(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2017 年 1 月 5 日(05.01.2017)

WIPO | PCT

(10) 国際公開番号
WO 2017/002840 A1

(51) 国際特許分類:
A61K 38/00 (2006.01)
A61K 8/64 (2006.01)
A61K 35/20 (2006.01)
A61K 35/50 (2015.01)
A61K 36/48 (2006.01)
A61K 36/82 (2006.01)
A61K 36/8998 (2006.01)
A61P 7/10 (2006.01)
A61P 9/00 (2006.01)
A61P 9/12 (2006.01)
A61P 17/00 (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01)
A61Q 19/02 (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2016/069230

(22) 国際出願日: 2016 年 6 月 29 日(29.06.2016)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願 2015-132669 2015 年 7 月 1 日(01.07.2015) JP

(71) 出願人: サントリーホールディングス株式会社 (SUNTORY HOLDINGS LIMITED) [JP/JP]; 〒5308203 大阪府大阪市北区堂島浜２丁目１番４０号 Osaka (JP).

(72) 発明者: 富貴澤　伸哉 (FUKIZAWA, Shinya); 〒6190284 京都府相楽郡精華町精華台８－１－１ サントリーワールドリサーチセンター内 Kyoto (JP). 鈴木　寿栄 (SUZUKI, Toshihide); 〒6190284 京都府相楽郡精華町精華台８－１－１　サントリーワールドリサーチセンター内 Kyoto (JP).

(74) 代理人: 小野　新次郎, 外 (ONO, Shinjiro et al.); 〒1000004 東京都千代田区大手町二丁目２番１号 新大手町ビル２０６区　ユアサハラ法律特許事務所 Tokyo (JP).

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

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

添付公開書類:

— 国際調査報告（条約第 21 条(3)）

WO 2017/002840 A1

(54) **Title**: ENDOTHELIN RECEPTOR ANTAGONIST COMPOSITION

(54) 発明の名称 : エンドセリン受容体拮抗用組成物

(57) **Abstract**: Provided are: an endothelin receptor antagonist composition; a use of said composition as a substance for inhibiting the binding of endothelin to endothelin receptors; and a method for inhibiting the binding of endothelin receptor-binding substances to endothelin receptors. It has been discovered that a specific cyclic dipeptide or a salt thereof exhibits endothelin receptor antagonistic action. The present invention provides a novel and effective means for contributing to the suppression of blood pressure elevation, the improvement of blood flow, the suppression of cerebral oedema formation, and the suppression of epidermal pigmentation.

(57) 要約: エンドセリン受容体拮抗用組成物、エンドセリンのエンドセリン受容体への結合を阻害するための当該組成物の使用、及びエンドセリン受容体結合物質のエンドセリン受容体への結合を阻害する方法を提供する。　特定の環状ジペプチド又はその塩が、エンドセリン受容体拮抗作用を有することを見出した。本発明は、血圧上昇抑制や血流改善、脳浮腫形成抑制、表皮の色素沈着抑制などに資する、効果的かつ新たな手段を提供する。

明　細　書

発明の名称 ： エンドセリン受容体拮抗用組成物

技術分野

[0001] 本発明は、エンドセリン受容体拮抗用組成物に関する。さらに詳しくは、アミノ酸を構成単位とする特定の環状ジペプチド又はその塩を有効成分とするエンドセリン受容体拮抗用組成物、エンドセリン受容体結合物質のエンドセリン受容体への結合を阻害するための特定の環状ジペプチド又はその塩の使用、及びエンドセリン受容体結合物質のエンドセリン受容体への結合を阻害する方法に関する。

背景技術

[0002] 食生活の変化や運動不足、ストレス、喫煙、遺伝的要因等が原因となって、高血圧症や高脂血症等の生活習慣病が引き起こされることが広く知られている。特に高血圧症は顕著な自覚症状なく症状が進行するという特徴を有し、高血圧症予備軍まで含めると極めて高い罹患率を示す。また、高血圧症は、脳卒中（脳梗塞、脳出血、くも膜下出血等）、心疾患（狭心症、心筋梗塞、心肥大、心不全等）、及び腎不全（高血圧性腎症等）等の重篤な疾患に繋がることが知られている。そのため、高血圧症の予防及び早期改善が社会的に求められている。

[0003] 高血圧症や肺高血圧症等の改善のためには、エンドセリン受容体拮抗薬が有用であることが知られている。エンドセリン受容体にはＥＴ－Ａ及びＥＴ－Ｂの２種類のサブタイプが存在しており、非特許文献１では、動脈硬化時に血管平滑筋などでＥＴ－Ｂ受容体の発現が亢進し、患者にＥＴ－Ｂ拮抗薬を投与すると上腕の血流が増加した事例が示されている。また、非特許文献２では、ラットにおいてＥＴ－Ｂ拮抗薬が脳損傷後の脳浮腫形成を抑制するという報告がなされている。また、特許文献１には、エンドセリンが表皮メラノサイトにおいてメラニン合成の律速酵素であるチロシナーゼの活性を増強することや、エンドセリンが表皮角化細胞（ケラチノサイト）において産

生され、紫外線誘導性色素沈着や老人性色素斑形成の重要な因子となることなどが明示されている。すなわちエンドセリンの作用を抑制できる物質は、メラニン生成や色素沈着等の改善や予防に有用であると考えられる。

[0004] エンドセリン受容体拮抗薬としては、アンブリセンタン、ボセンタン等の薬物が臨床現場において従来使用されている。しかしながら、これらの薬物には、肝臓症状、貧血、及び血小板減少症等の様々な副作用を伴うことが報告されている。そのため、エンドセリン受容体拮抗薬としては、安全でかつ長期摂取可能な有効成分の開発が望まれている。

[0005] このような背景の下、アミノ酸が二つ結合した「ジペプチド」が機能性物質として注目されている。ジペプチドは、単体アミノ酸にない物理的・化学的性質や新たな効果を付加することができるため、単体アミノ酸以上の応用範囲が期待されており、近年、医薬品や健康食品等の有効成分として、健康維持や生活習慣病の予防・改善のために利用されている。

[0006] 近年、ジペプチドの末端に存在するアミノ基とカルボキシル基とが脱水縮合することにより生成した環状構造を有する環状ジペプチドが開発されている。当該環状ジペプチドは、様々な生理活性を有することが報告されており、医療・薬理分野において需要が拡大することが予想されている。例えば、特許文献２には、環状ジペプチドが抗うつ作用や学習意欲改善作用等を有することが報告されている。また、非特許文献３には、シクロヒスチジルプロリン〔Cyclo(His-Pro)〕が、体温低下作用や食欲抑制作用等の中枢神経系作用や、プロラクチン分泌抑制作用、成長ホルモン分泌促進作用等のホルモン様作用など多くの生理活性を示すことが記載され、さらにシクロロイシルグリシン〔Cyclo(Leu-Gly)〕が記憶機能改善作用を示すことが報告がされている。

[0007] 非特許文献４には、シクロトリプトファニルプロリン〔Cyclo(Trp-Pro)〕に抗癌作用、シクロヒスチジルプロリン〔Cyclo(His-Pro)〕及びシクログリシルプロリン〔Cyclo(Gly-Pro)〕に抗菌作用、シクロヒスチジルプロリン〔Cyclo(His-Pro)〕に神経保護作用、シクログリシルプロリン〔Cyclo(Gly-Pro)

〕に記憶機能改善作用、シクロトリプトファニルプロリン〔Cyclo(Trp-Pro)〕及びシクロフェニルアラニルプロリン〔Cyclo(Phe-Pro)〕に生物性除草剤としての作用があることが記載されている。

[0008] エンドセリン受容体拮抗作用に関しては、Trp-Trpを基本骨格とする直鎖状ジペプチドが利用可能であることが報告されている（特許文献３）。しかしながら、直鎖状ジペプチドは極性基であるアミノ基とカルボキシル基が末端に露出しているため、脂溶性に欠けるという問題点が存在する。そのため、直鎖状ジペプチドは、植物油やオリーブ油、魚油、米胚芽油といった油性基材への高濃度での混合が難しい場合がある。また、直鎖状ジペプチドは、消化管に分泌されるカルボキシペプチダーゼやアミノペプチダーゼなどの各種ペプチダーゼの作用によって遊離アミノ酸に分解されることがあり（非特許文献５）、この特性によって体内への吸収性が低くなることも考えられる。以上の点から、効果の高いエンドセリン受容体拮抗剤の中でも、より副作用が少なく、油性基材への適用も可能であり、更には体内への吸収性にも優れているものが望ましいと考えられる。

先行技術文献

特許文献

[0009] 特許文献1：特開２０１２－２０９５０号公報

特許文献2：特表２０１２－５１７９９８号公報

特許文献3：特開平５－３３１１８６号公報

非特許文献

[0010] 非特許文献1：Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2002 Apr 1;22(4):674-679.

非特許文献2：PLoS One. 2014 Jul 7;9(7):e102009

非特許文献3：Peptides, 16(1), 151-164(1995)

非特許文献4：Chemical Reviews, 112, 3641-3716(2012)

非特許文献5：J Biochem., Aug;94(2):619-22 (1983)

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0011] 本発明の課題は、安全性が高く、製剤化における使用性に優れており、更には体内への高い吸収性が期待できるエンドセリン受容体拮抗用組成物を提供することにある。また、本発明の課題は、エンドセリンのエンドセリン受容体への結合を阻害するための当該組成物の使用、及びエンドセリンのエンドセリン受容体への結合を阻害する等を提供することにある。

課題を解決するための手段

[0012] 本発明者らは、上記課題について鋭意検討した結果、アミノ酸を構成単位とする環状ジペプチドの利用に着目し、その環状ジペプチドがエンドセリン受容体拮抗作用を有することを初めて見出した。かかる知見に基づき、本発明者らは本発明を完成するに至った。

[0013] 即ち、本発明は以下に関するが、これらに限定されない。

（１）アミノ酸を構成単位とする環状ジペプチド又はその塩を有効成分として含有する、エンドセリン受容体拮抗用組成物。

（２）環状ジペプチド又はその塩が、シクロアルギニルバリン〔Cyclo(Arg-Val)〕、シクログルタミニルバリン〔Cyclo(Gln-Val)〕、シクロセリルトレオニン〔Cyclo(Ser-Thr)〕、シクロイソロイシルセリン〔Cyclo(Ile-Ser)〕、シクロセリルバリン〔Cyclo(Ser-Val)〕、シクロヒスチジルバリン〔Cyclo(His-Val)〕、シクログルタミルロイシン〔Cyclo(Glu-Leu)〕、シクロアスパラギニルチロシン〔Cyclo(Asn-Tyr)〕、シクロイソロイシルプロリン〔Cyclo(Ile-Pro)〕、シクロアルギニルアスパラギン酸〔Cyclo(Arg-Asp)〕、及びシクロアスパラギニルトリプトファン〔Cyclo(Asn-Trp)〕からなる群から選択される１つ又は２つ以上を含むものである、（１）に記載のエンドセリン受容体拮抗用組成物。

（３）エンドセリン受容体がエンドセリン受容体Ｂ（ET-B）である、（１）または（２）に記載のエンドセリン受容体拮抗用組成物。

（４）血圧上昇抑制用、血流改善用、脳浮腫形成抑制用、表皮におけるメラニン生成若しくは色素沈着の改善若しくは予防用、又は高血圧症の予防若し

くは治療用である、（１）～（３）のいずれかに記載のエンドセリン受容体拮抗用組成物。

（５）環状ジペプチド又はその塩が動植物由来ペプチドから得られるものである、（１）～（４）のいずれかに記載のエンドセリン受容体拮抗用組成物。

（６）エンドセリン受容体結合物質のエンドセリン受容体への結合阻害により発揮される機能の表示を付した、（１）～（５）のいずれかに記載のエンドセリン受容体拮抗用組成物。

（７）機能の表示が、「血圧低下を期待する」、「血圧の上昇を抑制する」、「血圧の上昇を緩やかにする」、「起床時の急な血圧の上昇を抑制する」、「血流改善を期待する」、「血流を改善する」、「血流を緩やかにする」、「脳浮腫形成を抑制する」、「肌の色素沈着が気になる」、「高血圧症を予防する」、及び「高血圧症の改善に役立つ」からなる群から選択されるものである、（６）に記載のエンドセリン受容体拮抗用組成物。

（８）前記組成物が剤である、（１）～（７）のいずれかに記載のエンドセリン受容体拮抗用組成物。

（９）エンドセリン受容体結合物質のエンドセリン受容体への結合を阻害するための、アミノ酸を構成単位とする環状ジペプチド又はその塩の使用であって、

前記環状ジペプチド又はその塩が、シクロアルギニルバリン〔Cyclo(Arg-Val)〕、シクログルタミニルバリン〔Cyclo(Gln-Val)〕、シクロセリルトレオニン〔Cyclo(Ser-Thr)〕、シクロイソロイシルセリン〔Cyclo(Ile-Ser)〕、シクロセリルバリン〔Cyclo(Ser-Val)〕、シクロヒスチジルバリン〔Cyclo(His-Val)〕、シクログルタミルロイシン〔Cyclo(Glu-Leu)〕、シクロアスパラギニルチロシン〔Cyclo(Asn-Tyr)〕、シクロイソロイシルプロリン〔Cyclo(Ile-Pro)〕、シクロアルギニルアスパラギン酸〔Cyclo(Arg-Asp)〕、及びシクロアスパラギニルトリプトファン〔Cyclo(Asn-Trp)〕からなる群から選択される１つ又は２つ以上を含むものである、前記使用。

（１０）アミノ酸を構成単位とする環状ジペプチド又はその塩を有効成分として使用する、エンドセリン受容体結合物質のエンドセリン受容体への結合を阻害する方法であって、

前記環状ジペプチド又はその塩が、シクロアルギニルバリン〔Cyclo(Arg-Val)〕、シクログルタミニルバリン〔Cyclo(Gln-Val)〕、シクロセリルトレオニン〔Cyclo(Ser-Thr)〕、シクロイソロイシルセリン〔Cyclo(Ile-Ser)〕、シクロセリルバリン〔Cyclo(Ser-Val)〕、シクロヒスチジルバリン〔Cyclo(His-Val)〕、シクログルタミルロイシン〔Cyclo(Glu-Leu)〕、シクロアスパラギニルチロシン〔Cyclo(Asn-Tyr)〕、シクロイソロイシルプロリン〔Cyclo(Ile-Pro)〕、シクロアルギニルアスパラギン酸〔Cyclo(Arg-Asp)〕、及びシクロアスパラギニルトリプトファン〔Cyclo(Asn-Trp)〕からなる群から選択される１つ又は２つ以上を含むものである、前記方法。

発明の効果

[0014] 本発明によって、優れたエンドセリン受容体拮抗効果を有する組成物を提供することができる。本発明の組成物を利用すれば、高血圧症、とりわけ肺高血圧症の予防または治療効果が期待でき、血流改善、脳浮腫形成抑制の目的において本発明の組成物は有効であり得る。また、本発明の組成物は、エンドセリンの作用を抑えることにより、表皮におけるメラニン生成や色素沈着を効果的に抑制することが期待できる。

[0015] 本発明の組成物に有効成分として含まれる環状ジペプチド又はその塩は、食品タンパク質由来ペプチドの熱処理物にも含まれていることから安全性は高く、副作用は従来の医薬品に比して極めて少ないと考えられる。また、環状ジペプチドは直鎖状ジペプチドと比較して親油性に優れており、油性基材への高濃度充填も十分に可能である。そのため、本発明の組成物は、製剤化における使用性に優れているといえる。さらに、環状ジペプチドは脂溶性に富み、且つ単なるペプチド結合のみで構成されるジペプチドではないため、消化管に分泌される各種ペプチド分解酵素の作用に対して耐性を有することが考えられ、高い消化管吸収性も期待できる。

発明を実施するための形態

[0016] １．エンドセリン受容体拮抗作用

本明細書において、「エンドセリン受容体拮抗作用」とは、エンドセリンのエンドセリン受容体への結合に拮抗（競合）してそのエンドセリンの結合を阻害する作用を意味し、そのような拮抗作用を有する組成物を「エンドセリン受容体拮抗用組成物」という。エンドセリンは肺、腎臓、脳、下垂体、胎盤等の各種組織又は血管内皮由来のペプチドであり、ＥＴ－１、ＥＴ－２、ＥＴ－３という３種類のペプチド異性体が存在している。エンドセリン受容体にはＥＴ－ＡとＥＴ－Ｂの２種類のサブタイプが存在しており、そのうちＥＴ－ＡはＥＴ－１及びＥＴ－２に高い親和性を示し、ＥＴ－３に対しては低い親和性を示す。他方、エンドセリン受容体ＥＴ－Ｂは、上記の３種のペプチド異性体に対して同等の親和性を示す。

[0017] エンドセリン受容体拮抗作用は、公知の方法に従って評価することができる。例えば、エンドセリン受容体を発現した細胞を用いて、エンドセリンを添加したときの細胞内カルシウムイオン濃度の変化を測定し、試料が存在する場合と存在しない場合との測定値を比較して評価することができる。より具体的には、試料が存在しない場合の測定値に対して試料が存在する測定値の方が低い（即ち、細胞内カルシウムイオン濃度の変化が小さい）ほど、エンドセリン受容体拮抗作用は大きいと評価することができる。

[0018] ２．環状ジペプチド

本明細書において「環状ジペプチド」とは、アミノ酸を構成単位とすることを特徴とし、アミノ酸のアミノ基とカルボキシル基とが脱水縮合することにより生成したジケトピペラジン構造を有する環状ジペプチドのことをいう。そのため、環状ジペプチドは、鎖状のジペプチドとは区別される。尚、本明細書において、環状ジペプチド又はその塩をまとめて、単に、環状ジペプチドと称する場合がある。また、本明細書において、環状ジペプチドのアミノ酸構成が同じであれば、それらの記載順序はいずれが先でも構わず、例えば、〔Cyclo(Met-Arg)〕と〔Cyclo(Arg-Met)〕とは同じ環状ジペプチドを表

すものである。

[0019] 環状ジペプチドではアミド結合を介して二個のアミノ酸の末端部分が結合しているため（即ち、環状ジペプチドは、アミノ末端とカルボキシ末端とがアミド結合することによって形成される環状構造を有しているため）、分子末端部分に極性基であるカルボキシル基やアミノ基が露出している直鎖状ジペプチド（特に、同種のアミノ酸組成からなる直鎖状ジペプチド）と比較して環状ジペプチドは脂溶性が高いという特徴を有する。そのため、環状ジペプチドは直鎖状のジペプチドと比較して、消化管透過性や膜透過性に優れる。このことは、過去に報告されているラット反転腸管を用いた化合物透過試験の結果からも明らかである（J. Pharmacol, 1998, 50: 167-172）。また環状ジペプチドは、その特異的な構造から各種ペプチダーゼに対する耐性も高まると考えられる。

[0020] 本発明においては、環状ジペプチド又はその塩が有効成分として用いられる。本発明の一態様として、環状ジペプチド又はその塩は、シクロアルギニルバリン〔Cyclo(Arg-Val)〕、シクログルタミニルバリン〔Cyclo(Gln-Val)〕、シクロセリルトレオニン〔Cyclo(Ser-Thr)〕、シクロイソロイシルセリン〔Cyclo(Ile-Ser)〕、シクロセリルバリン〔Cyclo(Ser-Val)〕、シクロヒスチジルバリン〔Cyclo(His-Val)〕、シクログルタミルロイシン〔Cyclo(Glu-Leu)〕、シクロアスパラギニルチロシン〔Cyclo(Asn-Tyr)〕、シクロイソロイシルプロリン〔Cyclo(Ile-Pro)〕、シクロアルギニルアスパラギン酸〔Cyclo(Arg-Asp)〕、及びシクロアスパラギニルトリプトファン〔Cyclo(Asn-Trp)〕からなる群から選択される１つ又は２つ以上のものである。環状ジペプチド又はその塩の数は特に限定されないが、本発明では、上述した環状ジペプチド又はその塩から選択される３つ以上を有効成分とすることが好ましい。また、前記環状ジペプチド又はその塩の中では、シクロセリルバリン〔Cyclo(Ser-Val)〕、シクロヒスチジルバリン〔Cyclo(His-Val)〕、シクロイソロイシルセリン〔Cyclo(Ile-Ser)〕、シクロアルギニルアスパラギン酸〔Cyclo(Arg-Asp)〕、シクログルタミルロイシン〔Cyclo(Glu-Leu)〕、及びシクロイソ

ロイシルプロリン〔Cyclo(Ile-Pro)〕からなる群から選択される１つ又は２つ以上が好ましく、シクロセリルバリン〔Cyclo(Ser-Val)〕、及び／又はシクロヒスチジルバリン〔Cyclo(His-Val)〕がより好ましい。

[0021] 本明細書において「環状ジペプチドの塩」とは、前記環状ジペプチドの薬理学的に許容される任意の塩（無機塩及び有機塩を含む）をいい、例えば、前記環状ジペプチドのナトリウム塩、カリウム塩、カルシウム塩、マグネシウム塩、アンモニウム塩、塩酸塩、硫酸塩、硝酸塩、燐酸塩、有機酸塩（酢酸塩、クエン酸塩、マレイン酸塩、リンゴ酸塩、シュウ酸塩、乳酸塩、コハク酸塩、フマル酸塩、プロピオン酸塩、蟻酸塩、安息香酸塩、ピクリン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、トリフルオロ酢酸塩等）等が挙げられるが、これらに限定されない。環状ジペプチドの塩は、当該分野で公知の任意の方法により、当業者によって容易に調製され得る。

[0022] 本発明で用いる環状ジペプチドは、当該分野で公知の方法に従って調製することができる。例えば、化学合成法や酵素法、微生物発酵法により製造されてもよく、直鎖状ペプチドを脱水及び環化させることにより合成されてもよく、特開２００３－２５２８９６号公報やJournal of Peptide Science, 10, 737-737, 2004に記載の方法に従って調製することもできる。例えば、動植物由来タンパク質を含む原料に酵素処理や熱処理を施して得られる動植物由来ペプチドを、さらに後述のように高温加熱処理することで、環状ジペプチドを豊富に含む動植物由来ペプチド熱処理物を得ることができる。これらの点から、本発明で用いる環状ジペプチド又はその塩は、化学的又は生物的に合成されるものであってもよいし、或いは動植物由来ペプチドから得られるものであってもよい。

[0023] ３．動植物由来ペプチド

本明細書における「動植物由来ペプチド」は特に限定されないが、例えば、大豆ペプチド、茶ペプチド、麦芽ペプチド、乳ペプチド、プラセンタペプチド、コラーゲンペプチド等を用いることができる。動植物由来のタンパク質又はタンパク質を含む原料から動植物由来ペプチドを調製して用いてもよ

いが、市販品を用いてもよい。

[0024] ３－１．大豆ペプチド

本明細書でいう「大豆ペプチド」とは、大豆タンパク質に酵素処理や熱処理を施し、タンパク質を低分子化することによって得られる低分子ペプチドをいう。原料となる大豆（学名：Glycine max）は品種や産地などの制限なく用いることができ、粉砕品などの加工品段階のものを用いることもできる。

[0025] ３－２．茶ペプチド

本明細書でいう「茶ペプチド」とは、茶（茶葉や茶殻を含む）抽出物に酵素処理や熱処理を施し、タンパク質を低分子化することによって得られる茶由来の低分子ペプチドをいう。抽出原料となる茶葉としては、茶樹（学名：Camellia sinensis）を用いて製造された茶葉の葉、茎など、抽出して飲用可能な部位を使用することができる。また、その形態も大葉、粉状など制限されない。茶葉の収穫期についても、所望する香味に合わせて適宜選択できる。

[0026] ３－３．麦芽ペプチド

本明細書でいう「麦芽ペプチド」とは、麦芽又はその粉砕物から得られる抽出物に酵素処理や熱処理を施し、タンパク質を低分子化することによって得られる麦芽由来の低分子ペプチドをいう。原料となる麦芽ペプチドは、品種や産地などの制限なく用いることができるが、特に大麦の種子を発芽させた大麦麦芽が好適に用いられる。本明細書においては、大麦麦芽を単に「麦芽」と表記することもある。

[0027] ３－４．乳ペプチド

本明細書でいう「乳ペプチド」とは、天然の乳由来の成分である乳蛋白質をアミノ酸が少なくとも数個結合した分子に分解したものである。より具体的には、ホエイ（乳清タンパク質）又はカゼイン等の乳蛋白質をプロテナーゼ等の酵素により加水分解し、これを濾過して得られる濾液を殺菌及び／又は濃縮して乾燥することにより得られるホエイペプチド、カゼインペプチド等が挙げられる。

[0028] ３－５．プラセンタペプチド

プラセンタとは哺乳類の胎盤のことであり、その優れた機能性から、近年、健康食品、化粧品、医薬品素材として用いられている。本明細書において「プラセンタペプチド」とは、プラセンタを酵素処理、又は亜臨界処理により可溶化、低分子化したものをいう。また、本来の意味とは異なるが、植物の胎座から得られる抽出物が胎盤由来のプラセンタと同等の生理学的効果を有するものとして健康食品、化粧品等に利用されており、これらは植物プラセンタと呼ばれる。本明細書における「プラセンタペプチド」には、植物プラセンタに酵素処理、又は亜臨界処理等を施し、可溶化、低分子化したものも含まれる。

[0029] ３－６．コラーゲンペプチド

本明細書でいう「コラーゲンペプチド」とは、コラーゲン又はその粉砕物を酵素処理や熱処理を施し、コラーゲンを低分子化することによって得られる低分子ペプチドをいう。コラーゲンは動物の結合組織の主要なタンパク質であり、ヒトを含めた哺乳類の身体に最も大量に含まれるタンパク質である。

[0030] ４．動植物由来ペプチド熱処理物

上述した通り、動植物由来ペプチドを高温加熱処理することで、環状ジペプチドを豊富に含む動植物由来ペプチド熱処理物を得ることができる。本明細書において「高温加熱処理」とは、１００℃以上の温度かつ大気圧を超える圧力下で一定時間処理することを意味する。高温高圧処理装置としては、耐圧性抽出装置や圧力鍋、オートクレーブなどを条件に合わせて用いることができる。

[0031] 高温加熱処理における温度は、１００℃以上である限り特に限定されないが、好ましくは１００℃～１７０℃、より好ましくは１１０℃～１５０℃、さらにより好ましくは１２０℃～１４０℃である。尚、この温度は、加熱装置として耐圧性抽出装置を用いた場合には抽出カラムの出口温度を測定した値を示し、加熱装置としてオートクレーブを用いた場合には、圧力容器内の

中心温度の温度を測定した値を示す。

[0032] 高温加熱処理における圧力は、大気圧を超える圧力である限り特に限定されないが、好ましくは０．１０１ＭＰａ～０．７９ＭＰａ、より好ましくは０．１０１ＭＰａ～０．６０ＭＰａ、さらにより好ましくは０．１０１ＭＰａ～０．４８ＭＰａである。

[0033] 高温加熱処理時間は、環状ジペプチドを含む処理物が得られる限り特に限定されないが、好ましくは１５分～６００分程度、より好ましくは３０分～５００分程度、さらにより好ましくは６０分～３００分程度である。

[0034] また、動植物由来ペプチドの高温加熱処理条件は、環状ジペプチドを含む処理物が得られる限り特に限定されないが、好ましくは［温度：圧力：時間］が［１００℃～１７０℃：０．１０１ＭＰａ～０．７９ＭＰａ：１５分～６００分］、より好ましくは［１１０℃～１５０℃：０．１０１ＭＰａ～０．６０ＭＰａ：３０分～５００分］、さらにより好ましくは［１２０℃～１４０℃：０．１０１ＭＰａ～０．４８ＭＰａ：６０分～３００分］である。

[0035] 尚、得られた動植物由来ペプチド熱処理物に対して、所望により、濾過、遠心分離、濃縮、限外濾過、凍結乾燥、粉末化等の処理を行ってもよい。また、動植物由来ペプチド熱処理物中の特定の環状ジペプチドが所望の含有量に満たなければ、不足する特定の環状ジペプチドについては他の動植物由来ペプチドや市販品、合成品を用いて適宜追加することもできる。

[0036] ５．エンドセリン受容体拮抗用組成物

５－１．環状ジペプチド含有エンドセリン受容体拮抗用組成物

本発明の一態様は、環状ジペプチド又はその塩を有効成分として含むエンドセリン受容体拮抗用組成物である。

[0037] 本発明の更なる一態様として、エンドセリン受容体拮抗用組成物は、シクロアルギニルバリン〔Cyclo(Arg-Val)〕、シクログルタミニルバリン〔Cyclo(Gln-Val)〕、シクロセリルトレオニン〔Cyclo(Ser-Thr)〕、シクロイソロイシルセリン〔Cyclo(Ile-Ser)〕、シクロセリルバリン〔Cyclo(Ser-Val)〕、シクロヒスチジルバリン〔Cyclo(His-Val)〕、シクログルタミルロイシン〔C

yclo(Glu-Leu)〕、シクロアスパラギニルチロシン〔Cyclo(Asn-Tyr)〕、シクロイソロイシルプロリン〔Cyclo(Ile-Pro)〕、シクロアルギニルアスパラギン酸〔Cyclo(Arg-Asp)〕、及びシクロアスパラギニルトリプトファン〔Cyclo(Asn-Trp)〕からなる群から選択される１つ又は２つ以上の環状ジペプチド又はその塩を有効成分として含むものである。本発明のエンドセリン受容体拮抗用組成物に含まれる環状ジペプチド又はその塩の数は特に限定されないが、本発明では、上述した環状ジペプチド又はその塩から選択される３つ以上が含まれることが好ましい。前記環状ジペプチド又はその塩の中では、シクロセリルバリン〔Cyclo(Ser-Val)〕、シクロヒスチジルバリン〔Cyclo(His-Val)〕、シクロイソロイシルセリン〔Cyclo(Ile-Ser)〕、シクロアルギニルアスパラギン酸〔Cyclo(Arg-Asp)〕、シクログルタミルロイシン〔Cyclo(Glu-Leu)〕、及びシクロイソロイシルプロリン〔Cyclo(Ile-Pro)〕からなる群から選択される１つ又は２つ以上が好ましく、シクロセリルバリン〔Cyclo(Ser-Val)〕、及び／又はシクロヒスチジルバリン〔Cyclo(His-Val)〕がより好ましい。

[0038] 本発明のエンドセリン受容体拮抗用組成物における環状ジペプチド又はその塩の含有量は、その投与形態、投与方法などを考慮し、本発明の所望の効果が得られるような量であればよく、特に限定されるものではない。例えば、動植物由来ペプチドを原料として用いる場合、本発明のエンドセリン受容体拮抗用組成物におけるシクロアルギニルバリン〔Cyclo(Arg-Val)〕、シクログルタミニルバリン〔Cyclo(Gln-Val)〕、シクロセリルトレオニン〔Cyclo(Ser-Thr)〕、シクロイソロイシルセリン〔Cyclo(Ile-Ser)〕、シクロセリルバリン〔Cyclo(Ser-Val)〕、シクロヒスチジルバリン〔Cyclo(His-Val)〕、シクログルタミルロイシン〔Cyclo(Glu-Leu)〕、シクロアスパラギニルチロシン〔Cyclo(Asn-Tyr)〕、シクロイソロイシルプロリン〔Cyclo(Ile-Pro)〕、シクロアルギニルアスパラギン酸〔Cyclo(Arg-Asp)〕、シクロアスパラギニルトリプトファン〔Cyclo(Asn-Trp)〕、又はそれぞれに対応する塩の総含有量としては、１．０×１０ｐｐｍ／Ｂｒｉｘ以上、好ましくは１．０×１

0^2ｐｐｍ／Ｂｒｉｘ以上であり、１．０×10^4ｐｐｍ／Ｂｒｉｘ以下、好ましくは５．０×10^3ｐｐｍ／Ｂｒｉｘ以下である。前記の含有量は、合成品又は精製品の環状ジペプチド又はその塩を用いた場合にも適用可能である。本発明において、環状ジペプチド又はその塩の含有量は上記の通りＢｒｉｘ（ブリックス）あたりの量で表される。本明細書において「Ｂｒｉｘあたりの量」は、２０℃のショ糖溶液（ショ糖のみを溶質として含む水溶液）の質量百分率に相当する値で定められる量を意味する。尚、特に断りがない限り、本明細書において用いる「ｐｐｍ」は、重量／容量（ｗ／ｖ）のｐｐｍを意味し、１．０ｐｐｍ／Ｂｒｉｘは溶媒の比重が１の場合、０．１ｍｇ／ｍＬと換算され、０．０１重量％と換算されるものである。

[0039] 環状ジペプチド又はその塩の含有量は、公知の方法に従って測定することができる。例えば、ＬＣ－ＭＳ／ＭＳ又は糖度計を使用することで測定することができる。

[0040] ５－２．作用メカニズム

エンドセリンは、一過性の血管拡張作用と、それに続く持続的な血管収縮作用を有している。体内で産生されたエンドセリンは、エンドセリン受容体に結合することにより、その血管収縮機能を発現する。そのため、エンドセリンのその受容体への結合を阻害することは血管収縮の抑制に通じ、それによって血圧上昇を抑制し、又は血流を改善することが可能となる。また、エンドセリンはチロシナーゼの活性を増強したり、紫外線誘導性色素沈着や老人性色素斑形成の原因となるため、エンドセリンのその受容体への結合を阻害することで、メラニン形成や色素沈着の予防や改善に有効である。このエンドセリンの受容体への結合阻害は、本発明のエンドセリン受容体拮抗用組成物を用いて行うことができる。

[0041] ５－３．他の成分

本発明のエンドセリン受容体拮抗用組成物は、その形態に応じて、環状ジペプチド又はその塩の他に、任意の添加剤、通常用いられる任意の成分を含有することができる。これらの添加剤及び／又は成分の例としては、ビタミ

ンＥ、ビタミンＣ等のビタミン類、ミネラル類、栄養成分、香料などの生理活性成分の他、製剤化において配合される賦形剤、結合剤、乳化剤、緊張化剤（等張化剤）、緩衝剤、溶解補助剤、防腐剤、安定化剤、抗酸化剤、着色剤、凝固剤、又はコーティング剤等が挙げられるが、これらに限定されるものではない。

[0042] ５－４．用途

本発明のエンドセリン受容体拮抗用組成物は、前述の環状ジペプチド又はその塩を有効成分として含有することを特徴としており、当該有効成分がエンドセリンのその受容体への結合に拮抗し得る。上述した通り、エンドセリン受容体にはＥＴ－Ａ及びＥＴ－Ｂの２種類のサブタイプが含まれることから、本発明の組成物は、エンドセリン受容体ＥＴ－Ａ拮抗用組成物及び／又はエンドセリン受容体ＥＴ－Ｂ拮抗用組成物となり得る。また、本発明における有効成分は、エンドセリンの結合のみならず、それと同様の効果を有する類似化合物のエンドセリン受容体への結合も阻止することができる。そのため、本明細書では、エンドセリンやその類似化合物を含めてエンドセリン受容体（ＥＴ－Ａ及び／又はＥＴ－Ｂ）に結合可能な物質を「エンドセリン受容体結合物質」と称する。

[0043] 本発明のエンドセリン受容体拮抗用組成物に含まれる前述の環状ジペプチド又はその塩は、エンドセリンのその受容体への結合阻害を通じて血圧上昇の抑制や血流の改善を行うことができる。そのため、本発明の一つの態様は、環状ジペプチド又はその塩を有効成分として含有する、血圧上昇抑制用のエンドセリン受容体拮抗用組成物である。当該用途に基づき、本発明のエンドセリン受容体拮抗用組成物は、血圧上昇抑制用組成物ともなり得る。また、本発明の別の態様は、環状ジペプチド又はその塩を有効成分として含有する、血流改善用のエンドセリン受容体拮抗用組成物である。当該用途に基づき、本発明のエンドセリン受容体拮抗用組成物は、血流改善用組成物ともなり得る。

[0044] 本発明のエンドセリン受容体拮抗用組成物に含まれる前述の環状ジペプチ

ド又はその塩はまた、表皮におけるメラニン生成や色素沈着等の改善または予防にも有用であり得る。そのため、本発明の組成物は、環状ジペプチド又はその塩を有効成分として含有するエンドセリン受容体拮抗用組成物であって、メラニン生成や色素沈着等の予防または治療用の組成物となり得る。これらの用途に基づき、本発明のエンドセリン受容体拮抗用組成物は、メラニン生成や色素沈着等の予防または治療用組成物となり得る。

[0045] 本発明のエンドセリン受容体拮抗用組成物に含まれる前述の環状ジペプチド又はその塩はまた、脳浮腫形成の抑制、及び高血圧症の予防若しくは治療にも有用であり得る。そのため、本発明の組成物は、環状ジペプチド又はその塩を有効成分として含有するエンドセリン受容体拮抗用組成物であって、脳浮腫形成抑制用、又は高血圧症の予防若しくは治療用の組成物となり得る。これらの用途に基づき、本発明のエンドセリン受容体拮抗用組成物は、脳浮腫形成抑制用組成物、又は高血圧症の予防若しくは治療用組成物となり得る。

[0046] 血圧上昇抑制作用及び／又は血流改善作用を有する本発明の組成物は、降圧用組成物としても有用である。また、血圧上昇に関連して、高血圧症、肺高血圧症、及び高血圧症に起因する疾患（脳卒中、心疾患、腎不全等）等の治療及び／又は予防にも本発明のエンドセリン受容体拮抗用組成物は有用である。なお、脳卒中においては脳梗塞、脳出血、くも膜下出血等が含まれ、心疾患においては狭心症、心筋梗塞、心肥大、心不全等が含まれる。

[0047] 本発明のエンドセリン受容体拮抗用組成物は、例えば、前記環状ジペプチド又はその塩を含有する原料に、所望により溶剤、分散剤、乳化剤、緩衝剤、安定剤、賦形剤、結合剤、崩壊剤、又は滑沢剤等を加えて、公知の方法に従って、錠剤、顆粒剤、散剤、粉末剤、又はカプセル剤等の固形剤や、通常液剤、懸濁剤、又は乳剤等の液剤等に製剤化することができる。これらの組成物はそのまま水等と共に服用することができる。また、容易に配合することが出来る形態（例えば、粉末形態や顆粒形態）に調製後、例えば、医薬品の原材料として用いることができる。

[0048] 本発明のエンドセリン受容体拮抗用組成物は、一例として、剤の形態で提供することができるが、本形態に限定されるものではない。当該剤をそのまま組成物として、或いは当該剤を含む組成物として提供することもできる。本発明の組成物としては、医薬組成物、飲食品組成物、食品組成物、飲料組成物、化粧用組成物等が挙げられるが、これらに限定されない。食品組成物の限定的でない例として、機能性食品、健康補助食品、栄養機能食品、特別用途食品、特定保健用食品、栄養補助食品、食事療法用食品、健康食品、サプリメント、食品添加剤等が挙げられる。

[0049] 本発明のエンドセリン受容体拮抗用組成物は、治療的用途（医療用途）又は非治療用途（非医療用途）のいずれにも適用することができる。具体的には、医薬品、医薬部外品及び化粧料等や薬事法上はこれらに属さないが、血圧低下を期待する効果、血圧の上昇を抑制する効果、血圧の上昇を緩やかにする効果、血流を改善する効果、血流を緩やかにする効果、表皮におけるメラニン生成および色素沈着を抑制する効果、脳浮腫の形成を抑制する効果等を明示的又は暗示的に訴求する組成物としての使用が挙げられる。

[0050] 本発明は、別の側面では、血圧の上昇抑制及び／又は血流改善により発揮される機能の表示を付した、前記エンドセリン受容体拮抗用組成物を含有する組成物に関する。このような表示又は機能表示は特に限定されないが、例えば、「血圧低下を期待する」、「血圧の上昇を抑制する」、「血圧の上昇を緩やかにする」、「血流を改善する」、「血流を緩やかにする」、「脳浮腫形成を抑制する」、「色素沈着を抑制する」などが挙げられる。本明細書において、当該表示及び機能表示のような表示は、組成物自体に付されてもよいし、組成物の容器又は包装に付されていてもよい。

[0051] 本発明のエンドセリン受容体拮抗用組成物は、その形態に応じた適当な方法で摂取することができる。摂取方法は、本発明に係る環状ジペプチド又はその塩が循環血中に移行できるのであれば特に限定はない。例えば、錠剤、被覆錠剤、顆粒剤、散剤、又はカプセル剤等の経口用固形製剤、内服液剤、又はシロップ剤等の経口用液体製剤、注射剤、外用剤、坐剤、又は経皮吸収

剤等の非経口用製剤などの形態とすることができるが、これらに限定されない。なお、本明細書において「摂取」とは、摂取、服用、又は飲用等の全態様を含むものとして用いられる。

[0052] 本発明のエンドセリン受容体拮抗用組成物の適用量は、その形態、投与方法、使用目的及び投与対象である患者又は患獣の年齢、体重、症状によって適時設定され、一定ではない。本発明の組成物の有効ヒト摂取量は一定ではないが、例えば、その有効成分である環状ジペプチド又はその塩の重量として、体重５０ｋｇのヒトで一日あたり、好ましくは１０ｍｇ以上、より好ましくは１００ｍｇ以上である。また、投与は所望の投与量範囲内において、１日内において単回又は数回に分けて行ってもよい。投与期間も任意である。尚、本発明の組成物の有効ヒト摂取量とは、ヒトにおいて有効な効果を示す本発明のエンドセリン受容体拮抗用組成物の摂取量のことであり、当該組成物に含まれる環状ジペプチドの種類は特に限定されない。

[0053] 本発明のエンドセリン受容体拮抗用組成物の適用対象は、好ましくはヒトであるが、ウシ、ウマ、ヤギ等の家畜動物、イヌ、ネコ、ウサギ等のペット動物、又は、マウス、ラット、モルモット、サル等の実験動物であってもよい。

[0054] ６．エンドセリン受容体結合物質のエンドセリン受容体への結合を阻害するための環状ジペプチド又はその塩の使用

本発明の一態様は、アミノ酸を構成単位とする特定の環状ジペプチド又はその塩の、エンドセリン受容体結合物質のエンドセリン受容体への結合を阻害するための使用である。好ましくは、シクロアルギニルバリン〔Cyclo(Arg-Val)〕、シクログルタミニルバリン〔Cyclo(Gln-Val)〕、シクロセリルトレオニン〔Cyclo(Ser-Thr)〕、シクロイソロイシルセリン〔Cyclo(Ile-Ser)〕、シクロセリルバリン〔Cyclo(Ser-Val)〕、シクロヒスチジルバリン〔Cyclo(His-Val)〕、シクログルタミルロイシン〔Cyclo(Glu-Leu)〕、シクロアスパラギニルチロシン〔Cyclo(Asn-Tyr)〕、シクロイソロイシルプロリン〔Cyclo(Ile-Pro)〕、シクロアルギニルアスパラギン酸〔Cyclo(Arg-Asp)〕、及びシ

クロアスパラギニルトリプトファン〔Cyclo(Asn-Trp)〕からなる群から選択される１つ又は２つ以上の環状ジペプチド又はその塩の、エンドセリン受容体結合物質のエンドセリン受容体への結合を阻害するための使用である。より好ましくは、前記環状ジペプチド又はその塩から選択される３つ以上を含むものの、エンドセリン受容体結合物質のエンドセリン受容体への結合を阻害するための使用である。本発明の使用において、エンドセリン受容体結合物質は好ましくはエンドセリンである。

[0055] 本発明の使用には、例えば、血圧上昇を抑制するための、及び／又は血流を改善するための、前記環状ジペプチド又はその塩の使用が含まれるが、これらに限定されるものではない。また、当該使用は、ヒト又は非ヒト動物における使用であり、治療的使用であっても非治療的使用であってもよい。ここで、「非治療的」とは、医療行為、即ち、治療による人体への処理行為を含まない概念である。

[0056] ７．エンドセリン受容体結合物質のエンドセリン受容体への結合を阻害する方法

本発明の一態様は、アミノ酸を構成単位とする環状ジペプチド又はその塩を有効成分として使用する、エンドセリン受容体結合物質のエンドセリン受容体への結合を阻害する方法である。当該方法は、好ましくは、シクロアルギニルバリン〔Cyclo(Arg-Val)〕、シクログルタミニルバリン〔Cyclo(Gln-Val)〕、シクロセリルトレオニン〔Cyclo(Ser-Thr)〕、シクロイソロイシルセリン〔Cyclo(Ile-Ser)〕、シクロセリルバリン〔Cyclo(Ser-Val)〕、シクロヒスチジルバリン〔Cyclo(His-Val)〕、シクログルタミルロイシン〔Cyclo(Glu-Leu)〕、シクロアスパラギニルチロシン〔Cyclo(Asn-Tyr)〕、シクロイソロイシルプロリン〔Cyclo(Ile-Pro)〕、シクロアルギニルアスパラギン酸〔Cyclo(Arg-Asp)〕、及びシクロアスパラギニルトリプトファン〔Cyclo(Asn-Trp)〕からなる群から選択される１つ又は２つ以上の環状ジペプチド又はその塩を有効成分として使用することを含む、エンドセリン受容体結合物質のエンドセリン受容体への結合を阻害する方法である。より好ましくは、前記環

状ジペプチド又はその塩から選択される３つ以上を含むものを有効成分として使用することを含む、エンドセリン受容体結合物質のエンドセリン受容体への結合を阻害する方法である。本発明の方法において、エンドセリン受容体結合物質は好ましくはエンドセリンである。

[0057] 当該方法に関する別の態様は、エンドセリン受容体結合物質のエンドセリン受容体への結合阻害を必要とする対象に、特定の環状ジペプチド又はその塩を有効成分として治療有効量を投与することを含む、エンドセリンのエンドセリン受容体への結合を阻害する方法である。好ましくは、シクロアルギニルバリン〔Cyclo(Arg-Val)〕、シクログルタミニルバリン〔Cyclo(Gln-Val)〕、シクロセリルトレオニン〔Cyclo(Ser-Thr)〕、シクロイソロイシルセリン〔Cyclo(Ile-Ser)〕、シクロセリルバリン〔Cyclo(Ser-Val)〕、シクロヒスチジルバリン〔Cyclo(His-Val)〕、シクログルタミルロイシン〔Cyclo(Glu-Leu)〕、シクロアスパラギニルチロシン〔Cyclo(Asn-Tyr)〕、シクロイソロイシルプロリン〔Cyclo(Ile-Pro)〕、シクロアルギニルアスパラギン酸〔Cyclo(Arg-Asp)〕、及びシクロアスパラギニルトリプトファン〔Cyclo(Asn-Trp)〕からなる群から選択される１つ又は２つ以上の環状ジペプチド又はその塩を有効成分として治療有効量を投与することを含む、エンドセリン受容体結合物質のエンドセリン受容体への結合を阻害する方法である。より好ましくは、前記環状ジペプチド又はその塩から選択される３つ以上を含むものを有効成分として治療有効量を投与することを含む、エンドセリンのエンドセリン受容体への結合を阻害する方法である。前記方法において、エンドセリン受容体結合物質は好ましくはエンドセリンである。

[0058] 上記方法において、エンドセリン受容体結合物質のエンドセリン受容体への結合阻害を必要とする対象とは、本発明のエンドセリン受容体拮抗用組成物の前記適用対象と同様である。また、本明細書中において治療有効量とは、本発明のエンドセリン受容体拮抗用組成物を上記対象に投与した場合に、投与していない対象と比較して、エンドセリン受容体結合物質のエンドセリン受容体への結合が抑制される量、血圧上昇抑制効果及び／又は血流改善効

果が発揮される量、或いはメラニン生成抑制効果及び／又は色素沈着抑制効果が発揮される量のことである。具体的な有効量としては、投与形態、投与方法、使用目的及び対象の年齢、体重、症状等によって適時設定され一定ではない。

[0059] 本発明の方法においては、前記治療有効量となるよう、前記特定の環状ジペプチド又はその塩をそのまま、或いは、特定の環状ジペプチド又はその塩を含有する組成物として投与してもよい。

[0060] 本発明の方法によれば、副作用を生じることなくエンドセリンのエンドセリン受容体への結合を阻害すること、血圧上昇抑制及び／又は血流改善を行うこと、或いはメラニン生成抑制及び／又は色素沈着抑制を行うことが可能になる。

実施例

[0061] 以下、本発明を実施例によりさらに詳しく説明するが、これにより本発明の範囲を限定するものではない。当業者は、本発明の方法を種々変更、修飾して使用することが可能であり、これらも本発明の範囲に含まれる。

[0062] 実施例１．エンドセリン受容体（ET-B）に関する拮抗作用

環状ジペプチド標品のエンドセリン受容体における拮抗作用（即ち、エンドセリン受容体結合物質のエンドセリン受容体への結合阻害作用）を調べるため、エンドセリン受容体に対する結合アッセイを実施した。具体的には、ヒト組み換えエンドセリン受容体（ET-B）発現CHO細胞を用い、これに1nMのエンドセリン-1と各種濃度の化学合成された環状ジペプチド標品とを添加して、カルシウムイオンの流入による細胞内カルシウムイオン濃度の変化を測定した。細胞内カルシウムイオン濃度は、蛍光光度分析により定量した。

[0063] 被験環状ジペプチドの拮抗作用については、環状ジペプチドを添加しない場合の応答率（細胞内カルシウムイオン濃度の変化）を100%とし、これに対して環状ジペプチドを添加したときの応答率（%）を評価した。その結果を表１に示す。

[0064]

[表1]

化合物	濃度(μM)	応答率(%)
Cyclo(Arg-Val)	100	88.0
Cyclo(Gln-Val)	100	89.5
Cyclo(Ser-Thr)	100	88.8
Cyclo(Ile-Ser)	100	86.2
Cyclo(Ser-Val)	100	75.8
Cyclo(His-Val)	100	80.4
Cyclo(Glu-Leu)	100	86.6
Cyclo(Asn-Tyr)	100	88.7
Cyclo(Ile-Pro)	100	86.7
Cyclo(Arg-Asp)	100	86.4
Cyclo(Asn-Trp)	100	88.2

[0065] 上記の結果から、表１に示した環状ジペプチドはいずれもエンドセリン受容体における拮抗作用（即ち、エンドセリン受容体結合物質のエンドセリン受容体への結合阻害作用）を有することが明らかとなった。

産業上の利用可能性

[0066] 本発明は、特定の環状ジペプチド又はその塩を有効成分として含有するエンドセリン受容体拮抗用組成物を提供するものである。本発明は、血圧上昇抑制、血流改善、脳浮腫形成抑制、表皮の色素沈着抑制などに資する安全で効果的な新たな手段を提供するものであるため、産業上の利用性が高い。

請求の範囲

[請求項1] アミノ酸を構成単位とする環状ジペプチド又はその塩を有効成分として含有する、エンドセリン受容体拮抗用組成物。

[請求項2] 環状ジペプチド又はその塩が、シクロアルギニルバリン〔Cyclo(Arg-Val)〕、シクログルタミニルバリン〔Cyclo(Gln-Val)〕、シクロセリルトレオニン〔Cyclo(Ser-Thr)〕、シクロイソロイシルセリン〔Cyclo(Ile-Ser)〕、シクロセリルバリン〔Cyclo(Ser-Val)〕、シクロヒスチジルバリン〔Cyclo(His-Val)〕、シクログルタミルロイシン〔Cyclo(Glu-Leu)〕、シクロアスパラギニルチロシン〔Cyclo(Asn-Tyr)〕、シクロイソロイシルプロリン〔Cyclo(Ile-Pro)〕、シクロアルギニルアスパラギン酸〔Cyclo(Arg-Asp)〕、及びシクロアスパラギニルトリプトファン〔Cyclo(Asn-Trp)〕からなる群から選択される１つ又は２つ以上を含むものである、請求項１に記載のエンドセリン受容体拮抗用組成物。

[請求項3] エンドセリン受容体がエンドセリン受容体Ｂ（ET-B）である、請求項１または２に記載のエンドセリン受容体拮抗用組成物。

[請求項4] 血圧上昇抑制用、血流改善用、脳浮腫形成抑制用、表皮におけるメラニン生成若しくは色素沈着の改善若しくは予防用、又は高血圧症の予防若しくは治療用である、請求項１～３のいずれか一項に記載のエンドセリン受容体拮抗用組成物。

[請求項5] 環状ジペプチド又はその塩が動植物由来ペプチドから得られるものである、請求項１～４のいずれか一項に記載のエンドセリン受容体拮抗用組成物。

[請求項6] エンドセリン受容体結合物質のエンドセリン受容体への結合阻害により発揮される機能の表示を付した、請求項１～５のいずれか１項に記載のエンドセリン受容体拮抗用組成物。

[請求項7] 機能の表示が、「血圧低下を期待する」、「血圧の上昇を抑制する」、「血圧の上昇を緩やかにする」、「起床時の急な血圧の上昇を抑

制する」、「血流改善を期待する」、「血流を改善する」、「血流を緩やかにする」、「脳浮腫形成を抑制する」、「肌の色素沈着が気になる」、「高血圧症を予防する」、及び「高血圧症の改善に役立つ」からなる群から選択されるものである、請求項６に記載のエンドセリン受容体拮抗用組成物。

[請求項8] 前記組成物が剤である、請求項１～７のいずれか１項に記載のエンドセリン受容体拮抗用組成物。

[請求項9] エンドセリン受容体結合物質のエンドセリン受容体への結合を阻害するための、アミノ酸を構成単位とする環状ジペプチド又はその塩の使用であって、

前記環状ジペプチド又はその塩が、シクロアルギニルバリン〔Cyclo(Arg-Val)〕、シクログルタミニルバリン〔Cyclo(Gln-Val)〕、シクロセリルトレオニン〔Cyclo(Ser-Thr)〕、シクロイソロイシルセリン〔Cyclo(Ile-Ser)〕、シクロセリルバリン〔Cyclo(Ser-Val)〕、シクロヒスチジルバリン〔Cyclo(His-Val)〕、シクログルタミルロイシン〔Cyclo(Glu-Leu)〕、シクロアスパラギニルチロシン〔Cyclo(Asn-Tyr)〕、シクロイソロイシルプロリン〔Cyclo(Ile-Pro)〕、シクロアルギニルアスパラギン酸〔Cyclo(Arg-Asp)〕、及びシクロアスパラギニルトリプトファン〔Cyclo(Asn-Trp)〕からなる群から選択される１つ又は２つ以上を含むものである、前記使用。

[請求項10] アミノ酸を構成単位とする環状ジペプチド又はその塩を有効成分として使用する、エンドセリン受容体結合物質のエンドセリン受容体への結合を阻害する方法であって、

前記環状ジペプチド又はその塩が、シクロアルギニルバリン〔Cyclo(Arg-Val)〕、シクログルタミニルバリン〔Cyclo(Gln-Val)〕、シクロセリルトレオニン〔Cyclo(Ser-Thr)〕、シクロイソロイシルセリン〔Cyclo(Ile-Ser)〕、シクロセリルバリン〔Cyclo(Ser-Val)〕、シクロヒスチジルバリン〔Cyclo(His-Val)〕、シクログルタミルロイシン

〔Cyclo(Glu-Leu)〕、シクロアスパラギニルチロシン〔Cyclo(Asn-Tyr)〕、シクロイソロイシルプロリン〔Cyclo(Ile-Pro)〕、シクロアルギニルアスパラギン酸〔Cyclo(Arg-Asp)〕、及びシクロアスパラギニルトリプトファン〔Cyclo(Asn-Trp)〕からなる群から選択される１つ又は２つ以上を含むものである、前記方法。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2016/069230

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
See extra sheet.

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
A61K38/00, A61K8/64, A61K35/20, A61K35/50, A61K36/48, A61K36/82, A61K36/8998, A61P7/10, A61P9/00, A61P9/12, A61P17/00, A61P43/00, A61Q19/02

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2016
Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2016 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2016

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
CAplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN), JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X A	F.R. LUCIETTO et al., The biological activity of the histidine-containing diketopiperazines cyclo(His-Ala) and cyclo(His-Gly), PEPTIDES, 2006, Vol.27, p.2706-2714, particularly, Abstract, page 2710, right column, 3rd paragraph to page 2711, left column, 1st paragraph, Fig. 7	1,3-8 2,9,10
X A	J.P. CAIN et al., Design, synthesis, and biological evaluation of a new class of small molecule peptide mimetics targeting the melanocortin receptors, Bioorg Med Chem Lett, 2006, Vol.16, No.20, p.5462-5467, particularly, Abstract, Table 1	1,3-8 2,9,10

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

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
05 August 2016 (05.08.16)	16 August 2016 (16.08.16)
Name and mailing address of the ISA/ Japan Patent Office 3-4-3,Kasumigaseki,Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915,Japan	Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2016/069230

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 5-279390 A (Banyu Pharmaceutical Co., Ltd.), 26 October 1993 (26.10.1993), claims; examples (Family: none)	1-10
A	A.F. SPATOLA et al., Rediscovering an Endothelin Antagonist (BQ-123): A Self-Deconvoluting Cyclic Pentapeptide Library, Journal of Medicinal Chemistry, 1996, Vol.39, No.19, p.3842-3846	1-10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2016/069230

Continuation of A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
(International Patent Classification (IPC))

A61K38/00(2006.01)i, *A61K8/64*(2006.01)i, *A61K35/20*(2006.01)i, *A61K35/50*(2015.01)i, *A61K36/48*(2006.01)i, *A61K36/82*(2006.01)i, *A61K36/8998*(2006.01)i, *A61P7/10*(2006.01)i, *A61P9/00*(2006.01)i, *A61P9/12*(2006.01)i, *A61P17/00*(2006.01)i, *A61P43/00*(2006.01)i, *A61Q19/02*(2006.01)i

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

国際調査報告

国際出願番号　ＰＣＴ／ＪＰ２０１６／０６９２３０

Ａ．　発明の属する分野の分類（国際特許分類（ＩＰＣ））

Int.Cl.　特別ページ参照

Ｂ．　調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（ＩＰＣ））

Int.Cl.　A61K38/00, A61K8/64, A61K35/20, A61K35/50, A61K36/48, A61K36/82, A61K36/8998, A61P7/10, A61P9/00, A61P9/12, A61P17/00, A61P43/00, A61Q19/02

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	１９２２－１９９６年
日本国公開実用新案公報	１９７１－２０１６年
日本国実用新案登録公報	１９９６－２０１６年
日本国登録実用新案公報	１９９４－２０１６年

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

CAplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN), JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)

Ｃ．　関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー＊	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求項の番号
X A	F.R. LUCIETTO et al., The biological activity of the histidine-containing diketopiperazines cyclo(His-Ala) and cyclo(His-Gly), PEPTIDES, 2006, Vol.27, p.2706-2714, 特に、Abstract、2710頁右欄第3段落～2711頁左欄第1段落、Fig.7	1,3-8 2,9,10

☑　Ｃ欄の続きにも文献が列挙されている。

☐　パテントファミリーに関する別紙を参照。

＊　引用文献のカテゴリー
「Ａ」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「Ｅ」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「Ｌ」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）
「Ｏ」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「Ｐ」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献
「Ｔ」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「Ｘ」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Ｙ」特に関連のある文献であって、当該文献と他の１以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「＆」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日	国際調査報告の発送日
０５．０８．２０１６	１６．０８．２０１６

国際調査機関の名称及びあて先
日本国特許庁（ＩＳＡ／ＪＰ）
郵便番号１００－８９１５
東京都千代田区霞が関三丁目４番３号

特許庁審査官（権限のある職員）　４Ｃ　４８６５
加藤　文彦
電話番号　０３－３５８１－１１０１　内線　３４５２

C（続き）．　関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー＊	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求項の番号
X A	J.P. CAIN et al., Design, synthesis, and biological evaluation of a new class of small molecule peptide mimetics targeting the melanocortin receptors, Bioorg Med Chem Lett, 2006, Vol.16, No.20, p.5462-5467, 特に、Abstract、Table 1	1,3-8 2,9,10
A	JP 5-279390 A（萬有製薬株式会社）1993.10.26, 特許請求の範囲、実施例（ファミリーなし）	1-10
A	A.F. SPATOLA et al., Rediscovering an Endothelin Antagonist (BQ-123): A Self-Deconvoluting Cyclic Pentapeptide Library, Journal of Medicinal Chemistry, 1996, Vol.39, No.19, p.3842-3846	1-10

発明の属する分野の分類
A61K38/00(2006.01)i, A61K8/64(2006.01)i, A61K35/20(2006.01)i, A61K35/50(2015.01)i, A61K36/48(2006.01)i, A61K36/82(2006.01)i, A61K36/8998(2006.01)i, A61P7/10(2006.01)i, A61P9/00(2006.01)i, A61P9/12(2006.01)i, A61P17/00(2006.01)i, A61P43/00(2006.01)i, A61Q19/02(2006.01)i