

明 細 書

発明の名称：

認知機能の低下抑制又は改善用組成物、及び、 β -セクレターゼ阻害用組成物

技術分野

[0001] 本発明は、認知機能の低下抑制又は改善用組成物、及び、 β -セクレターゼ阻害用組成物等に関する。

背景技術

[0002] アミロイド β ($A\beta$) は、脳内で産生されるタンパク質の一種である。 $A\beta$ が凝集してオリゴマー化又は線維化すると、神経細胞毒性を示す。また、凝集した $A\beta$ は脳から排出されずに蓄積し、アルツハイマー病発症の引き金になると考えられている。

$A\beta$ は、アミロイド前駆体タンパク質 (APP) が、 β -セクレターゼ (BACE1) 及び γ -セクレターゼによって2段階で切断されることにより生成する。BACE1の活性及び発現は、軽度認知(機能)障害(MCI)及びアルツハイマー病患者の脳内で上昇することが報告されている(非特許文献1)。また、BACE1の阻害は、 $A\beta$ の蓄積の初期段階において、 $A\beta$ の蓄積を抑制することが報告されている(非特許文献2)。

従って、BACE1を阻害したり、 $A\beta$ の産生や蓄積を抑制したりすることは、例えば、認知機能の低下抑制やアルツハイマー病の予防に有効であると考えられる。

[0003] 特許文献1には、Cyclo (Gly-Pro) を含有する、対象の認知機能の低下抑制及び／又は改善剤が開示されている。

特許文献2には、動植物性ペプチド熱処理物を有効成分として含有する、神経性疾患予防用組成物が開示されている。

特許文献3には、アミノ酸を構成単位とする環状ジペプチド又はその塩を有効成分として含有する神経性疾患予防用組成物が開示され、具体的な環状ジ

ペプチドとして、シクロリシルリシン [C y c l o (L y s - L y s)] 等が開示されている。

しかしながら、いずれの文献でも A β の蓄積抑制や B A C E 1 の阻害活性は検討されていない。

先行技術文献

特許文献

[0004] 特許文献1：特開2020-196686号公報

特許文献2：国際公開第2017/119476号

特許文献3：国際公開第2017/119481号

非特許文献

[0005] 非特許文献1：Cheng et al., Am. J. Pathol., 2014; 184 (1) : 141-147.

非特許文献2：Peters et al., Acta Neuropathol., 2018; 135 (5) : 695-710.

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0006] 本発明は、新規な認知機能の低下抑制又は改善用組成物、及び、 β -セクレターゼ阻害用組成物を提供することを目的とする。

課題を解決するための手段

[0007] 本発明者らは、上記課題に鑑み鋭意研究した結果、環状ジペプチドである C y c l o (A r g - P h e)、C y c l o (A r g - T y r)、C y c l o (G l u - L e u)、C y c l o (H i s - P h e)、C y c l o (P h e - T r p)、C y c l o (T r p - A s n)、C y c l o (H y p - A l a)、C y c l o (L e u - L y s) 又はそれらの塩が、 β -セクレターゼを阻害することを見出した。そして、上記の環状ジペプチド又はその塩は、 β -セクレターゼを阻害することによりアミロイド β の産生及び／又は蓄積を抑制することを見出した。

[0008] また、本発明者らは、環状ジペプチドであるCyclo (Arg-Phe)、Cyclo (Arg-Tyr)、Cyclo (Glu-Leu)、Cyclo (His-Phe)、Cyclo (Phe-Trp)、Cyclo (Trp-Asn) 又はそれらの塩が、 β -セクレターゼを阻害することによりアミロイド β の産生及び／又は蓄積を抑制し、認知機能の低下抑制又は改善に有効であることを見出し、本発明を完成させた。

[0009] すなわち、本発明は、これに限定されるものではないが、以下の認知機能の低下抑制又は改善用組成物等に関する。

[1] Cyclo (Arg-Phe)、Cyclo (Arg-Tyr)、Cyclo (Glu-Leu)、Cyclo (His-Phe)、Cyclo (Phe-Trp) 及びCyclo (Trp-Asn) からなる群より選択される少なくとも1種の環状ジペプチド又はその塩を含む、認知機能の低下抑制又は改善用組成物。

[2] さらに、Cyclo (Hyp-Ala) 及びCyclo (Leu-Lys) からなる群より選択される少なくとも1種の環状ジペプチド又はその塩を含む、上記[1]に記載の組成物。

[3] アミロイド β の産生及び／又は蓄積を抑制する、上記[1]又は[2]に記載の組成物。

[4] β -セクレターゼを阻害することによりアミロイド β の産生及び／又は蓄積を抑制する、上記[1]～[3]のいずれかに記載の組成物。

[5] Cyclo (Arg-Phe)、Cyclo (Arg-Tyr)、Cyclo (Glu-Leu)、Cyclo (His-Phe)、Cyclo (Phe-Trp)、Cyclo (Trp-Asn)、Cyclo (Hyp-Ala) 及びCyclo (Leu-Lys) からなる群より選択される少なくとも1種の環状ジペプチド又はその塩を含む、 β -セクレターゼ阻害用組成物。

[6] β -セクレターゼを阻害することによりアミロイド β の産生及び／又は蓄積を抑制する、上記[5]に記載の組成物。

〔7〕経口用組成物である、上記〔1〕～〔6〕のいずれかに記載の組成物。

〔8〕飲食品又は経口医薬品である、上記〔1〕～〔7〕のいずれかに記載の組成物。

〔9〕「認知機能を高める」、「認知機能の低下を抑える」、「認知機能を良好に保つ」、「記憶力を高める」、「記憶力の低下を抑える」、「記憶力を良好に保つ」、「記憶の精度を高める」、「記憶障害を予防する」、「記憶障害を改善する」、「認知機能の一部である記憶力を維持する」、「記憶力の低下が気になる方に適した機能」、「認知機能の一部である記憶力の精度や判断の正確さを向上させる」、「記憶の保持又は統合を改善する」、「認知機能の強化を維持する」、「遂行機能を改善する」、「注意力と集中力を促進する」、「学習能力を改善する」、「見当識を維持又は改善する」、「加齢に伴う認知機能低下を遅延する」、「短期及び長期記憶を強化する」、「言語的及び視空間記憶を促進する」及び「論理的思考力を維持又は改善する」からなる群より選択される1又は2以上の機能の表示を付されたものである、上記〔1〕～〔8〕のいずれかに記載の組成物。

発明の効果

[0010] 本発明によれば、新規な認知機能の低下抑制又は改善用組成物、及び、 β -セクレターゼ阻害用組成物を提供することができる。

発明を実施するための形態

[0011] 本発明の認知機能の低下抑制又は改善用組成物（「第一の本発明の組成物」ともいう）は、Cyclo (Arg-Phe)、Cyclo (Arg-Tyr)、Cyclo (Glu-Leu)、Cyclo (His-Phe)、Cyclo (Phe-Trp) 及びCyclo (Trp-Asn) からなる群より選択される少なくとも1種の環状ジペプチド又はその塩を含む。

第一の本発明の組成物は、通常、上記環状ジペプチド又はその塩を有効成分として含むものである。第一の本発明の組成物は、さらに、Cyclo (Hyp-Ala) 及びCyclo (Leu-Lys) からなる群より選択され

る少なくとも1種の環状ジペプチド又はその塩を含むことが好ましい。

[0012] 本発明の β -セクレターゼ阻害用組成物（「第二の本発明の組成物」ともいう）は、Cyclo (Arg-Phe)、Cyclo (Arg-Tyr)、Cyclo (Glu-Leu)、Cyclo (His-Phe)、Cyclo (Phe-Trp)、Cyclo (Trp-Asn)、Cyclo (Hyp-Ala) 及びCyclo (Leu-Lys) からなる群より選択される少なくとも1種の環状ジペプチド又はその塩を含む。

第二の本発明の組成物は、通常、上記環状ジペプチド又はその塩を有効成分として含むものである。

[0013] 上記Cyclo (Arg-Phe)（シクロアルギニルフェニルアラニン）、Cyclo (Arg-Tyr)（シクロアルギニルチロシン）、Cyclo (Glu-Leu)（シクログルタメートロイシン）、Cyclo (His-Phe)（シクロヒスチジニルフェニルアラニン）、Cyclo (Phe-Trp)（シクロフェニルアラニルトリプトファン）、Cyclo (Trp-Asn)（シクロトリプトファニルアスパラギン）、Cyclo (Hyp-Ala)（シクロヒドロキシプロリニルアラニン）及びCyclo (Leu-Lys)（シクロロイシニルリジン）は、いずれも環状ジペプチドである。本明細書において「環状ジペプチド」とは、アミノ酸を構成単位とすることを特徴とし、N末端側アミノ酸のアミノ基とC末端側アミノ酸のカルボキシル基とが脱水縮合することにより生成したジケトピペラジン構造を有する化合物をいう。なお、本明細書において、環状ジペプチドのアミノ酸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 (Arg-Phe)とCyclo (Phe-Arg)（シクロフェニルアラニルアルギニン）とは同じ環状ジペプチドを表す。

上記各環状ジペプチドは塩の形態であってもよい。

[0014] 環状ジペプチドの塩としては、薬理学的に許容される塩又は飲食品に許容される塩であれば特に限定されず、酸性塩及び塩基性塩のいずれであってもよい。酸性塩として、例えば、塩酸塩、硫酸塩、硝酸塩、リン酸塩等の無機酸

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、プロピオン酸塩等の有機酸塩等が挙げられる。塩基性塩として、例えば、ナトリウム塩、カリウム塩等のアルカリ金属塩；カルシウム塩、マグネシウム塩等のアルカリ土類金属塩等が挙げられる。

[0015] 上記各環状ジペプチド又はその塩の由来及び製造方法は特に制限されない。各環状ジペプチドは、公知の方法に従って製造することができる。各環状ジペプチドは、天然物由来のものであってもよく、人工的に合成したものであってもよく、酵素法又は微生物発酵法により製造されてもよく、直鎖状ジペプチドを脱水及び環化させることによって合成されてもよい。例えば、コラーゲン加水分解物などのタンパク質加水分解物を加熱して、C y c l o (A r g - P h e) 等の上記各環状ジペプチドを豊富に含むペプチド熱処理物を得ることができる。

上記各環状ジペプチドは、これを含むタンパク質加水分解物又はその熱処理物を使用して組成物に配合してもよいし、タンパク質加水分解物若しくはその熱処理物の濃縮物、乾燥粉末又は精製度を高めたものを使用して組成物に配合してもよい。第一及び第二の本発明の組成物は、例えば、タンパク質加水分解物又はその熱処理物を含有し、上記各環状ジペプチドは、タンパク質加水分解物又はその熱処理物の一部であってもよい。上記各環状ジペプチドは、市販品を使用することもできる。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。

[0016] 第一及び第二の本発明の組成物は、アミロイド β の産生及び／又は蓄積を抑制することが好ましい。

A β は、アミロイド β タンパク質、アミロイド β ペプチド又は β アミロイドと呼ばれることもあるペプチドである。A β は、通常、40個前後のアミノ酸からなるペプチドであり、アミロイド β 1-38、アミロイド β 1-40、アミロイド β 1-42等が挙げられる。

[0017] 非会合状態のA β は、アミロイド β モノマーと呼ばれることもある。A β は、2個以上で凝集体を形成していてもよい。A β は、例えば、A β が2個以

上（例えば2～50個）凝集した可溶性凝集体（アミロイド β オリゴマー）を形成していてもよい。アミロイド β オリゴマーとして、アミロイド β 1-38オリゴマー、アミロイド β 1-40オリゴマー、アミロイド β 1-42オリゴマー等が挙げられる。本発明におけるA β には、非会合状態のA β 、オリゴマー等の凝集体を形成しているA β が含まれる。

[0018] 上記アミロイド β は、アミロイド β 1-38、アミロイド β 1-40及びアミロイド β 1-42からなる群から選択される少なくとも1種であることが好ましい。

[0019] 第一及び第二の本発明の組成物は、脳におけるアミロイド β の産生及び／又は蓄積抑制のために使用することができる。

[0020] 一態様において、第一及び第二の本発明の組成物は、アミロイド β の産生及び／又は蓄積に関連する状態又は疾患、好ましくは、脳におけるアミロイド β の産生及び／又は蓄積に関連する状態又は疾患の予防又は改善のために使用することができる。このような状態又は疾患として、アミロイド β の産生及び／又は蓄積を伴う又はアミロイド β の産生及び／又は蓄積に起因する状態又は疾患が挙げられる。脳におけるアミロイド β の産生及び／又は蓄積を伴う又はアミロイド β の産生及び／又は蓄積に起因する状態又は疾患として、例えば、アルツハイマー病（アルツハイマー型認知症を含む）、軽度認知（機能）障害、加齢に伴う認知（機能）障害等が挙げられる。第一及び第二の本発明の組成物は、上記の状態又は疾患を予防又は改善するために使用することができる。

本明細書において、状態又は疾患の予防は、発症を防止すること、発症を遅延させること、発症率を低下させること、発症のリスクを軽減すること等を包含する。状態又は疾患の改善は、対象を状態又は疾患から回復させること、状態又は疾患の症状を軽減すること、状態又は疾患の症状を好転させること、状態又は疾患の進行を遅延させること、防止すること等を包含する。回復は、部分的な回復を含む。

[0021] アルツハイマー病、軽度認知（機能）障害及び加齢に伴う認知（機能）障害

では、認知機能が低下することが知られている。アルツハイマー病、軽度認知（機能）障害及び加齢に伴う認知（機能）障害における認知機能低下の症状として、例えば、記憶力低下、記憶障害（物忘れ）、失語（ものの名前が出にくくなる）、失行、失認（よく知っているはずの場所で道に迷う等）、見当識（場所、時間、人の名前など、自分が置かれた状況を正しく認識する能力）の低下、言語及び非言語学習能力の低下、聴覚及び視覚処理の低下、遂行機能低下、遂行機能障害（計画を立てて物事を行うことができなくなる）、集中力低下、注意力低下、判断力低下、空間認識力低下、認知柔軟性低下、情報処理速度低下、論理的思考力低下等が挙げられる。アミロイド β の産生及び／又は蓄積を抑制することによって、認知機能の低下抑制又は改善効果、例えば、上記の症状の抑制又は改善効果が得られると考えられる。一態様において、第一及び第二の本発明の組成物は、認知機能の低下に関連する状態又は疾患の予防又は改善のために使用することができる。

[0022] 第一の本発明の組成物は、認知機能の低下を抑制又は改善する。第一の本発明の組成物は、アルツハイマー病、軽度認知（機能）障害又は加齢に伴う認知機能障害に起因する認知機能の低下を抑制又は改善することが好ましい。なお、本発明において認知機能の低下抑制又は改善は、「認知機能」の、更なる症状の低下（悪化）の抑制、すなわち維持、認知機能の低下（悪化）を遅延させる作用、一度低下（悪化）した認知機能を改善させる作用を包含するものである。また、「認知機能」は、記憶機能、学習能力、記憶の固定化、遂行機能、注意力（注意機能）、集中力等の脳の機能を意味する。上記認知機能障害は、上記認知機能の一部又は全部が機能を果たさないことを意味する。

[0023] 第二の本発明の β -セクレターゼ阻害用組成物が阻害する β -セクレターゼ（BACE1）は、アミロイド前駆体タンパク質（APP）からアミロイドベータ（A β ）ペプチドを生成する際に主要な役割を果たすアスパルチルプロテアーゼである。そのため、 β -セクレターゼの働きを阻害することにより、アミロイド β の産生及び／又は蓄積を抑制することができる。

第二の本発明の組成物は、脳における β -セクレターゼを阻害するために使用することができる。また、第一の本発明の組成物も、脳における β -セクレターゼを阻害するために使用することができる。

[0024] 第一及び第二の本発明の組成物は、 β -セクレターゼを阻害することによりアミロイド β の産生及び／又は蓄積を抑制することが好ましい。

第一及び第二の本発明の組成物は、脳における β -セクレターゼを阻害することによりアミロイド β の産生及び／又は蓄積を抑制するために使用することができる。

また、第一及び第二の本発明の組成物は、 β -セクレターゼを阻害することによりアミロイド β の産生及び／又は蓄積を抑制し、認知機能の低下抑制又は改善をすることが好ましい。

第一及び第二の本発明の組成物は、脳における β -セクレターゼを阻害することによりアミロイド β の産生及び／又は蓄積を抑制し、認知機能の低下抑制又は改善をするために使用することができる。

[0025] 第一及び第二の本発明の組成物は、治療的用途（医療用途）又は非治療的用途（非医療用途）のいずれにも適用することができる。非治療的とは、医療行為、すなわち人間の手術、治療又は診断を含まない概念である。

第一及び第二の本発明の組成物は、一例として、剤の形態で提供することができるが、本形態に限定されるものではない。当該剤をそのまま組成物として、又は、当該剤を含む組成物として提供することもできる。一態様において、第一の本発明の組成物は、認知機能の低下抑制剤又は認知機能の低下改善剤ということもできる。また、第二の本発明の組成物は、 β -セクレターゼ阻害剤ということもできる。また、第一及び第二の本発明の組成物は、それぞれ、アミロイド β の産生抑制剤又はアミロイド β の蓄積抑制剤ということもできる。

[0026] 第一及び第二の本発明の組成物は、経口用又は非経口用のいずれであってもよい。第一及び第二の本発明の組成物は、好ましくは経口用組成物である。第一及び第二の本発明の組成物は、例えば、飲食品、医薬品、医薬部外品、

飼料等の形態とすることができ、飲食品又は医薬品が好ましく、飲食品又は経口医薬品がより好ましい。本発明の組成物は、飲食品、医薬品、医薬部外品、飼料等に添加して使用することもできる。本発明の組成物の形態は特に限定されず、固体状（例えば、粉末状、顆粒状、タブレット状等）、液状、ペースト状等のいずれであってもよい。

[0027] 第一及び第二の本発明の組成物には、更に飲食品又は医薬品等への添加物として許容されている各種の希釈剤、酸味料、抗酸化剤、安定剤、保存料、香料、乳化剤、色素類、調味料、pH調整剤、栄養強化剤等が添加されていてもよい。

[0028] 例えば、第一及び第二の本発明の組成物を飲食品とする場合、飲食品に使用可能な成分（例えば、食品素材、必要に応じて使用される食品添加物等）を、第一及び第二の本発明の組成物に含まれる上記の環状ジペプチド又はその塩に配合して、種々の飲食品とすることができる。飲食品は特に限定されず、例えば、一般的な飲食品、健康食品、機能性表示食品、特定保健用食品、健康補助食品、病者用食品等が挙げられる。上記健康食品、機能性表示食品、特定保健用食品、健康補助食品等は、例えば、液剤、細粒剤、錠剤、顆粒剤、散剤、カプセル剤、チュアブル剤、ドライシロップ剤、流動食等の各種製剤形態として使用することができる。

[0029] 第一及び第二の本発明の組成物を医薬品又は医薬部外品とする場合、薬理学的に許容される担体、必要に応じて添加される添加剤等を、第一及び第二の本発明の組成物に含まれる上記の環状ジペプチド又はその塩に配合して、各種剤形の医薬品又は医薬部外品とすることができる。そのような担体、添加剤等は、医薬品又は医薬部外品に使用可能な、薬理学的に許容されるものであればよく、例えば、賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、抗酸化剤、着色剤等の1又は2以上が挙げられる。医薬品又は医薬部外品の投与（摂取）形態としては、経口又は非経口（経皮、経粘膜、経腸、注射等）投与の形態が挙げられる。

第一及び第二の本発明の組成物を医薬品又は医薬部外品とする場合、経口用

医薬品又は経口用医薬部外品とすることが好ましい。経口投与のための剤形としては、例えば、液剤、錠剤、散剤、細粒剤、顆粒剤、糖衣錠、カプセル剤、懸濁液、乳剤、チュアブル剤等が挙げられる。非経口投与のための剤形としては、例えば、注射剤、点滴剤、軟膏剤、ローション剤、貼付剤、坐剤、経鼻剤、経肺剤（吸入剤）等が挙げられる。医薬品は、非ヒト動物用医薬であってもよい。

[0030] 第一及び第二の本発明の組成物を飼料とする場合には、第一及び第二の本発明の組成物に含まれる上記の環状ジペプチド又はその塩を飼料に配合すればよい。飼料には飼料添加剤も含まれる。飼料としては、例えば、牛、豚、鶏、羊、馬等に用いる家畜用飼料；ウサギ、ラット、マウス等に用いる小動物用飼料；犬、猫、小鳥等に用いるペットフードなどが挙げられる。

[0031] 第一及び第二の本発明の組成物を、例えば、飲食品、医薬品、医薬部外品、飼料等とする場合、その製造方法は特に限定されず、第一及び第二の本発明の組成物に含まれる上記の環状ジペプチド又はその塩を用いて、一般的な方法により製造することができる。

[0032] 一態様において、第一及び第二の本発明の組成物は、液状組成物であることが好ましく、飲料であることがより好ましい。飲料は、例えば、機能性飲料であってよい。飲料の形態は特に限定されず、容器詰飲料であってよい。容器詰飲料の容器は特に限定されず、いずれの形態及び材質の容器を用いてもよく、例えば、アルミ缶、スチール缶等の金属製容器；ペットボトル等の樹脂製容器；紙パック等の紙容器；ガラス瓶等のガラス製容器；樽等の木製容器等の通常用いられる容器のいずれも用いることができる。このような容器に飲料を充填及び密閉することにより、容器詰飲料が得られる。

[0033] 第一の本発明の組成物に含まれる、C y c l o (A r g - P h e)、C y c l o (A r g - T y r)、C y c l o (G l u - L e u)、C y c l o (H i s - P h e)、C y c l o (P h e - T r p) 及びC y c l o (T r p - A s n) からなる群より選択される少なくとも1種の環状ジペプチド、及び、その塩の合計の含有量は特に限定されず、組成物の形態等に応じて設定す

ることができる。

[0034] また、第一の本発明の組成物が、さらに、C y c l o (H y p - A l a) 及びC y c l o (L e u - L y s) からなる群より選択される少なくとも1種の環状ジペプチド又はその塩を含む場合、組成物中の環状ジペプチド及びその塩の合計の含有量は特に限定されず、その形態等に応じて設定することができる。

[0035] 第二の本発明の組成物に含まれる、C y c l o (A r g - P h e) 、C y c l o (A r g - T y r) 、C y c l o (G l u - L e u) 、C y c l o (H i s - P h e) 、C y c l o (P h e - T r p) 、C y c l o (T r p - A s n) 、C y c l o (H y p - A l a) 及びC y c l o (L e u - L y s) からなる群より選択される少なくとも1種の環状ジペプチド、及び、その塩の合計の含有量は特に限定されず、組成物の形態などに応じて設定することができる。

[0036] 第一及び第二の本発明の組成物にC y c l o (A r g - P h e) 又はその塩が含まれる場合、その含有量は特に限定されず、その形態等に応じて設定することができる。

一態様において、第一及び第二の本発明の組成物がC y c l o (A r g - P h e) 又はその塩を含む場合、第一及び第二の本発明の組成物におけるC y c l o (A r g - P h e) 又はその塩の含有量は、フリーの環状ジペプチド換算で、いずれも例えば、0.001重量%以上であってよく、0.005重量%以上が好ましく、0.01重量%以上がより好ましく、また、50重量%以下が好ましく、20重量%以下がより好ましく、10重量%以下が更に好ましく、5重量%以下がより更に好ましい。一態様において、C y c l o (A r g - P h e) 又はその塩の含有量は、フリーの環状ジペプチド換算で、例えば、第一及び第二の本発明の組成物中に0.001～50重量%であることが好ましい。より好ましくは0.005～20重量%であり、更に好ましくは0.01～10重量%である。

[0037] 第一及び第二の本発明の組成物にC y c l o (A r g - T y r) 又はその塩

が含まれる場合、その含有量は特に限定されず、その形態等に応じて設定することができる。

一態様において、第一及び第二の本発明の組成物がC y c l o (A r g - T y r) 又はその塩を含む場合、第一及び第二の本発明の組成物におけるC y c l o (A r g - T y r) 又はその塩の含有量は、フリーの環状ジペプチド換算で、いずれも例えば、0.0005重量%以上であってよく、0.001重量%以上が好ましく、0.005重量%以上がより好ましく、また、5重量%以下が好ましく、1重量%以下がより好ましく、0.5重量%以下が更に好ましい。一態様において、C y c l o (A r g - T y r) 又はその塩の含有量は、フリーの環状ジペプチド換算で、例えば、第一及び第二の本発明の組成物中に0.0005～5重量%であることが好ましい。より好ましくは0.001～1重量%であり、更に好ましくは0.005～0.5重量%である。

[0038] 第一及び第二の本発明の組成物にC y c l o (G l u - L e u) 又はその塩が含まれる場合、その含有量は特に限定されず、その形態等に応じて設定することができる。

一態様において、第一及び第二の本発明の組成物がC y c l o (G l u - L e u) 又はその塩を含む場合、第一及び第二の本発明の組成物におけるC y c l o (G l u - L e u) 又はその塩の含有量は、フリーの環状ジペプチド換算で、いずれも例えば、0.001重量%以上であってよく、0.005重量%以上が好ましく、0.01重量%以上がより好ましく、また、20重量%以下が好ましく、10重量%以下がより好ましく、5重量%以下が更に好ましい。一態様において、C y c l o (G l u - L e u) 又はその塩の含有量は、フリーの環状ジペプチド換算で、例えば、第一及び第二の本発明の組成物中に0.001～20重量%であることが好ましい。より好ましくは0.005～10重量%であり、更に好ましくは0.01～5重量%である。

[0039] 第一及び第二の本発明の組成物にC y c l o (H i s - P h e) 又はその塩

が含まれる場合、その含有量は特に限定されず、その形態等に応じて設定することができる。

一態様において、第一及び第二の本発明の組成物がC y c l o (H i s - P h e) 又はその塩を含む場合、第一及び第二の本発明の組成物におけるC y c l o (H i s - P h e) 又はその塩の含有量は、フリーの環状ジペプチド換算で、いずれも例えば、0.0005重量%以上であってよく、0.001重量%以上が好ましく、0.005重量%以上がより好ましく、また、5重量%以下が好ましく、1重量%以下がより好ましく、0.5重量%以下が更に好ましい。一態様において、C y c l o (H i s - P h e) 又はその塩の含有量は、フリーの環状ジペプチド換算で、例えば、第一及び第二の本発明の組成物中に0.0005～5重量%であることが好ましい。より好ましくは0.001～1重量%であり、更に好ましくは0.005～0.5重量%である。

[0040] 第一及び第二の本発明の組成物にC y c l o (P h e - T r p) 又はその塩が含まれる場合、その含有量は特に限定されず、その形態等に応じて設定することができる。

一態様において、第一及び第二の本発明の組成物がC y c l o (P h e - T r p) 又はその塩を含む場合、第一及び第二の本発明の組成物におけるC y c l o (P h e - T r p) 又はその塩の含有量は、フリーの環状ジペプチド換算で、いずれも例えば、0.0001重量%以上であってよく、0.0005重量%以上が好ましく、0.001重量%以上がより好ましく、また、5重量%以下が好ましく、1重量%以下がより好ましく、0.1重量%以下が更に好ましい。一態様において、C y c l o (P h e - T r p) 又はその塩の含有量は、フリーの環状ジペプチド換算で、例えば、第一及び第二の本発明の組成物中に0.0001～5重量%であることが好ましい。より好ましくは0.0005～1重量%であり、更に好ましくは0.001～0.1重量%である。

[0041] 第一及び第二の本発明の組成物にC y c l o (T r p - A s n) 又はその塩

が含まれる場合、その含有量は特に限定されず、その形態等に応じて設定することができる。

一態様において、第一及び第二の本発明の組成物がC y c l o (T r p - A s n) 又はその塩を含む場合、第一及び第二の本発明の組成物におけるC y c l o (T r p - A s n) 又はその塩の含有量は、フリーの環状ジペプチド換算で、いずれも例えば、0.0001重量%以上であってよく、0.0005重量%以上が好ましく、0.001重量%以上がより好ましく、また、5重量%以下が好ましく、1重量%以下がより好ましく、0.1重量%以下が更に好ましい。一態様において、C y c l o (T r p - A s n) 又はその塩の含有量は、フリーの環状ジペプチド換算で、例えば、第一及び第二の本発明の組成物中に0.0001～5重量%であることが好ましい。より好ましくは0.0005～1重量%であり、更に好ましくは0.001～0.1重量%である。

[0042] 第一及び第二の本発明の組成物にC y c l o (H y p - A l a) 又はその塩が含まれる場合、その含有量は特に限定されず、その形態等に応じて設定することができる。

一態様において、第一及び第二の本発明の組成物がC y c l o (H y p - A l a) 又はその塩を含む場合、第一及び第二の本発明の組成物におけるC y c l o (H y p - A l a) 又はその塩の含有量は、フリーの環状ジペプチド換算で、いずれも例えば、0.0001重量%以上であってよく、0.0005重量%以上が好ましく、0.001重量%以上がより好ましく、また、5重量%以下が好ましく、1重量%以下がより好ましく、0.1重量%以下が更に好ましい。一態様において、C y c l o (H y p - A l a) 又はその塩の含有量は、フリーの環状ジペプチド換算で、例えば、第一及び第二の本発明の組成物中に0.0001～5重量%であることが好ましい。より好ましくは0.0005～1重量%であり、更に好ましくは0.001～0.1重量%である。

[0043] 第一及び第二の本発明の組成物にC y c l o (L e u - L y s) 又はその塩

が含まれる場合、その含有量は特に限定されず、その形態等に応じて設定することができる。

一態様において、第一及び第二の本発明の組成物がCyclo (Leu-Lys) 又はその塩を含む場合、第一及び第二の本発明の組成物におけるCyclo (Leu-Lys) 又はその塩の含有量は、フリーの環状ジペプチド換算で、いずれも例えば、0.001重量%以上であってよく、0.005重量%以上が好ましく、0.01重量%以上がより好ましく、また、20重量%以下が好ましく、10重量%以下がより好ましく、5重量%以下が更に好ましい。一態様において、Cyclo (Leu-Lys) 又はその塩の含有量は、フリーの環状ジペプチド換算で、例えば、第一及び第二の本発明の組成物中に0.001～20重量%であることが好ましい。より好ましくは0.005～10重量%であり、更に好ましくは0.01～5重量%である。

[0044] 第一の本発明の組成物におけるCyclo (Arg-Phe)、Cyclo (Arg-Tyr)、Cyclo (Glu-Leu)、Cyclo (His-Phe)、Cyclo (Phe-Trp) 及びCyclo (Trp-Asn) 並びにそれらの塩の合計の含有量は特に限定されず、その形態等に応じて設定することができる。

一態様において、第一の本発明の組成物におけるCyclo (Arg-Phe)、Cyclo (Arg-Tyr)、Cyclo (Glu-Leu)、Cyclo (His-Phe)、Cyclo (Phe-Trp) 及びCyclo (Trp-Asn) 並びにそれらの塩の合計の含有量は、フリーの環状ジペプチド換算で、例えば、0.0001重量%以上であってよく、0.0005重量%以上が好ましく、0.001重量%以上がより好ましく、0.01重量%以上が更に好ましい、また、50重量%以下が好ましく、30重量%以下がより好ましく、20重量%以下が更に好ましく、10重量%以下がより更に好ましい。一態様において、Cyclo (Arg-Phe)、Cyclo (Arg-Tyr)、Cyclo (Glu-Leu)、Cyclo (

H i s - P h e) 、 C y c l o (P h e - T r p) 及び C y c l o (T r p - A s n) 並びにそれらの塩の合計の含有量は、フリーの環状ジペプチド換算で、例えば、第一の本発明の組成物中に 0.0001～50 重量%であってよく、0.0005～30 重量%が好ましく、0.001～20 重量%がより好ましく、0.01～10 重量%が更に好ましい。

[0045] また、第一の本発明の組成物が、さらに C y c l o (H y p - A l a) 及び C y c l o (L e u - L y s) からなる群より選択される少なくとも 1 種の環状ジペプチド又はその塩を含む場合、第一及び第二の本発明の組成物における C y c l o (A r g - P h e) 、 C y c l o (A r g - T y r) 、 C y c l o (G l u - L e u) 、 C y c l o (H i s - P h e) 、 C y c l o (P h e - T r p) 、 C y c l o (T r p - A s n) 、 C y c l o (H y p - A l a) 及び C y c l o (L e u - L y s) 並びにそれらの塩の合計の含有量は特に限定されず、その形態等に応じて設定することができる。

一態様において、第一及び第二の本発明の組成物における C y c l o (A r g - P h e) 、 C y c l o (A r g - T y r) 、 C y c l o (G l u - L e u) 、 C y c l o (H i s - P h e) 、 C y c l o (P h e - T r p) 、 C y c l o (T r p - A s n) 、 C y c l o (H y p - A l a) 及び C y c l o (L e u - L y s) 並びにそれらの塩の合計の含有量は、フリーの環状ジペプチド換算で、例えば、0.0001 重量%以上であってよく、0.0005 重量%以上が好ましく、0.001 重量%以上がより好ましく、0.01 重量%以上が更に好ましく、また、50 重量%以下が好ましく、30 重量%以下がより好ましく、20 重量%以下が更に好ましく、10 重量%以下がより更に好ましい。一態様において、C y c l o (A r g - P h e) 、 C y c l o (A r g - T y r) 、 C y c l o (G l u - L e u) 、 C y c l o (H i s - P h e) 、 C y c l o (P h e - T r p) 、 C y c l o (T r p - A s n) 、 C y c l o (H y p - A l a) 及び C y c l o (L e u - L y s) 並びにそれらの塩の合計の含有量は、フリーの環状ジペプチド換算で、例えば、第一の本発明の組成物中に 0.0001～50 重量%であってよく、

0.0005～30重量%が好ましく、0.001～20重量%がより好ましく、0.01～10重量%が更に好ましい。

[0046] Cyclo (Arg-Phe)、Cyclo (Arg-Tyr)、Cyclo (Glu-Leu)、Cyclo (His-Phe)、Cyclo (Phe-Trp)、Cyclo (Trp-Asn)、Cyclo (Hyp-Ala)、Cyclo (Leu-Lys) 及びそれらの塩は、例えば、液体クロマトグラフィー質量分析法 (LC-MS/MS) により公知の方法で定量することが可能である。上記の環状ジペプチド又はその塩の総含有量は、上記の環状ジペプチド又はその塩を2種以上含む場合は、それらの合計量である。

LC-MS/MSの測定には、以下の測定条件を使用することができる。

装置としては、例えば、Agilent 1290 binary LC coupled with AB Sciex 5600+ Triple TOF systemを使用することができる。

LCカラム: CORTECS T3 Column, 120Å, 1.6µm, 2.1mm×100mm (Waters Corporation)

サンプル注入量: 5 µL

カラム温度: 40℃

(LCクロマトグラフ条件)

移動相:

A液: 0.1%ギ酸を含む水

B液: 0.1%ギ酸を含むアセトニトリル

グラジエント (B液濃度):

0～1分: B液1%

1～8.5分: B液1%→40%

8.5～13分: B液40%→90%

13～15.5分: B液90%→100%

15.5～17.8分: B液100%

17. 8～18分：B液100%→1%

18～20分：B液1%

[0047] 第一及び第二の本発明の組成物は、経口で摂取（経口投与）されることが好ましい。第一及び第二の本発明の組成物の投与量（摂取量ということもできる）は特に限定されない。第一の本発明の組成物の投与量は、認知機能の低下抑制又は改善効果が得られるような量であればよく、例えば、アミロイド β の産生及び／又は蓄積を抑制することで認知機能の低下抑制又は改善効果が得られるような量であればよい。また、例えば、 β -セクレターゼを阻害しアミロイド β の産生及び／又は蓄積を抑制することで認知機能の低下抑制又は改善効果が得られるような量であればよい。また、これらの効果が得られるような量であれば、投与形態、投与方法、対象の体重等に応じて適宜設定すればよい。

第二の本発明の組成物の投与量は、 β -セクレターゼの阻害効果が得られるような量であればよく、例えば、 β -セクレターゼを阻害することによりアミロイド β の産生及び／又は蓄積を抑制する効果が得られるような量であればよい。また、例えば、 β -セクレターゼを阻害しアミロイド β の産生及び／又は蓄積を抑制することで認知機能の低下抑制又は改善効果が得られるような量であってもよい。また、これらの効果が得られるような量であれば、投与形態、投与方法、対象の体重等に応じて適宜設定すればよい。

[0048] 一態様において、第一の本発明の組成物をヒト（成人）を対象に摂取させる又は投与する場合、その投与量は、Cyclo (Arg-Phe)、Cyclo (Arg-Tyr)、Cyclo (Glu-Leu)、Cyclo (His-Phe)、Cyclo (Phe-Trp) 及びCyclo (Trp-Asn) 並びにそれらの塩の合計の投与量（フリーの環状ジペプチド換算）として、1日あたり、好ましくは0.001mg以上、より好ましくは0.01mg以上、更に好ましくは0.1mg以上、また、好ましくは5000mg以下、より好ましくは3000mg以下、更に好ましくは2000mg以下である。一態様において、第一の本発明の組成物をヒト（成人）に摂取

させる又は投与する場合、C y c l o (A r g - P h e)、C y c l o (A r g - T y r)、C y c l o (G l u - L e u)、C y c l o (H i s - P h e)、C y c l o (P h e - T r p) 及びC y c l o (T r p - A s n) 並びにそれらの塩の合計の投与量（フリーの環状ジペプチド換算）として、1日あたり、好ましくは0.001～5000mg、より好ましくは0.01～3000mg、更に好ましくは0.1～2000mgである。また、第一の本発明の組成物が、さらにC y c l o (H y p - A l a) 及びC y c l o (L e u - L y s) からなる群より選択される少なくとも1種の環状ジペプチド又はその塩を含む場合、第一の本発明の組成物を、ヒト（成人）を対象に摂取させる又は投与する場合の投与量は次のようにできる。

[0049] 一態様において、第一及び第二の本発明の組成物をヒト（成人）を対象に摂取させる又は投与する場合、その投与量は、C y c l o (A r g - P h e)、C y c l o (A r g - T y r)、C y c l o (G l u - L e u)、C y c l o (H i s - P h e)、C y c l o (P h e - T r p)、C y c l o (T r p - A s n)、C y c l o (H y p - A l a) 及びC y c l o (L e u - L y s) 並びにそれらの塩の合計の投与量（フリーの環状ジペプチド換算）として、1日あたり、好ましくは0.001mg以上、より好ましくは0.01mg以上、更に好ましくは0.1mg以上、また、好ましくは5000mg以下、より好ましくは3000mg以下、更に好ましくは2000mg以下である。一態様において、第一及び第二の本発明の組成物をヒト（成人）に摂取させる又は投与する場合、C y c l o (A r g - P h e)、C y c l o (A r g - T y r)、C y c l o (G l u - L e u)、C y c l o (H i s - P h e)、C y c l o (P h e - T r p)、C y c l o (T r p - A s n)、C y c l o (H y p - A l a) 及びC y c l o (L e u - L y s) 並びにそれらの塩の合計の投与量として、1日あたり、好ましくは0.001～5000mg、より好ましくは0.01～3000mg、更に好ましくは0.1～2000mgである。

上記量を、1日1回以上、例えば、1日1回で又は数回（例えば2～3回）

に分けて、摂取させる又は投与することが好ましい。一態様においては、上記量の上記環状ジペプチド又はその塩を、経口で摂取させる又は投与することが好ましい。ヒト（成人）の場合、1日あたり体重60kg当たり上記量の上記環状ジペプチド又はその塩を摂取させる又は投与することが好ましい。一態様において、第一及び第二の本発明の組成物は、ヒトに、体重60kg当たり、1日あたり上記量の上記環状ジペプチド又はその塩を摂取させる又は投与するための経口用組成物であってよい。

[0050] 第一及び第二の本発明の組成物は、継続して摂取又は投与されるものであることが好ましい。第一の本発明において、Cyclo (Arg-Phe)、Cyclo (Arg-Tyr)、Cyclo (Glu-Leu)、Cyclo (His-Phe)、Cyclo (Phe-Trp) 及びCyclo (Trp-Asn) からなる群より選択される少なくとも1種の環状ジペプチド又はその塩を継続的に摂取させる又は投与することによって、より高い効果を得られることが期待される。第二の本発明において、Cyclo (Arg-Phe)、Cyclo (Arg-Tyr)、Cyclo (Glu-Leu)、Cyclo (His-Phe)、Cyclo (Phe-Trp)、Cyclo (Trp-Asn)、Cyclo (Hyp-Ala) 及びCyclo (Leu-Lys) からなる群より選択される少なくとも1種の環状ジペプチド又はその塩を継続的に摂取させる又は投与することによって、より高い効果を得られることが期待される。

一態様において、第一及び第二の本発明の組成物は、好ましくは1週間以上、より好ましくは4週間以上、更に好ましくは8週間以上継続して摂取又は投与されることが好ましい。

上記の環状ジペプチド又はその塩は、飲食品などとして摂取可能であり、安全性の観点から、例えば長期摂取することにも問題が少ないと考えられる。

[0051] 第一及び第二の本発明の組成物を摂取させる又は投与する対象（投与対象ということもできる）は、特に限定されない。好ましくはヒト又は非ヒト哺乳動物であり、より好ましくはヒトである。

一態様において、第一及び第二の本発明の組成物の投与対象として、認知機能の低下抑制又は改善を必要とする又は希望する対象、認知機能の低下に関連する状態又は疾患の予防又は改善を必要とする又は希望する対象、 β -セクレターゼ阻害を必要とする又は希望する対象、 β -セクレターゼ産生に関連する状態又は疾患の予防又は改善を必要とする又は希望する対象、アミロイド β の産生及び／又は蓄積を抑制することを必要とする又は希望する対象、アミロイド β の産生及び／又は蓄積に関連する状態又は疾患の予防又は改善を必要とする又は希望する対象等が挙げられる。一態様において、第一及び第二の本発明における投与対象として、中高年者が挙げられる。中高年者は、高齢者を含む。中高年者は、例えば、40歳以上のヒトであってよい。一態様において中高年者の中でも、対象として高齢者が好ましい。高齢者は、例えば、60歳以上又は65歳以上のヒトであってよい。一態様において、第一の本発明の組成物の投与対象は、健常者であってよい。例えば、認知機能の低下抑制又は改善、脳内におけるアミロイド β の産生及び／又は蓄積の抑制、脳内におけるアミロイド β の産生及び／又は蓄積の予防、アルツハイマー病、軽度認知（機能）障害又は加齢に伴う認知（機能）障害の予防、脳内における β セクレターゼの阻害等を目的として、健常者に対して使用することもできる。また、一態様において、第二の本発明の組成物の投与対象は、健常者であってよい。例えば、脳内における β -セクレターゼ阻害、脳内におけるアミロイド β の産生及び／又は蓄積の抑制、脳内におけるアミロイド β の産生及び／又は蓄積の予防、アルツハイマー病、軽度認知（機能）障害又は加齢に伴う認知（機能）障害の予防等を目的として、健常者に対して使用することもできる。

[0052] 第一の本発明の組成物には、認知機能の低下抑制又は改善により発揮される機能の表示が付されていてもよい。また、第二の本発明の組成物には、 β -セクレターゼ阻害により発揮される機能の表示が付されていてもよい。このような表示は機能性表示ともいう。第一及び第二の本発明の組成物に付されてもよい上記表示は、特に限定されない。このような表示として、例えば、

「認知機能を高める」、「認知機能の低下を抑える」、「認知機能を良好に保つ」、「記憶力を高める」、「記憶力の低下を抑える」、「記憶力を良好に保つ」、「記憶の精度を高める」、「記憶障害を予防する」、「記憶障害を改善する」、「認知機能の一部である記憶力を維持する」、「記憶力の低下が気になる方に適した機能」、「認知機能の一部である記憶力の精度や判断の正確さを向上させる」、「記憶の保持又は統合を改善する」、「認知機能の強化を維持する」、「遂行機能を改善する」、「注意力と集中力を促進する」、「学習能力を改善する」、「見当識を維持又は改善する」、「加齢に伴う認知機能低下を遅延する」、「短期及び長期記憶を強化する」、「言語的及び視空間記憶を促進する」、「論理的思考力を維持又は改善する」、及び、これらと同視できる表示又は機能性表示が挙げられる。

本発明の一態様において、第一及び第二の本発明の組成物は、上記の表示が1又は2以上付された飲食品であることが好ましい。また上記の表示は、上記の機能を得るために上記組成物を用いる旨の表示であってもよい。当該表示は、組成物自体に付されてもよいし、組成物の容器又は包装に付されていてもよい。

[0053] 本発明は、以下の方法及び使用も包含する。

Cyclo (Arg-Phe)、Cyclo (Arg-Tyr)、Cyclo (Glu-Leu)、Cyclo (His-Phe)、Cyclo (Phe-Trp) 及びCyclo (Trp-Asn) からなる群より選択される少なくとも1種の環状ジペプチド又はその塩を投与する、認知機能の低下抑制又は改善方法。

認知機能の低下抑制又は改善のための、Cyclo (Arg-Phe)、Cyclo (Arg-Tyr)、Cyclo (Glu-Leu)、Cyclo (His-Phe)、Cyclo (Phe-Trp) 及びCyclo (Trp-Asn) からなる群より選択される少なくとも1種の環状ジペプチド又はその塩の使用。

Cyclo (Arg-Phe)、Cyclo (Arg-Tyr)、Cyclo

o (G l u - L e u) 、 C y c l o (H i s - P h e) 、 C y c l o (P h e - T r p) 、 C y c l o (T r p - A s n) 、 C y c l o (H y p - A l a) 及び C y c l o (L e u - L y s) からなる群より選択される少なくとも1種の環状ジペプチド又はその塩を投与する、 β -セクレターゼの阻害方法。

β -セクレターゼを阻害するための、C y c l o (A r g - P h e) 、 C y c l o (A r g - T y r) 、 C y c l o (G l u - L e u) 、 C y c l o (H i s - P h e) 、 C y c l o (P h e - T r p) 、 C y c l o (T r p - A s n) 、 C y c l o (H y p - A l a) 及び C y c l o (L e u - L y s) からなる群より選択される少なくとも1種の環状ジペプチド又はその塩の使用。

上記方法は、治療的な方法であってもよく、非治療的な方法であってもよい。上記使用は、治療的な使用であってもよく、非治療的な使用であってもよい。

[0054] 上記方法及び使用においては、1日に1回以上、例えば、1日1回～数回（例えば2～3回）、上記の環状ジペプチド又はその塩を対象に摂取させる又は投与することが好ましい。上記の使用は、好ましくはヒト又は非ヒト哺乳動物、より好ましくはヒトにおける使用である。一態様において、C y c l o (A r g - P h e) 、 C y c l o (A r g - T y r) 、 C y c l o (G l u - L e u) 、 C y c l o (H i s - P h e) 、 C y c l o (P h e - T r p) 、 C y c l o (T r p - A s n) 又はその塩は、認知機能の低下に関連する状態または疾患を予防又は改善するために使用することができる。また、C y c l o (A r g - P h e) 、 C y c l o (A r g - T y r) 、 C y c l o (G l u - L e u) 、 C y c l o (H i s - P h e) 、 C y c l o (P h e - T r p) 、 C y c l o (T r p - A s n) 、 C y c l o (H y p - A l a) 、 C y c l o (L e u - L y s) 又はその塩は、 β -セクレターゼの阻害がその予防又は改善に有効である状態または疾患を予防又は改善するために使用することができる。また、C y c l o (A r g - P h e) 、 C y c

Cyclo (Arg-Tyr)、Cyclo (Glu-Leu)、Cyclo (His-Phe)、Cyclo (Phe-Trp)、Cyclo (Trp-Asn)、Cyclo (Hyp-Ala)、Cyclo (Leu-Lys) 又はその塩は、アミロイドβの産生及び／又は蓄積に関連する状態又は疾患を予防又は改善するために使用することができる。上記の各環状ジペプチド又はその塩を投与する、認知機能の低下に関連する状態又は疾患を予防又は改善する方法、β-セクレターゼの阻害がその予防又は改善に有効である状態又は疾患を予防又は改善する方法、及び、アミロイドβの産生及び／又は蓄積に関連する状態又は疾患の予防又は改善方法も本発明に包含される。

[0055] 上記方法及び使用においては、認知機能の低下抑制又は改善効果、β-セクレターゼの阻害効果、又は、アミロイドβの産生及び／又は蓄積抑制効果が得られる量（有効量ということもできる）の上記環状ジペプチド又はその塩を使用すればよい。上記の環状ジペプチド又はその塩の好ましい投与量、投与方法、投与対象等は上述した第一及び第二の本発明の組成物と同じである。上記の環状ジペプチド又はその塩は、そのまま摂取又は投与してもよく、これを含む組成物として摂取又は投与してもよい。例えば、第一又は第二の本発明の組成物を摂取又は投与してもよい。

[0056] Cyclo (Arg-Phe)、Cyclo (Arg-Tyr)、Cyclo (Glu-Leu)、Cyclo (His-Phe)、Cyclo (Phe-Trp)、Cyclo (Trp-Asn) 又はその塩は、認知機能の低下抑制又は改善のために使用される飲食品、医薬品、医薬部外品、飼料等の製造のために使用することができる。

一態様において、本発明は、認知機能の低下抑制又は改善用組成物の製造における、Cyclo (Arg-Phe)、Cyclo (Arg-Tyr)、Cyclo (Glu-Leu)、Cyclo (His-Phe)、Cyclo (Phe-Trp)、Cyclo (Trp-Asn) からなる群より選択される少なくとも1種の環状ジペプチド又はその塩の使用、も包含する。

Cyclo (Arg-Phe)、Cyclo (Arg-Tyr)、Cyclo

o (G l u - L e u) 、 C y c l o (H i s - P h e) 、 C y c l o (P h e - T r p) 、 C y c l o (T r p - A s n) 、 C y c l o (H y p - A l a) 、 C y c l o (L e u - L y s) 又はその塩は、 β -セクレターゼの阻害のため、又は、アミロイド β の産生及び／又は蓄積の抑制のために使用される飲食品、医薬品、医薬部外品、飼料等の製造のために使用することができる。

一態様において、本発明は、 β -セクレターゼ阻害用組成物、又は、アミロイド β の産生及び／又は蓄積の抑制用組成物の製造における、C y c l o (A r g - P h e) 、 C y c l o (A r g - T y r) 、 C y c l o (G l u - L e u) 、 C y c l o (H i s - P h e) 、 C y c l o (P h e - T r p) 、 C y c l o (T r p - A s n) 、 C y c l o (H y p - A l a) 及びC y c l o (L e u - L y s) からなる群より選択される少なくとも1種の環状ジペプチド又はその塩の使用、も包含する。

[0057] 本明細書において下限値と上限値によって表されている数値範囲、即ち「下限値～上限値」は、それら下限値及び上限値を含む。例えば、「1～2」により表される範囲は、1以上2以下を意味し、1及び2を含む。本明細書において、上限及び下限は、いずれの組み合わせによる範囲としてもよい。なお、本明細書中に記載された学術文献及び特許文献の全ては、参照として本明細書に組み入れられる。

実施例

[0058] 以下、本発明を実施例により更に詳しく説明するが、これにより本発明の範囲を限定するものではない。

[0059] <実施例1>

各環状ジペプチドについて、 β -セクレターゼ (BACE1) 阻害活性を評価した。

[0060] (材料及び方法)

A. 試薬

BACE1 Inhibitor Screening Kit (Fluo

rometric) は、Abcam社から入手した。

各環状ジペプチド (Cyclo (Arg-Phe)、Cyclo (Arg-Tyr)、Cyclo (Glu-Leu)、Cyclo (His-Phe)、Cyclo (Phe-Trp)、Cyclo (Trp-Asn)、Cyclo (Hyp-Ala) 及びCyclo (Leu-Lys)) は、Axil Scientific Pte社から購入した。

他の試薬は、Sigma-Aldrich社から購入した。

[0061] B. BACE1 阻害アッセイ

BACE1 Inhibitor Screening Kit (Fluorometric) を用いて、各環状ジペプチドのBACE1 阻害活性を評価した。

BACE1 阻害アッセイは、キットの製造元のプロトコルに従って実施した。各環状ジペプチドを、100倍 (100×) の高ストック濃度でジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解した後、アッセイバッファーで試験濃度の2倍 (2×) に希釈した。得られた各環状ジペプチドの希釈液を、下記の実験に使用した。

BACE1 enzyme assay mixは、ストック酵素 (25×) をアッセイバッファーで希釈して調製した。得られた希釈酵素液50μLに、各環状ジペプチドの希釈液50μLを混合し、平底96ウェルブラックプレートの任意のウェルに移し、reaction mixを調製した。Tecan Spark (登録商標) マルチモードマイクロプレートリーダーを用いて、37℃で30分間、アッセイプレートの蛍光 (λEx/λEm=345/500nm) 読み出しをモニターした。各サンプルの相対阻害率 (%) は、製造元のプロトコルにしたがって、蛍光測定値から算出した。

[0062] (統計分析)

統計分析は、GraphPad Prism version 7.0 (San Diego, California, USA) を使用して行った。各環状ジペプチドのベストフィットIC50値 (以下、IC50という)

を、濃度とそれぞれの相対阻害率を $\log$ （環状ジペプチド）対正規化阻害率の式にあてはめて求めた。

[0063]（結果）

各環状ジペプチドは、BACE 1 を阻害する作用を有した。各環状ジペプチドの IC_{50} ($\mu g/mL$) を、表 1 に示す。

[0064] [表1]

環状ジペプチド	IC_{50} ($\mu g/mL$)
Cyclo(Arg-Phe)	28.2
Cyclo(Arg-Tyr)	430.8
Cyclo(Glu-Leu)	50.0
Cyclo(His-Phe)	370.7
Cyclo(Hyp-Ala)	109.4
Cyclo(Leu-Lys)	272.7
Cyclo(Phe-Trp)	126.4
Cyclo(Trp-Asn)	36.2

[0065] 表 2 に、様々な濃度でテストした各環状ジペプチドの相対阻害%を示す。表 2 には、BACE 1 阻害率の値の平均 (%) を示した ($n = 2$)。各環状ジペプチドの濃度及び相対阻害率の値 (%) を $\log$ （環状ジペプチド）対正規化阻害方程式に当てはめ、実験的な IC_{50} 値を求めた（表 1）。

[0066]

[表2]

濃度 (mg/mL)	BACE1阻害(%)									
4.5	99.4	92.5		98	97.7					
1.5	98.6	77.7		82.5	92					
0.5	95.7	53.2		59.5	79.9					
0.166665	88.1	27.3		25.4	55.5					
0.09			68.7			32.5	47.1	61.5		
0.0555555	68.4	12.6		14.2	40.6					
0.03			32.9			19.4	23.3	48.3		
0.015	32.8	4.52		1.54	10.9					
0.01			12.6			10	21.2	33		
ジペプチド 環状	Cyclo (Arg-Phe)	Cyclo (Arg-Tyr)	Cyclo (Glu-Leu)	Cyclo (His-Phe)	Cyclo (Hyp-Ala)	Cyclo (Leu-Lys)	Cyclo (Phe-Trp)	Cyclo (Trp-Asn)		

[0067] BACE 1 は、アミロイド前駆体タンパク質からアミロイドベータ（Aβ）ペプチドを生成する際に主要な役割を果たすアスパルチルプロテアーゼである。Aβペプチド濃度と認知機能の間には強い正の相関があり（参考文献1）、アルツハイマー病モデルにおけるBACE 1 活性の上昇の証拠（参考文献2）と相まって、BACE 1 阻害が認知機能低下を遅らせるための有望な

戦略であること（参考文献3）が示唆された。

BACE 1 阻害アッセイの結果、各環状ジペプチドが28.2～430.8 $\mu\text{g/mL}$ のIC50値でBACE 1を阻害できることが示された（表1）。

参考文献1：Naslund et al., JAMA 2000, 283 (12), 1571–1577

参考文献2：Fukumoto et al., Arch. Neurol. 2002, 59 (9), 1381–9.

参考文献3：McDade et al., Nature Reviews Neurology 2021, 17 (11), 703–714.

請求の範囲

- [請求項1] Cyclo (Arg-Phe)、Cyclo (Arg-Tyr)、Cyclo (Glu-Leu)、Cyclo (His-Phe)、Cyclo (Phe-Trp) 及び Cyclo (Trp-Asn) からなる群より選択される少なくとも1種の環状ジペプチド又はその塩を含む、認知機能の低下抑制又は改善用組成物。
- [請求項2] さらに、Cyclo (Hyp-Ala) 及び Cyclo (Leu-Lys) からなる群より選択される少なくとも1種の環状ジペプチド又はその塩を含む、請求項1に記載の組成物。
- [請求項3] アミロイド β の産生及び／又は蓄積を抑制する、請求項1に記載の組成物。
- [請求項4] β -セクレターゼを阻害することによりアミロイド β の産生及び／又は蓄積を抑制する、請求項1に記載の組成物。
- [請求項5] Cyclo (Arg-Phe)、Cyclo (Arg-Tyr)、Cyclo (Glu-Leu)、Cyclo (His-Phe)、Cyclo (Phe-Trp)、Cyclo (Trp-Asn)、Cyclo (Hyp-Ala) 及び Cyclo (Leu-Lys) からなる群より選択される少なくとも1種の環状ジペプチド又はその塩を含む、 β -セクレターゼ阻害用組成物。
- [請求項6] β -セクレターゼを阻害することによりアミロイド β の産生及び／又は蓄積を抑制する、請求項5に記載の組成物。
- [請求項7] 経口用組成物である、請求項1～6のいずれかに記載の組成物。
- [請求項8] 飲食品又は経口医薬品である、請求項1～6のいずれかに記載の組成物。
- [請求項9] 「認知機能を高める」、「認知機能の低下を抑える」、「認知機能を良好に保つ」、「記憶力を高める」、「記憶力の低下を抑える」、「記憶力を良好に保つ」、「記憶の精度を高める」、「記憶障害を予防する」、「記憶障害を改善する」、「認知機能の一部である記憶力を

維持する」、「記憶力の低下が気になる方に適した機能」、「認知機能の一部である記憶力の精度や判断の正確さを向上させる」、「記憶の保持又は統合を改善する」、「認知機能の強化を維持する」、「遂行機能を改善する」、「注意力と集中力を促進する」、「学習能力を改善する」、「見当識を維持又は改善する」、「加齢に伴う認知機能低下を遅延する」、「短期及び長期記憶を強化する」、「言語的及び視空間記憶を促進する」及び「論理的思考力を維持又は改善する」からなる群より選択される1又は2以上の機能の表示を付されたものである、請求項1～6のいずれかに記載の組成物。