

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6441818号  
(P6441818)

(45) 発行日 平成30年12月19日(2018.12.19)

(24) 登録日 平成30年11月30日(2018.11.30)

(51) Int.Cl.	F 1
A 61 K 33/00	(2006.01) A 61 K 33/00
A 61 P 9/04	(2006.01) A 61 P 9/04
A 61 K 36/21	(2006.01) A 61 K 36/21
A 61 K 45/00	(2006.01) A 61 K 45/00
A 61 K 9/08	(2006.01) A 61 K 9/08

請求項の数 39 (全 31 頁)

(21) 出願番号	特願2015-557120 (P2015-557120)
(86) (22) 出願日	平成26年2月7日(2014.2.7)
(65) 公表番号	特表2016-507570 (P2016-507570A)
(43) 公表日	平成28年3月10日(2016.3.10)
(86) 国際出願番号	PCT/US2014/015300
(87) 国際公開番号	W02014/124256
(87) 国際公開日	平成26年8月14日(2014.8.14)
審査請求日	平成29年2月6日(2017.2.6)
(31) 優先権主張番号	61/761,863
(32) 優先日	平成25年2月7日(2013.2.7)
(33) 優先権主張国	米国(US)

(73) 特許権者	500429103 ザ ト拉斯ティーズ オブ ザ ユニバ シティ オブ ペンシルバニア アメリカ合衆国 ペンシルバニア 191 04-6283, フィラデルフィア, チェスナット ストリート 3160, スイート 200
(74) 代理人	100099759 弁理士 青木 篤
(74) 代理人	100077517 弁理士 石田 敏
(74) 代理人	100087871 弁理士 福本 積
(74) 代理人	100087413 弁理士 古賀 哲次

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】心不全の治療法

## (57) 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

無機硝酸塩及び無機亜硝酸塩からなる群から選択される少なくとも1つの治療有効量を含む、心不全を治療又は予防する必要とする対象における心不全を治療又は予防するための医薬組成物であって、該対象に投与され、該心不全が、駆出率が維持されている心不全(H F p E F)である、組成物。

## 【請求項 2】

少なくとも1種の硝酸塩含有野菜の少なくとも一部を含む液体である、請求項1に記載の医薬組成物。

## 【請求項 3】

該硝酸塩含有野菜がビートルートである、請求項2に記載の医薬組成物。

## 【請求項 4】

該治療有効量が、約0.001mg/kg～約5mg/kgである、請求項1に記載の医薬組成物。

## 【請求項 5】

H F p E Fを治療又は予防するのに有用な少なくとも1種の他の薬剤と組み合わせて投与される、請求項1に記載の医薬組成物。

## 【請求項 6】

該少なくとも1種の他の薬剤が、利尿薬、アンギオテンシン酵素(A C E)阻害薬、アンジオテンシンⅠ受容体遮断薬(A R B)、ベータ遮断薬、カルシウムチャネル遮断薬

、スタチン、有機硝酸塩、及び有機亜硝酸塩からなる群から選択される、請求項 5 に記載の医薬組成物。

【請求項 7】

該対象がヒトである、請求項 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 8】

無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩からなる群から選択される少なくとも 1 つの治療有効量を含む、心不全を有する対象における運動耐容能を改善するための医薬組成物であって、該対象に投与され、該心不全が、駆出率が維持されている心不全 ( H F p E F ) である、組成物。

【請求項 9】

少なくとも 1 種の硝酸塩含有野菜の少なくとも一部を含む液体である、請求項 8 に記載の医薬組成物。

【請求項 10】

該硝酸塩含有野菜がビートルートである、請求項 9 に記載の医薬組成物。

【請求項 11】

該対象がヒトである、請求項 8 に記載の医薬組成物。

【請求項 12】

無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩からなる群から選択される少なくとも 1 つの治療有効量を含む、心不全を有する対象における大きな動脈スティフネスを低下させるための医薬組成物であって、該対象に投与され、該心不全が、駆出率が維持されている心不全 ( H F p E F ) である、組成物。

【請求項 13】

該組成物が、少なくとも 1 種の硝酸塩含有野菜の少なくとも一部を含む液体である、請求項 12 に記載の医薬組成物。

【請求項 14】

少なくとも 1 つの硝酸塩含有野菜の該少なくとも一部がビートルートである、請求項 13 に記載の医薬組成物。

【請求項 15】

該対象がヒトである、請求項 12 に記載の医薬組成物。

【請求項 16】

無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩からなる群から選択される少なくとも 1 つの治療有効量を含む、心不全を有する対象における動脈波反射を低下させるための医薬組成物であって、該対象に投与され、該心不全が、駆出率が維持されている心不全 ( H F p E F ) である、組成物。

【請求項 17】

少なくとも 1 種の硝酸塩含有野菜の少なくとも一部を含む液体である、請求項 16 に記載の医薬組成物。

【請求項 18】

該硝酸塩含有野菜がビートルートである、請求項 17 に記載の医薬組成物。

【請求項 19】

該対象がヒトである、請求項 16 に記載の医薬組成物。

【請求項 20】

無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩からなる群から選択される少なくとも 1 つの治療有効量を含む、心不全を有する対象における血漿中の硝酸塩濃度を上昇させるための医薬組成物であって、該対象に投与され、該心不全が、駆出率が維持されている心不全 ( H F p E F ) である、組成物。

【請求項 21】

少なくとも 1 種の硝酸塩含有野菜の少なくとも一部を含む液体である、請求項 20 に記載の医薬組成物。

【請求項 22】

10

20

30

40

50

該硝酸塩含有野菜がビートルートである、請求項2\_1に記載の医薬組成物。

【請求項 2\_3】

該対象がヒトである、請求項2\_0に記載の医薬組成物。

【請求項 2\_4】

無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩からなる群から選択される少なくとも1つの治療有効量を含む、心不全を有する対象における血漿中の亜硝酸塩濃度を上昇させるための医薬組成物であって、該対象に投与され、該心不全が、駆出率が維持されている心不全(HFpEF)である、組成物。

【請求項 2\_5】

少なくとも1種の硝酸塩含有野菜の少なくとも一部を含む液体である、請求項2\_4に記載の医薬組成物。 10

【請求項 2\_6】

該硝酸塩含有野菜がビートルートである、請求項2\_5に記載の医薬組成物。

【請求項 2\_7】

該対象がヒトである、請求項2\_4に記載の医薬組成物。

【請求項 2\_8】

無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩からなる群から選択される少なくとも1つの治療有効量を含む、心不全を有する対象における運動に対する血管拡張応答を改善するための医薬組成物であって、該対象に投与され、該心不全が、駆出率が維持されている心不全(HFpEF)である、組成物。 20

【請求項 2\_9】

少なくとも1種の硝酸塩含有野菜の少なくとも一部を含む液体である、請求項2\_8に記載の医薬組成物。

【請求項 3\_0】

該硝酸塩含有野菜がビートルートである、請求項2\_9に記載の医薬組成物。

【請求項 3\_1】

該対象がヒトである、請求項2\_8に記載の医薬組成物。

【請求項 3\_2】

無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩からなる群から選択される少なくとも1つの治療有効量を含む、心不全を有する対象における運動中の筋肉血流を上昇させるための医薬組成物であって、該対象に投与され、該心不全が、駆出率が維持されている心不全(HFpEF)である、組成物。 30

【請求項 3\_3】

少なくとも1種の硝酸塩含有野菜の少なくとも一部を含む液体である、請求項3\_2に記載の医薬組成物。

【請求項 3\_4】

該硝酸塩含有野菜がビートルートである、請求項3\_3に記載の医薬組成物。

【請求項 3\_5】

該対象がヒトである、請求項3\_2に記載の医薬組成物。

【請求項 3\_6】

無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩からなる群から選択される少なくとも1つの治療有効量を含む、心不全を有する対象における筋肉酸化能を上昇させるための医薬組成物であって、該対象に投与され、該心不全が、駆出率が維持されている心不全(HFpEF)である、組成物。 40

【請求項 3\_7】

少なくとも1種の硝酸塩含有野菜の少なくとも一部を含む液体である、請求項3\_6に記載の医薬組成物。

【請求項 3\_8】

該硝酸塩含有野菜がビートルートである、請求項3\_7に記載の医薬組成物。

【請求項 3\_9】

該対象がヒトである、請求項3\_6に記載の医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【背景技術】

【0001】

関連出願の相互参照

本発明は、2013年2月7日に出願された米国仮特許出願第61/761,863号（これは、参照のためその全体が本明細書に組み込まれる）の優先権を主張する。

【0002】

発明の背景

駆出率が維持されている心不全（HF）（HFpEF）は、重大な流行病である。HFは、欧米人の約2%及び75才超の成人の10%が罹患する（Lam et al., 2011, Eur. J. Heart Failure 13:18-28）。HFは、65才超の成人の入院の最も一般的な原因である（Lam et al., 2011, Eur. J. Heart Failure 13:18-28; Vasan et al., 1995, J. Am. College Cardiol. 26:1565-1547; Redfield et al., 2003, Jama 289:194-202; Kitzman et al., 2001, Am. J. Cardiol. 87:413-419; Devereux et al., 2000, Am. J. Cardiol. 86:1090-1096; Ceia et al., 2002, Eur. J. Heart Failure 4:531-539; Mosterd et al., 1999, Eur. Heart J. 20:447-455; Morgan et al., 1999, BMJ 318:368-372; Cortina et al., 2001, Am. J. Cardiol. 87:1417-1419; Kupari et al., 1997, J. Intern. Med. 241:387-394）及び急性HFで入院する患者の46～51%は、HFpEFを有する（Lam et al., 2011, Eur. J. Heart Failure 13:18-28; Fonarow et al., 2007, J. Am. College Cardiol. 50:768-777; Yancy et al., 2006, J. Am. College Cardiol. 47:76-84; Lenzen et al., 2004, Eur. Heart J. 25:1214-1220）。一般集団におけるHFpEFの罹患率は1.1～5.5%と高い（Lam et al., 2011, Eur. J. Heart Failure 13:18-28; Owan et al., 2005, Prog. Cardiovasc. Dis. 47:320-332）。

【0003】

HFpEFの罹患率は上昇し続けるであろう。米国での新しいHF症例数は、2000年の348,000例から2007年の67万例まで上昇しており（Lam et al., 2011, Eur. J. Heart Failure 13:18-28; Lloyd-Jones et al., 2010, Circulation 121:586-613）（93%の増加）、これは、以前の予測を大幅に超えており、これから数十年でさらに劇的な上昇が予測されることを示唆している（Lam et al., 2011, Eur. J. Heart Failure 13:18-28; Lloyd-Jones et al., 2010, Circulation 121:586-613）。HFの症例数の半分がHFpEFから構成されていると仮定すると、HFpEF負担の同等の上昇が予測できる。人口の高齢化によりHFpEFの相対的罹患率（HF症例の総負担の割合として）が上昇しているため、これらでさえ控えめな予測かも知れない（Lam et al., 2011, Eur. J. Heart Failure 13:18-28; Owan et al., 2005, Prog. Cardiovasc. Dis. 47:320-332）。Olmsted County, MN, の研究は、1987年にはHFpEFはすべてのHF症例の38%を構成し、これが2001年には54%まで上昇したことを示した（Lam et al., 2011, Eur. J. Heart Failure 13:18-28; Owan et al., 2005, Prog. Cardiovasc. Dis. 47:320-332）。同じ時間枠内で、生存率は、駆出率が低下したHF患者で改善するが、HFpEFを有する患者では改善しなかった。従って、すでに流行病であるが、HFpEFの罹患率のさらに劇的な上昇が予測される（Lam et al., 2011, Eur. J. Heart Failure 13:18-28）。

【0004】

HFpEFは死亡率の高い悪性疾患である。研究により、大規模ランダム化試験での約3.5～6%（Cleland et al., 2006, Eur. Heart J. 27:2338-2345; Massie et al., 2008, N. Eng. J. Med. 359:2456-2467; Yusuf et al., 2003, Lancet 262:777-781）から、Framingham Heart Study の約15%（Lee et al., 2009, Circulation 119:3070-3077）までの範囲で、HFpEF患者の高い年間死亡率が一貫して示されている。約4年間追跡した7,688例のHFpEF患者のメタ分析は、年間の死亡率約8%を報告した（Lam et al., 2011, Eur. J. Heart Failure 13:18-28）。

al., 2011, Eur. J. Heart Failure 13:18-28)。代償不全中、90日死亡率と再入院率は、それぞれ5~9.5% (Fonarow et al., 2007, J. Am. College Cardiol. 50:768-777; Perez de Isla et al., 2008, J. Cardiovasc. Med 9:1011-1015; Tsuchihashi-Makaya et al., 2009, Circ. J. 73:1893-1900; Bhatia et al., 2006, N. Engl. J. Med. 355:260-269)、及び約29% (Fonarow et al., 2007, J. Am. College Cardiol. 50:768-777, Lenzen et al., 2004, Eur. Heart J. 25:1214-1220) である。心血管系の原因は、HFpEFの約50%の死亡を占める (Lam et al., 2011, Eur. J. Heart Failure 13:18-28)。駆出率が低下したHFで実質的な臨床的利点を提供する複数の治療法が利用可能である。これとは対照的に、HFpEF患者の長期転帰を改善する効果的な食事療法又は薬理学的介入は、現在存在しない (Oghlakian et al., 2011, Mayo Clin Proc. 86:531-539)。

10

#### 【0005】

運動不耐性はHFpEFの特徴であり、劣等なクオリティオブライフを決定する (Hoekstra et al., 2011, European J. Heart Fail. 13:1013-1018; Lewis et al., 2007, European J. Heart Fail. 9:83-91; Kitzman et al., 2002, JAMA 288:2144-2150; Phan et al., 2012, Int. J. Cardiol. 158:337-343)。従って、この集団で運動能力を強化することは、差し迫った臨床的関連のある重要な目的である。この目標は、HFpEFにおいて運動不耐性の病態生理を考慮することを必要とする。早期の病態生理学的概念は、運動中の左心室 (LV) 充填圧の上昇が拡張末期容積の増加を伴っておらず、Frank-Starlingメカニズムを動員することができず、ストローク量を増加させることができなかつたというものである (Kitzman et al., 1991, J. Am. College Cardiol. 17:1065-1072)。しかし、その後の様々な研究は、運動時の拡張末期LV容積 (Borlaug et al., 2006, Circulation 114:2138-2147; Ennezat et al., 2008, J. Card. Fail. 14:475-480; Maeder et al., 2010, J. Am. Coll. Cardiol. 56:855-863)、及びHFpEFにおける貯蔵ストローク量 (Borlaug et al., 2006, Circulation 114:2138-2147 Maeder et al., 2010, J. Am. Coll. Cardiol. 56:855-863; Bhella et al., 2011, Eur. J. Heart Fail. 13:1296-1304) の異常を示すことができなかつた。

20

#### 【0006】

その後の研究は、異常な心拍出予備能につながる、変時不全 (chronotropic incompetence) の存在を報告した (Borlaug et al., 2006, Circulation 114:2138-2147; Maeder et al., 2010, J. Am. Coll. Cardiol. 56:855-863; Bhella et al., 2011, Eur. J. Heart Fail. 13:1296-1304)。しかし、運動、変時不全 (Ennezat et al., 2008, J. Card. Fail. 14:475-480)、心拍出予備能 (Bhella et al., 2011, Eur. J. Heart Fail. 13:1296-1304) とも、一貫した知見ではないため、入手できるデータは多少矛盾している、従って、HFpEFは心臓のみから生じるというより、これは現在では、複雑な多臓器疾患と見られており、この状態で周辺の異常を理解し標的とする大きな必要性がある。

30

#### 【0007】

運動血管拡張（「後負荷」）予備能は、HFpEFでは異常である。運動中、圧力の上昇なしで流れの上昇に対応するために、LV後負荷（動脈抵抗とインピーダンスが）は低下しなければならない。いくつかの試験では、正常対照 (Maeder et al., 2010, J. Am. Coll. Cardiol. 56:855-863; Borlaug et al., 2010, J. Am. Coll. Cardiol. 56:845-854, author reply 156-158)、年齢の一一致したHFの無い高血圧対象 (Ennezat et al., 2008, J. Card. Fail. 14:475-480; Borlaug et al., 2010, J. Am. Coll. Cardiol. 56:845-854, author reply 156-158)、又は年齢と併存疾患が一致した対照 (Borlaug et al., 2006, Circulation 114:2138-2147) と比較して、HFpEF患者は、全身の血管抵抗の、鈍化した運動誘発性低下を示し、運動時の血管拡張応答の障害を示していた。骨格筋の流れと酸素供給と抽出は、正常な運動応答の重要な構成要素であり (Poole et al., 2012, Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 302:H1050-1063)、運動筋肉の血管拡張応答に依存し、利用可能な心拍出量に対して有効に「競合」することを可能にする (Poole et al., 2012, Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 302:H1050-1063)。このプロセスは、体液性及び反射介在性血管収縮を克服するために、機能する骨格筋の血管系が必要である (Poole et al., 2012, Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 302:H1050-1063)。

40

50

ole et al., 2012, Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 302:H1050-1063)。NOの生物学的利用能及び放出は、この応答を仲介する重要なメカニズムである (Poole et al., 2012, Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 302:H1050-1063)。重要なことは、筋肉内の障害された血管応答が、O<sub>2</sub>抽出のために劇的な結果を有することができ、筋肉内のO<sub>2</sub>供給量と必要量の間に著しい不均衡を作りだし、さらに、低レベルの活性でさえ、大規模なO<sub>2</sub>欠損、強調された細胞内代謝摂動、及び強化グリコーゲン分解をもたらすことができる (Poole et al., 2012, Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 302:H1050-1063)。

#### 【0008】

関連する筋肉群への血流が運動時に明らかに重要であるが、活動している筋肉への血流 (Q) は、均一ではなく、酸化力の高い筋肉ではより大きく、これは通常、より大きな内皮依存性血管拡張を示す (Muller-Delp, 2006, Microcirculation 13:301-314; Poole et al., 2007, Exp. Physiol. 92:341-346)。これらの制御プロセスの調節不全は過剰な流れを提供し、O<sub>2</sub>交換能力が低下した代謝的にあまり活動的ではない筋肉へのO<sub>2</sub>を供給し、こうして、筋肉と全身のわずかなO<sub>2</sub>の抽出を低下させる (Poole et al., 2007, Exp. Physiol. 92:341-346)。

#### 【0009】

O<sub>2</sub>抽出は、HFPEFの運動不耐性の病態整理における主要な異常であるようである。有酸素能力の最も広く受け入れられている指標であるピークO<sub>2</sub>摂取率 (VO<sub>2</sub>) は、HFPEFでは低下している (Kitzman et al., 1991, J. Am. College Cardiol. 17:1065-1072; Borlaug et al., 2006, Circulation 114:2138-2147; Maeder et al., 2010, J. Am. Coll. Cardiol. 56:855-863; Bhella et al., 2011, Eur. J. Heart Fail. 13:1296-1304; Borlaug et al., 2010, J. Am. Coll. Cardiol. 56:845-854)。心拍出量と動脈 - 静脈O<sub>2</sub>含量差の積として、低下したピークVO<sub>2</sub>は、O<sub>2</sub>の組織送達又は抽出の欠陥 (主に骨格筋において)、運動中の心拍出量の限界、又はその両方を反映することができる。最近、3つの異なる技術を使用した3つの別々の実験室からの研究は、HFPEFの患者は、減少したピーク運動時動脈 - 静脈O<sub>2</sub>勾配を示すことを証明した (Kitzman et al., 1991, J. Am. College Cardiol. 17:1065-1072; Bhella et al., 2011, Eur. J. Heart Fail. 13:1296-1304; Haykowsky et al., 2011, JAC 58:265-274)。これは、運動時のある心拍出量についてHFPEF患者が、より低い周辺O<sub>2</sub>酸素抽出率を有することを示している。さらに、HFPEFを有する高齢患者における運動トレーニングの無作為化対照試験 (Haykowsky et al., 2012, J. Am. Coll. Cardiol. 60:120-128) において、持久力運動に関連したピーク運動能力の改善が、ピーク動脈 - 静脈O<sub>2</sub>勾配の上昇に主に関連しており、そして心拍出量の上昇には関係せず、これは、周辺の血管及び / 又は骨格筋機能が改善されていることを示し、活動性の骨格筋によるO<sub>2</sub>輸送及び / 又はO<sub>2</sub>利用の増強をもたらすことを示している。骨格筋によるO<sub>2</sub>輸送及び / 又はその効率的利用の増強に対する薬理学的介入は、HFPEFではまだ提唱 / 同定又は試験もされていない。

#### 【0010】

動脈樹は、脈動LVの後負荷を直接決定し (Nichols et al., 2005, McDonald's blood flow in arteries. Theoretical, experimental and clinical principles, Oxford University Press; Kass, 2005, Hypertension 46:185-193; Mitchell, 2009, Med. Biol. Eng. Comput. 47:153-163; Chirinos and Segers, 2010, Hypertension 56:563-570; Chirinos and Segers, 2010, Hypertension 56:555-562; Mitchell, 2004, Curr. Hypertens. Rep. 6:436-441; Mitchell, Med. Biol. Eng. Comput. 47:153-163; Nichols and Vlachopoulos, 2011, McDonald's blood flow in arteries. Theoretical, experimental and clinical principles, Hodder Arnold; Westerhof et al., 2009, Med. Biol. Eng. Comput. 47:131-141; Segers et al., 2000, Hypertension 36:760-765; Mitchell, 2004, Curr. Hypertens. Rep. 6:436-441; Chirinos, 2012, J. Cardiovasc. Transl. Res. 5:243-255; Segers et al., Proc. Inst. Mech. Eng. H. 222:417-428)、収縮期LV心筋壁応力 (Chirinos et al., 2012, Hypertension 60:64-70) を増大させて、心室系と動脈系との一致に影響を与えて、心筋のO<sub>2</sub>供給 / 需要と心臓効率を左右している (Kelly et al.,

10

20

30

40

50

1992, Circ. Res. 71 :490-502)。上昇した心臓の作業負荷を促進する動脈樹で、いくつかの異常が確認されている。労作性呼吸困難やフランク H F p E F を有する対象は、動脈スティフネス (artery stiffness) の上昇を示す (Weber et al., 2008, Am. J. Hypertens. 21 :1 194-1202; Hundley et al., 2001, J. Am. College Cardiol. 38:796-802)。さらに、動脈スティフネスの上昇は、ピーク運動 O<sub>2</sub>消費の低下と密接に関連している (R = 0 . 79) (Hundley et al., 2001, J. Am. College Cardiol. 38:796-802)。

#### 【 0 0 1 1 】

L V により生成された脈波は動脈内を前進し、インピーダンス不整合の部位で部分的に反射される (すなわち分岐点、動脈サイズ又は壁の硬度の変化点)。波反射は主に中型導管動脈で発生し、心臓に戻り、個別の反射波に合流する (Chirinos and Segers, 2010, Hypertension 56:563-570; Chirinos and Segers, 2010, Hypertension 56:555-562; Nichols and Vlachopoulos, 2011, McDonald's blood flow in arteries. Theoretical, experimental and clinical principles. Hodder Arnold)。反射波は L V 後負荷に影響を与える、心臓から反射部位へのそして近位大動脈へのもどりの波の通過時間のために、負荷シーケンスを変更し、L V がまだ中期から後半の収縮期に血液を排出している間、波の反射が心臓に戻って到着する (Nichols and Vlachopoulos, 2011, McDonald's blood flow in arteries. Theoretical, experimental and clinical principles. Hodder Arnold; Chirinos and Segers, 2010, Hypertension 56:563-570)。このように、波反射は、L V の中期から収縮後期の作業負荷を上昇させ、L V の負荷シーケンスに大きく影響を与える (早期収縮期負荷に遅れて)。

#### 【 0 0 1 2 】

波反射からの後期収縮期負荷は L V 肥大につながる。収縮期血圧の任意のレベルについて、後期収縮期負荷は L V に有害な影響を及ぼす (Nichols and Vlachopoulos, 2011, McDonald's blood flow in arteries. Theoretical, experimental and clinical principles. Hodder Arnold; Kobayashi et al., 1996, Circulation 94:3362-3368; Gillebert and Lew, 1991, Am. J. Physiol. 261 :H805-813)。ウイスターラットモデルでは、腹部大動脈の収縮 (これは、遠位狭窄部位で反射波からの顕著に遅い収縮後期負荷を引き起した) は、同一のピーク L V 圧力にもかかわらず、大動脈弓の狭窄よりもはるかに大きい L V 肥大及び線維症を生じた (これは、早期収縮期付加を上昇させた)。これらの因果関係の発見は、ヒトのデータ (Hashimoto et al., 2008, J. Hypertens. 26:1017-1024) により強く支持され、降圧療法中の波の反射強度の変化が、血圧低下には依存せずに L V 質量の後退を強く予測することを示す。注目すべきは、標準的な降圧療法は、波の反射に対して、極めて一貫しない影響を有することである。

#### 【 0 0 1 3 】

イヌでは大動脈バルーンの収縮後期の膨張が、早期収縮期の膨張よりもはるかにタウ (L V 弛緩の基準尺度) を障害し、後期収縮付加と拡張機能異常との因果関係を示していることが、証明されている (Gillebert and Lew, 1991, Am. J. Physiol. 261 :H805-813)。これらの因果関係の発見を支持して、波の反射は、ヒトの臨床コホートにおける拡張機能異常と独立に関連している (Weber et al., 2008, Am. J. Hypertens. 21 :1194-1202, Fukuta et al., 2010, Circ. J. 74:1900-1905)。

#### 【 0 0 1 4 】

哺乳動物では、2つの経路によるNO形成は発生しない：(1) NO合成酵素 (NOS) は、L - アルギニンとO<sub>2</sub>からのNOの形成を触媒する (Chirinos, 2012, J. Cardiovasc. Transl. Res. 5:243-255; Chirinos et al., 2012, Hypertension 60:64-70; Ordonez et al., 2011, Anticancer Res. 31 :3607-3613; Lundberg et al., 2008, Nat. Rev. Drug Discov. 7:156-167)；及び(2)循環する硝酸塩 (以前はNO代謝の不活性産物と考えられた) (Ordonez et al., 2011, Anticancer Res. 31:3607-3613) は、硝酸 - 亜硝酸 - NO経路を介してNOに変換することができ、これはほとんどNOSに依存しない (Lundberg et al., 2008, Nat. Rev. Drug Discov. 7:156-167; Cosby et al., 2003, Nat. Med. 9:1498-1505; Machha and Schechter, 2012, Nutr. Rev. 70:367-372; Tang et al., 2010, Circ. Res. 106:111-119)。

011, Curr. Opin. Lipidol. 22:11-15; Weitzberg et al., 2010, Anesthesiology 113:14 60-1475; Lundberg et al., 2011, Cardiovasc. Res. 89:525-532)。摂取された無機硝酸塩は、上部消化管から容易に吸収される、さらに、口腔の共生細菌は硝酸塩を亜硝酸塩に還元し、これは高い経口バイオアベイラビリティー(>95%)を有する(Lundberg et al., 2011, Cardiovasc. Res. 89:525-532; Dibble et al., 2011, Chest 140:310-316; Rubin et al., 2011, Am. J. Kidney Dis. 57:488-497; Durand et al., 2010, Contraception 82:526-533)。血流中に存在する亜硝酸塩は、例えば脱酸素化ミオグロビン(Totzeck et al., 2012, Circulation 126:325-334; Shiva et al., 2007, Circ. Res. 100:654-661; Rassaf et al., 2007, Circ. Res. 100:1749-1754; Hendgen-Cotta et al., 2008, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 105:10256-10261)、脱酸素化ヘモグロビン(Gladwin and Kim-Shapiro, 2008, Blood 112:2636-2647)、キサンチン酸化還元酵素(Webb et al., 2004, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101:13683-13688)、ミトコンドリアの呼吸鎖酵素(Kozlov et al., 1999, FEBS Lett. 454:127-130)、アルデヒドオキシダーゼ(Zweier et al., 2010, Nitric Oxide 22:83-90)、炭酸脱水酵素(Aamand et al., 2009, Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 297:H2068-2074)、ビタミンC(Carlsson et al., 2001, Nitric Oxide 5:580-586)、ポリフェノール(Gago et al., 2007, Free Radic. Biol. Med. 43:1233-1242; Gago et al., 2008, Free Radic. Biol. Med. 45:404-412)、及びさらには内皮NO合成酵素(Gautier et al., 2006, Biochem. Biophys. Res. Commun. 341:816-821; Vanin et al., 2007, Cell Mol. Life Sci. 64:96-103)を含むいくつかの分子により触媒される反応により、直接NOに還元される。硝酸塩は血漿中を循環し、約5時間の半減期を有する。すべての循環硝酸塩の最大25%は唾液腺により活発に摂取され、唾液中で濃縮され(腸-唾液サイクルに入る)(Betalleluz-Pallardel et al., 2012, Food Sci. Technol. Int. 18:271-280)、残りは腎臓により排泄される。

#### 【0015】

野菜は、食餌中の主要な硝酸塩源である(>80%)。緑葉野菜とビーツルートは、特に多量の硝酸塩を含有する(Lundberg et al., 2008, Nat. Rev. Drug Discov. 7:156-167; Lundberg et al., 2011, Cardiovasc. Res. 89:525-532)。硝酸塩リッチな飲料のたった1回の摂取後でも、硝酸塩の食事摂取量の増加は、全身の硝酸塩と亜硝酸塩のレベルを劇的に上昇させ、硝酸塩-亜硝酸塩経路に「火を付ける」ことができる(Lundberg et al., 2011, Cardiovasc. Res. 89:525-532; Dibble et al., 2011, Chest 140:310-316; Rubin et al., 2011, Am. J. Kidney Dis. 57:488-497; Durand et al., 2010, Contraception 82:526-533)。NO<sub>S</sub>由来のNOは、急速に酸化されて亜硝酸塩(NO<sup>2-</sup>)と硝酸塩(NO<sup>3-</sup>)を形成するが(Chirinos, 2012, J. Cardiovasc. Transl. Res. 5:243-255; Ordonez et al., 2008, Nat. Rev. Drug Discov. 7:156-167)、これは、循環する硝酸プールに対する寄与は限定されている。

#### 【0016】

亜硝酸塩からNOへの変換は、低酸素条件下で強化される。運動している筋肉は、低pO<sub>2</sub>が特徴であり(Lundberg et al., 2011, Cardiovasc. Res. 89:525-532)、これは、循環亜硝酸塩からのNOの形成を促進する。O<sub>2</sub>レベルが低い時、キサンチン酸化還元酵素は亜硝酸塩をNOに変換する(Webb et al., 2004, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101:13683-13688)。同様に、デオキシヘモグロビンは、NOへの亜硝酸塩の還元を支持し、従つて、小さな抵抗血管(特に筋肉の血管床の)の調節において重要な役割を果たしていると考えられており、ここでは、循環流からの組織へのO<sub>2</sub>抽出が最も顕著である。ここで、ヘモグロビンのO<sub>2</sub>飽和は、R(オキシ)状態の四量体中のヘムのより大きな還元能力と亜硝酸塩結合に必要な非連結デオキシ-ヘム部位(これはT-状態の四量体でより豊富である)の数との間の最適なバランス点であるP50(半分のヘムが飽和されるO<sub>2</sub>濃度)に近づく。これは、亜硝酸塩からNOへのほぼ最大変換率をもたらし、従つて血管拡張をもたらす。同様に、デオキシミオグロビンによるNOは、骨格筋への血流を増大させ、低酸素条件下で上昇した代謝要求にO<sub>2</sub>供給を一致させる(Totzeck et al., 2012, Circulation 126:325-334)。興味深いことに、古典的なアルギニン経路を介するNO産生は低酸

素により阻害され、一方、亜硝酸塩還元からの内皮NOS仲介NO産生は低酸素の非存在下で増強される (Vanin et al., 2007, Cell Mol. Life Sci. 64:96-103)。このように、内因性亜硝酸塩は、NO放出を介する低酸素血管拡張の生理的なエフェクターであり、これは、L-アルギニン経路には依存せず、NOSにはほぼ依存しない (Cosby et al., 2003, Nat. Med. 9:1498-1505)。

#### 【0017】

亜硝酸塩は、正常な対象におけるミトコンドリアの効率を増強し、運動のO<sub>2</sub>コストを低下させる (Bailey et al., 2009, J. Appl. Physiol. 107:1144-1155)。従って、亜硝酸塩仲介血管拡張は、運動している筋肉へのO<sub>2</sub>送達を増強するのに理想的と思われるが、複数の研究は、健常ボランティアにおいて硝酸塩が、最大以下のサイクリング (Bailey et al., 2009, J. Appl. Physiol. 107:1144-1155; Larsen et al., 2007, Acta Physiol. (Oxf.) 191:59-66; Vanhatalo et al., 2010, Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 299:R1121-1131)、膝伸展運動 (Bailey et al., 2010, J. Appl. Physiol. 109:135-148)、ウォーキングとランニング (Lansley et al., 2011, Cell Metab. 13:149-159) を含む、低強度及び高強度運動のO<sub>2</sub>コストを低下させることを示している。この作用は、嫌気的代謝の上昇によるものではなく (Larsen et al., 2007, Acta Physiol. (Oxf.) 191:59-66)、エネルギー効率の内因性改善を示している。最近、硝酸塩が、ヒトの筋力発生のATPコストを低減し (Bailey et al., 2010, J. Appl. Physiol. 109:135-148)、骨格筋のミトコンドリアの効率を増強することが示された (Larsen et al., 2011, Cell Metab. 13:149-159)。

#### 【0018】

無機亜硝酸塩 / 硝酸塩は、正常な対象の運動能力を向上させる。硝酸ナトリウムや硝酸塩リッチなビートルートジュースによる栄養補給が、高強度定仕事率の運動中の疲労までの時間を約15～25%延長し (Bailey et al., 2009, J. Appl. Physiol. 107:1144-1155; Bailey et al., 2010, J. Appl. Physiol. 109:135-148; Lansley et al., 2011, Cell Metab. 13:149-159)、そしてより最近は、運動能力を高める（自転車エルゴメータで一定の距離を完了するために、健康な対象にとって可能な最短時間） (Lansley et al., 2011, Med. Sci. Sports Exerc. 43:1125-1131) ことが証明された。食事亜硝酸塩はまた、持続的補充後の増分運動中のピーク力の出力を増大させ、持続的利点の可能性を示している (Vanhatalo et al., 2010, Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 299:PVI 121-1131)。健常者におけるこれらの運動性増強作用が十分に記録されているが、この手法は、HFpEFにおける運動耐容能を増強するかどうかは試験されていない。

#### 【0019】

これらの運動性増強の機構的作用に加えて、食事の硝酸塩は、HFpEFにおける慢性「疾患修飾」効果の可能性を有する周辺動脈作用を発揮する。健常ボランティアでの最近のプラセボ対照無作為化試験は、8mmolの無機硝酸塩の摂取が、摂取後3時間目に血漿硝酸塩を上昇させ、これが、大動脈脈波伝播速度（大動脈スティフィネス）の低下に関連することを示した (Bahra et al., 2012, Nitric Oxide 26:197-202)。このヒトでの研究は、高齢のマウスで3週間の亜硝酸ナトリウム補充が、大動脈脈波伝播速度（PWV）（478～384AU）を、若いマウスに近い値（332AU）まで低下させたという別の最近の研究に一致する (Sindler et al., 2011, Aging Cell 10:429-437)。

#### 【発明の概要】

#### 【0020】

#### 発明の概要

従って、HFpEFを治療するための改良された組成物及び方法に対するニーズが依然として存在する。本発明は、当該分野におけるこれらの満たされていないニーズに対応する。

#### 【0021】

本発明は、無機硝酸塩又は亜硝酸塩が、駆出率が維持されているHF(HFpEF)を含む心不全(HF)患者における運動耐容能、症状、クオリティオブライフ、及び/又は

10

20

30

40

50

長期転帰を改善するための有効な治療法であるという発見に関する。すなわち、ある実施態様において本発明は、それを必要とする対象における心不全を治療又は予防する方法であって、対象に、無機硝酸塩及び無機亜硝酸塩からなる群から選択される少なくとも1つを含む組成物の治療有効量を投与することを含む方法である。いくつかの実施態様において心不全は、駆出率が維持されている心不全(HFpEF)である。いくつかの実施態様において組成物は、少なくとも1種の硝酸塩含有野菜の少なくとも一部を含む液体である。ある実施態様において、硝酸塩含有野菜はビートルートである。種々の実施態様において、無機硝酸塩及び無機亜硝酸塩からなる群から選択される少なくとも1つを含む組成物の治療有効量は、約0.001mg/kg～約5mg/kgである。いくつかの実施態様において、無機硝酸塩及び無機亜硝酸塩からなる群から選択される少なくとも1つを含む組成物は、HFpEFを治療又は予防するのに有用な少なくとも1種の他の薬剤と組み合わせて投与される。種々の実施態様において、前記少なくとも1種の他の薬剤は、利尿薬、アンギオテンシン酵素(ACE)阻害薬、アンジオテンシンII受容体遮断薬(ARB)、ベータ遮断薬、カルシウムチャネル遮断薬、スタチン、有機硝酸塩、及び有機亜硝酸塩からなる群から選択される。いくつかの実施態様において、対象はヒトである。

#### 【0022】

別の実施態様において本発明は、心不全を有する対象における運動耐容能を改善する方法であって、対象に、無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩からなる群から選択される少なくとも1つを含む組成物の治療有効量を投与することを含む方法である。いくつかの実施態様において心不全は、駆出率が維持されている心不全(HFpEF)である。いくつかの実施態様において組成物は、少なくとも1種の硝酸塩含有野菜の少なくとも一部を含む液体である。ある実施態様において、硝酸塩含有野菜はビートルートである。種々の実施態様において、無機硝酸塩及び無機亜硝酸塩からなる群から選択される少なくとも1つを含む組成物の治療有効量は、約0.001mg/kg～約5mg/kgである。いくつかの実施態様において、無機硝酸塩及び無機亜硝酸塩からなる群から選択される少なくとも1つを含む組成物は、HFpEFを治療又は予防するのに有用な少なくとも1種の他の薬剤と組み合わせて投与される。種々の実施態様において、前記少なくとも1種の他の薬剤は、利尿薬、アンギオテンシン酵素(ACE)阻害薬、アンジオテンシンII受容体遮断薬(ARB)、ベータ遮断薬、カルシウムチャネル遮断薬、スタチン、有機硝酸塩、及び有機亜硝酸塩からなる群から選択される。いくつかの実施態様において、対象はヒトである。

#### 【0023】

ある実施態様において本発明は、心不全を有する対象における動脈スティフネスを低下させる方法であって、対象に、無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩からなる群から選択される少なくとも1つを含む組成物の治療有効量を投与することを含む方法である。いくつかの実施態様において心不全は、駆出率が維持されている心不全(HFpEF)である。いくつかの実施態様において組成物は、少なくとも1種の硝酸塩含有野菜の少なくとも一部を含む液体である。ある実施態様において、硝酸塩含有野菜はビートルートである。種々の実施態様において、無機硝酸塩及び無機亜硝酸塩からなる群から選択される少なくとも1つを含む組成物の治療有効量は、約0.001mg/kg～約5mg/kgである。いくつかの実施態様において、無機硝酸塩及び無機亜硝酸塩からなる群から選択される少なくとも1つを含む組成物は、HFpEFを治療又は予防するのに有用な少なくとも1種の他の薬剤と組み合わせて投与される。種々の実施態様において、前記少なくとも1種の他の薬剤は、利尿薬、アンギオテンシン酵素(ACE)阻害薬、アンジオテンシンII受容体遮断薬(ARB)、ベータ遮断薬、カルシウムチャネル遮断薬、スタチン、有機硝酸塩、及び有機亜硝酸塩からなる群から選択される。いくつかの実施態様において、対象はヒトである。

#### 【0024】

別の実施態様において本発明は、心不全を有する対象における動脈波反射を低下させる方法であって、対象に、無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩からなる群から選択される少なくとも1つを含む組成物の治療有効量を投与することを含む方法である。いくつかの実施態様

10

20

30

40

50

において心不全は、駆出率が維持されている心不全（H F p E F）である。いくつかの実施態様において組成物は、少なくとも1種の硝酸塩含有野菜の少なくとも一部を含む液体である。ある実施態様において、硝酸塩含有野菜はビートルートである。種々の実施態様において、無機硝酸塩及び無機亜硝酸塩からなる群から選択される少なくとも1つを含む組成物の治療有効量は、約0.001mg/kg～約5mg/kgである。いくつかの実施態様において、無機硝酸塩及び無機亜硝酸塩からなる群から選択される少なくとも1つを含む組成物は、H F p E Fを治療又は予防するのに有用な少なくとも1種の他の薬剤と組み合わせて投与される。種々の実施態様において、前記少なくとも1種の他の薬剤は、利尿薬、アンギオテンシン酵素（ACE）阻害薬、アンジオテンシンII受容体遮断薬（ARB）、ベータ遮断薬、カルシウムチャネル遮断薬、スタチン、有機硝酸塩、及び有機亜硝酸塩からなる群から選択される。いくつかの実施態様において、対象はヒトである。10

#### 【0025】

別の実施態様において本発明は、心不全を有する対象における血漿中の硝酸塩濃度を上昇させる方法であって、対象に、無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩からなる群から選択される少なくとも1つを含む組成物の治療有効量を投与することを含む方法である。いくつかの実施態様において心不全は、駆出率が維持されている心不全（H F p E F）である。いくつかの実施態様において組成物は、少なくとも1種の硝酸塩含有野菜の少なくとも一部を含む液体である。ある実施態様において、硝酸塩含有野菜はビートルートである。種々の実施態様において、無機硝酸塩及び無機亜硝酸塩からなる群から選択される少なくとも1つを含む組成物の治療有効量は、約0.001mg/kg～約5mg/kgである。いくつかの実施態様において、無機硝酸塩及び無機亜硝酸塩からなる群から選択される少なくとも1つを含む組成物は、H F p E Fを治療又は予防するのに有用な少なくとも1種の他の薬剤と組み合わせて投与される。種々の実施態様において、前記少なくとも1種の他の薬剤は、利尿薬、アンギオテンシン酵素（ACE）阻害薬、アンジオテンシンII受容体遮断薬（ARB）、ベータ遮断薬、カルシウムチャネル遮断薬、スタチン、有機硝酸塩、及び有機亜硝酸塩からなる群から選択される。いくつかの実施態様において、対象はヒトである。20

#### 【0026】

別の実施態様において本発明は、心不全を有する対象における血漿中の亜硝酸塩濃度を上昇させる方法であって、対象に、無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩からなる群から選択される少なくとも1つを含む組成物の治療有効量を投与することを含む方法である。いくつかの実施態様において心不全は、駆出率が維持されている心不全（H F p E F）である。いくつかの実施態様において組成物は、少なくとも1種の硝酸塩含有野菜の少なくとも一部を含む液体である。ある実施態様において、硝酸塩含有野菜はビートルートである。種々の実施態様において、無機硝酸塩及び無機亜硝酸塩からなる群から選択される少なくとも1つを含む組成物の治療有効量は、約0.001mg/kg～約5mg/kgである。いくつかの実施態様において、無機硝酸塩及び無機亜硝酸塩からなる群から選択される少なくとも1つを含む組成物は、H F p E Fを治療又は予防するのに有用な少なくとも1種の他の薬剤と組み合わせて投与される。種々の実施態様において、前記少なくとも1種の他の薬剤は、利尿薬、アンギオテンシン酵素（ACE）阻害薬、アンジオテンシンII受容体遮断薬（ARB）、ベータ遮断薬、カルシウムチャネル遮断薬、スタチン、有機硝酸塩、及び有機亜硝酸塩からなる群から選択される。いくつかの実施態様において、対象はヒトである。30

#### 【0027】

別の実施態様において本発明は、心不全を有する対象における血管拡張応答を改善する方法であって、対象に、無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩からなる群から選択される少なくとも1つを含む組成物の治療有効量を投与することを含む方法である。いくつかの実施態様において心不全は、駆出率が維持されている心不全（H F p E F）である。いくつかの実施態様において組成物は、少なくとも1種の硝酸塩含有野菜の少なくとも一部を含む液体である。ある実施態様において、硝酸塩含有野菜はビートルートである。種々の実施態様において、前記少なくとも1種の他の薬剤は、利尿薬、アンギオテンシン酵素（ACE）阻害薬、アンジオテンシンII受容体遮断薬（ARB）、ベータ遮断薬、カルシウムチャネル遮断薬、スタチン、有機硝酸塩、及び有機亜硝酸塩からなる群から選択される。いくつかの実施態様において、対象はヒトである。40

において、無機硝酸塩及び無機亜硝酸塩からなる群から選択される少なくとも1つを含む組成物の治療有効量は、約0.001mg/kg～約5mg/kgである。いくつかの実施態様において、無機硝酸塩及び無機亜硝酸塩からなる群から選択される少なくとも1つを含む組成物は、HFEFを治療又は予防するのに有用な少なくとも1種の他の薬剤と組み合わせて投与される。種々の実施態様において、前記少なくとも1種の他の薬剤は、利尿薬、アンギオテンシン酵素(ACE)阻害薬、アンジオテンシンII受容体遮断薬(ARB)、ベータ遮断薬、カルシウムチャネル遮断薬、スタチン、有機硝酸塩、及び有機亜硝酸塩からなる群から選択される。いくつかの実施態様において、対象はヒトである。

#### 【0028】

ある実施態様において本発明は、心不全を有する対象における運動中の筋肉血流を上昇させる方法であって、対象に、無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩からなる群から選択される少なくとも1つを含む組成物の治療有効量を投与することを含む方法である。いくつかの実施態様において心不全は、駆出率が維持されている心不全(HFEF)である。いくつかの実施態様において組成物は、少なくとも1種の硝酸塩含有野菜の少なくとも一部を含む液体である。ある実施態様において、硝酸塩含有野菜はビートルートである。種々の実施態様において、無機硝酸塩及び無機亜硝酸塩からなる群から選択される少なくとも1つを含む組成物の治療有効量は、約0.001mg/kg～約5mg/kgである。いくつかの実施態様において、無機硝酸塩及び無機亜硝酸塩からなる群から選択される少なくとも1つを含む組成物は、HFEFを治療又は予防するのに有用な少なくとも1種の他の薬剤と組み合わせて投与される。種々の実施態様において、前記少なくとも1種の他の薬剤は、利尿薬、アンギオテンシン酵素(ACE)阻害薬、アンジオテンシンII受容体遮断薬(ARB)、ベータ遮断薬、カルシウムチャネル遮断薬、スタチン、有機硝酸塩、及び有機亜硝酸塩からなる群から選択される。いくつかの実施態様において、対象はヒトである。

#### 【0029】

別の実施態様において本発明は、心不全を有する対象における筋肉酸化能を上昇させる方法であって、対象に、無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩からなる群から選択される少なくとも1つを含む組成物の治療有効量を投与することを含む方法である。いくつかの実施態様において心不全は、駆出率が維持されている心不全(HFEF)である。いくつかの実施態様において組成物は、少なくとも1種の硝酸塩含有野菜の少なくとも一部を含む液体である。ある実施態様において、硝酸塩含有野菜はビートルートである。種々の実施態様において、無機硝酸塩及び無機亜硝酸塩からなる群から選択される少なくとも1つを含む組成物の治療有効量は、約0.001mg/kg～約5mg/kgである。いくつかの実施態様において、無機硝酸塩及び無機亜硝酸塩からなる群から選択される少なくとも1つを含む組成物は、HFEFを治療又は予防するのに有用な少なくとも1種の他の薬剤と組み合わせて投与される。種々の実施態様において、前記少なくとも1種の他の薬剤は、利尿薬、アンギオテンシン酵素(ACE)阻害薬、アンジオテンシンII受容体遮断薬(ARB)、ベータ遮断薬、カルシウムチャネル遮断薬、スタチン、有機硝酸塩、及び有機亜硝酸塩からなる群から選択される。いくつかの実施態様において、対象はヒトである。

#### 【0030】

ある実施態様において本発明は、それを必要とする対象における心不全の治療又は予防のための、無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩からなる群から選択される少なくとも1つを含む組成物である。いくつかの実施態様において心不全は、駆出率が維持されている心不全(HFEF)である。いくつかの実施態様において組成物は、少なくとも1種の硝酸塩含有野菜の少なくとも一部を含む液体である。ある実施態様において、硝酸塩含有野菜はビートルートである。

#### 【0031】

本発明の好適な実施態様の以下の詳細な説明は、添付の図面と併せて読むことにより、より良く理解されるであろう。本発明を説明する目的のために、現在好適である態様が図面に示される。しかし本発明は、図面に示された実施態様の正確な構成及び方法に限定さ

10

20

30

40

50

れることは、理解すべきである。

**【図面の簡単な説明】**

**【0032】**

【図1】図1は、無機硝酸塩／亜硝酸塩が、H F P E Fにおける運動不耐性に寄与することが提唱されている機構を、如何に標的とすることができますかを表すグラフである。図1は、高血圧（罹患率=45%）の存在又は非存在、又は「高」反射強度（人口の上部45%）の存在又は非存在、に従って層別化された5,958例のMulti-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA) 参加者の、HFの発生率のハザード曲線を示すグラフである。曲線は、この集団におけるHFの他の有意な予測因子について調整されている。

【図2】図2は、本明細書に記載の種々の治療効果を示すフローチャートである。

10

**【発明を実施するための形態】**

**【0033】**

**詳細な説明**

本発明は、食事からの無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩（これらは、例えば経口投与又は静脈内投与ができる）が、駆出率が維持されている心不全（HF p E F）を含む心不全（HF）患者における運動耐容能、症状、クオリティオブライフ、及び／又は長期転帰を改善するための有効な治療法であるという発見に関する。すなわち本発明は、対象に、無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩からなる群から選択される少なくとも1つを含む組成物を投与することにより、対象のHF p E Fを治療又は予防するための組成物と方法とに関する。一般に本発明は、無機硝酸塩を対象に投与することが、HF p E Fを治療する有効な方法であるという発見に関する。いくつかの実施態様において、無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩からなる群から選択される少なくとも1つを含む組成物は、少なくとも1つの硝酸塩含有野菜の少なくとも一部を含む液体である。いくつかの実施態様において、硝酸塩含有野菜はビートルートである。本発明はまた、ビートルート及び／又は亜硝酸ナトリウムが、HF p E Fを有する患者の主要な周辺血機構的標的を修飾し、短期症状の改善及び長期疾患修飾作用の両方を提供するという発見に関する。いくつかの実施態様において本発明は、HF p E Fを有すると診断された対象のこれらの機構的標的を調節するための組成物と方法とを提供する。

20

**【0034】**

**定義**

30

特に明記しない場合は、本明細書で使用されるすべての技術用語と科学用語は、本発明が属する分野の当業者により一般的に理解されるものと同じ意味を有する。本明細書に記載のものと同様又は同等の任意の方法と材料を、本発明の実施又は試験に使用することができるが、好適な方法と材料が記載される。

**【0035】**

本明細書において、以下の各用語は、この節でそれと関連する意味を有する。

**【0036】**

冠詞「a」及び「an」は、物品の文法的対象の1又は複数（すなわち少なくとも1）を指すために本明細書に使用される。一例として、「a n element」は、1つの要素又は複数の要素を意味する。

40

**【0037】**

量、持続時間などの測定可能な値に言及する場合、本明細書で使用される「約」は、指定された値の±30%～±10%、より好ましくは±5%、さらにより好ましくは±1%、及びさらにより好ましくは±0.1%の変動を包含し、そのような変動は、開示された方法を実行するのに適切である。

**【0038】**

生物、組織、細胞、又はこれらの構成要素の文脈で使用される場合、用語「異常」は、「正常な」（予測される）各特性を示す生物、組織、細胞、又はこれらの構成要素からの、少なくとも1つの観察可能な又は検出可能な特性（例えば、年齢、処置、その日の時間など）で異なる生物、組織、細胞又はこれらの構成要素を指す。ある細胞、組織タイプに

50

ついて正常な又は予測される特性は、異なるタイプの細胞又は組織については異常である場合がある。

【 0 0 3 9 】

「疾患」は、動物が恒常性を維持することはできない動物の健康状態であり、ここで疾患が改善されない場合、動物の健康は悪化し続ける。

【 0 0 4 0 】

これとは対照的に、動物における「障害」は、動物が恒常性を維持することはできるが、それは、動物の健康状態が、障害のない状態よりもあまり良好ではない、健康状態である。未処理のままで放置しても、障害は、必ずしも動物の健康状態のさらなる低下を引き起こすわけではない。

10

【 0 0 4 1 】

疾患又は障害の重症度、患者が経験するこのような症状の頻度、又はその両方が低下している場合、その疾患又は障害は「緩和」されている。

【 0 0 4 2 】

化合物の「有効量」又は「治療有効量」は、化合物が投与される対象に有益な作用を提供するのに十分な化合物の量である。

【 0 0 4 3 】

本明細書における「説明材料」は、刊行物、記録、図、又は本明細書に記載の様々な疾患又は障害の緩和を行うための、キット中の本発明の化合物、組成物、ベクター、又は送達システムの有用性を伝えるために使用することができる任意の他の表現媒体を含む。任意選択的に又は交互に、説明材料は、哺乳類の細胞又は組織における疾患又は障害を緩和する1つ以上の方法を記述することができる。本発明のキットの説明資料は、例えば、本発明の同定された化合物、組成物、ベクター、又は送達システムを含む容器に取り付けられるか、又は同定された化合物、組成物、ベクター、又は送達システムを含む容器と一緒に出荷することができる。あるいは説明材料は、説明材料と化合物が受容者により共同して使用されることを意図して、本発明の容器とは別に出荷することができる。

20

【 0 0 4 4 】

用語「患者」、「対象」、「個体」などは、本明細書において交換可能に使用され、インビトロ又はインサイチュであっても、本明細書に記載の方法で使用できる任意の動物又はその細胞を指す。いくつかの非限定例において、患者、対象、又は個体は、ヒトである。

30

【 0 0 4 5 】

「治療的」処置は、疾患又は障害の兆候及び／又は症状を減少又は除去する目的のために、疾患もしくは障害の徵候及び／又は症状を示す対象に施される処置である。

【 0 0 4 6 】

本明細書において「疾患又は障害を治療する」は、その疾患または障害の兆候及び／又は症状が患者が経験される重症度及び／又は頻度を低下させることを意味する。

【 0 0 4 7 】

本明細書において「治療有効量」という用語は、疾患及び障害の兆候及び／又は症状を緩和することを含む、駆出率が維持されている心不全を含む心不全に関連する疾患又は障害を予防又は治療する（発症を遅延又は予防、その進行を防止、阻害、低下又は逆転する）のに十分な又は有効な量と指す。

40

【 0 0 4 8 】

本明細書において用語「うっ血性心不全（C H F）」、「慢性心不全」、「急性心不全」、及び「心不全」は、交換可能に使用され、心臓が充分な速度で血液を送り出すことができない任意の状態、又は左心室充填圧力の存在下でのみ血液を送り出すことができる状態を指す。心臓が通常の充填左心室圧力で他の部分に血液を送り出すことができない場合には、血液は肺に戻ることができ、肺が流体で充満される。心不全の典型的な症状は、息切れ（呼吸困難）、疲労感、脱力感、横になっているときの呼吸困難、足、足首又は腹部（浮腫）の腫れ（浮腫）を含む。心不全の原因は、冠動脈疾患、全身性高血圧、心筋

50

症又は心筋炎、先天性心疾患、異常心臓弁又は心臓弁膜症、重篤な肺疾患、糖尿病、重度貧血、甲状腺機能亢進症、不整脈又は不整脈、及び心筋梗塞を含む種々の障害に関する。心不全は、正常な(>50%)又は低い(<50%)左室駆出率の存在下で起こり得る。これらの二つの条件が、2つの異なる疾患状態を表すという認識が高まっている(Borlaug BA, Redfield MM. Circulation. 2011 May 10; 123(18):2006-13)。HFpEFは通常、肥満、糖尿病、及び高血圧などの危険因子を有する高齢患者で発生し、女性でより一般的である。

#### 【0049】

範囲：本開示を通して、本発明の様々な態様は範囲形式で提示することができる。範囲形式での記載は便宜と簡潔さのために過ぎないことを理解すべきであり、本発明の範囲に対する柔軟性のない限定として解釈すべきではない。従って、範囲の記載は、具体的には持っている範囲内のすべての可能な部分的な範囲だけでなく、個々の数値を開示していると考えるべきである。例えば、1から6までの範囲の記載は、1から3まで、1から4まで、1から5まで、2から4まで、2から6まで、3から6までのように具体的に開示された部分的な範囲、ならびに範囲内の個々の数字、例えば1、2、2.7、3、4、5、5.3、及び6を有すると考えるべきである。これは、範囲の広さにかかわらず適用される。

10

#### 【0050】

##### 説明

本発明は、硝酸塩又は亜硝酸塩の投与が、HFpEFを含むHF患者における運動耐容能、症状、クオリティオブライフ、及び/又は長期転帰を改善するための有効な食事療法であるという発見に関する。すなわち本発明は、無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩からなる群から選択される少なくとも1つを含む組成物を投与することにより、対象のHFを治療又は予防するための組成物と方法とに関する。一般に本発明は、食事を通して無機硝酸塩又は亜硝酸塩を対象に投与することが、HFpEFを治療する有効な方法であるという発見に関する。いくつかの実施態様において、無機硝酸塩又は亜硝酸塩からなる群から選択される少なくとも1つを含む組成物は、少なくとも1つの硝酸塩含有野菜の少なくとも一部を含む液体である。いくつかの実施態様において、硝酸塩含有野菜はビートルートである。

20

#### 【0051】

30

本発明はまた、硝酸塩が、HFpEFを有する患者の主要な周辺機構的標的を修飾し、短期症状の改善及び長期疾患修飾作用の両方を提供するという発見に関する。いくつかの実施態様において本発明は、HFpEFを有すると診断された対象において、これらの周辺機構的標的を調節するための組成物と方法とを提供する。

#### 【0052】

本発明の方法は、少なくとも1つの無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩の投与によるHFの治療と予防に関連する。HFは、心臓が充分な速度で血液を送り出すことができないか、又は上昇した左心室充填圧力の存在下でのみ血液を送り出すことができる、異常に低い心拍出量により特徴付けられる任意の状態である。HFpEFでは、通常安静時の心拍出量は維持されるが、上昇した左心室充填圧力が、安静時あるいは運動中のいすれかで存在する。本発明は、HFとして特徴付けることができる任意の症状の治療と予防に関連する組成物と方法とを提供する。HFは、本発明の組成物と方法で治療可能な広範な種々の症状を含むことができる。いくつかの実施態様において、HFは、障害された左心室駆出率(「収縮期」心不全)を含む。他の実施態様において、HFは、維持された駆出率(HFpEF、以前は「拡張期」心不全と呼ばれた)を含む。HFpEF患者は、比較的正常な、又は正常に近い、左心室駆出率(>50%)を有する。HFpEFは現在は、心臓異常と組み合わされた周辺の異常を含む複雑な多臓器疾患と見られている。本発明は、HFpEFと診断された対象におけるこれらの周辺の異常を調節するための組成物と方法とを提供する。種々の実施態様において、本発明の組成物と方法とで治療可能な周辺の異常としては、特に限定されないが、運動耐容能、血管拡張応答、動脈スティフネス、及び動脈波の偏

40

50

向がある。

#### 【0053】

##### 方法

本発明は、対象に、無機亜硝酸塩又は無機硝酸塩からなる群から選択される少なくとも1つを含む組成物の治療有効量を投与することにより、HFを治療又は予防する方法を提供する。無機硝酸塩の例としては、特に限定されないが、硝酸ナトリウム、硝酸リチウム、硝酸カリウム、硝酸セシウム、硝酸バリウム、及び硝酸アンモニウムがある。無機亜硝酸塩の例は、特に限定されないが、亜硝酸ナトリウム、亜硝酸リチウム、亜硝酸カリウム、亜硝酸セシウム、及び亜硝酸アンモニウムがある。いくつかの実施態様において、HFはHF p E Fである。いくつかの実施態様において、対象はヒトである。本発明は一部は、高濃度の硝酸塩を含む非常に高濃度のビートルートジュースが、HF p E F有する患者における運動耐容能、症状、及び/又はクオリティオブライフを改善するための有効な治療法であるという発見に基づく。高濃度の硝酸塩を含有することが知られている他の野菜としては、特に限定されないが、大根、カブ、セロリ、ホウレンソウ、レタスを含む。食事由来の硝酸塩又は経口投与された亜硝酸塩は、硝酸塩・亜硝酸塩経路を介する、強力な血管拡張剤である一酸化窒素(NO)の重要な内皮非依存性の供給源であり、これは、運動している筋肉内で発生する低酸素の存在下で増強される。食事からの硝酸塩はまた、ミトコンドリアの効率を高め、運動の酸素コストを下げる。亜硝酸塩は、低酸素血症により誘発される選択的動脈血管拡張を誘発し、運動している筋肉に向かい、かつその中の血流の分布を改善する。これは、HF p E Fにおける周辺の筋肉へのO<sub>2</sub>供給を増加させる。亜硝酸塩もまた、静脈還流と前付加を減らすことができ、これは症状の改善に寄与することができる。10

#### 【0054】

HF p E Fの症状の多くは、心臓の異常のみから発生するのではなく、他の周辺の異常から現れる。周辺の異常の非限定的な例としては、運動血管拡張応答、上昇した動脈波反射や動脈スティフネスを含む。過度の左心室の作業負荷につながるこれらの異常は、HF p E F中の無機硝酸塩/亜硝酸塩により、好適に影響を受けることができる。このように本発明は、HF p E F含むHFを有する対象における、これらの周辺の異常を治療又は予防する方法を提供する。20

#### 【0055】

ある実施態様において、本発明は、無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩からなる群から選択される少なくとも1つを含む組成物を投与することにより、HF p E FなどのHFを有する対象における運動耐容能を改善する方法を含む。本明細書において「運動耐容能」は、標準化運動試験(6分間歩行試験や正式な心肺ストレス検査など)中に、その全身の身体状態又は定量的成績にあると予測されるであろうレベルでの運動を行うことを指す。HF p E Fを有する患者は、運動耐容能が低く、極度に低下したクオリティオブライフになることがわかっている。運動中、HF p E Fを有する患者は、障害された血管拡張応答と低下したピーカク酸素摂取(VO<sub>2</sub>)を示す。当業者により理解されるように、運動耐容能を決定するための測定値は、当該分野で公知の任意の方法により得ることができる。例えば、標準的な6分間歩行試験中に歩いた距離は、運動能力の優れた定量的な代理値である(Brooks et al, Am J Respir Crit Care Med. 167:1287)。さらに、全力の仰向き自転車運動試験中のガス分析は、当業者により理解されるように、ピーカク酸素消費(VO<sub>2</sub>)及び運動効率を決定するためのパラメータを提供することができる。本明細書において「運動効率」は、酸素消費量あたりの外部出力を指す。30

#### 【0056】

ある実施態様において本発明の方法は、対象に、無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩からなる群から選択される少なくとも1つを含む組成物を投与することにより、HF p E FなどのHFを有する対象において、運動に対する血管拡張応答を改善することを含む。当業者により理解されるように、運動に対する血管拡張応答を決定するための測定値は、当該分野で公知の任意の方法により得ることができる。例えば、運動に対する血管拡張応答は、当4050

業者により理解されるように、全力の仰向け自転車運動中の全身の血管抵抗の変化として測定することができる。

#### 【0057】

ある実施態様において本発明の方法は、H F p E FなどのH Fを有する対象に、無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩からなる群から選択される少なくとも1つを含む組成物を投与することにより、対象における動脈スティフネスを低下させることを含む。動脈スティフネスは、H F p E F患者で脈動L Vの後負荷を増加させることができることが知られている。当業者により理解されるように、大きな動脈スティフネスを決定するための測定値は、当該分野で公知の任意の方法を介して得ることができる。例えば、大きな動脈スティフネスは、大動脈硬化の指標である頸動脈-大腿脈波伝播速度を使用して測定することができ、これは、当業者により理解されるように、動脈圧力測定又はドップラー超音波を使用して評価される。10

#### 【0058】

ある実施態様において本発明の方法は、H F p E FなどのH Fを有する対象に、無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩からなる群から選択される少なくとも1つを含む組成物を投与することにより、対象における動脈波反射を低下させることを含む。動脈波反射は、左心室リモデリング、拡張機能障害、及びH Fのリスク上昇にリンクされている。当業者により理解されるように、動脈波反射を決定するための測定値は、当該分野で公知の任意の方法を介して得ることができる。例えば、動脈波反射は、動脈波反射の大きさ又は拡張指数によって測定することができ、これは、当業者により理解されるように、動脈圧力測定又はドップラー心エコー検査を使用して、大動脈圧-流量関係の解析により評価される。20

#### 【0059】

ある実施態様において本発明の方法は、H F p E FなどのH Fを有する対象に、無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩からなる群から選択される少なくとも1つを含む組成物を投与することにより、対象における筋血流量を増加させることを含む。当業者により理解されるように、筋肉の血流を決定するための測定値は、当該分野で公知の任意の方法を介して得ることができる。例えば、当業者により理解されるように、特に限定されないが、標準化された足底屈筋運動試験又は仰向け自転車運動試験（下肢筋灌流が動脈M R Iスピニン標識により評価される）、大腿ドップラー超音波、又は近赤外分光法がある。本明細書において「血管抵抗」は、平均動脈圧/血流の比を指す。

#### 【0060】

ある実施態様において本発明の方法は、H F p E FなどのH Fを有する対象に、硝酸塩又は亜硝酸塩を含む組成物を投与することにより、対象における、血管耐性を低下させ骨格筋血流量を増加させることを含む。当業者により理解されるように、骨格筋の血流を決定するための測定値は、当該分野で公知の任意の方法を介して得ることができる。例としては、特に限定されないが、筋肉灌流がドップラー超音波又は近赤外分光法を用いて評価されるカフ閉塞試験がある。本明細書において「血管抵抗」は、平均動脈圧/血流の比を意味する。30

#### 【0061】

ある実施態様において本発明の方法は、H F p E FなどのH Fを有する対象に、無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩からなる群から選択される少なくとも1つを含む組成物を投与することにより、対象における、筋肉酸化能を上昇させることを含む。当業者により理解されるように、運動に対する血管拡張応答を決定するための測定値は、当該分野で公知の任意の方法を介して得ることができる。例としては、当業者により理解されるように、特に限定されないが、標準化された足底屈筋運動負荷試験、リン分光法を用いて測定される筋肉ホスホクレアチニン（P C r）速度、P C r濃度のイメージングを可能にする化学交換飽和移動、又は一時的な動脈閉塞を用いる穏やかな運動直後の筋肉O<sub>2</sub>消費の近赤外分光測定値がある。40

#### 【0062】

ある実施態様において本発明の方法は、H F p E FなどのH Fを有する対象に、無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩からなる群から選択される少なくとも1つを含む組成物を投与する50

ことにより、対象における、前負荷を低下させることを含む。当業者により理解されるように、前負荷を決定するための測定値は、当業者により理解されるように、カテーテルを用いる左心室拡張末期圧、カテーテルを用いる肺毛細血管楔入圧、又はドップラー心エコー検査を用いる充填拡張期僧帽弁の指標の測定とを含むであろう。

#### 【0063】

本発明の方法の種々の実施態様は、無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩の少なくとも1つを含む組成物の治療有効量を投与することを含む。いくつかの実施態様において、無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩の少なくとも1つを含む組成物の治療有効量は、0.1～100mmolの無機硝酸塩、有機硝酸塩、無機亜硝酸塩、又は有機硝酸塩である。別の実施態様において、無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩の少なくとも1つを含む組成物の治療有効量は、1～50mmolの硝酸塩である。他の実施態様において、無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩の少なくとも1つを含む組成物の治療有効量は、5～25mmolの無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩である。さらなる実施態様において、無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩の少なくとも1つを含む組成物の治療有効量は、10～15mmolの無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩である。

#### 【0064】

いくつかの実施態様において、無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩の少なくとも1つを含む組成物は、亜硝酸ナトリウムの治療有効量からなる。いくつかの実施態様において、亜硝酸ナトリウムの治療有効量は0.01mg～1000mgである。他の実施態様において、亜硝酸ナトリウムの治療有効量は、1mg～500mgである。他の実施態様において、亜硝酸ナトリウムの治療的有効量は、10mg～100mgである。ある実施態様において、亜硝酸ナトリウムの治療有効量は80mgである。

#### 【0065】

さらに、本明細書の他の箇所に開示されるように、当業者は、本明細書に提供される教示があれば、少なくとも1つの無機亜硝酸塩又は無機硝酸塩の投与が、疾患、障害、又は病態を治療又は予防する広範な種々の疾患、障害、及び病態を予防する方法を包含することを、理解するであろう。疾患が、無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩の低下したレベルに関連するかどうかを評価するための方法は、当技術分野で知られている。さらに本発明は、将来発見されるそのような疾患の治療又は予防を包含する。

#### 【0066】

本発明は、本発明の方法を実施するための、少なくとも1つの無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩を含む組成物の投与を包含する。当業者は本明細書に提供される開示に基づいて、無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩からなる群から選択される少なくとも1つを含む適切な組成物を製剤化し、対象へ投与するための方法を理解するであろう。実際には、無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩からなる群から選択される少なくとも1つを含む組成物の投与の成功は、本明細書に例示されるように実用化されている。しかし、本発明は、投与又は治療処方のいかなる特定の方法にも限定されるものではない。

#### 【0067】

##### 組成物

本発明は、HFEF含むHFの治療及び予防のための、少なくとも1つの無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩からなる組成物を提供する。無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩からなる群から選択される少なくとも1つを含む任意の組成物は、本発明により企図される。無機硝酸塩の例としては、特に限定されないが、硝酸ナトリウム、硝酸リチウム、硝酸カリウム、硝酸セシウム、硝酸バリウム、及び硝酸アンモニウムがある。有機硝酸塩の例としては、特に限定されないが、硝酸ジアルキルイミダゾリウム、硝酸グアニジンがある。無機亜硝酸塩の例としては、特に限定されないが、亜硝酸ナトリウム、亜硝酸リチウム、亜硝酸カリウム、亜硝酸セシウム、及び亜硝酸アンモニウムがある。有機亜硝酸塩の例としては、亜硝酸エチル、亜硝酸プロピル、亜硝酸ブチル、亜硝酸ペンチル、及び亜硝酸オクチルがある。無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩からなる群から選択される少なくとも1つを含む組成物は、当業者により理解されるように、任意の形態を含んでよい。形態の非限定的な例と

10

20

30

40

50

しては、液体、ペースト、ゲル、バー、ケーキ、粉末、顆粒、発泡錠、チューインガム、錠剤、カプセル、ロゼンジ剤、迅速溶解錠剤又はウエハ、舌下錠又はスプレーがある。このような製品は、食品及び飲料業界で又は製薬業界で実施されている従来法を用いて製造することができる。

【0068】

好みしくは、無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩からなる群から選択される少なくとも1つを含む組成物は、少なくとも1つの硝酸塩含有野菜の少なくとも一部を含む液体である。野菜は、食事中の硝酸塩の重要な供給源であることが知られている。硝酸塩が豊富な野菜の例としては、ほうれん草、ビートルート、フェンネル、レタス、キャベツなどの緑葉野菜がある。ジュース、ペースト、濃縮物、及びそのような野菜の他のそのような組成物は、硝酸塩の適当な供給源と考えられる。本明細書中で意図されるように、任意の硝酸塩含有野菜は、本発明の少なくとも1つの無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩を含む組成物の生成において、別々に又は任意の組み合わせで、任意の濃度で使用することができる。ある実施態様において、硝酸塩含有野菜はビートルートである。少なくとも1つの硝酸塩含有野菜の少なくとも一部を含む液体は、当技術分野で公知の任意の方法によって調製することができる。一例として、液体は、野菜をプレスに入れ、出たジュースを回収することにより調製することができる。別の例として、植物は、野菜をブレンダーに入れ、ブレンドされた植物を回収することにより調製することができる。

【0069】

H F p E Fなどの心臓病の治療及び/又は予防のための少なくとも1つの無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩を含む潜在的に有用な化合物として同定された組成物は製剤化し、ここに記載したH F p E Fとして、心疾患の治療及び/又は予防のために、対象に投与することができる。

【0070】

本発明は、無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩からなる群から選択される少なくとも1つを含む組成物として本明細書に開示された、H F p E Fなどの心疾患の治療に有用な組成物を含む組成物の調製及び使用を包含する。このような組成物は、対象への投与に適した形態で、単独の少なくとも1つの無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩からなることができるか、又は組成物は、少なくとも1つの無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩、1つ以上の医薬的に許容される担体、1つ以上の追加成分、又はこれらの組み合わせを含んでよい。前記少なくとも1つの無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩は、当技術分野でよく知られているように、生理学的に許容されるエステル又は塩の形態で、例えば生理学的に許容されるカチオン又はアニオンとの組み合わせで、組成物中に存在してもよい。

【0071】

本明細書において用語「医薬的に許容される担体」は、その適切な阻害薬と組合せることができ、その組み合わせ後、対象に、その適切な阻害薬を投与するために使用できることを意味する。

【0072】

本発明の実施に有用な組成物は、約0.1ng~100mg/kg/日の硝酸塩及び/又は亜硝酸塩の用量を送達するために投与することができる。

【0073】

種々の実施態様において、本発明の方法において有用な組成物は、例えば経口製剤で、全身的又は非経口的に投与することができる。適切な治療用組成物に加えて、そのような組成物は、医薬的に許容される担体、及び、薬物投与を強化し促進することが知られている他の成分を含有してもよい。

【0074】

本明細書において用語「生理学的に許容される」エステル又は塩は、組成物の他の成分と適合性である、組成物が投与される対象に有害ではない、少なくとも1つの無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩のエステル又は塩形態を意味する。

【0075】

10

20

30

40

50

本明細書に記載の組成物の製剤は、既知の又は今後薬理学の分野で開発される任意の方法によって調製することができる。一般に、そのような調製方法は、少なくとも1つの無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩を、1つ以上の他の補助成分と組合せて、次に、必要又は所望であれば、生成物を所望の単回投与単位又は複数回投与単位に成形又は包装する工程を含む。

#### 【0076】

本明細書で提供される組成物の説明は、主にヒトへの倫理的投与に適した組成物に向けられているが、そのような組成物は一般的にすべての種類の動物への投与に適していることが当業者によって理解されるであろう。様々な動物への投与に適した組成物にするための、ヒトへの投与に適した組成物の修飾はよく理解されており、熟練した獣医薬理学者は、実施するとしても単に通常の実験により、そのような修飾を設計し実施することができる。10

#### 【0077】

本発明の方法に有用な組成物は、経口、非経口、静脈内、及び他の既知の投与経路に適した製剤で、調製、包装、又は販売することができる。

#### 【0078】

本発明の組成物は、単位用量として又は複数の単位用量として、バルクで調製、包装、又は販売することができる。本明細書において「単位用量」は、硝酸塩の所定量を含む組成物の個別の量である。硝酸塩の量は一般に、対象に投与されるであろう少なくとも1つの無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩の用量又はそのような用量の便利な一部に等しく、例えばそのような用量の半分又は3分の1である。20

#### 【0079】

本発明の組成物中の少なくとも1つの無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩、医薬的に許容される担体、及び任意の追加の成分の相対量は、治療される対象の個性、大きさ、及び症状に依存して変化し、さらに、組成物が投与される経路に依存して変化するであろう。一例として、組成物は、0.1% ~ 100% (w/w) の硝酸塩を含んでよい。

#### 【0080】

少なくとも1つの無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩に加えて、本発明の組成物はさらに、1つ又はそれ以上の追加の薬学的に活性な物質を含むことができる。

#### 【0081】

本発明の組成物の制御放出又は持続放出製剤は、従来の技術を用いて作製することができる。30

#### 【0082】

経口投与に適した本発明の組成物の製剤は、それぞれが少なくとも1つの無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩を所定量含有する、特に限定されないが、錠剤、硬質又は軟質カプセル剤、カシェ剤、トローチ剤、ロゼンジ剤を含む個別の固体用量単位の形態で、調製、包装、又は販売することができる。経口投与に適した他の製剤としては、特に限定されないが、粉末又は顆粒製剤、水性もしくは油性懸濁液、水性もしくは油性液剤、又はエマルジョンを含む。

#### 【0083】

少なくとも1つの無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩を含有する錠剤は、例えば、任意選択的に1つ又はそれ以上の追加の成分とともに、少なくとも1つの無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩を圧縮又は成形することにより製造することができる。圧縮錠剤は、適当な装置内で、粉末又は顆粒剤などの自由流動形態にある少なくとも1つの無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩を、任意選択的に1つ又はそれ以上の結合剤、潤滑剤、賦形剤、界面活性剤、及び分散剤と混合して、圧縮することにより調製することができる。成形錠剤は、適切な装置内で、少なくとも1つの無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩、医薬的に許容される担体、及び混合物を湿らせるのに少なくとも十分な液体の混合物を成形することにより製造することができる。錠剤の製造に使用される医薬的に許容される賦形剤としては、特に限定されないが、不活性希釈剤、造粒剤及び崩壊剤、結合剤、及び滑沢剤がある。公知の分散剤としては、特4050

に限定されないが、ジャガイモデンプン及びデンブングリコール酸ナトリウムがある。公知の界面活性剤としては、特に限定されないが、ラウリル硫酸ナトリウムがある。既知の希釈剤としては、特に限定されないが、炭酸カルシウム、炭酸ナトリウム、乳糖、微結晶性セルロース、リン酸カルシウム、リン酸水素カルシウム、及びリン酸ナトリウムがある。既知の造粒剤及び崩壊剤としては、特に限定されないが、コーンスターク及びアルギン酸がある。既知の結合剤としては、特に限定されないが、ゼラチン、アカシア、化トウモロコシデンプン、ポリビニルピロリドン、及びヒドロキシプロピルメチルセルロースがある。既知の滑沢剤には、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸、シリカ、及びタルクがある。

## 【0084】

10

錠剤は非被覆であってもよく、又はこれらは、対象の胃腸管における遅延崩壊を達成するための既知の方法を用いて被覆し、こうして少なくとも1つの無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩の持続放出及び吸収を提供することができる。一例として、モノステアリン酸グリセリル又はジステアリン酸グリセリルなどの材料を使用して、錠剤を被覆してもよい。さらなる例として、錠剤は米国特許第4,256,108号、4,160,452号、及び4,265,874号に記載された方法を用いて被覆して、浸透圧が制御された放出錠剤を生成してもよい。錠剤はさらに、薬学的に上品で口当たりのよい製剤を提供するために、甘味剤、香味剤、着色剤、防腐剤、又はこれらの組み合わせを含むことができる。

## 【0085】

20

少なくとも1つの無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩を含む硬質カプセルは、ゼラチンのような生理学的に分解可能な組成物を使用して製造することができる。そのような硬カプセル剤は、少なくとも1つの無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩を含み、さらに、例えば、炭酸カルシウム、リン酸カルシウム、又はカオリンなどの不活性固体希釈剤を含む追加成分を含むことができる。

## 【0086】

少なくとも1つの無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩を含有する軟ゼラチンカプセルは、ゼラチンなどの生理的に分解可能な組成物を用いて製造することができる。そのような軟カプセル剤は、少なくとも1つの無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩を含み、これは、水、又は油媒体、例えばピーナッツ油、液体パラフィン、又はオリーブ油と混合することができる。

## 【0087】

30

経口投与に適した本発明の組成物の液体製剤は、液体形態で、又は使用前に水又は他の適切なビヒクルで復元するための乾燥製品の形態で、調製、包装、及び販売することができる。

## 【0088】

液体懸濁剤は、水性又は油性ビヒクル中に少なくとも1つの無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩の懸濁液を達成するための従来の方法を用いて調製することができる。水性ビヒクルは、例えば、水及び等張食塩水が含む。油性ビヒクルとしては、例えば、アーモンド油、油性エステル、エチルアルコール、植物油、例えば落花生油、オリーブ油、ゴマ油、又はヤシ油、分別植物油、及び流動パラフィンなどの鉱物油を含む。液体懸濁剤はさらに、特に限定されないが、懸濁剤、分散剤又は湿潤剤、乳化剤、粘滑剤、防腐剤、緩衝剤、塩、香料、着色剤、及び甘味剤を含む、1つ又は複数の追加の成分を含んでよい。油性懸濁液は、増粘剤をさらに含んでもよい。

40

## 【0089】

既知の懸濁剤としては、特に限定されないが、ソルビトールシロップ、水素化食用脂、アルギン酸ナトリウム、ポリビニルピロリドン、トラガカントゴム、アラビアゴム、及びセルロース誘導体、例えばカルボキシメチルセルロースナトリウム、メチルセルロース、及びヒドロキシプロピルメチルセルロースがある。既知の分散剤又は湿潤剤としては、特に限定されないが、天然に存在するホスファチド、例えばレシチン、アルキレンオキシドと脂肪酸との、長鎖脂肪族アルコールとの、脂肪酸とヘキシトールから誘導される部分エステルとの、又は脂肪酸と無水ヘキシトールから誘導される部分エステル（例えば、それ

50

それポリオキシエチレンステアレート、ヘプタデカエチレンオキシセタノール、ポリオキシエチレンソルビトールモノオレエート、及びポリオキシエチレンソルビタンモノオレエート)との縮合生成物がある。既知の乳化剤としては、特に限定されないが、レシチン及びアカシアがある。既知の防腐剤としては、特に限定されないが、メチル、エチル、又はn-プロピル-パラ-ヒドロキシベンゾエート、アスコルビン酸、及びソルビン酸がある。既知の甘味剤は、例えば、グリセロール、プロピレングリコール、ソルビトール、ショ糖、及びサッカリンを含む。油性懸濁液のための公知の増粘剤には、例えば、蜜蝋、固体パラフィン、及びセチルアルコールがある。

#### 【0090】

水性又は油性溶媒中の少なくとも1つの無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩の液剤は、液体懸濁剤と実質的に同じ方法で調製されるが、主な違いは、少なくとも1つの無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩が、溶媒中に懸濁されるよりもむしろ溶解されることである。本発明の組成物の液剤は、液体懸濁剤に関して記載された成分の各々を含んでいてもよく、懸濁剤は、必ずしも溶媒中の少なくとも1つの無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩の溶解を補助しないと理解される。水性溶媒としては、例えば、水及び等張食塩水が含まれる。油性溶媒としては、例えば、アーモンド油、油性エステル、エチルアルコール、植物油、例えば落花生油、オリーブ油、ゴマ油、又はヤシ油、分別植物油、及び流動パラフィンなどの鉱物油を含む。

10

#### 【0091】

本発明の医薬調製物の粉末及び顆粒製剤は、公知の方法を用いて調製することができる。そのような製剤は、対象に直接投与することができ、水性又は油性ビヒクルの添加により、例えば錠剤を形成するために、カプセルに充填するために、又は水性又は油性の懸濁液又は溶液を調製するために使用することができる。これらの製剤の各々は、1つ又はそれ以上の分散剤又は湿潤剤、懸濁剤、及び防腐剤を含んでよい。充填剤及び甘味剤、香味剤、又は着色剤などの追加の賦形剤もまた、これらの製剤中に含めることができる。

20

#### 【0092】

本発明の組成物は、固体、又は水中油エマルジョン又は油中水型エマルジョンの形態で調製、包装、又は販売することができる。油相は、オリーブ油又はラッカセイ油などの植物油、液体パラフィンなどの鉱物油、又はこれらの組み合わせでもよい。このような組成物はさらに、天然に存在するゴム、例えばアカシアゴム又はトラガカントゴム、天然に存在するホスファチド、例えば大豆又はレシチンホスファチド、脂肪酸と無水ヘキシトールから誘導されるエステルもしくは部分エステル、例えばソルビタンモノオレエート、及びこのような部分エステルとポリオキシエチレンソルビタンモノオレエートなどのエチレンオキシドとの縮合生成物を含んでよい。これらの懸濁剤は、例えば甘味剤又は香味剤を含む追加の成分を含むこともできる。

30

#### 【0093】

化学組成物を用いて材料を含浸又は被覆する方法は、当該分野で公知であり、特に限定されないが、化学組成物を表面に堆積又は結合する法、材料の合成中に(すなわち、生理学的に分解性材料を用いて)化学組成物を材料の構造中に組み込む方法、及び以後の乾燥有り又は無しで、吸収性材料に水性又は油性溶液又は懸濁剤を吸収する方法を含む。

40

#### 【0094】

本明細書において組成物の「非経口投与」は、対象の組織の物理的破壊と、組織中の破壊部分を介する組成物の投与により特徴付けられる。従って非経口投与は、特に限定されないが、組成物の注射による、外科的切開を介する組成物の適用による、組織貫通性の非外科的創傷を介する組成物の適用などによる、組成物の投与を含む。特に、非経口投与は、特に限定されないが、皮膚、皮下、腹腔内、静脈内及び筋肉内、囊内注入を含むことが企図される。

#### 【0095】

非経口投与に適した組成物の製剤は、少なくとも1つの無機硝酸塩あるいは無機亜硝酸塩を、医薬的に許容される担体、例えば無菌水又は無菌等張生理食塩水などと組み合わせ

50

て含む。このような製剤は、ボーラス投与又は連続投与に適した形態で、調製、包装、又は販売することができる。注射用製剤は、例えば防腐剤を含むアンプル又は多回投与容器などの単位剤形で、調製、包装、又は販売することができる。非経口投与のための製剤としては、特に限定されないが、懸濁剤、液剤、油性又は水性ビヒクル中のエマルジョン、ペースト、及び移植可能な徐放性もしくは生分解性製剤がある。このような製剤はさらに、特に限定されないが、懸濁剤、安定剤、又は分散剤を含む1つ又はそれ以上の追加の成分を含んでよい。非経口投与のための製剤のある実施態様において、少なくとも1つの無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩は、復元される組成物の非経口投与前に適切なビヒクル（例えば、無菌の発熱物質を含まない水）で再構成するための乾燥（すなわち、粉末又は顆粒）形態で提供される。

10

#### 【0096】

組成物は、無菌の注射可能な水性又は油性懸濁剤又は液剤の形態で、調製、包装、又は販売することができる。この懸濁剤又は液剤は、既知の技術に従って製剤化することができ、少なくとも1つの無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩に加えて、追加の成分、例えば本明細書に記載の分散剤、湿潤剤、又は懸濁剤などの追加成分を含むことができる。そのような無菌の注射用製剤は、例えば水又は1,3-ブタンジオールなどの非毒性の非経口的に許容される希釈剤又は溶媒を用いて調製することができる。他の許容できる希釈剤及び溶媒としては、特に限定されないが、リングル液、等張塩化ナトリウム溶液、及び合成モノ-又はジ-グリセリドなどの固定油がある。有用な他の非経口的に投与される製剤は、少なくとも1つの無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩を、微結晶の形態で、リポソーム調製物中で、又は生分解性ポリマー系の成分として含むものを含む。持続放出又は移植用の組成物は、医薬的に許容されるポリマー又は疎水性材料、例えばエマルジョン、イオン交換樹脂、難溶性ポリマー、又は難溶性塩などを含んでもよい。

20

#### 【0097】

本発明の組成物は、口腔投与に適した製剤で、調製、包装、又は販売することができる。そのような製剤は、例えば、従来の方法を用いて製造された錠剤又はロゼンジの形態であってもよく、例えば0.1~100% (w/w) の硝酸塩を含んでよく、残りは、経口溶解性又は分解性組成物 及び任意選択的に、本明細書に記載の1つ又はそれ以上の追加の成分を含んでよい。あるいは、口腔投与に適した製剤は、少なくとも1つの無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩を含む、粉末又はエアロゾル化もしくは微粒化溶液又は懸濁液を含んでもよい。このような粉末化、又はエアロゾル化製剤は、分散された時、好ましくは約0.1~約200ナノメートルの範囲の平均粒子又は小滴サイズを有し、そしてさらに、本明細書に記載の1つ又はそれ以上の追加の成分を含んでもよい。

30

#### 【0098】

本明細書において「追加の成分」は、特に限定されないが、以下の1つ以上を含む：賦形剤；表面活性剤；分散剤；不活性希釈剤；造粒剤及び崩壊剤；結合剤；滑沢剤；甘味剤；香味剤；着色剤；防腐剤；ゼラチンなどの生理学的に分解可能な組成物；水性ビヒクル及び溶媒；油性ビヒクル及び溶媒；懸濁剤；分散剤又は湿潤剤；乳化剤、粘滑剤；緩衝剤；塩；増粘剤；充填剤；乳化剤；酸化防止剤；抗生物質；抗真菌剤；安定化剤；及び医薬的に許容されるポリマー又は疎水性材料。本発明の医薬組成物に含めることができる他の「追加の成分」は当該技術分野で公知であり、例えば、Genaro, ed., 1985, Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pa.（これは参照のため本明細書に組み込まれる）に記載されている。

40

#### 【0099】

典型的には、動物、好ましくはヒトに投与できる本発明の化合物の投与量は、動物の体重1キログラム当たり約0.01mg~約100gの量の範囲である。投与される正確な用量は、特に限定されないが、動物の種類と治療される疾患の種類、動物の年齢、及び投与経路を含む多くの要因に依存する。いくつかの実施態様において、化合物の投与量は、動物の体重1キログラム当たり約1mgから約100gまで変化するであろう。他の実施態様において、投与量は、動物の体重1キログラム当たり約1μgから約1gまで変化す

50

るであろう。化合物は動物に、1日に2回、3回、4回、5回、6回、7回、又は8回の頻度で投与することができるか、又は、より少ない頻度、例えば1日1回、1週間に1回又はそれ以上、2週間ごとに1回又はそれ以上、1月に1回又はそれ以上、又はさらに少ない頻度、例えば数ヶ月毎に1回又はそれ以上、又は1年に1回又はそれ以上で投与することができる。投与頻度は、当業者には容易に明らかであり、例えば、特に限定されないが、治療される疾患の種類と重症度、動物の種類と年齢などの任意の数の要因に依存するであろう。

#### 【0100】

##### 併用療法

いくつかの実施態様において、無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩からなる群から選択される少なくとも1つを含む組成物は、H F p E FなどのH Fを治療又は予防するのに有用な少なくとも1つの他の薬剤と組み合わせることができる。H F p E FなどのH Fを治療又は予防するのに有用な薬剤の例は、特に限定されないが、利尿薬、アンジオテンシン変換酵素（ACE）-阻害薬、アンジオテンシンII受容体遮断薬（ARB）、ペータ遮断薬、カルシウムチャネル遮断薬、ジゴキシン、スタチン、有機硝酸塩、又は有機亜硝酸塩を含む。有機硝酸塩の例としては、特に限定されないが、硝酸ジアルキルイミダゾリウム、硝酸グアニジンがある。有機亜硝酸塩の例としては、特に限定されないが、亜硝酸エチル、亜硝酸プロピル、亜硝酸ブチル、亜硝酸ペンチル、亜硝酸オクチルがある。

10

#### 【0101】

ある実施態様において、追加の治療剤は、相乗的治療効果が生成されるように、無機硝酸塩又は無機亜硝酸塩からなる群から選択される少なくとも1つを含む組成物と組み合わせて、対象に投与される。「相乗的治療効果」は、2つの治療剤の組み合わせにより生成され、単独の治療剤の個々の投与から生じるものを超える、付加的治療効果を指す。従って、治療薬の1つ又は両方の低用量が、H F p E FなどのH Fを治療又は予防するのに使用され、治療効果の上昇と副作用の低下とをもたらす。いくつかの実施態様において、薬剤は、ホスホジエステラーゼ5（P ED 5）阻害薬又は有機硝酸塩である。P ED 5阻害薬の例としては、特に限定されないが、シルデナフィル、バルデナフィル、及びタadalafilがある。

20

#### 【0102】

##### 実験例

30

本発明は、以下の実験例を参照してさらに詳細に説明される。これらの例は、例示のみの目的で提供されており、特に明記しない場合は、限定することを意図するものではない。従って本発明は、決して以下の例に限定されると解釈されるべきではなく、むしろ、本明細書中に提供される教示の結果として明らかになるありとあらゆる変更を包含すると解釈されるべきである。

#### 【0103】

さらなる説明なしに、当業者は、前述の説明と以下の例示的な例を使用して、本発明の化合物を製造し使用することができ、そして特許請求される方法を実施することができると考えられる。従って以下の例は、具体的には本発明の好適な実施態様を具体的に指摘し、そしていかなる方法でも本開示の残りを限定するものとして解釈されるべきではない。

40

##### 【実施例】

#### 【0104】

##### 実施例1

##### 駆出率が維持されている心不全（H F）における無機硝酸塩の使用

H F p E Fにおいて運動不耐性に役割を果たしている可能性が高い特定のメカニズムを標的とした食事介入が本明細書に記載される。これは、主要な周辺機構的な標的（例えば、動脈血管拡張期予備能、筋肉O<sub>2</sub>送達と利用、動脈波反射、及び動脈スティフネス）の修飾のための新規の食事療法（無機硝酸塩の補充）であり、これは、H F p E F患者の短期的な症状改善と長期的な「疾患修飾」作用の可能性がある。この食事療法は、新しい治療概念であり、H F p E Fにおける症状、運動能力、及び転帰の改善に容易に実施可能な

50

手法を提供することができる。

【0105】

H F p E F を有する 22 例の対象が、二重盲検クロスオーバーデザインで無作為化され、 $140 \text{ mL}$  の：(a) 硝酸塩リッチな濃縮ビートルートジュース ( $\text{NO}_3^-_{\text{RICH}} \text{BR}$ ;  $12.9 \text{ mmol}$  の  $\text{NO}_3^-$  を含有する)、又は；(b) 他の同一の硝酸塩欠失ビートルートジュース ( $\text{NO}_3^-_{\text{DEP}} \text{BR}$ 、 $< 0.01 \text{ mmol}$  の  $\text{NO}_3^-$  を含有する) の単回用量を割り当てられた試験が本明細書に記載される。 $\text{NO}_3^-_{\text{RICH}} \text{BR}$  の補充が、以下の終点の改善のために検討される：運動能力、運動時全身血管拡張予備能、及びさらに詳しくは、運動中の筋肉に血管拡張応答、筋肉酸化能、動脈波反射、及び動脈スタイルフィネス。

【0106】

収縮後期負荷は拡張機能不全を促進する

ヒトでの収縮期の左心室 (LV) 壁応力の経時変化 (Chirinos et al., 2009, Circulation 119:2798-2807) は、早期及び後期収縮期壁応力の分離を可能にし、それぞれ吐出の前半と後半に、時間分解応力曲線下の面積 (応力 - 時間積分、STI) として定量される。この技術を使用して、心筋負荷シーケンス (早期応力対後期応力) と拡張機能との関係を、Asklepios 試験 (Chirinos et al., 2009, Circulation 119:2798-2807; Chirinos et al., 2009, Hypertension 54:558-566; Chirinos et al., 2010, Hypertension 56:91-98) に参加した 1,215 例の中年成人で評価した、交絡因子の調整後、収縮後期負荷は、収縮早期負荷 (これは、僧帽弁環状速度の 46 % の変動を予測した多変量モデル中より高い緩和速度と関連付けた、表 1) とは対照的に、僧帽弁輪部速度 (LV 弛緩の指標) と関連付けた。すなわち、入手可能な証拠は、ヒトにおける LV 弛緩の独立した相関として負荷シーケンスを暗示する。

【0107】

【表 1】

Asklepios 試験における 1,215 例の成人の多変量モデル ( $R^2 = 0.46$ ) での拡張早期僧帽弁環状速度の予測因子としての収縮早期及び収縮後期応力

独立変数	標準化係数 $\beta$	P 値
(定数)		<0.0001
吐出後期 STI (kdynes · cm <sup>-4</sup> · s)	-0.25	<0.0001
吐出早期 STI (kdynes · cm <sup>-4</sup> · s)	0.18	<0.0001
年齢 (才)	-0.34	<0.0001
男性	-0.17	<0.0001
体重 (m)	0.068	0.06
体重 (kg)	-0.38	<0.0001
総コレステロール (mg/dl)	-0.067	0.005
HDL-コレステロール (mg/dl)	0.073	0.008
トリグリセリド (mg/dl)	-0.027	0.27
予測 GFR, mL · 分 <sup>-1</sup> · 1.73m <sup>-2</sup>	-0.008	0.71
高感度 CRP (In-transformed; mg/dl)	-0.002	0.91
現在喫煙	0.025	0.26
糖尿病	0.005	0.84
LV 球形度	0.14	<0.0001
降圧療法使用	-0.027	0.23
心拍数 (bpm)	-0.017	0.47

【0108】

波反射の大きさは、付隨的 H F を強く予測する。上記のデータに基づいて、及び特定の理論に縛られることを望まないが、波反射は一般集団の新しい H F 発症のリスクを独立に

10

20

30

40

50

予測すると仮定された。臨床的に明らかな心血管疾患の無いアテローム性動脈硬化症の多民族研究 (M E S A : Multiethnic Study of Atherosclerosis) の 5 , 9 3 4 例の参加者から、動脈眼圧を用いてベースラインで記録された半径方向の波形に適用される伝達関数を使用して、大動脈圧波形を得た。既に記載されているように (Westerhof et al, 1972, *Cardiovasc. Res.* 6:648-656)、中央圧力波形を使用して、反射強度を近似した。7 . 6 1 年のフォローアップの間に ( 及び、血圧、年齢、性別、体格指数、糖尿病、民族、降圧薬の使用、総及び H D L コレステロール、現在の喫煙、心拍数、及び糸球体濾過率の調整後 ) 、反射強度は H F を強く予測し ( 10 % 増加あたりのハザード比 = 2 . 6 9 ; 9 5 % C I = 1 . 7 9 ~ 4 . 0 4 ; P < 0 . 0 0 0 1 ) 、血圧及び上記した他の修飾可能なリスク要因よりも、H F の強い予測因子であった。低反射強度を有する非高血圧対象と比較すると、他の H F 予測因子について調整したモデルでは、低反射強度を有する高血圧対象、高反射強度を有する非高血圧対象、及び高反射強度を有する高血圧対象のハザード比は、それぞれ 1 . 8 1 ( 9 5 % C I = 0 . 8 5 ~ 3 . 8 6 ) 、 2 . 1 6 ( 9 5 % C I = 1 . 0 4 ~ 4 . 4 3 ) 、及び 3 . 9 8 ( 9 5 % C I = 1 . 9 6 ~ 8 . 0 5 ) であった ( 図 1 ) 。特定の理論に拘束されるつもりはないが、慎重な追跡及びイベント裁定を有する大規模なコミュニティベースのサンプルからのこれらの知見は、動脈波反射が H F の新規の強力な危険因子であるという説明と一致する。  
10

#### 【 0 1 0 9 】

##### 食事の硝酸塩は波反射を低下させる

中型の筋肉導管動脈の N O 仲介血管拡張 (Nichols and Vlachopoulos, 2011, McDonald 's blood flow in arteries. Theoretical, experimental and clinical principles, Hodder Arnold; O-Rourke and Hashimoto, 2007, *J. Am. College Cardiol.* 50:1-13; Yaginuma et al, 1986, *Cardiovasc. Res.* 20:153-160; Kelly et al, 1990, *Eur. Heart J.* 11 :138-144; Latson et al, 1988, *Circ. Res.* 62:884-890) は、実質的に波反射を低下させ、波反射が心筋機能不全につながるため、無機硝酸塩 / 亜硝酸塩を使用して H F p E F 患者の波反射を標的とする実験が計画された。特定の理論に拘束されるつもりはないが、無機硝酸塩 / 亜硝酸塩は、中間筋動脈における N O 放出をもたらし、これは波反射を減少させ及び / 又は微小血管の拡張を介して遠位側の血流を増加させることができるために、これは 1 つ又はそれ以上の近位血管上の剪断応力を上昇させ、フロー仲介性の拡張につながるであろう。これらの作用は、波反射の低下をもたらすであろう。  
20  
30

#### 【 0 1 1 0 】

##### 手法

H F p E F を有する 2 2 例の対象が、 1 4 0 m L / 日の : ( a ) 硝酸塩リッチな濃縮ビートルートジュース ( N O<sub>3</sub><sup>-</sup> RICH B R ; 1 2 . 9 m m o l の N O<sup>-3</sup> を含有する ) 、又は ; ( b ) それ以外は同一の硝酸塩欠失ビートルートジュース ( N O<sub>3</sub><sup>-</sup> DEPL B R 、 < 0 . 0 1 m m o l の N O<sup>-3</sup> を含有する ) を 3 日間割り当てられた、この試験は、二重盲検でクロスオーバー制御されている。介入の順序は無作為化されており、 7 日間のウォッシュアウト期間がそれぞれの補充期間を分離している。クロスオーバーデザインは、各対象が両方の治療を受けて、個人間の応答の変動を低減することを可能にする。 N O<sub>3</sub><sup>-</sup> RICH B R 及び N O<sub>3</sub><sup>-</sup> は、 James White Drinks Ltd., ( Ipswich, United Kingdom, U.K.) により提供される。 N O<sub>3</sub><sup>-</sup> RICH B R 及び N O<sub>3</sub><sup>-</sup> DEPL は、治験薬薬剤師により処方される。すべての試験方法は二重盲検されている。対象は、補給期間を通じて野菜の安定した摂取を維持し、抗菌口内洗浄液を避けるように指示されている。対照ジュースの硝酸塩の欠失は、硝酸塩を選択的に除去する陰イオン交換樹脂を用いて達成され (Lansley et al, 2011, *J. Appl. Physiol.* 110:591-600) 、こうして外観、臭い、味、食感が同様のジュースが得られ、食事の硝酸塩が想定効果の原因であるかどうかの評価と、二重盲検実験計画を実施することを可能にする。介入に関連した血漿硝酸塩 / 亜硝酸塩の変化が記載されている。特定の理論に拘束されるつもりはないが、 N O<sub>3</sub><sup>-</sup> RICH B R の補給は、運動能力、運動時全身血管拡張予備能と運動筋肉における血管拡張応答、筋肉酸化能、及び動脈スティフネス、及び反射波とを改善する。  
40  
50

**【 0 1 1 1 】**試験対象集団対象患者選定基準

22例の成人が登録される。これらの成人は、H F p E F、ニューヨーク心臓協会 (New York Heart Association) クラス I I ~ I V の症状、L V 駆出率 > 50%、安定した薬物療法（少なくとも30日間の抗高血圧薬や利尿薬の、添加、除去、又は用量変更無し）、及び重要な拡張機能障害の証拠を有し、従って、H F p E F の診断のためのヨーロッパ心エコー検査基準協会 (European Society of Echocardiography criteria for the diagnosis of HfpEF (Paulus et al, 2007, Eur. Heart J. 28:2539-2550)) を満たしている。

10

**【 0 1 1 2 】**除外基準

次の基準のいずれかを有する成人は除外される：心房細動又は粗動、対象が運動することを妨害する神経筋又は整形外科症状、軽度の心臓弁膜症、肥大、浸潤性又は炎症性心筋症、心膜疾患、原発性肺動脈症、急性冠症候群又は60日以内の冠動脈血行再建術、重症の閉塞性肺疾患、1年以内のストレス検査時の非血管再生の重要な心筋虚血、ビートルートに対するアレルギー、ホスホジエステラーゼ阻害薬による治療、又はMRI試験を受けることの禁忌もしくは不本意。

**【 0 1 1 3 】**終点

20

終点は、NO<sub>3</sub><sup>-</sup><sub>RICH</sub>BR 又は NO<sub>3</sub><sup>-</sup><sub>DEPL</sub>BR のいずれかの最初の投与の前、及び NO<sub>3</sub><sup>-</sup><sub>DEPL</sub>BR 又は NO<sub>3</sub><sup>-</sup><sub>RICH</sub>BR 相のいずれかで二重盲検 3 日間補充期間の終了時に測定される。

**【 0 1 1 4 】**運動能力

運動能力は、仰向け自転車運動時の心肺ストレス検査を用いて測定される。ピーク酸素消費量 (VO<sub>2</sub>) と [ ピーク外部出力 / ピーク VO<sub>2</sub> ] 比は、最大仰向けサイクル運動試験中の呼気ガス分析と、定常状態の酸素消費量を達成するためのその後の換気閾値以下の一定強度の最大下運動プロトコルにより評価される。呼気分析は、Parvomedics TrueOne 装置を用いて行われる。ガスマータ及び流量センサーの較正は、各検査の前に行われる。ベータ遮断薬は、試験前に少なくとも 48 時間は投与されない。

30

**【 0 1 1 5 】**全身動脈血行動態

高忠実度Millar圧平眼圧計 (Nichols and Vlachopoulos, 2011, McDonald's blood flow in arteries. Theoretical, experimental and clinical principles, Hodder Arnold) を用いて頸動脈圧力波形を記録し、これは、検証済みのオシロメトリック装置を用いて測定される腕拡張期圧力と平均圧力を使用して較正される (Segers et al, 2007, Hypertension 49:1248-1255)。ドップラー心エコー検査は、Vivid E9装置を使用して行われる。L V 流出路流速の脈波ドブラーインタロゲーション (Doppler interrogation) は、安静時及びピーク運動時に行われる。流量は、L V 流出路流速に、3次元心エコー検査で測定した L V 流出路断面積を乗じて計算される (Chirinos and Segers, 2010, Hypertension 56:563-570; Chirinos and Segers, 2010, Hypertension 56:555-562)。反射強度は、中心圧と流量波形を用いる線形波分離分析を用いて計算される (Chirinos and Segers, 2010, Hypertension 56:563-570; Chirinos and Segers, 2010, Hypertension 56:555-562; Segers et al, 2007, Hypertension 49:1248-1255; Westerhof et al, 1972, Cardiovasc. Res. 6:648-656)。頸動脈 - 大腿脈波速度は、動脈眼圧を用いて測定される (Sphygmocor device, Atcor Medical)。第1収縮期のピークに対する第2収縮期のピークの比率である増大指数もまた評価される。運動血行動態のために、ピーク運動時の動脈圧は、検証されたフォトプレチスモグラフ装置 (Finapress装置) を用いて測定される。全身血管抵抗 (SVR) は、[ 平均動脈圧 / 心拍出量 ] として計算される。運動血管拡張予備能は、安

40

50

静時 S V R - 運動 S V R として計算される。

#### 【 0 1 1 6 】

##### 筋灌流とエネルギー

28 チャンネル高周波コイルを装備した 7 T スキャナーを使用して、安静時と標準化された足底屈運動試験直後に、MRI 試験を実施した。筋肉灌流を画像化するために、動脈スピニラベリング (Roberts et al., 1994, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91 :33-37) が使用される、運動後のホスホクレアチニン (PCr) 回収速度を調べるために、<sup>31</sup>P 核磁気共鳴分光法が使用される。無機リン酸 (Pi) と PCr との化学シフトの差から、細胞内 pH が計算され (Moon and Richards, 1973, J. Biol. Chem. 248:7276-7278)、これは、クレアチニンキナーゼ (CK) 平衡定数を使用して遊離サイトゾル ATP を計算するために、使用される (Kemp et al., 2001, J. Physiol. 535:910-928)。既に記載されているように (Kemp et al., 1994, Magn. Reson. Q. 10:43-63; Trenell et al., 2006, Muscle Nerve 33:524-531; Conley et al., 1997, Am. J. Physiol. 273:C306-315; Layec et al., 2009, Eur. J. Appl. Physiol. 106:229-242)、pH の変化とリン代謝物の濃度の変化は、CK 反応、酸化的リン酸化、及び嫌気性解糖系を介する、酸化能力と ATP 合成速度を計算するために使用される。PCr 回収速度と筋肉灌流との相関が評価される。骨格筋のホスホクレアチニン含有量は、化学交換飽和移動法 (Cai et al., 2012, Nat. Med. 18:302-306; Singh et al., 2011, Int. Soc. Mag. Res. Med. 19:4619) を使用して画像化される。灌流と PCr 回復速度との相関は、ボクセル間の相関分析を用いて評価される。

#### 【 0 1 1 7 】

##### 硝酸塩と亜硝酸塩レベルの測定

静脈血試料は、非常に低レベルの硝酸塩 / 亜硝酸塩を有するリチウム - ヘパリンチューブに採取される。試料は、採取の 3 分以内に 4,000 rpm で 10 分間遠心分離される。血漿が抽出され、後の分析のためにすぐ -80° で凍結される。室温で解凍した後、血漿試料はまず、既に記載されているように (Lansley et al., 2011, J. Appl. Physiol. 110:591-600) 冷エタノール沈殿を使用して脱タンパク化される。脱タンパク化された血漿の硝酸塩 / 亜硝酸塩含量は、別の所に記載 (Munson et al., 2005, Am. J. Respir. Cell Mol. Biol. 33:582-588 を参照) され、後に Allen et al. for human plasma (Allen et al., 2010, Free Radic. Biol. Med. 49:1138-1144) により改変された、Ionics/Sivers の一酸化窒素分析器 (NOA 280) を使用して、修飾検出化学発光法を用いて測定される。

#### 【 0 1 1 8 】

##### 統計的検出力と方法

22 例の対象は、それぞれが 2 つの期間 (AB / BA デザイン) から構成されている 2 つのシーケンスの 1 つに無作為化される。この試験は、片側  $\alpha = 0.05$  で、終点の介入誘発性変化で 0.549 又はそれ以上の標準化差異を検出する 80% の力を有する。推論分析のために、連続データとのクロスオーバーのための一般的なモデルが使用される：

$$Y_{i(j)k} = \mu_k + S_{i(j)} + \epsilon_{i(j)k}$$

ここで、 $Y_{i(j)k}$  は観測された結果であり、 $S_{i(j)}$  は、シーケンス  $i$  の対象  $j$  による効果、 $j = 1, 2, \dots, 22$  であり、 $\mu_k$  は、シーケンス  $i$  と期間  $k$  によりインデックスを付けられた効果であり、 $\epsilon_{i(j)k}$  は、予測値 0 と分散  $\sigma^2$  を有するランダム「誤差」項である。従って、 $\mu_k = E[Y_{i(j)k}] - E[S_{i(j)}]$  となる。関心は、治療、期間、及びおそらくはキャリーオーバー効果の項で表現することができる  $\mu_k$  に集中している：

$\mu_k = \mu + d_{(i,k)} + k + d_{(i,k-1)}$  (ここで、 $d_{(i,k)}$  は、シーケンス  $i$  からの期間  $k$  の治療効果であり、 $k$  は期間  $k$  の効果であり、 $+ d_{(i,k-1)}$  は、シーケンス  $i$  からの期間 ( $k - 1$ ) の治療から生じるキャリーオーバー効果であり、これは、シーケンス  $i$  からの期間  $k$  の治療効果を変化させるであろう)。

#### 【 0 1 1 9 】

使用された統計的検定は、結果の分布に基づく。正規分布の場合、各シーケンスについて第 1 期間からの第 2 期間の差の平均が計算され、これら 2 つの平均の差を治療効果の良

10

20

30

40

50

好な不偏推定値として計算することを可能にする。これらの違いを使用することにより、期間効果は落とされる。差を評価するために、(対応のない) t 検定を使用することができる。各シーケンスについて 2 つの期間の差の平均が計算され、これら 2 つの平均の合計を治療効果の差の良好な不偏推定値として計算することを可能にする。あるシーケンスについての差に -1 を乗じて、2 つの平均の差が基本的に合計されることにより、効果を評価するために、(対応のない) t 検定を使用することができる。非正規分布の結果の場合は、ノンパラメトリック法が利用される。必要に応じて共変量の追加の調整を用いて、回帰の枠組みの中で結果を評価するために、一般化された線形混合モデルが使用される。

## 【0120】

10

## 実施例 2

駆出率が維持されている心不全（HF）における亜硝酸ナトリウムの使用

HF p EFにおいて亜硝酸ナトリウムを無機亜硝酸塩として使用して運動不耐性に役割を果たしている可能性が高い特定のメカニズムを標的とした薬理学的介入が、本明細書に記載される。これは、主要な周辺機構的な標的（例えば、動脈血管拡張期予備能、筋肉O<sub>2</sub>送達と利用、動脈波反射、及び動脈スティフネス）の修飾のための新規の薬理学的療法であり、これは、HF p EF患者の短期的な症状改善と長期的な「疾患修飾」作用の可能性がある。この治療法は、新しい治療概念であり、HF p EFにおける症状、運動能力、及び結果の改善に容易に実施可能な手法を提供することができる。

## 【0121】

20

HF p EFを有する 76 例の対象が、二重盲検クロスオーバーデザインで無作為化され、（1）亜硝酸ナトリウムを 4 ~ 6 週間経口投与、又は、（B）それ以外は同一のプラセボ、が割り当てられる試験が本明細書に記載される。介入の順序は無作為化され、二重盲検で、7 日間のウォッシュアウト期間により分離されている。亜硝酸ナトリウムの補充は、以下の終点の改善について検討される：運動能力、運動時全身血管拡張予備能、及びさらに詳しくは、運動筋肉の血管拡張応答、筋肉の酸化能力、動脈波反射、大きな動脈スティフネス、クオリティオブライフ。運動能力、運動時全身血管拡張予備能、及びさらに詳しくは、運動筋肉の血管拡張応答、筋肉の酸化能力、動脈波反射、大きな動脈スティフネスは、実施例 1 に記載したものと同様の方法を使用して評価される。クオリティオブライフは、カンザスシティ心筋症アンケート（Kansas City Cardiomyopathy Questionnaire）（KCCQ）（Green CP, Porter CB, Bresnahan DR, Spertus JA. Development and evaluation of the kansas city cardiomyopathy questionnaire:A new health status measure for heart failure. Journal of the American College of Cardiology. 2000;35:1245-1255）を使用して評価される。

30

## 【0122】

## 実施例 3

駆出率が維持されている心不全（HF）における硝酸カリウムの使用

HF p EFにおいて硝酸ナトリウムを無機硝酸塩として使用して運動不耐性に役割を果たしている可能性が高い特定のメカニズムを標的とした薬理学的介入が、本明細書に記載される。これは、主要な周辺機構的な標的（例えば、動脈血管拡張期予備能、筋肉O<sub>2</sub>送達と利用、動脈波反射、及び動脈スティフネス）の修飾のための新規の薬理学的療法であり、これは、HF p EF患者の短期的な症状改善と長期的な「疾患修飾」作用の可能性がある。この治療法は、新しい治療概念であり、HF p EFにおける症状、運動能力、及び結果の改善に容易に実施可能な手法を提供することができる。

40

## 【0123】

HF p EFを有する対象が、二重盲検クロスオーバーデザインで無作為化され、（1）硝酸カリウムを 4 ~ 6 週間経口投与、又は、（B）それ以外は同一のプラセボ、が割り当てられる試験が本明細書に記載される。介入の順序は無作為化され、二重盲検で、7 日間のウォッシュアウト期間により分離されている。硝酸カリウムの補充は、以下の終点の改善について検討される：運動能力、運動時全身血管拡張予備能、及びさらに詳しくは、運

50

動筋肉の血管拡張応答、筋肉の酸化能力、動脈波反射、大きな動脈スティフネス、クオリティオブライフ。運動能力、運動時全身血管拡張予備能、及びさらに詳しくは、運動筋肉の血管拡張応答、筋肉の酸化能力、動脈波反射、大きな動脈スティフネスは、実施例1に記載したものと同様の方法を使用して評価される。クオリティオブライフは、カンザスシティ心筋症アンケート (Kansas City Cardiomyopathy Questionnaire) (KCCQ) (Green CP, Porter CB, Bresnahan DR, Spertus JA. Development and evaluation of the kansas city cardiomyopathy questionnaire:A new health status measure for heart failure. Journal of the American College of Cardiology. 2000;35:1245-1255) を使用して評価される。

## 【0124】

10

本明細書に引用される各々及び全ての特許、特許出願、及びそこに引用されている刊行物の開示は、参照のためその全体が本明細書に組み込まれる。本発明は特定の実施態様を参照して開示されているが、本発明の他の実施態様及び変更態様が、本発明の真の精神及び範囲から逸脱することなく当業者によって考案され得ることは明らかである。添付の特許請求の範囲は、全てのそのような実施態様及び同等の変更態様を含むと解釈すべきであることが意図される。

【図1】

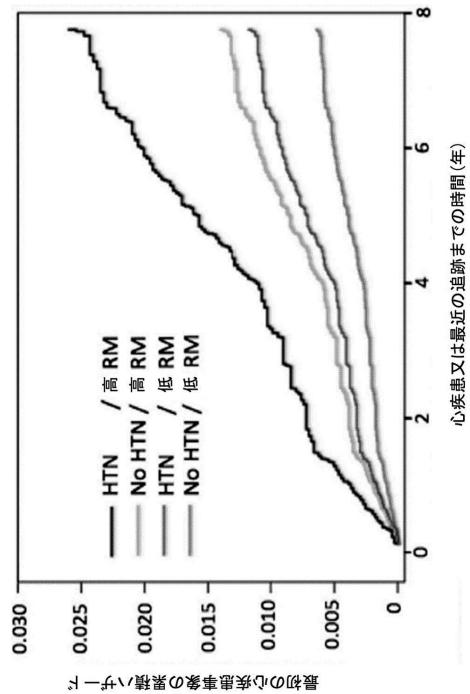


Figure 1

【図2】

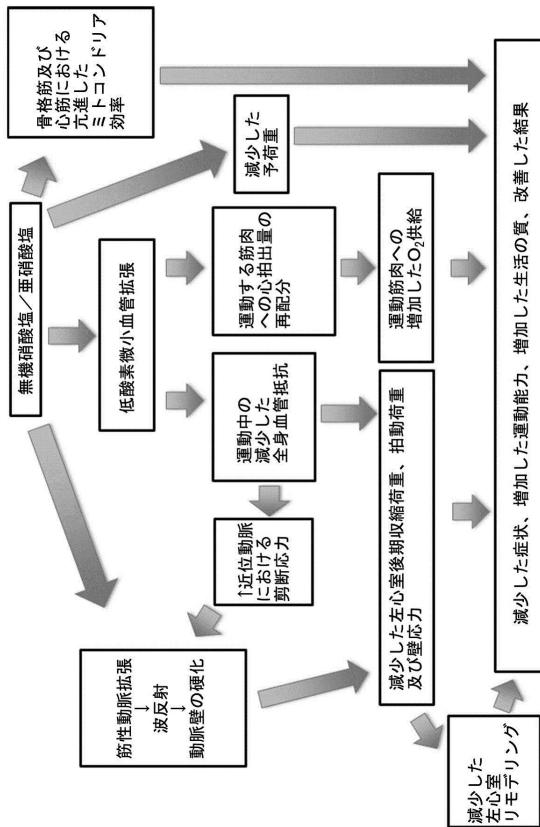


Figure 2

---

フロントページの続き

(74)代理人 100117019

弁理士 渡辺 陽一

(74)代理人 100150810

弁理士 武居 良太郎

(74)代理人 100134784

弁理士 中村 和美

(72)発明者 ジュリオ エー. チリノス

アメリカ合衆国, ペンシルベニア 19106, ガーネット バレー, スティル ウッド レーン

3166

審査官 茅根 文子

(56)参考文献 国際公開第2012/076667 (WO, A1)

特表2007-528852 (JP, A)

特表2010-519336 (JP, A)

Dietary Nitrates for Heart Failure: Clinical Trials.gov, 2012年12月19日, URL,

[https://clinicaltrials.gov/archive/NCT01682356/2012\\_12\\_19](https://clinicaltrials.gov/archive/NCT01682356/2012_12_19)

The journal of physiology, 2012年, Vol.591, Issue 2, p.547-557

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A 61 K 33 / 00

A 61 K 9 / 08

A 61 K 36 / 21

A 61 K 45 / 00

A 61 P 9 / 04

C A p l u s / W P I D S / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S ( S T N )

P u b M e d