

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 730 833**

51 Int. Cl.:

A61K 31/704 (2006.01)
A61K 36/896 (2006.01)
C07J 17/00 (2006.01)
A61P 3/04 (2006.01)
A61P 3/06 (2006.01)
A61P 9/12 (2006.01)
A61P 9/10 (2006.01)
A23L 2/52 (2006.01)
A23L 33/105 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **21.09.2006 PCT/JP2006/318685**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **29.03.2007 WO07034851**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.09.2006 E 06810359 (7)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.04.2019 EP 1927361**

54 Título: **Agente para inhibir la acumulación de grasa visceral**

30 Prioridad:

22.09.2005 JP 2005275171
30.09.2005 JP 2005287887

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
12.11.2019

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:

DURAN-CORRETJER, S.L.P

ES 2 730 833 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 inhibir la acumulación de grasa visceral

5 Sector técnico

La presente invención se refiere a un agente que comprende un extracto en disolvente orgánico de mesófilo de Aloe vera para inhibir la acumulación de grasa visceral, que se obtiene mediante una mezcla de acetato de etilo/butanol (3:1) o una mezcla de cloroformo/metanol (2:1), o una fracción del mismo, en el que el extracto o la fracción del mismo comprende un compuesto representado por la fórmula química (1), como mínimo, al 0,001 % en masa seca y se refiere a un alimento o bebida fisiológicamente funcional que lo contiene, tal como un alimento para utilización sanitaria específica.

15 Antecedentes técnicos

En los últimos años, el rápido aumento de la obesidad implicada en la occidentalización del estilo de vida se ha convertido en un grave problema. La obesidad significa un estado en el que se acumula un exceso de energía debido a la ingestión excesiva de calorías y una disminución en el consumo de calorías causada por un ejercicio insuficiente o similares, y es un "estado en el que se acumula una cantidad excesiva de tejidos grasos de un cuerpo (grasa corporal)". Se ha indicado que la obesidad puede ser la base de aparición de las denominadas enfermedades relacionadas con el estilo de vida, tales como la diabetes, la hipertensión y la hiperlipidemia.

La obesidad muestra un estado de acumulación de grasa corporal excesiva y un fenómeno de aumento del peso corporal. Se ha descrito que, cuando se realiza una rápida disminución del peso corporal para mejorar la obesidad, el número de músculos esenciales para el consumo de energía también disminuyen junto con la grasa, y en el caso de la gente mayor, pueden aparecer síntomas, tales como trastorno de la presión arterial y lesión de la articulación de la cadera (documento no de patente 1). Además, existe un informe sobre una terapia de ejercicio que se espera que ejerza un efecto de mejora de los tejidos musculares en el caso en que se lleva a cabo una disminución de la cantidad de grasa sin reducir el peso corporal (documento no de patente 2). Tal como se ha descrito anteriormente, en los últimos años, han atraído la atención procedimientos de mejora de la obesidad mediante la inhibición de la acumulación de grasa corporal en lugar de simplemente la disminución del peso corporal.

Los tejidos grasos se agrupan en la grasa subcutánea que se acumula en el interior de la piel y la grasa visceral que se acumula alrededor de los órganos viscerales en la cavidad abdominal, que se denominan colectivamente "grasa corporal". Se sabe que la obesidad se clasifica en los grupos de: obesidad de tipo de grasa subcutánea que implica la acumulación de la grasa subcutánea; y obesidad de tipo de grasa visceral que implica la acumulación de grasa visceral. La acumulación de grasa visceral proporciona, en particular, amplios efectos sobre la frecuencia de aparición de complicaciones, tales como metabolismo anormal y enfermedades cardiovasculares y la gravedad de los mismos en la obesidad.

De manera convencional, se sabe que la patología en la que un individuo padece una combinación de una pluralidad de enfermedades relacionadas con el estilo de vida, es decir, el "síndrome de múltiples factores de riesgo", aumenta de manera significativa los riesgos de aparición de la enfermedad arteriosclerótica, y se ha propuesto la idea de que el síndrome X y el síndrome metabólico son factores de riesgo de la arteriosclerosis. Debido a la propuesta de estos síndromes de múltiples factores de riesgo, a efectos de lograr una evaluación de los riesgos más completa y para prevenir la aparición de arteriosclerosis, se llevó a cabo, por tanto, la integración internacional de la definición de síndrome metabólico y los criterios de diagnóstico (documento no de patente 3). En los criterios de diagnóstico para el síndrome metabólico que fueron propuestos en Japón en abril de 2005, se adopta un tamaño de cintura correspondiente a un área de grasa visceral de 100 cm² o más como elemento esencial en lugar del índice de masa corporal (IMC) o el porcentaje de grasa corporal que se utiliza, en general, para indicar el nivel de obesidad. De este modo, se ha reconocido que la acumulación de grasa visceral está ampliamente involucrada en la causa del síndrome metabólico.

Se recomiendan ejercicio, dieta y terapias de comportamiento como medios para disminuir la grasa corporal. Sin embargo, en el caso en el que estas terapias son difíciles de llevar a cabo o de continuar, pueden llevarse a cabo un tratamiento farmacológico o una cirugía. En la actualidad, se utiliza mazindol, que es un anorexígeno, como fármaco terapéutico para la obesidad y se prescribe básicamente solamente para personas que padecen de altos niveles de obesidad que muestran un IMC de 35 o más. Sin embargo, el mazindol no sólo proporciona efectos secundarios, tales como dolor de cabeza y sequedad de boca, sino que también presenta un gran número de problemas en los que el mazindol presenta contraindicaciones cuando están presentes disfunciones graves en el riñón, el hígado o el páncreas, y no se puede administrar durante un largo periodo de tiempo debido a su dependencia.

Es ya conocido que los esteroides vegetales, tales como β -sitosterol, campesterol y estigmasterol, tienen un efecto reductor sobre el colesterol en sangre mediante la inhibición de la absorción del colesterol y se ha dado a conocer un agente que mejora el metabolismo de lípidos que contiene diglicérido y esteroles vegetales como principios activos (documento de patente 1). Además, se han dado a conocer un agente contra la obesidad y un agente que mejora el

metabolismo de los lípidos que contienen un compuesto de colesteno sintetizado mediante la utilización de esteroides vegetales, tales como β -sitosterol y campesterol, como material de partida, o 4-cholesten-3-ona (documentos de patente 2 a 5) como principio activo. Se ha dado a conocer que el compuesto 3-O-betaglucopiranosil-4-metilergost-7-en-3-ol previene y trata la hipoglucemia (documento de patente 9).

El género Aloe que pertenece a las plantas liliáceas es un grupo de plantas que incluyen Aloe vera (*Aloe barbadensis* Miller), Aloe arborescens (*Aloe arborescens* Miller variedad *Natalensis* Berger) como una planta típica, y que se sabe que tienen diversos grados de eficacia. De manera específica, se da a conocer que un extracto de Aloe tiene un efecto preventivo o de mejora en la obesidad (documento de patente 6). Además, se ha dado a conocer un suplemento que tiene un efecto de disminuir el peso corporal que contiene el 0,25 % de Aloe vera en polvo (documento de patente 7) y una composición de aceites esenciales para el control del peso corporal que contiene Aloe vera (documento de patente 8). Además, se ha descrito que la administración de una hoja entera de Aloe arborescens a una rata disminuyó significativamente el peso corporal en función de las concentraciones de Aloe arborescens (documentos no de patente 4 o 5).

[Documento de patente 1] Patente japonesa abierta a inspección pública No. 2005-15425

[Documento de patente 2] Patente japonesa abierta a inspección pública No. 07-165587

[Documento de patente 3] Patente japonesa abierta a inspección pública No. 11-193296

[Documento de patente 4] Patente japonesa abierta a inspección pública No. 2001-240544

[Documento de Patente 5] Patente japonesa abierta a inspección pública No. 05-170651

[Documento de Patente 6] Patente japonesa abierta a inspección pública No. 2000-319190

[Documento de Patente 7] Patente de Nueva Zelanda No. 330439

[Documento de patente 8] Patente de Estados Unidos No. 6280751

[Documento de patente 9] WO 2005/095436

[Documento no de patente 1] Journal of Applied Physiology, volumen 95, 2003, págs. 1728-1736

[Documento no de patente 2] Journal of Applied Physiology, volumen 99, 2005, págs. 1220-1225

[Documento no de patente 3] Adiposcience, volumen 2, 2005, págs. 11-15

[Documento no de patente 4] Igaku to Seibutsugaku, volumen 125, No. 5, págs. 189-194

[Documento no de patente 5] Journal of Medicine of Fujita Gakuen, volumen 22, No. 2, págs. 153-157

Características de la invención

El documento de patente 1 no describe el efecto de la administración de esteroide vegetal solo, y no describe ni sugiere el efecto del esteroide vegetal sobre la grasa visceral.

Además, se ha dado a conocer que el compuesto de 3-cetosteroide dado a conocer en el documento de patente 2, el compuesto de colesteno dado a conocer en el documento de patente 3 y los compuestos de 24-alkylcholesten-3-ona, tales como la 24-metilcholest-5-en-3-ona, dados a conocer en el documento de patente 4, presentan los efectos de disminución del peso corporal, una cantidad de grasa corporal y una cantidad de lípidos en la sangre. Sin embargo, no hay una descripción o sugerencia de que los compuestos tengan el efecto de inhibir la acumulación de grasa visceral sin afectar a la cantidad de la ingestión oral y un aumento en el peso corporal.

La 4-cholesten-3-ona dada a conocer en el documento de patente 5 es aparentemente diferente del principio activo de la presente invención. Específicamente, el efecto de la 4-cholesten-3-ona descrita en el documento de patente 5 es que, cuando un ratón normal ingiere calorías, el compuesto disminuye una cantidad excesiva de grasa en la cavidad abdominal junto con componentes grasos que se considera que están dentro de un intervalo normal más de lo necesario. Por lo tanto, el efecto de la 4-cholesten-3-ona descrita en el documento de patente 5 es claramente diferente del efecto de la presente invención de inhibir de manera eficaz sólo los componentes grasos acumulados alrededor de órganos viscerales en una cantidad más de la necesaria en el caso de un estado obeso o en el caso en el que se ingieren cantidades excesivas de calorías.

Además, se da a conocer que el agente para la prevención y la mejora de la obesidad del documento de patente 6 inhibe la progresión de la obesidad que implica un aumento en el peso corporal y, de este modo, es eficaz para mantener un peso corporal estándar sin necesidad de una restricción excesiva de la dieta. Sin embargo, no hay una descripción del efecto sobre la grasa corporal y no se realiza una descripción del efecto de la inhibición de la acumulación de grasa visceral, mediante el cual se reduce la cantidad de grasa visceral sin disminución del peso corporal.

Además, el principio activo descrito en el documento de patente 6 es un extracto de Aloe. Sin embargo, los componentes relacionados con la inhibición de la progresión de la obesidad que implican un aumento en el peso corporal no se especifican en absoluto. Por lo tanto, ha sido difícil predecir a partir de la descripción del documento de patente 6, el efecto de inhibir la acumulación de grasa visceral, que es diferente del efecto del documento de patente 6 y puede disminuir la grasa visceral sin disminuir el peso corporal, y la presencia del efecto.

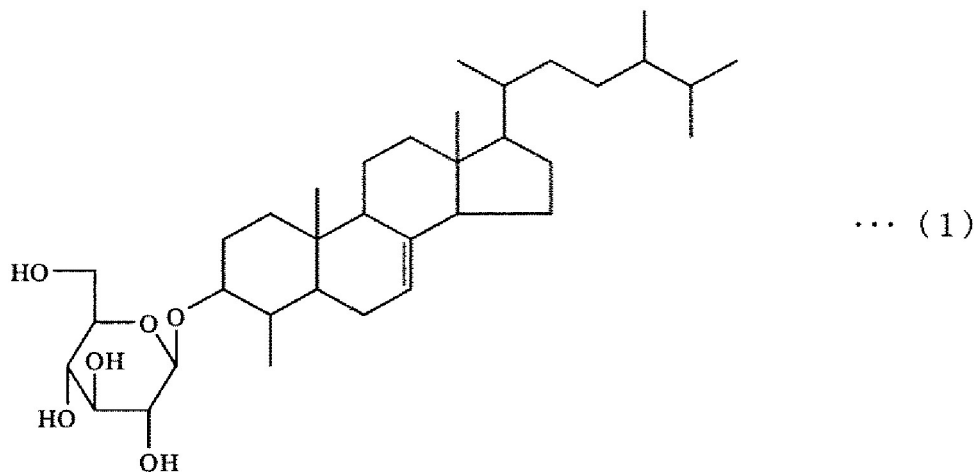
Por consiguiente, con respecto a un agente capaz de reducir selectivamente la grasa visceral que está fuertemente relacionada con la aparición del síndrome metabólico, o capaz de prevenir e inhibir la acumulación de la misma, se ha exigido un desarrollo adicional de un material funcional que pueda ser ingerido diariamente de forma segura con

un mínimo de dolor, y que pueda reducir de manera eficaz la grasa visceral.

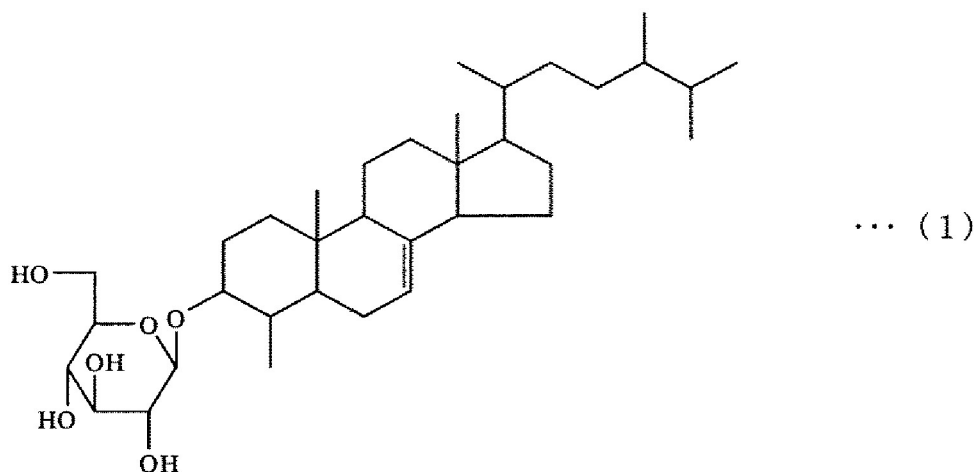
En vista de los problemas mencionados anteriormente, los inventores de la presente invención asiduamente estudiaron un agente para inhibir la acumulación de grasa visceral, que puede prevenir o mejorar la obesidad de tipo de grasa visceral que se considera que es una causa principal del síndrome metabólico. Como resultado, los inventores de la presente invención han descubierto que el 3-O-β-D-glucopiranosil-4-metilergost-7-en-3-ol tiene el efecto de disminuir de manera eficaz la grasa acumulada en una cavidad abdominal. Además, se descubrió que el efecto puede mantener un peso corporal estándar sin disminuir el peso corporal y, de este modo, es útil para inhibir la progresión de la obesidad sin necesidad de una restricción excesiva de la dieta.

Un objetivo de la presente invención es dar a conocer un agente para inhibir la acumulación de grasa visceral, que contiene el 3-O-β-D-glucopiranosil-4-metilergost-7-en-3-ol como principio activo. Además, otro objetivo de la presente invención es dar a conocer un alimento o bebida fisiológicamente funcionales que contienen el agente para inhibir la acumulación de grasa visceral, tal como un alimento para una utilización sanitaria específica.

La primera invención de la presente solicitud para resolver los problemas mencionados anteriormente es un compuesto representado por la siguiente fórmula química (1) para utilización en un procedimiento para inhibir la acumulación de grasa visceral.



La segunda invención de la presente solicitud para resolver los problemas mencionados anteriormente es un agente que comprende un extracto en disolvente orgánico de mesófilo de Aloe vera que se obtiene mediante una mezcla de acetato de etilo/butanol (3:1) o una mezcla de cloroformo/metanol (2:1), o una fracción del mismo, para utilización en la mejora o la prevención de enfermedades causadas por la acumulación de grasa visceral, que incluyen obesidad, hiperlipidemia, hipertensión o arteriosclerosis, en la que el extracto o la fracción del mismo comprende un compuesto representado por la siguiente fórmula química (1), como mínimo, al 0,001 % en masa seca. Además, es preferente que la planta mencionada anteriormente sea una planta liliácea.



La tercera invención de la presente solicitud para resolver los problemas mencionados anteriormente es un alimento o bebida que contiene el agente para utilización en la mejora o la prevención de enfermedades causadas por la acumulación de grasa visceral, que incluyen obesidad, hiperlipidemia, hipertensión o arteriosclerosis, según la

primera o segunda invención, en la que el alimento o bebida contiene el 0,0001 % en masa seca o más del compuesto representado por la fórmula química (1) mencionada anteriormente.

La cuarta invención de la presente solicitud para resolver los problemas mencionados anteriormente es un agente que comprende un extracto en disolvente orgánico de mesófilo de Aloe vera que se obtiene mediante una mezcla de acetato de etilo/butanol (3:1) o una mezcla de cloroformo/metanol (2:1), o una fracción del mismo, para utilización en un procedimiento para inhibir la acumulación de grasa visceral, en la que el extracto o la fracción comprende un compuesto representado por la siguiente fórmula química (1), como mínimo, al 0,001 % en masa seca. Además, es preferente que la planta mencionada anteriormente sea una planta liliácea.

La quinta invención de la presente solicitud para resolver los problemas mencionados anteriormente es un extracto en disolvente orgánico de mesófilo de Aloe vera que se obtiene mediante una mezcla de acetato de etilo/butanol (3:1) o una mezcla de cloroformo/metanol (2:1), o una fracción del mismo, para utilización en un procedimiento para inhibir la mejora o la prevención de enfermedades causadas por la acumulación de grasa visceral, que incluyen obesidad, hiperlipidemia, hipertensión o arteriosclerosis, en la que el extracto o la fracción comprende un compuesto representado por la siguiente fórmula química (1), como mínimo, al 0,001 % en masa seca. Además, es preferente que la planta mencionada anteriormente sea una planta liliácea.

El agente para utilización en un procedimiento para inhibir la acumulación de grasa visceral y el alimento o bebida que lo contiene se pueden administrar o ingerir de forma segura, y tienen los efectos de inhibir, de manera eficaz, la acumulación de grasa visceral. Además, el principio activo del agente para utilización en un procedimiento para inhibir la acumulación de grasa visceral se puede producir fácilmente a partir de una planta de la familia de las liliáceas, tal como Aloe vera (*Aloe barbadensis* Miller), que puede ser ingerida de forma segura desde un punto de vista experimental para la alimentación y es fácilmente disponible.

Modo óptimo de llevar a cabo la invención

En lo sucesivo, se explicarán en detalle realizaciones preferentes de la presente invención. Además, el porcentaje, tal como se utiliza en el presente documento, indica masa, a menos que se especifique lo contrario.

En la presente invención, el efecto de inhibir la acumulación de grasa visceral significa un efecto de disminuir una cantidad de acumulación de grasa en la cavidad abdominal. Por lo tanto, el efecto de inhibir la acumulación de grasa visceral se puede evaluar mediante la medición de una cantidad de grasa en la cavidad abdominal, tal como el peso de grasa mesentérica.

El compuesto utilizado como principio activo del agente para utilización en un procedimiento para inhibir la acumulación de grasa visceral (en lo sucesivo también denominado "el agente de la presente invención") de la presente invención es el compuesto que tiene la estructura representada por la fórmula química (1) mencionada anteriormente, es decir, 3-O-β-D-glucopiranosil-4-metilergost-7-en-3-ol. El compuesto de la presente invención tiene una estructura formada mediante condensación por deshidratación del grupo hidroxilo en la posición 3 del 4-metilergost-7-en-3-ol y el grupo hidroxilo en la posición 1 de D-glucosa.

Además, la composición utilizada como principio activo del agente para utilización en un procedimiento para inhibir la acumulación de grasa visceral de la presente invención (en lo sucesivo también denominada "la composición de la presente invención") es un extracto de una planta de la familia de las liliáceas, o una fracción del mismo, que contiene, como mínimo, al 0,001 % en masa seca, de manera preferente, el 0,01 % en masa seca o más, y, de manera más preferente, el 0,1 % en masa seca o más del compuesto mencionado anteriormente de la presente invención. El límite superior del contenido del compuesto de la presente invención no está particularmente limitado y puede ser, por ejemplo, de manera preferente, del 10 % en masa seca o del 50 % en masa seca, el 70 % en masa seca o el 90 % en masa seca.

En la presente invención, la masa seca significa una masa medida después de secar un compuesto mediante el procedimiento de secado definido mediante la "prueba de la pérdida por secado" que es un procedimiento de prueba general que se describe en la farmacopea japonesa, 14ª revisión (30 de marzo de 2001, Ministerio japonés de salud, trabajo y bienestar, Notificación ministerial No. 111). Por ejemplo, la masa del compuesto de la presente invención se puede determinar de una manera, tal que: se mide aproximadamente 1 g del compuesto de la presente invención y se seca a 105 °C durante 4 horas; y el producto resultante se enfría reposando en un desecador; y la masa del compuesto se pesa con una balanza.

El compuesto de la presente invención o una composición que lo contiene pueden producirse mediante, por ejemplo, la extracción de una fracción que contiene el compuesto de la presente invención a partir de una planta perteneciente a la familia de las liliáceas y que contiene el compuesto de la presente invención, una parte de la misma, o un producto de alteración de la misma mediante la utilización de un disolvente orgánico o agua caliente y concentración de la fracción.

Entre los ejemplos de la planta mencionada anteriormente perteneciente a la familia de las liliáceas se incluyen plantas que pertenecen al género *Aloe* o *Allium*. Entre los ejemplos de las plantas del género *Aloe* se incluyen *Aloe*

barbadensis Miller, *Aloe ferox* Miller, *Aloe africana* Miller, *Aloe arborescens* Miller variedad *natalensis* Berger y *Aloe spicata* Baker. En la producción del compuesto de la presente invención o una composición que lo contiene, aunque se puede utilizar toda la planta mencionada anteriormente, es preferente utilizar el mesófilo (parte de gel transparente) de la misma. Dicha planta o una parte de la misma se altera, de manera preferente, mediante la utilización de un homogeneizador y, por tanto, se licúa y el compuesto de la presente invención o una composición que lo contiene se extrae a partir del producto alterado mediante la utilización de un disolvente orgánico o agua caliente. Entre los ejemplos del disolvente orgánico se 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 polihidroxilados, tales como polietilenglicol; disolventes de nitrilo, tales como acetonitrilo, y mezclas de estos disolventes. Además, estos disolventes pueden ser anhidros o hidratados. Entre estos disolventes, son preferentes de manera particular una mezcla de acetato de etilo/butanol (3:1) y una mezcla de cloroformo/metanol (2:1).

Como procedimiento de extracción, puede utilizarse un procedimiento utilizado para la extracción habitual de un componente de la planta. Normalmente se utiliza, por ejemplo, un procedimiento de reflujo de 1 a 300 partes en masa de un disolvente orgánico con 1 parte en masa de planta fresca o planta seca con calentamiento a la temperatura del punto de ebullición del disolvente o por debajo de la misma y mezcla o agitación, o un procedimiento de realización de la extracción mediante ultrasonidos a temperatura ambiente. Mediante el aislamiento de los materiales insolubles a partir del licor de extracción utilizando un procedimiento adecuado, tal como filtración o centrifugación, se puede obtener un extracto en bruto.

El extracto en 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 utiliza un gradiente de mezcla de cloroformo/metanol en cromatografía en columna de gel de sílice de fase normal como disolvente de elución, el compuesto de la presente invención se eluye con una proporción de mezcla de cloroformo:metanol = aproximadamente 5:1. Además, cuando se utiliza un gradiente de mezcla de metanol/agua en cromatografía de columna de gel de sílice de fase inversa como disolvente de elución, el compuesto de la presente invención se eluye con metanol de una concentración de aproximadamente el 95 %. La fracción obtenida se puede purificar adicionalmente mediante HPLC.

Si el compuesto o composición que lo contiene obtenida, tal como se ha descrito anteriormente, en realidad contiene el compuesto de la presente invención se puede confirmar midiendo el efecto de inhibir la acumulación de grasa visceral como indicador mediante la utilización, por ejemplo, de los procedimientos mostrados en los ejemplos descritos más adelante. Si el compuesto es un glucósido unido con glucosa en el resto de aglicona, o si el resto de aglicona es 4-metilergost-7-en-3-ol, se pueden confirmar mediante, por ejemplo, ¹³C-RMN.

El compuesto de la presente invención también se puede producir mediante condensación de D-glucosa y 4-metilergost-7-en-3-ol. El 4-metilergost-7-en-3-ol se puede obtener mediante la extracción de una planta y su purificación. La D-glucosa y el 4-metilergost-7-en-3-ol se pueden condensar mediante, por ejemplo, una combinación de los procedimientos descritos en Jikken Kagaku Koza (Lecture of Experimental Chemistry), 4ª edición, volumen 26, 1992 (descrito en la pág. 272, pág. 297 y pág. 342). Es decir, la D-glucosa se acetila completamente y, a continuación, la posición anomérica se convierte en α-bromuro. A continuación, el 4-metilergost-7-en-3-ol se hace reaccionar con α-bromuro en éter dietílico para conseguir la β-glucosilación y, a continuación, el grupo acetilo se hidroliza en una mezcla de metóxido de sodio/metanol para obtener el compuesto objetivo.

El compuesto de la presente invención se puede utilizar como principio activo del agente para utilizar en un procedimiento para inhibir la acumulación de grasa visceral de la presente invención y un alimento o bebida que lo contiene tal como es. Además, un extracto en disolvente orgánico de mesófilo de Aloe vera que se obtiene mediante una mezcla de acetato de etilo/butanol (3:1) o una mezcla de cloroformo/metanol (2:1), o una fracción de las mismas (en lo sucesivo denominado "extracto") también se puede utilizar como principio activo del agente para utilización en un procedimiento para inhibir la acumulación de grasa visceral y un alimento o bebida que lo contiene.

El líquido exprimido puede obtenerse mediante el procesamiento de un homogeneizado de una planta mediante un compresor, la recogida de un producto en bruto de líquido exprimido de una planta y la filtración del producto en bruto para eliminar la fracción insoluble (contaminante) mediante un filtro o tela de filtración. Por ejemplo, cuando el Aloe vera se utiliza como una planta de la familia de las liliáceas, el líquido exprimido de Aloe vera se puede preparar mediante el procesamiento de la parte de gel de mesófilo obtenida mediante el descascarado de la hoja de Aloe vera mediante una trituradora, la compresión de un líquido exprimido para recoger un producto en bruto de Aloe vera y la filtración del producto en bruto de Aloe vera para eliminar contaminante mediante un filtro o tela de filtración. En este caso, es preferente que el contenido total de aloína y aloe-emodina, que están contenidos en una gran cantidad en la piel de la hoja de Aloe vera, sea de 5 ppm o menos.

El extracto mencionado anteriormente que debe estar contenido en el agente para utilización en un procedimiento para inhibir la acumulación de grasa visceral contiene, de manera preferente, como mínimo, el 0,001 % en masa

seca, de manera más preferente, del 0,01 al 1 % en masa seca, de manera particularmente preferente, del 0,05 al 1 % en masa seca, del compuesto de la presente invención. Además, el extracto mencionado anteriormente que debe estar contenido en un alimento o bebida contiene, de manera preferente, como mínimo, el 0,0001 % en masa seca, de manera más preferente, del 0,001 al 1 % en masa seca, de manera particularmente preferente, del 0,005 al 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 mencionado anteriormente puede ser una solución o también puede liofilizarse o secarse por pulverización de una manera convencional y almacenarse o utilizarse como polvo.

Como agente para utilización en un procedimiento para inhibir la acumulación de grasa visceral de la presente invención, el compuesto de la presente invención o una composición que lo contiene, tal como el extracto per se, o los que se combinan con un portador farmacéuticamente aceptable puede administrarse por vía oral o parenteral a un mamífero, incluyendo un ser humano.

La forma de dosificación del agente para utilización en un procedimiento para inhibir la acumulación de grasa visceral de la presente invención no está particularmente limitada y se puede seleccionar de manera adecuada dependiendo del propósito terapéutico. Entre los ejemplos específicos de las mismas se incluyen comprimido, píldora, polvo, solución, suspensión, emulsión, gránulos, cápsula, jarabe, supositorio, inyección, pomada, parche, colirio y gotas nasales. Para la preparación, se pueden utilizar aditivos utilizados, en general, en un agente habitual para utilización en un procedimiento para inhibir la acumulación de grasa visceral como portadores farmacéuticos, tales como excipientes, aglutinantes, agentes disgregantes, lubricantes, estabilizantes, agentes aromatizantes, diluyentes, surfactantes y disolventes para inyección. Además, siempre que no se degrade el efecto de la presente invención, el compuesto de la presente invención, o el extracto que lo contiene, se pueden utilizar en combinación con otros agentes que tienen un efecto para inhibir la acumulación de grasa visceral.

Aunque la cantidad del compuesto de la presente invención o del extracto que lo contiene contenida en el agente para utilización en un procedimiento para inhibir la acumulación de grasa visceral de la presente invención no está particularmente limitada y se puede seleccionar de manera adecuada, la cantidad es, como mínimo, del 0,001 % en masa, de manera preferente, del 0,01 al 1 % en masa, de manera particularmente preferente, del 0,05 al 1 % en masa, en términos de la cantidad del compuesto de la presente invención.

El agente para utilización en un procedimiento para inhibir la acumulación de grasa visceral de la presente invención tiene el efecto de inhibir la acumulación de grasa visceral y, de este modo, puede evitar la obesidad de tipo de grasa visceral. La obesidad de tipo de grasa visceral, en general, significa un estado en el que el área de grasa visceral es de 100 cm² o más y, según los criterios de diagnóstico para el síndrome metabólico, significa un caso en el que un hombre japonés tiene un tamaño de la cintura de 85 cm o más o una mujer japonesa tiene un tamaño de cintura de 90 cm o más (Internal Medicine, volumen 94, págs. 188-203, 2005). Además, el agente para utilización en un procedimiento para inhibir la acumulación de grasa visceral de la presente invención se utiliza, de manera preferente, para el tratamiento de un paciente que tiene una mayor cantidad de la grasa visceral acumulada que una persona sana.

Además, el agente para utilización en un procedimiento para inhibir la acumulación de grasa visceral de la presente invención puede mejorar o prevenir enfermedades, y complicaciones causadas por la acumulación de grasa visceral, tales como el metabolismo anormal de los lípidos y enfermedades cardiovasculares, y puede también disminuir los riesgos de esas enfermedades y complicaciones. Entre los ejemplos de las diversas enfermedades causadas por la acumulación de grasa visceral se incluyen la obesidad, en particular, la obesidad de tipo de grasa visceral, hiperlipidemia, diabetes, hipertensión y arteriosclerosis. Además, entre los ejemplos de las complicaciones causadas por estas enfermedades se incluyen: retinopatía diabética, nefropatía, neuropatía y gangrena diabética causada por diabetes; embolia cerebral, nefroesclerosis e insuficiencia renal causada por hipertensión; y embolia cerebral, infarto cerebral, enfermedades cardiovasculares, tales como angina de pecho e infarto cardíaco, y nefropatía, tal como uremia, nefroesclerosis e insuficiencia renal causada por arteriosclerosis.

Además, el agente para utilización en un procedimiento para inhibir la acumulación de grasa visceral de la presente invención puede ser útil para prevenir la aparición del síndrome metabólico. El efecto del agente de inhibir o disminuir la acumulación de grasa visceral, tal como se ha descrito anteriormente, es extremadamente eficaz para la prevención de la aparición del síndrome metabólico y enfermedades arterioescleróticas relacionadas con el síndrome metabólico, enfermedades relacionadas con el estilo de vida indicados como factores de riesgo del mismo, tales como diabetes, hipertensión e hiperlipidemia, y complicaciones asociadas con estas enfermedades. Además, síndrome metabólico significa estados observados en el síndrome de múltiples factores de riesgo, es decir, estados en los que la arteriosclerosis aparece fácilmente y en los que dichos síntomas considerados como factores de riesgo, tales como hiperinsulinemia, tolerancia anormal a la glucosa o hiperglucemia, metabolismo anormal de lípidos, hiperlipidemia (hipertrigliceridemia e hipo HDL-colesterolemia), hipertensión, obesidad y acumulación de grasa visceral. Además, el compuesto de fórmula (1) tiene un efecto de disminuir el nivel de hemoglobina A1c y de mejorar la hiperglucemia (documento WO 2005/095436).

Es preferente que las enfermedades a las que se aplica el agente para utilización en un procedimiento para inhibir la acumulación de grasa visceral de la presente invención no vayan acompañadas con un estado en el que nivel de hemoglobina A1c sea mayor que el de una persona sana.

El tiempo de la administración del agente de la presente invención no está particularmente limitado y puede seleccionarse de manera adecuada según el procedimiento para tratar una enfermedad objetivo. Además, la vía de administración se determina, de manera preferente, en función de la forma de dosificación, la edad, el sexo y otras condiciones de los pacientes, la gravedad de los síntomas de los pacientes. La dosis del agente de la presente invención se selecciona de manera adecuada en función del régimen de dosificación, la edad, el sexo, la gravedad de la enfermedad y otras condiciones de los pacientes. La cantidad del compuesto de la presente invención como principio activo se selecciona habitualmente del intervalo, de manera preferente, de 0,001 a 50 mg/kg/día, de manera más preferente, de 0,01 a 1 mg/kg/día, como dosis tentativa. Además, cuando se utiliza un extracto que contiene el compuesto de la presente invención, el peso seco del extracto se selecciona del intervalo, de manera preferente, de 0,1 a 1.000 mg/kg/día, de manera más preferente, de 1 a 100 mg/kg/día, como una cantidad tentativa. En cualquier caso, la dosis puede ser ingerida, en un día, una o varias veces como partes divididas.

El compuesto de la presente invención o la composición que lo contiene se pueden añadir al alimento o bebida (una bebida o un alimento) para producir un alimento o bebida utilizado en un procedimiento para inhibir la acumulación de grasa visceral. La forma y la propiedad del alimento o la bebida no están particularmente limitadas siempre y cuando no se degrade el efecto del principio activo, y el alimento o bebida se puedan ingerir por vía oral, y se puedan producir de una manera convencional mediante la utilización de materias primas utilizadas habitualmente para alimentos o bebidas, excepto que se añade el principio activo mencionado anteriormente. Además, la cantidad del compuesto de la presente invención o del extracto que lo contiene contenida en el alimento o bebida de la presente invención no está particularmente limitada y se puede seleccionar de manera adecuada. El compuesto de la presente invención o el extracto que lo contiene están contenidos en el alimento o la bebida en una cantidad, como mínimo, del 0,0001 % en masa, de manera preferente, del 0,001 al 1 % en masa, de manera particularmente preferente, del 0,005 al 1 % en masa, en términos de la cantidad del compuesto de la presente invención.

El alimento o la bebida de la presente invención se pueden utilizar para diversas aplicaciones utilizando el efecto de disminución de la grasa visceral. Por ejemplo, se pueden utilizar como alimento o bebida adecuada para una persona que empezó a preocuparse por el tamaño de su cintura, un alimento o bebida adecuados para una persona que empezó a preocuparse de los lípidos en sangre, y un alimento o bebida útil para disminuir o eliminar los factores de riesgo del síndrome metabólico.

En la presente invención, "inhibir la acumulación de grasa visceral" significa un efecto de mejorar o prevenir diversos efectos adversos sobre la salud causados por una acumulación de grasa visceral. "Mejorar la obesidad de tipo de grasa visceral", "prevenir la obesidad de tipo de grasa visceral", "disminuir la grasa visceral" y "prevenir la acumulación de grasa visceral" se ejemplifican como con el mismo significado que con la expresión mencionada "inhibir la acumulación de grasa visceral" en la presente invención.

Además, el alimento o la bebida de la presente invención pueden ser útiles para mejorar o prevenir las enfermedades causadas por la acumulación de grasa visceral, tales como el metabolismo anormal de los lípidos y las enfermedades cardiovasculares tipificadas por hiperlipidemia. Además, el alimento o la bebida de la presente invención también pueden utilizarse para prevenir la aparición del síndrome metabólico, la obesidad de tipo de grasa visceral. Además, el alimento o la bebida de la presente invención pueden tratar o prevenir diversas enfermedades, complicaciones causadas por la acumulación de grasa visceral y pueden disminuir los riesgos de estas enfermedades, y complicaciones, al igual que se ha mencionado anteriormente para el agente de la presente invención.

El alimento o la bebida de la presente invención se comercializa, de manera preferente, como alimento o bebida con una indicación adjunta de que el alimento o la bebida se utiliza para inhibir la acumulación de grasa visceral, por ejemplo, "alimento o bebida que contiene un compuesto que tiene un efecto de inhibir la acumulación de grasa visceral se indica "Para inhibir la acumulación de grasa visceral" o "alimento o bebida que contiene un extracto de la planta se indica "Para inhibir la acumulación de grasa visceral". Además, debido a que el compuesto de la presente invención y una composición que lo contiene, tienen el efecto de inhibir la acumulación de grasa visceral, la indicación de "inhibir la acumulación de grasa visceral" para el alimento o la bebida se considera, por tanto, que tiene el significado de "mejorar la obesidad de tipo de grasa visceral". Por lo tanto, el alimento o la bebida de la presente invención pueden indicarse "Para mejorar la obesidad de tipo de grasa visceral". En otras palabras, la indicación de "Para inhibir la acumulación de grasa visceral" se puede sustituir por la indicación "Para mejorar la obesidad de tipo de grasa visceral".

La expresión utilizada para dicha indicación, tal como se ha mencionado anteriormente, no está necesariamente limitada a la expresión "Para inhibir la acumulación de grasa visceral" o "Para mejorar la obesidad de tipo de grasa visceral", y cualquier otra expresión que exprese el efecto de inhibir la acumulación de grasa visceral o el efecto de prevenir y mejorar la obesidad de tipo de grasa visceral, naturalmente se encuentran dentro del alcance de la presente invención. Como dicha expresión, por ejemplo, también es posible una indicación basada en diversas utilizaciones que permiten a los consumidores reconocer el efecto de inhibir la acumulación de grasa visceral o el efecto de mejorar la obesidad de tipo de grasa visceral. Entre los ejemplos se incluyen la indicación de "Apto para aquellos que han empezado a preocuparse por el tamaño de la cintura", "Apto para aquellos que tienden a presentar obesidad de tipo de grasa visceral" y "Útil para la disminución o eliminación de los factores de riesgo (riesgos) del síndrome metabólico".

El término "indicación" mencionado anteriormente incluye todas las acciones para informar a los consumidores de la utilización mencionada anteriormente y cualesquiera de las indicaciones que recuerdan o son análogas a la utilización mencionada anteriormente se encuentran dentro del alcance de la "indicación" de la presente invención, independientemente del propósito, contenido, artículo objetivo, medio de la indicación. Sin embargo, la indicación se hace, de manera preferente, con una expresión que permita a los consumidores reconocer directamente la utilización mencionada anteriormente. Entre los ejemplos específicos se incluyen las acciones de indicar la utilización mencionada anteriormente en productos o envases de productos relacionados con el alimento o la bebida de la presente invención, las acciones de asignar, entregar, presentar con el propósito de asignar o entregar o importar dichos productos o envases de productos indicados con la utilización mencionada anteriormente, presentar o distribuir anuncios, listas de precios o documentos comerciales relacionados con el producto con la indicación de la utilización mencionada anteriormente, o proporcionar información que incluye los contenidos con la indicación de la utilización mencionada anteriormente mediante un procedimiento electromagnético (Internet). La indicación es, de manera preferente, una indicación aprobada por la administración (por ejemplo, una indicación en un formulario basada en una aprobación, que es calificada basándose en cualquiera de los diversos sistemas legales previstos por la administración), y, de manera particularmente preferente, es una indicación en materiales de publicidad en los puntos de venta, tales como envases, recipientes, catálogos, folletos y pruebas de ejecución, y otros documentos.

Entre los ejemplos de la indicación se incluyen, además, indicaciones de alimentos saludables, alimentos funcionales, alimentos nutritivos entéricos, alimentos para utilizaciones dietéticas especiales, alimentos con demandas de función de nutrientes y cuasi fármacos, así como las indicaciones aprobadas por el Ministerio de salud, trabajo y bienestar, por ejemplo, las indicaciones aprobadas basándose en el sistema de alimentos para utilizaciones sanitarias específicas y sistemas similares. Entre los ejemplos de éstos últimos se incluyen indicaciones como alimentos para utilizaciones sanitarias específicas, indicaciones como alimentos para utilizaciones sanitarias específicas con demandas de salud calificadas, indicaciones de influencia en las estructuras y funciones del organismo, indicaciones de la reducción de las demandas del riesgo de enfermedad y, más concretamente, entre los ejemplos típicos se incluyen indicaciones como alimentos para utilizaciones sanitarias específicas (especialmente las indicaciones de utilización para la salud) previstas en el reglamento 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) e indicaciones similares.

La presente invención se explicará de manera más específica con referencia a los siguientes ejemplos.

En primer lugar, se explica mediante los ejemplos de preparación que el compuesto o la composición de la presente invención se pueden producir a partir de una planta perteneciente a la familia de las liliáceas.

[Ejemplo de preparación 1]

Como ejemplos de preparación a partir de una planta perteneciente a la familia de las liliáceas, se describirán a continuación ejemplos de preparación de 3-O-β-D-glucopiranosil-4-metilergost-7-en-3-ol a partir de Aloe vera.

Se licuó una cantidad de 100 kg de mesófilo (parte de gel transparente) de Aloe vera mediante la utilización de un homogeneizador, se añadieron a 100 litros de una mezcla de acetato de etilo/butanol (3:1) y se agitó. La mezcla se dejó durante una noche para separar la mezcla de acetato de etilo/butanol y la capa acuosa, y se recuperó la mezcla de acetato de etilo/butanol. El extracto de esta mezcla de acetato de etilo/butanol obtenido concentrando la mezcla de acetato de etilo/butanol a presión reducida pesó 13,5 g. Se evaluó el efecto de inhibir la acumulación de grasa visceral para la capa acuosa mencionada anteriormente mediante la medición del peso de grasa mesentérica, y para el extracto de la mezcla de acetato de etilo/butanol en ratones modelo de diabetes, que se describe más adelante en el ejemplo de referencia 1, y se observó el efecto para el extracto de la mezcla de acetato de etilo/butanol. Por lo tanto, se intentó aislar y purificar los componentes en el extracto.

En primer lugar, se examinó el extracto mencionado anteriormente mediante cromatografía en capa fina (Merck Ltd., gel de sílice 60F254 y RP-18F2543). Como resultado, pareció que era adecuado un procedimiento de aislamiento basado en cromatografía en columna de gel de sílice en fase normal utilizando una mezcla cloroformo/metanol. Por consiguiente, se cargó una solución de 13 g del extracto mencionado anteriormente disuelto en 1 ml de una mezcla de cloroformo/metanol (1:1) en una columna llena con 400 g de gel de sílice 60 (Merck Ltd.) para conseguir la adsorción de los componentes a la columna, a continuación, los componentes se eluyeron con una mezcla de cloroformo/metanol mediante el procedimiento de gradiente por etapas, en el que la concentración de metanol se aumentó poco a poco (proporciones de mezcla cloroformo:metanol = 100:1, 25:1, 10:1, 5:1 y 1:1), y el eluato se fraccionó para cada proporción de mezcla de la mezcla mencionada anteriormente. Los rendimientos de los productos de purificación en bruto obtenidos a partir de las fracciones después de la eliminación del disolvente fueron 1,44, 3,0, 1,17, 1,28 y 2,27 g, respectivamente. Se confirmó mediante la evaluación mencionada anteriormente de la inhibición de la acumulación de grasa visceral que, entre estas fracciones, existía un componente activo en la fracción eluida con la mezcla de cloroformo:metanol = 5:1 (producto de purificación en bruto A).

Además, para aislar y purificar el componente activo a partir del producto de purificación en bruto A mencionado anteriormente, se examinó este producto de purificación en bruto A mediante la utilización de cromatografía en capa fina (Merck Ltd., gel de sílice 60F254 y RP-18F2543). Como resultado, pareció que era adecuado un procedimiento de aislamiento basado en cromatografía en columna de gel de sílice de fase inversa utilizando metanol. Por consiguiente, el producto de purificación en bruto A mencionado anteriormente se disolvió en 1 ml de una mezcla de cloroformo/metanol (1:1) y se cargó en una columna llena con 180 g de COSMOSIL 140 (Nacalai Tesque, Inc.) para conseguir la adsorción del componente a la columna. A continuación, se realizó la elución mediante la utilización de manera sucesiva de 600 ml de una solución de metanol al 85 %, 600 ml de solución de metanol al 95 % y 100 ml de metanol al 100 %. El 3-O-β-D-glucopiranosil-4-metilergost-7-en-3-ol se concentró y se aisló en una fracción eluida con metanol al 95 % y pesó 370 mg después de eliminar el disolvente. En lo sucesivo, este producto se denomina compuesto 1.

Debido a que el compuesto 1 mostró un valor de R_f muy próximo al del glucósido de β-sitosterol en un examen basado en cromatografía en capa fina, se anticipó que era un glucósido en el que 1 molécula de azúcar se unió al resto de aglicona. Además, para examinar la composición de azúcar del compuesto 1, el compuesto 1 se sometió a metanolisis, a continuación se convirtió en un derivado de TMS y se sometió a medición mediante CG-EM. Como resultado, en la medición del derivado de TMS para la parte de azúcar del compuesto 1, se observaron picos principales a tiempos de retención de 14,28, 14,61 y 16,34 minutos, lo cual era sustancialmente consistente con los tiempos de retención de los picos principales de la glucosa de muestra (Nacalai Tesque, Inc.), 14,27, 14,60 y 16,33 minutos. Además, no se observaron picos correspondientes a los picos principales de la galactosa de muestra (Kishida Chemical Co., Ltd.) y la xilosa de muestra (Kishida Chemical Co., Ltd.). De este modo, se confirmó que el tipo de azúcar contenido en el compuesto 1 era glucosa.

A partir de los resultados anteriores, se estimó que el compuesto 1 era un glucósido en el que 1 molécula de glucosa se unió al resto de aglicona. Sin embargo, cuando el compuesto 1 se midió mediante ^{13}C -RMN (125 MHz, CDCl_3), se confirmó la existencia de contaminantes. Por lo tanto, se consideró que sería necesaria una purificación adicional para determinar su estructura. Por consiguiente, el compuesto 1 se metanolizó y, a continuación, se acetiló y, a continuación, se confirmó la estructura del resto de aglicona, así como el sitio de unión del resto de aglicona y el azúcar. El procedimiento del mismo se describirá a continuación.

Se disolvió una cantidad de 50 mg del compuesto 1 en metanol (50 ml) que contenía ácido clorhídrico al 5 % y la solución se sometió a reflujo con calentamiento durante 6 horas para metanolisis y se secó para obtener un residuo (aproximadamente 30 mg). Este residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (hexano:cloroformo = 9:1) para obtener un compuesto 2 (10 mg). Este compuesto 2 (5 mg) se añadió a anhídrido acético y piridina (2 gotas cada uno) y se calentó a 70 °C durante 30 minutos para acetilación y, a continuación, el disolvente de la mezcla de reacción se evaporó para obtener un compuesto 3. El análisis del compuesto 3 se realizó mediante CG-EM y ^{13}C -RMN (125 MHz, CDCl_3).

Los resultados del análisis de este compuesto 3 mediante CG-EM y ^{13}C -RMN (125 MHz, CDCl_3) se muestran a continuación. Se preparó el 3-acetoxi-4-metilergost-7-eno utilizado como sustancia de referencia mediante la extracción a partir de aloe, purificación del extracto, confirmación de la estructura del producto purificado mediante ^{13}C -RMN y acetilación del mismo.

[Espectro de ^{13}C -RMN (valores δ , en CDCl_3); C-1:36,8, C-2:27,3, C-3:78,7, C-4:37,0, C-5:46,9, C-6:26,8, C-7:117,4, C-8:139,4, C-9:49,7, C-10:34,9, C-11:21,6, C-12:39,7, C-13:43,6, C-14:55,1, C-15:23,1, C-16:28,2, C-17:56,3, C-18:12,0, C-19:14,2, C-20:36,5, C-21:19,0, C-22:33,9, C-23:30,6, C-24:39,1, C-25:32,6, C-26:20,4, C-27:18,4, C-28:15,6, C-29:15,3]

[CG-EM]

Aparato: GC-17A/GCMS5050A (Shimadzu)
 Columna de CG: NEUTRA BOND-5 (GL Sciences)
 Temperatura de la columna: 100 °C (2 min) → (10 °C/min) → 300 °C (28 min)
 Temperatura de inyección: 250 °C
 Gas portador: He (1,3 ml/min)
 Temperatura de interfase: 300 °C
 Modo de EM: EI
 Energía de ionización: 70 eV

[Resultados]

Sustancia de referencia: 3-acetoxi-4-metilergost-7-eno: tR [min] = 39,4; m/z 456 $[\text{M}]^+$, 441 $[\text{M}-\text{CH}_3]^+$, 396 $[\text{M}-\text{AcOH}]^+$, 381 $[\text{M}-\text{CH}_3-\text{AcOH}]^+$
 Compuesto 3: tR [min] = 39,2; m/z 456 $[\text{M}]^+$, 441 $[\text{M}-\text{CH}_3]^+$, 396 $[\text{M}-\text{AcOH}]^+$, 381 $[\text{M}-\text{CH}_3-\text{AcOH}]^+$

Los resultados de la medición de RMN del compuesto 3 fueron consistentes con los valores de 3-acetoxi-4-metilergost-7-eno mostrados en la bibliografía (Yukagaku (Oil Chemistry), volumen 36, No. 5, págs. 301-319,

1987). Estos resultados revelaron que el compuesto 2 fue 4-metilergost-7-en-3-ol. Además, como resultado de la medición de FAB-EM, se descubrió que el peso molecular del compuesto 1 fue de 576. Cuando el compuesto 2 (resto de aglicona) y la glucosa se condensaron, el peso molecular del compuesto obtenido fue de 414 (compuesto 2) + 180 (glucosa) - 18 (agua) = 576, que fue consistente con el peso molecular del compuesto 1. Los resultados anteriores revelaron que el compuesto 1 tenía una estructura de 3-O-β-D-glucopiranosil-4-metilergost-7-en-3-ol.

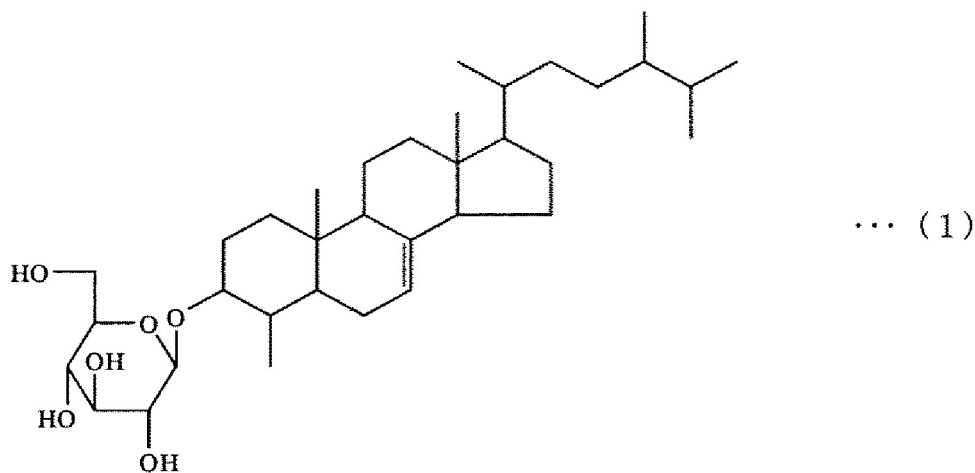
Las fórmulas moleculares, los pesos moleculares y las fórmulas químicas de los compuestos se muestran a continuación.

(Compuesto 1)

Fórmula molecular: $C_{35}H_{60}O_6$

Peso molecular: 576

Fórmula química: la siguiente fórmula química (1)

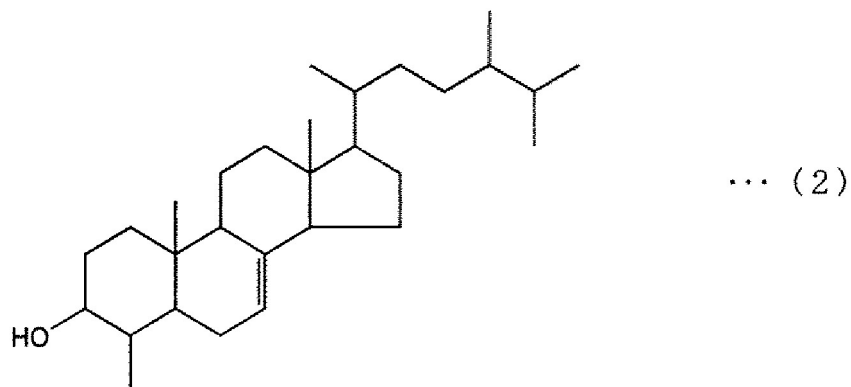


(Compuesto 2)

Fórmula molecular: $C_{29}H_{50}O$

Peso molecular: 414

Fórmula química: la siguiente fórmula química (2)

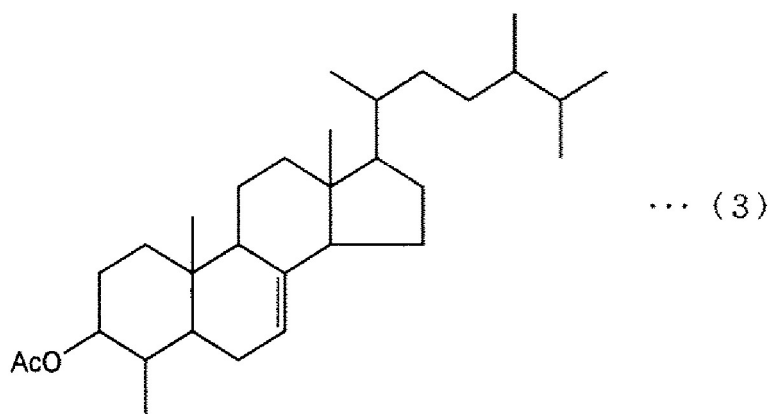


(Compuesto 3)

Fórmula molecular: $C_{31}H_{52}O_2$

Peso molecular: 456

Fórmula química: la siguiente fórmula química (3)



[Ejemplo de preparación 2]

- 5 Se secó mesófilo (parte de gel transparente) de Aloe vera mediante calentamiento, se añadieron 0,3 g de polvo de Aloe vera seco alterado con 60 ml de etanol al 60 %, 80 % o 100 % y la mezcla se sometió a reflujo mediante calentamiento a 60 °C durante 1 hora. El extracto se centrifugó a 1.500 rpm durante 20 minutos y el sobrenadante se concentró a presión reducida para eliminar completamente el etanol y obtener de este modo un extracto en bruto. Los pesos secos de los extractos en bruto obtenidos mediante extracción utilizando etanol al 60 %, 80 % y 100 % fueron 65, 42 y 18 mg, respectivamente. Se confirmó mediante cromatografía en capa fina que estos extractos en bruto contenían 3-O-β-D-glucopiranosil-4-metilergost-7-en-3-ol.

[Ejemplo de preparación 3]

- 15 Se secó mesófilo (parte de gel transparente) de Aloe vera mediante calentamiento, se añadieron 0,3 g de polvo de Aloe vera seco alterado con 60 ml de agua y la mezcla se sometió a reflujo mediante calentamiento a 95 °C durante 5 horas. El extracto se centrifugó a 1.500 rpm durante 20 minutos y el sobrenadante se liofilizó para obtener 75 mg de un extracto en bruto. Se confirmó mediante cromatografía en capa fina que este extracto en bruto contenía 3-O-β-D-glucopiranosil-4-metilergost-7-en-3-ol.

[Ejemplo de preparación 4]

- 25 Se secó mesófilo (parte de gel transparente) de Aloe vera mediante calentamiento, se alteró y se secó, se añadieron 21 kg de polvo de Aloe vera preparados de este modo a 90 litros de una mezcla de cloroformo/metanol (2:1), a continuación se sumergieron durante una noche en la mezcla a temperatura ambiente y se recogieron mediante filtración, y el residuo obtenido mediante la filtración se añadió, de nuevo, a 90 litros de mezcla de cloroformo/metanol (2:1). Este procedimiento se repitió 4 veces en total. El filtrado obtenido (350 litros) se concentró a 28 °C para obtener finalmente 784 g de un extracto en bruto. Una cantidad de 780 g de este extracto en bruto se añadió a 2 litros de una mezcla de cloroformo/metanol (2:1), se agitó durante 1 hora y se filtró para recuperar la capa de mezcla de cloroformo/metanol (A). El residuo obtenido mediante la filtración se añadió sucesivamente a 2,5 litros de agua y 2 litros de acetato de etilo y se agitó durante 1 hora, y se recuperó la capa de acetato de etilo (B). Se añadió la capa acuosa restante a 5 litros de cloroformo, de nuevo, y se agitó durante 1 hora, y se recuperó la capa de cloroformo (C).

- 35 Se mezclaron los extractos en disolvente orgánico recuperados A, B y C, se concentraron a 23 °C y se cargaron en una columna de gel de sílice [columna de vidrio: 52 mm x 350 mm, material empaquetado: IR-63/210-W (Daiso Co., Ltd.)]. Posteriormente, mientras se controlaba el eluato mediante cromatografía en capa fina, se hicieron pasar 10 litros de una mezcla de hexano/cloroformo (1:1), 10 litros de cloroformo, 20 litros de una mezcla de cloroformo/metanol (10:1) y 20 litros de una mezcla de cloroformo/metanol (5:1) a través de la columna en este orden, y se recuperaron una fracción 1 (de aproximadamente 1 litro), una fracción 2 (de aproximadamente 1,5 litros), 40 una fracción 3 (de aproximadamente 1,5 litros) y una fracción 4 (de aproximadamente 1,5 litros) en el orden de los disolventes de elución utilizados.

- 45 Se confirmó mediante cromatografía en capa fina que, entre éstas, la fracción 3 contenía el glucósido objetivo y, a continuación, se eliminó el disolvente de la fracción 3 para obtener 131,6 g de un extracto en bruto. Se cargó, de nuevo, una cantidad de 130 g de este extracto en bruto en una columna de gel de sílice [columna de vidrio: 70 mm x 500 mm, material empaquetado: SP-60-40/60 (Daiso Co., Ltd.)] y se eluyó sucesivamente con 10 litros de una mezcla de cloroformo/metanol (30:1), 50 litros de una mezcla de cloroformo/metanol (20:1), 10 litros de una mezcla de cloroformo/metanol (10:1) y 10 litros de una mezcla de cloroformo/metanol (1:1) como disolventes de elución en condiciones de una presión de 10 kgf • cm⁻² y un caudal de 40 ml/min. Los eluatos se fraccionaron como fracciones 50 de 100 ml mediante la utilización de un colector de fracciones para recoger las fracciones 1 a 8.

Las fracciones recogidas se examinaron mediante cromatografía en capa fina, y como resultado, se reveló que el

glucósido objetivo y los contaminantes existían en la fracción 7. Por lo tanto, esta fracción se concentró, se cargó, de nuevo, en una columna de gel de sílice [columna de vidrio: 70 mm x 500 mm, material empaquetado: SP-60-40/60 (Daiso Co., Ltd.)] y se eluyó sucesivamente con 10 litros de una mezcla de cloroformo/metanol (20:1) y 10 litros de una mezcla de cloroformo/metanol (10:1) como disolventes de elución en condiciones de presión de $10 \text{ kgf} \cdot \text{cm}^2$ y un caudal de 40 ml/min. Como resultado, se prepararon 25,3 g de 3-O- β -D-glucopiranosil-4-metilergost-7-en-3-ol, que era el glucósido objetivo contenido en la fracción eluida con la mezcla de cloroformo/metanol (10:1).

Ejemplo 1

Este ejemplo se llevó a cabo a efectos de evaluar el efecto inhibitor del 3-O- β -D-glucopiranosil-4-metilergost-7-en-3-ol y un líquido exprimido de Aloe vera sobre la acumulación de grasa visceral mediante la utilización de ratas ZDF (Zucker Diabetic Fatty) que son animales modelo para la diabetes en obesos.

(1) Preparación de la muestra

Se utilizó el 3-O- β -D-glucopiranosil-4-metilergost-7-en-3-ol producido en el ejemplo de producción 1 como muestra. La muestra se disolvió en DMSO y la concentración de la muestra se ajustó con agua destilada hasta $15 \mu\text{g/ml}$ y $1,5 \text{ g/ml}$, para preparar de este modo las muestras de ensayo A-1 y A-2, respectivamente. Paralelamente, se obtuvo una solución en bruto mediante trituración de gel de Aloe vera con un exprimidor y, a continuación, se sometió a filtración con una malla No. 200 (fabricada por NBC) para obtener de este modo un líquido exprimido del gel de Aloe vera como muestra de ensayo B-1. El líquido exprimido de gel de Aloe vera se diluyó 20 veces para preparar la muestra de ensayo B-2. Se confirmó que el líquido exprimido de gel de Aloe vera contenía el 0,1 % en masa de 3-O- β -D-glucopiranosil-4-metilergost-7-en-3-ol. Además, se ajustó la concentración final de DMSO al 0,2 %. Además, se preparó una solución sin las muestras de ensayo como muestra negativa.

(2) Procedimiento de ensayo

Se alimentaron preliminarmente ratas ZDF macho de 6 semanas de vida (adquiridas de Charles River Laboratories, Inc., Estados Unidos) con una dieta rica en grasas (Research Diet, Inc.) durante 1 mes. Estas ratas se dividieron en grupos, cada uno compuesto por 6 ratas. A cada uno de los grupos de ratas se le administró por vía oral 1 ml de soluciones de la muestra negativa, muestras de ensayo A-1, A-2, B-1 y B-2, respectivamente, por cada 400 g de peso corporal de una rata, una vez al día, sucesivamente durante 44 días, mediante la utilización de una sonda. En estos casos, las cantidades de administración de 3-O- β -D-glucopiranosil-4-metilergost-7-en-3-ol de las muestras de ensayo A-1 y A-2 fueron de $25 \mu\text{g/kg}$ y $2,5 \mu\text{g/kg}$, respectivamente. Además, las cantidades de administración del contenido en sólidos de Aloe Vera de las muestras de ensayo B-1 y B-2 fueron de $2,5 \text{ g/kg}$ y $0,125 \text{ g/kg}$, respectivamente.

En el día 45 desde el inicio de la administración, se midieron los pesos de grasa mesentérica como grasa visceral.

La tabla 1 muestra los pesos de grasa mesentérica en el día 45 desde el inicio de la administración. Los pesos de grasa mesentérica del grupo administrado con las muestras de ensayo A-1 (cantidad de administración: $25 \mu\text{g/kg}$) y A-2 (cantidad de administración: $2,5 \mu\text{g/kg}$) fueron de $3,15 \pm 0,28 \text{ g}$ y $4,99 \pm 0,53 \text{ g}$, respectivamente. En comparación con el peso de la grasa mesentérica del grupo administrado con la muestra negativa ($6,83 \pm 1,10 \text{ g}$), se observó que los pesos de grasa mesentérica tienden a disminuir al 46,2 % y al 73,1 % en el grupo administrado con las muestras de ensayo A-1 y A-2. Por lo tanto, se confirmó que las muestras de ensayo A-1 y A-2 tuvieron efectos estadísticamente significativos de inhibición de la acumulación de grasa visceral. Además, los pesos mesentéricos del grupo administrado con las muestras de ensayo B-1 (cantidad de administración: $2,5 \text{ g/kg}$) y B-2 (cantidad de administración: $0,125 \text{ g/kg}$) fueron de $4,72 \pm 0,66 \text{ g}$ y $4,75 \pm 0,79 \text{ g}$, respectivamente. En comparación con el peso de grasa mesentérica del grupo administrado con la muestra negativa, se observó que los pesos de grasa mesentérica tienden a disminuir al 69,1 % y al 69,5 % en el grupo administrado con las muestras de ensayo B-1 y B-2. Por lo tanto, se confirmó que las muestras de ensayo B-1 y B-2 tuvieron efectos estadísticamente significativos de inhibición de la acumulación de grasa visceral. Además, no se observaron efectos secundarios desde el punto de vista patológico. Además, los valores de p en las tablas indican la probabilidad de significación mediante la prueba de Tukey-Kramer.

[Tabla 1]

Muestra	Peso de grasa mesentérica (g)	Valor p
Muestra de ensayo A-1	$3,15 \pm 0,28^*$	0,00003
Muestra de ensayo A-2	$4,99 \pm 0,53^*$	0,007
Muestra de ensayo B-1	$4,72 \pm 0,66^*$	0,0012
Muestra de ensayo B-2	$4,75 \pm 0,79^*$	0,0039
Muestra negativa	$6,83 \pm 1,10$	-

En la tabla, “*” indica que hubo un efecto estadísticamente significativo de inhibir la acumulación de grasa visceral.

Ejemplo 2

Este ejemplo se llevó a cabo a efectos de investigar el efecto del 3-O-β-D-glucopiranosil-4-metilergost-7-en-3-ol y un líquido exprimido de Aloe vera sobre una cantidad de alimento ingerido (cantidad de alimento consumido) y el aumento del peso corporal (cantidad de aumento del peso corporal) de las ratas.

(1) Preparación de las muestras

Se utilizó el 3-O-β-D-glucopiranosil-4-metilergost-7-en-3-ol producido en el ejemplo de producción 1 como muestra. La muestra se disolvió en DMSO y la concentración de la muestra se ajustó con agua destilada hasta 10 µg/ml para preparar de este modo la muestra de ensayo C. Paralelamente, se obtuvo una solución en bruto mediante trituración de gel de Aloe vera con un exprimidor y, a continuación, se sometió a filtración con una malla No. 200 (fabricada por NBC) para obtener de este modo un líquido exprimido del gel de Aloe vera como muestra de ensayo D. Se confirmó que el extracto triturado de gel de Aloe vera contenía el 0,1 % en masa de 3-O-β-D-glucopiranosil-4-metilergost-7-en-3-ol. Además, se ajustó la concentración final de DMSO al 0,2 %. Además, se preparó una solución sin las muestras de ensayo como muestra negativa.

(2) Procedimiento de ensayo

Se alimentaron preliminarmente ratas ZDF macho de 6 semanas de vida (adquiridas de Charles River Laboratories, Inc., Estados Unidos) con una dieta rica en grasas (Research Diet, Inc.) durante 1 mes. Estas ratas se dividieron en grupos, cada uno compuesto por 6 ratas, después de medir sus pesos corporales. A cada uno de los grupos de ratas se le administró por vía oral 1 ml de soluciones de las muestras de ensayo C y D y la muestra negativa, respectivamente, por cada 400 g de peso corporal de una rata, una vez al día, sucesivamente durante 44 días, mediante la utilización de una sonda. En estos casos, la cantidad de administración de 3-O-β-D-glucopiranosil-4-metilergost-7-en-3-ol de la muestra de ensayo C fue de 37,5 µg/kg. Además, la cantidad de administración del contenido en sólidos de Aloe Vera de las muestras de ensayo D fue de 3,75 g/kg.

42 días después del inicio de la administración, se midieron los pesos corporales de las ratas, y las diferencias entre los pesos corporales en el día 42 y los medidos antes del inicio de la administración fueron consideradas como las cantidades de aumento de los pesos corporales. Además, se midieron los pesos de los alimentos consumidos por día una vez a la semana desde el día del inicio de la administración, y se consideró un promedio de los pesos como la cantidad de alimento consumido por día.

(3) Resultados de la prueba

La tabla 2 muestra las cantidades de alimento consumido por día y las cantidades de aumento de peso corporal durante 42 días por rata. Se observó que los grupos administrados con las muestras de ensayo C y D no mostraron un aumento o disminución significativos en la cantidad de alimento consumido en comparación con el grupo administrado con la muestra negativa. Además, las cantidades de aumento de peso corporal (aumento de peso corporal) de los grupos administrados con las muestras de ensayo C y D eran casi las mismas que las del grupo administrado con la muestra negativa. Por lo tanto, se reveló que el 3-O-β-D-glucopiranosil-4-metilergost-7-en-3-ol no afectó a la cantidad de ingestión de alimentos y el aumento en el peso corporal de las ratas.

[Tabla 2]

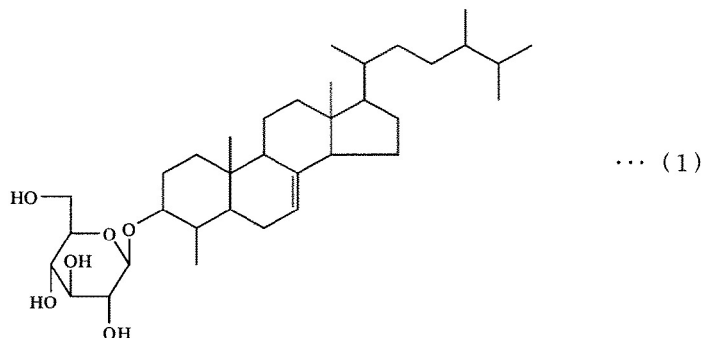
Muestra	Cantidad de alimento consumido (g)	Cantidad de aumento de peso corporal (g)
Muestra de ensayo C	22,5±1,2	166,5±19,3
Muestra de ensayo D	21,7±1,4	173,3±32,5
Muestra negativa	22,5±1,2	159,9±37,2

Aplicabilidad industrial

Según la presente invención, se puede dar a conocer un agente para utilización en un procedimiento para inhibir la acumulación de grasa visceral, que es capaz de mantener un peso corporal estándar sin reducción en el peso corporal, y es eficaz para inhibir la progresión de la obesidad sin una restricción excesiva de la dieta o similar, y un alimento o una bebida fisiológicamente funcionales, tal como un alimento para una utilización sanitaria específica que contiene el agente para utilización en un procedimiento para inhibir la acumulación de grasa visceral. De este modo, las enfermedades, y complicaciones, causadas por la acumulación de grasa visceral, tales como el metabolismo anormal de los lípidos y las enfermedades circulatorias, se pueden mejorar o prevenir, y también se pueden reducir los riesgos de estas enfermedades, y las complicaciones. Además, también se describe el efecto de prevenir la aparición del síndrome metabólico y enfermedades relacionadas con el estilo de vida que se indican como factores de riesgo del síndrome metabólico, tales como la diabetes, la hipertensión y la hiperlipidemia.

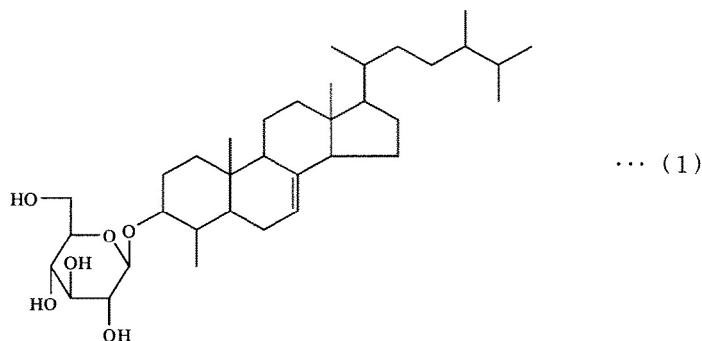
REIVINDICACIONES

1. Agente que comprende un extracto en disolvente orgánico de mesófilo de Aloe vera que se obtiene mediante una mezcla de acetato de etilo/butanol (3:1) o una mezcla de cloroformo/metanol (2:1), o una fracción del mismo, para utilización en la mejora o la prevención de enfermedades causadas por la acumulación de grasa visceral, que incluyen obesidad, hiperlipidemia, hipertensión o arteriosclerosis, en el que el extracto o la fracción del mismo comprende un compuesto representado por la siguiente fórmula química (1), como mínimo, al 0,001 % en masa seca.

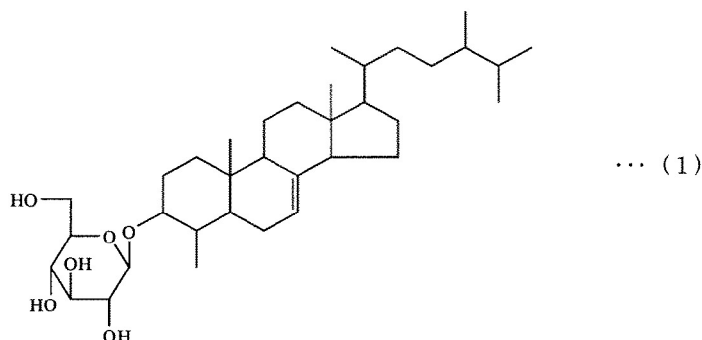


2. Alimento o bebida, que comprende el agente, según la reivindicación 1, para utilización en la mejora o la prevención de enfermedades causadas por la acumulación de grasa visceral, que incluyen obesidad, hiperlipidemia, hipertensión o arteriosclerosis.

3. Alimento o bebida para utilización, según la reivindicación 2, que contiene, como mínimo, el 0,0001 % en masa del compuesto representado por la siguiente fórmula química (1).



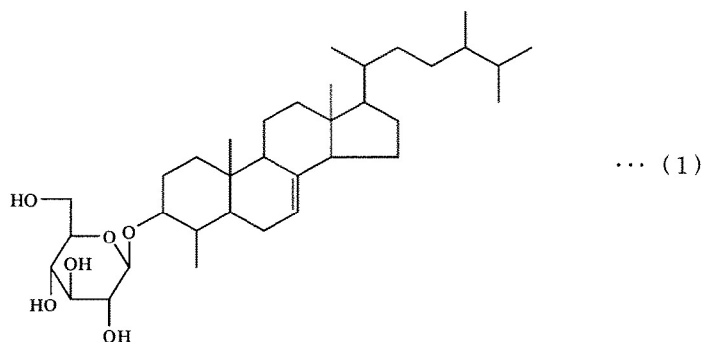
4. Agente que comprende un extracto en disolvente orgánico de mesófilo de Aloe vera que se obtiene mediante una mezcla de acetato de etilo/butanol (3:1) o una mezcla de cloroformo/metanol (2:1), o una fracción del mismo, para utilización en un procedimiento para inhibir la acumulación de grasa visceral, en el que el extracto o la fracción del mismo comprende un compuesto representado por la siguiente fórmula química (1), como mínimo, al 0,001 % en masa seca.



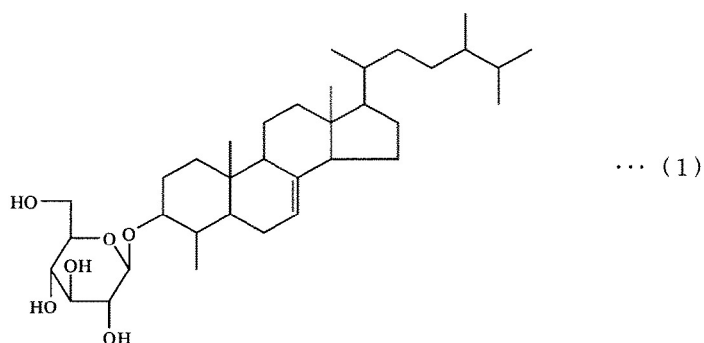
5. Alimento o bebida, que comprende el agente, según la reivindicación 4, para utilización en la mejora o la prevención de enfermedades causadas por la acumulación de grasa visceral, que incluyen obesidad, hiperlipidemia, hipertensión o arteriosclerosis.

6. Alimento o bebida para utilización, según la reivindicación 5, que contiene, como mínimo, el 0,0001 % en masa del compuesto representado por la siguiente fórmula química (1).

5 7. Compuesto representado por la siguiente fórmula química (1) para utilización en un procedimiento para inhibir la acumulación de grasa visceral.



10 8. Extracto en disolvente orgánico de mesófilo de Aloe vera que se obtiene mediante una mezcla de acetato de etilo/butanol (3:1) o una mezcla de cloroformo/metanol (2:1), o una fracción del mismo, para utilización en un procedimiento para inhibir la acumulación de grasa visceral, en el que el extracto o la fracción comprende un compuesto representado por la siguiente fórmula química (1), como mínimo, al 0,001 % en masa seca.



15