

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 805 089**

51 Int. Cl.:

C07K 5/062 (2006.01)

A23L 33/17 (2006.01)

A61K 38/06 (2006.01)

A61K 38/55 (2006.01)

A61P 9/12 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **16.06.2017 PCT/JP2017/022340**

87 Fecha y número de publicación internacional: **21.12.2017 WO17217535**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.06.2017 E 17813429 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.06.2020 EP 3473640**

54 Título: **Nuevo tripéptido**

30 Prioridad:

16.06.2016 JP 2016119853

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

10.02.2021

73 Titular/es:

SUNSTAR INC. (100.0%)

3-1, Asahimachi

Takatsuki-shi, Osaka 569-1195, JP

72 Inventor/es:

SHOBAKO, NAOHISA;

OHINATA, KOUSAKU;

OGAWA, YUUTAROU;

KOBAYASHI, ETSUKO;

ISHIKADO, ATSUSHI;

SUIDOU, HIROHISA y

KUSAKARI, TAKASHI

74 Agente/Representante:

CURELL SUÑOL, S.L.P.

ES 2 805 089 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Nuevo tripéptido.

5 **Campo técnico**

La presente invención se refiere a un nuevo tripéptido, y una composición inhibidora de ACE, una composición reductora de la presión sanguínea y similares que comprenden el tripéptido.

10 **Antecedentes de la técnica**

El enzima de conversión de la angiotensina (enzima de conversión de la angiotensina I, asimismo denominado "ACE" en la presente memoria) es un enzima que convierte la angiotensina I en angiotensina II. La angiotensina II presenta la acción de incrementar la presión sanguínea mediante, por ejemplo, la contracción de los vasos sanguíneos. Es conocido que, al inhibir la acción de la ACE, se suprime la producción de angiotensina II, mostrando de esta manera un efecto antihipertensor. De acuerdo con lo anterior, se utilizan sustancias inhibidoras de la ACE, por ejemplo como principios activos de agentes reductores de la presión sanguínea y componentes relacionados con alimentos que resultan adecuados para personas con presión sanguínea elevada.

Debido a que el número de pacientes con hipertensión y las personas con presión sanguínea elevada recientemente se ha estado incrementando, ha crecido la demanda de sustancias que resulten seguras y presenten una excelente actividad inhibidora de la ACE, por lo que se ha llevado a cabo activamente la investigación y el desarrollo de dichas sustancias. Un ejemplo de dicha investigación y desarrollo es la búsqueda de péptidos que presentan actividad inhibidora de la ACE. Por ejemplo, LTP 1 informa de que se han descubierto 3 tripéptidos con acción reductora de la presión sanguínea mediante inhibición de la ACE a partir de un producto de digestión con termolisina del sésamo; LTP 2 informa de que se ha descubierto un péptido con actividad inhibidora de la ACE a partir de un producto de la digestión de proteína derivada del cerdo con pepsina; LTP 3 informa de que se ha descubierto un péptido con actividad inhibidora de la ACE a partir de un producto de digestión enzimática de proteína derivada de pescado; LTP 4 informa de que un péptido con secuencias de fragmentos descompuestos a partir de la angiotensina II presenta actividad inhibidora de la ACE, y LTP 5 informa de un dipéptido con actividad inhibidora de la ACE.

Listado de referencias

35 Literatura de patentes

LTP 1: JP2006-520809A
LTP 2: JP2005-220091A
LTP 3: JPH06-166697A
LTP 4: JPH07-215889A
LTP 5: JP2004-099552A

Sumario de la invención

45 Problema técnico

La presente invención se llevó a cabo considerando las circunstancias actuales de la técnica anterior mencionada anteriormente. Un objetivo de la presente invención es proporcionar un nuevo péptido con actividad inhibidora de la ACE.

50 Solución al problema

Como resultado de un estudio exhaustivo para conseguir el objetivo anteriormente mencionado, en el contexto de la presente invención se ha descubierto que un tripéptido que consiste en Leu-Arg-Ala presenta excelente actividad inhibidora de la ACE. Se ha completado la presente invención tras un estudio adicional basado en dicho resultado.

La presente invención típicamente incluye invenciones descritas en los puntos siguientes.

Punto 1. Un tripéptido que consiste en Leu-Arg-Ala.

Punto 2. Una composición inhibidora de la ACE que comprende un tripéptido que consiste en Leu-Arg-Ala.

Punto 3. Una composición reductora de la presión sanguínea que comprende un tripéptido que consiste en Leu-Arg-Ala.

Punto 4. La composición según el punto 2 o 3, que es una composición alimenticia o una composición farmacéutica.

Punto 5. La composición según cualquiera de los puntos 2 a 4, que es una composición oral.

Punto 6. La composición según cualquiera de los puntos 2 a 5, que se utiliza para que el tripéptido que consiste en Leu-Arg-Ala se administra en una cantidad de 10 a 300 µg por un adulto al día.

Punto 7. La composición según cualquiera de los puntos 2 a 6, que se utiliza para que la composición se administre durante 9 a 12 semanas o más.

Punto A-1. Un método para inhibir la ACE o reducir la presión sanguínea, comprendiendo el método la administración de un tripéptido que consiste en Leu-Arg-Ala, o una composición que comprende el polipéptido y un portador farmacéutica o higiénicamente aceptable, en un sujeto.

Punto B-1. Un tripéptido que consiste en Leu-Arg-Ala, o una composición que comprende el polipéptido y un portador farmacéutica o higiénicamente aceptable, para la utilización en la supresión de la hipertensión.

Punto C-1. Utilización de un tripéptido que consiste en Leu-Arg-Ala en la producción de medicinas o alimento para suprimir la hipertensión.

Efectos ventajosos de la invención

Debido a que el tripéptido que consiste en Leu-Arg-Ala de la presente invención presenta una excelente actividad inhibidora de la ACE y un efecto de reducción de la presión sanguínea, la ingesta o administración del tripéptido que consiste en Leu-Arg-Ala resulta en un efecto inhibidor de la ACE y un efecto de reducción de la presión sanguínea.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 es un gráfico que representa los resultados de actividad inhibidora de la ACE (valor de IC₅₀) medidos en el ejemplo 1.

La figura 2 es un gráfico que representa los resultados de un ensayo para examinar la acción de reducción de la presión sanguínea llevados a cabo en el ejemplo 2. En la figura 2, "Control" representa los resultados de un grupo de control y "LRA 0.25 mg/kg" representa los resultados de un grupo de administración de péptido LRA. Un asterisco ("**") indica que se produjo una diferencia significativa ($p < 0.05$) respecto al grupo de control.

La figura 3 representa los resultados de un ensayo clínico humano que examina el efecto de reducción de la presión sanguínea del péptido LRA mediante ensayo aleatorizado de doble ciego controlado con placebo. Un asterisco ("**") indica que se produjo una diferencia significativa ($p < 0.05$, prueba t) en comparación con el grupo de placebo.

Descripción de las formas de realización

La presente invención se describe en detalle a continuación. En la presente memoria, la composición inhibidora de la ACE y la composición reductora de la presión sanguínea de la presente invención asimismo se denominan genéricamente "la composición de la presente invención".

La presente invención incluye un tripéptido que consiste en una secuencia de aminoácidos: Leu-Arg-Ala (asimismo denominada "péptido LRA" en la presente memoria).

El péptido LRA puede prepararse mediante síntesis química mediante la utilización de un método de síntesis peptídica conocido. Entre los ejemplos de métodos de síntesis peptídica se incluyen los métodos de azida, los métodos de cloruro ácido, los métodos de anhídrido de ácido, los métodos de anhídrido de ácido mixto, los métodos de DDC, los métodos de éster activo, los métodos de carboimidazol, los métodos de oxidación-reducción y otros métodos de síntesis peptídica. Estos métodos de síntesis peptídica pueden llevarse a cabo mediante un método de síntesis en fase sólida o un método de síntesis en fase líquida.

En los métodos de síntesis peptídica anteriormente indicados, grupos amino, grupos carboxi y/o grupos funcionales de cadena lateral (por ejemplo, los grupos guanidino de la arginina (Arg)) preferentemente se protegen con grupos protectores. Los grupos protectores no se encuentran limitados y pueden utilizarse grupos protectores conocidos. Entre los ejemplos se incluyen un grupo benciloxicarbonilo (Cbz), un grupo terc-butoxicarbonilo (Boc), un grupo fluorenil-metoxicarbonilo (Fmoc), un grupo bencilo (Bz), un grupo p-toluenosulfonilo (p-Ts) y similares.

Además, el péptido LRA utilizado en la presente memoria puede ser uno obtenido mediante la síntesis de un péptido LRA mediante el método de síntesis peptídica anteriormente indicado, opcionalmente seguido de la purificación mediante un método conocido.

El péptido LRA presenta actividad inhibidora de la ACE y acción reductora de la presión sanguínea, y de esta manera puede utilizarse como una composición inhibidora de la actividad de la ACE, una composición reductora de la presión sanguínea, una composición inhibidora de la elevación de la presión sanguínea, una composición antihipertensora, o similar. Además, la composición de la presente invención puede utilizarse preferentemente como composición oral, tal como una composición farmacéutica o una composición alimenticia.

En la presente memoria, la composición alimenticia incluye no únicamente composiciones alimenticias, sino asimismo composiciones que se administran ampliamente como alimento o bebida, tales como sustitutos salinos, edulcorantes, aditivos para bebidas y otras composiciones de aditivo alimenticio, y productos alimenticios premezclados para la utilización comercial o doméstica, y otras composiciones de material alimenticio. En particular, en el caso de que se utilice la composición de la presente invención como composición alimenticia, puede utilizarse preferentemente como una composición alimenticia en la que la presentación del producto muestra claramente su acción, efecto, etc., sobre la presión sanguínea. Entre los ejemplos específicos se incluyen composiciones alimenticias en las que la presentación del producto muestra claramente su acción y efectos, tales como la prevención de la hipertensión, la supresión de la elevación de la presión sanguínea y la reducción de la presión sanguínea, y entre ellos se incluyen composiciones alimenticias en las que la presentación del producto muestra claramente que están destinados a personas con presión sanguínea elevada; personas preocupadas por su presión sanguínea, etc.

En el caso de que la composición de la presente invención se utilice como composición farmacéutica, puede contener otros componentes, en caso necesario, además del péptido LRA. Los otros componentes no se encuentran limitados y pueden seleccionarse convenientemente según el propósito. Entre los ejemplos se incluyen bases, portadores y/o aditivos farmacéuticamente aceptables (por ejemplo, solventes, dispersantes, emulsionantes, tampones, estabilizadores, excipientes, aglutinantes, disgregantes y lubricantes). Las cantidades de los demás componentes puede determinarse convenientemente según el propósito.

En el caso de que la composición de la presente invención se utilice como composición farmacéutica, la vía de administración de la misma no se encuentra limitada. Entre los ejemplos se incluyen la administración oral, la inyección intravenosa y similares. De ellos, la administración oral resulta preferida.

En el caso de que la composición de la presente invención se utilice como composición farmacéutica, la forma de administración de la misma no se encuentra limitada. Entre los ejemplos se incluyen comprimidos, tales como comprimidos de disgregación oral, comprimidos masticables, comprimidos espumantes, comprimidos dispersables y comprimidos solubles; trociscos, polvos, suspensiones, emulsiones, elixires, gaseosas, jarabes, lociones, gránulos, cápsulas, tales como cápsulas duras y cápsulas blandas, cremas, pomadas, supositorios, agentes de administración transdérmica/mucosa, tales como cataplasmas, cintas, microagujas, yontoforesis y electroporación; aerosoles y similares. Estas formas pueden prepararse mediante la combinación del péptido LRA y los demás componentes mencionados anteriormente, en caso necesario, utilizando un método general.

En el caso de que la composición de la presente invención se utilice como composición farmacéutica o cuasifármaco, la cantidad del péptido LRA en la composición farmacéutica no se encuentra limitada, con la condición de que sea una cantidad que permita que el péptido LRA muestre su actividad inhibidora de la ACE y acción reductora de la presión sanguínea. La cantidad del péptido LRA puede determinarse convenientemente.

Además, en el caso de que la composición de la presente invención se utilice como una composición farmacéutica, la dosis, intervalo de administración, sujeto de administración, etc., no se encuentran limitados, y podrán determinarse convenientemente. Por ejemplo, la dosis puede determinarse convenientemente según la edad, sexo y peso corporal del sujeto de administración, el estado de salud del sujeto y otras condiciones. Además, el intervalo de administración puede ser, por ejemplo, de una o varias veces (preferentemente 2 o 3 veces) al día, o de una o varias veces cada varios días a varias semanas. El sujeto de administración puede ser un ser humano o un mamífero no humano, tal como animales de compañía o ganado.

En particular, en el caso de que el sujeto administrado sea un ser humano, la cantidad del péptido LRA administrada (ingerida) en el adulto al día es, por ejemplo, preferentemente de aproximadamente 10 a 300 µg, más preferentemente de aproximadamente 15 a 200 µg, todavía más preferentemente de aproximadamente 20 a 100 µg, todavía más preferentemente de aproximadamente 30 a 80 µg, aún todavía más preferentemente de aproximadamente 35 a 70 µg, y particularmente preferentemente de aproximadamente 40 a 60 µg.

Además, el periodo de administración (ingesta) no se encuentra limitado, aunque preferentemente es de 3 a 12 semanas o más largo (3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 o 12 semanas o más largo), y más preferentemente de 9 a 12 semanas o más tiempo. En particular, en el caso de que la cantidad de péptido LRA administrada al día sea de aproximadamente 30 a 80 µg, el periodo de administración es preferentemente de 5 a 12 semanas o más tiempo. En el caso de que la cantidad de péptido LRA administrada al día sea de 10 µg o más e inferior a 30 µg, o superior a 80 µg y de 300 µg o inferior, el periodo de administración es preferentemente de 9 a 12 semanas o más tiempo.

En el caso de que el sujeto de administración sea un mamífero no humano, la vía de administración, forma de administración, dosis, intervalo de administración, etc., podrán determinarse convenientemente en referencia a un caso en el que el sujeto de administración es un ser humano.

En el caso de que la composición de la presente invención se utilice como una composición alimenticia, puede contener otros componentes, en caso necesario, además del péptido LRA. Los otros componentes no se encuentran limitados y pueden seleccionarse convenientemente según el propósito. Entre los ejemplos se incluyen bases higiénicamente aceptables, portadores y aditivos, así como componentes, materiales, etc., que podrán utilizarse como alimento.

En el caso de que la composición de la presente invención se utilice como composición alimenticia, la vía de ingesta es la ingestión oral. En este caso, la formación de la composición de la presente invención no se encuentra limitada, y la composición de la presente invención puede utilizarse como alimento general, alimento con declaraciones de salud nutricional y alimento para usos nutricionales especiales. Entre los ejemplos se incluye alimento para uso saludable específico, alimento con declaraciones de función nutricional, alimento de exposición funcional, alimento para personas enfermas, alimento para personas con disfagia, complementos dietéticos, complementos nutricionales, alimentos hospitalarios, alimentos saludables, alimentos procesados, bebidas y similares. Los anteriores pueden prepararse mediante métodos generales. Entre los ejemplos de la forma de administración de las composiciones alimenticias se incluyen cápsulas duras, cápsulas blandas, complementos, comprimidos masticables, bebidas, bebidas en polvo, gránulos, películas y otras formas. Además, para la utilización como alimento y bebida, entre los ejemplos se incluyen bebidas tales como bebidas de té, bebidas deportivas, bebidas cosméticas, bebidas de zumos de frutas, bebidas carbonatadas, licores, bebidas no alcohólicas, bebidas de gelatina y bebidas concentradas diluidas con agua, agua caliente, agua carbonatada, etc.; polvos y gránulos que se beben después de disolverse o suspenderse en agua, agua caliente, etc.; formas sólidas secas, tales como comprimidos; productos de confitería, tales como confitería de comprimidos, gelatinas, refrigerios, productos horneados, tortas fritas, pasteles, chocolate, goma, dulces y gominolas; sopa, fideos, arroz, cereales y otras formas alimenticias. Entre ellas, entre las formas preferidas para la vida cotidiana se incluyen complementos, comprimidos masticables, chupitos, etc., y formas preferidas para la ingesta con fines de potenciar los efectos del ejercicio, entre los que se incluyen bebidas, tales como bebidas deportivas. En particular, en el caso de que la composición de la presente invención se utilice como alimento con declaraciones de producto saludable, complemento de salud, complemento nutricional, etc., entre los ejemplos de formas preferentes, a fin de facilitar la ingesta continua, se incluyen gránulos, cápsulas, comprimidos y píldoras (incluyendo agentes masticables, etc.), bebidas (incluyendo bebidas en polvo, bebidas saludables, etc.), gelatinas y similares.

Además, en el caso de que la composición de la presente invención se utilice como composición de aditivo alimenticio o como composición de material alimenticio, la forma de la misma no se encuentra limitada. Entre los ejemplos se incluyen líquidos, polvos, escamas, gránulos y pastas. Entre los ejemplos específicos se incluyen condimentos (edulcorantes, composiciones de sustitución de la sal, salsa de soja, vinagre, miso, salsa, ketchup, aderezos, especias, hierbas, etc.), escamas (furikake (aderezo para arroz), aditivos para arroz, etc.), salsa de barbacoa, pasta roux (por ejemplo, pasta roux de curri), productos alimenticios premezclados, y similares.

En el caso de que la composición de la presente invención se utilice como una composición alimenticia, la cantidad del péptido LRA en la composición alimenticia no se encuentra limitada, con la condición de que sea una cantidad que permita que el péptido LRA muestre su actividad inhibidora de la ACE, acción reductora de la presión sanguínea y acción inhibidora de la elevación de la presión sanguínea. La cantidad del péptido LRA puede determinarse convenientemente.

Además, en el caso de que la composición de la presente invención se utilice como composición alimenticia, la cantidad ingerida, intervalo de ingesta, sujeto de la ingesta, etc., no se encuentran limitados, y pueden determinarse convenientemente. Por ejemplo, la cantidad de ingesta puede determinarse convenientemente según la edad, el sexo y el peso corporal del sujeto de la ingesta, el estado de salud del sujeto y otras condiciones. Por ejemplo, en el caso de que se ingiera la cantidad anteriormente indicada, el intervalo de ingesta puede ser de una a varias veces (preferentemente de 2 o 3 veces) al día, o de una o varias veces a varios días a varias semanas. Además, el sujeto de la ingesta puede ser un ser humano o un mamífero no humano, tal como animales de compañía o ganado.

En particular, en el caso de que el sujeto de la ingesta sea un ser humano, la cantidad de péptido LRA ingerido por un adulto al día es preferentemente de aproximadamente 10 a 300 µg, más preferentemente de aproximadamente 15 a 200 µg, todavía más preferentemente de aproximadamente 20 a 100 µg, todavía más preferentemente de aproximadamente 30 a 80 µg, aún todavía más preferentemente de aproximadamente 35 a 70 µg, y particularmente preferentemente de aproximadamente 40 a 60 µg.

El periodo de ingesta no se encuentra limitada, aunque es preferentemente de 3 a 12 semanas o más (3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 o 12 semanas o más) y más preferentemente de 9 a 12 semanas o más. En particular, en el caso de que la cantidad de péptido LRA ingerida al día sea de aproximadamente 30 a 80 µg, el periodo de ingesta es preferentemente de 5 a 12 semanas o más. En el caso de que la cantidad de péptido LRA ingerida al día sea de

10 μg o más e inferior a 30 μg , o superior a 80 μg y de 300 μg o inferior, el periodo de ingesta es preferentemente de 9 a 12 semanas o más.

Las personas cualificadas como sujetos de la ingesta no se encuentran limitadas. Son sujetos preferidos las personas que desean prevenir una presión sanguínea elevada asociada al envejecimiento y las personas que necesitan prevenir la presión sanguínea elevada o reducir la presión sanguínea. Específicamente, los sujetos preferidos son no únicamente personas clasificadas como hipertensas (presión sanguínea sistólica de 140 mmHg o superior y/o presión sanguínea diastólica de 90 mmHg o superior) según las directrices para el tratamiento de la hipertensión de 2014 publicadas por la Japanese Society of Hypertension, aunque asimismo personas clasificadas como personas con presión sanguínea normal (presión sanguínea sistólica de 120 a 129 mmHg y/o presión sanguínea diastólica de 80 a 84 mmHg) o presión sanguínea elevada-normal (presión sanguínea sistólica de 130 a 139 mmHg y/o presión sanguínea diastólica de 85 a 89 mmHg), pero en las que se ha descubierto que presentan una elevada probabilidad de desarrollar hipertensión durante su vida. Entre ellas, las personas clasificadas como personas con presión sanguínea normal-elevada o hipertensas resultan más preferidas, y las personas clasificadas como personas con presión sanguínea normal-elevada resultan todavía más preferidas.

En el caso de que el sujeto de la ingesta sea un mamífero no humano, la forma, cantidad de ingesta, intervalo de ingesta, etc., pueden determinarse convenientemente en referencia a un caso en el que el sujeto de ingesta es un ser humano.

Ejemplos

La presente invención se describe con mayor detalle a continuación haciendo referencia a los ejemplos; sin embargo, la presente invención no se encuentra limitada a los ejemplos a continuación.

Ejemplo de producción 1: síntesis de tripéptido mediante el método de Fmoc

Un tripéptido que consistía en Leu-Arg-Ala se sintetizó en fase sólida mediante el método de Fmoc. Tras purificar mediante HPLC el péptido LRA obtenido, se analizó la secuencia con un secuenciador de proteínas. Como resultado, se confirmó que dicho tripéptido era un tripéptido que consistía en Leu-Arg-Ala.

Ejemplo de producción 2: síntesis de tripéptido mediante el método de Boc

Se solicitó la síntesis de un tripéptido que consistía en Leu-Arg-Ala mediante el método de Boc al Peptide Institute, Inc. La RP-HPLC, análisis másico y análisis de aminoácidos confirmaron que el péptido LRA suministrado era un tripéptido que consistía en Leu-Arg-Ala.

Ejemplo 1: medición de la actividad inhibidora de la ACE

Se añadió agua ultrapura al péptido LRA sintetizado en el ejemplo de producción 1 para preparar una solución acuosa 300 μM . A continuación, se prepararon soluciones acuosas de 300 μM , 150 μM , 75 μM y 30 μM mediante dilución gradual. Se utilizaron dichas soluciones acuosas a modo de muestras.

Se midió la actividad inhibidora de la ACE de cada muestra utilizando un kit de medición de la actividad inhibidora de la ACE (nombre comercial: ACE Kit-WST, producido por Dojindo Laboratories). El kit se utilizó para detectar el ácido 3-hidroxibutírico cortado a partir de 3-hidroxibutiril-Gly-Gly-Gly (3HG-GGG) mediante un método enzimático. La operación se llevó a cabo según el manual de instrucciones del kit y se midió la actividad inhibidora de la ACE de cada muestra (N=3). En el kit, la concentración final del péptido LRA en cada muestra cayó a 1/3. La figura 1 muestra los resultados. Además, el valor de IC_{50} del péptido LRA calculado a partir de los resultados de medición era de 62 μM .

Los resultados anteriores demuestran que el péptido LRA presentaba una excelente actividad inhibidora de la ACE.

Ejemplo 2: examen de la acción reductora de la presión sanguínea

Se utilizaron ratas espontáneamente hipertensas macho (SHR/lzm, 12 semanas de edad) como animales experimentales. El pienso utilizado fue pienso SP sólido (Funabashi Farm) y el agua de bebida utilizada fue agua corriente. La ingesta de alimentos y el agua de bebida se proporcionaron sin restricciones, asimismo durante el ensayo. Se utilizaron las ratas para el ensayo principal después de un periodo de habituación de tres semanas. Las ratas se dividieron en dos grupos: un grupo de administración del péptido LRA y un grupo de control (cada grupo: N=5).

El péptido LRA sintetizado en el ejemplo de producción 2 se disolvió en solución salina fisiológica para preparar una solución de péptido 0,25 mg/ml. En el grupo de administración de péptido LRA, se administraron forzosamente por vía oral 0,25 mg/kg de la solución de péptido en el estómago mediante la utilización de una jeringa de 1 ml de volumen y una sonda gástrica de Teflon (marca comercial registrada). En el grupo de control, se administró

forzadamente por vía oral solución salina fisiológica de la misma manera que en el grupo de administración de muestra. Se midió la presión sanguínea sistólica mediante el método de manguito en la cola antes de la administración y 2 y 4 horas después de la administración. En la medición de la presión sanguínea se utilizó un monitor de la presión sanguínea (MK-2000ST, producido por Muromachi Kikai Co., Ltd.). El grado de reducción de la presión sanguínea sistólica 2 horas y 4 horas después de la administración se comparó con la presión sanguínea sistólica antes de la administración, utilizada como indicador. La figura 2 representa los resultados.

Se descubrió que, en comparación con el grupo de control, el grupo de administración de péptido LRA mostraba una reducción significativa de la presión sanguínea sistólica 2 horas y 4 horas después de la administración. Los resultados demuestran que el péptido LRA presentaba una excelente acción reductora de la presión sanguínea.

Ejemplo 3: ensayo clínico humano

Se examinó el efecto de reducción de la presión sanguínea del péptido LRA mediante ensayo intergrupo aleatorizado de doble ciego controlado con placebo.

Se prepararon comprimidos que contenían 0 g, 3 µg, 6 µg o 12 µg del péptido LRA utilizando portadores alimenticios (fibra dietética, etc.). Son ejemplos de los resultados de análisis de componentes de dichos comprimidos los siguientes: agua – 7.9 g/100 g (medidos mediante un método de secado por calentamiento a presión normal); lípidos – 0.3 g/100 g (medidos mediante el método de descomposición ácida); contenido de ceniza: 26.4 g/100 g (medidos mediante el método de calcinación directa); sodio – 757 mg/100 g (medidos mediante espectrofotometría de absorción atómica; equivalente de cloruro sódico: 1.92 g/100 g).

Un total de 80 sujetos, que incluía hombres y mujeres de más de 35 y menos de 65 años de edad que presentaban presión sanguínea normal-elevada (sístole de 130 a 139 mmHg o diástole de 85 a 89 mmHg) o hipertensión de estadio 1 (sístole de 140 a 159 mmHg o diástole de 90 a 99 mmHg), se dividió en cuatro grupos: un grupo de placebo, un grupo de ingesta de 24 µg, un grupo de ingesta de 48 µg y un grupo de ingesta de 96 µg (20 personas en cada grupo). En el grupo de placebo, se ingirieron 8 comprimidos cada día que no contenían el péptido LRA. En el grupo de ingesta de 24 µg, se ingirieron 8 comprimidos cada día que contenían 3 µg del péptido LRA (cantidad total de péptido LRA: 24 µg). En el grupo de ingesta de 48 µg, se ingirieron 8 comprimidos cada día que contenían 6 µg del péptido LRA (cantidad total del péptido LRA: 48 µg). En el grupo de ingesta de 96 µg, se ingirieron 8 comprimidos cada día que contenían 12 µg del péptido LRA (cantidad total del péptido LRA: 96 µg). Cada sujeto ingirió 8 comprimidos al día durante 12 semanas. A continuación, se midió la presión sanguínea de cada sujeto inmediatamente antes del inicio de la ingesta, 4 semanas después del inicio de la ingesta, 8 semanas después del inicio de la ingesta y 12 semanas después del inicio de la ingesta. Para las mediciones se utilizó un monitor automático de presión sanguínea (HEM-759P, producido por Omron Corporation). Las mediciones se llevaron a cabo dos veces y se registró su valor promedio como la presión sanguínea de cada sujeto. Para los sujetos de 45 años o más con un IMC inferior a 30, la figura 3 es un gráfico que representa las diferencias entre los valores de presión sanguínea sistólica inmediatamente antes del inicio de la ingesta y los valores de presión sanguínea sistólica 4 semanas después del inicio de la ingesta, 8 semanas después del inicio de la ingesta y 12 semanas después del inicio de la ingesta. En la figura 3, un asterisco ("**") indica que se observó una diferencia significativa ($p < 0.05$, prueba t) en la comparación con el grupo de placebo.

REIVINDICACIONES

1. Tripéptido que consiste en Leu-Arg-Ala.
- 5 2. Composición que comprende el tripéptido según la reivindicación 1.
3. Tripéptido según la reivindicación 1 o composición según la reivindicación 2 para la utilización en la inhibición de la actividad del enzima de conversión de angiotensina.
- 10 4. Tripéptido según la reivindicación 1 o composición según la reivindicación 2 para la utilización en la reducción de la presión sanguínea.
5. Composición para la utilización según la reivindicación 3 o 4, que es una composición alimenticia o una composición farmacéutica.
- 15 6. Composición para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones 3 a 5, que es una composición oral.
7. Composición para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones 3 a 6, que se utiliza de manera que el tripéptido que consiste en Leu-Arg-Ala sea ingerido en una cantidad de 10 a 300 µg por un adulto al día.
- 20 8. Composición para la utilización según cualquiera de las reivindicaciones 3 a 7, que se utiliza de manera que la composición se ingiera durante 9 a 12 semanas o más tiempo.

Fig. 1

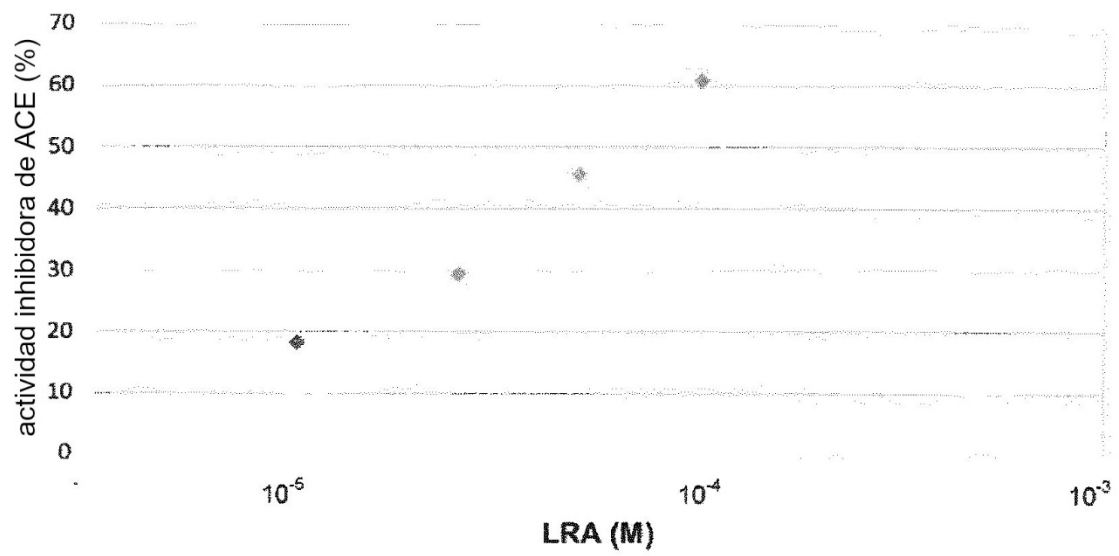


Fig. 2

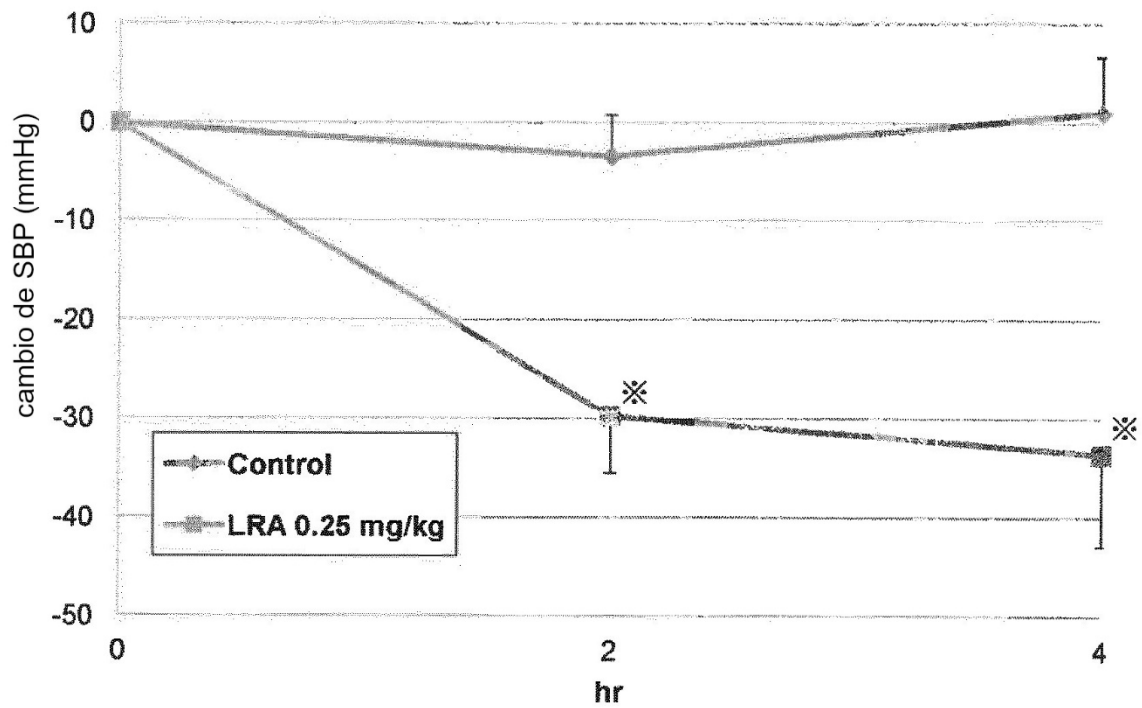


Fig. 3

