

明 細 書

発明の名称：

アミロイド β の産生抑制及び／又は蓄積抑制用組成物

技術分野

[0001] 本発明は、アミロイド β の産生抑制及び／又は蓄積抑制用組成物等に関する。

背景技術

[0002] アミロイド β （A β ）は、脳内で産生されるタンパク質の一種である。アミロイド β 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、凝集したアミロイド β 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。従って、アミロイド β の産生又は蓄積を抑制することは、例えば、アルツハイマー病の予防又は病気の進行の抑制に有効であると考えられる。

[0003] アルツハイマー病の症状を改善する医薬品として、アセチルコリンエステラーゼ阻害剤が知られている。アセチルコリンエステラーゼの阻害は、脳内におけるアセチルコリン量を増加させ、認知機能低下の進行の抑制に有効である。しかしながら、アセチルコリンエステラーゼ阻害によって、アミロイド β の産生を抑制したり、蓄積したアミロイド β を除去したりすることはできない。飲食品等として日常的に摂取することができ、アミロイド β の産生又は蓄積を抑制することができる物質が求められている。

[0004] 一方、環状ジペプチドが脳機能に影響を与えることが報告されている。特許文献1には、C y c l o（G l y－P r o）を含有する、認知機能の低下抑制及び／又は改善剤が記載されている。

先行技術文献

特許文献

[0005] 特許文献1：特開2020-196686号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0006] 本発明は、アミロイド β の産生抑制及び／又は蓄積抑制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シクロロイシルフェニルアラニン（C y c l o (L e u - P h e)）、及び、シクロロイシルリジン（C y c l o (L e u - L y s)）が、アミロイド β の産生抑制及び／又は蓄積抑制に有効であることを見出した。

[0008] すなわち、本発明は、これに限定されるものではないが、以下のアミロイド β の産生抑制及び／又は蓄積抑制用組成物等に関する。

〔1〕 C y c l o (L e u - P h e)、C y c l o (L e u - L y s) 及びこれらの塩からなる群より選択される少なくとも1種を有効成分として含む、アミロイド β の産生抑制及び／又は蓄積抑制用組成物。

〔2〕 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〕に記載の組成物。

〔3〕 上記組成物が、経口用である、上記〔1〕又は〔2〕に記載の組成物。

〔4〕 上記組成物が、飲食品又は医薬品である、上記〔1〕～〔3〕のいずれかに記載の組成物。

〔5〕 上記組成物が、「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・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・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〕～〔4〕のいずれかに記載の組成物。

〔6〕アミロイド β の産生抑制及び／又は蓄積抑制用組成物の製造における、Cyclo (Leu-Phe)、Cyclo (Leu-Lys) 及びこれらの塩からなる群より選択される少なくとも1種の使用。

〔7〕アミロイド β の産生抑制及び／又は蓄積抑制のための、Cyclo (Leu-Phe)、Cyclo (Leu-Lys) 及びこれらの塩からなる群より選択される少なくとも1種の使用。

発明の効果

[0009] 本発明によれば、アミロイド β の産生抑制及び／又は蓄積抑制用組成物を提供することができる。本発明の組成物は、アミロイド β の産生抑制及び／又は蓄積抑制のための飲食品、医薬品等として使用することができる。

図面の簡単な説明

[0010] [図1]図1は、被験化合物非添加群 (Control)、Cyclo (Leu-Ala) (比較例1) 及びCyclo (Leu-Phe) (実施例1～4) の β -セクレターゼ (BACE) 阻害活性を示すグラフである。

[図2]図2は、被験化合物非添加群 (Control)、Cyclo (Leu-Ala) (比較例1) 及びCyclo (Leu-Lys) (実施例5) の β -セクレターゼ (BACE) 阻害活性を示すグラフである。

発明を実施するための形態

[0011] 本発明のアミロイド β の産生抑制及び／又は蓄積抑制用組成物は、Cyclo (Leu-Phe)、Cyclo (Leu-Lys) 及びこれらの塩からなる群より選択される少なくとも1種を含む。本発明のアミロイド β の産生抑制及び／又は蓄積抑制用組成物は、Cyclo (Leu-Phe)、Cyclo (Leu-Lys) 及びこれらの塩からなる群より選択される少なくとも1種を有効成分として含む。本明細書中、本発明のアミロイド β の産生抑制及び／又は蓄積抑制用組成物を、本発明の組成物ということもある。本

発明の組成物は、アミロイド β の産生を抑制するため、及び／又は、アミロイド β の蓄積を抑制するために使用されるものである。

[0012] 本発明において使用されるCyclo (Leu-Phe) (シクロロイシルフェニルアラニン)、Cyclo (Leu-Lys) (シクロロイシルリジン) は、それぞれ、ロイシン及びフェニルアラニン、ロイシン及びリジンが縮合結合した構造を有する環状ジペプチドである。本明細書中、Cyclo (Leu-Phe)、Cyclo (Leu-Lys) を、それぞれ、CLF、CLKと記載することもある。

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 (Leu-Phe) とCyclo (Phe-Leu) (シクロフェニルアラニルロイシン) とは同じ環状ジペプチドを表す。Cyclo (Leu-Lys) とCyclo (Lys-Leu) (シクロリジルロイシン) とは同じ環状ジペプチドを表す。

[0013] CLF、CLK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。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。

[0014] CLF、CLK及びこれらの塩の由来及び製造方法は特に制限されない。CLF、CLK又はこれらの塩は、公知の方法に従って製造することができる。

。CLF、CLK及びこれらの塩は、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、CLF、CLK等の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。

CLF、CLK及びこれらの塩は、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。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、CLF、CLK及びこれらの塩は、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。CLF、CLK及びこれらの塩は、市販品を使用することもできる。

[0015] アミロイド 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。アミロイド 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_{1-42} 、アミロイド β_{1-40} 等が挙げられる。

非会合状態のアミロイド β は、アミロイド β モノマーと呼ばれることもある。アミロイド β は、2位個以上で凝集体を形成していてもよい。アミロイド β は、例えば、アミロイド 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_{1-42} オリゴマー、アミロイド β_{1-40} オリゴマー等が挙げられる。本発明におけるアミロイド β には、非会合状態のアミロイド β 、オリゴマー等の凝集体を形成しているアミロイド β が含まれる。

[0016] アミロイド β は、アミロイド β 前駆体タンパク質（APP）が、 β -セクレターゼ及び γ -セクレターゼによって2段階で切断されて生成する。 β -セクレターゼは、アミロイド β 産生の律速酵素であり、その切断が総アミロイド β 産生量を規定している。このため、 β -セクレターゼを阻害することに

よって、アミロイド β の産生を抑制することができ、アミロイド β の蓄積を抑制することができる。

[0017] C L F、C L K及びこれらの塩は、 β -セクレターゼ阻害作用を有する。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 の産生を抑制するため、及び／又は、蓄積を抑制するために使用することができる。C L F、C L K及びこれらの塩は、 β -セクレターゼ阻害のための有効成分として有用である。C L F、C L K及びこれらの塩からなる群より選択される少なくとも1種を含む、 β -セクレターゼ阻害用組成物も本発明に包含される。

一態様において、本発明の組成物は、C y c l o (L e u - P h e) 又はその塩を有効成分として含むものであってよい。また、別の一態様において、本発明の組成物は、C y c l o (L e u - L y s) 又はその塩を有効成分として含むものであってよい。

[0018] 本発明の組成物は、脳内におけるアミロイド β の産生抑制及び／又は蓄積抑制のために使用することができる。一態様において、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 の産生を抑制及び／又は蓄積を抑制するために使用することができる。

[0019] 一態様において、本発明の組成物は、アミロイド β の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 の蓄積を伴う又はアミロイド β の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 の蓄積を伴う又はアミロイド β の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）、軽度認知障害等が挙げられる。

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、上記の状態又は疾患の予防に好適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。

[0020] アルツハイマー病及び軽度認知障害では、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、情報処理速度低下等が挙げられる。アミロイド β の産生又は蓄積を抑制することによって、認知機能低下の予防又は認知機能の改善効果、例えば、上記の症状の予防又は改善効果が得られることが期待できる。

[0021] 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。

本発明のアミロイド β の産生抑制及び／又は蓄積抑制用組成物は、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、本発明のアミロイド β の産生抑制及び／又は蓄積抑制用組成物は、アミロイド β の産生抑制及び／又は蓄積抑制剤ということもできる。 β -セクレターゼ阻害用組成物は、 β -セクレターゼ阻害剤ということもできる。

[0022] 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。本発明の組成物は、好ましくは経口用組成物である。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。

[0023] 本発明の組成物は、CLF、CLK及びこれらの塩からなる群より選択される少なくとも1種を含み、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。

[0024] 例えば、本発明の組成物を飲食品とする場合、CLF、CLK及びこれらの塩からなる群より選択される少なくとも1種に、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。

[0025] 本発明の組成物を医薬品又は医薬部外品とする場合、CLF、CLK及びこれらの塩からなる群より選択される少なくとも1種に、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。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。

[0026] 本発明の組成物を飼料とする場合には、CLF、CLK及びこれらの塩からなる群より選択される少なくとも1種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。

[0027] 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、CLF、CLK及びこれらの塩からなる群より選択される少なくとも1種を用いて、一般的な方法により製造することができる。

[0028] 一態様において、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。

[0029] 本発明の組成物に含まれるCLF、CLK及びこ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、本発明の組成物におけるCLF、CLK及びこれらの塩の合計の含有量は、例えば、0.00001重量%以上であってよく、0.0001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、0.1重量%以上が特に好ましく、また、50重量%以下が好ましい。一態様において、CLF、CLK及びこれらの塩の合計の含有量は、例えば、本発明の組成物中に0.00001～25重量%であってよく、0.0001～10重量%が好ましく、0.001～5

重量%がより好ましく、0.01～5重量%が更に好ましく、0.1～1重量%が特に好ましい。

CLF、CLK及びこれらの塩は、例えば、液体クロマトグラフィー質量分析法（LC/MS）により公知の方法で定量することが可能である。

[0030] 本発明の組成物にCLF又はその塩が含まれる場合、その含有量は特に制限されないが、例えば、0.00001～20重量%であることが好ましい。より好ましくは0.0001～10重量%であり、更に好ましくは0.001～5重量%であり、更により好ましくは0.01～2重量%であり、特に好ましくは0.1～1重量%である。

[0031] 本発明の組成物にCLK又はその塩が含まれる場合、その含有量は特に制限されないが、例えば、0.0001～20重量%であることが好ましい。より好ましくは0.001～10重量%であり、更に好ましくは0.01～5重量%であり、更により好ましくは0.1～2重量%であり、特に好ましくは0.1～1重量%である。

[0032] 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。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。本発明の組成物の投与量は、アミロイド β の産生抑制及び／又は蓄積抑制効果が得られるような量であればよく、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。本発明の組成物の投与量は、 β -セクレターゼ阻害効果が得られるような量であることが好ましい。

[0033] 一態様において、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、CLF、CLK及びこれらの塩の合計の投与量（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、さらに好ましくは0.1mg以上、また、好ましくは5000mg以下、より好ましくは1000mg以下、さらに好ましくは100mg以下である。一態様において、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、CLF、CLK及びこれらの塩の合計の投与量として、1日あたり、好ましくは0.001～5000m

g、より好ましくは0.01～1000mg、さらに好ましくは0.1～100mgである。

上記量を、1日1回以上、例えば、1日1回又は数回（例えば2～3回）に分けて、摂取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CLF、CLK及びこれらの塩からなる群より選択される少なくとも1種を、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日当たり体重60kg当たり上記量のCLF、CLK及びこれらの塩からなる群より選択される少なくとも1種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、本発明の組成物は、ヒトに、体重60kgあたり、1日あたり上記量のCLF、CLK及びこれらの塩からなる群より選択される少なくとも1種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。

[0034] 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。CLF、CLK及びこれらの塩からなる群より選択される少なくとも1種を継続的に摂取させる又は投与することによって、より高い効果が得られることが期待される。一態様において、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、さらに好ましくは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。

CLF、CLK及びこれらの塩は、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。

[0035] 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、本発明の組成物の投与対象として、アミロイド β の産生抑制及び／又は蓄積抑制を必要とする又は希望する対象、アミロイド β の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、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、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、脳内におけるアミロイド β の産生抑制及び／又は蓄積抑制、脳内におけるアミロイド β の蓄積予防、アルツハイマー病又は軽度認知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。

[0036] 本発明の組成物には、アミロイド β の産生抑制及び／又は蓄積抑制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。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・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・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、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。

[0037] 本発明は、以下の方法及び使用も包含する。

Cyclo (Leu-Phe)、Cyclo (Leu-Lys) 及びこれらの塩からなる群より選択される少なくとも1種を投与する、アミロイド β の産生抑制及び／又は蓄積抑制方法。

Cyclo (Leu-Phe)、Cyclo (Leu-Lys) 及びこれら

の塩からなる群より選択される少なくとも1種を投与する、 β -セクレターゼ阻害方法。

アミロイド β の産生抑制及び／又は蓄積抑制のための、Cyclo (Leu-Phe)、Cyclo (Leu-Lys) 及びこれらの塩からなる群より選択される少なくとも1種の使用。

β -セクレターゼを阻害するための、Cyclo (Leu-Phe)、Cyclo (Leu-Lys) 及びこれらの塩からなる群より選択される少なくとも1種の使用。

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。

[0038] 一態様において、Cyclo (Leu-Phe)、Cyclo (Leu-Lys) 又はこれらの塩は、 β -セクレターゼ阻害によって、アミロイド β の産生を抑制するため、及び／又は、蓄積を抑制するために使用することができる。

[0039] 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）、CLF、CLK及びこれらの塩からなる群より選択される少なくとも1種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、CLF、CLK及びこれらの塩からなる群より選択される少なくとも1種は、 β -セクレターゼ阻害によって、アミロイド β の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。CLF、CLK及びこれらの塩からなる群より選択される少なくとも1種を投与する、アミロイド β の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。

[0040] 上記方法及び使用においては、アミロイド β の産生抑制及び／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CLF、CLK及びこれらの塩からなる群より選択される少なくとも1種を使用すればよい。上記有

効量は、 β -セクレターゼ阻害効果が得られるような量であることが好ましい。CLF、CLK及びこれらの塩からなる群より選択される少なくとも1種の好ましい投与量、投与方法、投与対象等は上述した本発明の組成物と同じである。CLF、CLK又はこれらの塩は、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、本発明の組成物を摂取又は投与してもよい。

[0041] CLF、CLK及びこれらの塩からなる群より選択される少なくとも1種は、アミロイド β の産生抑制及び／又は蓄積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、アミロイド β の産生抑制及び／又は蓄積抑制用組成物の製造における、CLF、CLK及びこれらの塩からなる群より選択される少なくとも1種の使用、も包含する。本発明は、 β -セクレターゼ阻害用組成物の製造における、CLF、CLK又はこれらの塩の使用、も包含する。CLF、CLK及びこれらの塩からなる群より選択される少なくとも1種は、アミロイド β の蓄積に関連する状態又は疾患の予防又は改善用組成物の製造のために使用することができる。

[0042] 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。

実施例

[0043] 以下、本発明を実施例によりさら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。

[0044] <実施例1～5及び比較例1>

(β -セクレターゼ阻害活性を有する化合物の評価)

材料と方法

シクロロイシルアラニン (Cyclo (Leu-Ala)) (以下、CLAともいう。)、シクロロイシルフェニルアラニン (Cyclo (Leu-Phe

)) 及びシクロロイシルリジン (C y c l o (L e u - L y s)) の β セクレターゼ阻害活性を調べた。なお、被験化合物としての C y c l o (L e u - A l a)、C y c l o (L e u - P h e) は B a c h e m 社から、C y c l o (L e u - L y s) は株式会社ペプチド研究所から購入した。

β -セクレターゼ阻害活性の評価には、市販のキット B e t a S e c r e t a s e (B A C E 1) A c t i v i t y A s s a y K i t (a b c a m) を用いた。キットに記載の方法に従って、 β -セクレターゼ酵素活性の阻害効果を評価した。

96 W e l l P l a t e (C o r n i n g) 上でサンプル液 (被験化合物溶液) と酵素液を混合した後、37℃で10分間プレインキュベートした。その後、基質液を添加し、37℃で60分間反応させた。反応開始後0分から60分まで5分ごとに、マイクロプレートリーダー F l e x S t a t i o n 3 (M o l e c u l a r D e v i c e s) で、反応液の蛍光強度 (R F U) (E x / E m = 335 n m / 495 n m) を測定した。n = 2 で反応を行い、反応液の蛍光強度の平均値を測定値とした。

評価における各被験化合物の濃度 (最終濃度) は、表1の通りとして実施した。

[0045] [表1]

	化合物	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)
Control	非添加	—
比較例1	Cyclo(Leu-Ala)	20
実施例1	Cyclo(Leu-Phe)	19
実施例2	Cyclo(Leu-Phe)	9.5
実施例3	Cyclo(Leu-Phe)	4.75
実施例4	Cyclo(Leu-Phe)	2.375
実施例5	Cyclo(Leu-Lys)	17

[0046] 酵素活性の評価には反応液の Δ 蛍光強度 (反応終了時の蛍光強度 (60分) - 反応開始前蛍光強度 (0分)) を使用した。被験化合物非添加群を C o n t r o l とした。各被験化合物の阻害活性は、C o n t r o l の酵素活性 (Δ 蛍光強度) を1として評価を行った。

[0047] 結果

図1、2は、被験化合物の β -セクレターゼ（BACE）阻害活性を示すグラフである。

結果は、平均 $\pm$ 標準偏差（ $n=2$ ）で示した。図1、2に示すBACE活性は、ControlのBACE活性（Controlの Δ 蛍光強度）を1とした場合の、被験化合物のBACE活性（被験化合物を添加した反応液の Δ 蛍光強度）の相対値である。

比較例1として測定したシクロロイシルアラニン（Cyclo（Leu-Ala））では阻害活性が確認されなかったが、シクロロイシルフェニルアラニン（Cyclo（Leu-Phe））（実施例1～4）及びシクロロイシルリジン（Cyclo（Leu-Lys））（実施例5）について、 β -セクレターゼの酵素活性の低下が確認された。

以上の結果より、環状ジペプチドであるCyclo（Leu-Phe）及びCyclo（Leu-Lys）が β -セクレターゼ阻害活性を有していることが明らかになった。

請求の範囲

- [請求項1] Cyclo (Leu-Phe)、Cyclo (Leu-Lys) 及びこれらの塩からなる群より選択される少なくとも1種を有効成分として含む、アミロイド β の産生抑制及び／又は蓄積抑制用組成物。
- [請求項2] 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3] 前記組成物が、経口用である、請求項1又は2に記載の組成物。
- [請求項4] 前記組成物が、飲食品又は医薬品である、請求項1又は2に記載の組成物。
- [請求項5] 前記組成物が、「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・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・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又は2に記載の組成物。
- [請求項6] アミロイド β の産生抑制及び／又は蓄積抑制用組成物の製造における、Cyclo (Leu-Phe)、Cyclo (Leu-Lys) 及びこれらの塩からなる群より選択される少なくとも1種の使用。
- [請求項7] アミロイド β の産生抑制及び／又は蓄積抑制のための、Cyclo (Leu-Phe)、Cyclo (Leu-Lys) 及びこれらの塩からなる群より選択される少なくとも1種の使用。