

(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)



(10) 国際公開番号

WO 2017/002765 A1

- (51) 国際特許分類:
A23L 33/20 (2016.01) *C07K 5/02* (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2016/069034
- (22) 国際出願日: 2016 年 6 月 27 日(27.06.2016)
- (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 2015-131554 2015 年 6 月 30 日(30.06.2015) 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二丁目 1 番 4
0 号 Osaka (JP).
- (72) 発明者: 富貴澤 伸哉(FUKIZAWA, Shinya). 鈴木
寿栄(SUZUKI, Toshihide). 渡辺 斉志
(WATANABE, Hiroshi). ▲ゼイ▼田 満広(ZEIDA,
Mitsuhiro).
- (74) 代理人: 細田 芳徳(HOSODA, Yoshinori); 〒
5406591 大阪府大阪市中央区大手前一丁目 7 番
3 1 号 OMMビル 5 階 私書箱 2 6 号 細田
国際特許事務所内 Osaka (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))

(54) Title: CALORIE-REDUCING COMPOSITION

(54) 発明の名称: カロリー低減用組成物

(57) Abstract: Provided are: a calorie-reducing composition including a cyclic dipeptide or a salt thereof; and a food or beverage including said calorie-reducing composition. The cyclic dipeptide included in this calorie-reducing composition is efficiently absorbed by living organisms, and is excreted mainly as an unaltered substance or a conjugate of water-soluble molecules such as glucuronic acid, without breaking down into free amino acids. Accordingly, this calorie-reducing composition is useful for dieting, reducing calories, and preventing and/or ameliorating metabolic syndrome.

(57) 要約: 環状ジペプチド又はその塩を含むカロリー低減用組成物、及び、前記カロリー低減用組成物を含
有してなる飲食品。本発明のカロリー低減用組成物は、含有される環状ジペプチドが生体で効率的に吸収
され、遊離アミノ酸に分解されることがなく、主に未変化体又はグルクロン酸等の水溶性分子の抱合体とし
てそのまま排泄されることから、例えば、ダイエット、カロリー低減用、あるいはメタボリックシンド
ロームの予防及び／又は改善のために有用である。



WO 2017/002765 A1

明 細 書

発明の名称： カロリー低減用組成物

技術分野

[0001] 本発明は、カロリー低減用組成物に関する。より詳しくは、環状ジペプチドを有効成分とするカロリー低減用組成物、該環状ジペプチドを含有する低カロリー組成物、及びその製造方法に関する。

背景技術

[0002] 近年、食生活の欧米化に伴い、特にカロリーの摂取過多による肥満及びこれに伴う各種の疾病が問題となっており、摂取カロリーの低減を目的とした用途に使用可能な素材の開発が望まれている。

[0003] 例えば、特許文献1には、高アミロース米及び／又は中アミロース米を含む米に、0.5倍量を超える水を添加し熱処理して得られる糊化物を機械的に攪拌処理して得られる米ゲルを、食品素材又は食品が本来含むタンパク質、油脂、米以外の穀類の一部又は全量に置き換えることで、ダイエット又はカロリー低減用の代替食品素材又は代替食品として利用できることが開示されている。

[0004] 一方、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性質や新たな機能を付加することが可能であり、アミノ酸以上の応用範囲を有するものとして期待されている。なかでも、環状のジペプチドであるジケトピペラジンは、様々な生理活性を有することが知られており、各種検討が行われている。

[0005] 例えば、特許文献2には、少なくとも1個のプロリン又はヒドロキシプロリンを構成成分として含む、直鎖ジペプチド及び直鎖トリペプチドの少なくとも1種を含有する水溶液を加熱することにより、少なくとも1個のプロリン又はヒドロキシプロリンを構成成分として含む環状ジペプチドが容易に製造できることが開示されている。具体的には、例えば、直鎖ジペプチド、グリシルプロリン(Gly-Pro)を水溶液中において加熱処理(90℃、24hr)

することで、効率的にシクロ(Gly-Pro)が生成されている（変換率 92.6 %）。

先行技術文献

特許文献

[0006] 特許文献1：WO 2014 / 199961号公報

特許文献2：特許第5456876号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0007] しかしながら、環状ジペプチドがカロリー低減用の素材として利用できるか否かについては未だ知られていない。

[0008] 本発明の課題は、環状ジペプチドを有効成分とするカロリー低減用素材、該環状ジペプチドを含有するカロリー低減用組成物、及びその製造方法を提供することにある。

課題を解決するための手段

[0009] 本発明は、下記〔1〕～〔6〕に関する。

〔1〕 環状ジペプチド又はその塩を含むカロリー低減用組成物。

〔2〕 前記〔1〕記載のカロリー低減用組成物を含有してなる、飲食品。

〔3〕 前記〔1〕記載のカロリー低減用組成物を用いることを特徴とする、飲食品の製造方法。

〔4〕 組成物に環状ジペプチド又はその塩を配合することを特徴とする、該組成物のカロリー低減方法。

〔5〕 組成物のカロリーを低減させるための、環状ジペプチド又はその塩の使用。

〔6〕 環状ジペプチド又はその塩を、カロリー摂取の低減を必要とする個体に、その有効量を投与する工程を含む、カロリー摂取の低減方法。

発明の効果

[0010] 本発明のカロリー低減用組成物は、カロリー低減用の素材として利用でき

るという優れた効果を奏し、これを含む組成物はダイエットに有効である。

発明を実施するための形態

- [0011] 本発明は、摂取カロリーを低減させるために、環状ジペプチドを用いることに特徴を有する。このような効果が奏せられる理由は、一つには環状ペプチドが腸管からの透過性に優れ、かつ、ペプチダーゼ等の分解を受けにくいという特徴に起因すると考えられる。環状ジペプチド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）と比較して脂溶性が高い。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、ひいては吸収性に優れる。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環状構造のために直鎖ペプチドに比べ体内でペプチダーゼの影響を受け難いことから、消化管からの吸収後に遊離アミノ酸に分解されない。その結果、環状ジペプチドはタンパク質合成に利用されることなく、主に未変化体又はグルクロン酸等の水溶性分子の抱合体として体外に排泄され、エネルギー源にならないと考えられる。ただし、これらの推測は、本発明を限定するものではない。このような環状ジペプチドの特徴を利用して、飲食品中の栄養分の一部を環状ジペプチドに置き換えることで摂取後の満腹感、満足感を満たしつつ、カロリーを低減させた飲食品を提供することが可能となる。また、環状ジペプチドの効能に着目した機能性食品等については、環状ジペプチドの奏する効果効能に加え、低カロリーであるという付加価値をもった飲食品を提供することが可能となる。
- [0012] 本発明のカロリー低減用素材は、環状ジペプチド又はその塩を有効成分とするカロリー低減用組成物である。以降、本発明のカロリー低減用素材はカロリー低減用組成物とも言う。また、摂取カロリーを低減させるために用い

る環状ジペプチド又はその塩のことを、まとめて、本発明の環状ジペプチドと記載することもある。

[0013] 本発明の環状ジペプチドとしては、例えば、シクログリシルプロリン [Cyclo(Gly-Pro)]、シクロプロリルヒドロキシプロリン [Cyclo(Pro-Hyp)]、シクロヒドロキシプロリルグリシン [Cyclo(Hyp-Gly)]、シクロバリルセリン [Cyclo(Val-Ser)]、シクロアルギニルグリシン [Cyclo(Arg-Gly)]、シクロアラニルバリン [Cyclo(Ala-Val)]、シクログルタミニルセリン [Cyclo(Gln-Ser)] などが挙げられる。これらは1種単独で又は2種以上組み合わせて用いてもよい。なかでも、環状ジペプチドがグリシン及び／又はプロリンを構成要素として含む場合を好適例として挙げることができる。なお、本明細書において、環状ジペプチドにおけるアミノ酸の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なく、例えば、Cyclo(Gly-Pro)とCyclo(Pro-Gly)は同じ環状ジペプチドのことである。

[0014] 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、リン酸塩、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等)等が挙げられる。

[0015] 本発明の環状ジペプチドは、当該分野で公知の方法に従って調製することができ、市販品も用いることができる。例えば、化学合成方法や酵素法、微生物発酵法により製造されてもよく、直鎖ペプチドを脱水・環化反応させることにより合成されてもよい。例えば、植物成分及び／又は動物成分を熱処理して得られる熱処理物を好適に用いることができる。

[0016] 本発明で用いられる植物成分としては、直鎖状のジペプチド、トリペプチド、又はオリゴペプチドを含むものであれば特に限定はない。具体的には、例えば、大豆、麦芽、大麦、小麦、コーヒー、黒豆、ゴマ、及び茶からなる

群より選ばれる１種又は２種以上の植物の抽出物が挙げられる。抽出方法としては、公知の方法を用いることができ、前記した直鎖のペプチドを含むように抽出すればよい。また、市販品を用いることができる。

[0017] 本発明で用いられる動物成分としては、直鎖状のジペプチド、トリペプチド、又はオリゴペプチドを含むものであれば特に限定はない。具体的には、例えば、コラーゲンペプチド、牛乳、ホエイ、カゼイン、及び胎盤エキスカなる群より選ばれる１種又は２種以上が挙げられる。これらの起源動物も特に限定されない。これらの動物成分は公知技術に従って調製してもよく、市販品を用いてもよい。

[0018] 前記植物成分及び／又は動物成分の熱処理の方法としては、植物成分及び／又は動物成分を溶液中又は固相中で加熱する方法が挙げられる。

[0019] 熱処理の際に用いられる溶液の媒体としては、水、有機溶媒、及びそれらの混合物が挙げられる。有機溶媒としては、エタノール、ヘキサンなどが挙げられる。水と混合する場合の混合割合は特に限定されない。

[0020] 熱処理の際の溶液のpHや加熱に供される原料濃度は特に限定されず、加熱が行なえる範囲であれば媒体の種類に合わせて適宜設定することができる。

[0021] 加熱温度としては、加熱に供される原料や媒体の種類によって一概には設定されないが、溶液中での加熱、固相中での加熱のいずれにおいても、100～170℃が例示され、なかでも110～150℃が好ましい。加熱時間は、加熱温度により適宜設定することができ、例えば、0.25～10時間が例示される。

[0022] 加熱処理について一例を挙げて説明すると、例えば、シクログリシルプロリン〔Cyclo(Gly-Pro)〕の場合、直鎖状ジペプチドGly-Proを含有するコラーゲンペプチドを任意の濃度の水溶液に調製後、100～170℃で0.25～10時間程度加熱することにより、Cyclo(Gly-Pro)を含有する素材が得られる。

[0023] かくして、本発明の環状ジペプチドを含有するカロリー低減用素材が得ら

れる。

[0024] 本発明のカロリー低減用素材は前記した環状ジペプチド又はその塩を含有するのであれば、その他の成分は特に限定されない。例えば、素材が固形の素材である場合、乾燥固形物中の環状ジペプチド又はその塩の含有量は、加熱に供する原料によって一概には設定されないが、0.01重量(w/w)%以上であることが好ましく、0.1w/w%以上であることがより好ましい。例えば、Cyclo(Gly-Pro)については、大豆中の含有量は0.02~0.30w/w%、大麦麦芽中の含有量は0.01~0.20w/w%、茶中の含有量は0.02~0.30w/w%、コラーゲンペプチドの含有量は1.0~30w/w%程度である。なお、環状ジペプチド又はその塩の含有量は、例えば、HPLC方法により測定することができる。

[0025] また、素材が液状の素材である場合、液体中のBrix当たりの環状ジペプチド又はその塩の含有量は、加熱に供する原料によって一概には設定されないが、1.0ppm/Brix以上であることが好ましく、10ppm/Brix以上であることがより好ましい。例えば、Cyclo(Gly-Pro)については、大豆中の含有量は2.0~30ppm/Brix、大麦麦芽中の含有量は1.0~20ppm/Brix、茶中の含有量は2.0~30ppm/Brix、コラーゲンペプチドの含有量は100~3000ppm/Brix程度である。本明細書において「Brix当たりの量」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。なお、Brix当たりの環状ジペプチド又はその塩の含有量は、例えば、HPLCまたは糖度計を用いて測定することができる。

[0026] 本発明のカロリー低減用素材において、環状ジペプチド又はその塩が脱離した環状ジペプチドは、生体内でのペプチダーゼによる代謝が抑制されるため、

摂取した環状ジペプチドを100重量%とした場合、少なくとも35重量%、好ましくは50重量%以上、より好ましくは90重量%以上が未変化体又はグルクロン酸等の水溶性分子の抱合体として尿中に排泄される。なお、上限は設定されず、100重量%以下であればよい。

[0027] なお、得られる本発明のカロリー低減用素材に対しては、ろ過、遠心分離、濃縮、限外ろ過、凍結乾燥、粉末化、及び分画からなる群より選ばれる1種又は2種以上の処理を、公知の方法に従って行ってもよく、そのまま製剤化したり、医薬品、医薬部外品、又は飲食品等の原材料に用いることが可能な形態に調製したりしてもよい。よって、本発明のカロリー低減用素材の一態様として前記処理物が含まれる。

[0028] 本発明はまた、本発明のカロリー低減用素材、即ち、本発明のカロリー低減用組成物を含有する組成物を提供する。本発明のカロリー低減用素材を組成物中に含有させることで、当該組成物は低カロリー組成物として好適に使用され得る。以降、当該組成物を単に、本発明の組成物と記載することもある。よって、かかる組成物は、本発明のカロリー低減用素材の一態様であり、環状ジペプチド又はその塩を配合する組成物は本発明に含まれる。なお、本明細書において、低カロリーとは、好ましくは5 kcal / 100 mL (固形物の場合100 g)未満、より好ましくは4 kcal / 100 mL (固形物の場合100 g)未満、更に好ましくは3 kcal / 100 mL (固形物の場合100 g)未満であることを意味する。ここで、カロリー数は、基本的に健康増進法に関連して公表されている「栄養表示基準における栄養成分等の分析方法等について」に従って算出した値のことである。

[0029] 本発明の低カロリー組成物は、摂取カロリーの低減やダイエットの目的に、あるいは、カロリー摂取の低減作用を要する疾患のために好適に使用され得、例えば、医薬品、医薬部外品、又は飲食品の形態として用いられる。よって、本発明の低カロリー組成物の態様としては、医薬品、医薬部外品、又は飲食品が挙げられる。

[0030] 本発明においてカロリー摂取の低減作用を要する疾患としては、カロリー

摂取を低減することにより治療効果がみられる疾患であれば特に限定はない。例えば、糖尿病、高血圧症、肥満、高尿酸血症、脂質異常症、動脈硬化症等が例示される。

[0031] また、本発明の組成物は、本発明の環状ジペプチド又はその塩を含有することによりカロリー摂取が抑制されることから、カロリー摂取の低減作用を要する疾患の症状改善、予防に極めて有用である。すなわち、本発明の組成物は、上記疾患の予防又は改善を目的とすることを付した特定保健用食品、栄養機能食品、特別用途食品、機能性表示食品、健康補助食品（サプリメント）として、例えば、ダイエット、カロリー低減用、あるいはメタボリックシンドロームの予防及び／又は改善のために用いられるものである旨の表示を付して提供することが可能になり、中性脂肪が気になる方、体脂肪が気になる方、血圧が気になる方、食後の血糖が気になる方、尿酸値が気になる方等にとって極めて有用な組成物となる。

[0032] また、本発明の組成物は、カロリー低減を主目的とした組成物に限定されず、含有成分の一部を本発明のカロリー低減用素材に置き換えることで、食事制限による空腹感やストレスを感じることなく、食後の満腹感を得ながら、上記のような疾患の予防又は改善を達成することが可能となる。

[0033] 本発明の組成物における本発明の環状ジペプチド又はその塩の含有量としては、環状ジペプチドの種類、その調製条件や後処理条件等によって一概に設定することはできないが、その効果を発揮する観点から、好ましくは0.01 w/w%以上、より好ましくは0.1 w/w%以上、更に好ましくは1.0 w/w%以上である。また、上限は特に設定されず、従来配合されていた成分、例えば、ジペプチド、トリペプチド、オリゴペプチドなどのペプチド類、タンパク質、脂質、糖質などの代替成分として、その量を適宜調整して配合することができる。このように代替することで、体内でのアミノ酸への分解が抑制されて、主に未変化体又はグルクロン酸等の水溶性分子の抱合体として尿中に排泄されるため、従来成分に相当するカロリー摂取を抑制することができる。

- [0034] 本発明の組成物は、本発明の環状ジペプチド又はその塩以外の成分として、本発明の効果を損なわない範囲で、適宜含有することができる。また、他の有用成分を併用して組成物の安定性や付加価値を向上させることも可能である。それらの含有量は、本発明の効果を損なわない範囲内であれば、特に限定されない。
- [0035] 本発明の組成物は、公知の医薬品、医薬部外品、又は飲食品を調製する際に、その原材料に本発明のカロリー低減用素材を混合して、公知の製造方法に従って調製してもよく、また、既製の公知の飲食品に、本発明のカロリー低減用素材を添加して、溶解及び／又は懸濁することで調製してもよい。なお、公知の医薬品、医薬部外品、又は飲食品が、前記環状ジペプチド又はその塩を元来含有するものであってもよく、本発明の効果が奏される範囲内で適宜配合して調製することができる。
- [0036] 本発明の組成物の形態としては、特に限定はなく、例えば炭酸飲料、天然果汁、果汁飲料、清涼飲料水（果汁入りも含む）、果肉飲料、果粒入り果実食品、野菜系飲料、豆乳・豆乳飲料、コーヒー飲料、お茶飲料、ゼリー飲料、粉末飲料、濃縮飲料、スポーツ飲料、栄養飲料、アルコール飲料等の嗜好飲料類、栄養食品、サプリメント、丸剤、ハードカプセル剤、ソフトカプセル剤、錠剤〔素錠、糖衣錠、口腔内速崩壊錠、咀嚼可能錠（チュアブル錠）、発泡錠、トローチ剤、フィルムコーティング錠等を含む〕等を例示できる。
- [0037] 本発明はまた、本発明のカロリー低減用素材を、本発明の組成物の原料として使用することを特徴とする、低カロリー組成物の製造方法を提供する。
- [0038] 本発明の製造方法は、本発明のカロリー低減用素材を組成物の原料として使用するのであれば使用量、添加時期、添加方法は特に限定されず、その他に添加配合される成分も限定なく用いることができ、その使用量や添加方法も公知技術に従って適宜選択することができる。具体的には、例えば、製剤分野や食品分野等において通常使用される担体、基剤、及び／又は添加剤等を本発明の目的を達成する範囲内で適宜配合することができる。

[0039] また、本発明の一態様として、本発明のカロリー低減用素材を、組成物に配合することで、当該組成物のカロリーを低減させる方法も提供することができる。この場合、本発明のカロリー低減用素材を組成物の原料として使用するのであれば、前項を参照にすることができる。

[0040] また、本発明は、カロリー摂取の低減を必要とする個体に、本発明の環状ジペプチド又はその塩を、あるいは本発明の低カロリー組成物の有効量を投与することを含む、カロリー摂取の低減方法を提供する。この場合、有効量とは一概には設定することができず、所望するカロリー低下量に応じて適宜調整することができる。

実施例

[0041] 以下、実施例を示して本発明を具体的に説明するが、本発明は下記実施例に制限されるものではない。

[0042] 実施例 1 環状ジペプチドCyclo(Gly-Pro)投与後の尿中排泄率の検討

日本クレア社より、雄性SDラット（6週齢）を購入した後、約1週間馴化させた動物を試験に供した。Cyclo(Gly-Pro)標品（Bachem社）を0.3mg/mLとなるように蒸留水に溶解し、投与量が3mg/kgとなるようシリンジ及びゾンデを用いて経口投与した。投与開始時より48時間後までに排泄した尿全量を、代謝ケージを用いて回収した。回収した尿試料は重量を測定した後に除タンパク質処理を施し、LC-MS/MS(4000QTRAP、ABSCIEX社)を用いて以下の条件で分析を行った。定量解析はブランク尿試料と標準品水溶液を用いて作成した検量線データを利用して実施した。得られた尿中のCyclo(Gly-Pro)濃度及び尿重量よりCyclo(Gly-Pro)の尿中排泄量を計算し、Cyclo(Gly-Pro)の尿中排泄量をCyclo(Gly-Pro)の投与量で除することで尿中排泄率を算出した。結果を表2に示す。なお、参考例として、直鎖状ジペプチドGly-Proについても同様に試験を行ったので、結果を合わせて示す。

<LC-MS/MSの分析条件>

[HPLC条件]

移動相は以下の溶媒を使用し、下記のグラジエント条件を適用した。

(基本条件)

流速：0.2mL/分

分析時間：14.0分/サンプル

カラム：Cadenza CD-C18 150(mm)×2(mm)，粒子径3 μ m

(移動相)

A相：0.1% ギ酸水溶液

B相：0.1% ギ酸含有アセトニトリル

(グラジエント条件)

[0043] [表1]

表 1

分析時間(分)	移動相 B の比率(質量%)
0	10
2	10
6	80
9	80
10	10
14	10

[0044] [MS/MS条件]

測定モード：MRM potsitive

Q1/Q3：155.2>70.2 (Cyclo(Gly-Pro))

214.1>155.1 (内標準化合物：Cyclo(Arg-Gly))

インジェクション量：5 μ L

[0045] [表2]

表 2

投与物質	投与 48 時間後までの尿中排泄率
Cyclo(Gly-Pro)	91.1 $\pm$ 11.5 %
直鎖状 Gly-Pro	20 %以下

[0046] 以上の結果から、環状ジペプチドCyclo(Gly-Pro)はほぼ全量が分解されず

に未変化体として排出されたことがわかる。すなわち、環状ジペプチドCyclo(Gly-Pro)は腸管を通して良好に吸収されたのち、ペプチダーゼ等による分解を殆ど受けることなく腎臓を介して尿中に排出されることが明らかとなった。

[0047] 実施例2 環状ジペプチドCyclo(Gly-Tyr)投与後の尿中排泄率の検討

環状ジペプチドとしてCyclo(Gly-Tyr)を用い、尿回収時間を72時間までに設定する以外は、実施例1と同様にして試験を行った。なお、サンプルは、Cyclo(Gly-Tyr)標品（神戸天然物化学社）を用いた。

[0048] また、分析はLC-MS/MS(API5000、ABSCIEX社)を用いて行い、分析対象物質はCyclo(Gly-Tyr)及びCyclo(Gly-Tyr)-GlcA. (グルクロン抱合体、公知の合成方法に従って調製)とし、HPLC及びMS分析条件は以下記載の通りとした。

[0049] 定量解析はブランク尿試料と標準品水溶液を用いて作成した検量線データを利用して実施した。得られた尿中のCyclo(Gly-Tyr)未変化体及び代謝物（グルクロン酸抱合体）の濃度と、尿重量より尿中排泄量を計算し、物質量（モル）換算における尿中排泄量を投与量で除することで尿中排泄率を算出した。結果を表4に示す。

<LC-MS/MSの分析条件>

[HPLC条件]

移動相は以下の溶媒を使用し、下記のグラジエント条件を適用した。

（基本条件）

流速：0.2mL/分

分析時間：40分/サンプル

カラム：Cadenza CD-C18 150(mm)×2(mm)，粒子径3μm

（移動相）

A相：0.1% ギ酸水溶液

B相：メタノール

（グラジエント条件）

[0050]

[表3]

表 3

分析時間(分)	移動相 B の比率(質量%)
0	2
5	5
25	50
30	98
35	98
35.01	2
40	2

[0051] [MS/MS条件]

測定モード：MRM negative

Q1/Q3： 219 > 113 (未変化体：Cyclo(Gly-Tyr))

395 > 113 (グルクロン酸抱合体：Cyclo(Gly-Tyr)-GlcA.)

[0052] [表4]

表 4

分子型	尿中排泄率 (%)	
	平均値 (n=3)	標準偏差
Cyclo(Gly-Tyr)	27.8	5.2
Cyclo(Gly-Tyr)-GlcA.	10.1	6.1
合計	37.9	6.89

[0053] 以上の結果から、投与したCyclo(Gly-Tyr)のうち、少なくとも約40%が72時間以内に生体に蓄積されことなく尿中に排泄されることが示された。他の代謝物産生の可能性や、糞中に排泄される可能性を加味すれば、さらに高割合の化合物の生体外排泄が想定される。

[0054] 以下、本発明の環状ジペプチド又はその塩を配合した組成物の具体的処方を例示する。これらの組成物は公知の方法に従って調製することができる。

[0055] 製造例 1：用時溶解用粉末

下記表 5 に示すように、本発明の環状ジペプチド又はその塩を配合した組成物と、セラミド原料、エラスチンペプチド、プロテオグリカン、ビタミン C、デキストリン等その他賦形剤を秤量し、均一になるよう混合することで用時溶解用粉末（6.5 g）を製造した。得られた粉末を水に溶解したところ、いずれも分散性はよく、用時溶解飲料として適切であった。

[0056] [表5]

表 5 <用時溶解用粉末の組成>

成分	配合量 (mg)	配合率 (重量%)
環状ジペプチド又はその塩を配合した組成物	5000.0	76.92
セラミド原料	24.0	0.37
エラスチンペプチド	1.0	0.02
プロテオグリカン	0.5	0.01
ビタミンC	70.0	1.08
デキストリン等、その他賦形剤	1404.5	21.60
合計	6500.0	100.00%

[0057] 製造例 2 : 錠剤

下記表 6 に示すように、本発明の環状ジペプチド又はその塩を配合した組成物と他の原料を配合した混合物を、常法により造粒ならびに成型し、錠剤を得た。

[0058] [表6]

表 6

成分	配合量 (mg)	配合率 (重量%)
環状ジペプチド又はその塩を配合した組成物	5000.0	76.92
セラミド原料	24.0	0.37
エラスチンペプチド	1.0	0.02
プロテオグリカン	0.5	0.01
ビタミンC	70.0	1.08
セルロース等、その他賦形剤	1404.5	21.60
合計	6500.00	100.00%

[0059] 製造例 3 : コラーゲンペプチド含有飲料

コラーゲンペプチドを原材料として公知の方法により得られる、本発明の環状ジペプチド又はその塩を配合した組成物を用いて、下記の組成の飲料を得た。

[0060] [表7]

表 7

成分	配合量 (g)
コラーゲンペプチド熱処理物 (乾燥物)	100
プロテオグリカン	0.10
酸 (クエン酸)	8.7
酸 (リン酸)	4.76
アスコルビン酸	3.6
スクラロース	0.018
アセスルファム K	0.10
エリスリトール	0.060
植物抽出物	3.5
セラミド	0.012
香料	1.4
水	残余
pH	3.54
合計	1000mL

産業上の利用可能性

[0061] 本発明のカロリー低減用組成物は、含有される環状ジペプチドが生体で効率的に吸収され、遊離アミノ酸に分解されることなく、主に未変化体又はグルクロン酸等の水溶性分子の抱合体としてそのまま排泄されることから、例えば、ダイエット、カロリー低減用、あるいはメタボリックシンドロームの予防及び／又は改善のために有用である。

請求の範囲

- [請求項1] 環状ジペプチド又はその塩を含むカロリー低減用組成物。
- [請求項2] 環状ジペプチド又はその塩が、グリシン及び／又はプロリンを構成要素として含む請求項1記載のカロリー低減用組成物。
- [請求項3] 環状ジペプチド又はその塩が、植物成分及び／又は動物成分を熱処理して得られる、請求項1又は2記載のカロリー低減用組成物。
- [請求項4] 植物成分が、大豆、麦芽、大麦、小麦、コーヒー、黒豆、ゴマ、及び茶からなる群より選ばれる1種又は2種以上の抽出物である、請求項3記載のカロリー低減用組成物。
- [請求項5] 動物成分が、コラーゲンペプチド、牛乳、ホエイ、カゼイン、及び胎盤エキスからなる群より選ばれる1種又は2種以上である、請求項3記載のカロリー低減用組成物。
- [請求項6] 環状ジペプチドがシクログリシルプロリン含む、請求項1～5いずれか記載のカロリー低減用組成物。
- [請求項7] 固形の組成物であって、乾燥固形物中にシクログリシルプロリンを0.01重量(w/w)%以上含有してなる、請求項6記載のカロリー低減用組成物。
- [請求項8] 固形の組成物であって、乾燥固形物中にシクログリシルプロリンを0.1重量(w/w)%以上含有してなる、請求項6記載のカロリー低減用組成物。
- [請求項9] 液状の組成物であって、液体中にシクログリシルプロリンを1.0ppm/Brix以上含有してなる、請求項6記載のカロリー低減用組成物。
- [請求項10] 液状の組成物であって、液体中にシクログリシルプロリンを10ppm/Brix以上含有してなる、請求項6記載のカロリー低減用組成物。
- [請求項11] 請求項1～10いずれか記載のカロリー低減用組成物を含有してなる、飲食品。

- [請求項12] 請求項1～10いずれか記載のカロリー低減用組成物を用いることを特徴とする、飲食品の製造方法。
- [請求項13] 組成物に環状ジペプチド又はその塩を配合することを特徴とする、該組成物のカロリー低減方法。
- [請求項14] 組成物のカロリーを低減させるための、環状ジペプチド又はその塩の使用。
- [請求項15] 環状ジペプチド又はその塩を、カロリー摂取の低減を必要とする個体に、その有効量を投与する工程を含む、カロリー摂取の低減方法。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2016/069034

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A23L33/20(2016.01)i, C07K5/02(2006.01)i

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)

A23L33/20, C07K5/02

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)

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

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Chiaki KIGUCHI et al., "Simultaneous determination of aspartame, its epimer and their degradation products in foods by HPLC and LC/MS", Japanese Journal of Food Chemistry and Safety, vol.17, no.2, 2010, pages 130 to 135, ISSN 1341-2094, table 4	1, 11-15
X	PRODOLLOET, Jacques et al., Determination of Aspartame and Its Major Decomposition Products in Foods, Journal of AOAC International, 1993, Vol.76, No.2, p.275-282, page 275, right column, 3rd paragraph, table 3	1, 11-15
X	JP 2010-166911 A (Suntory Holdings Ltd.), 05 August 2010 (05.08.2010), examples (Family: none)	11, 12

☒ 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
27 July 2016 (27.07.16)

Date of mailing of the international search report
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/JP2016/069034

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2014/200000 A1 (Suntory Holdings Ltd.), 18 December 2014 (18.12.2014), example 11 & US 2016/0106130 A1 example 11 & EP 3012264 A1 & CN 105307514 A & KR 10-2016-0018722 A	11,12
A	MIZUMA, Takashi et al., Intestinal Absorption of Stable Cyclic Glycylphenylalanine: Comparison with the Linear Form, J. Pharm. Pharmacol., 1997, Vol.49, p.1067-1071	1-15
A	HAYASAKA, Fumitaka et al., PRODUCTION METHOD FOR THE FUNCTIONAL CYCLIC DIPEPTIDE DERIVED FROM COLLAGEN, The 51st Japanese Peptide Symposium Koen Yoshishu, 2014, p.55	1-15

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. A23L33/20(2016.01)i, C07K5/02(2006.01)i

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. A23L33/20, C07K5/02

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)

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

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	木口智明 ほか, HPLC及びLC/MSによる食品中のアスパル テーム、アスパルテームエピマーおよびそれらの分解物の同時分析, 日本食品化学学会誌, Vol. 17, No. 2, 2010, p. 130-135, ISSN 1341-2094, 表 4	1, 11-15
X	PRODOLLOET, Jacques et al., Determination of Aspartame and Its Major Decomposition Products in Foods, Journal of AOAC International, 1993, Vol. 76, No. 2, p. 275-282, p. 275 右欄第 3 段 落、表 3	1, 11-15

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

27.07.2016

国際調査報告の発送日

16.08.2016

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

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)

松浦 安紀子

4 N

3336

電話番号 03-3581-1101 内線 3488

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	JP 2010-166911 A (サントリーホールディングス株式会社) 2010.08.05, 実施例 (ファミリーなし)	11, 12
X	WO 2014/200000 A1 (サントリーホールディングス株式会社) 2014.12.18, 実施例 11 & US 2016/0106130 A1 Example 11 & EP 3012264 A1 & CN 105307514 A & KR 10-2016-0018722 A	11, 12
A	MIZUMA, Takashi et al., Intestinal Absorption of Stable Cyclic Glycylphenylalanine: Comparison with the Linear Form, J. Pharm. Pharmacol., 1997, Vol.49, p.1067-1071	1-15
A	HAYASAKA, Fumitaka et al., PRODUCTION METHOD FOR THE FUNCTIONAL CYCLIC DIPEPTIDE DERIVED FROM COLLAGEN, 第 51 回ペプチド討論会 講演要旨集, 2014, p.55	1-15