(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 1956711 B
(45)授权公告日 2010.06.09

(21)申请号 200580016031.5

(22)申请日 2005.05.20

(30)优先权数据
150667/2004 2004.05.20 JP
242653/2004 2004.08.23 JP

(85)PCT申请进入国家阶段日
2006.11.20

(86)PCT申请的申请数据
PCT/JP2005/009258 2005.05.20

(87)PCT申请的公布数据
WO2005/112904 JA 2005.12.01

(73)专利权人 爱科来株式会社
地址 日本京都府

(72)发明人 佐佐木贵生

(74)专利代理机构 永新专利商标代理有限公司 72002
代理人 陈建全

(51)Int.Cl.
A61K 31/045(2006.01)
A23L 1/30(2006.01)
A61K 36/752(2006.01)
A61P 3/04(2006.01)
A61P 3/06(2006.01)
A61P 3/10(2006.01)
A61P 9/10(2006.01)
A61P 9/12(2006.01)
A61P 43/00(2006.01)

(56)对比文件
CN 1355695 A,2002.06.26, 全文.
MONTONEN J. ET AL..Dietary antioxidant intake and risk of type 2 diabetes.. DIABETES CARE.27 2.2004,27(2),362 - 366.
TAKAHASHI N. ET AL.Dual action of isoprenols from herbalmedicinesonboth PPARY an PPARx in 3T3-L1 adipocytesand HepG2hepatocytes.FEBS LETTERS.514 3.2002,514(3),315-322.

审查员 杜文华

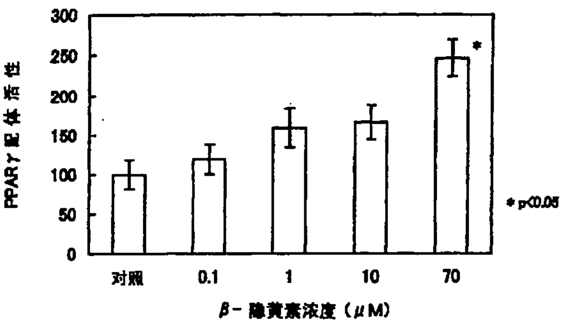
权利要求书 1 页 说明书 5 页 附图 1 页

(54) 发明名称

过氧化物酶体增殖物激活受体(PPAR)活化剂以及使用了该活化剂的药品、补充剂、功能性食品及食品添加剂

(57) 摘要

本发明提供没有副作用的问题、能够长期摄取、且没有特殊味道的过氧化物酶体增殖物激活受体(PPAR)活化剂,其将β-隐黄素作为PPAR活化剂使用。β-隐黄素大量含有在例如温州密柑等柑橘类(特别是桔系柑橘类)的果肉中,由于已长年食用,安全性没有问题、而且卡路里低,因此能够长期摄取。另外,由于β-隐黄素无味无臭,因此即便添加到食品中,也不会损害该食品特有的风味,因此可以添加到食品中摄取。



CN 1956711 B

1. 含有β-隐黄素的过氧化物酶体增殖物激活受体γ活化剂在制造药品中的用途，所述药品为用于预防或治疗选自胰岛素抵抗性、高胰岛素血症、高血压、高血脂症、动脉硬化和肥胖中的至少一种疾病的药品。

2. 含有β-隐黄素的过氧化物酶体增殖物激活受体γ活化剂在制造补充剂中的用途，所述补充剂为用于预防或改善选自胰岛素抵抗性、高胰岛素血症、高血压、高血脂症、动脉硬化和肥胖中的至少一种疾病的补充剂。

3. 含有β-隐黄素的过氧化物酶体增殖物激活受体γ活化剂在制造功能性食品中的用途，所述功能性食品为用于预防或改善选自胰岛素抵抗性、高胰岛素血症、高血压、高血脂症、动脉硬化和肥胖中的至少一种疾病的功能性食品。

4. 含有β-隐黄素的过氧化物酶体增殖物激活受体γ活化剂在制造食品添加剂中的用途，所述食品添加剂为用于预防或改善选自胰岛素抵抗性、高胰岛素血症、高血压、高血脂症、动脉硬化和肥胖中的至少一种疾病的食品添加剂。

5. β-隐黄素在制造过氧化物酶体增殖物激活受体γ活化剂中的用途。

6. 如权利要求5所述的用途，其中，所述β-隐黄素来自于桔系柑橘类的果实。

7. 如权利要求6所述的用途，其中，所述桔系柑橘类为温州密柑。

过氧化物酶体增殖物激活受体（PPAR）活化剂以及使用了该活化剂的药品、补充剂、功能性食品及食品添加剂

技术领域

[0001] 本发明涉及过氧化物酶体增殖物激活受体（PPAR）活化剂以及使用了该活化剂的药品、补充剂、功能性食品及食品添加剂。

背景技术

[0002] 据说糖尿病的发病与胰岛素分泌降低和胰岛素抵抗性两者有关。最近，在日本人中，糖尿病患者有所增加，由于胰岛素分泌降低很大程度上是由于遗传，因此认为糖尿病患者增加的主要原因是胰岛素抵抗性。这是由于日本人的饮食生活欧美化，脂肪摄取量增加、以及运动不足、肥胖、压力所导致的。在最近的研究中发现胰岛素抵抗性的发生机理是由脂肪细胞的肥大化所引起的。即，如果脂肪细胞肥大化，则分泌 TNF-α 和游离脂肪酸（FFA），这些物质在阻碍肌肉细胞和肝细胞中的糖摄取的同时，还抑制了促进胰岛素工作的脂联素（adiponectin）的分泌，结果产生胰岛素抵抗性。

[0003] 另一方面，在胰岛素抵抗性的研究中了解到，如果将作为核内受体的 PPAR 活化，则对于胰岛素抵抗性的改善具有效果。已知在 PPAR 中有 α、σ、γ 三种类型的几个亚型。PPARα 主要在肝细胞中表达，另外在心肌细胞、消化管细胞中也有所表达，且与脂肪酸氧化、酮体生成、载脂蛋白的生成等有关。PPARα 没有组织特异性，在整个身体中均有表达，但在大肠癌细胞中的表达显著。PPARγ 可以分为 γ1 型和 γ2 型的两个亚型，γ1 型在脂肪组织、免疫系统组织、肾上腺、小肠内表达，γ2 型在脂肪细胞中特异表达，在脂肪细胞的分化诱导和脂肪合成中起着重要作用。

[0004] 这样，PPAR 与胰岛素抵抗性的改善有很大关系，并且据说与高胰岛素血症、2 型糖尿病、肥胖、高血压、高血脂症和动脉硬化的改善也有关。基于此观点，对于活化 PPAR 的物质进行了研究，例如已知有贝特（fibrate）类化合物、噻唑烷衍生物、脂肪酸、白三烯 B4、消炎痛、布洛芬、非诺洛芬、15- 脱氧 -Δ-12，14-PGJ2 之类的合成物质类的 PPAR 活化剂。但是，合成物质类的 PPAR 活化剂具有长期摄取产生副作用的问题，不适于在日常生活中摄取来预防或改善胰岛素抵抗性等疾病。另外还报道了将姜黄中所含有的姜黄素、作为油脂中一种的单酰基甘油、茶叶等中所含有的儿茶酸类等天然物质作为来自天然成分的 PPAR 活化剂（例如参照专利文献 1）。但是，即便是来自天然成分的物质，由于油脂等卡路里高，因此连续摄取存在问题。另外，为了日常摄取，理想的是添加到食品等中进行摄取，但来自天然成分的物质多数具有特殊的味道，这种物质不适于添加到食品等中。

[0005] 专利文献 1：日本特开 2002-80362 号公报

发明内容

[0006] 本发明是鉴于上述事实而完成的，其目的在于提供没有副作用的问题，能够长期摄取，而且即便添加到食品等中也不会产生问题的 PPAR 活化剂。

[0007] 为了达成上述目的，本发明的 PPAR 活化剂的特征在于含有 β- 隐黄素。

[0008] 本发明人为了解决上述课题，对于天然成分的 PPAR 活化剂进行了一系列的反复研究，结果发现温州密柑等桔系柑橘类中大量含有的 β-隐黄素具有 PPAR 活化作用，进而完成了本发明。即，大量含有 β-隐黄素的温州密柑已长年食用，确认了其安全性。另外，β-隐黄素的卡路里低，在此方面即便糖尿病患者或肥胖患者等长期摄取也没有问题。而且，由于 β-隐黄素无味无臭，即便添加到食品等中，也不会损害该食品独特的风味，因此也可以添加到食品中长期地进行日常摄取。由此，根据本发明，β-隐黄素通过活化 PPAR，促进脂肪的燃烧，抑制 TNF-α 和游离脂肪酸的分泌，并促进脂联素的分泌，因此能够使脂肪细胞的状态变得正常，改善胰岛素抵抗性，另外还可以改善高胰岛素血症、2 型糖尿病、高血压、高血脂症、动脉硬化和肥胖等的症状。另外，这些不仅对人有效，对其他动物也有效。

附图说明

[0009] 图 1 为表示本发明的一个实施例中的 β-隐黄素的 PPARγ 配体活性的图。

具体实施方式

[0010] 本发明的 PPAR 活化剂只要含有 β-隐黄素即可，除了 β-隐黄素以外，例如也可以含有其它 PPAR 活化剂等其它成分。

[0011] 本发明中，活化的 PPAR 例如可以是 PPARα 和 PPARγ 中的任一个，但优选为两者。

[0012] 如上所述，由于 β-隐黄素具有 PPAR 活化作用，因此本发明的 PPAR 活化剂具有例如下述作用中的至少一个：即抑制脂肪细胞中的 TNF-α 和游离脂肪酸的分泌、促进脂肪细胞中的脂联素的分泌以及促进肝细胞中的脂肪的 β 氧化等。另外，本发明的 PPAR 活化剂具有例如诱导脂肪细胞的凋亡、分化和小型化等中的至少一种的作用。

[0013] 本发明的 PPAR 活化剂中，所使用的 β-隐黄素没有特别限定，例如为来自于柑橘类、柿子、木瓜、枇杷和红甜椒等中的 β-隐黄素。其中，优选为来自于柑橘类、更优选为来自于桔系柑橘类、特别优选为来自于温州密柑中的 β-隐黄素。如后所述，由于确立了由柑橘类制造 β-隐黄素的工业制造方法（例如参照日本专利第 3359298 号），因此可以得到廉价且安全的 β-隐黄素。特别是，在温州密柑中以大约 1.0 ～ 2.9mg/100g 的高浓度含有 β-隐黄素。另外，可以作为原料使用的例如为整个果实，特别优选使用果肉。另外，本发明中，β-隐黄素可以使用例如从上述柑橘类中分离精制而得到的 β-隐黄素，也可以使用市售品。

[0014] 本发明的药品为用于预防或治疗选自例如胰岛素抵抗性、高胰岛素血症、2 型糖尿病、高血压、高血脂症、动脉硬化和肥胖中的至少一种疾病的药品，是含有上述本发明的 PPAR 活化剂的药品。本发明的药品除了含有本发明的 PPAR 活化剂以外，还可以含有例如其它的 PPAR 活化剂和各种添加剂等。对于本发明的药品，作为具体的剂型，可以列举出例如片剂、颗粒剂（包括散剂）、胶囊和液体制剂（包括糖浆剂）等。本发明的药品可以适当使用适于各剂型的添加剂和基材等，根据日本药典等中记载的通常的方法来制造。另外，作为给药途径，没有特别限定，可以列举出例如口服给药和非口服给药，作为上述非口服给药，可以列举出例如口腔内给药、气管内给药、直肠内给药、皮下给药、肌肉内给药和静脉内给药等。

[0015] 本发明的补充剂为用于预防或改善选自例如胰岛素抵抗性、高胰岛素血症、2 型糖

尿病、高血压、高血脂症、动脉硬化和肥胖中的至少一种疾病的补充剂，是含有上述本发明的 PPAR 活化剂的补充剂。本发明的补充剂除了含有本发明的 PPAR 活化剂以外，还可以含有例如其它 PPAR 活化剂、各种添加剂和其它补充剂等，作为上述其它补充剂，可以列举出例如维生素 C 等各种维生素类、氨基酸和寡糖等。本发明的补充剂的形态没有特别限定，可以列举出例如片剂、颗粒剂（包括散剂）、胶囊和液体制剂（包括糖浆剂）等。

[0016] 本发明的功能性食品为用于预防或改善选自胰岛素抵抗性、高胰岛素血症、2 型糖尿病、高血压、高血脂症、动脉硬化和肥胖中的至少一种疾病的功能性食品，是含有上述本发明的 PPAR 活化剂的功能性食品。本发明的功能性食品除了含有本发明的 PPAR 活化剂以外，还可以含有例如其它 PPAR 活化剂和各种添加剂等。另外，本发明的功能性食品的形态没有特别限定，包括例如面类、点心类和功能性饮料等。

[0017] 本发明的食品添加剂为用于预防或改善选自胰岛素抵抗性、高胰岛素血症、2 型糖尿病、高血压、高血脂症、动脉硬化和肥胖中的至少一种疾病的食品添加剂，是含有上述本发明的 PPAR 活化剂的食品添加剂。本发明的食品添加剂除了含有本发明的 PPAR 活化剂以外，还可以含有例如其它 PPAR 活化剂和各种添加剂等。本发明的食品添加剂的形态没有特别限定，可以列举出例如液体状、糊状、粉末状、薄片状和颗粒状等。另外，本发明的食品添加剂包括例如饮料用的食品添加剂。

[0018] 本发明的 PPAR 活化方法包括例如使 β-隐黄素与脂肪细胞和肝细胞等相接触。

[0019] 本发明的 PPAR 活化方法为诱导例如以下所述作用中的至少一个的方法，即抑制脂肪细胞中的 TNF-α 和游离脂肪酸的分泌、促进脂肪细胞中的脂联素的分泌和促进肝细胞中的脂肪的 β 氧化等。另外，本发明的 PPAR 活化方法是诱导例如脂肪细胞的凋亡、分化和小型化等中的至少一种的方法。

[0020] 本发明的 PPAR 活化方法中所使用的 β-隐黄素与上述本发明的 PPAR 活化剂中所使用的 β-隐黄素相同，例如为来自于柑橘类、柿子、木瓜、枇杷和红甜椒等中的 β-隐黄素。其中，优选为来自于柑橘类、更优选为来自于桔系柑橘类、特别优选为来自于温州密柑中的 β-隐黄素。另外，可以作为原料使用的例如为整个果实，特别优选使用果肉。

[0021] 本发明的疾病的预防、治疗或改善的方法为预防、治疗或改善哺乳动物的选自胰岛素抵抗性、高胰岛素血症、2 型糖尿病、高血压、高血脂症、动脉硬化和肥胖中的至少一种疾病的方法，其包括将 β-隐黄素给药。作为上述哺乳动物，可以列举出例如人、小鼠、大鼠、兔子、狗、猫、牛、马、猪、猴子等。

[0022] 本发明的试剂盒是用于预防或治疗选自胰岛素抵抗性、高胰岛素血症、2 型糖尿病、高血压、高血脂症、动脉硬化和肥胖中的至少一种疾病的试剂盒，其中包括：

[0023] a) β-隐黄素；

[0024] b) 含有对预防或治疗选自胰岛素抵抗性、高胰岛素血症、2 型糖尿病、高血压、高血脂症、动脉硬化和肥胖中的至少一种疾病有用的第二化合物的第二药品组合物；以及

[0025] c) 用于放入上述 β-隐黄素和上述第二药品组合物的容器。

[0026] 本发明的用途为用于制造 PPAR 活化剂的 β-隐黄素的用途。

[0027] 另外，本发明的用途包括为了预防、治疗或改善哺乳动物的选自胰岛素抵抗性、高胰岛素血症、2 型糖尿病、高血压、高血脂症、动脉硬化和肥胖中的至少一种疾病而将 β-隐黄素给药。上述哺乳动物如前所述。

[0028] 在本发明的用途中，所使用的 β-隐黄素与在上述本发明的 PPAR 活化剂中所使用的 β-隐黄素相同，例如为来自于柑橘类、柿子、木瓜、枇杷和红甜椒等中的 β-隐黄素。其中，优选为来自于柑橘类、更优选为来自于桔系柑橘类、特别优选为来自于温州密柑中的 β-隐黄素。另外，可以作为原料使用的例如为整个果实，特别优选使用果肉。

[0029] 在本发明的用途中，β-隐黄素诱导例如以下作用中的至少一种：即抑制脂肪细胞中的 TNF-α 和游离脂肪酸的分泌、促进脂肪细胞中的脂联素的分泌和促进肝细胞中的脂肪的 β 氧化等。另外，在本发明的用途中，β-隐黄素诱导例如脂肪细胞的凋亡、分化和小型化等中的至少一种。

[0030] 本发明的 β-隐黄素优选如上所述以柑橘类为原料进行制造。以下示出该制造方法的一个例子（日本专利第 3359298 号）。

[0031] 由柑橘类制造 β-隐黄素可通过包括下述 (1) ～ (4) 的工序的方法来实施。

[0032] (1) 将柑橘类的果实榨汁后过滤或筛分；

[0033] (2) 低速离心分离，将所得上清高速离心分离，得到沉淀物；

[0034] (3) 添加可以溶解上述沉淀物的酶并冷冻；

[0035] (4) 将解冻、固液分离后的沉淀物脱水，得到固形物。

[0036] 作为在上述制造方法中使用的柑橘类，例如有温州密柑、伊予柑、夏柑、八朔、柚子、脐橙、柠檬、巴伦西亚橘、葡萄柚等，但优选 β-隐黄素含量多的桔系柑橘类，更优选温州密柑。另外，可以作为原料使用的为柑橘类的整个果实，特别优选使用果肉。

[0037] 上述柑橘类通常在挑选、洗净后被榨汁。榨汁机有例如自动榨汁机 (in-line extractor)、切碎打浆榨汁机 (chopper pulper extractor)、布朗榨汁机。由于所得榨汁中通常混有内皮的小片或粗大的果浆，因此为了将它们除去，进行过滤或筛分。在该过滤或筛分中可以使用例如桨型或螺旋型的修整器，其筛分孔的大小例如为 0.3 ～ 0.5mm。

[0038] 接着，通过离心分离处理上述榨汁液。该离心分离处理由以下条件的低速离心分离和高速离心分离构成。上述低速离心分离是指可以分离果浆的大粒子水平的离心分离。上述高速离心分离是指可以分离果浆的小粒子水平的离心分离。上述低速离心分离的离心强度例如为 3000×g 分以下，上述高速离心分离的离心强度例如为 1500×g·分以上，设定低速离心分离操作的离心强度，使其低于高速离心分离的离心强度。然后将上述榨汁低速离心分离，将其上清再高速离心分离，回收沉淀物。

[0039] 接着，在上述高速离心分离的沉淀物中添加可溶解酶。作为上述可溶解酶，可以使用例如果胶酶、纤维素酶、半纤维素酶、蛋白水解酶、脂肪酶、浸解酶 (maceration enzyme)、原果胶酶等。这些酶可以单独使用，也可并用 2 种以上使用。上述可溶解酶的添加比例为相对于 1kg 上述沉淀物在 0.5 ～ 10g 的范围内。

[0040] 然后，将添加有上述可溶解酶的沉淀物装在容器中，不加温而冻结。接着，将冻结的沉淀物解冻。解冻可以在室温下放置来进行。解冻的沉淀物发生固液分离，通过离心分离进行脱水，得到固体部分（沉淀部）。该固体部分以高浓度含有 β-隐黄素。另外，通过反复进行在上述固体部分中加入精制水后离心分离的操作，能够进一步提高上述固体部分的 β-隐黄素浓度。

[0041] 实施例 1

[0042] 本实施例为确认由 β-隐黄素导致的 PPARγ 活化的例子。

[0043] 首先，将 CV-1 细胞（来自于雄性非洲绿猴肾脏的培养细胞）按照 0.2μg/ 孔接种于 24 孔培养板中，在 37℃、5% CO_2 条件下培养 24 小时。培养基使用含有 10% FBS（胎牛血清）、10mg/mL 青霉素链霉素溶液的 DMEM（杜氏改良细胞培养基，Dulbecco's Modified Eagle Medium：GIBCO 公司）。接着，使用 Lipofectamine 系统（Invitrogen 公司），将 pM-hPPARγ 和 p4×UASg-tk-luc 转染至培养的 CV-1 细胞中。另外，上述 pM-hPPARγ 是用于表达融合蛋白质的载体，上述融合蛋白质含有作为 GAL4 结合域的 1 ～ 147 残基和作为人 PPARγ 配体结合域的 204 ～ 505 残基。上述 p4×UASg-tk-luc 是在荧光素酶基因上游含有 4 个拷贝的用于 GAL4 结合域的上游活化序列（UAS）和胸腺嘧啶脱氧核苷激酶基因启动子的报告质粒。将进行了上述转染的细胞培养约 24 小时，然后将上述细胞的培养基改为含有各种浓度（0.1、1.0、10 和 70μM）的 β-隐黄素的培养基或无处理对照用的培养基，再培养 24 小时。上述含有 β-隐黄素的培养基通过在培养基中添加溶解在二甲基亚砜（DMSO）中的 β-隐黄素来制备，无处理对照用的培养基通过在培养基中仅添加 DMSO 来制备。培养后，溶解上述细胞，使用双荧光素酶报告基因检测系统（Promega 公司），测定荧光素酶活性（测定组）。

[0044] 与上述测定组同样地，作为对照组，使用 pM（在 pM-hPPARγ 中含有作为 GAL4 结合域的 1 ～ 147 残基，但不含有作为 PPARγ 配体结合域的 204 ～ 505 残基的载体）代替 pM-hPPARγ 进行测定。对于各样品，求出测定组和对照组的发光强度的平均值（n ＝ 4）之比（测定组 / 对照组），将相对于无处理对照的相对荧光素酶活性作为样品的 PPARγ 配体结合活性。其结果示于下述表 1 和图 1 的图中。

[0045] 表 1

[0046]

	添加浓度	PPARγ 配体活性
无处理对照（DMSO）	（0.1%）	100
β-隐黄素	0.1μM	119±18.4
	1.0Mm	159±25.0
	10μM	166±21.7
	70μM	246±22.5

[0047] （平均值 ± 标准误差）

[0048] 由上述表 1 和图 1 可知，通过 β-隐黄素，PPARγ 的活性提高，其活性随着 β-隐黄素的浓度的提高而提高。

[0049] 如上所述，本发明的 PPARγ 活化剂具有优异的 PPAR 活性，没有副作用的问题，可以长期摄取，可优选用于食品等中。因此，本发明的 PPAR 活化剂可以用作用于预防或改善例如胰岛素抵抗性、高胰岛素血症、2 型糖尿病、高血压、高血脂症、动脉硬化和肥胖等疾病的药品、补充剂、功能性食品和食品添加剂。另外，这些不仅对人有效，对其他动物也有效。

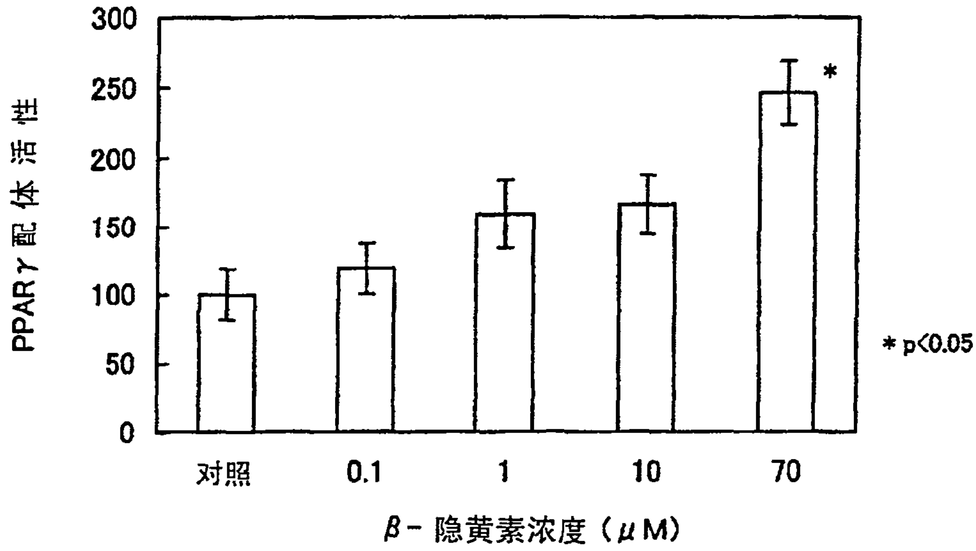


图 1