

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号  
**特開2016-150915**  
 (P2016-150915A)

(43) 公開日 **平成28年8月22日(2016.8.22)**

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>A 6 1 K 31/352 (2006.01)</b>	A 6 1 K 31/352	4 C 0 8 6
<b>A 6 1 K 31/7048 (2006.01)</b>	A 6 1 K 31/7048	
<b>A 6 1 P 9/12 (2006.01)</b>	A 6 1 P 9/12	
<b>A 6 1 P 17/00 (2006.01)</b>	A 6 1 P 17/00	
<b>A 6 1 P 17/04 (2006.01)</b>	A 6 1 P 17/04	

審査請求 未請求 請求項の数 5 O L (全 17 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2015-28840 (P2015-28840)	(71) 出願人	598015084 学校法人福岡大学 福岡県福岡市城南区七隈8丁目19番1号
(22) 出願日	平成27年2月17日 (2015.2.17)	(71) 出願人	591065549 福岡県 福岡県福岡市博多区東公園7番7号
		(71) 出願人	501131379 株式会社エヌ・エル・エー 福岡県福岡市博多区店屋町3番20号
		(74) 代理人	100099508 弁理士 加藤 久
		(74) 代理人	100093285 弁理士 久保山 隆
		(74) 代理人	100182567 弁理士 遠坂 啓太

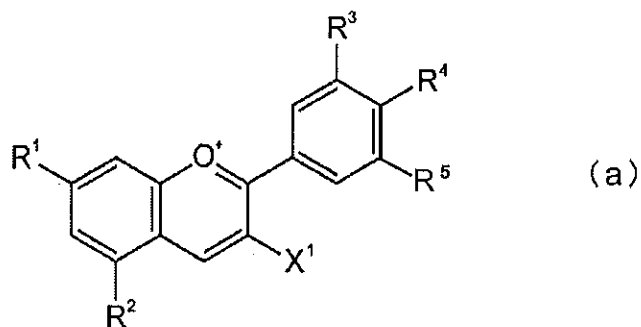
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ヒトキマーゼ阻害剤およびヒトキマーゼの活性が関与する疾患の予防治療用薬剤

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】 ヒトキマーゼの活性が関与する高血圧症、アトピー性皮膚炎、乾癬及び蕁麻疹等の各種疾患の予防と治療に用いられる医薬として有用である新規のヒトキマーゼ阻害剤の提供。

【解決手段】 式(a)で表されるヒトキマーゼ阻害剤。



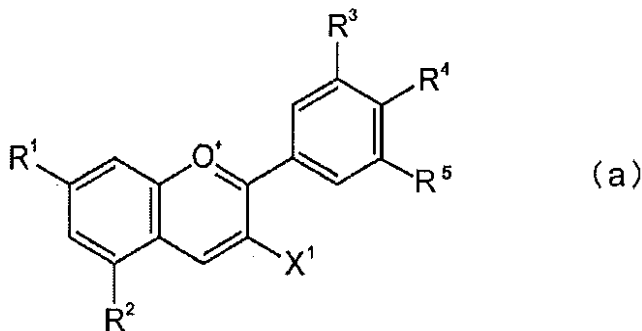
( R<sup>1</sup> ~ R<sup>5</sup> は各々独立に水酸基又はメトキシ基 ; X<sup>1</sup> は水酸基又は - O G 基 ; G は糖鎖 )  
 【選択図】 なし

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

下記一般式 ( a ) で表される化合物を有効成分として含有することを特徴とするヒトキマーゼ阻害剤。

## 【化 1】



10

( 一般式 ( a ) 中、 $R^1 \sim R^5$  は、それぞれ独立に水素原子、水酸基又はメトキシ基を示し、 $X^1$  は水素原子、水酸基又は  $-OG$  基を示し、 $G$  は糖鎖を示す。 )

## 【請求項 2】

$R^1 \sim R^5$  のうち、任意の 3 以上が水酸基である請求項 1 に記載のヒトキマーゼ阻害剤。

20

## 【請求項 3】

$R^1 \sim R^4$  のすべてが水酸基である請求項 1 または 2 に記載のヒトキマーゼ阻害剤。

## 【請求項 4】

一般式 ( a ) で表される化合物が、シアニジン、ルテオリニジン及びイデインから選択される少なくとも 1 種である請求項 1 から 3 のいずれかに記載のヒトキマーゼ阻害剤。

## 【請求項 5】

請求項 1 から 4 のいずれかに記載のヒトキマーゼ阻害剤を含有するヒトキマーゼの活性が関与する疾患の予防治療用薬剤。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

30

本発明は、ヒトキマーゼ阻害剤及びヒトキマーゼの活性が関与する疾患の予防治療用薬剤、並びにその応用に関する。

## 【背景技術】

## 【0002】

レニン - アンジオテンシン系は、全身血圧、体液量などの恒常性を保つ内分泌機構の一つである。レニン - アンジオテンシン系では、レニンによってアンジオテンシノーゲンからアンジオテンシン I を産生し、さらにアンジオテンシン I からアンジオテンシン II へ変換される。この変換は循環血中ではアンジオテンシン変換酵素 ( ACE ) による。

アンジオテンシン II は、その強い血管収縮作用から高血圧性疾患における主要な原因因子であることが知られている。また、アンジオテンシン II は、増殖因子として繊維芽細胞の増殖などを促し、特に心血管系疾患においては、心筋細胞の肥大、平滑筋細胞の遊走・増殖、線維芽細胞の細胞内マトリックス産生刺激、アポトーシス誘導など広く細胞機能の調節に関わり、線維化や腎硬化、動脈硬化巣の形成においても重要な役割を担う。

40

このように、アンジオテンシン II は、レニン - アンジオテンシン系の最終活性ペプチドであり、アンジオテンシン II の産生を抑制することにより、高血圧等のアンジオテンシン II に起因する疾患を予防することや治療することが期待できる。

## 【0003】

アンジオテンシン II を産生する経路として、アンジオテンシン変換酵素 ( ACE ) によってアンジオテンシン I からアンジオテンシン II を産生する経路が知られている。そして、アンジオテンシン変換酵素の活性を阻害する ACE 阻害剤は、アンジオテンシン II に起

50

因する疾患の予防治療薬として、その有効性は臨床において明確にされている。しかしながら、ACE阻害剤には、空咳などの副作用があることも知られており、また、ACE阻害剤は、高血圧症の予防や治療に有用とされているが、ACE阻害剤を投与しても有効な降圧作用が認められない高血圧症（例えば、塩分過剰摂取による高血圧症）が存在している。

#### 【0004】

一方、ヒトキマーゼ（以下、「キマーゼ」と記載する場合がある。）は、ACE以外にアンジオテンシンIIを産生する能力を有する酵素であり、ヒト組織局所におけるアンジオテンシンIIの産生に、ACEに依存しない「非ACE依存性経路」として注目されている。

本願発明者らは、ヒト心臓よりアンジオテンシンIからアンジオテンシンIIを産生する酵素を単離抽出し、その酵素の化学構造および遺伝子クローニングから、ヒトキマーゼがアンジオテンシンIIの産生を担うことを明らかにしている（非特許文献1～3）。また、ヒトキマーゼは組織結合型の肥満細胞で産生され分泌顆粒に保存され、分泌顆粒から分泌後組織局所において生理機能をもつとされる。血管壁において、正常時、ヒトキマーゼは外膜により多く、内膜にはむしろACEが局在しているが、一旦血管が障害を受けると、キマーゼは外膜の再構築および新生内膜増殖に関わると考えられている（非特許文献4）。このキマーゼによる非ACE依存性のアンジオテンシンII産生経路は、ヒトにおいては他の動物種と比較して寄与が高いことが報告されており、ヒト心臓におけるアンジオテンシンIIの生成は約80%をキマーゼが担うという報告もある（非特許文献5）。

#### 【0005】

ヒトキマーゼは、主にヒトの心臓、皮膚、血管壁、腸管等の組織肥満細胞分泌顆粒内に存在するキモトリプシン様酵素であり、これらの組織が障害されると、分泌顆粒から分泌され細胞外へ放出され、組織中アンジオテンシンIをアンジオテンシンIIに変換する（非特許文献3, 6）。

アンジオテンシンIIは心血管の肥大や再構築に深く関与していることが知られており、ヒトキマーゼがアンジオテンシンIIの産生を介して心臓・血管病変に深く関与することが示唆されている。そのため、ヒトキマーゼの活性を阻害するヒトキマーゼ阻害剤は、人体組織におけるアンジオテンシンIIの局所産生を阻害することによって、アンジオテンシンIIに起因する疾患を予防することや治療すること、特に各種心臓疾患・血管疾患・腎疾患の治療剤として利用できる。

#### 【0006】

なお、ヒトキマーゼは、その発現組織によって付着糖鎖量が異なるが、セリン酵素としての基質特異性はその発現組織の違いにかかわらず同一である。例えば、心臓から抽出したヒトキマーゼ（非特許文献1参照）と、皮膚や肺から抽出されたヒトキマーゼ（非特許文献7, 8参照）は酵素学的には同一の性質を有する。すなわち、ほぼ同じ速度でアンジオテンシンIからアンジオテンシンIIを産生し、等電点や至適pHもおなじである。

#### 【0007】

これまで、いくつかのヒトキマーゼ阻害剤が報告されている。ヒトキマーゼの活性を阻害する作用を有する物質として、トリアジン誘導体（特許文献1）、置換アミノピリミジニルアセトアミド誘導体（特許文献2）、ベンズイミダゾール誘導体（特許文献3）等が報告されている。

また、本発明者らは、キマーゼ阻害剤が糖耐能異常（特許文献4）や血管機能異常を伴う疾患（特許文献5）の予防や治療に有用であることや、キマーゼ阻害剤とACE阻害剤を併用することにより、心臓病等の循環器系疾患（特許文献6）の予防や治療に有用であることを報告している。キマーゼ阻害剤は、何らかの刺激によって各組織肥満細胞から放出されたキマーゼによるアンジオテンシンII産生を抑制するため、経口投与によっても、組織病変及び全身血行機能障害（例えば、高血圧）の両方の予防・改善に有効であるという利点もある。

#### 【0008】

さらに、本発明者らは、キマーゼ活性阻害により、アンジオテンシン変換酵素（ACE）の活性抑制では降圧効果が認められない、塩分過剰摂取による高血圧症に対しても降圧作用が認められることを報告している（非特許文献5）。なお、塩分過剰摂取による高血圧症は、薬剤抵抗性の高血圧症になりやすい。そのため、塩分過剰摂取による高血圧症に対して、従来の高血圧症の予防治療剤（例えば、ACE阻害剤）では、血圧降下作用がほとんど認められなかったり、血圧降下作用が不十分であることが多いことが知られている。

【0009】

また、キマーゼ阻害剤は、上述のアンジオテンシンII産生が関与する疾患以外のヒトキマーゼの活性が関与する疾患に対する予防治療用薬剤として有用であることが示唆されている。例えば、アトピー性皮膚炎、乾癬、蕁麻疹等の皮膚疾患は、ヒトキマーゼの活性が関与する疾患であるため、キマーゼ阻害剤は、ヒトキマーゼの活性を抑制することにより、有用なアトピー性皮膚炎治療薬になりうるということが示唆されている（非特許文献9、非特許文献10参照）。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0010】

【特許文献1】特開平8-208654号公報

【特許文献2】特開2003-104984号公報

【特許文献3】特開2001-199983号公報

【特許文献4】国際公開第2005/018672号パンフレット

【特許文献5】国際公開第2001/032214号パンフレット

【特許文献6】国際公開第2003/018061号パンフレット

【非特許文献】

【0011】

【非特許文献1】Urata H et al., The Journal of Biological Chemistry. 1990; 265: 222348-22357

【非特許文献2】Urata H et al., The Journal of Biological Chemistry. 1991; 266: 17173-17179

【非特許文献3】Urata H et al., The Journal of Clinical Investigation. 1993; 91: 1269-1281

【非特許文献4】Uehara Y et al., Hypertension. 2000; 35: 55-60

【非特許文献5】Urata H et al., Circulation Research. 1990; 66: 883-890

【非特許文献6】Urata H et al., Journal of Hypertension. 1994; 12: S17-22

【非特許文献7】Reilly CF et al., J Biol Chem. 1982; 257: 8619-8622

【非特許文献8】Wintroub BU et al., J Clin Invest. 1986; 77: 196-201

【非特許文献9】Tani K et al., Journal of Leukocyte Biology, 2000, 67, 585-589

【非特許文献10】Tomimori Y et al., Biochemical Pharmacology, 2002, 64, 1187-1193

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0012】

一方、これまで報告されているヒトキマーゼ阻害剤の有効成分である化合物は、ヒトキマーゼへの活性阻害作用が不十分であったり、入手困難であるものも多かったりするのが実状である。

かかる状況下、本発明の目的は、これまで報告されていない新規のヒトキマーゼ阻害剤及びヒトキマーゼの活性が関与する疾患の予防治療用薬剤を提供することにある。

【課題を解決するための手段】

【0013】

本発明者は、上記課題を解決すべく鋭意研究を重ねた結果、下記の発明が上記目的に合

致することを見出し、本発明に至った。

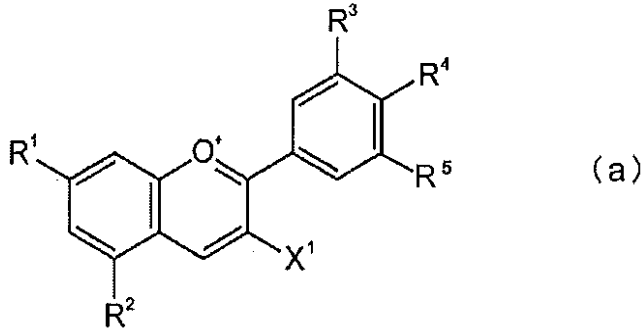
【0014】

すなわち、本発明は、以下の発明に係るものである。

< 1 > 下記一般式 ( a ) で表される化合物を有効成分として含有するヒトキマーゼ阻害剤。

【0015】

【化1】



10

(一般式 ( a ) 中、R<sup>1</sup> ~ R<sup>5</sup> は、それぞれ独立に水素原子、水酸基又はメトキシ基を示し、X<sup>1</sup> は水素原子、水酸基又は - O G 基を示し、G は糖鎖を示す。)

20

< 2 > R<sup>1</sup> ~ R<sup>5</sup> のうち、任意の 3 以上が水酸基である前記 < 1 > に記載のヒトキマーゼ阻害剤。

< 3 > R<sup>1</sup> ~ R<sup>4</sup> のすべてが水酸基である前記 < 1 > または < 2 > に記載のヒトキマーゼ阻害剤。

< 4 > 一般式 ( a ) で表される化合物が、シアニジン、ルテオリニジン及びイデインから選択される少なくとも 1 種である前記 < 1 > から < 3 > のいずれかに記載のヒトキマーゼ阻害剤。

< 5 > 前記 < 1 > から < 4 > のいずれかに記載のヒトキマーゼ阻害剤を含有するヒトキマーゼの活性が関与する疾患の予防治療用薬剤。

30

【0016】

上記 < 5 > に記載のヒトキマーゼ阻害剤を含有するヒトキマーゼの活性が関与する疾患の予防治療用薬剤として、以下の薬剤に係る発明が挙げられる。

< 1 a > 前記ヒトキマーゼの活性が関与する疾患が、アンジオテンシン II 産生が関与する疾患である前記 < 5 > に記載の予防治療用薬剤。

< 2 a > 前記ヒトキマーゼの活性が関与する疾患が、アンジオテンシン II 産生が関与する疾患である前記 < 1 a > に記載の薬剤。

< 3 a > 前記アンジオテンシン II 産生が関与する疾患が、高血圧症及び/又は高血圧症に起因する疾患である前記 < 2 a > に記載の薬剤。

< 4 a > 前記高血圧症が、塩分過剰摂取による高血圧症である前記 < 3 a > に記載の薬剤。

40

< 5 a > 前記ヒトキマーゼの活性が関与する疾患が、アンジオテンシン II 産生が関与しない疾患である前記 < 5 > に記載の薬剤。

< 6 a > 前記アンジオテンシン II 産生が関与しない疾患が、アトピー性皮膚炎、乾癬及び蕁麻疹、並びにこれらの任意の組み合わせからなる群から選択される皮膚疾患である前記 < 5 a > に記載の薬剤。

< 7 a > 前記皮膚疾患がアトピー性皮膚炎である前記 < 6 a > に記載の薬剤。

【発明の効果】

【0017】

本発明のヒトキマーゼ阻害剤は、有効成分として含有される化合物に起因して、ヒトキマーゼに対して優れた酵素活性阻害作用を示す。そのため、当該化合物を含む薬剤は、ヒ

50

トキマーゼの活性が関与する疾患の予防と治療に有用である。

【発明を実施するための形態】

【0018】

以下、本発明について例示物等を示して詳細に説明するが、本発明は以下の例示物等に限定されるものではなく、本発明の要旨を逸脱しない範囲において任意に変更して実施できる。

【0019】

< 1 . ヒトキマーゼの活性が関与する疾患 >

本明細書において、「ヒトキマーゼの活性が関与する疾患」とは、ヒトキマーゼの酵素活性が増加することによって、症状が発現、増悪、進展する疾患を意味する。

ヒトキマーゼの活性が関与する疾患は、アンジオテンシンII産生が関与する疾患と、アンジオテンシンII産生が関与しない疾患に大別される。

【0020】

アンジオテンシンII産生が関与する疾患とは、アンジオテンシンIIが産生することによって、症状が発現、増悪、進展する疾患を意味する。具体的には、高血圧症、高血圧症に起因する疾患、耐糖能異常に起因する疾患等が挙げられる。

【0021】

本明細書において、「高血圧症」は、塩分の過剰摂取、運動不足、喫煙、飲酒、ストレスの蓄積等に起因する高血圧症の発症者及びその予備軍（健常者に対して軽度の高血圧の者）を含む。また、高血圧症に起因する疾患として、具体的には、高血圧性動脈硬化性疾患、高血圧性循環器系疾患が挙げられる。

【0022】

高血圧性動脈硬化性疾患としては、血管への脂質沈着が原因となって血管機能異常が起こることによって発症する疾患、血管の脂質沈着が血管機能異常を起こすことで症状を悪化させる疾患、血管の脂質沈着が血管機能異常を起こすことで治療を遅らせる疾患等が例として挙げられる。具体的には、例えば、不安定狭心症や急性心筋梗塞等の心臓急性冠症候群、経皮的冠動脈形成術後の再狭窄、閉塞性動脈硬化症、閉塞性血栓性血管炎、アテローム性脳動脈硬化症、脳梗塞、間欠性跛行、下肢の壊疽、腎血管性高血圧症、腎動脈瘤、腎梗塞において血管の脂質沈着が関与して血管機能異常が起こる場合が挙げられる。

【0023】

高血圧性循環器系疾患としては、高血圧性臓器障害がすべて含まれる。具体的には、冠動脈疾患、心不全、動脈硬化性弁膜症等の心臓病；脳血管性病変等の脳疾患；上肢・下肢閉塞性動脈硬化症、高血圧性腎症と高血圧性糖尿病性腎症を含む慢性腎臓疾患等の全身血管の動脈硬化症疾患が例として挙げられる。

【0024】

また、アンジオテンシンII産生が関与する疾患である耐糖能異常に起因する疾患としては、糖尿病及び/又は糖尿病合併症が挙げられる。糖尿病合併症には、糖尿病性腎症、糖尿病性網膜症、糖尿病性末梢神経障害、高インスリン血症、インスリン抵抗性症候群、動脈硬化症、心臓急性冠症候群、閉塞性動脈硬化症、血管炎、脳梗塞、高血圧症、腎不全、腎症、腎動脈瘤、腎梗塞、又は肥満症等が含まれる。

【0025】

ヒトキマーゼの活性が関与する疾患のうち、アンジオテンシンII産生が関与しない疾患としては、アトピー性皮膚炎、乾癬、蕁麻疹などの皮膚疾患；脂肪肝、肝硬変及び肺線維症等の線維症関連臓器障害；クローン病及び潰瘍性大腸炎等の消化器系疾患；等が挙げられる。なお、ヒトキマーゼの活性が関与する疾患でも、アトピー性皮膚炎、乾癬、色素沈着性蕁麻疹等の皮膚疾患はヒトキマーゼの酵素活性増加の関連性が高い。

【0026】

< 2 . ヒトキマーゼ阻害剤およびこれを含む応用薬剤 >

(ヒトキマーゼ阻害剤)

本発明は、下記一般式 ( a ) で表される化合物または当該化合物の薬理的に許容され

10

20

30

40

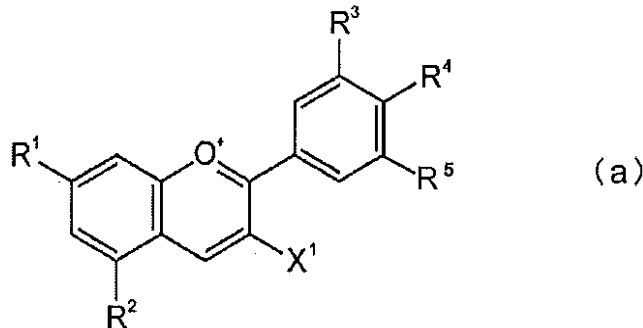
50

る塩を有効成分として含有するヒトキマーゼ阻害剤（以下、「本発明のキマーゼ阻害剤」と記載する場合がある。）に関する。なお、一般式（a）で表される化合物はアントシアニン骨格を有し、当該骨格の同等の位置に、類似する官能基によって置換されている点で共通する。

以下、本明細書において、ヒトキマーゼ阻害剤を「キマーゼ阻害剤」と記載する場合がある。一般式（a）で表される化合物を「化合物（a）」と記載する場合がある。

【0027】

【化2】



10

【0028】

一般式（a）中の $R^1 \sim R^5$ は、それぞれ独立に水素原子、水酸基又はメトキシ基を示し、 $X^1$ は水素原子、水酸基又は $-OG$ 基を示す。ここで、Gは糖鎖であり、詳細は後述する。

20

【0029】

上記一般式（a）において、 $R^1 \sim R^5$ を構成する水酸基又はメトキシ基の数の制限はないが、 $R^1 \sim R^5$ において水酸基が3以上であることが好適であり、より好適には水酸基が4以上であり、さらに好適には $R^1 \sim R^4$ のすべてが水酸基である。

【0030】

上記一般式（a）において、 $X^1$ は、水素原子、水酸基又は $-OG$ 基である。 $X^1$ が $-OG$ 基である場合、糖鎖は酸素原子を介してグリコシド結合している。

【0031】

該糖鎖の構造及び該糖鎖を構成する糖の種類には特に限定はない。糖鎖を構成する糖の数には特に限定はないが、通常は1~4、好ましくは1又は2である。なお、糖鎖の数が1である場合はいわゆる単糖残基である。糖鎖を構成する糖は、五炭糖でもよく、六炭糖でもよい。

30

上記糖鎖に含まれている水酸基は、他の基により修飾されていてもよい。例えば、上記水酸基は、後述のようにエステル化されていてもよく、アルコキシ化されていてもよい。

【0032】

上記糖鎖を構成する糖として具体的には、リボース、グルコース、マンノース、ガラクトース、ラムノース、キシロース、アラビノース、グルクロン酸、ルチノース、ソフォロース、ゲンチオピオース、ザンブピオース、ラチロース、ラミナリピオノース、ゲンチオトリオース、ロビノピオース等が挙げられる。

40

【0033】

上記糖は、有機酸が単独又は複数エステル化結合した糖（有機酸結合糖）でもよい。該有機酸の結合位置には特に限定はない。該有機酸の結合位置として具体的には、例えば、糖の2位、3位、及び6位の1又は2以上が挙げられる。上記有機酸の種類及び構成には特に限定はない。上記有機酸は芳香族有機酸でもよく、脂肪族有機酸でもよい。

【0034】

ヒトキマーゼ阻害活性に優れる点で、一般式（a）において、 $X^1$ が、水素原子、水酸基、ラムノース残基、グルコース残基またはガラクトース残基であることが好ましい。この場合、 $R^1 \sim R^4$ のすべてが水酸基であることが好ましい。

50

【 0 0 3 5 】

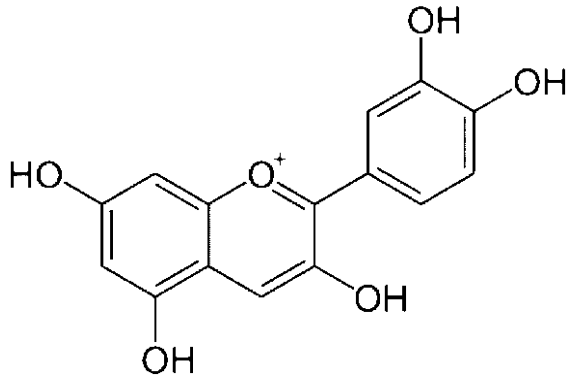
本発明のキマーゼ阻害剤において、化合物 ( a ) は、単独でも 2 種以上で含有されていてもよい。

【 0 0 3 6 】

本発明のキマーゼ阻害剤において、一般式 ( a ) で表される化合物 ( 化合物 ( a ) ) の具体例を以下に示す

【 0 0 3 7 】

【 化 3 】



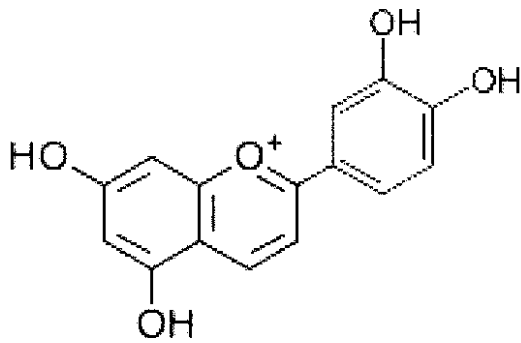
10

シアニジン

20

【 0 0 3 8 】

【 化 4 】



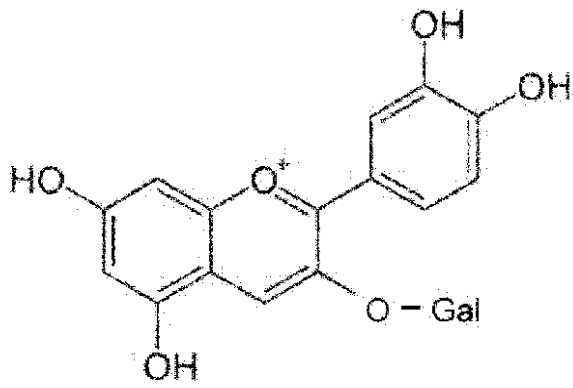
30

ルテオリニン

【 0 0 3 9 】



【化5】

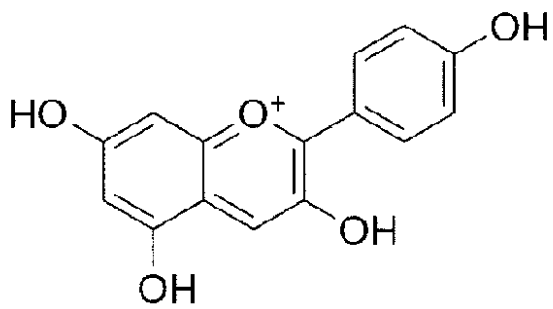


イデイン

10

【0040】

【化6】

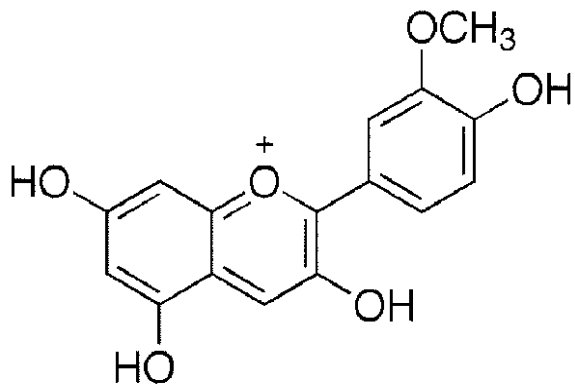


ペラルゴニジン

20

【0041】

【化7】



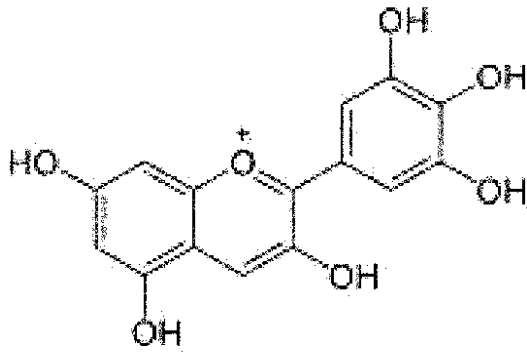
ペオニジン

30

40

【0042】

## 【化 8】

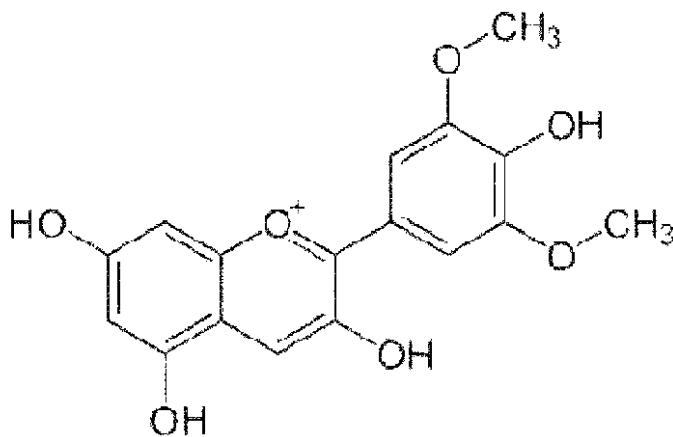


デルフィニジン

10

## 【 0 0 4 3】

## 【化 9】



マルビジン

20

30

## 【 0 0 4 4】

上記例示した化合物 ( a ) の中でも、優れたキマーゼ阻害活性を有するシアニジン、ルテオリニジン、イデインから選択される少なくとも 1 種を有効成分として含有することが好ましい。

## 【 0 0 4 5】

また、イデインは、キマーゼ活性阻害作用に優れると共に、 $X^1$  に糖鎖を有する官能基を有しているため、高い生体吸収性が期待できる。

## 【 0 0 4 6】

化合物 ( a ) は、人工的に合成したもので、天然物由来のものでよい。天然物を原料とする場合には、原料動植物から、公知の抽出方法によって得られる抽出物をそのまま用いてもよいし、さらに分離精製を行ってもよい。

40

## 【 0 0 4 7】

化合物 ( a ) として好適な化合物の一つであるシアニジンを含む天然物として、例えば、ブドウ、ラズベリー、ブルーベリー、ビルベリー、リンゴ、スモモ等が挙げられる。また、同様に好適な化合物の一つであるルテオリニジンを多く含む天然物として、コーリヤン等が挙げられる。また、同様に好適な化合物の一つであるイデインを多く含む天然物として、コケモモ果皮、ヤツデ果皮、紅タデ等が挙げられる。これらの原料植物における使用できる部位としては特に制限はなく、例えば、地上部、根部、実等が挙げられる。これらの原料植物は、1 種又は 2 種以上の化合物 ( a ) を含有する材料として、未加工の

50

まま、又は乾燥物や抽出物として使用することができる。

本明細書において、「乾燥物」とは原料植物を乾燥したものである。具体的には原料植物を公知の乾燥方法で乾燥したものである。乾燥物は、使用性の観点から、通常、粉碎して粉末化され、乾燥粉碎物として使用される。粉碎方法は、特に限定はなく従来公知の粉碎器を使用すればよい。粉末の粒径は、その使用態様によって適宜決定される。

本明細書において、「抽出物」とは、抽出対象となる原料植物を未加工のまま、又はこれを必要に応じて乾燥、細切したものを溶媒抽出して、有効成分の含有率を高めた形態のものを総括した概念である。

#### 【0048】

また、化合物(a)は、薬理的に許容される塩として含有されていてもよく、その塩の形態としては、特に制限はないが、例えば、アルカリ金属塩(ナトリウム塩、カリウム塩、リチウム塩など)、アルカリ土類金属塩(カルシウム塩、マグネシウム塩など)、無機塩(酢酸塩、アンモニウム塩など)、有機アミン塩(ジベンジルアミン塩、グルコサミン塩、エチレンジアミン塩、ジエチルアミン塩、トリエチルアミン塩、ジシクロヘキシルアミン塩、ジエタノールアミン塩、テトラメチルアンモニア塩など)、アミノ酸塩(グリシン塩、リジン塩、アルギニン塩、オルニチン塩、アスパラギン塩など)などが挙げられる。

10

#### 【0049】

本発明のキマーゼ阻害剤は、ヒトキマーゼの活性を阻害できるため、ヒトキマーゼの活性が関与する疾患を予防治療することができる。ヒトキマーゼは、ACEとは独立にアンジオテンシンIからアンジオテンシンIIを産生する酵素であるため、ヒトキマーゼの活性を阻害することが可能な、本発明のキマーゼ阻害剤を含有する薬剤は、いわゆる「非ACE依存性アンジオテンシンII産生抑制剤」として使用でき、ヒトキマーゼ活性阻害に起因してアンジオテンシンII産生を抑制し、アンジオテンシンII産生に起因する疾患を予防治療の予防治療用薬剤として使用できる。

20

また、ヒトキマーゼの活性が関与する疾患には、アンジオテンシンIIに起因する疾患以外の疾患も含まれ、本発明のキマーゼ阻害剤を含有する薬剤は、は当該アンジオテンシンIIに起因する疾患以外の疾患の予防治療用薬剤としても使用できる。

具体的なヒトキマーゼの活性が関与する疾患の種類については上記<1. ヒトキマーゼの活性が関与する疾患>にて説明したとおりである。

30

#### 【0050】

なお、ヒト以外にもキマーゼを有する動物が存在する。例えば、マウスには数種類のキマーゼが報告されている。そのうち、mouse mast cell protease (MMCP) 4はヒトキマーゼと同様に、アンジオテンシンII産生能を有し、アンジオテンシンII分解能のないキマーゼである(Science, 1996;271:502-505)。すなわち、MMCP 4はアンジオテンシンII産生セリン酵素である。そのため、マウスを使用してヒトキマーゼの活性が関与する疾患のモデル実験を行うことができる。

一方、多くの高血圧を対象とした動物実験に使用されてきたラットにはヒトキマーゼと同じ性質を持つキマーゼが存在せず、ヒトキマーゼの活性が関与する疾患のモデル実験には適していない。というのは、ラットキマーゼはアンジオテンシンIIを産生するよりも速くアンジオテンシンIやIIを分解してしまうからである(The Journal of investigative dermatology, 1984;83:336-339)。

40

#### 【0051】

(キマーゼ阻害剤の形態)

本発明のキマーゼ阻害剤は、その有効量を薬学的に許容される担体とともに配合し、固形製剤又は液状製剤として経口又は非経口的に投与することができる。剤形は通常の経口投与または非経口投与に使用されるものならどのような剤形でもよい。

経口投与または非経口投与に利用される剤形としては、具体的には、固形製剤として、粉末剤、顆粒剤、錠剤、カプセル剤、トローチ等が挙げられる。また、液状製剤として内用液剤、外用液剤、懸濁剤、乳剤、シロップ剤、注射液、輸液等が例示され、これら剤形

50

やその他の剤形が目的に応じて適宜選択される。

【0052】

固形製剤において、主剤である本発明のキマーゼ阻害剤に、賦形剤、結合剤、崩壊剤、潤沢剤、矯味剤、安定化剤などの補助剤を用いてもよい。主剤と補助剤の比率は目的に応じて適宜選択される。

固形製剤における賦形剤の好適な例としては、例えば乳糖、D-マンニトール、デンプンなどが挙げられる。結合剤の好適な例としては、例えば、結晶セルロース、白糖、D-マンニトール、デキストリン、ヒドロキシプロピルセルロース等が挙げられる。崩壊剤の好適な例としては、例えば、デンプン、カルボキシメチルセルロース、カルボキシメチルセルロースカルシウム等が挙げられる。また、必要に応じて防腐剤、抗酸化剤、着色剤、甘味剤などの製剤添加物を用いてもよい。

10

【0053】

また、液状製剤として用いる場合、溶媒としては有効成分である上記化合物の分散性を有し、生体安全性があるものが選択される。溶媒の好適な例としては、例えば、注射用水、エタノール、プロピレングリコールなどが挙げられる。

【0054】

また、液状製剤は、主剤である本発明のキマーゼ阻害剤と共に、溶解補助剤、懸濁化剤、等張化剤、緩衝剤、抗酸化剤等の補助成分を含んでもよい。

溶解補助剤の好適な例としては、エタノール、ポリエチレングリコール、プロピレングリコール、安息香酸ベンジル、炭酸ナトリウム、クエン酸ナトリウムなどが挙げられる。懸濁化剤の好適な例としては、ラウリル硫酸ナトリウム、ラウリルアミノプロピオン酸、レシチン、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、モノステアリン酸グリセリン、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、カヒドロキシメチルセルロース等が挙げられる。緩衝剤の好適な例としては、リン酸塩、酢酸塩、炭酸塩等の緩衝液が挙げられる。抗酸化剤の好適な例としては、亜硫酸塩、アスコルビン酸塩などが挙げられる。

20

【0055】

また、本発明のキマーゼ阻害剤には、その活性阻害作用を抑制しない範囲で、公知の任意の成分を含有してもよい。例えば、安定剤や湿潤剤や乳化剤を加えたり、浸透圧調製剤またはpH調製剤として塩を補助薬として、適宜用いることができる。

【0056】

上記固形製剤や液状製剤の製法は、一般的な医薬品や医薬部外品の製法を適用することができる。

30

【0057】

本発明のキマーゼ阻害剤は、ヒトキマーゼの活性が関与する疾患の種類や症状の程度によって、剤形、投与量、投与方法を適宜選択すればよい。また、本発明のキマーゼ阻害剤の投与方法は任意であり、経口投与、非経口投与の選択も含めて、対象となる疾患に応じて適宜決定され、制限的であるものではない。典型的の例を挙げると、ヒト対して、化合物(a)基準で0.0025~50mg/kg体重/日の用量で経口的に投与する方法が挙げられる。

本発明のキマーゼ阻害剤における上記化合物(a)の含有量は、対象となる疾患に対する予防、治療又は症状の改善のために必要な活性阻害作用や投与方法等を勘案して、必要量が摂取できるような範囲で適宜決定される。すなわち、化合物(a)の有効量の最適範囲の判定は当業者の技術の範囲内であり、制限的であるものではない。

40

【0058】

また、本発明のキマーゼ阻害剤の有効成分である化合物(a)には生体吸収性が乏しい化合物も含まれる。生体吸収性に乏しい化合物(a)では、キマーゼ阻害作用に基づく上記薬効が期待できないため、生体吸収性を高めるために生体吸収促進剤を服用することが好ましい。生体吸収促進剤は本発明の薬剤の成分として含有してもよいし、本発明の薬剤と併用して生体吸収促進剤を用いてもよい。

生体吸収促進剤としては、化合物(a)の生体吸収性を高める作用を有するものであれ

50

ばよく、例えば油脂類やクエン酸塩を挙げることができる。油脂類としては特に限定されないが、綿実油、大豆油、パーム油、コーン油、ヒマワリ油、菜種油、ごま油、等から得られる植物性油脂や、イワシ、サバ等の魚類や牛、豚等の畜産類から得られる動物性油脂が挙げられる。クエン酸塩として、例えば、クエン酸ナトリウム、クエン酸カリウムおよびクエン酸鉄が挙げられる。これらの生体吸収促進剤は1種でもよいし、2種以上を混合してもよい。

【0059】

さらに、本発明のキマーゼ阻害剤は、種々の疾患の治療において、前記有効成分の他に、必要に応じて他の医薬として有効な成分を含有させることもできる。

【0060】

また、日常的に飲食することで、本発明のキマーゼ阻害剤を摂取したい場合には、該食品、飲料に含有させて機能性食品としてもよい。ここでいう「機能性食品」とは、一般食品に加えて、健康食品、栄養補助食品、栄養機能食品、栄養保険食品等、健康の維持の目的で摂取する食品および/又は飲料を意味している。なお、機能性食品として製品化する場合には、食品に用いられる様々な添加剤、具体的には、着色料、保存料、増粘安定剤、酸化防止剤漂白剤、防菌防黴剤、酸味料、調味料、乳化剤、強化剤、製造用剤、香料等を添加していてもよい。

【0061】

(キマーゼ阻害剤の応用薬剤)

本発明のヒトキマーゼの活性が関与する疾患の予防治療用薬剤(以下、「本発明の予防治療用薬剤」又は「本発明の薬剤」と記載する場合がある。)は、上記本発明のキマーゼ阻害剤を含有する。

【0062】

本明細書において、「予防治療用薬剤」とは、対象となる疾患の予防、治療、症状の改善の少なくともひとつに対して有用な薬剤を意味する。また、本明細書において、「薬剤」とは、医薬品のみならず、医薬部外品も含む。

【0063】

本発明の薬剤は、本発明のキマーゼ阻害剤以外にもその効能を損なわない範囲で他の薬剤や薬理学的に許容される任意の成分を含んでもよい。また、本発明の薬剤は、実質的な有効成分である化合物(a)を含んでいればよく、本発明のキマーゼ阻害剤を、本発明の薬剤として使用してもよい。

【0064】

上述のとおり、本発明のキマーゼ阻害剤は、上記化合物(a)を有効成分として含み、化合物(a)は、ヒトキマーゼの活性を阻害する作用を有する。そのため、本発明の予防治療用薬剤は、ヒトキマーゼの活性が関与する疾患の予防、治療、症状の改善の少なくともひとつに対して有用である。なお、本発明の予防治療用薬剤の対象となる、ヒトキマーゼの活性が関与する疾患は、<1.ヒトキマーゼの活性が関与する疾患>で上述した通りである。

【0065】

本発明の薬剤に含有される化合物(a)は、ヒトキマーゼの活性を阻害する。そして、ヒトキマーゼは、ACEとは独立にアンジオテンシンIからアンジオテンシンIIを産生する。そのため、本発明の薬剤は、非ACE依存性のアンジオテンシンII産生抑制剤となり、アンジオテンシンII産生を抑制し、アンジオテンシンIIが関与する疾患を予防治療することができる。なお、アンジオテンシンIIが関与する疾患としては、高血圧症、高血圧症に起因する疾患、耐糖能異常に起因する疾患等が挙げられ、その詳細は<1.ヒトキマーゼの活性が関与する疾患>で上述した通りである。

【0066】

本発明の薬剤は、高血圧症、特に塩分過剰摂取による高血圧症に対する優れた血圧降下作用を有する血圧降下剤として使用できる。なお、本明細書における「血圧降下作用」とは、高血圧症の発症者及びその予備軍(健常者に対して軽度の高血圧の者)に対する血圧

10

20

30

40

50

降下作用を意味する。すなわち、高血圧症の発症者及びその予備軍に対しては血圧降下作用により正常に近い血圧に戻す作用である。

【0067】

なお、塩分過剰摂取による高血圧症は、薬剤抵抗性の高血圧になりやすく、ACE阻害剤やアンジオテンシン受容体拮抗剤（ARB）等の血圧抑制剤の服用を長期間続けると、血圧降下作用が減弱することが多い。

本発明の薬剤は、ACE経路でのアンジオテンシンII産生を抑制するのではなく、ヒトキマーゼの活性を阻害することによって、ヒトキマーゼに起因する非ACE経路でのアンジオテンシンII産生を抑制することを機序とするため、塩分過剰摂取による高血圧症であっても有効な血圧降下作用が認められる。

そのため、本発明の薬剤は、特に塩分過剰摂取による高血圧症や、これによって発症する高血圧症に起因する疾患の予防治療剤として好適である。

【0068】

なお、本発明の薬剤を血圧降下剤として用いる際、相乗的な予防・治療効果が期待できる場合には、ACE阻害剤やアンジオテンシンII受容体拮抗剤と併用して用いてもよい。

本発明の薬剤は、キマーゼ活性阻害作用により、非ACE依存性アンジオテンシンII産生抑制剤となるが、これとACE阻害剤とを併用して用いることにより、ACE阻害剤又はキマーゼ阻害剤を単独で用いるのに比べ、組織局所のアンジオテンシンIIの産生を完全に抑制し、ACE阻害剤のブラジキニン分解抑制などの作用を維持し、且つ、キマーゼを媒介する様々な生理作用を抑制することにより、相乗的な治療効果を発揮するため効果的である。

【0069】

ところで、従来血圧降下剤として頻用されている薬剤として、カルシウム拮抗薬がある。この薬剤は血管拡張性が強いので反射性に頻脈を伴うことが多い。心拍はその絶対数や変動が増加すると平均余命が短縮することが日本の疫学的研究で証明されている（例えば、田主丸研究や大迫研究）。したがって、一般国民の長期予後を考えると心拍数を減少させるような血圧降下剤の開発が望まれる。現在使用されている血圧降下剤の内、降圧後も心拍数が増加しない薬剤として、ACE阻害薬やアンジオテンシンII受容体拮抗薬などが知られているが、心拍数を減少させる効果は証明されていない。このような背景から十分な降圧とともに心拍数を減少させる降圧薬の開発が望まれている。唯一降圧に伴って心拍数を減少させる薬剤として遮断薬が既存するが、副作用が多岐に渡り（過度の徐脈・喘息誘発・冠れん縮性狭心症誘発・インスリン分泌低下・脂質代謝悪化など）実臨床での使用は限られているのが実状である。

【0070】

本発明の薬剤を血圧降下剤として用いる際の投与量は、血圧降下作用を示す限り、適宜選択すればよいが、典型的の例を挙げると、ヒトに対して、化合物（a）基準で0.01mg/kg体重/日以上以上の用量で経口的に投与する方法が挙げられる。

【0071】

本発明の薬剤の対象となる高血圧症は特に制限されるものではないが、高血圧症の中でも、塩分過剰摂取に起因する高血圧症は、本発明の薬剤が特に有効な高血圧症の一つである。塩分過剰摂取に起因する高血圧症は、薬剤抵抗性の高血圧症になりやすい。そのため、塩分過剰摂取に起因する高血圧症に対して、従来高血圧症の予防治療剤（例えば、ACE阻害剤）では、血圧降下作用がほとんど認められなかったり、血圧降下作用が不十分であることが多い。これに対し、本発明の薬剤は、塩分過剰摂取に起因する高血圧症に対して有意な血圧降下作用が認められる。ここで「有意な血圧降下作用」とは、プラセボ期の血圧と本発明の薬剤の摂取期の血圧とを比較したときに、統計的に有意に（危険率が $P < 0.05$ ）低値を示すことを意味する。

【0072】

また、本発明の薬剤は、血圧降下作用を必ずしも目的とする必要はなく、特定量の化合物（a）の投与による、心拍数低下作用を利用した心拍数低下剤とすることもできる。こ

10

20

30

40

50

の場合、高血圧症以外にも、心拍数の増加は発症する疾病における心拍数低下（心拍数増加の抑制）の用途に好適に使用することができる。そして、化合物（a）の他に、対象となる疾患の治療に用いられる他の医薬として有効な成分を併用することもできる。

また、対象となる疾患が高血圧症の場合においても、相乗的な予防・治療効果が期待できる場合には、公知の血圧降下剤と併用することもできる。公知の血圧降下剤としては、ACE阻害剤、アンジオテンシンII受容体拮抗剤、カルシウムチャンネル拮抗剤、利尿剤（サイアザイド系利尿剤・ループ利尿剤・カリウム保持性利尿剤のいずれも含む）、遮断剤、遮断剤、遮断剤等に分類される血圧降下剤が挙げられる。

#### 【0073】

また、本発明の薬剤は、ヒトキマーゼの活性が関与する疾患のうち、アンジオテンシンII産生が関与しない疾患の予防、治療、症状の改善の少なくとも一つに対して有用な薬剤として使用することができる。当該アンジオテンシンII産生が関与しない疾患として、< 1. ヒトキマーゼの活性が関与する疾患 > で上述した通り、アトピー性皮膚炎、乾癬、蕁麻疹などの皮膚疾患；脂肪肝、肝硬変及び肺線維症等の線維症関連臓器障害；クローン病及び潰瘍性大腸炎等の消化器系疾患；等が挙げられる。

#### 【0074】

なお、予防治療対象である疾患が、これらの疾患である場合における本発明の薬剤の投与量は、疾患の種類のみならず、対象者の年齢、性別などの個別差を考慮して、適宜選択される。

#### 【0075】

本発明の薬剤は、上記アンジオテンシンII産生が関与しない疾患の中でも、アトピー性皮膚炎等の皮膚疾患の予防、治療、症状の改善の少なくとも一つに対して特に有用である。本発明の薬剤を皮膚疾患の予防治療用薬剤として使用する場合、通常の経口投与または非経口投与に使用されるものならどのような剤形でもよい。本発明の薬剤は、経口投与において、アトピー性皮膚炎の予防、治療、症状の改善に有用であり、かつ、人体に対する毒性や刺激性が少なく、副作用が小さい。そのため、本発明の薬剤は、日常的に摂取することが可能な経口投与用の剤形が好適な形態のひとつである。具体的な剤形は上記（キマーゼ阻害剤の形態）で記載したため、説明を省略する。

#### 【0076】

また、非経口投与用の剤形として、皮膚に塗布する形の皮膚外用剤として用いられる場合には、一般的に液状やクリーム状の形態である。この場合、医薬組成物は、必要に応じて、通常医薬品、医薬部外品に配合される、油性成分、可溶化剤、保湿剤、色素、乳化剤、増粘剤、香料等の任意の成分を含有することができる。

また、本発明の薬剤である有効成分である化合物（a）は、医薬品、医薬部外品以外の製品に配合してもよい。このような製品は特に限定されず、例えば、入浴剤、ボディソープ、シャンプー等の入浴用組成物が挙げられる。

#### 【0077】

本発明の薬剤は、ヒトキマーゼの活性が関与する皮膚疾患の種類や症状の程度によって、剤形、投与量、投与方法を適宜選択すればよい。

なお、本発明のキマーゼ阻害剤における上記化合物（a）の含有量は、対象となる疾患に対する予防、治療又は症状の改善のために必要な活性阻害作用や投与方法等を勘案して、必要量が摂取できるような範囲で適宜決定される。また、本発明のキマーゼ阻害剤の投与方法は任意であり、経口投与、非経口投与の選択も含めて、対象となる疾患に応じて適宜決定される。

#### 【実施例】

#### 【0078】

以下、実施例により本発明を更に詳細に説明するが、本発明は、その要旨を変更しない限り以下の実施例に限定されるものではない。

#### 【0079】

< 評価 1 : ヒトキマーゼ活性阻害作用の評価 (in vitro) >

10

20

30

40

50

ヒトキマーゼ活性阻害作用の評価に使用した化合物 ( a ) は以下の通りである。

「化合物 ( a ) 」

- ・シアニジン ( S I G M A )
- ・ルテオリニジン ( フナコシ ( 株 ) )
- ・イデイン ( フナコシ ( 株 ) )

【 0 0 8 0 】

ヒトキマーゼ阻害活性の評価 ( in vitro ) は、Eur J Biochem 268(22), 5885-93(2001) に記載された方法に変更を加えた以下に記述する方法で行った。この評価方法では、ヒトキマーゼの基質となるアンジオテンシン I を D n p / N m a 修飾した基質を用い、ヒトキマーゼがこの基質を切断し、アンジオテンシン II を産生すると蛍光発色することを利用する簡易的な方法である。以下に当該評価方法の概要を記述する。

10

インキュベーションバッファーは 1 0 0 m M N a C l 含有 2 0 m M リン酸緩衝液で総インキュベーション溶液量は 1 0 0  $\mu$  L である。まず、測定対象となる化合物を最終濃度 0 . 0 2 m M 、 0 . 1 m M 、 0 . 2 m M 、 0 . 5 m M 、 1 m M になるように加え、そこへ標準ヒトキマーゼ ( S I G M A ) が 0 . 0 0 1 2 単位含まれるように調整し、室温で前インキュベーションを 3 0 分施行後、基質である D n p / N m a 修飾アンジオテンシン I ( 蛋白研にて依頼作成 ) を最終濃度が 2 0 0  $\mu$  M になるように加え、37 で 3 0 分インキュベーションする。0 . 5 M N a O H を 2 5  $\mu$  L 加えてインキュベーションを終了した。産生された D n p アンジオテンシン II の発光蛍光 ( 4 6 0 n m ) を測定し、標準 D n p アンジオテンシン II によって作成した標準曲線から産生量を計算した。阻害薬を加えないコントロールを対照として、検定サンプルのヒトキマーゼ阻害活性及び阻害率を求めた。

20

【 0 0 8 1 】

化合物 ( a ) であるシアニジン、ルテオリニジン及びイデインをそれぞれ表 1 に示す濃度になるように添加して、上述の方法により、ヒトキマーゼ阻害活性率を評価した。結果を表 1 に示す。

【 0 0 8 2 】

【 表 1 】

	活性阻害率 [%]				
	0.02mM	0.1mM	0.2mM	0.5mM	1mM
イデイン	9	26	48	88	100
シアニジン	10	17	36	81	100
ルテオリニジン	5	32	46	94	100

30

【 0 0 8 3 】

以上の結果から、化合物 ( a ) であるシアニジン、ルテオリニジン及びイデインは、優れたヒトキマーゼ活性阻害作用を有していることが確認された。

40

【 産業上の利用可能性 】

【 0 0 8 4 】

本発明のキマーゼ阻害剤は、優れたヒトキマーゼ活性阻害作用を有し、ヒトキマーゼの活性が関与する各種疾患の予防・治療に用いられる医薬として有効である。



## フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 P 17/06 (2006.01)	A 6 1 P 17/06	
A 6 1 P 37/08 (2006.01)	A 6 1 P 37/08	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 1 1

(74)代理人 100195327  
弁理士 森 博

(72)発明者 浦田 秀則  
福岡県福岡市城南区七隈八丁目 1 9 番 1 号 学校法人福岡大学内

(72)発明者 黒田 理恵子  
福岡県久留米市合川町 1 4 6 5 - 5 福岡県工業技術センター生物食品研究所内

(72)発明者 平野 吉男  
福岡県久留米市合川町 1 4 6 5 - 5 福岡県工業技術センター生物食品研究所内

(72)発明者 阿部 征次  
福岡県福岡市博多区店屋町 3 - 2 0 N L A ビル 株式会社エヌ・エル・エー内

F ターム (参考) 4C086 AA01 AA02 BA08 EA11 MA01 MA04 NA14 ZA42 ZA89 ZB13  
ZC20