

(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  
2016 年 7 月 14 日(14.07.2016)

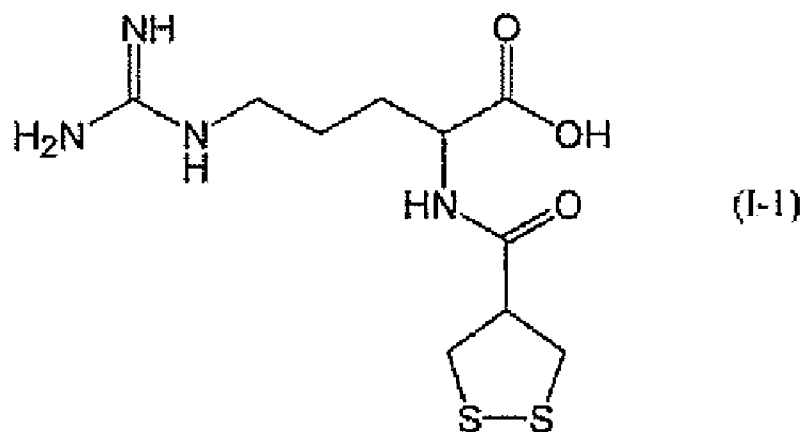


(10) 国際公開番号  
**WO 2016/111310 A1**

- (51) 国際特許分類:  
*C07D 339/04* (2006.01) *A61P 9/12* (2006.01)  
*A23L 33/10* (2016.01) *A61P 43/00* (2006.01)  
*A61K 31/385* (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2016/050223
- (22) 国際出願日: 2016 年 1 月 6 日(06.01.2016)
- (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 2015-000916 2015 年 1 月 6 日(06.01.2015) JP
- (71) 出願人: 国立研究開発法人理化学研究所(RIKEN)  
[JP/JP]; 〒3510198 埼玉県和光市広沢 2 番 1 号  
Saitama (JP).
- (72) 発明者: 中林 亮(NAKABAYASHI Ryo); 〒3510198  
埼玉県和光市広沢 2 番 1 号 国立研究開発法人  
理化学研究所内 Saitama (JP). 斉藤 和季(SAITO  
Kazuki); 〒3510198 埼玉県和光市広沢 2 番 1 号  
国立研究開発法人理化学研究所内 Saitama (JP).  
楊 志剛(YANG Zhigang); 〒3510198 埼玉県和光  
市広沢 2 番 1 号 国立研究開発法人理化学研究  
所内 Saitama (JP). 西沢 具子(NISHIZAWA To-  
moko); 〒3510198 埼玉県和光市広沢 2 番 1 号 国  
立研究開発法人理化学研究所内 Saitama (JP). 森  
哲哉(MORI Tetsuya); 〒3510198 埼玉県和光市広沢  
2 番 1 号 国立研究開発法人理化学研究所内  
Saitama (JP).
- (74) 代理人: 平木 祐輔, 外(HIRAKI Yusuke et al.); 〒  
1056232 東京都港区愛宕 2 丁目 5 番 1 号 愛宕  
グリーンヒルズMORIタワー 3 2 階 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))

(54) Title: NOVEL ANGIOTENSIN CONVERTING ENZYME INHIBITOR

(54) 発明の名称: 新規アンジオテンシン変換酵素阻害剤



(57) Abstract: The present invention addresses the problem of providing a novel compound having an angiotensin converting enzyme (ACE) inhibiting activity. The present invention relates to a compound represented by formula (I-1), a salt of the compound, or a solvate of the compound or the salt.

(57) 要約: アンジオテンシン変換酵素 (ACE) 阻害活性を有する新規化合物を提供することを課題とする。本発明は、式 (I-1) : で表される化合物若しくはその塩、又はそれらの溶媒和物に関する。

WO 2016/111310 A1

## 明 細 書

発明の名称：新規アンジオテンシン変換酵素阻害剤

### 技術分野

[0001] 本発明は、アンジオテンシン変換酵素阻害活性を有する新規化合物に関する。本発明はまた、前記新規化合物の製造方法及びその用途に関する。

### 背景技術

[0002] アンジオテンシンは、非常に強い血圧上昇作用を有するペプチドホルモンである。アンジオテンシンには、アンジオテンシンI、II及びIIIの3種が存在する。アンジオテンシンIIは、アンジオテンシンIのC末端His-Leu残基が切断されたペプチドであり、アンジオテンシンIIIは、アンジオテンシンIIのN末端Asp残基が切断されたペプチドである。アンジオテンシンI～IIIのうち、アンジオテンシンIIが活性型であり、アンジオテンシンIはその非活性型の前駆体である。アンジオテンシンIは、主として腎臓の傍系球状体細胞で産生されるタンパク質分解酵素の作用により、アンジオテンシノーゲンから産生される。

[0003] 生体内において、非活性型の前駆体であるアンジオテンシンIのC末端His-Leu残基を切断して、活性型のアンジオテンシンIIへと変換する酵素が、アンジオテンシン変換酵素（ACE）である。ACEは、哺乳動物において、主として肺、腎臓及び血管壁等に存在することが知られており、これらの器官において、血圧の調節に関与していると考えられている。アンジオテンシンの血圧上昇作用に鑑み、ACEは、医薬品分野において、高血圧及び心不全等のレニン-アンジオテンシン系に関わる疾患又は症状の予防又は治療薬の標的分子として注目されている。

[0004] 例えば、特許文献1は、フェニルカルボン酸、5-フェニル- $\gamma$ -バレロラクトン及び5-フェニル-4-ヒドロキシ吉草酸の少なくとも1種類以上を有効成分として含有することを特徴とする血圧降下剤を記載する。当該文献は、前記化合物がACE阻害活性を介して血圧降下作用を発現し得ることを記載する。

[0005] 食品分野においても、血圧上昇を抑制し得る機能性食品の開発を目的として、ACE阻害活性を有する食品成分の探索が行われた。様々な植物に存在するニコチアナミンは、ACE阻害活性を有することが知られている。非特許文献1は、植物性食品に含まれるニコチアナミン含有量と該植物性食品のACE阻害活性との関係を調査した結果を記載する。

[0006] 非特許文献2は、アスパラガス (*Asparagus officinalis* L.) に含まれるACE阻害活性を有する化合物として、2',3'-ヒドロキシニコチアナミンを記載する。

### 先行技術文献

### 特許文献

[0007] 特許文献1：特開2012-144532号公報

### 非特許文献

[0008] 非特許文献1：伊澤華子及び青柳康夫，日本食品科学工学会誌，2012年，第59巻第7号，p. 348-353

非特許文献2：Matsuda, S. 及びAoyagi, Y., J. Agric. Food Chem., 2013年，第61巻，p. 5520-5525

### 発明の概要

### 発明が解決しようとする課題

[0009] 非特許文献1に記載のように、いくつかの植物性食品はACE阻害活性を有する。そのうちの多くは、ACE阻害活性を有する公知化合物であるニコチアナミンを含有することから、該植物性食品におけるACE阻害活性の活性本体は、ニコチアナミンと考えられる。しかしながら、ACE阻害活性を有する植物性食品の中には、殆ど又は全くニコチアナミンを含有しないものも存在する。このため、これらの植物性食品は、ACE阻害活性を有する新規化合物を含有する可能性がある。

[0010] それ故、本発明は、ACE阻害活性を有する新規化合物を提供することを目的とする。

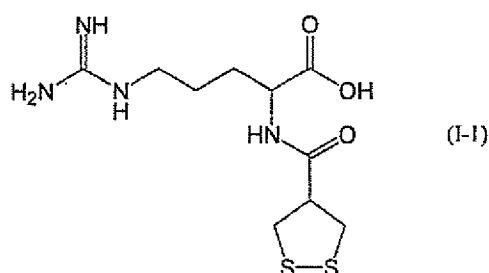
## 課題を解決するための手段

[0011] 本発明者らは、前記課題を解決するための手段を種々検討した結果、アスパラガスに、ACE阻害活性を有する新規化合物が存在することを見出した。本発明者らは、前記知見に基づき本発明を完成した。

[0012] すなわち、本発明の要旨は以下の通りである。

(1) 式 (I-1) :

[化1]



で表される化合物若しくはその塩、又はそれらの溶媒和物。

(2) 前記 (1) に記載の化合物若しくはその塩、又はそれらの溶媒和物を有効成分として含有する、アンジオテンシン変換酵素阻害剤。

(3) 前記 (1) に記載の化合物若しくはその塩、又はそれらの溶媒和物を有効成分として含有する、血圧降下剤。

(4) 前記 (1) に記載の化合物若しくはその塩、又はそれらの溶媒和物を有効成分として含有する、血圧降下用組成物。

(5) 前記 (1) に記載の化合物若しくはその塩、又はそれらの溶媒和物と、1種以上の食品的に許容し得る成分とを含有する血圧降下用食品組成物。

(6) 総質量に対して0.2質量%以上の前記 (1) に記載の化合物若しくはその塩、又はそれらの溶媒和物と、1種以上の食品的に許容し得る成分とを含有する食品組成物。

(7) 前記 (1) に記載の化合物若しくはその塩、又はそれらの溶媒和物と、1種以上の薬学的に許容し得る成分とを含有する医薬組成物。

(8) アスパラガスを水混和性有機溶媒で抽出する、抽出工程；

前記抽出工程で得られたアスパラガスの水混和性有機溶媒抽出物を分離し

て、該抽出物から前記（１）に記載の化合物を単離する、単離工程；  
を含む、前記（１）に記載の化合物を製造する方法。

（９） アスパラガスの水混和性有機溶媒抽出物であって、該水混和性有機溶媒抽出物の総質量に対して、 $0.01 \sim 90$ 質量％の範囲で前記（１）に記載の化合物を含有する、前記抽出物。

（１０） アスパラガスを水混和性有機溶媒で抽出する、抽出工程；  
を含む、前記（９）に記載のアスパラガスの水混和性有機溶媒抽出物を製造する方法。

（１１） 前記（１）に記載の化合物若しくはその薬学的に許容し得る塩、又はそれらの薬学的に許容し得る溶媒和物を有効成分として含有する医薬。

（１２） 高血圧及び心不全からなる群より選択される１種以上の疾患又は症状の予防又は治療に使用するための、前記（７）に記載の医薬組成物。

（１３） 高血圧及び心不全からなる群より選択される１種以上の疾患又は症状の予防又は治療に使用するための、前記（１１）に記載の医薬。

（１４） １種以上の疾患又は症状の予防又は治療を必要とする対象に、有効量の前記（１）に記載の化合物若しくはその薬学的に許容し得る塩、又はそれらの薬学的に許容し得る溶媒和物を投与することを含む、前記疾患若しくは症状の予防又は治療方法。

（１５） 前記疾患又は症状が、高血圧及び心不全からなる群より選択される１種以上の疾患又は症状である、前記（１４）に記載の方法。

（１６） １種以上の疾患若しくは症状の予防又は治療に使用するための、前記（１）に記載の化合物若しくはその薬学的に許容し得る塩、又はそれらの薬学的に許容し得る溶媒和物。

（１７） 前記疾患又は症状が、高血圧及び心不全からなる群より選択される１種以上の疾患又は症状である、前記（１６）に記載の化合物若しくはその薬学的に許容し得る塩、又はそれらの薬学的に許容し得る溶媒和物。

（１８） 高血圧及び心不全からなる群より選択される１種以上の疾患又は症状の予防又は治療に用いるための医薬の製造のための、前記（１）に記載の化

合物若しくはその薬学的に許容し得る塩、又はそれらの薬学的に許容し得る溶媒和物の使用。

### 発明の効果

[0013] 本発明により、ACE阻害活性を有する新規化合物を提供することが可能となる。

[0014] 前記以外の、課題、構成及び効果は、以下の実施形態の説明により明らかにされる。

[0015] 本明細書は、本願の優先権の基礎である日本国特許出願第2015-000916号の明細書及び／又は図面に記載される内容を包含する。

### 図面の簡単な説明

[0016] [図1]図1は、アスパラガス若茎から新規化合物であるアスパラプチンを精製及び単離した結果の概要を示す図である。A：前記精製のスキーム；B：前記精製の最終工程である分取LC-PDA-MSシステムを用いた分取ODS-LC-MS時のMSクロマトグラム。

[図2]図2は、アスパラプチンの一次元NMRスペクトルを示す図である。A：<sup>1</sup>H-NMRスペクトル；B：<sup>13</sup>C-NMRスペクトル。

[図3]図3は、アスパラプチンのアルギニン $\alpha$ -位炭素の絶対立体配置を決定するためのHPLC分析結果を示す図である。

### 発明を実施するための形態

[0017] 以下、本発明の好ましい実施形態について詳細に説明する。

[0018] <1. ACE阻害活性を有する新規化合物>

本発明において、「アンジオテンシン変換酵素（ACE）」は、非常に強い血圧上昇作用を有するペプチドホルモンであるアンジオテンシンを、非活性型のアンジオテンシンIから活性型のアンジオテンシンIIに変換する酵素を意味する。ACEは、アンジオテンシンIのC末端His-Leu残基を切断することによってアンジオテンシンIIを産生する反応を触媒する。ACEは、アンジオテンシンの変換を介して、哺乳動物の肺、腎臓及び血管壁等の器官において、血圧の調節に関与していると考えられている。また、本発明において、「ACE阻害活

性」は、前記のようなACEの酵素反応の進行を実質的に阻害する活性を意味し、例えば、ACEによって触媒されるアンジオテンシンIのC末端His-Leu残基を切断する反応の進行を実質的に阻害することを意味する。ACE阻害活性を有する化合物は、活性型のアンジオテンシンIIの産生を実質的に抑制することができる。

[0019] 本発明において、「ACE阻害活性」は、例えば、ACEの酵素反応の進行を、10%以上、例えば20%以上、好ましくは40%以上、より好ましくは50%以上、さらに好ましくは80%以上、さらにより好ましくは90%以上、特に好ましくは95%以上阻害することを意味する。ACE阻害活性は、例えば、市販のACE阻害活性測定キットを用いて、定量的に評価することができる。或いは、Cheung, H.S. 及び Cushman, D.W., *Biochim. Biophys. Acta*, 1973年, 第293巻, p. 451-463; 伊澤華子及び青柳康夫, 日本食品科学工学会誌, 2012年, 第59巻第7号, p. 348-353; 並びに Matsuda, S. 及び Aoyagi, Y., *J. Agric. Food Chem.*, 2013年, 第61巻, p. 5520-5525等の公知文献を参照することにより、定量的に評価することもできる。対象となる試料（例えば化合物）のACE阻害活性を評価するための試験は、例えば、市販のACE阻害活性測定キット（ACE Kit-WST、A502、同仁化学研究所製）を用いる場合、以下の手順で実施することができる。前記キットは、ACE活性によって3-ヒドロキシブチリルグリシルーグリシルーグリシン（3HB-GGG）から切り出される3-ヒドロキシ酪酸（3HB）を、酵素法によって検出することを測定原理とする。前記キットのプロトコルに従い、所定濃度の試料化合物を含む試料溶液、及び試料溶液に替えて同体積の水を加えた対照溶液を反応容器中で調製し、該反応容器に酵素反応溶液を加えて反応を行う。ブランクとして、酵素溶液に替えて同体積の水を加えた溶液で同様の処理を行う。ACE活性によって3HB-GGGから切り出された3HBに伴って形成される酵素法の発色指示物質の吸光度（450 nm）を測定する。試料、対照及びブランクの測定値を用いて、下記の式に基づき、各試料のACE阻害活性を算出する。或いは、対象となる試料のACE阻害活性を評価するための試験は、以下の手順で実施することもできる。アンジオテンシンIのC末端

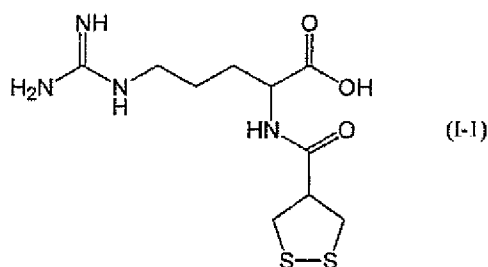
部分のミミックである基質ペプチド（例えば、ヒプリルーヒスチジルーロイシン（HHL））及び試料を、適切な緩衝溶液中に混合する。得られた混合液にACEを加え、適切な条件下（例えば、37℃、pH 8.3）で一定時間酵素反応を実施する。酵素反応を停止させた後、吸光度測定、ELISA若しくはRIAのような免疫分析、又はHPLC若しくはLC-MSのようなクロマトグラフィー分析等の分析手段を用いて、基質ペプチドから生成した生成物（例えば、HHLの場合、馬尿酸）を定量測定する。同様の実験を、試料を含まない対照及びACEを含まないブランクにおいても実施する。試料、対照及びブランクの測定値を用いて、下記の式に基づき、各試料のACE阻害活性を算出する。また、各試料について、ACE活性に関する用量応答曲線を作成して、各試料の50%阻害活性濃度（IC<sub>50</sub>値）を算出することもできる。

$$\text{ACE阻害活性 (\%)} = \{ (\text{ブランク測定値} - \text{試料測定値}) / (\text{対照測定値} - \text{ブランク測定値}) \} \times 100$$

[0020] 本発明者らは、アスパラガスの若茎の抽出物は、ACE阻害活性を有することに注目した。本発明者らは鋭意研究を進めた結果、アスパラガスに、ACE阻害活性を有する新規化合物が存在することを見出した。

[0021] 本発明は、式（I-1）：

[化2]

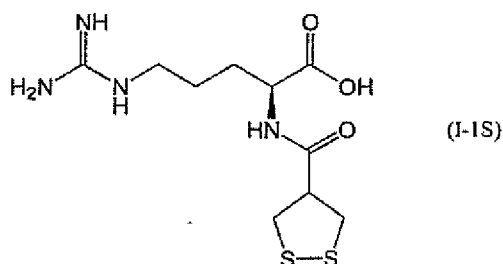


で表される化合物若しくはその塩、又はそれらの溶媒和物に関する。式（I-1）で表される化合物は、公知化合物であるアルギニンのα-アミノ基とアスパラガス酸（Dawid, C. 及び Hofmann, T., J. Agric. Food Chem., 2012年, 第60巻, p. 11877-11888）のカルボキシル基との間でアミド結合を形成した構造を有する新規化合物である。

[0022] 式 (I-1) で表される化合物は、2個の立体中心（キラル中心）を有する。

本発明において、式 (I-1) で表される化合物は、該化合物の個々のエナンチオマー及びジアステレオマー、並びにラセミ体のようなそれらの混合物も包含する。本発明において、式 (I-1) で表される化合物は、式 (I-1S) :

[化3]



で表される絶対立体配置を有する化合物であることが好ましい。本明細書において、式 (I-1) 又は (I-1S) で表される化合物を、アスパラプチン (asparaptine) と記載する場合がある。式 (I-1) 又は (I-1S) で表される化合物は、ACE阻害活性を有する。それ故、式 (I-1) 又は (I-1S) で表される化合物を、in vivo (インビボ) 又は in vitro (インビトロ) においてACEを阻害するための有効成分に適用することができる。

[0023] 本発明において、式 (I-1) 又は (I-1S) で表される化合物は、該化合物自体だけでなく、その塩も包含する。本発明の式 (I-1) 又は (I-1S) で表される化合物の塩としては、限定するものではないが、例えば、例えば、ナトリウムイオン、カリウムイオン、カルシウムイオン、マグネシウムイオン、若しくは置換若しくは非置換のアモニウムイオンのようなカチオン、又は塩化物イオン、臭化物イオン、ギ酸イオン、酢酸イオン、マレイン酸イオン、フマル酸イオン、安息香酸イオン、アスコルビン酸イオン、パモ酸イオン、コハク酸イオン、ビスメチレンサリチル酸イオン、メタンスルホン酸イオン、エタンジスルホン酸イオン、プロピオン酸イオン、酒石酸イオン、サリチル酸イオン、クエン酸イオン、グルコン酸イオン、アスパラギン酸イオン、ステアリン酸イオン、パルミチン酸イオン、イタコン酸イオン、グリコール酸イオン、p-アミノ安息香酸イオン、グルタミン酸イオン、ベンゼンスルホ

ン酸イオン、シクロヘキシルスルファミン酸イオン、メタンスルホン酸イオン、エタンスルホン酸イオン、イセチオン酸イオン、ベンゼンスルホン酸イオン、p-トルエンスルホン酸イオン、ナフタレンスルホン酸イオン、リン酸イオン、硝酸イオン、硫酸イオン、炭酸イオン、炭酸水素イオン又は過塩素酸イオンのようなアニオンが好ましい。本発明の式 (I-1) 又は (I-1S) で表される化合物が前記の塩の形態である場合、ACE阻害活性を実質的に低下させることなく、該化合物を使用することができる。

[0024] 本発明において、式 (I-1) 又は (I-1S) で表される化合物は、該化合物自体だけでなく、該化合物又はその塩の溶媒和物も包含する。前記化合物又はその塩と溶媒和物を形成し得る溶媒としては、限定するものではないが、例えば、低級アルコール（例えば、メタノール、エタノール、プロパノール（例えば2-プロパノール）若しくはブタノール（例えばn-ブタノール）のような1〜6の炭素原子数を有するアルコール）、高級アルコール（例えば、1-ヘプタノール若しくは1-オクタノールのような7以上の炭素原子数を有するアルコール）、脂肪族ケトン（例えばアセトン）、脂肪族スルホキシド（例えばジメチルスルホキシド（DMSO））、若しくはエステル（例えば酢酸エチル）のような有機溶媒、又は水、或いは1種以上のそれらの混合物が好ましい。本発明の式 (I-1) 又は (I-1S) で表される化合物又はその塩が前記の溶媒との溶媒和物の形態である場合、ACE阻害活性を実質的に低下させることなく、該化合物を使用することができる。

[0025] 本発明において、式 (I-1) 又は (I-1S) で表される化合物は、該化合物自体だけでなく、その保護形態も包含する。本明細書において、「保護形態」は、1個又は複数個の官能基（例えばヒドロキシル基又はカルボン酸基）に保護基が導入された形態を意味する。また、本明細書において、「保護基」は、望ましくない反応の進行を防止するために、特定の官能基に導入される基であって、特定の反応条件において定量的に除去され、且つそれ以外の反応条件においては実質的に安定、即ち反応不活性である基を意味する。前記化合物の保護形態を形成し得る保護基としては、限定するものではないが、例

例えば、カルボン酸基の保護基の場合、アルキルエステル（例えばメチル、エチル若しくはイソプロピルエステル）、又はアリールアルキルエステル（例えばベンジルエステル）が、アミノ基の保護基の場合、アルコキシアミド（*t*-ブトキシカルボニル（Boc））、アリールアルキルアミド（例えばフルオレニルメトキシカルボニル（Fmoc）、又はベンジロキシカルボニル（Z））が、グアニジノ基の場合、スルホニルアミド（例えば

*p*-トルエンスルホニル（Tos））が、それぞれ好ましい。前記保護基による保護化及び脱保護化は、公知の反応条件に基づき実施することができる。本発明の式（I-1）又は（I-1S）で表される化合物が前記の保護基による保護形態である場合、ACE阻害活性を実質的に低下させることなく、該化合物を使用することができる。

[0026] 本発明において、式（I-1）又は（I-1S）で表される化合物は、該化合物自体だけでなく、そのプロドラッグ形態も包含する。本明細書において、「プロドラッグ」は、生体内で親薬物に変換される化合物を意味する。前記化合物のプロドラッグ形態としては、限定するものではないが、例えば、カルボン酸基とアルコールとのエステル、及びグアニジノ基とスルホン酸とのスルホニルアミド等を挙げることができる。本発明の式（I-1）又は（I-1S）で表される化合物が前記のプロドラッグ形態である場合、親薬物である式（I-1）又は（I-1S）で表される化合物のACE阻害活性を実質的に低下させることなく、対象へのプロドラッグ形態の投与時の薬物動態を向上させることができる。

[0027] 前記特徴を有することにより、本発明の式（I-1）又は（I-1S）で表される化合物は、ACE阻害活性を発現することができる。

#### [0028] <2. 新規化合物の製造方法>

本発明はまた、本発明の式（I-1）又は（I-1S）で表される化合物の製造方法に関する。

[0029] 本発明の式（I-1）又は（I-1S）で表される化合物は、アルギニンの $\alpha$ -アミノ基とアスパラガス酸のカルボキシル基との間でアミド結合を形成した構造を有する。また、本発明の式（I-1）又は（I-1S）で表される化合物は、ア

スパラガスにおいて天然物質としても存在する。それ故、本発明の式 (I-1) 又は (I-1S) で表される化合物は、アスパラガスに含有される天然物質を精製及び単離する手段によって製造してもよく、アルギニン及びアスパラガス酸又はそれらの前駆体化合物から合成的手段によって製造してもよい。いずれの実施形態も本発明の製造方法に包含される。以下、それぞれの実施形態について詳細に説明する。

[0030] [2-1. 天然物質を精製及び単離する手段による製造方法]

本発明の式 (I-1) 又は (I-1S) で表される化合物の製造方法が天然物質を精製及び単離する手段による実施形態の場合、本発明の方法は、アスパラガスを水混和性有機溶媒で抽出する抽出工程、及び前記抽出工程で得られたアスパラガスの水混和性有機溶媒抽出物を分離して、該抽出物から本発明の式 (I-1) 又は (I-1S) で表される化合物を単離する単離工程を含む。以下、各工程について説明する。

[0031] 抽出工程において使用されるアスパラガスは、自然界に自生している、或いは食品、医薬又は園芸等の用途で栽培されるアスパラガス属植物であればよく、その具体的な種以下の下位分類（例えば亜種若しくは品種）、生育若しくは栽培地域、及び栽培条件（例えば明／暗所条件）は特に限定されない。本工程において使用されるアスパラガスとしては、例えば、栽培作物のアスパラガス (*A. officinalis*)、自生種のキジカクシ (*A. schoberioides*)、並びに観葉植物のクサスギカズラ (*A. cochinchinensis*)、オオミドリボウキ (*A. plumosus*)、クサナギカズラ (*A. asparagoides*) 及びホウキテンモンドウ (*A. myriocladus*) 等の様々なアスパラガス属植物を挙げることができる。それ故、本発明において、「アスパラガス」は、栽培作物のアスパラガス (*A. officinalis*) だけでなく、前記で例示したものを含む様々なアスパラガス属植物も包含する。本発明の式 (I-1) 又は (I-1S) で表される化合物を多く含有することから、暗所で生育したホワイトアスパラガス又は明所で生育したグリーンアスパラガスを使用することが好ましい。同様に、本発明の式 (I-1) 又は (I-1S) で表される化合物を多く含有することから、前

記アスパラガスの地上部（例えば、若茎、茎、擬葉、葉、果実又は種子）又は地下部（例えば、根茎）を使用することが好ましく、地上部の全長が5～15 cmの前記アスパラガスの若茎を使用することがより好ましい。前記特徴を有するアスパラガスの若茎を使用する場合、頂部から1～5 cmの部分を使用することが好ましく、頂部から1～3 cmの部分を使用することがより好ましい。前記条件を満たすアスパラガスを使用することにより、本発明の式（I-1）又は（I-1S）で表される化合物を高収量で製造することができる。

[0032] 抽出工程において使用されるアスパラガスは、前記条件を満たすアスパラガスの新鮮な植物体又は新鮮な植物体を切断等して得られるその部分をそのままの状態（すなわち新鮮な状態）で使用してもよく、該新鮮な植物体又はその部分を、加熱乾燥又は凍結乾燥等の手段で乾燥処理した乾燥物の状態で使用してもよい。また、前記のいずれかの状態のアスパラガスは、そのままの形状で抽出に供してもよく、切断又は粉碎等して得られる小片又は粉末等の形状で抽出に供してもよい。いずれの場合も、本工程の実施形態に包含される。

[0033] 抽出工程において使用される水混和性有機溶媒としては、低級脂肪族アルコール、脂肪族ケトン、脂肪族スルホキシド及び含ハロゲン系有機溶媒、並びにそれらの1種以上の混合物を挙げることができる。前記水混和性有機溶媒は、メタノール、エタノール、プロパノール（例えば2-プロパノール）、ブタノール（例えばn-ブタノール）、アセトン、ジメチルスルホキシド（DMSO）又は1種以上のそれらの混合物であることが好ましい。前記水混和性有機溶媒は、場合により水との混合溶媒の形態であってもよい。特に好適な水混和性有機溶媒は、含水低級脂肪族アルコール（好ましくは70～90質量%、より好ましくは80質量%低級脂肪族アルコール（例えばメタノール若しくはエタノール）水溶液）である。前記水混和性有機溶媒は、抽出されるアスパラガス1 gに対して10 mL以上、好ましくは40 mL以上、より好ましくは50 mL以上、及び抽出されるアスパラガス1 gに対して1000 mL以下、好ましくは100 mL以下の量比で使用することが好ましい。前記水混和性有機溶媒を使用するこ

とによって得られるアスパラガスの水混和性有機溶媒抽出物は、本発明の式 (I-1) 又は (I-1S) で表される化合物を濃縮された状態で、通常は、該水混和性有機溶媒抽出物の総質量に対して0.01質量%以上、例えば、0.01～90質量%の範囲で、典型的には、0.05～90質量%の範囲で含有する。特定の実施形態において、前記水混和性有機溶媒を使用することによって得られるアスパラガスの水混和性有機溶媒抽出物は、本発明の式 (I-1) 又は (I-1S) で表される化合物を高濃度に濃縮された状態で、通常は、該水混和性有機溶媒抽出物の総質量に対して0.2質量%以上、例えば、0.2～90質量%の範囲で、典型的には、0.5～90質量%の範囲で、特に、1～90質量%の範囲で含有する。それ故、前記水混和性有機溶媒を使用することにより、本発明の式 (I-1) 又は (I-1S) で表される化合物を水混和性有機溶媒画分に効率的に抽出することができる。

[0034] 抽出工程において実施される抽出の温度は、室温～還流温度であることが好ましく、10～40℃の範囲であることがより好ましく、20～30℃の範囲であることがさらに好ましい。抽出の時間は、1時間～数日間（例えば10日間）であることが好ましく、1時間～1日間であることがより好ましく、1時間～一晩（例えば12時間）であることがさらに好ましい。前記条件下で抽出を実施することにより、本発明の式 (I-1) 又は (I-1S) で表される化合物を水混和性有機溶媒画分に効率的に抽出することができる。

[0035] 単離工程において、前記抽出工程で得られたアスパラガスの水混和性有機溶媒抽出物を分離する手段は、特に限定されない。液相－液相分配；分配、順相、逆相、イオン交換若しくはゲル濾過等の各種カラムクロマトグラフィー；高速液体クロマトグラフィー（HPLC）；蒸留；透析；限外濾過；又は再結晶等の当該技術分野で通常使用される各種の分離手段を適用することができる。本工程は、アスパラガスの水混和性有機溶媒抽出物を液相－液相分配することによって有機相に分配される脂溶性成分を除去する脂溶性成分除去工程、脂溶性成分除去工程で得られた水溶性成分抽出物を、数段階のクロマトグラフィー（例えば逆相オープンカラムクロマトグラフィー、逆相HPLC又

は逆相LC-MS)によって分離して、目的の化合物を含有する分取クロマトグラフィー画分を得る分取クロマトグラフィー工程をさらに含むことが好ましい。脂溶性成分除去工程において、液相-液相分配に用いる有機相は、*n*-ヘキサン、クロロホルム若しくは酢酸エチル、又は1種以上のそれらの組み合わせであることが好ましい。前記有機相を用いることにより、脂質及び／又はクロロフィル等の脂溶性成分を除去することができる。これによって得られる水溶性成分抽出物は、本発明の式(I-1)又は(I-1S)で表される化合物を濃縮された状態で、通常は、該水溶性成分抽出物の総質量に対して0.01質量%以上、例えば、0.01~90質量%の範囲で、典型的には、0.05~90質量%の範囲で含有する。特定の実施形態において、前記水溶性成分抽出物は、本発明の式(I-1)又は(I-1S)で表される化合物を高濃度に濃縮された状態で、通常は、該水溶性成分抽出物の総質量に対して0.2質量%以上、例えば、0.2~90質量%の範囲で、典型的には、0.5~90質量%の範囲で、特に、1~90質量%の範囲で含有する。分取クロマトグラフィー工程において、逆相カラムクロマトグラフィー、逆相HPLC及び逆相LC-MSに使用される担体がODSの場合、移動相は、メタノール-水系、又は酸(例えば0.1体積% HCOOH)を含むアセトニトリル-水系が好ましい。前記移動相は、イソクラティック溶出又はリニアグラジエント溶出のいずれの条件であってもよい。前記移動相を用いる場合、10~20体積%メタノール水溶液、又は90~100体積%アセトニトリル水溶液(酸(例えば0.1体積% HCOOH)を含む)の画分に、目的の化合物を得ることができる。それ故、前記手段で本工程を実施することにより、アスパラガスの水混和性有機溶媒抽出物から、本発明の式(I-1)又は(I-1S)で表される化合物を濃縮又は単離された形態で得ることができる。

[0036] [2-2. 合成的手段による製造方法]

合成的手段による実施形態の場合、本発明の方法は、アルギニン又はその保護形態とアスパラガス酸とをカップリング反応させて、式(I-1)又は(I-1S)で表される化合物を形成させるカップリング工程を含む。本工程において、アルギニン又はその保護形態とアスパラガス酸とをカップリング反応さ

せる手段は特に限定されない。当該技術分野で通常使用される、酸ハロゲン化物（例えば酸クロライド）又は活性エステル（例えばN-ヒドロキシコハク酸イミドエステル）等をアスパラガス酸のカルボキシル基活性化形態として用いるアミド結合の形成反応を使用することができる。この場合、アルギニンは、C末端カルボキシル基及び側鎖グアニジノ基に保護基が導入された保護形態であることが好ましい。

[0037] 前記カップリング工程で使用されるアルギニン及びアスパラガス酸は、公知の手段に基づき天然物質を精製及び単離する手段によって得てもよく、予め製造された化合物を購入等して得てもよい。また、アルギニンがその保護形態として使用される場合、公知の手段に基づきアルギニンに保護基を導入して保護形態に変換してもよく、予め製造されたアルギニンの保護形態を購入等して得てもよい。いずれの場合も、本工程の実施形態に包含される。

[0038] <3. ACE阻害活性を有する新規化合物の用途>

本発明の式 (I-1) 又は (I-1S) で表される化合物は、ACE阻害活性を有する。ACEは、アンジオテンシンの変換を介して、血圧の調節に関与していると考えられている。このため、ACE阻害活性を有する化合物は、血圧降下のため、或いは高血圧及び心不全等のレニン-アンジオテンシン系に関わる疾患又は症状の予防又は治療のための医薬品又は食品の有効成分として使用できる可能性がある。それ故、本発明の一態様は、本発明の式 (I-1) 又は (I-1S) で表される化合物を有効成分として含有する、ACE阻害剤に関する。また、本発明の別の態様は、本発明の式 (I-1) 又は (I-1S) で表される化合物を有効成分として含有する、血圧降下用剤に関する。また、本発明の別の態様は、本発明の式 (I-1) 又は (I-1S) で表される化合物を有効成分として含有する、血圧降下用組成物に関する。また、本発明の別の態様は、本発明の式 (I-1) 又は (I-1S) で表される化合物と、1種以上の食品的に許容し得る成分とを含有する食品組成物に関する。さらに、本発明は、本発明の式 (I-1) 又は (I-1S) で表される化合物を有効成分として含有する医薬、或いは本発明の式 (I-1) 又は (I-1S) で表される化合物と、1種以上の薬学的に許容し

得る成分とを含有する医薬組成物に関する。本発明のACE阻害剤は、インビボ又はインビトロにおいてACEを阻害するために使用することができる。また、本発明の食品組成物、医薬及び医薬組成物は、有効成分として含有される本発明の式 (I-1) 又は (I-1S) で表される化合物のACE阻害活性を介して、血圧降下のため、或いは高血圧及び心不全等のレニン-アンジオテンシン系に関わる疾患又は症状の予防又は治療のために使用することができる。

[0039] 本発明のACE阻害剤、食品組成物、医薬及び医薬組成物において、有効成分として含有される本発明の式 (I-1) 又は (I-1S) で表される化合物は、純粋な（すなわち単離された）形態で配合されていてもよく、部分的に精製された形態で配合されていてもよい。本発明の式 (I-1) 又は (I-1S) で表される化合物が純粋な形態で配合される実施形態の場合、前記で説明した本発明の製造方法を実施することによって得られた純粋な形態の該化合物を使用することができる。本発明の式 (I-1) 又は (I-1S) で表される化合物が部分的に精製された形態で配合される実施形態の場合、前記で説明した本発明の製造方法のうち、天然物質を精製及び単離する手段による実施形態における各工程から得られる抽出物又は画分を、該化合物の部分的に精製された形態として使用することができる。この場合、抽出工程で得られるアスパラガスの水混和性有機溶媒抽出物若しくは水混和性有機溶媒画分、脂溶性成分除去工程で得られる水溶性成分抽出物若しくは水相画分、又は分取クロマトグラフィー工程で得られる分取クロマトグラフィー画分を、本発明の式 (I-1) 又は (I-1S) で表される化合物の部分的に精製された形態として使用することが好ましい。前記形態で本発明の式 (I-1) 又は (I-1S) で表される化合物を配合することにより、本発明のACE阻害剤、食品組成物、医薬及び医薬組成物は、ACE阻害活性を発現することができる。

[0040] 本発明のACE阻害剤及び食品組成物において、本発明の式 (I-1) 又は (I-1S) で表される化合物は、通常は、ACEを阻害するために有効な量で含有される。ACEを阻害するために有効な量は、例えば、ACE阻害剤又は食品組成物の総質量に対して、通常は、0.2質量%以上であり、例えば、0.2~90質量%の

範囲であり、0.5～90質量%の範囲であることが好ましく、1～90質量%の範囲であることがより好ましい。本発明の式 (I-1) 又は (I-1S) で表される化合物が前記有効な量で含有されることにより、本発明のACE阻害剤は、インビボ又はインビトロにおいてACE阻害活性を発現することができる。また、本発明の食品組成物は、該食品組成物を摂取した摂取者の体内において、ACE阻害活性を発現することができる。

[0041] 本発明の食品組成物は、当該技術分野で通常使用される様々な食品の形態、例えば、固体状（例えば、粉末状、錠剤状若しくは顆粒状）、ペースト状、又は液状の食品に加工することができる。本発明の食品組成物は、前記有効成分に加えて、1種以上の食品成分、並びに食品的に許容し得る1種以上の防腐剤、安定剤、分散剤、膨化剤、界面活性剤、油性液、緩衝剤、酸化防止剤、甘味剤、香味剤、色素及び顔料等を含んでもよい。

[0042] 本発明の食品組成物は、そのままの状態では食品として使用してもよく、他の食品若しくは食品成分と混合して、すなわち食品原料として使用してもよい。本発明の食品組成物の形態としては、例えば、通常の商品若しくは飲料品その他、サプリメントのような健康補助食品の形態であってもよい。健康補助食品の形態としては、例えば、粉末、顆粒、並びに必要に応じて糖衣又は溶解性被膜を施した錠剤、カプセル剤、エリキシル剤、マイクロカプセル剤、シロップ及び懸濁液等を挙げることができる。錠剤又はカプセル剤等に混和することができる添加剤としては、限定するものではないが、例えば、ゼラチン、コーンスターチ、トラガントガム及びアラビアガムのような結合剤、結晶性セルロースのような賦形剤、アルギン酸、コーンスターチ及びゼラチンのような膨化剤、ステアリン酸マグネシウムのような潤滑剤、ショ糖、乳糖及びサッカリンのような甘味剤、並びにペパーミント、アカモノ油及びチェリーのような香味剤等を挙げることができる。製剤がカプセル剤の場合、さらに油脂のような液状担体を含有してもよい。

[0043] 本発明の食品組成物において、有効成分として含有される本発明の式 (I-1) 又は (I-1S) で表される化合物は、アスパラガスにおいて天然物質として

も存在する。このため、本発明の式 (I-1) 又は (I-1S) で表される化合物を含有する食品組成物は、安全で低毒性である。それ故、本発明の食品組成物は、摂取者の健康に実質的な影響を与えることなく使用することができる。

[0044] 本発明の食品組成物において、有効成分として含有される本発明の式 (I-1) 又は (I-1S) で表される化合物は、ACE阻害活性を介して、血圧を降下させるために使用することができる。それ故、本発明の一実施形態は、本発明の式 (I-1) 又は (I-1S) で表される化合物と、1種以上の食品的に許容し得る成分とを含有する、血圧降下用食品組成物である。本発明の血圧降下用食品組成物を摂取することにより、摂取者の体内において、ACE阻害活性を介して、血圧を降下させることができる。

[0045] 本発明はまた、本発明の式 (I-1) 又は (I-1S) で表される化合物を有効成分として含有する医薬、或いは本発明の式 (I-1) 又は (I-1S) で表される化合物と、1種以上の薬学的に許容し得る成分とを含有する医薬組成物に関する。本発明の医薬又は医薬組成物において、有効成分として含有される本発明の式 (I-1) 又は (I-1S) で表される化合物は、アスパラガスにおいて天然物質としても存在する。このため、本発明の式 (I-1) 又は (I-1S) で表される化合物を含有する医薬又は医薬組成物は、安全で低毒性である。それ故、本発明の医薬又は医薬組成物は、様々な対象に適用することができる。前記対象としては、例えば、ヒト又は非ヒト哺乳動物（例えば、ブタ、イヌ、ウシ、ラット、マウス、モルモット、ウサギ、ニワトリ、ヒツジ、ネコ、サル、マントヒヒ若しくはチンパンジー等の温血動物）の被験体又は患者を挙げることができる。前記対象に本発明の医薬又は医薬組成物を投与することにより、血圧を降下させる、或いは高血圧及び心不全等のレニン-アンジオテンシン系に関わる疾患又は症状を予防又は治療することができる。

[0046] 本明細書において、「予防」は、前記疾患及び／又は症状の発生（発症又は発現）を実質的に防止することを意味する。また、本明細書において、「治療」は、発生（発症又は発現）した前記疾患及び／又は症状を抑制（例えば進行の抑制）、軽快、修復及び／又は治癒することを意味する。

[0047] 本発明の医薬又は医薬組成物を、対象、特にヒト患者に投与する場合、正確な投与量及び投与回数は、対象の年齢、性別、予防又は治療されるべき疾患及び／又は症状の正確な状態（例えば重症度）、並びに投与経路等の多くの要因を鑑みて、担当医が治療上有効な投与量及び投与回数を最終的に決定すべきである。それ故、本発明の医薬又は医薬組成物において、有効成分として含有される本発明の式（I-1）又は（I-1S）で表される化合物は、通常は、治療上有効な量で含有される。治療上有効な量は、例えば、医薬又は医薬組成物の総質量に対して、通常は、0.01質量%以上であり、例えば、0.01～90質量%の範囲であり、0.05～90質量%の範囲であることが好ましく、0.1～90質量%の範囲であることがより好ましく、0.2～90質量%の範囲であることがさらに好ましく、0.5～90質量%の範囲であることが特に好ましく、1～90質量%の範囲であることがとりわけ好ましい。本発明の式（I-1）又は（I-1S）で表される化合物が前記治療上有効な量で含有されることにより、本発明の医薬又は医薬組成物は、該医薬又は医薬組成物を投与された対象の体内において、ACE阻害活性を介して所望の治療効果を発現することができる。

[0048] 本発明の医薬又は医薬組成物は、所望の投与方法に応じて、当該技術分野で通常使用される様々な剤形に製剤されることができる。本発明の医薬又は医薬組成物は、前記成分に加えて、薬学的に許容し得る1種以上の担体、賦形剤、結合剤、分散剤、ビヒクル、溶解補助剤、防腐剤、安定剤、膨化剤、潤滑剤、界面活性剤、油性液、緩衝剤、無痛化剤、酸化防止剤、甘味剤及び香味剤等を含んでもよい。

[0049] 本発明の医薬又は医薬組成物は、通常は、経口投与又は非経口投与に使用することができる。経口投与に使用するための製剤としては、例えば、粉末、並びに必要に応じて糖衣又は溶解性被膜を施した錠剤、カプセル剤、エリキシル剤、マイクロカプセル剤、シロップ及び懸濁液等を挙げることができる。錠剤又はカプセル剤等に混和することができる添加剤としては、限定するものではないが、例えば、ゼラチン、コーンスターチ、トラガントガム及びアラビアゴムのような結合剤、結晶性セルロースのような賦形剤、アルギ

ン酸、コーンスターチ及びゼラチンのような膨化剤、ステアリン酸マグネシウムのような潤滑剤、ショ糖、乳糖及びサッカリンのような甘味剤、並びにペパーミント、アカモノ油及びチェリーのような香味剤等を挙げることができる。製剤がカプセル剤の場合、さらに油脂のような液状担体を含有してもよい。非経口投与に使用するための製剤としては、例えば、水若しくはそれ以外の薬学的に許容し得る液との無菌性溶液又は懸濁液等の注射剤を挙げることができる。注射剤に混和することができる添加剤としては、限定するものではないが、例えば、生理食塩水、ブドウ糖若しくはその他の補助薬（例えば、D-ソルビトール、D-マンニトール及び塩化ナトリウム）を含む等張液のようなビヒクル、アルコール（例えばエタノール及びベンジルアルコール）、エステル（例えば安息香酸ベンジル）、ポリアルコール（例えばプロピレングリコール及びポリエチレングリコール）のような溶解補助剤、ポリソルベート80及びポリオキシエチレン硬化ヒマシ油のような非イオン性界面活性剤、ゴマ油及び大豆油のような油性液、リン酸塩緩衝液及び酢酸ナトリウム緩衝液のような緩衝剤、塩化ベンザルコニウム及び塩酸プロカインのような無痛化剤、ヒト血清アルブミン及びポリエチレングリコールのような安定剤、保存剤、並びに酸化防止剤等を挙げることができる。調製された注射剤は、通常、適当なバイアル（例えばアンプル）に充填され、使用時まで適切な環境下で保存される。

[0050] 本発明の医薬又は医薬組成物は、非経口投与に使用するためのデポー製剤として製剤化することもできる。この場合、デポー製剤の剤形の本発明の医薬又は医薬組成物を、例えば皮下若しくは筋肉に埋め込み、又は筋肉注射により投与することができる。本発明の医薬又は医薬組成物をデポー製剤に適用することにより、有効成分である本発明の式 (I-1) 又は (I-1S) で表される化合物を長期間に亘って持続的に放出することができる。

[0051] 本発明の医薬又は医薬組成物の剤形は、単位用量形態の製剤であってもよく、複数投与形態の製剤であってもよい。また、本発明の医薬又は医薬組成物の投与経路及び投与回数は、特に限定されず、経口的又は非経口的に単回

若しくは複数回投与されてもよい。

[0052] 本発明の式 (I-1) 又は (I-1S) で表される化合物は、前記で説明したレニン-アンジオテンシン系に関わる疾患又は症状（例えば、高血圧又は心不全等）を有する対象において、該疾患又は症状の予防又は治療に使用することができる。それ故、本発明の一実施形態は、前記で説明した1種以上のレニン-アンジオテンシン系に関わる疾患又は症状の予防又は治療を必要とする対象に、有効量の本発明の式 (I-1) 又は (I-1S) で表される化合物若しくはその薬学的に許容し得る塩、又はそれらの薬学的に許容し得る溶媒和物を投与することを含む、前記疾患又は症状の予防又は治療方法である。前記レニン-アンジオテンシン系に関わる疾患又は症状は、高血圧及び心不全からなる群より選択される1種以上の疾患又は症状であることが好ましい。1種以上のレニン-アンジオテンシン系に関わる疾患又は症状の予防又は治療を必要とする対象に、本発明の式 (I-1) 又は (I-1S) で表される化合物を投与することにより、本発明の式 (I-1) 又は (I-1S) で表される化合物のACE阻害活性を介して、該疾患又は症状を予防又は治療することができる。

[0053] 本発明の他の一実施形態は、血圧降下に使用するため、或いは前記で説明した1種以上のレニン-アンジオテンシン系に関わる疾患又は症状（例えば、高血圧又は心不全等）の予防又は治療に使用するための、本発明の式 (I-1) 又は (I-1S) で表される化合物若しくはその薬学的に許容し得る塩、又はそれらの薬学的に許容し得る溶媒和物である。本発明の別の実施形態は、血圧降下に用いるため、或いは前記で説明した1種以上のレニン-アンジオテンシン系に関わる疾患又は症状（例えば、高血圧又は心不全等）の予防又は治療に用いるための医薬の製造のための、本発明の式 (I-1) 又は (I-1S) で表される化合物若しくはその薬学的に許容し得る塩、又はそれらの薬学的に許容し得る溶媒和物の使用である。前記レニン-アンジオテンシン系に関わる疾患又は症状は、高血圧及び心不全からなる群より選択される1種以上の疾患又は症状であることが好ましい。本発明の医薬を、血圧降下、或いは1種以上のレニン-アンジオテンシン系に関わる疾患又は症状の予防又は治療の予防又は治

療に使用することにより、本発明の式 (I-1) 又は (I-1S) で表される化合物のACE阻害活性を介して、血圧を降下させる、或いは該疾患又は症状を予防又は治療することができる。

## 実施例

[0054] 以下、実施例を用いて本発明をさらに具体的に説明する。但し、本発明の技術的範囲はこれら実施例に限定されるものではない。

[0055] <I : 新規化合物の精製及び単離>

新鮮なグリーンアスパラガス (*Asparagus officinalis* L.) の若茎 (地上部の全長約15 cm、970.7 g) を小売店で購入し、セラミック製ナイフを用いて2~3 mmの小片に切断した。得られた小片を液体窒素中で急速凍結した。凍結した小片を、凍結乾燥した後、粉碎した。凍結乾燥したアスパラガス粉末 (57.5 g) を、80質量%メタノール水溶液 (3 L) を用いて、室温で一晩抽出した。前記抽出を3回行った。得られた抽出液を、少量の水溶液 (約400 ml) が残留するまでエバポレーターで濃縮した。残留した水溶液を、n-ヘキサン (400 ml×3) 及びクロロホルム (400 ml) で抽出して、脂質及びクロロフィルを除去した。前記抽出の水相を約50 mlまで濃縮した。得られた水相濃縮物を、カラムクロマトグラフィーで分取した (カラム直径 : 7.3 cm ; カラム長 : 15 cm ; 担体 : Cosmosil 75C<sub>18</sub>-OPN (ナカライテスク社) ; 移動相 : メタノール-水 (0:100→100:0 (体積/体積) ) )。前記分取カラムクロマトグラフィーにより、13画分 (画分1及び2 : 0体積%メタノール ; 画分3及び4 : 5体積%メタノール ; 画分5及び6 : 10体積%メタノール ; 画分7及び8 : 20体積%メタノール ; 画分9及び10 : 40体積%メタノール ; 画分11及び12 : 60体積%メタノール ; 画分13 : 100体積%メタノール ; 各画分とも500 mlの溶出液に対応する) を得た。各画分を、LC-MS分析した (島津LCMS-2020システム)。LC-MS分析により、主として画分6 (10体積%メタノール) にm/z 307 [M+H]<sup>+</sup>の分子イオンピークが検出された。画分6を、MS検出型分画システム (島津LC-PDA-MSシステム) を用いて分離した。分取条件は下記の通りである。LC-10APポンプA及びB ; カラム : Unison UK-C18 (150×10 mm内径 ; 3 μm) ; カラムオーブ

ン温度：40℃；移動相：リニアグラジエント溶出、流速：3 ml/分〔溶媒A：水（0.1体積% HCOOH）；溶媒B：アセトニトリル（0.1体積% HCOOH）；リニアグラジエントプログラム：5体積% B（0-2分），5-8体積% B（2-3分），8-10体積% B（3-21分），10-100体積% B（21-22分），100体積% B（22-27分），100-5体積% B（27-28分），5体積% B（28-35分）〕。LC溶出液をLCMS-2020質量分析装置へ1：150のスプリット比で分配するために、メイクアップフロー（LC-10ADポンプC，溶媒B，0.2 ml/分）を使用した。エレクトロスプレーイオン化（ESI）質量スペクトルを、100～1000 m/zの範囲に亘って、正イオンモードで記録した（プローブ電圧：4.5 kV；ネブライザーガス流量：1.5 L/分；DL温度：250℃；ヒートブロック温度：200℃；乾燥ガス流量：20.0 L/分）。前記分取LC-MSにより、m/z 307 [M+H]<sup>+</sup>の分子イオンピークを有する化合物を、画分6（90～100体積%アセトニトリル水溶液（0.1体積% HCOOH））から得た（61 mg）。前記精製のスキームを図1Aに、分取LC-PDA-MSシステムを用いた分取時のMSクロマトグラムを図1Bに、それぞれ示す。

[0056] <II：新規化合物の構造決定>

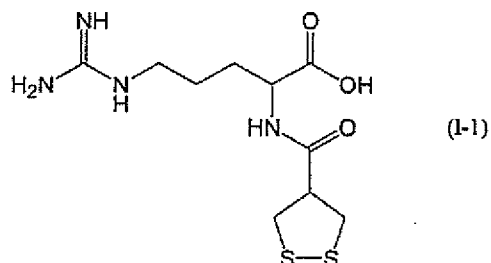
[II-1：新規化合物の平面構造の決定]

前記精製によって単離された化合物のスペクトルデータを取得した。FT-ICR-MS：m/z 307.08931（[M+H]<sup>+</sup>，C<sub>10</sub>H<sub>19</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>S<sub>2</sub>に対する計算値：307.08930）；<sup>1</sup>H-NMR（600 MHz，0.01% DDS-d<sub>6</sub>を含むD<sub>2</sub>O中、25℃），δ 3.42（1H，m，H-3a），3.34（1H，m，H-3b），3.44（1H，m，H-4），3.46（1H，m，H-5a）3.28（1H，m，H-5b），4.21（1H，dd 8.2，5.0，H-8），1.86（1H，m，H-9a），1.72（1H，m，H-9b），1.61（2H，m，H-10），3.21（2H，t 6.9，H-11）；<sup>13</sup>C-NMR（150 MHz，0.01% DDS-d<sub>6</sub>を含むD<sub>2</sub>O中、25℃），δ 44.6，54.0，45.4及び176.7（アスパラガス酸部分：C-3からC-6）；57.6，31.5，27.2，43.3，159.5及び181.2（アルギニン部分：C-8からC-14）。単離された化合物の一次元NMRスペクトルを図2に示す。図中、Aは<sup>1</sup>H-NMRスペクトルを、Bは<sup>13</sup>C-NMRスペクトルを、それぞれ示す。さらに、異核多結合相関（HMBC）スペクトルにおいて、δ 4.21（H-8）のプロトンシグナルは、δ 176.7（C-6）の炭素シグナルと長距離相関を示し

た。

[0057] 前記スペクトルデータに基づき、単離された化合物の平面構造を、式 (I-1) :

[化4]

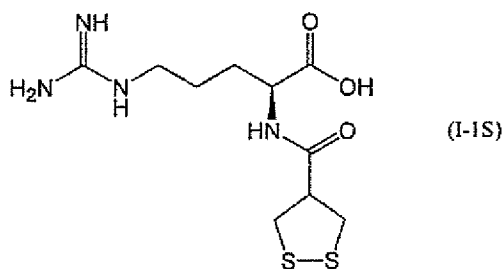


のように決定した。式 (I-1) に示すように、単離された化合物は、公知化合物であるアルギニンの $\alpha$ -アミノ基とアスパラガス酸 (Dawid, C. 及び Hofmann, T., J. Agric. Food Chem., 2012年, 第60巻, p. 11877-11888) のカルボキシル基との間でアミド結合を形成した構造を有する新規化合物である。単離された新規化合物を、アスパラプチン (asparaptine) と命名した。

[0058] [II-2: 新規化合物の立体構造の決定]

以下の手順で、アスパラプチンのアルギニン $\alpha$ -位炭素の絶対立体配置を決定した。アスパラプチン (1.9 mg) を、6.0 N HCl (2.0 mL) に懸濁させ、85℃で8時間加熱した。得られた酸加水分解物を、窒素気流下で乾燥させ、水:メタノール:HC00H (30:70:0.02) に溶解させた。この溶液サンプルを、HPLCによって分析した。HPLC分析の条件は以下の通りである。LC-20ADポンプA及びB; カラム: Astec CHIROBIOTIC T (150×2.1 mm内径, 1024AST); カラムオープン温度: 25℃; 溶媒: [水:メタノール:HC00H (30:70:0.02)]; 流速: 0.2 mL/分; UV検出波長: 200 nm。HPLC分析の結果を図3に示す。D-及びL-アルギニンは、それぞれ11.1分及び8.1分の保持時間を示した。加水分解物中のL-アルギニンを、人工標品の保持時間との比較によって同定した。前記の結果から、アスパラプチンのアルギニン $\alpha$ -位炭素の絶対立体配置を、式 (I-1S) :

[化5]



に示すように、S配置と決定した。

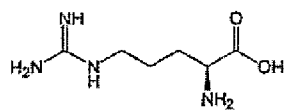
[0059] <III：新規化合物のACE阻害活性試験>

市販のACE阻害活性測定キット（ACE Kit-WST、A502、同仁化学研究所製）を用いて、式（I-1S）で表される新規化合物であるアスパラプチンのACE阻害活性を測定した。前記キットは、ACE活性によって3-ヒドロキシブチリルグリシルーグリシルーグリシン（3HB-GGG）から切り出される3-ヒドロキシ酪酸（3HB）を、酵素法によって検出することを測定原理とする。前記キットのプロトコルに従い、所定濃度の試験化合物を含む試料溶液、及び試料溶液に替えて同体積の水を加えた対照溶液を96穴マイクロプレートの各ウェル中で調製し、該ウェルに酵素反応溶液を加えて反応を行った。ブランクとして、酵素溶液に替えて同体積の水を加えた溶液で同様の処理を行った。ACE活性によって3HB-GGGから切り出された3HBに伴って形成される酵素法の発色指示物質の吸光度（450 nm）を測定した。下記の式に基づき、各試料のACE阻害活性を算出した。各試料について、ACE活性に関する用量応答曲線を作成して、各試料の50%阻害活性濃度（IC<sub>50</sub>値）を算出した。

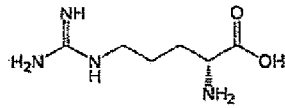
$$\text{ACE阻害活性 (\%)} = \left\{ \frac{(\text{ブランク吸光度} - \text{試料吸光度})}{(\text{対照吸光度} - \text{ブランク吸光度})} \right\} \times 100$$

[0060] 測定試料として、前記手順で単離した式（I-1S）で表される化合物（アスパラプチン）の他、L-アルギニン、D-アルギニン、L-アスパラギン酸及びアスパラガス酸を使用した。また、陽性対照として、ACE阻害活性を有する公知化合物であるカプトプリル、N-スクシニル-L-プロリン及びニコチアナミンを使用した。前記化合物の構造を以下に示す。

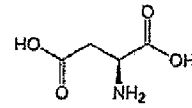
## [化6]



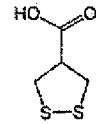
L-アルギニン



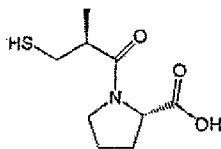
D-アルギニン



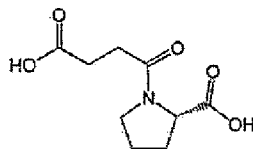
L-アスパラギン酸



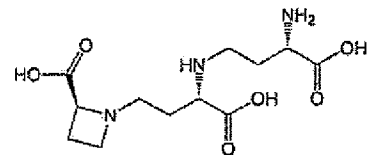
アスパラガス酸



カプトプリル



N-スクシニル-L-プロリン



ニコチアナミン

[0061] 前記試料のACE活性に関する $IC_{50}$ 値を表1に示す。表中、N. D. は、前記試験においてACE阻害活性が検出されなかったことを示す。

[表1]

| 試料             | $IC_{50}$ ( $\mu M$ ) |
|----------------|-----------------------|
| アスパラプチン        | 113 $\pm$ 11          |
| L-アルギニン        | N. D.                 |
| D-アルギニン        | N. D.                 |
| L-アスパラギン酸      | N. D.                 |
| アスパラガス酸        | N. D.                 |
| カプトプリル         | 0.00161 $\pm$ 0.00043 |
| N-スクシニル-L-プロリン | 14.5 $\pm$ 5.3        |
| ニコチアナミン        | 18.7 $\pm$ 0.54       |

[0062] 表1に示すように、式 (I-1S) で表されるアスパラプチンは、1  $\mu M$ を超える濃度でACE阻害活性を発現し、113  $\mu M$ の $IC_{50}$ を示した。

[0063] <IV：品種又は生育条件の異なるアスパラガス植物体における新規化合物の分布>

明所で生育したグリーンアスパラガス及び暗所で生育したホワイトアスパラガスと、紫色のアントシアニン色素を含有する品種であるパープルアスパラガスとを用いて、アスパラプチンの産生量を比較した。前記Iと同様の手順により、新鮮な各アスパラガスの若茎からアスパラプチンを精製し、各精製

画分に含まれるアスパラプチンをLC-MS分析によって定量した。各アスパラガスの若茎に含まれるアスパラプチンの量を表2に示す。

[表2]

| 試料         | アスパラプチン含有量<br>(mg/kg 新鮮重量) |
|------------|----------------------------|
| グリーンアスパラガス | 251±17                     |
| ホワイトアスパラガス | 298±22                     |
| パープルアスパラガス | 185±26                     |

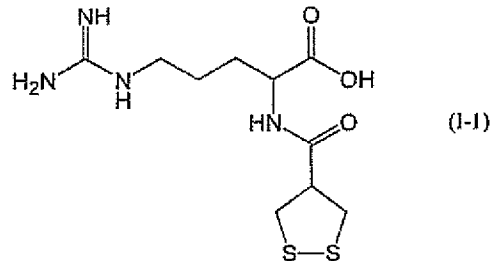
[0064] 表2に示すように、いずれのアスパラガスの若茎も、アスパラプチンを含有することが明らかとなった。

[0065] 本明細書で引用した全ての刊行物、特許及び特許出願をそのまま参考として本明細書にとり入れるものとする。

## 請求の範囲

[請求項1] 式 (I-1) :

[化1]



で表される化合物若しくはその塩、又はそれらの溶媒和物。

[請求項2] 請求項1に記載の化合物若しくはその塩、又はそれらの溶媒和物を有効成分として含有する、アンジオテンシン変換酵素阻害剤。

[請求項3] 請求項1に記載の化合物若しくはその塩、又はそれらの溶媒和物を有効成分として含有する、血圧降下用剤。

[請求項4] 請求項1に記載の化合物若しくはその塩、又はそれらの溶媒和物を有効成分として含有する、血圧降下用組成物。

[請求項5] 請求項1に記載の化合物若しくはその塩、又はそれらの溶媒和物と、1種以上の食品的に許容し得る成分とを含有する血圧降下用食品組成物。

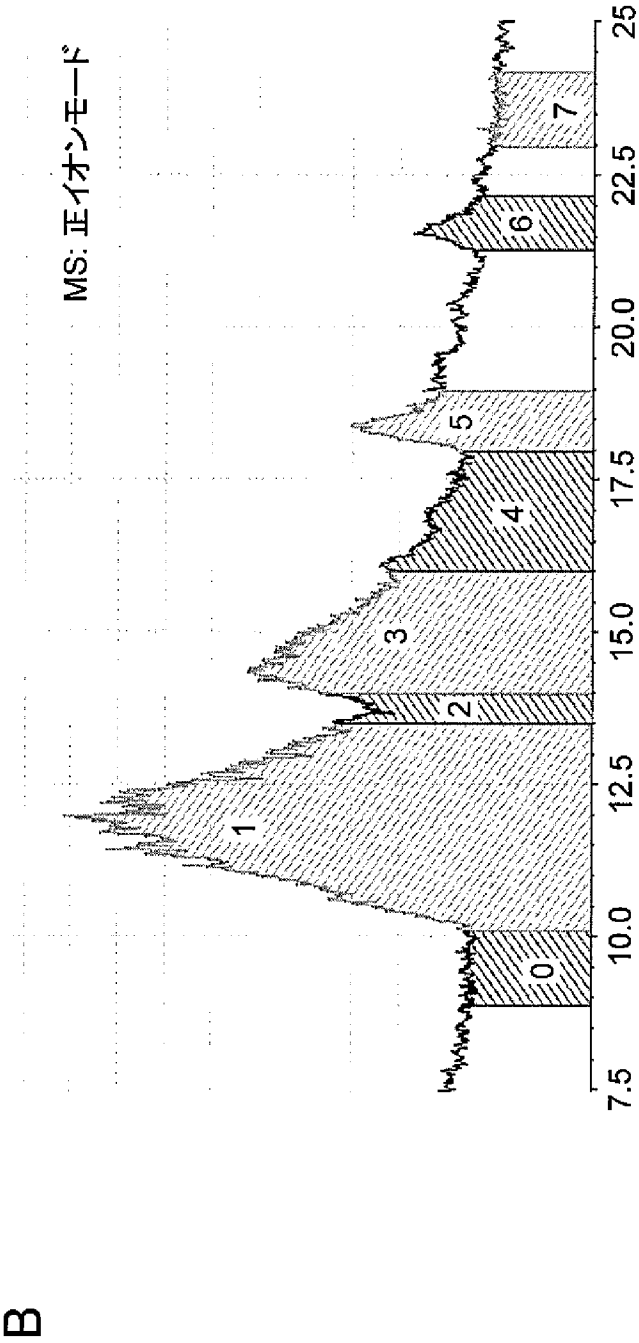
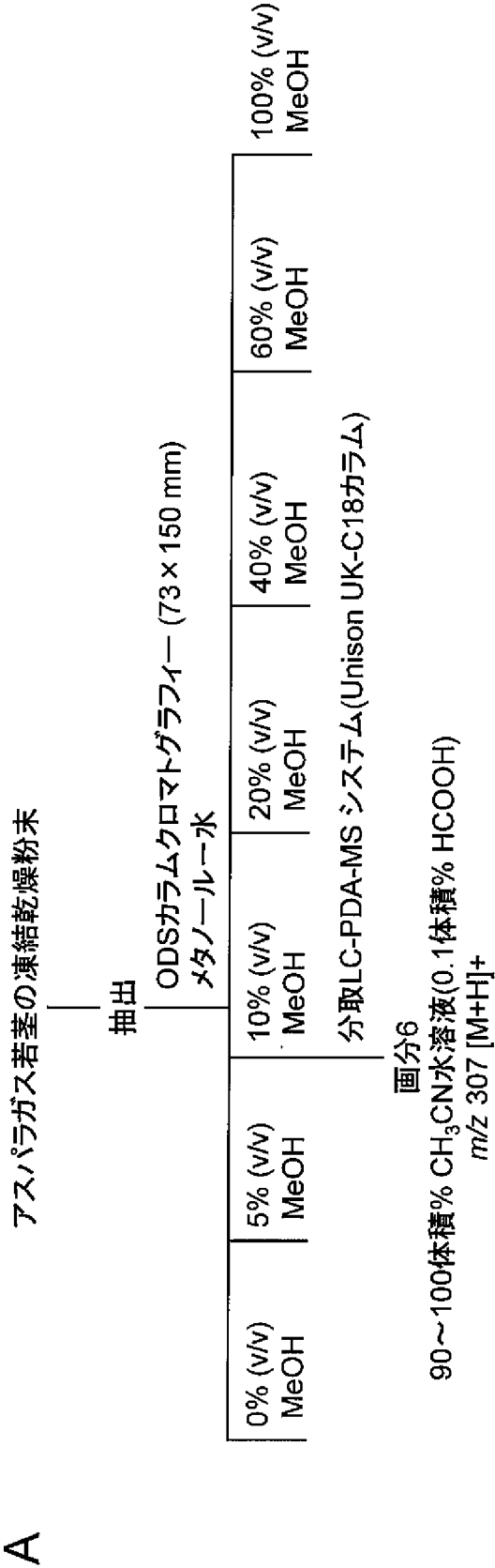
[請求項6] 総質量に対して0.2質量%以上の請求項1に記載の化合物若しくはその塩、又はそれらの溶媒和物と、1種以上の食品的に許容し得る成分とを含有する食品組成物。

[請求項7] 請求項1に記載の化合物若しくはその塩、又はそれらの溶媒和物と、1種以上の薬学的に許容し得る成分とを含有する医薬組成物。

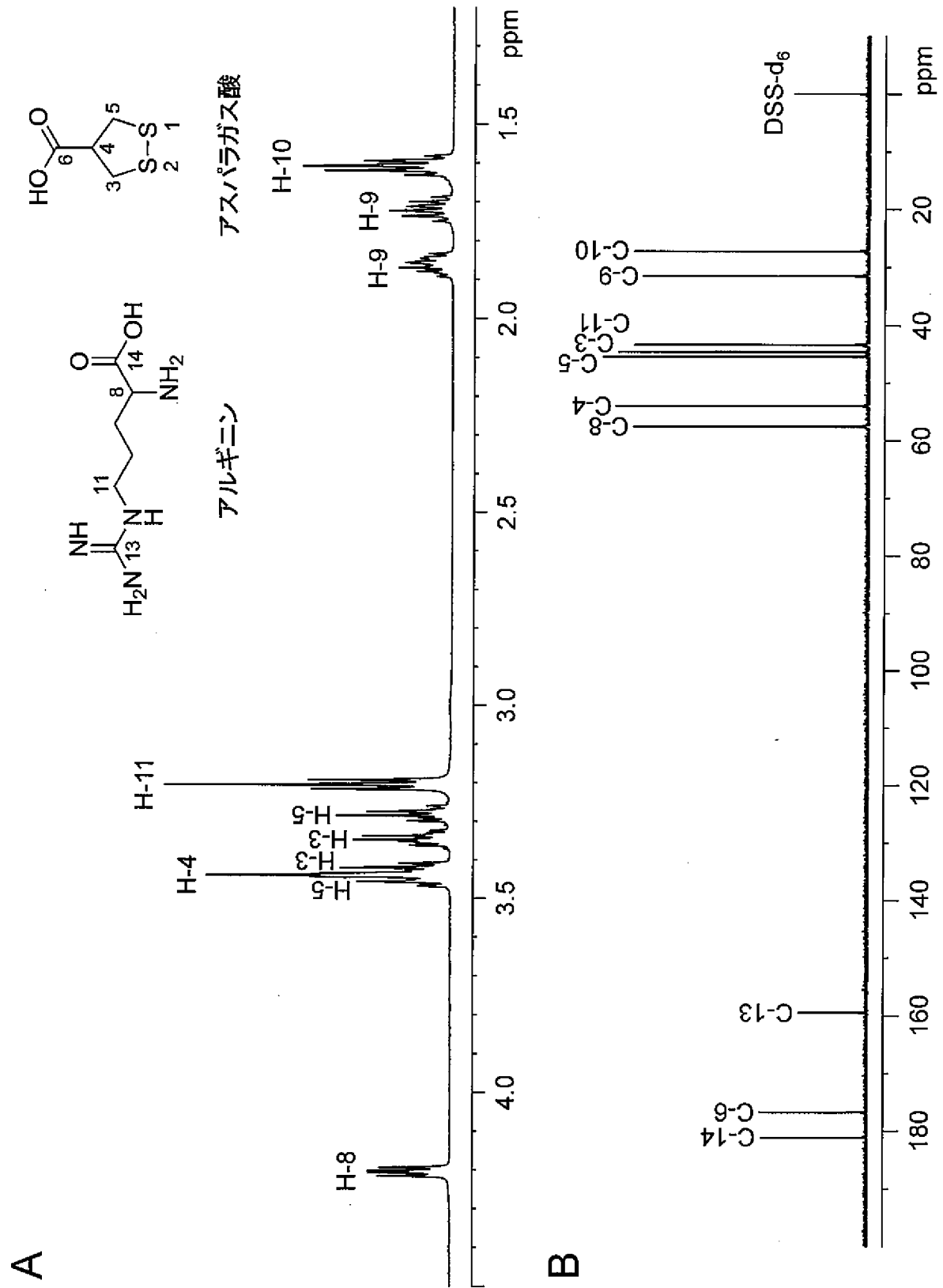
[請求項8] アスパラガスを水混和性有機溶媒で抽出する、抽出工程；  
前記抽出工程で得られたアスパラガスの水混和性有機溶媒抽出物を分離して、該抽出物から請求項1に記載の化合物を単離する、単離工程；  
を含む、請求項1に記載の化合物を製造する方法。

- [請求項9]           アスパラガスの水混和性有機溶媒抽出物であって、該水混和性有機溶媒抽出物の総質量に対して、0.01～90質量%の範囲で請求項1に記載の化合物を含有する、前記抽出物。
- [請求項10]         アスパラガスを水混和性有機溶媒で抽出する、抽出工程；  
を含む、請求項9に記載のアスパラガスの水混和性有機溶媒抽出物を製造する方法。

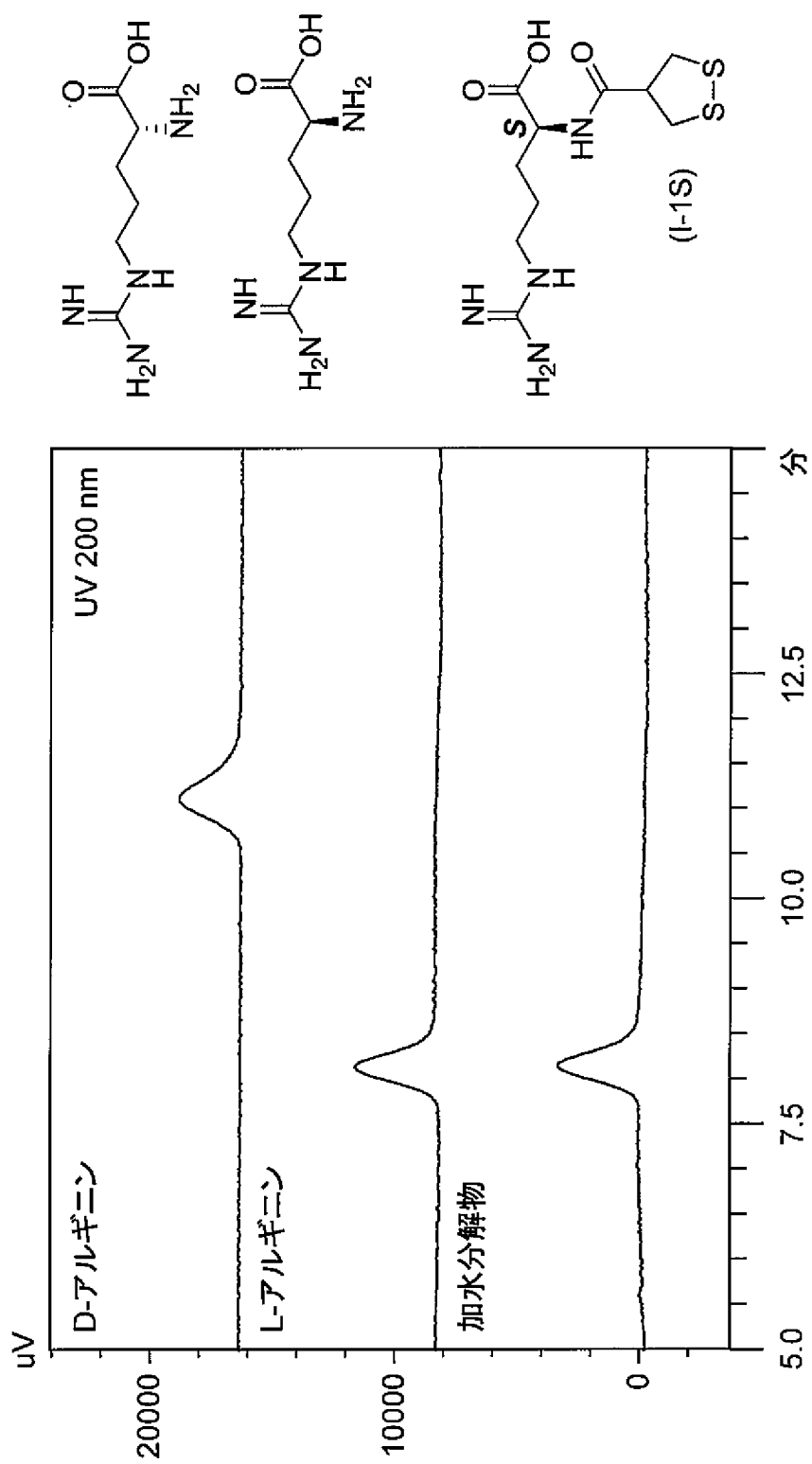
[図1]



[図2]



[図3]



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2016/050223

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07D339/04(2006.01)i, A23L33/10(2016.01)i, A61K31/385(2006.01)i, A61P9/12(2006.01)i, A61P43/00(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)

C07D339/04, A23L33/10, A61K31/385, A61P9/12, A61P43/00

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)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII),  
CAplus/REGISTRY/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. |
|-----------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| P, X      | NAKABAYASHI, Ryo et al., Top-down Targeted Metabolomics Reveals a Sulfur-Containing Metabolite with Inhibitory Activity against Angiotensin-Converting Enzyme in Asparagus officinalis, Journal of Natural Products, 2015.04.29, 78(5), pp. 1179-1183, ISSN: 0163-3864                             | 1-10                  |
| X<br>A    | MATSUDA, Sanae et al., Green Asparagus (Asparagus officinalis) Prevented Hypertension by an Inhibitory Effect on Angiotensin-Converting Enzyme Activity in the Kidney of Spontaneously Hypertensive Rats, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61(23), pp. 5520-5525, ISSN: 0021-8561 | 2-7, 9-10<br>1, 8     |



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

04 March 2016 (04.03.16)

Date of mailing of the international search report

15 March 2016 (15.03.16)

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/JP2016/050223

## C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | Relevant to claim No. |
|-----------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| X<br>A    | JP 2008-513530 A (Plantina Entwicklungs GmbH),<br>01 May 2008 (01.05.2008),<br>claims; preparation examples 2, 6; example 2<br>& US 2007/0292543 A1<br>claims 50 to 85; preparation examples 2, 6;<br>example 2<br>& WO 2006/032510 A1 & EP 1640016 A1<br>& DE 602004011059 D & CA 2578735 A<br>& KR 10-2007-0065400 A & CN 101031337 A<br>& AT 382362 T & AU 2005287542 A                                      | 3-7, 9-10<br>1-2, 8   |
| X<br>A    | JP 2001-309766 A (Toyo Shinyaku Co., Ltd.),<br>06 November 2001 (06.11.2001),<br>paragraphs [0055] to [0064]; green asparagus<br>powder; feeds 7, 14, 20, 28, 39<br>(Family: none)                                                                                                                                                                                                                              | 3-7<br>1-2, 8-10      |
| X<br>A    | CN 102813104 A (LIM KUM KEE FOODSTUFF CO.,<br>LTD.),<br>12 December 2012 (12.12.2012),<br>claims; examples; disease cases 1 to 3<br>(Family: none)                                                                                                                                                                                                                                                              | 3-7<br>1-2, 8-10      |
| X<br>A    | CN 103070328 A (QINGDAO BOYITE BIOLOG MATERIAL<br>CO., LTD.),<br>01 May 2013 (01.05.2013),<br>claims; examples 1 to 3<br>(Family: none)                                                                                                                                                                                                                                                                         | 3-7<br>1-2, 8-10      |
| X<br>A    | JP 2003-9832 A (Maruzen Pharmaceuticals Co.,<br>Ltd.),<br>14 January 2003 (14.01.2003),<br>claims; preparation example 1; example 5<br>(Family: none)                                                                                                                                                                                                                                                           | 5-6, 9-10             |
| X<br>A    | JP 8-214824 A (Takeda Chemical Industries,<br>Ltd.),<br>27 August 1996 (27.08.1996),<br>example 2<br>(Family: none)                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 5-6                   |
| X<br>A    | JP 2004-315534 A (Access Business Group<br>International L.L.C.),<br>11 November 2004 (11.11.2004),<br>claims; paragraphs [0013] to [0014], [0017],<br>[0028] to [0029]; example 1; table 1<br>& US 2004/0208838 A1<br>claims 1 to 21; paragraphs [0012] to [0014],<br>[0026]; example 1; table 1<br>& US 2004/0208839 A1 & US 2005/0112221 A1<br>& US 2005/0112220 A1 & KR 10-2004-0090721 A<br>& CN 1568935 A | 7, 9-10<br>1-6, 8     |

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2016/050223

| C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                       |
|-------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| Category*                                             | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | Relevant to claim No. |
| X<br>A                                                | JP 6-128125 A (Kose Corp.),<br>10 May 1994 (10.05.1994),<br>claims; examples<br>(Family: none)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 7, 9-10               |
| X<br>A                                                | JP 6-128145 A (Kose Corp.),<br>10 May 1994 (10.05.1994),<br>claims; preparation example 1; test examples 1,<br>2<br>(Family: none)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 7, 9-10<br>1-6, 8     |
| X<br>A                                                | JP 2007-262012 A (Pias Corp.),<br>11 October 2007 (11.10.2007),<br>claims; example 1; test examples 1 to 6;<br>prescription examples 1 to 2<br>(Family: none)                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 7, 9-10<br>1-6, 8     |
| X<br>A                                                | WO 2009/066712 A1 (Kracie Pharma, Ltd.),<br>28 May 2009 (28.05.2009),<br>claims; examples 2, 4; table 2; paragraph<br>[0042]<br>& US 2010/0255127 A1<br>claims 1 to 14; examples 2, 4; table 2;<br>paragraph [0046]<br>& JP 2010-59186 A & JP 2010-59187 A<br>& JP 2010-59188 A & JP 2010-59189 A<br>& JP 2010-59190 A & JP 2010-59191 A<br>& JP 2010-59192 A & US 2012/0070514 A1<br>& US 2012/0040026 A1 & CN 101868243 A<br>& CN 102335219 A & CN 102335269 A | 5-7, 9-10<br>1-4, 8   |
| X<br>A                                                | JP 2-247196 A (Dowa Mining Co., Ltd.),<br>02 October 1990 (02.10.1990),<br>examples; first step<br>(Family: none)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | 9-10<br>1-8           |
| X<br>A                                                | JP 2-145509 A (Shiseido Co., Ltd.),<br>05 June 1990 (05.06.1990),<br>page 2, lower right column, lines 6 to 8<br>(Family: none)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 9-10<br>1-8           |
| A                                                     | JP 57-106655 A (Takeda Chemical Industries,<br>Ltd.),<br>02 July 1982 (02.07.1982),<br>entire text<br>& EP 35868 A1 & CA 1168233 A                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 1-10                  |
| A                                                     | JP 53-71014 A (E.R. Squibb & Sons, Inc.),<br>24 June 1978 (24.06.1978),<br>entire text<br>& US 4116962 A & US 4140864 A<br>& US 4154936 A & US 4175199 A<br>& US 4176235 A & US 4178291 A<br>& US 4206121 A & US 4228077 A                                                                                                                                                                                                                                       | 1-10                  |

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/JP2016/050223

| 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 2005-281303 A (L'Oreal),<br>13 October 2005 (13.10.2005),<br>claim 2; 7th lowest compound<br>& JP 2008-94830 A & US 2005/0208007 A1<br>& EP 1570835 A1 & DE 602005024198 D<br>& FR 2867069 A & KR 10-2006-0043349 A<br>& AT 485079 T | 1-10                  |

## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (I P C))

Int.Cl. C07D339/04(2006.01)i, A23L33/10(2016.01)i, A61K31/385(2006.01)i, A61P9/12(2006.01)i, A61P43/00(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 (I P C))

Int.Cl. C07D339/04, A23L33/10, A61K31/385, A61P9/12, A61P43/00

## 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   | 1 9 2 2 - 1 9 9 6 年 |
| 日本国公開実用新案公報 | 1 9 7 1 - 2 0 1 6 年 |
| 日本国実用新案登録公報 | 1 9 9 6 - 2 0 1 6 年 |
| 日本国登録実用新案公報 | 1 9 9 4 - 2 0 1 6 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)

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

## C. 関連すると認められる文献

| 引用文献の<br>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<br>請求項の番号    |
|-----------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|
| PX              | NAKABAYASHI, Ryo et al., Top-down Targeted Metabolomics Reveals a Sulfur-Containing Metabolite with Inhibitory Activity against Angiotensin-Converting Enzyme in Asparagus officinalis, Journal of Natural Products, 2015.04.29, 78(5), pp. 1179-1183, ISSN: 0163-3864 | 1-10              |
| X<br>A          | MATSUDA, Sanae et al., Green Asparagus (Asparagus officinalis) Prevented Hypertension by an Inhibitory Effect on Angiotensin-Converting Enzyme Activity in the Kidney of                                                                                               | 2-7, 9-10<br>1, 8 |

☒ 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

0 4 . 0 3 . 2 0 1 6

国際調査報告の発送日

1 5 . 0 3 . 2 0 1 6

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (I S A / J P)

郵便番号 1 0 0 - 8 9 1 5

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)

早乙女 智美

電話番号 0 3 - 3 5 8 1 - 1 1 0 1 内線 3 4 9 2

4 P

3 7 5 9

| C (続き) . 関連すると認められる文献 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |                     |
|-----------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|
| 引用文献の<br>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<br>請求項の番号      |
|                       | Spontaneously Hypertensive Rats, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61(23), pp. 5520-5525, ISSN: 0021-8561                                                                                                                                                                                                                                |                     |
| X<br>A                | JP 2008-513530 A (プランティーナ エントヴィックルングス ゲゼルシャフト ミット ベシュレンクテル ハフツング)<br>2008.05.01, 特許請求の範囲、調製実施例2、調製実施例6、実施例2<br>& US 2007/0292543 A1, 請求項50-85, PREPARATION EXAMPLE 2, PREPARATION EXAMPLE 6, EXAMPLE 2<br>& WO 2006/032510 A1 & EP 1640016 A1 & DE 602004011059 D & CA 2578735 A & KR 10-2007-0065400 A & CN 101031337 A & AT 382362 T & AU 2005287542 A | 3-7, 9-10<br>1-2, 8 |
| X<br>A                | JP 2001-309766 A (株式会社東洋新薬) 2001.11.06, 段落[0055]-[0064]、グリーンアスパラガス粉末、飼料7, 14, 20, 28, 39 (ファミリーなし)                                                                                                                                                                                                                                                       | 3-7<br>1-2, 8-10    |
| X<br>A                | CN 102813104 A (LIM KUM KEE FOODSTUFF CO LTD) 2012.12.12, 特許請求の範囲、実施例、病例1-3 (ファミリーなし)                                                                                                                                                                                                                                                                    | 3-7<br>1-2, 8-10    |
| X<br>A                | CN 103070328 A (QINGDAO BOYITE BIOLOG MATERIAL CO LTD)<br>2013.05.01, 特許請求の範囲、実施例1-3 (ファミリーなし)                                                                                                                                                                                                                                                           | 3-7<br>1-2, 8-10    |
| X<br>A                | JP 2003-9832 A (丸善製薬株式会社) 2003.01.14, 特許請求の範囲、製造例1、実施例5 (ファミリーなし)                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 5-6, 9-10           |
| X<br>A                | JP 8-214824 A (武田食品工業株式会社) 1996.08.27, 実施例2 (ファミリーなし)                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 5-6                 |
| X<br>A                | JP 2004-315534 A (アクセス ビジネス グループ インターナショナル リミテッド ライアビリティ カンパニー) 2004.11.11, 特許請求の範囲、段落[0013]-[0014], [0017], [0028]-[0029]、例1、表1<br>& US 2004/0208838 A1, 請求項1-21, 段落[0012]-[0014], [0026], Example 1, TABLE 1<br>& US 2004/0208839 A1 & US 2005/0112221 A1 & US 2005/0112220 A1 & KR 10-2004-0090721 A & CN 1568935 A                                   | 7, 9-10<br>1-6, 8   |
| X<br>A                | JP 6-128125 A (株式会社コーセー) 1994.05.10, 特許請求の範囲、実施例 (ファミリーなし)                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 7, 9-10             |

| C (続き) . 関連すると認められる文献 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                     |
|-----------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|
| 引用文献の<br>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<br>請求項の番号      |
| X<br>A                | JP 6-128145 A (株式会社コーセー) 1994.05.10, 特許請求の範囲、<br>製造例 1、試験例 1, 2 (ファミリーなし)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 7, 9-10<br>1-6, 8   |
| X<br>A                | JP 2007-262012 A (ピアス株式会社) 2007.10.11, 特許請求の範囲、<br>実施例 1、試験例 1-6、処方例 1-2 (ファミリーなし)                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 7, 9-10<br>1-6, 8   |
| X<br>A                | WO 2009/066712 A1 (クラシエ製薬株式会社) 2009.05.28, 特許請求<br>の範囲、実施例 2, 4、表 2、段落[0042]<br>& US 2010/0255127 A1, 請求項 1-14, Examples 2, 4, TABLE 2, 段<br>落[0046]<br>& JP 2010-59186 A & JP 2010-59187 A & JP 2010-59188 A & JP<br>2010-59189 A & JP 2010-59190 A & JP 2010-59191 A & JP 2010-59192<br>A & US 2012/0070514 A1 & US 2012/0040026 A1 & CN 101868243 A &<br>CN 102335219 A & CN 102335269 A | 5-7, 9-10<br>1-4, 8 |
| X<br>A                | JP 2-247196 A (同和鉱業株式会社) 1990.10.02, 実施例 第一工程<br>(ファミリーなし)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 9-10<br>1-8         |
| X<br>A                | JP 2-145509 A (株式会社資生堂) 1990.06.05, 第 2 頁右下欄第 6 -<br>8 行 (ファミリーなし)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 9-10<br>1-8         |
| A                     | JP 57-106655 A (武田薬品工業株式会社) 1982.07.02, 全文 & EP<br>35868 A1 & CA 1168233 A                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 1-10                |
| A                     | JP 53-71014 A (イー・アール・スクイブ・アンド・サンズ・インコ<br>ーポレイテッド) 1978.06.24, 全文 & US 4116962 A & US 4140864 A<br>& US 4154936 A & US 4175199 A & US 4176235 A & US 4178291 A &<br>US 4206121 A & US 4228077 A                                                                                                                                                                                             | 1-10                |
| A                     | JP 2005-281303 A (ロレアル) 2005.10.13, 請求項 2、下から 7 番<br>目の化合物 & JP 2008-94830 A & US 2005/0208007 A1 & EP 1570835<br>A1 & DE 602005024198 D & FR 2867069 A & KR 10-2006-0043349 A &<br>AT 485079 T                                                                                                                                                                                             | 1-10                |