



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 118103041 B

(45) 授权公告日 2025. 02. 14

(21) 申请号 202380013940.1

(22) 申请日 2023.04.11

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 118103041 A

(43) 申请公布日 2024.05.28

(30) 优先权数据
2022-082055 2022.05.19 JP

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2024.04.09

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/JP2023/014689 2023.04.11

(87) PCT国际申请的公布数据
W02023/223715 JA 2023.11.23

(73) 专利权人 一丸自然美健有限公司
地址 日本国岐阜县

(72) 发明人 坂元孝太郎 光永徹 山内恒生

(74) 专利代理机构 北京汇思诚业知识产权代理有限公司 11444
专利代理师 孙明 王刚

(51) Int.Cl.

- A61K 31/365 (2006.01)
- A23L 33/105 (2006.01)
- A61K 8/49 (2006.01)
- A61K 36/28 (2006.01)
- A61P 3/06 (2006.01)
- A61P 17/00 (2006.01)
- A61Q 19/00 (2006.01)

(56) 对比文件

JP 2020023476 A, 2020.02.13

审查员 耿胜燕

权利要求书1页 说明书16页 附图6页

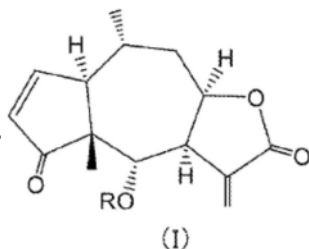
(54) 发明名称

含有堆心菊内酯衍生物的前体脂肪细胞的增殖和/或分化促进剂

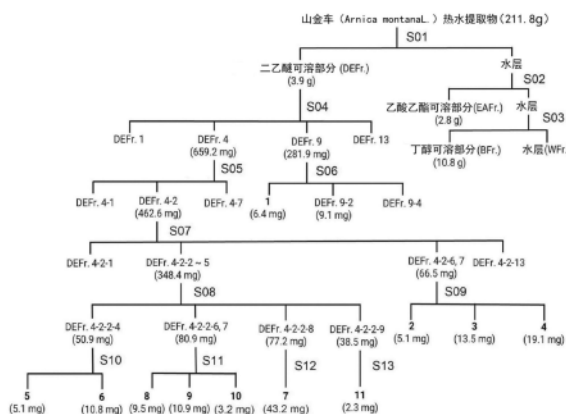
(57) 摘要

本发明发现山金车提取物中包含的促进前体脂肪细胞的增殖和/或分化的化合物,并提供用于使用该化合物使脂肪层体积增加而创造出外观美的化妆品、食品、医药品等和/或配合于它们中的原材料。本发明涉及一种前体脂肪细胞的增殖和/或分化促进剂,其含有下述式(I)所示的

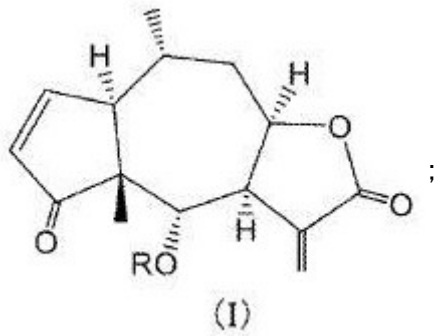
化合物作为有效成分。



(式中,R为氢原子或碳原子数1~5的酰基。)



1. 下述式(I)所示的化合物在制造用于促进前体脂肪细胞的增殖和/或分化的皮肤外用剂中的用途,所述外用剂含有前体脂肪细胞的增殖和/或分化促进剂的有效量,且不包含以质量比计超过所述有效成分的总量的6-0-惕各酰基堆心菊内酯,



式(I)中,R为甲基丙烯酰基或异丁酰基,

所述前体脂肪细胞的增殖和/或分化促进剂为含有上述式(I)所示的化合物作为有效成分的制剂,所述化合物为6-0-甲基丙烯酰基堆心菊内酯和6-0-异丁酰基堆心菊内酯。

2. 根据权利要求1所述的用途,其中,6-0-甲基丙烯酰基堆心菊内酯和6-0-异丁酰基堆心菊内酯的含量至少为 0.1×10^{-7} 质量%。

含有堆心菊内酯衍生物的前体脂肪细胞的增殖和/或分化促进剂

[0001] 交叉参考

[0002] 本申请基于2022年5月19日在日本申请的日本特愿2022-082055主张优先权,该申请所记载的内容援用于本说明书。

技术领域

[0003] 本发明涉及含有堆心菊内酯(Helenalin)衍生物的前体脂肪细胞的增殖和/或分化促进剂。

背景技术

[0004] 脂肪细胞可见于包含表皮、真皮、皮下组织这三层的皮肤结构的最下层,构成将脂肪以甘油三酯的形式储存的储能组织。脂肪组织通过分泌已知为长寿激素的脂联素等各种脂联素来刺激其他组织。脂肪组织不仅具有其生理性的功能,还具有在女性中表现出丰满感、通过局部的脂肪的蓄积而带来皱纹的改善等创造出外观美的功能。

[0005] 尽管脂肪细胞如上述所示在生理性和外观美学上具有重要的功能,但由于近年来的减肥意向,脂肪细胞处于被认为有害的风潮。因此,进行了包含专门引起抑制前体脂肪细胞增殖、抑制向脂肪细胞的分化的成分的化妆品、食品、医药品的开发。另一方面,为了抑制皮肤的老化现象等,为了促进成为位于皮肤内侧的肌肉的基础的成肌细胞的增殖,公开了一种含有山金车提取物和红藻提取物的皮肤外用组合物(例如,参照专利文献1)。

[0006] 从菊科·山金车花提取的提取物自古以来作为具有抗炎效果、血液循环作用的中草药使用。还报道了该山金车提取物具有增加脂肪细胞的作用,增加脂肪层的体积,提高肌肤的张力和弹力(例如,参照专利文献2)。然而,山金车花提取物中包含的与前体脂肪细胞的增殖、分化促进相关的有效成分尚不明确。

[0007] 现有技术文献

[0008] 专利文献

[0009] 专利文献1:日本特开2011-32233号公报

[0010] 专利文献2:日本特开2020-023476号公报

发明内容

[0011] 发明要解决的技术问题

[0012] 本发明要解决的技术问题在于,发现山金车提取物中包含的促进前体脂肪细胞的增殖和/或分化的化合物,提供用于使用该化合物使脂肪层体积增加而创造出外观美的化妆品、食品、医药品等、和/或配合于它们的原材料等。

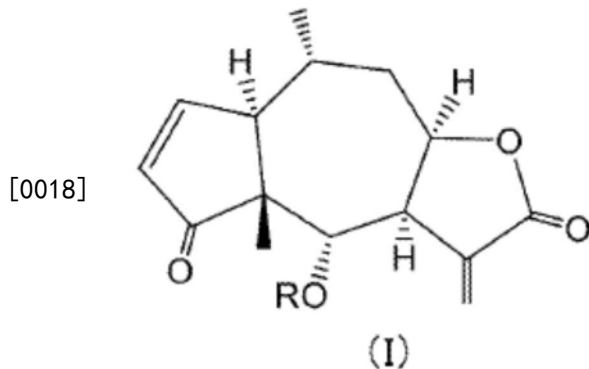
[0013] 用于解决技术问题的技术方案

[0014] 本发明是为了解决上述课题而完成的。通过发现使用柱色谱等从山金车花提取物中分级、纯化得到的特定化合物促进前体脂肪细胞的增殖和/或分化等,创作了本发明。

[0015] 即,本发明包括以下的实施方式。

[0016] (1) 一种前体脂肪细胞的增殖和/或分化促进剂,其含有下述式(I)所示的化合物作为有效成分。

[0017] [化1]



[0019] (式中,R为氢原子或碳原子数1~5的酰基。)

[0020] (2) 根据(1)所述的前体脂肪细胞的增殖和/或分化促进剂,其中,化合物为6-0-甲基丙烯酰基堆心菊内酯或6-0-异丁酰基堆心菊内酯。

[0021] (3) 根据(1)所述的前体脂肪细胞的增殖和/或分化促进剂,其中,化合物为堆心菊内酯或6-0-乙酰基堆心菊内酯。

[0022] (4) 根据(1)所述的前体脂肪细胞的增殖和/或分化促进剂,其中,化合物不包含6-0-惕各酰基堆心菊内酯、或者、以质量比计含有有效成分的总量以下的6-0-惕各酰基堆心菊内酯。

[0023] (5) 一种用于促进前体脂肪细胞的增殖和/或分化的皮肤外用剂,其含有上述式(I)所示的化合物作为有效成分。

[0024] (6) 根据(5)所述的皮肤外用剂,其中,各有效成分的含量至少为 0.1×10^{-9} 质量%。

[0025] (7) 根据(5)或(4)所述的皮肤外用剂,其不包含6-0-惕各酰基堆心菊内酯、或者、以约 1×10^{-7} 质量%以下的浓度含有6-0-惕各酰基堆心菊内酯。

[0026] 发明效果

[0027] 本发明的前体脂肪细胞的增殖和/或分化促进剂可以提供用于促进前体脂肪细胞的增殖和分化、使脂肪层体积增加而创造出外观美的化妆品、食品、医药品等、和/或配合于它们的原材料。

附图说明

[0028] 图1表示从山金车提取物中分离纯化有效成分的方案。

[0029] 图2表示二乙醚提取和硅胶开放柱色谱分离山金车提取物得到的各级分的人皮下前体脂肪细胞的增殖试验和分化试验的结果。

[0030] 图3表示使用硅胶开放柱色谱和制备型HPLC等从DEFr.4-2级分中分离的化合物1和化合物3~10的人皮下前体脂肪细胞的增殖试验和分化试验的结果。

[0031] 图4表示单独或分别混合化合物7、8和9时的人皮下前体脂肪细胞的增殖试验和分化试验的结果。

[0032] 图5表示用于进一步纯化DEFr.3和DEFr.5~DEFr.8,分离新的化合物12~19的分

离方案。

[0033] 图6表示化合物11 (Cmpd11) ~ 化合物19 (Cmpd19) 的人皮下前体脂肪细胞的增殖试验和分化试验的结果。

具体实施方式

[0034] 接下来,参照附图对本发明的各实施方式进行说明。需要说明的是,以下说明的各实施方式并不限定权利要求书涉及的发明,另外,在各实施方式中说明的各要素及其组合的全部并不一定是本发明的解决方法所必需的。

[0035] (定义)

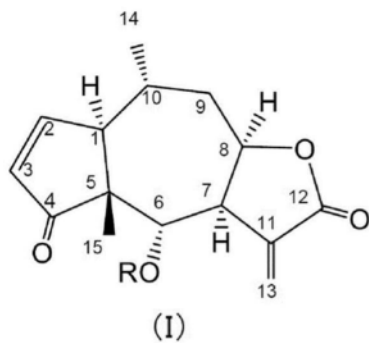
[0036] 在本说明书中,“前体脂肪细胞”是指具有分化为脂肪细胞的能力的脂肪组织来源的细胞。与成熟的脂肪细胞不同,前体脂肪细胞在细胞内还不含有脂肪,是具有增殖性的成纤维细胞样的细胞。成熟脂肪细胞是指该前体脂肪细胞分化成能够在细胞内蓄积脂肪的细胞,其形态是在细胞内蓄积脂肪的状态。作为皮肤老化的原因之一,有年龄、紫外线引起的皮下脂肪的衰退·减少。如果皮下脂肪层体积减小,则肌肤的张力消失,在肌肤表面产生凹凸,导致皱纹、凹陷。因此,主要通过增加人等生物体的前体脂肪细胞,使其分化为脂肪细胞,从而具有预防、治疗和/或改善局部肌肤(胸部、唇、泪袋、手背等)的体积减少的作用。而且,认为通过皮下脂肪细胞增加,与法令纹等一起肌肤的透明感、光泽也会得到改善。

[0037] 本实施方式中的“前体脂肪细胞的增殖和/或分化促进剂”(以下,有时简称为“本实施方式的制剂”)是指含有用于这些用途的有效成分的组合物等,是能够添加到化妆品、医药品中使用的原材料。该制剂不仅可以是液体,例如也可以是固体等,作为具体的用途,不仅可以是皮肤外用剂,也可以是口服组合物(例如,能够制成固体,也可以制成液体)。

[0038] (有效成分)

[0039] 本实施方式的前体脂肪细胞的增殖和/或分化促进剂含有下述式(I)所示的化合物作为有效成分。

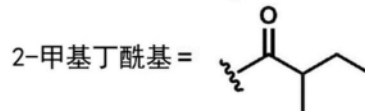
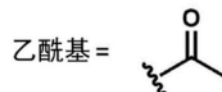
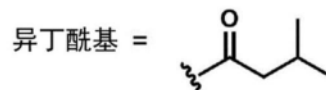
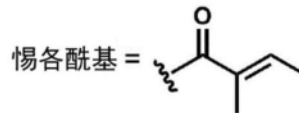
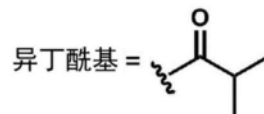
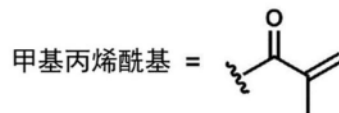
[0040] [化2]



[0041]

化合物编号 取代基R

7	惕各酰基
8	甲基丙烯酰基
9	异丁酰基
12	H
13	乙酰基
16	2-甲基丁酰基
17	异戊酰基



[0042] (式中,R为氢原子或碳原子数1~5的酰基。)此处,“碳原子数1~5的酰基”中的酰基是指被取代的羰基,为直链状、支链状、环状、饱和、不饱和的脂肪族烃基,具体而言,可举出乙酰基、丙酰基、异丙酰基、异丁酰基、惕各酰(Tigloyl)基、异戊酰基、新戊酰基(pivaloyl)、甲基丙烯酰基、丙烯酰基、巴豆酰(crotonyl)基、2-甲基巴豆酰(crotonyl)基等。在优选的实施方式中,上述式(I)中的R为氢原子或碳原子数1~4的酰基。作为进一步优选的实施方式,R为氢原子、乙酰基、甲基丙烯酰基或异丁酰基。

[0043] 在一个实施方式中,本发明的有效成分为6-O-甲基丙烯酰基堆心菊内酯和/或6-O-异丁酰基堆心菊内酯。此处,6-O-甲基丙烯酰基堆心菊内酯是指在上述通式(I)所示的化合物中R表示甲基丙烯酰基的化合物8。另外,6-O-异丁酰基堆心菊内酯是在上述通式(I)所示的化合物中R表示异丁酰基的化合物9。

[0044] 在另一个实施方案中,本发明的有效成分为堆心菊内酯或6-O-乙酰基堆心菊内酯。此处,堆心菊内酯是指上述通式(I)所示的化合物中R表示氢原子的化合物12。另外,6-O-乙酰基堆心菊内酯是在上述通式(I)所示的化合物中R表示乙酰基的化合物13。

[0045] 这些化合物例如可以从山金车花中直接提取,或者也可以将从山金车等药用植物中提取的堆心菊内酯作为母化合物通过化学修饰来合成。例如,报道了使用乙酸酐对堆心菊内酯的6位的羟基进行乙酰化的方法(参照Maria F Beer等,Molecules.2019;24(6):1113,方案2)。基于此,本领域技术人员可以容易地使用堆心菊内酯和酸酐合成上述化合物8和化合物9。

[0046] 在从山金车花中提取本实施方式的有效成分的情况下,“山金车”是菊科、山金车属的植物(学名Arnica montana)。在制造山金车的提取物时,作为材料,例如能够使用根、根茎、叶、茎、花、果实、果皮、种子、全草或它们的混合物。山金车的提取物例如将材料保持生鲜或干燥后的材料在粉碎后利用溶剂进行提取而制作。例如,将山金车的花干燥物50g浸

渍于30% 1,3-丁二醇溶液1kg中,在约10°C ~ 约30°C的环境下提取5 ~ 10天。或者,也可以将山金车的花干燥物50g浸渍于约30°C ~ 约50°C的温水1kg中,提取2 ~ 10小时。使用规定的过滤材料(玻璃纤维膜(Glass Fiber File)保持时间(ADVANTEC制造Gf-75)和混合纤维素酯(Mixed Cellulose ester)(ADVANTEC制造A045A047A)等)对经过该浸渍而得到的溶液进行过滤。将过滤后的溶液在约0°C ~ 约10°C的环境下静置5 ~ 10天。再次使用规定的过滤材料进行过滤,将得到的溶液作为山金车的提取物使用。

[0047] (有效成分的分离纯化操作)

[0048] 本实施方式的有效成分通过以下方式获得,利用溶剂从山金车提取物中分液提取、利用各种分离模式(离子交换、亲水性吸附、疏水性吸附、体积排除、配体交换、亲和等)的色谱的分离、使用滤纸、膜滤器、超滤膜等的分子量分离过滤、加压或减压、加热或冷却、干燥、pH调节、除臭、脱色、长时间的静置保管等来进行,也可以对它们进行任意选择、组合处理。作为一个实施方式,优选将后述的实施例中所使用的柱色谱和制备型HPLC等组合进行。纯化得到的化合物能够通过NMR、质谱分析法来确定结构。

[0049] (前体脂肪细胞的增殖和/或分化促进剂)

[0050] 本实施方式的制剂中的各有效成分的含有比率没有特别限定。例如,本实施方式的制剂可以仅包含6-0-甲基丙烯酰基堆心菊内酯和6-0-异丁酰基堆心菊内酯中的任一者,或者可以以任意的比率含有这两者。在优选的实施方式中,包含6-0-甲基丙烯酰基堆心菊内酯和6-0-异丁酰基堆心菊内酯这两者,更优选以大致1:1的比例包含它们。本实施方式的制剂除了这些有效成分以外还可以包含任意的化合物。例如,以山金车为代表的菊科植物中包含多种堆心菊内酯、其衍生物或其类似物。它们统称为具有内酯环的亲油性的15碳萜类化合物即倍半萜内酯类。

[0051] 在民间疗法中,倍半萜内酯类被用作针对各种症状的中药。其多样性与其生物活性的多样性一致,表明其发挥抗炎作用、细胞毒性、抗癌作用、抗菌作用、抗真菌作用、杀虫作用、抗原虫作用。因此,在本实施方式的制剂包含倍半萜内酯类作为其他成分的情况下,需要注意它们的各种生理活性、特别是细胞毒性。例如,如后述的实施例所示,山金车提取物中包含多种倍半萜内酯类,优选降低它们中细胞毒性强的成分的含有比率。作为细胞毒性强的堆心菊内酯衍生物,例如可举出6-0-惕各酰基堆心菊内酯。另一方面,通过包含比本实施方式的有效成分少量的6-0-惕各酰基堆心菊内酯,有时会促进上述脂肪细胞的分化。因此,本实施方式的制剂优选不包含6-0-惕各酰基堆心菊内酯、或者、以质量比计含有有效成分的总量以下的6-0-惕各酰基堆心菊内酯。这是因为,由此能够抑制由其他成分引起的细胞毒性作用,并且还能够期待与本实施方式的有效成分的协同作用。

[0052] (皮肤外用剂中包含的有效成分的含量)

[0053] 本实施方式的制剂,作为一种用途可举出皮肤外用剂。皮肤外用剂中的各有效成分的含量考虑其给药方式和给药方法等,只要是能够得到前体脂肪细胞的增殖和/或分化促进作用的量即可,没有特别限定。例如,各有效成分的含量相对于该皮肤外用剂的总重量优选为 0.1×10^{-9} 质量%以上,更优选为 0.1×10^{-7} 质量%(作为水溶液使用时约为0.1ng/mL)以上,进一步优选为 0.3×10^{-7} 质量%以上,更进一步优选为 1×10^{-7} 质量%以上。另外,考虑到作为堆心菊内酯衍生物的细胞毒性,优选为 1×10^{-2} 质量%以下,更优选为 1×10^{-3} 质量%以下,进一步优选为 1×10^{-4} 质量%以下。在一个实施方式中,在包含6-0-惕各酰基堆心

菊内酯(化合物7)的情况下,优选以约 1×10^{-7} 质量%以下的浓度含有、或者、不含有6-0-惕各酰基堆心菊内酯。

[0054] (皮肤外用剂的形态)

[0055] 本发明的皮肤外用剂可举出安瓶、胶囊、粉末、颗粒、液体、凝胶、气泡、乳液、片材、雾、喷雾剂等适合使用的形态的1)医药品类、2)准医药品类、3)局部用或全身用的皮肤外用剂类(例如,化妆水、乳液、乳霜、软膏、洗剂、油、面膜等基础化妆品、固体皂、液体皂、洗手液等洗面剂、皮肤清洁剂、按摩用剂、清洁用剂、除毛剂、脱毛剂、剃须处理剂、须后水、须前水、剃须膏、粉底、口红、腮红、眼影、眼线膏、睫毛膏等彩妆化妆品、香水类、美甲剂、指甲油、指甲油去除剂、巴布剂、膏药剂、胶带剂、片材剂、贴剂、气溶胶剂等)、4)应用于头皮·头发的药用或/和化妆用的制剂类(例如洗发剂、护发素剂、头发处理剂、头发预处理剂、烫发持久液、染发料、整发料、焗油剂、育发·养发料、巴布剂、膏药剂、胶带剂、片材剂、气溶胶剂等)、5)投放于沐浴水中使用的沐浴用剂、6)其他的防腋臭剂或除臭剂、止汗剂、卫生用品、卫生棉类、湿纸巾等。

[0056] (皮肤外用剂的构成成分)

[0057] 另外,在这样的制剂中,可以根据需要在不损害本发明的效果的范围内任意地选择、并用以下例示的成分、添加剂来制造,它们在配方体系中的配合量没有特别规定,通常认为优选为0.0001~50%左右。

[0058] (1)各种油脂类

[0059] 鳄梨油、杏仁油、小茴香油、紫苏油、橄榄油、橙子油、大西洋胃胸鲷油(オレンジラファー油)、芝麻油、可可脂、春黄菊油、胡萝卜油、黄瓜油、牛脂脂肪酸、石栗坚果油、红花油、乳木果油、液状乳木果油、大豆油、山茶油、玉米油、菜籽油、桃仁油、蓖麻油、棉籽油、花生油、海龟油、貂油、蛋黄油、棕榈油、棕榈仁油、木蜡、椰子油、牛脂、猪脂、角鲨烯、角鲨烷、鲨肝油烷或这些油脂类的氢化物(硬化油等)等。

[0060] (2)蜡类

[0061] 蜂蜡、巴西棕榈蜡、鲸蜡、羊毛脂、液状羊毛脂、还原羊毛脂、硬质羊毛脂、小烛树蜡、褐煤蜡、虫胶蜡、米糠蜡等。

[0062] (3)矿物油

[0063] 液体石蜡、凡士林、石蜡、地蜡、纯地蜡、微晶蜡等。

[0064] (4)脂肪酸类

[0065] 月桂酸、肉豆蔻酸、棕榈酸、硬脂酸、山嵛酸、油酸、亚油酸、亚麻酸、二十二碳六烯酸、二十碳五烯酸、12-羟基硬脂酸、十一碳烯酸、妥尔油、羊毛脂脂肪酸等天然脂肪酸,异壬酸、己酸、2-乙基丁酸、异戊酸、2-甲基戊酸、2-乙基己酸、异戊酸等合成脂肪酸。

[0066] (5)醇类

[0067] 乙醇、异丙醇、月桂醇、鲸蜡醇、硬脂醇、油醇、羊毛脂醇、胆固醇、植物甾醇、苯氧基乙醇等天然醇,2-己基癸醇、异硬脂醇、2-辛基十二烷醇等合成醇。

[0068] (6)多元醇类

[0069] 环氧乙烷、乙二醇、二乙二醇、三乙二醇、乙二醇单乙醚、乙二醇单丁醚、二乙二醇单甲醚、二乙二醇单乙醚、聚乙二醇、环氧丙烷、丙二醇、聚丙二醇、1,3-丁二醇、戊二醇、甘油、季戊四醇、苏糖醇、阿拉伯糖醇、木糖醇、核糖醇、半乳糖醇、山梨糖醇、甘露糖醇、乳糖

醇、麦芽糖醇等。

[0070] (7) 酯类

[0071] 肉豆蔻酸异丙酯、棕榈酸异丙酯、硬脂酸丁酯、月桂酸己酯、肉豆蔻酸肉豆蔻酯、油酸油酯、油酸癸酯、肉豆蔻酸辛基十二烷基酯、二甲基辛酸己基癸酯、乳酸鲸蜡酯、乳酸肉豆蔻酯、邻苯二甲酸二乙酯、邻苯二甲酸二丁酯、乙酸羊毛脂、单硬脂酸乙二醇酯、单硬脂酸丙二醇酯、二油酸丙二醇酯等。

[0072] (8) 金属皂类

[0073] 硬脂酸铝、硬脂酸镁、硬脂酸锌、硬脂酸钙、棕榈酸锌、肉豆蔻酸镁、月桂酸锌、十一碳烯酸锌等。

[0074] (9) 胶质、糖类或水溶性高分子化合物

[0075] 阿拉伯胶、安息香胶、达玛树胶、愈创木脂、爱尔兰苔、刺梧桐胶、黄耆胶、角豆胶、椴椴籽、琼脂、酪蛋白、乳糖、果糖、蔗糖或其酯、海藻糖或其衍生物、糊精、明胶、果胶、淀粉、角叉菜胶、羧甲基甲壳素或壳聚糖、环氧乙烷等附加有亚烷基(C2~C4)氧化物的羟基烷基(C2~C4)甲壳素或壳聚糖、低分子甲壳素或壳聚糖、壳聚糖盐、硫酸甲壳素或壳聚糖、磷酸化甲壳素或壳聚糖、海藻酸或其盐、透明质酸或其盐、硫酸软骨素或其盐、肝素、乙基纤维素、甲基纤维素、羧甲基纤维素、羧乙基纤维素、羧乙基纤维素钠、羟乙基纤维素、羟丙基纤维素、硝基纤维素、结晶纤维素、聚乙烯醇、聚乙烯基甲基醚、聚乙烯基吡咯烷酮、聚乙烯基甲基丙烯酸酯、聚丙烯酸盐、聚环氧乙烷或聚环氧丙烷等聚环氧烷或其交联聚合物、羧乙烯基聚合物、聚乙烯亚胺等。

[0076] (10) 表面活性剂

[0077] 阴离子表面活性剂(烷基羧酸盐、烷基磺酸盐、烷基硫酸酯盐、烷基磷酸酯盐)、阳离子表面活性剂(烷基胺盐、烷基季铵盐)、两性表面活性剂:羧酸型两性表面活性剂(氨基型、甜菜碱型)、硫酸酯型两性表面活性剂、磺酸盐型两性表面活性剂、磷酸酯型两性表面活性剂、非离子表面活性剂(醚型非离子表面活性剂、醚酯型非离子表面活性剂、酯型非离子表面活性剂、嵌段聚合物型非离子表面活性剂、含氮型非离子表面活性剂)、其他表面活性剂(天然表面活性剂、蛋白质水解物的衍生物、高分子表面活性剂、含钛·硅的表面活性剂、氟化碳系表面活性剂)等。

[0078] (11) 各种维生素类

[0079] 维生素A族:视黄醇、视黄醛(维生素A1)、脱氢视黄醛(维生素A2)、胡萝卜素、番茄红素(维生素A原)、维生素B族:硫胺素盐酸盐、硫胺素硫酸盐(维生素B1)、核黄素(维生素B2)、吡哆醇(维生素B6)、氰钴胺(维生素B12)、叶酸类、烟酸类、泛酸类、生物素类、胆碱、肌醇类、维生素C族:维生素C酸或其衍生物、维生素D族:麦角钙化醇(维生素D2)、胆钙化醇(维生素D3)、二氢速甾醇、维生素E族:维生素E或其衍生物、泛醌类、维生素K族:植物甲萘醌(维生素K1)、甲基萘醌(menaquinone)(维生素K2)、2-甲萘醌(menadiol)(维生素K3)、氢化甲萘醌(维生素K4)、其他必需脂肪酸(维生素F)、肉碱、阿魏酸、 γ -谷维素、乳清酸、维生素P类(芦丁、圣草次苷、橙皮苷)、维生素U等。

[0080] (12) 各种氨基酸类

[0081] 缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、苏氨酸、蛋氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、赖氨酸、甘氨酸、丙氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、丝氨酸、半胱氨酸、胱氨酸、酪氨酸、脯氨酸、羟基脯氨酸、天冬氨

酸、谷氨酸、羟基赖氨酸、精氨酸、鸟氨酸、组氨酸等、它们的硫酸盐、磷酸盐、硝酸盐、柠檬酸盐、或吡咯烷酮羧酸之类的氨基酸衍生物等。

[0082] (13) 源自植物或动物系原料的各种添加物

[0083] 它们可以根据要添加的产品种类、形态进行常规方法的加工(例如,任意选择、组合粉碎、制粉、洗涤、水解、发酵、精制、压榨、提取、分馏、过滤、干燥、粉末化、造粒、溶解、灭菌、pH调节、除臭、脱色等的处理),从各种原材料中任意选择并供给。

[0084] 以下列举实施例,进一步详细说明本发明,但本发明不受这些实施例的任何限制。需要说明的是,在以下实施例中,表示各种成分的添加量的数值的单位%是指质量%。

[0085] 实施例

[0086] [实施例1]

[0087] (山金车花热水提取物的成分分离)

[0088] 将山金车的花干燥物在约50°C的温水中浸渍5小时。使用规定的过滤材料(玻璃滤纸、Gf-75、ADVANTEC制造)和纤维素混合酯膜过滤器、A045A047A、ADVANTEC制造)对经过该浸渍而得到的溶液进行过滤。将过滤后的溶液利用蒸发器浓缩后,使用冷冻干燥机制成粉体,作为山金车的提取物使用。通过图1所示的分离方案对该山金车提取物进行成分分离。

[0089] 将山金车花热水提取物(211.8g)悬浮于蒸馏水(500mL)中,使用二乙醚(5×250mL、S01)、乙酸乙酯(5×250mL、S02)、丁醇(5×250mL、S03)分别进行液液分配,得到二乙醚级分(DEFr.3.9g)、乙酸乙酯级分(EFr.2.8g)、丁醇级分(BFr.10.8g)和水级分(WFr.收量无法测定)。

[0090] 活性最高的DEFr.(3.9g)供于硅胶开放柱色谱(57mm φ × 355mmL(直径57mm,长度355mm)、S04),使用己烷:丙酮=3:1、3:2、1:1进行洗脱。洗脱液利用TLC进行分析,得到13个级分(DEFr.1~DEFr.13)。DEFr.9(281.9mg)供于制备型HPLC(条件1、S06),得到化合物1(6.4mg,保持时间19.7min)。细级分中观察到高活性的DEFr.4(659.2mg)供于LH-20凝胶开放柱色谱(20mm φ × 515mmL、S05),使用氯仿:甲醇=1:1进行洗脱,洗脱液利用TLC进行分析,得到7个级分(DEFr.4-1~DEFr.4-7)。

[0091] DEFr.4-2(462.6mg)供于硅胶开放柱色谱(35mm φ × 363mmL、S07),使用己烷:氯仿:乙酸乙酯=1:1:0.1、1:1:0.3、1:1:1,氯仿:甲醇=1:1进行洗脱。洗脱液利用TLC进行分析,得到13个级分(DEFr.4-2-1~DEFr.4-2-13)。

[0092] DEFr.4-2-6(66.5mg)供于制备型HPLC(条件2、S09),得到化合物2(5.1mg,保持时间31.2min),化合物3(13.5mg,保持时间31.8min),化合物4(19.3mg,保持时间32.0min)。

[0093] DEFr.4-2-2(348.4mg)供于ODS凝胶开放柱色谱(30mm φ × 112mmL、S08),使用水:甲醇=1:1、1:2、0:1进行洗脱。洗脱液利用TLC进行分析,得到13个级分(DEFr.4-2-2-1~DEFr.4-2-2-13)。

[0094] DEFr.4-2-2-4(50.9mg)供于制备型HPLC(条件3、S10),得到化合物5(5.1mg,保持时间30.8min)、化合物6(10mg,保持时间31.6min)。

[0095] DEFr.4-2-2-8(77.2mg)供于制备型HPLC(条件4、S12),得到化合物7(43.2mg,保持时间33.3min)。

[0096] DEFr.4-2-2-6,7(80.9mg)供于制备型HPLC(条件5、S11),得到化合物8(9.5mg,保持时间31.6min),化合物9(10.9mg,保持时间32.2min),化合物10(15.9mg,保持时间

32.5min)。

[0097] (分离化合物的结构分析)

[0098] 化合物1的结构分析

[0099] DEFr.9-1 (6.4mg) 溶解于氘代甲醇, 供于FT-NMR分析。另外, 溶解于甲醇, 供于MALDI-TOF-MS分析。

[0100] 化合物2的结构分析

[0101] DEFr.4-2-6-1 (5.1mg) 溶解于氘代丙酮、氘代氯仿, 供于FT-NMR分析。另外, 溶解于甲醇, 供于MALDI-TOF-MS分析。

[0102] 化合物3的结构分析

[0103] DEFr.4-2-6-2 (13.5mg) 溶解于氘代丙酮、氘代氯仿, 供于FT-NMR分析。另外, 溶解于甲醇, 供于MALDI-TOF-MS分析。

[0104] 化合物4的结构分析

[0105] DEFr.4-2-6-3 (19.1mg) 溶解于氘代丙酮、氘代氯仿, 供于FT-NMR分析。另外, 溶解于甲醇, 供于MALDI-TOF-MS分析。

[0106] 化合物5的结构分析

[0107] DEFr.4-2-2-4-1 (5.1mg) 溶解于氘代氯仿, 供于FT-NMR分析。另外, 溶解于甲醇, 供于MALDI-TOF-MS分析。

[0108] 化合物6的结构分析

[0109] DEFr.4-2-2-4-2 (10.8mg) 溶解于氘代氯仿, 供于FT-NMR分析。另外, 溶解于甲醇, 供于MALDI-TOF-MS分析。

[0110] 化合物7的结构分析

[0111] DEFr.4-2-2-8-1 (43.2mg) 溶解于氘代氯仿, 供于FT-NMR分析。另外, 溶解于甲醇, 供于MALDI-TOF-MS分析。

[0112] 化合物8的结构分析

[0113] DEFr.4-2-2-6-1 (9.5mg) 溶解于氘代氯仿, 供于FT-NMR分析。另外, 溶解于甲醇, 供于MALDI-TOF-MS分析。

[0114] 化合物9的结构分析

[0115] DEFr.4-2-2-6-2 (10.9mg) 溶解于氘代氯仿, 供于FT-NMR分析。另外, 溶解于甲醇, 供于MALDI-TOF-MS分析。

[0116] 化合物10的结构分析

[0117] DEFr.4-2-2-6-3 (3.2mg) 溶解于氘代氯仿, 供于FT-NMR分析。另外, 溶解于甲醇, 供于MALDI-TOF-MS分析。

[0118] 需要说明的是, 利用后述的高效液相色谱 (HPLC) 对上述结构解析中使用的样品中的对象化合物的纯度进行分析, 将其结果示于以下表1。

[0119] [表1]

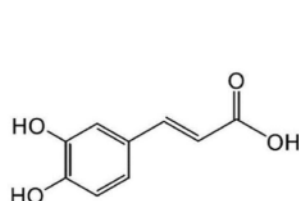
[0120]

样品名	对象化合物	对象化合物的纯度 (%)
DEFr.9-1 (Cmpd 1)	化合物1	97.35 %
DEFr.4-2-6-1	-	99.55 %
DEFr.4-2-6-2 (Cmpd 3)	化合物3	99.52 %

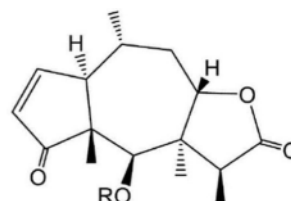
DEFr.4-2-6-3(Cmpd 4)	化合物4	99.95%
DEFr.4-2-2-4-1(Cmpd 5)	化合物5	100%
DEFr.4-2-2-4-2(Cmpd 6)	化合物6	100%
DEFr.4-2-2-8-1(Cmpd 7)	化合物7	95.05%
DEFr.4-2-2-6-1(Cmpd 8)	化合物8	100%
DEFr.4-2-2-6-2(Cmpd 9)	化合物9	92.74%
DEFr.4-2-2-6-3(Cmpd 10)	化合物10	66.26%

- [0121] <高效液相色谱 (HPLC)>
- [0122] 装置:SHIMADZU
- [0123] 泵:LC-20AD
- [0124] 二极管阵列检测器:SPD-M20A
- [0125] 柱烘箱:CTO-20AD
- [0126] 系统控制器:CBM-20A
- [0127] 脱气器:DGU-20A
- [0128] 自动进样器:SIL-20A
- [0129] 柱:Inertsil(注册商标) ODS-3、5(4.6mm ϕ \times 250mmL) 注入量:10 μ l
- [0130] 分析时间:60min
- [0131] 检测器波长:210 ~ 600nm
- [0132] 流速:1.0ml/min
- [0133] 梯度程序:甲醇:0.05% TFAaq. = 5%:95% \rightarrow 100%:0% (40min)
- [0134] <制备型高效液相色谱 (Preparative HPLC)>
- [0135] 装置:JASCO
- [0136] 泵:880-PU
- [0137] 检测器:870-UV
- [0138] 脱气器:880-51
- [0139] 系统控制器:880-30
- [0140] 柱:Inertsil(注册商标) ODS-3、5(20mm ϕ \times 250mmL) 注入量:350 μ l
- [0141] 检测器波长:280.0nm
- [0142] 流速:9.0ml/min
- [0143] (条件1)
- [0144] 梯度程序:甲醇:0.05% TFA aq. = 25:75 \rightarrow 100:0 (30min)
- [0145] (条件2)
- [0146] 梯度程序:甲醇:0.05% TFA aq. = 60:40 \rightarrow 85:15 (30min)
- [0147] (条件3)
- [0148] 梯度程序:甲醇:水 = 60:40 (30min)
- [0149] (条件4)
- [0150] 梯度程序:乙腈:水 = 60:40 \rightarrow 85:15 (30min)
- [0151] (条件5)
- [0152] 梯度程序:乙腈:0.05% TFA aq. = 50:50 (30min)

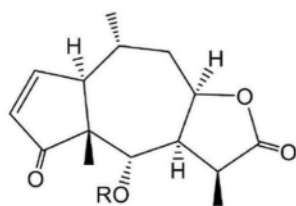
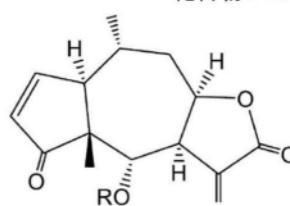
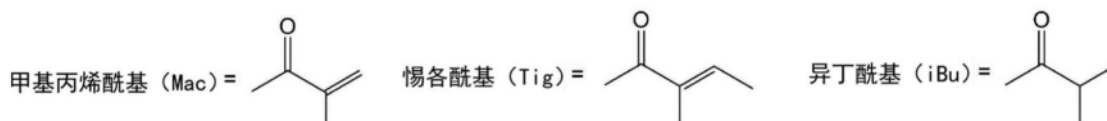
- [0153] (条件6)
- [0154] 梯度程序:甲醇:水=65:35(30min)
- [0155] <变换核磁共振装置(FT-NMR)>
- [0156] 装置:JEOL EC 600MHz(JEOL、TOKYO、JAPAN)
- [0157] 溶剂:氯仿-d(Cambridgr Isotope Laboratories、Inc.CAS865-49-6)
- [0158] 甲醇-d4(关东化学株式会社、CAS25221-96)
- [0159] 丙酮-d6(SIGMA-ALDRICH、CAS666-52-4)
- [0160] <基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱仪(MALDI-TOF-MS)>
- [0161] 装置:SHIMADZU BIOTECH AXIMA RESONANCE
- [0162] 离子模式:正离子模式
- [0163] 质量范围:Low100+、Low300+
- [0164] Power:120~150
- [0165] 基质:2,5-二苯甲酸(DHB)
- [0166] <旋光度计>
- [0167] 装置:JASCO-P2300系统
- [0168] 溶剂:甲醇、氯仿
- [0169] 对于各样品,将通过上述测定得到的 ^{13}C -NMR光谱、 ^1H -NMR光谱、COSY光谱、HMBC光谱、HMQC光谱和MALDI-TOF-MS光谱推定的化合物1和化合物3~10的结构示于以下。
- [0170] [化3]



化合物1

化合物3 R = iBu
化合物4 R = Tig

[0171]

化合物5 R = Mac
化合物6 R = iBu
化合物10 R = Tig化合物7 R = Tig
化合物8 R = Mac
化合物9 R = iBu

- [0172] (人皮下前体脂肪细胞的增殖试验)
- [0173] 通过对人的皮下前体脂肪细胞添加上述纯化级分,确认是否促进细胞增殖。该评价中使用的各纯化级分基于从山金车花热水提取物中回收的质量,以成为在原来的提取物中存在的比例的方式,如表2和表3中记载的那样制备。首先,将各纯化级分溶解于DMSO,制

作储备液。将其以成为0.75%的方式溶解于30%BG后,稀释1000倍或3000倍并添加到细胞中。将作为母体的山金车花热水提取物的粉体50mg溶解于500 μ L的30%BG后,将其以成为0.75%的方式稀释于30%BG,进一步以成为0.75%的方式添加DMSO,将由此得到的溶液稀释1000倍或3000倍并添加到细胞中。另外,作为比较对象,以在30%BG中成为0.75%的方式添加DMSO而制备,稀释1000倍或3000倍并添加到细胞中。

[0174] [表2]

样品名	稀释倍率	DMSO储备液浓度 (mg/mL)	以0.75%溶解于30%BG (μ g/mL)	稀释1000倍并添加到细胞中 (ng/mL)	稀释3000倍并添加到细胞中 (ng/mL)
DEFr.	54.31	18.41	138.1	138.1	46.0
EAFr.	75.64	13.22	99.2	99.2	33.1
BFr.	19.61	50.99	382.4	382.4	127.5
WFr.	1.09	916.90	6876.6	6876.6	2292.3
DEFr. 1	36517.24	0.03	0.2	0.2	0.1
DEFr. 3	561.65	1.78	13.4	13.4	4.5
DEFr. 4	321.30	3.11	23.3	23.3	7.8
DEFr. 5	419.74	2.38	17.9	17.9	6.0
DEFr. 6	695.80	1.44	10.8	10.8	3.6
DEFr. 7	335.13	2.98	22.4	22.4	7.5
DEFr. 8	441.16	2.27	17.0	17.0	5.7
DEFr. 9	751.33	1.33	10.0	10.0	3.3
DEFr. 10	2827.77	0.35	2.7	2.7	0.9
DEFr. 11	1260.71	0.79	5.9	5.9	2.0
DEFr. 12	5268.66	0.19	1.4	1.4	0.5
DEFr. 13	484.56	2.06	15.5	15.5	5.2

[0175]

[0176] [表3]

样品名	稀释倍率	DMSO储备液浓度 (mg/mL)	以0.75%溶解于30%BG (μ g/mL)	稀释1000倍并添加到细胞中 (ng/mL)	稀释3000倍并添加到细胞中 (ng/mL)
DEFr. 2	13664.52	0.073	0.55	0.55	0.18
Cmpd 1	33093.75	0.030	0.23	0.23	0.08
Cmpd 3	15688.89	0.064	0.48	0.48	0.16
Cmpd 4	10974.09	0.091	0.68	0.68	0.23
Cmpd 5	41529.41	0.024	0.18	0.18	0.06
Cmpd 6	19611.11	0.051	0.38	0.38	0.13
Cmpd 7	4902.78	0.204	1.53	1.53	0.51
Cmpd 8	22294.74	0.045	0.34	0.34	0.11
Cmpd 9	19431.19	0.051	0.39	0.39	0.13
Cmpd 10	66187.50	0.015	0.11	0.11	0.04

[0177]

[0178] 使用包含10%FBS的前体脂肪细胞生长培养基 (Preadipocyte Growth Medium) (Lonza制造PT-8002),将人皮下前体脂肪细胞 (Lonza制造,PT-5020)以 1×10^3 (个) /孔接种于96孔板,在5%CO₂培养箱中在37°C下培养16小时。然后,以成为上述浓度的方式添加各纯化级分,在5%CO₂培养箱中在37°C下培养72小时。培养后,测定孔内的细胞数。作为本实验的对照,设定添加不包含各纯化级分的提取溶剂即30%1,3丁二醇的孔,也测定该设定的孔

的细胞数。将该设定的孔的细胞数设为100,算出添加了各纯化级分的孔的细胞数的比例(相对值)。

[0179] (人皮下前体脂肪细胞的分化试验)

[0180] 已知通过从前体脂肪细胞分化为脂肪细胞,在细胞内储存脂肪滴(肥胖研究 vol.13, No.1, 2007, 84~86页)。通过对人的皮下前体脂肪细胞添加上述各纯化级分,通过脂肪滴的形成来确认是否促进分化为脂肪细胞。该评价中使用的各纯化级分基于从山金车花热水提取物中回收的质量,以成为原来的提取物中存在的浓度的方式制备,稀释1000倍或3000倍并添加到细胞中。

[0181] 使用包含10%FBS的前体脂肪细胞生长培养基(Preadipocyte Growth Medium)(Lonza制造PT-8002),将人皮下前体脂肪细胞(Lonza制造,PT-5020)以 1×10^4 (个)/孔接种于96孔板,在5%CO₂培养箱中在37°C下培养16小时。通过利用显微镜的目视确认成为汇合后,以Lonza公司推荐的1/2倍浓度添加分化诱导培养基(Lonza制造,PT-8002)。此时,以成为上述浓度的方式添加各纯化级分,在5%CO₂培养箱中在37°C下培养10天。通过利用显微镜的目视确认脂肪滴的蓄积后,除去培养液,利用PBS清洗孔两次。利用10%中性缓冲福尔马林(和光纯药制造,062-01661)将细胞固定后,使用饱和溶解于60%异丙醇的油红O(和光纯药制造,154-02072),将脂肪滴染色。利用纯化水清洗孔后,使用100%异丙醇,提取染色的脂肪滴,测定吸光度510nm。将代替各纯化级分而以成为上述浓度的方式添加作为提取溶剂的30%的1,3-丁二醇的孔的吸光度值设为1,算出添加山金车的提取物的孔的吸光度的比例(相对值),作为分化的比例(相对值)。

[0182] 将其结果示于图2~4。在图2~4中,“Parent表示作为纯化原料使用的山金车花热水提取物”,“Cont表示30%的1,3-丁二醇”。根据图2的结果,在对山金车提取物进行二乙醚提取(S01)而得到的级分DEFr.和对该级分进行硅胶开放柱色谱分离(S04)而得到的DEFr.4级分中,发现了人皮下前体脂肪细胞的增殖和分化促进活性。因此,通过硅胶开放柱色谱和制备型HPLC进一步分离DEFr.4级分。对于得到的级分(表3中记载的DEFr.2、Cmpd1、Cmpd3、Cmpd4、Cmpd5、Cmpd6、Cmpd7、Cmpd8、Cmpd9和Cmpd10),将通过上述方法测定得到的结果示于图3。由图3的结果可知,Cmpd7(含有化合物7)、Cmpd8(含有化合物8)和Cmpd9(含有化合物9)具有人皮下前体脂肪细胞的增殖和分化促进活性。认为Cmpd7在稀释1000倍的情况下,人皮下前体脂肪细胞的增殖活性降低的理由是该化合物具有的细胞毒性引起。

[0183] 因此,将单独或分别混合Cmpd7(含有化合物7)、Cmpd8(含有化合物8)和Cmpd9(含有化合物9)时的人皮下前体脂肪细胞的增殖试验和分化试验的结果示于图4。需要说明的是,在图4中,“Cmpd7+8”表示同时添加Cmpd7和Cmpd8,“Cmpd7+9”表示同时添加Cmpd7和Cmpd9,“Cmpd8+9”表示同时添加Cmpd8和Cmpd9,“Cmp7+8+9”表示同时添加Cmpd7、Cmpd8和Cmpd9。由图4的结果可知,Cmpd8与Cmpd9的组合在人皮下前体脂肪细胞的增殖和分化促进这两方面显示出最强的活性。需要说明的是,在图2~4中,*表示相对于Cont,通过Dunnnett检验(仅单侧)具有 $p < 0.05$ 的显著性差异,**表示相对于相同的Cont,通过Dunnnett检验(仅单侧)具有 $p < 0.01$ 的显著性差异。

[0184] [实施例2]

[0185] 通过硅胶开放柱色谱分离实施例1中获得的二乙醚可溶部分而得到的13个级分(DEFr.1~DEFr.13)中,进一步精制DEFr.3和DEFr.5~8的各级分,分离出新的化合物12~

19.将用于分离这些新化合物的分离方案示于图5。

[0186] DEFr.3 (340.0mg) 供于ODS凝胶开放柱色谱 (30mm ϕ \times 112mmL、S14), 使用水:甲醇=3:2进行洗脱。细级分中观察到活性的DEFr.3-8 (156.0mg) 供于制备型HPLC (乙腈:水=39:61、S15) 而得到化合物17 (8.3mg)。另一方面, 得到的级分DEFr.3-8-5进一步供于制备型HPLC (己烷:2-丙醇=90:10、S16) 而得到化合物16 (15.8mg)。

[0187] DEFr.5 (504.6mg) 供于LH-20凝胶开放柱色谱 (20mm ϕ \times 515mmL、S17), 使用甲醇:氯仿=3:2进行洗脱。洗脱液利用TLC进行分析, 得到2个级分 (DEFr.5-2和DEFr.5-3)。该级分DEFr.5-2 (167.0mg) 供于制备型HPLC (甲醇:水=45:55、S18), 得到化合物13 (11.2mg)。另一方面, 将得到的级分DEFr.5-2-1进一步供于制备型HPLC (乙腈:水=30:70、S19) 而得到化合物14 (2.1mg)。级分DEFr.5-3 (130.1mg) 供于ODS凝胶开放柱色谱 (S20)。分别使用水:甲醇=2:3, 1:1和1:0进行洗脱。将得到的级分DEFr.5-3-23 (5.0mg) 进一步供于制备型HPLC (甲醇:水=40:60、S21), 得到化合物15 (2.9mg), 将级分DEFr.5-3-4 (40.0mg) 进一步供于制备型HPLC (甲醇:水=25:75、S22) 而得到化合物15 (13.4mg)。

[0188] DEFr.6 (299.0mg) 供于ODS凝胶开放柱色谱 (30mm ϕ \times 112mmL、S23), 使用水:甲醇=1:1、1:2、0:1进行洗脱。将得到的级分DEFr.6-3 (59.1mg) 供于硅胶柱色谱, 使用氯仿:甲醇=20:1进行洗脱 (S24), 将1个洗脱级分DEFr.6-3-1 (40.0mg) 进一步供于制备型HPLC (甲醇:水=40:60、S25), 得到化合物12 (9.5mg)。

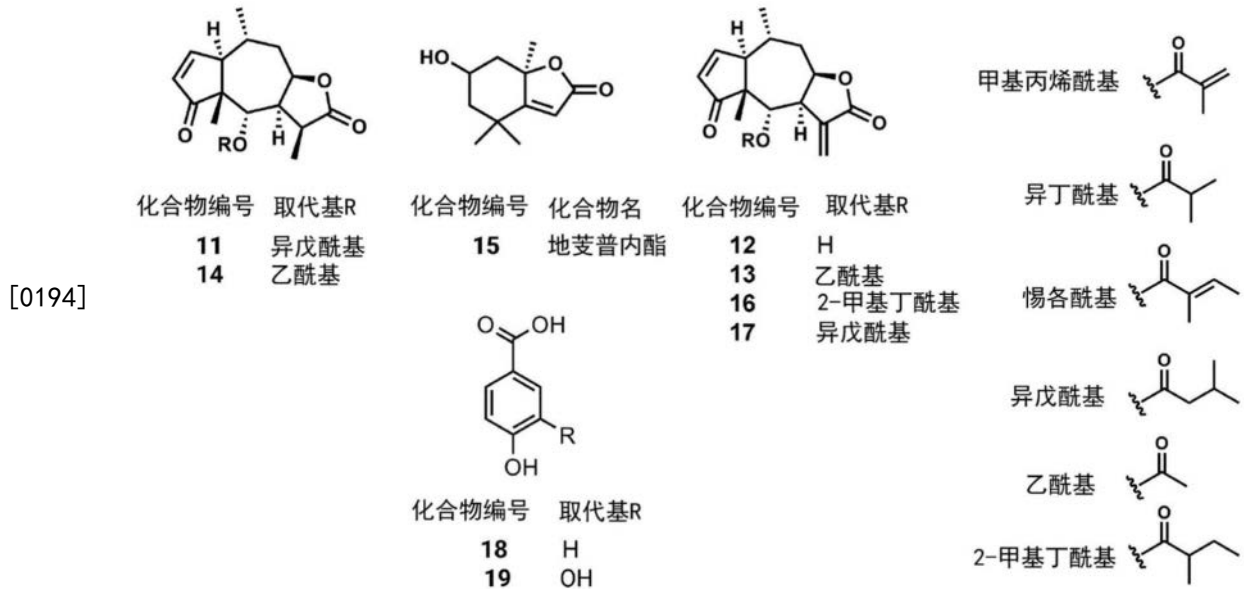
[0189] DEFr.7 (515.0mg) 供于LH-20凝胶开放柱色谱 (20mm ϕ \times 515mmL、S05), 使用氯仿:甲醇=1:1进行洗脱。洗脱液利用TLC进行分析, 得到6个级分 (DEFr.7-1 ~ DEFr.7-6)。DEFr.7-4 (32.0mg) 供于制备型HPLC, 利用甲醇:水 (0.05% TFA) =30:70、S27) 进行洗脱而得到化合物18 (18.2mg)。

[0190] DEFr.8 (548.2mg) 供于LH-20凝胶开放柱色谱 (20mm ϕ \times 515mmL、S05), 使用氯仿:甲醇=1:1进行洗脱。将得到的1个级分DEFr.8-7 (25.3mg) 供于制备型HPLC, 利用甲醇:水 (0.05% TFA) =25:75、S29) 进行洗脱而得到化合物19 (11.3mg)。

[0191] (分离化合物的结构分析)

[0192] 将通过与实施例1相同的方法, 由¹³C-NMR光谱、¹H-NMR光谱、COSY光谱、HMBC光谱、HMQC光谱和MALDI-TOF-MS光谱推定的化合物11 ~ 19的结构示于以下。

[0193] [化4]



[0195] 通过与实施例1相同的方法,进行人皮下前体脂肪细胞的增殖试验和分化试验。将其结果示于以下的表4和图6。在表4和图6中,作为样品名记载的“KS0019”和“KS0020”分别表示批次不同的山金车提取液。“BG/DMSO”表示添加不包含纯化级分的提取溶剂即30%1,3-丁二醇和DMSO的组。Cmpd11~Cmpd19分别含有化合物11~19。所有样品均以化合物的浓度成为与山金车提取液中相同的方式进行浓度调整,稀释1000倍并添加到细胞中。

[0196] [表4]

[0197]

样品名	细胞数的比例 (相对值)		分化的比例 (相对值)	
	平均值	标准误差	平均值	标准误差
Cmpd 11	105.99	5.08	97.60	4.00
Cmpd 12	95.93	3.98	108.85	1.50
Cmpd 13	95.19	4.06	109.86	1.35
Cmpd 14	94.75	4.30	104.68	1.31
Cmpd 15	92.30	4.50	105.31	1.36
Cmpd 16	95.27	4.10	104.55	1.54
Cmpd 17	96.00	3.62	102.91	1.16
Cmpd 18	92.64	3.48	103.79	0.95
Cmpd 19	93.00	4.57	104.17	1.10
KS0019	113.23	4.35	120.23	1.18
KS0020	116.17	3.60	123.26	1.41
BG/DMSO	100.00	4.85	100.00	3.63

[0198] 根据表4和图6的结果,Cmpd12(含有化合物12)和Cmpd13(含有化合物13)显著促进了人皮下前体脂肪细胞的分化。

[0199] 需要说明的是,在图6中,*表示相对于BG/DMSO,通过Dunnett检验(仅单侧)具有 $p < 0.05$ 的显著性差异,**表示相对于相同的BG/DMSO,通过Dunnett检验(仅单侧)具有 $p < 0.01$ 的显著性差异,***表示相对于相同的BG/DMSO,通过Dunnett检验(仅单侧)具有 $p < 0.001$ 的显著性差异。

[0200] 工业上的可利用性

[0201] 本发明的前体脂肪细胞的增殖和/或分化促进剂可以作为化妆品、食品、医药品等和/或配合于它们的原材料在工业上利用。

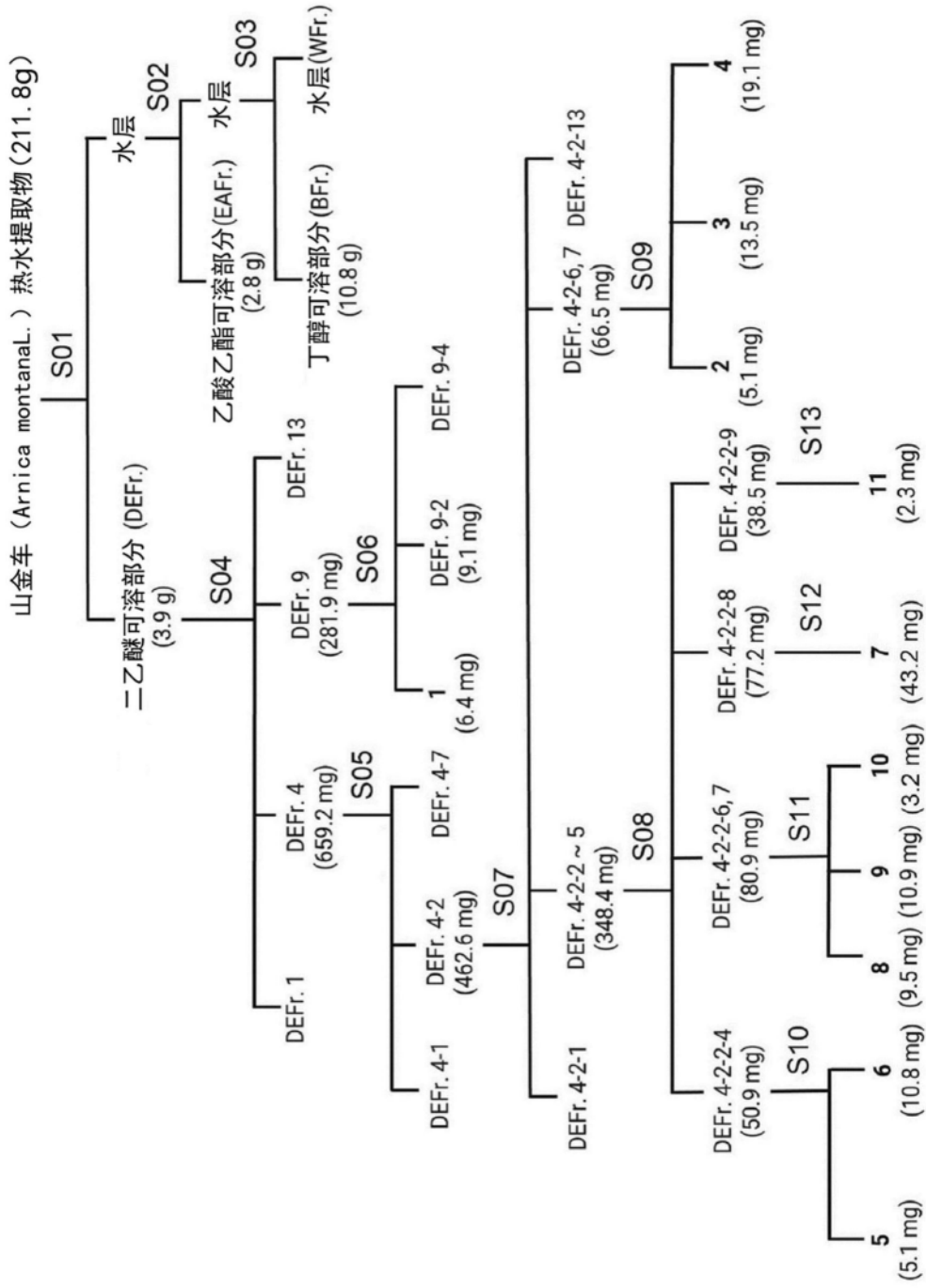
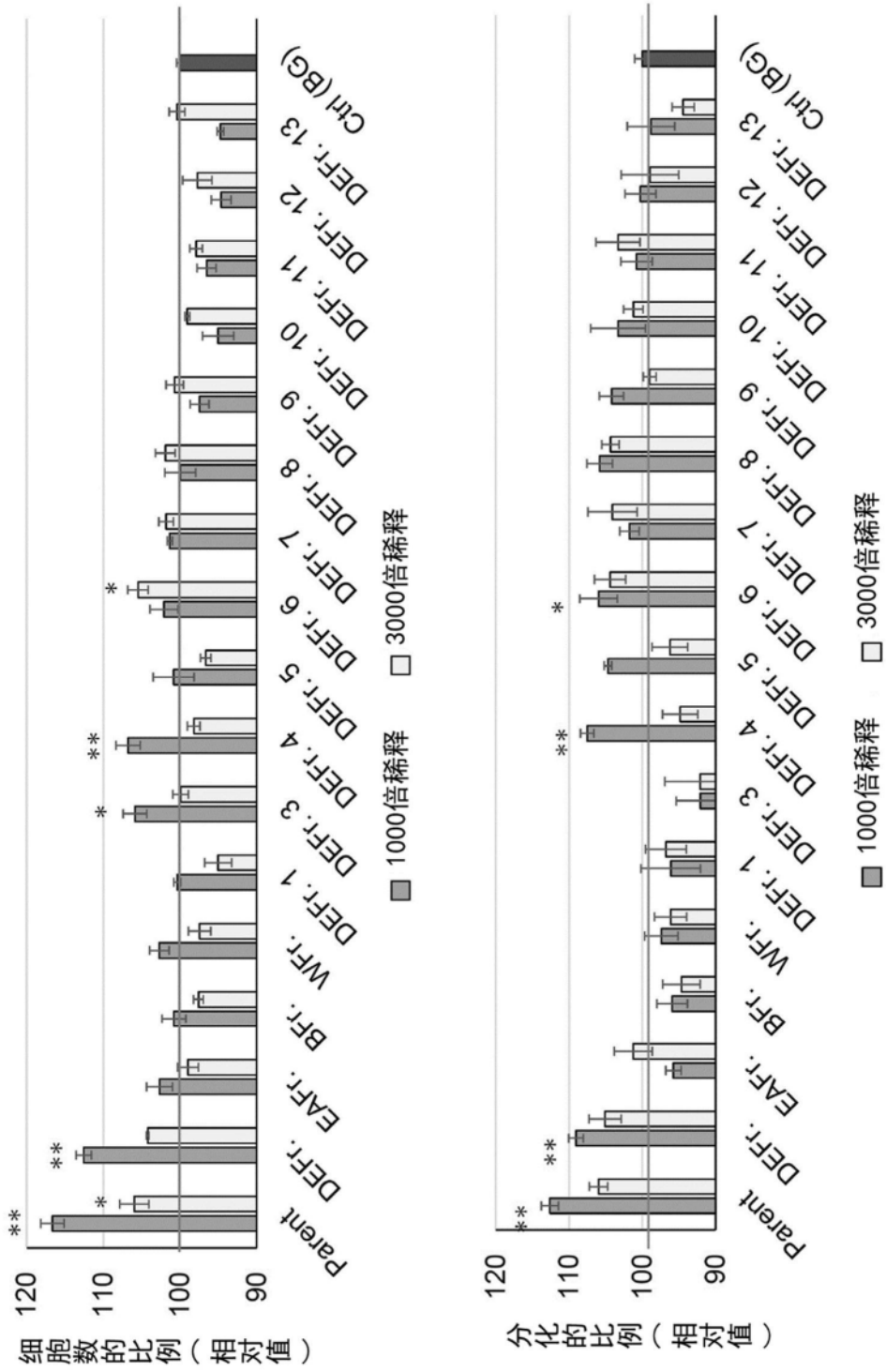


图1



*p<0.05, **p<0.01, n = 4, 相对于Ctrl (BG) 的Dunnett检验

图2

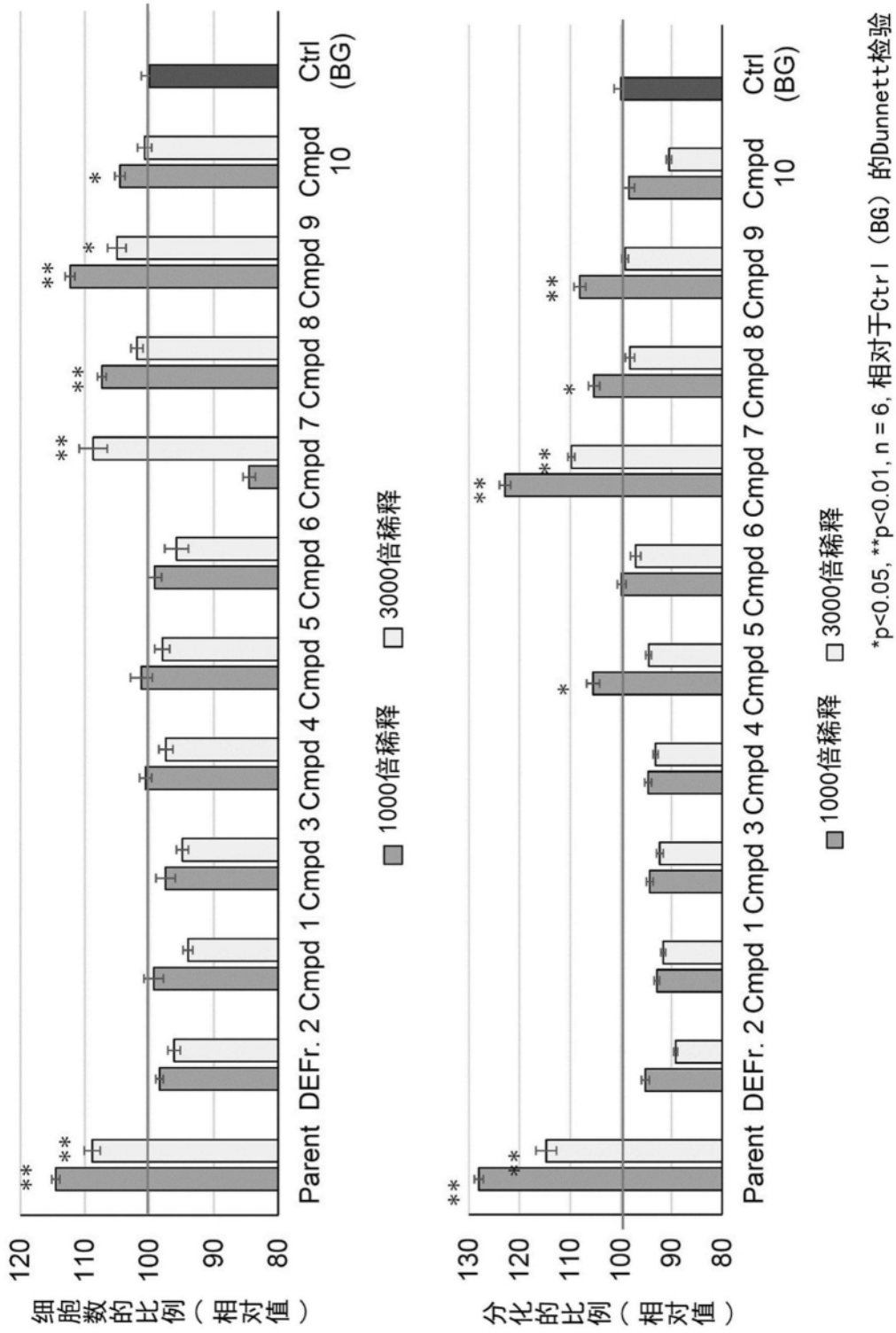


图3

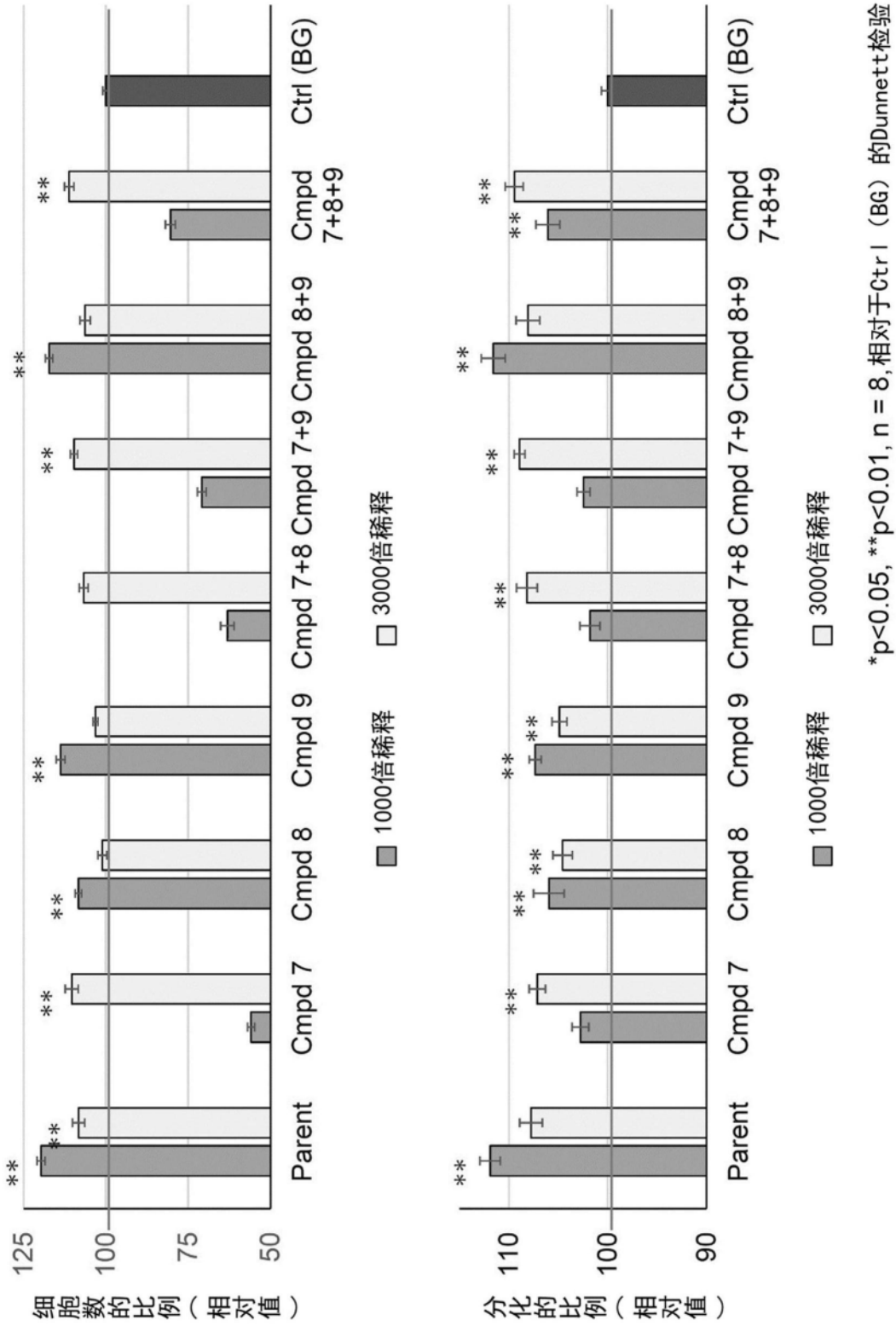


图4

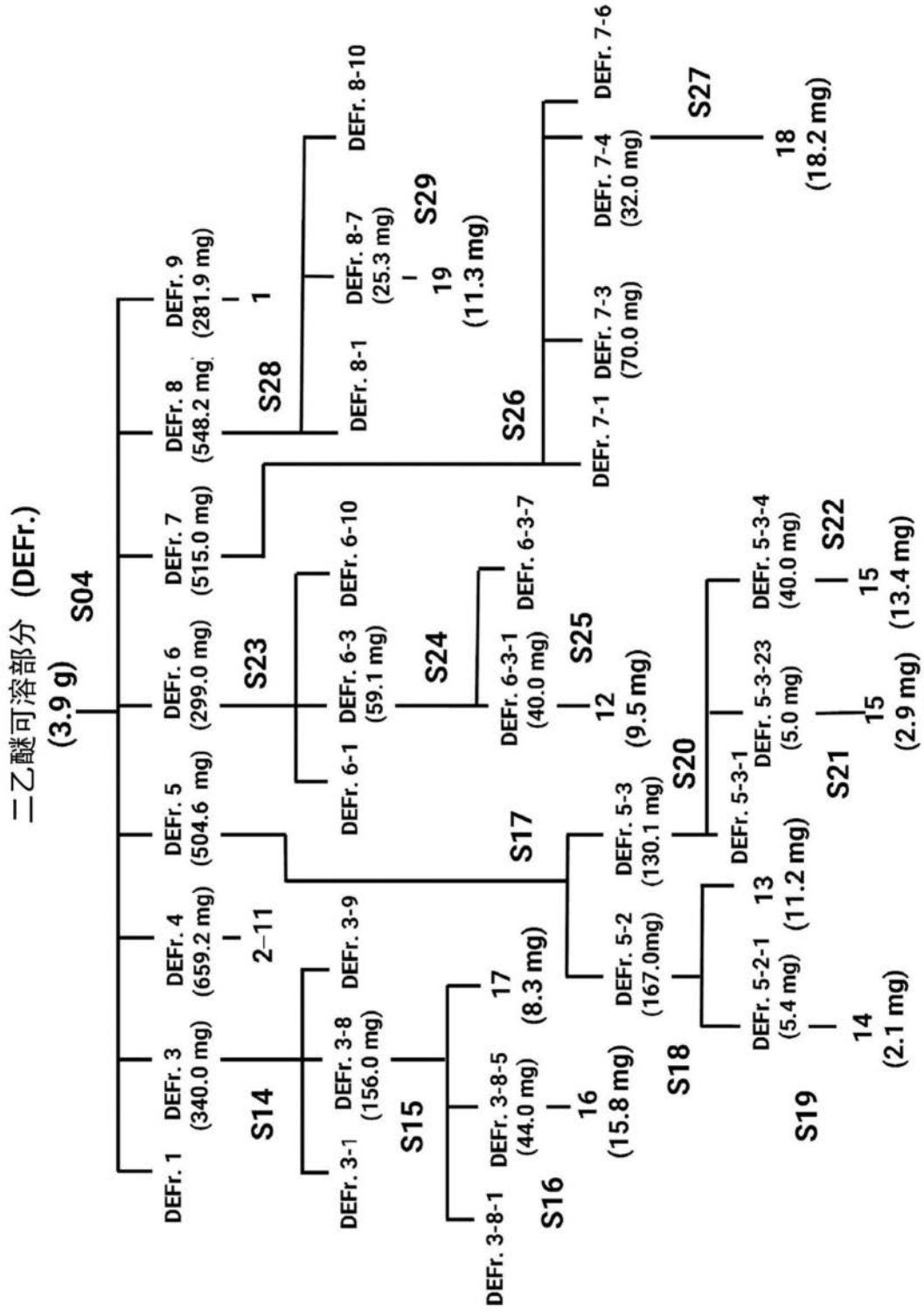


图5

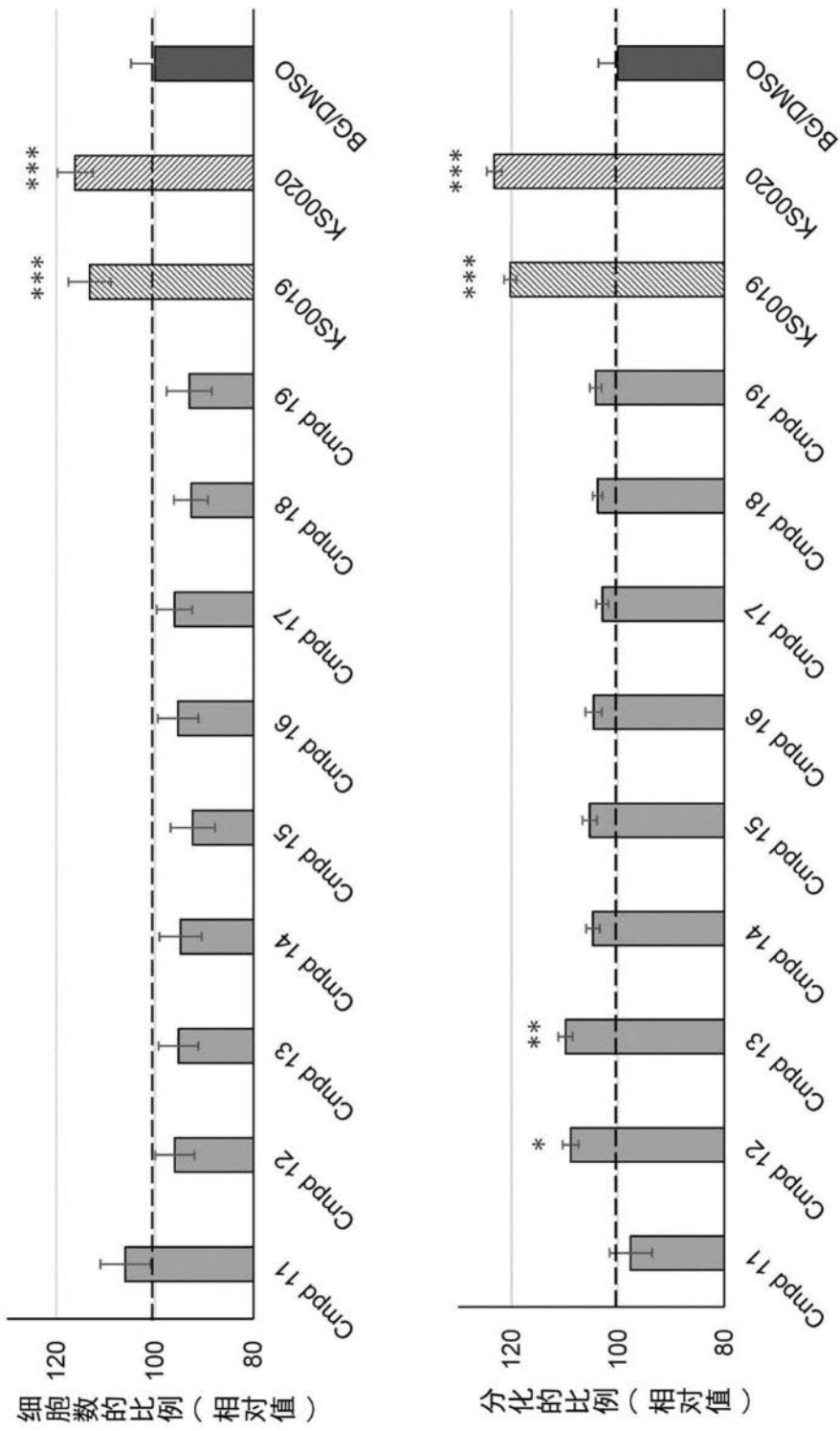


图6