

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6513659号
(P6513659)

(45) 発行日 令和1年5月15日(2019.5.15)

(24) 登録日 平成31年4月19日(2019.4.19)

(51) Int.Cl.

F I

A 6 1 K 31/495	(2006.01)	A 6 1 K 31/495	
A 6 1 K 31/496	(2006.01)	A 6 1 K 31/496	
A 6 1 K 31/4985	(2006.01)	A 6 1 K 31/4985	
A 6 1 P 43/00	(2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 0 5
A 6 1 P 3/10	(2006.01)	A 6 1 P 3/10	

請求項の数 8 (全 22 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2016-529281 (P2016-529281)
 (86) (22) 出願日 平成27年6月11日(2015.6.11)
 (86) 国際出願番号 PCT/JP2015/066817
 (87) 国際公開番号 W02015/194447
 (87) 国際公開日 平成27年12月23日(2015.12.23)
 審査請求日 平成29年12月15日(2017.12.15)
 (31) 優先権主張番号 特願2014-127769 (P2014-127769)
 (32) 優先日 平成26年6月20日(2014.6.20)
 (33) 優先権主張国 日本国(JP)

(73) 特許権者 309007911
 サントリーホールディングス株式会社
 大阪府大阪市北区堂島浜二丁目1番40号
 (74) 代理人 100140109
 弁理士 小野 新次郎
 (74) 代理人 100075270
 弁理士 小林 泰
 (74) 代理人 100101373
 弁理士 竹内 茂雄
 (74) 代理人 100118902
 弁理士 山本 修
 (72) 発明者 鈴木 寿栄
 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

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 糖代謝改善剤

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

アミノ酸を構成単位とする環状ジペプチドまたはその塩を有効成分とする血糖値が高めの対象のための糖代謝改善剤であって、

前記環状ジペプチドまたはその塩が、シクロトレオニルチロシン、シクロバリルチロシン、シクログルタミルチロシン、シクロアスパラギニルチロシン、シクロアルギニルプロリン、シクロアスパラギニルグリシン、シクロメチオニルバリン、シクログルタミルシステイン、シクロセリルグルタミン酸、シクロイソロイシルリシン、シクログルタミルロイシン、シクロイソロイシルトレオニン、シクロトレオニルトレオニン、シクロメチオニルトレオニン、シクロアラニルシステイン、シクログリシルシステイン、シクロアスパルチルセリン、シクロアルギニルアスパラギン酸、シクログリシルトリプトファン、シクロヒスチジルフェニルアラニン、シクロアスパルチルロイシン、シクロイソロイシルヒスチジン、シクロセリルロイシン、シクロイソロイシルアスパラギン酸、シクロセリルシステイン、シクロフェニルアラニルトリプトファン、シクロアラニルロイシン、シクログルタミルヒスチジン、シクロアルギニルバリン、シクログルタミルロイシン、シクロロイシルトリプトファン、シクロトリプトファニルトリプトファン、シクロL-アラニルプロリン、シクロメチオニルアルギニン、シクロリシルフェニルアラニン、シクロフェニルアラニルフェニルアラニン、シクロトリプトファニルチロシン、シクロアスパラギニルバリン、シクログルタミルチロシン、シクロアラニルセリン、シクロメチオニルヒスチジン、シクロメチオニルプロリン、シクロアルギニルロイシン、シクロメチオニルグ

ルタミン酸、シクロメチオニルアラニン、シクロイソロイシルグルタミン酸、シクロイソロイシルセリン、シクロバリルセリン、シクロメチオニルグリシン、シクロバリルトレオニン、シクロバリルアルパラギン酸、シクログリシルプロリン、シクロロイシルプロリン、シクログルタミニルグリシン、シクロトリプトファンリシン、シクログルタミニルフェニルアラニン、シクロリシルグリシン、シクロセリルリシン、シクロバリルリシン、シクロアスパラギニルリシン、シクロヒスチジルヒスチジン、シクロトレオニルヒスチジン、シクロアスパルチルヒスチジン、シクロアスパラギニルヒスチジン、シクロアルギニルセリン、シクロアスパラギニルメチオニン、シクログルタミニルメチオニン、シクロトリプトファンアルギニン、シクロアスパラギニルアルギニン、シクロアスパラギニルプロリン、及びシクロアルギニルアルギニン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またはその塩である、前記糖代謝改善剤。

10

【請求項2】

請求項1に記載の糖代謝改善剤であって、環状ジペプチドまたはその塩が請求項1記載の群から選択される3つ以上の環状ジペプチドまたはその塩である、前記糖代謝改善剤。

【請求項3】

アミノ酸を構成単位とする環状ジペプチドが大豆から得られたものである、請求項1または2記載の糖代謝改善剤。

【請求項4】

アミノ酸を構成単位とする環状ジペプチドが茶から得られたものである、請求項1または2記載の糖代謝改善剤。

20

【請求項5】

アミノ酸を構成単位とする環状ジペプチドまたはその塩を有効成分とするG L P - 1分泌促進剤であって、

前記環状ジペプチドまたはその塩が、シクロトレオニルチロシン、シクロバリルチロシン、シクログルタミニルチロシン、シクロアスパラギニルイソロイシン、シクロアルギニルプロリン、シクロアスパラギニルグリシン、シクロメチオニルバリン、シクログルタミルシステイン、シクロセリルグルタミン酸、シクロイソロイシルリシン、シクログルタミニルロイシン、シクロイソロイシルトレオニン、シクロトレオニルトレオニン、シクロメチオニルトレオニン、シクロアラニルシステイン、シクログリシルシステイン、シクロアスパルチルセリン、シクロアルギニルアスパラギン酸、シクログリシルトリプトファン、シクロヒスチジルフェニルアラニン、シクロアスパルチルロイシン、シクロイソロイシルヒスチジン、シクロセリルロイシン、シクロイソロイシルアスパラギン酸、シクロセリルシステイン、シクロフェニルアラニルトリプトファン、シクロアラニルロイシン、シクログルタミニルヒスチジン、シクロアルギニルバリン、シクログルタミルロイシン、シクロロイシルトリプトファン、シクロトリプトファントリプトファン、シクロL - アラニルプロリン、シクロメチオニルアルギニン、シクロリシルフェニルアラニン、シクロフェニルアラニルフェニルアラニン、シクロトリプトファンチロシン、シクロアスパラギニルバリン、シクログルタミニルイソロイシン、シクロアラニルセリン、シクロメチオニルヒスチジン、シクロメチオニルプロリン、シクロアルギニルロイシン、シクロメチオニルグルタミン酸、シクロメチオニルアラニン、シクロイソロイシルグルタミン酸、シクロイソロイシルセリン、シクロバリルセリン、シクロメチオニルグリシン、シクロバリルトレオニン、及びシクロバリルアルパラギン酸、シクログリシルプロリン、シクロロイシルプロリン、シクログルタミニルグリシン、シクロトリプトファンリシン、シクログルタミニルフェニルアラニン、シクロリシルグリシン、シクロセリルリシン、シクロバリルリシン、シクロアスパラギニルリシン、シクロヒスチジルヒスチジン、シクロトレオニルヒスチジン、シクロアスパルチルヒスチジン、シクロアスパラギニルヒスチジン、シクロアルギニルセリン、シクロアスパラギニルメチオニン、シクログルタミニルメチオニン、シクロトリプトファンアルギニン、シクロアスパラギニルアルギニン、シクロアスパラギニルプロリン、及びシクロアルギニルアルギニン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またはその塩である、前記G L P - 1分泌促進剤。

30

40

50

【請求項 6】

請求項 5 に記載の G L P - 1 分泌促進剤であって、環状ジペプチドまたはその塩が請求項 5 記載の群から選択される 3 つ以上の環状ジペプチドまたはその塩である、前記 G L P - 1 分泌促進剤。

【請求項 7】

アミノ酸を構成単位とする環状ジペプチドが大豆から得られたものである、請求項 5 または 6 記載の G L P - 1 分泌促進剤。

【請求項 8】

アミノ酸を構成単位とする環状ジペプチドが茶から得られたものである、請求項 5 または 6 記載の G L P - 1 分泌促進剤。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、糖代謝改善剤に関する。さらに詳しくは、アミノ酸を構成単位とする環状ジペプチドを有効成分とする糖代謝改善剤、該環状ジペプチドを有効成分とする G L P - 1 分泌促進剤、および該環状ジペプチドの糖代謝を改善するため使用に関する。

【背景技術】

【0002】

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、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。

【0003】

例えば、特許文献 1 には、2, 5 - ジケトピペラジン構造を有する環状ジペプチドが、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 1 には、環状ジペプチド Cyclo(His-Pro) が、体温を低下させたり、食欲を抑制させるなどの中枢神経系作用や、プロラクチン分泌を抑制したり、成長ホルモン分泌を促進するなど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、環状ジペプチド Cyclo(Leu-Gly) が記憶機能改善作用を示し、環状ジペプチド Cyclo(Asp-Pro) が脂肪嗜好性抑制作用を示すとの報告がされている。非特許文献 2 には、抗菌作用や抗酸化作用を有する環状ジペプチドが報告されている。

【0004】

また、非特許文献 3 には、環状ジペプチド Cyclo(Trp-Pro) に抗ガン作用、環状ジペプチド Cyclo(His-Pro)、Cyclo(Gly-Pro) に抗菌作用、環状ジペプチド Cyclo(His-Pro) に神経保護作用、環状ジペプチド Cyclo(Gly-Pro) に記憶機能改善作用、環状ジペプチド Cyclo(Tyr-Pro)、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。また、酵母懸濁液をプロテアーゼ処理して得られる環状ジペプチドの一種シクロヒスチジルプロリン Cyclo(His-Pro) によって耐糖性が増加し、Cyclo(His-Pro) が抗酸化活性を有することが報告されている（非特許文献 4）。

【0005】

ダイエットホルモンとして知られるグルカゴン様ペプチド (G L P - 1) は、30 個または 31 個のアミノ酸からなるインクレチンであり、食事由来の脂肪、炭水化物摂取、およびたんぱく質にตอบสนองして腸内分泌 L 細胞から放出されるものである。このペプチドホルモンの放出は 2 型糖尿病の個体において低下することが見出され、2 型糖尿病においては G L P - 1 の放出を促進することは、糖尿病その他の関連疾患の治療のために有効であると考えられている（非特許文献 5）。また、G L P - 1 は、正常な状態において、炭水化物摂取（グルコース摂取）にตอบสนองしてインスリンの分泌を増加させ、脳の特定領域に働きかけ食欲を抑制する働きがあることも知られている（非特許文献 6）。

【先行技術文献】

10

20

30

40

50

【特許文献】

【0006】

【特許文献1】特表2012-517998号公報

【非特許文献】

【0007】

【非特許文献1】Peptides、16(1)、151-164(1995)

【非特許文献2】バイオサイエンスとインダストリー、60(7)、454-457 (2002)

【非特許文献3】Chemical Reviews、112、3641-3716(2012)

【非特許文献4】J of Food Science、vol76(2) 2011

【非特許文献5】Nauckら、1993 J Clin Invest. 1993 Jan;91(1):301-7. 10

【非特許文献6】Zanderら、2002 Lancet、359、824 -830 (2002)

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0008】

環状ジペプチドについては、生理活性を有するとの報告もあるが、依然として未解明の機能も多いと考えられる。

【0009】

本発明の課題は、安全でありかつ優れた糖代謝改善作用を有する糖代謝改善剤を提供すること、および安全でありかつ優れたG L P - 1分泌促進作用を有するG L P - 1分泌促進剤を提供することである。 20

【課題を解決するための手段】

【0010】

本発明者らは、環状ジペプチドの作用について鋭意検討した結果、ある特定の環状ジペプチドが顕著な糖代謝改善作用を有することを見出した。さらに、この特定の環状ジペプチドの糖代謝改善作用はG L P - 1の分泌促進作用によるものであることも見出し、本発明を完成するに至った。すなわち、本発明は、以下を提供する：

1) アミノ酸を構成単位とする環状ジペプチドまたはその塩を有効成分とする糖代謝改善剤であって、前記環状ジペプチドまたはその塩が、シクロトレオニルチロシン、シクロバ

リルチロシン、シクログルタミルチロシン、シクロアスパラギニルイソロイシン、シク

ロアルギニルプロリン、シクロアスパラギニルグリシン、シクロメチオニルバリン、シク

ログルタミルシステイン、シクロセリルグルタミン酸、シクロイソロイシルリシン、シク

ログルタミルロイシン、シクロイソロイシルトレオニン、シクロトレオニルトレオニン

、シクロメチオニルトレオニン、シクロアラニルシステイン、シクログリシルシステイン

、シクロアスパルチルセリン、シクロアルギニルアスパラギン酸、シクログリシルトリ

プトファン、シクロヒスチジルフェニルアラニン、シクロアスパルチルロイシン、シクロ

イソロイシルヒスチジン、シクロセリルロイシン、シクロイソロイシルアスパラギン酸、シ

クロセリルシステイン、シクロフェニルアラニルトリプトファン、シクロアラニルロイシ

ン、シクログルタミルヒスチジン、シクロアルギニルバリン、シクログルタミルロイシ

ン、シクロロイシルトリプトファン、シクロトリプトファニルトリプトファン、シクロ

L - アラニルプロリン、シクロメチオニルアルギニン、シクロリシルフェニルアラニン、シ

クロフェニルアラニルフェニルアラニン、シクロトリプトファニルチロシン、シクロア

スパラギニルバリン、シクログルタミルイソロイシン、シクロアラニルセリン、シクロ

メチオニルヒスチジン、シクロメチオニルプロリン、シクロアルギニルロイシン、シクロ

メチオニルグルタミン酸、シクロメチオニルアラニン、シクロイソロイシルグルタミン酸、

シクロイソロイシルセリン、シクロバリルセリン、シクロメチオニルグリシン、シクロ

バリルトレオニン、シクロバリルアルパラギン酸、シクログリシルプロリン、シクロロ

イシルプロリン、シクログルタミルグリシン、シクロトリプトファニルリシン、シクロ

グルタミルフェニルアラニン、シクロリシルグリシン、シクロセリルリシン、シクロ

バリルリシン、シクロアスパラギニルリシン、シクロヒスチジルヒスチジン、シクロ

トレオニルヒスチジン、シクロアスパルチルヒスチジン、シクロアスパラギニルヒスチ

ジン、シクロ

10

20

30

40

50

アルギニルセリン、シクロアスパラギニルメチオニン、シクログルタミニルメチオニン、シクロトリプトファンアルギニン、シクロアスパラギニルアルギニン、シクロアスパラギニルプロリン、及びシクロアルギニルアルギニン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またはその塩である、前記糖代謝改善剤。

2) 1)に記載の糖代謝改善剤であって、環状ジペプチドまたはその塩が1)記載の群から選択される3つ以上の環状ジペプチドまたはその塩である、前記糖代謝改善剤。

3) アミノ酸を構成単位とする環状ジペプチドまたはその塩を有効成分とするG L P - 1分泌促進剤であって、前記環状ジペプチドまたはその塩が、シクロトレオニルチロシン、シクロバリルチロシン、シクログルタミニルチロシン、シクロアスパラギニルイソロイシン、シクロアルギニルプロリン、シクロアスパラギニルグリシン、シクロメチオニルバリン、シクログルタミルシステイン、シクロセリルグルタミン酸、シクロイソロイシルリシン、シクログルタミニルロイシン、シクロイソロイシルトレオニン、シクロトレオニルトレオニン、シクロアラニルシステイン、シクログリシルシステイン、シクロアスパルチルセリン、シクロアルギニルアスパラギン酸、シクログリシルトリプトファン、シクロヒスチジルフェニルアラニン、シクロアスパルチルロイシン、シクロイソロイシルヒスチジン、シクロセリルロイシン、シクロイソロイシルアスパラギン酸、シクロセリルシステイン、シクロフェニルアラニルトリプトファン、シクロアラニルロイシン、シクログルタミニルヒスチジン、シクロアルギニルバリン、シクログルタミルロイシン、シクロロイシルトリプトファン、シクロトリプトファントリプトファン、シクロL-アラニルプロリン、シクロメチオニルアルギニン、シクロリシルフェニルアラニン、シクロフェニルアラニルフェニルアラニン、シクロトリプトファンチロシン、シクロアスパラギニルバリン、シクログルタミニルイソロイシン、シクロアラニルセリン、シクロメチオニルヒスチジン、シクロメチオニルプロリン、シクロアルギニルロイシン、シクロメチオニルグルタミン酸、シクロメチオニルアラニン、シクロイソロイシルグルタミン酸、シクロイソロイシルセリン、シクロバリルセリン、シクロメチオニルグリシン、シクロバリルトレオニン、及びシクロバリルアスパラギン酸、シクログリシルプロリン、シクロロイシルプロリン、シクログルタミニルグリシン、シクロトリプトファンリシン、シクログルタミニルフェニルアラニン、シクロリシルグリシン、シクロセリルリシン、シクロバリルリシン、シクロアスパラギニルリシン、シクロヒスチジルヒスチジン、シクロトレオニルヒスチジン、シクロアスパルチルヒスチジン、シクロアスパラギニルヒスチジン、シクロアルギニルセリン、シクロアスパラギニルメチオニン、シクログルタミニルメチオニン、シクロトリプトファンアルギニン、シクロアスパラギニルアルギニン、シクロアスパラギニルプロリン、及びシクロアルギニルアルギニン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またはその塩である、前記G L P - 1分泌促進剤。

4) 3)記載のG L P - 1分泌促進剤であって、環状ジペプチドまたはその塩が請求項5記載の群から選択される3つ以上の環状ジペプチドまたはその塩である、前記G L P - 1分泌促進剤。

5) アミノ酸を構成単位とする環状ジペプチドが大豆から得られたものである、1) ~ 4)のいずれかに記載のG L P - 1分泌促進剤。

6) アミノ酸を構成単位とする環状ジペプチドが茶から得られたものである、1) ~ 4)のいずれかに記載のG L P - 1分泌促進剤。

7) 糖代謝を改善するための、アミノ酸を構成単位とする環状ジペプチドまたはその塩の使用であって、前記環状ジペプチドまたはその塩が、シクロトレオニルチロシン、シクロバリルチロシン、シクログルタミニルチロシン、シクロアスパラギニルイソロイシン、シクロアルギニルプロリン、シクロアスパラギニルグリシン、シクロメチオニルバリン、シクログルタミルシステイン、シクロセリルグルタミン酸、シクロイソロイシルリシン、シクログルタミニルロイシン、シクロイソロイシルトレオニン、シクロトレオニルトレオニン、シクロメチオニルトレオニン、シクロアラニルシステイン、シクログリシルシステイン、シクロアスパルチルセリン、シクロアルギニルアスパラギン酸、シクログリシルトリプトファン、シクロヒスチジルフェニルアラニン、シクロアスパルチルロイシン、シクロ

10

20

30

40

50

イソロイシルヒスチジン、シクロセリルロイシン、シクロイソロイシルアスパラギン酸、シクロセリルシステイン、シクロフェニルアラニルトリプトファン、シクロアラニルロイシン、シクログルタミンヒスチジン、シクロアルギニルバリン、シクログルタミンロイシン、シクロロイシルトリプトファン、シクロトリプトファニルトリプトファン、シクロL-アラニルプロリン、シクロメチオニルアルギニン、シクロリシルフェニルアラニン、シクロフェニルアラニルフェニルアラニン、シクロトリプトファニルチロシン、シクロアスパラギニルバリン、シクログルタミンイソロイシン、シクロアラニルセリン、シクロメチオニルヒスチジン、シクロメチオニルプロリン、シクロアルギニルロイシン、シクロメチオニルグルタミン酸、シクロメチオニルアラニン、シクロイソロイシルグルタミン酸、シクロイソロイシルセリン、シクロバリルセリン、シクロメチオニルグリシン、シクロバリルトレオニン、及びシクロバリルアルパラギン酸、シクログリシルプロリン、シクロロイシルプロリン、シクログルタミングリシン、シクロトリプトファニルリシン、シクログルタミンフェニルアラニン、シクロリシルグリシン、シクロセリルリシン、シクロバリルリシン、シクロアスパラギニルリシン、シクロヒスチジルヒスチジン、シクロトレオニルヒスチジン、シクロアスパルチルヒスチジン、シクロアスパラギニルヒスチジン、シクロアルギニルセリン、シクロアスパラギニルメチオニン、シクログルタミンメチオニン、シクロトリプトファニルアルギニン、シクロアスパラギニルアルギニン、シクロアスパラギニルプロリン、及びシクロアルギニルアルギニン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またはその塩である、前記使用。

10

8) 7) 記載の使用であって、環状ジペプチドまたはその塩が7) 記載の群から選択される3つ以上の環状ジペプチドまたはその塩である、前記使用。

20

9) アミノ酸を構成単位とする環状ジペプチドが大豆から得られたものである、7) 又は8) 記載の使用。

10) アミノ酸を構成単位とする環状ジペプチドが茶から得られたものである、7) 又は8) 記載の使用。

【発明の効果】

【0011】

本発明の糖代謝改善剤は、優れた糖代謝改善作用を有するとともに、安全でかつ長期間の摂取も可能という利点がある。

【図面の簡単な説明】

30

【0012】

【図1】図1は、大豆ペプチド熱処理物投与後の血漿中活性型GLP-1量を示す。

【図2】図2は、大豆ペプチド熱処理物、および大豆ペプチド投与後における糖負荷試験の結果を示す。

【図3】図3は、茶ペプチド熱処理物投与後における糖負荷試験の結果を示す。

【発明を実施するための形態】

【0013】

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またはその塩を有効成分とする糖代謝改善剤である。なお、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。

40

【0014】

本発明の糖代謝改善剤は、シクロトレオニルチロシン〔Cyclo(Thr-Tyr)〕、シクロバリルチロシン〔Cyclo(Val-Tyr)〕、シクログルタミンチロシン〔Cyclo(Gln-Tyr)〕、シクロアスパラギニルイソロイシン〔Cyclo(Asn-Ile)〕、シクロアルギニルプロリン〔Cyclo(Arg-Pro)〕、シクロアスパラギニルグリシン〔Cyclo(Asn-Gly)〕、シクロメチオニルバリン〔Cyclo(Met-Val)〕、シクログルタミンシステイン〔Cyclo(Glu-Cys)〕、シクロセリルグルタミン酸〔Cyclo(Ser-Glu)〕、シクロイソロイシルリシン〔Cyclo(Ile-Lys)〕、シクログルタミンロイシン〔Cyclo(Gln-Leu)〕、シクロイソロイシルトレオニン〔Cyclo(Ile-Thr)〕、シクロトレオニルトレオニン〔Cyclo(Thr-Thr)〕、シクロメチオニルトレオニン〔Cyclo(Met-Thr)〕、シクロアラニルシステイン〔Cyclo(Ala-Cys)〕、シクログリシル

50

システイン〔Cyclo(Gly-Cys)〕、シクロアスパルチルセリン〔Cyclo(Asp-Ser)〕、シクロアルギニルアスパラギン酸〔Cyclo(Arg-Asp)〕、シクログリシルトリプトファン〔Cyclo(Gly-Trp)〕、シクロヒスチジルフェニルアラニン〔Cyclo(His-Phe)〕、シクロアスパルチルロイシン〔Cyclo(Asp-Leu)〕、シクロイソロイシルヒスチジン〔Cyclo(Ile-His)〕、シクロセリルロイシン〔Cyclo(Ser-Leu)〕、シクロイソロイシルアスパラギン酸〔Cyclo(Ile-Asp)〕、シクロセリルシステイン〔Cyclo(Ser-Cys)〕、シクロフェニルアラニルトリプトファン〔Cyclo(Phe-Trp)〕、シクロアラニルロイシン〔Cyclo(Ala-Leu)〕、シクログルタミルヒスチジン〔Cyclo(Gln-His)〕、シクロアルギニルバリン〔Cyclo(Arg-Val)〕、シクログルタミルロイシン〔Cyclo(Glu-Leu)〕、シクロロイシルトリプトファン〔Cyclo(Leu-Trp)〕、シクロトリプトファニルトリプトファン〔Cyclo(Trp-Trp)〕、シクロL-アラニルプロリン〔Cyclo(L-Ala-Pro)〕、シクロメチオニルアルギニン〔Cyclo(Met-Arg)〕、シクロリシルフェニルアラニン〔Cyclo(Lys-Phe)〕、シクロフェニルアラニルフェニルアラニン〔Cyclo(Phe-Phe)〕、シクロトリプトファニルチロシン〔Cyclo(Trp-Tyr)〕、シクロアスパラギニルバリン〔Cyclo(Asn-Val)〕、シクログルタミルイソロイシン〔Cyclo(Gln-Ile)〕、シクロアラニルセリン〔Cyclo(Ala-Ser)〕、シクロメチオニルヒスチジン〔Cyclo(Met-His)〕、シクロメチオニルプロリン〔Cyclo(Met-Pro)〕、シクロアルギニルロイシン〔Cyclo(Arg-Leu)〕、シクロメチオニルグルタミン酸〔Cyclo(Met-Glu)〕、シクロメチオニルアラニン〔Cyclo(Met-Ala)〕、シクロイソロイシルグルタミン酸〔Cyclo(Ile-Glu)〕、シクロイソロイシルセリン〔Cyclo(Ile-Ser)〕、シクロバリルセリン〔Cyclo(Val-Ser)〕、シクロメチオニルグリシン〔Cyclo(Met-Gly)〕、シクロバリルトレオニン〔Cyclo(Val-Thr)〕、シクロバリルアルパラギン酸〔Cyclo(Val-Asp)〕、シクログリシルプロリン〔Cyclo(Gly-Pro)〕、シクロロイシルプロリン〔Cyclo(Leu-Pro)〕、シクログルタミルグリシン〔Cyclo(Gln-Gly)〕、シクロトリプトファニルリシン〔Cyclo(Trp-Lys)〕、シクログルタミルフェニルアラニン〔Cyclo(Gln-Phe)〕、シクロリシルグリシン〔Cyclo(Lys-Gly)〕、シクロセリルリシン〔Cyclo(Ser-Lys)〕、シクロバリルリシン〔Cyclo(Val-Lys)〕、シクロアスパラギニルリシン〔Cyclo(Asn-Lys)〕、シクロヒスチジルヒスチジン〔Cyclo(His-His)〕、シクロトレオニルヒスチジン〔Cyclo(Thr-His)〕、シクロアスパルチルヒスチジン〔Cyclo(Asp-His)〕、シクロアスパラギニルヒスチジン〔Cyclo(Asn-His)〕、シクロアルギニルセリン〔Cyclo(Arg-Ser)〕、シクロアスパラギニルメチオニン〔Cyclo(Asn-Met)〕、シクログルタミルメチオニン〔Cyclo(Gln-Met)〕、シクロトリプトファニルアルギニン〔Cyclo(Trp-Arg)〕、シクロアスパラギニルアルギニン〔Cyclo(Asn-Arg)〕、シクロアスパラギニルプロリン〔Cyclo(Asn-Pro)〕、及びシクロアルギニルアルギニン〔Cyclo(Arg-Arg)〕からなる群Aより選ばれる1つまたは2つ以上の環状ジペプチドあるいはその塩を有効成分とするものである。または、前記環状ジペプチドまたはその塩の群から選択される3つ以上の環状ジペプチドまたはその塩を有効成分とするものである。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(Trp-Tyr)とCyclo(Tyr-Trp)は同じ環状ジペプチドのことである。

【0015】

本発明の糖代謝改善剤は、前記した71個の環状ジペプチドのうち、1つ又は2つ以上の環状ジペプチドあるいはその塩を有効成分として含有するものであればよい。中でも、GLP-1分泌促進効果の観点から、有効成分である環状ジペプチドとしては、シクロトレオニルチロシン、シクロバリルチロシン、シクログルタミルチロシン、シクロアスパラギニルイソロイシン、シクロアルギニルプロリン、シクロアスパラギニルグリシン、シクロメチオニルバリン、シクログルタミルシステイン、シクロセリルグルタミン酸、シクロイソロイシルリシン、シクログルタミルロイシン、シクロイソロイシルトレオニン、シクロトレオニルトレオニン、シクロメチオニルトレオニン、シクロアラニルシステイン、シクログリシルシステイン、シクロアスパルチルセリン、シクロアルギニルアスパラギン酸、シクログリシルトリプトファン、シクロヒスチジルフェニルアラニン、シクロアスパルチルロイシン、シクロイソロイシルヒスチジン、シクロセリルロイシン、シクロイソ

10

20

30

40

50

ロイシルアスパラギン酸、シクロセリルシステイン、シクロフェニルアラニルトリプトファン、シクロアラニルロイシン、シクログルタミンルヒスチジン、シクロアルギニルバリン、シクログルタミルロイシン、シクロロイシルトリプトファン、シクロトリプトファン、シクロL-アラニルプロリン、シクロメチオニルアルギニン、シクロリシルフェニルアラニン、シクロフェニルアラニルフェニルアラニン、シクロトリプトファンルチロシン、シクロアスパラギニルバリン、およびシクログルタミンルイソロイシからなる群Bより選ばれる1つ又は2つ以上の環状ジペプチド又はその塩を少なくとも含有することが好ましい。シクロトレオニルチロシン、シクロバリルチロシン、シクログルタミンルチロシン、シクロアスパラギニルイソロイシン、シクロアルギニルプロリン、シクロアスパラギニルグリシン、シクロメチオニルバリン、シクログルタミンルシステイン、シクロセリルグルタミン酸、およびシクロイソロイシルリシンからなる群Cより選ばれる1つ又は2つ以上の環状ジペプチド又はその塩を少なくとも含有することがより好ましい。

10

【0016】

本発明の環状ジペプチドは、構成する2つのアミノ酸をアミノ酸A、アミノ酸Bとする場合、アミノ酸Aのカルボキシ基とアミノ酸Bのアミノ基が脱水縮合し、かつ、アミノ酸Aのアミノ基とアミノ酸Bのカルボキシ基が脱水縮合した構造を有する。構成アミノ酸の少なくとも1つは、好ましくは塩基性アミノ酸であり、さらに好ましくはアルギニンであるが、これに限定されるものではない。

【0017】

本発明の糖代謝改善剤は、前述の環状ジペプチド又はその塩を有効量含有するという特徴を有することにより、GLP-1の分泌を促進して糖代謝を改善することができることから、糖代謝の改善を要する疾患のために好適に使用され得る。そのような疾患としては、糖尿病および肥満症を挙げることができ、それらの予防および治療に有効である。

20

【0018】

本発明の糖代謝改善剤は、例えば、高血糖や肥満の予防及び/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、血糖値が高めの方、太り気味の方、メタボリックシンドローム傾向の方、等にとって極めて有用である。

【0019】

また、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またはその塩を有効成分とするGLP-1分泌促進剤である。上記の糖代謝改善剤に関する記載の多くは、GLP-1分泌促進剤にも該当するものである。

30

【0020】

本発明の糖代謝改善剤は、前記した71個の環状ジペプチドのうち、1つ又は2つ以上の環状ジペプチドあるいはその塩を効能が発揮される量含まれていればよい。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、例えば、LC-MS/MSに供することで測定することができる。

【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等)等が挙げられる。

40

【0022】

本発明で用いられ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く、特開2003-252896号公報やJ.Peptide Sci.、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、酵素処理や熱処理によって得られる大豆ペプチド又は茶ペプチドを、さらに熱処理して得られる処理物を好適に用いることができる。即ち、本発明では、アミノ酸

50

を構成単位とする環状ジペプチドは大豆または茶から得られたものであってもよい。

【0023】

大豆ペプチドを含有する溶液を熱処理して得られた処理物とは、具体的には、例えば、大豆ペプチドを水に20～500g/mLの濃度で溶解させ、40～150の条件で、5分～120時間加熱して調製することができる。得られた処理物に対して、所望により、ろ過、遠心分離、濃縮、限外ろ過、凍結乾燥、粉末化等の処理を行ってもよい。

【0024】

茶ペプチドを含有する溶液を熱処理して得られた処理物とは、具体的には、例えば、茶ペプチドを水に20～500g/mLの濃度で溶解させ、40～150の条件で、5分～120時間加熱して調製することができる。得られた処理物に対して、所望により、ろ過、遠心分離、濃縮、限外ろ過、凍結乾燥、粉末化等の処理を行ってもよい。

10

【0025】

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。

【0026】

以上のようにして得られた環状ジペプチド又はその塩は、GLP-1の分泌を促進して糖代謝を改善するために使用することができる。よって、本発明はまた、本発明の環状ジペプチド又はその塩を有効成分とするGLP-1分泌促進剤を提供する。

【0027】

本発明の糖代謝改善剤またはGLP-1分泌促進剤は、その形態に応じた適当な方法で摂取することができる。該摂取方法は本発明の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。なお、本明細書において、摂取とは、摂取、服用、又は飲用の全態様を含むものとして用いられる。

20

【0028】

本発明の糖代謝改善剤は、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、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、カプセル剤等の固形剤や、通常液剤、懸濁剤、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。

30

【0029】

また、前記形態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の発現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、群Aのアミノ酸を構成単位とする環状ジペプチドまたはその塩の総量が、より好ましくは群Bの環状ジペプチドまたはその塩の総含有量が、さらに好ましくは群Cの環状ジペプチドまたはその塩の総含有量は、好ましくは 0.2×10^6 ppm以上、より好ましくは 0.2×10^2 ppm以上、さらに好ましくは 0.4×10^2 ppm以上であり、好ましくは 1.0×10^6 ppm以下、より好ましくは 1.0×10^5 ppm以下、さらに好ましくは 0.5×10^5 ppm以下である。また、液剤等の場合には、群Aのアミノ酸を構成単位とする環状ジペプチドまたはその塩の総量が、より好ましくは群Bの環状ジペプチドまたはその塩の総含有量が、さらに好ましくは群Cの環状ジペプチドまたはその塩の総含有量が、好ましくは 0.2×10^{-2} mg/100mL以上、より好ましくは 0.2×10^{-1} mg/100mL以上、さらに好ましくは0.2mg/100mL以上であり、好ましくは 1.0×10^3 mg/100mL以下、より好ましくは 1.0×10^2 mg/100mL以下、さらに好ましくは 0.5×10^2 mg/100mL以下であってもよい。環状ジペプチドのうち、GLP-1分泌促進作用の高い群Bまたは群Cの環状ジペプチドが占める合計量の割合は、GLP-1分泌促進効果の観点から、5重量%以上が好ましく、10重量%以上がより好ましく、15重量%以上がさらに好ましい。また、上限は特に限定されないが、90重量%以下が好ましく、60重量%以下がより好ましい。それぞれの環状ジペプチドまたはその塩の含有量としては、以下の量をあげることができる：

40

(1) シクロトレオニルチロシン又はその塩の含有量： $0.40 \times 10 \sim 0.70 \times 10^5$ ppm、好まし

50

- くは、 $0.40 \times 10^2 \sim 0.70 \times 10^4$ ppm。
- (2) シクロバリルチロシン又はその塩の含有量： $0.30 \times 10 \sim 0.50 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $0.30 \times 10^2 \sim 0.50 \times 10^4$ ppm。
- (3) シクログルタミニルチロシン又はその塩の含有量： $0.20 \times 10 \sim 0.40 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $0.20 \times 10^2 \sim 0.40 \times 10^4$ 。
- (4) シクロアスパラギニルイソロイシン又はその塩の含有量： $0.40 \times 10 \sim 0.70 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $0.40 \times 10^2 \sim 0.70 \times 10^4$ 。
- (5) シクロアルギニルプロリン又はその塩の含有量： $0.40 \times 10 \sim 0.70 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $0.40 \times 10^2 \sim 0.70 \times 10^4$ ppm。
- (6) シクロアスパラギニルグリシン又はその塩の含有量： $0.20 \times 10 \sim 0.50 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $0.20 \times 10^2 \sim 0.50 \times 10^4$ ppm。 10
- (7) シクロメチオニルバリン又はその塩の含有量： $0.40 \times 10 \sim 0.70 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $0.40 \times 10^2 \sim 0.70 \times 10^4$ ppm。
- (8) シクログルタミルシステイン又はその塩の含有量： $0.40 \times 10 \sim 0.70 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $0.40 \times 10^2 \sim 0.70 \times 10^4$ ppm。
- (9) シクロセリルグルタミン酸又はその塩の含有量： $0.40 \times 10 \sim 0.70 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $0.40 \times 10^2 \sim 0.70 \times 10^4$ ppm。
- (10) シクロイソロイシルリシン又はその塩の含有量： $0.50 \times 10 \sim 0.90 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $0.50 \times 10^2 \sim 0.90 \times 10^4$ ppm。
- (11) シクログルタミニルロイシン又はその塩の含有量： $0.80 \times 10 \sim 1.30 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $0.80 \times 10^2 \sim 1.30 \times 10^4$ ppm。 20
- (12) シクロイソロイシルトレオニン又はその塩の含有量： $0.20 \times 10 \sim 0.50 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $0.20 \times 10^2 \sim 0.50 \times 10^4$ 。
- (13) シクロトレオニルトレオニン又はその塩の含有量： $0.30 \times 10 \sim 0.50 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $0.30 \times 10^2 \sim 0.50 \times 10^4$ ppm。
- (14) シクロメチオニルトレオニン又はその塩の含有量： $0.40 \times 10 \sim 0.70 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $0.40 \times 10^2 \sim 0.70 \times 10^4$ ppm。
- (15) シクロアラニルシステイン又はその塩の含有量： $0.40 \times 10 \sim 0.70 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $0.40 \times 10^2 \sim 0.70 \times 10^4$ ppm。
- (16) シクログリシルシステイン又はその塩の含有量： $0.40 \times 10 \sim 0.70 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $0.40 \times 10^2 \sim 0.70 \times 10^4$ ppm。 30
- (17) シクロアスパルチルセリン又はその塩の含有量： $1.00 \times 10 \sim 1.60 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $1.00 \times 10^2 \sim 1.60 \times 10^4$ ppm。
- (18) シクロアルギニルアスパラギン酸又はその塩の含有量： $0.90 \times 10 \sim 1.50 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $0.90 \times 10^2 \sim 1.50 \times 10^4$ 。
- (19) シクログリシルトリプトファン又はその塩の含有量： $0.10 \times 10 \sim 0.30 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $0.10 \times 10^2 \sim 0.30 \times 10^4$ 。
- (20) シクロヒスチジルフェニルアラニン又はその塩の含有量： $0.20 \times 10 \sim 0.40 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $0.20 \times 10^2 \sim 0.40 \times 10^4$ ppm。
- (21) シクロアスパルチルロイシン又はその塩の含有量： $0.40 \times 10 \sim 0.80 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $0.40 \times 10^2 \sim 0.80 \times 10^4$ ppm。 40
- (22) シクロイソロイシルヒスチジン又はその塩の含有量： $0.70 \times 10 \sim 1.20 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $0.70 \times 10^2 \sim 1.20 \times 10^4$ 。
- (23) シクロセリルロイシン又はその塩の含有量： $0.70 \times 10 \sim 1.10 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $0.70 \times 10^2 \sim 1.10 \times 10^4$ ppm。
- (24) シクロイソロイシルアスパラギン酸又はその塩の含有量： $0.70 \times 10 \sim 1.10 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $0.70 \times 10^2 \sim 1.10 \times 10^4$ ppm。
- (25) シクロセリルシステイン又はその塩の含有量： $0.40 \times 10 \sim 0.70 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $0.40 \times 10^2 \sim 0.70 \times 10^4$ ppm。
- (26) シクロフェニルアラニルトリプトファン又はその塩の含有量： $0.07 \times 10 \sim 0.20 \times$ 50

- 10⁵ppm、好ましくは、 $0.07 \times 10^2 \sim 0.20 \times 10^4$ ppm。
- (2 7) シクロアラニルロイシン又はその塩の含有量： $1.40 \times 10 \sim 2.30 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $1.40 \times 10^2 \sim 2.30 \times 10^4$ ppm。
- (2 8) シクログルタミニルヒスチジン又はその塩の含有量： $0.40 \times 10 \sim 0.70 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $0.40 \times 10^2 \sim 0.70 \times 10^4$ ppm。
- (2 9) シクロアルギニルバリン又はその塩の含有量： $0.60 \times 10 \sim 1.00 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $0.60 \times 10^2 \sim 1.00 \times 10^4$ ppm。
- (3 0) シクログルタミルロイシン又はその塩の含有量： $0.70 \times 10 \sim 1.10 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $0.70 \times 10^2 \sim 1.10 \times 10^4$ ppm。
- (3 1) シクロロイシルトリプトファン又はその塩の含有量： $0.10 \times 10 \sim 0.30 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $0.10 \times 10^2 \sim 0.30 \times 10^4$ ppm。 10
- (3 2) シクロトリプトファニルトリプトファン又はその塩の含有量： $0.04 \times 10 \sim 0.07 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $0.04 \times 10^2 \sim 0.07 \times 10^4$ ppm。
- (3 3) シクロL - アラニルプロリン又はその塩の含有量： $0.40 \times 10 \sim 0.70 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $0.40 \times 10^2 \sim 0.70 \times 10^4$ ppm。
- (3 4) シクロメチオニルアルギニン又はその塩の含有量： $0.20 \times 10 \sim 0.50 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $0.20 \times 10^2 \sim 0.50 \times 10^4$ ppm。
- (3 5) シクロリシルフェニルアラニン又はその塩の含有量： $1.00 \times 10 \sim 1.60 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $1.00 \times 10^2 \sim 1.60 \times 10^4$ ppm。
- (3 6) シクロフェニルアラニルフェニルアラニン又はその塩の含有量： $0.30 \times 10 \sim 0.60 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $0.30 \times 10^2 \sim 0.60 \times 10^4$ ppm。 20
- (3 7) シクロトリプトファニルチロシン又はその塩の含有量： $0.10 \times 10 \sim 0.20 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $0.10 \times 10^2 \sim 0.20 \times 10^4$ ppm。
- (3 8) シクロアスパラギニルバリン又はその塩の含有量： $0.30 \times 10 \sim 0.50 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $0.30 \times 10^2 \sim 0.50 \times 10^4$ ppm。
- (3 9) シクログルタミニルイソロイシン又はその塩の含有量： $0.50 \times 10 \sim 0.80 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $0.50 \times 10^2 \sim 0.80 \times 10^4$ ppm。
- (4 0) シクロアラニルセリン又はその塩の含有量： $0.40 \times 10 \sim 0.80 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $0.40 \times 10^2 \sim 0.80 \times 10^4$ ppm。
- (4 1) シクロメチオニルヒスチジン又はその塩の含有量： $0.10 \times 10 \sim 0.30 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $0.10 \times 10^2 \sim 0.30 \times 10^4$ ppm。 30
- (4 2) シクロメチオニルプロリン又はその塩の含有量： $0.10 \times 10 \sim 0.30 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $0.10 \times 10^2 \sim 0.30 \times 10^4$ ppm。
- (4 3) シクロアルギニルロイシン又はその塩の含有量： $1.50 \times 10 \sim 2.30 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $1.50 \times 10^2 \sim 2.30 \times 10^4$ ppm。
- (4 4) シクロメチオニルグルタミン酸又はその塩の含有量： $0.10 \times 10 \sim 0.30 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $0.10 \times 10^2 \sim 0.30 \times 10^4$ ppm。
- (4 5) シクロメチオニルアラニン又はその塩の含有量： $0.20 \times 10 \sim 0.50 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $0.20 \times 10^2 \sim 0.50 \times 10^4$ ppm。
- (4 6) シクロイソロイシルグルタミン酸又はその塩の含有量： $0.50 \times 10 \sim 0.90 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $0.50 \times 10^2 \sim 0.90 \times 10^4$ ppm。 40
- (4 7) シクロイソロイシルセリン又はその塩の含有量： $0.50 \times 10 \sim 0.90 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $0.50 \times 10^2 \sim 0.90 \times 10^4$ ppm。
- (4 8) シクロバリルセリン又はその塩の含有量： $0.50 \times 10 \sim 0.90 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $0.50 \times 10^2 \sim 0.90 \times 10^4$ ppm。
- (4 9) シクロメチオニルグリシン又はその塩の含有量： $0.40 \times 10 \sim 0.70 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $0.40 \times 10^2 \sim 0.70 \times 10^4$ ppm。
- (5 0) シクロバリルトレオニン又はその塩の含有量： $0.30 \times 10 \sim 0.60 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $0.30 \times 10^2 \sim 0.60 \times 10^4$ ppm。
- (5 1) シクロバリルアルパラギン酸又はその塩の含有量： $0.50 \times 10 \sim 0.90 \times 10^5$ ppm、好 50

ましくは、 $0.50 \times 10^2 \sim 0.90 \times 10^4$ ppm。

(52) シクログリシルプロリン又はその塩の含有量： $0.30 \times 10 \sim 0.50 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $0.30 \times 10^2 \sim 0.50 \times 10^4$ ppm。

(53) シクロロイシルプロリン又はその塩の含有量： $0.50 \times 10 \sim 0.90 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $0.50 \times 10^2 \sim 0.90 \times 10^4$ ppm。

(54) シクログルタミニルグリシン又はその塩の含有量： $0.05 \times 10 \sim 0.09 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $0.05 \times 10^2 \sim 0.09 \times 10^4$ ppm。

(55) シクロトリプトファニルリシン又はその塩の含有量： $0.20 \times 10 \sim 0.40 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $0.20 \times 10^2 \sim 0.40 \times 10^4$ ppm。

(56) シクログルタミニルフェニルアラニン又はその塩の含有量： $0.30 \times 10 \sim 0.60 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $0.30 \times 10^2 \sim 0.60 \times 10^4$ ppm。 10

(57) シクロリシルグリシン又はその塩の含有量： $1.00 \times 10 \sim 1.60 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $1.00 \times 10^2 \sim 1.60 \times 10^4$ ppm。

(58) シクロセリルリシン又はその塩の含有量： $1.60 \times 10 \sim 2.60 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $1.60 \times 10^2 \sim 2.60 \times 10^4$ ppm。

(59) シクロバリルリシン又はその塩の含有量： $0.90 \times 10 \sim 1.50 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $0.90 \times 10^2 \sim 1.50 \times 10^4$ ppm。

(60) シクロアスパラギニルリシン又はその塩の含有量： $0.60 \times 10 \sim 1.10 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $0.60 \times 10^2 \sim 1.10 \times 10^4$ ppm。

(61) シクロヒスチジルヒスチジン又はその塩の含有量： $0.40 \times 10 \sim 0.70 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $0.40 \times 10^2 \sim 0.70 \times 10^4$ ppm。 20

(62) シクロトレオニルヒスチジン又はその塩の含有量： $0.40 \times 10 \sim 0.70 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $0.40 \times 10^2 \sim 0.70 \times 10^4$ ppm。

(63) シクロアスパルチルヒスチジン又はその塩の含有量： $0.40 \times 10 \sim 0.70 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $0.40 \times 10^2 \sim 0.70 \times 10^4$ ppm。

(64) シクロアスパラギニルヒスチジン又はその塩の含有量： $0.10 \times 10 \sim 0.30 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $0.10 \times 10^2 \sim 0.30 \times 10^4$ ppm。

(65) シクロアルギニルセリン又はその塩の含有量： $0.40 \times 10 \sim 0.70 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $0.40 \times 10^2 \sim 0.70 \times 10^4$ ppm。

(66) シクロアスパラギニルメチオニン又はその塩の含有量： $0.40 \times 10 \sim 0.70 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $0.40 \times 10^2 \sim 0.70 \times 10^4$ 。 30

(67) シクログルタミニルメチオニン又はその塩の含有量： $0.10 \times 10 \sim 0.20 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $0.10 \times 10^2 \sim 0.20 \times 10^4$ 。

(68) シクロトリプトファニルアルギニン又はその塩の含有量： $0.10 \times 10 \sim 0.30 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $0.10 \times 10^2 \sim 0.30 \times 10^4$ 。

(69) シクロアスパラギニルアルギニン又はその塩の含有量： $0.40 \times 10 \sim 0.70 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $0.40 \times 10^2 \sim 0.70 \times 10^4$ ppm。

(70) シクロアスパラギニルプロリン又はその塩の含有量： $0.05 \times 10 \sim 0.09 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $0.05 \times 10^2 \sim 0.09 \times 10^4$ ppm。

(71) シクロアルギニルアルギニン又はその塩の含有量： $0.40 \times 10 \sim 0.70 \times 10^5$ ppm、好ましくは、 $0.40 \times 10^2 \sim 0.70 \times 10^4$ ppm。 40

【0030】

本発明の糖代謝改善剤は、その形態に応じた適当な投与方法で投与される。投与方法も本発明の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く、例えば内用、外用、皮内などに投与し得、外用の場合は、例えば、坐剤等の外用剤として、その適する投与方法により投与すればよい。

【0031】

本発明の糖代謝改善剤またはGLP-1分泌促進剤の投与量は、その形態、投与方法、使用目的及び当該糖代謝改善剤の投与対象である患者または患獣の年齢、体重、症状によって適時設定され、一定ではない。例えば、本発明における本発明の環状ジペプチド又は 50

その塩の有効ヒト摂取量としては、体重50kgのヒトで一日当たり、好ましくは0.2mg以上、より好ましくは2mg以上、さらに好ましくは20mg以上であり、好ましくは10g以下、より好ましくは5g以下、さらに好ましくは2g以下である。また、投与は、所望の投与量範囲内において、1日内において単回で、又は数回に分けて行ってもよい。投与期間も任意である。なお、ここで本発明の環状ジペプチド又はその塩の有効ヒト摂取量とは、ヒトにおいて有効な効果を示す環状ジペプチド又はその塩の合計摂取量のことであり、環状ジペプチドの種類は特に限定されない。

【0032】

本明細書中において本発明の糖代謝改善剤またはGLP-1分泌促進剤の摂取対象とは、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。

10

【0033】

本発明はまた、糖代謝の改善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、あるいは本発明の環状ジペプチド又はその塩を含有する組成物の治療有効量を投与することを含む、糖代謝の改善方法を提供する。なお、糖代謝の改善を必要とする個体とは、本発明の糖代謝改善剤の前記投与対象と同様である。

【0034】

また、本明細書中において治療有効量とは、本発明の環状ジペプチド又はその塩を上記個体に投与した場合に、投与していない個体と比較して、糖代謝が改善する量のことである。具体的な有効量としては、投与形態、投与方法、使用目的及び個体の年齢、体重、症状等によって適時設定され一定ではない。

20

【0035】

本発明の治療方法においては、前記治療有効量となるよう、本発明の環状ジペプチド又はその塩をそのまま、また、本発明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。また、投与方法にも限定はなく、例えば、経口投与により投与することができる。

【0036】

本発明の治療方法によれば、副作用を生じることなく糖代謝を改善することが可能となる。

【実施例】

30

【0037】

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。

【0038】

< 試薬 >

環状ジペプチドは神戸天然化学で合成した。Poly-L-Lysine 96-well プレートはBD社、PBS(+)、抗生物質、Dulbecco's Modified Eagle's Medium(DMEM)、グルコース、カルボキシメチルセルロースナトリウム塩(CMC-Na)はナカライテスク社製、TPAはCell Signaling社製、活性型GLP-1 ELISAキットはMerck Millipore社製、Fetal bovine serum(FBS)はSigma社製、Sitagliptin phosphateはSanta Cruz Biotechnology社製、グルテストNeoスーパー、グルテストNeoセンサーは三和化学研究所社製、大豆ペプチド(ハイニユート AM)は不二製油社製、NCI-H716細胞はATCC社より譲渡されたものを用いた。

40

【0039】

< 統計解析 >

以降の試験例において、データは平均値±標準誤差で表示した。統計学的検定は、試験例1、2、3ではStudent's t-testを用い、他の試験例ではone-way ANOVAで分散分析を行った後、Dunnett's testを用いて多重比較検定を実施した。結果における「*」は $p < 0.05$ 、「」は $p < 0.1$ の有意差ありとした。なお、これらの解析は全てSPSS for Windows release 17.0(SPSS社製)を用いて実施した。

【0040】

50

試験例1 (環状ジペプチドを用いたin vitro GLP-1分泌促進作用の検討)

環状ジペプチドの内、水溶性の高い92種を下記の実験に用いた。DMEM培地 (10% FBS、2 mMグルタミン、1% 抗生物質を添加済)に懸濁させたNCI-H716細胞をPoly-L-Lysine 96-wellプレートに 0.5×10^5 cells/wellで100 μ Lずつ播種し、CO2インキュベーター (espec社製)で48時間培養した。PBS(+)で洗浄後、最終濃度として10mMの各環状ジペプチド、10 μ MのSitagliptin phosphate を添加したPBS(+)溶液100 μ Lを細胞に添加した。1時間後に添加溶液を回収し、ELISAキットを用いて溶液中の活性型GLP-1量を測定した。解析は環状ジペプチドを添加していない群の活性型GLP-1量を100としたときの相対値を用いた。

【0041】

結果を表1～5に示す。それぞれの表には、in vitroにおいて活性型GLP-1分泌促進活性の確認された環状ジペプチドと確認されなかった環状ジペプチドとが示されている。

【0042】

【表1】

実験①

番号	化合物	活性型GLP-1分泌量(対照群を100とした相対値)		p値(vs 対照群)	有意差あり (p<0.05)
		平均値	標準誤差		
対照群	なし	100	23		
1	Cyclo(Ser-Ser)	124	17	0.221	無
3	Cyclo(Ala-Ala)	95	7	0.418	無
5	Cyclo(D-Ala-Pro)	113	19	0.347	無
6	Cyclo(Pro-Pro)	87	20	0.348	無
7	Cyclo(Phe-Ser)	106	24	0.435	無
10	Cyclo(Val-Pro)	95	21	0.440	無
18	Cyclo(Met-Pro)	338	45	0.005	有
19	Cyclo(Leu-Pro)	173	16	0.031	有
25	Cyclo(Ala-Ser)	257	56	0.031	有
31	Cyclo(Pro-Thr)	204	32	0.029	有
34	Cyclo(Ala-His)	211	56	0.070	無
37	Cyclo(His-Pro)	231	88	0.113	無
40	Cyclo(Lys-Lys)	164	73	0.225	無
43	Cyclo(Arg-Leu)	226	24	0.010	有
45	Cyclo(Glu-Pro)	145	5	0.066	無

【0043】

【表2】

実験②

番号	化合物	活性型GLP-1分泌量(対照群を100とした相対値)		p値(vs 対照群)	有意差あり (p<0.05)
		平均値	標準誤差		
対照群	なし	100	6		
46	Cyclo(Ser-Pro)	139	36	0.173	無
47	Cyclo(Ile-Pro)	79	16	0.146	無
48	Cyclo(Asp-Pro)	199	15	0.002	有
57	Cyclo(Trp-Pro)	81	11	0.111	無
58	Cyclo(Lys-Pro)	91	14	0.288	無
59	Cyclo(Trp-Lys)	239	48	0.022	有
60	Cyclo(Trp-His)	260	32	0.004	有
63	Cyclo(Lys-Phe)	220	20	0.002	有
65	Cyclo(Gln-Phe)	227	41	0.019	有
68	Cyclo(Leu-Lys)	208	51	0.053	無
69	Cyclo(Ala-Lys)	161	56	0.168	無
73	Cyclo(Hyp-Gly)	121	18	0.171	無
74	Cyclo(Hyp-Pro)	115	30	0.325	無
78	Cyclo(Trp-Ser)	119	32	0.301	無

【0044】

【表3】

実験③

番号	化合物	活性型GLP-1分泌量(対照群を100とした相対値)		p値(vs 対照群)	有意差あり (p<0.05)
		平均値	標準誤差		
対照群	なし	100	7		
96	Cyclo(Lys·Gly)	133	13	0.046	有
97	Cyclo(Glu·Lys)	66	25	0.131	無
98	Cyclo(Ser·Lys)	71	7	0.023	有
99	Cyclo(Val·Lys)	532	21	0.000	有
100	Cyclo(Asp·Lys)	116	42	0.360	無
101	Cyclo(Asn·Lys)	250	64	0.040	有
102	Cyclo(Gln·Lys)	112	12	0.228	無
107	Cyclo(His·His)	182	14	0.003	有
109	Cyclo(Thr·His)	290	7	0.000	有
110	Cyclo(Asp·His)	340	7	0.000	有
111	Cyclo(Asn·His)	341	33	0.001	有
112	Cyclo(Arg·His)	106	47	0.450	無
113	Cyclo(Glu·Ala)	157	36	0.100	無
114	Cyclo(Thr·Ala)	89	18	0.300	無
116	Cyclo(Thr·Gly)	146	36	0.140	無
117	Cyclo(Arg·Gly)	98	16	0.466	無
121	Cyclo(Gly·Ala)	153	61	0.221	無
124	Cyclo(Asn·Ala)	116	9	0.122	無
126	Cyclo(Gln·Gly)	210	48	0.044	有
129	Cyclo(Asn·Glu)	118	9	0.109	無
130	Cyclo(Gln·Glu)	120	8	0.078	無
136	Cyclo(Gln·Ser)	251	79	0.066	無
143	Cyclo(Thr·Lys)	105	21	0.413	無
153	Cyclo(Asp·Ala)	94	14	0.362	無
154	Cyclo(Ser·Gly)	116	2	0.053	無
157	Cyclo(Thr·Glu)	139	25	0.108	無
159	Cyclo(Arg·Ser)	135	14	0.048	有
164	Cyclo(Thr·Thr)	162	23	0.032	有
165	Cyclo(Asp·Thr)	140	28	0.121	無
166	Cyclo(Asn·Thr)	149	52	0.200	無
167	Cyclo(Gln·Thr)	156	61	0.204	無
168	Cyclo(Arg·Thr)	142	58	0.255	無
170	Cyclo(Asn·Asp)	125	13	0.089	無
171	Cyclo(Gln·Asp)	120	21	0.214	無

【 0 0 4 5 】

10

20

30

【表4】

実験④

番号	化合物	活性型GLP-1分泌量(対照群を100とした相対値)		p値(vs 対照群)	有意差あり (p<0.05)
		平均値	標準誤差		
対照群	なし	100	27		
172	Cyclo(Met·Asp)	141	40	0.220	無
173	Cyclo(Asn·Asn)	255	19	0.005	有
174	Cyclo(Gln·Asn)	305	64	0.021	有
175	Cyclo(Asn·Met)	218	53	0.059	有
176	Cyclo(Gln·Gln)	111	22	0.379	無
182	Cyclo(Gln·Ile)	445	51	0.002	有
186	Cyclo(Gln·Met)	191	7	0.015	有
187	Cyclo(L·Ala·Pro)	1186	171	0.002	有
188	Cyclo(Gln·Pro)	132	5	0.153	無
189	Cyclo(Trp·Arg)	314	39	0.005	有
191	Cyclo(Gln·His)	743	102	0.002	有
192	Cyclo(Ser·Glu)	993	77	0.000	有
193	Cyclo(Asp·Ser)	509	40	0.001	有
194	Cyclo(Arg·Val)	498	45	0.001	有
197	Cyclo(Asn·Arg)	359	73	0.015	有
199	Cyclo(Met·Arg)	652	73	0.001	有
201	Cyclo(Asn·Pro)	430	73	0.007	有
207	Cyclo(Arg·Asp)	1255	61	0.000	有
209	Cyclo(Arg·Pro)	441	29	0.000	有
212	Cyclo(Arg·Arg)	1050	58	0.000	有
215	Cyclo(Asn·Gly)	611	49	0.000	有

【0046】

【表5】

実験⑤

番号	化合物	活性型GLP-1分泌量(対照群を100とした相対値)		p値(vs 対照群)	有意差あり (p<0.05)
		平均値	標準誤差		
対照群	なし	100	6	0.086	無
2	Cyclo(Gly·Gly)	151	32	0.095	無
4	Cyclo(Gly·Pro)	157	25	0.044	有
21	Cyclo(Gly·Leu)	131	24	0.141	無
23	Cyclo(Ala·Gln)	99	26	0.480	無
24	Cyclo(Glu·Gly)	89	15	0.267	無
27	Cyclo(Gly·His)	82	20	0.216	無
32	Cyclo(Asp·Gly)	12	3	0.000	有
36	Cyclo(Gln·Gly)	75	15	0.099	無

【0047】

試験例2 (環状ジペプチドを用いたin vivo 血漿中GLP-1増加作用の検討)

環状ジペプチドの内、in vitroでGLP-1分泌促進作用が確認されたもの、脂溶性が高いものを下記の実験に用いた。使用動物は、雄性7週齢C57/BL6Jマウスを日本クレア社から購入し、1週間の馴化期間の後、実験に供した。動物は、空調設備のある飼育室(温度23.5±1.0、湿度55±10RH%、換気回数12~15回/時間、照明7:00~19:00/日)で飼育した。馴化期間中は、市販飼料(CE-2、日本クレア社製)及び水道水を自由に摂取させた。

【0048】

馴化期間後、5.5時間の絶食、2時間の絶水を行った。その後、0.5% CMC-Na水溶液に溶解、もしくは懸濁させた環状ジペプチドを10mg/kgで強制経口投与した。次いで30分後に麻酔下において腹部大静脈より採血を行い、ペパリンナトリウム1μL、10mM Sitagliptin phosphateを1μL添加後に8000rpmで10分間遠心を行い、回収した血漿中の活性型GLP-1量

10

20

30

40

50

をELISAキットにて測定した。解析は0.5% CMC-Na水溶液投与群の活性型GLP-1量を100としたときの相対値を用いた。

【0049】

結果を表6～15に示す。それぞれの表には、in vivoにおいて血漿中活性型GLP-1増加作用が確認された環状ジペプチドと確認されなかった環状ジペプチドとが示されている。

【0050】

【表6】

実験①

番号	化合物	血漿中活性型GLP-1量(対照群を100とした相対値)		p値(vs 対照群)	有意差あり (p<0.05)
		平均値	標準誤差		
対照群	なし	100	10		
18	Cyclo(Met-Pro)	138	10	0.024	有
25	Cyclo(Ala-Ser)	158	10	0.007	有
31	Cyclo(Pro-Thr)	129	10	0.051	無
34	Cyclo(Ala-His)	100	67	0.500	無
37	Cyclo(His-Pro)	62	0	0.008	有
43	Cyclo(Arg-Leu)	138	10	0.024	有
48	Cyclo(Asp-Pro)	110	10	0.259	無
54	Cyclo(Trp-Lys)	119	0	0.058	無
60	Cyclo(Trp-His)	129	10	0.051	無
63	Cyclo(Lys-Phe)	206	44	0.039	有

10

【0051】

【表7】

実験②

番号	化合物	血漿中活性型GLP-1量(対照群を100とした相対値)		p値(vs 対照群)	有意差あり (p<0.05)
		平均値	標準誤差		
対照群	なし	100	10		
182	Cyclo(Gln-Ile)	188	10	0.002	有
187	Cyclo(L-Ala-Pro)	217	10	0.001	有
191	Cyclo(Gln-His)	247	10	0.000	有
192	Cyclo(Ser-Glu)	286	17	0.000	有
193	Cyclo(Asp-Ser)	266	10	0.000	有
194	Cyclo(Arg-Val)	237	20	0.002	有
199	Cyclo(Met-Arg)	217	10	0.001	有
207	Cyclo(Arg-Asp)	266	26	0.002	有
209	Cyclo(Arg-Pro)	315	29	0.001	有
215	Cyclo(Asn-Gly)	305	10	0.000	有

20

30

【0052】

【表8】

実験③

番号	化合物	血漿中活性型GLP-1量(対照群を100とした相対値)		p値(vs 対照群)	有意差あり (p<0.05)
		平均値	標準誤差		
対照群	なし	100	17		
17	Cyclo(Phe-Phe)	203	9	0.003	有
22	Cyclo(Trp-Tyr)	203	9	0.003	有
26	Cyclo(Gly-Trp)	264	17	0.001	有
28	Cyclo(Phe-Trp)	255	17	0.002	有
38	Cyclo(His-Phe)	264	9	0.001	有
39	Cyclo(Leu-Trp)	229	9	0.001	有
44	Cyclo(Ala-Leu)	255	9	0.001	有
61	Cyclo(Trp-Val)	117	0	0.187	無
62	Cyclo(Trp-Ile)	178	71	0.173	無
75	Cyclo(Trp-Trp)	229	34	0.014	有

40

50

【 0 0 5 3 】

【 表 9 】

実験④

番号	化合物	血漿中活性型GLP-1量(対照群を100とした相対値)		p値(vs 対照群)	有意差あり (p<0.05)
		平均値	標準誤差		
対照群	なし	100	10		
8	Cyclo(Gly-Phe)	85	5	0.125	無
11	Cyclo(Val-Val)	100	13	0.500	無
12	Cyclo(Met-Met)	110	10	0.259	無
13	Cyclo(Phe-Pro)	120	9	0.103	無
14	Cyclo(Ile-Ile)	105	17	0.407	無
15	Cyclo(Leu-Leu)	95	10	0.371	無
16	Cyclo(Leu-Phe)	105	15	0.398	無
29	Cyclo(Ser-Tyr)	95	5	0.339	無
30	Cyclo(Pro-Tyr)	95	10	0.371	無
33	Cyclo(Asp-Phe)	90	9	0.246	無

10

【 0 0 5 4 】

【 表 1 0 】

実験⑤

番号	化合物	血漿中活性型GLP-1量(対照群を100とした相対値)		p値(vs 対照群)	有意差あり (p<0.05)
		平均値	標準誤差		
対照群	なし	100	6		
42	Cyclo(Tyr-Gly)	97	3	0.322	無
49	Cyclo(Tyr-Tyr)	100	0	0.500	無
52	Cyclo(Ala-Phe)	93	3	0.187	無
53	Cyclo(Glu-Phe)	93	3	0.187	無
54	Cyclo(Val-Phe)	93	9	0.281	無
55	Cyclo(Ile-Phe)	90	6	0.144	無
56	Cyclo(Thr-Phe)	87	3	0.058	無
64	Cyclo(Asn-Phe)	93	3	0.187	無
67	Cyclo(Met-Phe)	93	9	0.281	無
70	Cyclo(Met-Lys)	93	3	0.187	無

20

30

【 0 0 5 5 】

【 表 1 1 】

実験⑥

番号	化合物	血漿中活性型GLP-1量(対照群を100とした相対値)		p値(vs 対照群)	有意差あり (p<0.05)
		平均値	標準誤差		
対照群	なし	100	0		
71	Cyclo(Ile-Leu)	79	10	0.058	無
72	Cyclo(Met-Leu)	90	10	0.187	無
76	Cyclo(Trp-Ala)	110	10	0.187	無
77	Cyclo(Trp-Glu)	110	21	0.322	無
79	Cyclo(Trp-Thr)	100	18	0.500	無
81	Cyclo(Trp-Asn)	100	0	1.000	無
82	Cyclo(Trp-Gln)	90	10	0.187	無
83	Cyclo(Trp-Met)	110	10	0.187	無
85	Cyclo(His-Tyr)	90	10	0.187	無
86	Cyclo(Ala-Tyr)	90	21	0.322	無

40

【 0 0 5 6 】

【表 1 2】

実験⑦

番号	化合物	血漿中活性型GLP-1量(対照群を100とした相対値)		p値(vs 対照群)	有意差あり (p<0.05)
		平均値	標準誤差		
対照群	なし	100	81		
87	Cyclo(Glu-Tyr)	141	71	0.362	無
88	Cyclo(Val-Tyr)	385	71	0.029	有
89	Cyclo(Ile-Tyr)	222	108	0.208	無
90	Cyclo(Thr-Tyr)	466	108	0.027	有
91	Cyclo(Asp-Tyr)	181	81	0.259	無
92	Cyclo(Asn-Tyr)	181	41	0.211	無
93	Cyclo(Gln-Tyr)	344	41	0.028	有
94	Cyclo(Arg-Tyr)	222	41	0.125	無

10

【 0 0 5 7 】

【表 1 3】

実験⑧

番号	化合物	血漿中活性型GLP-1量(対照群を100とした相対値)		p値(vs 対照群)	有意差あり (p<0.05)
		平均値	標準誤差		
対照群		100	10		
103	Cyclo(His-Leu)	94	12	0.362	無
105	Cyclo(Thr-Leu)	94	6	0.322	無
106	Cyclo(Asn-Leu)	94	6	0.322	無
108	Cyclo(Val-His)	118	18	0.218	無
118	Cyclo(Val-Glu)	112	16	0.281	無
119	Cyclo(Met-Ile)	106	6	0.322	無
120	Cyclo(Met-His)	154	18	0.030	有
122	Cyclo(Val-Ala)	94	6	0.322	無

20

【 0 0 5 8 】

【表 1 4】

実験⑨

番号	化合物	血漿中活性型GLP-1量(対照群を100とした相対値)		p値(vs 対照群)	有意差あり (p<0.05)
		平均値	標準誤差		
対照群	なし	100	7		
123	Cyclo(Ile-Ala)	120	11	0.095	無
125	Cyclo(Met-Ala)	133	11	0.032	有
127	Cyclo(Met-Gly)	124	0	0.013	有
128	Cyclo(Ile-Glu)	133	4	0.008	有
131	Cyclo(Met-Glu)	137	0	0.003	有
132	Cyclo(Val-Ser)	129	4	0.012	有
133	Cyclo(Ile-Ser)	133	8	0.020	有
138	Cyclo(Ile-Val)	96	4	0.322	無
139	Cyclo(Val-Thr)	120	4	0.033	有
140	Cyclo(Val-Asp)	120	4	0.033	有

30

40

【 0 0 5 9 】

【表15】

実験⑩

番号	化合物	血漿中活性型GLP-1量(対照群を100とした相対値)		p値(vs 対照群)	有意差あり (p<0.05)
		平均値	標準誤差		
対照群		100	23		
141	Cyclo(Asn-Val)	191	23	0.024	有
145	Cyclo(Glu-Leu)	236	23	0.007	有
146	Cyclo(Asp-Leu)	259	23	0.004	有
148	Cyclo(Ile-His)	259	23	0.004	有
150	Cyclo(Ile-Lys)	282	0	0.001	有
151	Cyclo(Ser-Leu)	259	23	0.004	有
152	Cyclo(Gln-Leu)	282	0	0.001	有
155	Cyclo(Val-Gly)	55	91	0.326	無
156	Cyclo(Ile-Gly)	145	39	0.187	無
160	Cyclo(Met-Val)	304	60	0.017	有
161	Cyclo(Ile-Thr)	282	0	0.001	有
162	Cyclo(Ile-Asp)	259	45	0.018	有
163	Cyclo(Asn-Ile)	327	23	0.001	有
164	Cyclo(Thr-Thr)	282	0	0.001	有
169	Cyclo(Met-Thr)	282	0	0.001	有
173	Cyclo(Asn-Asn)	123	45	0.339	無
174	Cyclo(Gln-Asn)	168	23	0.051	無
177	Cyclo(Ala-Cys)	282	39	0.008	有
178	Cyclo(Gly-Cys)	282	0	0.001	有
179	Cyclo(Glu-Cys)	304	45	0.008	有
180	Cyclo(Ser-Cys)	259	23	0.004	有

【0060】

試験例3 (大豆ペプチド熱処理物を用いたin vivo血漿中GLP-1増加作用の検討)

大豆ペプチド熱処理物を下記の実験に用いた。使用動物は、雄性7週齢C57/BL6Jマウスを日本クレア社から購入し、1週間の馴化期間の後、実験に供した。動物は、空調設備のある飼育室(温度 23.5 ± 1.0 、湿度 $55 \pm 10\text{RH}\%$ 、換気回数12~15回/時間、照明7:00~19:00/日)で飼育した。馴化期間中は、市販飼料(CE-2、日本クレア社製)及び水道水を自由に摂取させた。

【0061】

馴化期間後、5.5時間の絶食、2時間の絶水を行った。その後、蒸留水に溶解させた大豆ペプチド熱処理物を1g/kgで強制経口投与した。次いで15、30、60分後に麻醉下において腹部大静脈より採血を行い、ペパリンナトリウム $1 \mu\text{L}$ 、10mM Sitagliptin phosphateを $1 \mu\text{L}$ 添加後に8000rpmで10分間遠心を行い、回収した血漿中の活性型GLP-1量をELISAキットにて測定した。

【0062】

結果を図1に示す。

【0063】

試験例4 (大豆ペプチド熱処理物を用いたin vivo糖代謝亢進作用の検討)

大豆ペプチド熱処理物、大豆ペプチドを下記の実験に用いた。使用動物は、雄性7週齢C57/BL6Jマウスを日本クレア社から購入し、1週間の馴化期間の後、実験に供した。動物は、空調設備のある飼育室(温度 23.5 ± 1.0 、湿度 $55 \pm 10\text{RH}\%$ 、換気回数12~15回/時間、照明7:00~19:00/日)で飼育した。馴化期間中は、市販飼料(CE-2、日本クレア社製)及び水道水を自由に摂取させた。

【0064】

馴化期間後、5.5時間の絶食、2時間の絶水を行った。その後、蒸留水に溶解させた大豆ペプチド熱処理物、大豆ペプチドを1g/kgで強制経口投与した。対照群には同量の蒸留水を強制経口投与した。次いで30分後に全群に対し、1g/kgのグルコースを腹腔内投与した。投与前、および、グルコース腹腔内投与より30、60、90、120分後において尾静脈より

採血を行い、グルコースNeoスーパー、グルコースNeoセンサーを用いて血糖値を測定した。

【 0 0 6 5 】

結果を図 2 に示す。

【 0 0 6 6 】

試験例5 (茶ペプチド熱処理物を用いたin vivo 糖代謝亢進作用の検討)

茶ペプチド熱処理物を下記の実験に用いた。使用動物は、雄性7週齢C57/BL6Jマウスを日本クレア社から購入し、1週間の馴化期間の後、実験に供した。動物は、空調設備のある飼育室(温度23.5±1.0、湿度55±10RH%、換気回数12~15回/時間、照明7:00~19:00/日)で飼育した。馴化期間中は、市販飼料(CE-2、日本クレア社製)及び水道水を自由に摂取させた。

10

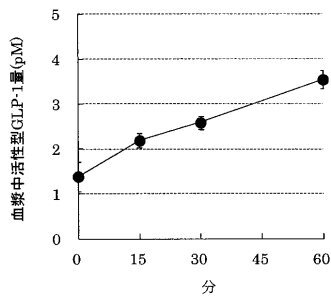
【 0 0 6 7 】

馴化期間後、5.5時間の絶食、2時間の絶水を行った。その後、蒸留水に溶解させた茶ペプチド熱処理物を1g/kgで強制経口投与した。対照群には同量の蒸留水を強制経口投与した。次いで30分後に全群に対し、1g/kgのグルコースを腹腔内投与した。投与前、および、グルコース腹腔内投与より30、60、90、120分後において尾静脈より採血を行い、グルコースNeoスーパー、グルコースNeoセンサーを用いて血糖値を測定した。

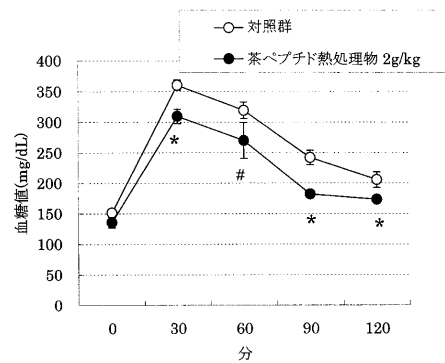
【 0 0 6 8 】

結果を図 3 に示す。

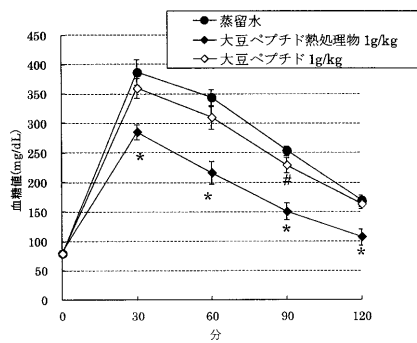
【 図 1 】



【 図 3 】



【 図 2 】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I
A 6 1 P 5/50 (2006.01)		A 6 1 P 5/50
A 6 1 K 38/05 (2006.01)		A 6 1 K 38/05
A 6 1 K 36/48 (2006.01)		A 6 1 K 36/48
A 6 1 K 36/82 (2006.01)		A 6 1 K 36/82
A 6 1 P 3/04 (2006.01)		A 6 1 P 3/04
C 0 7 K 7/64 (2006.01)		C 0 7 K 7/64

- (72)発明者 山本 憲司
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
- (72)発明者 別府 佳紀
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
- (72)発明者 渡辺 斉志
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

審査官 深草 亜子

- (56)参考文献 特表 2 0 1 2 - 5 1 7 9 9 8 (J P , A)
特開平 0 8 - 2 7 7 2 0 3 (J P , A)
特許第 5 4 5 6 8 7 6 (J P , B 2)
特開平 0 3 - 2 2 0 1 7 9 (J P , A)
国際公開第 2 0 1 3 / 1 8 7 3 8 1 (W O , A 1)
特表 2 0 0 1 - 5 1 3 4 8 7 (J P , A)
Biotechnology and Bioprocess Engineering , 2 0 1 2 年 , Vol.17 , p.176-184

- (58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)
A 6 1 K 3 1 / 0 0 - 3 1 / 8 0
A 6 1 K 3 8 / 0 0 - 3 8 / 5 8
J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)
C A P l u s / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S / W P I D S (S T N)