

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第5679458号
(P5679458)

(45) 発行日 平成27年3月4日(2015.3.4)

(24) 登録日 平成27年1月16日(2015.1.16)

(51) Int.Cl.	F 1
A 61 K 31/423	(2006.01) A 61 K 31/423
A 61 P 3/00	(2006.01) A 61 P 3/00
A 61 P 43/00	(2006.01) A 61 P 43/00 105
C 07 D 263/58	(2006.01) C 07 D 263/58
A 61 P 3/04	(2006.01) A 61 P 3/04

請求項の数 4 (全 13 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2011-533064 (P2011-533064)
 (86) (22) 出願日 平成22年9月27日 (2010.9.27)
 (86) 国際出願番号 PCT/JP2010/066678
 (87) 国際公開番号 WO2011/037223
 (87) 国際公開日 平成23年3月31日 (2011.3.31)
 審査請求日 平成25年6月5日 (2013.6.5)
 (31) 優先権主張番号 特願2009-222853 (P2009-222853)
 (32) 優先日 平成21年9月28日 (2009.9.28)
 (33) 優先権主張国 日本国 (JP)

(73) 特許権者 000163006
 興和株式会社
 愛知県名古屋市中区錦3丁目6番29号
 (74) 代理人 110000084
 特許業務法人アルガ特許事務所
 (74) 代理人 100077562
 弁理士 高野 登志雄
 (74) 代理人 100096736
 弁理士 中嶋 俊夫
 (74) 代理人 100117156
 弁理士 村田 正樹
 (74) 代理人 100111028
 弁理士 山本 博人

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】内臓脂肪重量の低下剤

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

(R) - 2 - [3 - [[N - (ベンズオキサゾール - 2 - イル) - N - 3 - (4 - メトキシフェノキシ) プロピル] アミノメチル] フェノキシ] 酪酸、(R) - 2 - [3 - [[N - (5 - フルオロベンズオキサゾール - 2 - イル) - N - 2 - フェノキシエチル] アミノメチル] フェノキシ] 酪酸、これらの塩及びこれらの溶媒和物から選ばれる化合物を有効成分とする FGF21 産生促進剤。

【請求項 2】

(R) - 2 - [3 - [[N - (ベンズオキサゾール - 2 - イル) - N - 3 - (4 - メトキシフェノキシ) プロピル] アミノメチル] フェノキシ] 酪酸、(R) - 2 - [3 - [[N - (5 - フルオロベンズオキサゾール - 2 - イル) - N - 2 - フェノキシエチル] アミノメチル] フェノキシ] 酪酸、これらの塩及びこれらの溶媒和物から選ばれる化合物を有効成分とする内臓脂肪重量の低下剤。

【請求項 3】

(R) - 2 - [3 - [[N - (ベンズオキサゾール - 2 - イル) - N - 3 - (4 - メトキシフェノキシ) プロピル] アミノメチル] フェノキシ] 酪酸、(R) - 2 - [3 - [[N - (5 - フルオロベンズオキサゾール - 2 - イル) - N - 2 - フェノキシエチル] アミノメチル] フェノキシ] 酪酸、これらの塩及びこれらの溶媒和物から選ばれる化合物、並びに薬学的に許容される担体を含有してなる FGF21 産生促進用医薬組成物。

【請求項 4】

(R) - 2 - [3 - [[N - (ベンズオキサゾール - 2 - イル) - N - 3 - (4 - メトキシフェノキシ) プロピル] アミノメチル] フェノキシ] 酪酸、(R) - 2 - [3 - [N - (5 - フルオロベンズオキサゾール - 2 - イル) - N - 2 - フェノキシエチル] アミノメチル] フェノキシ] 酪酸、これらの塩及びこれらの溶媒和物から選ばれる化合物、並びに薬学的に許容される担体を含有してなる内臓脂肪重量の低下用医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、ペルオキシゾーム増殖剤応答性受容体 (PPAR; Peroxisome Proliferator-Activated Receptor) のうち タイプ (PPAR) を選択的に活性化する化合物 (1) を有効成分とするFGF21産生促進剤、内臓脂肪重量の低下剤、並びに肥満、メタボリックシンドロームの予防及び/又は治療剤に関する。 10

【背景技術】

【0002】

PPARは核内受容体ファミリーに属する受容体の一つである。PPARは標的遺伝子の特定の部位 (PPRE: peroxisome proliferator responsive elements) に結合し、遺伝子の転写を正または負に調節する。この受容体には現在までに3つのサブタイプ (α、β、γ) の存在が知られている (非特許文献1)。 20

【0003】

これらのうち、PPARは主に肝臓に発現しており、PPARが活性化されるとリポプロティンリパーゼ (LPL) の阻害タンパクであるアポC-I-IIの産生が抑制され、次いでLPLが活性化されて、その結果、脂肪が分解される。

PPARアゴニストとしては、不飽和脂肪酸やフィブラーート系薬剤、例えばフェノフィブラーート、ベザフィブラーート、ゲムフィブロジル等の薬剤が知られている (非特許文献2)。PPARアゴニストは、脂肪酸の酸化に関するアセチル-CoAカルボキシラーゼ (ACC) やカルニチンパルミトイльтランスフェラーゼ1 (CPT-1) を活性化することも報告されている。

【0004】

30

一方、線維芽細胞増殖因子 (FGFs: Fibroblast growth factors) は、アミノ酸配列の相同性からヒトにおいて現在22種類存在することが明らかにされている (特許文献1)。その作用は、単に線維芽細胞に対する増殖活性のみならず、形態形成、血管形成、腫瘍形成、創傷治癒、神経生存維持、代謝調節等多様な生命現象に深く関与していることが知られている (非特許文献3-4)。NishimuraらがヒトFGF21を同定したこと (非特許文献5) を契機として、FGF21が、脂肪の分解促進と蓄積の抑制、高コレステロール血症、糖尿病 (高血糖、インスリン抵抗性) 及び肥満を改善することが報告されている (非特許文献6)。

【0005】

40

Itoらは、ゼブラフィッシュにおいてFGF21の機能を抑制し、その形質を解析したところ、当該ゼブラフィッシュでは赤血球が消失又は減少すること、並びにこの赤血球の消失又は減少は、造血幹細胞の赤血球・骨髄球系列細胞への分化の抑制によるものであることを見出した (非特許文献7)。また、ゼブラフィッシュにおけるFGF21の機能抑制より、造血幹細胞のリンパ球系列細胞への分化が促進し得ることを見出した。

従って、FGF21は、造血幹細胞の赤血球・骨髄球系列細胞 (例えば、赤血球、巨核球、好酸球、好中球、好塩基球、单球、樹状細胞)への分化、あるいは造血幹細胞のリンパ球系列細胞 (例えば、T細胞、B細胞、NK細胞)への分化を制御し得ると考えられる。また、FGF21の発現又は機能を調節する物質は、造血幹細胞の赤血球・骨髄球系列細胞又はリンパ球系列細胞への分化調節能を有し、血液細胞の異常に起因する疾患 (例えば、造血疾患、免疫疾患、アレルギー疾患)に対する医薬あるいは研究用試薬の開発など

50

に有用であることが報告されている（特許文献1）。

【0006】

F G F 2 1の產生を促進する物質としてP P A R アゴニストの一つであるフェノフィブラーートが知られ、フェノフィブラーート製剤を2週間、高トリグリセライド血症患者に投与することにより、F G F 2 1の血清中濃度が28%上昇したことが報告されている（非特許文献8）。しかし、フェノフィブラーートにより内臓脂肪重量の低下作用を発現させるには、より高用量の投与が必要であるが、フェノフィブラーートは高用量投与するとヘモグロビン量の減少、肝細胞の壊死などの有害事象を発現することがラットのモデルで報告されており（非特許文献9）、高用量投与には限界がある。実際に、臨床に於いてフェノフィブラーート投与により内臓脂肪重量が低下したとの報告はない。

10

【0007】

また、近年、フィブラーート系薬剤よりも強力且つ選択的にP P A R 活性化作用をもつ化合物が報告されている（特許文献2～11）が、これらの化合物がF G F 2 1の產生を促進するとの報告はなく、また、内臓脂肪重量の低下作用を有するとの報告もない。

これまでに血中のF G F 2 1濃度を著明に増加させる方法としては、F G F 2 1タンパク質の注射（非特許文献10）、F G F 2 1遺伝子の導入（非特許文献11）あるいはF G F 2 1の発現を促進するもうひとつの転写因子C R E B - Hを遺伝子導入により活性化する方法（非特許文献12）が報告されているのみである。しかも、これらの方法は、安全性が確立されていない。特に、F G F 2 1遺伝子の導入やC R E B - H遺伝子の導入には、ベクターを用いる必要があり、もしヒトに用いた場合には、高い確率で副作用が発現すると考えられる。

20

【0008】

肥満には、皮下に脂肪がたまるタイプの皮下脂肪型肥満、内臓の周りに脂肪がたまるタイプの内臓脂肪型肥満、見た目は標準だが体脂肪率が高いタイプの隠れ肥満等がある。メタボリックシンドロームとして問題になるのは特に内臓脂肪型肥満であり、重大な疾患に進みやすい危険性をはらんでいる。従って、内臓脂肪重量の低下作用を有する化合物は、肥満、とりわけ内臓脂肪型肥満やメタボリックシンドロームの予防又は治療剤として有用である可能性がある。以上のことから、副作用を伴わない内臓脂肪重量の低下剤が求められている。

30

【先行技術文献】

【特許文献】

【0009】

【特許文献1】特開2006-246823号公報

【特許文献2】WO2005/023777号パンフレット

【特許文献3】WO2009/080248号パンフレット

【特許文献4】WO2009/047240号パンフレット

【特許文献5】WO2008/006043号パンフレット

【特許文献6】WO2006/049232号パンフレット

【特許文献7】WO2006/033891号パンフレット

【特許文献8】WO2005/009942号パンフレット

40

【特許文献9】WO2004/103997号パンフレット

【特許文献10】WO2005/097784号パンフレット

【特許文献11】WO2003/043997号パンフレット

【非特許文献】

【0010】

【非特許文献1】J. Lipid Research 37, 907-925 (1996)

【非特許文献2】Trends in Endocrinology Metabolism 15, 324-330 (2004)

【非特許文献3】Genome Biol. 21, REVIEW, 3005 (2000)

50

1)

【非特許文献 4】 Trends Genet. 20, 563 - 569 (2004)

【非特許文献 5】 Biochim. Biophys. Acta, 1492, 203 - 206 (2000)

【非特許文献 6】 Biodrugs, 22 (1), 37 - 44 (2008)

【非特許文献 7】 EMBO Rep. 7, 649 - 54 (2006)

【非特許文献 8】 Cell Metabolism, 8, 169 - 174 (2008)

【非特許文献 9】 J. Pharmacol. Ther. 23, 15 - 36 (1995)

【非特許文献 10】 Diabetes, 58, 250 - 259 (2009)

【非特許文献 11】 J. Clin. Invest. 115, 1627 - 1635 (2005)

【非特許文献 12】 糖尿病 52 (Suppl. 1), S - 157 (2009) 第24回日本糖尿病学会、2009年抄録

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0011】

本発明の課題は、副作用が少なく、FFG21の産生を促進し、内臓脂肪重量を低下させ、肥満並びにメタボリックシンドロームの予防及び/又は治療に有用な薬剤を提供することにある。

【課題を解決するための手段】

【0012】

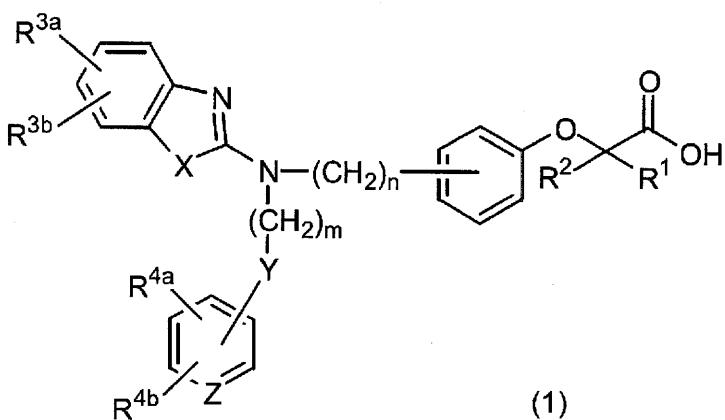
本発明者らは、斯かる実情に鑑み、鋭意研究した結果、前記特許文献2において、選択的なPPAR活性化作用を有し、ヒトを含む哺乳類における体重増加や肥満を伴わない、高脂血症、動脈硬化症、糖尿病、糖尿病合併症（糖尿病性腎症等）、炎症、心疾患等の予防及び/又は治療薬として有用であることが開示されている下記一般式(1)で表されるフェノキシ酢酸誘導体又はその塩が、血漿中のFFG21濃度を有意に上昇させ、さらには内臓脂肪重量を低下させる効果に優れることを見出し、本発明を完成した。

【0013】

すなわち、本発明は、次の一般式(1)：

【0014】

【化1】



【0015】

(式中、R¹及びR²は同一又は異なって水素原子、メチル基又はエチル基を示し；R³^a、R³^b、R⁴^a及びR⁴^bは同一又は異なって水素原子、ハロゲン原子、ニトロ基、水酸基、C₁ - C₄アルキル基、トリフルオロメチル基、C₁ - C₄アルコキシ基、C₁ - C₄アルキルカルボニルオキシ基、ジ-C₁ - C₄アルキルアミノ基、C₁ - C₄アルキルスルフオニルオキシ基、C₁ - C₄アルキルスルフオニル基、C₁ - C₄アルキルスルフィニル基、又はC₁ - C₄アルキルチオ基を示すか、R³^aとR³^bあるいはR⁴^aとR⁴^bが結合し

20

30

40

50

てアルキレンジオキシ基を示し；Xは酸素原子、硫黄原子又はN - R⁵（R⁵は水素原子、C₁ - 4アルキル基、C₁ - 4アルキルスルフォニル基、C₁ - 4アルキルオキシカルボニル基を示す）を示し；Yは酸素原子、S(O)₁基（1は0～2の数を示す）、カルボニル基、カルボニルアミノ基、アミノカルボニル基、スルフォニルアミノ基、アミノスルフォニル基、又はNH基を示し；ZはCH又はNを示し；nは1～6の数を示し；mは2～6の数を示す。）

で表される化合物、若しくはその塩又はこれらの溶媒和物を有効成分とするFGF21産生促進剤を提供するものである。

また、本発明は、前記一般式（1）で表される化合物、若しくはその塩又はこれらの溶媒和物を有効成分とする、内臓脂肪重量の低下剤を提供するものである。10

【0016】

また、本発明は、前記一般式（1）で表される化合物、若しくはその塩又はこれらの溶媒和物を有効成分とする肥満の予防及び／又は治療剤を提供するものである。より詳細には、前記一般式（1）で表される化合物、若しくはその塩又はこれらの溶媒和物を有効成分とする内臓脂肪型肥満の予防及び／又は治療剤を提供するものである。

【0017】

さらに、本発明は、前記一般式（1）で表される化合物、若しくはその塩又はこれらの溶媒和物を有効成分とするメタボリックシンドロームの予防及び／又は治療剤を提供するものである。

【0018】

また、本発明は、前記一般式（1）で表される化合物、若しくはその塩又はこれらの溶媒和物の有効量を投与することを特徴とする、FGF21の産生促進方法を提供するものである。20

【0019】

また、本発明は、前記一般式（1）で表される化合物、若しくはその塩又はこれらの溶媒和物の有効量を投与することを特徴とする、内臓脂肪重量の低下方法を提供するものである。

【0020】

また、本発明は、前記一般式（1）で表される化合物、若しくはその塩又はこれらの溶媒和物の有効量を投与することを特徴とする、肥満の予防及び／又は治療方法を提供するものである。より詳細には、前記一般式（1）で表される化合物、若しくはその塩又はこれらの溶媒和物の有効量を投与することを特徴とする、内臓脂肪型肥満の予防及び／又は治療方法を提供するものである。30

【0021】

さらに、本発明は、前記一般式（1）で表される化合物、若しくはその塩又はこれらの溶媒和物の有効量を投与することを特徴とする、メタボリックシンドロームの予防及び／又は治療方法を提供するものである。

【0022】

また、本発明は、FGF21の産生促進剤を製造するための、前記一般式（1）で表される化合物、若しくはその塩又はこれらの溶媒和物の使用を提供するものである。40

【0023】

また、本発明は、内臓脂肪重量の低下剤を製造するための、前記一般式（1）で表される化合物、若しくはその塩又はこれらの溶媒和物の使用を提供するものである。

【0024】

また、本発明は、肥満の予防及び／又は治療剤を製造するための、前記一般式（1）で表される化合物、若しくはその塩又はこれらの溶媒和物の使用を提供するものである。より詳細には、内臓脂肪型肥満の予防及び／又は治療剤を製造するための、前記一般式（1）で表される化合物、若しくはその塩又はこれらの溶媒和物の使用を提供するものである。

【0025】

10

20

30

40

50

また、本発明は、メタボリックシンドロームの予防及び／又は治療剤を製造するための、前記一般式（1）で表される化合物、若しくはその塩又はこれらの溶媒和物の使用を提供するものである。

また、本発明は、FGF21産生促進のための、前記一般式（1）で表される化合物、若しくはその塩又はこれらの溶媒和物を提供するものである。

また、本発明は、内臓脂肪重量の低下のための、前記一般式（1）で表される化合物、若しくはその塩又はこれらの溶媒和物を提供するものである。

また、本発明は、肥満、より詳細には、内臓脂肪型肥満の予防及び／又は治療のための、前記一般式（1）で表される化合物、若しくはその塩又はこれらの溶媒和物を提供するものである。10

さらに、本発明は、メタボリックシンドロームの予防及び／又は治療のための、前記一般式（1）で表される化合物、若しくはその塩又はこれらの溶媒和物を提供するものである。

【発明の効果】

【0026】

本発明の薬剤は、優れたFGF21の産生促進作用及び内臓脂肪重量の低下作用を有し、且つ安全性も高いため、肥満、とりわけ内臓脂肪型肥満や、その上流に位置するメタボリックシンドロームの予防及び／又は治療に有用である。

【図面の簡単な説明】

【0027】

【図1】化合物A及びフェノフィブラーートの血漿中トリグリセリド(TG)に対する作用を示す図である。

【図2】化合物A及びフェノフィブラーートの血漿中FGF21に対する作用を示す図である。

【図3】化合物A及びフェノフィブラーートにおける血漿中FGF21濃度と血漿トリグリセリド(TG)値との相関を示す図である。

【図4】化合物A及びフェノフィブラーートの精巣上体脂肪重量に対する作用を示す図である。

【発明を実施するための形態】

【0028】

一般式（1）中、R^{3a}、R^{3b}、R^{4a}及びR^{4b}のハロゲン原子としては、フッ素原子、塩素原子、臭素原子等が挙げられる。このうちフッ素原子と塩素原子が特に好ましい。

【0029】

R^{3a}、R^{3b}、R^{4a}、R^{4b}及びR⁵のC₁₋₄アルキル基としては、メチル基、エチル基、n-プロピル基、イソプロピル基、ブチル基等が挙げられる。このうちメチル基が特に好ましい。

【0030】

R^{3a}、R^{3b}、R^{4a}及びR^{4b}のC₁₋₄アルコキシ基としては、メトキシ基、エトキシ基、n-プロポキシ基、イソプロポキシ基、ブトキシ基等が挙げられる。このうちメトキシ基が特に好ましい。40

【0031】

R^{3a}、R^{3b}、R^{4a}及びR^{4b}のC₁₋₄アルキルカルボニルオキシ基としては、メチルカルボニルオキシ基、エチルカルボニルオキシ基、n-プロピルカルボニルオキシ基、イソプロピルカルボニルオキシ基、ブチルカルボニルオキシ基等が挙げられる。このうちメチルカルボニルオキシ基が特に好ましい。

【0032】

R^{3a}、R^{3b}、R^{4a}及びR^{4b}のジ-C₁₋₄アルキルアミノ基としては、ジメチルアミノ基、ジエチルアミノ基、ジイソプロピルアミノ基等が挙げられる。このうちジメチルアミノ基が特に好ましい。50

【0033】

R^{3a} 、 R^{3b} 、 R^{4a} 及び R^{4b} のC_{1~4}アルキルスルフォニルオキシ基としては、メチルスルフォニルオキシ基、エチルスルフォニルオキシ基等が挙げられる。このうちメチルスルフォニルオキシ基が特に好ましい。

【0034】

R^{3a} 、 R^{3b} 、 R^{4a} 、 R^{4b} 及び R^5 のC_{1~4}アルキルスルフォニル基としては、メチルスルフォニル基、エチルスルフォニル基等が挙げられる。このうちメチルスルフォニル基が特に好ましい。

【0035】

R^{3a} 、 R^{3b} 、 R^{4a} 及び R^{4b} のC_{1~4}アルキルスルフィニル基としては、メチルスルフィニル基、エチルスルフィニル基等が挙げられる。このうちメチルスルフィニル基が特に好ましい。10

【0036】

R^{3a} 、 R^{3b} 、 R^{4a} 及び R^{4b} のC_{1~4}アルキルチオ基としては、メチルチオ基、エチルチオ基等が挙げられる。このうちメチルチオ基が特に好ましい。

【0037】

R^{3a} と R^{3b} あるいは R^{4a} と R^{4b} が結合してできるアルキレンジオキシ基としては、メチレンジオキシ基、エチレンジオキシ基等が挙げられる。このうちメチレンジオキシ基が特に好ましい。

【0038】

R^5 のC_{1~4}アルキルオキシカルボニル基としては、メチルオキシカルボニル基、エチルオキシカルボニル基等が挙げられる。このうちメチルオキシカルボニル基が特に好ましい。20

【0039】

R^1 及び R^2 としては、同時に水素原子であるか、同時にメチル基である場合、又はそれぞれメチル基と水素原子、エチル基と水素原子である場合が特に好ましい。

【0040】

Xは酸素原子、硫黄原子又はN-R⁵を示すが、酸素原子が好ましい。また、Yは酸素原子、S(O)₁、カルボニル基、カルボニルアミノ基、アミノカルボニル基、スルフォニルアミノ基、アミノスルフォニル基又はNH基を示すが、酸素原子が好ましい。ZはCH又はNを示すが、CHが好ましい。1は0~2の数を示すが、2が好ましい。nは1~6の数を示すが、1~3の数が好ましい。mは2~6の数を示すが、2~4、特に2又は3が好ましい。30

【0041】

本発明化合物のうち、より好ましい化合物としては、(R)-2-[3-[N-(ベンズオキサゾール-2-イル)-N-3-(4-メトキシフェノキシ)プロピル]アミノメチル]フェノキシ]酪酸、又は(R)-2-[3-[N-(5-フルオロベンズオキサゾール-2-イル)-N-2-フェノキシエチル]アミノメチル]フェノキシ]酪酸を挙げることができる。

【0042】

本発明の一般式(1)で表される化合物は、例えば、WO 2005/023777号パンフレットに記載の方法に従って製造することができる。40

【0043】

また、本発明では一般式(1)で表される化合物の塩若しくは溶媒和物を用いることができる。塩及び溶媒物は常法により、製造することができる。

【0044】

本発明の一般式(1)で表される化合物の塩としては、薬学的に許容できるものであれば特に制限はないが、例えば、ナトリウム塩、カリウム塩等のアルカリ金属塩；カルシウム塩、マグネシウム塩等のアルカリ土類金属塩；アンモニウム塩、トリアルキルアミン塩等の有機塩基塩；塩酸塩、硫酸塩等の鉱酸塩；酢酸塩等の有機酸塩等が挙げられる。50

【0045】

本発明の一般式(1)で表される化合物若しくはその塩の溶媒和物としては、水和物、アルコール和物(例えば、エタノール和物)等が挙げられる。

【0046】

本発明の一般式(1)で表される化合物は不斉炭素を有しているためR体及びS体の光学異性体が存在するが、それらはすべて本発明に包含される。

【0047】

後述する実施例において示されるように、前記一般式(1)で表される化合物は、多食による肥満を伴い高脂血症を呈するZucker fatty ラットを用いた評価系及びKK-Ayマウスを用いた評価系において、血漿中トリグリセリドを顕著に低下させ、FGF21濃度を有意に上昇させる作用を示した。また、内臓脂肪重量を有意に低下させた。従って、本発明の薬剤は、肥満、とりわけ内臓脂肪型肥満や、その上流に位置するメタボリックシンドロームの予防及び/又は治療に有用である。10

【0048】

本発明の一般式(1)で表される化合物、若しくはその塩又はこれらの溶媒和物は単独又は他の薬学的に許容される担体を用いて、錠剤、カプセル剤、顆粒剤、粉末剤、ローション剤、軟膏剤、注射剤、座剤等の剤型とすることができます。これらの製剤は、公知の方法で製造することができる。例えば、経口投与用製剤とする場合には、トラガントガム、アラビアガム、ショ糖脂肪酸エステル、レシチン、オリーブ油、大豆油、PEG400等の溶解剤；澱粉、マンニトール、乳糖等の賦形剤；カルボキシメチルセルロースナトリウム、ヒドロキシプロピルセルロース等の結合剤；結晶セルロース、カルボキシメチルセルロースカルシウム等の崩壊剤；タルク、ステアリン酸マグネシウム等の滑沢剤、軽質無水ケイ酸等の流動性向上剤等を適宜組み合わせて処方することにより製造することができる。20

【0049】

本発明の一般式(1)で表される化合物、若しくはその塩又はこれらの溶媒和物は、経口投与又は非経口投与により投与される。本発明の医薬の投与量は、患者の体重、年齢、性別、症状等によって異なるが、通常成人の場合、化合物(1)として一日0.01~1000mg、好ましくは0.1~100mgを1~3回に分けて投与するのが好ましい。30

【実施例】

【0050】

以下、実施例により本発明をより具体的に説明するが、本発明はこれら実施例により何ら限定されるものではない。

【0051】

実施例1 Zucker fatty ラットに対する作用

本試験には、前記特許文献2に実施例14として開示されている化合物の光学活性体である、(R)-2-[3-[N-(ベンズオキサゾール-2-イル)-N-3-(4-メトキシフェノキシ)プロピル]アミノメチル]フェノキシ]酪酸(以下、化合物Aと表記する)を使用した。化合物A及びフェノフィブロートをZucker fatty ラットに投与したときの血漿中トリグリセリド(TG)、血漿中FGF21濃度、及び精巣上体脂肪重量に対する効果を、次法に従って測定した。40

【0052】

1. 供試動物及び飼育環境

多食による肥満を伴い高脂血症を呈するZucker fatty ラット(Crlj : ZUC-Lepr^{-fa} Genotype : fa/fa)及び肥満を呈さないZucker lean ラット(Crlj : ZUC-Lepr^{-fa} Genotype : fa/+ or +/+)を日本チャールス・リバー株式会社より購入し、8週齢で供試した。

実験期間を通じて、明暗サイクル(室内光による明るい期間：午前7時~午後7時)、温度23±3℃、湿度55±15%に維持された飼育室で飼育し、固形飼料(CE-2；50

オリエンタル酵母工業（株）及び水道水を自由摂取させた。

【0053】

2. 薬物調製

化合物A及びフェノフィブラーートのそれぞれを、メチルセルロース（メトローズ（商標登録）、SM-400、信越化学工業（株））の0.5質量%水溶液に懸濁し、水溶液の投与量が2mL/kgになるように調製した。懸濁液は遮光瓶にて冷蔵（4℃）保存し、調製は7日ごとに行った。

【0054】

3. 試験方法

ラットを体重、血漿中総コレステロール濃度及びトリグリセライド濃度が平均化されるように、以下の4群（各群6匹）、すなわち、第一群として対照群、第二群として化合物A（1mg/kg）投与群、第三群として化合物A（3mg/kg）投与群、第四群としてフェノフィブラーート（300mg/kg）投与群に群分けした。また、陰性対照群としてzucker lean rat（5匹）を用いた。

各薬剤は、1日1回（午前中）に14日間反復経口投与した。第一群の対照群には、メチルセルロース0.5質量%水溶液2mL/kgを経口投与した。

投与開始から14日目に、投与より4時間絶食した後、採血を行い、血漿中のトリグリセライド濃度を酵素法により、FGF21濃度をELISA法（Human FGF-21 ELISA Kit, Bioworld社）にて測定した。採血の翌日、麻酔下に開腹後、精巣脂肪上体脂肪を摘出し、その重量を測定した。なお、精巣上体脂肪重量は、内臓脂肪の全体重量と高く相關していることから、薬剤の内臓脂肪重量を評価するための指標として使用される（FASEB J. 20, 1203-1205 (2006)）。

【0055】

4. 統計解析及びデータ処理法

結果は、平均値±標準誤差で示した。対照群とzucker leanラットとの比較はunpaired Student's t-testで行い、対照群と薬物投与群との比較はDunnettの多重比較検定またはTukeyの多重比較検定で行い、危険率5%未満を有意差ありと判定した。

【0056】

5. 試験結果

図1に血漿中トリグリセライドの濃度を示す。横軸は左側から第一群の対照群、第二群の化合物A（1mg/kg）投与群、第三群の化合物A（3mg/kg）投与群、第四群のフェノフィブラーート（300mg/kg）投与群、及び陰性対照群（zucker lean rat）である。図1中の*印はp<0.05、#はp<0.001で有意差があることを示している。

その結果、血漿中のトリグリセライド濃度は、第三群では対照群に比べて大幅な低下が認められ、危険率p<0.05で明らかな血漿トリグリセライド低下作用を示した。一方、第四群では僅かに低下傾向を示すに過ぎなかった。

【0057】

図2に血漿中FGF21の濃度を示す。横軸は左側から第一群の対照群、第二群の化合物A（1mg/kg）投与群、第三群の化合物A（3mg/kg）投与群、第四群のフェノフィブラーート（300mg/kg）投与群、及び陰性対照群（zucker lean rat）である。図2中の***印はp<0.001で有意差があることを示している。

その結果、血漿中のFGF21濃度は、第三群では対照群に比べて大幅な上昇が認められ、危険率p<0.001で明らかな血漿FGF21産生促進作用を示した。一方、第四群では対照群に比して僅かに上昇傾向を示すに過ぎなかった（P=0.2）。

【0058】

図3に、血漿中トリグリセライド濃度と血漿中FGF21濃度の相関関係を調べた結果を示す。その結果、両者の間には有意な負の相関が認められた。

10

20

30

40

50

以上のデータが示すように、本モデル動物において化合物Aは血漿中のTGを低下させ、新規の糖・脂質代謝改善因子であるFGF21の発現を著しく増大させる作用を有することが確認され、化合物Aは高度な脂質代謝異常を有する病態でも血漿中のFGF21濃度を増大させて脂質代謝を改善できる可能性が示唆された。

【0059】

図4に内臓脂肪重量の指標である、精巣上体脂肪重量の測定結果を示す。その結果、化合物A(3mg/kg)投与群において、対照群に比べて強力で、なおかつ統計学的にも有意な精巣上体脂肪重量の低下が認められた(*: p < 0.05)。また、投与期間中に特に有害事象は確認されなかった。一方、フェノフィブラーートの精巣上体脂肪重量に対する効果は僅かであり、統計学的な有意差も認められなかった。ところで、フェノフィブラーートはラットに30mg/kg以上の投与で種々の有害事象が発現することが報告されている(非特許文献9)。ラットの摂餌量を検討したところ、フェノフィブラーート300mg/kgを投与した群において、投与から10日間は対照群と同等であったが、11日後から14日後における摂餌量が14%低下したことから、毒性が懸念された。しかし、このような状態であっても脂肪重量は僅かに減少する傾向を示すに留まった。

以上のことから、化合物AがFGF21を著明に増加させ、なおかつ、その結果として、内臓脂肪重量を強力に低下させることが確認された。さらに、これらの効果が既存のフィブラーート、すなわちPPARアゴニストで最も優れているフェノフィブラーートと比較しても、明らかに強力であり、高い安全性を示すことが確認された。

【0060】

実施例2 KK-Ayマウスに対する内臓脂肪重量低下作用

本試験には、前記化合物A、及び前記特許文献2に実施例229として開示されている化合物の光学活性体である、(R)-2-[3-[N-(5-フルオロベンズオキサゾール-2-イル)-N-2-フェノキシエチル]アミノメチル]フェノキシ]酪酸(以下、化合物Bと表記する)を使用した。化合物A、化合物B及びフェノフィブラーートをKK-Ayマウスに投与したときの精巣上体脂肪重量、腸間膜脂肪重量に対する効果を、次法に従って測定した。

【0061】

1. 供試動物及び飼育環境

方法：雄性KK-Ayマウス(KK-Ay/TaJcl)を日本クレアより購入し、10週齢で供試した。マウスに化合物を4週間、1日1回経口投与した。実験期間を通じて、明暗サイクル(室内光による明るい期間：午前7時～午後7時)、温度23±3℃、湿度55±15%に維持された飼育室で飼育し、固体飼料(CE-2；オリエンタル酵母工業(株))及び水道水を自由摂取させた。

【0062】

2. 薬物調製

化合物A、B及びフェノフィブラーートのそれぞれを、メチルセルロース(メトローズ(商標登録)、SM-400、信越化学工業(株))の0.5質量%水溶液に懸濁し、水溶液の投与量が5mL/kgになるように調製した。懸濁液は遮光瓶にて冷蔵(4℃)保存し、調製は7日ごとに行った。

【0063】

3. 試験方法

動物を、以下の4群(各群6匹)、すなわち、第一群として対照群、第二群として化合物A(1mg/kg)投与群、第三群として化合物B(3mg/kg)投与群、第四群としてフェノフィブラーート(300mg/kg)投与群に群分けした。

各薬剤は、1日1回(午前中)に35日間反復経口投与した。第一群の対照群には、メチルセルロース0.5質量%水溶液5mL/kgを経口投与した。

投与終了後に、精巣上体脂肪及び腸間膜脂肪を摘出し、重量を測定した。

【0064】

4. 計解析及びデータ処理法

10

20

30

40

50

結果は、対照群における脂肪重量に対する各化合物投与群における脂肪重量の低下率について、平均値で示した。

【0065】

5. 試験結果

表1に結果を示す。化合物A(1mg/kg)投与群及び化合物B(3mg/kg)投与群は、フェノフィブラーート(300mg/kg)投与群よりも強力な脂肪重量の低下作用を有していた。なお、化合物A及び化合物Bの投与期間中に特に有害事象は確認されなかった。

【0066】

【表1】

10

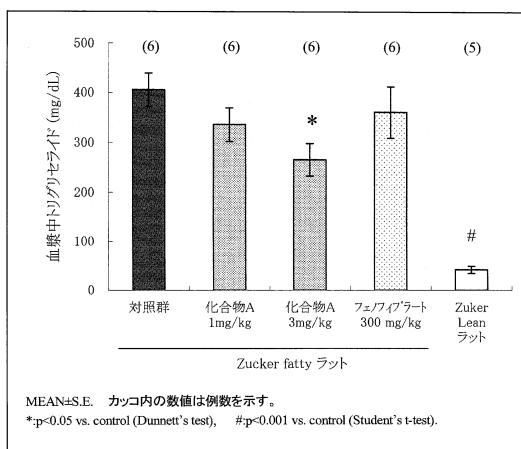
肥満モデルマウス (KK-Ayマウス) における脂肪重量低下作用

化合物名 (用量)	化合物A (1mg/kg)	化合物B (3mg/kg)	フェノフィブラーート (300mg/kg)
精巣上体脂肪重量	27%	—	15%
腸間膜脂肪重量	20%	17%	13%

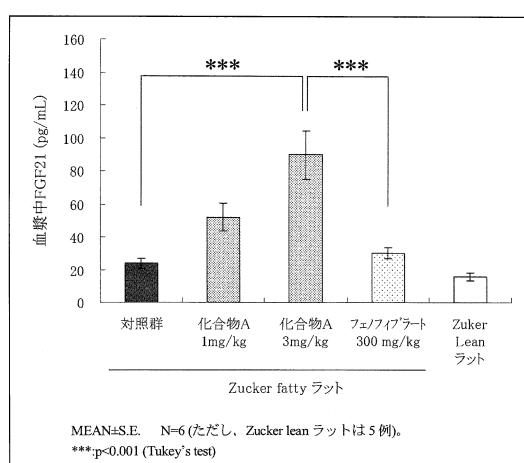
—:未測定

20

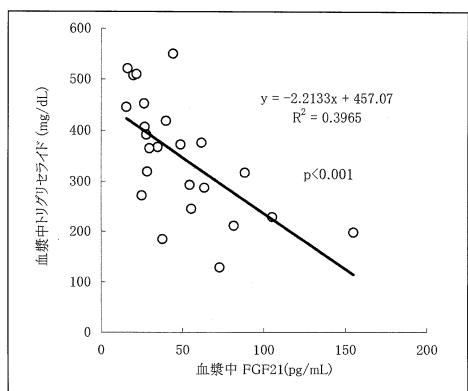
【図1】



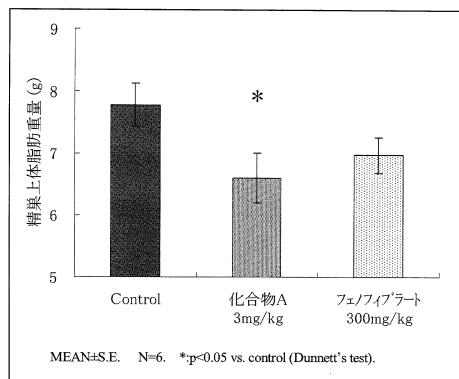
【図2】



【図3】



【図4】



フロントページの続き

(51)Int.CI. F I

A 6 1 P	3/06	(2006.01)	A 6 1 P	3/06
A 6 1 P	3/10	(2006.01)	A 6 1 P	3/10

(72)発明者 滝沢 俊明

東京都東村山市野口町2-17-43 興和株式会社東京創薬研究所内

(72)発明者 村上 健太郎

東京都東村山市野口町2-17-43 興和株式会社東京創薬研究所内

審査官 濱下 浩一

(56)参考文献 國際公開第2005/023777 (WO, A1)

國際公開第2008/120472 (WO, A1)

YAMAZAKI, Y. et al., Design and synthesis of highly potent and selective human peroxisome proliferator-activated receptor alpha agonists, BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS, PERGAMON, ELSEVIER SCIENCE, 2007年, Vol.17, No.16, p.4689-4693

BADMAN, M. K. et al., Hepatic Fibroblast Growth Factor 21 Is Regulated by PPAR and Is a Key Mediator of Hepatic Lipid Metabolism in Ketotic States, CELL METABOLISM, 2007年, Vol.5, p.426-437

GALMAN, C. et al., The Circulating Metabolic Regulator FGF21 Is Induced by Prolonged Fasting and PPAR Activation in Man, CELL METABOLISM, 2008年, Vol.8, p.169-174

INAGAKI, T. et al., Endocrine Regulation of the Fasting Response by PPAR -Mediated Induction of Fibroblast Growth Factor 21, CELL METABOLISM, 2007年, Vol.5, p.415-425

LUNDASEN, T. et al., PPAR is a key regulator of hepatic FGF2, BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS, 2007年, Vol.360, No.2, p.437-440

(58)調査した分野(Int.CI., DB名)

A 6 1 K 3 1 / 4 2 3

A 6 1 P 3 / 0 0

A 6 1 P 4 3 / 0 0

A 6 1 P 3 / 0 4

A 6 1 P 3 / 0 6

A 6 1 P 3 / 1 0

C 0 7 D 2 6 3 / 5 8

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

JSTplus / JMEDplus (JDreamIII)