

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6576445号
(P6576445)

(45) 発行日 令和1年9月18日 (2019.9.18)

(24) 登録日 令和1年8月30日 (2019.8.30)

(51) Int. Cl.

F I

A 6 1 K 31/365	(2006.01)	A 6 1 K 31/365	
C 0 7 D 307/58	(2006.01)	C 0 7 D 307/58	C S P
A 6 1 K 31/155	(2006.01)	A 6 1 K 31/155	
A 6 1 K 9/08	(2006.01)	A 6 1 K 9/08	
A 6 1 K 9/14	(2006.01)	A 6 1 K 9/14	

請求項の数 10 (全 61 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2017-519570 (P2017-519570)
 (86) (22) 出願日 平成27年12月18日 (2015.12.18)
 (65) 公表番号 特表2017-535531 (P2017-535531A)
 (43) 公表日 平成29年11月30日 (2017.11.30)
 (86) 国際出願番号 PCT/CN2015/097938
 (87) 国際公開番号 W02016/173274
 (87) 国際公開日 平成28年11月3日 (2016.11.3)
 審査請求日 平成29年4月7日 (2017.4.7)
 (31) 優先権主張番号 201510217149.X
 (32) 優先日 平成27年4月30日 (2015.4.30)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関
中国 (CN)
 (31) 優先権主張番号 201510294277.4
 (32) 優先日 平成27年6月2日 (2015.6.2)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関
中国 (CN)

(73) 特許権者 517121939
中国科学院微生物研究所
INSTITUTE OF MICROBIOLOGY, CHINESE ACADEMY OF SCIENCES
中華人民共和国 100101 北京市朝陽区北辰西路1号院3号
 (74) 代理人 110000947
特許業務法人あーく特許事務所
 (72) 発明者 劉 宏偉
中華人民共和国 100101 北京市朝陽区北辰西路1号院3号
 (72) 発明者 汪 ▲カイ▼
中華人民共和国 100101 北京市朝陽区北辰西路1号院3号

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ファルネシル類の芳香族化合物及びその応用

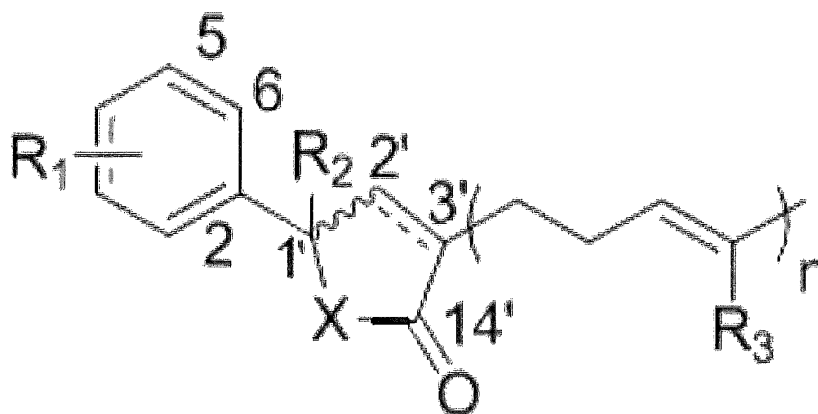
(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

ファルネシル類の芳香族化合物及びその薬用塩であって、

前記ファルネシル類の芳香族化合物の構造式は以下の構造式 (I) に示される化合物であって：

【化 1】



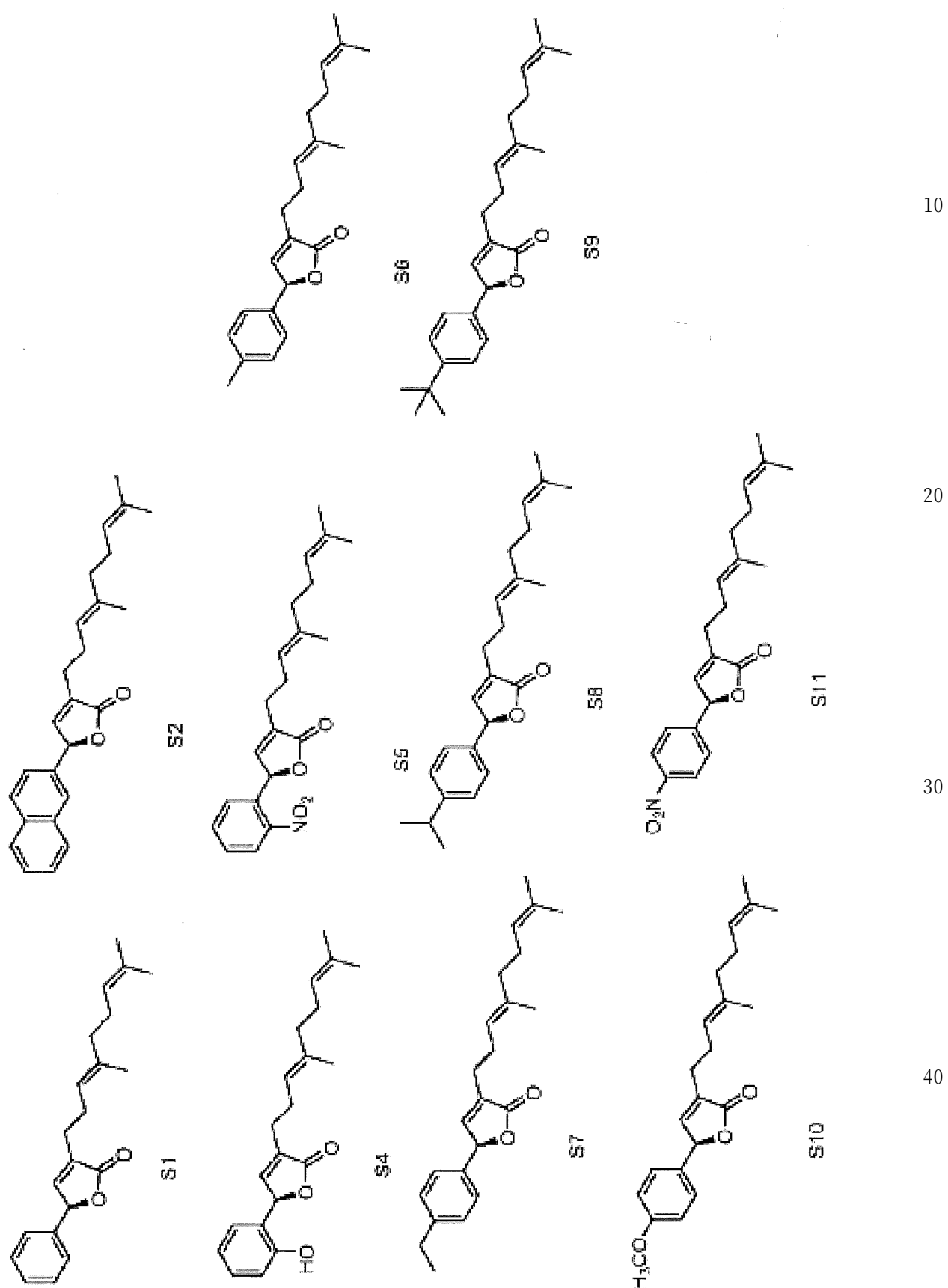
構造式 (I)

式中、 R_1 は、水素、 $C_1 \sim C_5$ のアルキル基、ニトロ基、フルオロ、クロロ、ブロモ、エステル基、アシルアミノ基又はアルコキシ基から選ばれ； R_1 の数は、1、2又は3であり； $1'$ 配置はR配置又はS配置から選ばれ、 R_2 は水素であり、Xは酸素であり、 $2'$ 位と $3'$ 位間の結合は二重結合であり、 $n = 1、2$ 又は3であり； R_3 はメチル基であることを特徴とする、ファルネシル類の芳香族化合物及びその薬用塩。

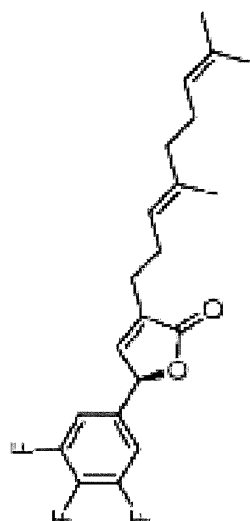
【請求項2】

以下の群から選ばれるいずれか1種であることを特徴とする、ファルネシル類の芳香族化合物及びその薬用塩。

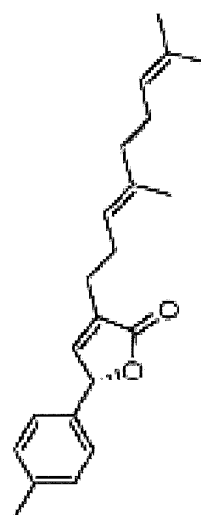
【化 2】



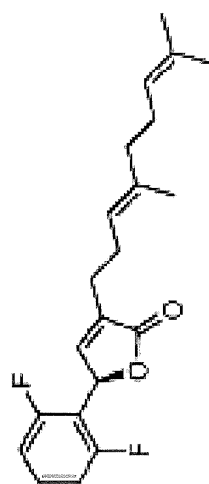
【化 3】



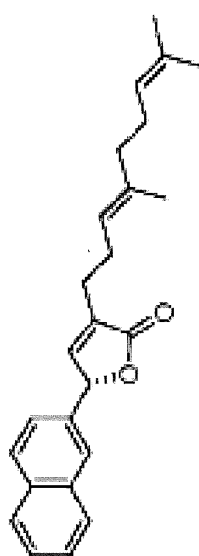
S15



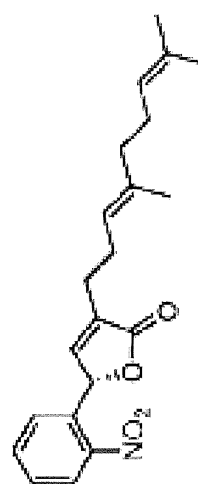
S21



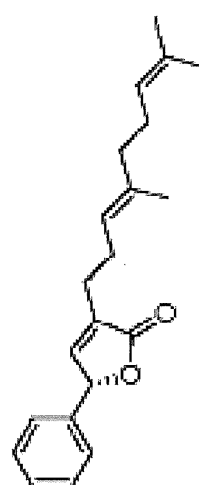
S14



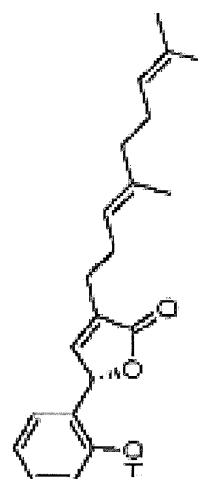
S17



S20



S16



S19

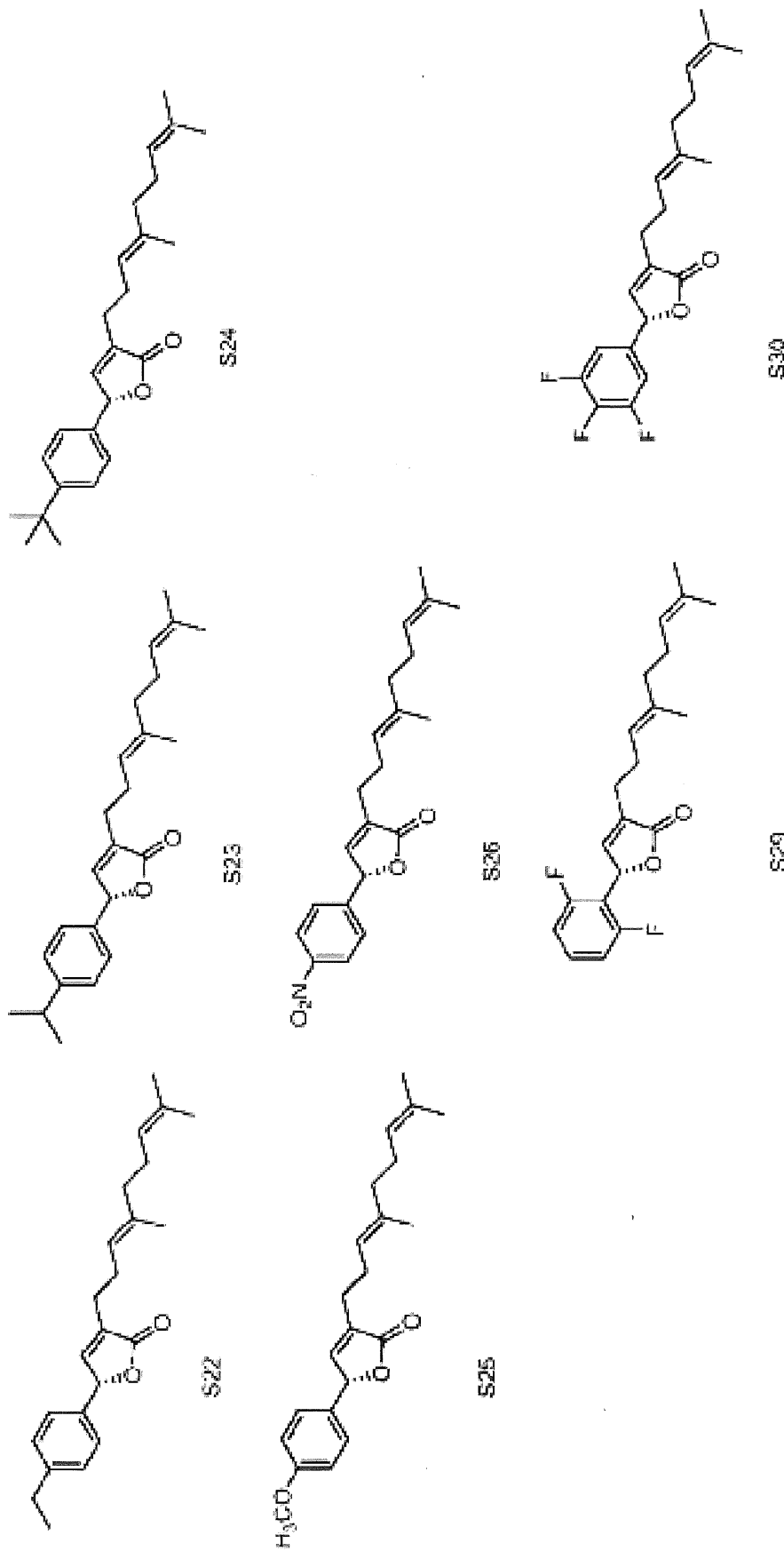
10

20

30

40

【化 4】



【請求項 3】

請求項 1 又は 2 に記載の 少なくとも1つの化合物又はその薬用塩を含む組成物であって

、その用途が、

- (1) α -グルコシダーゼを阻害するための阻害剤の製造；
- (2) 2型糖尿病を治療及び／又は予防する医薬品の調製；
- (3) α -グルコシダーゼを阻害する医薬品の調製；
- (4) HMG-C o A還元酵素を阻害するための阻害剤の製造；
- (5) 脂質異常症を治療及び／又は予防する医薬品の調製；
- (6) HMG-C o A還元酵素を阻害する医薬品の調製；
- (7) 血糖降下及び血中脂質降下作用を有する食品又は保健機能食品の調製；
- (8) プロテインチロシンホスファターゼ 1 Bを阻害するための阻害剤の製造；
- (9) プロテインチロシンホスファターゼ 1 Bを阻害するための阻害剤としての医薬品の調製；

10

(10) ジペプチジルペプチダーゼ-4を阻害するための阻害剤の製造；

(11) ジペプチジルペプチダーゼ-4を阻害するための阻害剤としての医薬品の調製；

(12) アルドースレダクターゼを阻害するための阻害剤の製造；

(13) アルドースレダクターゼを阻害するための阻害剤としての医薬品の調製；

(14) 糖尿病性網膜症又は糖尿病性足疾患を治療及び／又は予防する医薬品の調製；

(15) 非アルコール性脂肪性肝疾患を治療及び／又は予防する食品又は保健機能食品

20

の調製、

からなる群より選ばれることを特徴とする、組成物。

【請求項 4】

前記阻害剤又は医薬品は、注射剤、錠剤、散剤、顆粒剤、丸剤、カプセル剤、経口液剤、軟膏剤、クリーム剤又はスプレー剤であることを特徴とする、請求項 3 に記載の組成物。

【請求項 5】

前記阻害剤又は医薬品には、1 種以上の薬学的に許容される補助材料が含まれることを特徴とする、請求項 3 に記載の組成物。

【請求項 6】

30

前記補助材料には、薬学分野で常套の希釈剤、賦形剤、充填剤、結合剤、湿潤剤、崩壊剤、吸収促進剤、界面活性剤、吸着担体、滑剤及び緩和剤が含まれることを特徴とする、請求項 5 に記載の組成物。

【請求項 7】

前記食品又は保健機能食品は、内服液、茶系飲料、トローチ、カプセル剤、飲料又は発泡性錠剤であることを特徴とする、請求項 3 に記載の組成物。

【請求項 8】

前記食品又は保健機能食品は、日常の健康管理、糖尿病の予防、又は糖尿病の治療中・治療後における補助機能として用いられることを特徴とする、請求項 3 に記載の組成物。

【請求項 9】

40

前記医薬品は経口、経管投与、注射、噴霧、物理的又は化学的媒体などの方法で投与され、若しくは他の物質と混合又は包まれて投与されることを特徴とする、請求項 3 に記載の組成物。

【請求項 10】

血糖降下作用の医薬品、食品又は保健機能食品を調製するための組成物であって、前記請求項 1 又は 2 に記載の 少なくとも1つの化合物又はその薬用塩と、メトホルミンとを含むことを特徴とする、組成物。

【発明の詳細な説明】

50

【技術分野】

【0001】

本発明は化合物の応用分野に関し、特にファルネシル類の芳香族化合物及びその応用に関するものである。

【背景技術】

【0002】

社会の発展や人々の生活水準の向上に伴い、食事の構成も変化しており、過剰な飲食傾向が代謝性疾患の発生率上昇を招いているが、中でも高血糖症及び脂質異常症が最も注目されており、現時点で世界の糖尿病患者は2億人前後で、驚くべき割合で年々増加している。中国の糖尿病患者は4000万人おり、世界の糖尿病人口の5分の1を占めている。加えて、血液中の脂質増加によるアテローム性動脈硬化症、冠状動脈性心疾患など心血管疾患の発生率が年々上昇しており、若年化の傾向が見られている。血糖降下薬や脂質降下薬は、薬物研究の1つの焦点となっている。

10

【0003】

近年のヒドロキシメチルグルタリル補酵素A還元酵素阻害剤の医薬開発の成功は、脂質降下薬の研究分野で飛躍的發展を遂げた。このタイプの医薬品は、コレステロール合成過程における律速酵素のHMG-CoA還元酵素を競合的に阻害することにより、体内の内因性コレステロール合成レベルを低下させることができ、現在の高コレステロール血症治療において効果が高い医薬品である。

【0004】

20

α -グルコシダーゼは、小腸絨毛の刷子縁膜上に存在する加水分解酵素群であり、 α -アミラーゼ、マルターゼ、イソマルターゼ、スクラーゼ、ラクターゼ、トレハロースなどが含まれる。主に体内の炭水化物の消化・吸収に関与している。 α -グルコシダーゼ阻害剤は小腸の刷子縁上の α -グルコシダーゼを競合的又は非競合的に阻害することで、オリゴ糖又は多糖類から吸収可能な単糖への変換過程を遅らせ、それによって糖尿病患者の食後血糖の上昇幅が効果的に抑制され、血糖値を徐々に一定のレベルに安定させて維持させるものであり、単純な食事管理では効果が得られない2型糖尿病患者の治療に第一選択薬として用いられている血糖降下薬である。

【0005】

現在市販されている α -グルコシダーゼ阻害剤タイプの医薬品には、主にアカルボース、ボグリボース、ミグリトールなどが挙げられるが、現在使用されているこれらの阻害剤はいずれもある程度の副作用があり、例えば胃腸の副作用、蕁麻疹、肝機能障害、心血管系へのリスクがある。

30

【0006】

したがって、高血糖及び脂質異常症の予防や治療に用いられる、より安全で効果の高い新薬を見出すことが必要不可欠であり、急務である。

【0007】

糖尿病患者のうち、その大半を占めるのは2型糖尿病である。2型糖尿病発症の要因となるのがインスリン抵抗性であり、その形成においてはプロテインチロシンホスファターゼ1B (PTP1B) がインスリン抵抗性を惹起する重要な役割を果たす。PTP1Bはインスリンシグナル伝達経路の負の調節因子として、活性化されたインスリン受容体又はその基質のチロシン残基を脱リン酸化し、それによりインスリンシグナル伝達を終了させ、身体にインスリン抵抗性を引き起こし、身体がインスリン欠乏状態となって、さらに2型糖尿病へ発展することが研究により実証されている。動物実験では、PTP1Bノックアウトマウスのグルコース耐性及びインスリン耐性試験において、インスリン感受性に著しく向上が表れた。よって、PTP1B阻害剤は2型糖尿病の新型治療薬として重要な役割を果たすことができる。

40

【0008】

近年、ジペプチジルペプチダーゼ-4 (DPP-4) 阻害剤が糖尿病治療の新たな方向性として医薬研究者に広く注目されている。2006年には、FDAがメルク社のシタグ

50

リプチンを承認し、DPP-4阻害剤が初めて発売された。ジペプチジルペプチダーゼ-4 (DPP-4) は、セリンプロテアーゼ類であり、GLP-1、GIPなどのインクレチンを速やかに分解・不活化させることができる。それは多機能性のプロテアーゼであり、DPP-4阻害剤を使用することでGLP-1、GIPの分解を抑制し、インクレチン及びニューロペプチド活性を増強し、空腹時及び食後のグルコース濃度や糖化ヘモグロビンレベルを低下させ、インスリン感受性及びβ細胞機能を改善することができる。

【0009】

ポリオール代謝経路の亢進は糖尿病合併症の原因の1つとなる。血糖値が上昇すると、グルコースからグルコース-6-リン酸への変換を触媒するヘキソキナーゼが飽和されて、アルドースレダクターゼ (AR) の生成が刺激されることにより、AR活性を顕著に増強させて、ポリオール経路を活性化し、ソルビトール自体の極性によって細胞膜を透過しにくいため、細胞内に大量のソルビトールが生成されて、糖尿病性腎症、血管疾患、網膜症など多くの糖尿病合併症が引き起こされる。アルドースレダクターゼ阻害剤は、ポリオール経路のARを阻害し、グルコースが大量にソルビトールへ変化するのを阻止することができ、ポリオールレベルを正常範囲に戻し、且つ神経伝達機能を改善し、白内障の形成及びタンパク尿の発生を遅らせることができ、これにより糖尿病合併症を予防または遅延させるという目的が達成される。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0010】

本発明は、ファルネシル類の芳香族化合物及びその薬用塩の、α-グルコシダーゼ、ジペプチジルペプチダーゼ-4、アルドースレダクターゼ、プロテインチロシンホスファターゼ1B又はHMG-CoA還元酵素の阻害剤としての応用、又は2型糖尿病及び／又は脂質異常症を治療及び／又は予防する医薬品及び保健機能食品としての調製、又は肝保護作用を有する医薬品及び保健機能食品としての調製、又は糖尿病性網膜症、糖尿病性足疾患を治療及び／又は予防する医薬品及び保健機能食品としての調製への応用を提供し、本発明のファルネシル類の芳香族化合物及びその薬用塩により調製された阻害剤、医薬品、保健機能食品は無毒で副作用もなく、顕著な治療効果が得られる。

【課題を解決するための手段】

【0011】

本発明の第1態様では、ファルネシル類の芳香族化合物及びその薬用塩における下記の(1)～(15)のいずれか1項の応用を提供する。

【0012】

(1) α-グルコシダーゼ阻害剤とする；

【0013】

(2) 2型糖尿病を治療及び／又は予防する医薬品の調製；

【0014】

(3) α-グルコシダーゼを阻害する医薬品の調製；

【0015】

(4) HMG-CoA還元酵素阻害剤とする；

【0016】

(5) 脂質異常症を治療及び／又は予防する医薬品の調製；

【0017】

(6) HMG-CoA還元酵素を阻害する医薬品の調製；

【0018】

(7) 血糖降下及び血中脂質降下作用を有する食品又は保健機能食品の調製；

【0019】

(8) プロテインチロシンホスファターゼ1B阻害剤とする；

【0020】

(9) プロテインチロシンホスファターゼ1B阻害剤としての医薬品の調製；

【0021】

(10) ジペプチジルペプチダーゼ-4阻害剤とする；

【0022】

(11) ジペプチジルペプチダーゼ-4阻害剤としての医薬品の調製；

【0023】

(12) アルドースレダクターゼ阻害剤とする；

【0024】

(13) アルドースレダクターゼ阻害剤としての医薬品の調製；

【0025】

(14) 糖尿病性網膜症又は糖尿病性足疾患を治療及び／又は予防する医薬品の調製；

10

【0026】

(15) 非アルコール性脂肪性肝疾患を治療及び／又は予防する食品又は保健機能食品の調製。

【0027】

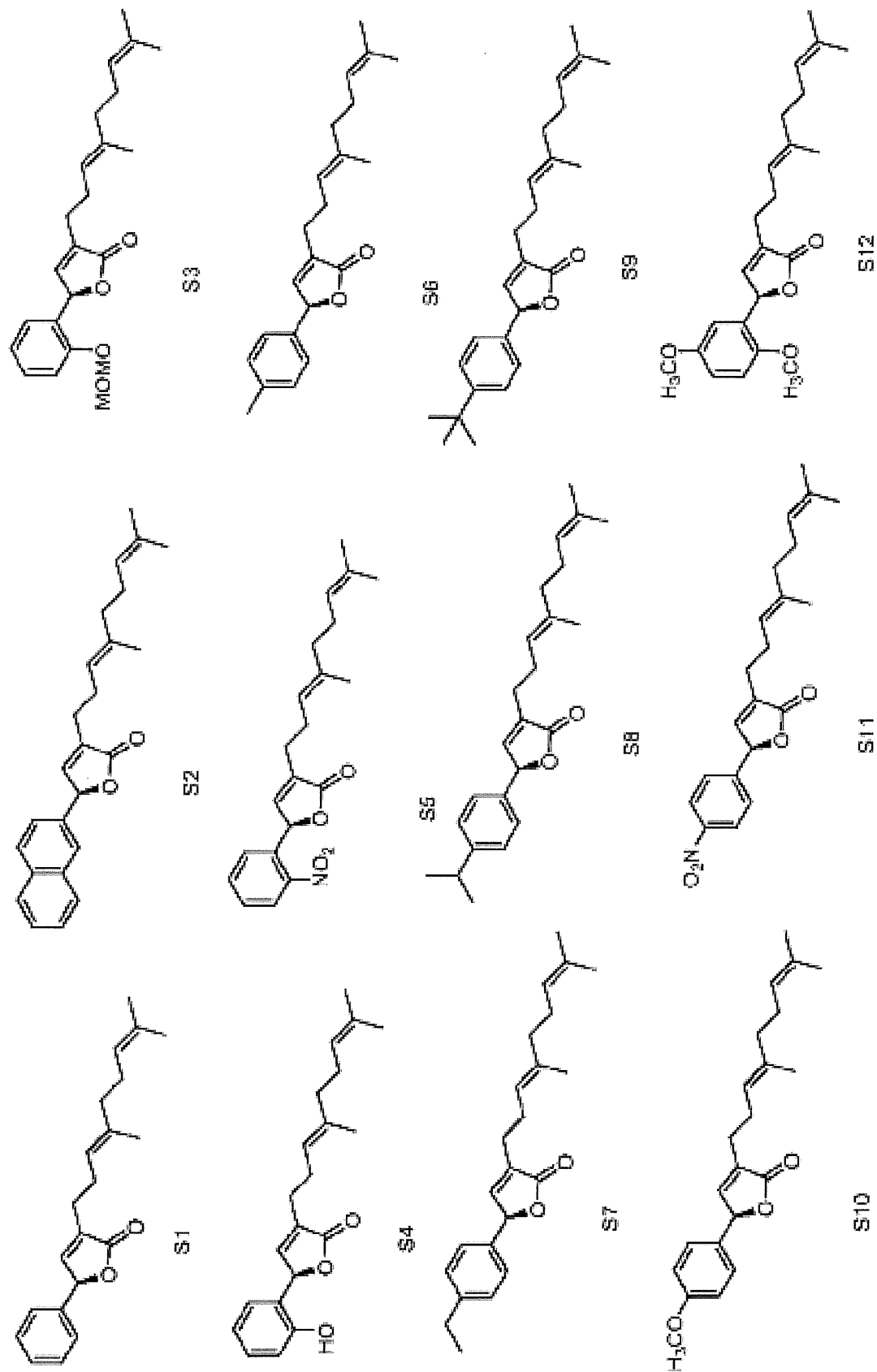
上記の発明によれば、前記ファルネシル類の芳香族化合物の構造式は以下の構造式（I）に示される化合物である。式中、 R_1 は、水素、 $C_1 \sim C_5$ のアルキル基、ニトロ基、フルオロ、クロロ、ブロモ、エステル基、ヒドロキシ基、アシルアミノ基又はアルコキシ基から選ばれるいずれか1種であり；1'配置はR配置又はS配置から選ばれ； R_2 は、水素又はアルコキシ基から選ばれ；Xは、酸素、水素、カルボキシ基又はヒドロキシ基から選ばれる1種であり；2'位と3'位間は炭素-炭素単結合又は炭素-炭素二重結合であり；14'位は、エステル基又はカルボキシ基から選ばれ； $N = 1, 2$ 又は3であり； R_3 はヒドロキシ基、アルデヒド基、エステル基又はカルボキシ基から選ばれる1種である。

20

【0028】

上記の発明によれば、前記ファルネシル類の芳香族化合物は以下のS1～S38から選ばれるいずれか1種である。

【化 2】



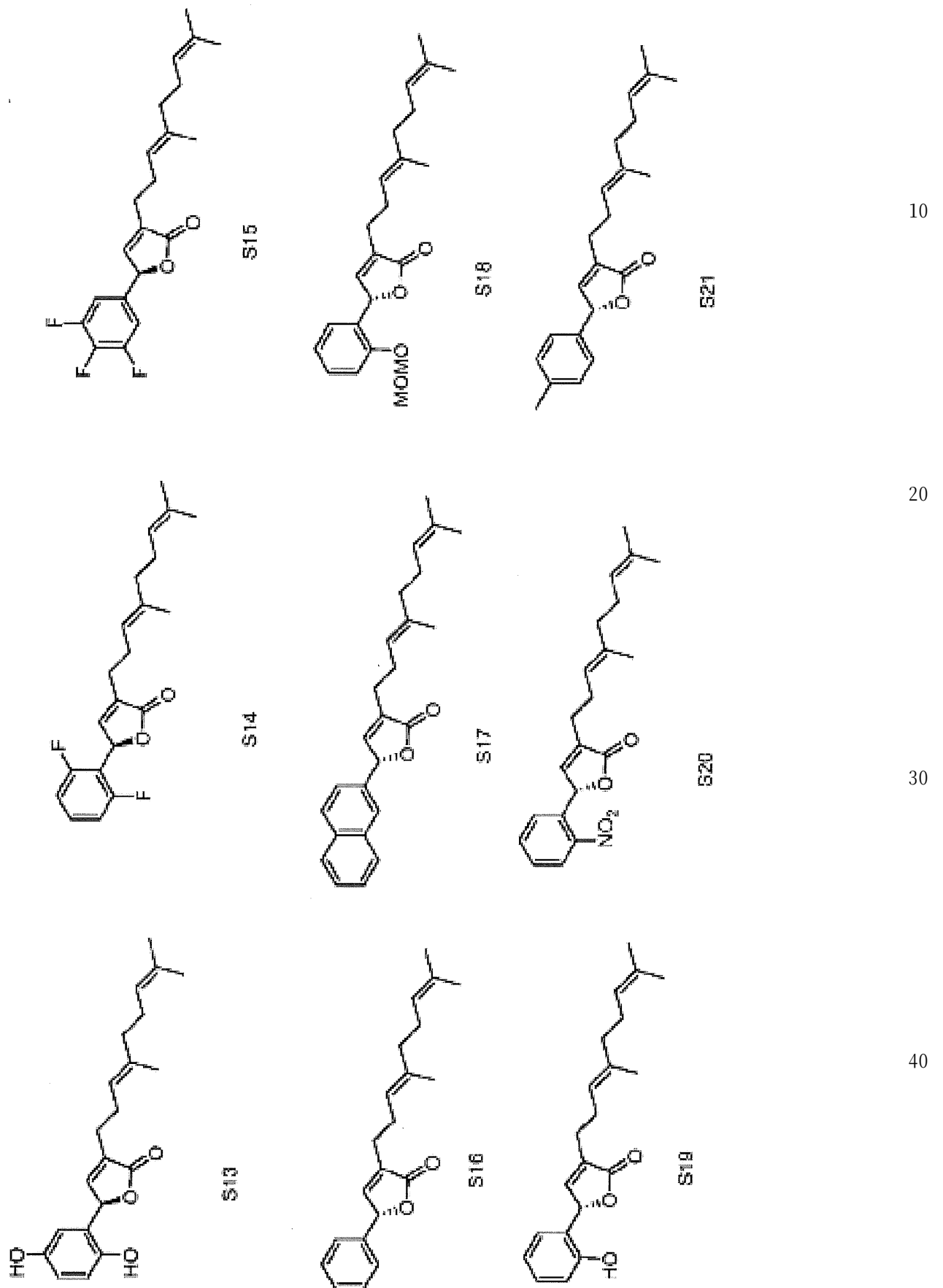
10

20

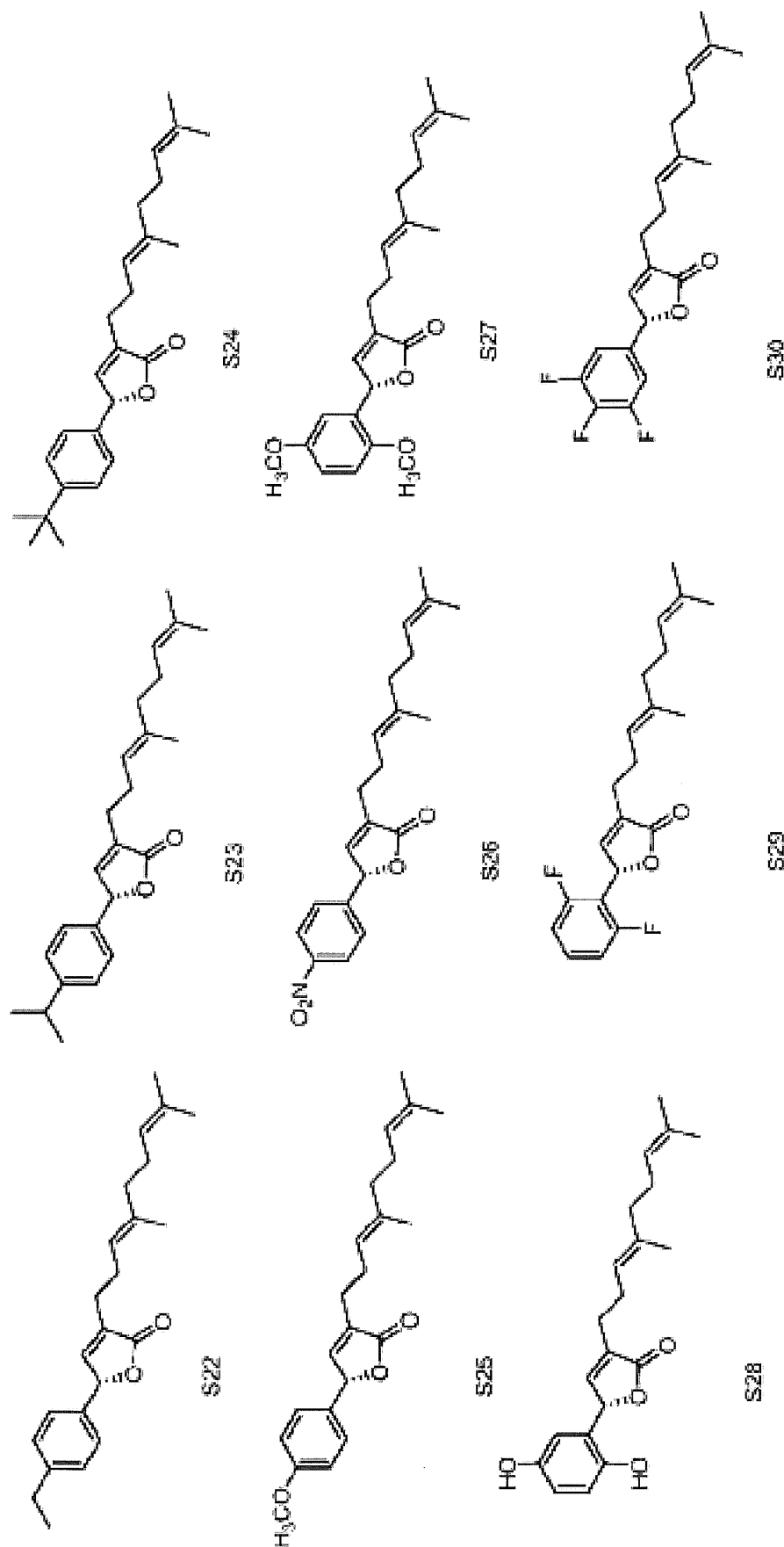
30

40

【化 3】



【化 4】



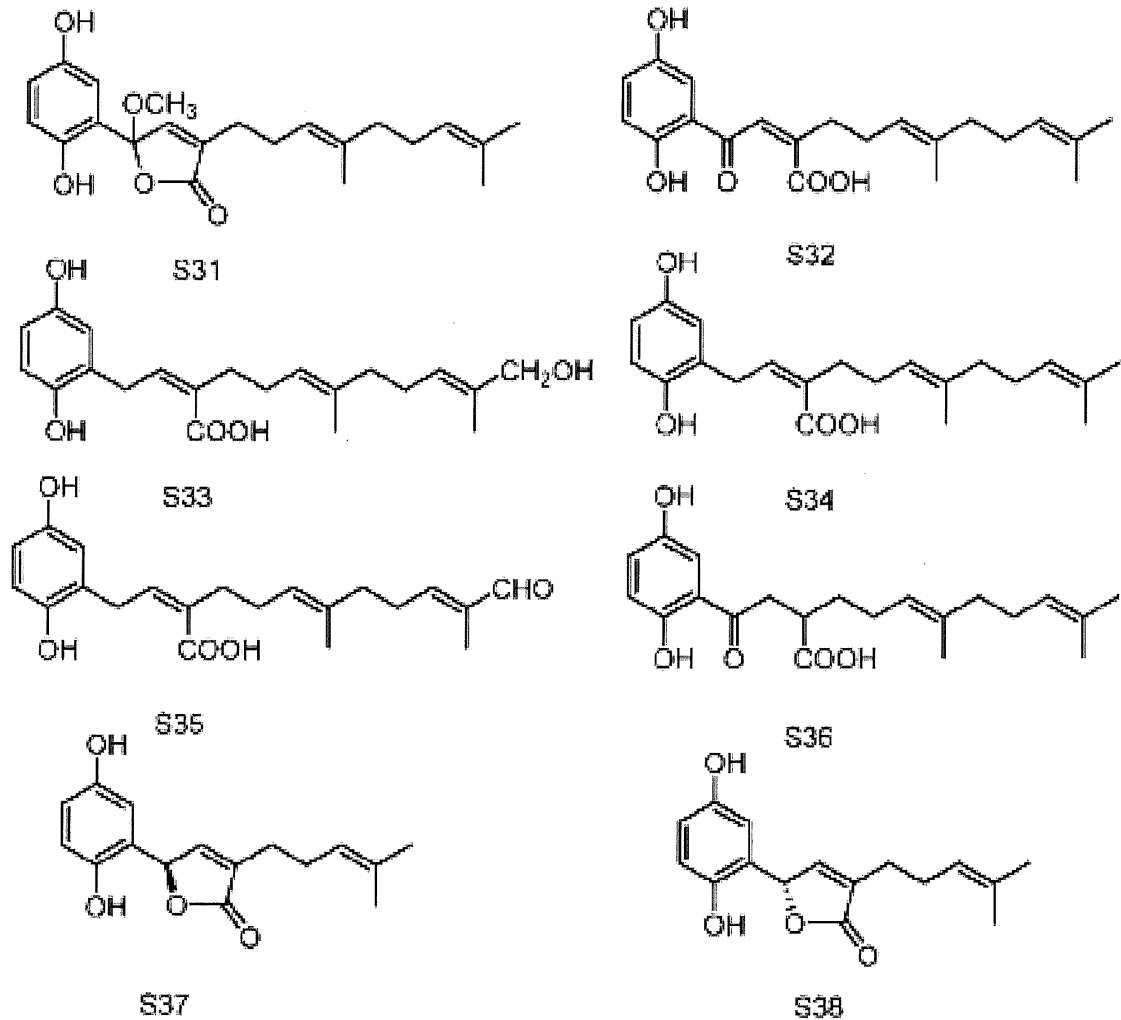
10

20

30

40

【化 5】



10

20

30

【0029】

本発明の第2態様では、組成物における下記の(1)～(15)のいずれか1項の応用を提供するが、前記組成物には前記構造式(I)に示される化合物又はその薬用塩が少なくとも1種以上含まれる。

【0030】

(1) α -グルコシダーゼ阻害剤とする；

【0031】

(2) 2型糖尿病を治療及び／又は予防する医薬品の調製；

【0032】

(3) α -グルコシダーゼを阻害する医薬品の調製；

40

【0033】

(4) HMG-CoA還元酵素阻害剤とする；

【0034】

(5) 脂質異常症を治療及び／又は予防する医薬品の調製；

【0035】

(6) HMG-CoA還元酵素を阻害する医薬品の調製；

【0036】

(7) 血糖降下及び血中脂質降下作用を有する食品又は保健機能食品の調製；

【0037】

(8) プロテインチロシンホスファターゼ1B阻害剤とする；

50

【0038】

(9) プロテインチロシンホスファターゼ1B阻害剤としての医薬品の調製；

【0039】

(10) ジペプチジルペプチダーゼー4阻害剤とする；

【0040】

(11) ジペプチジルペプチダーゼー4阻害剤としての医薬品の調製；

【0041】

(12) アルドースレダクターゼ阻害剤とする；

【0042】

(13) アルドースレダクターゼ阻害剤としての医薬品の調製；

10

【0043】

(14) 糖尿病性網膜症又は糖尿病性足疾患を治療及び／又は予防する医薬品の調製；

【0044】

(15) 非アルコール性脂肪性肝疾患を治療及び／又は予防する食品又は保健機能食品の調製。

【0045】

また、本発明はファルネシル類の芳香族化合物及びその薬用塩を提供するが、前記ファルネシル類の芳香族化合物が以上のS1～S12、S14～S27、及びS29～S30に示されるいずれか1種の化合物である。

【0046】

20

また、本発明は組成物における血糖降下作用の医薬品、食品又は保健機能食品の調整の応用を提供するが、前記組成物には前記構造式(I)に示される1種以上の化合物とメトホルミンとが含まれる。

【0047】

上記の発明によれば、前記阻害剤又は医薬品は、注射剤、錠剤、散剤、顆粒剤、丸剤、カプセル剤、経口液剤、軟膏剤、クリーム剤又はスプレー剤である。

【0048】

上記の発明によれば、前記食品又は保健機能食品は、内服液、茶系飲料、トローチ、カプセル剤、飲料又は発泡性錠剤である。

【0049】

30

上記の発明によれば、前記食品又は保健機能食品は、日常の健康管理、糖尿病の予防、又は糖尿病の治療中・治療後における補助機能として用いられる。

【0050】

上記の発明によれば、前記阻害剤又は医薬品には、1種以上の薬学的に許容される補助材料が含まれる。

【0051】

上記の発明によれば、前記補助材料には、薬学分野で常套の希釈剤、賦形剤、充填剤、結合剤、湿潤剤、崩壊剤、吸収促進剤、界面活性剤、吸着担体、滑剤及び緩和剤が含まれる。

【0052】

40

上記の発明によれば、前記医薬品は経口、経管投与、注射、噴霧、物理的又は化学的媒体などの方法で投与され、若しくは他の物質と混合又は包まれて投与される。

【0053】

本発明に係るファルネシル類の芳香族化合物及びその薬用塩は、 α -グルコシダーゼ又はHMG-CoA還元酵素の阻害剤として、又は2型糖尿病又は脂質異常症を治療及び／又は予防する医薬品としての調製、又は血糖降下及び血中脂質降下作用を有する食品又は保健機能食品としての調製、又はプロテインチロシンホスファターゼ1B阻害剤として、又はプロテインチロシンホスファターゼ1B阻害剤としての医薬品の調製、又はジペプチジルペプチダーゼー4阻害剤として、又はジペプチジルペプチダーゼー4阻害剤としての医薬品の調製、又はアルドースレダクターゼ阻害剤として、およびアルドースレダクター

50

ゼ阻害剤としての医薬品の調製ができる。

【発明の効果】

【0054】

実験では、本発明に係るファルネシル類の芳香族化合物が α -グルコシダーゼ、ジペプチジルペプチダーゼ-4を効果的に阻害し、それにより血糖の上昇を抑制でき；アルドースレダクターゼを阻害し、それにより糖尿病合併症を予防または遅延させることができ；HMG-CoA還元酵素を阻害し、それにより体内の内因性コレステロール合成レベルを低下させ、血中脂質を低下させ、非アルコール性脂肪性肝疾患の発生を抑制することができる；プロテインチロシンホスファターゼ1Bを阻害し、体内のポリオールレベルを維持し、神経伝達機能を改善し、白内障の形成及びタンパク尿を遅延させることで、糖尿病合併症を予防または遅延させることができることが実証されている。要約すると、本発明のファルネシル類の芳香族化合物及びその薬用塩は、血糖を低下させる、インスリン抵抗性の症状（高血糖症、高コレステロール血症、非アルコール性脂肪性肝疾患）を生じさせる因子を阻害する、などの方法により、2型糖尿病及びその合併症を治療及び／又は予防することができる。

10

【図面の簡単な説明】

【0055】

【図1】S13及びS28に示される化合物がKKAY系高血糖マウスの肝組織スライスに与える影響を示しており（HE：20×）、図中、A：正常対照群；B：モデル群；C：S13に示される化合物（10mg/kg）；D：S13に示される化合物（20mg/kg）；E：S28に示される化合物（10mg/kg）；F：S28に示される化合物（20mg/kg）である。

20

【0056】

【図2】S13及びS28に示される化合物の投与から24日後のWistar系ラットの肝組織スライス顕微鏡写真であり（HE：20×）、図中、A：正常対照群；B：モデル群；C：S13に示される化合物（10mg/kg）；D：S13に示される化合物（20mg/kg）；E：S28に示される化合物（10mg/kg）；F：S28に示される化合物（20mg/kg）である。

【発明を実施するための形態】

【0057】

以下、実施例と合わせて本発明について詳細に説明するが、後述する実施例は本発明の範囲を限定するものと解釈されるべきではない。

30

【0058】

後述の実施例中で使用する実験方法は、特に説明がない限り、すべて常套の方法である。

【0059】

後述の実施例中で用いられる材料、試薬などは、特に説明がない限り、すべて商業的供給源から調達できるものである。

【0060】

霊芝子実体は北京同仁堂薬店から購入した。

40

【0061】

α -グルコシダーゼ：Sigma社から購入（カタログ番号G5003）；HMG-CoA：Sigma社から購入（カタログ番号24895729）；NADPH：Sigma社から購入（カタログ番号10107824001）；4-ニトロフェニル- α -D-グルコピラノシド：百靈威科技有限公司から購入（カタログ番号270305）；グルコース測定キット（カタログ番号E1010）：普利莱基因技术有限公司から購入；ストレプトゾシン：百靈威科技有限公司から購入（カタログ番号M02540）；Wistar系雄性ラット（SPFグレード）：北京維通利華実験動物技术有限公司。合成試薬は全て常套の試薬であり、百靈威科技有限公司から購入した。

【実施例1】

50

【0062】

実施例1、構造式S13及び構造式S28、S31～S38に示される化合物の調製

【0063】

(1) 霊芝の抽出物の調製

霊芝子実体を切碎し、秤量5kgとする。15Lの95%エタノール水（体積百分率）溶液を用いて1時間毎に3回還流抽出する。抽出液を合わせて、減圧濃縮して乾燥させ、170gの抽出物が得られた。

【0064】

さらに、抽出物を600mlの蒸留水で溶解し、等容積のn-ヘキサンで3回抽出し、有機相を除去する。再び等容積の酢酸エチルで水相を3回抽出し、水相を除去して、酢酸エチル抽出液を合わせる。ロータリーエバポレーター（RE-52AA、上海亜栄生化儀器厂から購入）で酢酸エチルを蒸発させ、得られた54gのエキスをLZ-Eと記した。

【0065】

(2) 化合物の調製

ステップ(1)で調製したLZ-Eをシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより分離し、n-ヘキサン：酢酸エチル系（n-ヘキサン：酢酸エチルの容積比は9：1、4：1、7：3、1：1）で勾配溶離を行い、各勾配溶離で3つの保持容量を流し、各容量は500mlである。薄層クロマトグラフィーの挙動分析に基づき、n-ヘキサン：酢酸エチル（容積比は9：1）系からLZ-E1画分を得て；n-ヘキサン：酢酸エチル（容積比は4：1）からLZ-E2～LZ-E3画分を得て；n-ヘキサン：酢酸エチル（容積比は7：3）からLZ-E4、LZ-E5画分を得て；n-ヘキサン：酢酸エチル（容積比は1：1）からLZ-E6画分を得て；計6つの画分を得て、各画分を凍結乾燥した。

【0066】

薄層クロマトグラフィー分析により、LZ-E4中の活性物質の含有量が高いことが明らかとなったため、その画分に対しODSカラムを用いてさらに分離した。容量百分率が10%、20%、30%、40%、50%、70%、90%のメタノール水溶液で順に溶離し、各溶離系で3つの保持容量を流し、各容量は500mlである。薄層クロマトグラフィーでの挙動に基づき、254nmのUV光を照射して異なる画分を判定し、容量百分率が10%のメタノール水溶液からLZ-E4-1画分を得て；容量百分率が20%のメタノール水溶液系からLZ-E4-2～LZ-E4-4画分を得て；容量百分率が30%のメタノール水溶液系からLZ-E4-5～LZ-E4-10画分を得て；容量百分率が40%のメタノール水溶液系からLZ-E4-11～LZ-E4-14画分を得て；容量百分率が50%のメタノール水溶液系からLZ-E4-15～LZ-E4-18画分を得て；容量百分率が70%、90%のメタノール水溶液系からLZ-E4-19～LZ-E4-23画分を得て；計23個の画分を得て、各画分を凍結乾燥した。

【0067】

薄層クロマトグラフィー分析により、LZ-E4-12中の活性物質の含有量が高いことが明らかとなったため、LZ-E4-12画分に対しさらにHPLC分離を行った。容量百分率が56%のアセトニトリルの酸性水（ここでの酸性水は容量百分率が0.01%のトリフルオロ酢酸の水溶液）溶液を溶離液としてHPLCの調製を行い、流速を2ml/minとし、18.9、21.2、24.5、26.2、30.2、35.8minのクロマトグラフピークを採取し、構造式S31、S32、S33、S34、S35、S36に示される化合物が得られた。

【0068】

薄層クロマトグラフィー分析により、LZ-E4-14中の活性物質の含有量が高いことが明らかとなったため、LZ-E4-14画分に対しさらにHPLC分離を行った。容量百分率が52%のアセトニトリルの酸性水（ここでの酸性水は容量百分率が0.01%のトリフルオロ酢酸の水溶液）溶液を溶離液としてHPLCの調製を行い、流速を2ml/minとし、21.1minのクロマトグラフピークを採取し、LZ-E4-14-1を得て；LZ-E4-14-1に対し45%のアセトニトリルのHPLCでキラル分離を

行い、流速を2 ml/minとし、31.1 min、32.5 minのクロマトグラフピークを採取し、それぞれ構造式S13、S28に示される化合物が得られた。

【0069】

薄層クロマトグラフィー分析により、LZ-E4-18中の活性物質の含有量が高いことが明らかとなったため、LZ-E4-18画分に対しさらにHPLC分離を行った。容量百分率が46%のアセトニトリルの酸性水（ここでの酸性水は容量百分率が0.01%のトリフルオロ酢酸の水溶液）溶液を溶離液としてHPLCの調製を行い、流速を2 ml/minとし、15.4 minのクロマトグラフピークを採取し、LZ-E4-18-1を得て；LZ-E4-18-1に対し40%のアセトニトリルのHPLCでキラル分離を行い、流速を2 ml/minとし、25.1 min、26.4 minのクロマトグラフピークを採取し、それぞれ構造式S37、S38に示される化合物が得られた。

10

【0070】

上述の薄層クロマトグラフィーの条件は以下のとおりである：

【0071】

薄層プレート：青島海洋薄層板公司。薄層展開系条件：クロロホルム：メタノール＝20：1、2 ml；温度25℃。

【0072】

上述のHPLCの条件は以下のとおりである：HPLCグレードのメタノールでサンプルを10 mg/mlの溶液に調製し、サンプルロード量は毎回15 µLとし、クロマトカラムはKromasil、10×250 mm、C18セミ分取カラムとし、カラム温度は25℃、波長210 nmで検出を行う。

20

【実施例2】

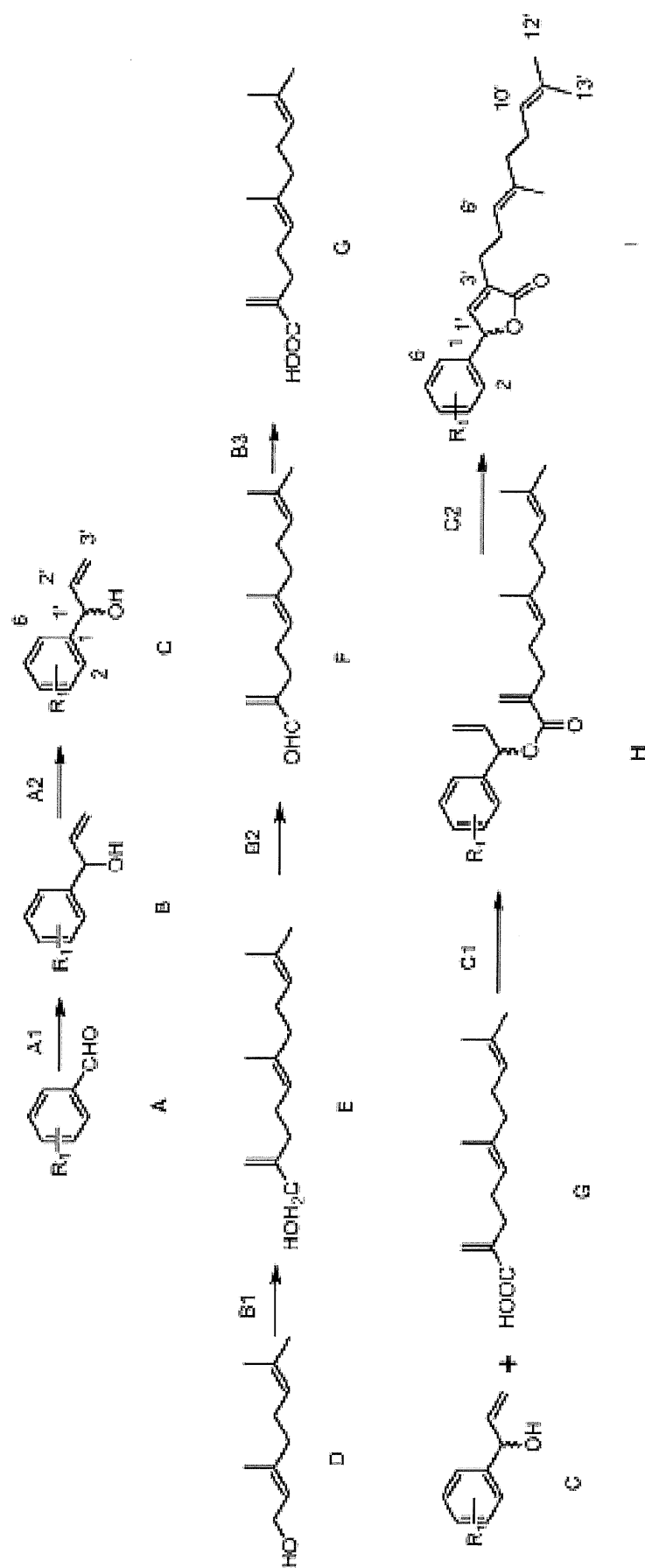
【0073】

実施例2、構造式S1～S30に示される化合物の合成]

【0074】

合成ルート

【化 6】



【 0 0 7 5 】

10

20

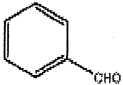
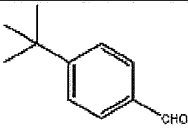
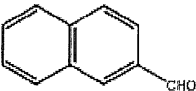
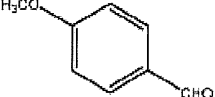
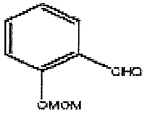
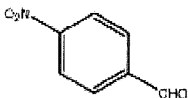
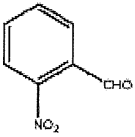
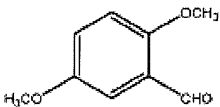
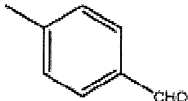
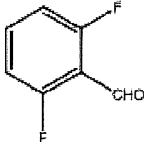
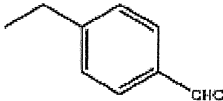
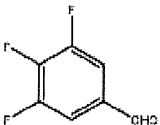
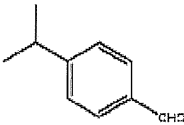
30

40

50

化合物Aは異なる置換基のベンズアルデヒド誘導体であり、具体的な構造式は以下の表を参照されたい。

【表1】

表1: 化合物で表されるベンズアルデヒド誘導体			
化合物	構造	化合物	構造
A1		A8	
A2		A9	
A3		A10	
A4		A11	
A5		A12	
A6		A13	
A7			

【0076】

化合物B：-78℃に冷却したA（15.0mmol）の無水THF溶液（15ml）にビニルマグネシウムブロミド（1MのTHF溶液、16ml、16mmol）を滴下して1時間攪拌した。塩化アンモニウム飽和液（20ml）で希釈した後、酢酸エチル（30ml）で3回抽出し、有機層と合わせて水と塩水で抽出し、硫酸ナトリウムで乾燥させた。真空濃縮後のエキ스는シリカゲルカラムクロマトグラフィー（n-ヘキサン／酢酸エチル、10：1）を用い、化合物Bが得られた。

【0077】

化合物1' R-C：化合物B（10mmol）の無水塩化メチレン溶液（30ml）中にダイアトマイト（3g）を添加し、5分間攪拌した。次にPCC（クロロクロム酸ピリジニウム、2.56g）を添加し、3時間攪拌した後、真空濃縮し、エキ스는高速シリカゲルカラムクロマトグラフィー（n-ヘキサン／酢酸エチル、10：1）を用い、得られたケトン5mlのテトラヒドロフランに溶解し、室温で（R）-メチルーCBSオキサザボロリジン触媒のメチルベンゼン溶液（1.0mol/L、1mmol、1mL）及びボランのジメチルスルフィド溶液（10mol/L、1mmol、1mL）中に添加し、

反応液を室温下で5時間攪拌し、塩化アンモニウム飽和液(10 mL)を添加し、エーテルで抽出し(3×20 mL)、飽和食塩水で洗浄(2×10 mL)後、MgSO₄で乾燥させた後に溶媒を蒸発させた。得られた粗成品は高速シリカゲルカラムクロマトグラフィーを用いて分離し(n-ヘキサン/酢酸エチル、10:1)、化合物1' R-Cが得られた。

【0078】

化合物1' S-C: 化合物B(10 mmol)の無水塩化メチレン溶液(30 mL)中にダイアトマイト(3 g)を添加し、5分間攪拌した。次にPCC(クロロクロム酸ピリジニウム、2.56 g)を添加し、3時間攪拌した後、真空濃縮し、エキスを高速シリカゲルカラムクロマトグラフィー(n-ヘキサン/酢酸エチル、10:1)を用い、得られたケトン(5 mL)のテトラヒドロフランに溶解し、室温で(S)-メチル-CBSオキサザボロリジン触媒のメチルベンゼン溶液(1.0 mol/L、1 mmol、1 mL)及びボランのジメチルスルフィド溶液(10 mol/L、1 mmol、1 mL)中に添加し、反応液を室温下で5時間攪拌し、塩化アンモニウム飽和液(10 mL)を添加し、エーテルで抽出し(3×20 mL)、飽和食塩水で洗浄(2×10 mL)後、MgSO₄で乾燥させた後に溶媒を蒸発させた。得られた粗成品は高速シリカゲルカラムクロマトグラフィーを用いて分離し(n-ヘキサン/酢酸エチル、10:1)、化合物1' S-Cが得られた。

【0079】

(E)-6, 10-ジメチル-2-メチルウンデセン-5, 9-ジエノール(E): ゲラニオール(4 g, 32.4 mmol)の四塩化炭素溶液(50 mL)中にトリフェニルホスフィン(10.2 g, 38.9 mmol)を添加した。体系を加熱還流状態で1時間攪拌した後、0℃に冷却し、20 mLのn-ヘキサン溶液を添加し、5分間攪拌し、濾過し、濾液を真空濃縮して置換ゲラニオールが得られた。

【0080】

-78℃に冷却したテトラメチルエチレンジアミン(TMEDA、19.5 mL、130 mmol)中にn-ブチルリチウム(2.68 Mのn-ヘキサン溶液、48.5 mL、130 mmol)を滴下し、白色沈殿を形成させ、10分間攪拌した後、2-メチルアリルアルコール(6.82 mL、81.0 mmol)、無水エーテル(80 mL)を滴下した。体系を室温下で22時間攪拌した。体系中に暗橙色のゼリー状の物質が生じたら、-78℃に冷却して、10 mLの置換ゲラニオールのエーテル溶液を添加した。体系を室温下で1時間攪拌した。温度を0℃に低下させ、1 N HCl(100 mL)で希釈後にエーテル(200 mL)で3回抽出し、有機層と合わせて水と塩水で抽出し、硫酸ナトリウムで乾燥させた。真空濃縮後のエキスをシリカゲルカラムクロマトグラフィー(n-ヘキサン/酢酸エチル、10:1)を用い、無色油状の物質(E)-6, 10-ジメチル-2-メチルウンデセン-5, 9-ジエノール(E)(4.81 mg、90%)が得られた。

【0081】

(E)-6, 10-ジメチル-2-メチルウンデセン-5, 9-ヘプタジエナール(F): (E)-6, 10-ジメチル-2-メチルウンデセン-5, 9-ジエノール(E)(3.95 g, 90%)のn-ヘキサン溶液(10 mL)中に活性二酸化マンガン(14.4 g、162 mmol)を添加した。体系を室温下で6時間攪拌し、濾過して真空濃縮した後のエキスをシリカゲルカラムクロマトグラフィー(n-ヘキサン/酢酸エチル、10:1)を用い、無色油状の物質(E)-6, 10-ジメチル-2-メチルウンデセン-5, 9-ヘプタジエナール(F)(5.01 mg、75%)が得られた。

【0082】

(E)-6, 10-ジメチル-2-メチルウンデセン-5, 9-ジエン酸(G): 0℃に冷却した(E)-6, 10-ジメチル-2-メチルウンデセン-5, 9-ヘプタジエナール(F)(850 mg、4.12 mmol)、2-メチル-2-ブチレン(4.90 mL、41.2 mmol)のt-ブチルアルコール(20 mL)、水(10 mL)の混合溶液中にリン酸二水素ナトリウム(2.54 g、20.9 mmol)の水溶液(5 mL)及

び次亜塩素酸ナトリウム（80%、1.14g、12.4mmol）を添加した。体系を室温下で1時間攪拌した。塩水（30ml）で希釈後に塩化メチレン（30ml）で3回抽出し、有機層と合わせて水と塩水で抽出し、硫酸ナトリウムで乾燥させた。真空濃縮後のエキ스는シリカゲルカラムクロマトグラフィー（n-ヘキサン／酢酸エチル、10：1）を用い、無色油状の物質（E）-6、10-ジメチル-2-メチルウンデセン-5, 9-ジエン酸（G）（760mg、83%）が得られた。

【0083】

化合物1'-R-H：0℃に冷却した（E）-6、10-ジメチル-2-メチルウンデセン-5, 9-ジエン酸（G）（35.1mg、158μmol）のメチルベンゼン溶液中にジイソプロピルアミン（110μL、631μmol）、2, 4, 6-トリクロロベンゾイルクロリド（100μL、631μmol）、4-（ジメチルアミノ）ピリジン（154mg、1.26mmol）を添加した。次に1'-R-C（40.1mg、124μmol）のメチルベンゼン溶液を添加し、2mlのメチルベンゼンで希釈した。体系を室温下で8時間攪拌した。ベンゼン（10ml）、飽和炭素水素ナトリウム水溶液（15ml）で希釈後に酢酸エチル（30ml）で3回抽出し、有機層と合わせて水と塩水で抽出し、硫酸ナトリウムで乾燥させた。真空濃縮後のエキ스는シリカゲルカラムクロマトグラフィー（n-ヘキサン／酢酸エチル、10：1）を用い、無色油状の物質（1'-R、5E）-1'-[2'', 5''-ジ（メトキシメトキシ）ベンゼン]プロ-2-ピー1-ニル-6, 10-ジメチル-2-メチルウンデセン-5, 9-ジエニルエステル（H）（67.0mg、92%）が得られた。

【0084】

1'-S-H：0℃に冷却した（E）-6、10-ジメチル-2-メチルウンデセン-5, 9-ジエン酸（G）（35.1mg、158μmol）のメチルベンゼン溶液にジイソプロピルアミン（110μL、631μmol）、2, 4, 6-トリクロロベンゾイルクロリド（100μL、631μmol）、4-（ジメチルアミノ）ピリジン（154mg、1.26mmol）を添加した。次に1'-S-C（40.1mg、124μmol）のメチルベンゼン溶液を添加し、2mlのメチルベンゼンで希釈した。体系を室温下で8時間攪拌した。ベンゼン（10ml）、飽和炭素水素ナトリウム水溶液（15ml）で希釈後に酢酸エチル（30ml）で3回抽出し、有機層と合わせて水と塩水で抽出し、硫酸ナトリウムで乾燥させた。真空濃縮後のエキ스는シリカゲルカラムクロマトグラフィー（n-ヘキサン／酢酸エチル、10：1）を用い、無色油状の物質1'-S-H（69.0mg、93%）が得られた。

【0085】

化合物1'-R-I（S1～S15）：室温下での1'-R-H（15.1mg、32.9μmol）、第1世代Grubbs触媒（1.4mg、1.6μmol）の脱気した塩化メチレン（2ml）を5時間攪拌し、次に第1世代Grubbs触媒（1.4mg、1.6μmol）をもう一度添加し、3時間攪拌した。真空濃縮後のエキ스는シリカゲルカラムクロマトグラフィー（n-ヘキサン／酢酸エチル、10：1）を用い、無色油状の物質1'-R-I（11.0mg、80%）が得られた。

【0086】

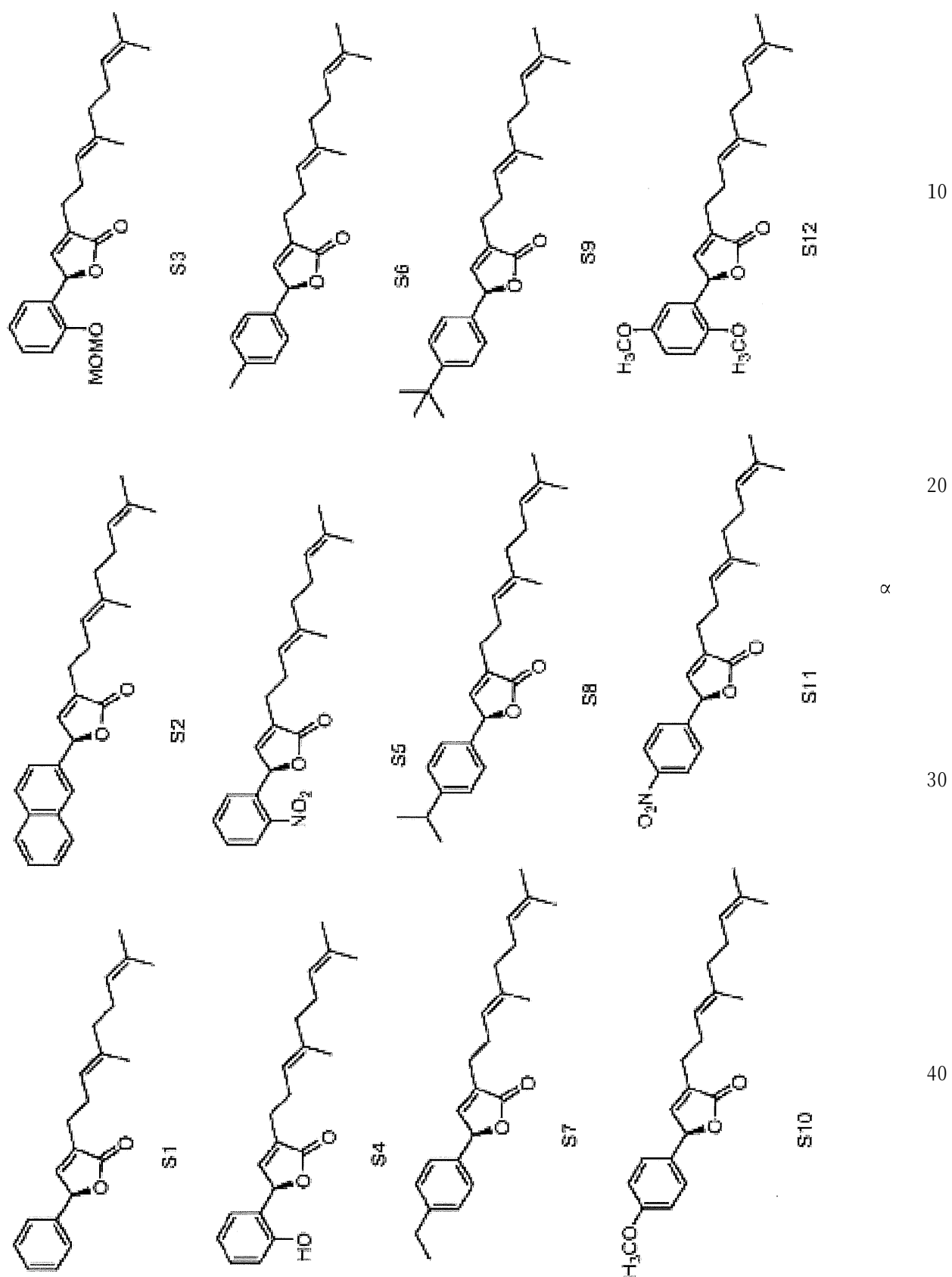
1'-S-I（S16～S30）：室温下での1'-S-H（15.1mg、32.9μmol）、第1世代Grubbs触媒（1.4mg、1.6μmol）の脱気した塩化メチレン（2ml）を5時間攪拌し、次に第1世代Grubbs触媒（1.4mg、1.6μmol）をもう一度添加し、3時間攪拌した。真空濃縮後のエキ스는シリカゲルカラムクロマトグラフィー（n-ヘキサン／酢酸エチル、10：1）を用い、化合物1'-S-Iが得られた。

【実施例3】

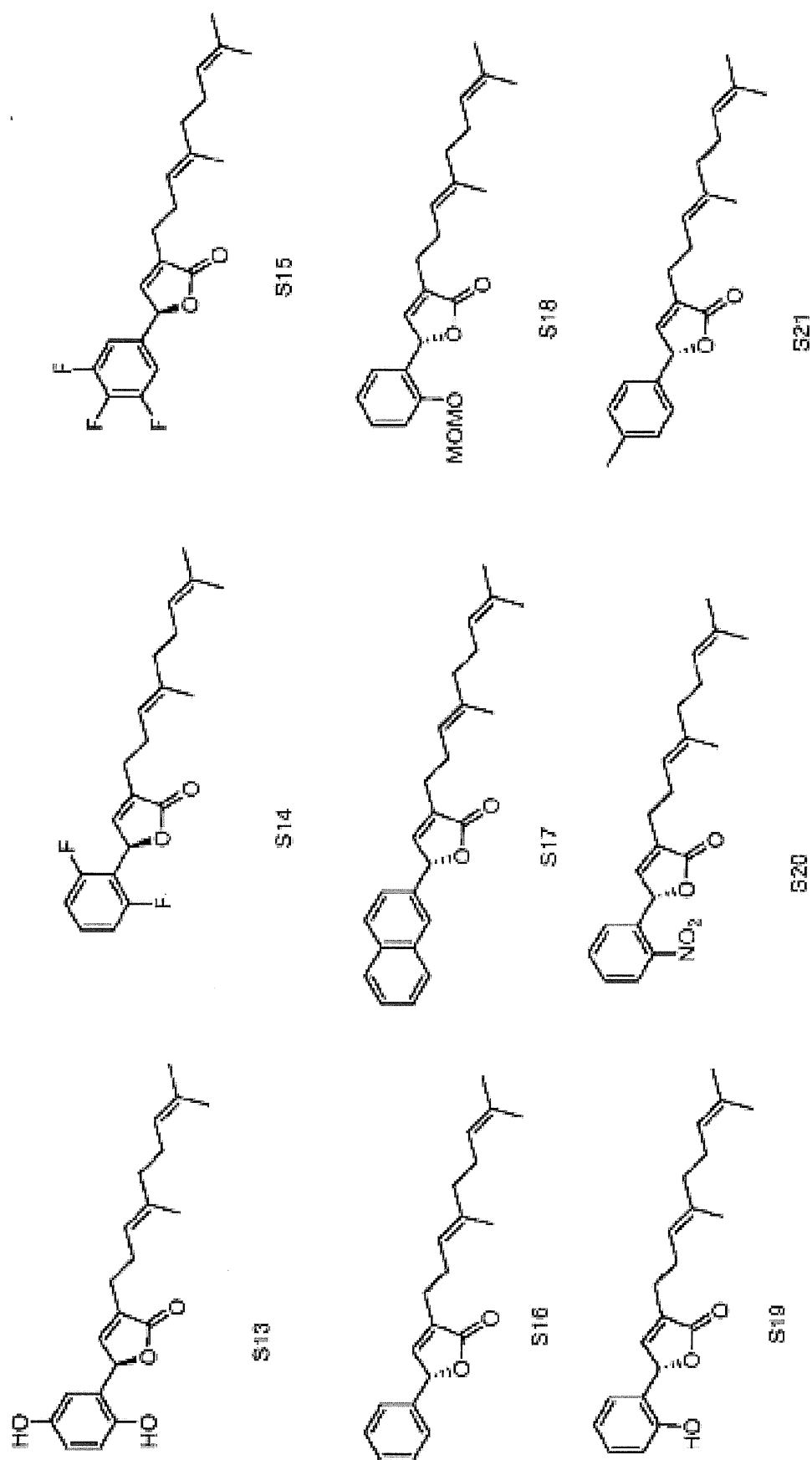
【0087】

実施例3、S1～S38に示される化合物：

【化 7】



【化 8】



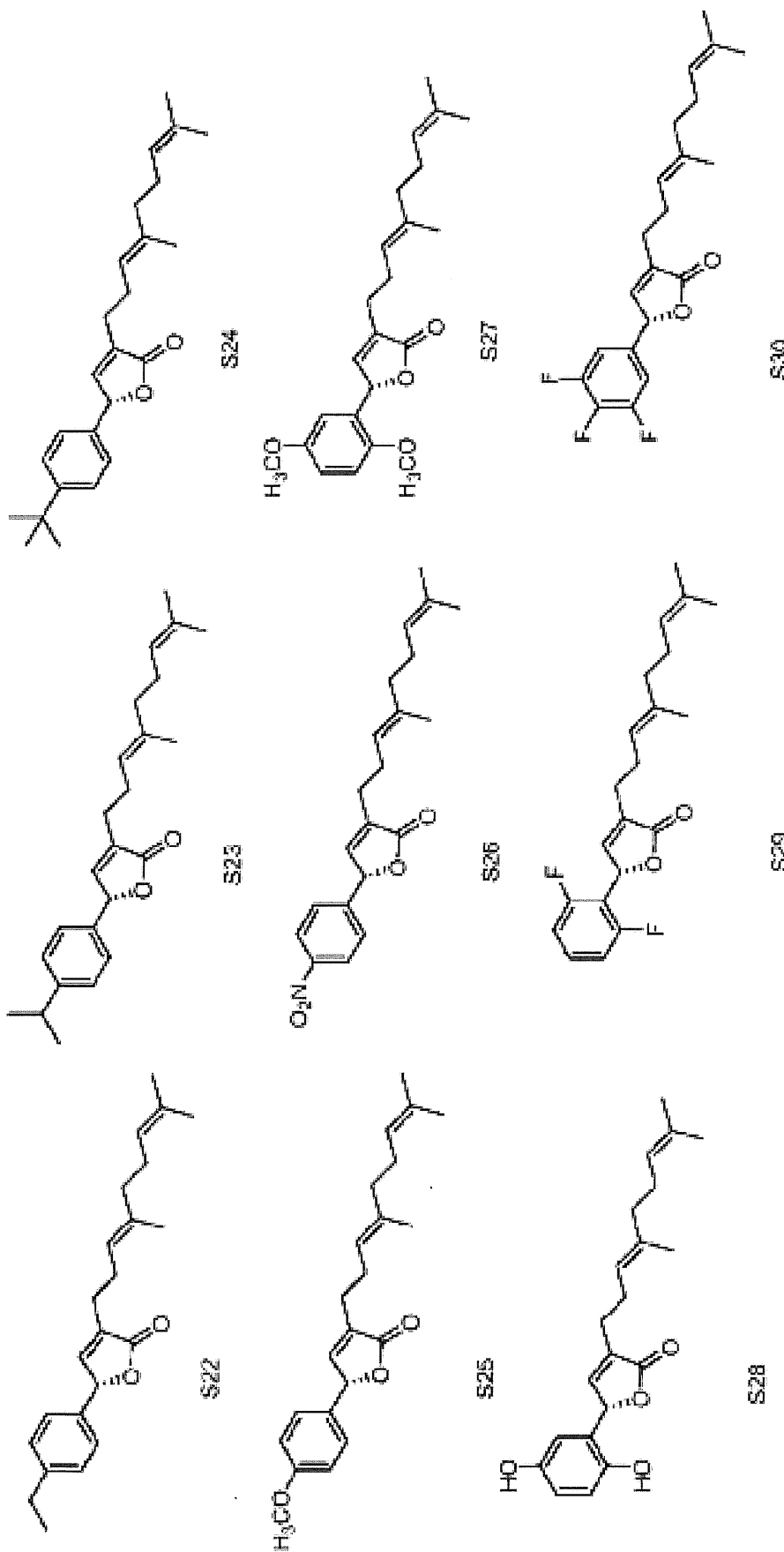
10

20

30

40

【化 9】



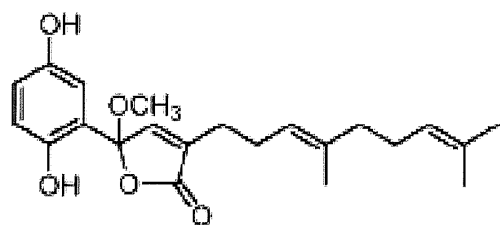
10

20

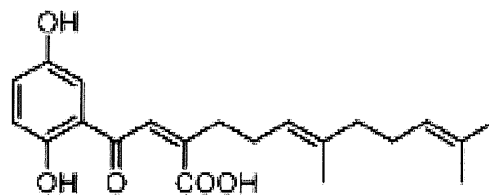
30

40

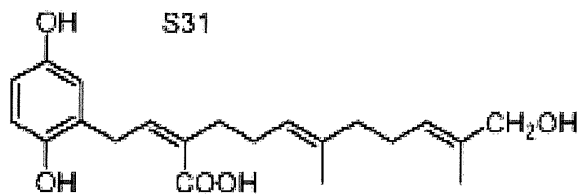
【化10】



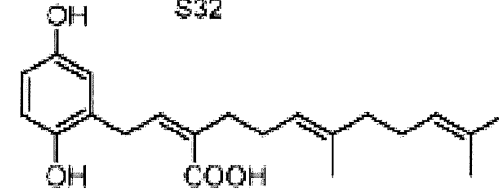
S31



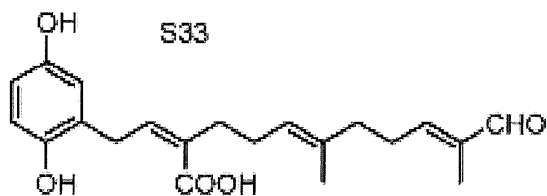
S32



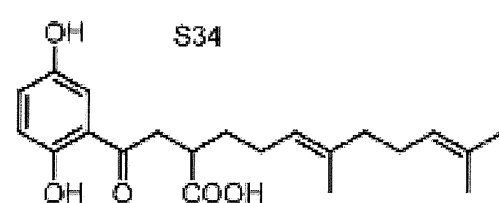
S33



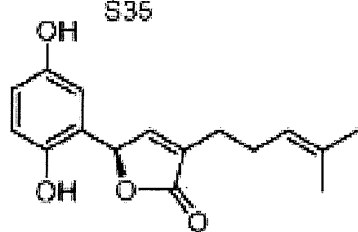
S34



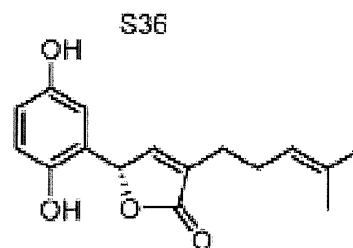
S35



S36



S37



S38

【0088】

調製して得られた化合物それぞれに対して核磁気共鳴、赤外線検出、質量分析を行い、各化合物の構造を確定した。

【0089】

ここで、核磁気共鳴装置はBruker Mercury-500MHz及びBruker Mercury-600MHz（ブルカー・オプティクス社）、赤外分光光度計はNicolet IS5FT-IR（米国、Nicolet Instrument Co., Ltd）、質量分析計はBruker APEX III 7.0T及びAPEX III FT-ICR（ブルカー・オプティクス社）を使用した。

【0090】

S1、[(R, E)-3-(4,8-ジメチルノナン-3,7-ジアルケン-1-イル)-5-ベンゾフラン-2(5H)-ケトン]、黄色、油状の物質、 $[\alpha]_D^{25} + 51.0$ (c 0.1, MeOH); ^1H NMR (CDCl₃, 500MHz): δ_{H} ; 7.33 (t, 8.3, 2H), 7.27 (t, 8.3, 1H), 7.24 (s, 1H), 7.15 (d, 8.3, 2H), 6.43 (s, 1H), 5.09 (t, 7.0, 1H), 5.06 (t, 7.0, 1H), 2.39 (t, 7.0, 2H), 2.33 (m, 2H), 2.02 (m, 2H), 1.96 (m, 2H), 1.66 (s, 3H), 1.58 (s, 6H); ^{13}C NMR (CDCl₃, 125MHz): δ_{C} : 174.0, 147.1, 141.5, 136.8, 133.2, 131.5, 128.9 (×2), 127.5 (×2), 127.1, 124.1, 122.2, 82.1, 39.6, 26.8, 25.7, 2

5. 4、21. 2、17. 8、16. 2 positive HRTOFMS m/z [$M+H$]⁺311. 2009 (計算値 $C_{21}H_{26}O_2$ 、311. 2006)。

【0091】

S2、[(R, E)-3-(4, 8-ジメチルノナン-3, 7-ジアルケン-1-イル)-5-(2-ナフチル)-フラン-2(5H)-ケトン]、黄色、油状の物質、 $[\alpha]_D^{25} +17.4$ (c 0. 1、MeOH)； ^1H NMR (CDCl₃、500MHz)： δ_H ；8. 08 (d、8. 4、1H)、7. 91 (d、8. 0、1H)、7. 86 (d、8. 0、1H)、7. 60 (t、7. 6、1H)、7. 56 (t、7. 6、1H)、7. 44 (t、7. 6、1H)、7. 39 (m、1H)、7. 36 (m、1H)、6. 66 (s、1H)、5. 13 (t、7. 0、1H)、5. 06 (t、7. 0、1H)、2. 43 (t、7. 0、2H)、2. 33 (m、2H)、2. 02 (m、2H)、1. 97 (m、2H)、1. 66 (s、3H)、1. 58 (s、6H)； ^{13}C NMR (CDCl₃、125MHz)： δ_C 173. 8、147. 4、136. 9、134. 0、133. 8、131. 5、131. 3、130. 7、129. 6、129. 1、126. 9、126. 1、125. 4、124. 1、123. 5、122. 6、122. 5、79. 3、39. 6、26. 6、25. 7、25. 7、25. 5、17. 7、16. 2；positive HRTOFMS m/z [$M+H$]⁺361. 2162 (計算値 $C_{25}H_{28}O_2$ 、361. 2162)。

10

【0092】

S3、[(R, E)-3-(4, 8-ジメチルノナン-3, 7-ジアルケン-1-イル)-5-(2-メトキシメチル)フェニル]フラン-2(5H)-ケトン]、黄色、油状の物質、 $[\alpha]_D^{25} +71.0$ (c 0. 1、MeOH)； ^1H NMR (CDCl₃、500MHz)： δ_H ；7. 27 (s、1H)、7. 21 (t、7. 7、1H)、7. 15 (d、7. 5、1H)、6. 93 (t、7. 5、1H)、6. 81 (d、7. 5、1H)、6. 23 (s、1H)、6. 01 (s、2H)、3. 50 (s、3H)、2. 38 (t、7. 5、2H)、2. 29 (m、2H)、2. 03 (m、2H)、1. 96 (m、2H)、1. 67 (s、3H)、1. 59 (s、3H)、1. 58 (s、3H)； ^{13}C NMR (CDCl₃、125MHz)： δ_C 174. 1、153. 0、147. 1、136. 8、133. 1、131. 5、129. 8、126. 6、124. 2、122. 6、122. 1、121. 3、115. 8、95. 2、78. 0、50. 9、39. 6、26. 5、25. 7、25. 7、25. 4、17. 1、16. 1 positive HRTOFMS m/z [$M+H$]⁺371. 2221 (計算値 $C_{23}H_{30}O_4$ 、371. 2217)。

20

30

【0093】

S4、[(R, E)-3-(4, 8-ジメチルノナン-3, 7-ジアルケン-1-イル)-5-(2-ヒドロキシ)フェニル]フラン-2(5H)-ケトン]、黄色、油状の物質、 $[\alpha]_D^{25} +54.2$ (c 0. 1、MeOH)； ^1H NMR (CDCl₃、500MHz)： δ_H ；7. 27 (s、1H)、7. 21 (t、7. 7、1H)、7. 15 (d、7. 5、1H)、6. 93 (t、7. 5、1H)、6. 81 (d、7. 5、1H)、6. 23 (s、1H)、2. 38 (t、7. 5、2H)、2. 29 (m、2H)、2. 03 (m、2H)、1. 96 (m、2H)、1. 67 (s、3H)、1. 59 (s、3H)、1. 58 (s、3H)； δ_H ； ^{13}C NMR (CDCl₃、125MHz)： δ_C 174. 1、153. 0、147. 1、136. 8、133. 1、131. 5、129. 8、126. 6、124. 2、122. 6、122. 1、121. 3、115. 8、78. 0、39. 6、26. 5、25. 7、25. 7、25. 4、17. 1、16. 1 positive HRTOFMS m/z [$M+H$]⁺327. 1954 (計算値 $C_{21}H_{26}O_3$ 、327. 1953)。

40

【0094】

S5、[(R, E)-3-(4, 8-ジメチルノナン-3, 7-ジアルケン-1-イル)-5-(2-ニトリル)フェニル]フラン-2(5H)-ケトン]、黄色、油状の物質、 $[\alpha]_D^{25} +38.2$ (c 0. 1、MeOH)； ^1H NMR (CDCl₃、500M

50

Hz) : δ_{H} 8.17 (d, 8.3、1H)、7.68 (t, 7.6、1H)、7.54 (d, 7.9、1H)、7.53 (m, 1H)、7.33 (s, 1H)、6.53 (s, 1H)、5.06 (m, 2H)、2.38 (t, 7.6、2H)、2.26 (m, 2H)、1.99 (m, 2H)、1.95 (m, 2H)、1.66 (s, 3H)、1.58 (s, 6H) ; ^{13}C NMR (CDCl₃, 125MHz) : δ_{C} 173.7、148.1、147.1、137.0、134.7、133.6、132.3、131.5、129.4、128.1、125.3、124.1、122.3、78.4、39.6、26.6、25.7、25.7、25.4、17.7、16.1 positive HRTOFMS m/z [M+H]⁺ 356.1855 (計算値 C₂₁H₂₅NO₄, 356.1856)。

10

【0095】

S6、[(R, E)-3-(4, 8-ジメチルノナン-3, 7-ジアルケン-1-イル)-5-(p-メチル)フェニル]フラン-2(5H)-ケトン]、黄色、油状の物質、
[α]_D²⁵ +39.0 (c 0.1, MeOH) ; ^1H NMR (CDCl₃, 500MHz) : δ_{H} ; 7.18 (d, 7.9、2H)、7.13 (d, 7.9、2H)、7.08 (s, 1H)、5.83 (s, 1H)、5.12 (t, 7.5、1H)、5.07 (t, 7.5、1H)、2.40 (m, 2H)、2.35 (s, 3H)、2.31 (m, 2H)、2.04 (m, 2H)、1.98 (m, 2H)、1.67 (s, 3H)、1.59 (s, 3H)、1.58 (s, 3H) ; ^{13}C NMR (CDCl₃, 125MHz) : δ_{C} : 174.0、147.9、139.1、136.8、133.5、132.1、131.5、129.5 (×2)、126.6 (×2)、124.1、122.6、82.2、39.6、26.6、25.7、25.7、25.4、21.2、17.7、16.2 positive HRTOFMS m/z [M+H]⁺ 325.2166 (計算値 C₂₂H₂₈O₂, 325.2162)。

20

【0096】

S7、[(R, E)-3-(4, 8-ジメチルノナン-3, 7-ジアルケン-1-イル)-5-(p-エチル)フェニル]フラン-2(5H)-ケトン]、黄色、油状の物質、
[α]_D²⁵ +54.9 (c 0.1, MeOH) ; ^1H NMR (CDCl₃, 500MHz) : δ_{H} ; 7.20 (d, 7.9、2H)、7.13 (d, 7.9、2H)、7.06 (s, 1H)、5.84 (s, 1H)、5.12 (t, 7.5、1H)、5.07 (t, 7.5、1H)、2.65 (q, 7.6、2H)、2.41 (m, 2H)、2.32 (m, 2H)、2.05 (m, 2H)、1.98 (m, 2H)、1.67 (s, 3H)、1.59 (s, 3H)、1.58 (s, 3H)、1.23 (t, 7.6、3H) ; ^{13}C NMR (CDCl₃, 125MHz) : δ_{C} : 174.0、147.9、145.4、136.8、133.5、132.4、131.5、128.4 (×2)、126.6 (×2)、124.1、122.6、82.3、39.6、28.6、26.6、25.7、25.7、25.4、17.7、16.2、15.5 ; positive HRTOFMS m/z [M+H]⁺ 339.2322 (計算値 C₂₃H₃₀O₂, 339.2319)。

30

【0097】

S8、[(R, E)-3-(4, 8-ジメチルノナン-3, 7-ジアルケン-1-イル)-5-(p-イソプロピル)フェニル]フラン-2(5H)-ケトン]、黄色、油状の物質、
[α]_D²⁵ +48.0 (c 0.1, MeOH) ; ^1H NMR (CDCl₃, 500MHz) : δ_{H} ; ^{13}C NMR (CDCl₃, 125MHz) : 7.26 (d, 7.9、2H)、7.19 (d, 7.9、2H)、7.10 (s, 1H)、5.87 (s, 1H)、5.15 (m, 2H)、5.08 (m, 2H)、2.94 (m, 1H)、2.41 (m, 2H)、2.33 (m, 2H)、2.06 (m, 2H)、2.00 (m, 2H)、1.69 (s, 3H)、1.62 (s, 6H)、1.28 (s, 3H)、1.26 (s, 3H) ; δ_{C} : 174.0、150.1、147.9、136.8、133.5、132.5、131.5、127.0 (×2)、126.7、126.6、124.2、122.6、82.2、39.6、33.9、26.6、25.7、25.7、25.4、23.9

40

50

($\times 2$)、17.7、16.2; positive HRTOFMS m/z [M+H]⁺ 353.2475 (計算値 $C_{24}H_{32}O_2$ 、353.2475)。

【0098】

S9、[(R, E)-3-(4,8-ジメチルノナン-3,7-ジアルケン-1-イル)-5-(p-tert-ブチル)フェニル]フラン-2(5H)-ケトン]、黄色、油状の物質、 $[\alpha]_D^{25} + 58.0$ (c 0.1, MeOH); ^1H NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ_H ; 7.40 (d, 7.6, 2H)、7.18 (d, 7.6, 2H)、7.07 (s, 1H)、5.85 (s, 1H)、5.11 (t, 7.5, 1H)、5.07 (t, 7.5, 1H)、2.40 (m, 2H)、2.31 (m, 2H)、2.05 (m, 2H)、1.98 (m, 2H)、1.67 (s, 3H)、1.59 (s, 6H)、1.31 (s, 9H); ^{13}C NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ_C : 174.0、152.3、147.9、136.8、133.5、132.1、131.5、126.4 ($\times 2$)、125.9 ($\times 2$)、124.1、122.6、82.2、39.6、34.7、31.2 ($\times 3$)、26.6、25.7、25.7、25.4、17.7、16.2 positive HRTOFMS m/z [M+H]⁺ 367.2632 (計算値 $C_{25}H_{34}O_2$ 、367.2632)。

10

【0099】

S10、[(R, E)-3-(4,8-ジメチルノナン-3,7-ジアルケン-1-イル)-5-(p-メトキシ)フェニル]フラン-2(5H)-ケトン]、黄色、油状の物質、 $[\alpha]_D^{25} + 78.0$ (c 0.1, MeOH); ^1H NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ_H ; 7.17 (d, 7.6, 2H)、7.05 (d, 7.6, 2H)、6.89 (s, 1H)、5.82 (s, 1H)、5.12 (t, 7.5, 1H)、5.07 (t, 7.5, 1H)、3.81 (s, 3H)、2.40 (m, 2H)、2.32 (m, 2H)、2.04 (m, 2H)、1.99 (m, 2H)、1.67 (s, 3H)、1.59 (s, 6H); ^{13}C NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ_C : 174.0、160.3、147.8、136.8、133.7、131.5、128.2 ($\times 2$)、127.0、124.1、122.6、114.3 ($\times 2$)、82.1、55.4、39.7、26.6、25.7、25.7、25.4、17.7、16.2 positive HRTOFMS m/z [M+H]⁺ 341.2115 (計算値 $C_{22}H_{28}O_3$ 、341.2111)。

20

30

【0100】

S11、[(R, E)-3-(4,8-ジメチルノナン-3,7-ジアルケン-1-イル)-5-(p-ニトリル)フェニル]フラン-2(5H)-ケトン]、黄色、油状の物質、 $[\alpha]_D^{25} + 92.0$ (c 0.1, MeOH); ^1H NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ_H ; 8.07 (d, 7.6, 2H)、7.48 (d, 7.6, 2H)、7.29 (s, 1H)、5.82 (s, 1H)、5.01 (t, 7.5, 1H)、4.97 (t, 7.5, 1H)、2.32 (m, 2H)、2.19 (m, 2H)、1.92 (m, 2H)、1.82 (m, 2H)、1.67 (s, 3H)、1.57 (s, 3H)、1.45 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ_C : 174.0、147.9、145.9、141.8、137.7、137.2、131.2、127.2 ($\times 2$)、123.8、123.6 ($\times 2$)、121.4、89.5、39.6、26.6、25.7、25.7、25.5、17.7、16.1, positive HRTOFMS m/z [M+H]⁺ 356.1852 (計算値 $C_{21}H_{25}NO_4$ 、356.1856)。

40

【0101】

S12、[(R, E)-3-(4,8-ジメチルノナン-3,7-ジアルケン-1-イル)-5-(2,5-ジメトキシ)フェニル]フラン-2(5H)-ケトン]、黄色、油状の物質、 $[\alpha]_D^{25} + 46.0$ (c 0.1, MeOH); ^1H NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ_H ; 7.19 (s, 1H)、6.82 (m, 2H)、6.76 (s, 1H)、6.19 (s, 1H)、5.10 (t, 7.6, 1H)、5.06 (t, 7.6, 1H)、3.86 (s, 3H)、3.72 (s, 3H)、2.35 (m, 2H)、2.

50

2.6 (m, 2H)、2.03 (m, 2H)、1.97 (m, 2H)、1.67 (s, 3H)、1.59 (s, 3H)、1.58 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 125 MHz): δ_{C} 176.7、151.1、148.8、137.7、132.9、132.1、123.9、123.4、125.3、123.4、117.1、117.1、113.1、79.8、55.8、56.1、40.7、27.6、26.8、26.1、25.8、17.7、16.2 positive HRTOFMS m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ 371.2218 (計算値 $\text{C}_{23}\text{H}_{30}\text{O}_4$, 371.2217)。

【0102】

S13、[(R, E)-3-(4, 8-ジメチルノナン-3, 7-ジアルケン-1-イル)-5-(2, 5-ヒドロキシ)フェニル]フラン-2(5H)-ケトン]、黄色、油状の物質、 $[\alpha]_{\text{D}}^{25} +92.0$ (c 0.1, MeOH); ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz): δ_{H} ; 7.18 (s, 1H)、6.83 (m, 2H)、6.76 (s, 1H)、6.19 (s, 1H)、5.10 (t, 7.6, 1H)、5.06 (t, 7.6, 1H)、2.35 (m, 2H)、2.26 (m, 2H)、2.03 (m, 2H)、1.97 (m, 2H)、1.67 (s, 3H)、1.59 (s, 3H)、1.58 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 125 MHz): δ_{C} 176.7、151.3、148.5、137.6、132.8、132.1、123.9、123.4、125.3、123.4、117.1、117.1、113.1、79.8、40.7、27.6、26.8、26.1、25.8、17.7、16.2 positive HRTOFMS m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ 343.1834 (計算値 $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{O}_4$, 343.1831)。

【0103】

S14、[(R, E)-3-(4, 8-ジメチルノナン-3, 7-ジアルケン-1-イル)-5-(2, 6-フルオロ)フェニル]フラン-2(5H)-ケトン]、黄色、油状の物質、 $[\alpha]_{\text{D}}^{25} +89.0$ (c 0.1, MeOH); ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz): δ_{H} ; 7.33 (m, 1H)、7.07 (s, 1H)、6.90 (m, 2H)、6.22 (s, 1H)、5.513 (t, 7.6, 1H)、5.07 (t, 7.6, 1H)、2.41 (m, 2H)、2.32 (m, 2H)、2.04 (m, 2H)、1.99 (m, 2H)、1.66 (s, 3H)、1.61 (s, 3H)、1.59 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 125 MHz): δ_{C} : 174.0、158.7、155.2、148.6、135.7、135.1、132.6、132.0、124.5、123.5、117.3、116.0、115.8、79.8、39.7、26.6、25.7、25.4、17.7、16.2; positive HRTOFMS m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ 347.1817 (計算値 $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{F}_2\text{O}_4$, 347.1817)。

【0104】

S15、[(R, E)-3-(4, 8-ジメチルノナン-3, 7-ジアルケン-1-イル)-5-(3, 4, 5-フルオロ)フェニル]フラン-2(5H)-ケトン]、黄色、油状の物質、 $[\alpha]_{\text{D}}^{25} +21.0$ (c 0.1, MeOH); ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz): δ_{H} ; 7.27 (m, 1H)、7.02 (s, 1H)、6.91 (m, 1H)、5.77 (s, 1H)、5.08 (m, 2H)、2.41 (m, 2H)、2.30 (m, 2H)、2.02 (m, 2H)、1.99 (m, 2H)、1.65 (s, 3H)、1.59 (s, 6H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 125 MHz): δ_{C} : 172.9、146.4 ($\times 2$)、137.2、134.6、131.8、131.6、124.0 ($\times 2$)、122.3 ($\times 2$)、110.9、110.7、80.2、39.6、26.6、25.7、25.6、25.4、17.7、16.2; positive HRTOFMS m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ 365.1725 (計算値 $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{F}_3\text{O}_4$, 365.1723)。

【0105】

S16、[(S, E)-3-(4, 8-ジメチルノナン-3, 7-ジアルケン-1-イル)-5-ベンゾフラン-2(5H)-ケトン]、黄色、油状の物質、 $[\alpha]_{\text{D}}^{25} -49.0$ (c 0.1, MeOH); NMRデータと化合物S1は一致、positive

HRTOFMS m/z $[M+H]^+ 311.2008$ (計算値 $C_{21}H_{26}O_2$, 311.2006)。

【0106】

S17、[(S, E)-3-(4, 8-ジメチルノナン-3, 7-ジアルケン-1-イル)-5-(2-ナフチル)-フラン-2(5H)-ケトン]、黄色、油状の物質、 $[\alpha]_D^{25} -24.4$ (c 0.1, MeOH)；NMRデータと化合物S2は一致；positive HRTOFMS m/z $[M+H]^+ 361.2161$ (計算値 $C_{25}H_{28}O_2$, 361.2162)。

【0107】

S18、[(S, E)-3-(4, 8-ジメチルノナン-3, 7-ジアルケン-1-イル)-5-(2-メトキシメチル)フェニル]フラン-2(5H)-ケトン]、黄色、油状の物質、 $[\alpha]_D^{25} -61.0$ (c 0.1, MeOH)；NMRデータと化合物S3は一致、positive HRTOFMS m/z $[M+H]^+ 371.2215$ (計算値 $C_{23}H_{30}O_4$, 371.2217)。

【0108】

S19、[(S, E)-3-(4, 8-ジメチルノナン-3, 7-ジアルケン-1-イル)-5-(2-ヒドロキシ)フェニル]フラン-2(5H)-ケトン]、黄色、油状の物質、 $[\alpha]_D^{25} -38$ (c 0.1, MeOH)；NMRデータと化合物S4は一致、positive HRTOFMS m/z $[M+H]^+ 327.1951$ (計算値 $C_{21}H_{26}O_3$, 327.1953)。

【0109】

S20、[(S, E)-3-(4, 8-ジメチルノナン-3, 7-ジアルケン-1-イル)-5-(2-ニトリル)フェニル]フラン-2(5H)-ケトン]、黄色、油状の物質、 $[\alpha]_D^{25} -42.0$ (c 0.1, MeOH)；NMRデータと化合物S5は一致；positive HRTOFMS m/z $[M+H]^+ 356.1852$ (計算値 $C_{21}H_{25}NO_4$, 356.1856)。

【0110】

S21、[(S, E)-3-(4, 8-ジメチルノナン-3, 7-ジアルケン-1-イル)-5-(p-メチル)フェニル]フラン-2(5H)-ケトン]、黄色、油状の物質、 $[\alpha]_D^{25} -38.0$ (c 0.1, MeOH)；NMRデータと化合物S6は一致；positive HRTOFMS m/z $[M+H]^+ 325.2160$ (計算値 $C_{22}H_{28}O_2$, 325.2162)。

【0111】

S22、[(S, E)-3-(4, 8-ジメチルノナン-3, 7-ジアルケン-1-イル)-5-(p-エチル)フェニル]フラン-2(5H)-ケトン]、黄色、油状の物質、 $[\alpha]_D^{25} -32.0$ (c 0.1, MeOH)；NMRデータと化合物S7は一致；positive HRTOFMS m/z $[M+H]^+ 339.2322$ (計算値 $C_{23}H_{30}O_2$, 339.2319)。

【0112】

S23、[(S, E)-3-(4, 8-ジメチルノナン-3, 7-ジアルケン-1-イル)-5-(p-イソプロピル)フェニル]フラン-2(5H)-ケトン]、黄色、油状の物質、 $[\alpha]_D^{25} -45.0$ (c 0.1, MeOH)；NMRデータと化合物S8は一致；positive HRTOFMS m/z $[M+H]^+ 353.2475$ (計算値 $C_{24}H_{32}O_2$, 353.2475)。

【0113】

S24、[(S, E)-3-(4, 8-ジメチルノナン-3, 7-ジアルケン-1-イル)-5-(p-tert-ブチル)フェニル]フラン-2(5H)-ケトン]、黄色、油状の物質、 $[\alpha]_D^{25} -46.0$ (c 0.1, MeOH)；NMRデータと化合物S9は一致；positive HRTOFMS m/z $[M+H]^+ 367.2632$ (計算値 $C_{25}H_{34}O_2$, 367.2632)。

10

20

30

40

50

【0114】

S25、[(S, E)-3-(4, 8-ジメチルノナン-3, 7-ジアルケン-1-イル)-5-(p-メトキシ)フェニル]フラン-2(5H)-ケトン]、黄色、油状の物質、 $[\alpha]_D^{25} -62.0$ (c 0.1, MeOH); NMRデータと化合物S10は一致; positive HRTOFMS m/z [M+H]⁺ 341.2115 (計算値 C₂₂H₂₈O₃, 341.2111)。

【0115】

S26、[(S, E)-3-(4, 8-ジメチルノナン-3, 7-ジアルケン-1-イル)-5-(p-ニトリル)フェニル]フラン-2(5H)-ケトン]、黄色、油状の物質、 $[\alpha]_D^{25} -67.0$ (c 0.1, MeOH); NMRデータと化合物S11は一致; positive HRTOFMS m/z [M+H]⁺ 356.1858 (計算値 C₂₁H₂₅NO₄, 356.1856)。

10

【0116】

S27、[(S, E)-3-(4, 8-ジメチルノナン-3, 7-ジアルケン-1-イル)-5-(2, 5-ジメトキシ)フェニル]フラン-2(5H)-ケトン]、黄色、油状の物質、 $[\alpha]_D^{25} -57.0$ (c 0.1, MeOH); NMRデータと化合物S12は一致; positive HRTOFMS m/z [M+H]⁺ 371.2215 (計算値 C₂₃H₃₀O₄, 371.2217)。

【0117】

S28、[(S, E)-3-(4, 8-ジメチルノナン-3, 7-ジアルケン-1-イル)-5-(2, 5-ヒドロキシ)フェニル]フラン-2(5H)-ケトン]、黄色、油状の物質、 $[\alpha]_D^{25} -88.0$ (c 0.1, MeOH); NMRデータと化合物S13は一致; positive HRTOFMS m/z [M+H]⁺ 343.1830 (計算値 C₂₁H₂₆O₄, 343.1831)。

20

【0118】

S29、[(S, E)-3-(4, 8-ジメチルノナン-3, 7-ジアルケン-1-イル)-5-(2, 6-フルオロ)フェニル]フラン-2(5H)-ケトン]、黄色、油状の物質、 $[\alpha]_D^{25} -84.0$ (c 0.1, MeOH); NMRデータと化合物S14は一致; positive HRTOFMS m/z [M+H]⁺ 347.1817 (計算値 C₂₁H₂₄F₂O₄, 347.1817)。

30

【0119】

S30、[(S, E)-3-(4, 8-ジメチルノナン-3, 7-ジアルケン-1-イル)-5-(3, 4, 5-フルオロ)フェニル]フラン-2(5H)-ケトン]、黄色、油状の物質、 $[\alpha]_D^{25} -32.0$ (c 0.1, MeOH); NMRデータと化合物S15は一致; positive HRTOFMS m/z [M+H]⁺ 365.1723 (計算値 C₂₁H₂₃F₃O₄, 365.1723)。

【0120】

S31、[(2Z, 5E)-2-(2-(2, 5-ジメチルフェニル)エチリデン)-6, 10-ジメチルテトラデカン-5, 9-ゲラン酸]、黄色、油状の物質、 $[\alpha]_D^{25} -2.0$ (c 0.1, MeOH); ¹H NMR (MeOD, 500MHz): δ_H ; 7.38 (s, 1H)、6.93 (d, 2.8, 1H)、6.75 (d, 8.6, 1H)、6.71 (dd, 8.6, 2.8)、5.11 (t, 7.1, 1H)、5.06 (t, 6.8, 1H)、3.52 (s, 3H)、2.32 (m, 2H)、2.27 (m, 2H)、2.00 (m, 2H)、1.92 (m, 2H)、1.68 (s, 3H)、1.61 (s, 6H); ¹³C NMR (MeOD, 125MHz): δ_C : 171.6、151.1、148.7、146.9、137.1、135.8、131.6、125.0、123.8、123.6、118.3、118.0、114.1、107.6、56.9、43.0、27.2、26.1、25.8、25.7、17.7、16.1; positive HRTOFMS m/z [M+H]⁺ 373.2011 (計算値 C₂₂H₂₈O₅, 373.2010)。

40

50

【0121】

S32、[(2Z, 5E) - 2 - (2 - (2, 5-ジヒドロキシフェニル) - 2-オキソエチリデン) - 6, 10-ジメチルテトラデカン-5, 9-ゲラン酸]、黄色、油状の物質、 $[\alpha]_D^{25} + 3.0$ (c 0.1, CDCl_3) ; ^1H NMR (MeOD, 500 MHz) : δ_{H} ; 7.70 (s, 1H)、7.13 (d, 2.7, 1H)、7.04 (dd, 8.8, 2.7)、6.82 (d, 8.8, 1H)、5.06 (t, 7.1, 1H)、4.99 (t, 6.9, 1H)、2.65 (m, 2H)、2.20 (m, 2H)、1.94 (m, 2H)、1.75 (m, 2H)、1.62 (s, 3H)、1.58 (s, 3H)、1.54 (s, 3H) ; ^{13}C NMR (CDCl_3 , 125 MHz) : δ_{C} : 198.7、170.1、157.2、150.7、145.9、137.6、132.9、126.6、125.4、124.0、121.3、119.9、115.9、40.6、29.2、28.5、27.6、25.9、16.2、15.8 : positive HR TOFMS m/z $[\text{M}+\text{H}]^+ 359.1853$ (計算値 $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{O}_5$, 359.1853)。

10

【0122】

S33、[(2Z, 5E, 9E) - 2 - (2 - (2, 5-ジメチルフェニル) - 2-オキソエチリデン) - 11-ヒドロキシ-6, 10-ジメチルテトラデカン-5, 9-ゲラン酸]、黄色、油状の物質、 $[\alpha]_D^{25} + 2.0$ (c 0.1, MeOH) ; ^1H NMR (MeOD, 500 MHz) : δ_{H} ; 6.64 (d, 8.5, 1H)、6.61 (d, 2.8, 1H)、6.52 (dd, 8.5, 2.8)、5.98 (t, 7.1, 1H)、5.39 (t, 7.1, 1H)、5.14 (t, 7.3, 1H)、3.94 (s, 2H)、3.69 (d, 7.7, 2H) 2.33 (m, 2H)、2.19 (m, 2H)、2.10 (m, 2H)、2.00 (m, 2H)、1.66 (s, 3H)、1.61 (s, 3H) ; ^{13}C NMR (MeOD, 125 MHz) : δ_{C} : 172.3、151.2、149.3、140.5、136.7、135.8、133.3、128.0、126.8、124.6、117.8、116.9、114.8、69.0、40.6、35.9、31.5、28.5、27.3、16.2、13.7 : positive HR TOFMS m/z $[\text{M}+\text{H}]^+ 361.2010$ (計算値 $\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{O}_5$, 361.2010)。

20

【0123】

S34、[(2Z, 5E) - 2 - (2 - (2, 5-ジメチルフェニル) エチリデン) - 6, 10-ジメチルテトラデカン-5, 9-ゲラン酸]、黄色、油状の物質、 $[\alpha]_D^{25} + 1.0$ (c 0.1, MeOH) ; ^1H NMR (MeOD, 500 MHz) : δ_{H} ; 6.64 (d, 8.5, 1H)、6.61 (d, 2.8, 1H)、6.52 (dd, 8.5, 2.8)、5.98 (t, 7.1, 1H)、5.13 (t, 7.3, 1H)、5.10 (t, 7.3, 1H)、3.69 (d, 7.7, 2H)、2.33 (m, 2H)、2.19 (m, 2H)、2.05 (m, 2H)、2.00 (m, 2H)、1.68 (s, 3H)、1.62 (s, 3H)、1.61 (s, 3H) ; ^{13}C NMR (MeOD, 125 MHz) : δ_{C} : 172.3、151.2、149.3、140.5、136.7、133.3、128.0、125.5、124.4、117.8、116.9、114.8、40.4、35.9、31.5、28.5、27.7、25.9、17.8、16.2 : positive HR TOFMS m/z $[\text{M}+\text{H}]^+ 345.2063$ (計算値 $\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{O}_4$, 345.2060)。

30

40

【0124】

S35、[(2Z, 5E, 9E) - 2 - (2 - (2, 5-ジメチルフェニル) - 2-オキソエチリデン) - 11-アルデヒド-6, 10-ジメチルテトラデカン-5, 9-ゲラン酸]、黄色、油状の物質、 $[\alpha]_D^{25} - 4.0$ (c 0.1, MeOH) ; ^1H NMR (MeOD, 500 MHz) : δ_{H} ; 6.64 (d, 8.5, 1H)、6.61 (d, 2.8, 1H)、6.52 (dd, 8.5, 2.8)、5.98 (t, 7.1, 1H)、5.39 (t, 7.1, 1H)、5.14 (t, 7.3, 1H)、3.69 (d, 7.7, 2H) 2.33 (m, 2H)、2.19 (m, 2H)、2.10 (m, 2H)、2.00

50

(m, 2H)、1.66 (s, 3H)、1.61 (s, 3H); ^{13}C NMR (MeOD、125MHz): δ_{C} : 194.0、172.3、151.2、149.3、140.5、136.7、135.8、133.3、128.0、126.8、124.6、117.8、116.9、114.8、40.6、35.9、31.5、28.5、27.3、16.2、13.7; positive HRTOFMS m/z [M+H] $^{+}$ 359.1854 (計算値 $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{O}_5$ 、359.1854)。

【0125】

S36、[(E)-2-(2-(2,5-ジヒドロキシフェニル)-2-オキソエチル)-6,10-ジメチルテトラデカン-5,9-ゲラン酸]、黄色、油状の物質、 $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ -3.0 (c 0.1, MeOH); ^1H NMR (MeOD、500MHz): δ_{H} 7.38 (d, 2.9, 1H)、7.08 (dd, 8.9, 2.9, 1H)、6.79 (d, 8.9, 1H)、5.18 (t, 7.1, 1H)、5.10 (t, 7.1, 1H)、3.50 (dd, 17.9, 9.2, 1H)、3.16 (dd, 17.9, 4.4, 1H)、3.03 (m, 2H)、2.14 (m, 2H)、2.05 (m, 2H)、1.99 (m, 2H)、1.87 (m, 2H)、1.64 (s, 3H)、1.61 (s, 3H)、1.58 (s, 3H); ^{13}C NMR (MeOD、125MHz): δ_{C} : 205.0、176.4、156.3、150.2、136.2、131.6、125.6、125.0、124.3、120.0、119.3、115.4、40.3、40.1、32.6、27.3、26.1、25.7、17.7、16.1; positive HRTOFMS m/z [M+H] $^{+}$ 361.2013 (計算値 $\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{O}_5$ 、361.2010)。

【0126】

S37、(R)-[5-(2,5-ジヒドロキシフェニル)-3-(4-メチルペンタン-3-アルケン-1-イル)フラン-2(5H)-ケトン]、無色油状の物質、 $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ +42.1 (c 0.1, MeOH); ^1H NMR (MeOD、500MHz): δ_{H} 7.35 (d, 1.4, 1H)、6.76 (d, 8.6, 1H)、6.65 (dd, 8.6, 2.9, 1H)、6.53 (d, 2.9, 1H)、6.20 (d, 1.4, 1H)、5.12 (t, 7.1, 2H)、2.30 (m, 2H)、2.28 (m, 2H)、1.64 (s, 3H)、1.57 (s, 3H); ^{13}C NMR (MeOD、125MHz): δ_{C} : 174.6、151.3、149.5、148.2、133.1、132.7、123.9、123.6、117.0、116.8、113.2、78.3、26.6、25.9、25.7、17.7; positive HRTOFMS m/z [M+H] $^{+}$ 275.1281 (計算値 $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_4$ 、275.1281)。

【0127】

S38、(S)-[5-(2,5-ジヒドロキシフェニル)-3-(4-メチルペンタン-3-アルケン-1-イル)フラン-2(5H)-ケトン]、無色油状の物質、 $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ -35.1 (c 0.1, MeOH); NMRデータと化合物S37は一致; positive HRTOFMS m/z [M+H] $^{+}$ 275.1284 (計算値 $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_4$ 、275.1281)。

【実施例4】

【0128】

実施例4、構造式S1～S38に示される化合物のインビトロでの α -グルコシダーゼ活性阻害試験

【0129】

試験試料溶液：実施例3で調製したS1～S38に示される38個の化合物を正確に秤量し、DMSOで5mMに調合し、活性試験に使用した（最終濃度範囲は0.05～50 μM 、調合時に少量のDMSOに溶解した後、蒸留水で対応濃度に希釈し、DMSOが最終体積分率<0.1%となるよう制御する）；アカルボースを陽性対照とする（最終濃度はそれぞれ4000 μM 、1000 μM 、250 μM 、62.5 μM とし、調合時に少量のDMSOに溶解した後、蒸留水で対応濃度に希釈し、DMSOが最終体積分率<0.1

10

20

30

40

50

%となるよう制御する)。

【0130】

以上の異なる濃度の試験試料溶液を25 μL取り、25 μLのα-グルコシダーゼ水溶液(濃度0.2 U/mL)及び175 μLのリン酸塩緩衝液(50 mM、pH 7.0)を添加した。混合溶液を室温に10分間放置してから25 μLの4-ニトロフェニル-α-D-グルコピラノシド水溶液(濃度2.5 mM)を添加し、37℃のインキュベータに30分間、5000 rpmの遠心分離に5分間かけ、上清150 μLを96ウェルプレート中に取り、405 nm帯の波長で吸光度を測定した。

【0131】

実験で同時にセットするブランク群は：試験試料溶液の代わりに25 μLのリン酸塩緩衝液(50 mM、pH 7.0)を使用し；ブランク対照群は：試験試料溶液の代わりに25 μLのリン酸塩緩衝液(50 mM、pH 7.0)を使用し、同時にα-グルコシダーゼ水溶液の代わりに25 μLのリン酸塩緩衝液(50 mM、pH 7.0)を使用し；試料対照群は：α-グルコシダーゼ水溶液の代わりに25 μLのリン酸塩緩衝液(50 mM、pH 7.0)を使用した。

【0132】

各実験群を3回繰り返し、平均値を結果とする。下記の公式で試料のα-グルコシダーゼ阻害率を計算する：

$$\text{阻害率}(\%) = [1 - (\text{試料群吸光度} - \text{試料対照群吸光度}) / (\text{ブランク群吸光度} - \text{ブランク対照群吸光度})] \times 100\%$$

【0133】

実験データを統計解析し、下記の公式で各試験試料を計算した結果のIC₅₀値を表2に示す。

$$IC_{50} = [C_L(I_H - 50) + C_H(50 - I_L)] / (I_H - I_L)$$

【0134】

C_L：低濃度値；C_H：高濃度値；I_H：高濃度下での阻害率；I_L：低濃度下での阻害率。

【0135】

どの化合物も強いα-グルコシダーゼ阻害活性を有し、その活性は陽性対照薬のアカルボースより強いことが示されている。

10

20

30

【表 2】

表2: S1～S38に示される化合物の α -グルコシダーゼ阻害活性検査結果

	α -グルコシダーゼ阻害活性		α -グルコシダーゼ阻害活性
S1	0.18	S20	0.21
S2	7.40	S21	1.03
S3	8.65	S22	0.92
S4	0.21	S23	49.2
S5	0.09	S24	0.23
S6	1.06	S25	52.10
S7	0.58	S26	30.26
S8	56.2	S27	15.28
S9	0.16	S28	0.42
S10	>50	S29	3.95
S11	34.20	S30	1.25
S12	11.52	S31	3.23
S13	0.27	S32	5.43
S14	3.72	S33	12.23
S15	1.27	S34	0.98
S16	0.23	S35	12.3
S17	6.32	S36	3.2
S18	8.20	S37	1.32
S19	0.52	S38	1.23
アカルボース	273.1		

【実施例 5】

【0136】

実施例 5、構造式 S1～S38 に示される化合物のインビトロでの HMG-CoA 還元酵素活性阻害試験

【0137】

試験試料溶液：実施例 3 で調製した S1～S38 に示される 38 個の化合物を正確に秤量し、DMSO で 10 mM に調合し、活性試験に使用した（最終濃度範囲は 1～100 μ M、調合時に少量の DMSO に溶解した後、蒸留水で対応濃度に希釈し、DMSO が最終体積分率 < 0.1 % となるよう制御する）；アトルバスタチンを陽性対照とする（最終濃度はそれぞれ 100 μ M、50 μ M、25 μ M、12.5 μ M とし、調合時に少量の DMSO に溶解した後、蒸留水で対応濃度に希釈し、DMSO が最終体積分率 < 0.1 % となるよう制御する）。

【0138】

以上の異なる濃度の試験試料溶液を1 μL取り、25 μLのHMG-CoA還元酵素水溶液（濃度0.2 U/mL）、25 μLのNADPH水溶液（濃度0.2 U/mL）及び24 μLのリン酸塩緩衝液（50 mM、pH 7.0）を添加した。混合溶液を室温に10分間放置してから25 μLのHMG-CoAを添加し、37℃のインキュベータに30分間、5000 rpmの遠心分離に5分間かけ、上清80 μLを96ウェルプレート中に取り、550 nm帯の波長で吸光度を測定した。

【0139】

上述の各実験群を3回繰り返し、平均値を結果とする。下記の公式で試料のHMG-CoA還元酵素阻害率を計算する：

【数3】

表3 S1～S38に示される化合物のHMG-CoA還元酵素阻害活性検査結果

	HMG-CoA還元酵素阻害活性		HMG-CoA還元酵素阻害活性
S1	3.8	S20	13.8
S2	49.8	S21	12.5
S3	8.9	S22	4.2
S4	4.7	S23	87.2
S5	18.9	S24	15.2
S6	8.1	S25	1.5
S7	4.2	S26	7.5
S8	>100	S27	4.4
S9	16.4	S28	8.9
S10	1.2	S29	16.8
S11	7.4	S30	24.2
S12	4.4	S31	32.3
S13	7.9	S32	5.4
S14	25.1	S33	32.9
S15	38.2	S34	12.6
S16	3.6	S35	20.7
S17	42.2	S36	4.2
S18	6.2	S37	65.2
S19	5.5	S38	12.5
アトルバスタチン	31.2		

阻害率（％）＝〔1－（試料群吸光度－試料対照群吸光度）／（ブランク群吸光度－ブランク対照群吸光度）〕×100％

【0140】

実験データを統計分析し、各試験試料を計算した結果のIC₅₀値を表3に示す。どの化合物も強いHMG-CoA還元酵素阻害活性を有し、その活性は陽性対照薬のアトルバスタチンより強いことが示されている。

【表 3】

表3 S1～S38に示される化合物のHMG-CoA還元酵素阻害活性検査結果

	HMG-CoA還元酵素阻害活性		HMG-CoA還元酵素阻害活性
S1	3.8	S20	13.8
S2	49.8	S21	12.5
S3	8.9	S22	4.2
S4	4.7	S23	87.2
S5	18.9	S24	15.2
S6	8.1	S25	1.5
S7	4.2	S26	7.5
S8	>100	S27	4.4
S9	16.4	S28	8.9
S10	1.2	S29	16.8
S11	7.4	S30	24.2
S12	4.4	S31	32.3
S13	7.9	S32	5.4
S14	25.1	S33	32.9
S15	38.2	S34	12.6
S16	3.6	S35	20.7
S17	42.2	S36	4.2
S18	6.2	S37	65.2
S19	5.5	S38	12.5
アトルバスタチン	31.2		

【実施例 6】

【0141】

実施例 6、構造式 S1～S38 に示される化合物のインビトロでのプロテインチロシンホスファターゼ 1B (PTP-1B) 活性阻害試験

【0142】

実施例 3 で調製した S1～S38 に示される 38 個の化合物を正確に秤量し、DMSO で 200 μ M に調合し、活性試験に使用した（最終濃度範囲は 1～50 μ M、調合時に少量の DMSO に溶解した後、蒸留水で対応濃度に希釈し、DMSO が最終体積分率 < 0.1 % となるよう制御する）；パナジン酸ナトリウムを陽性対照とする（最終濃度はそれぞれ 20 μ M、10 μ M、5 μ M、2 μ M、1 μ M とし、調合時に少量の DMSO に溶解した後、蒸留水で対応濃度に希釈し、DMSO が最終体積分率 < 0.1 % となるよう制御する）。

【0143】

実験ステップ：96 ウェルプレートに以下の試薬を順に添加するが、配合比率は下記のように群別で異なる：

【0144】

試験群：化合物溶液 50 μ L + 濃度 170 μ g/mL の PTP-1B 溶液 50 μ L

【0145】

陽性対照群：バナジン酸ナトリウム溶液 50 μ L + 濃度 170 μ g/mL の PTP-1 B 溶液 50 μ L

【0146】

ブランク群：緩衝液 50 μ L + 濃度 170 μ g/mL の PTP-1 B 溶液 50 μ L

【0147】

バックグラウンド群：化合物溶液 50 μ L + 緩衝液 50 μ L

【0148】

試薬を添加した 96 ウェルプレートを室温に 10 分間放置して化合物と酵素を十分反応させた後、50 μ L、1 mM の pNPP 溶液を基質として添加し、37 $^{\circ}$ C のインキュベータで 30 分間反応させ、各ウェルに 50 μ L、3 M の NaOH を添加して反応を終了させ、各ウェルの 405 nm 帯での光学密度を測定した。

10

【0149】

実験データを統計分析し、各試験試料を計算した結果の IC₅₀ 値を表 4 に示す。どの化合物も一定の PTP-1 B 酵素阻害活性を有することが示されている。

【表 4】

表4 S1～S38に示される化合物のPTP-1B酵素阻害活性検査結果

	PTP-1B酵素阻害活性IC ₅₀ μM		PTP-1B酵素阻害活性IC ₅₀ μM
S1	10.5	S20	4.7
S2	13.1	S21	5.8
S3	7.8	S22	16.4
S4	11.1	S23	9.6
S5	5.3	S24	17.6
S6	5.6	S25	16.5
S7	15.5	S26	9.8
S8	12.7	S27	12.3
S9	15.8	S28	9.5
S10	10.1	S29	4.4
S11	8.1	S30	21.1
S12	11.8	S31	15.4
S13	8.9	S32	7.6
S14	3.7	S33	4.5
S15	25.4	S34	12.9
S16	12.5	S35	12.3
S17	10.1	S36	11.4
S18	8.2	S37	12.3
S19	11.5	S38	9.8
バナジン酸 ナトリウム	1.4		

【実施例 7】

【0150】

実施例 7、構造式 S1～S38 に示される化合物のインビトロでのアルドース還元酵素活性阻害試験

【0151】

実施例 3 で調製した S1～S38 に示される 38 個の化合物を正確に秤量し、DMSO で 1 mM に調合し、活性試験に使用した（最終濃度範囲は 1～100 μM、調合時に少量の DMSO に溶解した後、蒸留水で対応濃度に希釈し、DMSO が最終体積分率 < 0.1 % となるよう制御する）；エパルレスタットを陽性対照とする（最終濃度はそれぞれ 20 μM、10 μM、5 μM、2 μM、1 μM とし、調合時に少量の DMSO に溶解した後、蒸留水で対応濃度に希釈し、DMSO が最終体積分率 < 0.1 % となるよう制御する）。

【0152】

実験ステップ：96 ウェルプレートに以下の試薬を順に添加するが、配合比率は下記のように群別で異なる：

【0153】

試験群：化合物溶液 10 μ L + 濃度 (0.1 mM) の NADPH 溶液 25 μ L + PBS 緩衝液 25 μ L + アルドース還元酵素希釈液 15 μ L

【0154】

陽性対照群：エパルレスタット溶液 10 μ L + 濃度 (0.1 mM) の NADPH 溶液 25 μ L + PBS 緩衝液 25 μ L + アルドース還元酵素希釈液 15 μ L

【0155】

ブランク群：濃度 (0.1 mM) の NADPH 溶液 25 μ L + PBS 緩衝液 35 μ L + アルドース還元酵素希釈液 15 μ L

【0156】

バックグラウンド群：濃度 (0.1 mM) の NADPH 溶液 25 μ L + PBS 緩衝液 60 μ L + アルドース還元酵素希釈液 15 μ L

10

【0157】

試薬を添加した 96 ウェルプレートを室温に 10 分間放置して化合物と酵素を十分反応させた後、バックグラウンド群を除く、他の 3 群それぞれに 25 μ L、10 mM D の L-グリセルアルデヒド溶液を基質として添加し、37 $^{\circ}$ C のインキュベータで 30 分間反応させ、各ウェルの 340 nm 帯での光学密度を測定した。

【0158】

実験データを統計分析し、各試験試料を計算した結果の IC_{50} 値を表 5 に示す。どの化合物も一定のアルドース還元酵素阻害活性を有することが示されている。

20

【表 5】

表5 S1～S38のアルドース還元酵素阻害活性検査結果

	アルドース還元酵素阻害活性 IC ₅₀ μ M		アルドース還元酵素阻害活性 IC ₅₀ μ M
S1	56.1	S20	9.5
S2	19.8	S21	55.1
S3	38.3	S22	55.6
S4	23.5	S23	93.1
S5	8.5	S24	1.2
S6	63.2	S25	101.2
S7	59.0	S26	5.3
S8	84.4	S27	25.2
S9	1.4	S28	1.6
S10	>100	S29	33.5
S11	4.9	S30	53.4
S12	26.1	S31	87.6
S13	1.8	S32	34.9
S14	32.1	S33	23.1
S15	54.9	S34	8.7
S16	58.2	S35	5.6
S17	20.2	S36	6.3
S18	40.2	S37	12.6
S19	25.4	S38	67.5
エパル レスタット	2.3		

【実施例 8】

【0159】

実施例 8、構造式 S1～S38 に示される化合物のインビトロでのジペプチジルペプチダーゼ 4 活性阻害試験

【0160】

実施例 3 で調製した S1～S38 に示される 38 個の化合物を正確に秤量し、DMSO で 1 mM に調合し、活性試験に使用した（最終濃度範囲は 1～100 μ M、調合時に少量の DMSO に溶解した後、蒸留水で対応濃度に希釈し、DMSO が最終体積分率 < 0.1 % となるよう制御する）；シタグリプチンリン酸塩を陽性対照とする（最終濃度はそれぞれ 20 μ M、10 μ M、5 μ M、2 μ M、1 μ M とし、調合時に少量の DMSO に溶解した後、蒸留水で対応濃度に希釈し、DMSO が最終体積分率 < 0.1 % となるよう制御する）。

【0161】

10

20

30

40

50

D P P-4 阻害物質スクリーニングキットを用いて上述の化合物に対し試験を行った。

【0162】

実験データを統計分析し、各試験試料を計算した結果の IC_{50} 値を表6に示す。どの化合物も一定のジペプチジルペプチダーゼ-4 阻害活性を有することが示されている。

【表6】

表6 S1～S38のジペプチジルペプチダーゼ-4阻害活性検査結果

	ジペプチジルペプチダーゼ-4 阻害活性 $IC_{50} \mu M$		ジペプチジルペプチダーゼ-4 阻害活性 $IC_{50} \mu M$
S1	12.2	S20	20.8
S2	12.5	S21	16.5
S3	14.5	S22	9.5
S4	21.2	S23	8.8
S5	20.9	S24	15.8
S6	31.5	S25	18.5
S7	9.2	S26	10.6
S8	9.4	S27	8.6
S9	19.1	S28	6.8
S10	18.2	S29	23.5
S11	10.2	S30	11.6
S12	8.8	S31	15.4
S13	4.5	S32	21.2
S14	24.5	S33	18.7
S15	12.1	S34	15.2
S16	12.0	S35	7.8
S17	13.6	S36	21.8
S18	14.4	S37	15.4
S19	20.2	S38	12.9
シタグリプチ ンリン酸塩	1.5		

【実施例9】

【0163】

実施例9、S13及びS28に示される化合物が高脂肪飼料摂取ラットの血中脂質に与える影響

【0164】

材料：実施例1で調製したS13及びS28に示される2つの化合物を正確に秤量し、0.5%のCMC-Naで10mg/mlの溶液を調合し、活性試験に使用した。ラットは北京維通利華実験動物技術有限公司から購入、温度20～24℃、恒湿50～60%、光照射12時間（8：00～20：00）、防音、飼料と水は自由摂取として、環境適応

のため1週間後に実験を実施した。血清中総コレステロールTCキット（バッチ番号20131112）、低密度リポタンパク質LDL-Cキット（バッチ番号20140114）、高密度リポタンパク質HDL-Cキット（バッチ番号20140413）、トリグリセリドTGキット（バッチ番号20131226）、スーパーオキシドジスムターゼSODキット（バッチ番号20140213）、アラニンアミノトランスフェラーゼALTキット（バッチ番号20131006）は南京建成生物工程研究所から購入した。

【0165】

方法：健康なSD系雄性ラット、 200 ± 20 gを取り、1週間の予備飼育後に実験を実施し、ランダムに4群に分け、各群8匹とする。対照群には通常飼料を与え、他の群には高脂肪飼料を与えた（高脂肪飼料とは、通常飼料に1%のコレステロール、0.2%のブタ胆汁抽出物、10%のラード、10%の卵黄子を加えたもの）。飼育してから3週間後、各群のラットそれぞれに10 mg/mlの抽出溶液（50 mg/kgに相当）1 mlを胃内投与して、10日間継続して、対照群及びモデル群には等量の生理食塩水を与えた。最後の投与後、採血して、4℃で3000 rpmの遠心分離を行い、血清の総コレステロール（TC）、低密度リポタンパクコレステロール（LDL-C）、トリグリセリド（TG）を測定した。

【0166】

結果：対照群及びモデル群と比べ、この2つの化合物はラットの血中脂質の状況を有意に改善することができ、ラットの血清のALT（アラニンアミノトランスフェラーゼ）に対しても良好な反転作用が得られ、高脂質血が引き起こす肝臓損傷から保護できることが示されており、これは生体のSOD酵素が増加したことによって実現したと推測されるが、結果は表7を参照されたい。

【表7】

表7 S13及びS28に示される化合物が高脂肪飼料摂取ラットの血中脂質に与える影響

群分け	TC mmol/L	LDL-C mmol/L	HDL-C mmol/L	TG mmol/L	SOD U/L	ALT U/L
対照群	1.38	0.21	1.12	0.18	2.52	41.3
モデル群	3.56##	0.52##	0.92	0.62##	1.90#	93.4#
S13	2.13*	0.36**	0.99	0.44*	2.04	61.3*
S28	1.98**	0.38**	0.97	0.45*	2.10*	72.1*

【0167】

正常群と比較、# $P < 0.05$ 、## $P < 0.01$ ；モデル群と比較、* $P < 0.05$ 、** $P < 0.01$

【実施例10】

【0168】

実施例10、S13及びS28に示される化合物の正常マウスの血糖に対する活性研究

【0169】

材料：実施例1で調製したS13、S28に示される2つの化合物を正確に秤量し、0.5%のCMC-Naで10 mg/mlの溶液を調合し、活性試験に使用した。SPF級昆明種マウス是北京維通利華実験動物技術有限公司から購入、温度20～24℃、恒湿50～60%、光照射12時間（8：00～20：00）、防音、飼料と水は自由摂取として、環境適応のため1週間後に実験を実施した。グルコースアッセイキット（バッチ番号20140403）は南京建成生物工程研究所から購入した。

【0170】

方法：雄性のSPF級昆明種マウス、 20 ± 2 gを取り、1週間の予備飼育後に実験を実施し、ランダムに3群に分け、各群12匹とする。各群それぞれに10 mg/mlの抽

出溶液（50 mg/kgに相当）0.1 mlを胃内投与して、10日間継続して、対照群には等量の生理食塩水を与えた。最後の投与後に10時間絶食し、眼窩採血し、グルコースアッセイキットに従い血糖を測定した。

【0171】

結果：対照群と比べ、2つの化合物群マウスの血糖値に統計的差異はなく、この2つの化合物は正常マウスの血糖に対し影響を及ぼさないことが示されたが、表8を参照されたい。

【表8】

表8 S13及びS28に示される化合物が
正常マウスの血糖に与える影響

群分け	血糖 mmol/L
対照群	4.98
S13	4.21
S28	4.02

10

【実施例11】

【0172】

実施例11、S13及びS28に示される化合物のアロキサン誘発性高血糖マウスの血糖に対する活性研究

20

【0173】

材料：実施例1で調製したS13及びS28に示される化合物を正確に秤量し、0.5%のCMC-Naで10 mg/mlの溶液を調合し、活性試験に使用した。SPF級マウスは北京維通利華実験動物技術有限公司から購入、温度20～24℃、恒湿50～60%、光照射12時間（8：00～20：00）、防音、飼料と水は自由摂取として、環境適応のため1週間後に実験を実施した。グルコースアッセイキット（バッチ番号20140403）は南京建成生物工程研究所から購入した。

【0174】

方法：60匹の雄性SPF級昆明種マウス、20±2 gを取り、1週間の予備飼育後に実験を実施した。ランダムに10匹を取り出して対照群とし、他の50匹は体重に従いアロキサンを220 mg/kg腹腔内注射してモデルを作成して、72時間後、眼窩採血して血糖を測定し、血糖が8.8～20 mmol/Lのマウスを選んで後続の試験を実施した。本実験中で選ばれたマウスは32匹おり、血糖のレベルに従いランダムにモデル群及び投与群に分けた。投与群それぞれに10 mg/mlの抽出溶液（50 mg/kgに相当）0.1 mlを胃内投与して、10日間継続して、対照群及びモデル群には等量の生理食塩水を与えた。最後の投与後に10時間絶食し、眼窩採血し、グルコースアッセイキットに従い血糖を測定した。

30

【0175】

結果：表9から分かるように、投与前は正常対照群を除いて、他のマウスの血糖値が大幅に上昇しており、アロキサンのモデル作成が成功していることが示されている。投与後の血糖はある程度低下しており、S13、S28の化合物は血糖マウスの血糖値を有意に低下させることができ、糖尿病及び糖尿病合併症の治療に用いることができるといえる。

40

【表 9】

表9 S13及びS28に示される化合物がアロキサン誘発性高血糖マウスの血糖に与える影響

群分け	投与前血糖 mmol/L	投与後血糖 mmol/L	群分け	投与前血糖 mmol/L	投与後血糖 mmol/L
対照群	4.96	4.88	S13	14.50	5.11**
モデル群	15.34##	15.19##	S16	15.25	6.12**

10

【0176】

正常群と比較、# $P < 0.05$ 、## $P < 0.01$ ；モデル群と比較、* $P < 0.05$ 、** $P < 0.01$

【実施例12】

【0177】

実施例12、S13及びS28に示される化合物が高血糖のKKAYマウスの血糖に与える影響

【0178】

材料：試験試料溶液は実施例2での化合物S13及び化合物S8である。化合物S13及びS28を正確に秤量し、0.5%のCMC-Naで5mg/mlの溶液を調合し、活性試験に使用した。KKAYマウスは中国医学科学院北京協和医学院動物研究所から購入、温度20～24℃、恒湿50～60%、光照射12時間（8：00～20：00）、防音、飼料と水は自由摂取として、環境適応のため1週間後に実験を実施した。血糖計はドイツのロシュ社製品である。

20

【0179】

方法：6～8週齢の雄性C57マウス、体重20～22g、10匹を正常対照群（1）として、6～8週齢、体重28～32gの雄性KKAYマウスの空腹時の血糖を測定し、血糖値及び体重の状況に基づき均等に群分けした：（2）モデル対照群、（3）化合物S13を1mg/kg投与、（4）化合物S13を5mg/kg投与、（5）化合物S13を10mg/kg投与、（6）化合物S13を20mg/kg投与、（7）化合物S28を1mg/kg投与、（8）化合物S28を5mg/kg投与、（9）化合物S28を10mg/kg投与、（10）化合物S28を20mg/kg投与、（11）メトホルミン8g/kg、（12）2.5mg/kgの化合物S13+メトホルミン4g/kg、（13）5mg/kgの化合物S13+メトホルミン4g/kg、（14）2.5mg/kgの化合物S28+メトホルミン4g/kg、（15）5mg/kgの化合物S28+メトホルミン4g/kg、各群8匹として、3週間続けて投与した。モデル対照群には等量の0.5%のCMC-Naを与えた。

30

【0180】

メトホルミンは現在の臨床で第一選択薬とされている血糖降下薬であり、主に肝臓での糖放出を低下させ、消化管からのグルコース吸収を減少させて、外周血糖の取り込み及び利用を促進させることにより、インスリン感受性を高める効果が得られるが、メトホルミンは肝臓、腎臓への障害を引き起こす；一方で本発明の化合物S13はPTP1-B、DPP-4に対する強力な阻害作用によりインスリン感受性が増強されるため、我々は2種類の薬剤を併用することで、インスリン感受性の増強作用を高め、さらには肝臓、腎臓等を保護して障害がないようにすることができると考えた。

40

【0181】

測定指標：1）血糖に対する薬剤の影響：投与第1日目：動物を絶食して2時間後に採血（0時）して、空腹時の血糖値を測定し、化合物を胃内投与して、投与してから30分後に尾尖採血して血糖値を測定した。

【0182】

50

2) 体重及び血糖に対する影響：投与第2日目、5日目、8日目、11日目、14日目、17日目、20日目に体重を計測し記録して、投与後に尾尖採血して血糖値を測定した(表10を参照)。

【0183】

3) ブドウ糖負荷試験(OGTT)：投与第12日目にブドウ糖負荷を検査した：動物を絶食して12時間後に採血(0時)して投与し、且つブドウ糖(2.0 g/kg)を経口投与し、それぞれ30分後、60分後、120分後に尾尖採血して血糖値を測定した(表11を参照)。

【0184】

4) 最後の投与後、麻酔で殺処分し、採血して、4℃で3000rpmの遠心分離を行い、血清の総コレステロール(TC)、低密度リポタンパクコレステロール(LDL-C)、トリグリセリド(TG)を測定した。

10

【0185】

5) 最後の投与後、肝臓を摘出し、ホルマリン中に固定して、組織スライスを観察した。

【0186】

実験結果は、構造式S13及びS28に示される化合物が高血糖マウスの血糖に有意な作用を有しており、体重への影響は少なく、ブドウ糖負荷マウスに対しても有意な低下作用を有することが示された(表10及び表11)。メトホルミンとの併用後は、効果がより顕著となり、且つメトホルミンによる肝障害に対しての報告作用も有することができ、2型糖尿病の治療薬の調製に用いるか又はメトホルミンと併用して2型糖尿病の治療に用いるか又は治療中・治療後における補助機能として用いることができる。

20

【表 10】

表10 S13及びS28に示される化合物が高血糖のKKYマウスの血糖に与える影響

群 分 け	1日目血糖		2日目		5日目		8日目		11日目		14日目		17日目		20日目	
	0時	30 min	体重 (g)	血糖	体重 (g)	血糖	体重 (g)	血糖	体重 (g)	血糖	体重 (g)	血糖	体重 (g)	血糖	体重 (g)	血糖
1	7.85	7.54	27.8	7.56	27.8	9.59	28.4	9.97	29.0	9.31	29.6	9.51	30.2	10.2	31.5	10.25
2	15.3	15.1	30.2	15.23	30.5	15.9	31.0	15.9	32.1	16.1	33.4	16.5	33.9	16.7	35.0	16.90
3	14.7	11.1	30.6	17.3	30.8	14.1	30.5	13.8	30.5	15.1	31.2	12.3	31.8	13.1	32.1	12.8
4	14.8	9.2	30.7	10.1	30.8	10.8	30.9	7.1	31.2	8.2	31.5	8.2	31.5	8.2	31.6	10.1
5	14.9	9.21	30.3	13.98	30.2	13.5	30.3	14.1	31.5	14.2	32.5	13.9	32.1	14.5	32.5	14.59
6	14.7	6.24	30.5	13.20	30.3	12.9	30.2	12.8	30.1	12.8	30.4	12.5	30.0	12.3	30.1	12.50
7	14.5	11.3	30.1	17.23	30.23	14.1	30.6	13.8	30.8	15.3	31.25	12.4	31.4	13.1	32.1	12.43
8	14.5	9.42	30.3	10.2	30.43	10.8	30.8	7.12	31.3	8.21	31.76	8.3	31.5	8.2	31.3	10.23
9	14.2	9.32	30.3	13.12	30.51	13.5	30.4	14.1	31.4	14.3	32.56	13.2	32.6	14.5	32.2	14.12
10	14.1	6.24	30.4	13.25	30.36	12.5	30.2	12.8	30.5	12.9	30.4	12.5	30.7	12.5	30.2	12.45
11	14.9	9.85	30.7	13.05	30.53	13.9	30.8	13.8	30.6	13.5	30.7	13.7	30.8	13.5	30.5	13.24
12	14.8	7.25	30.5	12.2	30.8	11.1	31.1	8.5	31.0	8.2	30.8	8.2	30.5	8.5	30.5	8.1
13	14.8	5.94	30.4	12.08	30.8	11.0	30.4	7.14	30.7	7.95	31.0	7.04	30.9	7.35	30.7	7.98
14	14.4	7.32	30.2	12.3	30.4	11.4	31.4	8.1	31.4	8.4	30.3	8.4	30.5	8.6	30.4	8.2
15	14.8	5.12	30.1	12.2	30.5	11.2	30.5	7.3	30.8	7.5	31.4	8.2	30.4	7.7	30.8	7.5

10

20

30

40

【表 1 1】

表 11 S13及びS28に示される化合物が高血糖のKKAYマウスのブドウ糖負荷に与える影響

群分け	0min	30min	60min	120min
1	10. 2	10. 9	10. 2	8. 8
2	9. 35	26. 21##	25. 12##	22. 00##
3	9. 6	12. 5**	10. 2**	8. 2**
4	6. 9*	9. 1**	9. 1**	5. 2**
5	7. 96	16. 95**	13. 20**	10. 93**
6	6. 90*	14. 00**	12. 45**	11. 90**
7	9. 5	11. 3**	10. 5**	8. 3**
8	6. 8**	9. 3**	9. 3**	5. 1**
9	7. 6*	16. 9**	13. 2**	10. 9**
10	6. 9**	14. 3**	12. 4**	11. 9**
11	6. 5**	12. 8**	10. 47**	7. 41**
12	5. 8**	8. 8**	7. 9**	5. 2**
13	5. 4**	8. 5**	7. 32**	5. 94**
14	5. 3**	9. 4**	7. 7**	6. 4**
15	5. 3**	8. 2**	7. 3**	6. 7**

10

20

【0 1 8 7】

正常群と比較、# P<0. 0 5、## P<0. 0 1；モデル群と比較、* P<0. 0 5、** P<0. 0 1

【0 1 8 8】

30

対照群及びモデル群と比べ、これらの化合物はマウスの血中脂質の状況を有意に改善することができ、マウスの血清のALTに対しても良好な反転作用が得られ、高脂質血が引き起こす肝障害から保護できることが示されており、これは生体のSOD酵素が増加したことによって実現したと推測されるが、結果は表 1 2 を参照されたい。

【表 1 2】

表 12 S13及びS28に示される化合物が高血糖のKKayマウスの血中脂質及び肝機能に与える影響

群分け	TC mg/dL	LDL-C mg/dL	HDL-C mg/dL	TG mg/dL	SOD U/L	ALT U/L	AST U/L
1	131	53	22.3	310	5.0	60.2	46.1
2	199##	79##	24.1	628##	3.2##	92.4##	134.7##
3	132**	64*	22.4	328**	5.01**	72.1**	56.2**
4	134**	64**	22.4	310**	4.24*	72.8**	63.5**
5	131**	64**	22.5	327**	4.11**	67.1**	60.8**
6	125**	53**	22.1	310**	4.52**	61.2**	60.5**
7	134**	64**	22.1	325**	5.12**	72.5**	56.5**
8	134**	69*	22.3	312**	4.25*	71.2**	63.6**
9	135**	69*	22.5	331**	4.12*	62.5**	60.6**
10	123**	54**	22.4	312**	4.34*	61.5**	60.6**
11	176*	72	23.1	578	3.7	89.6	137.5
12	166*	65**	22.7	450**	3.8	80.5	110.1
13	152**	69*	22.5	442**	4.12*	77.4**	97.4**
14	166*	63*	22.4	463*	3.5	85.4	100.6*
15	158**	71	22.7	412*	4.1*	76.1*	87.7**

【0189】

正常群と比較、# P<0.05、## P<0.01；モデル群と比較、* P<0.05、** P<0.01

【0190】

図1が示すように、解剖時の肝臓に対するおおよその肉眼的観察及び組織の病理スライスのHE染色を合わせると、モデル群マウスの肝細胞内はいずれもサイズの異なる大量の脂肪空胞を有し、脂肪肝が形成されている。しかしながら、化合物S13及び化合物S28群マウスの肝細胞内の脂肪空胞は基本的に消失していることが認められ、化合物S13及び化合物S28の異なる用量群がいずれも糖尿病の合併症による非アルコール性脂肪性肝疾患を有効に治療できることが結果により示された。

【実施例 13】

【0191】

実施例 13、S13 及び S28 に示される化合物が非アルコール性脂肪性肝疾患に与える影響

【0192】

材料：実施例 1 で調製した S13 及び S28 に示される 2 つの化合物を正確に秤量し、0.5% の CMC-Na で 5 mg/ml の溶液を調合し、活性試験に使用した。雄性 SPF 級 Wistar ラット 60 匹、体重 180~220 g、維通利華実験動物中心から購入した。温度 20~24℃、恒湿 50~60%、光照射 12 時間（8:00~20:00）、防音、飼料と水は自由摂取として、環境適応のため 1 週間後に実験を実施し、血清中総コレステロール TC キット（バッチ番号 20131112）、低密度リポタンパク質 LDL-C キット（バッチ番号 20140114）、高密度リポタンパク質 HDL-C キット（バッチ番号 20140413）、トリグリセリド TG キット（バッチ番号 20131226）、アラニンアミノトランスフェラーゼ ALT キット（バッチ番号 20131006）は南京建成生物工程研究所から購入した。

10

【0193】

方法：雄性 SPF 級 Wistar ラットをランダムに群分けした：（1）正常群、（2）モデル対照群、（3）S13 に示される化合物を 10 mg/kg 投与、（4）S13 に示される化合物を 20 mg/kg 投与、（5）S28 に示される化合物を 10 mg/kg 投与、（6）S28 に示される化合物を 20 mg/kg 投与、各群 10 匹とする。正常群ラットには通常飼料を与え、残りの群のラットにはコリン欠乏飼料（高脂肪飼料）を毎日与えて、ラットの摂食量及び体重を計測した。コリン欠乏飼料を与えると肝細胞変性、肝炎及び肝障害を誘発し、同時に血中脂質レベルの上昇及びインスリン抵抗性を誘発するので、げっ歯類動物の脂肪肝モデル作成においてよく用いられる方法である。

20

【0194】

高脂肪飲食を与えて 8 週間後、投与群に投与を開始し、4 週間続けて投与した。正常群及びモデル対照群には等量の 0.5% の CMC-Na を与えた。投与から 4 週間後、ラットを麻酔で殺処分し、肝臓組織及び血を採取した。

【0195】

測定指標：

30

【0196】

1) 肝臓指数。

【0197】

2) 血清中総コレステロール、高密度リポタンパク質、低密度リポタンパク質及びトリグリセリドの含有量を測定する。

【0198】

3) アラニンアミノトランスフェラーゼ含有量を測定する。

【0199】

4) 肝臓組織スライス：最後の投与後、麻酔で殺処分し、氷上で肝臓を摘出し、素早くホルマリン中に入れて固定し、組織スライスを準備する。

40

【0200】

実験結果は表 13 が示すように、正常対照群と比べ、モデル群の肝臓指数は有意に上昇しており、S13 及び S28 に示される化合物を投与した後は脂肪肝ラットの肝臓指数を有意に低下させることができる。同時にモデル群の TC、LDL-C、TG はいずれも有意に上昇し、HDL-C は有意に低下しており、本モデルが明らかな脂質異常症を引き起こしていることを示しているが、モデル群と比べ、S13 及び S28 に示される化合物を投与した後は非アルコール性脂肪性肝疾患ラットの血中脂質を低下させることができ、同時に肝機能を改善し、血漿の ALT の含有量を低下させることができる。

【表 1 3】

表 13 S13及びS28に示される化合物が非アルコール性脂肪性肝疾患に与える影響

群分け	肝臓指数	TC mmol/L	LDL-C mmol/L	HDL-C mmol/L	TG mmol/L	ALT U/L
正常群	2.39	1.12	0.68	0.86	0.96	35.5
モデル群	3.73##	3.69##	1.13##	0.49#	1.97##	67.25##
S13(10mg/kg)	2.85**	1.81**	0.83*	0.57*	1.21**	48.24**
S13(20mg/kg)	2.47**	1.37**	0.71**	0.72**	1.08**	33.56**
S28(10mg/kg)	2.91**	1.95**	0.79**	0.61**	1.38**	45.97**
S28(20mg/kg)	2.58**	1.36**	0.70**	0.68**	1.15**	41.08**

【0201】

正常群と比較、# $P < 0.05$ 、## $P < 0.01$ ；モデル群と比較、* $P < 0.05$ 、** $P < 0.01$

【0202】

解剖時の肝臓に対するおおよその肉眼的観察及び組織の病理スライスのH E染色を合わせると、モデル群ラットの肝細胞内はいずれもサイズの異なる大量の脂肪空胞を有しているが、S13及びS28に示される化合物群ラットの肝細胞内の脂肪空胞は基本的に消失していることが認められた。

【実施例14】

【0203】

実施例14、S9及びS24に示される化合物がob／ob糖尿病モデルマウスの血糖、血中脂質および非アルコール性脂肪性肝疾患に与える影響

材料：試験試料溶液は実施例2での化合物S9及び化合物S24である。化合物S9及びS24を正確に秤量し、0.5%のCMC-Naで5mg/mlの溶液を調合し、活性試験に使用した。Ob／obマウスは中国医学科学院北京協和医学院動物研究所から購入、温度20～24℃、恒湿50～60%、光照射12時間（8：00～20：00）、防音、飼料と水は自由摂取として、環境適応のため1週間後に実験を実施した。血糖計はドイツのロシュ社製品である。

方法：6～8週齢の雄性C57マウス、体重20～22g、10匹を正常対照群（1）として、6～8週齢、体重36～40gの雄性ob／obマウスの空腹時の血糖を測定し、血糖値及び体重の状況に基づき均等に群分けした：（2）モデル対照群、（3）化合物S9を0.3mg/kg投与、（4）化合物S9を1mg/kg投与、（5）化合物S9を3mg/kg投与、（6）化合物S24を0.3mg/kg投与、（7）化合物S24を1mg/kg投与、（8）化合物S24を3mg/kg投与、（9）メトホルミン100mg/kg、（10）アカルボース10mg/kg、各群10匹として、4週間続けて投与した。モデル対照群には等量の0.5%のCMC-Naを与えた。

測定指標：

1）血糖に対する薬剤投与の影響：投与当日（0日目）、7日目、14日目、21日目、28日目に尾尖採血して血糖値を測定した（表14を参照）。

2）ブドウ糖負荷試験（OGTT）：投与第25日目にブドウ糖負荷を検査した：動物を絶食して12時間後に採血（0時）して投与し、且つブドウ糖（2.0g/kg）を経口投与し、それぞれ40分後、80分後、120分後に尾尖採血して血糖値を測定した（表15を参照）。

3）最後の投与後、麻酔で殺処分し、採血して、4℃で3000rpmの遠心分離を行い、血清の糖化ヘモグロビン含有量を測定した（表16を参照）。

4）最後の投与後、麻酔で殺処分し、採血して、4℃で3000rpmの遠心分離を行い、血清の総コレステロール（TC）、低密度リポタンパクコレステロール（LDL-C）、トリグリセリド（TG）、遊離脂肪酸（NEFA）、アラニンアミノ基転移酵素（ALT）、アスパラギン酸アミノ基転移酵素（AST）を測定した（表17を参照）。

5）最後の投与後、肝臓を摘出し、ホルマリン中に固定して、組織スライスを観察した。

実験結果は、構造式S9及びS24に示される化合物が高血糖マウスの血糖に有意な作用を有しており、ブドウ糖負荷マウスに対しても有意な低下作用を有することが示された（表14及び表15）。

【表14】

表14 S9及びS24に示される化合物がob／ob糖尿病マウスの血糖に与える影響

群分け	血糖(mg/dL)				
	0日目	7日目	14日目	21日目	28日目
1	184.9	147.4	141.8	161.5	142.2
2	217.5	233.2	222.0	206.5	220.9
3	211.0	128.2	136.2	141.1	168.5
4	213.5	158.6	145.1	158.0	153.6
5	211.5	150.7	145.1	156.6	149.8
6	208.1	162.5	158.2	169.2	158.9
7	212.6	160.5	152.5	165.8	155.2
8	202.1	159.8	149.9	160.1	151.1
9	215.4	162.2	160.6	149.2	151.4
10	214.6	167.2	152.8	164.0	153.4

【表 15】

表 15 S9及びS24が ob/ob 糖尿病マウスのブドウ糖負荷に与える影響

群分け	0min	40min	80min	120min
1	113.5	223.8	163.2	142.9
2	119.9	298.5###	181.3###	154.8###
3	99.0*	226.0**	156.4**	141.3*
4	108.7	220.0**	137.4**	140.2*
5	105.7	188.1**	129.2**	124.6**
6	111.5	241.4**	150.4**	141.90*
7	108.6	251.9**	145.5**	138.3**
8	105.9	213.3**	139.3**	125.1**
9	120.1	247.6*	157.0*	143.3*
10	115.0	262.4*	151.2*	133.4*

10

正常群と比較、# $P < 0.05$ 、## $P < 0.01$ ；モデル群と比較、* $P < 0.05$ 、** $P < 0.01$

20

【表 16】

表 16 S9及びS24が ob/ob 糖尿病マウスの糖化ヘモグロビン(HbA1c)に与える影響

群分け	HbA1c (%)
1	6.2**
2	11.2
3	7.9*
4	6.9**
5	5.7**
6	8.1*
7	7.5*
8	7.1**
9	5.7**
10	7.5*

30

正常群と比較、# $P < 0.05$ 、## $P < 0.01$ ；モデル群と比較、* $P < 0.05$ 、** $P < 0.01$

対照群及びモデル群と比べ、これらの化合物はマウスの血中脂質の状況を有意に改善することができ、マウスの血清のALT、ASTに対しても良好な反転作用が得られ、高脂質血が引き起こす肝障害から保護できることが示されており、結果は表 17 を参照されたい。

40

【表 17】

表 17 S9及びS24に示される化合物がob／ob糖尿病マウスの血中脂質及び肝機能に与える影響

群分け	TC mg／dL	LDL-C mg／dL	NEFA mg／dL	TG mg／dL	ALT U／L	AST U／L
1	127**	28.1**	157.3**	129.8**	60.2**	39.1*
2	210.2###	64.6###	196.3###	447.6###	92.4###	64.8###
3	140**	41.8**	166.5**	251.9**	72.1**	43.8
4	139**	36.3**	161.3**	221.3**	72.8**	40.8*
5	133**	31.6**	155.4**	211.4**	67.1**	35.8**
6	161**	49.8**	171.2*	348.1**	61.2**	55.5
7	158**	45.2**	165.2**	301.2**	72.5**	48.5
8	145**	41.2**	161.4**	298.5**	71.2**	42.6*
9	150**	67.5	159.6**	350.8**	62.5**	38.8*
10	132.8**	51.8*	159.1**	302.4**		44.6

正常群と比較、# P<0.05、## P<0.01；モデル群と比較、* P<0.05、** P<0.01

図3が示すように、解剖時の肝臓に対するおおよその肉眼的観察及び組織の病理スライスのH E染色を合わせると、モデル群マウスの肝細胞内はいずれもサイズの異なる大量の脂肪空胞を有し、脂肪肝が形成されている。しかしながら、化合物S9及び化合物S24群マウスの肝細胞内の脂肪空胞は基本的に消失していることが認められ、化合物S9及び化合物S24の異なる用量群がいずれも糖尿病の合併症による非アルコール性脂肪性肝疾患を有効に治療できることが結果により示された。

[実施例15]

【0204】

実施例15、S9及びS24に示される化合物が高脂肪飼料誘導の肥満マウスの血糖、血中脂質および非アルコール性脂肪性肝疾患に与える影響

材料：試験試料溶液は実施例2での化合物S9及び化合物S24である。化合物S9及びS24を正確に秤量し、0.5%のCMC-Naで5mg/mlの溶液を調合し、活性試験に使用した。Ob／obマウスは中国医学科学院北京協和医学院動物研究所から購入、温度20～24℃、恒湿50～60%、光照射12時間（8：00～20：00）、防音、飼料と水は自由摂取として、環境適応のため1週間後に実験を実施した。血糖計はドイツのロシュ社製品である。

方法：健康な雄性C57マウス160匹、22～24gを取り、1週間の予備飼育後に実験を実施した。ランダムに10匹を選択して対照群として、通常飼料を与えた。残りの150匹にはD12492高脂肪飼料を与えた。飼育してから4週間後、体重によって選別して（対照群と比べ、体重は15%増加したものを選択）、最終選別は90匹を得た。空腹時の血糖を測定し、血糖値及び体重の状況に基づき均等に群分けした：（1）雄性C57マウス10匹を正常対照群として、（2）モデル対照群、（3）化合物S9を0.3mg/kg投与、（4）化合物S9を1mg/kg投与、（5）化合物S9を3mg/kg投与、（6）化合物S24を0.3mg/kg投与、（7）化合物S24を1mg/kg投与、（8）化合物S24を3mg/kg投与、（9）ロシグリタゾン10mg/kg、各群10匹として、4週間続けて投与した。モデル対照群には等量の0.5%のCMC-Naを与えた。

測定指標：

1) 血糖に対する薬剤投与の影響：投与当日（0日目）、7日目、14日目、21日目、28日目に尾尖採血して血糖値を測定した（表18を参照）。

2) ブドウ糖負荷試験（OGTT）：投与第25日目にブドウ糖負荷を検査した：動物を絶食して12時間後に採血（0時）して投与し、且つブドウ糖（2.0 g/kg）を経口投与し、それぞれ40分後、80分後、120分後に尾尖採血して血糖値を測定した（表19を参照）。

3) 最後の投与後、麻酔で殺処分し、採血して、4℃で3000rpmの遠心分離を行い、血清の糖化ヘモグロビン含有量を測定した（表20を参照）。

4) 最後の投与後、麻酔で殺処分し、採血して、4℃で3000rpmの遠心分離を行い、血清の総コレステロール（TC）、低密度リポタンパクコレステロール（LDL-C）、トリグリセリド（TG）、遊離脂肪酸（NEFA）、アラニンアミノ基転移酵素（ALT）、アスパラギン酸アミノ基転移酵素（AST）を測定した（表21を参照）。

5) 最後の投与後、肝臓を摘出し、ホルマリン中に固定して、組織スライスを観察した。

実験結果は、構造式S9及びS24に示される化合物が高脂肪飼料誘導の肥満、糖尿病マウスの血糖に有意な作用を有しており、ブドウ糖負荷マウスに対しても有意な低下作用を有することが示された（表18及び表19）。

【表18】

表18 S9及びS24に示される化合物が高脂肪飼料誘導の肥満、糖尿病マウスの血糖に与える影響

群分け	血糖(mg/dL)				
	0日目	7日目	14日目	21日目	28日目
1	128.7	132.7	128.0	118.8	124.8
2	157.7	154.3	154.8	150.7	151.7
3	174.3	136.3	147.3	139.1	131.2
4	156.8	131.4	131.4	130.3	124.4
5	155.7	128.5	128.8	123.1	119.1
6	162.1	136.5	148.2	139.2	138.9
7	159.8	132.2	140.5	135.8	129.2
8	165.2	128.3	136.9	130.1	121.1
9	169.6	140.2	149.8	141.3	136.8

【表 19】

表19 S9及びS24に示される化合物が高脂肪飼料誘導の肥満、糖尿病マウスのブドウ糖負荷に与える影響

群分け	0min	40min	80min	120min
1	95.6	238.5	127.1	104.8
2	106.2	376.4###	196.2###	157.5###
3	90.6*	220.6**	168.9**	147.6*
4	94.1	232.2**	159.7**	129.6*
5	86.2**	220.4**	165.3**	122.8**
6	101.5	281.6**	165.4**	138.9*
7	98.6	241.9**	160.5**	129.3**
8	105.9	233.3**	159.3**	126.1**
9	112.5	301.7*	172.8*	140.6*

10

正常群と比較、# $P < 0.05$ 、## $P < 0.01$ ；モデル群と比較、* $P < 0.05$ 、** $P < 0.01$

20

【表 20】

表20 S9及びS24が高脂肪飼料誘導の肥満、糖尿病マウスの糖化ヘモグロビン(HbA1c)に与える影響

群分け	HbA1c (%)
1	6.7**
2	8.3
3	5.3*
4	5.6**
5	5.2**
6	7.1*
7	6.5*
8	6.1**
9	5.6**

30

正常群と比較、# $P < 0.05$ 、## $P < 0.01$ ；モデル群と比較、* $P < 0.05$ 、** $P < 0.01$

対照群及びモデル群と比べ、これらの化合物はマウスの血中脂質の状況を有意に改善することができ、マウスの血清のALTに対しても良好な反転作用が得られ、高脂質血が引き起こす肝障害から保護できることが示されており、結果は表21を参照されたい。

40

【表 2 1】

表21 S9及びS24に示される化合物が高脂肪飼料誘導の肥満、糖尿病マウスの血中脂質及び肝機能に与える影響

群分け	TC mg/dL	LDL-C mg/dL	NEFA mg/dL	TG mg/dL	ALT U/L	AST U/L
1	132.0*	56.5	121.2**	394.8*	49.5	61.7*
2	182.8###	63.6###	179.3###	522.0###	44.5###	66.2###
3	192.6	71.1	137.2**	356.4**	35.6**	50.8*
4	157.4	63.4	118.7**	327.5**	32.7**	47.5*
5	133.1*	58.5	116.3**	294.5**	40.9*	54.3
6	161.2	59.8	143.2*	368.1**	61.2	58.5
7	145.1	55.9	135.2**	351.2**	72.5	53.5
8	135.8*	61.2	131.4**	298.5**	71.2	45.9*
9	165.6	60.6	147.1**	402.8*	48.2	71.5

正常群と比較、# $P < 0.05$ 、## $P < 0.01$ ；モデル群と比較、* $P < 0.05$ 、** $P < 0.01$

図4が示すように、解剖時の肝臓に対するおおよその肉眼的観察及び組織の病理スライスのHE染色を合わせると、モデル群マウスの肝細胞内はいずれもサイズの異なる大量の脂肪空泡を有し、脂肪肝が形成されている。しかしながら、化合物S9及び化合物S24群マウスの肝細胞内の脂肪空泡は基本的に消失していることが認められ、化合物S9及び化合物S24の異なる用量群がいずれも糖尿病の合併症による非アルコール性脂肪性肝疾患を有効に治療できることが結果により示された。

[実施例16]

【0205】

実施例16、マウスにおける急性毒性試験

1、実験材料

6～8週齢の雄性昆明種マウス、20匹、体重20～22g、北京維通利華実験動物技術有限公司から購入。

【0206】

2、実験方法

【0207】

1) 化合物の調合

【0208】

S13及びS28に示される2つの化合物を正確に秤量し、0.5%のCMC-Naで濃度0.2g/mlの溶液を調合した。

【0209】

2) 動物の群分けと投与

【0210】

マウスを3～5日間の予備飼育後、実験前日の夜6時から絶食し、水は自由摂取とする。実験時、マウスを体重に従いランダムに群分けし、各群10匹として、胃内投与し、マウスの体重10g毎に0.25mlを投与、即ち投与用量は5g/kgとする。対照群に0.5%のCMC-Naを、マウスの体重10g毎に0.25mlを胃内投与した。体重の状況に基づき均等に群分けした：(1) 雄性対照群、(2) 雄性S9を5mg/kg投与群、(3) 雄性S24を5mg/kg投与群、(4) 雌性対照群、(5) 雌性S9を5

10

20

30

40

50

mg/kg 投与群、(6) 雌性 S 2 4 を $5 \text{ mg}/\text{kg}$ 投与群、1 回投与後 4 週間観察した。

【0 2 1 1】

3) 評価指標

【0 2 1 2】

投与後の動物の一般状態を観察し、例えば外観、行動、刺激への反応、分泌物及び排泄物などに異常な現象が生じた時間を記録した。死亡発生の有無を観察し、死亡発生時間を記録、検死し、異常現象の有無を観察した。

【0 2 1 3】

急性毒性試験において、胃内投与したラット、マウスの毒性グレードを LD_{50} に従い 5 つのグレードに分ける： $\text{LD}_{50} < 1 \text{ mg}/\text{kg}$ は重度な反応性、 LD_{50} が $1 \sim 50 \text{ mg}/\text{kg}$ の間は中等度の反応性、 LD_{50} が $51 \sim 500 \text{ mg}/\text{kg}$ は軽度の反応性、 LD_{50} が $501 \sim 5000 \text{ mg}/\text{kg}$ の間は軽微な反応性、 $5000 \text{ mg}/\text{kg}$ 以上は反応性なし。

10

【0 2 1 4】

3、実験結果

【0 2 1 5】

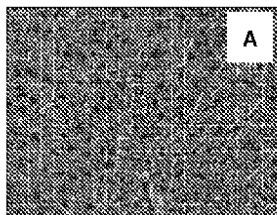
投与後、明らかな異常現象はいずれも見られず、S 2 8 群マウスの体重は若干減少していた。29 日後、マウスを頸椎脱臼で殺処分し、検死したが、明らかな異常現象はいずれも見られなかった。

【0 2 1 6】

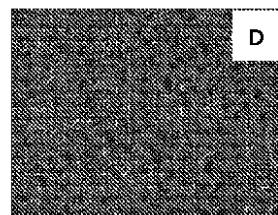
20

S 9、S 1 3、S 2 4 及び S 2 8 に示される化合物の LD_{50} はいずれも $5000 \text{ mg}/\text{kg}$ より大きくて、且つ検死において明らかな異常はなく、S 9、S 1 3、S 2 4、S 2 8 に示される化合物は「反応性なし」に属することが示された。

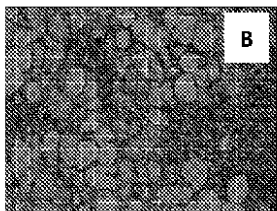
【図 1 A】



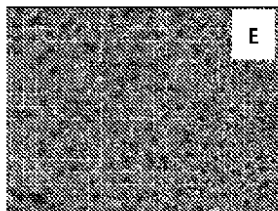
【図 1 D】



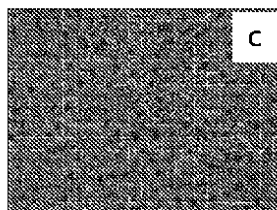
【図 1 B】



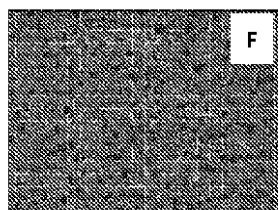
【図 1 E】



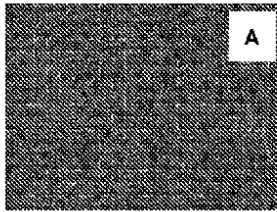
【図 1 C】



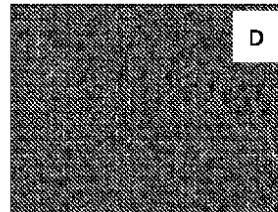
【図 1 F】



【図 2 A】



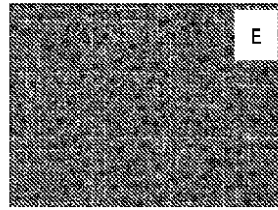
【図 2 D】



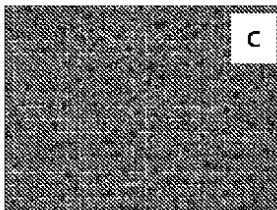
【図 2 B】



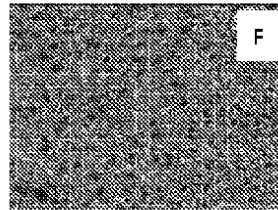
【図 2 E】



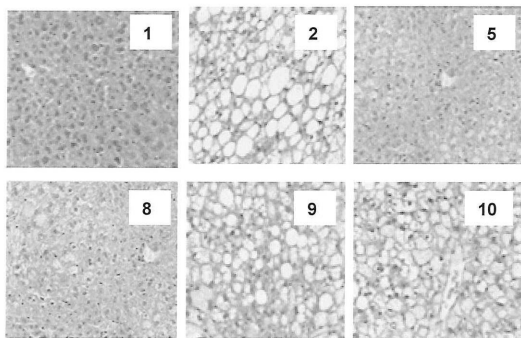
【図 2 C】



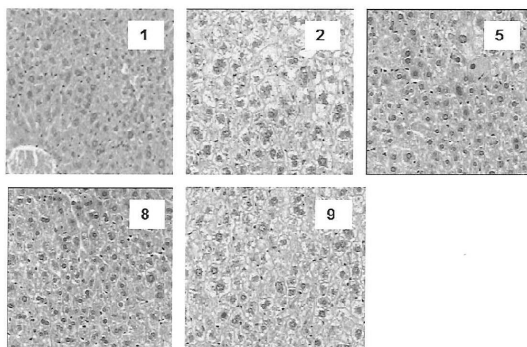
【図 2 F】



【図 3】



【図 4】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.			F I		
A 6 1 K	9/20	(2006.01)	A 6 1 K	9/20	
A 6 1 K	9/48	(2006.01)	A 6 1 K	9/48	
A 6 1 K	9/06	(2006.01)	A 6 1 K	9/06	
A 6 1 K	9/107	(2006.01)	A 6 1 K	9/107	
A 6 1 K	9/12	(2006.01)	A 6 1 K	9/12	
A 6 1 P	43/00	(2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 2 1
A 6 1 P	3/10	(2006.01)	A 6 1 P	3/10	
A 6 1 P	3/06	(2006.01)	A 6 1 P	3/06	
A 6 1 P	9/10	(2006.01)	A 6 1 P	9/10	
A 6 1 P	27/02	(2006.01)	A 6 1 P	27/02	
A 6 1 P	1/16	(2006.01)	A 6 1 P	1/16	
A 2 3 L	33/10	(2016.01)	A 2 3 L	33/10	

(31)優先権主張番号 201510394003.2

(32)優先日 平成27年7月7日(2015.7.7)

(33)優先権主張国・地域又は機関
中国(CN)

(31)優先権主張番号 201510578951.1

(32)優先日 平成27年9月11日(2015.9.11)

(33)優先権主張国・地域又は機関
中国(CN)

(72)発明者 宝 麗

中華人民共和国 1 0 0 1 0 1 北京市朝陽区北辰西路1号院3号

(72)発明者 韓 俊杰

中華人民共和国 1 0 0 1 0 1 北京市朝陽区北辰西路1号院3号

審査官 伊藤 清子

(56)参考文献 中国特許第1 0 4 4 9 6 9 4 3 (CN, B)

国際公開第2 0 0 8 / 1 0 8 8 2 5 (WO, A 1)

Molecules, 2014, Vol.19, No.2, pp.1672-1684

J. Nat. Prod., 2009, Vol.72, No.11, pp.2019-2023

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A 6 1 K 3 1 / 3 6 5

A 2 3 L 3 3 / 1 0

A 6 1 K 9 / 0 6

A 6 1 K 9 / 0 8

A 6 1 K 9 / 1 0 7

A 6 1 K 9 / 1 2

A 6 1 K 9 / 1 4

A 6 1 K 9 / 2 0

A 6 1 K 9 / 4 8

A 6 1 K 3 1 / 1 5 5

A 6 1 P 1 / 1 6

A 6 1 P 3 / 0 6

A 6 1 P 3 / 1 0

A 6 1 P 9 / 1 0

A 6 1 P 2 7 / 0 2

A 6 1 P 4 3 / 0 0

C 0 7 D 3 0 7 / 5 8

C A p l u s / R E G I S T R Y (S T N)