

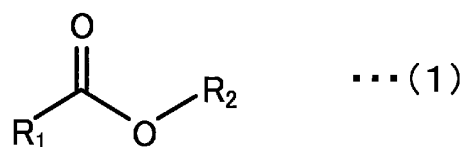
明 細 書

発明の名称： 脂肪代謝促進剤

技術分野

[0001] 本発明は、下記一般式（１）で表される化合物を含有する、脂肪代謝促進剤などに関する。

[化1]



（式中、 R_1 と R_2 は、それぞれ独立して、炭素数１、２、３、４、５、６、又は７のアルキル基を示す。）

背景技術

[0002] 欧米のライフスタイルの世界的な普及により、高カロリー及び／又は高脂肪の食事を摂取する機会が増えている。また、運動不足も進行しており、消費されるカロリーも減少傾向にある。このため、肥満の人口は、増加の一途をたどっている。

[0003] 肥満は、脂肪が過剰に蓄積した状態を指し、糖尿病、高血圧、脂質異常症などの生活習慣病を引き起こす原因の一つである。肥満の予防及び改善には、一般的に、食事制限などによる摂取カロリーの調整や、運動などによる消費カロリーの調整が行われる。

[0004] 近年では、脂肪の代謝を促進して、肥満を予防したり改善したりする技術の開発が進められている。例えば、特許文献１には、アルギニン、アラニン及びフェニルアラニンを有効成分として含有する組成物が記載されており、組成物中のアルギニン、アラニン及びフェニルアラニンの含有量を所定量以上にすることで、肥満者における脂質代謝を促進できると記載されている。

先行技術文献

特許文献

[0005] 特許文献1：特開2019-099498号公報

発明の概要

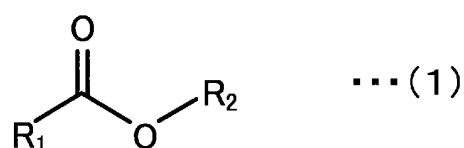
発明が解決しようとする課題

[0006] 本発明は、脂肪の代謝を促進することができる新規な技術を提供することを目的とする。

課題を解決するための手段

[0007] 本発明者は、オクタノール／水分配係数（ $\log P_{ow}$ ）が1.9以上3.8以下の範囲にある下記一般式（1）で表される化合物を摂取することにより、脂肪の代謝を促進できることを見出し、本発明を完成させた。

[化2]

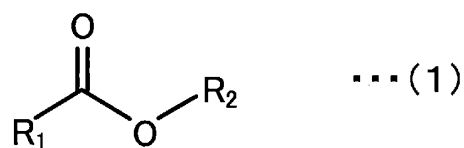


（式中、 R_1 と R_2 は、それぞれ独立して、炭素数1、2、3、4、5、6、又は7のアルキル基を示す。）

[0008] 本発明の要旨は以下のとおりである。

[1] 一般式（1）：

[化3]



（式中、 R_1 と R_2 は、それぞれ独立して、炭素数1、2、3、4、5、6、又は7のアルキル基を示す）で表される化合物を有効成分として含有し、前記一般式（1）で表される化合物は、オクタノール／水分配係数を表す $\log P_{ow}$ が1.9以上3.8以下である、脂肪代謝促進剤。

〔２〕前記 R_1 が、メチル基、エチル基、 n －プロピル基、 n －ブチル基、 n －ペンチル基、イソペンチル基、 n －ヘキシル基、及び n －ヘプチル基からなる群から選択されるいずれか１つの基である、〔１〕に記載の脂肪代謝促進剤。

〔３〕前記 R_2 が、メチル基、エチル基、 n －プロピル基、 n －ブチル基、 n －ペンチル基、イソペンチル基、２－メチルブチル基、 n －ヘキシル基、及び n －ヘプチル基からなる群から選択されるいずれか１つの基である、〔１〕又は〔２〕に記載の脂肪代謝促進剤。

〔４〕前記一般式（１）で表される化合物が、カプロン酸エチル、カプロン酸メチル、カプロン酸プロピル、カプロン酸ブチル、カプロン酸ペンチル、カプリル酸エチル、酢酸イソアミル、プロピオン酸イソアミル、酪酸イソアミル、カプロン酸イソアミル、酢酸ペンチル、酢酸ヘプチル、カプリル酸メチル、４－メチル吉草酸エチル、酢酸２－メチルブチル、及び吉草酸エチルからなる群から選択される少なくとも一種の化合物である、〔１〕から〔３〕のいずれか一つに記載の脂肪代謝促進剤。

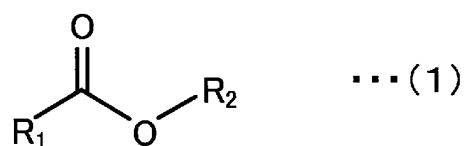
〔５〕成人の１日あたりの前記一般式（１）で表される化合物の摂取量が 0.017 mg 以上 1.8 mg 以下である、〔１〕から〔４〕のいずれか一つに記載の脂肪代謝促進剤。

〔６〕前記脂肪代謝促進剤が脂肪分解促進剤である、〔１〕から〔５〕のいずれか一つに記載の脂肪代謝促進剤。

〔７〕前記脂肪代謝促進剤が脂肪燃焼促進剤である、〔１〕から〔５〕のいずれか一つに記載の脂肪代謝促進剤。

〔８〕一般式（１）：

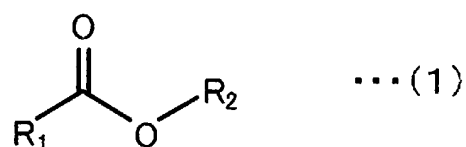
〔化４〕



(式中、 R_1 と R_2 は、それぞれ独立して、炭素数1、2、3、4、5、6、又は7のアルキル基を示す)で表される化合物を有効成分として含有し、前記一般式(1)で表される化合物は、オクタノール／水分配係数を表す $\log Pow$ が1.9以上3.8以下である、体熱産生促進剤。

[9] 脂肪代謝を促進するための、一般式(1)：

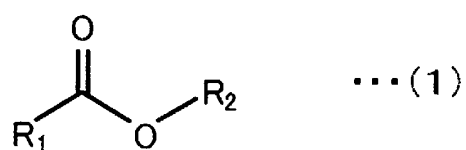
[化5]



(式中、 R_1 と R_2 は、それぞれ独立して、炭素数1、2、3、4、5、6、又は7のアルキル基を示す)で表される化合物の使用。

[10] 脂肪代謝促進剤を製造するための、一般式(1)：

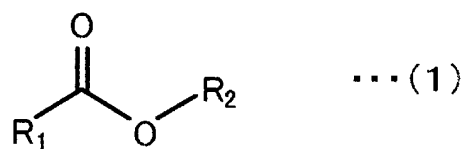
[化6]



(式中、 R_1 と R_2 は、それぞれ独立して、炭素数1、2、3、4、5、6、又は7のアルキル基を示す)で表される化合物の使用。

[11] 体熱産生を促進するための、一般式(1)：

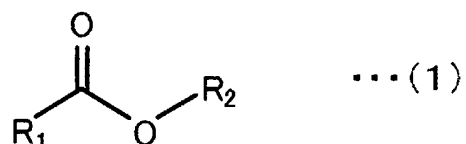
[化7]



(式中、 R_1 と R_2 は、それぞれ独立して、炭素数1、2、3、4、5、6、又は7のアルキル基を示す)で表される化合物の使用。

[12] 体熱産生促進剤を製造するための、一般式(1)：

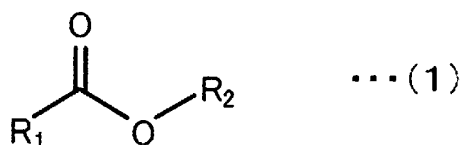
[化8]



(式中、 R_1 と R_2 は、それぞれ独立して、炭素数1、2、3、4、5、6、又は7のアルキル基を示す)で表される化合物の使用。

[13]脂質異常症、高脂血症、及び肥満症からなる群から選択される少なくとも一つの疾患の治療及び／又は予防剤であって、一般式(1)：

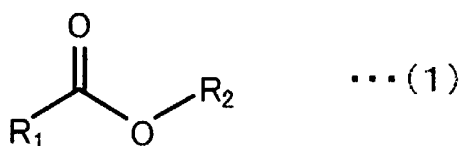
[化9]



(式中、 R_1 と R_2 は、それぞれ独立して、炭素数1、2、3、4、5、6、又は7のアルキル基を示す)で表される化合物を含有する、治療及び／又は予防剤。

[14]脂質異常症、高脂血症、及び肥満症からなる群から選択される少なくとも一つの疾患の治療及び／又は予防のための、一般式(1)：

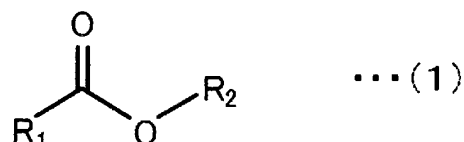
[化10]



(式中、 R_1 と R_2 は、それぞれ独立して、炭素数1、2、3、4、5、6、又は7のアルキル基を示す)で表される化合物の使用。

[15]脂質異常症、高脂血症、及び肥満症からなる群から選択される少なくとも一つの疾患の治療及び／又は予防剤を製造するための、一般式(1)：

[化11]



（式中、 R_1 と R_2 は、それぞれ独立して、炭素数1、2、3、4、5、6、又は7のアルキル基を示す）で表される化合物の使用。

発明の効果

[0009] 本発明によれば、脂肪の代謝を促進することができる新規な技術を提供することができる。

図面の簡単な説明

[0010] [図1]呼吸商の測定条件を示す図である（試験1）。

[図2]呼吸商の変化率と時間の関係を示すグラフである（試験1）。

[図3]体温の測定条件を示す図である（試験2）。

[図4]肩甲骨間の皮膚温と時間の関係を示すグラフである（試験2）。

[図5]鼓膜温と時間の関係を示すグラフである（試験2）。

[図6]体温の測定条件を示す図である（試験3）。

[図7]肩甲骨間の皮膚温と時間の関係を示すグラフである（試験3）。

[図8]グリセロールの放出量の比率を示すグラフである（試験4）。

[図9]促進剤添加前後におけるRFUの変化量（ ΔRFU ）の最大値を示すグラフである（試験5）。

[図10]RFUと時間の関係を示すグラフである（試験5）。

[図11]促進剤添加前のRFUに対する阻害剤添加後のRFUの変化量（ ΔRFU ）を示すグラフである（試験5）。

[図12]安静時における呼吸商の平均値を示すグラフである（試験6）。

[図13]安静時における脂質酸化量の平均値を示すグラフである（試験6）。

[図14]安静時及び運動時における呼吸商の平均値を示すグラフである（試験7）。

[図15]安静時及び運動時における脂質酸化量の平均値を示すグラフである（試験7）。

[図16]肩甲骨間の皮膚温と時間の関係を示すグラフである（試験8）。

[図17]鼓膜温と時間の関係を示すグラフである（試験8）。

[図18]促進剤添加前後におけるRFUの変化量（ Δ RFU）の最大値を示すグラフである（試験9）。

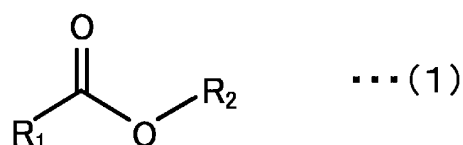
発明を実施するための形態

[0011] 本明細書における基及び原子団の表記において、置換又は無置換を明示していない場合は、置換基を有さないものと置換基を有するものの双方が含まれるものとする。例えば、置換又は無置換を明示していない「アルキル基」は、置換基を有さないアルキル基（無置換アルキル基）のみならず、置換基を有するアルキル基（置換アルキル基）をも包含することとする。

[0012] 以下、本発明の一実施形態について説明する。本実施形態は、脂肪の代謝を促進する脂肪代謝促進剤に関する。

[0013] 本実施形態の脂肪代謝促進剤は、下記一般式（1）で表される化合物（以下、「化合物（1）」ともいう）を含有する。本実施形態の脂肪代謝促進剤に含有される化合物（1）は、オクタノール／水分配係数（ $\log P_{ow}$ ）が1.9以上3.8以下である。

[化12]



式中、 R_1 と R_2 は、それぞれ独立して、炭素数1、2、3、4、5、6、又は7のアルキル基を示す。

[0014] ここで、「 R_1 と R_2 は、それぞれ独立して、」とは、 R_1 と R_2 を構成するアルキル基（炭素数1、2、3、4、5、6、又は7のアルキル基）が同一であってもよく、異なってもよいこと指す。

- [0015] R_1 及び R_2 の炭素数 1、2、3、4、5、6、又は 7 のアルキル基は、直鎖であってもよく、また分岐鎖であってもよい。 R_1 及び R_2 の炭素数 1、2、3、4、5、6、又は 7 のアルキル基は、環を形成していてもよく、環を形成しなくてもよい。 R_1 及び R_2 の炭素数 1、2、3、4、5、6、又は 7 のアルキル基としては、環を形成しないことが好ましい。 R_1 及び R_2 の炭素数 1、2、3、4、5、6、又は 7 のアルキル基は、例えば、ヒドロキシ基、またはベンジル基などの置換基を有さないアルキル基であることが好ましい。 R_1 及び R_2 の炭素数 1、2、3、4、5、6、又は 7 のアルキル基としては、例えば、メチル基、エチル基、*n*-プロピル基、イソプロピル基（1-メチルエチル基）、*n*-ブチル基、*sec*-ブチル基（1-メチルプロピル基）、イソブチル基（2-メチルプロピル基）、*tert*-ブチル基（1, 1-ジメチルエチル基）、*n*-ペンチル基、イソペンチル基（3-メチルブチル基）、2-メチルブチル基、*sec*-ペンチル基（1-メチルブチル基）、3-ペンチル基（1-エチルプロピル基）、*tert*-ペンチル基（1, 1-ジメチルプロピル基）、*n*-ヘキシル基、イソヘキシル基（4-メチルペンチル基）、*sec*-ヘキシル基（1-メチルペンチル基）、*tert*-ヘキシル基（1, 1-ジメチルブチル基）、*n*-ヘプチル基、イソヘプチル基（5-メチルヘキシル基）、*sec*-ヘプチル基（1-メチルヘキシル基）、及び *tert*-ヘプチル基（1, 1-ジメチルヘキシル基）等を挙げることができる。
- [0016] 脂肪の代謝を促進する観点から、 R_1 の炭素数 1、2、3、4、5、6、又は 7 のアルキル基としては、メチル基、エチル基、*n*-プロピル基、*n*-ブチル基、*n*-ペンチル基、イソペンチル基、*n*-ヘキシル基、及び *n*-ヘプチル基が好ましい。また、脂肪の代謝を促進する観点から、 R_2 の炭素数 1、2、3、4、5、6、又は 7 のアルキル基としては、メチル基、エチル基、*n*-プロピル基、*n*-ブチル基、*n*-ペンチル基、イソペンチル基、2-メチルブチル基、*n*-ヘキシル基、及び *n*-ヘプチル基が好ましい。脂肪の代謝を促進する観点から、 R_1 及び R_2 のアルキル基の組合せとしては、 R_1 のア

ルキル基がメチル基、エチル基、*n*-プロピル基、*n*-ブチル基、*n*-ペンチル基、イソペンチル基、*n*-ヘキシル基、又は*n*-ヘプチル基であるとき、 R_2 のアルキル基が、メチル基、エチル基、*n*-プロピル基、*n*-ブチル基、*n*-ペンチル基、イソペンチル基、2-メチルブチル基、*n*-ヘキシル基、又は*n*-ヘプチル基である組合せが好ましい。

[0017] また、オクタノール／水分配係数とは、1-オクタノールと水の2つの溶媒相中に化合物(1)を加えて平衡状態となった時の、その2相(1-オクタノールの相と水の相)における化合物(1)の濃度比の対数であり、 $\log Pow$ とも表記される。 Pow は化学物質の疎水性を表す物理化学的な指標とされ、一般的に対数值($\log Pow$)で表される。 $\log Pow$ の数値が小さいほど親水性を示し、数値が大きいほど親油性を示す。

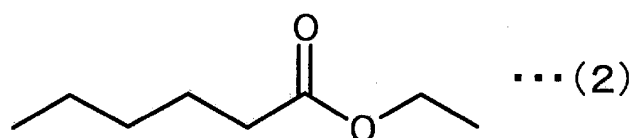
[0018] オクタノール／水分配係数を表す $\log Pow$ は、J I S Z 7260-107(2000)に記載の方法によって測定することができる。また、オクタノール／水分配係数($\log Pow$)は、定量的構造活性相関アルゴリズムを用いた市販ソフトウェア、またはウェブ上のソフトウェア等によって算出された値であってもよい。定量的構造活性相関アルゴリズムとしては、例えば、原子ベースのアプローチであるXLOGP3アルゴリズムが挙げられる。XLOGP3については、例えば、「Computation of Octanol-Water Partition Coefficients by Guiding an Additive Model with Knowledge.」Journal of Chemical Information and Modeling, 2007年, Vol 47, issue 6, pages 2140-2148、などの公知文献に記載されている。オクタノール／水分配係数($\log Pow$)を算出可能なソフトウェアとしては、例えば、XlogP (Shanghai Institute of Organic Chemistry, Chinese Academy of Sciences, <http://WWW.sio-ccbg.ac.cn/software/xlogp3/>から入手可能)等を挙げることができる。

。さらに、XlogPの計算結果は、PubChem (<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/#>) のデータベースに収載されており、これを活用できる。

[0019] 化合物(1)としては、例えば、カプロン酸エチル(ヘキサン酸エチル)、カプロン酸メチル(ヘキサン酸メチル)、カプロン酸プロピル(ヘキサン酸プロピル)、カプロン酸ブチル(ヘキサン酸ブチル)、カプロン酸ペンチル(ヘキサン酸ペンチル)、カプリル酸エチル(オクタン酸エチル)、酢酸イソアミル(酢酸3-メチルブチル)、プロピオン酸イソアミル(プロパン酸3-メチルブチル)、酪酸イソアミル(ブタン酸3-メチルブチル)、カプロン酸イソアミル(ヘキサン酸3-メチルブチル)、酢酸ペンチル、酢酸ヘプチル、カプリル酸メチル(オクタン酸メチル)、4-メチル吉草酸エチル(4-メチルペンタン酸エチル)、酢酸2-メチルブチル、吉草酸エチル(ペンタン酸エチル)等を挙げることができる。脂肪の代謝を促進する観点からは、化合物(1)は、カプロン酸エチル、カプロン酸プロピル、カプロン酸ブチル、カプロン酸ペンチル、カプリル酸エチル、プロピオン酸イソアミル、酪酸イソアミル、カプロン酸イソアミル、酢酸ペンチル、酢酸ヘプチル、又は4-メチル吉草酸エチルであることが好ましく、カプロン酸エチル又は酢酸イソアミルであることがさらに好ましい。なお、本実施形態の脂肪代謝促進剤は、化合物(1)を、2種以上組み合わせて用いてもよい。

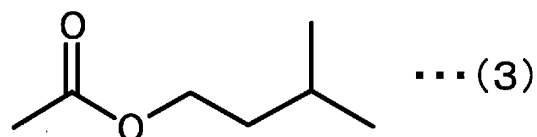
[0020] カプロン酸エチルは、下記式(2)で表される化合物である。

[化13]



[0021] 酢酸イソアミルは、下記式(3)で表される化合物である。

[化14]



[0022] 本実施形態の脂肪代謝促進剤に含有される化合物（１）は、生物により合成されたものであってもよく、化学的に合成（化学合成）されたものであってもよい。また、本実施形態の脂肪代謝促進剤に含有される化合物（１）は、市販品を用いてもよい。例えば、カプロン酸エチル及び酢酸イソアミルは酵母により合成することができる。酵母によるカプロン酸エチルの生合成は、例えば、特開２０１１－１８２７４５号公報に記載されており、酵母による酢酸イソアミルの生合成は、例えば、特開平１０－２７６７６７号公報に記載されている。

[0023] 本実施形態の脂肪代謝促進剤における化合物（１）の配合量は、特に限定されるものではないが、成人の１日あたりの化合物（１）の摂取量が０．００１７ｍｇ以上１．８ｍｇ以下となる量であることが好ましく、０．０１７ｍｇ以上１．８ｍｇ以下となる量であることがより好ましい。カプロン酸エチルの配合量については、成人の１日あたりの化合物（１）の摂取量が０．０１７ｍｇ以上０．１７ｍｇ以下となる量であることがさらに好ましく、酢酸イソアミルの配合量については、成人の１日あたりの化合物（１）の摂取量が０．０１８ｍｇ以上０．１８ｍｇ以下となる量であることがさらに好ましい。成人の体重当たりの化合物（１）の摂取量（１日あたり）は、０．０２８μｇ／ｋｇ以上３０μｇ／ｋｇ以下が好ましく、０．２８μｇ／ｋｇ以上３０μｇ／ｋｇ以下がより好ましい。カプロン酸エチルの摂取量（１日あたり）については、０．２８μｇ／ｋｇ以上２．８μｇ／ｋｇ以下がさらに好ましく、酢酸イソアミルの摂取量（１日あたり）については、０．３０μｇ／ｋｇ以上３．０μｇ／ｋｇ以下であることがさらに好ましい。１日あたりの化合物（１）の摂取量が上述の範囲内にある場合には、上述の範囲外に

ある場合と比較して、脂肪の代謝をさらに促進させることができる。なお、本実施形態の脂肪代謝促進剤の摂取回数は、特に限定されるものではないが、例えば、１日１回とすることができる。

[0024] 本実施形態の脂肪代謝促進剤の使用形態は、特に限定されるものではなく、医薬品、医薬部外品、飲食品、添加剤などのあらゆる使用形態とすることができる。また、本実施形態の脂肪代謝促進剤の状態は、特に限定されるものではなく、液体、固体、半固体、ゲル体などのあらゆる状態とすることができる。なお、本実施形態の脂肪代謝促進剤の摂取方法は、使用形態や状態に応じて適宜設定することができ、特に限定されるものではないが、例えば、経口により摂取することができる。

[0025] 本実施形態の脂肪代謝促進剤は、化合物（１）に加えて、当該化合物（１）以外の他の成分が含有されていてもよい。例えば、本実施形態の脂肪代謝促進剤を医薬品や医薬部外品や飲食品とする場合、本実施形態の脂肪代謝促進剤には、化合物（１）に加えて、賦型剤、結合剤、安定剤、崩壊剤、滑沢剤、矯味矯臭剤、懸濁剤、コーティング剤、溶媒（例えば、エタノールなど）や、食品又は飲料中に含まれる成分が含有されていてもよい。

[0026] 特に、本実施形態の脂肪代謝促進剤を飲食品とする場合、通常の飲食品としてもよいが、特定保健用食品等の特別用途食品や、栄養機能食品や、機能性表示食品としてもよい。飲食品としては、例えば、栄養補助食品（サプリメント）、牛乳、乳飲料、清涼飲料（例えば、炭酸飲料、ノンアルコール飲料、ジュース、コーヒー飲料、茶系飲料、ミネラルウォーター、スポーツ飲料など）、豆乳飲料、乳酸菌飲料、ココア、アルコール飲料（例えば、ビール、発泡酒、その他の醸造酒、リキュール、日本酒、甘酒、ワイン、焼酎など）、加工乳、発酵乳、調製粉乳、インスタント粉末から調製される飲料及びその他の飲料、シリアル、ヨーグルト、チーズ、パン、ピッツァクラスト、アイスクリーム、ビスケット、クラッカー、キャンディ、グミ、ガム及びその他の菓子類、流動食、病者用食品、幼児用粉乳等食品、授乳婦用粉乳等食品、飼料などを挙げることができる。

- [0027] 本実施形態の脂肪代謝促進剤の剤形は、特に限定されるものではなく、脂肪代謝促進剤の使用形態や状態に応じて適宜設定できる。例えば、本実施形態の脂肪代謝促進剤を医薬品や医薬部外品やサプリメントなどの飲食品とする場合、錠剤、丸剤、カプセル剤、顆粒剤、散剤、粉剤、シロップ剤等の剤形とすることができる。
- [0028] 本実施形態の脂肪代謝促進剤を摂取する摂取者は、ヒトに限定されるものではなく、ヒト以外の動物であってもよい。ヒト以外の動物としては、ヒト以外の高等脊椎動物、特にヒト以外の哺乳類を挙げることができ、より具体的にはイヌ、ネコ等の愛玩動物、ウシ、ウマ、ブタ、ヒツジ等の家畜を例示することができる。また、摂取者は、特に限定されるものではないが、食事制限などによる摂取カロリーの調整を行っている摂取者であってもよく、運動などによるエネルギー消費カロリーの調整を行っている摂取者であってもよい。
- [0029] ここで、脂肪の代謝を促進する観点からは、脂肪代謝促進剤の摂取後に運動を行うことをしてもよい。運動の一例としては、後述する実施例に示すように、エアロバイク（登録商標）を用いた自転車漕ぎ運動を挙げることができる。自転車漕ぎ運動を行う場合には、例えば、負荷を30W以上とすることができ、回転数を60rpm以上とすることができ、運動時間を30分以上とすることができる。脂肪代謝促進剤の摂取後に運動を行う場合は、例えば、脂肪代謝促進剤の摂取直後から摂取した2時間後までの間に運動を開始することができる。
- [0030] 以上説明した本実施形態の脂肪代謝促進剤を摂取することにより、脂肪の代謝を促進することができる。なお、本明細書において、脂肪の代謝とは、脂肪を水と二酸化炭素に分解するまでの間に生じる各反応の総称である。脂肪の代謝には、脂肪を遊離脂肪酸とグリセロールに分解する反応（以下、「脂肪分解」ともいう）及び遊離脂肪酸を二酸化炭素と水に分解する反応（以下、「脂肪燃焼」ともいう）が含まれる。また、本明細書において脂肪の代謝が促進されるとは、本実施形態の脂肪代謝促進剤を摂取することにより、

本実施形態の脂肪代謝促進剤を摂取しない場合と比較して、脂肪がより代謝されることを指す。本実施形態の脂肪代謝促進剤を摂取することにより、脂肪の代謝が促進されるため、脂肪分解や脂肪燃焼などの各反応が促進される。

[0031] 本実施形態の脂肪代謝促進剤が脂肪の代謝を促進する理由は、明らかになっていないが、化合物(1)のオクタノール／水分配係数(log P_{ow})が1.9以上3.8以下の範囲にあることで、化合物(1)が細胞膜を容易に透過でき、また、化合物(1)中のR₁とR₂で表されるアルキル基の炭素数が1、2、3、4、5、6、又は7であることで、細胞内で化合物(1)がエステラーゼにより分解されても、細胞内に存在するイオンチャネルの結合部位に相互作用出来ると考えられる。このため、例えば、後述する実施例に示すように、感覚神経に発現する温度感受性イオンチャンネルTransient Receptor Potential Ankyrin 1(以下、「TRPA1」ともいう)が化合物(1)により活性化され、神経伝達により脂肪の代謝を促進することが考えられる。また、脂肪の代謝を促進するその他の理由としては、化合物(1)が細胞膜を容易に透過できることで、消化管から吸収される化合物(1)が、脂肪細胞(又は脂肪)に作用し、脂肪の代謝を促進することが考えられる。

[0032] なお、本実施形態の脂肪代謝促進剤の一態様には、化合物(1)と化合物(1)以外の上述した成分(以下、「その他の成分」ともいう)を含有する脂肪代謝促進用組成物が含まれる。また、脂肪代謝促進用組成物の一態様には、化合物(1)と飲食品に含まれ得るその他の成分(以下、「飲食品成分」ともいう)を含有する脂肪代謝促進用飲食品組成物が含まれる。脂肪代謝促進用飲食品組成物は、通常の飲食品であってもよいが、特定保健用食品等の特別用途食品や栄養機能食品や機能性表示食品であってもよい。この脂肪代謝促進用組成物(又は脂肪代謝促進用飲食品組成物)も、本実施形態の脂肪代謝促進剤と同様に、脂肪の代謝を促進することができる。

[0033] また、本実施形態の脂肪代謝促進剤は、その他の成分に対して添加される

添加剤として用いることもできる。添加剤として脂肪代謝促進剤が添加されたその他の成分は、脂肪の代謝を促進する脂肪代謝促進用組成物として用いることができる。また、本実施形態の脂肪代謝促進剤は、飲食品成分に対して添加される添加剤として用いることもできる。添加剤として脂肪代謝促進剤が添加された飲食品成分は、脂肪の代謝を促進する脂肪代謝促進用飲食品組成物として用いることができる。

[0034] ここで、本実施形態の脂肪代謝促進剤は、脂肪を遊離脂肪酸とグリセロールに分解する反応（脂肪分解）を促進することができる。このため、本実施形態の脂肪代謝促進剤は、脂肪の分解を促進する脂肪分解促進剤として用いることができる（つまり、脂肪代謝促進剤と同様の構成により、脂肪分解促進剤とすることができる）。なお、本明細書において、脂肪の分解を促進するとは、本実施形態の脂肪代謝促進剤（又は脂肪分解促進剤）を摂取することにより、本実施形態の脂肪代謝促進剤（又は脂肪分解促進剤）を摂取しない場合と比較して、脂肪がより分解されることを指す。

[0035] 脂肪分解促進剤の一態様には、化合物（１）と化合物（１）以外のその他の成分を含有する脂肪分解促進用組成物が含まれる。また、脂肪分解促進用組成物の一態様には、化合物（１）と飲食品に含まれ得るその他の成分（飲食品成分）を含有する脂肪分解促進用飲食品組成物が含まれる。脂肪分解促進用飲食品組成物は、通常の飲食品であってもよいが、特定保健用食品等の特別用途食品や栄養機能食品や機能性表示食品であってもよい。この脂肪分解促進用組成物（又は脂肪分解促進用飲食品組成物）も、脂肪分解促進剤と同様に、脂肪の分解を促進することができる。

[0036] 本実施形態の脂肪分解促進剤は、その他の成分に対して添加される添加剤として用いることもできる。添加剤として脂肪分解促進剤が添加されたその他の成分は、脂肪の分解を促進する脂肪分解促進用組成物として用いることができる。また、本実施形態の脂肪分解促進剤は、飲食品成分に対して添加される添加剤として用いることもできる。添加剤として脂肪分解促進剤が添加された飲食品成分は、脂肪の分解を促進する脂肪分解促進用飲食品組成物

として用いることができる。

[0037] また、本実施形態の脂肪代謝促進剤は、遊離脂肪酸を二酸化炭素と水に分解する反応（脂肪燃焼）を促進することができる。このため、本実施形態の脂肪代謝促進剤は、遊離脂肪酸の分解を促進する脂肪燃焼促進剤として用いることができる（つまり、脂肪代謝促進剤と同様の構成により、脂肪燃焼促進剤とすることができる）。なお、本明細書において、脂肪の燃焼を促進するとは、本実施形態の脂肪代謝促進剤（又は脂肪燃焼促進剤）を摂取することにより、本実施形態の脂肪代謝促進剤（又は脂肪燃焼促進剤）を摂取しない場合と比較して、脂肪がより燃焼されることを指す。

[0038] 脂肪燃焼促進剤の一態様には、化合物（１）と化合物（１）以外のその他の成分を含有する脂肪燃焼促進用組成物が含まれる。また、脂肪燃焼促進用組成物の一態様には、化合物（１）と飲食品に含まれるその他の成分（飲食品成分）を含有する脂肪燃焼促進用飲食品組成物が含まれる。脂肪燃焼促進用飲食品組成物は、通常の飲食品であってもよいが、特定保健用食品等の特別用途食品や栄養機能食品や機能性表示食品であってもよい。この脂肪燃焼促進用組成物（脂肪燃焼促進用飲食品組成物）も、脂肪燃焼促進剤と同様に、脂肪の燃焼を促進することができる。

[0039] 本実施形態の脂肪燃焼促進剤は、化合物（１）以外のその他の成分に対して添加される添加剤として用いることもできる。添加剤として脂肪燃焼促進剤が添加されたその他の成分は、脂肪の燃焼を促進する脂肪燃焼促進用組成物として用いることができる。また、本実施形態の脂肪燃焼促進剤は、飲食品成分に対して添加される添加剤として用いることもできる。添加剤として脂肪燃焼促進剤が添加された飲食品成分は、脂肪の燃焼を促進する脂肪燃焼促進用飲食品組成物として用いることができる。

[0040] 以上説明した本実施形態では、化合物（１）を、脂肪代謝（脂肪分解や脂肪燃焼を含む）を促進するために使用したり、脂肪代謝促進剤（脂肪分解促進剤や脂肪燃焼促進剤を含む）を製造するために使用したりする。すなわち、上述した本実施形態には、脂肪代謝を促進するための化合物（１）の使用

や、脂肪代謝促進剤を製造するための化合物（１）の使用が含まれる。なお、脂肪代謝を促進するために使用される化合物（１）や、脂肪代謝促進剤を製造するために使用される化合物（１）は、上述した脂肪代謝促進剤の化合物（１）と同一の構成であるため、詳細な説明は省略する。

[0041] また、本実施形態の脂肪代謝促進剤は、上述した通り、脂肪の代謝（脂肪分解や脂肪燃焼を含む）を促進することができる。脂肪の代謝が促進されると、血中トリグリセリド量及びLDLコレステロール量の減少を生じるため、血中トリグリセリド又はLDLコレステロールが関与する種々の疾患の治療及び／又は予防につながる。このため、本実施形態の脂肪代謝促進剤は、脂肪の代謝を促進することで、症状が改善されたり発症が予防されたりする、疾患の治療や予防に用いることができる。このような疾患としては、例えば、脂質異常症、高脂血症、肥満症、高コレステロール血症、高トリグリセリド血症、動脈硬化症、及びメタボリックシンドローム等を挙げることができる。つまり、本実施形態の脂肪代謝促進剤は、脂質異常症、高脂血症、肥満症、高コレステロール血症、高トリグリセリド血症、動脈硬化症、及びメタボリックシンドロームからなる群から選択される少なくとも一つの疾患の治療及び／又は予防剤として用いることができる（本実施形態の脂肪代謝促進剤と同一の構成により、脂質異常症、高脂血症、肥満症、高コレステロール血症、高トリグリセリド血症、動脈硬化症、及びメタボリックシンドロームからなる群から選択される少なくとも一つの疾患の治療及び／又は予防剤とすることができる）。

[0042] 治療剤や予防剤に係る上述した実施形態では、化合物（１）を、脂質異常症、高脂血症、肥満症、高コレステロール血症、高トリグリセリド血症、動脈硬化症、及びメタボリックシンドロームからなる群から選択される少なくとも一つの疾患の治療及び／又は予防のために使用する。すなわち、治療剤や予防剤に係る上述した実施形態には、脂質異常症、高脂血症、肥満症、高コレステロール血症、高トリグリセリド血症、動脈硬化症、及びメタボリックシンドロームからなる群から選択される少なくとも一つの疾患の治療及び

／又は予防のための化合物（１）の使用が含まれる。なお、前述した治療及び／又は予防のために使用される化合物（１）は、上述した脂肪代謝促進剤の化合物（１）と同一の構成であるため、詳細な説明は省略する。

[0043] また、治療剤や予防剤に係る上述した実施形態では、化合物（１）を、脂質異常症、高脂血症、肥満症、高コレステロール血症、高トリグリセリド血症、動脈硬化症、及びメタボリックシンドロームからなる群から選択される少なくとも一つの疾患の治療及び／又は予防剤を製造するために使用する。すなわち、治療剤や予防剤に係る上述した実施形態には、脂質異常症、高脂血症、肥満症、高コレステロール血症、高トリグリセリド血症、動脈硬化症、及びメタボリックシンドロームからなる群から選択される少なくとも一つの疾患の治療及び／又は予防剤を製造するための化合物（１）の使用が含まれる。なお、前述した治療及び／又は予防剤を製造するために使用される化合物（１）は、上述した脂肪代謝促進剤の化合物（１）と同一の構成であるため、詳細な説明は省略する。

[0044] ここで、本実施形態の脂肪代謝促進剤は、体熱の産生を促進する体熱産生促進剤として用いることもできる（つまり、脂肪代謝促進剤と同様の構成により、体熱産生促進剤とすることができる）。なお、本明細書において、体熱の産生を促進するとは、本実施形態の脂肪代謝促進剤（又は体熱産生促進剤）を摂取することにより、本実施形態の脂肪代謝促進剤（又は体熱産生促進剤）を摂取しない場合と比較して、体熱がより産生されることを指す。

[0045] 本実施形態の脂肪代謝促進剤（又は体熱産生促進剤）が体熱の産生を促進できる理由は、明らかになっていないが、本実施形態の脂肪代謝促進剤（又は体熱産生促進剤）を摂取することで、上述のように脂肪の分解が促進された結果生じた遊離脂肪酸が、褐色脂肪細胞等で分解され、その際に生じるエネルギーによって体熱の産生が促進されるものと考えられる。また、本実施形態の脂肪代謝促進剤は、TRPA1を活性化することができる。このTRPA1の活性化によって、体熱の産生が促進されることが知られている（Sawai S et al., "The effect of carbonat

ed water on body temperature”, 2012年, 農芸化学年会要旨集, 発表番号: 3J15a01; Yukiko MASA MOTO et al., “Intragastric Administration of TRPV1, TRPV3, TRPM8, and TRPA1 Agonists Modulates Autonomic Thermoregulation in Different Manners in Mice”, Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2009, Volume 73, Issue 5, Pages 1021–1027。また、体熱の産生を促進するその他の理由としては、消化管から吸収される化合物(1)が、脂肪細胞(又は脂肪)に作用し、遊離脂肪酸の分解を促進する結果、体熱の産生を促進することが考えられる。

[0046] ここで、本実施形態の脂肪代謝促進剤(又は体熱産生促進剤)を摂取することにより、体熱の産生が促進されるため、本実施形態の脂肪代謝促進剤(又は体熱産生促進剤)を摂取しない場合と比較して、体温の低下を抑制することができる。このため、本実施形態の脂肪代謝促進剤(又は体熱産生促進剤)は、冷えを改善することができる。本明細書において、冷えとは、手足、腰、腹部、背中、肩などの部位が冷たく感じる状態のことをいう。冷えの原因には種々の理由が考えられるが、体熱産生の低下も原因の一つとして考えられている。一般的に、季節や外気温に関わらず、慢性的に冷えを感じることを冷え性という。冷え性に伴う症状としては、例えば、肩こり、頭痛、むくみ、不眠、手足の痺れ、手足の痛み、頻尿、腰痛、などが挙げられる。

[0047] なお、体熱産生促進剤の一態様には、化合物(1)と化合物(1)以外のその他の成分を含有する体熱産生促進用組成物が含まれる。また、体熱産生促進用組成物の一態様には、化合物(1)と飲食品に含まれるその他の成分(飲食品成分)を含有する体熱産生促進用飲食品組成物が含まれる。体熱産生促進用飲食品組成物は、通常の飲食品であってもよいが、特定保健用食品等の特別用途食品や栄養機能食品や機能性表示食品であってもよい。この体

熱産生促進用組成物（又は体熱産生促進用飲食品組成物）も、体熱産生促進剤と同様に、体熱の産生を促進することができる。

[0048] 本実施形態の体熱産生促進剤は、化合物（１）以外の他のその成分に対して添加される添加剤として用いることもできる。添加剤として体熱産生促進剤が添加されたその他の成分は、体熱の産生を促進する体熱産生促進用組成物として用いることができる。また、本実施形態の体熱産生促進剤は、飲食品成分に対して添加される添加剤として用いることもできる。添加剤として体熱産生促進剤が添加された飲食品成分は、体熱の産生を促進する体熱産生促進用飲食品組成物として用いることができる。

[0049] 体熱産生促進剤に係る上述した実施形態では、化合物（１）を、体熱産生を促進するために使用したり、体熱産生促進剤を製造するために使用したりする。すなわち、体熱産生促進剤に係る上述した実施形態には、体熱産生を促進するための化合物（１）の使用や、体熱産生促進剤を製造するための化合物（１）の使用が含まれる。なお、体熱産生を促進するために使用される化合物（１）や、体熱産生促進剤を製造するために使用される化合物（１）は、上述した脂肪代謝促進剤の化合物（１）と同一の構成であるため、詳細な説明は省略する。

実施例

[0050] 以下、実施例により本発明を更に具体的に説明するが、本発明はこれらに限定されない。

[0051] [試験１（呼吸商測定試験－水ベース）]

本試験では、呼吸商を測定する試験を行った。なお、呼吸商は、単位時間あたりの酸素消費量に対する、単位時間あたりの二酸化炭素の排出量の割合であり、本試験では、エアロモニター（登録商標）（ミナト医科学社製）を用いて測定した。本試験の具体的な試験方法及びその結果を以下に示す。なお、本試験は、クロスオーバー比較試験として行った。

[0052] （試験方法）

本試験では、各被験飲料を３名の被験者（成人男性（BMI（Body Mass I

ndex) が 18.5 kg/m^2 以上 25 kg/m^2 未満) に摂取させ、各被験者の呼吸商を各々測定した。被験飲料として、水 (比較例 1) 200 ml と、カプロン酸エチルをそれぞれ 0.1 ppm 、 1 ppm 、 10 ppm の濃度で水に含有させた被験液 (実施例 1～3) 200 ml を用いた。なお、実施例 1～3 の被験飲料はそれぞれ、摂取量としてカプロン酸エチル 0.017 mg 、 0.17 mg 、 1.7 mg に相当する。また、カプロン酸エチルの $\log \text{Pow}$ は、 2.4 (後述する試験 9 と同様の方法で算出) であった。後述する試験 2～7 では、カプロン酸エチルの $\log \text{Pow}$ (2.4) の記載は省略する。

[0053] 実施例 1～3 の被験飲料では、カプロン酸エチルの溶媒としてエタノールを用いたため、実施例 1～3 の被験飲料は、全ての被験飲料のエタノール濃度を 0.0999% に統一した。また、被験飲料の原料としたカプロン酸エチルには「ヘキサン酸エチル $\geq 98\%$, FCC, 食品グレード」(Sigma-Aldrich 社製) を、エタノールには「K 酒類原料用アルコール、純度 95.4% 」(第一アルコール社製) を、水には「おいしい水 天然水 富士山」(アサヒ飲料社製) を用いた。これらの原料は、それぞれ後述する試験 2、3、6、7、及び 8 の被験飲料においても用いた。

[0054] 本試験における呼吸商の測定に先立ち、まず、事前測定を行った。事前測定では、被験者は、前日 21 時より 12 時間絶食した状態で、呼気ガス測定用のマスク装着後、呼吸商の測定を開始した。呼吸商の測定を開始してから 10 分間椅子に座り安静にした。呼吸商の測定を開始してから 10 分間の座位安静のうち、6 分から 10 分までの 5 分間の呼吸商の平均値をベースラインの呼吸商として取得した。なお、本試験において、呼吸商の測定は、温度 $23 \pm 2^\circ\text{C}$ 、湿度 $45 \pm 5\%$ に設定された恒温恒湿実験室内で行った。また、呼吸商測定中の呼吸は 4 秒/回とし、以降の測定も同様の方法で実施した。

[0055] 試験 1 日目には、被験者は、前日 21 時より 12 時間絶食した状態で、図 1 に示す条件に従い、呼吸商を測定した。具体的には、被験者は、まず、比

較例 1 の被験飲料を 2 分間で 200 ml 摂取した。被験飲料の摂取後、椅子に座り 30 分間安静にした。その後、10 分の間に、白米（約 200 kcal）及び 100 ml の水を摂取し、マスクを装着した。マスク装着後、呼吸商の測定を開始した。呼吸商の測定を開始してから 20 分間は、椅子に座り安静にした。20 分経過後は、エアロバイク（登録商標）（コナミスポーツライフ社製）に座り 10 分間安静にし、その後、エアロバイク（登録商標）で 30 分間運動（30 W、60 rpm）を行った。30 分間の運動の後、呼吸商の測定を終了した。呼吸商は、合計で 60 分間測定した。

[0056] 試験 2 日目から 4 日目は、被験飲料として実施例 1～3 の被験飲料を摂取させたこと以外は試験 1 日目と同様の条件で呼吸商を測定した。なお、摂取させる被験飲料は、試験日によって変更した。具体的には、試験 2 日目から 4 日目にかけて、カプロン酸エチルの濃度が順次高くなるように摂取させた。

[0057] 解析対象データとして、呼吸商の測定を開始してから 20 分間の座位安静のうち、11 分から 20 分までの 10 分間の呼吸商を採用するとともに、エアロバイク（登録商標）による 30 分間の運動のうち、11 分から 30 分までの 20 分間の呼吸商を採用した。採用した呼吸商の 1 分間毎の平均値を算出し、ベースラインの呼吸商に対するそれらの平均値の変化率 [%] を求めた。なお、変化率 [%] は、ベースラインの呼吸商を 100 % としたときの変化率である。

[0058] （試験結果）

結果を図 2 に示す。なお、本試験において、群間の統計学的有意差の検定は、各試験日の呼吸商の 1 分間毎の平均値を、ベースラインの呼吸商の平均値に対する変化率について、反復測定分散分析（analysis of variance (ANOVA) with repeated measures）により行った。

[0059] 図 2 に示すように、実施例 1 の被験飲料を摂取した場合には、比較例 1 の被験飲料を摂取した場合と比較して有意な呼吸商の低下が確認できた。また

、実施例 2 及び実施例 3 の被験飲料を摂取した場合でも、比較例 1 の被験飲料を摂取する場合と比較して呼吸商が低下する傾向が確認できた。

[0060] 呼吸商の低下は、消費される脂肪の量が増加することを意味する。したがって、本試験の結果により、実施例 1 ～ 3 の被験飲料は、脂肪分解と脂肪燃焼の両方を促進し、脂肪の代謝を促進したことを確認した。

[0061] [試験 2 (体温測定試験－安静時)]

本試験では、各被験飲料を各被験者に摂取させ、摂取後の肩甲骨間の皮膚温及び鼓膜温（以下、試験 2 においてこれらを「体温」ともいう）を各々測定した。なお、本試験は、成人男女 10 名（男性 4 名、女性 6 名）を被験者として、単回摂取クロスオーバー比較試験として行った。本試験の具体的な試験方法及びその結果を以下に示す。

[0062] なお、本試験において、肩甲骨間の皮膚温は、myBeat（登録商標）WHS-2（ユニオンツール社製）で測定し、鼓膜温は、耳式体温計CES-2（ニプロ社製）で測定した。

[0063] (試験方法)

本試験には、比較例 2 の被験飲料として、水 200 ml を用いた。実施例 4 の被験飲料として、カプロン酸エチルを 1 ppm の濃度で水に含有させた被験液 200 ml を用いた。試験 1 日目と 2 日目で異なる被験飲料を各被験者に各々摂取させた。なお、実施例 4 の被験飲料は、摂取量としてカプロン酸エチル 0.17 mg に相当する。また、実施例 4 の被験飲料では、カプロン酸エチルの溶媒としてエタノールを用いたため、全ての被験飲料のエタノール濃度を 0.0999% に統一した。

[0064] 本試験の実施にあたり、被験者には、試験前日の夜から禁酒させた。また、試験当日は、コーヒーや香辛料の強い食事の摂取を禁止とし、昼食は 12 時 30 分までに済ませ、12 時 30 分以降は水以外の飲食を禁止とした。なお、試験時の衣服は、指定した半袖、長ズボンの衣服を着用させて統一した。

[0065] 体温の測定は、図 3 に示す条件で行い、試験 1 日目と 2 日目ともに同じ条

件とした。具体的には、被験者を14時30分に室温 $24 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ に設定された測定室に入室させ、温度計を装着の上、40分の間、環境へ馴化させた。次に、15時10分から体温の測定を開始し、15時28分に 37°C に温めた被験飲料200mlを2分以内に摂取させた。その後60分間安静にして体温の測定を継続し、16時30分に体温の測定を終了した。なお、自律神経活動の日内変動を考慮し、試験1日目と2日目における測定は、同時刻に行った。

[0066] 被験飲料飲用直後にあたる15時30分の測定値を初期値（0分データ）とし、被験飲料飲用直後から測定終了時の16時30分までの10分毎の測定値（10、20、30、40、50、60分の測定値）に基づいて、各時刻における各群の平均値±標準誤差を計算した。

[0067] （試験結果）

結果を表1、図4、表2及び図5に示す。表1及び図4は、肩甲骨間の皮膚温に関する結果であり、表2及び図5は、鼓膜温に関する結果である。なお、本試験において、統計学的有意差の検定は、各群同時刻の差を、対応のあるt検定（paired t-test）により検定した。有意水準 $p < 0.05$ を有意差ありとした。本試験において、データ解析はExcel（Microsoft社製）を用いて実施した。

[0068] [表1]

肩甲骨間の皮膚温		経過時間						
		0分	10分	20分	30分	40分	50分	60分
被験飲料 (比較例2)	平均値 (°C)	32.51	32.55	32.57	32.52	32.51	32.48	32.51
	標準誤差	0.27	0.27	0.27	0.29	0.26	0.24	0.23
被験飲料 (実施例4)	平均値 (°C)	32.69	32.65	32.65	32.71	32.71	32.70	32.76
	標準誤差	0.24	0.22	0.24	0.25	0.26	0.26	0.24

[0069] [表2]

鼓膜温		経過時間						
		0分	10分	20分	30分	40分	50分	60分
被験飲料 (比較例2)	平均値 (°C)	36.71	36.68	36.66	36.63	36.62	36.56	36.53
	標準誤差	0.13	0.14	0.14	0.14	0.15	0.15	0.15
被験飲料 (実施例4)	平均値 (°C)	36.83	36.83	36.83	36.80	36.81	36.81	36.80
	標準誤差	0.10	0.10	0.11	0.10	0.09	0.10	0.11

[0070] 表 1 及び図 4 に示すように、肩甲骨間の皮膚温は、特に飲用後 20 分以降から、実施例 4 の被験飲料を摂取した群で上昇傾向が認められたのに対し、比較例 2 の被験飲料を摂取した群では同様の上昇傾向は認められなかった。

[0071] また、表 2 及び図 5 に示すように、鼓膜温は、比較例 2 の被験飲料を摂取した群で低下傾向が認められたのに対し、実施例 4 の被験飲料を摂取した群では同様の低下傾向は認められなかった。

[0072] 群間比較における統計学的検定では、図 4 及び図 5 に示す結果において、飲用直後である 0 分時点では、実施例 4 の被験飲料を摂取した群と比較例 2 の被験飲料を摂取した群との間に有意な差は認められなかった。一方で、図 4 に示す肩甲骨間の皮膚温については、飲用後 60 分時点では、実施例 4 の被験飲料を摂取した群が、比較例 2 の被験飲料を摂取した群に比べて有意に高かった。また、図 5 に示す鼓膜温については、飲用後 50 分及び 60 分時点では、実施例 4 の被験飲料を摂取した群が、比較例 2 の被験飲料を摂取した群に比べて高い傾向が確認された。特に、図 5 に示す鼓膜温の群内比較では、比較例 2 の被験飲料を摂取した群内において、60 分時点の鼓膜温が 0 分時点に比べて有意に低かったのに対し、実施例 4 の被験飲料を摂取した群内においては、同様の結果は認められなかった。

[0073] 肩甲骨間の皮膚温が上昇したり、鼓膜温の低下が抑制されたりすることは、体熱の産生が促進されていることを意味する。特に、鼓膜温は、深部体温が反映された体温であることから、鼓膜温の低下が抑制されることは、体の内部においても体熱の産生が促進されていることを意味する。また、肩甲骨間は褐色脂肪組織の近傍にあたることから、肩甲骨間の皮膚温が上昇することは、褐色脂肪組織において脂肪酸が消費され、体熱の産生が促進されていることを意味する。したがって、本試験の結果より、実施例 4 の被験飲料は、脂肪の燃焼を促進し、さらに、体熱の産生を促進したことを確認した。

[0074] [試験 3 (体温測定試験－運動時)]

本試験では、各被験飲料を各被験者に摂取させ、運動負荷時における肩甲骨間の皮膚温を各々測定した。なお、本試験は、成人男性 4 名を被験者とし

て行った。また、肩甲骨間の皮膚温は、my Beat（登録商標）WHS-2で測定した。本試験の具体的な試験方法及びその結果を以下に示す。

[0075] （試験方法）

本試験には、比較例3の被験飲料として、アスパルテーム、アセスルファム K、スクラロース、無水クエン酸、クエン酸三ナトリウム、及び水からなる、5 kcal / 100 ml 未満の甘酸液を用いた。実施例5の被験飲料として、カプロン酸エチルを1 ppmの濃度で上述の甘酸液に含有させた被験液を用いた。試験1日目には比較例3の被験飲料を、試験2日目には実施例5の被験飲料を摂取させた。なお、実施例5の被験飲料は、摂取量としてカプロン酸エチル0.17 mgに相当する。また、実施例5の被験飲料では、カプロン酸エチルの溶媒としてエタノールを用いたため、全ての被験飲料のエタノール濃度を0.0999%に統一した。

[0076] 本試験の実施にあたり、被験者には、試験前日の夜から禁酒させた。なお、試験時の衣服は、指定した半袖、長ズボンの衣服を着用させて統一した。

[0077] 被験者は前日21時より絶食した状態で図6に示す条件で肩甲骨間の皮膚温を測定した。試験1日目と2日目ともに同じ条件とした。具体的には、まず、8時30分に被験者を温度 $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $45 \pm 5\%$ に設定された恒温恒湿実験室内に入室させ、被験飲料を摂取させるとともに、椅子に座らせた。椅子に座って30分間安静にさせた後、10分の間に、白米（約200 kcal）及び100 mlの水を摂取させるとともに、呼気ガス測定用のマスクを装着した。マスク装着後、肩甲骨間の皮膚温の測定を開始した。肩甲骨間の皮膚温の測定を開始してから20分間、椅子に座って安静にさせた後、エアロバイク（登録商標）に座りさらに10分間の安静にさせた。その後、エアロバイク（登録商標）で30分間運動（30W、60 rpm）をさせ、肩甲骨間の皮膚温の測定を終了した。なお、自律神経活動の日内変動を考慮し、試験1日目と2日目における測定は、同時刻に行った。

[0078] 肩甲骨間の皮膚温の運動開始直後と運動開始から10分毎の測定値（10、20、30分の測定値）に基づいて、各時刻における各群の平均値±標準

誤差を計算した。

[0079] (試験結果)

結果を表3及び図7に示す。なお、本試験において、統計学的有意差の検定は、各群同時刻の差を、対応のあるt検定 (paired t-test) により検定した。有意水準 $p < 0.05$ を有意差ありとした。また、データ解析はExcel (Microsoft社製) を用いて実施した。

[0080] [表3]

肩甲骨間の皮膚温		経過時間			
		0分	10分	20分	30分
被験飲料 (比較例3)	平均値 (°C)	31.60	31.65	31.65	31.60
	標準誤差	0.22	0.23	0.23	0.18
被験飲料 (実施例5)	平均値 (°C)	31.75	31.78	31.88	31.93
	標準誤差	0.18	0.22	0.16	0.15

[0081] 表3及び図7に示すように、実施例5の被験飲料を摂取した群は、比較例3の被験飲料を摂取した群と比較して、肩甲骨間の皮膚温が高い期間がより長いことが確認できた。特に、群間比較における統計学的検定では、運動開始後30分時点 (すなわち、温度測定開始60分後時点) では、実施例5の被験飲料を摂取した群が、比較例3の被験飲料を摂取した群に比べて高い傾向が確認された。

[0082] 上述したとおり、肩甲骨間の皮膚温が上昇することは、褐色脂肪組織において脂肪酸が消費され、体熱の産生が促進されていることを意味する。したがって、本試験の結果により、実施例5の被験飲料は、運動をすることによっても脂肪の燃焼を促進し、さらに、体熱の産生を促進したことを確認した。

[0083] [試験4 (脂肪分解試験)]

本試験では、脂肪細胞に蓄積された脂肪が分解されることで培養上清中に放出されるグリセロールを定量することによって、本実施形態の促進剤による脂肪分解促進効果を検討した。なお、本試験で用いたマウス胎児由来3T3-L1細胞は、脂肪細胞の前駆細胞であり、これを分化誘導することで脂肪細胞を形成させた。本試験は、「ケルセチン配糖体のマウス食餌性肥満モ

デルに及ぼす影響—ケルセチンの脂肪分解促進作用」（立石ら., 薬理と治療2009 ;37(2):123-131) に記載の方法に基づいて行った。本試験の具体的な試験方法及びその結果を以下に示す。

[0084] (試験方法)

本試験では、まず、ペニシリン—ストレプトマイシン (Thermo Fisher Scientific 社製) 及びウシ胎児血清 (Sigma-Aldrich 社製) をそれぞれ 100 Unit/ml、100 µg/ml、10% の濃度となるように添加したダルベッコ—イーグル培地 (富士フィルム和光純薬社製) (以下、「DMEM 培地」ともいう) に、3T3-L1 細胞を懸濁し、12 ウェルプレートに播種した。

[0085] 5% CO₂、37℃ の条件下でコンフルエント (細胞が培養器面を覆いつくした状態) になるまで 3T3-L1 細胞を培養した。コンフルエントになってから 2 日後に、DMEM 培地にデキサメタゾン (ナカライテスク社製)、3-イソブチルー-1-メチルキサンチン (ナカライテスク社製)、インスリン (ナカライテスク社製) をそれぞれ 0.25 µM、0.5 mM、10 µg/ml となるように添加した培地に交換し、5% CO₂、37℃ にて 2 日間培養することで 3T3-L1 細胞を脂肪細胞に分化誘導した。

[0086] 分化誘導後、DMEM 培地にインスリンを 5 µg/ml となるように添加した培地に 2 日毎又は 3 日毎に交換し、5% CO₂、37℃ にて計 12 日間培養して分化を維持させた。その後、フェノールレッド非含有の DMEM 培地 (1.0 g/l グルコース) (ナカライテスク社製) に、ペニシリン—ストレプトマイシン (Thermo Fisher Scientific 社製) 及びウシ胎児血清 (Sigma-Aldrich 社製) をそれぞれ 100 Unit/ml、100 µg/ml、10% の濃度となるように添加した培地を試験培地とし、この試験培地に対して、下記表 4 に示す濃度となるように各成分を添加した。分化誘導後の 3T3-L1 細胞の培地を、比較例 4~5 及び実施例 6~8 の成分が添加された培地にそれぞれ変更し、5% CO₂、37℃ にて 2 日間培養した。

[0087] [表4]

	比較例4	比較例5	実施例6	実施例7	実施例8
エタノール	0.1 %	0.1 %	0.1 %	0.1 %	0.1 %
ノルアドレナリン	－	0.1 μ M	0.1 μ M	0.1 μ M	0.1 μ M
カプロン酸エチル	－	－	0.1 ppm	1 ppm	10 ppm

なお、カプロン酸エチルには、東京化成工業社製のカプロン酸エチルを用い、エタノールには、富士フィルム和光純薬社製のエタノールを用い、ノルアドレナリンには、ナカライテスク社製のノルアドレナリンを用いた。

[0088] 2日間の培養後、培養上清を回収し、Glycerol Assay kit (Cell-Based) (Abcam社製)を用いて、培養上清中に放出されたグリセロールを定量した。比較例4の成分が添加された培地のグリセロール量に対する、比較例5及び実施例6～8の成分が添加された培地のグリセロール量の比率（以下、「対照比」ともいう）をそれぞれ求め、その平均値±標準誤差を得た。

[0089] (試験結果)

結果を表5及び図8に示す。なお、本試験において、統計学的検定は、一元配置分散分析 (one-way ANOVA) の後、ダネット検定 (Dunnnett's test) を用いて多重比較検定を実施した。有意水準 $p < 0.05$ を有意差ありとした。また、これらの解析は、すべてSPSS version 23 (SPSS社製) を用いて実施した。

[0090] [表5]

	平均値	標準誤差
比較例4	1.000	0.012
比較例5	1.002	0.031
実施例6	1.063	0.024
実施例7	1.089	0.026
実施例8	1.118	0.024

[0091] 表5及び図8に示すように、比較例4と比較例5の成分が添加された培地の上清では、グリセロールの放出量に差がほとんどなかった。一方で、実施

例6～8の成分が添加された培地の上清には、比較例4の成分が添加された培地の上清と比較して、より多くのグリセロールが放出されていた。

[0092] また、統計学的検定では、one-way ANOVAで群間に有意差が認められたため、ダネット検定(Dunnett's test)を用いて比較例4に対して実施例6～8それぞれの間で多重比較検定を行った。その結果、カプロン酸エチルの添加濃度が10ppmである実施例8については、放出されるグリセロール量に有意な増加が認められ、さらに、カプロン酸エチルの添加濃度が1.0ppmである実施例7では、放出されるグリセロール量に増加傾向が認められた。

[0093] 本試験の結果より、実施例6～8の成分が添加された培地では、脂肪の分解が促進されたことを確認した。

[0094] [試験5 (TRPA1 活性試験)]

本試験においては、温度感受性イオンチャネルTRPA1の活性化をカルシウムイメージング法で確認することで、本実施形態の脂肪代謝促進剤のTRPA1 活性への寄与を検討した。本試験の具体的な試験方法及びその結果を以下に示す。

[0095] (第1の試験方法)

本試験では、まず、ペニシリノーストレプトマイシン(Thermo Fisher Scientific社製)、ウシ胎児血清(Sigma-Aldrich社製)をそれぞれ100Unit/ml、100μg/ml、10%の濃度となるように添加したDMEM培地に、ヒト胎児由来HEK293T細胞を懸濁し、96ウェルプレートに100μl/ウェルの容量で播種して、5%CO₂、37℃の条件下で細胞密度が70～90%になるまで培養した。

[0096] その後、ウェル内のDMEM培地を全量除去し、そこへ遺伝子導入試薬Lipofectamine 2000(ThermoFisher Scientific社製)とhTRPA1 遺伝子発現プラスミドを含有したOptiMEM培地(ThermoFisher Scientific社製)を50

μl ／ウェルの容量で添加した。その後、 37°C 、 $5\%\text{CO}_2$ の条件下で約24時間培養を行い、HEK293T細胞にTRPA1遺伝子を導入した。なお、OptiMEM培地 $50\mu\text{l}$ あたりの含有量は、Lipofectamine2000が $0.3\mu\text{l}$ 、hTRPA1遺伝子発現プラスミドが 400ng であった。また、TRPA1遺伝子は、例えば、GenBank等のDNAデータベースで確認することができる。

[0097] 以上の方法で遺伝子導入したHEK293T細胞（以下、「TRPA1強制発現細胞」ともいう）が $90\sim 100\%$ の密度に到達したところで、カルシウム感受性蛍光色素であるFLIPRCalcium6 Assay Kit（MOLECULAR DEVICE社製）を $50\mu\text{l}$ ／ウェルの容量で添加し、 37°C 、 $5\%\text{CO}_2$ の条件下で2時間培養した。ここで、細胞膜上におけるTRPA1の発現を、既知のTRPA1リガンドであるシンナムアルデヒド（Wako社製）に対する応答により確認した。なお、シンナムアルデヒドの希釈にはDMSOを用いたが、細胞毒性を考慮しDMSO濃度がウェル内で 0.1% となるようにした。

[0098] カプロン酸エチルをHEPESバッファー（ 10mM HEPES、 130mM NaCl、 5mM KCl、 10mM グルコース、 2mM $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、 1.2mM $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{pH}=7.40$ ）に含有し、カプロン酸エチルを 255ppm の濃度で含む実施例9の被験液を得た。また、ネガティブコントロール（N.C.）として、HEPESバッファーを比較例6の被験液とした。TRPA1強制発現細胞の蛍光強度の測定を開始し、20秒後に、用意した被験液をそれぞれ $50\mu\text{l}$ ずつ3つのウェルに添加した。所定期間経過後、蛍光強度の測定を終了し、測定した蛍光強度から、被験液の添加前の蛍光強度の平均値を1としたときの、被験液の添加後の各時刻における蛍光強度の割合（以下、「RFU（relative fluorescence units）」ともいう）を求めた。さらに、被験液の添加後の各時刻について、被験液添加前後におけるRFUの変化量（以下、「 ΔRFU 」ともいう）を求めた。なお、蛍光強度は、FlexStation3（Molecul

ar devices 社製) を使用して測定した。また、蛍光強度の測定は、室温下で行い、ウェルに添加した被験液も室温で使用した。

[0099] また、参考として、TRPA1 遺伝子を導入していない HEK293T 細胞 (以下、「非形質転換細胞ともいう」) についても、TRPA1 強制発現細胞に対して行った方法と同様の方法で、実施例 9 及び比較例 6 の被験液をそれぞれ 50 μ l ずつ添加し、 Δ RFU を求めた。

[0100] なお、被験液の添加直前の各ウェルには、OptiMEM 培地と FLIPR Calcium6 Assay Kit が合わせて 100 μ l 添加されている状態となっており、その後、50 μ l の被験液を添加したため、実施例 9 の被験液に含まれるカプロン酸エチルはウェル中で 3 倍希釈された。つまり、実施例 9 の被験液を添加したウェル内におけるカプロン酸エチルの濃度は、100 ppm であった。

[0101] (第 1 の試験結果)

被験液添加後の Δ RFU の最大値について、平均値 $\pm$ 標準偏差を表 6 及び図 9 に示す。なお、本試験において、データの解析には、SoftMax Pro Vr.6 (Molecular devices 社製) 及び Excel (Microsoft 社製) を用いた。

[0102] [表6]

		比較例 6	実施例 9
非形質転換細胞	平均値 (Δ RFU)	0.185	0.046
	標準偏差	0.080	0.065
TRPA1 強制発現細胞	平均値 (Δ RFU)	0.217	3.275
	標準偏差	0.050	0.400

[0103] 表 6 及び図 9 に示すように、比較例 6 の被験液は、TRPA1 強制発現細胞について、 Δ RFU の最大値が 0.2 程度であり、細胞応答を惹起しなかった。一方、実施例 9 の被験液は、TRPA1 強制発現細胞について、 Δ RFU の最大値が 3.3 程度であり、細胞応答を惹起したことが確認できた。

この結果より、実施例9の被験液は、TRPA1を活性化したことを確認した。

[0104] また、図10に、被験液の添加前後におけるRFUの経時変化を示す。なお、表6及び図9に示す Δ RFUの最大値は、図10に示すRFUに基づいて求めた値である。図10に示す結果からも理解できるように、実施例9の被験液は、TRPA1強制発現細胞に対して細胞応答を惹起したのに対し、比較例6の被験液は、TRPA1強制発現細胞に対して細胞応答を惹起しなかった。

[0105] (第2の試験方法)

本試験では、第1の試験方法において実施例9の被験液を添加したウェルに対し、TRPA1阻害剤であるHC03001 (Sigma-Aldrich社製) をさらに添加 (共添加) した。次に、ウェル内の蛍光強度が一定になったことを確認した後にRFU (以下、「阻害剤添加後のRFU」ともいう) を求めた。被験液添加前のRFUを1として、被験液添加前のRFUに対する阻害剤添加後のRFUの変化量 (以下、「被験液添加後の Δ RFU」ともいう) を求めた。なお、HC03001の希釈にはDMSOを用いたが、細胞毒性を考慮しDMSO濃度がウェル内で0.1%となるようにした。

[0106] (第2の試験結果)

図11に、阻害剤添加後の Δ RFUの平均値 $\pm$ 標準偏差を示す (図11におけるHC03001共添加あり)。また、参考として、図11に、阻害剤共添加前の Δ RFUの最大値 $\pm$ 標準偏差を示す (図11におけるHC03001共添加なし)。なお、データの解析には、第1の試験結果と同じように、SoftMax Pro V r.6及びExcelを用いた。

[0107] 図11に示すように、実施例9の被験液が添加されることで惹起されたTRPA1強制発現細胞の細胞応答は、TRPA1阻害剤であるHC03001が添加されることで消失した。

[0108] 以上説明した第1及び第2の試験結果より、実施例9の被験液がTRPA

1 を活性化することを確認した。

[0109] [試験6（呼吸商測定試験－甘酸液ベース）]

本試験では、各被験飲料を各被験者に摂取させ、呼吸商及び脂質酸化量を各々測定した。呼吸商は、実施例1と同様の方法で測定した。ここで、脂質酸化量とは、エネルギー代謝において消費される脂質量であり、呼吸商と同様に、エアロモニター（登録商標）（ミナト医科学社製）によって得られる呼気ガスの分析結果に基づき求めた。

[0110] なお、本試験は、成人男性34名（BMIが 18.5 kg/m^2 以上 25 kg/m^2 未満）を被験者として、単回摂取クロスオーバー比較試験として行った。本試験の具体的な試験方法及びその結果を以下に示す。

[0111] （試験方法）

本試験では、試験3で使用した比較例3及び実施例5の被験飲料を用いるとともに、実施例10の被験飲料として、比較例3の被験飲料（甘酸液）に対してカプロン酸エチルを 0.1 ppm の濃度で含有させた被験液を用いた。試験は1週間以上の間隔をあけて3回実施し、被験飲料をランダムに摂取させた。なお、実施例5及び10の被験飲料はそれぞれ、摂取量としてカプロン酸エチル 0.17 mg 、 0.017 mg に相当する。また、実施例5及び実施例10の被験飲料では、カプロン酸エチルの溶媒としてエタノールを用いたため、全ての被験飲料のエタノール濃度を 0.0999% に統一した。

[0112] 本試験の実施にあたり、被験者には、試験3日前から同一の食事を提供し、前日の夜から禁酒させた。また、試験当日は水以外の摂取を禁止とした。なお、試験時の衣服は各被験者で統一した。

[0113] 被験者は、前日21時より12時間絶食し、評価1と同様に、図1に示す条件に従って呼吸商の測定を行った。また、呼吸商の測定と平行して、脂質酸化量の測定を行った。呼吸商及び脂質酸化量の測定は、60分間継続して行った。その後、同様の測定を、1週間以上の間隔をあけてさらに2回実施した。なお、摂取する飲料は、被験者毎にランダムに設定し、各飲料を1回

ずつ摂取させた。

[0114] 解析対象データとして、呼吸商及び脂質酸化量の測定を開始してから20分間の座位安静のうち、11分から20分までの10分間の呼吸商及び脂質酸化量をそれぞれ安静時の呼吸商、安静時の脂質酸化量として採用し、その平均値を算出した。

[0115] (試験結果)

呼吸商の結果を図12に、脂質酸化量の結果を図13に示す。なお、本試験において、群間の統計学的有意差の検定は、各群の平均値を、ダネット検定(Dunnett's test)により行った。有意水準 $p < 0.05$ を有意差ありとした。本試験において、データ解析はExcel(Microsoft社製)を用いて実施した。

[0116] 図12に示すように、安静時の呼吸商は実施例10の被験飲料を摂取した群が、比較例3の被験飲料を摂取した群に比べて有意に低いことが確認された。また、実施例5の被験飲料を摂取した群が、比較例3の被験飲料を摂取した群に比べて有意に低いことが確認された。

[0117] 図13に示すように、安静時の脂質酸化量は実施例10の被験飲料を摂取した群が、比較例3の被験飲料を摂取した群に比べて有意に高いことが確認された。また、実施例5の被験飲料を摂取した群が、比較例3の被験飲料を摂取した群に比べて有意に高いことが確認された。

[0118] 呼吸商の低下は、上述した通り、消費される脂肪の量が増加することを意味し、また、脂質酸化量の増加は、エネルギー代謝において消費される脂質量が増加することを意味する。したがって、本試験の結果により、実施例5及び実施例10の被験飲料は、脂肪分解と脂肪燃焼の両方を促進し、脂肪の代謝を促進することが確認された。

[0119] [試験7(呼吸商測定試験-炭酸水ベース)]

本試験では、各被験飲料を各被験者に摂取させ、及び呼吸商及び脂質酸化量を各々測定した。呼吸商及び脂質酸化量の測定には、試験6と同様に、エアモニター(登録商標)を用いた。なお、本試験は、成人男性4名を被験

者として行った。本試験の具体的な試験方法及びその結果を以下に示す。

[0120] (試験方法)

本試験では、試験1日目と2日目で異なる被験飲料を各被験者に各々摂取させた。試験1日目の被験飲料として、炭酸水(比較例7) 200mlを用いた。試験2日目の被験飲料として、カプロン酸エチルを1ppmの濃度で炭酸水に含有させた被験液(実施例11) 200mlを用いた。実施例11の被験飲料は、摂取量としてカプロン酸エチル0.17mgに相当する。なお、炭酸水には「ウィルキンソンタンサン」(アサヒ飲料社製)を用いた。また、実施例11の被験飲料では、カプロン酸エチルの溶媒としてエタノールを用いたため、全ての被験飲料のエタノール濃度を0.0999%に統一した。

[0121] 本試験の実施にあたり、被験者には、試験前日の夜から禁酒させた。被験者は、前日21時より12時間絶食し、評価1と同様に、図1に示す条件に従って呼吸商の測定を行った。また、呼吸商の測定と平行して、脂質酸化量の測定を行った。呼吸商及び脂質酸化量の測定は、温度 $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $45 \pm 5\%$ に設定された恒温恒湿実験室内で行い、試験1日目と2日目ともに同時刻に同じ条件で行った。

[0122] 解析対象データとして、呼吸商及び脂質酸化量の測定を開始してから20分間の座位安静のうち、11分から20分までの10分間をそれぞれ安静時の呼吸商、安静時の脂質酸化量として採用し、30分間の運動のうち11分から30分までの20分間をそれぞれ運動時の呼吸商、運動時の脂質酸化量として採用し、それらの平均値をそれぞれ求めた。

[0123] (試験結果)

呼吸商の結果を図14に、脂質酸化量の結果を図15に示す。なお、本試験において、統計学的有意差の検定は、各群の平均値を、対応のあるt検定(paired t-test)により検定した。有意水準 $p < 0.05$ を有意差ありとし、 $p < 0.1$ を有意傾向とした。また、データ解析はExcel(Microsoft社製)を用いて実施した。

[0124] 図14に示すように、安静時の呼吸商は実施例11の被験飲料を摂取した群が、比較例7の被験飲料を摂取した群に比べて低い傾向が確認された。また、運動時の呼吸商は実施例11の被験飲料を摂取した群が、比較例7の被験飲料を摂取した群に比べて有意に低いことが確認された。

[0125] また、図15に示すように、安静時の脂質酸化量は実施例11の被験飲料を摂取した群が、比較例7の被験飲料を摂取した群に比べて有意に高いことが確認された。また、運動時の脂質酸化量は実施例11の被験飲料を摂取した群が、比較例7の被験飲料を摂取した群に比べて有意に高いことが確認された。

[0126] 上述したとおり、呼吸商の低下は、消費される脂肪の量が増加することを意味し、また、脂質酸化量の増加は、エネルギー代謝において消費される脂質量が増加することを意味する。したがって、本試験の結果により、実施例11の被験飲料は、脂肪分解と脂肪燃焼の両方を促進し、脂肪の代謝を促進することが確認された。

[0127] [試験8（体温測定試験－酢酸イソアミル）]

本試験では、各被験飲料を各被験者に摂取させ、摂取後の肩甲骨間の皮膚温及び鼓膜温（以下、試験8においてこれらを「体温」ともいう）を各々測定した。なお、本試験は、成人男女6名（男性2名、女性4名）を被験者として、単回摂取クロスオーバー比較試験として行った。なお、本試験において、肩甲骨間の皮膚温は、myBeat（登録商標）WHS-2（ユニオンツール社製）で測定し、鼓膜温は、耳式体温計CEサーモ2（ニプロ社製）で測定した。

[0128] （試験方法）

本試験は、試験1日目と2日目で異なる被験飲料を各被験者に各々摂取させた。試験1日目の被験飲料として、水（比較例8）200mlを用いた。試験2日目の被験飲料として、酢酸イソアミルを1ppmの濃度で水に含有させた被験液（実施例12）200mlを用いた。実施例12の被験飲料は、摂取量として酢酸イソアミル0.18mgに相当する。なお、実施例12

の被験飲料では、酢酸イソアミルの溶媒としてエタノールを用いたため、全ての被験飲料のエタノール濃度を0.0999%に統一した。また、被験飲料の原料とした酢酸イソアミルには「Isoamyl acetate $\geq$ 97%, FCC, 食品グレード」（Sigma-Aldrich社製）を用いた。酢酸イソアミルのlog P_{ow}は、2.0（後述する試験9と同様の方法で算出）であった。

[0129] 本試験の実施にあたり、被験者には、試験前日の夜から禁酒させた。また、試験当日は、コーヒーや香辛料の強い食事の摂取を禁止とし、昼食は12時30分までに済ませ、12時30分以降は水以外の飲食を禁止とした。なお、試験時の衣服は、指定した半袖、長ズボンの衣服を着用させて統一した。

[0130] 体温の測定は、試験2と同様に、図3に示す条件で行い、試験1日目と2日目ともに同時刻に同じ条件で行った。

[0131] 被験飲料飲用直後にあたる15時30分の測定値を初期値（0分データ）とし、被験飲料飲用直後から測定終了時の16時30分までの10分毎の測定値（10、20、30、40、50、60分の測定値）に基づいて、各時刻における各群の平均値 $\pm$ 標準誤差を計算した。

[0132] （試験結果）

結果を図16及び図17に示す。図16は、肩甲骨間の皮膚温に関する結果であり、図17は、鼓膜温に関する結果である。なお、本試験において、統計学的有意差の検定は、各群同時刻の差を、対応のあるt検定（paired t-test）により検定した。有意水準 $p < 0.05$ を有意差ありとし、 $p < 0.10$ を有意傾向とした。本試験において、データ解析はExcel（Microsoft社製）を用いて実施した。

[0133] 図16に示すように、肩甲骨間の皮膚温は、特に飲用後30分以降から、実施例12の被験飲料を摂取した群で上昇傾向が認められたのに対し、比較例8の被験飲料を摂取した群では同様の上昇傾向は認められなかった。

[0134] また、図17に示すように、鼓膜温は、比較例8の被験飲料を摂取した群で飲用直後の0分以降、継続して低下傾向が認められたのに対し、実施例1

2の被験飲料を摂取した群では飲用後40分以降から上昇に転じる傾向が認められた。

[0135] 群間比較における統計学的検定では、図16に示す肩甲骨間の皮膚温において、飲用直後である0分時点では、実施例12の被験飲料を摂取した群と比較例8の被験飲料を摂取した群との間に有意な差は認められなかった。一方で、図16に示す肩甲骨間の皮膚温において、飲用後60分時点では、実施例12の被験飲料を摂取した群が、比較例8の被験飲料を摂取した群に比べて高い傾向があった。

[0136] また、図17に示す鼓膜温についての群内比較では、比較例8の被験飲料を摂取した群内において、60分時点の鼓膜温が0分時点に比べて低い傾向が認められたのに対し、実施例12の被験飲料を摂取した群内においては、同様の傾向は認められなかった。

[0137] 上述した通り、肩甲骨間の皮膚温が上昇したり、鼓膜温の低下が抑制されたりすることは、体熱の産生が促進されていることを意味する。特に、鼓膜温は、深部体温が反映された体温であることから、鼓膜温の低下が抑制されることは、体の内部においても体熱の産生が促進されていることを意味する。また、肩甲骨間は褐色脂肪組織の近傍にあたることから、肩甲骨間の皮膚温が上昇することは、褐色脂肪組織において脂肪酸が消費され、体熱の産生が促進されていることを意味する。したがって、本試験の結果より、実施例12の被験飲料は、脂肪の燃焼を促進し、さらに、体熱の産生を促進したことを確認した。

[0138] [試験9 (TRPA1 活性試験)]

本試験では、試験5の第1の試験方法で用いた被検液にかえて、後述する実施例13～28及び比較例9～14の被検液を用いた。これ以外は、試験5の第1の試験方法と同様の方法で、TRPA1 強制発現細胞及び非形質転換細胞のそれぞれについて、被験液添加前後におけるRFUの変化量(Δ RFU)を求めた。

[0139] 本試験で用いた実施例13～28及び比較例10～14の被検液は、下記

表7に示す各化合物をHEPESバッファーに含有させることにより取得した。表7に示す各化合物のオクタノール／水分配係数(logPow)はXlogP3アルゴリズムを使用したソフトウェアXlogP(Shanghai Institute of Organic Chemistry, Chinese Academy of Sciences, <http://WWW.sio-ccbg.ac.cn/software/xlogp3/>)を用いて算出した。これらの被検液は、50 μ lずつウェルに添加され、ウェル内の各化合物の濃度は、表7に示す濃度とした。また、比較例9の被験液には、ネガティブコントロール(N.C.)として、HEPESバッファーを用い、ウェルに50 μ l添加された。

[0140] ΔRFU の最大値について、平均値 $\pm$ 標準偏差を表7及び図18に示す。本試験において、データの解析には、SoftMaxProVr.6(Molecular devices社製)及びExcel(Microsoft社製)を用いた。

[0141] 表7及び図18に示すように、比較例9～14の被験液については、TRPA1強制発現細胞の ΔRFU の最大値が非形質転換細胞の ΔRFU の最大値よりも大きくなり、TRPA1強制発現細胞の応答が確認できなかった。一方、実施例13～28の被験液については、TRPA1強制発現細胞の ΔRFU の最大値が非形質転換細胞の ΔRFU の最大値に比べて大きくなっており(具体的には、2.9倍以上大きくなっており)、TRPA1強制発現細胞についての細胞応答が確認出来た。この結果より、実施例13～28の被験液がTRPA1を活性化することを確認した。

[0142]

[表7]

	化合物名	R1 炭素数	R2 炭素数	logPow	添加濃度 (ppm)	非形質転換細胞 Δ RFU	TRPA1強制発現細胞 Δ RFU	非形質転換細胞 Δ RFU / TRPA1強制発現細胞 Δ RFU
実施例 1 3	酢酸イソアミル	1	5	2.0	16.6	0.2 ± 0.0	0.7 ± 0.0	3.4
実施例 1 4	酢酸ベンチル	1	5	1.9	14.8	0.1 ± 0.0	0.8 ± 0.1	12.1
実施例 1 5	酢酸2-メチルブチル	1	5	2.1	14.8	0.2 ± 0.0	0.6 ± 0.0	2.9
実施例 1 6	酢酸ヘプチル	1	7	2.9	18.2	0.0 ± 0.0	3.5 ± 0.7	127.8
実施例 1 7	プロピオン酸イソアミル	2	5	2.5	18.2	0.1 ± 0.0	1.5 ± 0.5	12.4
実施例 1 8	酪酸イソアミル	3	5	2.6	21.7	0.1 ± 0.0	2.0 ± 0.4	19.3
実施例 1 9	吉草酸エチル	4	2	1.9	14.8	0.1 ± 0.0	0.6 ± 0.1	5.6
実施例 2 0	4-メチル吉草酸エチル	5	2	2.1	15.0	0.1 ± 0.0	2.0 ± 0.1	27.6
実施例 2 1	カプロン酸メチル	5	1	2.5	14.6	0.2 ± 0.0	1.2 ± 0.2	5.4
実施例 2 2	カプロン酸エチル	5	2	2.4	16.6	0.2 ± 0.0	2.2 ± 0.8	12.7
実施例 2 3	カプロン酸プロピル	5	3	2.9	18.2	0.2 ± 0.0	2.7 ± 1.1	12.9
実施例 2 4	カプロン酸ブチル	5	4	3.3	19.8	0.1 ± 0.0	4.1 ± 0.3	29.1
実施例 2 5	カプロン酸イソアミル	5	5	3.7	24.9	0.2 ± 0.0	3.0 ± 0.2	16.2
実施例 2 6	カプロン酸ベンチル	5	5	3.8	21.4	0.3 ± 0.1	3.5 ± 1.1	12.8
実施例 2 7	カプリル酸メチル	7	1	3.6	18.0	0.1 ± 0.0	0.7 ± 0.1	8.3
実施例 2 8	カプリル酸エチル	7	2	3.5	19.8	0.1 ± 0.0	2.3 ± 0.4	19.0
比較例 9	N C.					0.3 ± 0.0	0.3 ± 0.0	0.8
比較例 1 0	酢酸エチル	1	2	0.7	10.2	0.3 ± 0.0	0.2 ± 0.1	0.7
比較例 1 1	酢酸プロピル	1	3	1.2	11.5	0.3 ± 0.0	0.2 ± 0.0	0.8
比較例 1 2	プロピオン酸エチル	2	2	1.2	11.5	0.3 ± 0.1	0.3 ± 0.0	0.9
比較例 1 3	カプリン酸イソアミル	9	5	5.9	28.2	0.3 ± 0.0	0.2 ± 0.1	0.6
比較例 1 4	ラウリン酸エチル	11	2	5.6	26.6	0.2 ± 0.0	0.2 ± 0.0	0.8

[0143] 上述した試験 1～9 の結果から、オクタノール／水分配係数（ $\log P_{ow}$ ）が 1.9 以上 3.8 以下の範囲にある化合物（1）により、脂肪分解や脂肪燃焼などの脂肪代謝が促進されることが確認できた。また、脂肪燃焼が促進される結果、体熱の産生が促進されることも確認できた。脂肪分解や脂肪燃焼などの脂肪代謝が促進される理由は、明確に判明していないが、オクタノール／水分配係数（ $\log P_{ow}$ ）が 1.9 以上 3.8 以下の範囲にある化合物（1）により TRPA1 が活性化され、神経伝達により脂肪代謝が促進されることがその理由の一つであると推察された。