

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第5326350号
(P5326350)

(45) 発行日 平成25年10月30日(2013.10.30)

(24) 登録日 平成25年8月2日(2013.8.2)

(51) Int. Cl. F I
A 6 1 K 31/365 (2006.01) A 6 1 K 31/365
A 6 1 P 3/06 (2006.01) A 6 1 P 3/06
A 6 1 P 3/04 (2006.01) A 6 1 P 3/04
 C O 7 D 307/88 (2006.01) C O 7 D 307/88
 A 2 3 L 1/30 (2006.01) A 2 3 L 1/30 Z

請求項の数 2 (全 12 頁)

(21) 出願番号 特願2008-123739 (P2008-123739)
 (22) 出願日 平成20年5月9日(2008.5.9)
 (65) 公開番号 特開2009-269885 (P2009-269885A)
 (43) 公開日 平成21年11月19日(2009.11.19)
 審査請求日 平成23年5月6日(2011.5.6)

(73) 特許権者 304026696
 国立大学法人三重大学
 三重県津市栗真町屋町1577
 (74) 代理人 110000394
 特許業務法人岡田国際特許事務所
 (72) 発明者 藤川 隆彦
 三重県津市栗真町屋町1577 国立大学
 法人三重大学内
 (72) 発明者 坂野 克久
 愛知県名古屋市緑区大高町字北関山20番
 地の1 中部電力株式会社エネルギー応用
 研究所内

審査官 三上 晶子

最終頁に続く

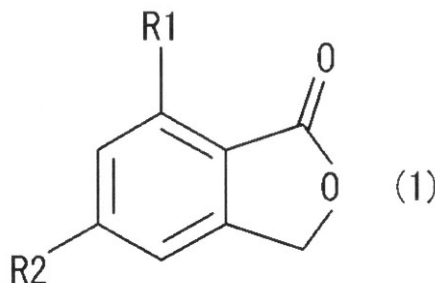
(54) 【発明の名称】 フタリド誘導体及び内臓脂肪蓄積抑制剤

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

下記一般式(1)：

【化1】



(一般式(1)中、R1及びR2は、それぞれ独立に炭素数1~3のアルコキシ基を示す。)で表されるフタリド誘導体を有効成分として含有する内臓脂肪蓄積抑制剤。

【請求項2】

前記一般式(1)中、R1及びR2が共にメトキシ基である請求項1に記載の内臓脂肪蓄積抑制剤。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、新規なフタリド誘導体及びこのフタリド誘導体を有効成分として含有する内臓脂肪蓄積抑制剤に関する。

【背景技術】

【0002】

近年、食生活の欧米化に伴い高カロリーな飲食物を摂取する機会が増加しているが、摂取エネルギー量が消費エネルギー量を上回ると過剰なエネルギーが脂肪として体内に蓄積し、この状態が持続すると肥満となる。そして肥満は、皮下脂肪型肥満と内臓型肥満に大別されるが、なかでも内臓型肥満が、メタボリックシンドローム等の生活習慣病の一因と考えられていることから、早急な対策が求められている。

【0003】

このような社会的背景において、実用的な内臓脂肪の蓄積抑制剤についての研究が進められており、例えばオリーブ葉又はその抽出物を有効成分として含有する内臓脂肪蓄積抑制剤が公知である（特許文献1を参照）。

この公知技術によれば、オリーブ葉の抽出物をマウスに5週間給餌することで、精巣及び腸管膜における内臓脂肪の蓄積を抑制することができる（特許文献1の段落[0027]及び[0028]を参照）。

【特許文献1】特開2008-81425号

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

しかしながら上記公知技術は効果が表れるのが思いのほか遅く、所望の内臓脂肪の蓄積作用を奏するために比較的長期間の継続摂取が必要であった。もっとも抽出物中の有効成分（化合物）を単離して用いれば比較的短期で効果を奏する可能性もあるが、有効成分の特定が困難であるとともに、単離された化合物が単独で内臓脂肪の蓄積抑制作用を奏するとはかぎらない。

本発明は上述の点に鑑みて創案されたものであり、本発明が解決しようとする第一の課題は、内臓脂肪の蓄積抑制作用を有する新規な化合物を提供することにある。また本発明が解決しようとする第二の課題は、比較的短期間の摂取で、内臓脂肪の蓄積抑制作用を奏する内臓脂肪蓄積抑制剤を提供することにある。

【課題を解決するための手段】

【0005】

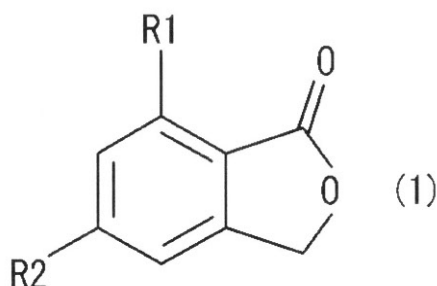
本発明者らは、上記課題を解決するため鋭意検討した結果、内臓脂肪の蓄積抑制作用を有する新規なフタリド誘導体の合成に成功し、本発明を完成するに至った。

なお従来、血液粘度の低下作用を有するフタリド誘導体の報告（特公平7-98815号公報）や、抗糖尿病作用を有するフタリド誘導体の報告（徳島文理大、国土ら）がある。一方、内臓脂肪の蓄積抑制作用を有するフタリド誘導体及びその具体的構造の報告は皆無である。

【0006】

すなわち上記課題を解決するための手段として、第1発明は、内臓脂肪の蓄積抑制作用を有する下記一般式（1）：

【化1】



（一般式（1）中、R1及びR2は、それぞれ独立に炭素数1～3のアルコキシ基を示す

10

20

30

40

50

。)で表される

フタリド誘導体を有効成分として含有することにより、比較的短期間の摂取で、好適な内臓脂肪の

蓄積抑制作用を奏する。

【 0 0 0 8 】

第 2 発明は、第 1 発明に記載の内臓脂肪蓄積抑制剤であって前記一般式 (1) 中、R 1 及び R 2 が共にメトキシ基である。

本発明のフタリド誘導体は、内臓脂肪の蓄積抑制作用と、褐色脂肪組織の増加作用を有する。さらに本発明のフタリド誘導体を有効成分として含有する内臓脂肪蓄積抑制剤は、より短期間の摂取で、好適な内臓脂肪の蓄積抑制作用と、褐色脂肪組織の増加作用を奏する。

10

【発明の効果】

【 0 0 0 9 】

本発明の第 1 発明によれば、内臓脂肪の蓄積抑制作用を有する新規なフタリド誘導体を提供することができる。

また第 2 発明によれば、比較的短期間の摂取で、内臓脂肪の蓄積抑制作用を奏する実用的な内臓脂肪蓄積抑制剤を提供することができる。

そして第 3 発明によれば、内臓脂肪の蓄積抑制作用と、褐色脂肪組織の増加作用を有する新規なフタリド誘導体又はより実用的な内臓脂肪蓄積抑制剤を提供することができる。

20

【発明を実施するための最良の形態】

【 0 0 1 0 】

以下、本発明を実施するための最良の形態を説明する。

本実施形態のフタリド誘導体は、内臓脂肪の蓄積抑制作用を有する上記一般式 (1) で表される新規なフタリド誘導体 (その医薬的に許容し得る塩又は溶媒和物を含む) である。

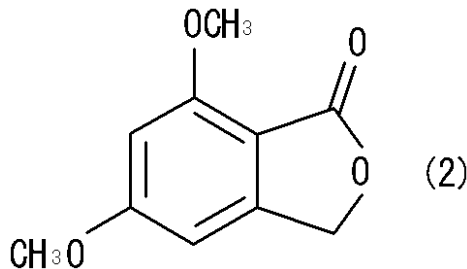
そして一般式 (1) 中、R 1 及び R 2 が、それぞれ独立に、比較的分子量である炭素数 1 ~ 3 のアルコキシ基 (メトキシ基、エトキシ基、ノルマルプロポキシ基又はイソプロポキシ基) である。これら R 1 及び R 2 は、同種のアルコキシ基であってもよく、また異なるアルコキシ基であってもよいが、好ましくは R 1 及び R 2 の少なくとも一の置換基がメトキシ基である。

30

【 0 0 1 1 】

そして本実施形態のフタリド誘導体は、一般式 (1) 中、R 1 及び R 2 が共にメトキシ基であることが好ましい。すなわち本実施形態のフタリド誘導体が、下記化学式 (2) :

【化 2】



40

で表されるフタリド誘導体 (5,7 - dimethoxyphthalide、IUPAC 名 : 5,7 - Dimethoxy - 1 (3 H) - isobenzofuranone) であることが好ましい。

上述の化学式 (2) で表わされるフタリド誘導体は、内臓脂肪の蓄積抑制作用と、褐色脂肪組織の増加作用を有する。

【 0 0 1 2 】

50

(用途)

上述の一般式(1)のフタリド誘導体は、内臓脂肪蓄積抑制剤、内臓脂肪低減剤又は抗肥満剤などの各種用途に用いることができるものであり、とりわけ内臓脂肪蓄積抑制剤として好適に使用することができる。すなわち一般式(1)のフタリド誘導体を有効成分として含有する内臓脂肪蓄積抑制剤は、比較的短期間(例えば5週間未満)の摂取で、内臓脂肪の蓄積抑制作用を奏する。

【0013】

そして化学式(2)のフタリド誘導体を有効成分として含有する内臓脂肪蓄積抑制剤は、より短期間(例えば2週間)の摂取で、内臓脂肪の蓄積抑制作用と、褐色脂肪組織の増加作用を奏する。

ここで褐色脂肪組織はミトコンドリアが豊富であり、ミトコンドリアの熱産生を通じて消費エネルギー量を増大させることが知られている。このため化学式(2)のフタリド誘導体は、生体の消費エネルギー量を増大させて基礎代謝率を向上させる代謝促進剤としての用途を有する。

【0014】

そして本実施形態のフタリド誘導体は、内臓脂肪蓄積抑制剤として、各種の飲食物に混合又は添加して使用することができる。

飲食物は、食用又は飲用に供されるものであればよくその種類は特に限定しない。例えば飲食物として、獣鳥肉類、乳類、卵類などの畜産食品、穀類、豆類、蔬菜類、果実類などの農産食品、魚介類、鯨類、海藻類などの水産食品、キノコ類、山菜類などの林産食品、調味料、香辛料、油脂類、菓子類、醸造食品、水、清涼飲料、酒類などの飲料類又は調味液類を例示することができる。なお上述の飲食物は、その製造段階の適当な工程において、本実施形態のフタリド誘導体(有効成分)を所定量添加する以外は常法に準じて調製することができる。

【0015】

ここで本実施形態のフタリド誘導体は、好適な内臓脂肪の蓄積抑制作用を有することから、特に脂肪成分を比較的多量に含有する飲食物に添加又は混合して使用することができる。

上述の脂肪成分の種類は特に限定しないが、例えば、ラード、牛脂、魚油、ミルク脂肪、バター、チーズ、ショートニング、マーガリン、細菌類油、菌類油などの動物性脂肪(脂質)、植物油、微小藻類油などの植物性脂肪(脂質)を例示することができる。

なお脂肪成分は、飲食物全重量に対して3重量%~50重量%の範囲で含有されておればよく、好ましくは5重量%~40重量%である。

【0016】

そして本実施形態のフタリド誘導体を、飲食物全重量に対して0.05重量%~50重量%の範囲で混合又は添加することで好適な内臓脂肪の蓄積抑制作用を奏する。フタリド誘導体の含有量が0.05重量%未満であると所望の内臓脂肪の蓄積抑制作用が得られない傾向にある。なおフタリド誘導体の含有量は50重量%より多くてもよいが、内臓脂肪の蓄積抑制作用の極端な上昇は見込めず、含有量の増加に比例してコスト高となる。

そして本実施形態のフタリド誘導体を飲食物全重量に対して0.1重量%~10重量%の範囲で添加することで、実用的な内臓脂肪の蓄積抑制作用を奏することができる。特に化学式(2)のフタリド誘導体は、飲食物全重量に対して0.1~1.0重量%の範囲で添加されることで、実用的な内臓脂肪の蓄積抑制作用を奏する([表1]を参照)。

【0017】

そして本実施形態のフタリド誘導体(内臓脂肪蓄積抑制剤)の食摂又は投与期間は特に限定しないが、典型的には2週間以上5週間未満で好適な内臓脂肪の蓄積抑制作用を奏する。特に化学式(2)のフタリド誘導体(内臓脂肪蓄積抑制剤)は、2週間程度の比較的短期間の食摂又は投与期間であっても、好適な内臓脂肪の蓄積抑制作用を奏することができる([表1]を参照)。

【0018】

10

20

30

40

50

(医 薬)

そして本実施形態のフタリド誘導体は、内臓脂肪蓄積抑制剤としての医薬又は医薬部外品として使用することができる。

例えば医薬として使用する場合、本実施形態のフタリド誘導体の配合量は、医薬の種類、製品形態などに応じて適宜選択される。典型的には、一回の摂取（投与）で10mg～1000mg摂取（投与）すればよく、好ましくは一回の摂取で50mg～200mg摂取（投与）する。

【0019】

そして本実施形態の医薬（薬剤）は、経口摂取や注射投与などの各種投与形態を適用することができる、その投与経路や投与部位は特に限定されない。

10

また本実施形態の医薬の製剤形態は、その使用目的に応じて適宜決定されるものであり、例えば、錠剤、顆粒剤、粉末剤、丸剤又はカプセル錠剤などの固剤や、液剤、懸濁剤又は乳剤などの液剤を例示することができる。なお製剤化に際しては、医薬の使用形態や製剤形態に応じて、充填剤、結合剤、増量剤、崩壊剤、表面活性剤、不湿剤、賦形剤及び希釈剤を担体として使用することができる。

【0020】

そして本実施形態のフタリド誘導体は、比較的分子量の化合物（MW190～260程度）であることから、高速液体クロマトグラフィ（HPLC）にて容易に定量することが可能である（図1を参照）。

なお従来技術の抗肥満に関する薬剤として、例えば天然由来のグルカン含有する錠剤（特開2007-332336号公報）が公知である。そしてこのグルカンは、1,3-β-D-グルカンと1,6-β-D-グルカンに大別されるが、いずれも単糖が重合した高分子（多糖類）であることから互いを区別することは困難である。このため、総グルカン量（1,3-β-D-グルカンと1,6-β-D-グルカンの総量）は酵素法などである程度測定することは出来るものの、実質的な有効成分と考えられている1,3-β-D-グルカン量のみを正確に測定できる技術は未だ開発されていない。

20

【0021】

[試 験 例]

以下、本実施の形態を試験例に基づいて説明するが、本発明は試験例に限定されるものではない。

30

(1) 実施例1のフタリド誘導体の製造方法（図1を参照）

実施例1として、上記化学式2で表わされるフタリド誘導体（Compound 3 : 5, 7 - dimethoxyphthalide）を下記（a）～（d）の手順により製造した。出発物質として、IUPAC名：Methyl 3, 5 - Dimethoxybenzoate（WAKO社製又はALD社製）を用いた。

【0022】

(a) 還元反応{中間体1（IUPAC名：Methyl 3, 5 - Dimethoxybenzylalcohol）の合成}

窒素雰囲気下、100g（509.68mmol）の出発物質を2L三口フラスコに秤量してテトラヒドロフラン（THF）1Lに溶解した。加熱還流した状態に、5時間かけて滴下口からメタノール200mlを加えた。反応は100ml 2M-HClで停止させ、水素の発生がなくなるまで攪拌した。その後、有機溶媒を留去して、酢酸エチルで抽出して、無水硫酸ナトリウムで乾燥、濃縮を経て中間体1を86.35g quantitatively得た。

40

【0023】

(b) 保護基導入反応{中間体2（IUPAC名：Methyl 3, 5 - Dimethoxybenzylacetate）の合成}

窒素雰囲気下、75.00g（445.92mmol）の中間体1を2L三口フラスコに秤量し、ピリジン200mlに溶解した。0℃に冷却し、滴下口から無水酢酸50.08g（490.52mmol）を滴下して、自然昇温しながら終夜で攪拌した。反応

50

溶液は、0 で1 L 2 M - H C l に投入し2時間攪拌した。得られた固体を吸引ろ過して濾取して、洗浄、乾燥を経て中間体2を92.55 g得た(収率98.7%)。

【0024】

(c)ホルミル化反応{中間体3(IUPAC名:Methyl 3,5-Dimethoxy-2-formylbenzylacetate)の合成}

窒素雰囲気下、ジメチルホルムアミド(DMF)73.99 g(1001 mmol)を500 ml L3口フラスコに秤量したのち-20 まで冷却した。滴下ロートからゆっくりと塩化ホスホリル(POCl_3)100.12 g(652.97 mmol)を反応温度が5 を決して超えないように加えた。そして滴下終了後、104.96 g(499.26 mmol)の中間体2を投入し室温まで自然昇温させた。スラリー状のまま室温で1時間攪拌しつつ、80 まで加熱して終夜攪拌した。DMF 20.0 g、 POCl_3 23.45 gより調製した溶液を反応系内に投入した。5 L 3角フラスコ内で調製した飽和NaOAc水溶液500 mlを-10 に冷却して、30 から40 の反応溶液をゆっくりと投入した。2時間激しく攪拌した後、吸引ろ過で固体を濾取したのち2 Lのイオン交換水で洗浄した。得られた固体を40 の真空乾燥機で3日間乾燥し、中間体3を101.03 g得た(収率84.9%)。

10

【0025】

(d)還元的縮合反応(実施例1のフタリド誘導体の合成)

窒素雰囲気下、76.13 g(256.96 mmol)の中間体3を2 L 3口フラスコに秤量し、1,4-ジオキサン300 mlに溶解した。70 に加熱して滴下ロートから、87.27 g(551.29 mmol)の過マンガン酸カリウム(KMnO_4)水溶液1.5 Lを加え終夜で攪拌した。反応温度を下げることなく反応溶液中に2 M - NaOH水溶液を加えアルカリ性にした後、50 以上で吸引ろ過をし、80 のイオン交換水で洗浄、70 のジオキサンで洗浄した。ろ液は再び加熱して、80 に保ち、濃硫酸を加えて酸性にして3時間攪拌した。得られた赤褐色固体を吸引ろ過で濾取して、イオン交換水で洗浄した。ケーキ状の固体をメタノールに溶解し、ゆっくりイオン交換水を加えて細かく分散したスラリー溶液を調製し、吸引ろ過で濾取したのち、洗浄、乾燥を経て実施例1のフタリド誘導体(Compound 3)を65.05 g得た(収率68.4%)。

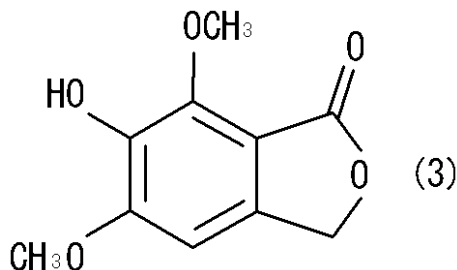
20

【0026】

(2)参考例1のフタリド誘導体の製造方法

参考例1として、下記化学式3で表わされるフタリド誘導体(Compound 2:IUPAC名:5,7-dimethoxy-6-hydroxy-1(3H)-isobenzofuranone)を、下記(a)~(d)の手順により製造した。出発物質として、シリングアルデヒド(Syringaldehyde、WAKO社製)を用いた。

【化3】



40

【0027】

(a)還元反応{中間体1(IUPAC名:3,5-Dimethoxy-4-hydroxybenzylalcohol)の合成}

窒素雰囲気下、50.00 g(274.47 mmol)の出発物質を2 L 3口フラスコに秤量し、メタノール1 Lに溶解した。0 で水素化ホウ素ナトリウム31.15 g(823.41 mmol)を投入し、室温まで自然昇温させて終夜で攪拌した。反応は100 ml 2 M - H C l で停止させ、水素の発生がなくなるまで攪拌した。その後、イオン交換

50

水を2 L加えスラリーを吸引る過で濾取、洗浄、乾燥を経て、中間体1を44.55 g得た(収率88%)。

【0028】

(b) 保護基導入反応{中間体2 (IUPAC名: 4-Acetoxy-3,5-dimethoxybenzyl acetate) の合成}

窒素雰囲気下、44.55 g (241.87 mmol) の中間体1を2 L三口フラスコに秤量し、ピリジン200 gに溶解した。0 に冷却し、滴下ロートから無水酢酸61.73 g (604.67 mmol) を滴下して、自然昇温しながら終夜で撹拌した。反応溶液は、0 で1 L 2 M-HClに投入し2時間撹拌した。得られた固体を吸引る過して濾取したのち、洗浄、乾燥して中間体2を58.02 g得た(収率81.0%)。

10

【0029】

(c) ホルミル化反応{中間体3 (IUPAC名: 4-Acetoxy-3,5-dimethoxy-6-formylbenzyl acetate) の合成}

窒素雰囲気下、1 L三口フラスコにDMF 49.66 gを秤量し、-20 まで冷却した。滴下ロートからゆっくりと塩化ホスホリル(POCl_3) 63.81 g (416.16 mmol) を反応温度が5 を決して超えないように加えた。滴下終了後、250 g (254.81 mmol) の中間体2を投入し室温まで自然昇温させた。スラリー状のまま室温で1時間撹拌しつつ、80 まで加熱して終夜撹拌した。DMF 20.0 g、 POCl_3 23.45 gより調製した溶液を反応系内に投入した。

5 L三角フラスコ内で調製した飽和NaOAc水溶液500 mlを-10 に冷却して、30 から40 の反応溶液をゆっくりと投入した。2時間激しく撹拌した後、吸引る過で固体を濾取したのち2 Lのイオン交換水で洗浄した。得られた固体は40 の真空乾燥機で3日間乾燥し、淡緑色の中間体3を76.13 g得た(収率80.8%)。

20

【0030】

(d) 還元的縮合反応(参考例1のフタリド誘導体の合成)

窒素雰囲気下、76.13 g (256.96 mmol) の中間体3を2 L三口フラスコに秤量し、1, 4-ジオキサン500 mlに溶解した。70 に加熱して滴下ロートから KMnO_4 52.88 g (334.05 mmol) の水溶液1.5 Lを加え終夜で撹拌した。反応温度を下げることなく反応溶液中に2 M-NaOH水溶液を加えアルカリ性にした後、50 以上で吸引る過をし、80 のイオン交換水で洗浄、70 のジオキサンで洗浄した。ろ液は再び加熱して、80 に保ち、濃硫酸を加えて酸性にして3時間撹拌した。得られた赤褐色固体を吸引る過で濾取して、イオン交換水で洗浄した。ケーキ状の固体をメタノールに溶解し、ゆっくりイオン交換水を加えて細かく分散したスラリー溶液を調製し、吸引る過で濾取したのち、洗浄、乾燥を経て参考例1のフタリド誘導体(Compound 2)を30.25 g得た(収率56.0%)。

30

【0031】

(3) 摂食試験

(実施例1)

市販のMS粉末(含5%ラード、オリエンタル酵母株式会社)を基礎飼料として用いた。そして基礎飼料中に実施例1のフタリド誘導体を0.1重量%の濃度で混入して実施例1に係るラットの飼料とした。

40

そして本試験では、4週令SD系雄性ラット(4匹)を1週間予備飼育したのち、実施例1の飼料を付与しつつ、 23 ± 2 条件下で2週間飼育した。そして2週間の飼育試験終了後、ラットの体重及び呼吸商($\text{RQ} = \text{VCO}_2 / \text{VO}_2$)を測定した。

そして各ラットを断頭したのち、その精巣と腎臓周辺の白色脂肪及び背中の褐色脂肪を採取した。血液は、後述するTotal RNA抽出及び成分分析用に分けて採取した。

【0032】

そして各ラットの「腎臓周辺の白色脂肪組織の重量割合(WATr/BW)」を、両側の副腎周囲の脂肪組織を綺麗に剥離し、この白色脂肪組織重量を測定後、ラット体重で割ることで算出した。

50

また「精巣周辺の白色脂肪組織の重量割合(WATt/BW)」を、精巣周囲の脂肪組織を綺麗に剥離し、この白色脂肪組織重量を測定後、ラット体重で割ることで算出した。

また「褐色脂肪組織の重量割合(BAT/BW)」を、背中周囲の褐色脂肪組織を綺麗に剥離し、この褐色脂肪組織重量を測定後、ラット体重で割ることで算出した。

【0033】

(参考例1)

基礎飼料中に参考例1のフタリド誘導体を0.1重量%の濃度で混入して、参考例1に係るラットの飼料とした。そして実施例1と同一の飼育条件のもと、参考例1に係るラット(4週令SD系雄性ラット4匹)を2週間飼育したのち、体重、WATr/BW及びWATt/BWを測定した。

10

【0034】

(比較例1)

上記基礎飼料を比較例1に係るラットの飼料とした。そして実施例1と同一の飼育条件のもと、比較例1に係るラット(4週令SD系雄性ラット4匹)を2週間飼育したのち、体重、呼吸商、WATr/BW、WATt/BW及びBAT/BWを測定した。

【0035】

(4)機能性成分の効能メカニズムの解析

(a)RNAサンプルの調整

常法に従って、ロッシュのTriPureIsolationKitを用いて、白色脂肪組織からTotalRNAを抽出した。TotalRNAは260/280比において、2以上のものを使用した。

20

【0036】

(b)アレイ解析

ラット(WholeRatGenome)4x44K DNAチップ(一枚のスライドに44,000遺伝子セットが4つのっているもの、アジレント社)を使用し、LowRNALinear Amp. Kitを用いて、TotalRNAへのCyanine-3(Cy3)及びCyanine-5(Cy5)のラベリングを行った。また一部は、TotalRNAの増幅を行った後に、本キット等を用いて、TotalRNAへのラベリングを行った。ラベリングの精製等を行い、単位ヌクレオチドあたりの色素の取込み率を一定にした。その後、常法に従ってGEHybridizationKitを用いて、60の条件下で24時間、Cy3とCy5による競合ハイブリダイゼーションを行った。常に、Cy3は対照群、Cy5は化合物投与群とした。

30

【0037】

(c)スキャンニングおよび解析

そして4x44Kアレイスライドは、ハイブリダイゼーション後、不要な色素を洗浄し、乾燥を行った。その後、マイクロアレイスキャナ(AgilentG2565BA)を使用し、遺伝子発現のデータの取込みを行った。データの取込み後、FeatureExtractionver.9.1(Agilent)を使用し、Cy5(化合物投与群)/Cy3(対象群)遺伝子発現比のLogスケールでの数値化を行った。数値化したものをエクセルにて、発現の増減を分類した。

40

【0038】

(5)試験結果及び考察

各種試験の結果を下記の表1に示す。

【表 1】

	体重(BW)	白色脂肪組織の重量割合		褐色脂肪組織の重量割合(BAT/BW)	呼吸商(RQ)
		腎臓周囲の白色脂肪組織(WATr/BW)	精巣周囲の白色脂肪組織(WAtt/BW)		
比較例1(Control)	216.7	0.24	0.64	0.223	0.89
実施例1(Compound 3)	209.1	0.103	0.440	0.250	0.940
参考例1(Compound 2)	209.8	0.135	0.663	-	-

【0039】

10

(a) 腎臓周囲の白色脂肪組織量の重量割合(WATr/BW)の測定結果

実施例1にかかるラットの腎臓周囲の白色脂肪組織量は、比較例1のラットと比較して有意に低いものであった(表1及び図2を参照)。このことから実施例1のフタリド誘導体(内臓脂肪蓄積抑制剤)によれば、摂取開始後約2週間(短期間の摂取)で、好適な内臓脂肪の蓄積抑制作用を奏することがわかった。

【0040】

(b) 精巣周囲の白色脂肪組織量の重量割合(WAtt/BW)の測定結果

実施例1にかかるラットの精巣周囲の白色脂肪組織量は、比較例1のラットと比較して有意に低いものであった(表1及び図3を参照)。このことから実施例1のフタリド誘導体(内臓脂肪蓄積抑制剤)によれば、短期間の摂取で、好適な内臓脂肪の蓄積抑制作用を

20

奏することがわかった。そして参考例1のラットには、精巣周囲の白色脂肪組織量の低下が見られなかったことから、この精巣周囲における白色脂肪の蓄積抑制作用が、実施例1のフタリド誘導体に特有の効果であることがわかった。

【0041】

そして上記(a)及び(b)の結果を総合すると、本実施例のフタリド誘導体によれば、短期間の摂取で、好適な内臓脂肪の蓄積抑制作用を奏することがわかった。このため実施例1のフタリド誘導体を有効成分とする内臓脂肪蓄積抑制剤によれば、メタボリックシンドローム等の生活習慣病の発症を好適に抑制可能であることがわかった。

そして実施例1のフタリド誘導体(一般式中、R1及びR2が共にメトキシ基を有する化学式(2)のフタリド誘導体)が上記作用を奏することがわかった。このことから、一般式中、R1及びR2が、それぞれ独立に比較的分子量のアルコキシ基を備える一般式(1)のフタリド誘導体であれば同様の効果を奏することが容易に推測される。

30

【0042】

(c) 褐色脂肪組織量の重量割合(BAT/BW)の測定結果

実施例1のラットの褐色脂肪組織量は、比較例1のラットと比較して増加する傾向にあった(表1及び図4を参照)。このことから実施例1のフタリド誘導体が、褐色脂肪組織量の増加により消費エネルギー量を増大させる(基礎代謝率を向上させる)ことによっても、好適な内臓脂肪の蓄積抑制作用を奏することが容易に推測される。

【0043】

40

(d) 呼吸商(RQ)の測定結果

実施例1のラットの呼吸商は、比較例1のラットと比較して増加する傾向にあった(表1及び図5を参照)。このことから実施例1のフタリド誘導体が、脂質代謝よりも優先的に糖代謝を高めることにより、体外へのエネルギー放散を効率的に促進することが示唆された。

【0044】

(e) 機能性成分の効能メカニズムの解析結果

実施例1のフタリド誘導体により、白色脂肪組織において、コントロールに対して3倍以上の遺伝子発現が見られたのはインスリンシグナル関連遺伝子(IRS1)であった。また実施例1のフタリド誘導体は、グルコーストランスポーター4(GLUT4)、ヘキ

50

ソキナーゼ1及びヘキソキナーゼ3 (Hexokinase 1、Hexokinase 3)、グルコキナーゼ (Glucokinase) の発現を誘導することがわかった。また実施例1のフタリド誘導体は、TCAサイクル (リンゴ酸デヒドロゲナーゼ) - 電子伝達系 (チトクロームb5及びチトクロームCオキシダーゼ) の発現を誘導することがわかった。そして実施例1のフタリド誘導体により糖新生系が抑制された。

このことから実施例1のフタリド誘導体が、インスリンシグナル経路を活性化し、血液中のグルコースを組織内に取込み、解糖系を活性化させることにより白色脂肪組織内での糖利用を促進させることが示唆された。そしてこの示唆は、上記呼吸商 (RQ) の測定結果からも支持されるものであった (表1及び図5を参照)。

また実施例1のフタリド誘導体が、酸化に関わるカルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ2の発現を誘導したことから、脂肪酸分解を促進し、エネルギーとして利用していることが示唆された。

【0045】

さらに実施例1のフタリド誘導体により、悪玉アデチポサイトカインであるレジスチン (Resistinlike alpha (Retnla)) の発現がコントロールよりも低下した。

ここで生体内における悪玉アデチポサイトカインの増加は、糖尿病や動脈硬化を誘発する一因であることが知られている。従って本実施例のフタリド誘導体によれば、好適な内臓脂肪の蓄積抑制作用を奏するとともに、糖尿病や動脈硬化などの各種疾患に対しても好適な効果を奏することが示唆される。

【0046】

本実施形態のフタリド誘導体又は内臓脂肪蓄積抑制剤は、上述した実施例に限定されるものではなく、その他各種の実施形態を取り得る。

(a) 本実施例では、専ら化学式(2)で示されるフタリド誘導体の合成方法を例示したが、一般式(1)に含まれる各種の化合物も、その出発物質を適宜選択することで、化学式(2)で示されるフタリド誘導体と同様の経路により合成することができる。

(b) また本実施例の内臓脂肪蓄積抑制剤には、ビタミン類、ミネラル類、ホルモン類、酸化防止剤、生理活性物質、甘み料、酸味料、香料、塩分又は糖類を、必要に応じて添加することができる。

(c) また本実施形態のフタリド誘導体 (内臓脂肪蓄積抑制剤) は、牛、豚及び鶏などの家畜の飼料に混合して使用することができる。

(d) また本実施形態では、化学的に合成したフタリド誘導体を使用したか、定法に従い植物から単離したフタリド誘導体を使用してもよい。

【図面の簡単な説明】

【0047】

【図1】フタリド誘導体の製造工程図である。

【図2】腎臓周囲の白色内臓脂肪量の測定結果を示す図である。

【図3】精巣周囲の白色内臓脂肪量の測定結果を示す図である。

【図4】褐色脂肪量の測定結果を示す図である。

【図5】呼吸商の測定結果を示す図である。

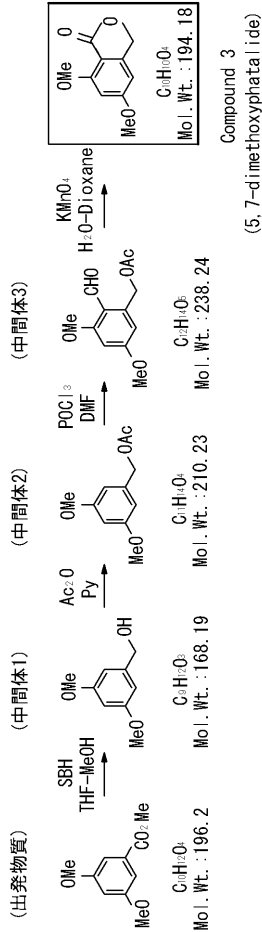
10

20

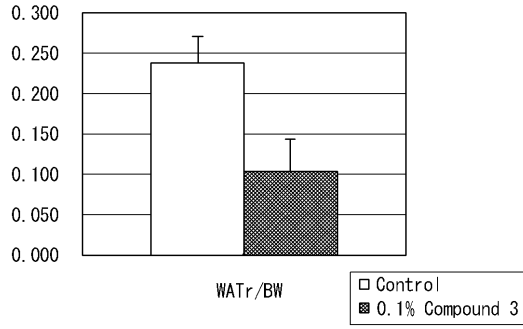
30

40

【 図 1 】

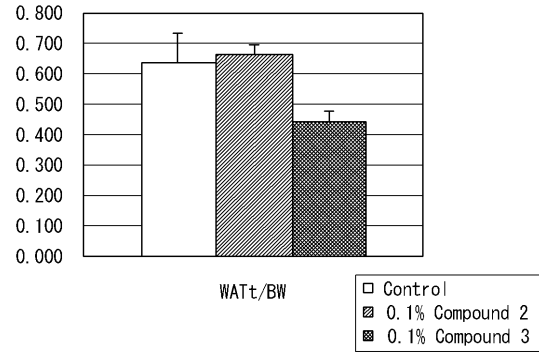


【 図 2 】



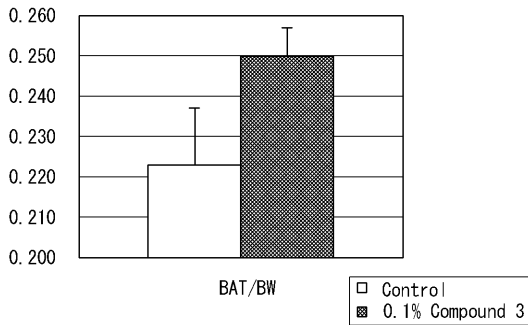
体重当たりの腎臓周囲の白色脂肪組織の重量割合 (WATr/BW) を示す図

【 図 3 】



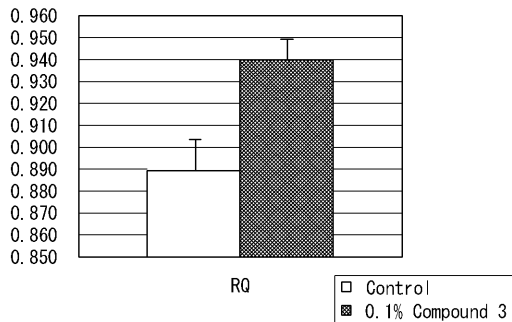
体重当たりの精巣周囲の白色脂肪組織の重量割合 (WATt/BW) を示す図

【 図 4 】



体重当たりの褐色脂肪組織の重量割合 (BAT/BW) を示す図

【 図 5 】



呼吸商 (RQ) を示す図

フロントページの続き

(56)参考文献 特開平04 - 077480 (JP, A)

特開2002 - 241276 (JP, A)

SHI, G.Q. et al, Design and Synthesis of α -Aryloxyphenylacetic Acid Derivatives: A Novel Class of PPAR γ / α Dual Agonists with Potent Antihyperglycemic and Lipid Modulating Activity, Journal of Medicinal Chemistry, 2005年, Vol.48, No.13, pp.4457-4468

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C07D307/00 - 307/94

A61K 31/33 - 33/44

A61P 1/00 - 43/00

A23L 1/27 - 1/308

CAPLUS/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)

JSTPLUS/JMEDPLUS/JST7580(JDreamIII)