

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2008年11月13日 (13.11.2008)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2008/136173 A1

(51) 国際特許分類:

A61K 31/05 (2006.01) A61P 3/04 (2006.01)
A23K 1/16 (2006.01) A61P 43/00 (2006.01)
A23L 1/307 (2006.01)

世田谷 2-26-21-701 Tokyo (JP). 長谷部未
来 (HASEBE, Miki) [JP/JP]; 〒1120012 東京都文京区
大塚 4-40-9 Tokyo (JP).

(21) 国際出願番号: PCT/JP2008/000741

(74) 代理人: 廣田雅紀 (HIROTA, Masanori); 〒1070052
東京都港区赤坂二丁目 8 番 5 号若林ビル 3 階 Tokyo
(JP).

(22) 国際出願日: 2008年3月26日 (26.03.2008)

(81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が
可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG,
BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE,
DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH,
GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KH,
KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA,
MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI,
NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE,
SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA,
UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願2007-112428 2007年4月20日 (20.04.2007) JP

(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可
能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD,
SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY,
KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG,
CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU,
IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE,
SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ,
GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 国立大
学法人お茶の水女子大学 (OCHANOMIZU UNIVER-
SITY) [JP/JP]; 〒1128610 東京都文京区大塚 2-1-
1 Tokyo (JP).

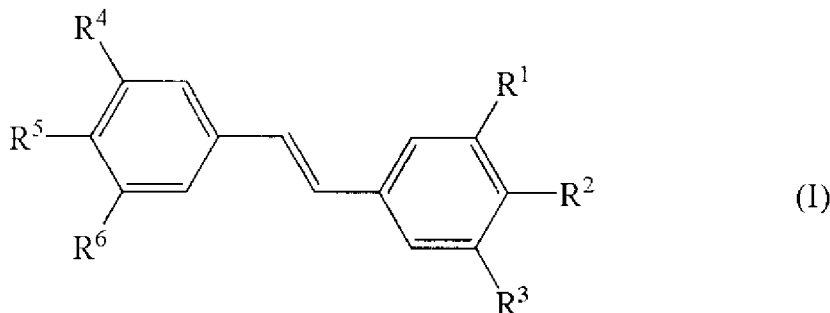
(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 藤原葉子
(FUJIWARA, Yoko) [JP/JP]; 〒1128610 東京都文京区
大塚 2-1-1 お茶の水女子大学 大学院人間文化
創成科学研究科内 Tokyo (JP). 福原潔 (FUKUHARA,
Kiyoshi) [JP/JP]; 〒1440045 東京都大田区南六郷 3-
23-1-1001 Tokyo (JP). 松岡厚子 (MAT-
SUOKA, Atsuko) [JP/JP]; 〒1540017 東京都世田谷区

添付公開書類:
— 国際調査報告書

(54) Title: ADIPOCYTE DIFFERENTIATION INHIBITOR CONTAINING STILBENE DERIVATIVE AS ACTIVE INGREDI-
ENT

(54) 発明の名称: スチルベン誘導体を有効成分とする脂肪細胞分化抑制剤



(57) Abstract: It is intended to provide an extremely excellent adipocyte differentiation inhibitor, anti-obesity agent, abnormal glucose tolerance-improving agent, adiponectin production promoter, anti-obesity food, anti-obesity food additive and anti-obesity feed. A stilbene derivative represented by the following general formula (I) is used. (In the formula, R¹ to R⁶ independently represent hydrogen or a hydroxy group, with the proviso that the case where R², R⁴ and R⁶ are a hydroxy group and R¹, R³ and R⁵ are hydrogen is excluded.)

(57) 要約: 本発明は、極めて優れた脂肪細胞分化抑制剤、抗肥満薬、耐糖能異常改善剤、アディポネクチン産生促進剤、抗肥満用食品、抗肥満用食品添加剤、及び抗肥満用飼料を提供することを目的とする。下記一般式 (I) で示されるスチルベン誘導体を用いる。(式中、R¹ ~ R⁶ は、それぞれ独立して水素又はヒドロキシ基を表す。但し、R²、R⁴ 及び R⁶ がヒドロキシ基であり、かつ R¹、R³ 及び R⁵ が水素である場合を除く。)

WO 2008/136173 A1

明 細 書

スチルベン誘導体を有効成分とする脂肪細胞分化抑制剤

技術分野

- [0001] 本発明は、特定のスチルベン誘導体を有効成分とする脂肪細胞分化抑制剤、抗肥満剤、耐糖能異常改善剤、及びアディポネクチン産生促進剤、並びに、特定のスチルベン誘導体を含有する食品、食品添加剤、及び飼料（以下、「本発明の脂肪細胞分化抑制剤等」ともいう。）に関する。

背景技術

- [0002] 近年、脂肪細胞はこれまでの単純な脂肪をエネルギーとして蓄積するだけの器官ではなく、様々なアディポサイトカインを分泌する分泌細胞として認識されるようになってきた（図1）。肥大した脂肪細胞からは飽食シグナルであるレプチンだけでなく、血栓形成に関わるPAI-1、インスリン抵抗性を増加させるTNF- α やインスリン抵抗性を示すレジスチンなどが分泌されることから、肥満に関連する生活習慣病の発症メカニズムが明らかになってきた。また、現在非常に問題となっている糖尿病や高血圧、動脈硬化などを併発するメタボリックシンドロームの予防と治療には、肥満による脂肪の蓄積を減らすことが重要である。

- [0003] 一方、レスベラトロールすなわち3, 5, 4'-トリヒドロキシスチルベンは、種々のトリヒドロ及びテトラヒドロキシスチルベンを含むスチルベンフィトアレキシン群に属する。レスベラトロールは、赤ブドウに最も多く存在し、好ましい薬理学的効果を持つ物質として知られる。

例えば、特許文献1には、スチルベン系フィトアレキシンを含む組成物を、風邪及びインフルエンザ様疾患に関連した症状の予防薬及び治療薬や、呼吸障害に関連したうっ血の予防薬および治療薬等に用いることが記載されている。また、特許文献2には、心血管系障害、末梢血管疾患及び糖尿病性末梢ニューロパチーの効果的な予防及び処置に適する医薬組成物として、L-カルニチン、低級アルカノイル L-カルニチン又はその薬理学的に許容される

塩とレスベラトロール、レスベラトロール誘導体又はレスベラトロール含有天然生成物との共作動的治療使用のための医薬組成物が記載されている。さらに、特許文献3には、ステルベン化合物又はその医薬的に許容し得る塩を、糖尿病又はレトロウイルス関連疾患の予防及び治療用医薬の製造に使用することが記載されている。

[0004] また、非特許文献1には、レスベラトロール (resveratrol) が、カロリー制限に関わる脱アセチル化酵素 (S i r t 1) を活性化することによって、脂肪細胞の分化誘導に関与するPPAR- γ (peroxisome proliferator-activated receptor-gamma) の機能を抑制し、脂肪細胞の蓄積を妨げることが示唆されている。しかしながら一方では、レスベラトロールを含む数種のステルベン誘導体は、濃度依存的に細胞毒性を持つことも明らかになっている (非特許文献2)。

[0005] さらに、特許文献4には、フラボン、イソフラボン、ステルベン又はこれらの誘導体 (レスベラトロール等を含む) 等の化合物が、S I R T 1 (S i r t 1) を活性化すること、及び、S I R T 1 を介して体重増加を防止したり糖尿病を改善する可能性があることが開示されている。しかし、特許文献4においては、哺乳動物を用いたインビボの実験は行われておらず、前述の化合物がインビボにおいて実際に体重増加を抑制するかどうかや、血糖値の改善効果を有しているかについては不明であった。さらに、特許文献4には、本発明のステルベン誘導体の一部が開示されているものの、そのS I R T 1 活性はレスベラトロールよりも低く、その有用性はあまり期待できないと考えられていた。

[0006] 特許文献1：特表2003-505500号公報

特許文献2：特開平9-165331号公報

特許文献3：特表2004-537561号公報

特許文献4：米国2006/0276416号公開公報

非特許文献1：Nature 429, 771-776, 2004

非特許文献2：Foods Food Ingredients J. Jpn. No.200 (2002), 15-16

発明の開示

発明が解決しようとする課題

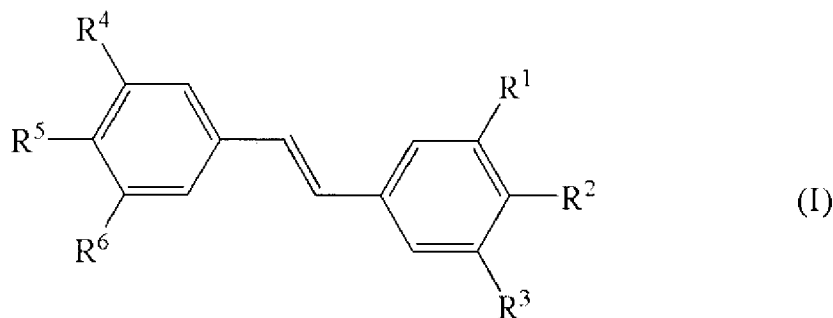
[0007] 本発明の課題は、極めて優れた脂肪細胞分化抑制剤、抗肥満剤、耐糖能異常改善剤、アディポネクチン産生促進剤、抗肥満用等の食品、抗肥満用等の食品添加剤、及び抗肥満用等の飼料を提供することにある。

課題を解決するための手段

[0008] 本発明者らは、レスベラトロール以外の様々なスチルベン誘導体を検索した結果、非常に意外なことに、3-トランス-ヒドロキシスチルベン等の特定のスチルベン誘導体が、レスベラトロールよりも優れた脂肪細胞分化抑制効果、抗肥満効果、耐糖能異常改善効果、アディポネクチン産生促進効果を奏することを見出し、本発明を完成するに至った。

[0009] すなわち本発明は、(1) 下記一般式 (I) で示されるスチルベン誘導体を有効成分とする脂肪細胞分化抑制剤

[0010] [化1]

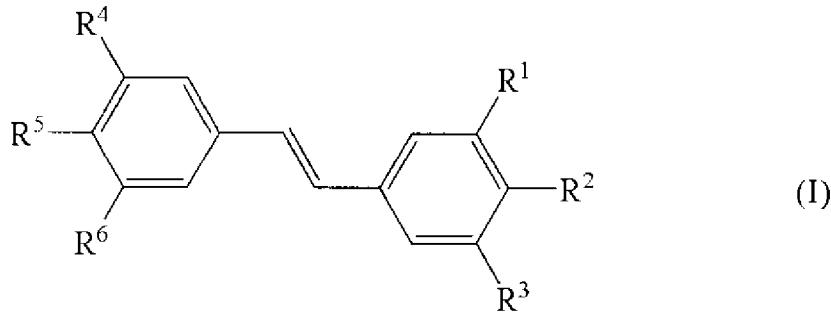


[0011] (式中、 $R^1 \sim R^6$ は、それぞれ独立して水素又はヒドロキシ基を表す。但し、 R^2 、 R^4 及び R^6 がヒドロキシ基であり、かつ R^1 、 R^3 及び R^5 が水素である場合を除く。) や、(2) スチルベン誘導体がイソレスベラトロール、3, 5-トランス-ジヒドロキシスチルベン、3, 4'-トランス-ジヒドロキシスチルベン、3, 3'-トランス-ジヒドロキシスチルベン、3-トランス-ヒドロキシスチルベン、又は4-トランス-ヒドロキシスチルベンであることを特徴とする上記(1)に記載の脂肪細胞分化抑制剤に関する。

[0012] また本発明は、(3) 下記一般式 (I) で示されるスチルベン誘導体を有

効成分とする抗肥満剤

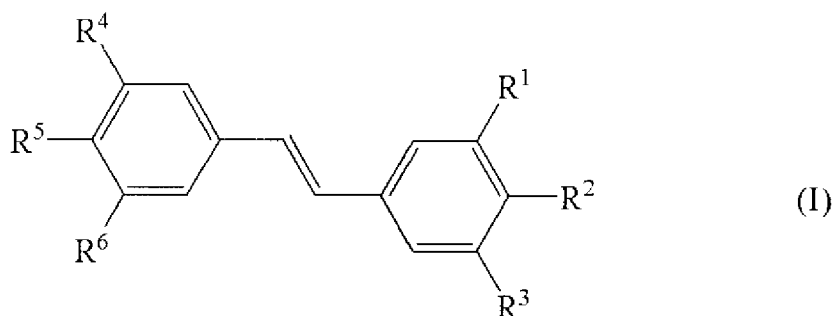
[0013] [化2]



[0014] (式中、R¹~R⁶は、それぞれ独立して水素又はヒドロキシ基を表す。但し、R²、R⁴及びR⁶がヒドロキシ基であり、かつR¹、R³及びR⁵が水素である場合を除く。)や、(4) スチルベン誘導体がイソレスベラトロール、3, 5-トランス-ジヒドロキシスチルベン、3, 4'-トランス-ジヒドロキシスチルベン、3, 3'-トランス-ジヒドロキシスチルベン、3-トランス-ヒドロキシスチルベン、又は4-トランス-ヒドロキシスチルベンであることを特徴とする上記(3)に記載の抗肥満剤に関する。

[0015] さらに本発明は、(5) 下記一般式(I)で示されるスチルベン誘導体含有し、かつ、脂肪細胞分化抑制機能、抗肥満機能、耐糖能異常改善機能から選ばれる少なくとも1つ以上の機能を有する食品

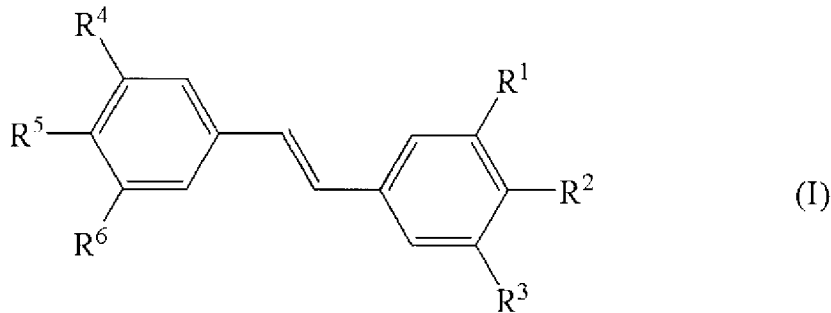
[0016] [化3]



[0017] (式中、R¹~R⁶は、それぞれ独立して水素又はヒドロキシ基を表す。但し、R²、R⁴及びR⁶がヒドロキシ基であり、かつR¹、R³及びR⁵が水素である場合を除く。)や、(6) 下記一般式(I)で示されるスチルベン誘導体

が添加され、かつ、脂肪細胞分化抑制機能、抗肥満機能、耐糖能異常改善機能から選ばれる少なくとも1つ以上の機能を有する食品

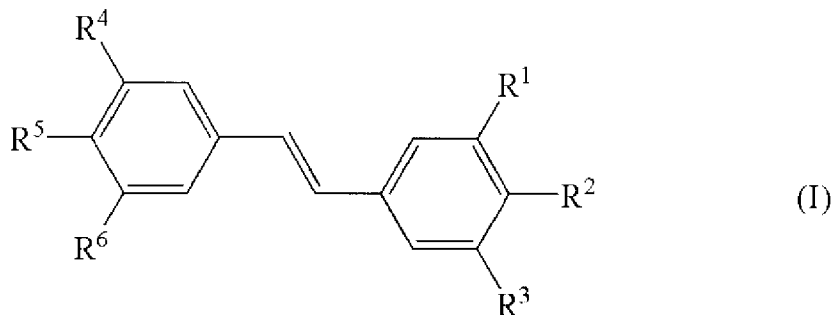
[0018] [化4]



[0019] (式中、 $R^1 \sim R^6$ は、それぞれ独立して水素又はヒドロキシ基を表す。但し、 R^2 、 R^4 及び R^6 がヒドロキシ基であり、かつ R^1 、 R^3 及び R^5 が水素である場合を除く。) や、(7) スチルベン誘導体がイソレスベラトロール、3, 5-トランス-ジヒドロキシスチルベン、3, 4'-トランス-ジヒドロキシスチルベン、3, 3'-トランス-ジヒドロキシスチルベン、3-トランス-ヒドロキシスチルベン、又は4-トランス-ヒドロキシスチルベンであることを特徴とする上記(5)又は(6)に記載の食品に関する。

[0020] またさらに本発明は、(8) 下記一般式(I)で示されるスチルベン誘導体含有し、かつ、脂肪細胞分化抑制機能、抗肥満機能、耐糖能異常改善機能から選ばれる少なくとも1つ以上の機能を有する食品添加剤

[0021] [化5]

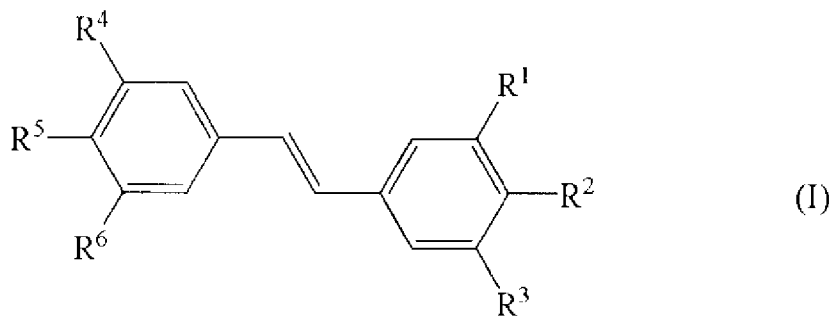


[0022] (式中、 $R^1 \sim R^6$ は、それぞれ独立して水素又はヒドロキシ基を表す。但し、 R^2 、 R^4 及び R^6 がヒドロキシ基であり、かつ R^1 、 R^3 及び R^5 が水素であ

る場合を除く。) や、(9) スチルベン誘導体がイソレスベラトロール、3, 5-トランス-ジヒドロキシスチルベン、3, 4'-トランス-ジヒドロキシスチルベン、3, 3'-トランス-ジヒドロキシスチルベン、3-トランス-ヒドロキシスチルベン、又は4-トランス-ヒドロキシスチルベンであることを特徴とする上記(8)に記載の食品添加剤に関する。

[0023] さらにまた本発明は、(10) 下記一般式(I)で示されるスチルベン誘導体を有効成分として含有し、かつ脂肪細胞分化抑制機能、抗肥満機能、耐糖能異常改善機能から選ばれる少なくとも1つ以上の機能を有する飼料

[0024] [化6]

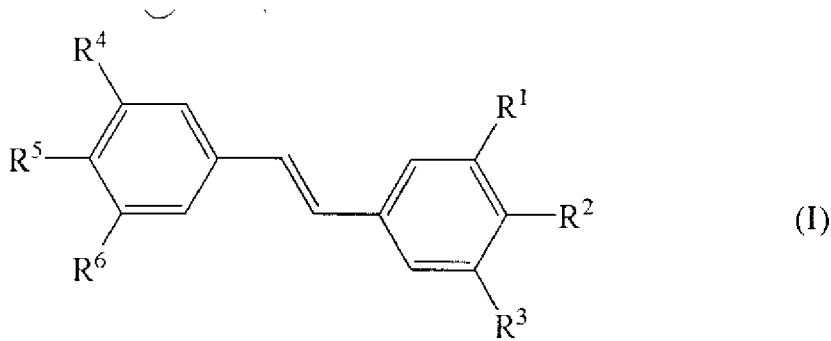


[0025] (式中、 $R^1 \sim R^6$ は、それぞれ独立して水素又はヒドロキシ基を表す。但し、 R^2 、 R^4 及び R^6 がヒドロキシ基であり、かつ R^1 、 R^3 及び R^5 が水素である場合を除く。) や、(11) スチルベン誘導体がイソレスベラトロール、3, 5-トランス-ジヒドロキシスチルベン、3, 4'-トランス-ジヒドロキシスチルベン、3, 3'-トランス-ジヒドロキシスチルベン、3-トランス-ヒドロキシスチルベン、又は4-トランス-ヒドロキシスチルベンであることを特徴とする上記(10)に記載の飼料に関する。

[0026] またさらに本発明は、(12) 下記一般式(I)で示されるスチルベン誘導体を有効成分とする耐糖能異常改善剤

[0027]

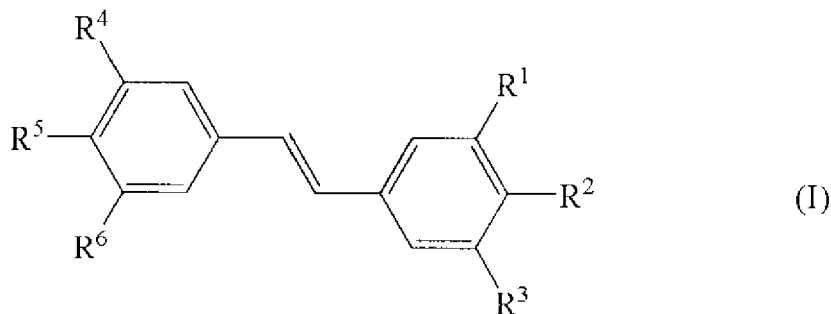
[化7]



[0028] (式中、 $R^1 \sim R^6$ は、それぞれ独立して水素又はヒドロキシ基を表す。但し、 R^2 、 R^4 及び R^6 がヒドロキシ基であり、かつ R^1 、 R^3 及び R^5 が水素である場合を除く。)や、(13) スチルベン誘導体がイソレスベラトロール、3, 5-トランス-ジヒドロキシスチルベン、3, 4'-トランス-ジヒドロキシスチルベン、3, 3'-トランス-ジヒドロキシスチルベン、3-トランス-ヒドロキシスチルベン、又は4-トランス-ヒドロキシスチルベンであることを特徴とする上記(12)に記載の耐糖能異常改善剤に関する。

[0029] また、本発明は(14) 下記一般式(I)で示されるスチルベン誘導体を有効成分とするアディポネクチン産生促進剤

[0030] [化8]



[0031] (式中、 $R^1 \sim R^6$ は、それぞれ独立して水素又はヒドロキシ基を表す。但し、 R^2 、 R^4 及び R^6 がヒドロキシ基であり、かつ R^1 、 R^3 及び R^5 が水素である場合を除く。)に関する。

[0032] なお、本発明における「耐糖能異常」とは、哺乳動物(好ましくはヒト、サル、マウス、ラット、モルモット、ハムスター、ウサギ、ネコ、イヌ、ヤ

ギ、ウシ、ウマ)における、糖代謝に関して正常ではない病態をすべて包含するものである。ヒトの耐糖能異常として例えば、日本糖尿病学会の判定基準(糖尿病42(5):385~404, 1999参照。)である、血糖値が空腹時値110 mg/dl以上、又は75g糖負荷試験(OGTT)2時間値140 mg/dl以上の病態を例示することができ、この中には、1型糖尿病、2型糖尿病、妊娠糖尿病等の糖尿病;インスリン抵抗性;肝疾患や内分泌疾患に伴う糖代謝異常;等の各種疾患が含まれる。

図面の簡単な説明

[0033] [図1]脂肪細胞から分泌されるアディポサイトカインとその作用を示す図である。

[図2]4-トランス-ヒドロキシスチルベンの各濃度における脂肪細胞分化マーカー(C/EBP α 、PPAR γ 、LPL、レジスチン)遺伝子発現の抑制作用を示す図である。

[図3]レスベラトロール及び本件スチルベン誘導体(6種類)の構造を示す図である。なお、3,5,4'-trihydroxy-trans-stilbeneは3,5,4'-トランス-トリヒドロキシスチルベンであり、3,5,3'-trihydroxy-trans-stilbeneは3,5,3'-トランス-トリヒドロキシスチルベンであり、3,5-dihydroxy-trans-stilbeneは3,5-トランス-ジヒドロキシスチルベンであり、3,4'-dihydroxy-trans-stilbeneは3,4'-トランス-ジヒドロキシスチルベンであり、3,3'-dihydroxy-trans-stilbeneは3,3'-トランス-ジヒドロキシスチルベンであり、3-hydroxy-trans-stilbeneは3-トランス-ヒドロキシスチルベンであり、4-hydroxy-trans-stilbeneは4-トランス-ヒドロキシスチルベンである。

[図4]6種の本件スチルベン誘導体(終濃度0.5 μ M)の脂肪細胞分化マーカー(レジスチン)遺伝子発現の抑制作用を示す図である。

[図5]6種の本件スチルベン誘導体(終濃度0.5 μ M)の脂肪細胞分化マーカー(PPAR γ)遺伝子発現の抑制作用を示す図である。

[図6]レスベラトロール(1 μ M)、3-トランス-ヒドロキシスチルベン(

0.1、0.5、1.0 μM ）、及び4-トランス-ヒドロキシステルベン（0.1、0.5、1.0 μM ）の、脂肪細胞分化マーカー（レジスチン）遺伝子発現の抑制作用を示す図である。

[図7]レスベラトロール（1 μM ）、3-トランス-ヒドロキシステルベン（0.1、0.5、1.0 μM ）、及び4-トランス-ヒドロキシステルベン（0.1、0.5、1.0 μM ）の、脂肪細胞分化マーカー（PPAR γ ）遺伝子発現の抑制作用を示す図である。

[図8]摂食試験における、マウスの日々の餌の摂取カロリーの推移を示す図である。

[図9]摂食試験における、マウスの体重の経時的変化を示す図である。

[図10]摂食試験後のマウスの各組織の重量を示す図である。

[図11]摂食試験開始から5週目のマウスについて行った経口ブドウ糖負荷試験（OGTT）の結果を示す図である。

[図12]摂食試験開始から5週目のマウスについて行ったインスリン負荷試験（ITT）の結果を示す図である。

[図13]摂食試験開始から6週目のマウスについて行った、骨格筋の糖取り込みアッセイの結果を示す図である。

[図14]摂食試験後のマウスの脂肪組織におけるアディポサイトカイン遺伝子（PPAR γ 、アディポネクチン、レプチン）発現を示す図である。

発明を実施するための最良の形態

[0034] 本発明の脂肪細胞分化抑制剤や抗肥満剤や耐糖能異常改善剤やアディポネクチン産生促進剤としては、一般式（I）で示されるステルベン誘導体（以下、「本件ステルベン誘導体」ともいう）を有効成分とするものであれば特に制限されない。また、本発明の食品（サプリメント形態を含む）や飼料としては、一般式（I）で示されるステルベン誘導体を含有しているか、又は添加され、かつ脂肪細胞分化抑制機能、抗肥満機能、耐糖能異常改善機能、アディポネクチン産生促進機能から選ばれる少なくとも1つ以上の機能を有するものであれば特に制限されない。さらに、本発明の食品添加剤としては

、一般式（I）で示されるステルベン誘導体を含むし、かつ脂肪細胞分化抑制機能、抗肥満機能、耐糖能異常改善機能、アディポネクチン産生促進機能から選ばれる少なくとも1つ以上の機能を有しているものであれば特に制限されない。また、一般式（I）で示されるステルベン誘導体を、脂肪細胞分化抑制剤、抗肥満剤、耐糖能異常改善剤及び／又はアディポネクチン産生促進剤として使用する方法としては、本件ステルベン誘導体を、脂肪細胞分化抑制剤、抗肥満剤耐糖能異常改善剤及び／又はアディポネクチン産生促進剤として使用する方法であれば特に制限されない。

[0035] 本発明に用いるステルベン誘導体としては、一般式（I）で示されるステルベン誘導体であれば特に制限されないが、脂肪細胞分化抑制効果や抗肥満効果や耐糖能異常改善効果やアディポネクチン産生促進効果の観点からは、一般式（I）において R^1 、 R^2 及び R^3 が水素であるステルベン誘導体や、一般式（I）において R^2 がヒドロキシ基であり、 R^1 及び R^3 が水素であるステルベン誘導体や、一般式（I）において R^3 がヒドロキシ基であり、 R^1 及び R^2 が水素であるステルベン誘導体や、一般式（I）において R^4 、 R^5 及び R^6 が水素であるステルベン誘導体や、一般式（I）において R^4 がヒドロキシ基であり、 R^5 及び R^6 が水素であるステルベン誘導体や、一般式（I）において R^4 及び R^6 がヒドロキシ基であり、 R^5 が水素であるステルベン誘導体であることが好ましく、一般式（I）における R^1 ～ R^3 が前述の好ましく挙げられた基の組み合わせのいずれかであり、かつ、 R^4 ～ R^6 が前述の好ましく挙げられた基の組み合わせのいずれかであるステルベン誘導体であることがより好ましく、中でもイソレスベラトロール（一般式（I）において R^3 、 R^4 及び R^6 がヒドロキシ基であり、 R^1 、 R^2 及び R^5 が水素である化合物）、3, 5-トランスジヒドロキシステルベン（一般式（I）において R^4 及び R^6 がヒドロキシ基であり、 R^1 、 R^2 、 R^3 及び R^5 が水素である化合物）、3, 4'-トランスジヒドロキシステルベン（一般式（I）において R^2 及び R^4 がヒドロキシ基であり、 R^1 、 R^3 、 R^5 及び R^6 が水素である化合物）、3, 3'-トランスジヒドロキシステルベン（一般式（I）において R^3 及び

R⁴がヒドロキシ基であり、R¹、R²、R⁵及びR⁶が水素である化合物)、3-トランス-ヒドロキシステルベン(一般式(I)においてR⁴がヒドロキシ基であり、R¹、R²、R³、R⁵及びR⁶が水素である化合物)、4-トランス-ヒドロキシステルベン(一般式(I)においてR²がヒドロキシ基であり、R¹、R³、R⁴、R⁵及びR⁶が水素である化合物)がさらに好ましく、イソレーセラトロール、3,5-トランス-ジヒドロキシステルベン、3,4'-トランス-ジヒドロキシステルベン、3,3'-トランス-ジヒドロキシステルベン、3-トランス-ヒドロキシステルベンがさらにより好ましく、3,5-トランス-ジヒドロキシステルベン、3-トランス-ヒドロキシステルベンがよりさらに好ましく、3-トランス-ヒドロキシステルベンが最も好ましい。

[0036] なお、細胞毒性がより低い点で、一般式(I)においてR²やR⁵がヒドロキシ基ではなく、水素であるステルベン誘導体が好ましく、さらに、一般式(I)においてR¹~R⁶のうち、R³がヒドロキシ基であり、他のRが水素であるステルベン誘導体や、R⁶とR⁴がヒドロキシ基であり、他のRが水素であるステルベン誘導体や、R⁴とR³がヒドロキシ基であり、他のRが水素であるステルベン誘導体や、R⁶とR³がヒドロキシ基であり、他のRが水素であるステルベン誘導体や、R⁶とR⁴とR³がヒドロキシ基であり、他のRが水素であるステルベン誘導体がより好ましく、より具体的には、イソレーセラトロール、3,5-トランス-ジヒドロキシステルベン、3,3'-トランス-ジヒドロキシステルベン、3-トランス-ヒドロキシステルベンがさらに好ましい。一般式(I)においてR²がヒドロキシ基である化合物より、R²が水素であるステルベン誘導体の方が、低毒性であることは、Foods Food Ingredients J. Jpn. No. 200 (2002), 15-16 (前述の非特許文献2)等に記載されている。また、一般式(I)においてR¹~R⁶のうち、R³がヒドロキシ基であり、他のRが水素であるステルベン誘導体や、R⁶とR⁴がヒドロキシ基であり、他のRが水素であるステルベン誘導体や、R⁴とR³がヒドロキシ基であり、他のRが水素であるステルベン誘導体や、R⁶とR³がヒドロキ

シ基であり、他のRが水素であるスチルベン誘導体や、R⁶とR⁴とR³がヒドロキシ基であり、他のRが水素であるスチルベン誘導体は、脂肪細胞分化抑制効果や抗肥満効果や耐糖能異常改善効果やアディポネクチン産生促進効果の点でも優れているため好ましい。

[0037] 本件スチルベン誘導体の脂肪細胞分化抑制効果や抗肥満効果や耐糖能異常改善効果やアディポネクチン産生促進効果は、後述の実施例に記載されたアッセイ等により、脂肪細胞の分化マーカー遺伝子やアディポサイトカイン遺伝子の発現量を調べることにより、容易に確認することができる。

[0038] 本件スチルベン誘導体の脂肪細胞分化抑制効果や抗肥満効果や耐糖能異常改善効果やアディポネクチン産生促進効果の程度は特に制限されないが、脂肪細胞分化抑制効果や抗肥満効果について例示すると、分化誘導培地中の終濃度2.5 μMにて後述の実施例1に記載されたのと同様のアッセイを行った場合に、脂肪細胞の分化マーカー遺伝子であるC/EBPα遺伝子、PPARγ遺伝子、LPL遺伝子、レジスチン遺伝子のいずれか1つ又は2つ以上の遺伝子のmRNA発現量が、レスベラトロール（分化誘導培地中の終濃度2.5 μM）のmRNA発現量に対して、好ましくは80%以下であり、より好ましくは70%以下であり、さらに好ましくは60%以下であり、さらにより好ましくは50%以下であり、また、本件スチルベン誘導体を0.4質量%含有する高脂肪食（高脂肪食St）及びレスベラトロールを0.4質量%含有する高脂肪食（高脂肪食Res）を用いて後述の実施例3の図9の実験と同様の実験を行い、高脂肪食Stと高脂肪食Resの摂食量が同等である場合に、高脂肪食Stを摂取させた6weekにおけるマウスの体重が、高脂肪食Resを摂取させた場合に比べて好ましくは90%以下であり、より好ましくは86%以下であり、また、高脂肪食Stを摂取させた6weekにおけるマウスの白色脂肪組織の質量が高脂肪食Resを摂取させた場合に比べて好ましくは70%以下であり、より好ましくは60%以下であり、さらに好ましくは50%以下である。また、耐糖能異常改善効果について例示すると、後述の実施例3と同様のOGTTにおいて、高脂肪食Stを

摂食させた5 weekにおけるマウスの30分後の血糖値が高脂肪食Resを摂食させた場合のそれと比較して85%以下であり、より好ましくは80%以下であり、さらに好ましくは75%以下であり、また、後述の実施例3と同様のITTにおいて、高脂肪食Stを摂食させた5 weekにおけるマウスの90分後の血糖値が高脂肪食Resを摂食させた場合のそれと比較して好ましくは90%以下であり、より好ましくは85%以下である。また、アディポネクチン産生促進効果について例示すると、後述の実施例4と同様のアッセイを行った場合に、アディポネクチン遺伝子のmRNA発現量が、高脂肪食Res（高脂肪食RSV）を与えたマウスのmRNA発現量に対して好ましくは105%以上、より好ましくは110%以上である。

[0039] 本発明においては、本件ステルベン誘導体を1種単独で用いてもよいし、2種以上を併用してもよい。また、本発明の脂肪細胞分化抑制剤等には、本件ステルベン誘導体の含有物を用いてもよい。

[0040] 上記本件ステルベン誘導体の製造方法は、特に制限されず、例えばレスベラトロール（一般式（I）において R^2 、 R^4 及び R^6 がヒドロキシ基であり、 R^1 、 R^3 及び R^5 が水素である化合物）を原料化合物とするなどして、公知の方法により化学的に合成して得ることができる。また、市販品を利用することもできる。

[0041] 本件ステルベン誘導体は、生物の脂肪組織に蓄積し、脂肪細胞中の分化特異的遺伝子（例えば、C/EBP α 、PPAR γ 、LPL、レジスチン）の発現を抑制することによって、前駆脂肪細胞から脂肪細胞への分化を抑制し、何らかのメカニズムにより、抗肥満活性を奏する。このように、本件ステルベン誘導体は、生体中における脂肪細胞の増加を抑制するため、脂肪細胞が分泌するある種のアディポサイトカインの量も減少すると共に、ある種のアディポサイトカイン（特にアディポネクチン）の量が増加し、その結果、何らかのメカニズムにより、糖尿病やインスリン抵抗性等の耐糖能異常に対する改善作用を有すると考えられる。また、同様の作用機作により、抗動脈硬化作用、抗血圧上昇作用を有することも強く期待される。したがって、本

件スチルベン誘導体は、糖尿病の予防・治療剤等の耐糖能異常の改善剤としてだけでなく、抗動脈硬化剤（動脈硬化予防・治療剤）、抗血圧上昇剤（高血圧症予防・治療剤）としても用い得る可能性が高い。アディポネクチン産生促進によって、インスリン抵抗性等の耐糖能異常改善作用や抗動脈硬化作用が得られることは、例えばJ Biol. Chem. 277, 29, 25863-25866 (2002) やCirculation. 106, 2767-2770 (2002)にも開示されている。

[0042] 本発明の脂肪細胞分化抑制剤、抗肥満剤、耐糖能異常改善剤、アディポネクチン産生促進剤、食品、食品添加剤や飼料中の本件スチルベン誘導体の含有量としては、特に制限されず、これらの剤や食品や飼料の摂取量と、後述の好ましい投与量とを併せて考慮することにより適宜調節することができるが、脂肪細胞分化抑制剤や抗肥満剤やアディポネクチン産生促進剤や食品添加剤の場合、全量に対して75質量%以上とすることが好ましく、90質量%以上とすることがより好ましく、95質量%以上とすることがさらに好ましく、99.5質量%とすることがよりさらに好ましく、食品や飼料の場合、全量に対して5質量%以上とすることが好ましく、10質量%以上とすることがより好ましく、20質量%以上とすることがさらに好ましく、30質量%以上とすることがさらに好ましい。

[0043] 本発明の脂肪細胞分化抑制剤、抗肥満剤、耐糖能異常改善剤、アディポネクチン産生促進剤、食品、食品添加剤や飼料は、本件スチルベン誘導体のみを含有していてもよいし、本発明の効果を損なわない限り、他の脂肪細胞分化抑制剤や他の抗肥満剤、耐糖能異常改善剤、アディポネクチン産生促進剤など、他の任意成分を含有していてもよい。

[0044] 本発明の脂肪細胞分化抑制剤や抗肥満剤や耐糖能異常改善剤やアディポネクチン産生促進剤の剤型としては、特に制限されず、投与経路に応じて薬学上許容される担体を用いて適当な固形製剤や液体製剤等に処方することができる。本発明の脂肪細胞分化抑制剤や抗肥満剤や耐糖能異常改善剤やアディポネクチン産生促進剤の投与形態としては、経口投与、注射による投与等の一般的投与経路を挙げることができる。

- [0045] 経口投与のための固形剤としては、カプセル剤、錠剤、丸剤、トローチ剤、散剤及び顆粒剤等が挙げられる。これらの剤形とするには通常用いられる製剤化助剤及び製剤化方法を用いることができ、例えば、賦形剤として、乳糖、マンニトール、キシリトール、エリスリトール、結晶セルロース、リン酸水素カルシウム、軽質無水ケイ酸等を用いることができ、崩壊剤としてカルボキシメチルセルロースカルシウム、低置換度ヒドロキシプロピルセルロース、デンプン、クロスカルメロースナトリウム等を用いることができる。
- [0046] 経口投与のための液体製剤としては、液体製剤の調製に通常用いられる不活性希釈剤を含む薬学上許容し得る乳剤、溶液、懸濁剤、シロップ剤及びエリキシル剤が挙げられる。液体製剤は、本明細書に記載の組成物と添加剤とに加えて、補助剤、例えば、湿潤剤、乳化、及び懸濁剤、並びに調味剤及び香味剤を配合することにより調製できる。
- [0047] 投与量は、疾病の種類、患者の体重や年齢、投与形態、症状等により適宜選定することができるが、例えば成人に投与する場合、スチルベン誘導体として、1日あたり1mg～5g、好ましくは20mg～2g、より好ましくは50mg～1gを、数回に分けてあるいは1回で投与することが望ましい。
- [0048] 本発明の食品添加剤の剤型としては、特に制限されず、適当な担体を用いて固形製剤や液体製剤とすることができる。
- [0049] 本発明の食品における食品の種類としては、食品である限り特に制限されず、固形食品、クリーム状あるいはジャム状の半流動食品、ゲル状食品、飲料、茶葉等のあらゆる形態の食品を用いることができるが、より具体的には、ヨーグルト、ドリンクヨーグルト、ジュース、牛乳、豆乳、酒類、コーヒー、紅茶、煎茶、ウーロン茶、スポーツ飲料等の各種飲料や、プリン、クッキー、パン、ケーキ、ゼリー、煎餅などの焼き菓子、羊羹などの和菓子、冷菓、チューインガム等のパン・菓子類や、うどん、そば等の麺類や、かまぼこ、ハム、魚肉ソーセージ等の魚肉練り製品や、みそ、しょう油、ドレッシング、マヨネーズ、甘味料等の調味類や、チーズ、バター等の乳製品や、豆

腐、こんにゃく、その他佃煮、餃子、コロケ、サラダ等の各種総菜を例示することができる。本発明の食品は、これら食品に本件スチルベン誘導体を含有させることにより製造することができる。なお、本発明の食品には、いわゆるサプリメントの形態も含まれる。

[0050] また、本発明の飼料における飼料の種類としては、家畜・家禽用飼料やペットフードであれば特に制限されず、ドライタイプ、ウェットタイプ、セミモイストタイプ、ビスケットタイプ、ソーセージタイプ、ジャーキータイプ、粉末タイプ、顆粒タイプ、カプセルタイプ等のあらゆる形態の飼料を用いることができる。本発明の飼料は、これら飼料に本件スチルベン誘導体を含有させることにより製造することができる。

[0051] 本発明の食品や食品添加剤や飼料は、スチルベン誘導体を含有し、脂肪細胞分化抑制機能、抗肥満機能、耐糖能異常改善機能、アディポネクチン産生促進機能から選ばれる少なくとも1つ以上の機能がある旨が表示された食品や食品添加剤や飼料とすることもできる。なお、本発明における「脂肪細胞分化抑制機能」とは、幹細胞等から脂肪細胞への分化を抑制する機能を意味し、具体的には前述の脂肪細胞分化抑制効果を挙げることができ、本発明における「抗肥満機能」とは、哺乳動物に摂取させた場合に、体重（特に白色脂肪組織の重量）の増加を抑制する機能を意味し、具体的には前述の抗肥満効果を挙げることができ、本発明における「耐糖能異常改善機能」とは、前述のいずれかの耐糖能異常を改善する機能を意味し、具体的には前述の耐糖能異常改善効果を挙げることができ、本発明における「アディポネクチン産生促進機能」とは、哺乳動物に投与したときに、その動物におけるアディポネクチン産生量を上昇させる機能を意味し、具体的には前述のアディポネクチン産生促進効果を挙げることができる。

また、本発明の脂肪細胞分化抑制剤や抗肥満剤や耐糖能異常改善剤やアディポネクチン産生促進剤や食品添加剤は他の組成物に添加して用いることができる。

[0052] 本発明における方法としては、脂肪細胞分化抑制剤、抗肥満剤、耐糖能異

常改善剤及び／又はアディポネクチン産生促進剤の製造における本件ステルベン誘導体の使用や、本件ステルベン誘導体を脂肪細胞分化抑制剤、抗肥満剤、耐糖能異常改善剤及び／又はアディポネクチン産生促進剤に使用方法や、肥満、耐糖能異常、動脈硬化、高血圧症から選択される疾患の治療における本件ステルベン誘導体の使用や、本件ステルベン誘導体を哺乳動物に投与することを特徴とする、肥満、耐糖能異常、動脈硬化、高血圧症の治療方法などを例示することができる。

[0053] 以下、実施例により本発明をより具体的に説明するが、本発明の技術的範囲はこれらの例示に限定されるものではない。

実施例 1

[0054] [本件ステルベン誘導体の脂肪細胞分化に対する影響 1]

本件ステルベン誘導体の脂肪細胞分化に対する影響を調べるために、以下の実験を行った。本件ステルベン誘導体としては、4-トランス-ヒドロキシステルベンを用い、コントロールとしてレスベラトロールを用いた。4-トランス-ヒドロキシステルベンとレスベラトロールをそれぞれエタノールに溶解後、 -20°C で保存し、サンプル溶液とした。また、もうひとつのコントロールとして、エタノールだけのサンプル溶液も用いた。

[0055] 一方、マウス由来の脂肪前駆細胞である3T3-L1細胞（ATCCから入手）を、DMEM high glucose (HG) (含10%FBS) 培地で、 37°C 、5% CO_2 存在下にて培養し、コンフルエントな状態になってから2日経過後に分化誘導を開始した（その日をDAY0とする）。分化誘導には以下の組成の分化誘導培地に、前述のサンプル溶液を所定量添加した培地を使用した。

[分化誘導培地]

DMEM (HG)

+ 10% FBS

+ 0.5 mM 1-メチル-3-イソブチルキサンチン

(IBMX : 和光純薬工業 (株) 製)

+10 μ g/ml インスリン (Ins: SIGMA社製)

+1 μ M デキサメタゾン (DEX: SIGMA社製)

[0056] 分化誘導の開始から44~45時間経過後 (DAY 2) に、新たな培地 (DMEM HG+10%FBS+5 μ g/ml Ins) で培地交換を行い、さらに2日間培養を続けた後 (DAY 4)、新たに同様の培地 (DMEM HG+10%FBS+5 μ g/ml Ins) で培地交換を行い、さらに2日間培養を続けた後 (DAY 6)、それぞれの細胞を回収した。回収した細胞から常法にしたがってそれぞれ total RNAを抽出し、これら total RNAを用いた定量RT-PCRにより、脂肪細胞の分化マーカーであるC/EBP α 遺伝子、PPAR γ 遺伝子や、これらのターゲット遺伝子であるLPL遺伝子やレジスチン (resistin) 遺伝子のmRNA発現量を測定した。

[0057] 図2には、4-トランス-ヒドロキシステルベン (T) (分化誘導培地中の終濃度0.5 μ M、1.0 μ M、2.5 μ M) やレスベラトロール (分化誘導培地中の終濃度2.5 μ M) を用いた場合の、脂肪細胞の分化マーカー遺伝子のmRNAの相対発現量を示す。図2から分かるように、4-トランス-ヒドロキシステルベンは、同濃度 (2.5 μ M) のレスベラトロールよりも強く脂肪細胞の分化マーカー (C/EBP α 、PPAR γ 、LPL、レジスチン) 遺伝子の発現レベルを低下させた。また、4-トランス-ヒドロキシステルベンは、より低濃度 (0.5 μ Mや1 μ M) であっても、2.5 μ Mのレスベラトロールよりも強く脂肪細胞の分化マーカー遺伝子の発現レベルを低下させた。

実施例 2

[0058] [本件ステルベン誘導体の脂肪細胞分化に対する影響 2]

前述のように、今までの研究から、レスベラトロールを含むステルベン誘導体 (特にステルベン骨格のB環4位 (一般式 (I) におけるR²) にOHを有するもの) では、濃度依存的に細胞毒性をもつことが明らかになっている。そこで本発明者らは、レスベラトロール及び6種類の本件ステルベン誘導

体（構造式を図3に示す）の、3T3-L1細胞の脂肪細胞分化に対する影響について比較検討を行った。

構造式 a : イソレスベラトロール

構造式 b : 3, 5-トランス-ジヒドロキシステルベン

構造式 c : 3, 4'-トランス-ジヒドロキシステルベン

構造式 d : 3, 3'-トランス-ジヒドロキシステルベン

構造式 e : 3-トランス-ヒドロキシステルベン

構造式 f : 4-トランス-ヒドロキシステルベン

[0059] サンプル溶液については、実施例1と同様に調製した。これらサンプル溶液を所定の濃度で用いて、実施例1と同様の方法で脂肪細胞の分化マーカー遺伝子の発現量を測定した。

図4には、分化誘導培地中の本件ステルベン誘導体やレスベラトロールの終濃度を0.5 μ Mとした場合のレジスチン (REGISTIN) 遺伝子のmRNAの相対発現量を示す。図5には、分化誘導培地中の本件ステルベン誘導体やレスベラトロールの終濃度を0.5 μ Mとした場合のPPAR γ 遺伝子のmRNAの相対発現量を示す。図6には、分化誘導培地中の本件ステルベン誘導体やレスベラトロールの終濃度を図6記載の濃度とした場合のレジスチン (REGISTIN) 遺伝子のmRNAの相対発現量を示す。図7には、分化誘導培地中の本件ステルベン誘導体やレスベラトロールの終濃度を図7記載の濃度とした場合のPPAR γ 遺伝子のmRNAの相対発現量を示す。

[0060] 図4や図5に示すように、検討したすべての本件ステルベン誘導体は、レスベラトロールよりも強くPPAR γ の発現レベルを低下させ、それに伴ってレジスチンのmRNA発現レベルも低下していた。すなわち、本実施例で検討した6種類のステルベン誘導体は、レスベラトロールと比較し、より強い脂肪細胞への分化抑制効果を有することが明らかになった。また、各種ステルベン誘導体の中でも、3-トランス-ヒドロキシステルベン（図3中の構造式e）、3, 4'-トランス-ジヒドロキシステルベン（図3中の構造

式 c)、3, 3'-トランスージヒドロキシステルベン (図3中の構造式 d)、3, 5-トランスージヒドロキシステルベン (図3中の構造式 b) は、より強い脂肪細胞への分化抑制作用を有することが示唆された。

[0061] 図6や図7に示すように、4-トランス-ヒドロキシステルベン (図3中の構造式 f) は、レスベラトロールより脂肪細胞の分化抑制作用及びレジスチンの発現低下作用は強く、レスベラトロールの1/10量以下の濃度でも同等以上の効果があることが明らかになった。また、3-トランス-ヒドロキシステルベン (図3中の構造式 e) については、4-トランス-ヒドロキシステルベンよりもさらに高い脂肪細胞の分化抑制効果が見られた。

実施例 3

[0062] [本件ステルベン誘導体に関する動物実験]

本件ステルベン誘導体がインビボにおいても脂肪細胞の分化抑制効果を発揮し得るかを調べるために、マウスを用いた以下の摂食試験を行った。

まず、摂食試験に用いるサンプル飼料 (コントロール) として、高脂肪食と普通食を調製した。具体的には、市販の配合飼料やビタミンミックス (オリエンタル酵母株式会社製) を利用して標準粉末飼料 A I N 9 3 G (アメリカ国立栄養研究所による標準組成) を調製し、その A I N 9 3 G に 2 0 質量% のラードを添加した飼料を「普通食 L F」とし、5 0 質量% のラードを添加した飼料を「高脂肪食 H F」とした。次いで、前述の高脂肪食 H F にレスベラトロールを 0. 4 質量% 含有させた飼料を「高脂肪食 R e s」(コントロール) とし、前述の高脂肪食 H F に 3-トランス-ヒドロキシステルベン (図3中の構造式 e) を 0. 4 質量% 含有させた飼料を「高脂肪食 3 O H」とした。

これら4種類の餌をそれぞれ別の C 5 7 B L / 6 マウスに6週間自由摂取させ、マウスの餌の摂取量とマウスの体重変化を測定した。マウスの日々の餌の摂取カロリー (cal/mouse) の推移を図8に示す。図8から分かるように、普通食 L F (図中、「L F」と表す。) は他の餌に比べてマウスの摂食カロリーがやや少なかったのに対し、高脂肪食 3 O H (図中、「3 O H」と表

す。)や高脂肪食Res (図中「Res」と表す。)や高脂肪食HF (図中、「HF」と表す。)はマウスの摂食カロリーは飼育期間中で平均すればほぼ同じであった。

次に、マウスの体重の経時的変化を図9に示す。高脂肪食3OH、高脂肪食Res及び高脂肪食HFはそれぞれマウスの摂食カロリーが同程度であったにもかかわらず、高脂肪食Resや高脂肪食3OHを与えたマウスでは、高脂肪食HFを与えたマウスに比べて体重の増加が抑制された。特に高脂肪食3OHを与えたマウスでは、高脂肪食Resを与えたマウスよりも、体重増加の著しい抑制効果が示され、その体重増加は、普通食LFを与えたマウスより著しく低かった。この効果は、高脂肪食3OHの摂取カロリーが普通食(LF)よりも多かった(図8)ことを考慮すれば、高脂肪食3OHにおける3-トランス-ヒドロキシステルベンの体重増加抑制効果は非常に優れたものといえる。

[0063] さらに、前述の6週間の摂食試験を終えた各マウスを解剖して、Gastro (gastrocnemius: 下肢腓腹筋)、WAT (White Adipose Tissue: 白色脂肪組織)、Liver (肝臓)、BAT (Brown Adipose Tissue: 褐色脂肪組織)の各組織の重量を測定した。その結果を図10に示す。図10から分かるように、前記摂食試験を終えた各マウスの体重の多少は、白色脂肪組織の重量の多少にほぼ対応していることが示された。例えば、高脂肪食Resを与えると、高脂肪食によって誘発される脂肪蓄積を、普通食LFを与えた場合と同程度にまで抑制することができ、また、高脂肪食3OHを与えると、脂肪食Resを与えた場合のおよそ半分にまで脂肪蓄積を著しく抑制することが可能であることが示された。図8~図10の結果から、本件ステルベン誘導体が、インビボにおいても、脂肪細胞の分化を著しく抑制する効果や抗肥満効果を有していることが示された。

[0064] なお、前述の6週間の摂食試験の5週目のマウスについて、経口ブドウ糖負荷試験(Oral glucose tolerance test: OGTT)と、インスリン負荷試験(Insulin Tolerance Test: ITT)も行った。OGTTは、マウス体重

1 gあたり1.5 mgのブドウ糖を経口投与し、時間経過ごとに尻尾から採取した血液中のグルコース濃度 (mg/dl) (以下、「血糖値」ともいう。) を測定することによって行った。一方、ITTは、マウス体重1 gあたり0.4 mUのインスリンを腹腔内投与し、時間経過ごとに尻尾から採取した血液中のグルコース濃度 (mg/dl) を測定することによって行った。

OGTTの結果及びITTの結果を、それぞれ図11と図12に示す。図11の結果から分かるように、高脂肪食Resの場合は、高脂肪食HFの場合とほぼ同様に、糖負荷後の血糖値が比較的高く推移したのに対し、高脂肪食30Hの場合は、それらより低いのはもちろんのこと、普通食LFの場合よりも低く推移した。また、図12の結果から分かるように、高脂肪食30Hの場合は、高脂肪食HFや高脂肪食Resに比べて優れたインスリン感受性を示した。なお、図12のグラフは、比較のため、インスリン投与前の血糖値を100に補正して表している。

[0065] さらに、前述の6週間の摂食試験の6週目のマウスについて、骨格筋 (soleus) の糖取り込みアッセイを行った。具体的には、³Hで標識した2-デオキシグルコース及び¹⁴Cで標識したマンニトールを含む糖液 (糖液A) と、前記糖液にインスリン (100 nM) を添加した糖液 (糖液B) を準備し、各マウスから単離したヒラメ筋を糖液Aや糖液Bに一定時間浸して取り込まれた放射活性を測定した。その結果を図13に示す。図13の各マウスにおける右側の棒グラフは、糖液B (インスリン有り) を用いた場合の各マウスにおける糖の取込量を、それぞれ糖液A (インスリン無し) における糖の取込量 (図13の各マウスにおける左の棒グラフ) を1として補正した値を表す。図13の結果から分かるように、高脂肪食30Hを摂食していたマウスは、高脂肪食Resを摂食していたマウスに比べて、インスリン存在下での骨格筋 (ヒラメ筋) における糖の取り込みが増加し、インスリンに対する感受性が向上していた。図11~図13の結果により、高脂肪食30Hに含まれる3-トランス-ヒドロキシステルベンは、高脂肪食によって誘発される肥満に伴う耐糖能異常に対し、レスベラトロールと比較して著しく優れた改

善効果を有することが示された。

実施例 4

[0066] [本件スチルベン誘導体のアディポサイトカイン発現に対する影響]

前記実施例 3 において、6 週間の摂食試験を終えた各マウスの脂肪細胞を回収した。回収した脂肪細胞から常法にしたがってそれぞれ *total RNA* を抽出し、これら *total RNA* を用いた定量 RT-PCR により、脂肪細胞の分化マーカー PPAR γ 遺伝子や、アディポサイトカインであるアディポネクチン (adiponectin) 遺伝子やレプチン (leptin) 遺伝子の mRNA 発現量を測定した。図 14 には、各マウスにおける上記の 3 つの遺伝子の mRNA 発現量を、普通食 LF を与えたマウスでの mRNA 発現量に対する相対 mRNA 発現量として示す。図 14 から分かるように、高脂肪食 3OH を与えたマウスでは、高脂肪食 Res (高脂肪食 RSV) を与えたマウスよりも、アディポネクチンの発現が向上していることが示された。アディポネクチンが、耐糖能異常改善作用だけでなく抗動脈硬化作用を有していることが知られていることからすると、本発明のスチルベン誘導体は、抗動脈硬化剤や抗血圧上昇剤としても使用し得ると考えられる。

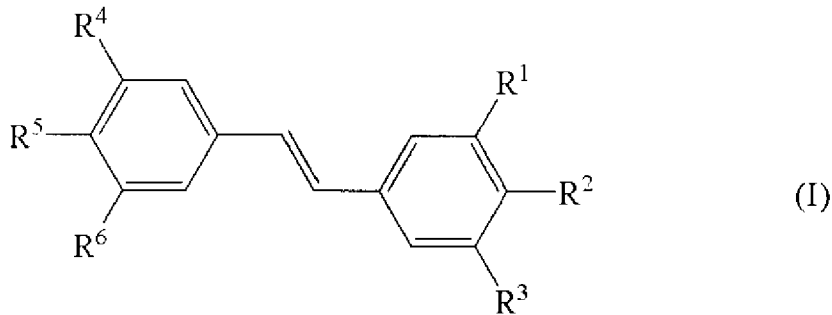
産業上の利用可能性

[0067] 本発明によると、極めて優れた脂肪細胞分化抑制剤、抗肥満剤、耐糖能異常改善剤、及びアディポネクチン産生促進剤、並びに、脂肪細胞分化抑制機能、抗肥満機能、耐糖能異常改善機能、アディポネクチン産生促進機能から選ばれる少なくとも 1 つ以上の機能を有する食品、食品添加剤、及び飼料を提供することができる。

請求の範囲

- [1] 下記一般式（I）で示されるスチルベン誘導体を有効成分とする脂肪細胞分化抑制剤。

[化1]

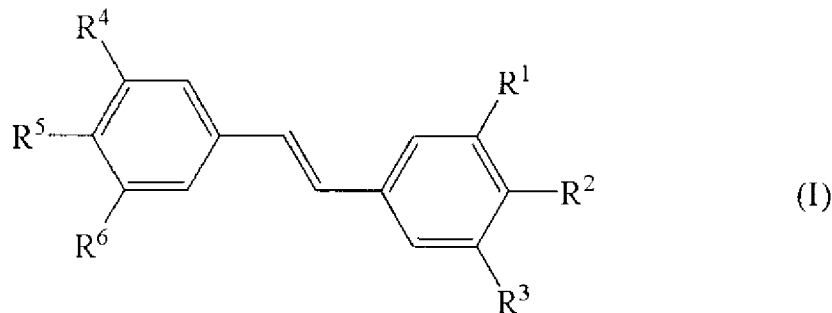


（式中、 $R^1 \sim R^6$ は、それぞれ独立して水素又はヒドロキシ基を表す。但し、 R^2 、 R^4 及び R^6 がヒドロキシ基であり、かつ R^1 、 R^3 及び R^5 が水素である場合を除く。）

- [2] スチルベン誘導体がイソレスベラトロール、3, 5-トランスージヒドロキシスチルベン、3, 4'-トランスージヒドロキシスチルベン、3, 3'-トランスージヒドロキシスチルベン、3-トランスーヒドロキシスチルベン、又は4-トランスーヒドロキシスチルベンであることを特徴とする請求項1に記載の脂肪細胞分化抑制剤。

- [3] 下記一般式（I）で示されるスチルベン誘導体を有効成分とする抗肥満剤。

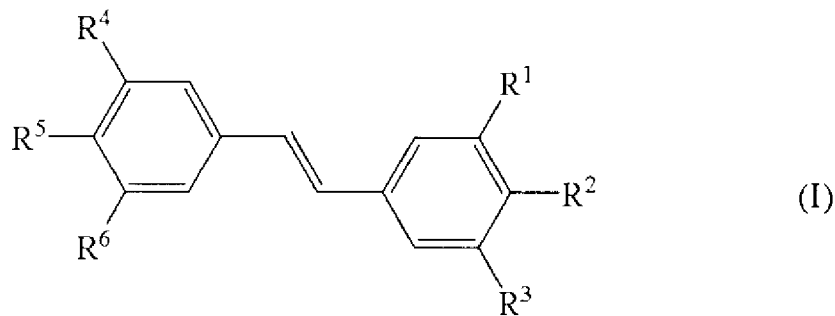
[化2]



（式中、 $R^1 \sim R^6$ は、それぞれ独立して水素又はヒドロキシ基を表す。但し、 R^2 、 R^4 及び R^6 がヒドロキシ基であり、かつ R^1 、 R^3 及び R^5 が水素である場合を除く。）

- [4] スチルベン誘導体がイソレスベラトロール、3, 5-トランス-ジヒドロキシスチルベン、3, 4'-トランス-ジヒドロキシスチルベン、3, 3'-トランス-ジヒドロキシスチルベン、3-トランス-ヒドロキシスチルベン、又は4-トランス-ヒドロキシスチルベンであることを特徴とする請求項3に記載の抗肥満剤。
- [5] 下記一般式(I)で示されるスチルベン誘導体を含むし、かつ、脂肪細胞分化抑制機能、抗肥満機能、耐糖能異常改善機能から選ばれる少なくとも1つ以上の機能を有する食品。

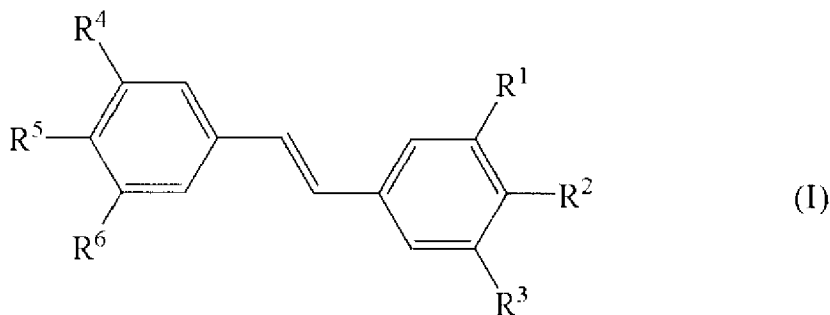
[化3]



(式中、 $R^1 \sim R^6$ は、それぞれ独立して水素又はヒドロキシ基を表す。但し、 R^2 、 R^4 及び R^6 がヒドロキシ基であり、かつ R^1 、 R^3 及び R^5 が水素である場合を除く。)

- [6] 下記一般式(I)で示されるスチルベン誘導体が添加され、かつ、脂肪細胞分化抑制機能、抗肥満機能、耐糖能異常改善機能から選ばれる少なくとも1つ以上の機能を有する食品。

[化4]

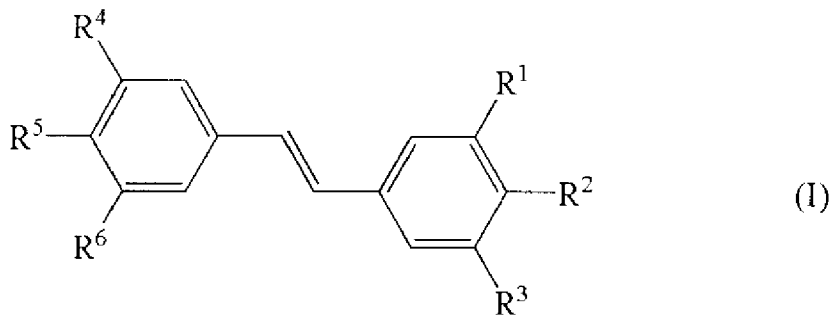


(式中、 $R^1 \sim R^6$ は、それぞれ独立して水素又はヒドロキシ基を表す。但し

、 R^2 、 R^4 及び R^6 がヒドロキシ基であり、かつ R^1 、 R^3 及び R^5 が水素である場合を除く。)

- [7] スチルベン誘導体がイソレスベラトロール、3, 5-トランスージヒドロキシスチルベン、3, 4'-トランスージヒドロキシスチルベン、3, 3'-トランスージヒドロキシスチルベン、3-トランス-ヒドロキシスチルベン、又は4-トランス-ヒドロキシスチルベンであることを特徴とする請求項5又は6に記載の食品。
- [8] 下記一般式 (I) で示されるスチルベン誘導体を含有し、かつ、脂肪細胞分化抑制機能、抗肥満機能、耐糖能異常改善機能から選ばれる少なくとも1つ以上の機能を有する食品添加剤。

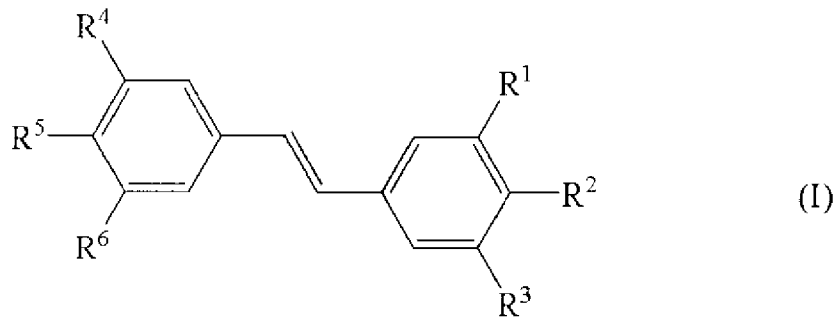
[化5]



(式中、 $R^1 \sim R^6$ は、それぞれ独立して水素又はヒドロキシ基を表す。但し、 R^2 、 R^4 及び R^6 がヒドロキシ基であり、かつ R^1 、 R^3 及び R^5 が水素である場合を除く。)

- [9] スチルベン誘導体がイソレスベラトロール、3, 5-トランスージヒドロキシスチルベン、3, 4'-トランスージヒドロキシスチルベン、3, 3'-トランスージヒドロキシスチルベン、3-トランス-ヒドロキシスチルベン、又は4-トランス-ヒドロキシスチルベンであることを特徴とする請求項8に記載の食品添加剤。
- [10] 下記一般式 (I) で示されるスチルベン誘導体を有効成分として含有し、かつ脂肪細胞分化抑制機能、抗肥満機能、耐糖能異常改善機能から選ばれる少なくとも1つ以上の機能を有する飼料。

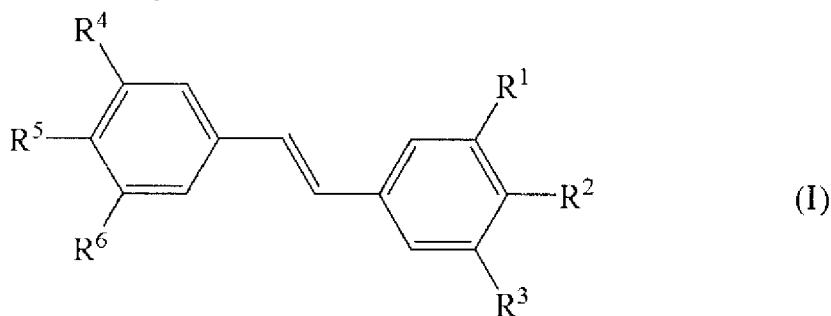
[化6]



(式中、 $R^1 \sim R^6$ は、それぞれ独立して水素又はヒドロキシ基を表す。但し、 R^2 、 R^4 及び R^6 がヒドロキシ基であり、かつ R^1 、 R^3 及び R^5 が水素である場合を除く。)

- [11] スチルベン誘導体がイソレスベラトロール、3, 5-トランスージヒドロキsstilben、3, 4'-トランスージヒドロキsstilben、3, 3'-トランスージヒドロキsstilben、3-トランスーヒドロキsstilben、又は4-トランスーヒドロキsstilbenであることを特徴とする請求項10に記載の飼料。
- [12] 下記一般式(I)で示されるスチルベン誘導体を有効成分とする耐糖能異常改善剤。

[化7]



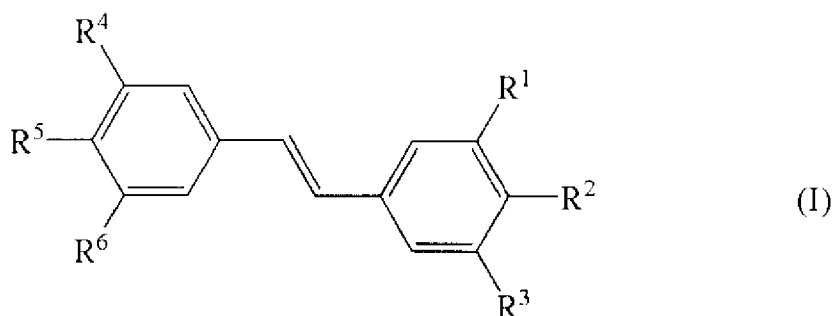
(式中、 $R^1 \sim R^6$ は、それぞれ独立して水素又はヒドロキシ基を表す。但し、 R^2 、 R^4 及び R^6 がヒドロキシ基であり、かつ R^1 、 R^3 及び R^5 が水素である場合を除く。)

- [13] スチルベン誘導体がイソレスベラトロール、3, 5-トランスージヒドロ

キシスチルベン、3, 4'-トランス-ジヒドロキシスチルベン、3, 3'-トランス-ジヒドロキシスチルベン、3-トランス-ヒドロキシスチルベン、又は4-トランス-ヒドロキシスチルベンであることを特徴とする請求項12に記載の耐糖能異常改善剤。

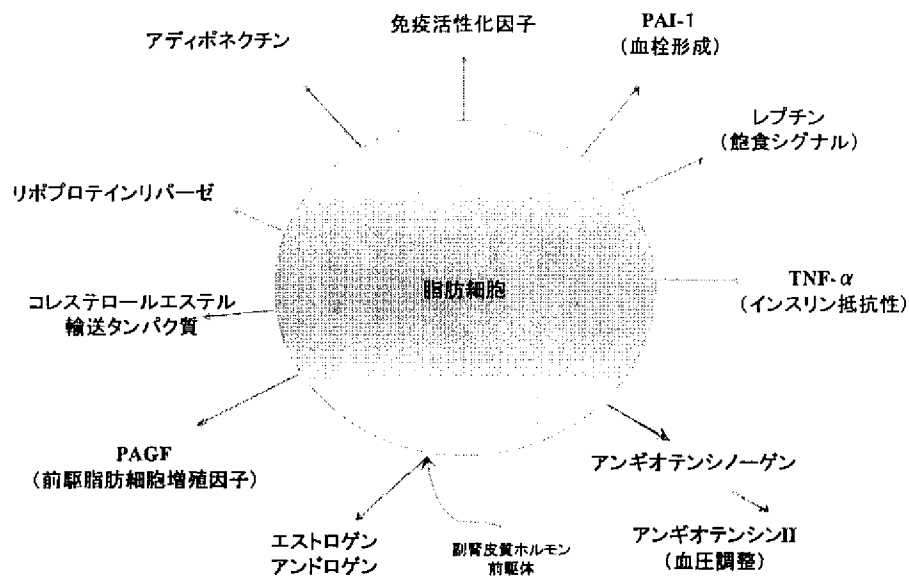
- [14] 下記一般式(I)で示されるスチルベン誘導体を有効成分とするアディポネクチン産生促進剤。

[化8]

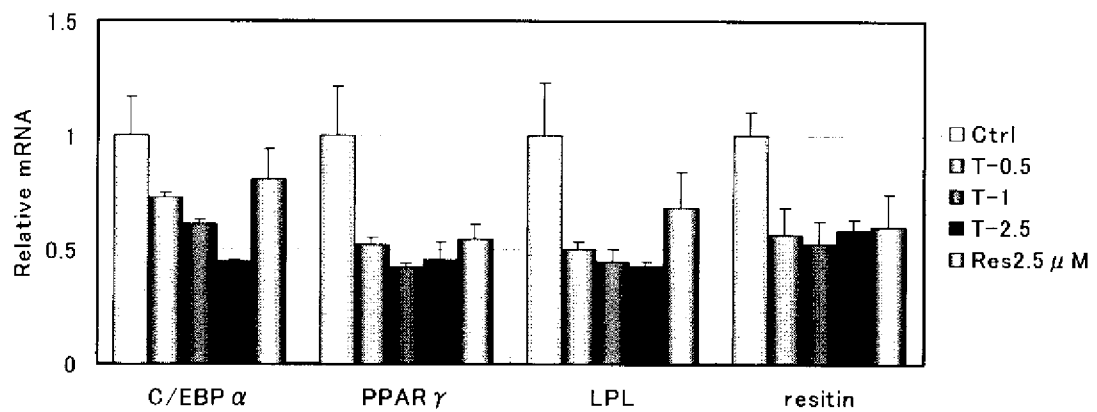


(式中、R¹~R⁶は、それぞれ独立して水素又はヒドロキシ基を表す。但し、R²、R⁴及びR⁶がヒドロキシ基であり、かつR¹、R³及びR⁵が水素である場合を除く。)

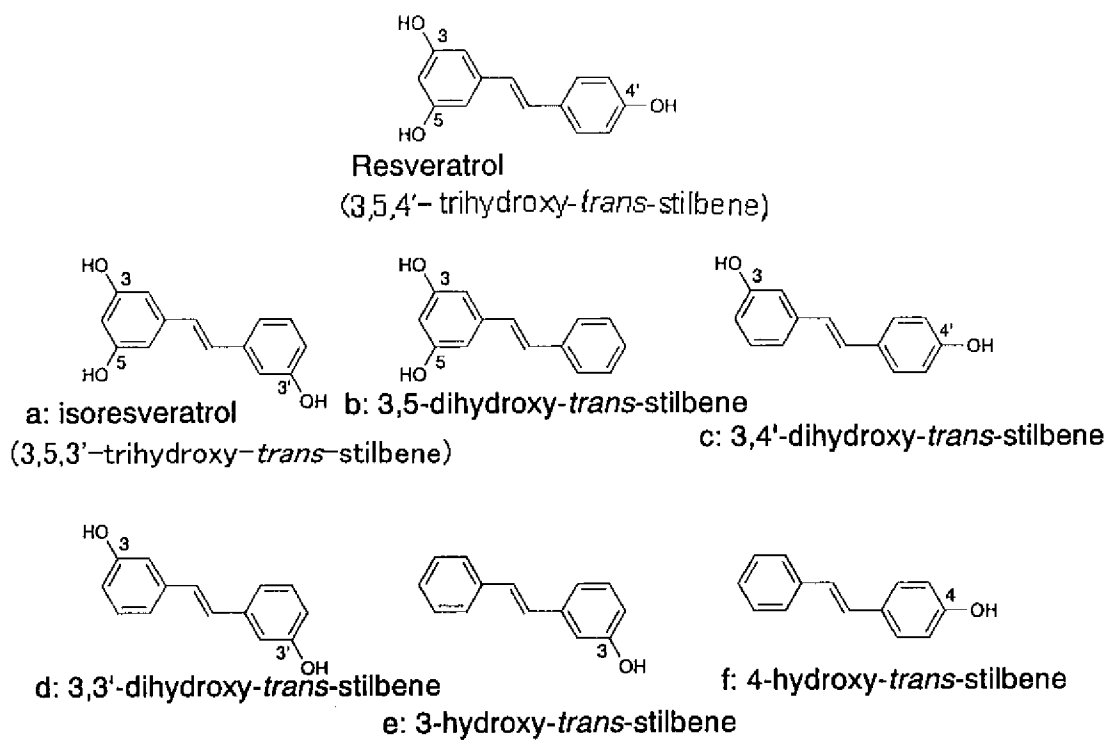
[図1]



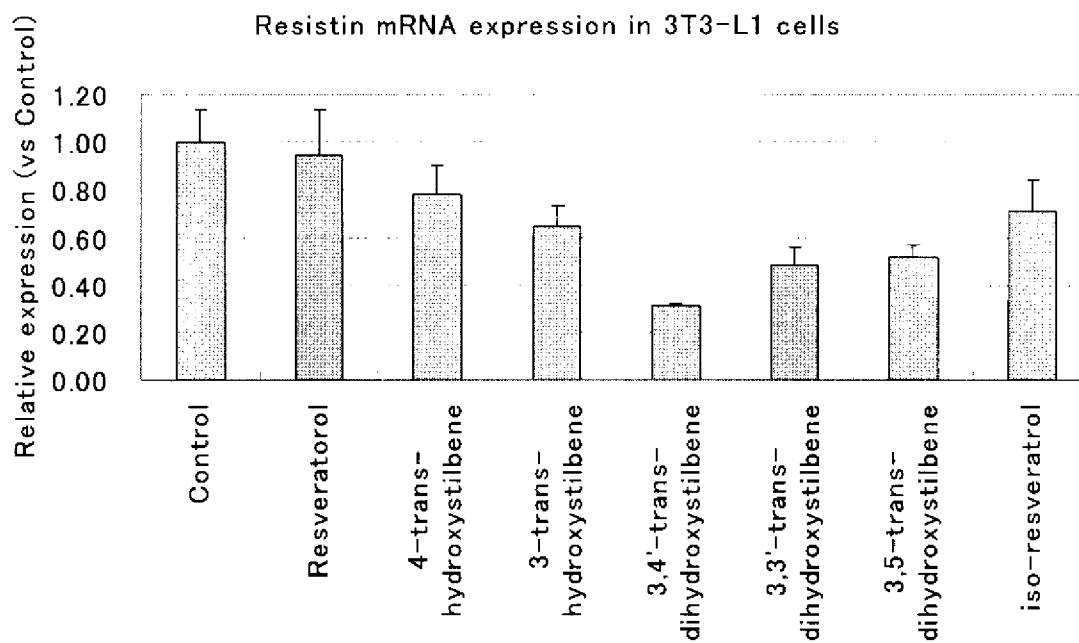
[図2]



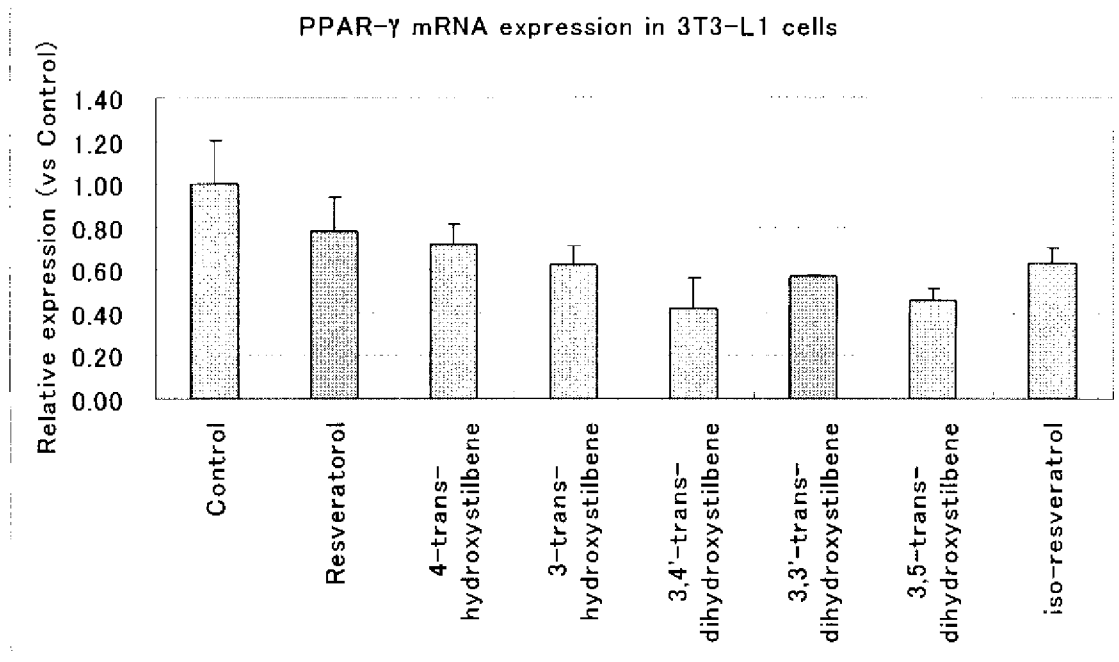
[3]



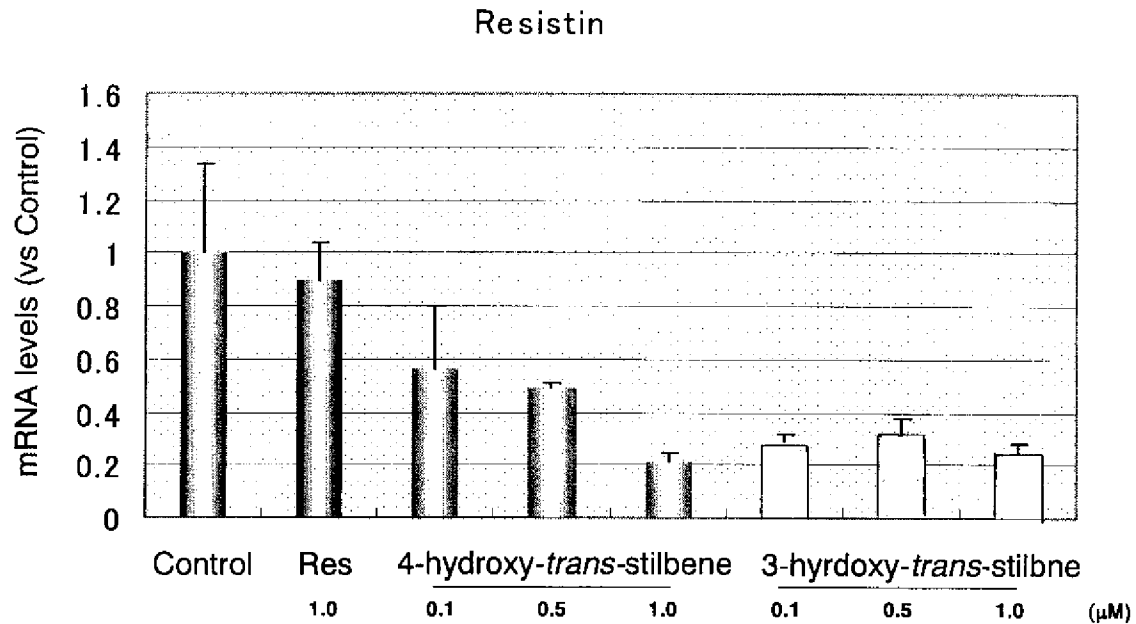
[4]



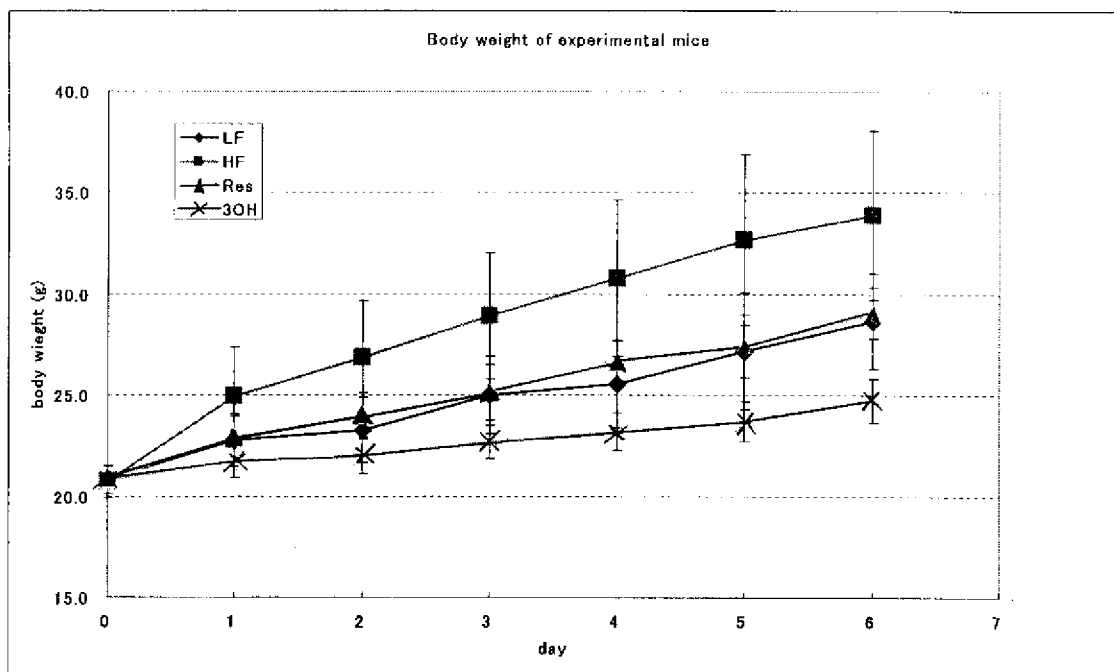
[5]



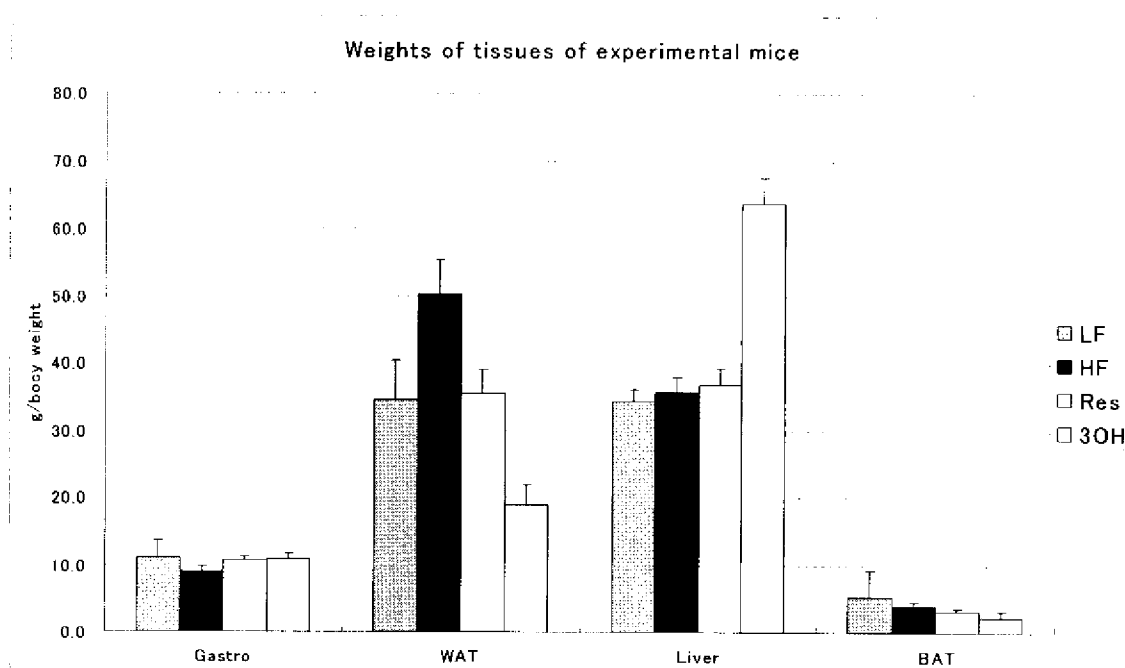
[6]



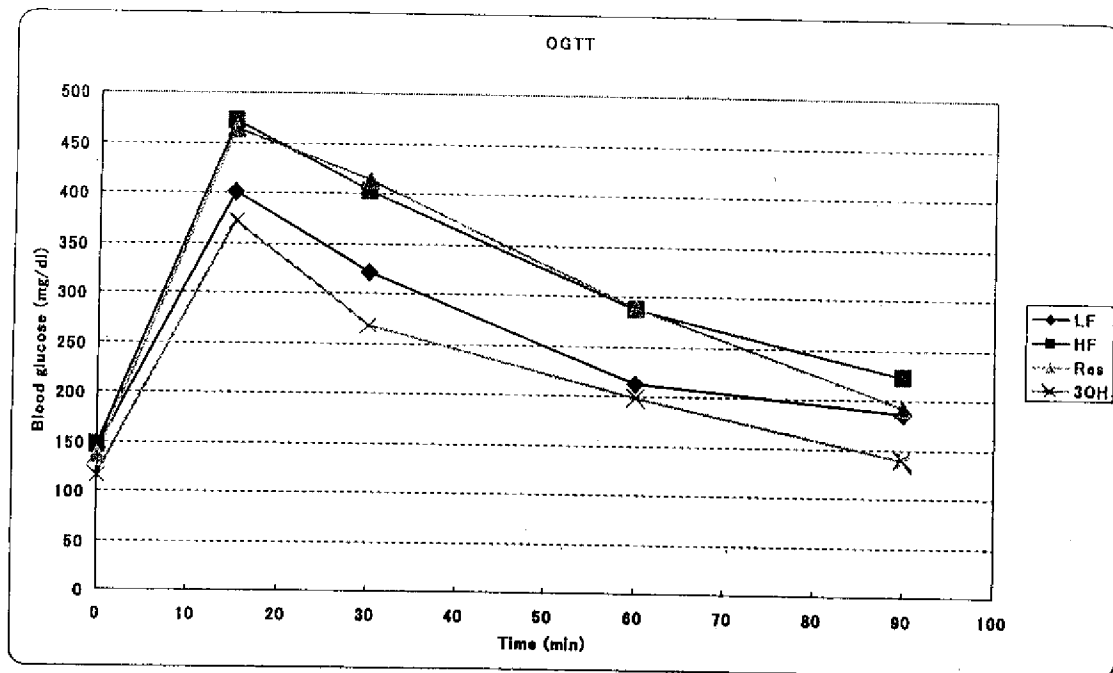
[9]



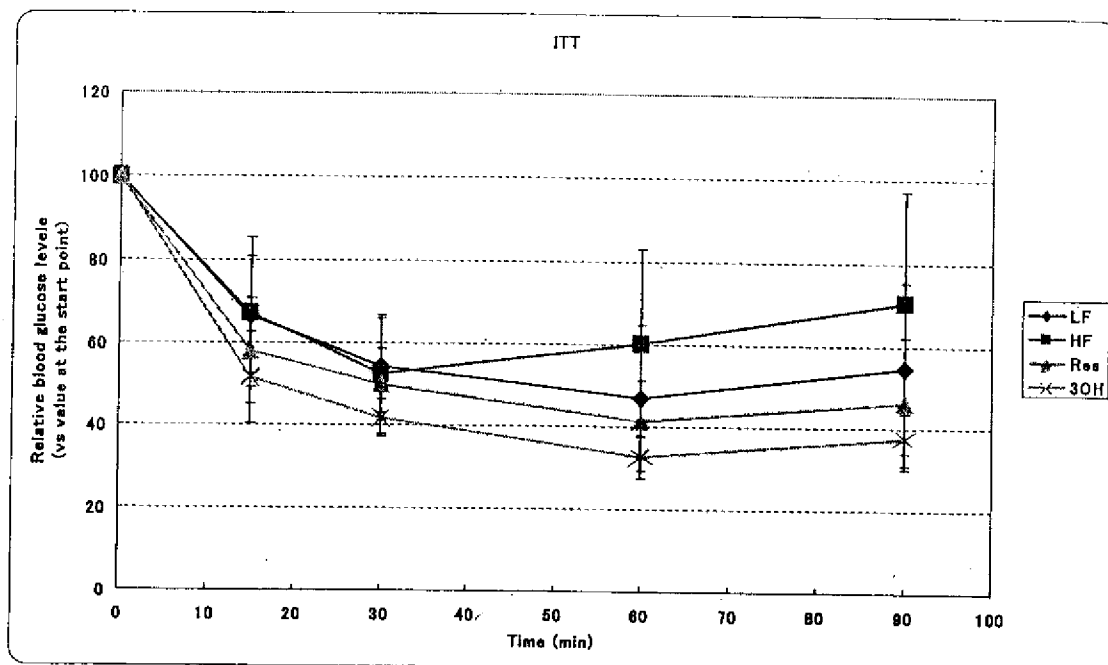
[10]



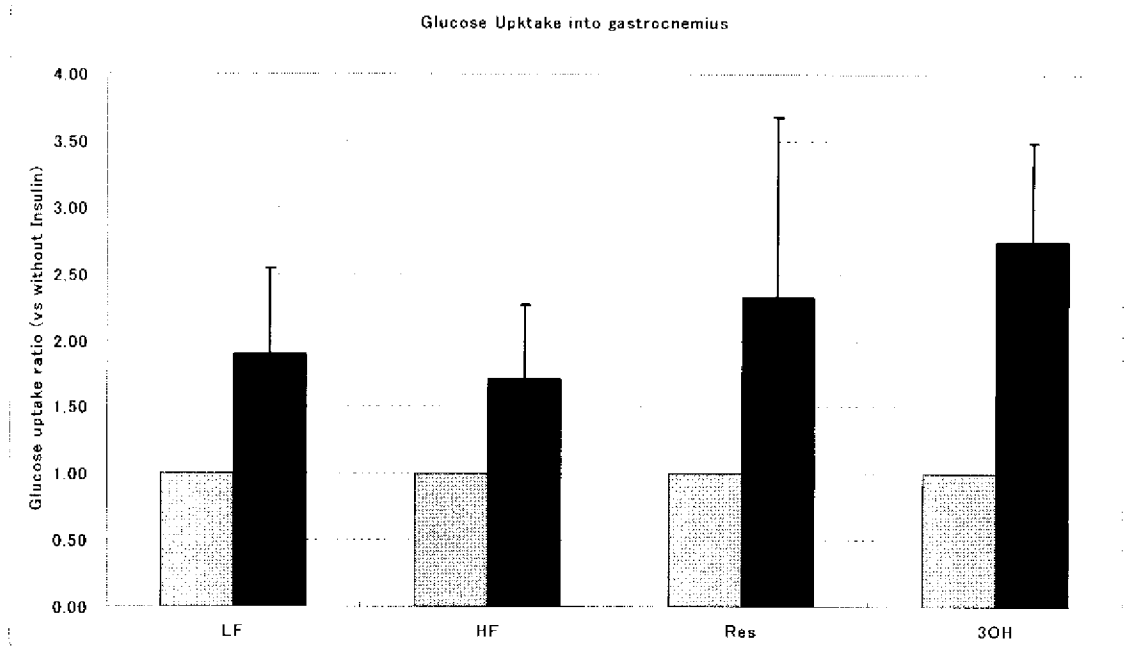
[圖11]



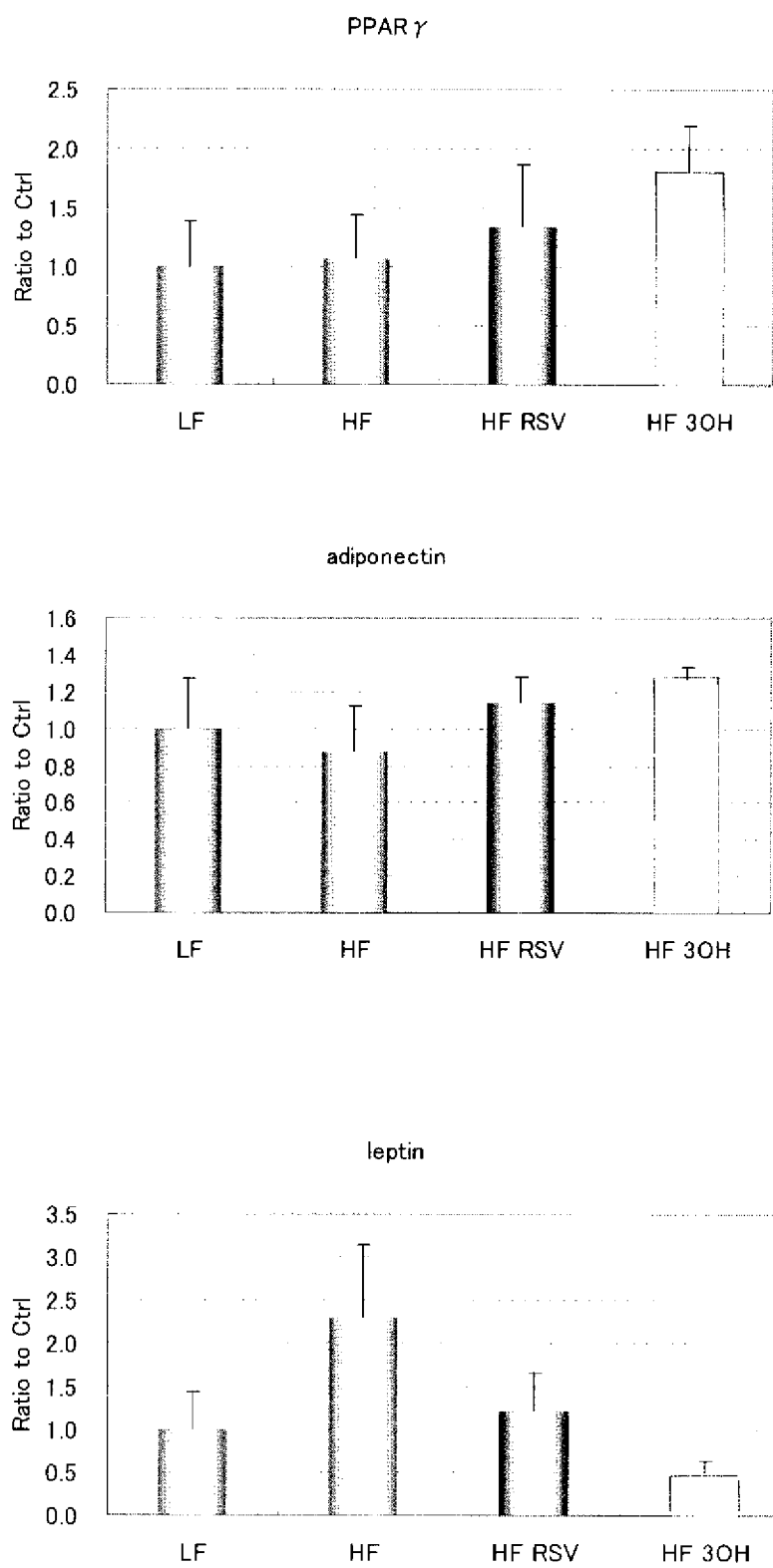
[圖12]



[13]



[14]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2008/000741

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K31/05(2006.01)i, A23K1/16(2006.01)i, A23L1/307(2006.01)i, A61P3/04(2006.01)i, A61P43/00(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
A61K31/05, A23K1/16, A23L1/307, A61P3/04, A61P43/00Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2008
Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2008 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2008Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
CAplus/REGISTRY(STN), JSTPlus/JMEDplus/JST7580(JDreamII),
Igaku·Yakugaku Yokoshu Zenbun Database

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	FR 2862533 A1 (L'OREAL S.A.), 27 May, 2005 (27.05.05), Claims; examples (Family: none)	1-4
X	Chemical Abstracts, 5 March 2007, Vol.146, No.10, p.1617, Abstract No.146:189919d, BR 2004 5370 A	1-4
X	WO 2007/005453 A2 (President and Fellows of Harvard College), 11 January, 2007 (11.01.07), Claims; page 47, line 4 to page 49, line 2; example 12 & US 2006/0111435 A1 & US 2005/0171027 A1 & EP 1708689 A	1, 3, 5, 6, 8, 10, 12, 14

 Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
08 May, 2008 (08.05.08)Date of mailing of the international search report
20 May, 2008 (20.05.08)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2008/000741

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 2004-537561 A (BEIJING LUYIN LIHUA PHARM SCI & TECHNOLO), 16 December, 2004 (16.12.04), Claims & US 2005/0020511 A1 & EP 1421933 A1 & WO 2003/009838 A1	12, 14
X	JP 2001-72583 A (Sunstar Inc.), 21 March, 2001 (21.03.01), Claims; Par. Nos. [0004], [0011], [0031] (Family: none)	5-11, 14
X	JP 2003-505500 A (THE PROCTER & GAMBLE CO.), 12 February, 2003 (12.02.03), Claims; Par. No. [0027] & EP 1221949 A & WO 2001/008671 A2	5-11

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2008/000741

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

See extra sheet.

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest
the

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2008/000741

Continuation of Box No.III of continuation of first sheet (2)

It is considered that in claims of this international application, those relating to the inventions listed in the following α to γ are described.

α . Claims 1-4, part of claims 5-11

An adipocyte differentiation inhibitor or anti-obesity agent, or a food, food additive or feed having such a function, containing a stilbene derivative represented by the general formula (I) as an active ingredient.

β . Part of claims 5-11, claims 12 and 13

An abnormal glucose tolerance-improving agent, or a food, food additive or feed having a function of improving abnormal glucose tolerance, containing a stilbene derivative represented by the general formula (I) as an active ingredient.

γ . Claim 14

An adiponectin production promoter containing a stilbene derivative represented by the general formula (I) as an active ingredient.

Here, an agent containing a stilbene derivative as an active ingredient, which is the matter common to the inventions α to γ , is known (see, for example, FR 2862533 A1, JP 2001-72583 A and the like). Accordingly, the agent containing a stilbene derivative as an active ingredient falls within the scope of the prior art, therefore, the agent containing a stilbene derivative as an active ingredient, which is the common matter, is not a special technical matter within the meaning of PCT Rule 13.2, second sentence.

Thus, the inventions α to γ are not considered to be a group of inventions so linked as to form a single general inventive concept, and therefore do not have unity of invention.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. A61K31/05(2006.01)i, A23K1/16(2006.01)i, A23L1/307(2006.01)i, A61P3/04(2006.01)i, A61P43/00(2006.01)i										
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. A61K31/05, A23K1/16, A23L1/307, A61P3/04, A61P43/00										
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの <table border="0"> <tr> <td>日本国実用新案公報</td> <td>1922-1996年</td> </tr> <tr> <td>日本国公開実用新案公報</td> <td>1971-2008年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996-2008年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994-2008年</td> </tr> </table>			日本国実用新案公報	1922-1996年	日本国公開実用新案公報	1971-2008年	日本国実用新案登録公報	1996-2008年	日本国登録実用新案公報	1994-2008年
日本国実用新案公報	1922-1996年									
日本国公開実用新案公報	1971-2008年									
日本国実用新案登録公報	1996-2008年									
日本国登録実用新案公報	1994-2008年									
国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語) CAplus/REGISTRY(STN), JSTplus/JMEDplus/JST7580(JDreamII), 医学・薬学予稿集全文データベース										
C. 関連すると認められる文献										
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号								
X	FR 2862533 A1 (L'OREAL Societe anonyme) 2005.05.27, Claims, Examples (ファミリーなし)	1-4								
X	Chemical Abstracts, 5 March 2007, Vol.146, No.10, p.1617, Abstract No.146:189919d, BR 2004 5370 A	1-4								
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。										
* 引用文献のカテゴリー 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願日の後に公表された文献 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリー文献										
国際調査を完了した日 08.05.2008	国際調査報告の発送日 20.05.2008									
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 安居 拓哉 電話番号 03-3581-1101 内線 3452	4C 3437								

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	WO 2007/005453 A2 (President and Fellows of Harvard College) 2007. 01. 11, Claims, 第47頁第4行～第49頁第2行, Example 12 & US 2006/0111435 A1 & US 2005/0171027 A1 & EP 1708689 A	1, 3, 5, 6, 8, 10, 12, 14
X	JP 2004-537561 A (BEIJING LUYIN LIHUA PHARM SCI & TECHNOLO) 2004. 12. 16, 特許請求の範囲 & US 2005/0020511 A1 & EP 1421933 A1 & WO 2003/009838 A1	12, 14
X	JP 2001-72583 A (サンスター株式会社) 2001. 03. 21, 特許請求の範囲, 【0004】, 【0011】, 【0031】 (ファミリーなし)	5-11, 14
X	JP 2003-505500 A (THE PROCTER & GAMBLE COMPANY) 2003. 02. 12, 特許請求の範囲, 【0027】 & EP 1221949 A & WO 2001/008671 A2	5-11

第II欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見（第1ページの2の続き）

法第8条第3項（PCT17条(2)(a)）の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. 請求の範囲 _____ は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、

2. 請求の範囲 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、

3. 請求の範囲 _____ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第III欄 発明の単一性が欠如しているときの意見（第1ページの3の続き）

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるときの国際調査機関は認めた。
特別ページ参照。

1. 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- 追加調査手数料及び、該当する場合には、異議申立手数料の納付と共に、出願人から異議申立てがあった。
- 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあったが、異議申立手数料が納付命令書に示した期間内に支払われなかった。
- 追加調査手数料の納付はあったが、異議申立てはなかった。

<第Ⅲ欄の続き>

本国際出願の請求の範囲には、以下の $\alpha - \gamma$ に掲げる発明に関するものが記載されているものと認められる。

 α . 請求の範囲 1-4, 5-11 の一部

一般式 (I) で表されるスチルベン誘導体を有効成分とする脂肪細胞分化抑制剤、抗肥満剤、これらの機能を有する食品・食品添加剤・飼料。

 β . 請求の範囲 5-11 の一部, 12, 13

一般式 (I) で表されるスチルベン誘導体を有効成分とする耐糖能異常改善剤、耐糖能異常改善機能を有する食品・食品添加剤・飼料。

 γ . 請求の範囲 14

一般式 (I) で表されるスチルベン誘導体を有効成分とするアディポネクチン産生促進剤。

ここで、発明 $\alpha - \gamma$ に共通する事項である、スチルベン誘導体を有効成分とする薬剤は公知である（例えば FR 2862533 A1, JP 2001-72583 A 等を参照のこと。）。結果として、スチルベン誘導体を有効成分とする薬剤は先行技術の域を出ないから、PCT 規則 13.2 の第 2 文の意味において、この共通事項であるスチルベン誘導体を有効成分とする薬剤は特別な技術的事項ではない。

したがって、発明 $\alpha - \gamma$ は単一の一般的発明概念を形成するように連関している一群の発明とは認められず、発明の単一性を有しないものとなっている。