se alimentaron preliminarmente ratones AKR machos de 6 semanas de edad (adquiridos de The Jackson Laboratory, EEUU) con una dieta rica en grasas (Research Diet, Inc.) durante 2 meses para inducir resistencia a la insulina. Estos ratones se dividieron en grupos, cada uno que consiste en 8 ratones. Cada uno de los grupos de ratones se administró oralmente con 1 ml por 40 g de peso corporal (25 μ g/kg de peso corporal) de las Muestras de Prueba 1, 2 o la muestra negativa una vez al día todos los días con una sonda. A los 45 días del inicio de la administración de las muestras, se realizó una prueba de tolerancia a la insulina. En el presente ejemplo, la prueba de tolerancia a la insulina se realizó de tal manera que: los ratones se mantuvieron en ayunas durante 4 horas, y luego se les administró por vía intraperitoneal 0.75 U/Kg de peso corporal de una insulina humana (Eli Lilly and Company); y los cambios con el tiempo en el nivel de glucosa en sangre se midieron desde el inicio de la administración de la insulina hasta después de 60 minutos más tarde.

35

(3) Resultados (Prueba de tolerancia a la insulina)

5 Los resultados del presente ejemplo fueron como se muestra en la Fig. 1. La Fig. 1 muestra los resultados de la prueba de tolerancia a la insulina. Como puede verse en la Fig. 1, se observó una rápida disminución de los niveles de glucosa en sangre inmediatamente después de la iniciación de la insulina en el grupo administrado con la Muestra de Prueba 1 ó 2, mientras que no se observó ninguna disminución en el nivel de glucosa en sangre durante 15 minutos después del inicio de la administración de insulina en el grupo administrado con la muestra negativa. A partir de los resultados del presente ejemplo, se reveló que la administración del agente para mejorar la resistencia a la insulina de la presente invención aumenta la sensibilidad a la insulina.

Capacidad de aplicación industrial

10 La presente invención puede proporcionar un agente para mejorar la resistencia a la insulina que es seguro sin efectos secundarios y es capaz de mejorar la sensibilidad a la insulina y puede proporcionar un alimento o bebida fisiológicamente funcional tal como alimentos para uso específico de salud que contienen el agente para mejorar la resistencia a la insulina. El agente para mejorar la resistencia a la insulina y el alimento o bebida fisiológicamente funcional que contiene el mismo de la presente invención puede tener efectos de mejora o preventivos sobre
15 enfermedades, complicaciones y similares causados por una disminución de la sensibilidad a la insulina, por ejemplo las enfermedades relacionadas con el estilo de vida tales como hipertensión, diabetes, hiperlipidemia y arteriosclerosis, y tienen efectos decrecientes sobre los riesgos de dichas enfermedades, complicaciones y similares.

REIVINDICACIONES

1. Un agente para uso en el tratamiento de una enfermedad seleccionada de tolerancia anormal a la glucosa e hiperinsulinemia, que comprende un compuesto seleccionado de 9,19-ciclolanostan-3-ol y el 24-metileno-9,19-ciclolanostan-3-ol.
- 5 2. Un alimento o bebida para uso en el tratamiento de una enfermedad seleccionada de tolerancia anormal a la glucosa e hiperinsulinemia, que comprende un compuesto seleccionado de 9,19-ciclolanostan-3-ol y 24-metileno-9,19-ciclolanostan-3-ol, en el que la bebida contiene al menos 0.0001% en masa seca del compuesto.
- 10 3. El uso de un compuesto seleccionado de 9,19-ciclolanostan-3-ol y 24-metileno-9,19-ciclolanostan-3-ol, en la producción de un alimento o bebida que contiene al menos 0.0001% en masa seca del compuesto para tratar una enfermedad seleccionada de tolerancia anormal a la glucosa e hiperinsulinemia.
4. Un compuesto seleccionado de 9,19-ciclolanostan-3-ol y el 24-metileno-9,19-ciclolanostan-3-ol para su uso en el tratamiento de una enfermedad seleccionada de tolerancia a la glucosa anormal e hiperinsulinemia.

Fig.1

