

(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
2013年9月6日(06.09.2013)



(10) 国際公開番号
WO 2013/129220 A1

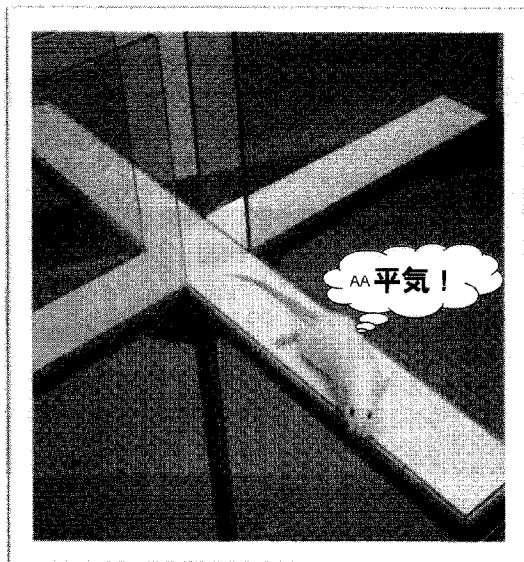
- (51) 国際特許分類:
A61K 38/00 (2006.01) A61P 25/18 (2006.01)
A23L 1/305 (2006.01) A61P 25/20 (2006.01)
A61P 3/00 (2006.01) A61P 25/22 (2006.01)
A61P 3/06 (2006.01) A61P 25/24 (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01) C07K 5/06 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2013/054289
- (22) 国際出願日: 2013年2月21日(21.02.2013)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2012-046880 2012年3月2日(02.03.2012) JP
- (71) 出願人: 国立大学法人京都大学(KYOTO UNIVERSITY) [JP/JP]; 〒6068501 京都府京都市左京区吉田本町3番地1 Kyoto (JP).
- (72) 発明者: 大日向 耕作(OHINATA, Kousaku); 〒6110011 京都府宇治市五ヶ庄 国立大学法人京都大学大学院農学研究科内 Kyoto (JP). 山田 絢子(YAMADA, Ayako); 〒6110011 京都府宇治市五ヶ庄 国立大学法人京都大学大学院農学研究科内 Kyoto (JP). 水重 貴文(MIZUSHIGE, Takafumi); 〒6110011 京都府宇治市五ヶ庄 国立大学法人京都大学大学院農学研究科内 Kyoto (JP).
- (74) 代理人: 特許業務法人三枝国際特許事務所(SAEGUSA & PARTNERS); 〒5410045 大阪府大阪市中央区道修町1-7-1 北浜TNKビル Osaka (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, 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, 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,

[続葉有]

(54) Title: PHARMACEUTICAL OR FOOD CONTAINING PEPTIDE

(54) 発明の名称: ペプチドを含む医薬または食品

[図1]



AA Feeling OK!

(57) Abstract: The present invention provides a pharmaceutical, pharmaceutical composition, or food in which a dipeptide comprising Met (M) or an analog thereof and His (H) or an analog thereof is an active ingredient, as well as a method and use for preventing or treating a disease such as a lifestyle disease.

(57) 要約: 本発明は、Met(M)またはそのアナログとHis(H)またはそのアナログを含むジペプチドを有効成分とする医薬、医薬組成物または食品、生活習慣病などの疾患の予防又は治療のための方法及び使用を提供する。

WO 2013/129220 A1

MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラ
シア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロツ
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, ML,
MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告 (条約第 21 条(3))

明 細 書

発明の名称：ペプチドを含む医薬または食品

技術分野

[0001] 本発明は生活習慣病治療薬、糖尿病治療薬、抗不安剤、睡眠改善剤、統合失調症治療薬、抗うつ薬などの医薬ないし医薬組成物に関する。また、本発明は、糖尿病を含む生活習慣病の改善、抗不安または睡眠改善用食品に関する。さらに本発明は、生活習慣病、糖尿病、不安、睡眠障害、統合失調症またはうつ病を予防又は治療する方法及びこれらの疾患を予防又は治療するための使用に関する。

背景技術

[0002] 現代のストレス社会を反映し、不安障害、統合失調症、うつ病などの精神疾患の増加が問題となっている。不安感は、生体において危険を回避するための警告として本来必要なものであるが、過剰な不安感は上記精神疾患の発症や症状の進行に関与するとともに、生活習慣病の発症リスクを上昇させることが知られており、精神的ストレスを緩和する食品や医薬品の開発が期待されている。さらに、精神的ストレス緩和作用と抗糖尿病作用など生活習慣病改善作用を併せ持つ経口投与で有効な機能性素材が開発できれば理想的であるが、そのような素材は知られていない。

[0003] 特許文献1は、乳清タンパク質由来の生理活性ペプチドであるβ-ラクトテンシン (His-Ile-Arg-Leu) が、経口投与においてコレステロール低下作用を有すること、κ-カゼイン由来の回腸収縮ペプチドの断片であるLeu-Ser-Argが、血清コレステロールを低下させる作用を有することを開示している。

先行技術文献

特許文献

[0004] 特許文献1：特開2002-080495

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0005] 本発明者は、副作用がなく、生活習慣病の改善作用と抗不安活性を併せ持つ機能性素材、それを含む医薬及び食品、生活習慣病などの疾患の予防又は治療方法及び疾患を予防または治療するための使用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

[0006] 本発明者らは、精神的ストレス緩和、生活習慣病の改善に着目し、抗不安作用とインスリン感受性増強作用を併せ持つ新しいペプチドを単離した。

[0007] 本発明は、以下の医薬ないし医薬組成物、生活習慣病改善、糖・脂質代謝改善、抗不安または睡眠改善用食品を提供するものである。

項1. Met(M)またはそのアナログとHis(H)またはそのアナログを含むジペプチドを有効成分とする医薬ないし医薬組成物。

項2. Met(M)のアナログがCys(C)である、項1に記載の医薬ないし医薬組成物。

項3. His(H)のアナログがTyr(Y)、Phe(F)またはTrp(W)である、項1に記載の医薬ないし医薬組成物。

項4. 有効成分がMH、MY、MF、MW、HM、YM、FMおよびWMからなる群から選択される、項1～3のいずれかに記載の医薬ないし医薬組成物。

項5. 有効成分がMHで表されるジペプチドである、項1～4のいずれかに記載の医薬ないし医薬組成物。

項6. 生活習慣病治療薬、糖尿病治療薬、糖・脂質代謝改善薬、抗不安剤、睡眠改善剤、統合失調症治療薬または抗うつ薬である、項1～5のいずれかに記載の医薬ないし医薬組成物。

項7. Met(M)またはそのアナログとHis(H)またはそのアナログを含むジペプチドを添加することを特徴とする、生活習慣病改善、抗不安または睡眠改善用食品。

項8. MH、MY、MF、MW、HM、YM、FMおよびWMからなる群

から選択されるジペプチドを添加することを特徴とする、項7に記載の食品。

項9. MHで表されるジペプチドを添加することを特徴とする、項7又は8に記載の食品。

項10. Met(M)またはそのアナログとHis(H)またはそのアナログを含むジペプチドを生活習慣病、糖尿病、不安、睡眠障害、統合失調症またはうつ病の患者又はその予備群に投与する工程を含む、生活習慣病、糖尿病、不安、睡眠障害、統合失調症またはうつ病を予防又は治療する方法。

項11. 前記ジペプチドがMH、MY、MF、MW、HM、YM、FMおよびWMからなる群から選択される、項10に記載の方法。

項12. 前記ジペプチドがMHである、項10又は11に記載の方法。

項13. 生活習慣病、糖尿病、不安、睡眠障害、統合失調症またはうつ病を予防又は治療するためのMet(M)またはそのアナログとHis(H)またはそのアナログを含むジペプチドの使用。

項14. 前記ジペプチドがMH、MY、MF、MW、HM、YM、FMおよびWMからなる群から選択される、項13に記載の使用。

項15. 前記ジペプチドがMHである、項13又は14に記載の使用。

発明の効果

[0008] 本発明のペプチドまたはそのアナログを有効成分とする生活習慣病改善（特にインスリン感受性の向上ないし糖尿病の改善）、抗不安薬、睡眠障害治療薬、統合失調症治療薬、抗うつ薬、或いはこれら疾患の予防薬は、副作用が低く長期の服用に適したものである。

[0009] また、本発明の薬剤ないし食品は経口投与で有効である。

[0010] さらに、天然の短鎖ペプチドは食品として摂取することも可能であり、疾患には至らないが、糖尿病を含む生活習慣病、不安傾向や睡眠に問題を有する個体が食品として摂取することで、疾患を予防することが期待できる。

[0011] 本発明のペプチドは、牛乳 β -ラクトグロブリンの酵素消化物であるので、副作用は問題にならない。また、牛乳 β -ラクトグロブリンは牛乳中に多量

に含まれるので、低コストで製造できる。

[0012] 本発明の有効成分であるペプチドは、チーズ生産過程で大量に生成する乳清タンパク質を食品添加物用の酵素で消化することで得られる。このペプチドはインスリン感受性を増強することからエネルギー代謝改善作用も期待できる。抗不安作用とエネルギー代謝改善作用を併せ持つ初めてのジペプチドである。

[0013] 本発明のペプチドは、ヒトや家畜（ウシ、ブタ、ヒツジなど）、ペット（イヌ、ネコ）などが日常的に摂取することで、糖尿病を含む生活習慣病、不安、睡眠障害、インスリン抵抗性などの改善などに有効である。

図面の簡単な説明

[0014] [図1]高架式十字迷路 (Elevated Plus-Maze test ;EPM)。マウスは通常高い場所を怖がるため、オープンアームには出てこない。抗不安薬処置により、オープンアームでの滞在時間の割合が増加する。サンプル投与30分後にマウスを迷路中央部に置き、5分間行動を測定した。

[図2]高架式十字迷路試験 実験方法。ddYマウス♂ 22-28 g、24 °C前後。

[図3]β-lactoglobulinサチライシン消化物による抗不安作用 (n=7, i. p., EPM)。Mean ±SEM (n=7)

[図4]β-lactoglobulinサーモリシン消化物による抗不安作用 (n=5-7, i. p., EPM)。Mean ±SEM (n=5-7), *p< 0.05 vs. cont.

[図5]β-lactoglobulinサーモリシン消化物のHPLC分画

[図6]Fraction A~Fの高架式十字迷路における抗不安作用。(各フラクションの1/9を腹腔内投与, n=2)。

[図7]腹腔内投与によるMHの抗不安作用。Mean ±SEM (n=6-7), *p < 0.05 vs . cont.

[図8]Open field 試験 (OF) マウスは通常円の周辺部を好み、中央部への探索行動は極めて少ない。抗不安薬処置により、円中心部での探索行動の割合が増加する。

[図9]Open field 試験 実験方法。ddYマウス♂ 24-28 g。

[図10]オープンフィールド試験におけるMH投与による抗不安作用。Mean \pm SEM (n=11), # p < 0.10 vs. cont.

[図11]糖代謝に及ぼす影響。インスリン負荷試験(ITT)の試験方法。ddYマウス♂ 24-28 g。

[図12]MHのインスリン感受性上昇作用

発明を実施するための形態

[0015] 薬理作用

本発明において、抗不安作用は、抗不安薬をスクリーニングするための不安関連行動評価法として開発され、広く用いられている高架式十字迷路試験により評価することができる(図1)。具体的には抗不安薬の候補物質を経口投与または腹腔内投与し、30分後に高架式十字迷路にマウスを置いて、オープンアームに侵入した回数とオープンアーム上での滞在時間の変化を指標として、抗不安作用の強さを評価することができる。

[0016] 本発明の医薬ないし医薬組成物は、抗不安作用を有するため、うつ病の予防ないし治療薬、抗不安剤、睡眠改善剤などとしても有用であり得る。

[0017] 本発明において、インスリン抵抗性の改善はインスリン負荷試験(ITT)により評価することができる。本明細書において、インスリン負荷試験(ITT)は、図11に示すように、インスリン投与の3時間前にインスリン抵抗性改善薬の候補物質を哺乳動物(ヒト、イヌ、ウシ、ブタ、ヤギ、ウマ、ラット、マウス、ウサギ、ハムスター)に経口投与、静脈投与または腹腔内投与し、インスリン投与の0~1時間後に血糖値を測定し、インスリンによる血糖値低下の増強作用に基づき、インスリン抵抗性の改善作用の強さを評価することができる。投与する動物としては、健常な哺乳動物でもよく、インスリン抵抗性のモデル動物がより好ましい。インスリン抵抗性のモデル動物としては、例えばFLSマウス(自然発症脂肪肝モデル動物)、ob/obマウス、db/dbマウス、KKマウス、KKAyマウス、Akitaマウス、SDTラット、OLETFラット、TSODマウス、NSYマウス、Wistar fattyラット、Zucker fattyラット、GKラット、インスリン抵抗性・サルコペニアモデルラット(加齢とともにインス

リン抵抗性を示す高脂肪高炭水化物食長期摂取SDラット)が挙げられる。

[0018] 本発明の好ましい有効成分は経口投与で有効であるのが確認されている。

[0019] 有効成分

本発明者は、牛乳／乳清の主要タンパク質であるβ-ラクトグロブリンのプロテアーゼ加水分解物の中で、MHまたはそのアナログが抗不安及びインスリン感受性増強という2つの作用を併せ持つことを見出した。本発明の医薬／医薬組成物、食品の有効成分は、MHまたはそのアナログである。

[0020] ペプチドとしては、M(Met)とH(His)を有する2～8個、好ましくは2～7個、より好ましくは2～6個、さらに好ましくは2～5個、特に好ましくは2～4個、最も好ましくは2～3個のアミノ酸からなるペプチドである。

[0021] 1つの好ましい実施形態において、本発明の好ましいペプチドは、牛乳由来のβ-ラクトグロブリンにおいて、MH或いはそのN末端もしくはC末端にβ-ラクトグロブリン由来のアミノ酸が付加された2～8個、好ましくは2～7個、より好ましくは2～6個、さらに好ましくは2～5個、特に好ましくは2～4個、最も好ましくは2～3個のアミノ酸からなるペプチドである。

[0022] 別の好ましい実施形態において、本発明の好ましいペプチドは、逆配列であるHM或いは、MHのアナログであり、MはCys(C)で置換されていてもよく、H(His)はY(Tyr)、F(Phe)またはW(Trp)で置換されていてもよい。M、Hのアナログは、両方置換されていてもよいが、一方のみ置換されていることがより好ましい。本発明の好ましい有効成分は、MH、MY、MF、MW、HM、YM、FMまたはWMである。本発明の有効成分であるペプチドは、単独で用いてもよく、2種以上のペプチドを併用してもよい。

[0023] ペプチドを構成するアミノ酸は、L体のアミノ酸、D体のアミノ酸或いはDL体のアミノ酸(D体とL体が混合されたアミノ酸であればラセミ体といずれか一方のエナンチオマーが過剰なアミノ酸のいずれも含まれる)のいずれを使用してもよい。好ましくはL体のアミノ酸のみ、或いはD体のアミノ酸のみからなるペプチド、特にL体のアミノ酸のみからなるペプチドがよい。

- [0024] また、本発明で使用するペプチドが2以上の不斉炭素を含む場合、各エナンチオマーないしジアステレオマー或いはこれらの任意の比率の混合物のいずれの形態であってもよい。エナンチオマーまたはジアステレオマーの分離は、通常のカラムで行ってもよく、光学活性カラムを使用したり、光学活性基を導入して誘導体の形態で光学分割した後、その光学活性基を除去する方法や、光学活性の酸または塩基との塩を形成して光学分割するなどの公知のいずれの方法を用いてもよい。
- [0025] ペプチドまたはそのアナログの塩としては、酸付加塩と塩基塩が挙げられる。酸付加塩としては、塩酸、硫酸、硝酸、リン酸、臭化水素酸、過塩素酸などの無機塩、クエン酸、コハク酸、マレイン酸、フマル酸、リンゴ酸、酒石酸、p-トルエンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、メタンスルホン酸、トリフルオロ酢酸などの有機酸の塩が挙げられる。塩基塩としては、ナトリウム、カリウム、リチウムなどのアルカリ金属塩、カルシウム、マグネシウムなどのアルカリ土類金属塩などが挙げられる。
- [0026] 溶媒和物としては、水(水和物の場合)、メタノール、エタノール、イソプロパノール、酢酸、テトラヒドロフラン、アセトン、ジメチルホルムアミド、ジメチルスルホキシド、ジメチルアセトアミド、アセトアミド、エチレングリコール、プロピレングリコール、ジメトキシエタンなどの溶媒和物が挙げられる。
- [0027] 本発明のペプチドは、天然のタンパク質（特にβラクトグロブリン）ないしポリペプチドの加水分解により得ることもでき、化学合成により得ることもできる。加水分解されるタンパク質ないしポリペプチドとしては、哺乳動物の乳(特に乳清タンパク質)、例えば牛乳由来の乳清タンパク質の多量に含まれるβ-ラクトグロブリン本発明のジペプチド配列が含まれる。牛乳由来のβ-ラクトグロブリンが、本発明の有効成分ペプチドの供給源として特に好ましい。これらの食品素材由来のペプチドは、そのまま或いは必要に応じて濃縮、脱塩、精製等の処理を行うことにより、そのまま食品とすることができる。

- [0028] タンパク質の加水分解には、トリプシン、キモトリプシン、パパイン、ペプシン、カルボキシペプチダーゼ、サーモリシンなどの動物、植物ないし微生物由来の加水分解酵素の使用が例示され、これらの酵素を用い、pHを酵素に応じて適切な値に調製し、30～40℃程度の温度下に30分から48時間程度反応させることにより、本発明の有効成分のペプチドを得ることができる。得られた反応液から本発明のペプチドを精製して用いてもよく、食品素材を酵素分解した場合には、そのまま或いは他の食品素材に添加して食品ないし食品組成物とすることもできる。加水分解酵素は、ウシ、ブタなどの哺乳動物、食品として用いることができる微生物(パン酵母、ビール酵母などの食用酵母など)などの食品として利用可能な酵素が好ましい。
- [0029] 加水分解は、強酸(例えば塩酸、硝酸、硫酸など)または強塩基(水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化リチウムなどのアルカリ金属水酸化物、炭酸ナトリウム、炭酸カリウムなどのアルカリ金属炭酸塩、炭酸水素ナトリウム、炭酸水素カリウムなどのアルカリ金属炭酸水素塩)などの存在下に水中で、1～100℃の温度で、30分から48時間反応させることにより、本発明の有効成分のペプチドを得ることができる。加水分解の反応生成物は、pHを調製した後、そのまま使用してもよく、精製により有効成分のペプチドを分離して使用してもよい。
- [0030] また本発明のペプチドは、ペプチド合成法で取得することもできる。即ち、ペプチド合成に通常用いられる方法である液相法または固相法で、反応性カルボキシル基を有する原料と、反応性アミノ基を有する原料とをHBTU等の活性エステルを用いた方法や、カルボジイミドなどのカップリング剤を用いた方法等のペプチド合成において通常の方法により縮合させることができる。生成する縮合物が保護基を有する場合、その保護基を除去することによっても製造し得る。
- [0031] この反応工程において反応に関与すべきでない官能基は、保護基により保護される。アミノ基の保護基としては、例えばベンジルオキシカルボニル(CBZ)、t-ブチルオキシカルボニル(Boc)、9-フルオレニルメチ

ルオキシカルボニル (Fmoc) 等が挙げられる。カルボキシル基の保護剤としては例えばアルキルエステル、ベンジルエステル等を形成し得る基が挙げられるが、固相法の場合は、C末端のカルボキシル基はクロロトリチル樹脂、クロルメチル樹脂、オキシメチル樹脂、p-アルコキシベンジルアルコール樹脂等の担体に結合している。縮合反応は、カルボジイミド等の縮合剤の存在下にあるいはN-保護アミノ酸活性エステルまたはペプチド活性エステルを用いて実施する。

[0032] 縮合反応終了後、保護基は除去されるが、固相法の場合はさらにペプチドのC末端と樹脂との結合を切断する。更に、本発明のペプチドは通常の方法に従い精製される。例えばイオン交換クロマトグラフィー、逆相液体クロマトグラフィー、アフィニティークロマトグラフィー等が挙げられる。合成したペプチドの合成はエドマン分解法でC-末端からアミノ酸配列を読み取るプロテインシークエンサー、GC-MS等で分析される。

[0033] 本発明のペプチドは、酵素法によっても合成することが可能である (W02003/010307参照)。

[0034] 本発明のペプチドの投与経路は特に限定されるものではなく、経口投与、非経口投与、直腸内投与のいずれを採用することも可能であり、経口的あるいは非経口的に投与することができる。本ペプチドの投与量は化合物の種類、投与方法、投与される者の状態や年齢等により異なるが、成人1日あたり通常は0.01mg/kg~500mg/kg、好ましくは0.05mg/kg~100mg/kg、より好ましくは0.1~30mg/kgである。本発明のペプチド(有効成分)は通常、製剤用担体と混合して調製した医薬組成物の形で投与される。製剤用担体としては、製剤分野において常用され、かつ本発明のペプチドと反応しない物質が用いられる。

[0035] 本発明のペプチドはそれ自体食品または医薬として利用することができ、或いは単独で、もしくは適当な無毒性の経口摂取用担体、希釈剤または賦形剤とともに、タブレット(素錠、糖衣錠、発泡錠、フィルムコート錠、チュアブル錠など)、カプセル、トローチ、粉末、細粒剤、顆粒剤、液剤、懸濁

液、乳濁液、ペースト、クリーム、注射剤（アミノ酸輸液、電解質輸液等の輸液に配合する場合を含む）、或いは腸溶性の錠剤、カプセル剤、顆粒剤などの徐放性製剤などの食品用もしくは医薬用の製剤にすることが可能である。食品中のペプチドの含有量は適宜選択が可能であるが一般に、0.01～100重量%の範囲である。

[0036] 具体的には、医薬または食品に加えることができる製剤用担体ないし経口摂取用担体、希釈剤または賦形剤のような物質の例として乳糖、ブドウ糖、マンニト、デキストリン、シクロデキストリン、デンプン、蔗糖、メタケイ酸アルミン酸マグネシウム、合成ケイ酸アルミニウム、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ヒドロキシプロピルデンプン、カルボキシメチルセルロースカルシウム、イオン交換樹脂、メチルセルロース、ゼラチン、アラビアゴム、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ポリビニルピロリドン、ポリビニルアルコール、軽質無水ケイ酸、ステアリン酸マグネシウム、タルク、トラガント、ベントナイト、ビーガム、酸化チタン、ソルビタン脂肪酸エステル、ラウリル硫酸ナトリウム、グリセリン、脂肪酸グリセリンエステル、精製ラノリン、グリセロゼラチン、ポリソルベート、マクロゴール、植物油、ロウ、流動パラフィン、白色ワセリン、フルオロカーボン、非イオン性界面活性剤、プロピレングルコール、水等が挙げられる。

[0037] 剤型としては、錠剤、カプセル剤、顆粒剤、散剤、シロップ剤、懸濁剤、坐剤、軟膏、クリーム剤、ゲル剤、貼付剤、吸入剤、注射剤等が挙げられる。これらの製剤は常法に従って調製される。尚、液体製剤にあつては、用時、水又は他の適当な溶媒に溶解または懸濁する形であってもよい。また錠剤、顆粒剤は周知の方法でコーティングしてもよい。注射剤の場合には、本発明のペプチドを水に溶解させて調製されるが、必要に応じて生理食塩水あるいはブドウ糖溶液に溶解させてもよく、また緩衝剤や保存剤を添加してもよい。

[0038] これらの製剤は、本発明のペプチドを0.01%～100重量%、好まし

くは1～90重量%の割合で含有することができる。これらの製剤はまた、治療上価値のある他の成分を含有していてもよい。

[0039] 経口投与用の固形製剤を製造するには、有効成分と賦形剤成分例えば乳糖、澱粉、結晶セルロース、乳酸カルシウム、無水ケイ酸などと混合して散剤とするか、さらに必要に応じて白糖、ヒドロキシプロピルセルロース、ポリビニルピロリドンなどの結合剤、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などの崩壊剤などを加えて湿式又は乾式造粒して顆粒剤とする。錠剤を製造するには、これらの散剤及び顆粒剤をそのまま或いはステアリン酸マグネシウム、タルクなどの滑沢剤を加えて打錠すればよい。これらの顆粒又は錠剤はヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート、メタクリル酸-メタクリル酸メチルポリマーなどの腸溶剤基剤で被覆して腸溶剤製剤、あるいはエチルセルロース、カルナウバロウ、硬化油などで被覆して持続性製剤とすることもできる。また、カプセル剤を製造するには、散剤又は顆粒剤を硬カプセルに充填するか、有効成分をそのまま或いはグリセリン、ポリエチレングリコール、ゴマ油、オリーブ油などに溶解した後ゼラチン膜で被覆し軟カプセルとすることができる。

[0040] 経口投与用の液状製剤を製造するには、有効成分と白糖、ソルビトール、グリセリンなどの甘味剤とを水に溶解して透明なシロップ剤、更に精油、エタノールなどを加えてエリキシル剤とするか、アラビアゴム、トラガント、ポリソルベート80、カルボキシメチルセルロースナトリウムなどを加えて乳剤又は懸濁剤としてもよい。これらの液状製剤には所望により矯味剤、着色剤、保存剤などを加えてもよい。

[0041] 注射剤を製造するには、有効成分を必要に応じて塩酸、水酸化ナトリウム、乳糖、乳酸、ナトリウム、リン酸一水素ナトリウム、リン酸二水素ナトリウムなどのpH調整剤、塩化ナトリウム、ぶどう糖などの等張化剤と共に注射用蒸留水に溶解し、無菌濾過してアンプルに充填するか、更にマンニトール、デキストリン、シクロデキストリン、ゼラチンなどを加えて真空凍結乾燥し、用事溶解型の注射剤としてもよい。また、有効成分にレチシン、ポリ

ソルベート80、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油などを加えて水中で乳化せしめ注射剤用乳剤とすることもできる。

[0042] 直腸投与剤または膣投与剤を製造するには、有効成分をカカオ脂、脂肪酸のトリ、ジ及びモノグリセリド、ポリエチレングリコールなどの座剤用基材と共に加湿して溶解し型に流し込んで冷却するか、有効成分をポリエチレングリコール、大豆油などに溶解した後、ゼラチン膜で被覆すればよい。

[0043] 皮膚用外用剤を製造するには、有効成分を白色ワセリン、ミツロウ、流動パラフィン、ポリエチレングリコールなどに加えて必要ならば加湿して練合し軟膏剤とするか、ロジン、アクリル酸アルキルエステル重合体などの粘着剤と練合した後ポリアルキルなどの不織布に展延してテープ剤とする。

[0044] 本発明に係るペプチドを添加・配合して調製しうる食品の具体的形態としては、例えば、飲料類（コーヒー、ココア、ジュース、清涼飲料、ミネラル飲料、茶飲料、緑茶、紅茶、烏龍茶、乳飲料、乳酸菌飲料、ヨーグルト飲料、炭酸飲料）、ガム、グミ、ゼリー、キャンデー、クッキー、クラッカー、ビスケット、氷菓（アイスクリーム、アイスキャンディ、シャーベット、かき氷等）、レトルト食品、ゼリー状食品（ゼリー、寒天、ゼリー状飲料等）、等を挙げることができる。本発明のペプチドを添加・配合して調製しうる食品としては、いわゆる健康食品、機能性食品、栄養補助食品、サプリメント、特定保健用食品、病者用食品・病者用組合せ食品（厚生労働省、特別用途食品の一種）又は高齢者用食品（厚生労働省、特別用途食品の一種）としてもよく、素錠、フィルムコート錠、糖衣錠、顆粒、粉末、タブレット、カプセル（ハードカプセルとソフトカプセルとのいずれも含む。）、チュアブルタイプ、シロップタイプ、ドリンクタイプ等とすることもできる。本発明に係るペプチドを添加・配合した食品の調製は、それ自体公知の方法で行うことができる。

実施例

[0045] 次に実施例により本発明を更に具体的に説明する。しかし下記の実施例は本発明の範囲を限定するものではない。

[0046] (高架式十字迷路実験)

高架式十字迷路 (Elevated plus maze : EPM) は、2つのオープンアーム (open arm; 25cm×5cm) と2つのクローズドアーム (closed arm; 25cm×5cm×15cm) からなり、それらのアームは床から50cm高くなった中央プラットフォームと結合している (図1参照)。高い位置にあるにも関わらず、クローズドアームの周りには囲いがあるために、マウスは安全に歩行することができる。一方、オープンアームの周囲は開放されていて囲いがないために、オープンアームを歩行するマウスは高い位置から転落するという不安感を感じる。そのために、マウスがオープンアームにいる時間が長いほど、あるいは進入回数が多いほど、マウスの不安感は緩和されており、抗不安活性の指標となる。

[0047] オープンアームの一つに面している中央プラットフォーム上にマウスを置いて試験を開始した。5分の試験時間の間、オープンアーム内で過ごした累積時間 (time in open arms)、オープンアームを訪れた回数 (visit to open arms)、いずれかのアームを訪れた回数の総数 (total visits) を記録した。オープンアーム内で過ごした時間のパーセンテージ、オープンアームを訪れた回数のパーセンテージを不安の指標として計算した。

[0048] (統計解析)

高架式十字迷路試験で得たデータを、平均とSEMで表した。データを1方向または2方向ANOVAにより解析し、引き続いて多重比較のためのFisher試験を行った。

[0049] (オープンフィールド試験)

図9に示されるように、マウスに試験の30分前に本発明の有効成分となるペプチドを投与し、その30分後にオープンフィールドに置き、円中心部での探索行動の割合を評価した。

[0050] (インスリン負荷試験 (ITT))

図11に示されるように、マウスにインスリン投与の3時間前に本発明の有効成分となるペプチドを投与し、その3時間後にインスリンを投与し、イ

ンスリン投与の15分後、30分後、60分後に血糖値を測定した。

[0051] 実施例1～3及び比較例1(抗不安作用)

(実験及び結果)

生理食塩水溶液に溶解した β ラクトグロブリンのサーモリシン消化物(実施例1)、 β ラクトグロブリンのサーモリシン消化物のフラクションA～F(実施例2, $n = 2$)、MH(実施例3)、 β ラクトグロブリンのサチライシン消化物(比較例1)をマウスを高架式十字迷路またはオープンフィールド上に置く前に各々図面に示される量で腹腔内投与(i.p.)あるいは経口投与した($n = 4 \sim 11$)。そして各ペプチドないしアミノ酸の投与群と非投与群(0 mg/kg, control)において、オープンアーム内で過ごした時間のパーセンテージとオープンアームを訪れた回数、アームを訪れた総数(total visits)を比較した。実験方法及び結果を図1～図10に示す。図1～図10に示されるように、本発明のペプチド(MH)またはそれを含むフラクションAは、有意または有意傾向をもってアームを訪れる回数とアーム(高架式十字迷路)で過ごす時間の割合または中央部(オープンフィールド)での探索行動の回数を延長ないし増加した。

[0052] さらに、MHは経口投与でも抗不安作用を示すことが明らかとなり、その最小有効用量は1 mg/kgであった。また、オープンフィールド試験においても、MH投与(0.1 mg/kg, i.p.)によって中心円の滞在時間が増加する傾向が認められたことから、複数の評価系において強力な抗不安作用を示すものと考えられる。

[0053] β -ラクトグロブリンのサーモリシン消化物は、 β -ラクトグロブリン水溶液(20 mg/ml)にサーモリシン(E:S=1:100)を添加し、37°Cで5時間インキュベートして得た。実験動物は雄性ddY系マウス(21-28 g)を用い、投与30分後に試験を開始し、5分間その行動を観察した。高架式十字迷路試験では、壁のあるクローズドアームと壁のないオープンアームからなる高さ50 cmの十字の迷路を使用し、オープンアームでの滞在時間の割合の増加により抗不安活性を評価した。オープンフィールド試験では、高さ50 cmの壁で覆われた

直径60 cmの円形（25区画）の装置を用い、中央円での探索行動の増加で評価した。

[0054] なお、酵素消化物は逆相HPLCで分画し、各フラクションの抗不安活性を測定した。活性が認められたフラクションAのペプチドをプロテインシーケンサーと質量分析計で同定し、その配列に基づき化学合成したものについて、さらに抗不安活性を検討した。抗不安活性の強いペプチドは、MHであった。

[0055] β ラクトグロブリンのサーモリシン消化物のHPLCのフラクションA～Fを得る方法・条件は図5に示し、抗不安作用の結果は図6に示す。

[0056] フラクションAから単離されたMHは、プロテインシーケンサーと質量分析計（ $M+1=287.1457$ ）により確認した。

[0057] 実施例4

本発明のペプチドMHのインスリン感受性に及ぼす影響について試験した。具体的には、図11に示すインスリン負荷試験を行い、インスリン投与の15分後、30分後、60分後における血糖値を測定した。結果を図12に示す。

[0058] 図12の結果から、本発明のペプチドはインスリン感受性を増強できることが示された。インスリン抵抗性の増大は糖尿病患者の重大な問題であり、本発明のペプチドは、インスリン患者のサプリメント、食品として或いは医薬としても優れている。

[0059] MHペプチドは、マウス腹腔内投与（1 mg/kg）によりインスリンによる血糖低下作用を有意に増強することが判明した。

[0060] また、本発明のペプチドは同時に不安を抑制できるため、ヒト或いはペット（イヌ、ネコなど）、家畜（ウシ、ブタ、ヒツジなど）などのストレスが多く、運動不足でインスリン抵抗性、さらには生活習慣病が問題となっている哺乳動物において、有用である。

[0061] インスリン負荷試験は、肥満・糖尿病モデル動物における長期投与実験で得られる結果とよく一致することが判明しており、本発明ペプチドのエネルギー代謝改善作用が期待できる。

[0062] 実施例 5

脳における神経活動マーカー発現に対するMH投与の影響を検討した。

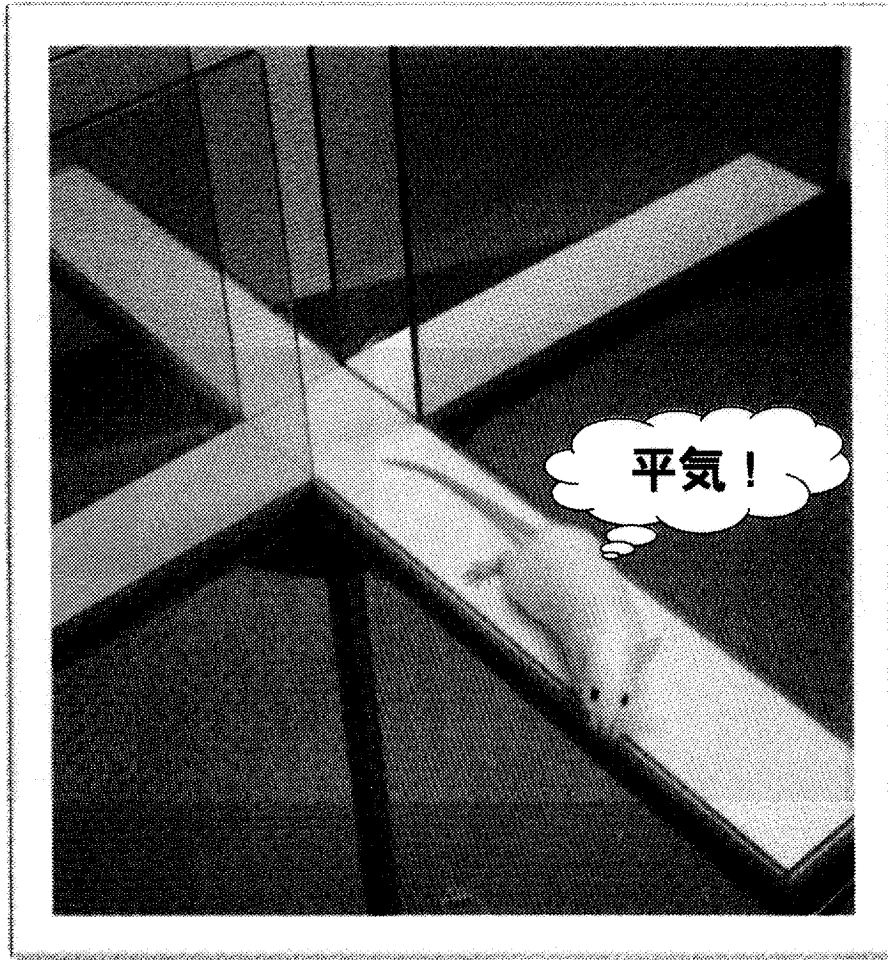
雄性ddYマウスに生理的食塩水およびMH (1 mg/kg)を腹腔内投与し60分後に開腹し、4%パラホルムアルデヒド溶液で灌流固定した。なお、開腹5分前にペントバルビタールを腹腔内投与することにより麻酔を行った。脳サンプルを常温で1日4%パラホルムアルデヒド溶液に浸した後、20%スクロース溶液中(4℃)で2日間脱水した。さらに脳サンプルの凍結切片を抗c-Fos抗体で免疫染色し、海馬におけるc-Fos発現変化を観察した。その結果、生理的食塩水を投与したcontrol群のc-Fos発現細胞数が47であるのに対し、MH投与後は84と上昇した。したがって、海馬における神経活動が上昇していると考えられ、MHは抗不安作用に加え抗うつ作用も期待できる。

請求の範囲

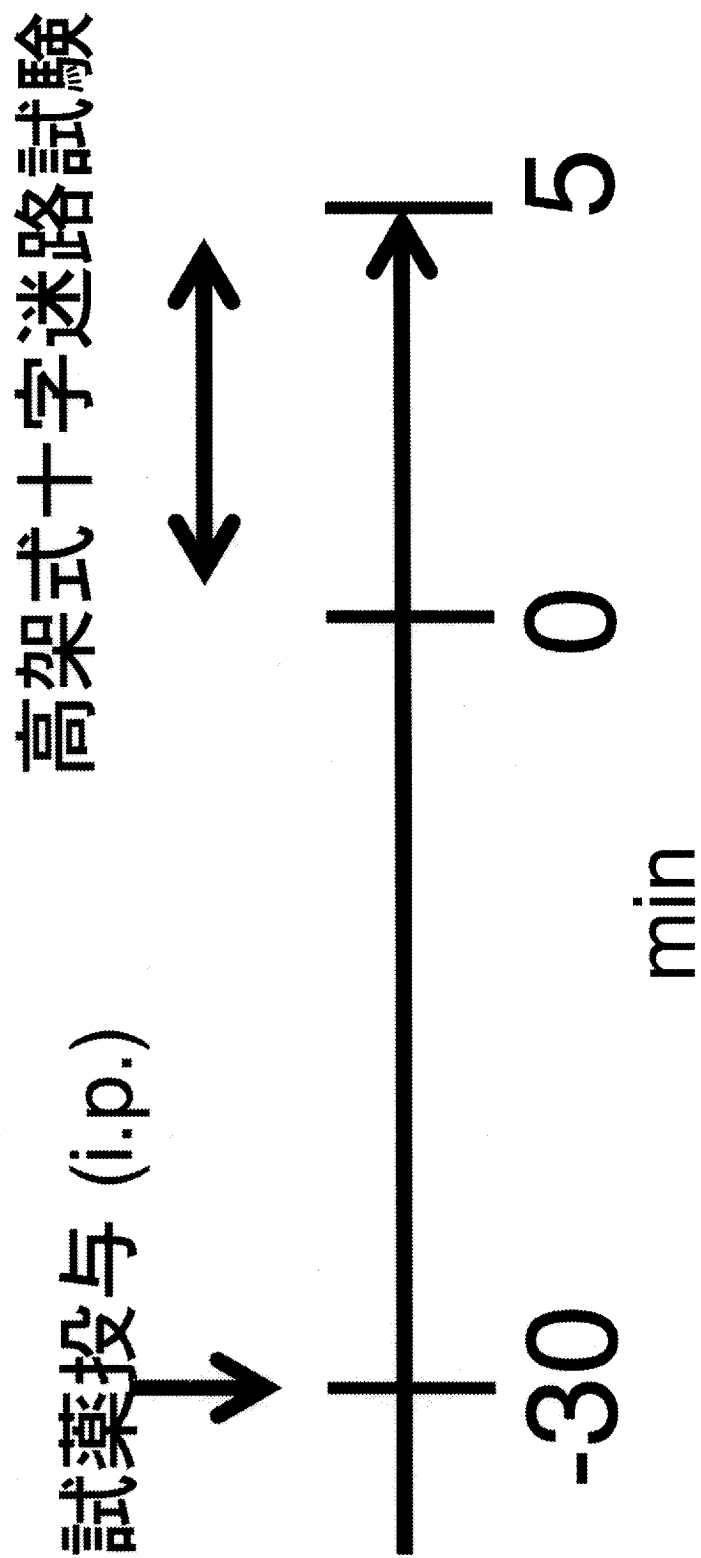
- [請求項1] Met(M)またはそのアナログとHis(H)またはそのアナログを含むジペプチドを有効成分とする医薬ないし医薬組成物。
- [請求項2] Met(M)のアナログがCys(C)である、請求項1に記載の医薬ないし医薬組成物。
- [請求項3] His(H)のアナログがTyr(Y)、Phe(F)またはTrp(W)である、請求項1に記載の医薬ないし医薬組成物。
- [請求項4] 有効成分がMH、MY、MF、MW、HM、YM、FMおよびWMからなる群から選択される、請求項1～3のいずれかに記載の医薬ないし医薬組成物。
- [請求項5] 有効成分がMHで表されるジペプチドである、請求項1～4のいずれかに記載の医薬ないし医薬組成物。
- [請求項6] 生活習慣病治療薬、糖尿病治療薬、糖・脂質代謝改善薬、抗不安剤、睡眠改善剤、統合失調症治療薬または抗うつ薬である、請求項1～5のいずれかに記載の医薬ないし医薬組成物。
- [請求項7] Met(M)またはそのアナログとHis(H)またはそのアナログを含むジペプチドを添加することを特徴とする、生活習慣病改善、抗不安または睡眠改善用食品。
- [請求項8] MH、MY、MF、MW、HM、YM、FMおよびWMからなる群から選択されるジペプチドを添加することを特徴とする、請求項7に記載の食品。
- [請求項9] MHで表されるジペプチドを添加することを特徴とする、請求項7又は8に記載の食品。
- [請求項10] Met(M)またはそのアナログとHis(H)またはそのアナログを含むジペプチドを生活習慣病、糖尿病、不安、睡眠障害、統合失調症またはうつ病の患者又はその予備群に投与する工程を含む、生活習慣病、糖尿病、不安、睡眠障害、統合失調症またはうつ病を予防又は治療する方法。

- [請求項11] 前記ジペプチドがMH、MY、MF、MW、HM、YM、FMおよびWMからなる群から選択される、請求項10に記載の方法。
- [請求項12] 前記ジペプチドがMHである、請求項10又は11に記載の方法。
- [請求項13] 生活習慣病、糖尿病、不安、睡眠障害、統合失調症またはうつ病を予防又は治療するためのMet(M)またはそのアナログとHis(H)またはそのアナログを含むジペプチドの使用。
- [請求項14] 前記ジペプチドがMH、MY、MF、MW、HM、YM、FMおよびWMからなる群から選択される、請求項13に記載の使用。
- [請求項15] 前記ジペプチドがMHである、請求項13又は14に記載の使用。

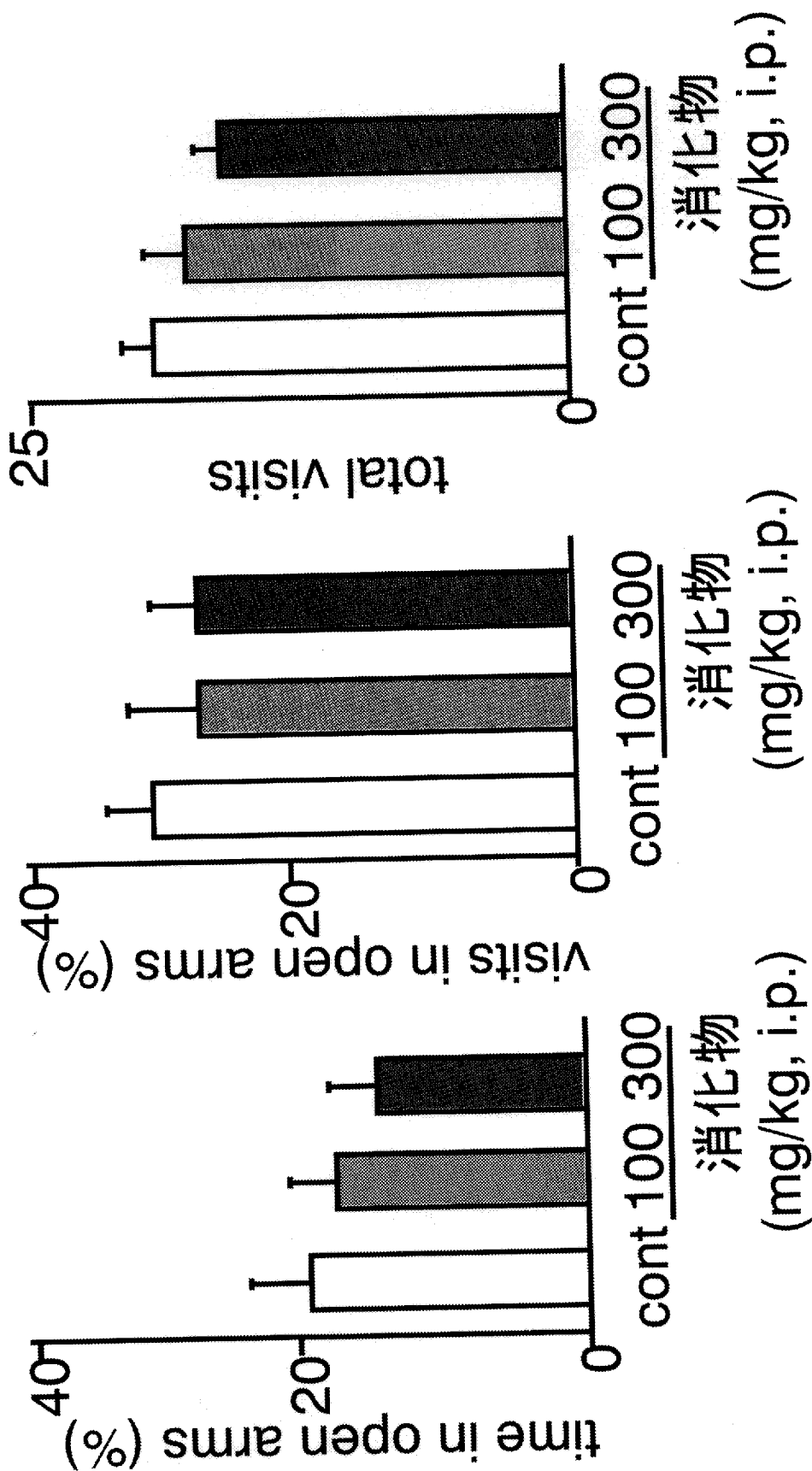
[図1]



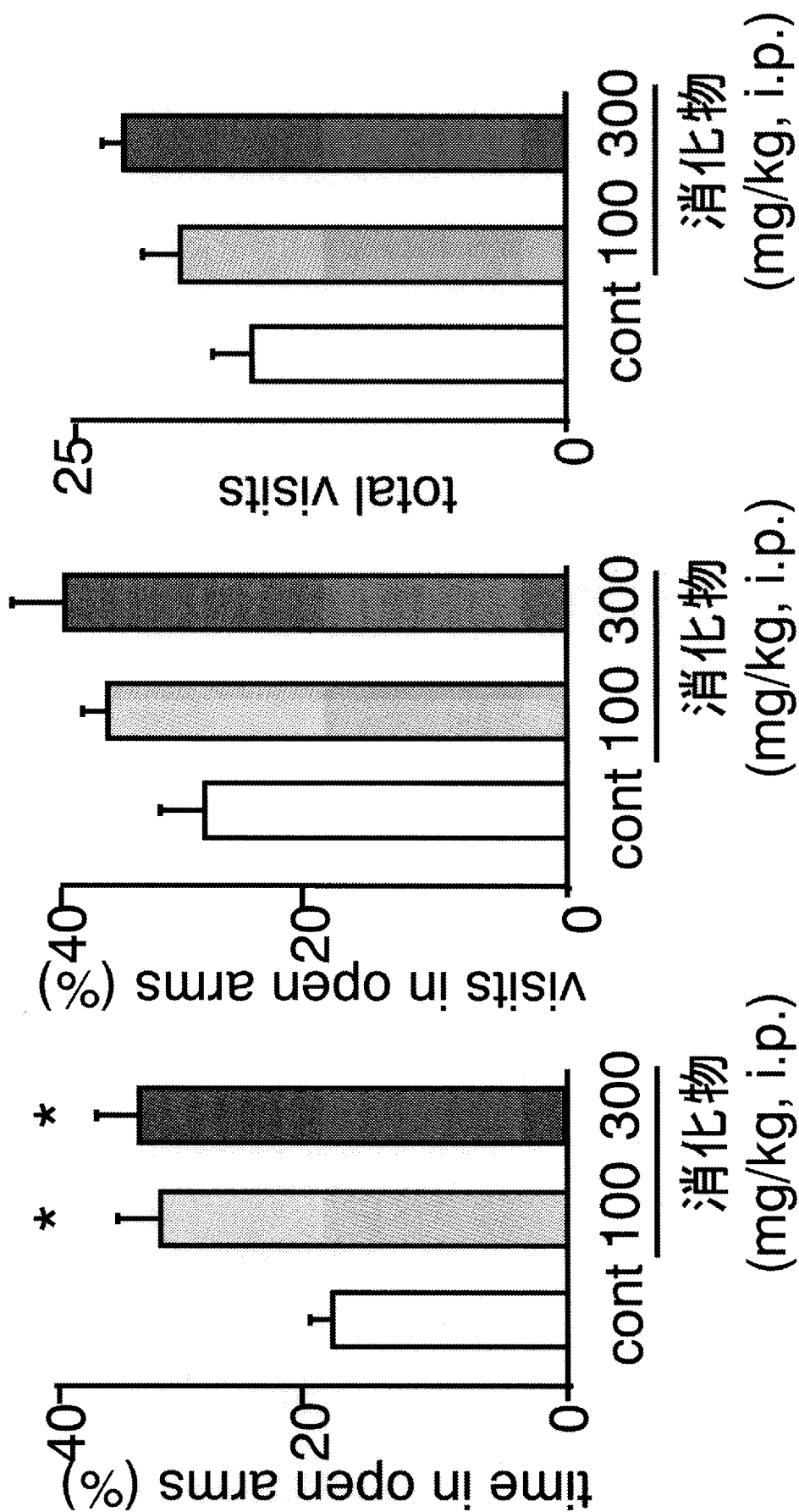
[図2]



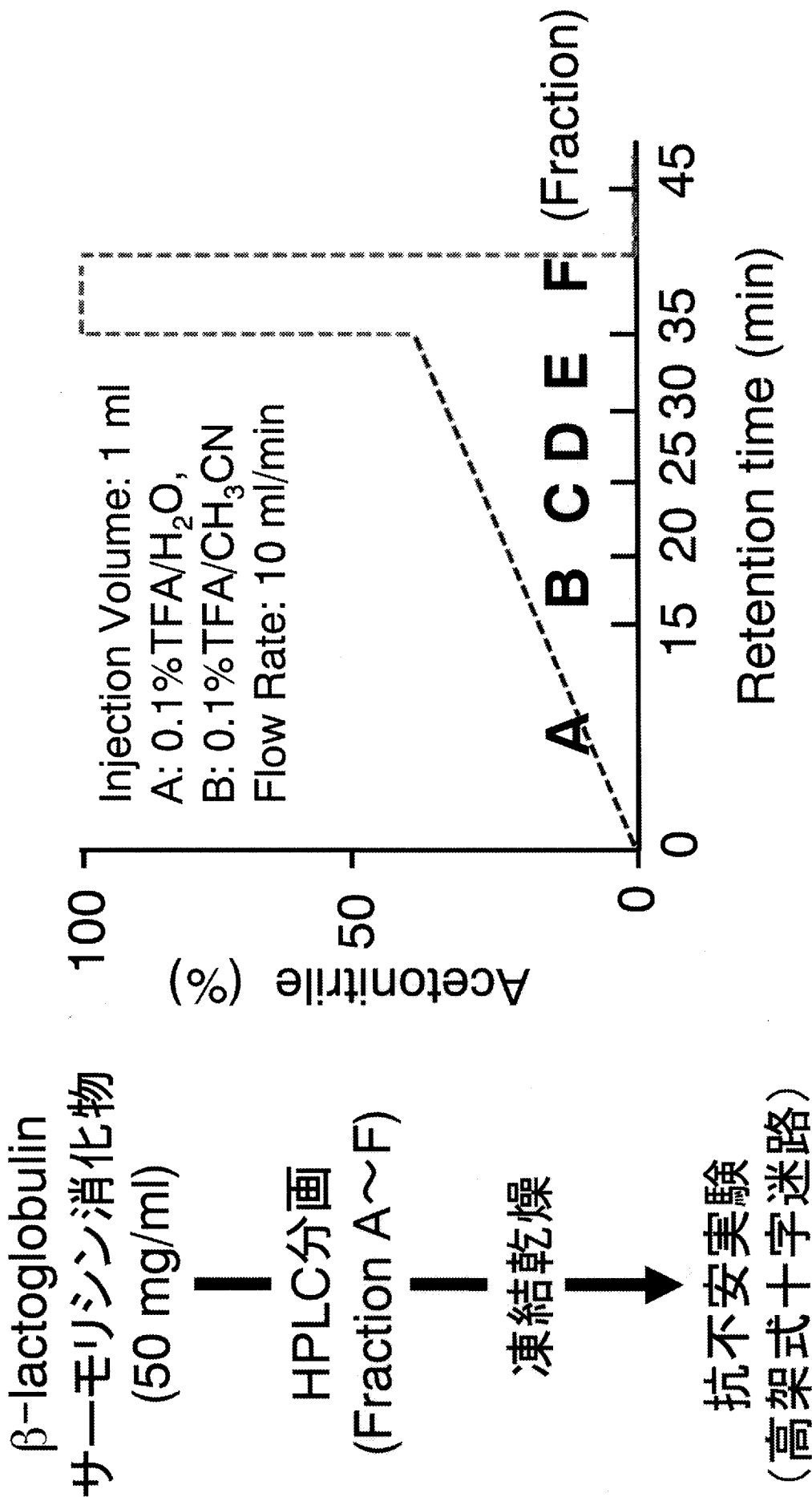
[図3]



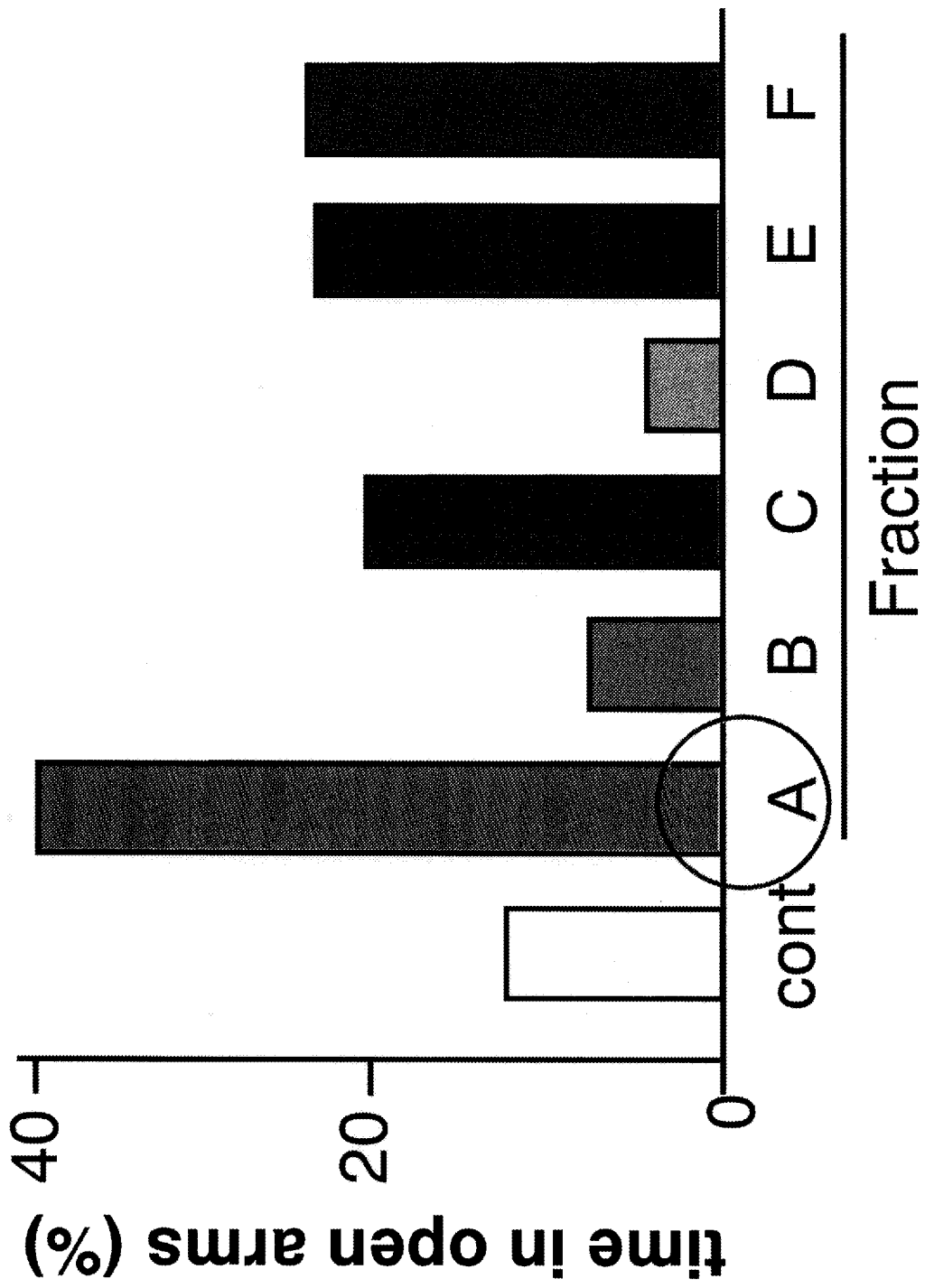
[図4]



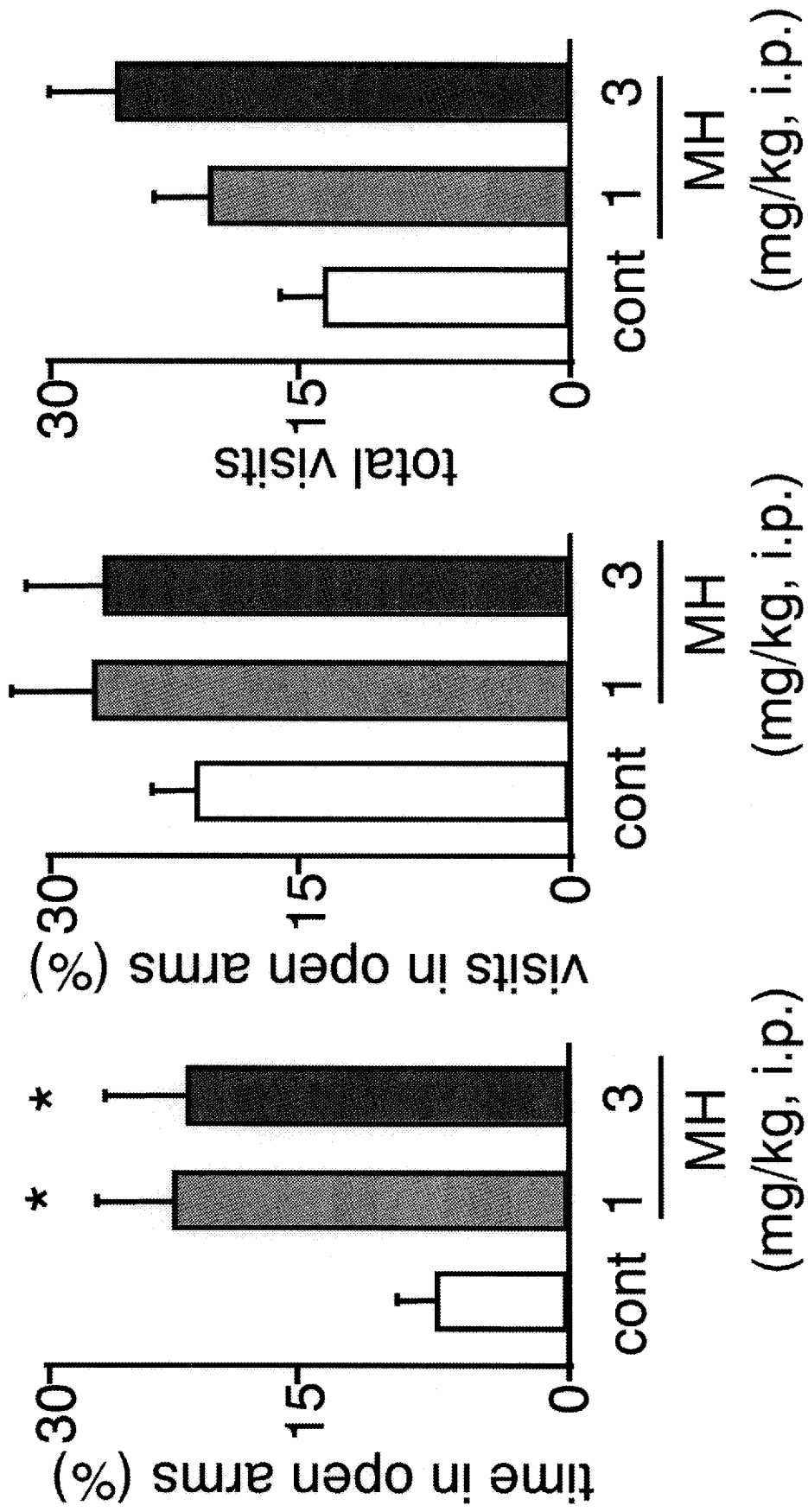
[図5]



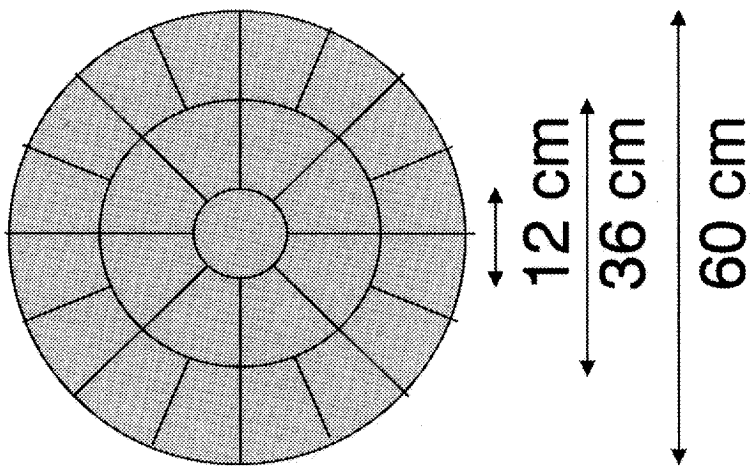
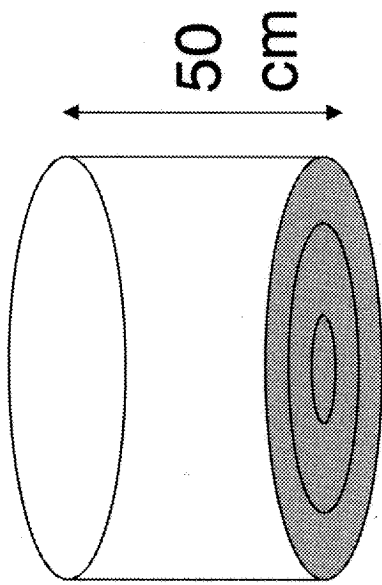
[図6]



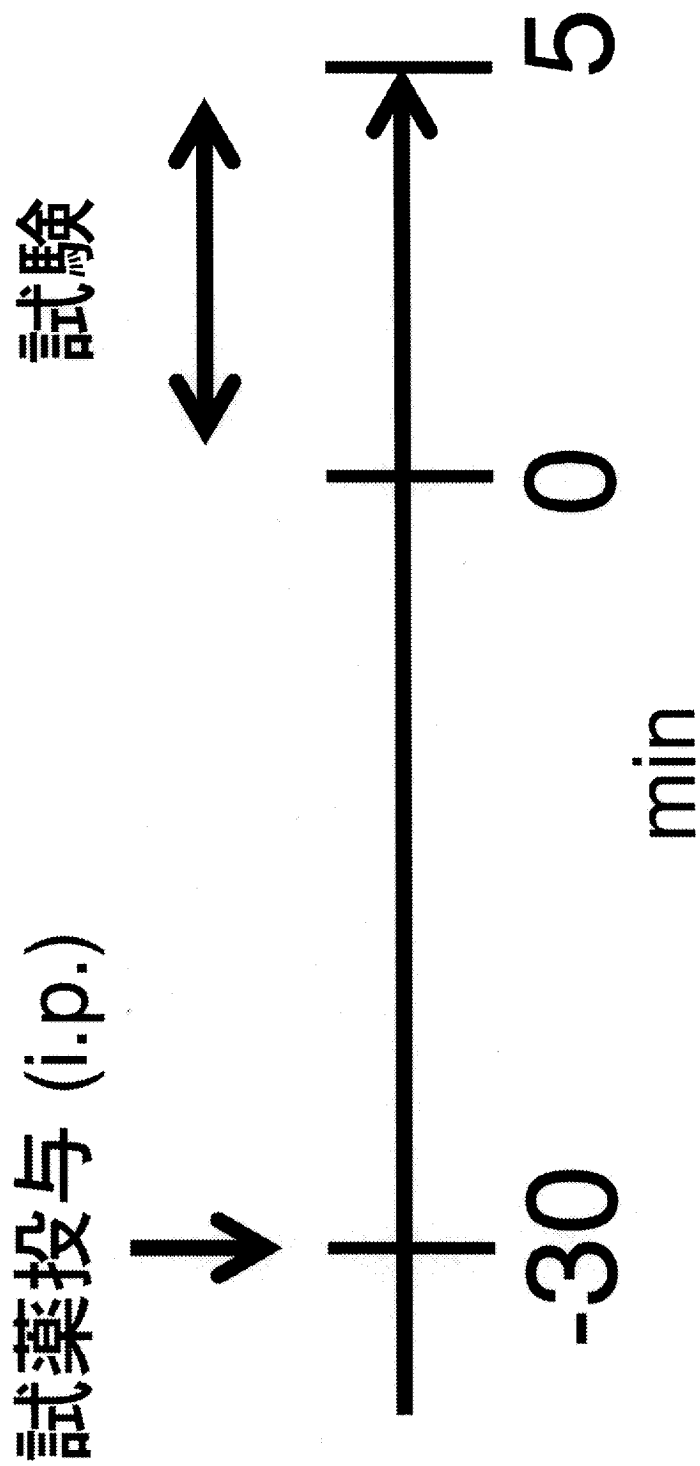
[図7]



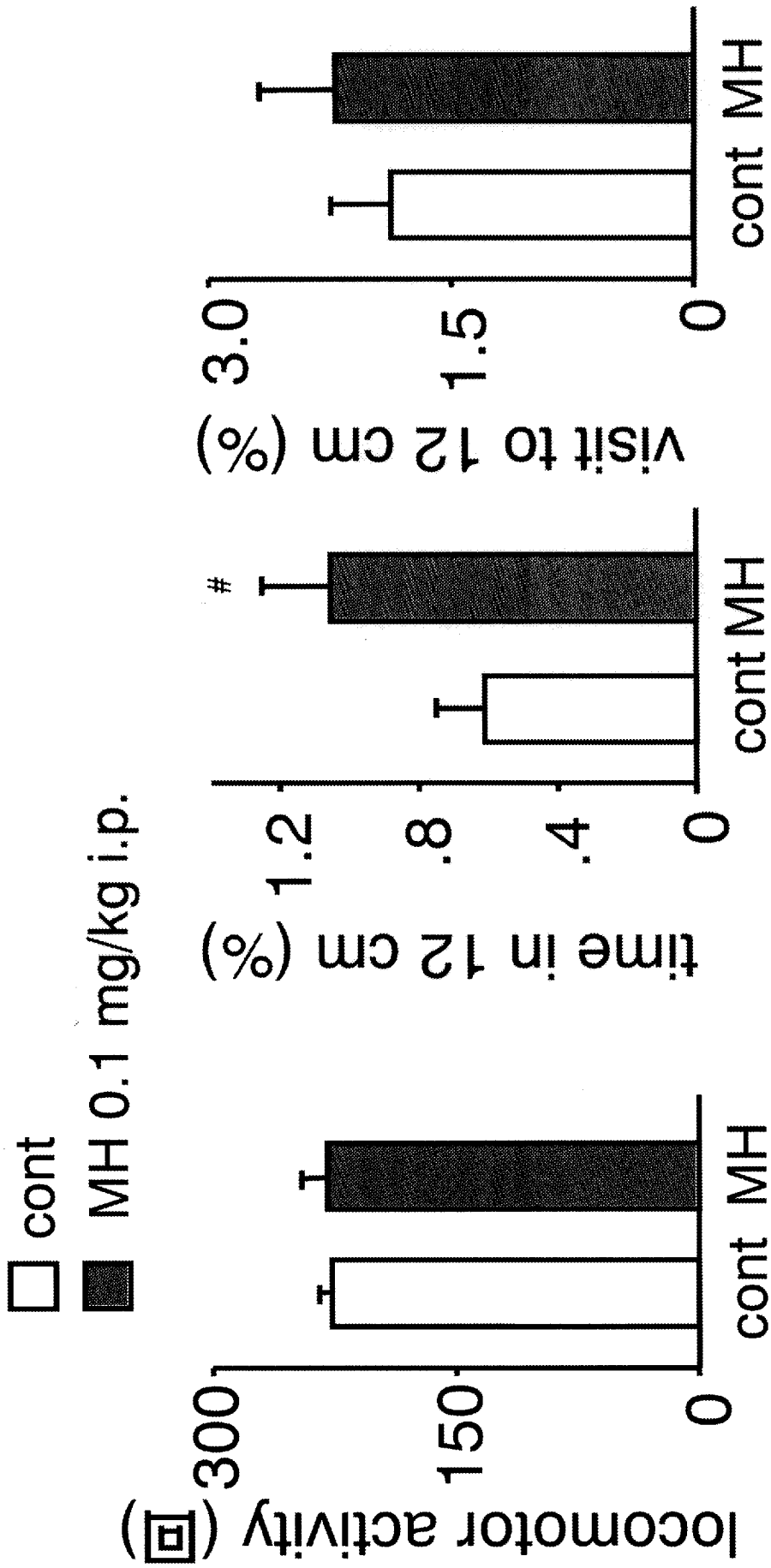
[図8]



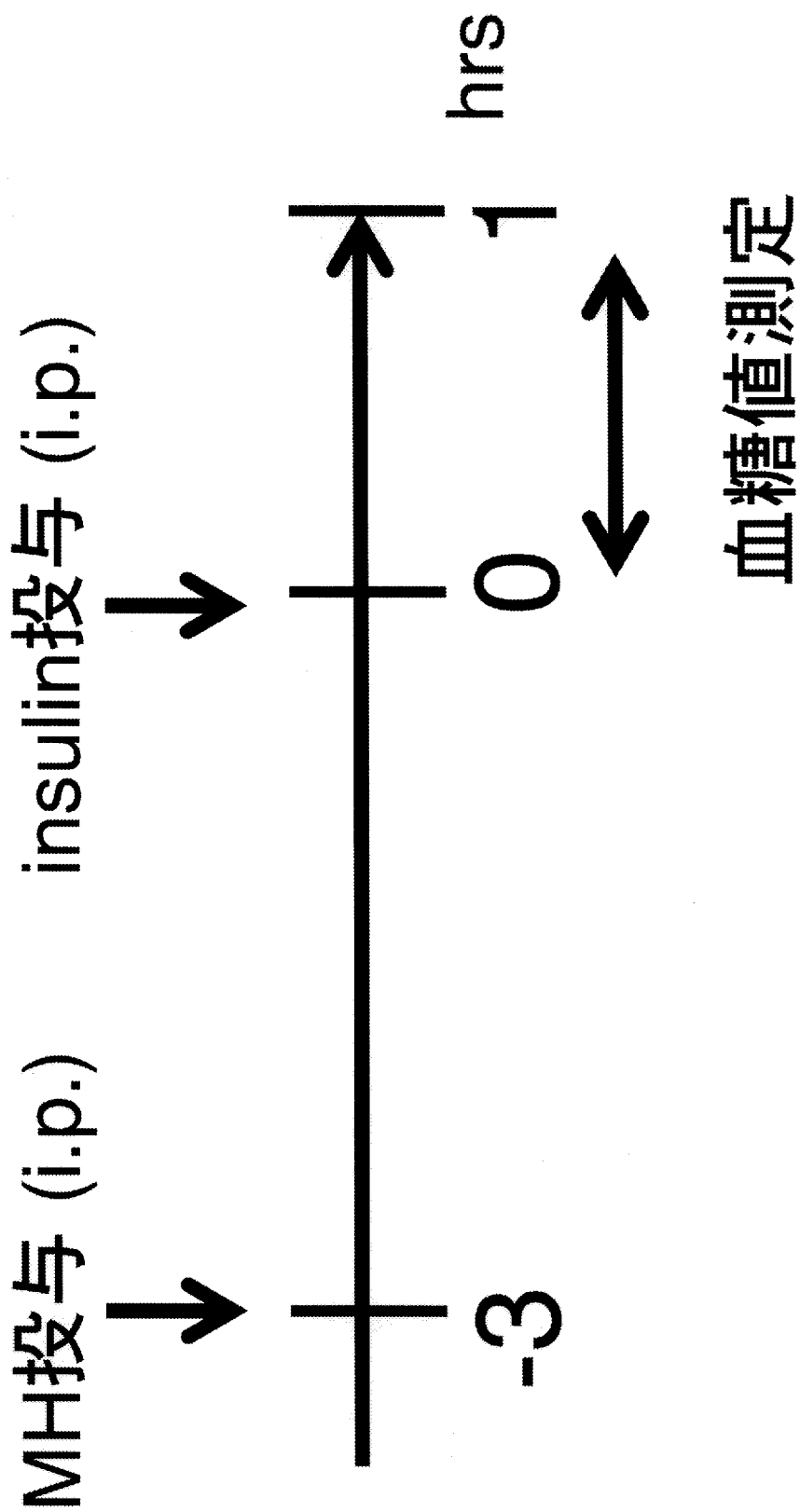
[図9]



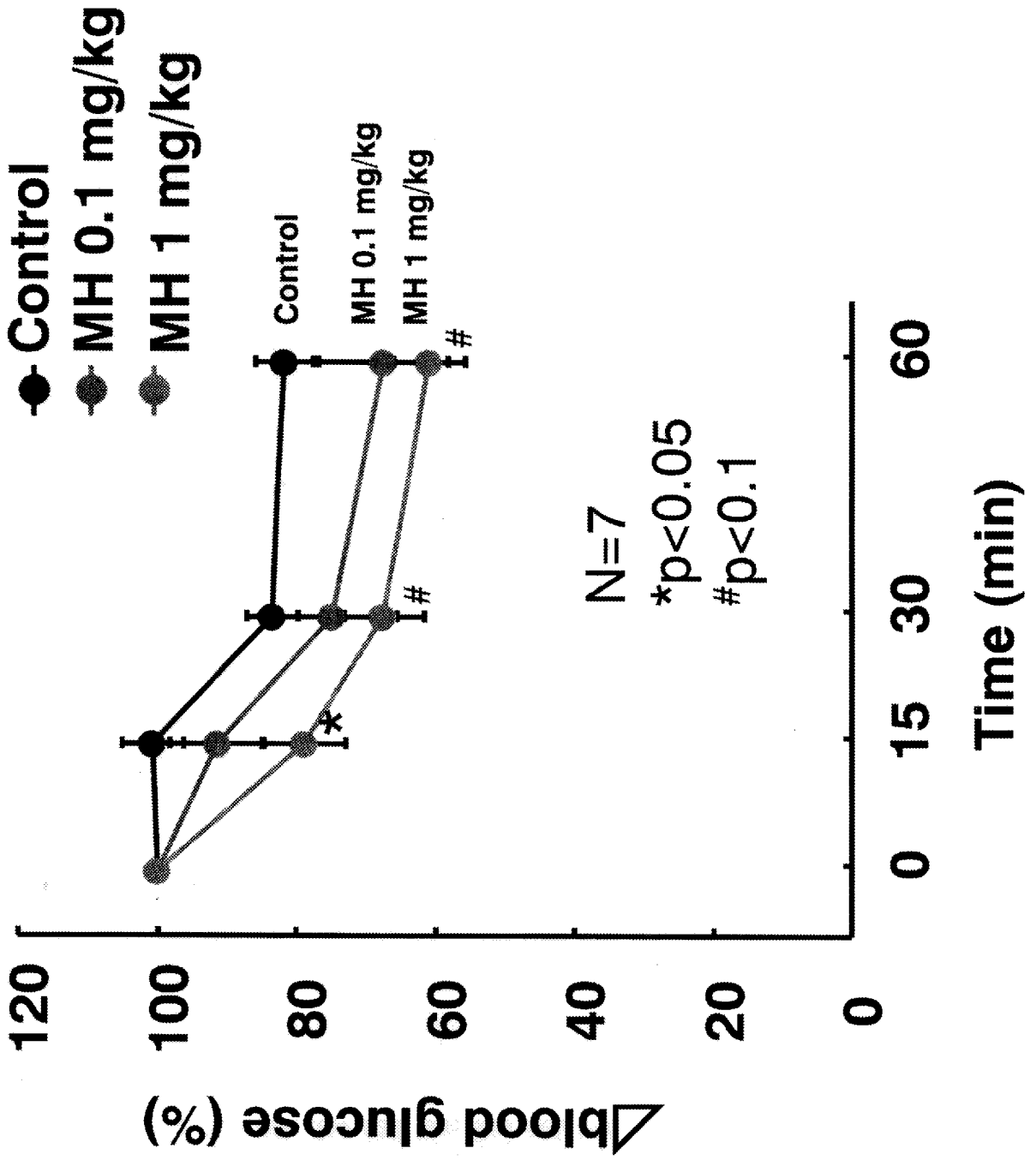
[図10]



[圖11]



[圖12]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2013/054289

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K38/00(2006.01)i, A23L1/305(2006.01)i, A61P3/00(2006.01)i, A61P3/06(2006.01)i, A61P3/10(2006.01)i, A61P25/18(2006.01)i, A61P25/20(2006.01)i, A61P25/22(2006.01)i, A61P25/24(2006.01)i, C07K5/06(2006.01)n

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K38/00, A23L1/305, A61P3/00, A61P3/06, A61P3/10, A61P25/18, A61P25/20, A61P25/22, A61P25/24, C07K5/06

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	1996-2013
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2013	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2013

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CA/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN), JSTPlus/JMEDPlus (JDreamII)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 2161028 A1 (Unilever N.V.), 10 March 2010 (10.03.2010), abstract; claims; pages 11 to 16, supplemental table 2 & DE 602008004345 D & AT 493999 T	1-9
X	EP 2161029 A1 (Unilever N.V.), 10 March 2010 (10.03.2010), abstract; claims; pages 10 to 16, supplemental table 2 (Family: none)	1-9
X	JP 2008-297208 A (Kyowa Hakko Kirin Co., Ltd.), 11 December 2008 (11.12.2008), abstract; claims; paragraphs [0021] to [0032] (Family: none)	1-4, 6-9,

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
09 April, 2013 (09.04.13)

Date of mailing of the international search report
16 April, 2013 (16.04.13)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2013/054289

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	ONO, S. et al, Isolation of peptides with angiotensin I-converting enzyme inhibitory effect derived from hydrolysate of upstream chum salmon muscle, Journal of Food Science, 2003, Vol.68, No.5, p.1611-1614 Abstract	1-4, 6-9
X	WO 2010/114275 A2 (WELSKIN CO., LTD.), 07 October 2010 (07.10.2010), abstract; pages 7 to 10; [51] to [61] & JP 2012-522043 A & KR 10-2010-0108990 A	1-4
X	US 2010/0247707 A1 (EVONIK DEGUSSA GmbH), 30 September 2010 (30.09.2010), abstract; claims; page 5, table 1; page 6, table 2 & JP 2012-521773 A & EP 2413711 A & WO 2010/112365 A1 & DE 102009002044 A & CA 2757163 A & SG 174942 A & MX 2011009755 A & CN 102378580 A	7-9
A	KANEGAWA, N. et al, Dipeptide Tyr-Leu (YL) exhibits anxiolytic-like activity after oral administration via activating serotonin 5-HT _{1A} , dopamine D1 and GABAA receptors in mice, FEBS Letters, 2010, Vol.584, No.3, p.599-604 Abstract	6
A	OJHA, S.K. et al, Effect of buspirone: an anxiolytic drug on blood glucose in humans, Indian Journal of Clinical Biochemistry, 2006, Vol.21, No.2, p.58-62 Abstract	6
A	DEPOORTERE, R. et al, SSR181507, A Dopamine D2 Receptor Antagonist and 5-HT _{1A} Receptor Agonist. II: Behavioral Profile Predictive of an Atypical Antipsychotic Activity, Neuropsychopharmacology, 2003, Vol.28, No.11, p.1889-1902 Abstract	6
P,X	EP 2490021 A1 (Biotempt B.V.), 22 August 2012 (22.08.2012), & WO 2012/112048 A	1-4

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2013/054289

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.: 10-15
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claims 10-15 pertain to method for treatment of the human body or animal body by surgery or therapy and thus relate to a subject matter on which this International Searching Authority is not required to carry out an international search under the provisions of PCT Article 17(2)(a)(i) and PCT Rule 39.1(iv).
2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. A61K38/00(2006.01)i, A23L1/305(2006.01)i, A61P3/00(2006.01)i, A61P3/06(2006.01)i, A61P3/10(2006.01)i, A61P25/18(2006.01)i, A61P25/20(2006.01)i, A61P25/22(2006.01)i, A61P25/24(2006.01)i, C07K5/06(2006.01)n

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. A61K38/00, A23L1/305, A61P3/00, A61P3/06, A61P3/10, A61P25/18, A61P25/20, A61P25/22, A61P25/24, C07K5/06

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2013年
日本国実用新案登録公報	1996-2013年
日本国登録実用新案公報	1994-2013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)

CA/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN), JSTPlus/JMEDPlus (JDreamII)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X	EP 2161028 A1 (Unilever N. V.) 2010.03.10, Abstract; Claims; p.11-16, Supplemental Table 2 & DE 602008004345 D & AT 493999 T	1-9
X	EP 2161029 A1 (Unilever N. V.) 2010.03.10, Abstract; Claims; p.10-16, Supplemental Table 2 (ファミリーなし)	1-9

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、一般的な技術水準を示すもの
 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献
 「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
 「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
 「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
 「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

09.04.2013

国際調査報告の発送日

16.04.2013

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)
 郵便番号100-8915
 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

瀬下 浩一

電話番号 03-3581-1101 内線 3452

4C

9284

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X	JP 2008-297208 A (協和発酵キリン株式会社) 2008.12.11, 【要約】；【特許請求の範囲】；【0021】－【0032】 (ファミリーなし)	1-4, 6-9,
X	ONO,S. et al, Isolation of peptides with angiotensin I-converting enzyme inhibitory effect derived from hydrolysate of upstream chum salmon muscle, Journal of Food Science, 2003, Vol.68, No.5, p.1611-1614 Abstract	1-4, 6-9
X	WO 2010/114275 A2 (WELSKIN CO., LTD.) 2010.10.07, Abstract, p.7-10,[51]-[61] & JP 2012-522043 A & KR 10-2010-0108990 A	1-4
X	US 2010/0247707 A1 (EVONIK DEGUSSA GmbH) 2010.09.30, ABSTRACT; claims; p.5, TABLE 1; p.6, TABLE 2 & JP 2012-521773 A & EP 2413711 A & WO 2010/112365 A1 & DE 102009002044 A & CA 2757163 A & SG 174942 A & MX 2011009755 A & CN 102378580 A	7-9
A	KANEGAWA,N. et al, Dipeptide Tyr-Leu (YL) exhibits anxiolytic-like activity after oral administration via activating serotonin 5-HT _{1A} , dopamine D1 and GABAA receptors in mice, FEBS Letters, 2010, Vol.584, No.3, p.599-604 Abstract	6
A	OJHA,S.K. et al, Effect of buspirone: an anxiolytic drug on blood glucose in humans, Indian Journal of Clinical Biochemistry, 2006, Vol.21, No.2, p.58-62 Abstract	6
A	DEPOORTERE,R. et al, SSR181507, A Dopamine D2 Receptor Antagonist and 5-HT _{1A} Receptor Agonist. II: Behavioral Profile Predictive of an Atypical Antipsychotic Activity, Neuropsychopharmacology, 2003, Vol.28, No.11, p.1889-1902 Abstract	6
P X	EP 2490021 A1 (Biotempt B. V.) 2012.08.22, & WO 2012/112048 A	1-4

第II欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見（第1ページの2の続き）

法第8条第3項（PCT17条(2)(a)）の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. 請求項 10-15 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、請求項10-15は手術又は治療による人体又は動物の体の処置方法に関するものであって、PCT17条(2)(a)(i)及びPCT規則39.1(iv)の規定により、この国際調査機関が国際調査をすることを要しない対象に係るものである。
2. 請求項 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. 請求項 _____ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第III欄 発明の単一性が欠如しているときの意見（第1ページの3の続き）

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるところの国際調査機関は認めた。

1. 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求項について作成した。
2. 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求項について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求項のみについて作成した。
4. 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求項について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- 追加調査手数料及び、該当する場合には、異議申立手数料の納付と共に、出願人から異議申立てがあった。
- 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあったが、異議申立手数料が納付命令書に示した期間内に支払われなかった。
- 追加調査手数料の納付はあったが、異議申立てはなかった。