

明 細 書

発明の名称：

細胞膜透過性と代謝安定性を有する大環状ペプチド化合物、及びこれを含むライブラリ

技術分野

[0001] 本発明は、細胞膜透過性と代謝安定性を有する大環状ペプチド化合物、及びこれを含むライブラリに関する。

背景技術

[0002] 中分子化合物（分子量500～2000）はタンパクータンパク相互作用阻害等に代表されるタフターゲットに対する創薬を実現し得るモダリティとして注目されてきた（非特許文献1）。ペプチドは一般にドラッグライクネス（例えば、代謝安定性、細胞膜透過性（以下、「膜透過性」ともいう。））が低いためにペプチド自体を医薬品として開発することは困難とされてきた。近年になってペプチドの環化やペプチド中にN-メチルアミノ酸に例示される非天然アミノ酸を用いることにより、代謝安定性又は膜透過性が向上することが見出された（非特許文献2、3）。非天然アミノ酸を含む環状ペプチドの中でも、特にN-置換アミノ酸を含む環状ペプチドがドラッグライクネスを有し得ることが知られるようになってきた（特許文献1）。非天然アミノ酸を含む環状ペプチドのライブラリ化合物が、タンパクータンパク相互作用の阻害剤の創製に有用であることも示唆されている（非特許文献4）。さらに近年、膜透過性の高い環状ペプチド化合物、これを含むライブラリ、及びそれらの製造方法、並びにスクリーニング方法が報告され（特許文献2）、またペプチド化合物の膜透過性を向上させることのできるアミノ酸、および該アミノ酸を含むペプチド化合物、およびそれらの製造方法が報告されている（特許文献3）。

[0003] 特許文献1では、膜透過性と代謝安定性の両立を考慮すると環状部を構成するアミノ酸及びアミノ酸類縁体の数は5～12であることが好ましく、特

に9～11残基が好ましいとされている。

[0004] 特許文献2には、脂溶性が高い薬物等の膜透過性を従来法よりも正確に測定する方法として、Caco2細胞を用いたプレインキュベーション法が開示されている。同方法を用いて主に11のアミノ酸残基からなる環状ペプチドの膜透過性が評価されている（特許文献2、3）。

[0005] しかしながら、環状構造を有するアミノ酸残基数が13残基以上の環状ペプチドについて、どのような環状ペプチドであれば、ドラッグライクネスを有するのか十分な検証がなされていないのが現状である。

先行技術文献

特許文献

[0006] 特許文献1：国際公開第2013/100132号

特許文献2：国際公開第2018/225864号

特許文献3：国際公開第2020/122182号

非特許文献

[0007] 非特許文献1：Future Med. Chem., 2009, 1, 1289-1310.

非特許文献2：Acc. Chem. Res., 2008, 41, 1331-1342.

非特許文献3：Angew. Chem. Int. Ed., 2013, 52, 254-269.

非特許文献4：Chem. Rev., 2019, 119, 10360-10391.

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0008] 本発明は、このような状況を鑑みてなされたものであり、代謝安定性と膜透過性に優れた環状ペプチドをスクリーニングするためのライブラリを提供することを課題とする。また本発明は、他の側面において、膜透過性の高い環状ペプチド化合物、又はその製造方法、若しくはスクリーニング方法を提供することを課題とする。

課題を解決するための手段

[0009] 環状ペプチドがより大きいほど、すなわち環状部を構成するアミノ酸残基

数が多いほど標的分子と接触可能な表面積が増加すると考えられる。そのため、標的分子との相互作用獲得という観点では、環状部を構成するアミノ酸残基数の多いペプチドほど有利であると考えられる。そこで本発明者らは、従来考えられていた好ましい範囲から外れた、環状部を構成するアミノ酸残基数が13以上の環状ペプチドにおいて、膜透過性と代謝安定性を両立し得る領域が存在するのか鋭意検討を行った。具体的には、様々な側鎖を有し、13又は14のアミノ酸残基から構成される環状ペプチドを合成し、環状部を構成するアミノ酸残基数が13及び14である環状ペプチド化合物のドラッグライクネスを、肝ミクロソームを用いた代謝安定性試験、及びCaco2細胞を用いた膜透過性試験により評価した。その結果、N-置換アミノ酸数や脂溶性などの物理化学的性質を制御した、13又は14のアミノ酸残基から構成される環状ペプチドにおいても、膜透過性と代謝安定性に優れたペプチド化合物が得られること、及び環状ペプチド化合物をより効率的に得るためのライブラリを見出した。

[0010] 本発明は、以下の〔A1〕～〔A52〕、〔B1〕～〔B73〕、〔C1〕～〔C6〕を提供する。

〔A1〕

核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物であって、

前記環状ペプチド化合物は、環状部を有し、

(1) 前記環状部が13又は14個のアミノ酸残基で構成されており、

(2) 前記環状部を構成するアミノ酸残基のうち、N置換アミノ酸残基の数が7以上であり、同一側鎖のアミノ酸残基の数が3以下であり、天然アミノ酸残基の数が4以下であり、および

(3) ClogP/total amide bond (ClogP/total AB)が1.0～1.8である、核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物。

〔A2〕

前記環状ペプチド化合物を構成するアミノ酸残基の数が13又は14である、〔A1〕に記載の核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物。

〔A 2－1〕

前記環状ペプチド化合物を構成するアミノ酸残基の数が13である、〔A 1〕または〔A 2〕に記載の核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物。

〔A 2－2〕

前記環状ペプチド化合物を構成するアミノ酸残基の数が14である、〔A 1〕または〔A 2〕に記載の核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物。

〔A 3〕

前記環状部を構成するN置換アミノ酸の数が7～13である、〔A 1〕または〔A 2〕に記載の核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物。

〔A 4〕

前記環状部を構成するN置換アミノ酸の数が7～10である、〔A 3〕に記載の核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物。

〔A 5〕

前記環状部を構成するN置換アミノ酸の数が8以上である、〔A 1〕または〔A 2〕のいずれかに記載の核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物。

〔A 6〕

前記環状部を構成するN置換アミノ酸の数が8～13である、〔A 5〕に記載の核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物。

〔A 7〕

前記環状部を構成するN置換アミノ酸の数が8～10である、〔A 6〕に記載の核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物。

〔A 8〕

前記環状部を構成するアミノ酸残基の総数に対するN置換アミノ酸残基の数の割合が60%以上である、〔A 1〕又は〔A 2〕に記載の核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物。

〔A 8－1〕

前記環状部を構成するアミノ酸残基の総数に対するN置換アミノ酸残基の数の割合が65%以上である、〔A 8〕に記載の核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物。

〔A 8－2〕

前記環状部を構成するアミノ酸残基の総数に対するN置換アミノ酸残基の数の割合が70%以上である、〔A 8〕に記載の核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物。

〔A 9〕

前記N置換アミノ酸が、N-アルキルアミノ酸である、〔A 1〕～〔A 8〕のいずれかに記載の核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物。

〔A 1 0〕

前記N-アルキルアミノ酸が、N-C₁-C₆アルキルアミノ酸である、〔A 9〕に記載の核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物。

〔A 1 1〕

前記N-アルキルアミノ酸が、N-メチルアミノ酸またはN-エチルアミノ酸である、〔A 1 0〕に記載の核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物。

〔A 1 2〕

前記N-アルキルアミノ酸が、N-メチルアミノ酸である、〔A 1 1〕に記載の核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物。

〔A 1 3〕

前記環状ペプチド化合物のClogP/total ABが1.0～1.5である、〔A 1 1〕～〔A 1 2〕のいずれかに記載の核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物。

〔A 1 4〕

前記環状ペプチド化合物のClogP/total ABが1.1～1.4である、〔A 1 3〕に記載の核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物。

〔A 1 5〕

前記環状ペプチド化合物のClogPが13～20である、〔A 1〕～〔A 1 4〕のいずれかに記載の核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物。

〔A 1 6〕

前記環状ペプチド化合物が、3以下の水素結合供与体を有する、〔A 1〕～〔A 1 5〕のいずれかに記載の核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物。

〔A 1 7〕

前記環状部を構成するアミノ酸の側鎖が、アルキル基、シクロアルキル基、アラルキル基、およびアミド基からなる群より選択される少なくとも一つから構成され、ここで前記アルキル基は、前記アルキル基の任意の原子と前記アミノ酸のアミノ基の窒素原子が一緒になって環を形成していてもよい、〔A 1〕～〔A 1 6〕のいずれかに記載の核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物。

〔A 1 8〕

前記アルキル基が、ハロゲン原子、ヒドロキシ基、 C_3-C_8 シクロアルキル基、および C_1-C_6 アルコキシ基からなる群より選択される少なくとも1つの基で置換されていてもよい C_1-C_6 アルキル基である、〔A 1 7〕に記載の核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物。

〔A 1 9〕

前記シクロアルキル基が、ハロゲン原子、ヒドロキシ基、 C_1-C_6 アルキル基、 C_1-C_6 ハロアルキル基、 C_1-C_6 アルコキシ基、および C_1-C_6 ハロアルコキシ基からなる群より選択される少なくとも1つの基で置換されていてもよい C_3-C_{10} シクロアルキル基である、〔A 1 7〕または〔A 1 8〕に記載の核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物。

〔A 2 0〕

前記アラルキル基が、ハロゲン原子、 C_1-C_6 アルキル基、 C_1-C_6 ハロアルキル基、 C_1-C_6 アルコキシ基、および C_1-C_6 ハロアルコキシ基から

なる群より選択される少なくとも1つの基で置換されていてもよい C_7-C_{14} アルキル基である、〔A17〕～〔A19〕のいずれかに記載の核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物。

〔A21〕

前記アルキル基が、置換されていてもよい C_5-C_{10} アリール C_1-C_6 アルキル基であり、前記 C_5-C_{10} アリール基は、ハロゲン原子、 C_1-C_6 アルキル基、 C_1-C_6 ハロアルキル基、 C_1-C_6 アルコキシ基、および C_1-C_6 ハロアルコキシ基からなる群より選択される少なくとも1つの基で置換されていてもよい、〔A17〕～〔A20〕のいずれかに記載の核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物。

〔A22〕

前記アミド基が、式： $-CONR^1R^2$ で表され、式中、 R^1 および R^2 は、それぞれ独立して、水素原子、または C_1-C_6 アルキル基であるか、あるいは R^1 及び R^2 は、それらが結合している窒素原子と一緒にあって4～8員飽和複素環を形成し、該4～8員飽和複素環は、ハロゲン原子、オキソ基、 C_1-C_6 アルキル基、および4～7員ヘテロシクリル基からなる群より独立して選択される少なくとも1つの基で置換されていてもよい、〔A17〕～〔A21〕のいずれかに記載の核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物。

〔A23〕

前記環状ペプチド化合物が、アミノ酸の側鎖に含まれるカルボキシ基と、他のアミノ酸のアミノ基の窒素原子の間で形成されたアミド結合を少なくとも1つ含む、〔A1〕～〔A22〕のいずれかに記載の核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物。

〔A24〕

前記環状ペプチド化合物が、Asp-pipおよびMeAsp-pipからなる群より選択されるアミノ酸を含む、〔A1〕～〔A23〕のいずれかに記載の核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物。

〔A25〕

前記環状部を構成するアミノ酸が、Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Thr、Phe、Pro、Abu、D-Ala、D-MeAla、D-MeVal、D-Val、Hph、MeAbu、MeAla、MeGly、MeIle、MeLeu、MePhe、MeThr、MeVal、nBuGly、Ser(tBu)、Asp-pip、bAla、bMeAla、D-3-Abu、D-3-MeAbu、MeAsp-pip、およびgMeAbuからなる群より選択されるアミノ酸を含む、〔A1〕～〔A24〕のいずれかに記載の核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物。

〔A26〕

前記環状部を構成するアミノ酸が、それぞれ独立に、Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Thr、Phe、Pro、Abu、D-Ala、D-MeAla、D-MeVal、D-Val、Hph、MeAbu、MeAla、MeGly、MeIle、MeLeu、MePhe、MeThr、MeVal、nBuGly、Ser(tBu)、Asp-pip、bAla、bMeAla、D-3-Abu、D-3-MeAbu、MeAsp-pip、およびgMeAbuからなる群より選択されるアミノ酸である、〔A1〕～〔A25〕のいずれかに記載の核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物。

〔A27〕

前記環状部を構成するアミノ酸が α -アミノ酸を含み、該 α -アミノ酸の数が10～14である、〔A1〕～〔A26〕のいずれかに記載の核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物。

〔A28〕

前記環状部を構成するアミノ酸が、Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Thr、Phe、Pro、Abu、D-Ala、D-MeAla、D-MeVal、D-Val、Hph、MeAbu、MeAla、MeGly、MeIle、MeLeu、MePhe、MeThr、MeVal、nBu

Gly、及びSer(tBu)からなる群より選択される α -アミノ酸を含む、〔A1〕～〔A27〕のいずれかに記載の核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物。

〔A29〕

前記環状部を構成するアミノ酸のうち、 α -アミノ酸が、それぞれ独立に、Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Thr、Phe、Pro、Abu、D-Ala、D-MeAla、D-MeVal、D-Val、Hph、MeAbu、MeAla、MeGly、MeIle、MeLeu、MePhe、MeThr、MeVal、nBuGly、及びSer(tBu)からなる群より選択される、〔A27〕または〔A28〕に記載の核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物。

〔A30〕

前記環状部を構成するアミノ酸が β -アミノ酸骨格を有するアミノ酸を含み、該 β -アミノ酸骨格を有するアミノ酸の数が0～2である、〔A1〕～〔A31〕のいずれかに記載の核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物。

〔A31〕

前記環状部を構成するアミノ酸が、Asp-pip、bAla、bMeAla、D-3-Abu、D-3-MeAbu、及びMeAsp-pipからなる群より選択される β -アミノ酸骨格を有するアミノ酸を含む、〔A1〕～〔A30〕のいずれかに記載の核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物。

〔A32〕

前記環状部を構成するアミノ酸のうち、 β -アミノ酸骨格を有するアミノ酸が、それぞれ独立に、Asp-pip、bAla、bMeAla、D-3-Abu、D-3-MeAbu、及びMeAsp-pipからなる群より選択される、〔A30〕または〔A31〕に記載の核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物。

〔A 3 3〕

前記環状部を構成するアミノ酸が γ -アミノ酸骨格を有するアミノ酸を含み、該 γ -アミノ酸骨格を有するアミノ酸の数が0～2である、〔A 1〕～〔A 3 2〕のいずれかに記載の核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物。

〔A 3 4〕

前記環状部を構成するアミノ酸が、g M e A b uを含む、〔A 1〕～〔A 3 3〕のいずれかに記載の核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物。

〔A 3 5〕

前記環状部を構成するアミノ酸のうち、 γ -アミノ酸が、それぞれ独立に、g M e A b uである、〔A 3 3〕または〔A 3 4〕に記載の核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物。

〔A 3 6〕

前記環状部を構成するアミノ酸のうち、天然アミノ酸の数が1～4である、〔A 1〕～〔A 3 5〕のいずれかに記載の核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物。

〔A 3 7〕

前記環状部を構成するアミノ酸が、G l y、A l a、V a l、L e u、I l e、T h r、P h e、およびP r oからなる群より選択される天然アミノ酸を含む、〔A 1〕～〔A 3 6〕のいずれかに記載の核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物。

〔A 3 8〕

前記環状部を構成するアミノ酸のうち、天然アミノ酸が、それぞれ独立に、G l y、A l a、V a l、L e u、I l e、T h r、P h e、及びP r oからなる群より選択される、〔A 3 7〕に記載の核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物。

〔A 3 9〕

前記環状部を構成するアミノ酸のうち、非天然アミノ酸の数が9以上である、〔A1〕～〔A38〕のいずれかに記載の核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物。

〔A40〕

前記環状部を構成するアミノ酸が、Abu、Asp-pip、bAla、bMeAla、D-3-Abu、D-3-MeAbu、D-Ala、D-MeAla、D-MeVal、D-Val、gMeAbu、Hph、MeAbu、MeAla、MeAsp-pip、MeGly、MeIle、MeLeu、MePhe、MeThr、MeVal、nBuGly、及びSer(tBu)からなる群より選択される非天然アミノ酸を含む、〔A1〕～〔A39〕のいずれかに記載の核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物。

〔A41〕

前記環状部を構成するアミノ酸のうち、非天然アミノ酸が、それぞれ独立に、Abu、Asp-pip、bAla、bMeAla、D-3-Abu、D-3-MeAbu、D-Ala、D-MeAla、D-MeVal、D-Val、gMeAbu、Hph、MeAbu、MeAla、MeAsp-pip、MeGly、MeIle、MeLeu、MePhe、MeThr、MeVal、nBuGly、及びSer(tBu)からなる群より選択される、〔A36〕～〔A40〕のいずれかに記載の核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物。

〔A42〕

前記環状ペプチド化合物の $Caco-2$ P_{app} (cm/sec) の値が 0.4×10^{-6} 以上である、〔A1〕～〔A41〕のいずれかに記載の核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物。

〔A43〕

前記 $Caco-2$ P_{app} (cm/sec) の値が、以下の条件による膜透過性評価により算出されたものである、〔A44〕に記載の核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物；

(a) C a c o - 2 細胞を 9 6 w e l l トランスウェル上で 3 週間培養した後、A p i c a l 側に評価対象とする化合物と、DMEM培地及びF a S S I F (1 % D M S O 含む) とを添加し、B a s a l 側にDMEM培地を添加し、5 % C O ₂ 雰囲気下、3 7 ° C、8 0 r p m で振盪しながら 2 4 時間プレインキュベーションし、

(b) プレインキュベーション後、A p i c a l 側及びB a s a l 側のプレインキュベーション溶液を吸引除去及び洗浄し、A p i c a l 側に化合物を含むF a S S I F / H B S S 緩衝液 (1 % D M S O 含む、p H 6 . 0) を添加し、B a s a l 側にH B S S 緩衝液 (4 % B S A 含む、p H 7 . 4) を添加し、

(c) 各w e l l は5 % C O ₂ 雰囲気下、3 7 ° C、8 0 r p m で振盪し、振盪開始 1 8 0 分後にB a s a l 側のサンプルを採取し、液体クロマトグラフィー質量分析法 (L C / M S) で化合物の透過量を測定し、

(d) 測定された透過量から透過係数 (C a c o - 2 P _{a p p} (c m / s e c)) を算出する。

[A 4 4]

表 1 5 に記載の化合物 p d 0 0 1 ~ p d 1 6 8 から選択される、環状ペプチド化合物。

[A 4 5]

核酸が連結されている、[A 1] ~ [A 4 4] のいずれかに記載の環状ペプチド化合物 (環状ペプチド-核酸複合体) 。

[A 4 6]

前記環状ペプチド化合物が環状部と直鎖部を有しており、前記核酸が前記直鎖部に結合している、[A 4 5] に記載の環状ペプチド-核酸複合体。

[A 4 7]

前記環状ペプチド化合物がさらにリンカーを含み、

前記核酸が、前記リンカーを介して前記直鎖部に結合している、[A 4 6] に記載の環状ペプチド-核酸複合体。

〔A 4 8〕

前記リンカーがピユーロマイシンを含む、〔A 4 7〕に記載の環状ペプチド-核酸複合体。

〔A 4 9〕

前記核酸がDNA又はRNAである、〔A 4 5〕～〔A 4 8〕のいずれかに記載の環状ペプチド-核酸複合体。

〔A 5 0〕

前記核酸が、環状ペプチド化合物をコードする核酸を含む、〔A 4 5〕～〔A 4 9〕のいずれかに記載の環状ペプチド-核酸複合体。

〔A 5 1〕

前記核酸が、環状ペプチド化合物をコードする核酸である、〔A 4 5〕～〔A 4 9〕のいずれかに記載の環状ペプチド-核酸複合体。

〔A 5 2〕

前記核酸が、環状ペプチド-核酸複合体を形成する環状ペプチド部位をコードする塩基配列を含む、〔A 4 5〕～〔A 4 9〕のいずれかに記載の環状ペプチド-核酸複合体。

[0011] 〔B 1〕

〔A 1〕～〔A 5 2〕のいずれかに記載の核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物を含むライブラリ。

〔B 2〕

核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物を含むライブラリであって、

前記環状ペプチド化合物は、環状部を有しており、

前記ライブラリに含まれる環状ペプチド化合物の総数に対する、前記環状部を構成するアミノ酸残基の数が13又は14である環状ペプチド化合物の数の割合が10%以上である、ライブラリ。

〔B 2-1〕

前記ライブラリに含まれる環状ペプチド化合物の総数に対する、前記環状

部を構成するアミノ酸残基の数が13又は14である環状ペプチド化合物の数の割合が20%以上である、〔B1〕または〔B2〕に記載のライブラリ。

〔B2-2〕

前記ライブラリに含まれる環状ペプチド化合物の総数に対する、前記環状部を構成するアミノ酸残基の数が13又は14である環状ペプチド化合物の数の割合が40%以上である、〔B1〕または〔B2〕に記載のライブラリ。

〔B2-3〕

前記ライブラリに含まれる環状ペプチド化合物の総数に対する、前記環状部を構成するアミノ酸残基の数が13又は14である環状ペプチド化合物の数の割合が60%以上である、〔B1〕または〔B2〕に記載のライブラリ。

〔B2-4〕

前記ライブラリに含まれる環状ペプチド化合物の総数に対する、前記環状部を構成するアミノ酸残基の数が13又は14である環状ペプチド化合物の数の割合が80%以上である、〔B1〕または〔B2〕に記載のライブラリ。

〔B3〕

前記ライブラリが、前記環状部を構成するアミノ酸残基の数が13又は14である環状ペプチド化合物から実質的になる、〔B1〕または〔B2〕に記載のライブラリ。

〔B4〕

前記ライブラリに含まれる環状ペプチド化合物の総数に対する、前記環状ペプチド化合物を構成するアミノ酸残基の数が13又は14である環状ペプチド化合物の数の割合が10%以上である、〔B1〕～〔B3〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B4-1〕

前記ライブラリに含まれる環状ペプチド化合物の総数に対する、前記環状ペプチド化合物を構成するアミノ酸残基の数が13又は14である環状ペプチド化合物の数の割合が20%以上である、〔B1〕～〔B4〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B4-2〕

前記ライブラリに含まれる環状ペプチド化合物の総数に対する、前記環状ペプチド化合物を構成するアミノ酸残基の数が13又は14である環状ペプチド化合物の数の割合が40%以上である、〔B1〕～〔B4〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B4-3〕

前記ライブラリに含まれる環状ペプチド化合物の総数に対する、前記環状ペプチド化合物を構成するアミノ酸残基の数が13又は14である環状ペプチド化合物の数の割合が60%以上である、〔B1〕～〔B4〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B4-4〕

前記ライブラリに含まれる環状ペプチド化合物の総数に対する、前記環状ペプチド化合物を構成するアミノ酸残基の数が13又は14である環状ペプチド化合物の数の割合が80%以上である、〔B1〕～〔B4〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B5〕

前記ライブラリが、前記環状ペプチド化合物を構成するアミノ酸残基の数が13又は14である環状ペプチド化合物から実質的になる、〔B1〕～〔B4〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B6〕

前記ライブラリに含まれる環状ペプチド化合物において、前記環状部を構成するアミノ酸の総数に対する前記N置換アミノ酸の数の割合が平均で50%以上である、〔B1〕～〔B5〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B7〕

前記N置換アミノ酸の数が平均で7～13である、〔B1〕～〔B6〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B8〕

前記ライブラリに含まれる環状ペプチド化合物において、前記環状部を構成するN置換アミノ酸の数が平均で7～10である、〔B7〕に記載のライブラリ。

〔B9〕

前記ライブラリに含まれる環状ペプチド化合物において、前記環状部を構成するN置換アミノ酸の数が平均で8～13である、〔B7〕に記載のライブラリ。

〔B10〕

前記ライブラリに含まれる環状ペプチド化合物において、前記環状部を構成するN置換アミノ酸の数が平均で8～10である、〔B7〕に記載のライブラリ。

〔B11〕

前記ライブラリに含まれる環状ペプチド化合物において、前記環状部を構成するN置換アミノ酸の数が7～10である環状ペプチド化合物の数の割合が10%以上である、〔B1〕～〔B6〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B11-1〕

前記ライブラリに含まれる環状ペプチド化合物において、前記環状部を構成するN置換アミノ酸の数が7～10である環状ペプチド化合物の数の割合が20%以上である、〔B1〕～〔B6〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B11-2〕

前記ライブラリに含まれる環状ペプチド化合物において、前記環状部を構成するN置換アミノ酸の数が7～10である環状ペプチド化合物の数の割合が40%以上である、〔B1〕～〔B6〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B11-3〕

前記ライブラリに含まれる環状ペプチド化合物において、前記環状部を構

成するN置換アミノ酸の数が7～10である環状ペプチド化合物の数の割合が60%以上である、〔B1〕～〔B6〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B11-4〕

前記ライブラリに含まれる環状ペプチド化合物において、前記環状部を構成するN置換アミノ酸の数が7～10である環状ペプチド化合物の数の割合が80%以上である、〔B1〕～〔B6〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B12〕

前記ライブラリに含まれる環状ペプチド化合物において、前記環状部を構成するN置換アミノ酸の数が8～13である環状ペプチド化合物の数の割合が10%以上である、〔B1〕～〔B6〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B12-1〕

前記ライブラリに含まれる環状ペプチド化合物において、前記環状部を構成するN置換アミノ酸の数が8～13である環状ペプチド化合物の数の割合が20%以上である、〔B1〕～〔B6〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B12-2〕

前記ライブラリに含まれる環状ペプチド化合物において、前記環状部を構成するN置換アミノ酸の数が8～13である環状ペプチド化合物の数の割合が40%以上である、〔B1〕～〔B6〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B12-3〕

前記ライブラリに含まれる環状ペプチド化合物において、前記環状部を構成するN置換アミノ酸の数が8～13である環状ペプチド化合物の数の割合が60%以上である、〔B1〕～〔B6〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B12-4〕

前記ライブラリに含まれる環状ペプチド化合物において、前記環状部を構成するN置換アミノ酸の数が8～13である環状ペプチド化合物の数の割合が80%以上である、〔B1〕～〔B6〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B13〕

前記ライブラリに含まれる環状ペプチド化合物において、前記環状部を構

成するN置換アミノ酸の数が8～10である環状ペプチド化合物の数の割合が10%以上である、〔B1〕～〔B6〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B13-1〕

前記ライブラリに含まれる環状ペプチド化合物において、前記環状部を構成するN置換アミノ酸の数が8～10である環状ペプチド化合物の数の割合が20%以上である、〔B1〕～〔B6〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B13-2〕

前記ライブラリに含まれる環状ペプチド化合物において、前記環状部を構成するN置換アミノ酸の数が8～10である環状ペプチド化合物の数の割合が40%以上である、〔B1〕～〔B6〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B13-3〕

前記ライブラリに含まれる環状ペプチド化合物において、前記環状部を構成するN置換アミノ酸の数が8～10である環状ペプチド化合物の数の割合が60%以上である、〔B1〕～〔B6〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B13-4〕

前記ライブラリに含まれる環状ペプチド化合物において、前記環状部を構成するN置換アミノ酸の数が8～10である環状ペプチド化合物の数の割合が80%以上である、〔B1〕～〔B6〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B14〕

前記N置換アミノ酸が、N-アルキルアミノ酸である、〔B1〕～〔B10〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B15〕

前記N-アルキルアミノ酸が、N-C₁-C₆アルキルアミノ酸である、〔B14〕に記載のライブラリ。

〔B16〕

前記N-アルキルアミノ酸が、N-メチルアミノ酸またはN-エチルアミノ酸である、〔B14〕に記載のライブラリ。

〔B17〕

前記N-アルキルアミノ酸が、N-メチルアミノ酸である、〔B 1 4〕に記載のライブラリ。

〔B 1 8〕

前記ライブラリに含まれる各環状ペプチド化合物のClogP/total ABの平均が1.0～1.8である、〔B 1〕～〔B 1 7〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B 1 8-1〕

前記ライブラリに含まれる各環状ペプチド化合物のClogP/total ABの平均が1.0～1.5である、〔B 1〕～〔B 1 7〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B 1 8-2〕

前記ライブラリに含まれる各環状ペプチド化合物のClogP/total ABの平均が1.1～1.4である、〔B 1〕～〔B 1 7〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B 1 9〕

前記ライブラリに含まれる各環状ペプチド化合物における、核酸連結部以外のペプチド部位のClogP/total ABの平均が1.0～1.8である、〔B 1〕～〔B 1 8-2〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B 1 9-1〕

前記ライブラリに含まれる各環状ペプチド化合物における、核酸連結部以外のペプチド部位のClogP/total ABの平均が1.0～1.5である、〔B 1〕～〔B 1 8-2〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B 1 9-2〕

前記ライブラリに含まれる各環状ペプチド化合物における、核酸連結部以外のペプチド部位のClogP/total ABの平均が1.1～1.4である、〔B 1〕～〔B 1 8-2〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B 2 0〕

前記ライブラリに含まれる各環状ペプチド化合物のClogPの平均が1.3～2

0である、〔B 1〕～〔B 19-2〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B 2 1〕

前記ライブラリに含まれる各環状ペプチド化合物の核酸連結部以外のペプチド部位のClogPの平均が1.3～2.0である、〔B 1〕～〔B 20〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B 2 2〕

前記環状ペプチド化合物が水素結合供与体を有し、

前記ライブラリに含まれる各環状ペプチド化合物における、前記水素結合供与体の数の平均が8以下である、〔B 1〕～〔B 21〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B 2 2-1〕

前記環状ペプチド化合物が水素結合供与体を有し、

前記ライブラリに含まれる各環状ペプチド化合物の環状部における、前記水素結合供与体の数の平均が8以下である、〔B 1〕～〔B 21〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B 2 3〕

前記ライブラリに含まれる各環状ペプチド化合物における、前記水素結合供与体の数の平均が3～8である、〔B 22〕に記載のライブラリ。

〔B 2 3-1〕

前記ライブラリに含まれる各環状ペプチド化合物の環状部における、前記水素結合供与体の数の平均が3～8である、〔B 22〕に記載のライブラリ。

〔B 2 4〕

前記環状ペプチド化合物が、その環状部に水素結合供与体を有する、〔B 1〕～〔B 23〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B 2 5〕

前記ライブラリに含まれる各環状ペプチド化合物において、前記環状部を構成するアミノ酸のうち同一側鎖のアミノ酸の数の平均が3以下である、〔

B 1] ~ [B 2 4] のいずれかに記載のライブラリ。

[B 2 6]

前記ライブラリに含まれる各環状ペプチド化合物において、前記環状部を構成するアミノ酸のうち同一側鎖のアミノ酸の数が3以下である、[B 1] ~ [B 2 4] のいずれかに記載のライブラリ。

[B 2 7]

各環状ペプチド化合物において、前記環状部を構成する各アミノ酸の側鎖が、アルキル基、シクロアルキル基、アラルキル基、及びアミド基からなる群より選択される少なくとも1つから構成され、ここで前記アルキル基は、前記アルキル基の任意の原子と前記アミノ酸のアミノ基の窒素原子と一緒になって環を形成していてもよい、[B 1] ~ [B 2 6] のいずれかに記載のライブラリ。

[B 2 8]

前記アルキル基が、ハロゲン原子、ヒドロキシ基、 C_3-C_8 シクロアルキル基、及び C_1-C_6 アルコキシ基からなる群より選択される少なくとも1つの基で置換されていてもよい C_1-C_6 アルキル基である、[B 2 7] に記載のライブラリ。

[B 2 9]

前記シクロアルキル基が、ハロゲン原子、ヒドロキシ基、 C_1-C_6 アルキル基、 C_1-C_6 ハロアルキル基、 C_1-C_6 アルコキシ基、及び C_1-C_6 ハロアルコキシ基からなる群より選択される少なくとも1つの基で置換されていてもよい C_3-C_{10} シクロアルキル基である、[B 2 7] または [B 2 8] に記載のライブラリ。

[B 3 0]

前記アラルキル基が、ハロゲン原子、 C_1-C_6 アルキル基、 C_1-C_6 ハロアルキル基、 C_1-C_6 アルコキシ基、及び C_1-C_6 ハロアルコキシ基からなる群より選択される少なくとも1つの基で置換されていてもよい C_7-C_{14} アラルキルである、[B 2 7] ~ [B 2 9] のいずれかに記載のライブラリ。

〔B 3 1〕

前記アラルキル基が、置換されていてもよい C_5-C_{10} アリール C_1-C_6 アルキル基であり、前記 C_5-C_{10} アリール基は、1つまたは複数のハロゲン原子、 C_1-C_6 アルキル基、 C_1-C_6 ハロアルキル基、 C_1-C_6 アルコキシ基、及び C_1-C_6 ハロアルコキシ基からなる群より選択される少なくとも1つの基で置換されていてもよい、〔B 2 7〕～〔B 3 0〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B 3 2〕

各環状ペプチド化合物において、前記アミド基が、式： $-CONR^1R^2$ で表され、式中、 R^1 および R^2 は、それぞれ独立して、水素原子、または C_1-C_6 アルキル基であるか、あるいは R^1 及び R^2 は、それらが結合している窒素原子と一緒に4～8員飽和複素環を形成し、該4～8員飽和複素環は、ハロゲン原子、オキソ基、 C_1-C_6 アルキル基、および4～7員ヘテロシクリル基からなる群より独立して選択される少なくとも1つの基で置換されていてもよい、〔B 2 7〕～〔B 3 1〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B 3 3〕

各環状ペプチド化合物において、前記環状部を構成するアミノ酸が、Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Thr、Phe、Pro、Abu、D-Ala、D-MeAla、D-MeVal、D-Val、Hph、MeAbu、MeAla、MeGly、MeIle、MeLeu、MePhe、MeThr、MeVal、nBuGly、Ser(tBu)、Asp-pip、bAla、bMeAla、D-3-Abu、D-3-MeAbu、MeAsp-pip、及びgMeAbuからなる群より選択されるアミノ酸を含む、〔B 1〕～〔B 3 2〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B 3 4〕

各環状ペプチド化合物において、前記環状部を構成するアミノ酸が、それぞれ独立に、Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Thr、Phe、Pro、Abu、D-Ala、D-MeAla、D-MeVal、D-Va

I、Hph、MeAbu、MeAla、MeGly、MeIle、MeLeu、MePhe、MeThr、MeVal、nBuGly、Ser(tBu)、Asp-pip、bAla、bMeAla、D-3-Abu、D-3-MeAbu、MeAsp-pip、及びgMeAbuからなる群より選択される少なくとも1つである、〔B1〕～〔B33〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B35〕

前記環状部を構成するアミノ酸が α -アミノ酸を含み、該 α -アミノ酸の数が、平均で10～14である、〔B1〕～〔B34〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B36〕

各環状ペプチド化合物において、前記環状部を構成するアミノ酸が、Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Thr、Phe、Pro、Abu、D-Ala、D-MeAla、D-MeVal、D-Val、Hph、MeAbu、MeAla、MeGly、MeIle、MeLeu、MePhe、MeThr、MeVal、nBuGly、及びSer(tBu)からなる群より選択される α -アミノ酸を含む、〔B1〕～〔B35〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B37〕

各環状ペプチド化合物において、前記環状部を構成するアミノ酸のうち、 α -アミノ酸が、それぞれ独立に、Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Thr、Phe、Pro、Abu、D-Ala、D-MeAla、D-MeVal、D-Val、Hph、MeAbu、MeAla、MeGly、MeIle、MeLeu、MePhe、MeThr、MeVal、nBuGly、及びSer(tBu)からなる群より選択される、〔B35〕または〔B36〕に記載のライブラリ。

〔B38〕

各環状ペプチド化合物において、前記環状部を構成するアミノ酸が β -ア

ミノ酸骨格を有するアミノ酸を含み、該 β -アミノ酸骨格を有するアミノ酸の数が、平均で0～2である、〔B 1〕～〔B 3 7〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B 3 9〕

各環状ペプチド化合物において、前記環状部を構成するアミノ酸が、Asp-pip、bAla、bMeAla、D-3-Abu、D-3-MeAbu、及びMeAsp-pipからなる群より選択される β -アミノ酸骨格を有するアミノ酸を含む、〔B 1〕～〔B 3 8〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B 4 0〕

各環状ペプチド化合物において、前記環状部を構成するアミノ酸のうち、 β -アミノ酸骨格を有するアミノ酸が、それぞれ独立に、Asp-pip、bAla、bMeAla、D-3-Abu、D-3-MeAbu、及びMeAsp-pipからなる群より選択される、〔B 3 8〕または〔B 3 9〕に記載のライブラリ。

〔B 4 1〕

各環状ペプチド化合物において、前記環状部を構成するアミノ酸が γ -アミノ酸骨格を有するアミノ酸を含み、該 γ -アミノ酸骨格を有するアミノ酸の数が、平均で0～2である、〔B 1〕～〔B 4 0〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B 4 2〕

各環状ペプチド化合物において、前記環状部を構成するアミノ酸が、gMeAbuを含む、〔B 1〕～〔B 4 1〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B 4 3〕

各環状ペプチド化合物において、前記環状部を構成するアミノ酸のうち、 γ -アミノ酸骨格を有するアミノ酸がgMeAbuである、〔B 4 0〕または〔B 4 1〕に記載のライブラリ。

〔B 4 4〕

各環状ペプチド化合物における前記環状部を構成するアミノ酸のうち、天然アミノ酸の数が、平均で1以上である、〔B 1〕～〔B 4 3〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B 4 5〕

各環状ペプチド化合物における前記環状部を構成するアミノ酸のうち、天然アミノ酸の数が、平均で5以下である、〔B 1〕～〔B 4 4〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B 4 6〕

各環状ペプチド化合物における前記環状部を構成するアミノ酸のうち、天然アミノ酸の数が、平均で1～5である、〔B 1〕～〔B 4 5〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B 4 7〕

各環状ペプチド化合物における前記環状部を構成するアミノ酸のうち、天然アミノ酸の数が、平均で1～4である、〔B 4 6〕に記載のライブラリ。

〔B 4 8〕

各環状ペプチド化合物における前記環状部を構成するアミノ酸のうち、アミノ酸の数に対する天然アミノ酸の数の割合が、平均で10%以上である、〔B 1〕～〔B 4 7〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B 4 9〕

各環状ペプチド化合物における前記環状部を構成するアミノ酸のうち、アミノ酸の数に対する天然アミノ酸の数の割合が、平均で40%以下である、〔B 1〕～〔B 4 8〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B 5 0〕

各環状ペプチド化合物における前記環状部を構成するアミノ酸のうち、アミノ酸の数に対する天然アミノ酸の数の割合が、平均で10～40%である、〔B 1〕～〔B 4 9〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B 5 1〕

各環状ペプチド化合物における前記環状部を構成するアミノ酸が、G l y

、A l a、V a l、L e u、I l e、T h r、P h e、及びP r oからなる群より選択される天然アミノ酸を含む、〔B 1〕～〔B 5 0〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B 5 2〕

各環状ペプチド化合物における前記環状部を構成するアミノ酸が、それぞれ独立に、G l y、A l a、V a l、L e u、I l e、T h r、P h e、及びP r oからなる群より選択される天然アミノ酸を含む、〔B 1〕～〔B 5 1〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B 5 3〕

各環状ペプチド化合物において、前記環状部を構成するアミノ酸のうち、非天然アミノ酸の数が、平均で7以上である、〔B 1〕～〔B 5 2〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B 5 4〕

各環状ペプチド化合物における前記環状部を構成するアミノ酸のうち、非天然アミノ酸の数が、平均で8以上である、〔B 1〕～〔B 5 3〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B 5 5〕

各環状ペプチド化合物における、前記環状部を構成するアミノ酸の総数に対する非天然アミノ酸の数の割合が、平均で5 0%以上である、〔B 1〕～〔B 5 4〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B 5 5－1〕

各環状ペプチド化合物における、前記環状部を構成するアミノ酸の総数に対する非天然アミノ酸の数の割合が、平均で6 0%以上である、〔B 5 5〕に記載のライブラリ。

〔B 5 5－2〕

各環状ペプチド化合物における、前記環状部を構成するアミノ酸の総数に対する非天然アミノ酸の数の割合が、平均で7 0%以上である、〔B 5 5〕に記載のライブラリ。

〔B 5 5－3〕

各環状ペプチド化合物における、前記環状部を構成するアミノ酸の総数に対する非天然アミノ酸の数の割合が、平均で80%以上である、〔B 5 5〕に記載のライブラリ。

〔B 5 6〕

各環状ペプチド化合物における、前記環状ペプチド化合物が、Abu、Asp-pip、bAla、bMeAla、D-3-Abu、D-3-MeAbu、D-Ala、D-MeAla、D-MeVal、D-Val、gMeAbu、Hph、MeAbu、MeAla、MeAsp-pip、MeGly、Melle、MeLeu、MePhe、MeThr、MeVal、nBuGly、及びSer(tBu)からなる群より選択される非天然アミノ酸を含む、〔B 1〕～〔B 5 5－3〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B 5 7〕

各環状ペプチド化合物において、前記環状部を構成するアミノ酸が、それぞれ独立にAbu、Asp-pip、bAla、bMeAla、D-3-Abu、D-3-MeAbu、D-Ala、D-MeAla、D-MeVal、D-Val、gMeAbu、Hph、MeAbu、MeAla、MeAsp-pip、MeGly、Melle、MeLeu、MePhe、MeThr、MeVal、nBuGly、及びSer(tBu)からなる群より選択される非天然アミノ酸を含む、〔B 1〕～〔B 5 6〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B 5 8〕

各環状ペプチド化合物において、前記環状ペプチド化合物を構成するアミノ酸が、その側鎖に、メチルチオ基、チオール基、インドール骨格、または、置換もしくは無置換のヒドロキシフェニル基のいずれも有さない、〔B 1〕～〔B 5 7〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B 5 9〕

各環状ペプチド化合物において、分子量が平均で500～2000である

、〔B 1〕～〔B 5 8〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B 6 0〕

各環状ペプチド化合物において、核酸連結部以外のペプチド部位の分子量が平均で500～2000である、〔B 1〕～〔B 5 9〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B 6 1〕

前記ライブラリが、経口投与可能な化合物、又はその前駆体の同定に使用するための、〔B 1〕～〔B 6 0〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B 6 2〕

前記ライブラリが、標的分子に特異的に結合できる環状ペプチド化合物の同定に使用するためのライブラリである、〔B 1〕～〔B 6 1〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B 6 3〕

前記ライブラリが、標的分子に特異的に結合できる化合物の同定に使用するための、〔B 1〕～〔B 6 2〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B 6 4〕

前記ライブラリが、 1×10^2 以上の多様性を有する、〔B 1〕～〔B 6 3〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B 6 4－1〕

前記ライブラリが、 1×10^3 以上の多様性を有する、〔B 6 4〕に記載のライブラリ。

〔B 6 4－2〕

前記ライブラリが、 1×10^4 以上の多様性を有する、〔B 6 4〕に記載のライブラリ。

〔B 6 4－3〕

前記ライブラリが、 1×10^6 以上の多様性を有する、〔B 6 4〕に記載のライブラリ。

〔B 6 4－4〕

前記ライブラリが、 1×10^8 以上の多様性を有する、〔B 6 4〕に記載のライブラリ。

〔B 6 4－5〕

前記ライブラリが、 1×10^{10} 以上の多様性を有する、〔B 6 4〕に記載のライブラリ。

〔B 6 5〕

前記ライブラリが、 1×10^2 種類以上の前記核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物を含む、〔B 1〕～〔B 6 3〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B 6 5－1〕

前記ライブラリが、 1×10^3 種類以上の前記核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物を含む、〔B 6 5〕に記載のライブラリ。

〔B 6 5－2〕

前記ライブラリが、 1×10^4 種類以上の前記核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物を含む、〔B 6 5〕に記載のライブラリ。

〔B 6 5－3〕

前記ライブラリが、 1×10^6 種類以上の前記核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物を含む、〔B 6 5〕に記載のライブラリ。

〔B 6 5－4〕

前記ライブラリが、 1×10^8 種類以上の前記核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物を含む、〔B 6 5〕に記載のライブラリ。

〔B 6 5－5〕

前記ライブラリが、 1×10^{10} 種類以上の前記核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物を含む、〔B 6 5〕に記載のライブラリ。

〔B 6 6〕

前記ライブラリが、表 1 5 に記載の環状ペプチド化合物（すなわち、p d 0 0 1～p d 1 6 8）から選択される少なくとも 1 つを含む、〔B 1〕～〔B 6 5－5〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B 6 7〕

前記ライブラリが、表 1 5 に記載の環状ペプチド化合物（すなわち、p d 0 0 1 ～ p d 1 6 8）を全て含む、〔B 1〕～〔B 6 5－5〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B 6 8〕

前記ライブラリに含まれる環状ペプチド化合物が、核酸が連結されている環状ペプチド化合物（環状ペプチド－核酸複合体）である、〔B 1〕～〔B 6 7〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B 6 9〕

前記環状ペプチド－核酸複合体における前記核酸が、前記環状ペプチドをコードする核酸を含む、〔B 6 8〕に記載のライブラリ。

〔B 7 0〕

前記環状ペプチド－核酸複合体における前記核酸が、前記環状ペプチドをコードする核酸である、〔B 6 8〕に記載のライブラリ。

〔B 7 0－1〕

前記環状ペプチド－核酸複合体における核酸が、環状ペプチド－核酸複合体を形成する環状ペプチド部位をコードする塩基配列を含む、〔B 6 8〕～〔B 6 9〕のいずれかに記載の環状ペプチド－核酸複合体。

〔B 7 1〕

前記ライブラリがディスプレイライブラリである、〔B 1〕～〔B 7 0〕のいずれかに記載のライブラリ。

〔B 7 2〕

前記ディスプレイライブラリが核酸ディスプレイライブラリである、〔B 7 1〕に記載のライブラリ。

〔B 7 3〕

前記核酸ディスプレイライブラリがmRNAディスプレイライブラリである、〔B 7 2〕に記載のライブラリ。

[0012] 〔C 1〕

以下の工程を含む、標的分子に特異的に結合できる環状ペプチド化合物のスクリーニング方法：

(i) [B 1] ～ [B 7 3] のいずれかに記載のライブラリと該標的分子を接触させる工程；及び

(ii) 該標的分子に特異的に結合できる環状ペプチド化合物を選択する工程。

[C 2]

前記標的分子がタンパク質である、[C 1] に記載の方法。

[C 3]

(ii) において、標的分子に特異的に結合できる前記環状ペプチド化合物が医薬品の候補化合物として選択される、[C 1] 又は [C 2] に記載の方法。

[C 4]

候補となる環状ペプチド化合物を化学合成する工程；及び

化学合成された前記環状ペプチド化合物の膜透過性を、Caco-2細胞を用いて測定する工程を含む、[C 1] ～ [C 3] のいずれかに記載の方法。

[C 5]

化学合成された前記環状ペプチド化合物の膜透過性が、 P_{app} (cm/sec) の値で決定される、[C 1] ～ [C 4] のいずれかに記載の方法。

[C 6]

前記 P_{app} (cm/sec) の値が、以下の工程による膜透過性評価により算出されたものである、[C 5] に記載の方法；

(a) Caco-2細胞を96wellトランスウェル上で3週間培養した後に、Apical側に評価対象とする化合物と、DMEM培地及びFassif (1%DMSO含有) とを添加し、Basal側にDMEM培地を添加し、5%CO₂雰囲気下、37℃、80rpmで振盪しながら24時間プレインキュベーションし、

(b) プレインキュベーション後、A p i c a l 側及びB a s a l 側のプレインキュベーション溶液を吸引除去及び洗浄し、A p i c a l 側に化合物を含むF a S S I F / H B S S 緩衝液 (1 % D M S O 含有、p H 6 . 0) を添加し、B a s a l 側にH B S S 緩衝液 (4 % B S A 含有、p H 7 . 4) を添加し、

(c) 各w e l l は5 % C O₂ 雰囲気下、3 7 °C、8 0 r p m で振盪し、振盪開始1 8 0 分後にB a s a l 側のサンプルを採取し、液体クロマトグラフィー質量分析法 (L C / M S) で化合物の透過量を測定し、

(d) 測定された透過量から透過係数 (C a c o - 2 P_{a p p} (c m / s e c)) を算出する。

[0013] 上記番号付けにおいて、従属項が引用する番号は、特に言及がない限りその番号の枝番を含む。例えば、従属項において引用する〔B 5〕は、〔B 5〕とともに、その枝番である〔B 5 - 1〕、〔B 5 - 2〕、〔B 5 - 3〕、及び〔B 5 - 4〕を含むことを意味する。他の番号付けにおいても同様である。

発明の効果

[0014] 本発明は、一側面において医薬品候補となる環状ペプチド化合物を膜透過性と代謝安定性に優れたものへと誘導化するための指針を提供するものである。また、別の側面において、これまで標的に対する相互作用獲得というメリットがあるにもかかわらずドラッグライクネスの実現が困難であった1 3 又は1 4 残基のアミノ酸から形成される環状ペプチドの創薬を可能とする。さらに別の側面において、本発明を基に環状ペプチド化合物のライブラリを設計することで、ドラッグライクネスに優れた環状ペプチドヒット化合物を得るためのスクリーニング手法を提供できる。

図面の簡単な説明

[0015] [図1] 固相法を用いたペプチド化合物の製造方法の一例を示す模式図である。

発明を実施するための形態

[0016] 以下に、本開示の好ましい非限定的な実施態様を説明する。

- [0017] 後述する本実施例に記載されるあらゆる要素(element)は、本特許出願の権利化を意図する国における、実施例に記載の内容を限定的に解釈しようとし得るいかなる特許実務、慣習、法令等の制限に縛られることなく、本「発明を実施するための形態」においても同等に記載されていると当然にみなされることを意図して記載される。
- [0018] 本開示におけるいずれかに記載の一又は複数の要素(element)の一部又は全部を任意に組み合わせたものも、当業者の技術常識に基づいて技術的に矛盾しない限り、本開示に含まれることが意図され、かつ、当業者には当然に理解されるものとして記載される。
- [0019] 本明細書では、以下の略号を用いる。A l a (アラニン)、A r g (アルギニン)、A s n (アスパラギン)、A s p (アスパラギン酸)、C y s (システイン)、G l u (グルタミン酸)、G l n (グルタミン)、G l y (グリシン)、H i s (ヒスチジン)、I l e (イソロイシン)、L e u (ロイシン)、L y s (リシン)、M e t (メチオニン)、P h e (フェニルアラニン)、P r o (プロリン)、S e r (セリン)、T h r (トレオニン)、T r p (トリプトファン)、T y r (チロシン)、V a l (バリン)。また、これらに加えて、表1に記載した略号を用いる。
- [0020] 本明細書において「アルキル」とは、脂肪族炭化水素から任意の水素原子を1個除いて誘導される1価の基であり、骨格中にヘテロ原子(炭素及び水素原子以外の原子をいう。)または不飽和の炭素-炭素結合を含有せず、水素及び炭素原子を含有するヒドロカルビルまたは炭化水素基構造の部分集合を有する。アルキルは直鎖状のものだけでなく、分枝鎖状のものも含む。アルキルとして好ましくは、炭素原子数1~20 (C_1-C_{20} 、以下「 C_p-C_q 」とは炭素原子数がp~q個であることを意味する)のアルキルであり、好ましくは C_1-C_{10} アルキル、より好ましくは C_1-C_6 アルキルが挙げられる。アルキルとして具体的には、例えば、メチル、エチル、n-プロピル、i-プロピル、n-ブチル、s-ブチル、t-ブチル、イソブチル(2-メチルプロピルともいう。)、n-ペンチル、s-ペンチル(1-メチルブチル

ともいう。)、*t*-ペンチル(1, 1-ジメチルプロピル)、ネオペンチル(2, 2-ジメチルプロピルともいう。)、イソペンチル(3-メチルブチルともいう。)、3-ペンチル(1-エチルプロピルともいう。)、1, 2-ジメチルプロピル、2-メチルブチル、*n*-ヘキシル、1, 1, 2-トリメチルプロピル、1, 2, 2-トリメチルプロピル、1, 1-ジメチルブチル、1, 2-ジメチルブチル、1, 3-ジメチルブチル、2, 2-ジメチルブチル、2, 3-ジメチルブチル、3, 3-ジメチルブチル、1-エチルブチル、2-エチルブチル等が挙げられる。

[0021] 本明細書において「アルコキシ」とは、前記定義の「アルキル」が結合したオキシ基を意味する。アルコキシとして、 C_1-C_6 アルコキシが好ましく、 C_1-C_4 アルコキシがより好ましい。アルコキシとして具体的には、たとえば、メトキシ、エトキシ、1-プロポキシ、2-プロポキシ、*n*-ブトキシ、*i*-ブトキシ、*s*-ブトキシ、*t*-ブトキシ、ペンチルオキシ、3-メチルブトキシ等が挙げられる。

[0022] 本明細書における「ハロアルコキシ」とは、前記定義の「アルコキシ」の1つまたは複数の水素原子がハロゲンで置換された基を意味する。ハロアルコキシとして、ハロ C_1-C_6 アルコキシが好ましく、フルオロ C_1-C_6 アルコキシがより好ましい。ハロアルコキシとして具体的には、たとえば、ジフルオロメトキシ、トリフルオロメトキシ、2, 2-ジフルオロエトキシ、2, 2, 2-トリフルオロエトキシ、3-フルオロプロポキシ、2, 2-ジフルオロプロポキシ等が挙げられる。

[0023] 本明細書において「アルケニル」とは、少なくとも1個の二重結合(2個の隣接 sp^2 炭素原子)を有する1価の基である。二重結合および置換分(存在する場合)の配置によって、二重結合の幾何学的形態は、エントゲーゲン(E)またはツザンメン(Z)、シスまたはトランス配置をとることができる。アルケニルは、直鎖状のものだけでなく、分枝鎖状ものも含む。アルケニルとして好ましくは C_2-C_{10} アルケニル、より好ましくは C_2-C_6 アルケニルが挙げられる。アルケニルとして具体的には、例えば、ビニル、アリル

、1-プロペニル、2-プロペニル、1-ブテニル、2-ブテニル（シス、トランスを含む）、3-ブテニル、ペンテニル、3-メチル-2-ブテニル、ヘキセニル等が挙げられる。

[0024] 本明細書において「アルキニル」は、少なくとも1個の三重結合（2個の隣接SP炭素原子）を有する、1価の基である。アルキニルは、直鎖状のものだけでなく、分枝鎖状のものも含む。アルキニルとして好ましくは C_2-C_{10} アルキニル、より好ましくは C_2-C_6 アルキニルが挙げられる。アルキニルとして具体的には、例えば、エチニル、1-プロピニル、プロパルギル、3-ブチニル、ペンチニル、ヘキシニル、3-フェニル-2-プロピニル、3-(2-フルオロフェニル)-2-プロピニル、2-ヒドロキシ-2-プロピニル、3-(3-フルオロフェニル)-2-プロピニル、3-メチル-(5-フェニル)-4-ペンチニル等が挙げられる。

[0025] 本明細書において「シクロアルキル」とは、飽和または部分的に飽和した環状の1価の脂肪族炭化水素基を意味し、単環、ビスシクロ環、スピロ環を含む。シクロアルキルとして好ましくは C_3-C_8 シクロアルキル、 C_3-C_7 シクロアルキル、より好ましくは C_3-C_6 シクロアルキルが挙げられる。シクロアルキルとして具体的には、例えば、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチル、シクロオクチル、ビスシクロ[2, 2, 1]ヘプチル、スピロ[3, 3]ヘプチル等が挙げられる。

[0026] 本明細書において「アリール」とは1価の芳香族炭化水素環、すなわち芳香族炭化水素環基を意味する。アリールとして好ましくは C_6-C_{10} アリールが挙げられる。アリールとして具体的には、例えば、フェニル、ナフチル（例えば、1-ナフチル、2-ナフチル）等が挙げられる。

[0027] 本明細書において前記「アリール基」は、下記の「ヘテロアリール」が含まれる場合がある。

[0028] 本明細書において「ヘテロアリール」とは、炭素原子に加えて1～5個のヘテロ原子を含有する、芳香族性の1価の環式基、すなわち芳香族複素環基を意味する。環は単環でも、他の環との縮合環でもよく、部分的に飽和され

ていてもよい。ヘテロアリールの環を構成する原子の数は好ましくは5～10（5～10員ヘテロアリール）であり、より好ましくは5～7（5～7員ヘテロアリール）である。

[0029] ヘテロアリールとして具体的には、例えば、フリル、チエニル、ピロリル、イミダゾリル、ピラゾリル、チアゾリル、イソチアゾリル、オキサゾリル、イソオキサゾリル、オキサジアゾリル、チアジアゾリル、トリアゾリル、テトラゾリル、ピリジル、ピリミジル、ピリダジニル、ピラジニル、トリアジニル、ベンゾフラニル、ベンゾチエニル、ベンゾチアジアゾリル、ベンゾチアゾリル、ベンゾオキサゾリル、ベンゾオキサジアゾリル、ベンゾイミダゾリル、ベンゾトリアゾリル、インドリル、イソインドリル、インダゾリル、アザインドリル、キノリル、イソキノリル、シンノリニル、キナゾリニル、キノキサリニル、ベンゾジオキサリル、インドリジニル、イミダゾピリジル、ピラゾロピリジル、イミダゾピリジル、トリアゾロピリジル、ピロロピラジニル、フロピリジル等が挙げられる。

[0030] 本明細書において「アラルキル（アリアルアルキル）」とは、本明細書定義の「アルキル」の少なくとも一つの水素原子が本明細書定義の「アリアル」で置換された基を意味する。アラルキルとして、 C_7-C_{14} アラルキル、 C_5-C_{10} アリアル C_1-C_6 アルキルが好ましく、 C_7-C_{10} アラルキルがより好ましい。アラルキルとして具体的には、例えば、ベンジル、フェネチル、3-フェニルプロピル等が挙げられる。

[0031] 本明細書において「アルキレン」とは、本明細書定義の「アルキル」からさらに任意の水素原子を1個除いて誘導される二価の基を意味し、 C_4-C_8 アルキレンが好ましい。アルキレンとして具体的には、 $-CH_2-$ 、 $-(CH_2)_2-$ 、 $-(CH_2)_3-$ 、 $-CH(CH_3)CH_2-$ 、 $-C(CH_3)_2-$ 、 $-(CH_2)_4-$ 、 $-CH(CH_3)CH_2CH_2-$ 、 $-C(CH_3)_2CH_2-$ 、 $-CH_2CH(CH_3)CH_2-$ 、 $-CH_2C(CH_3)_2-$ 、 $-CH_2CH_2CH(CH_3)-$ 、 $-CH_2CH(CH_2CH_3)-$ 、 $-(CH_2)_5-$ 、 $-CH(CH_3)CH(CH_2CH_3)-$ 、 $-(CH_2)_6-$ 、 $-(CH_2)_7-$ 、 $-(CH_2)_8-$ 等が挙げられる。

$_8-$ などが挙げられる。アルキレンとして、 C_1-C_8 アルキレンが好ましく、 C_4-C_8 アルキレンがより好ましい。

[0032] 本明細書において「アリーレン」とは、本明細書定義の「アリール」からさらに任意の水素原子を1個除いて誘導される二価の基を意味する。アリーレンは、単環でも縮合環でもよい。アリーレンの環を構成する原子の数は特に限定されないが、好ましくは6～10である(C_6-C_{10} アリーレン)。アリーレンとして具体的には、例えば、1,2-フェニレン、1,3-フェニレン、1,4-フェニレン、1,2-ナフチレン、1,3-ナフチレン、1,4-ナフチレン等が挙げられる。

[0033] 本明細書において「ヘテロアリーレン」とは、本明細書定義の「ヘテロアリール」から更に任意の水素原子を1個除いて誘導される二価の基を意味する。ヘテロアリーレンは、単環でも縮合環でもよい。環を構成する原子の数は特に限定されないが、好ましくは5～10である(5員～10員ヘテロアリーレン)。ヘテロアリーレンとして具体的には、ピロールジイル、イミダゾールジイル、ピラゾールジイル、ピリジンジイル、ピリダジンジイル、ピリミジンジイル、ピラジンジイル、トリアゾールジイル、トリアジンジイル、イソオキサゾールジイル、オキサゾールジイル、オキサジアゾールジイル、イソチアゾールジイル、チアゾールジイル、チアジアゾールジイル、フランジイル及びチオフェンジイルなどが挙げられる。

[0034] 本明細書において「アルキレンアリーレン」とは、前記アルキレンと前記アリーレンとが任意の位置で結合した二価の基であって、基本骨格側にアルキレンが結合した基を意味する。アルキレンアリーレンとして具体的には、 $-C_1-C_6$ アルキレン- C_6-C_{10} アリーレンなどが挙げられる。

[0035] 本明細書において「アリーレンアルキレン」とは、前記アリーレンと前記アルキレンとが任意の位置で結合した二価の基であって、基本骨格側にアリーレンが結合した基を意味する。アリーレンアルキレンとして具体的には、 $-C_6-C_{10}$ アリーレン- C_1-C_6 アルキレンなどが挙げられる。

[0036] 本明細書において「アルキレンヘテロアリーレン」とは、前記アルキレン

と前記ヘテロアリーレンとが任意の位置で結合した2価の基であって、基本骨格側にアルキレンが結合した基を意味する。アルキレンヘテロアリーレンとして具体的には、 $-C_1-C_6$ アルキレン-5員-10員ヘテロアリーレンなどが挙げられる。

[0037] 本明細書において「ヘテロアリーレンアルキレン」とは、前記ヘテロアリーレンと前記アルキレンとが任意の位置で結合した2価の基であって、基本骨格側にヘテロアリーレンが結合した基を意味する。ヘテロアリーレンアルキレンとして具体的には、 $-5員-10員ヘテロアリーレン-C_1-C_6$ アルキレンなどが挙げられる。

[0038] 本明細書において、「活性エステル基」とは、アミノ基と反応してアミド結合を生成するカルボニル基を含む基であって、該カルボニル基に、たとえばOBt、OAt、OSu、OPfp、SR1などが結合した基であり、アミノ基との反応を促進しうる基である。

[0039] 「反応補助基」とは、望みの位置で選択的に反応を起こさせるために、結合させる官能基の近傍に導入されて、該官能基を結合反応に対して活性化する基であり、たとえば、カルボニル基とアミノ基を反応させるため、カルボニル基とアミノ基側のいずれか、あるいは両方に反応補助基を導入させることができる。このような反応補助基としては、たとえば、SHなどが挙げられる。このような反応補助基は、結合反応とともに、あるいは結合反応後に脱離させることもできる。

[0040] 本明細書における「アミノ酸」は、アミノ基を有するカルボン酸を指し、天然アミノ酸、及び非天然アミノ酸が含まれる。また本明細書において「アミノ酸」はアミノ酸残基を意味することがある。本明細書における「天然アミノ酸」とは、Gly、Ala、Ser、Thr、Val、Leu、Ile、Phe、Tyr、Trp、His、Glu、Asp、Gln、Asn、Cys、Met、Lys、Arg、Proから選択されるいずれかのL型アミノ酸を指す。「非天然アミノ酸」は、天然アミノ酸以外のアミノ酸を意味する。非天然アミノ酸としては、 β -アミノ酸、 γ -アミノ酸、L型アミノ酸

(但し、上述の天然アミノ酸を除く。)、D型アミノ酸、N置換アミノ酸、 α 、 α -ジ置換アミノ酸、側鎖が天然アミノ酸と異なるアミノ酸などが例示される。また、本明細書中、修飾されたアミノ酸を「MeAsp-pip」等と表記することがある。「MeAsp-pip」は、アスパラギン酸のN末端側アミノ基がメチル基で置換されており（すなわち、N-メチル化されており）、C末端側カルボキシ基がピペリジンとアミド化しているアミノ酸を示す。同様の表記についても、アミノ酸の三文字略号を中央に示し、左側の文字はN末端側アミノ基の置換基を示し、右側の文字はC末端側カルボキシ基の置換基を示す。左右に文字がない表記は、それぞれアミノ基、カルボキシ基であることを示す。また、「bAla」は β -アラニンを示し、「gMeAbu」は4-(メチルアミノ)ブタン酸を示す。 β -アミノ酸及び γ -アミノ酸は、最左にそれぞれb又はgの文字で表記する。

[0041] 本明細書におけるアミノ酸としては、任意の立体配置が許容される。アミノ酸の側鎖の選択は特に制限を設けないが、水素原子の他にも例えばアルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アリール基、ヘテロアリール基、アラルキル基、ヘテロアラルキル基、シクロアルキル基、スピロ結合したシクロアルキル基から自由に選択される。それぞれには置換基が付与されていてもよく、それら置換基も制限されず、例えば、ハロゲン原子、酸素原子、窒素原子、硫黄原子、ホウ素原子、ケイ素原子、又はリン原子を含む任意の置換基の中から独立して1つ又は2つ以上自由に選択されてよい。すなわち、置換されていてもよいアルキル基、アルコキシ基、アルコキシアルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アリール基、ヘテロアリール基、アラルキル基、シクロアルキル基などがさらに任意で追加の置換基を有するものが例示される。また、アミノ酸の側鎖に任意で追加されうる置換基として、重水素、シアノ、ニトロ、アミノカルボニル等が例示される。非限定の一態様において、本明細書におけるアミノ酸は、同一分子内にカルボキシル基とアミノ基を有する化合物であってよい。この場合であっても、アミノ基の窒素原子と側鎖の任意の原子がと一緒になって環を形成したプロリン、ヒドロキシプロ

リン、アゼチジン-2-カルボン酸などもアミノ酸に含まれる。

[0042] 本明細書における「アミノ酸の主鎖」とは、 α -アミノ酸の場合は、アミノ基、 α -炭素、およびカルボキシ基から構成される鎖状部分、 β -アミノ酸の場合は、アミノ基、 β -炭素、 α -炭素、およびカルボキシ基から構成される鎖状部分、および γ -アミノ酸の場合は、アミノ基、 γ -炭素、 β -炭素、 α -炭素、およびカルボキシ基から構成される鎖状部分をそれぞれ意味する。本明細書において、アスパラギン酸のようにアミノ酸中に2つのカルボキシ基が存在し、 α -アミノ酸および β -アミノ酸のどちらとも考えられる場合、アミノ基、炭素、およびカルボキシ基から構成される鎖状部分の短い方のアミノ酸と定義する。すなわち、アスパラギン酸の場合は「 α -アミノ酸」と定義する。また、「 α -アミノ酸骨格」とは、アミノ基、 α -炭素、およびカルボキシ基から構成される鎖状部分、「 β -アミノ酸骨格」とは、アミノ基、 β -炭素、 α -炭素、およびカルボキシ基から構成される鎖状部分、「 γ -アミノ酸骨格」とは、アミノ基、 γ -炭素、 β -炭素、 α -炭素、およびカルボキシ基から構成される鎖状部分をそれぞれ意味する。例えば、アスパラギン酸は、 β -アミノ酸骨格を有することから、「 β -アミノ酸骨格を有するアミノ酸」にも該当する。また、グルタミン酸は、 γ -アミノ酸骨格を有することから、「 γ -アミノ酸骨格を有するアミノ酸」にも該当する。

[0043] アミノ酸の主鎖アミノ基は、非置換(NH_2 基)でもよく、置換されているもよい(即ち、 -NHR 基: Rは置換基を有していてもよいアルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、ヘテロアリール、アラルキル、シクロアルキルを示し、これらの基の中の隣接しない1又は2個のメチレン基は酸素原子、カルボニル基(-C(=O)-)、又はスルホニル基($\text{-SO}_2\text{-}$)で置換されていてもよく、またプロリンのようにN原子に結合した炭素鎖と α 位の炭素原子とが環を形成していてもよい。)。前記Rの置換基は、上述のアミノ酸側鎖における置換基と同様に選択される。主鎖アミノ基が置換されている場合の前記Rは、本明細書における「アミノ酸の側鎖」に含まれる。本

明細書において、このような主鎖アミノ基が置換されているアミノ酸を「N置換アミノ酸」と称する。本明細書における「N置換アミノ酸」としては、N-アルキルアミノ酸が好ましく、N-C₁-C₆アルキルアミノ酸、N-C₁-C₄アルキルアミノ酸であってもよい。好ましいN置換アミノ酸は、N-メチルアミノ酸またはN-エチルアミノ酸であってよく、さらに好ましくはN-メチルアミノ酸であってよい。

[0044] 本明細書において「側鎖」とは、主鎖構造以外の部分を指し、アミノ酸の側鎖、又は環状ペプチド化合物の環状部の側鎖などの文脈で使用される。ただし、後述する環状ペプチド-核酸複合体において、核酸部分及び核酸連結部は側鎖に含まれない。

[0045] ペプチド化合物を構成する「アミノ酸」には、それぞれに対応する全ての同位体が包含される。「アミノ酸」の同位体は、少なくとも1つの原子が、原子番号（陽子数）が同じで、質量数（陽子と中性子の数の和）が異なる原子で置き換えられたものである。本発明のペプチド化合物を構成する「アミノ酸」に含まれる同位体の例としては、水素原子、炭素原子、窒素原子、酸素原子、リン原子、硫黄原子、フッ素原子、塩素原子などの同位体が挙げられ、例えば、²H、³H、¹³C、¹⁴C、¹⁵N、¹⁷O、¹⁸O、³¹P、³²P、³⁵S、¹⁸F、³⁶Cl等が含まれる。

[0046] ハロゲン原子として、フルオロ（-F）、クロロ（-Cl）、ブロモ（-Br）、ヨード（-I）などが挙げられる。ハロゲン原子由来の置換基としては、ハロゲン原子のほか、1つ以上のハロゲン原子で置換されていてもよいアルキル基、シクロアルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アリール基、ヘテロアリール基、又はアラルキル基が挙げられる。

[0047] 置換基として、例えば、ハロゲン原子、ヒドロキシ基（-OH）、カルボキシ基、オキソ基（=O）、スルフヒドリル基（-SH、チオール基ともいう。）、チオカルボキシ基、オキシ基（-O-）、チオエーテル基（-S-）、スルホキシド基（-S(=O)-）、スルホン基（-S(=O)₂-）、スルホ基（-SO₃H）、アジド基（-N₃）、シアノ基（-CN）が挙げら

れる。置換基は、これらの2つ以上を組み合わせ、エステル、チオエステル、アミド、カルバメート、アルキルチオ基 ($-SR$)、スルホンアミド、スルファミド、チオカルボン酸基 ($-C(=O)-SH$)、ケト酸 ($-C(=O)-CO_2H$)、又はウレア基を形成していてもよい。

[0048] アルコキシ基 ($-OR$) はアルキルアルコキシ基、シクロアルキルアルコキシ基、アルケニルアルコキシ基、アルキニルアルコキシ基、アリールアルコキシ基、ヘテロアリールアルコキシ基、アラルキルアルコキシ基などの中から選択される。オキシ基由来の置換基として、ヒドロカルボニル基 ($-CHO$ 、化合物としてはアルデヒドが得られる)、アルキルカルボニル基 (化合物としてはケトンが得られる)、シクロアルキルカルボニル基、アルケニルカルボニル基、アルキニルカルボニル基、アリールカルボニル基、ヘテロアリールカルボニル基、アラルキルカルボニル基などが挙げられる。エステルを形成する置換基として、カルボニルオキシ基 ($-O-C(=O)-$) およびアルコキシカルボニル基 ($-C(=O)O-$) が挙げられる。アルコキシカルボニル基は、アルキルオキシカルボニル基、シクロアルキルオキシカルボニル基、アルケニルオキシカルボニル基、アルキニルオキシカルボニル基、アリールオキシカルボニル基、ヘテロアリールオキシカルボニル基、アラルキルオキシカルボニル基などの中から選択され、カルボニルオキシ基は、アルキルカルボニルオキシ基、シクロアルキルカルボニルオキシ基、アルケニルカルボニルオキシ基、アルキニルカルボニルオキシ基、アリールカルボニルオキシ基、ヘテロアリールカルボニルオキシ基、アラルキルカルボニルオキシ基などの中から選択される。

[0049] チオエステルを形成する置換基として、カルボニルチオ基 ($-S-C(=O)-$)、アルキルチオカルボニル基 ($-C(=O)-SR$) などが挙げられる。チオエステルを形成する置換基は、例えば、アルキルカルボニルチオ基、シクロアルキルカルボニルチオ基、アルケニルカルボニルチオ基、アルキニルカルボニルチオ基、アリールカルボニルチオ基、ヘテロアリールカルボニルチオ基、アラルキルカルボニルチオ基などの中から選択され、あるい

は、アルキルチオカルボニル基、シクロアルキルチオカルボニル基、アルケニルチオカルボニル基、アルキニルチオカルボニル基、アリールチオカルボニル基、ヘテロアリールチオカルボニル基、アラルキルチオカルボニル基が挙げられる。

[0050] アミドを形成する置換基としては、アルキルカルボニルアミノ基 ($-\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-\text{R}$)、シクロアルキルカルボニルアミノ基、アルケニルカルボニルアミノ基、アルキニルカルボニルアミノ基、シクロアルキルカルボニルアミノ基、アリールカルボニルアミノ基、ヘテロアリールカルボニルアミノ基、アラルキルカルボニルアミノ基などが挙げられ、もしくはアルキルアミノカルボニル基 ($-\text{C}(=\text{O})-\text{NHR}$)、シクロアルキルアミノカルボニル基、アルケニルアミノカルボニル基、アルキニルアミノカルボニル基、アリールアミノカルボニル基、ヘテロアリールアミノカルボニル基、アラルキルアミノカルボニル基などが挙げられる。さらに、N原子と結合したH原子がアルキル基、シクロアルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アリール基、ヘテロアリール基、アラルキル基に置き換わった化合物も挙げられる。

[0051] カルバメートを形成する置換基としては、アルキルオキシカルボニルアミノ基 ($-\text{NH}-\text{CO}-\text{OR}$)、シクロアルキルオキシカルボニルアミノ基、アルケニルオキシカルボニルアミノ基、アルキニルオキシカルボニルアミノ基、シクロアルキルオキシカルボニルアミノ基、アリールオキシカルボニルアミノ基、ヘテロアリールオキシカルボニルアミノ基、アラルキルオキシカルボニルアミノ基などが挙げられる。さらに、N原子と結合したH原子がアルキル基、シクロアルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アリール基、ヘテロアリール基、アラルキル基に置き換わった化合物も挙げられる。

[0052] スルホンアミドを形成する置換基としては、アルキルスルホニルアミノ基 ($-\text{NH}-\text{SO}_2-\text{R}$)、シクロアルキルスルホニルアミノ基、アルケニルスルホニルアミノ基、アルキニルスルホニルアミノ基、シクロアルキルスルホニルアミノ基、アリールスルホニルアミノ基、ヘテロアリールスルホニルア

ミノ基、アラルキルスルホニルアミノ基などが挙げられ、もしくはアルキルアミノスルホニル基 ($-\text{SO}_2-\text{NHR}$)、シクロアルキルアミノスルホニル基、アルケニルアミノスルホニル基、アルキニルアミノスルホニル基、アリールアミノスルホニル基、ヘテロアリールアミノスルホニル基、アラルキルアミノスルホニル基などが挙げられる。さらに、N原子と結合したH原子がアルキル基、シクロアルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アリール基、ヘテロアリール基、アラルキル基に置き換わった化合物も挙げられる。

[0053] スルファミドを形成する置換基としては、N-アルキルスルファモイルアミノ基 ($-\text{NH}-\text{SO}_2-\text{NHR}$)、N-シクロアルキルスルファモイルアミノ基、N-アルケニルスルファモイルアミノ基、N-アルキニルスルファモイルアミノ基、N-シクロアルキルスルファモイルアミノ基、N-アリールスルファモイルアミノ基、N-ヘテロアリールスルファモイルアミノ基、N-アラルキルスルファモイルアミノ基などが挙げられる。さらに、N原子と結合したH原子がアルキル基、シクロアルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アリール基、ヘテロアリール基、アラルキル基の中から同一あるいは別物の任意の2つ、あるいはこれらが環を形成してもよい置換基から選択された置換基に置き換わった化合物も挙げられる。

[0054] チオエーテルを形成する置換基としては、アルキルチオ基、シクロアルキルチオ基、アルケニルチオ基、アルキニルチオ基、アリールチオ基、ヘテロアリールチオ基、アラルキルチオ基などの中から選択される。スルホキシド基 ($-\text{S}(=\text{O})-\text{R}$) を形成する置換基としては、アルキルスルフィニル基、シクロアルキルスルフィニル基、アルケニルスルフィニル基、アルキニルスルフィニル基、アリールスルフィニル基、ヘテロアリールスルフィニル基、アラルキルスルフィニル基などの中から選択され、スルホン基 ($-\text{S}(=\text{O})_2-\text{R}$) を形成する置換基としては、アルキルスルホニル基、シクロアルキルスルホニル基、アルケニルスルホニル基、アルキニルスルホニル基、アリールスルホニル基、ヘテロアリールスルホニル基、アラルキルスルホニル基などの中から選択される。

- [0055] 1級アミンを形成する置換基としてアミノ基 ($-NH_2$) が挙げられ、2級アミン ($-NH-R$) を形成する置換基として、アルキルアミノ基、シクロアルキルアミノ基、アルケニルアミノ基、アルキニルアミノ基、アリールアミノ基、ヘテロアリールアミノ基、アラルキルアミノ基などが挙げられ、3級アミン ($-NR(R^1)$) を形成する置換基として、アルキル (アラルキル) アミノ基など、アルキル基、シクロアルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アリール基、ヘテロアリール基、アラルキル基などの中から、任意の2つあるいは同一の置換基を2つ、あるいはこれらが環を形成してもよい置換基から選択された置換基などが挙げられ、アミジノ基 ($-C(=NR)-NR^1R^2$) を形成させる置換基として、アミジノ基 ($-C(=NH)-NH_2$)、あるいはN原子上の置換基3点が、アルキル基、シクロアルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アリール基、ヘテロアリール基、アラルキル基の同一あるいは別々の任意の3つで置換された、例えばアルキル (アラルキル) (アリール) アミジノ基などが挙げられ、グアニジノ基 ($-NR-C(=NR^3)-NR^1R^2$) を形成させる置換基として、グアニジン基 ($-NH-C(=NH)-NH_2$) あるいは、 R , R^1 , R^2 , R^3 がアルキル基、シクロアルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アリール基、ヘテロアリール基、アラルキル基の中から同一あるいは別物の任意の4つ、あるいはこれらが環を形成してもよい置換基から選択された置換基などが挙げられる。
- [0056] ウレア基を形成する置換基としては、アミノカルバモイル基 ($-NR-CO-NR^1R^2$) が挙げられる。 R , R^1 , R^2 はそれぞれ水素原子、アルキル基、シクロアルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アリール基、ヘテロアリール基、アラルキル基の中から同一あるいは別物の任意の3つ、あるいはこれらが環を形成してもよい置換基から選択された置換基などが挙げられる。
- [0057] またB原子由来の官能基として、アルキルボラン ($-BR(R^1)$) やアルコキシボラン ($-B(OR)(OR^1)$) などが挙げられる。これらの2つの置換基はアルキル基、シクロアルキル基、アルケニル基、アルキニル基、ア

リール基、ヘテロアリール基、アラルキル基などの中から、任意の2つあるいは同一の置換基を2つ、あるいはこれらが環を形成してもよい置換基から選択された置換基などが挙げられる。

[0058] このように、通常低分子化合物にて利用されるO原子、N原子、S原子、B原子、P原子、Si原子、ハロゲン原子を含む様々な官能基が1つあるいは2つ以上付与されていてもよい。つまり、これら置換基の1つに示されるアルキル基、シクロアルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アリール基、ヘテロアリール基、アラルキル基にさらに別の置換基が1つ以上付与されていてもよい。これら全てを満たす官能基の条件を、自由に置換基を選択することと定義する。 β -又は γ -アミノ酸の場合にも任意の立体配置が、 α -アミノ酸の場合と同様に許容され、その側鎖の選択も特に制限なく α -アミノ酸の場合と同様である。また、アミノ酸の主鎖アミノ基部位はフリー（ $-\text{NH}_2$ 基）でもよく、N-メチル化などのN-アルキル化（ $-\text{NHR}$ 基：Rは自由に置換されていてもよいアルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アリール基、ヘテロアリール基、アラルキル基、シクロアルキル基を示し、またプロリンのようにN原子に結合した炭素原子と側鎖（例えば、 α 位）からの炭素原子が環を形成していてもよい。置換基としては、自由に選択することが可能であり、たとえばハロゲン原子、エーテル基、ヒドロキシ基などが挙げられる。）されていてもよい。

[0059] 本明細書において、「翻訳アミノ酸」又は「翻訳可能なアミノ酸」とは、「アミノ酸」のうち、翻訳させることのできる側鎖を有するものを指す。非限定の一態様において、本明細書におけるアミノ酸は、翻訳可能なアミノ酸であってもよい。

[0060] 本明細書において「ドラッグライクネス」あるいは「ドラッグライク」とは、代謝安定性と膜透過性が優れた性質をいう。

[0061] 本明細書において、「ドラッグライクなアミノ酸」とは「アミノ酸」と同一の骨格、すなわち、 α 、 β および γ アミノ酸であり、主鎖アミノ基（ NH_2 基）の水素原子2つのうちの1つ、およびメチレン基（ $-\text{CH}_2-$ 基）の水素

原子のうち1つあるいは2つはアルキル基、シクロアルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アリール基、ヘテロアリール基、アラルキル基などで置換されてもよい。 CH_2 基の水素原子が上記の基によって置換された基を側鎖とする。これら置換基は、さらにドラッグライクなペプチド化合物の構成要素として機能する置換基で置換されたものも含まれる。これらは、好ましくは別途上述で定義した置換基の中から選択され、例えば、ヒドロキシ基、アルコキシ基、アミド基、スルホニル基、スルフィニル基、ハロゲン原子、ヒドロキシアミノ基、アミノヒドロキシ基などの中から選択される1つ以上の置換基によって置換されていてもよい。また、L型アミノ酸およびD型アミノ酸、 α , α -ジアルキルアミノ酸に対応するものいずれでもよい。ドラッグライクなアミノ酸は、翻訳可能である必要は必ずしも無い。「翻訳アミノ酸」から得られたペプチドの側鎖部分（例えばD-チロシンにてヒット化合物が取得された場合には、そこから化学修飾させたD型のアミノ酸、 β -アラニンにてヒット化合物が取得された場合には、そこから化学修飾させた β -アミノ酸）、あるいはNメチルアミノ酸の化学変換によるN置換部分の構造最適化により化学的に合成し得る全てのアミノ酸を含む。これらのアミノ酸はドラッグライクなペプチド化合物の構成要素として機能するため、翻訳後に実施する化学修飾によって得られるペプチド化合物がドラッグライクとなるような範囲から選択される。以下にて述べるとおり、例えばアミノアルキル基を有するリジンは、アミノ基が翻訳後修飾に関与しない場合にはドラッグライクなアミノ酸には含まれない。しかしながら、リジンのアミノ基を翻訳後修飾の反応性官能基として活用する場合（例えば交差ユニット）にはリジンユニットをドラッグライクなアミノ酸のユニットとして含む。このように、「ドラッグライクなアミノ酸」に該当するかどうかは、翻訳後の修飾によって変換された後の官能基にて判断される。このような置換基になり得る例として、別途上で定義した置換基の中から、例えばエステル基、チオエステル基、スルフヒドリル基、あるいは保護されたチオール基、アミノ基、モノ置換アミノ基あるいはジ置換アミノ基、あるいは保護されたアミノ基、

置換スルホニルアミノ基、アルキルボラン基、アルコキシボラン基、アジド基、ケト酸基、チオカルボキシ基、ホスホリルエステル基、アシルオキシアミノ基などが挙げられる。詳細は後述するが、本開示における一態様では、インドール骨格、及び／又は、置換若しくは無置換のヒドロキシフェニル基は、本開示におけるドラッグライクなアミノ酸に含まれない。

[0062] 本明細書において「置換のヒドロキシフェニル基」とは、ヒドロキシフェニル基の芳香環の少なくとも一つの水素原子が置換基で置換された基をいう。該置換基は、上述のアミノ酸側鎖における置換基と同様に選択される。限定を意図しないが、置換のヒドロキシフェニル基としては、3-フルオロ-4-ヒドロキシフェニル基が例示される。なお、本明細書における芳香環の水素原子に、ヒドロキシフェニル基におけるヒドロキシ基(-OH)のHは含まれない。例えば、メトキシフェニル基は、本明細書における「置換のヒドロキシフェニル基」、及び「無置換のヒドロキシフェニル基」のいずれにも含まれない。

[0063] 本明細書において「無置換のヒドロキシフェニル基」とは、置換基を有しないヒドロキシフェニル基を意味する。また、置換のヒドロキシフェニル基及び無置換のヒドロキシフェニル基を合わせて、「置換又は無置換のヒドロキシフェニル基」と呼ぶことがある。

[0064] 本明細書において「置換又は無置換のXX基を有しない」とは、置換のXX基、及び無置換のXX基のいずれをも有しないことを意味する。

[0065] 本明細書において「翻訳合成」は、ペプチド化合物をコードする核酸（たとえば、DNA、RNA）から、該ペプチド化合物を翻訳して合成すること意味する。翻訳とは、リボゾームの作用によってmRNAを鋳型にアミド結合やエステル結合反応を繰り返すことによって直鎖ペプチドを得る工程である。

[0066] 「翻訳後修飾」とは、翻訳後にリボゾームの作用以外で自動的あるいは別試薬を添加させて生じさせる化学反応を指し、例えば環化反応や脱保護反応を挙げることができる。

[0067] 本明細書について、「～から実質的になる」とは、該ライブラリに含まれるペプチド化合物、及び／又はこれらをコードする核酸のバリエーションの理論上の総数に対する、そこに挙げられたペプチド化合物、及び／又はこれらをコードする核酸のバリエーションの理論上の数の割合が、90%以上、93%以上、95%以上、97%以上、98%以上、又は99%以上であってよいが、これらに限定されるものではない。

[0068] 本明細書において、「～を実質的に含まない」とは、そこに挙げられた成分（環状ペプチド化合物、アミノ酸、核酸などが例示されるが、これらに限定されない。）を含まないか、又は含んでいたとしても、その成分が本発明の一態様における効果に負の影響を与えない成分であるか、又は負の影響を与えない量、若しくは態様であることを意味する。例えば、本発明の一態様における効果に負の影響を与えない成分、又は影響を与えない量、若しくは態様であれば、そこに挙げられた成分であっても含んでいてもよい。

[0069] 本明細書において、発明の効果に関する文脈で使用される「負の影響」とは、発明の効果を打ち消してしまうような影響をいう。例えば、本来発揮されるはずの発明の効果を100%とした場合に、その効果が30%、20%、10%、又は5%以下になるような場合に「負の影響」があるとすることができる。例えば、パニングによって本来得られるはずのヒット率が1%であった場合に、そのヒット率が0.3%以下になるような場合に負の影響があるとすることができる。また、本来はパニングによって得られるTrpを含まないヒット化合物の割合が100%である場合に、Trpを含まないヒット化合物の割合が30%以下になるような場合に負の影響があるとすることができるが、これらに限定されるものではない。

[0070] ペプチド化合物

限定を意図しないが、本開示における「ペプチド化合物」には、鎖状ペプチド化合物、環状ペプチド化合物が含まれる。また、本開示におけるペプチド化合物には、ペプチド、ペプチドと核酸の複合体（ペプチド-核酸複合体）、ペプチドとリボソームと核酸の複合体等が含まれる。限定を意図しない

が、本開示におけるペプチド化合物には、鎖状ペプチド、環状ペプチド、鎖状ペプチド部位と核酸の複合体（鎖状ペプチドー核酸複合体）、及び環状ペプチド部位と核酸の複合体（環状ペプチドー核酸複合体）が含まれる。本明細書において、ペプチドー核酸複合体におけるペプチドの部分を「ペプチド部位」と表現する場合がある。本開示におけるペプチド化合物は、構成するアミノ酸の一部に代えて、 α -ヒドロキシカルボン酸を含んでいてもよい。ペプチド化合物が α -ヒドロキシカルボン酸を含む場合、ペプチド化合物中の各残基の結合は、エステル結合等のアミド結合以外の結合であってもよい。 α -ヒドロキシカルボン酸を含むペプチド化合物のアミノ酸残基の数を数える場合には、 α -ヒドロキシカルボン酸の数をアミノ酸残基に含めて数える。 α -ヒドロキシカルボン酸としては、グリコール酸、D-乳酸、L-乳酸のほか、上述の「 α -アミノ酸」のアミノ基をヒドロキシ基に置き換えた化合物が挙げられる。

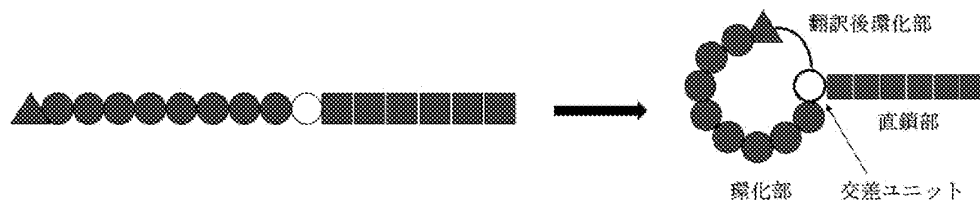
[0071] また、本開示における「核酸」にはDNA、mRNA、及びtRNAが含まれる。本明細書において、ペプチド化合物を構成する「アミノ酸」を「アミノ酸残基」ということがある。また、本明細書における「ペプチド化合物」には、その薬学的に許容される塩が含まれてもよい。

[0072] 本明細書において、「ペプチド化合物」又は「ペプチド部位」は、2～100個、3～50個、又は4～30個のアミノ酸が、アミド結合及び／又はエステル結合により連結されているペプチドをいう。このような環状ペプチド化合物は、対応する鎖状ペプチド化合物の主鎖又は側鎖に存在するカルボキシ基と、アミノ基又はヒドロキシ基とにおいて環化して、環状部を形成している。環化の結合様式としては、特に限定されないが、例えば、アミド結合、炭素-炭素結合、ジスルフィド結合、エステル結合、チオエステル結合、チオエーテル結合、ラクタム結合、トリアゾール構造を介した結合、フルオロフォア構造を介した結合などの共有結合が好ましい。中でもアミド結合によって環化されていると、より高い代謝安定性を有する環状ペプチド化合物となる傾向がある。

[0073] 本明細書において「環化反応」とは、鎖状ペプチド化合物の主鎖又は側鎖に存在するカルボキシ基と、アミノ基又はヒドロキシ基とを結合させることにより環状部を形成する反応反応をいう。本開示における環状ペプチド化合物が化学修飾されている場合、環化反応前の鎖状ペプチドに対して化学修飾を行ってもよく、環化反応後に得られる環化ペプチドに対して化学修飾を行ってもよい。

[0074] スキームAは、環化反応の一例である。白丸（○）ユニット（交差ユニット）、黒丸（●）ユニット（環状部主鎖ユニット）、四角（■）ユニット（直鎖部主鎖ユニット）、三角（▲）ユニット（環化N末端ユニット）はそれぞれペプチド部位を構成するアミノ酸残基を意味する。それぞれのユニットはその役割に基づいて分類したものであり、互いに同一のアミノ酸であっても、異なるアミノ酸であってもよい。

[化1]



[0075] 本明細書における「ユニット」とは、本開示における鎖状ペプチド化合物の合成後環化前のアミノ酸、環化後のアミノ酸、環化後の化学修飾が完了した時点でのアミノ酸のいずれかを意味する。環化後の化学修飾が完了した時点でのアミノ酸残基には、例えば、1つのtRNAによって翻訳されたアミノ酸残基が、翻訳後の化学修飾により、化学変換や骨格変換されたアミノ酸残基が含まれる。

[0076] スキームAにおいては、環状部とは1つの三角ユニットと8つの黒丸ユニット及び1つの白丸ユニットからなる部位であり、直鎖部とは6つの四角ユニットからなる部位である。スキームAの曲線部分が、環化される部位（本明細書において「環化部」又は「翻訳後環化部」ともいう。）である。

- [0077] 一態様において、本開示におけるペプチド化合物のペプチド部位は、スキームAに記載の三角ユニットや交差ユニットに反応性官能基を要求するため、環化前のペプチド化合物においては、三角ユニットや交差ユニットには必ずしもドラッグライクなアミノ酸が選択されない。
- [0078] 一態様において、環化前のペプチド化合物において、三角ユニットや交差ユニットがドラッグライクなアミノ酸ではない場合や本来は好ましくないアミノ酸である場合であっても、環化後に化学修飾等を行うことによって、三角ユニットや交差ユニットをドラッグライクなアミノ酸や好ましいアミノ酸とすることができる。
- [0079] 一態様において、本開示におけるペプチド化合物の環化前のペプチド部位における三角ユニット（環化前N末端ユニット）には、チオール基をアミノ基近傍に有するアミノ酸残基であって、チオール基とアミノ基の両方が保護基によって保護されたものを利用することができる。
- [0080] 一態様において、本開示におけるペプチド化合物の環化前のペプチド部位における交差ユニットには、三角ユニットのアミノ酸が有する官能基（第一の反応点）と反応することで環化できる官能基（第二の反応点）を側鎖に有するアミノ酸を用いるのが好ましい。交差ユニットでは、主鎖のアミノ基、及びカルボキシ基が翻訳合成等で他のアミノ酸残基との共有結合形成に使用され、かつ第三の官能基が環化に必要であるため、合計3つ以上の官能基を有することが好ましい。この中で、環化反応には、交差ユニットの側鎖部位の官能基を用いるのが好ましい。
- [0081] 交差ユニットは、環化可能な位置であれば、環化前ペプチド部位中の任意の位置に組み込むことが可能であるが、環化、もしくは環化後の翻訳後修飾が施された後の環状部のアミノ酸の数が13～14となるような位置に組み込むことが好ましい。すなわち、本開示におけるペプチド化合物の交差ユニットは、三角ユニットから少なくとも12アミノ酸残基（例えば、12または13アミノ酸残基）C末端側の位置に組み込むことが好ましい。
- [0082] 黒丸ユニット、四角ユニットはアミノ酸より選択され、好ましくはドラッ

グライクなアミノ酸から選択される。

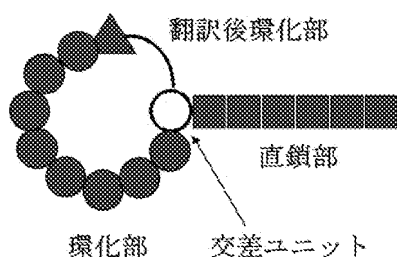
[0083] ・環状ペプチド化合物

本発明の環状ペプチド化合物は、アミノ酸がアミド結合又はエステル結合して形成される化合物であり、環状部を有する。本明細書において、環状ペプチド化合物の「環状部」とは、13又は14個のアミノ酸残基又は α -ヒドロキシカルボン酸がアミド結合、エステル結合又は炭素-炭素共有結合により連結されて形成されている環状構造を意味する。環状ペプチド化合物は、環状部と直鎖部を併せて30残基以下で構成されていることが好ましい。優れた膜透過性と代謝安定性の両立（ドラッグライクネス）を考慮すると、環状部を構成するアミノ酸の数は13又は14であることが好ましい。非限定の一態様において、環状ペプチド化合物の環状部は、翻訳合成されたペプチド化合物を環化反応に供することにより形成される。本発明の環状ペプチド化合物は、さらに化学修飾されていてもよい。化学修飾された環状ペプチド化合物としては、例えば、核酸が連結された環状ペプチド化合物（環状ペプチド-核酸複合体）である。核酸は、リンカーを介して環状ペプチド化合物に連結していてもよい。

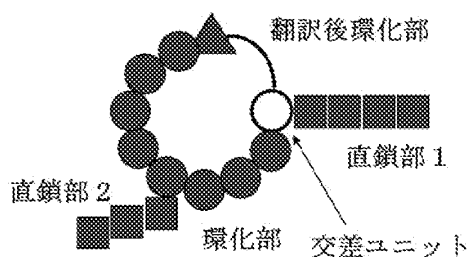
[0084] 環状ペプチド化合物の環状部には、その環状構造を構成する主鎖から分岐するように側鎖（「直鎖部」ともいう。）を有していてもよく、直鎖部には少なくとも一つのアミド結合及び／又はエステル結合を有する。本発明の環状ペプチド化合物が直鎖部を有する場合、例えば、スキームA-1またはA-2のように記載することができる。例えば、環状ペプチド化合物が直鎖部を有する場合、環状部を構成するアミノ酸にAspやGluを含み、当該AspやGluの主鎖または側鎖のカルボキシ基と、直鎖部のアミノ基とがアミド結合で連結されたペプチド化合物であってよい。本明細書において「直鎖部」には、天然アミノ酸や非天然アミノ酸（化学修飾や骨格変換されたアミノ酸を含む）が含まれる。環状部と直鎖部を併せた総アミノ酸数が13又は14残基であると、膜透過性がより高くなる傾向がある。環状部と直鎖部を併せた総アミノ酸数が13残基以上であると、代謝安定性がより高くなる

傾向がある。直鎖部のアミノ酸の数は0～8残基であることが好ましく、0～3残基であることがより好ましく、0であること（すなわち、直鎖部がないこと）が最も好ましい。

[化2]



スキームA-1



スキームA-2

[0085] 本明細書において「アミノ酸の数」とは、ペプチドを構成するアミノ酸残基又は α -ヒドロキシカルボン酸の総数のことであり、アミノ酸を連結しているアミド結合、エステル結合、及び環化部の結合を切断した際に生じるアミノ酸又は α -ヒドロキシカルボン酸の数を意味する。

[0086] 本明細書において「環状部を構成するアミノ酸」とは、環状ペプチド化合物に存在するアミド結合、エステル結合、及び、環化部の結合を切断した場合に生じるアミノ酸のうち、環状部の主鎖上に存在するアミノ酸をいう。上記スキームA-1又はA-2に示す交差ユニットに相当するアミノ酸又は α -ヒドロキシカルボン酸は、環状部を構成するアミノ酸に含まれる。

[0087] 環状ペプチド-核酸複合体は、環状ペプチド化合物（ペプチド部位）と核酸が直接又はリンカーを介して連結されている。環状ペプチド-核酸複合体において、核酸は直鎖部に連結しており、環状部には連結していない。本明細書において、核酸が連結している直鎖部全体を「核酸連結部」といい、ペプチド部位のうち核酸連結部以外の部分を「核酸連結部以外のペプチド部位」という。また、核酸が連結されていないペプチド化合物においては、核酸連結部が存在しないため、ペプチド部位全体を「核酸連結部以外のペプチド部位」と称する。例えば、前記スキームA-2において、直鎖部1の先端に核酸が連結されている場合には、該直鎖部1以外の部分、すなわち環状部及

び直鎖部2を合わせた部分が「核酸連結部以外のペプチド部位」となる。鎖状ペプチド-核酸複合体においては、鎖状ペプチド全体が核酸連結部であるため、「核酸連結部以外のペプチド部位」は存在しない。

- [0088] 非限定の一態様において、環状ペプチド化合物は、環状部を有し、
- (1) 前記環状部が13又は14個のアミノ酸残基で構成されており、
 - (2) 前記環状部を構成するアミノ酸残基のうち、N置換アミノ酸残基の数が7以上であり、同じ側鎖を有するアミノ酸残基の数が3以下であり、天然アミノ酸残基の数が4以下であり、および
 - (3) ClogP/total amide bond (ClogP/total AB)が1.0～1.8である、環状ペプチド化合物である。
- [0089] 本開示における環状ペプチド化合物（環状ペプチド化合物が核酸と連結している場合には、ペプチド部位という。）を構成するアミノ酸の数は、特に限定されないが、30以下が好ましい。環状ペプチド化合物が核酸と連結している場合には、環状ペプチド化合物の化学構造を、核酸連結部とそれ以外のペプチド部位に分類できる。核酸連結部以外のペプチド部位を構成するアミノ酸の数が13又は14であるか、又は、環状部を構成するアミノ酸の数が13又は14であると、優れた膜透過性と代謝安定性が両立できる傾向がある。
- [0090] 非限定の一態様において、直鎖部のアミノ酸の数（ユニットの数）は0～8であることが好ましく、0～5がより好ましく、0～3が最も好ましい。
- [0091] 環状部を構成するアミノ酸残基のうち、同一側鎖のアミノ酸残基の数は限定されないが、例えば、5以下、4以下、3以下、又は2以下が挙げられ、4以下が好ましく、3以下がより好ましく例示される。すなわち、環状部を構成するアミノ酸には、同一側鎖のアミノ酸が最大5個まで含まれ得る。
- [0092] 環状部を構成するアミノ酸の数は限定されないが、例えば、13以上、14以下、13～14、13、又は14が挙げられる。優れた膜透過性と代謝安定性の両立を考慮すると、前記環状部を構成するアミノ酸の数は、13～14、13、又は14が好ましい。

- [0093] 非限定の一態様において、環状部を構成するアミノ酸の総数に対するN置換アミノ酸の数の割合が、50%以上、55%以上、60%以上、65%以上、70%以上、又は75%以上であると、より高い膜透過性を示す環状ペプチド化合物となり得る。
- [0094] 非限定の一態様において、環状部を構成するN置換アミノ酸の数は限定されないが、7以上、8以上、9以上、10以上、14以下、13以下、12以下、11以下、7~14、7~13、7~12、7~11、7~10、7~9、8~14、8~13、8~12、8~11、8~10、8~9、9~14、9~13、9~12、9~11、9~10、10~14、10~13、10~12、又は10~11が挙げられる。優れた膜透過性と代謝安定性の両立を考慮すると、7以上、又は7~13が好ましく、8以上、9以上、10以上、7~10、又は8~10がより好ましく例示される。
- [0095] 本開示における環状ペプチド化合物は、 $\text{ClogP}/\text{total amide bond}(\text{ClogP}/\text{total AB})$ が1.0~1.8である化合物である。本明細書において「total AB」とは、以下のとおり計算する。環状ペプチド化合物が核酸と連結していない場合、環状ペプチド化合物全体を構成する全てのアミド結合の数（各アミノ酸の主鎖及び側鎖のアミド結合の数）の和を「total AB」として使用する。一方、環状ペプチド化合物が核酸と連結している場合、環状ペプチド化合物の核酸連結部以外のペプチド部位を構成するアミノ酸の主鎖及び側鎖のアミド結合の数の和を「total AB」として使用する。核酸連結部と核酸連結部以外のペプチド部位との間の結合がアミド結合である場合、当該アミド結合も算入する。 $\text{ClogP}/\text{total AB}$ とは、 ClogP をtotal ABで除することにより算出される値である。核酸が連結している環状ペプチド化合物（環状ペプチド-核酸複合体）は、スクリーニングに使用するディスプレイライブラリを構成するものとして利用可能なものであり、実際に想定される医薬候補化合物は、核酸が連結していない部分のみである。そのため、ドラッグライクネス（例えば、高い膜透過性）を考慮する場合、核酸連結部以外のペプチド部位の性質が重要となり得る。

- [0096] 非限定の一態様において、本開示における環状ペプチド化合物のClogPは、良好な膜透過性を有するためには、4以上25以下であることが好ましく、10以上、11以上、12以上、13以上がより好ましく、25以下、24以下、23以下、22以下、21以下、20以下がより好ましく例示され、10～25、11～24、12～23、13～22、13～21、13～20、14～20、15～20が例示される。ClogPは、コンピューターで計算した分配係数であり、「CLOGP Reference Manual DaylightVersion 4.9（リリース日：2011年8月1日、<https://www.daylight.com/dayhtml/doc/clogp/>）」に記載の原則に則って求めることができる。ClogPを計算する方法の一例として、Daylight ChemicalInformation Systems, Inc.のDaylight Version 4.95（リリース日：2011年8月1日、ClogPアルゴリズムversion5.4、データベースversion28、https://www.daylight.com/dayhtml/doc/release_notes/index.html）を用いて計算することが挙げられる。
- [0097] なお、CLOGP Reference Manual Daylight Version 4.9（リリース日：2011年8月1日、<https://www.daylight.com/dayhtml/doc/clogp/>）」に記載の原則は国際公開第2024/214825号の[0101]段落に記載のとおりである。
- [0098] 本明細書において、環状ペプチド化合物が核酸と連結していない場合には、環状ペプチド化合物全体のClogPを計算する。環状ペプチド化合物が核酸と連結している場合、核酸連結部以外のペプチド部位のClogPを「環状ペプチド化合物のClogP」として計算する。「核酸連結部以外のペプチド部位のClogP」は、環状ペプチド化合物の核酸連結部をピペリジン（pip）に置き換えた仮想ペプチドについて、ClogPを計算した値である。すなわち、仮想ペプチドは、環状部を構成するアミノ酸の主鎖または側鎖のカルボキシ基（例えば、Asp、Gluのような側鎖にカルボキシ基を有するアミノ酸残基）と核酸連結部のアミノ基とのアミド結合において、核酸連結部のアミノ基に代えて、ピペリジン（pip）が結合した環状ペプチドである。核酸が連結して

いる環状ペプチド化合物（環状ペプチド-核酸複合体）は、スクリーニングに使用するディスプレイライブラリを構成するものとして利用可能なものであり、実際に想定される医薬候補化合物は、核酸が連結していない部分のみである。そのため、ドラッグライクネス（例えば、高い膜透過性）を考慮する場合、核酸連結部以外のペプチド部位の性質が重要となり得る。

[0099] 非限定の一態様において、本開示における環状ペプチド化合物のClogP/total ABは、1.0以上が好ましく、1.1以上がより好ましく、1.2以上が最も好ましい。また、本開示における環状ペプチド化合物のClogP/total ABは、1.8以下、1.7以下、1.6以下、1.5以下、1.4以下が好ましい。好ましいClogP/total ABとしては、1.0～1.8、1.0～1.7、1.0～1.6、1.0～1.5、1.0～1.4、1.0～1.3、1.0～1.2、1.1～1.6、1.1～1.5、1.1～1.4、1.1～1.3、又は1.1～1.2が例示される。

[0100] 非限定の一態様において、本開示における環状ペプチド化合物のClogP/total ABが1.0以上であり、かつN置換アミノ酸の数が7以上であると、膜透過性により優れる。また、環状ペプチド化合物のClogP/total ABが1.1以上であり、かつN置換アミノ酸の数が8以上であると、膜透過性にさらに優れる。

[0101] 非限定の一態様において、本開示における環状ペプチド化合物は、その環状部に水素結合供与体（プロトンドナー）を有していてもよい。水素結合供与体は、水素結合を形成するために必要な水素原子を提示する基であり、同一化合物内または近傍に存在する他の化合物（水分子も含む）内の水素結合受容体（プロトンアクセプター）と水素結合を形成する。水素結合供与体は、電気陰性度が比較的高い原子と共有結合している水素原子を有する基であり、例えば、水酸基、カルボキシ基、アミノ基、無置換のアミド基、モノ置換のアミド基が挙げられる。水素結合受容体は、例えば、カルボキシ基、エステル、アミド等のカルボニル酸素、アミン窒素等のローンペアである。分子内水素結合を形成すると、ペプチド化合物の配座が固定され、標的分子と

の親和性を高め得る。標的分子との分子間水素結合を形成すると、標的分子との親和性を高め得る。水素結合供与体の数は、8以下、7以下、6以下、5以下、4以下、3以下、2以下、1以下が例示される。水素結合供与体の数が、5以下、4以下、又は3以下であると、より優れた膜透過性と代謝安定性の両立が達成できる。前記水素結合供与体の数の下限は特に限定されないが、0以上、1以上、及び2以上が例示される。前記水素結合供与体の数としては、0～8、0～7、0～6、0～5、0～4、0～3、0～2、0～1、1～8、1～7、1～6、1～5、1～4、1～3、1～2、2～8、2～7、2～6、2～5、2～4、2～3、3～8、3～9、3～8、3～7、3～6、3～5、又は3～4が例示される。

[0102] ペプチド化合物がより高い膜透過性を示し、標的分子に特異的に結合できるペプチド化合物のヒット率を高めるために、環状ペプチド化合物の環状部を構成するアミノ酸の側鎖は、ドラッグライクな置換基の中から選択される基を含むことが好ましい。ドラッグライクな置換基は、例えば、置換されていてもよいアルキル基、シクロアルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アラルキル基、アリール基、ヘテロアリール基の中から選択でき、例えば置換基としてハロゲン原子、アミド基（ $-\text{CO}-\text{NR}\text{R}'$ あるいは $-\text{NR}-\text{CO}-\text{R}'$ ）、スルホニル基（ $-\text{SO}_2-\text{R}$ ）、アルコキシ基（ $-\text{OR}$ ）などでさらに置換されていてもよい（R、R' は、それぞれ独立して、置換されてもよいアルキル基、シクロアルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アリール基、ヘテロアリール基、アラルキル基の中から選択される、あるいはアミド基の場合、R 及び R' は、それらが結合している窒素原子と一緒にあって4～8員飽和複素環を形成し、該4～8員飽和複素環は、ハロゲン原子、オキソ基、 C_1-C_6 アルキル基、および4～7員ヘテロシクリル基からなる群より独立して選択される少なくとも1つの基で置換されていてもよい。）。

[0103] 一方、生体膜はリン脂質で構成されているため、生体中（ $\text{pH}=7$ 付近）で極度にイオン化されやすい極性官能基（例えば、アルキルアミノ基、アル

キルグアジニノ基など)は、高い膜透過性を獲得するのにあまり好適ではない。本開示における環状ペプチド化合物は、これらの官能基を含まないことが好ましい。

- [0104] 非限定の一態様において、本開示における環状ペプチド化合物の環状部を構成する少なくとも1つのアミノ酸の側鎖は、アルキル基、シクロアルキル基、アラルキル基、およびアミド基からなる群より選択される少なくとも一つから構成される。ここで前記アルキル基は、前記アルキル基の任意の原子と前記アミノ酸のアミノ基の窒素原子が一緒になって環を形成していてもよい。
- [0105] 非限定の一態様において、本開示における環状ペプチド化合物の環状部を構成する少なくとも1つのアミノ酸の側鎖がアルキル基である場合、ハロゲン原子、ヒドロキシ基、 C_3-C_8 シクロアルキル基、および C_1-C_6 アルコキシ基からなる群より選択される少なくとも1つの基で置換されていてもよい C_1-C_6 アルキル基であってよい。
- [0106] 非限定の一態様において、本開示における環状ペプチド化合物の環状部を構成する少なくとも1つのアミノ酸の側鎖がシクロアルキル基である場合、ハロゲン原子、ヒドロキシ基、 C_1-C_6 アルキル基、 C_1-C_6 ハロアルキル基、 C_1-C_6 アルコキシ基、および C_1-C_6 ハロアルコキシ基からなる群より選択される少なくとも1つの基で置換されていてもよい C_3-C_{10} シクロアルキル基であってよい。
- [0107] 非限定の一態様において、本開示における環状ペプチド化合物の環状部を構成する少なくとも1つのアミノ酸の側鎖がアラルキル基である場合、ハロゲン原子、 C_1-C_6 アルキル基、 C_1-C_6 ハロアルキル基、 C_1-C_6 アルコキシ基、および C_1-C_6 ハロアルコキシ基からなる群より選択される少なくとも1つの基で置換されていてもよい C_7-C_{14} アラルキル基であってよい。
- [0108] 非限定の一態様において、本開示における環状ペプチド化合物の環状部を構成する少なくとも1つのアミノ酸の側鎖がアラルキル基である場合、置換

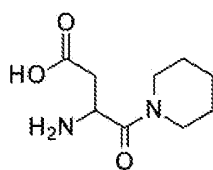
されていてもよい C_5-C_{10} アリール C_1-C_6 アルキル基であってよく、前記 C_5-C_{10} アリール基は、ハロゲン原子、 C_1-C_6 アルキル基、 C_1-C_6 ハロアルキル基、 C_1-C_6 アルコキシ基、および C_1-C_6 ハロアルコキシ基からなる群より選択される少なくとも1つの基で置換されていてもよい。

[0109] 非限定の一態様において、本開示における環状ペプチド化合物の環状部を構成する少なくとも1つのアミノ酸の側鎖がアミド基である場合、該アミド基は式： $-CONR^1R^2$ で表され、式中、 R^1 および R^2 は、それぞれ独立して、水素原子、または C_1-C_6 アルキル基であるか、あるいは R^1 及び R^2 は、それらが結合している窒素原子と一緒に4～8員飽和複素環を形成し、該4～8員飽和複素環は、ハロゲン原子、オキソ基、 C_1-C_6 アルキル基、および4～7員ヘテロシクリル基からなる群より独立して選択される少なくとも1つの基で置換されていてもよい。

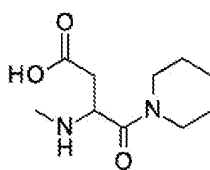
[0110] 非限定の一態様において、本開示における環状ペプチド化合物は、アミノ酸の側鎖に含まれるカルボキシ基と、他のアミノ酸のアミノ基の窒素原子の間で形成されたアミド結合を少なくとも1つ含む環状ペプチド化合物であってよい。

[0111] 非限定の一態様において、本開示における環状ペプチド化合物は、Asp-pip（式(i)参照）およびMeAsp-pip（式(ii)参照）からなる群より選択されるアミノ酸を含んでよい。

[化3]



式(i)



式(ii)

[0112] 非限定の一態様において、本開示における環状ペプチド化合物の環状部を構成する少なくとも1つのアミノ酸は、Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Thr、Phe、Pro、Abu、D-Ala、D-MeAla、D-MeVal、D-Val、Hph、MeAbu、MeAla、MeGly

y、MeIle、MeLeu、MePhe、MeThr、MeVal、nBuGly、Ser(tBu)、Asp-pip、bAla、bMeAla、D-3-Abu、D-3-MeAbu、MeAsp-pip、およびgMeAbuからなる群より選択されるアミノ酸であってよい。本開示における環状ペプチド化合物の環状部を構成する少なくとも1つのアミノ酸は、それぞれ独立に、Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Thr、Phe、Pro、Abu、D-Ala、D-MeAla、D-MeVal、D-Val、Hph、MeAbu、MeAla、MeGly、MeIle、MeLeu、MePhe、MeThr、MeVal、nBuGly、Ser(tBu)、Asp-pip、bAla、bMeAla、D-3-Abu、D-3-MeAbu、MeAsp-pip、およびgMeAbuからなる群より選択されるアミノ酸であってよい。

[0113] 非限定の一態様において、本開示における環状ペプチド化合物の環状部を構成するアミノ酸は、特に限定されないが、いずれも、 α -アミノ酸であってよく、 β -アミノ酸骨格または γ -アミノ酸骨格を有するアミノ酸であってもよい。環状ペプチド化合物の環状部を構成する α -アミノ酸の数は、限定されないが、例えば、10~14、10~13、10~12、10~11、10、11、12、13、又は14であってよい。環状ペプチド化合物の環状部を構成する β -アミノ酸骨格を有するアミノ酸の数は、限定されないが、0~4、0~3、0~2、0~1、1~4、1~3、1~2、2~4、2~3、3~4、0、1、2、3、又は4であってよい。環状ペプチド化合物の環状部を構成する γ -アミノ酸骨格を有するアミノ酸の数は、限定されないが、0~4、0~3、0~2、0~1、1~4、1~3、1~2、2~4、2~3、3~4、0、1、2、3、又は4であってよい。

[0114] 非限定の一態様において、本開示における環状ペプチド化合物の環状部を構成するアミノ酸は、特に限定されないが、Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Thr、Phe、Pro、Abu、D-Ala、D-MeAla、D-MeVal、D-Val、Hph、MeAbu、MeAla、Me

Gly、MeIle、MeLeu、MePhe、MeThr、MeVal、nBuGly、およびSer(tBu)からなる群より選択される α -アミノ酸を含んでいてよい。 α -アミノ酸は、それぞれ独立に、Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Thr、Phe、Pro、Abu、D-Ala、D-MeAla、D-MeVal、D-Val、Hph、MeAbu、MeAla、MeGly、MeIle、MeLeu、MePhe、MeThr、MeVal、nBuGly、及びSer(tBu)からなる群より選択されるアミノ酸であってよい。

[0115] 非限定の一態様において、本開示における環状ペプチド化合物の環状部を構成するアミノ酸は、特に限定されないが、Asp-pip、bAla、bMeAla、D-3-Abu、D-3-MeAbu、およびMeAsp-pipからなる群より選択される β -アミノ酸骨格を有するアミノ酸を含んでいてよい。 β -アミノ酸骨格を有するアミノ酸は、それぞれ独立に、Asp-pip、bAla、bMeAla、D-3-Abu、D-3-MeAbu、及びMeAsp-pipからなる群より選択されるアミノ酸であってよい。

[0116] 非限定の一態様において、本開示における環状ペプチド化合物の環状部を構成するアミノ酸は、特に限定されないが、gMeAbuを含んでいてよく、gMeAbuであってもよい。

[0117] 非限定の一態様において、本開示における環状ペプチド化合物の環状部を構成するアミノ酸のうち、天然アミノ酸の数は、0～6、0～5、0～4、0～3、0～2、0～1、1～6、1～5、1～4、1～3、1～2、2～6、2～5、2～4、2～3、3～6、3～5、3～4、4～6、4～5、5～6が例示され、1～4が好ましい。

[0118] 非限定の一態様において、本開示における環状ペプチド化合物の環状部を構成するアミノ酸は、Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Thr、Phe、およびProからなる群より選択される天然アミノ酸を含んでいてよい。天然アミノ酸は、それぞれ独立に、Gly、Ala、Val、Leu

、I l e、T h r、P h e、およびP r oからなる群より選択されるアミノ酸であってよい。

[0119] 非限定の一態様において、本開示における環状ペプチド化合物の環状部を構成するアミノ酸のうち、非天然アミノ酸の数は、7以上が好ましく、8以上がより好ましく、9以上が最も好ましい。また、14以下、13以下、12以下、11以下、10以下が好ましい非天然アミノ酸の数として例示される。

[0120] 非限定の一態様において、本開示における環状ペプチド化合物の環状部を構成するアミノ酸は、特に限定されないが、A b u、A s p - p i p、b A l a、b M e A l a、D - 3 - A b u、D - 3 - M e A b u、D - A l a、D - M e A l a、D - M e V a l、D - V a l、g M e A b u、H p h、M e A b u、M e A l a、M e A s p - p i p、M e G l y、M e l l e、M e L e u、M e P h e、M e T h r、M e V a l、n B u G l y、およびS e r (t B u) からなる群より選択される非天然アミノ酸を含んでいてよい。非天然アミノ酸は、それぞれ独立に、A b u、A s p - p i p、b A l a、b M e A l a、D - 3 - A b u、D - 3 - M e A b u、D - A l a、D - M e A l a、D - M e V a l、D - V a l、g M e A b u、H p h、M e A b u、M e A l a、M e A s p - p i p、M e G l y、M e l l e、M e L e u、M e P h e、M e T h r、M e V a l、n B u G l y、及びS e r (t B u) からなる群より選択されるアミノ酸であってよい。

[0121] 非限定の一態様において、本開示における環状ペプチド化合物のC a c o - 2 P_{a p p} (c m / s e c) の値は、例えば、1. 0 × 10⁻⁴以下、9. 0 × 10⁻⁵以下、8. 0 × 10⁻⁵以下、7. 0 × 10⁻⁵以下、6. 0 × 10⁻⁵以下、5. 0 × 10⁻⁵以下、4. 0 × 10⁻⁵以下、3. 0 × 10⁻⁵以下、2. 0 × 10⁻⁵以下、1. 0 × 10⁻⁵以下、9. 0 × 10⁻⁶以下、8. 0 × 10⁻⁶以下、7. 0 × 10⁻⁶以下、6. 0 × 10⁻⁶以下、又は5. 99 × 10⁻⁶以下であってよい。非限定の一態様において、本開示における環状ペプチド化合物のC a c o - 2 P_{a p p} (c m / s e c) の値は、例えば、1. 0 ×

10^{-9} 以上、 1.0×10^{-8} 以上、 1.0×10^{-7} 以上、 0.4×10^{-6} 以上、 1.0×10^{-6} 以上、又は 1.0×10^{-5} 以上であってよく、好ましくは 0.4×10^{-6} 以上であり、より好ましくは 1.0×10^{-6} 以上であってよい。非限定の一態様において、本開示における環状ペプチド化合物の $Caco-2$ P_{app} (cm/sec) の値の範囲として、例えば、 1.0×10^{-9} 以上 1.0×10^{-4} 以下、 1.0×10^{-8} 以上 1.0×10^{-4} 以下、 1.0×10^{-7} 以上 1.0×10^{-4} 以下、 0.4×10^{-6} 以上 1.0×10^{-4} 以下、 0.4×10^{-6} 以上 1.0×10^{-5} 以下が例示される。

[0122] ・ ペプチド化合物の膜透過性

$Caco-2$ P_{app} (cm/sec) の値は、細胞膜における膜透過性の指標になる値であり、以下の条件による膜透過性評価により算出することができる。

[0123] (a) $Caco-2$ 細胞を96wellトランスウェル上で3週間培養した後に、Apical側に評価対象とする化合物と、DMEM培地及びFassif (1%DMSO含む) とを添加し、Basal側にDMEM培地を添加し、5%CO₂雰囲気下、37℃、80rpmで振盪しながら24時間ブレインキュベーションし、

(b) ブレインキュベーション後、Apical側及びBasal側のブレインキュベーション溶液を吸引除去及び洗浄し、Apical側に化合物を含むFassif/HBSS緩衝液 (1%DMSO含む、pH6.0) を添加し、Basal側にHBSS緩衝液 (4%BSA含む、pH7.4) を添加し、

(c) 各wellは5%CO₂雰囲気下、37℃、80rpmで振盪し、振盪開始180分後にBasal側のサンプルを採取し、液体クロマトグラフィー質量分析法 (LC/MS) で化合物の透過量を測定し、

(d) 測定された透過量から透過係数 ($Caco-2$ P_{app} (cm/sec)) を算出する。

[0124] 透過係数 ($Caco-2$ P_{app} (cm/sec)) は、数式1を使って算

出される。

[数1]

$$P_{app} = \frac{1}{C_i(0) \times S} \times \frac{dQ}{dt} \quad (\text{数式 1})$$

dQ/dt は薬物の透過速度（単位時間あたりに Basal 側に出現する薬物量）、 S は細胞全体の表面積、 $C_i(0)$ は Apical 側の薬物添加濃度。

なお、上記測定においては、F a S S I F / H B S S 緩衝液（1 % DMSO）（pH 6.0）及び H B S S 緩衝液（4 % BSA）（pH 7.4）にそれぞれ P g p 阻害剤（例えば Z o s q u i d a r など）を添加することができる。また、上記工程（d）で透過係数を計算する際に用いるドナー側評価対象化合物の濃度を初期に添加した化合物濃度とすることができる他、プレインキュベーションを開始する前や上記工程（c）で振盪を開始する前に A p i c a l 側の溶液を採取して測定した化合物濃度を用いることもできる。特に、プレインキュベーションを行う場合は、プレインキュベーション前までに採取した A p i c a l 側の化合物濃度を用いることが好ましい。

[0125] 非限定の一態様において、本開示におけるペプチド化合物の膜透過性を測定する際には、ペプチド部位の鋳型となる核酸部分を有しないペプチド化合物を被験物質とすることが好ましい。一態様において、後述するように、ペプチドー核酸複合体の状態でパニングを行った後に、標的分子に特異的に結合できるペプチドー核酸複合体を選択し、その核酸部分の塩基配列に基づいてペプチド化合物を合成することができる。このように合成されたペプチド化合物を被験物質として膜透過性の測定を行うことが、好ましく例示される。一態様において、前記塩基配列がコードするペプチド化合物の誘導体を合成し、これを被験物質として膜透過性の測定をしてもよく、膜透過性の結果に基づいて被験物質から誘導体を合成し、その誘導体についての膜透過性を測定してもよい。

[0126] 非限定の一態様において、本開示における環状ペプチド化合物は、表 15 に記載の化合物 p d 0 0 1 ~ p d 1 6 8 から選択されてもよい。

[0127] ・ペプチド-核酸複合体

一態様において、本開示におけるペプチド化合物は、ペプチドと核酸の複合体（ペプチド-核酸複合体）であってよい。ペプチド-核酸複合体は、ペプチド部位のC末端側で核酸と結合し複合体を形成してよい。本開示におけるペプチド-核酸複合体は、核酸が連結している直鎖部（すなわち、核酸連結部）と、核酸連結部以外のペプチド部位とに分類される。環状ペプチド-核酸複合体において、核酸は直鎖部に連結しており、環状部には連結していない。ペプチドと核酸の結合方式は、特に限定されないが、リンカーを介して結合してよい。ペプチド化合物と核酸がリンカーを介して結合する場合、リンカーは核酸連結部の一部として考慮される。一態様において、ペプチド部位と複合体を形成する核酸は、DNA又はRNAであってよく、RNAが好ましく、mRNAがより好ましい。一態様において、ペプチドと複合体を形成する核酸は、ペプチド部位の翻訳合成に用いた鋳型であってよく、鋳型としてはmRNAが好ましい。より具体的な一態様としては、鋳型であるmRNAの3'末端に、アミノアシルtRNAのアナログである抗生物質ピューロマイシンなどを含むリンカーを介して、ペプチド部位のC末端が連結されたペプチド化合物が、好ましく例示される。

[0128] ペプチド-核酸複合体は、例えば、国際公開2013/100132号に記載の方法により製造することができる。具体的には、ペプチド-核酸複合体は、以下の工程を含む方法で製造することができる。

- A) ジヌクレオチドp d C p Aまたはp C p Aを所望のアミノ酸又はアミノ酸類縁体でアシル化し、アミノアシルp d C p Aまたはアミノアシルp C p Aを提供する工程、
- B) 3'末端のCAを欠損したtRNAを提供する工程、
- C) 工程A)のアミノアシルp d C p Aまたはアミノアシルp C p Aと、工程B)のCA欠損tRNAを連結させ、所望のアミノ酸又はアミノ酸類縁体でアシル化された開始tRNAを提供する工程、
- D) 工程C)の開始tRNAを含み、メチオニン、メチオニルtRNA合

成酵素 (MetRS)、メチオニン用翻訳開始 tRNA、フォルミルドナー、及びメチオニル tRNA トランスフェラーゼのうちの少なくとも 1 つを含まない無細胞翻訳系を提供する工程、

E) プロモーターの下流に、翻訳開始 ATG に続いてシステインコドン UGU もしくは UGC を、その下流に工程 C) の tRNA のアンチコドンに対応するコドンを含むペプチド配列をコードした鋳型 DNA を提供する工程、

F) 工程 E) の鋳型 DNA から mRNA を提供する工程、

G) 工程 F) の mRNA の 3' 末端にリンカーを結合させる工程、

H) 工程 D) の無細胞翻訳系に工程 G) のリンカーを結合した mRNA を加え、翻訳することで、環化前ペプチド-mRNA 複合体を提供する工程。

[0129] ペプチドが環状ペプチドである場合には、工程 H) の環化前ペプチド-mRNA 複合体をさらに環化する工程を設けてもよい。工程 H) では、必要に応じて脱硫反応を行うことができる。また、工程 G) の後、mRNA の 3' 領域にアニールするプライマーを用いて cDNA を合成する工程を含むことができる。

[0130] 工程 A~C では、所望の tRNA 配列をコードし、上流に T7, T3 もしくは SP6 プロモーターを配置した鋳型 DNA を用意し、T7 RNA polymerase や T3, SP6 RNA polymerase などプロモーターに適応した RNA ポリメラーゼを利用して転写によって RNA を合成することができる。細胞から tRNA を抽出精製し、tRNA の配列の相補配列のプロープを用いて目的の生成 tRNA を抽出することも出来る。この際目的の tRNA の発現ベクターで形質転換した細胞をソースにすることもできる。化学合成によって目的の配列の RNA を合成することもできる。例えば、このようにして得られた 3' 末端の CCA 配列から CA を除いた tRNA と別途調製したアミノアシル化した pdcA とを RNA リガーゼで結合させることでアミノアシル tRNA を得ることができる (pdcA 法)。全長 tRNA を用意し、種々の非天然アミノ酸の活性エステルを tRNA に担持させるリボザイムであるフレキシザイムによるアミノアシル化も可能である。この他にも後述の方法を用いることに

よってアシル化 tRNA を得ることができる。

- [0131] 工程 E～H では、まず T7 プロモーターなどのプロモーターの下流に所望の配列を配置した DNA を化学合成し、これを鋳型にプライマー伸長反応にて二本鎖 DNA にする。得られた二本鎖 DNA を鋳型に T7 RNA polymerase などの RNA ポリメラーゼを用いて mRNA に転写する。転写で得られた mRNA の 3' 末端にピューロマイシンなどを含むリンカーを結合させ、PURE system など公知の無細胞翻訳系を用いて mRNA をタンパク質に翻訳させると、ピューロマイシンがタンパク質に取り込まれ、mRNA とこれにコードされるタンパク質がピューロマイシンを介して連結される。このようにして、mRNA とそれにコードされる産物（ペプチド）が対応付けられたペプチド－mRNA 複合体を構築することができる。

[0132] ・ペプチド化合物の代謝安定性

非限定の一態様において、本開示におけるペプチド化合物は、良好な代謝安定性を有することが好ましい。良好な代謝安定性のためには、ペプチド化合物中に含まれるアミノ酸の数が 13～14 であることが好ましい。ペプチド化合物中に含まれるアミノ酸の数が 13～14 であれば、上述の膜透過性を有するための条件は、当該ペプチド化合物の代謝安定性に影響しない。また、一態様において、容易に酸化される可能性のあるチオエーテル結合を有しないことが好ましい。また、一態様において、酸化されやすく代謝安定性の妨げとなり得ることから、メチルチオ基を有しないことが好ましい。

- [0133] 本発明のペプチド化合物の代謝安定性の確認は、公知の方法、例えば、肝細胞、小腸細胞、肝ミクロソーム、小腸ミクロソーム、肝 S9 ミックス等を用いて確認することができる。具体的には、例えば、肝ミクロソーム中のペプチド化合物の安定性を LL von Moltke らの文献 (Midazolam hydroxylation by human liver microsomes in vitro: inhibition by fluoxetine, norfluoxetine, and by azole antifungal agents. J Clin Pharmacol, 1996, 36(9), 783-791) の記載に従って測定することで確認することができる。より具体的には、実施例 3 に記載の方法に従って確認することができる。

[0134] 代謝安定性は、例えば肝ミクロソーム中の安定性を上述の方法に従って測定した時の、肝固有クリアランス (CL_{int} ($\mu\text{L}/\text{min}/\text{mg protein}$)) の値が、150以下である場合に経口剤の医薬品として使用可能な代謝安定性を得ることができたと考えることが可能であり、好ましくは100以下である。CYP3A4により代謝される薬物の場合、ヒトにおける小腸代謝を回避するためには78以下（非特許文献：M. Kato et al. The intestinal first-pass metabolism of substances of CYP3A4 and P-glycoprotein-quantitative analysis based on information from the literature. Drug Metab. Pharmacokinet. 2003, 18(6), 365-372.）であることが好ましく、ヒトにおいて約30%以上のバイオアベイラビリティを示すためには35以下 ($F_a F_g = 1$ 、タンパク結合率0%を仮定) であることが、より好ましい。

[0135] ・核酸

非限定の一態様において、本開示におけるペプチド化合物は、核酸と連結していてもよく、好ましくはリンカーを介して連結されている。本開示における核酸としては、本開示におけるペプチド化合物をコードする核酸が好ましく例示される。一態様において、「ペプチド化合物をコードする核酸」とは、該ペプチド化合物を翻訳合成する際に使用される又は使用された鋳型の核酸をいう。

[0136] ・ライブラリ

本開示におけるライブラリには、本開示におけるペプチド化合物のライブラリ、ペプチド-核酸複合体のライブラリが含まれる。本開示におけるライブラリは、鎖状ペプチド化合物、鎖状ペプチド-核酸複合体をさらに含んでもよい。本開示におけるライブラリとしては、環状ペプチド化合物のライブラリ、又は環状ペプチド-核酸複合体のライブラリが好ましく、特に環状ペプチド-mRNA複合体のライブラリが好ましい。本開示におけるライブラリによれば、13又は14残基のアミノ酸から形成される環状部を有する環状ペプチド化合物のうち、ドラッグライクネスに優れ、標的分子と親和性の高い化合物を効率良く見出すことができる。ライブラリとしては、ディ

スプレイライブラリが好ましい。ディスプレイライブラリとしては、ディスプレイを利用したライブラリが例示され、中でも mRNA ディスプレイライブラリ、DNA ディスプレイライブラリ、リボソームディスプレイライブラリが好ましく、mRNA ディスプレイライブラリがより好ましい。本開示におけるライブラリがディスプレイライブラリであると、パニングで濃縮されたペプチド化合物に連結した核酸を PCR 等により増幅し転写、翻訳することにより、ペプチド化合物を容易に合成し得る (Yanagawa, H. et al. FEBS Lett., 1997, 414, 405-408. および Szostak J.W. et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1997, 94, 12297-12302.)。

[0137] 本開示におけるペプチド化合物は、核酸によりコードされるペプチド化合物であってよい。本開示におけるペプチド化合物が核酸と連結している場合、ペプチド化合物は、その連結された核酸によりコードされるペプチド化合物、又は該ペプチド化合物をさらに修飾して得られるペプチド化合物であり得る。すなわち、本明細書において、「核酸によりコードされる（環状）ペプチド化合物」とは、該核酸を鋳型として翻訳することにより直接合成されるペプチド化合物だけでなく、翻訳後さらに修飾されて合成されるペプチドも含む。例えば、核酸を翻訳することにより直鎖ペプチドが合成され、その後の環化工程により環状ペプチドが合成される場合、該環状ペプチドを、前記核酸によりコードされる環状ペプチド化合物と呼ぶことがある。

[0138] 本明細書における核酸が連結されていてもよいペプチド化合物、及び／又はこれらをコードする核酸のライブラリについて、「～から実質的になる」とは、該ライブラリに含まれるペプチド化合物、及び／又はこれらをコードする核酸のバリエーションの理論上の総数に対する、そこに挙げられたペプチド化合物、及び／又はこれらをコードする核酸のバリエーションの理論上の数の割合が、90%以上、93%以上、95%以上、97%以上、98%以上、又は99%以上であってよいが、これらに限定されるものではない。

[0139] 非限定の一態様において、本開示におけるライブラリに含まれる環状ペプチド化合物の総数に対する、環状部を構成するアミノ酸残基の数が13又は

14である環状ペプチド化合物の数の割合は10%以上、15%以上、20%以上、25%以上、30%以上、35%以上、40%以上、45%以上、50%以上、55%以上、60%以上、65%以上、70%以上、75%以上、80%以上、85%以上、90%以上、又は95%以上であってよいが、これらに限定されるものではない。

[0140] 非限定の一態様において、本開示におけるライブラリが、環状ペプチド化合物の環状部を構成するアミノ酸残基の数が13又は14である環状ペプチド化合物から実質的なライブラリであってよい。

[0141] 非限定の一態様において、本開示におけるライブラリに含まれる環状ペプチド化合物の総数に対する、環状ペプチド化合物を構成するアミノ酸残基の数が13又は14である環状ペプチド化合物の数の割合は10%以上、15%以上、20%以上、25%以上、30%以上、35%以上、40%以上、45%以上、50%以上、55%以上、60%以上、65%以上、70%以上、75%以上、80%以上、85%以上、90%以上、又は95%以上であってよいが、これらに限定されるものではない。

[0142] 非限定の一態様において、本開示におけるライブラリが、環状ペプチド化合物を構成するアミノ酸残基の数が13又は14である環状ペプチド化合物から実質的なライブラリであってよい。

[0143] 非限定の一態様において、本開示におけるライブラリに含まれる各環状ペプチド化合物の核酸連結部以外の直鎖部のアミノ酸の数（ユニットの数）の平均は0～8であることが好ましく、0～5がより好ましく、0が最も好ましい。

[0144] 非限定の一態様において、本開示におけるライブラリに含まれる各環状ペプチド化合物における核酸連結部以外のペプチド部位を構成するアミノ酸の数は限定されないが、例えば、13以上、14以下、13～14、13、又は14が挙げられる。優れた膜透過性と代謝安定性の両立を考慮すると、前記環状部を構成するアミノ酸の数は、13、14、又は13～14が好ましい。

- [0145] 非限定の一態様において、本開示におけるライブラリに含まれる各環状ペプチド化合物における核酸連結部以外のペプチド部位を構成するアミノ酸の数の平均は限定されないが、例えば、13以上、14以下、13、及び14が挙げられる。優れた膜透過性と代謝安定性の両立を考慮すると、前記環状部を構成するアミノ酸の数の平均は、13～14が好ましい。
- [0146] 非限定の一態様において、本開示におけるライブラリに含まれる各環状ペプチド化合物は、環状部を構成するアミノ酸の数に占めるN置換アミノ酸の数の平均として、7以上、8以上、9以上、10以上、14以下、13以下、12以下、11以下、7～14、7～13、7～12、7～11、7～10、7～9、8～14、8～13、8～12、8～11、8～10、8～9、9～14、9～13、9～12、9～11、9～10、10～14、10～13、10～12、又は10～11が挙げられ、7以上、8以上、7～13、又は8～13が好ましく、7～10、又は8～10がより好ましい。
- [0147] 非限定の一態様において、本開示におけるライブラリに含まれる環状ペプチド化合物のうち、環状部を構成するN置換アミノ酸の数が7～10である環状ペプチド化合物の数の割合は、10%以上、20%以上、30%以上、40%以上、50%以上、60%以上、70%以上、80%以上、又は90%以上が挙げられ、50%以上、又は60%以上が好ましく、70%以上がより好ましく、80%以上が最も好ましい。
- [0148] 非限定の一態様において、本開示におけるライブラリに含まれる環状ペプチド化合物のうち、環状部を構成するN置換アミノ酸の数が8～13である環状ペプチド化合物の数の割合は、10%以上、20%以上、30%以上、40%以上、50%以上、60%以上、70%以上、80%以上、又は90%以上が挙げられ、50%以上、又は60%以上が好ましく、70%以上がより好ましく、80%以上が最も好ましい。
- [0149] 非限定の一態様において、本開示におけるライブラリに含まれる環状ペプチド化合物のうち、環状部を構成するN置換アミノ酸の数が8～10である環状ペプチド化合物の数の割合は、10%以上、20%以上、30%以上、

40%以上、50%以上、60%以上、70%以上、80%以上、又は90%以上が挙げられ、50%以上、又は60%以上が好ましく、70%以上がより好ましく、80%以上が最も好ましい。

[0150] 本開示におけるライブラリに含まれる各環状ペプチド化合物は、環状部を構成するアミノ酸の数に占めるN置換アミノ酸の数の平均として、50%以上、55%以上、60%以上、65%以上、70%以上、75%以上、又は80%以上が例示され、50%以上が好ましく、60%以上がより好ましい。ここでいうN置換アミノ酸は、好ましくはN-アルキルアミノ酸、より好ましくはN-C₁-C₆アルキルアミノ酸、さらに好ましくはN-メチルアミノ酸又はN-エチルアミノ酸、最も好ましくはN-メチルアミノ酸であってよい。すなわち、非限定の一態様においては、前記N置換アミノ酸の数は、N-アルキルアミノ酸の数、N-C₁-C₆アルキルアミノ酸の数、N-エチルアミノ酸の数又はN-メチルアミノ酸の数の平均として、例示される。

[0151] 非限定の一態様において、本開示におけるライブラリに含まれる環状ペプチド化合物のClogP/totalABの平均は、1.0以上が好ましく、1.1以上がより好ましく、1.2以上がより好ましく、1.8以下、1.7以下、1.6以下、1.5、又は1.4以下が好ましい。本開示におけるライブラリに含まれる環状ペプチド化合物のClogP/total ABの平均は、1.0~1.8、1.0~1.7、1.0~1.6、1.0~1.5、1.0~1.4、1.0~1.3、1.0~1.2、1.1~1.6、1.1~1.5、1.1~1.4、1.1~1.3、又は1.1~1.2であってよい。「環状ペプチド化合物のClogP/total AB」は、上述のとおり計算される値である。本開示におけるライブラリに含まれる各環状ペプチド化合物のClogP/total ABを計算し、その平均値が上記範囲であると、スクリーニングでヒットした化合物がより優れた膜透過性を有する化合物である確率が高まる。

[0152] 非限定の一態様において、本開示におけるライブラリに含まれる環状ペプチド化合物のClogPの平均は、10以上、11以上、12以上、又は13以上が好ましく、25以下、24以下、23以下、22以下、21以下、又は2

0以下が好ましい。本開示におけるライブラリに含まれる環状ペプチド化合物のClogPの平均は、10～25、11～24、12～23、13～22、13～21、13～20、14～20、又は15～20であってよい。「環状ペプチド化合物のClogP」は、上述のとおり計算される値である。本開示におけるライブラリに含まれる各環状ペプチド化合物のClogPを計算し、その平均値が上記範囲であると、スクリーニングでヒットした化合物がより優れた膜透過性を有する化合物である確率が高まる。

[0153] 非限定の一態様において、本開示におけるライブラリに含まれる環状ペプチド化合物が、水素結合供与体（プロトンドナー）を有していてもよい。水素結合供与体の数の平均は、8以下、7以下、6以下、5以下、4以下、3以下、2以下、又は1以下が例示され、5以下が好ましく、4以下がより好ましく、3以下が最も好ましい。前記水素結合供与体の数の平均の下限は特に限定されないが、0以上、1以上、又は2以上が例示される。前記水素結合供与体の数の平均としては、0～8、0～7、0～6、0～5、0～4、0～3、0～2、0～1、1～8、1～7、1～6、1～5、1～4、1～3、1～2、2～8、2～7、2～6、2～5、2～4、2～3、3～8、3～9、3～8、3～7、3～6、3～5、又は3～4が例示される。本開示におけるライブラリに含まれる各環状ペプチド化合物の水素供与体の数を計算し、その平均値が上記範囲であると、スクリーニングでヒットした化合物がより優れた膜透過性を有する化合物である確率が高まる。

[0154] また、一態様において、本開示におけるライブラリに含まれる環状ペプチド化合物は、その環状部に水素結合供与体（プロトンドナー）を有していてもよい。水素結合供与体は、水素結合を形成するために必要な水素原子を提示する基であり、同一化合物内または近傍に存在する他の化合物（水分子も含む）内の水素結合受容体（プロトンアクセプター）と水素結合を形成する。水素結合供与体は、電気陰性度が比較的高い原子と共有結合している水素原子を有する基であり、例えば、水酸基、カルボキシ基、アミノ基、無置換のアミド基、モノ置換のアミド基が挙げられる。水素結合受容体は、例えば

、カルボキシ基、エステル、アミド等のカルボニル酸素、アミン窒素等のローンペアである。分子内水素結合を形成すると、ペプチド化合物の配座が固定され、標的分子との親和性を高め得る。標的分子との分子間水素結合を形成すると、標的分子との親和性を高め得る。環状部の水素結合供与体の数の平均は、8以下、7以下、6以下、5以下、4以下、3以下、2以下、又は1以下が例示され、5以下が好ましく、4以下がより好ましく、3以下が最も好ましい。前記水素結合供与体の数の平均の下限は特に限定されないが、0以上、1以上、又は2以上が例示される。前記水素結合供与体の数の平均としては、0～8、0～7、0～6、0～5、0～4、0～3、0～2、0～1、1～8、1～7、1～6、1～5、1～4、1～3、1～2、2～8、2～7、2～6、2～5、2～4、2～3、3～8、3～9、3～8、3～7、3～6、3～5、又は3～4が例示される。

[0155] 非限定の一態様において、本開示におけるライブラリに含まれる環状ペプチド化合物は、環状部を構成するアミノ酸として、同一側鎖のアミノ酸を複数含んでいてもよい。ここで、「同一側鎖のアミノ酸を含む」とは、環状ペプチド化合物全体又は環状ペプチド化合物の環状部を構成するアミノ酸の中に、同一側鎖のアミノ酸が複数含まれることを意味する。「同一側鎖のアミノ酸」とは、側鎖の異同に基づいて判断され、主鎖のアミノ基の窒素原子上の置換基は考慮しない。例えば、アラニンとN-メチルアラニンは、「同一側鎖のアミノ酸」として考慮される。具体的には、環状ペプチド化合物の環状部を構成するアミノ酸にLeuが2つ含まれる場合、該環状ペプチド化合物は、環状部を構成するアミノ酸として、同一側鎖のアミノ酸を複数含む。環状部を構成するアミノ酸のうち、同一側鎖のアミノ酸の数の平均として、5以下、4以下、3以下、2以下、又は1以下が挙げられ、4以下が好ましく、3以下がより好ましい。

[0156] 非限定の一態様において、本開示におけるライブラリに含まれる環状ペプチド化合物の環状部を構成する少なくとも1つのアミノ酸の側鎖は、アルキル基、シクロアルキル基、アラルキル基、およびアミド基からなる群より選

択される少なくとも一つから構成される。ここで前記アルキル基は、前記アルキル基の任意の原子と前記アミノ酸のアミノ基の窒素原子が一緒になって環を形成していてもよい。

[0157] 非限定の一態様において、本開示におけるライブラリに含まれる環状ペプチド化合物の環状部を構成する少なくとも1つのアミノ酸の側鎖がアルキル基の場合、ハロゲン原子、ヒドロキシ基、 C_3-C_8 シクロアルキル基、および C_1-C_6 アルコキシ基からなる群より選択される少なくとも1つの基で置換されていてもよい C_1-C_6 アルキル基であってよい。

[0158] 非限定の一態様において、本開示におけるライブラリに含まれる環状ペプチド化合物の環状部を構成する少なくとも1つのアミノ酸の側鎖がシクロアルキル基の場合、ハロゲン原子、ヒドロキシ基、 C_1-C_6 アルキル基、 C_1-C_6 ハロアルキル基、 C_1-C_6 アルコキシ基、および C_1-C_6 ハロアルコキシ基からなる群より選択される少なくとも1つの基で置換されていてもよい C_3-C_{10} シクロアルキル基であってよい。

[0159] 非限定の一態様において、本開示におけるライブラリに含まれる環状ペプチド化合物の環状部を構成する少なくとも1つのアミノ酸の側鎖がアラルキル基の場合、ハロゲン原子、 C_1-C_6 アルキル基、 C_1-C_6 ハロアルキル基、 C_1-C_6 アルコキシ基、および C_1-C_6 ハロアルコキシ基からなる群より選択される少なくとも1つの基で置換されていてもよい C_7-C_{14} アラルキル基であってよい。

[0160] 非限定の一態様において、本開示におけるライブラリに含まれる環状ペプチド化合物の環状部を構成する少なくとも1つのアミノ酸の側鎖がアラルキル基の場合、置換されていてもよい C_5-C_{10} アリール C_1-C_6 アルキル基であってよく、前記 C_5-C_{10} アリール基は、ハロゲン原子、 C_1-C_6 アルキル基、 C_1-C_6 ハロアルキル基、 C_1-C_6 アルコキシ基、および C_1-C_6 ハロアルコキシ基からなる群より選択される少なくとも1つの基で置換されていてもよい。

[0161] 非限定の一態様において、本開示におけるライブラリに含まれる環状ペプ

チド化合物の環状部を構成する少なくとも1つのアミノ酸の側鎖がアミド基の場合、該アミド基は式： $-CONR^1R^2$ で表され、式中、 R^1 および R^2 は、それぞれ独立して、水素原子、または C_1-C_6 アルキル基であるか、あるいは R^1 及び R^2 は、それらが結合している窒素原子と一緒にあって4～8員飽和複素環を形成し、該4～8員飽和複素環は、ハロゲン原子、オキシ基、 C_1-C_6 アルキル基、および4～7員ヘテロシクリル基からなる群より独立して選択される少なくとも1つの基で置換されていてもよい。

[0162] 非限定の一態様において、本開示におけるライブラリに含まれる各環状ペプチド化合物において、環状部を構成する少なくとも1つのアミノ酸は、Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Thr、Phe、Pro、Abu、D-Ala、D-MeAla、D-MeVal、D-Val、Hph、MeAbu、MeAla、MeGly、MeIle、MeLeu、MePhe、MeThr、MeVal、nBuGly、Ser(tBu)、Asp-pip、bAla、bMeAla、D-3-Abu、D-3-MeAbu、MeAsp-pip、およびgMeAbuからなる群より選択されるアミノ酸であってよい。環状部を構成する少なくとも1つのアミノ酸は、それぞれ独立に、Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Thr、Phe、Pro、Abu、D-Ala、D-MeAla、D-MeVal、D-Val、Hph、MeAbu、MeAla、MeGly、MeIle、MeLeu、MePhe、MeThr、MeVal、nBuGly、Ser(tBu)、Asp-pip、bAla、bMeAla、D-3-Abu、D-3-MeAbu、MeAsp-pip、およびgMeAbuからなる群より選択されるアミノ酸であってよい。

[0163] 非限定の一態様において、本開示におけるライブラリに含まれる環状ペプチド化合物の環状部を構成するアミノ酸は、特に限定されないが、いずれも、 α -アミノ酸、 β -アミノ酸骨格を有するアミノ酸、および γ -アミノ酸骨格を有するアミノ酸からなる群より選択されてよい。ライブラリに含まれる環状ペプチド化合物の環状部を構成する α -アミノ酸の数の平均は、限定

されないが、例えば、10～14、10～13、10～12、10～11、10、11、12、13、又は14が例示される。ライブラリに含まれる環状ペプチド化合物の環状部を構成するβ-アミノ酸骨格を有するアミノ酸の数の平均は、限定されないが、0～4、0～3、0～2、0～1、1～4、1～3、1～2、2～4、2～3、3～4、0、1、2、3、又は4が例示される。ライブラリに含まれる環状ペプチド化合物の環状部を構成するγ-アミノ酸の数の平均は、限定されないが、0～4、0～3、0～2、0～1、1～4、1～3、1～2、2～4、2～3、3～4、0、1、2、3、又は4が例示される。高い膜透過性を獲得するためには、環状部を構成するα-アミノ酸の数の平均が10～14であり、β-アミノ酸骨格を有するアミノ酸の数が0～2であり、γ-アミノ酸の数が0～2であることが好ましい。

[0164] 非限定の一態様において、本開示におけるライブラリに含まれる環状ペプチド化合物の環状部を構成するアミノ酸は、特に限定されないが、Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Thr、Phe、Pro、Abu、D-Ala、D-MeAla、D-MeVal、D-Val、Hph、MeAbu、MeAla、MeGly、MeIle、MeLeu、MePhe、MeThr、MeVal、nBuGly、およびSer(tBu)からなる群より選択されるα-アミノ酸を含んでいてよい。α-アミノ酸は、それぞれ独立に、Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Thr、Phe、Pro、Abu、D-Ala、D-MeAla、D-MeVal、D-Val、Hph、MeAbu、MeAla、MeGly、MeIle、MeLeu、MePhe、MeThr、MeVal、nBuGly、及びSer(tBu)からなる群より選択されてもよい。

[0165] 非限定の一態様において、本開示におけるライブラリに含まれる環状ペプチド化合物の環状部を構成するアミノ酸は、特に限定されないが、Asp-pip、bAla、bMeAla、D-3-Abu、D-3-MeAbu、およびMeAsp-pipからなる群より選択されるβ-アミノ酸骨格を有するアミノ酸を含んでいてよい。β-アミノ酸骨格を有するアミノ酸は、そ

れぞれ独立に、A s p - p i p、b A l a、b M e A l a、D - 3 - A b u、D - 3 - M e A b u、及びM e A s p - p i pからなる群より選択されてもよい。

[0166] 非限定の一態様において、本開示におけるライブラリに含まれる環状ペプチド化合物の環状部を構成するアミノ酸は、特に限定されないが、g M e A b uを含んでいてよく、g M e A b uであってもよい。

[0167] 非限定の一態様において、本開示におけるライブラリに含まれる環状ペプチド化合物のうち、環状部を構成するアミノ酸の数に占める天然アミノ酸の数の平均は、1 以上、2 以上、3 以上、7 以下、6 以下、5 以下、4 以下、1 ~ 7、1 ~ 6、1 ~ 5、1 ~ 4、2 ~ 7、2 ~ 6、2 ~ 5、2 ~ 4、3 ~ 7、3 ~ 6、3 ~ 5、又は3 ~ 4が挙げられ、1 以上、7 以下、又は1 ~ 7が好ましく、1 以上、6 以下、5 以下、1 ~ 6、又は1 ~ 5がより好ましく、1 以上、4 以下、又は1 ~ 4が最も好ましい。本開示におけるライブラリに含まれる環状ペプチド化合物において、環状部を構成するアミノ酸の数に占める天然アミノ酸の数の割合の平均としては、1 0 % 以上、又は2 0 % 以上であってよく、5 0 % 以下、4 0 % 以下、又は3 0 % 以下であってよい。環状部を構成するアミノ酸の数に占める天然アミノ酸の数の割合の平均は、1 0 ~ 5 0 %、1 5 ~ 5 0 %、2 0 ~ 5 0 %、2 5 ~ 5 0 %、3 0 ~ 5 0 %、4 0 ~ 5 0 %、1 0 ~ 4 0 %、1 5 ~ 4 0 %、2 0 ~ 4 0 %、2 5 ~ 4 0 %、3 0 ~ 4 0 %、1 0 ~ 3 0 %、1 5 ~ 3 0 %、又は2 0 ~ 3 0 %であってもよい。

[0168] 非限定の一態様において、本開示におけるライブラリに含まれる環状ペプチド化合物の環状部を構成するアミノ酸は、G l y、A l a、V a l、L e u、I l e、T h r、P h e、およびP r oからなる群より選択される天然アミノ酸を含んでいてよい。天然アミノ酸が、それぞれ独立に、G l y、A l a、V a l、L e u、I l e、T h r、P h e、およびP r oからなる群より選択されてもよい。

[0169] 非限定の一態様において、本開示におけるライブラリに含まれる環状ペプチド化合物の環状部を構成するアミノ酸は、特に限定されないが、g M e A b uを含んでいてよく、g M e A b uであってもよい。

チド化合物のうち、環状部を構成するアミノ酸に含まれる非天然アミノ酸の数の平均は、7以上が好ましく、8以上、9以上、又は10以上がより好ましい。本開示におけるライブラリに含まれる環状ペプチド化合物において、環状部を構成するアミノ酸の数に占める非天然アミノ酸の数の割合の平均としては、50%以上、55%以上、60%以上、65%以上、70%以上、75%以上、又は80%以上であってよく、100%以下、95%以下、90%以下、85%以下、80%以下、75%以下、又は70%以下であってよい。環状部を構成するアミノ酸の数に占める非天然アミノ酸の数の割合の平均は、50~100%、50~95%、50~90%、50~85%、50~80%、50~75%、50~70%、55~100%、55~95%、55~90%、55~85%、55~80%、55~75%、55~70%、60~100%、60~95%、60~90%、60~85%、60~80%、60~75%、60~70%、70~100%、70~95%、70~90%、70~85%、又は70~80%であってよい。

[0170] 非限定の一態様において、本開示におけるライブラリに含まれる環状ペプチド化合物、又は環状ペプチド化合物の環状部を構成するアミノ酸は、特に限定されないが、Abu、Asp-pip、bAla、bMeAla、D-3-Abu、D-3-MeAbu、D-Ala、D-MeAla、D-MeVal、D-Val、gMeAbu、Hph、MeAbu、MeAla、MeAsp-pip、MeGly、Melle、MeLeu、MePhe、MeThr、MeVal、nBuGly、およびSer(tBu)からなる群より選択される非天然アミノ酸を含んでいてよい。非天然アミノ酸は、それぞれ独立に、Abu、Asp-pip、bAla、bMeAla、D-3-Abu、D-3-MeAbu、D-Ala、D-MeAla、D-MeVal、D-Val、gMeAbu、Hph、MeAbu、MeAla、MeAsp-pip、MeGly、Melle、MeLeu、MePhe、MeThr、MeVal、nBuGly、及びSer(tBu)からなる群より選択されてもよい。

- [0171] 非限定の一態様において、本開示におけるライブラリに含まれる各環状ペプチド化合物は、核酸連結部以外のペプチド部位に含まれるアミノ酸の側鎖に置換又は無置換のヒドロキシフェニル基を有しない環状ペプチド化合物であってよい。また、一態様において、本開示におけるライブラリは、核酸連結部以外のペプチド部位の側鎖に置換又は無置換のヒドロキシフェニル基を有する環状ペプチド化合物を実質的に含まないライブラリであってよい。環状ペプチド化合物の核酸連結部以外のペプチド部位の側鎖に置換又は無置換のヒドロキシフェニル基を有すると膜透過の妨げとなり得ることから、環状ペプチド化合物は置換又は無置換のヒドロキシフェニル基を有しないことが好ましい。
- [0172] 非限定の一態様において、本開示におけるライブラリに含まれる各環状ペプチド化合物は、核酸連結部以外のペプチド部位の側鎖にインドール骨格を有しない環状ペプチド化合物であってよい。また、一態様において、本開示におけるライブラリは、核酸連結部以外のペプチド部位の側鎖にインドール骨格を有する環状ペプチド化合物を実質的に含まないライブラリであってよい。環状ペプチド化合物の核酸連結部以外のペプチド部位の側鎖にインドール骨格を有すると、膜透過の妨げとなり得ることから、環状ペプチド化合物はインドール骨格を有しないことが好ましい。
- [0173] 非限定の一態様において、本開示におけるライブラリは、核酸連結部以外のペプチド部位の側鎖にメチルチオ基を有しない環状ペプチド化合物から実質的になるライブラリであってよい。また、一態様において、本開示におけるライブラリは、核酸連結部以外のペプチド部位の側鎖に置換又は無置換のメチルチオ基を有する環状ペプチド化合物を実質的に含まないライブラリであってよい。一態様において、メチルチオ基は酸化されやすく代謝安定性の妨げとなり得ることから、環状ペプチド化合物はメチルチオ基を有しないことが好ましい。
- [0174] 非限定の一態様において、本開示におけるライブラリは、核酸連結部以外のペプチド部位の側鎖にチオール基を有しない環状ペプチド化合物から実質

的になるライブラリであってよい。また、一態様において、本開示におけるライブラリは、核酸連結部以外のペプチド部位の側鎖に置換又は無置換のチオール基を有する環状ペプチド化合物を実質的に含まないライブラリであってよい。一態様において、チオール基は酸化されやすく代謝安定性の妨げとなり得ることから、環状ペプチド化合物はチオール基を有しないことが好ましい。

[0175] 非限定の一態様において、本開示におけるライブラリに含まれる環状ペプチド化合物の分子量の平均は500～2000であってよい。また、一態様において、本開示におけるライブラリに含まれる各環状ペプチド化合物の分子量の平均は500～2000であってよい。本明細書において、環状ペプチド化合物が核酸と連結していない場合には、環状ペプチド化合物全体の分子量を計算する。環状ペプチド化合物が核酸と連結している場合、核酸連結部以外のペプチド部位の分子量を「環状ペプチド化合物の分子量」として計算する。「核酸連結部以外のペプチド部位の分子量」は、環状ペプチド化合物の核酸連結部をピペリジン（pip）に置き換えた仮想ペプチドについて、分子量を計算した値である。すなわち、仮想ペプチドは、環状部を構成するアミノ酸の主鎖または側鎖のカルボキシ基（例えば、Asp、Gluのような側鎖にカルボキシ基を有するアミノ酸残基）と核酸連結部のアミノ基とのアミド結合において、核酸連結部のアミノ基に代えて、ピペリジン（pip）が結合した環状ペプチドである。核酸が連結している環状ペプチド化合物（環状ペプチド-核酸複合体）は、スクリーニングに使用するディスプレイライブラリを構成するものとして利用可能なものであり、実際に想定される医薬候補化合物は、核酸が連結していない部分のみである。そのため、ドラッグライクネス（例えば、高い膜透過性）を考慮する場合、核酸連結部以外のペプチド部位の性質が重要となり得る。

[0176] 本開示におけるライブラリにおいて、環状ペプチド化合物の「バリエーションの理論上の（総）数」を求める際、実際に環状ペプチド化合物として製造され得ないものは、理論上の（総）数には算入しない。例えば、以下（1

）及び（２）のような場合には、該当するアミノ酸は翻訳合成されないことから、このようなアミノ酸を含むペプチド化合物は、理論上の（総）数に算入しない：（１）ペプチド化合物の材料として翻訳液中にアミノ酸が添加されていても、同アミノ酸をコードする核酸を鋳型として含まない場合；（２）ペプチド化合物の鋳型となる核酸には塩基配列を含むが、これに対応するアミノ酸を含まない翻訳液を使用する場合。また、環状ペプチド化合物を製造する過程での副反応物や未反応物が存在する場合には、これらは前記理論上の（総）数には算入しない。

[0177] 例えば、計２０種類の天然アミノ酸を用いて、１種のアミノ酸に対して１組のコドンユニットを対応させたコドン表により、前記コドンユニットがランダムに配置された塩基配列から、１１残基のペプチドを翻訳合成する場合において、翻訳開始アミノ酸がメチオニンに固定されていたとすると、バリエーションの理論上の数は、 20^{10} となる。

[0178] 本明細書中において、ライブラリ中に含まれる環状ペプチド化合物が有する値の平均値が特定の範囲に含まれるか否かは、前記ライブラリ中に実際に含まれている全環状ペプチド化合物それぞれが有する値を合計し、その合計値を、前記ライブラリ中に含まれる全環状ペプチド化合物の数で除して算出することで判断することができる（実測数平均値）。ただし、前記ライブラリ中に含まれる環状ペプチド化合物の数が多く、上述したような方法により実測数平均値を算出することが困難な場合、前記ライブラリ中に理論上含まれ得る全種類の環状ペプチド化合物を想定し、それぞれが有する値を合計し、その合計値を、前記ライブラリ中に理論上含まれ得る環状ペプチド化合物の理論上の種類の数で除することで算出した値である理論数平均値により実測数平均値を代用する。

[0179] 本開示におけるライブラリには、環状ペプチド化合物、又はこれらをコードする核酸が複数含まれる。本明細書において、ライブラリに含まれる環状ペプチド化合物のバリエーション（種類）の数のことを「多様性」という。

本開示におけるライブラリに含まれる環状ペプチド化合物、又はこれらをコードする核酸の多様性は特に限定されないが、 10^2 以上、 10^3 以上、 10^4 以上、 10^5 以上、 10^6 以上、 10^7 以上、 10^8 以上、 10^9 以上、 10^{10} 以上、 10^{11} 以上、及び 10^{12} 以上が例示される。これら多様性は、実測値に限定されるものではなく、理論値であってもよい。

[0180] 本開示におけるライブラリに含まれる環状ペプチド化合物は、表15に記載の環状ペプチド化合物pd001～pd168から選択される少なくとも1つを含んでもよく、すべてを含んでもよい。

[0181] ここまで本開示におけるライブラリに含まれる環状ペプチド化合物の特徴を述べてきたが、これらの説明は、本開示におけるライブラリに含まれる、環状部を構成するアミノ酸残基の数が13又は14である環状ペプチド化合物の特徴の説明にも適用できる。例えば、本開示におけるライブラリに含まれる環状ペプチド化合物のうち、環状部を構成するN置換アミノ酸の数が7～10である環状ペプチド化合物の数の割合について述べた段落の記載は、本開示におけるライブラリに含まれる、環状部を構成するアミノ酸残基の数が13又は14である環状ペプチド化合物のうち、環状部を構成するN置換アミノ酸の数が7～10である環状ペプチド化合物の数の割合の説明としても適用できることを意味する。

[0182] ・膜透過性

非限定の一態様において、本開示におけるライブラリは、該ライブラリに含まれる環状ペプチド化合物が比較的高い膜透過性を有しており、これらをさらに誘導体化することにより容易にさらに高い膜透過性を有するペプチド化合物を獲得することもできる。また、本開示におけるライブラリを用いてスクリーニングを行えば、標的分子に特異的に結合できる化合物としてヒットした環状ペプチド化合物は、比較的高い膜透過性を有し得る。本明細書において「高い膜透過性」とは、本開示における膜透過性の測定方法により測定した膜透過係数(P_{app})が、 $4.0 \times 10^{-7} \text{ cm/秒}$ 以上、好ましくは $8.0 \times 10^{-7} \text{ cm/秒}$ 以上、又は $9.0 \times 10^{-7} \text{ cm/秒}$ 以上、より好まし

くは $1.0 \times 10^{-6} \text{ cm} / \text{秒}$ 以上、より好ましくは $3.0 \times 10^{-6} \text{ cm} / \text{秒}$ 以上、最も好ましくは $5.0 \times 10^{-6} \text{ cm} / \text{秒}$ 以上であることを意味する。非限定の一態様において、本開示におけるライブラリは、経口投与可能な化合物、又はその前駆体を同定するためのライブラリであってよい。本明細書において「経口投与可能な」とは、膜透過係数 (P_{app}) が、 $0.4 \times 10^{-6} \text{ cm} / \text{秒}$ 以上、好ましくは $1.0 \times 10^{-6} \text{ cm} / \text{秒}$ 以上、より好ましくは $5.0 \times 10^{-6} \text{ cm} / \text{秒}$ 以上であることを意味する。本明細書において「前駆体」とは、最適化のための化学修飾等を行う前の化合物を意味し、例えばパニングのヒット化合物であって、最適化を行う前のものが挙げられる。

[0183] ・ 標的分子に特異的に結合できるペプチド化合物のヒット率

非限定の一態様において、本開示におけるライブラリは、標的分子に特異的に結合できる化合物を同定するために使用できる。一態様において、本開示におけるライブラリは、従来のライブラリと比較して、ペプチド化合物を構成するアミノ酸の数が多いため、そのアミノ酸の多様性も増やすことができ、標的分子に特異的に結合できるペプチド化合物のヒット率が高い。すなわち、本開示におけるライブラリを用いることで、標的分子との結合親和性の高いペプチド化合物を得ることができるだけでなく、標的分子に特異的に結合できるペプチド化合物を多数得ることができる。したがって、多数選択されてきたペプチド化合物の中から、代謝安定性や膜透過性等の他の要素を考慮して、所望の化合物を選択することが可能となる。本明細書において「ヒット率」とは、ライブラリに含まれる化合物のバリエーションの数に占める、パニングで得られたヒット化合物のバリエーションの数の割合を意味する。ライブラリに含まれる化合物のバリエーションの数は理論上の数であってよい。

[0184] 非限定の一態様において、ヒット化合物を得るための環状ペプチド化合物としてライブラリ中に存在していないペプチド化合物（例えば、パニングをする前から標的分子との結合能を有しないことが明らかなペプチド化合物）は、本開示におけるライブラリを構成するペプチド化合物とはみなされない

。

[0185] パニングにより濃縮された環状ペプチド化合物を用いて、アミノ酸の出現頻度を解析することで、標的分子との結合に寄与し得るアミノ酸群を見出すことができる。

[0186] ・ディスプレイライブラリ

ディスプレイライブラリは表現型であるペプチドとその遺伝子型であるペプチドをコードするRNAもしくはDNAが対応付けられているライブラリである。このライブラリを使用して、標的分子に特異的に結合できるペプチド化合物を同定することができる。例えば、所望の固定した標的にライブラリを接触させ、標的に結合しない分子を洗い流すことで、標的に結合するペプチドの濃縮が可能である（パニング法）。このような過程を経て選択されたペプチドに対応付けられている遺伝子情報を解析することで標的に結合したペプチドの配列を明らかにすることができる。例えば、アミノアシル tRNAのアナログである抗生物質ピューロマイシンがリボソームによる mRNA 翻訳伸長中の蛋白質に非特異的に連結されることを利用する方法が mRNA ディスプレイ (Proc Natl Acad Sci USA. 1997;94:12297-302. RNA-peptide fusions for the in vitro selection of peptides and proteins. Roberts RW, Szostak JW.) ないしは in vitro virus (FEBS Lett. 1997;414:405-8. In vitro virus: bonding of mRNA bearing puromycin at the 3'-terminal end to the C-terminal end of its encoded protein on the ribosome in vitro. Nemoto N, Miyamoto-Sato E, Husimi Y, Yanagawa H.) として報告されている。

[0187] T7 プロモーターなどのプロモーターを含む DNA ライブラリから転写にて得た mRNA のライブラリの 3' 末端にピューロマイシンなどのリンカーを結合しておき、無細胞翻訳系で mRNA をタンパク質に翻訳させるとピューロマイシンがリボソームによってアミノ酸と間違っタンパク質に取り込まれ、mRNA とこれにコードされる蛋白質が連結され、mRNA とその産物が対応付けられたライブラリになる。この過程では大腸菌などの形質転換を含まないため高い効率が実現され、大規模なディスプレイライブラリを構築

することができる。パニングで濃縮、選択された分子についている遺伝子情報を含むタグであるmRNAからcDNAを合成し、PCR増幅し、塩基配列を解析することで結合した蛋白の配列を明らかにすることができる。

- [0188] 無細胞翻訳系を利用したディスプレイライブラリには、mRNAディスプレイの他に、ペプチドとピューロマイシンの複合体が結合しているペプチドをコードするcDNAからなるライブラリであるcDNAディスプレイ(Nucleic Acids Res.2009;37(16):e108.cDNA display: a novel screening method for functionaldisulfide-rich peptides by solid-phase synthesis and stabilizationofmRNA-protein fusions.Yamaguchi J, Naimuddin M, Biyani M, Sasaki T, Machida M,Kubo T, Funatsu T, Husimi Y, Nemoto N.)、mRNA翻訳中にリボソームと翻訳産物が比較的安定な複合体であることを利用したりボソームディスプレイ(Proc Natl Acad Sci U S A. 1994;91:9022-6. An in vitro polysomedisplay system for identifying ligands from very large peptide libraries.Mattheakis LC, Bhatt RR, Dower WJ.)、bacteriophageendonuclease P2AがDNAと共有結合を形成することを利用したcovalent display(Nucleic AcidsRes. 2005;33:e10. Covalent antibodydisplay--an in vitro antibody-DNA library selection system.Reiersen H, LobersliI, Loset GA, Hvattum E, Simonsen B, Stacy JE, McGregor D, Fitzgerald K,Welschof M, Brekke OH, Marvik OJ.)、微生物のプラスミドの複製開始蛋白RepAが複製開始点oriに結合することを利用したCIS display(Proc Natl AcadSci U S A. 2004;101:2806-10. CIS display: In vitro selection of peptides from librariesof protein-DNA complexes. Odegrip R, Coomber D, Eldridge B, HedererR,Kuhlman PA, Ullman C, FitzGerald K, McGregor D.)が知られている。また、DNAライブラリを構成するDNAの1分子毎に転写翻訳系をwater-in-oilエマルジョンやリボソームに封入し、翻訳反応を行うin vitrocompartmentalization(Nat Biotechnol. 1998;16:652-6. Man-made cell-likecompartmentts for molecular evolution. Tawfik DS, Griffiths AD.)も知られている。適宜、公知の方法を用いて上記方法を使用することができる。

[0189] ・核酸ライブラリ

本発明における「核酸」は、デオキシリボ核酸（DNA）、リボ核酸（RNA）、及び人工塩基を有するヌクレオチド誘導体、ペプチド核酸（PNA）も含む。本発明における核酸は、目的とする遺伝情報が保持される限り、これらの核酸のいずれか、あるいは混成とすることもできる。すなわち、DNA-RNAのハイブリッドヌクレオチドやDNAとRNAのような異なる核酸が一本鎖に連結されたキメラ核酸も、本発明における核酸に含まれる。

[0190] ライブラリに含まれるペプチド化合物は、鋳型となる核酸から翻訳により合成できる。本開示の非限定の一態様は、鋳型となる核酸のライブラリである。核酸ライブラリとしては、mRNAライブラリ、DNAライブラリ等が例示される。ペプチド配列上でアミノ酸残基を固定しない箇所は塩基を混ぜて合成することによって、核酸ライブラリを得ることができる。例えば、DNAライブラリとしては、A, T, G, C、RNAライブラリとしては、A, U, G, Cのそれぞれ4塩基の混合(N)の3の倍数個の繰り返し、もしくはコドンの一文字目二文字目はN、三文字目はW, M, K, Sなどの2塩基の混合として合成する、さらに導入するアミノ酸の種類を16以下に抑えるのであれば、三文字目を1種類の塩基にする方法もある。また、コドンの3文字に相当するコドンユニットを用意し、これを任意の割合で混合して合成に用いることによってアミノ酸残基の出現頻度を自由に調整できる。核酸ライブラリに含まれる各核酸の3'末端には、ピューロマイシンが連結されていてもよい。3'末端にピューロマイシンが連結した核酸のライブラリを翻訳することにより、当該核酸によりコードされるペプチド化合物が合成されるとともに、得られるペプチド化合物には対応する核酸が連結し、ディスプレイライブラリを合成することができる。

[0191] 無細胞翻訳系を用いてこれら核酸ライブラリを翻訳することにより、対応する環状ペプチドのライブラリを合成することができる。無細胞翻訳系を使用する場合、目的の核酸の下流にスペーサーをコードする配列を含むことが好ましい。スペーサー配列としては、グリシンやセリンを含む配列が挙げられるがこれに限定しない。またピューロマイシン、その誘導体などリボソー

ムによる翻訳時にペプチドに取り込まれる化合物と核酸ライブラリの間には、RNA、DNA、ヘキサエチレングリコール（spc18）のポリマー（例えば5つのポリマー）などで形成されるリンカーを含むことが好ましい。

[0192] ・スクリーニング方法

非限定の一態様において、本開示におけるライブラリを使用したスクリーニングにより、標的分子に特異的に結合できるペプチド化合物を選択することができる。本開示におけるスクリーニング方法としては、特に限定されないが、例えばmRNAディスプレイ法を用いることができる。

[0193] 非限定の一態様において、本開示におけるスクリーニング方法は、本開示における環状ペプチド化合物のライブラリと標的分子を接触させ、標的分子に結合しないペプチド化合物を洗い流すことで標的分子に結合するペプチド化合物を濃縮することができる（パニング）。一態様においては、このようにして選択されたペプチド化合物に含まれる塩基配列情報を含むタグであるmRNAからcDNAを合成し、PCR増幅し、塩基配列を解析することで、結合したペプチドのアミノ酸配列を明らかにすることができる。なお、一態様において、上記で増幅されたcDNAを転写することによって、mRNAライブラリを得てもよく、これらを鋳型として再度ペプチド化合物のライブラリを製造してもよい。このライブラリは標的分子に結合できるペプチド化合物が濃縮されているため、このライブラリを用いて再度パニングを行うことで、標的分子に特異的に結合できるペプチド化合物を、より濃縮することができる。この工程を複数回繰り返すことにより、目的のペプチド化合物を、更に濃縮することができる。一態様において、このようにして濃縮されたペプチド化合物に含まれる塩基配列情報を基にアミノ酸配列を同定し、標的分子に特異的に結合できるペプチド化合物を製造することができる。一態様において、本開示におけるスクリーニング方法は、in vitroで行うことができる。

[0194] 非限定の一態様において、本開示におけるスクリーニング方法により得られたペプチド化合物を公知の方法により化学修飾等することで、ペプチド化

化合物を最適化してもよい。本明細書において「最適化」とは、スクリーニング等により得られた化合物中のそれぞれのアミノ酸の構造を変換させることにより、よりドラッグライクなペプチド化合物となるように化学修飾する、より薬効標的に強い活性を有するペプチド化合物となるように化学修飾する、及び／又は、より毒性が回避されたペプチド化合物となるように化学修飾することを意味する。

[0195] 非限定の一態様において、本開示におけるスクリーニング方法は、以下の工程を含む：

(a) 本開示におけるライブラリに含まれるペプチド化合物と標的分子を接触させる工程；

(b) 前記標的分子に結合できるペプチド化合物を選択する工程。

[0196] 一態様において、本開示におけるスクリーニング方法は、前記の (a) 及び (b) の工程を 2 回 (サイクル) 以上繰り返すことで、標的分子に特異的に結合できるペプチド化合物を濃縮してもよい。この場合、2 回目以降における工程 (a) では、前のサイクルで選択されたペプチド化合物のライブラリを使用することができる。これにより、サイクル数を増やすごとに目的とするペプチド化合物の濃縮率を高めることができる。繰り返し回数は、例えば、2 サイクル以上、3 サイクル以上、4 サイクル以上、5 サイクル以上、6 サイクル以上、7 サイクル以上、8 サイクル以上、9 サイクル以上、又は 10 サイクル以上であってもよい。サイクルを繰り返すことによって、標的に結合するペプチド化合物が濃縮され得る。

[0197] 非限定な一態様において、本開示におけるスクリーニング方法は、前記の (b) の工程において、標的分子に結合するペプチド化合物を医薬品の候補化合物として選択することができる。

[0198] 非限定の一態様において、本開示におけるスクリーニング方法は、さらに以下の工程を含む：

(c) 候補となるペプチド化合物を化学合成する工程；

(d) 化学合成された前記ペプチド化合物の膜透過性を、Caco-2 細

胞を用いて測定する工程。

[0199] ・ 標的分子

本開示におけるスクリーニング方法に用いられる標的分子は特に限定されず、タンパク質、ペプチド、核酸、糖、脂質などが例示されるが、中でもタンパク質を標的とすることが好ましい。一態様において、本開示におけるスクリーニング方法によれば、タンパク質－タンパク質間の相互作用（P P I）を阻害するペプチド化合物を得ることができる。特定の理論に拘束されることを意図しないが、特にP P Iに関与する両タンパク質の表面には、ホットスポットと呼ばれる部位が存在し、P P Iの結合力を高めていると考えられている。P P Iとしては、例えば、疎水性相互作用、静電的相互作用、ファンデルワールス力、水素結合、光架橋、塩橋などが挙げられる。このようなP P Iにより、タンパク質のリン酸化、コンフォメーション変化または局在化、タンパク質同士の複合体形成（例えば、マルチサブユニット化）などが生じ、タンパク質の修飾、輸送、フォールディング変化、シグナル伝達などに関与し得る。特定の理論に拘束されることを意図しないが、本開示におけるライブラリに含まれるペプチドを構成するアミノ酸の側鎖がこの部位に入り込むことによりP P Iを阻害することができると考えられる。すなわち、本開示におけるライブラリやスクリーニング方法によれば、標的分子の種類によらず、P P Iを阻害するペプチド化合物が得られると考えられる。

[0200] 一態様において、本開示におけるスクリーニング方法で使用するライブラリが、核酸が連結している環状ペプチド化合物（環状ペプチド－核酸複合体）を含む場合、実際に想定される医薬候補化合物は、核酸及び核酸連結部以外の部分（例えば、環状部）のみであってよい。標的分子は、環状ペプチド部分との相互作用の有無及び強弱によって選択され得る。環状ペプチド－核酸複合体のうち、核酸部分が環状ペプチド部分をコードする塩基配列を含む場合、核酸部分は環状ペプチド部分の化学構造の把握及び合成をより容易にし、スクリーニングの効率化に寄与し得る。

[0201] 生体内における標的分子の存在場所も特に限定されない。一態様において

、本開示におけるライブラリやスクリーニング方法によれば、膜透過性の高い環状ペプチド化合物、又は誘導体化により容易に膜透過性を高めることが可能な環状ペプチド化合物を得ることができるため、細胞内のタンパク質を標的とすることもできる。

[0202] 非限定の一態様において、本開示におけるスクリーニング方法に用いられる標的分子は、担体に固定して使用される。担体としては、標的分子を固定することができるが特に限定されないが、ビーズ又は樹脂が例示される。標的分子は公知の方法により担体に固定することができる。

[0203] 本開示におけるスクリーニング方法の標的分子は、特に限定されない。本開示におけるライブラリは、様々な標的分子に対し特異的に結合できるペプチド化合物を含むため、一態様において、これまで創薬が困難とされてきた *tough target* への創薬を可能にし得る。

[0204] ・ペプチド化合物、及びライブラリの製造方法

一実施態様において、本開示における環状ペプチド化合物、及び当該環状ペプチド化合物を含むライブラリは、例えば化学合成、翻訳合成、又はこれらの組み合わせにより、製造することができる。

[0205] ・ペプチド化合物の化学合成方法

本開示におけるペプチド化合物の化学合成方法としては、液相合成法、Fmoc合成やBoc合成等を用いた固相合成法、及びこれらの組み合わせ等が例示される。Fmoc合成では、主鎖アミノ基がFmoc基により保護され、側鎖官能基が必要に応じてピペリジンなどの塩基性で切断されない保護基で保護され、主鎖カルボン酸を保護しないアミノ酸を基本単位とする。基本単位としては、その他、Fmoc保護されたアミノ基とカルボン酸基を有する組み合わせであれば、特に限定されない。例えばジペプチドを基本単位としてもよい。N末端に配置させる基本単位は、Fmocアミノ酸以外であってもよい。例えば、Bocアミノ酸であってもよく、アミノ基を有しないカルボン酸類縁体であってもよい。主鎖カルボン酸基を固相担体の官能基との化学反応により固相に担持させる。続いてピペリジンやDBUなどの塩基によりFmoc基を脱保護し、新たに生

じたアミノ基と続いて添加される基本単位のカルボン酸を有する保護アミノ酸とを縮合反応させることで、ペプチド結合を生成させる。縮合反応では、DICとHOBtの組み合わせ、DICとHOAtの組み合わせ、HATUとDIPEAとの組み合わせなど様々な組み合わせが可能である。脱Fmoc基とそれに続くペプチド結合生成反応の繰り返しにより、望みのペプチド配列を生成させることができる。望みの配列が得られた後、固相からの切り出しと必要に応じて導入した側鎖官能基の保護基の脱保護が行われる。また、固相からの切り出しを行う前にペプチドの構造変換や環化を行うことも可能である。固相からの切り出しと、脱保護は同一の条件、例えば90 : 10のTFA/H₂Oで行っても良いし、必要に応じて別々の条件で脱保護しても良い。固相からの切り出しは、1% TFAなどの弱酸での切り出しが可能なものもあれば、保護基としてPdなどを利用して、両者の化学反応の直行性を利用することが可能である。これらの工程の間もしくは最後に、環化などの工程を実施することもできる。例えば、側鎖カルボン酸とN末端主鎖のアミノ基とを縮合させることや、側鎖アミノ基とC末端主鎖のカルボン酸を縮合させることができる。この際、C末端側のカルボン酸と環化させる側鎖カルボン酸の間、もしくはN末端側の主鎖アミノ基またはヒドロキシ基と環化させる側鎖アミノ基の間で反応直行性が必要であり、前述のとおり保護基の直行性を考慮して保護基の選択が行われる。このようにして得られた反応物を逆相カラムや、分子ふるいカラムなどで精製することができる。これらの詳細は、例えばメルク株式会社が2002年5月1日に発行した固相合成ハンドブックなどに記載されている。

[0206] ・ペプチド化合物の翻訳合成方法

本開示におけるペプチド化合物は、翻訳合成方法により合成してもよい。本開示において、「翻訳合成方法」とは、専ら有機合成技術により合成するのではなく、mRNAの塩基配列をtRNAで認識して、ペプチド化合物を合成する方法である。ペプチド化合物の翻訳合成方法としては、無細胞翻訳系を用いて合成する方法が例示され、同方法には再構成無細胞翻訳系による合成法が含まれる。排除したい因子を除くことができる点で、再構成無細胞翻訳系を

利用するのが好ましい。

[0207] 一側面において、本開示は、以下（A）に記載されたアミノ酸からなる群より選択される少なくとも1種、2種以上、又は3種以上のアミノ酸を含むペプチド化合物の翻訳合成方法を提供する。

（A）Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Thr、Phe、Pro、Abu、D-Ala、D-MeAla、D-MeVal、D-Val、Hph、MeAbu、MeAla、MeGly、MeIle、MeLeu、MePhe、MeThr、MeVal、nBuGly、Ser(tBu)、Asp-pip、bAla、bMeAla、D-3-Abu、D-3-MeAbu、MeAsp-pip、およびgMeAbu。

[0208] 限定はされないが、このような翻訳合成方法は、以下(i)および(ii)を含んでよい：

（i）（A）に記載されたアミノ酸からなる群より選択される少なくとも1種、2種以上、又は3種以上のアミノ酸が結合したtRNAを用意する工程；

（ii）前記tRNAのアンチコドンに対応するコドンを少なくとも1つ含む核酸を無細胞翻訳系で翻訳し、前記ペプチド化合物を得る工程。

[0209] 非限定の一態様において、本開示における翻訳合成方法は、環状ペプチド化合物の翻訳合成方法であってよい。

[0210] ・無細胞翻訳系

本明細書において「無細胞翻訳系」とは、細胞より抽出したリボソームの他、翻訳に関与する蛋白因子群、tRNA、アミノ酸、ATPなどのエネルギー源、その再生系を組み合わせたものであり、mRNAを蛋白質に翻訳することができるものであれば限定されない。また、翻訳合成反応が進行している間の系も、本明細書における「無細胞翻訳系」に含まれてよい。本明細書における無細胞翻訳系は、ペプチドを翻訳する際の鋳型となる核酸を含んでいてよく、これら以外にも、開始因子、伸長因子、解離因子、アミノアシルtRNA合成酵素などを含むことができる。これらの因子は、種々の細胞の抽出液から精製することによって得ることができる。因子を精製するため

の細胞は、例えば原核細胞、または真核細胞を挙げることができる。原核細胞としては、大腸菌細胞、高度好熱菌細胞、または枯草菌細胞を挙げることができる。真核細胞としては、酵母細胞、小麦胚芽、ウサギ網状赤血球、植物細胞、昆虫細胞、または動物細胞を材料にしたものが知られている。また tRNA やアミノアシル tRNA 合成酵素 (ARS) は天然に存在するものに加え、人工 tRNA や非天然アミノ酸を認識する人工アミノアシル tRNA 合成酵素を用いることもできる。人工 tRNA や人工アミノアシル tRNA 合成酵素を用いることにより部位特異的に非天然アミノ酸を導入したペプチドを合成することができる。なお、必要に応じて、無細胞翻訳系に T7 RNA polymerase などの RNA ポリメラーゼを加えることで、鋳型 DNA から転写させることもできる。

[0211] PURESYSYSTEM (登録商標) (BioComber, Japan) は大腸菌の翻訳に必要な蛋白因子類、エネルギー再生系酵素、リボソームそれぞれを抽出、精製し、tRNA、アミノ酸、ATP、GTP などと混合した再構成無細胞翻訳系である。不純物の含有量が少ないだけでなく、再構成系であるため排除したい蛋白因子、アミノ酸を含まない系を容易に作製することができる。((i) Nat Biotechnol. 2001; 19:751-5. Cell-free translation reconstituted with purified components. Shimizu Y, Inoue A, Tomari Y, Suzuki T, Yokogawa T, Nishikawa K, Ueda T. (ii) Methods Mol. Biol. 2010; 607:11-21. PURE technology. Shimizu Y, Ueda T.)。

[0212] 例えば、非天然アミノ酸を導入するコドンとして終止コドンを利用する方法が多く報告されているが、前述の PURESYSYSTEM を用いることで天然アミノ酸、ARS を除いた合成系を構築できる。これにより、除外する天然アミノ酸をコードするコドンに、非天然アミノ酸を対応付けることができる (J. Am. Chem. Soc. 2005; 127:11727-35. Ribosomal synthesis of unnatural peptides. Josephson K, Hartman MC, Szostak JW.)。さらにコドンの縮重を解くことにより天然アミノ酸を除外することなく非天然アミノ酸を加えることができる (Kwon I, et al. Breaking the degeneracy of the genetic code. J Am Chem Soc. 2001; 123:1102-1110.)。

c, 2003, 125, 7512-3.)。N-メチルアミノ酸を含むペプチドがPURESYSTEMなどの無細胞翻訳系の活用によりリボソームにて合成できる。

[0213] より具体的には、翻訳合成は、例えば、大腸菌の翻訳に必要な蛋白因子類（メチオニルtRNAトランスフォルミラーゼ、EF-G、RF1、RF2、RF3、RRF、IF1、IF2、IF3、EF-Tu、EF-Ts、ARS（AlaRS、ArgRS、AsnRS、AspRS、CysRS、GlnRS、GluRS、GlyRS、HisRS、IleRS、LeuRS、LysRS、MetRS、PheRS、ProRS、SerRS、ThrRS、TrpRS、TyrRS、ValRSから必要なものを選ぶ））、リボソーム、アミノ酸、クレアチンキナーゼ、ミオキナーゼ、無機ピロフォスファターゼ、ヌクレオシド二リン酸キナーゼ、E. coli 由来tRNA、クレアチンリン酸、グルタミン酸カリウム、HEPES-KOH pH7.6、酢酸マグネシウム、スペルミジン、ジチオスレイトール、GTP、ATP、CTP、UTPなどを適宜取捨選択して混合したPURESYSTEM等の公知の無細胞翻訳系にmRNAを加えることによって行うことができる。また、T7 RNA polymeraseを加えておけば、T7プロモーターを含む鋳型DNAからの転写、翻訳を共役して行なうこともできる。また、所望のアミノアシルtRNA群やアミノアシルtRNA合成酵素（ARS）が許容する非天然アミノ酸群（例えばF-Tyr）を系に添加することによって非天然アミノ酸を含むペプチド化合物を翻訳合成することができる（Kawakami T, et al. Ribosomal synthesis of polypeptoids and peptoid-peptide hybrids. J Am Chem Soc. 2008, 130, 16861-3., Kawakami T, et al. Diverse backbone-cyclized peptides via codon reprogramming. Nat. Chem. Biol. 2009, 5, 888-90.）。さらに、天然のARSに代えて又はこれら加えて、ARSの改変体を系に含めるとともに、非天然アミノ酸群を系に含めることによって、非天然アミノ酸を含むペプチド化合物を翻訳合成することができる。あるいは、リボソームやEF-Tuなどの変異体を利用することによって非天然アミノ酸の翻訳導入の効率を高めることもできる（Dedkova LM, et al. Construction of modified ribosomes for incorporation of D-amino acids into proteins. Biochemistry. 2006, 45, 15541-51., Doi Y, et al. Elongation factor Tu mutants expand amino acid tolerance of protein biosynthesis system. J. Am. Chem. Soc. 20

07, 129, 14458-62., Park HS, et al. Expanding the genetic code of *Escherichia coli* with phosphoserine. *Science* 2011, 333, 1151-4.)。

[0214] 非限定の一態様において、本開示における無細胞翻訳系は、ペプチド化合物を製造するための翻訳系であってよく、好ましくは環状ペプチド化合物を製造するための翻訳系である。

[0215] ・ t R N A

非天然アミノ酸のペプチドへの翻訳導入には、直交性を有し効率よくリボソームに取り込まれる t R N A ((i) *Biochemistry*, 2003;42:9598-608. Adaptation of an orthogonal archaeal leucyl-tRNA and synthetase pair for four-base, amber, and opal suppression. Anderson JC, Schultz PG., (ii) *Chem. Biol.* 2003;10:1077-84. Using a solid-phase ribozyme aminoacylation system to reprogram the genetic code. Murakami H, Kourouklis D, Suga H.) のアミノアシル化が必要である。tRNAをアミノアシル化する方法として以下の5つの方法を用いることができる。

[0216] 細胞内ではtRNAのアミノアシル化のための酵素として、アミノ酸別にアミノアシルtRNA合成酵素 (ARS) が用意されている。そのため第一の方法としては、ある種のARSがN-Me Hisなど非天然アミノ酸を許容することを利用する方法や、非天然アミノ酸を許容する変異アミノアシルtRNA合成酵素を用意し、これを利用する方法が挙げられる ((i) *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 2002; 99:9715-20. An engineered *Escherichia coli* tyrosyl-tRNA synthetase for site-specific incorporation of an unnatural amino acid into proteins in eukaryotic translation and its application in a wheat germ cell-free system. Kiga D, Sakamoto K, Kodama K, Kigawa T, Matsuda T, Yabuki T, Shirouzu M, Harada Y, Nakayama H, Takio K, Hasegawa Y, Endo Y, Hirao I, Yokoyama S. (ii) *Science* 2003;301:964-7. An expanded eukaryotic genetic code. Chin JW, Cropp TA, Anderson JC, Mukherji M, Zhang Z, Schultz PG. Chin, JW. (iii) *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 2006;103:4356-61. Enzymatic aminoacylation of tRNA with unnatural amino acids. Hartman MC,

Josephson K, Szostak JW.)。第二に、試験管内でtRNAをアミノアシル化しその後アミノ酸を化学修飾する方法も用いることができる(J. Am. Chem. Soc. 2008;130:6131-6. Ribosomal synthesis of N-methylpeptides. Subtelny AO, Hartman MC, Szostak JW.)。第三に、tRNAの3'末端のCCA配列からCAを除いたものと別途調製したアミノアシル化したpdCpAとをRNAリガーゼで結合させることでアミノアシルtRNAを得ることができる(Biochemistry 1984;23:1468-73. T4RNA ligase mediated preparation of novel "chemically misacylated" tRNA^{Phe}S. Heckler TG, Chang LH, Zama Y, Naka T, Chorghade MS, Hecht SM.)。種々の非天然アミノ酸の活性エステルをtRNAに担持させるリボザイムであるフレキシザイムによるアミノアシル化もある(J. Am. Chem. Soc. 2002;124:6834-5. Aminoacyl-tRNA synthesis by a resin-immobilized ribozyme. Murakami H, Bonzagni NJ, Suga H.)。第四に、tRNAとアミノ酸活性エステルとをカチオン性ミセル中で超音波混合する方法も用いることができる(Chem. Commun. (Camb). 2005;(34):4321-3. Simple and quick chemical aminoacylation of tRNA in cationic micellar solution under ultrasonic agitation. Hashimoto N, Ninomiya K, Endo T, Sisido M.)。第五として、tRNAの3'末端付近に相補的なPNAにアミノ酸活性エステルを結合したものをtRNAに加えることによってもアミノアシル化が可能である(J. Am. Chem. Soc. 2004;126:15984-9. In situ chemical aminoacylation with amino acid thioesters linked to a peptide nucleic acid. Ninomiya K, Minohata T, Nishimura M, Sisido M.)。

[0217] より具体的には、以下のような方法を用いてアミノアシルtRNAを作製することができる。所望のtRNA配列をコードし、上流にT7、T3もしくはSP6プロモーターを配置した鋳型DNAを用意し、T7 RNA polymeraseやT3, SP6 RNA polymeraseなどプロモーターに適応したRNAポリメラーゼを利用して転写によってRNAを合成することができる。細胞からtRNAを抽出精製し、tRNAの配列の相補配列のプローブを用いて目的の生成tRNAを抽出することもできる。この際目的のtRNAの発現ベクターで形質転換し

た細胞をソースにすることもできる。化学合成によって目的の配列のRNAを合成することもできる。例えば、このようにして得られた3'末端のCCA配列からCAを除いたtRNAと別途調製したアミノアシル化したpdcpAまたはpcpAとをRNAリガーゼで結合させることでアミノアシルtRNAを得ることができる(pdcpA法、pcpA法)。当該tRNAは、ペプチド化合物の製造において有用である。あるいは、全長tRNAを用意し、種々の非天然アミノ酸の活性エステルをtRNAに担持させるリボザイムであるフレキシザイムによるアミノアシル化も可能である。また、限定を意図しないが、天然のARS又はその改変体を用いて、アミノアシルtRNAを作製することもできる。天然ARS又はその改変体を用いると、翻訳系内で一旦消費されたアミノアシルtRNAが、天然ARSやその改変体によって再生成され得るため、予め作製したアミノアシルtRNAを翻訳系に大量に存在させる必要がない。このようなARS改変体は、WO2016/148044に記載される。これらのアミノアシルtRNAの作製方法を適宜組み合わせることもできる。

[0218] ・ペプチド部位の環化方法

本開示における環状ペプチド化合物は、環状部を有する。ペプチド化合物の環化方法は特に限定されないが、例えば、化学合成、又は翻訳合成等によりペプチド化合物を合成した後に、環化反応を行うことができる。例えば、アミド結合、炭素-炭素結合、チオエーテル結合、ジスルフィド結合、エステル結合、チオエステル結合、ラクタム結合、トリアゾール構造を介した結合、フルオロフォア構造を介した結合等を利用した環化が挙げられる。ペプチド化合物の合成工程と環化反応の工程は、分離していても、連続して進行してもよい。環化は、例えばWO2013/100132、WO2008/117833、WO2012/074129等に記載された当業者に公知の方法により行うことができる。

[0219] 環化部としては、限定されないが、ペプチドのN末端とC末端の結合、ペプチドのN末端と他のアミノ酸残基の側鎖の結合、ペプチドのC末端と他の

アミノ酸残基の側鎖の結合、又はアミノ酸残基の側鎖同士の結合のいずれであってもよく、これらの二以上を組み合わせ使用してもよい。C末端側に核酸が連結されているペプチド-核酸複合体を環化させる場合には、ペプチドのN末端と他のアミノ酸残基の側鎖の結合、又はアミノ酸残基の側鎖同士の結合であってよい。

[0220] 非限定の一態様において本開示における環状ペプチド化合物は、以下の方法により製造できる。例えば、以下の工程を含む製造方法を挙げることができる：

(1) アミノ酸残基、もしくは、アミノ酸残基及びN末端カルボン酸類縁体により構成される非環状のペプチド化合物を、該ペプチド化合物をコードする核酸から翻訳して合成する工程であって、該非環状のペプチド化合物は、C末端側に側鎖の1つに反応点を有するアミノ酸残基、及び、N末端側にもう1つの反応点を有するアミノ酸残基又はN末端カルボン酸類縁体を含む、工程；及び

(2) N末端側のアミノ酸残基、又はN末端カルボン酸類縁体の反応点と、C末端側の側鎖に有するアミノ酸残基の反応点とを結合させ、アミド結合、炭素-炭素結合又はチオエーテル結合を形成させる工程。

[0221] なお、これら(1)と(2)の工程は、分離していても、連続して進行してもよい。

[0222] アミド結合によるペプチド化合物の環化方法の非限定的な一態様として、N末端にシステインまたはシステイン類縁体を持ち、C末端側のアミノ酸の側鎖に活性エステルを持つペプチド化合物を翻訳してネイティブケミカルライゲーションを用いて環化させる方法がある。この環状ペプチド化合物の前駆体であるN末端にシステインまたはシステイン類縁体を持つペプチド化合物を翻訳合成する方法は特に制限されない。

[0223] 一態様において、ペプチド化合物のN末端にMet又はNle以外のアミノ酸を持つペプチド化合物を合成するために、例えば以下の3つの方法が使用できる。

- [0224] 第一に、ホルミルメチオニン又はMe t で開始されたペプチドのN末端アミノ酸もしくはN末端側ペプチドを、酵素によって切断する方法である。該酵素としては、ペプチドデホルミラーゼ（PDF）及び／又はメチオニンアミノペプチダーゼ（MAP）を使用できる。
- [0225] 第二に、再構築無細胞翻訳系を用い、予め系内からMe t を除き、かつN末端から2残基目に、N末端に配置したいアミノ酸を配置し、開始コドンであるMe t を読み飛ばして翻訳合成を行う方法（イニシエーションリードスルー（initiation readthrough；iRT）法と定義する）である。
- [0226] 第三に、Me t もしくは翻訳開始メチオニンtRNAを含まない再構築無細胞翻訳系に、予め開始用のtRNAとして、N末端に配置したいアミノ酸をアミノアシル化して調製したアミノアシルtRNAを加えて翻訳合成を行う方法（イニシエーションサプレッション（Initiation suppression）法（iSP）法と定義する）である。
- [0227] 非限定の一態様において、本開示における環状ペプチド化合物のC末端部位はカルボン酸のままではなく、化学修飾されていてよい。例えば、カルボン酸部位をピペリジンなどと反応させ、ピペリジンアミドなどに変換してよい。

実施例

- [0228] 本発明の内容を以下の実施例でさらに説明するが、本発明はその内容に限定されるものではない。全ての出発物質および試薬は商業的供給業者から入手、もしくは公知の方法を用いて合成した。
- [0229] なお、実施例中では以下の略号を使用した。
- AA：酢酸アンモニウム
- DBU：1，8-ジアザビシクロ[5.4.0]-7-ウンデセン
- DCE：1，2-ジクロロエタン
- DCM：ジクロロメタン
- DIC：N，N'-ジイソプロピルカルボジイミド
- DIPA：N，N-ジイソプロピルエチルアミン

DMF : N, N-ジメチルホルムアミド

DMSO : ジメチルスルホキシド

Fmoc : 9-フルオレニルメチルオキシカルボニル

HATU : O-(7-アザ-1H-ベンゾトリアゾール-1-イル)-N,N',N'-テトラメチルウロニウム ヘキサフルオロリン酸塩

HFILP : 1, 1, 1, 3, 3, 3-ヘキサフルオロ-2-プロパノール

HOAt : 1-ヒドロキシー-7-アザベンゾトリアゾール

NMP : N-メチル-2-ピロリドン

TBME : t-ブチルメチルエーテル

TFE : 2, 2, 2-トリフルオロエタノール

TIPS : トリイソプロピルシラン

Trt : トリフェニルメチル

oxyma : シアノ(ヒドロキシイミノ)酢酸エチル

なお、ペプチド合成及び、固相合成に用いる反応溶媒はペプチド合成用（関東化学、和光純薬あるいは渡辺化学から購入）を用いた。例えばDCM、DMF、DMSO、DBU（2%DMF溶液）などである。また、水を溶媒として加えない反応では脱水溶媒や無水溶媒（関東化学、和光純薬などから購入）を用いた。

[0230] 実施例 1. ペプチド合成に用いるアミノ酸等の化合物の合成

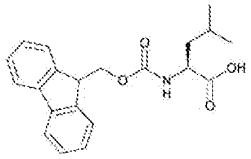
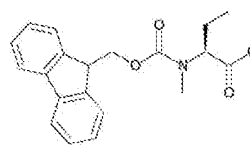
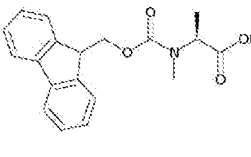
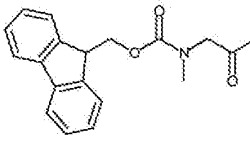
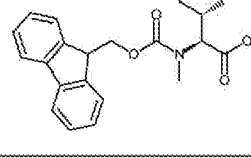
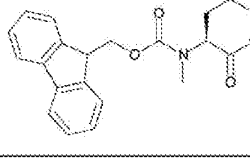
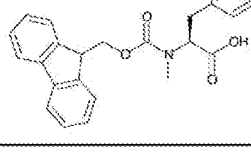
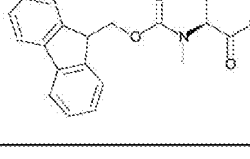
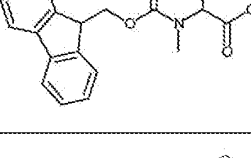
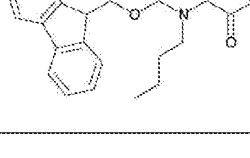
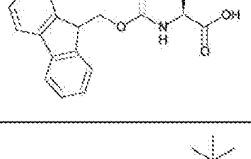
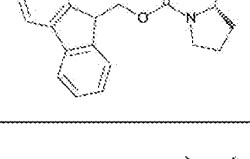
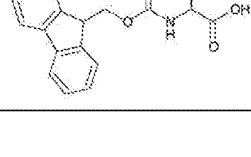
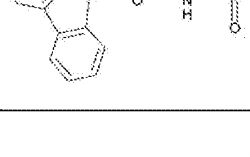
本明細書内に記載するペプチド合成には、表 1、表 2、及び表 3 に記載するアミノ酸、及びアミノ酸担持レジンを用いた。

[0231] 実施例 1-1. 購入品をそのまま用いたFmoc-アミノ酸

表 1 記載のFmoc-アミノ酸は商業的供給業者から購入した。本明細書において、表 1 のアミノ酸の略号に加えて-OHの記載がある場合、そのアミノ酸のC末端がカルボキシル基であることを意味する。例えば、Gly-OHはグリシンのC末端がカルボキシ基であり、Fmoc-Gly-OHはグリシンのN末端のアミノ基がFmoc基で保護されており、C末端がカルボキシ基であることを意味する。

[0232] [表1]

略称	構造	略称	構造
Fmoc-Abu-OH		Fmoc-Ala-OH	
Fmoc-bAla-OH		Fmoc-bMeAla-OH	
Fmoc-D-3-Abu-OH		Fmoc-D-3-MeAbu-OH	
Fmoc-D-Ala-OH		Fmoc-D-MeAla-OH	
Fmoc-D-MeVal-OH		Fmoc-D-Val-OH	
Fmoc-Gly-OH		Fmoc-gMeAbu-OH	
Fmoc-Hph-OH		Fmoc-Ile-OH	

Fmoc-Leu-OH		Fmoc-MeAbu-OH	
Fmoc-MeAla-OH		Fmoc-MeGly-OH	
Fmoc-Melle-OH		Fmoc-MeLeu-OH	
Fmoc-MePhe-OH		Fmoc-MeThr-OH	
Fmoc-MeVal-OH		Fmoc-nBuGly-OH	
Fmoc-Phe-OH		Fmoc-Pro-OH	
Fmoc-Ser(tBu)-OH		Fmoc-Val-OH	

[0233] 実施例 1 - 2. Fmoc-アミノ酸の合成

表2記載のFmoc-アミノ酸は以下に示すスキームの通り合成した。

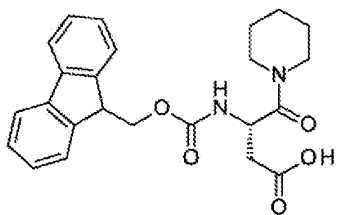
[表2]

化合物番号	略称
aa001	Fmoc-Asp-pip
aa002	Fmoc-MeAsp-pip
aa003	Fmoc-Thr(THP)-OH

[0234] 化合物 a a 0 0 1

(3S)-3-(9H-フルオレン-9-イルメトキシカルボニルアミノ)-4-オキソ-4-ピペリジン-1-イルブタン酸 (Fmoc-Asp-pip) の合成

[化4]

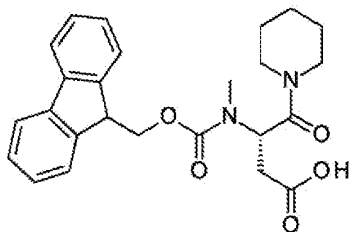


[0235] 化合物 a a 0 0 1 は、WO2013/100132に記載の方法に従って合成した。

[0236] 化合物 a a 0 0 2

(3S)-3-[9H-フルオレン-9-イルメトキシカルボニル(メチル)アミノ]-4-オキソ-4-ピペリジン-1-イルブタン酸 (Fmoc-MeAsp-pip) の合成

[化5]



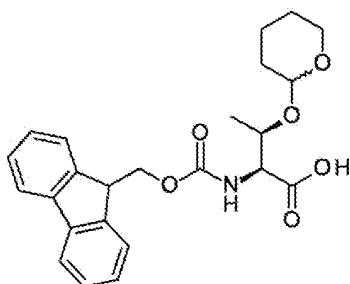
[0237] 化合物 a a 0 0 2 は、WO2018/225864に記載の方法に従って

合成した。

[0238] 化合物 a a 0 0 3

(2 S, 3 R) - 2 - (9 H-フルオレン-9-イルメトキシカルボニルア
ミノ) - 3 - (オキサン-2-イルオキシ) ブタン酸 (Fmoc-Thr (
THP) -OH) の合成

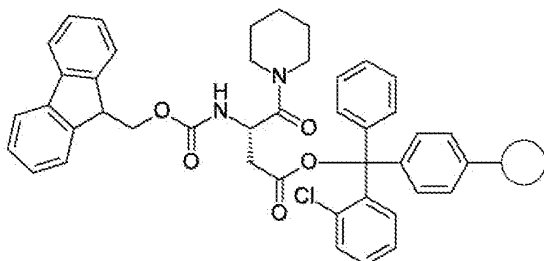
[化6]



[0239] 化合物 a a 0 0 3 は、WO 2 0 1 8 / 2 2 5 8 6 4 に記載の方法に従って合成した。

[0240] 実施例 1 - 3. アミノ酸担持レジンの合成

[化7]



Fmoc-Asp(O-Trt(2-Cl)resin)-pip

[0241] 本明細書では、ポリマーやレジンと化合物が結合した場合、ポリマーやレジン部位を○にて表記する場合がある。また、レジン部位の反応点を明確にさせる目的で、○に接続させて反応部位の化学構造を表記させる場合がある。例えば、上記の構造 Fmoc-Asp(O-Trt(2-Cl)resin)-pip では、レジンの 2-クロロトリチル基が Asp の側鎖カルボキシル基とエステル結合を介して結合している。なお、pip とはピペリジンを意味し上記の構造では C 末端のカルボキシル基がピペリジンとアミド結

合を形成している。2-クロロトリチルクロライドレジン（1.25～1.60mmol/g、100～200mesh、1%DVB）は渡辺化学工業株式会社及びSUNRESIN社から購入した。

[0242] 表3記載のFmoc-アミノ酸担持レジンは、以下に示すスキームの通り合成した。

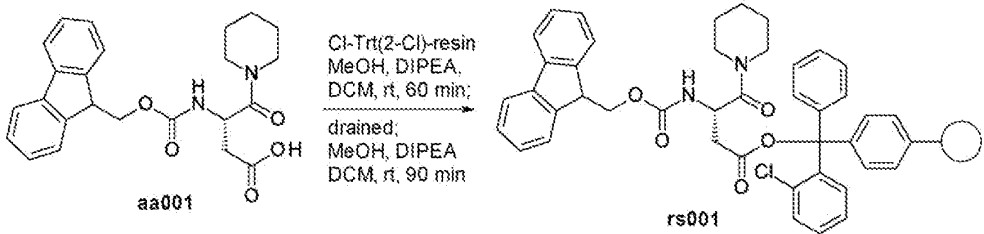
[表3]

化合物番号	略称
rs001	Fmoc-Asp(O-Trt(2-Cl)resin)-pip
rs002	Fmoc-D-3-Abu-O-Trt(2-Cl)resin
rs003	Fmoc-D-3-MeAbu-O-Trt(2-Cl)resin
rs004	Fmoc-MeAsp(O-Trt(2-Cl)resin)-pip

[0243] 化合物rs001:

(3S)-3-(9H-フルオレン-9-イルメトキシカルボニルアミノ)-4-オキソ-4-ピペリジン-1-イルブタン酸-2-クロロトリチルレジンの合成

[化8]

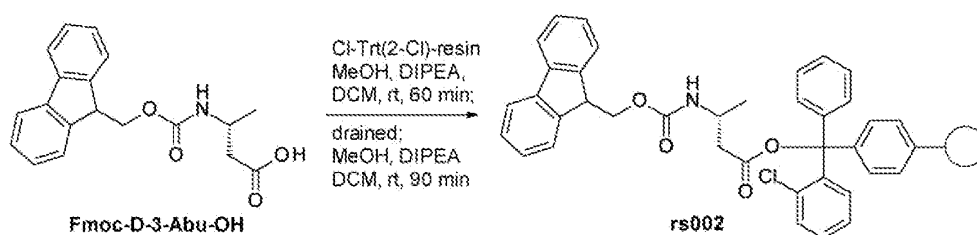


[0244] フィルター付きの反応容器に2-クロロトリチルクロライドレジン（1.60mmol/g、50.0g、80.0mmol）とDCM（676mL）を入れ、室温にて10分間振盪した。窒素圧をかけてDCMを除いた後、化合物aa001（16.9g、40.0mmol）、メタノール（12.9mL、320mmol）、DCM（676mL）及びDIPEA（33.4mL、192mmol）を混合した溶液を反応容器に添加し、室温にて60分間振盪した。窒素圧をかけて反応液を除いた後、メタノール（99.7

mL、2.46 mmol)、DCM (676 mL) 及びDIPEA (33.4 mL、192 mmol) を混合した溶液を反応容器に添加し、室温にて90分間振盪した。窒素圧をかけて反応液を除いた後、DCM (676 mL) を入れ10分間振盪した後に窒素圧をかけて反応液を除いた。このDCMを用いたレジンの洗浄操作を2回繰り返し、得られたレジンを減圧下で一晩乾燥させ、化合物rs001を61.8 g (担持量0.452 mmol/g) 得た。

[0245] 化合物rs002、(3R)-3-(9H-フルオレン-9-イルメトキシカルボニルアミノ)ブタン酸-2-クロロトリチルレジン(Fmoc-D-3-Abu-O-Trt(2-Cl)resin)の合成

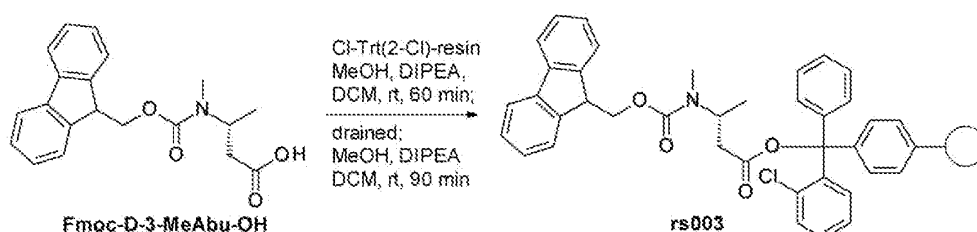
[化9]



[0246] 2-クロロトリチルクロライドレジン (1.44 mmol/g、200 g、289 mmol) とFmoc-D-3-Abu-OH (47.0 g、144 mmol) を出発原料とし、化合物rs001の合成と同様の手法にて、化合物rs002を230 g (担持量0.494 mmol/g) 得た。

[0247] 化合物rs003、(3R)-3-[9H-フルオレン-9-イルメトキシカルボニル(メチル)アミノ]ブタン酸-2-クロロトリチルレジン(Fmoc-D-3-MeAbu-O-Trt(2-Cl)resin)の合成

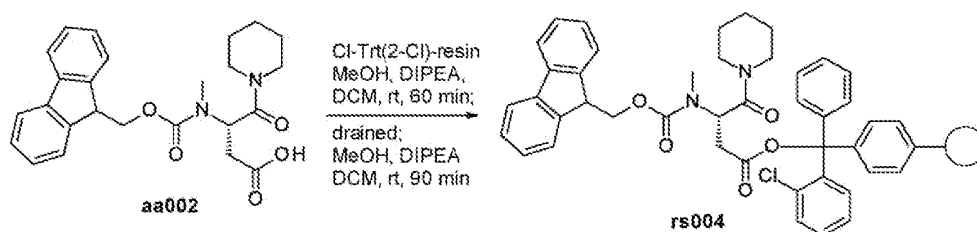
[化10]



[0248] 2-クロロトリチルクロライドレジン (1.25 mmol/g、200 g、250 mmol) と Fmoc-D-3-MeAbu-OH (42.5 g、125 mmol) を出発原料とし、化合物 rs001 の合成と同様の手法にて、化合物 rs003 を 228 g (担持量 0.495 mmol/g) 得た。

[0249] 化合物 rs004、(3S)-3-[9H-フルオレン-9-イルメトキシカルボニル(メチル)アミノ]-4-オキソ-4-ピペリジン-1-イルブタン酸-2-クロロトリチルレジン (Fmoc-MeAsp(O-Trt(2-Cl)resin)-pip) の合成

[化11]



[0250] 2-クロロトリチルクロライドレジン (1.44 mmol/g、200 g、289 mmol) と化合物 aa002 (82.2 g、23 w% of T B M E i n c l u d e d、145 mmol) を出発原料とし、化合物 rs001 の合成と同様の手法にて、化合物 rs004 を 239 g (担持量 0.509 mmol/g) 得た。

[0251] 実施例 2. 環状ペプチド化合物の合成

図 1 に示すスキームに従い、固相反応によるペプチド伸長、切り出し、環化、側鎖の脱保護、精製を経て、13 又は 14 のアミノ酸残基からなる環状ペプチド化合物を合成した。

[0252] 本実施例中にて記載する固相反応によるペプチド伸長は、ペプチド合成機 (Multi pep RS; CEM 社 (旧 Intavis 社) 製) を用いて、Fmoc 法により行った。操作の詳細な手順については合成機に付属のマニュアルに従った。

[0253] 本実施例中における詳細な合成条件は以下に示した。

[0254] 固相反応によるペプチド伸長

目的とするペプチドを構成する Fmoc 保護アミノ酸 (0.6 mol/L) とカルボキシル基の活性化剤として HOAt もしくは oxyma (0.375 mol/L) を NMP に溶解させて溶液 1 を調製した。また、DIC が 10% (v/v) となるように DMF と混合し、溶液 2 を調製した。実施例 1-3 にて調製した Fmoc アミノ酸が担持されたレジン (100 mg) をフィルター (フリット) 付の固相反応容器に入れてペプチド合成機にセットした。DCM (1.2 mL) を加えて 30 分間静置することでレジンの膨潤を行った後、溶液をフリットから排出した。溶液 1 および溶液 2 をペプチド合成機にセットし、ペプチド合成機による自動合成を開始した。

[0255] レジンを含む固相反応容器に DBU の DMF 溶液 (2% v/v、0.7 mL) を添加し、室温にて Fmoc 基の除去反応を行った。1 残基目の脱保護においては 4.5 分間反応させ、2 残基目以降の脱保護においては 10 分間反応させた後、溶液をフリットから排出した。そこに DMF (0.7 mL) を加え、5 分静置後、溶液をフリットから排出した。このレジンの洗浄工程を更に 3 回繰り返した。続いて、溶液 1 (0.3 mL) と溶液 2 (0.36 mL) を合成機の mixing vial で混合した後にレジンに添加し、固相反応容器を 40℃ まで加温し、2.5 時間反応することでレジン上のアミノ基と Fmoc 保護アミノ酸の縮合反応を行った後、溶液をフリットから排出した。次いでレジンを DMF (0.7 mL) で 3 回洗浄した。この Fmoc 基の除去反応に次ぐ Fmoc アミノ酸の縮合反応を 1 サイクルとし、このサイクルを繰り返すことでレジン表面上にペプチドを伸長させた。ペプチド伸長完了後、レジンを含む固相反応容器に DBU の DMF 溶液 (2% v/v、0.7 mL) を添加し、室温にて 15 分間反応させて Fmoc 基の除去反応を行った後、溶液をフリットから排出した。得られたレジンを DMF (0.7 mL) で 4 回洗浄後、DCM (0.7 mL) で 4 回洗浄した。

[0256] レジンからの切り出し

得られたレジンに対し 0.75% (v/v) の DIPEA を含む TFE /

DCM (1 / 1、2. 0 mL) を加え、室温で2時間反応させてレジンからのペプチド鎖の切り出し反応を行った。反応後、チューブ内の溶液をフリットから回収した。残ったレジンにT F E / D C M (1 / 1 (v / v)、1. 0 mL) を加え、溶液をフリットから回収する操作を2回行った。得られた全ての切り出し溶液を混合し、DMF (4. 0 mL) を混合した後、G e n e v a c 社製ハイスループット遠心エバポレーター (H T - 1 2) により減圧下溶媒留去した。

[0257] 環化

上記の方法により得られた残渣をDMF (4. 0 mL) とDCM (4. 0 mL) の混合液に溶解し、H A T U のDMF 溶液 (0. 5 m o l / L、1. 5 当量) と、D I P E A (1. 8 等量) を加え、室温にて2時間攪拌することで、N末端のアミノ基とレジン結合部位であったカルボキシル基との縮合環化反応を行った後、G e n e v a c 社製ハイスループット遠心エバポレーター (H T - 1 2) により減圧下溶媒留去した。なお、等量数は原料として用いたレジンのペプチド担持量 (m m o l / g) に使用したレジンを乗算したものを基準に計算した。

[0258] 脱保護

T h r 含有ペプチドのみ実施される。T h r を含まないペプチドの場合は、脱保護過程は省略される。

[0259] 上記の方法により得られた残渣をテトラメチルアンモニウム硫酸水素塩のH F I P / T I P S / D C E (1 1 7 / 2. 4 / 1 (v / v / v)) 溶液 (0. 1 0 m o l / L、4. 0 mL) に溶解し、室温にて1時間攪拌することで、T h r 側鎖の脱保護反応を行った。D I P E A (0. 0 7 0 mL) を加えた後、G e n e v a c 社製ハイスループット遠心エバポレーター (H T - 1 2) により減圧下溶媒留去した。

[0260] 精製

上記の方法により得られた残渣にD M S O を加え、不溶物をフィルターを通して取り除いた後、preparative-HPLCで精製し目的の環状ペプチドを得た。

。精製装置はWatersAuto Purification Systemを用い、カラムはYMC-Actus Triart C18（内径20 mm、長さ100 mm）を使用し、移動相はメタノール－酢酸アンモニウム水溶液（50 mmol/L）を使用した。

[0261] 上記の合成条件に従い、表4記載の13又は14のアミノ酸残基からなる環状ペプチドを合成した。表4では、1～14のカラムでN末端から順にアミノ酸の配列を示し、各化合物の精密質量（exact mass）、LCMS分析条件（LCMS cond.）、観測されたマスペクトル（obs. mass; m/z ）、イオン形（ion form）、及び保持時間（ R_t ; min）を記載した。全てのペプチドはN末端アミノ基とC末端カルボキシル基（C末端がAsp、及びMeAspの場合は側鎖カルボキシル基）とでアミド結合を形成した環状ペプチドである。表5では、LCMSの分析条件を記載した。表15では、各化合物の構造式を示した。

[0262]

[表4]

ID	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	exact mass	LCMS cond.	obs. mass (m/z)	ion form	Rt (min)
pd001	gMeAbu	MeLeu	MeIle	Phe	Pro	MeLeu	Ser(TBu)	MePhe	Thr	MeAbu	Pro	MeLeu	MeVal	Asp-pip	1748.1	AA50	1747.7	[M-H] ⁻	0.92
pd002	MeAla	MeLeu	MeAbu	Val	MeAbu	MePhe	Thr	MeIle	MePhe	MeLeu	Pro	Ile	MeVal	Asp-pip	1692.1	AA50	1691.6	[M-H] ⁻	0.90
pd003	MeAla	Leu	MePhe	bMeAla	MeLeu	Leu	MeAla	MeAbu	MeIle	Thr	MeGly	MeLeu	MePhe	Asp-pip	1638.1	AA50	1637.6	[M-H] ⁻	0.84
pd004	MeAla	Ile	MePhe	MeVal	MeLeu	Thr	MeGly	MePhe	MeLeu	MeAla	MeLeu	Ser(TBu)	MeAbu	Asp-pip	1696.1	AA50	1695.7	[M-H] ⁻	0.86
pd005	MeGly	MePhe	bAla	MeLeu	MeThr	MeLeu	MeAla	Abu	MePhe	Val	Pro	MeAla	MeVal	Asp-pip	1580.0	AA50	1579.4	[M-H] ⁻	0.79
pd006	D-Ala	MeAla	MePhe	Val	MeLeu	Val	MeGly	Leu	MeLeu	Abu	Hph	MeAbu	MeVal	D-3-Abu	1497.0	AA50	1496.5	[M-H] ⁻	0.84
pd007	MeAla	Leu	MeLeu	Ile	MePhe	bAla	MeLeu	Ser(TBu)	MeIle	Val	MeGly	MeLeu	Leu	D-3-Abu	1563.1	AA50	1562.6	[M-H] ⁻	0.92
pd008	D-Ala	MeAla	MePhe	Val	MeLeu	Thr	MeGly	Val	MeLeu	Ser(TBu)	MePhe	Abu	MeVal	D-3-Abu	1529.0	AA50	1528.5	[M-H] ⁻	0.83
pd009	MeAla	Leu	MeLeu	Ile	MePhe	Ala	MeLeu	Ser(TBu)	MeIle	Val	Thr	MeLeu	MeGly	D-3-Abu	1551.0	AA50	1550.5	[M-H] ⁻	0.89
pd010	MeGly	Ile	MeLeu	Abu	MeLeu	Thr	MeGly	Leu	MePhe	Ala	MeLeu	Ser(TBu)	MeVal	D-3-Abu	1509.0	AA50	1508.5	[M-H] ⁻	0.87
pd011	MeGly	Ile	MeLeu	Abu	MeLeu	Thr	MeGly	Val	Ala	MePhe	MeLeu	Ser(TBu)	MeVal	D-3-Abu	1495.0	AA50	1494.5	[M-H] ⁻	0.84
pd012	D-MeAla	Val	MePhe	Ile	MeLeu	Thr	Pro	MeAla	MeLeu	Ser(TBu)	MePhe	Abu	MeVal	D-3-Abu	1583.0	AA50	1582.5	[M-H] ⁻	0.87
pd013	D-Val	MeAbu	Ala	MeVal	Pro	Leu	MeGly	MeAla	Ser(TBu)	Val	MePhe	Abu	MeVal	Asp-pip	1532.0	AA50	1531.5	[M-H] ⁻	0.82
pd014	D-Val	MeLeu	Ala	MeVal	Pro	Leu	Leu	MeLeu	Ser(TBu)	Val	MeLeu	Ala	MeVal	Asp-pip	1644.1	AA50	1643.7	[M-H] ⁻	0.93
pd015	bMeAla	Leu	MeLeu	MePhe	Ile	Abu	MePhe	Ser(TBu)	MeLeu	Val	MeAla	MeLeu	Val	Asp-pip	1708.1	AA50	1707.7	[M-H] ⁻	0.91
pd016	gMeAbu	Leu	MeLeu	MeAla	MePhe	Abu	MePhe	Ser(TBu)	MeLeu	Abu	MeAla	Val	MeLeu	Asp-pip	1680.1	AA50	1679.7	[M-H] ⁻	0.89
pd017	gMeAbu	Leu	MeAla	Phe	Pro	MeLeu	MeLeu	MeLeu	Ala	Ile	MeAbu	Leu	MePhe	Asp-pip	1692.1	AA50	1691.7	[M-H] ⁻	0.92
pd018	MeAla	Ile	MePhe	MeLeu	Val	MeGly	Leu	MePhe	MeAla	Leu	nBUGly	MeAbu	Leu	Asp-pip	1636.1	AA50	1635.6	[M-H] ⁻	0.90
pd019	D-Val	MePhe	Abu	MeVal	bMeAla	Thr	MeLeu	nBUGly	Ala	MePhe	Leu	Ala	MeVal	Asp-pip	1596.0	AA50	1595.5	[M-H] ⁻	0.84
pd020	D-MeVal	MePhe	Leu	MeGly	Leu	Thr	MeLeu	MeVal	Ala	Ser(TBu)	MePhe	MeAbu	Val	Asp-pip	1668.1	AA50	1667.6	[M-H] ⁻	0.88
pd021	bMeAla	Leu	MeLeu	Ile	MePhe	Abu	MePhe	Ser(TBu)	MeLeu	Thr	MeAla	MeLeu	Val	Asp-pip	1710.1	AA50	1709.7	[M-H] ⁻	0.91
pd022	gMeAbu	Ala	MeLeu	Ile	Pro	Hph	MeLeu	MeAla	MePhe	Thr	Ser(TBu)	Ile	MeLeu	Asp-pip	1708.1	AA50	1707.6	[M-H] ⁻	0.88
pd023	gMeAbu	Hph	MeLeu	Ile	Pro	Ala	MeLeu	Abu	MePhe	Thr	MeAla	Ile	MeLeu	Asp-pip	1650.1	AA50	1649.6	[M-H] ⁻	0.86
pd024	MeAla	Leu	Thr	McPhe	bAla	McVal	Leu	McIle	Hph	MeGly	McIle	bAla	McLeu	Asp-pip	1624.0	AA50	1623.6	[M-H] ⁻	0.86
pd025	MeAla	Ser(TBu)	MeVal	Ala	Ile	Pro	Ala	MePhe	MeAbu	Thr	MeLeu	MePhe	Val	Asp-pip	1624.0	AA50	1623.5	[M-H] ⁻	0.85
pd026	MeAla	Thr	MePhe	MePhe	Ala	MePhe	Ala	bMeAla	Leu	nBUGly	Ile	MeLeu	Val	Asp-pip	1624.0	AA50	1623.5	[M-H] ⁻	0.85
pd027	MeAla	Leu	MeLeu	Ile	Leu	MePhe	Ala	MePhe	MeIle	Thr	MeLeu	Pro	Leu	Asp-pip	1692.1	AA50	1691.6	[M-H] ⁻	0.91
pd028	MeGly	MePhe	Ile	MeLeu	MeThr	Abu	Hph	MeLeu	Abu	MeAla	Ser(TBu)	Abu	MeVal	Asp-pip	1654.0	AA50	1653.6	[M-H] ⁻	0.84
pd029	MeLeu	Ile	MeGly	Phe	Thr	MeLeu	Leu	MeVal	MeAbu	Ile	Pro	Val	MePhe	Asp-pip	1664.1	AA50	1663.6	[M-H] ⁻	0.89
pd030	MeGly	MePhe	Ile	MeLeu	MeThr	Gly	Leu	MePhe	Abu	MeAla	Val	Leu	MeVal	Asp-pip	1596.0	AA50	1595.5	[M-H] ⁻	0.82
pd031	MeLeu	MePhe	Ile	MeGly	Thr	MeLeu	Leu	MeVal	Abu	Ile	Pro	Ser(TBu)	MePhe	Asp-pip	1708.1	AA50	1707.6	[M-H] ⁻	0.93
pd032	D-Val	MeThr	Hph	MeVal	MeLeu	Leu	MeGly	MeLeu	Val	Pro	MePhe	Leu	MeVal	Asp-pip	1692.1	AA50	1691.6	[M-H] ⁻	0.88
pd033	D-MeVal	MePhe	Leu	MeVal	Abu	MeLeu	Thr	MeAla	MeLeu	Leu	MePhe	MeVal	Leu	Asp-pip	1708.1	AA50	1707.7	[M-H] ⁻	0.94
pd034	bMeAla	MeLeu	Ile	MePhe	MeGly	Val	MeLeu	Ser(TBu)	MePhe	Thr	MeAla	Ile	MeLeu	Asp-pip	1696.1	AA50	1695.6	[M-H] ⁻	0.89
pd035	MeAla	Leu	MeLeu	MePhe	Abu	nBUGly	Leu	MeIle	Abu	MeThr	MePhe	Ile	MeLeu	Asp-pip	1708.1	AA50	1707.7	[M-H] ⁻	0.92
pd036	Ala	MeLeu	Val	MePhe	MeLeu	Ala	MePhe	Thr	MeIle	Leu	MeLeu	Pro	MeVal	Asp-pip	1678.1	AA50	1677.6	[M-H] ⁻	0.89
pd037	MeAla	Leu	MeLeu	Val	bMeAla	MePhe	Ala	MePhe	MeIle	Thr	MeGly	MeLeu	Leu	Asp-pip	1624.0	AA50	1623.6	[M-H] ⁻	0.82
pd038	MeGly	MePhe	Ile	bMeAla	MeThr	Abu	MeLeu	Ala	MeAbu	Hph	Pro	Ser(TBu)	Melle	Asp-pip	1638.0	AA50	1637.5	[M-H] ⁻	0.84
pd039	MeGly	MeLeu	Ile	MeLeu	Thr	MePhe	Leu	Val	MePhe	MeAla	MeVal	Gly	MeAla	Asp-pip	1596.0	AA50	1595.5	[M-H] ⁻	0.82
pd040	D-Val	MeThr	Leu	MeVal	MeLeu	Hph	MeGly	MeLeu	Pro	MePhe	Val	MeAla	MeVal	Asp-pip	1664.1	AA50	1663.6	[M-H] ⁻	0.87
pd041	gMeAbu	Leu	MeLeu	MeAla	MePhe	Ala	MePhe	MeAbu	MeLeu	Thr	MeAla	Ile	MeLeu	Asp-pip	1652.1	AA50	1651.6	[M-H] ⁻	0.84
pd042	gMeAbu	MeLeu	Melle	Phe	Pro	MeLeu	Ser(TBu)	MePhe	Thr	MeAbu	Pro	MeLeu	Val	Asp-pip	1734.1	AA50	1733.6	[M-H] ⁻	0.91
pd043	MeAla	MeLeu	Val	MePhe	MeAbu	MePhe	Thr	MeIle	Leu	MeLeu	Pro	Ile	MeVal	Asp-pip	1706.1	AA50	1705.6	[M-H] ⁻	0.92

pd044	MeAla	Leu	MePhe	MeAla	Leu	Melle	Thr	MeGly	MeLeu	MePhe	Asp-pip	1682.1	AA50	1681.6	[M-H] ⁻	0.89
pd045	MeAla	Ile	MePhe	Val	MePhe	MeLeu	MeAla	MeLeu	Ser(tBu)	MeAbu	Asp-pip	1682.1	AA50	1681.6	[M-H] ⁻	0.88
pd046	MeGly	MeThr	Ala	MeLeu	MeThr	MeAla	Val	Pro	Ala	MeVal	Asp-pip	1566.0	AA50	1565.5	[M-H] ⁻	0.80
pd047	D-Val	MeThr	MeLeu	MeVal	MeLeu	MeLeu	Pro	MePhe	Val	MeAla	Asp-pip	1678.1	AA50	1677.6	[M-H] ⁻	0.87
pd048	gMeAbu	Leu	MeLeu	MeAla	MePhe	MeLeu	Pro	MePhe	MeLeu	Melle	Asp-pip	1666.1	AA50	1665.5	[M-H] ⁻	0.86
pd049	D-Val	MeLeu	Leu	MeVal	Ser(tBu)	MeLeu	MePhe	MeAla	MeAla	Leu	D-3-Abu	1551.0	AA50	1550.5	[M-H] ⁻	0.85
pd050	gMeAbu	Val	MeAbu	Ser(tBu)	Ala	MePhe	MePhe	MeThr	MeAla	Ile	D-3-Abu	1585.0	AA50	1584.4	[M-H] ⁻	0.79
pd051	bMeAla	Abu	MeLeu	Ile	Pro	MePhe	MeAla	MeAla	Thr	MeLeu	D-3-Abu	1553.0	AA50	1552.3	[M-H] ⁻	0.80
pd052	MeAla	Leu	MeAla	MeLeu	MePhe	Val	Thr	MeGly	MeLeu	Leu	D-3-Abu	1565.1	AA50	1564.4	[M-H] ⁻	0.86
pd053	MeLeu	Ile	MeLeu	Ala	MeThr	MeLeu	Pro	MePhe	MeLeu	MeVal	D-3-Abu	1547.0	AA50	1546.4	[M-H] ⁻	0.83
pd054	D-MeAla	Leu	MeVal	Pro	Ile	MePhe	Thr	MeLeu	MeAla	MeVal	D-3-Abu	1625.1	AA50	1624.4	[M-H] ⁻	0.87
pd055	gMeAbu	MeAla	Ile	MeVal	MePhe	Ala	MeThr	bMeAla	Hph	MeVal	D-3-Abu	1541.0	AA50	1540.3	[M-H] ⁻	0.75
pd056	bMeAla	Hph	MeLeu	Pro	MePhe	MeAla	Ile	MeVal	MeAla	Thr	D-3-Abu	1581.0	AA50	1580.5	[M-H] ⁻	0.81
pd057	MeLeu	Ile	MeLeu	Val	MeAbu	MeLeu	MeThr	MeAla	Ser(tBu)	MeVal	D-3-Abu	1619.1	AA50	1618.4	[M-H] ⁻	0.87
pd058	D-MeAla	MeLeu	MeVal	Pro	Val	MePhe	MeAla	MeLeu	Ser(tBu)	MeVal	D-3-Abu	1597.0	AA50	1596.4	[M-H] ⁻	0.82
pd059	gMeAbu	MeAla	Ile	MeLeu	MeAla	MePhe	MeThr	MeAla	MeLeu	MeVal	D-3-Abu	1541.0	AA50	1540.4	[M-H] ⁻	0.76
pd060	bMeAla	Hph	MeLeu	Pro	MePhe	MeAla	Melle	MeVal	Thr	MeLeu	D-3-Abu	1595.0	AA50	1594.3	[M-H] ⁻	0.85
pd061	MeLeu	Ile	MeLeu	MeVal	MeAbu	MeLeu	MeThr	MePhe	Ser(tBu)	MeVal	D-3-Abu	1633.1	AA50	1632.4	[M-H] ⁻	0.87
pd062	gMeAbu	MeLeu	Ile	Gly	MePhe	MePhe	Ala	Val	MeAla	Ile	D-3-MeAbu	1511.0	AA50	1510.3	[M-H] ⁻	0.78
pd063	gMeAbu	MeLeu	Ile	Gly	MePhe	Ile	Ser(tBu)	MeLeu	MeAla	Leu	D-3-MeAbu	1583.0	AA50	1582.4	[M-H] ⁻	0.82
pd064	bMeAla	Leu	MeLeu	Ile	MePhe	Hph	Melle	Val	Pro	Gly	D-3-MeAbu	1579.1	AA50	1578.4	[M-H] ⁻	0.84
pd065	bMeAla	Leu	MeLeu	Val	MePhe	Hph	Melle	MeLeu	Pro	MeLeu	D-3-MeAbu	1623.1	AA50	1622.4	[M-H] ⁻	0.87
pd066	bMeAla	MeLeu	MeLeu	Ile	MePhe	Hph	Melle	Ser(tBu)	Pro	MeGly	D-3-MeAbu	1651.1	AA50	1650.5	[M-H] ⁻	0.88
pd067	MeGly	MePhe	Thr	MeLeu	Val	MeLeu	Pro	MeAla	Ser(tBu)	Val	D-3-MeAbu	1569.0	AA50	1568.4	[M-H] ⁻	0.78
pd068	D-Val	MeLeu	Ser(tBu)	Val	MeLeu	Gly	MeThr	MePhe	MeVal	Abu	D-3-MeAbu	1523.0	AA50	1522.4	[M-H] ⁻	0.78
pd069	Ala	MeAla	MeLeu	Ile	Melle	Val	MeLeu	Thr	MeAla	MeLeu	D-3-MeAbu	1479.0	AA50	1478.3	[M-H] ⁻	0.77
pd070	MeGly	MePhe	Thr	MeLeu	Val	MeLeu	MeLeu	Pro	MeAla	MeAbu	D-3-MeAbu	1496.9	AA50	1496.3	[M-H] ⁻	0.73
pd071	D-Val	MeLeu	MeVal	Ala	MeLeu	Gly	MeThr	MePhe	MeAla	MeVal	D-3-MeAbu	1509.0	AA50	1508.3	[M-H] ⁻	0.80
pd072	Ala	MeAla	MeLeu	Ile	MeAbu	MeVal	MeLeu	MeThr	MeGly	MeAla	D-3-MeAbu	1465.0	AA50	1464.3	[M-H] ⁻	0.75
pd073	MeGly	MePhe	Thr	MeLeu	Val	MeAbu	MeLeu	Pro	MeAla	MeAbu	D-3-MeAbu	1525.0	AA50	1524.4	[M-H] ⁻	0.77
pd074	D-Ala	Melle	Ile	MePhe	MeAla	Val	MeLeu	MeGly	Val	MePhe	MeAsp-pip	1608.0	AA50	1607.5	[M-H] ⁻	0.81
pd075	MeAla	Leu	MeLeu	Abu	MePhe	Ile	Ala	MePhe	MeLeu	MeAla	MeAsp-pip	1622.1	AA50	1621.4	[M-H] ⁻	0.85
pd076	D-Ala	Melle	Ile	MePhe	bMeAla	MeLeu	MeGly	Ala	MeAla	Val	MeAsp-pip	1580.0	AA50	1579.3	[M-H] ⁻	0.78
pd077	bMeAla	MeLeu	Ile	MePhe	nBuGly	MePhe	Ser(tBu)	MeLeu	bAla	MeLeu	MeAsp-pip	1722.1	AA50	1721.6	[M-H] ⁻	0.87
pd078	MeLeu	Abu	MeVal	Pro	Val	MePhe	MeAla	MeLeu	Ala	MeLeu	MeAsp-pip	1586.1	AA50	1585.4	[M-H] ⁻	0.81
pd079	MeAla	Leu	MeLeu	Ile	MePhe	Ala	MePhe	MeLeu	MeVal	MeAla	MeAsp-pip	1650.1	AA50	1649.5	[M-H] ⁻	0.87
pd080	MeGly	MeLeu	Ile	MeLeu	Val	MePhe	MeLeu	MePhe	MeAla	Gly	MeAsp-pip	1594.0	AA50	1593.4	[M-H] ⁻	0.83
pd081	D-Ala	Melle	Ile	MePhe	bMeAla	MeLeu	MeGly	Ala	MeAla	Val	MeAsp-pip	1594.0	AA50	1593.3	[M-H] ⁻	0.75
pd082	bMeAla	MeLeu	Ile	MePhe	nBuGly	MePhe	Ser(tBu)	MeLeu	Ile	MeVal	MeAsp-pip	1736.2	AA50	1735.7	[M-H] ⁻	0.88
pd083	MeLeu	Ser(tBu)	MeVal	bMeAla	Ile	MePhe	MeGly	MeLeu	Ala	Abu	MeAsp-pip	1616.1	AA50	1615.5	[M-H] ⁻	0.78
pd084	MeAla	MeLeu	MeLeu	Ile	MePhe	Ala	Melle	Gly	MeVal	MeAla	MeAsp-pip	1664.1	AA50	1663.6	[M-H] ⁻	0.88
pd085	MeGly	MeLeu	Ile	MePhe	Val	MePhe	MeLeu	MePhe	MeAbu	Gly	MeAsp-pip	1608.0	AA50	1607.6	[M-H] ⁻	0.83
pd086	D-Val	MePhe	MeVal	Thr	MeLeu	MeLeu	Val	MePhe	Ala	MeAla	MeAsp-pip	1668.1	AA50	1667.5	[M-H] ⁻	0.83
pd087	MeLeu	Ser(tBu)	MeVal	Ile	Pro	Val	nBuGly	Thr	MeAla	Ile	MeAsp-pip	1686.1	AA50	1685.6	[M-H] ⁻	0.85
pd088	MeGly	Ile	MeLeu	Hph	bMeAla	MeAla	Val	MePhe	Thr	MeLeu	MeAsp-pip	1638.1	AA50	1637.5	[M-H] ⁻	0.82

pd089	D-MeVal	MeLeu	Hph	MeVal	MeLeu	Thr	MeAla	MeLeu	Ser(tBu)	MePhe	Abu	MeVal	Leu	MeAsp-pip	1766.2	AA50	1765.8	[M-H] ⁻	0.91
pd090	D-Val	MePhe	Ala	MeVal	Thr	MeLeu	MeVal	MeLeu	Ser(tBu)	MePhe	MeAla	MePhe	MeGly	MeAsp-pip	1612.0	AA50	1611.5	[M-H] ⁻	0.80
pd091	MeAla	Leu	MeLeu	Ser(tBu)	MePhe	Abu	MeGly	Leu	MeAbu	MeThr	MePhe	Ile	MeLeu	MeAsp-pip	1710.1	AA50	1709.7	[M-H] ⁻	0.84
pd092	MeGly	Ile	MeLeu	Hph	MeLeu	MeAla	MeVal	Leu	MeLeu	Thr	MeLeu	MePhe	Val	MeAsp-pip	1722.1	AA50	1721.6	[M-H] ⁻	0.90
pd093	D-MeVal	MeLeu	Hph	MeVal	MeLeu	Thr	MeAla	MeLeu	Ser(tBu)	MePhe	MeAbu	MeVal	Leu	MeAsp-pip	1780.2	AA50	1779.9	[M-H] ⁻	0.92
pd094	D-Val	MePhe	bAla	MeVal	Thr	MeLeu	MeAbu	MeGly	MeLeu	Ser(tBu)	MeAla	MePhe	MeGly	MeAsp-pip	1626.0	AA50	1625.3	[M-H] ⁻	0.80
pd095	MeAla	Leu	MeLeu	Ser(tBu)	MePhe	MeAbu	MeGly	Leu	MeLeu	MeThr	MePhe	Ile	MeLeu	MeAsp-pip	1752.2	AA50	1751.7	[M-H] ⁻	0.87
pd096	MeGly	MeIle	MeLeu	Hph	MeLeu	bMeAla	MeVal	Leu	MeLeu	Thr	bMeAla	MePhe	Val	MeAsp-pip	1694.1	AA50	1693.6	[M-H] ⁻	0.81
pd097	D-Val	MeLeu	Ala	MeVal	Pro	Leu	MeGly	MeLeu	Ser(tBu)	Leu	MePhe	MeVal	Asp-pip		1531.0	AA50	1530.6	[M-H] ⁻	0.87
pd098	gMeAbu	MeLeu	MeIle	Phe	Pro	MeLeu	Ser(tBu)	MeLeu	Ala	Ile	MeAbu	MePhe	Asp-pip		1621.1	AA50	1620.6	[M-H] ⁻	0.91
pd099	MeAla	Ile	MePhe	MeLeu	Val	MeGly	Leu	MePhe	MeAla	Leu	nBuGly	MeAbu	Asp-pip		1523.0	AA50	1522.5	[M-H] ⁻	0.87
pd100	D-Val	MePhe	Leu	MeVal	Thr	MeLeu	MeLeu	nBuGly	Ser(tBu)	MePhe	Leu	MeVal	Asp-pip		1667.1	AA50	1666.7	[M-H] ⁻	0.96
pd101	bMeAla	Leu	MeLeu	Ile	MePhe	Abu	MePhe	Val	MeLeu	Thr	MeAla	MeLeu	Asp-pip		1567.0	AA50	1566.6	[M-H] ⁻	0.88
pd102	gMeAbu	MeLeu	Ile	Pro	Hph	MeLeu	Ser(tBu)	MePhe	Thr	MeAla	Ile	MeLeu	Asp-pip		1637.1	AA50	1636.6	[M-H] ⁻	0.88
pd103	MeAla	MeLeu	Thr	MePhe	Abu	MePhe	Leu	MeIle	Leu	nBuGly	Ile	MeLeu	Asp-pip		1609.1	AA50	1608.6	[M-H] ⁻	0.95
pd104	MeAla	Leu	MeLeu	Ile	MePhe	Ala	MePhe	MeIle	Thr	MeLeu	Pro	Leu	Asp-pip		1579.0	AA50	1578.6	[M-H] ⁻	0.90
pd105	MeGly	MePhe	Ile	MeLeu	MeThr	Gly	Leu	MePhe	Abu	MeAla	Leu	MeVal	Asp-pip		1496.9	AA50	1496.4	[M-H] ⁻	0.81
pd106	MeLeu	MePhe	Ile	MeGly	Thr	MeLeu	MeLeu	MeVal	Abu	Pro	Ser(tBu)	MePhe	Asp-pip		1595.0	AA50	1594.5	[M-H] ⁻	0.94
pd107	D-Val	MeThr	Hph	MeVal	MeLeu	Leu	MeGly	MeLeu	Pro	MePhe	Leu	MeVal	Asp-pip		1593.0	AA50	1592.5	[M-H] ⁻	0.87
pd108	D-MeVal	MePhe	Leu	MeVal	MeLeu	Thr	MeAla	MeLeu	Leu	MePhe	MeVal	Leu	Asp-pip		1623.1	AA50	1622.6	[M-H] ⁻	0.91
pd109	gMeAbu	Leu	MeLeu	MeAla	MePhe	Abu	MePhe	Ser(tBu)	MeLeu	Thr	MeAla	MeLeu	Asp-pip		1597.0	AA50	1596.6	[M-H] ⁻	0.86
pd110	bMeAla	MeLeu	Ile	MePhe	MeGly	MeLeu	Ser(tBu)	MePhe	Thr	MeAla	Ile	MeLeu	Asp-pip		1597.0	AA50	1596.6	[M-H] ⁻	0.88
pd111	MeAla	Leu	MeLeu	MePhe	Abu	nBuGly	Leu	MeIle	MeThr	MePhe	Ile	MeLeu	Asp-pip		1623.1	AA50	1622.6	[M-H] ⁻	0.92
pd112	Ala	MeLeu	MePhe	MeLeu	Abu	MePhe	Thr	MeIle	Leu	bMeAla	Pro	MeVal	Asp-pip		1551.0	AA50	1550.5	[M-H] ⁻	0.83
pd113	MeAla	Leu	MeLeu	bMeAla	MePhe	bAla	MePhe	MeIle	Thr	MeGly	MeLeu	Leu	Asp-pip		1525.0	AA50	1524.5	[M-H] ⁻	0.82
pd114	MeGly	MePhe	Ile	MeLeu	MeThr	MeLeu	Leu	MeAbu	I-ph	Pro	Ser(tBu)	MeIle	Asp-pip		1637.1	AA50	1636.6	[M-H] ⁻	0.90
pd115	MeGly	MeLeu	Ile	MeLeu	Thr	MePhe	Leu	MePhe	MeAla	MeVal	Gly	MeAla	Asp-pip		1496.9	AA50	1496.5	[M-H] ⁻	0.83
pd116	D-Val	MeThr	Leu	MeVal	MeLeu	Hph	MeGly	MeLeu	Pro	MePhe	MeAla	MeVal	Asp-pip		1565.0	AA50	1564.5	[M-H] ⁻	0.81
pd117	gMeAbu	Leu	MeLeu	MeAla	MePhe	Ala	MePhe	MeAla	MeLeu	Thr	MeAla	MeLeu	Asp-pip		1539.0	AA50	1538.5	[M-H] ⁻	0.83
pd118	gMeAbu	MeLeu	MeIle	Phe	Pro	MeLeu	Ser(tBu)	MePhe	Thr	MeAbu	Pro	MeLeu	Asp-pip		1635.0	AA50	1634.6	[M-H] ⁻	0.88
pd119	MeAla	MeLeu	Ser(tBu)	MePhe	MeAbu	MePhe	Thr	MeIle	Leu	MeLeu	Pro	MeVal	Asp-pip		1637.1	AA50	1636.6	[M-H] ⁻	0.89
pd120	MeAla	Leu	MePhe	bMeAla	MeLeu	bMeAla	Leu	MeIle	Thr	MeGly	MeLeu	MePhe	Asp-pip		1539.0	AA50	1538.5	[M-H] ⁻	0.83
pd121	MeAla	Ile	MePhe	MeLeu	Thr	MeGly	MePhe	MeLeu	MeAla	MeLeu	Ser(tBu)	MeAbu	Asp-pip		1583.0	AA50	1582.5	[M-H] ⁻	0.86
pd122	MeGly	MePhe	Abu	MeLeu	MeThr	MeLeu	MeAla	MePhe	Val	Pro	Abu	MeVal	Asp-pip		1508.9	AA50	1508.4	[M-H] ⁻	0.81
pd123	D-MeVal	MePhe	Pro	MeVal	MeLeu	Thr	nBuGly	MeLeu	Ser(tBu)	MePhe	MeAla	MeVal	Asp-pip		1637.1	AA50	1636.6	[M-H] ⁻	0.91
pd124	gMeAbu	MeLeu	MeIle	Pro	MeVal	MePhe	MeAla	MeLeu	Thr	MeAla	Hph	MeLeu	Asp-pip		1593.0	AA50	1592.5	[M-H] ⁻	0.83
pd125	MeAla	Leu	MeLeu	MeAla	Pro	Hph	MeLeu	MeIle	MeThr	MeAbu	MeLeu	Pro	Asp-pip		1543.0	AA50	1542.5	[M-H] ⁻	0.81
pd126	MeLeu	MePhe	MeAbu	MeGly	Thr	MeLeu	Leu	MeIle	MeVal	Pro	MeAla	MeVal	Asp-pip		1551.0	AA50	1550.5	[M-H] ⁻	0.84
pd127	MeAla	Leu	MeLeu	Ile	MePhe	Ala	MeLeu	MeIle	Val	MeGly	MeLeu	Leu	D-3-Abu		1420.0	AA50	1419.5	[M-H] ⁻	0.90
pd128	D-Ala	MeAla	MePhe	Val	MeLeu	Thr	MeGly	Abu	MeLeu	Ser(tBu)	MePhe	MeVal	D-3-Abu		1429.9	AA50	1429.4	[M-H] ⁻	0.79
pd129	MeGly	Ile	MeLeu	Abu	MeLeu	Thr	MeGly	Leu	MePhe	MeLeu	MeLeu	MeVal	D-3-Abu		1438.0	AA50	1437.5	[M-H] ⁻	0.85
pd130	D-MeAla	Val	MePhe	Ile	MeLeu	Thr	Pro	MeAla	MeLeu	Ser(tBu)	MePhe	MeVal	D-3-Abu		1498.0	AA50	1497.4	[M-H] ⁻	0.86
pd131	D-Val	MeLeu	Leu	MeVal	MeLeu	MeGly	Thr	MePhe	Ser(tBu)	MeAbu	MeAla	MeVal	D-3-Abu		1438.0	AA50	1437.4	[M-H] ⁻	0.86
pd132	gMeAbu	Ile	MeAbu	Ala	MePhe	MePhe	Val	MeLeu	MeThr	MeAla	Ile	MeVal	D-3-Abu		1441.9	AA50	1441.4	[M-H] ⁻	0.81

pd133	bMeAla	MeLeu	Ile	Pro	MePhe	MeAla	MeLeu	Hph	Ile	MeGly	Thr	MeLeu	D-3-Abu	AA50	1467.4	[M-H] ⁻	0.83
pd134	MeAla	MeLeu	MeLeu	Ile	MePhe	Val	MeLeu	MeLeu	Thr	MeGly	MeLeu	Leu	D-3-Abu	AA50	1422.0	[M-H] ⁻	0.84
pd135	MeLeu	Ile	MeLeu	Abu	MePhe	MeThr	Leu	Pro	MePhe	MeAbu	Leu	MeVal	D-3-Abu	AA50	1475.5	[M-H] ⁻	0.88
pd136	D-MeAla	MeVal	Pro	Ile	MePhe	Thr	MeLeu	MeAla	MeLeu	Ser(tBu)	MePhe	MeVal	D-3-Abu	AA50	1511.5	[M-H] ⁻	0.88
pd137	gMeAbu	MeAla	Ile	MeVal	MeAla	MePhe	Val	MeLeu	MeThr	MeAla	Hph	MeVal	D-3-Abu	AA50	1441.4	[M-H] ⁻	0.78
pd138	bMeAla	Hph	MeLeu	Pro	MePhe	MeAla	MeLeu	Ile	MeVal	bMeAla	Thr	MeLeu	D-3-Abu	AA50	1467.5	[M-H] ⁻	0.81
pd139	MeLeu	Ile	MeLeu	MeAbu	MeLeu	MeThr	Pro	Leu	MePhe	MeAbu	Ser(tBu)	MeVal	D-3-Abu	AA50	1519.5	[M-H] ⁻	0.88
pd140	MeGly	MeVal	MeLeu	MeAla	MeLeu	Thr	MeGly	Pro	MePhe	MeLeu	Ser(tBu)	MeVal	D-3-Abu	AA50	1393.9	[M-H] ⁻	0.79
pd141	bMeAla	Leu	MeLeu	Ile	MePhe	Hph	MeLeu	bAla	MeLeu	Pro	Gly	MeLeu	D-3-MeAbu	AA50	1465.5	[M-H] ⁻	0.87
pd142	bMeAla	Leu	MeLeu	Ile	MePhe	Hph	MeLeu	Ser(tBu)	MeLeu	Pro	MeGly	MeGly	D-3-MeAbu	AA50	1551.6	[M-H] ⁻	0.92
pd143	gMeAbu	MeLeu	Ile	MeGly	MePhe	MePhe	Ser(tBu)	MeLeu	MeAla	MeVal	MeLeu	Leu	D-3-MeAbu	AA50	1511.5	[M-H] ⁻	0.89
pd144	MeLeu	bMeAla	MeLeu	Ser(tBu)	MePhe	bMeAla	MePhe	MeLeu	MeGly	MeGly	MeLeu	Leu	D-3-MeAbu	AA50	1539.5	[M-H] ⁻	0.89
pd145	gMeAbu	MeLeu	MePhe	Gly	Ile	MePhe	Ser(tBu)	MeLeu	Thr	MeAla	Ile	Leu	D-3-MeAbu	AA50	1499.5	[M-H] ⁻	0.86
pd146	MeGly	MePhe	Thr	MeLeu	Val	MeLeu	Pro	MePhe	Abu	MeAla	Ser(tBu)	Val	D-3-MeAbu	AA50	1455.4	[M-H] ⁻	0.80
pd147	D-Val	MeLeu	Ala	MeVal	MeLeu	Gly	MeThr	MePhe	MePhe	MeAbu	MeVal	MeAla	D-3-MeAbu	AA50	1409.4	[M-H] ⁻	0.81
pd148	Ala	MeAla	MeLeu	Ile	MeLeu	Val	MeLeu	MePhe	Thr	MeGly	MeAla	MeLeu	D-3-MeAbu	AA50	1393.4	[M-H] ⁻	0.82
pd149	MeGly	MePhe	Thr	MeLeu	Val	MeLeu	Pro	MePhe	Abu	MeAla	MeAbu	Val	D-3-MeAbu	AA50	1411.9	[M-H] ⁻	0.76
pd150	D-MeAla	MeAla	MePhe	Val	MeLeu	MeThr	MeGly	Ala	MeLeu	Ser(tBu)	MePhe	MeAbu	D-3-MeAbu	AA50	1443.4	[M-H] ⁻	0.79
pd151	D-Ala	MeAla	Ile	MePhe	MeAla	MeLeu	MeGly	Ala	MeLeu	Ser(tBu)	MePhe	Val	MeAsp-pip	AA50	1553.0	[M-H] ⁻	0.86
pd152	MeAla	Leu	MeLeu	MePhe	Ile	Ala	MePhe	MeLeu	Gly	MeLeu	Leu	MeAla	MeAsp-pip	AA50	1537.0	[M-H] ⁻	0.86
pd153	D-Ala	MeLeu	Ile	MePhe	MeAla	MeLeu	MeGly	Ala	MeLeu	MeAla	Val	MePhe	MeAsp-pip	AA50	1495.0	[M-H] ⁻	0.81
pd154	bMeAla	MeLeu	Ile	MePhe	nBuGly	MePhe	Ser(tBu)	MeLeu	bAla	MeAla	MeLeu	Leu	MeAsp-pip	AA50	1622.6	[M-H] ⁻	0.90
pd155	MeAla	Leu	MeLeu	Ser(tBu)	MePhe	Ala	MePhe	MeLeu	Gly	MeLeu	MeVal	MeAla	MeAsp-pip	AA50	1566.5	[M-H] ⁻	0.90
pd156	MeGly	MeLeu	Ile	MeLeu	Val	MePhe	Leu	MePhe	MeAla	MeVal	MeAla	Gly	MeAsp-pip	AA50	1509.0	[M-H] ⁻	0.86
pd157	D-Val	MeLeu	Val	MeVal	MeLeu	MeVal	MeGly	MeLeu	MeAla	MePhe	Leu	MeAla	MeAsp-pip	AA50	1517.0	[M-H] ⁻	0.87
pd158	D-Val	MePhe	MeVal	Thr	MeLeu	Leu	MeGly	MeLeu	Ser(tBu)	Ala	MePhe	MeAla	MeAsp-pip	AA50	1569.0	[M-H] ⁻	0.84
pd159	MeLeu	Ser(tBu)	MeVal	Ile	Pro	nBuGly	MeLeu	Thr	MeLeu	Pro	Hph	Ile	MeAsp-pip	AA50	1629.1	[M-H] ⁻	0.89
pd160	MeGly	Ile	MeLeu	Hph	MeLeu	MeAla	MeVal	Leu	MePhe	Thr	MeLeu	Leu	MeAsp-pip	AA50	1608.5	[M-H] ⁻	0.92
pd161	D-MeVal	MeLeu	Hph	MeVal	MeLeu	Thr	MeLeu	MeLeu	Ser(tBu)	MePhe	MeVal	Leu	MeAsp-pip	AA50	1681.1	[M-H] ⁻	0.94
pd162	D-Val	MePhe	MeVal	Thr	MeLeu	Abu	MeGly	MeLeu	Ser(tBu)	MeAla	MePhe	MeGly	MeAsp-pip	AA50	1541.0	[M-H] ⁻	0.83
pd163	MeAla	Leu	MeLeu	MePhe	Abu	MeGly	Leu	MeLeu	MeThr	MePhe	Ile	MeLeu	MeAsp-pip	AA50	1595.0	[M-H] ⁻	0.84
pd164	MeLeu	MeVal	Pro	Ile	MePhe	MeGly	MeLeu	Thr	Pro	Ala	MeLeu	Leu	MeAsp-pip	AA50	1514.5	[M-H] ⁻	0.81
pd165	bMeGly	Ile	MeLeu	Hph	MeLeu	MeAla	MeVal	Leu	MeLeu	Thr	MeLeu	MePhe	MeAsp-pip	AA50	1622.6	[M-H] ⁻	0.94
pd166	bMeAla	Leu	MeLeu	Ile	MePhe	MeLeu	MePhe	Ser(tBu)	MeLeu	MeThr	MeAla	MeLeu	MeAsp-pip	AA50	1680.7	[M-H] ⁻	0.94
pd167	MeAla	MeLeu	Thr	MePhe	Abu	MeLeu	MeLeu	MePhe	MeLeu	MeGly	MeLeu	MeLeu	MeAsp-pip	AA50	1609.1	[M-H] ⁻	0.91
pd168	MeGly	MePhe	Ile	MeLeu	MeThr	nBuGly	MePhe	Leu	MeVal	MeAla	Ser(tBu)	MeAbu	MeAsp-pip	AA50	1610.5	[M-H] ⁻	0.87

[表5]

分析条件	AA50
装置	Acquity UPLC/SQD2
カラム (i.D.x長さ)(mm)	Ascentis Express C18 (2.1x50)
移動相	A) 10mM AA,water B) methanol
勾配(A/B)	50/50 (initial) → 0/100 (0.7分間) → 0/100 (0.7分間)
流速 (mL/分)	0.9
カラム温度(°C)	35
波長	210-400nm PDA total

[0264] 実施例 3. 環状ペプチド化合物の代謝安定性試験

実施例 2 において合成した 1 3 又は 1 4 残基のアミノ酸からなる環状ペプチド化合物の代謝安定性を肝ミクロソーム中安定性試験より評価した。

[0265] NADPH 存在下および非存在下、マウス肝ミクロソーム（雄、Corning社、USA）を 100mM リン酸緩衝液（pH 7.4）を用いて 0.5mg protein/mL になるよう調製したミクロソーム溶液と化合物を 1uM の濃度にて 22 分間、44 分間、66 分間代謝反応させた。経時的にアセトニトリルによる除タンパク処理を施し、LCMS を用いて残存する未変化体量を分析し、肝固有クリアランス（CL_{h, int}）を算出した（表 6）。

[0266]

[表6]

ID	Mouse Hepatic Microsome CL _h ,int ($\mu\text{L}/\text{min}/\text{mg}$ Protein)	
	NADPH(+)	NADPH(-)
pd001	34.2	29.6
pd002	34.2	30.1
pd003	17.9	19.0
pd004	36.2	27.4
pd005	1.4	1.1
pd006	51.4	30.0
pd007	40.8	34.9
pd008	13.4	11.8
pd009	38.9	42.4
pd010	59.7	27.8
pd011	27.3	22.9
pd012	41.3	20.1
pd013	12.1	6.1
pd014	31.1	33.0
pd015	32.5	26.2
pd016	49.9	32.9
pd017	39.4	40.1
pd018	42.3	34.1
pd019	34.7	24.9
pd020	33.3	24.9
pd021	37.1	36.3
pd022	44.4	36.4
pd023	43.3	26.2
pd024	16.6	20.0
pd025	14.8	15.8
pd026	63.5	29.9
pd027	42.4	31.1
pd028	37.2	22.1
pd029	38.2	36.6
pd030	33.7	28.5
pd031	40.3	32.3
pd032	28.9	28.7
pd033	47.8	34.1
pd034	46.8	36.0
pd035	28.3	27.5
pd036	35.4	25.7

ID	Mouse Hepatic Microsome CL _h ,int ($\mu\text{L}/\text{min}/\text{mg}$ Protein)	
	NADPH(+)	NADPH(-)
pd037	18.3	17.7
pd038	12.0	18.1
pd039	21.4	15.6
pd040	24.8	22.3
pd041	25.1	23.5
pd042	32.3	18.1
pd043	40.7	34.8
pd044	54.3	33.1
pd045	43.9	26.4
pd046	6.2	5.4
pd047	41.4	30.0
pd048	30.2	20.7
pd049	30.6	29.1
pd050	13.2	15.9
pd051	24.6	28.8
pd052	28.0	32.0
pd053	45.7	24.1
pd054	32.5	25.1
pd055	27.1	15.0
pd056	55.9	30.2
pd057	50.4	44.8
pd058	16.3	14.8
pd059	12.7	18.6
pd060	32.4	38.6
pd061	39.0	39.7
pd062	39.0	24.1
pd063	47.5	33.7
pd064	41.4	43.3
pd065	41.7	40.2
pd066	38.9	36.4
pd067	17.0	10.8
pd068	15.7	12.5
pd069	16.5	20.5
pd070	15.0	14.6
pd071	13.3	6.2
pd072	22.4	16.6

ID	Mouse Hepatic Microsome CL _h ,int	
	(μL/min/mg Protein)	
	NADPH(+)	NADPH(-)
pd073	24.3	2.9
pd074	26.9	26.9
pd075	35.6	42.8
pd076	10.9	18.2
pd077	40.0	40.3
pd078	28.3	22.9
pd079	26.1	38.4
pd080	29.3	27.8
pd081	18.4	5.7
pd082	32.6	38.5
pd083	11.4	7.3
pd084	39.0	37.8
pd085	26.9	28.9
pd086	20.1	20.0
pd087	31.8	29.0
pd088	20.9	24.2
pd089	29.0	29.8
pd090	45.0	23.9
pd091	39.4	36.1
pd092	22.0	26.3
pd093	26.8	20.4
pd094	22.5	16.7
pd095	25.6	29.2
pd096	18.8	18.2
pd097	20.4	18.8
pd098	44.5	37.8
pd099	30.3	27.8
pd100	39.6	28.4
pd101	41.1	31.5
pd102	32.9	25.1
pd103	25.5	21.3
pd104	36.0	36.2
pd105	28.9	22.7
pd106	32.7	37.4
pd107	36.3	31.5
pd108	39.9	35.5

ID	Mouse Hepatic Microsome CL _h ,int	
	(μL/min/mg Protein)	
	NADPH(+)	NADPH(-)
pd109	40.6	30.3
pd110	38.5	30.5
pd111	18.7	28.4
pd112	30.5	21.2
pd113	24.4	16.4
pd114	35.6	29.2
pd115	24.9	12.3
pd116	19.2	14.9
pd117	25.9	14.4
pd118	31.2	19.8
pd119	41.2	34.2
pd120	25.8	18.4
pd121	21.9	18.2
pd122	11.1	9.6
pd123	31.0	36.0
pd124	16.9	16.6
pd125	16.7	18.1
pd126	23.3	18.2
pd127	41.6	28.0
pd128	18.0	11.3
pd129	76.5	19.7
pd130	22.7	6.8
pd131	17.8	13.5
pd132	16.2	7.7
pd133	25.6	23.6
pd134	38.5	11.4
pd135	39.5	28.4
pd136	27.2	28.8
pd137	14.1	7.5
pd138	39.3	11.1
pd139	32.3	28.2
pd140	10.5	10.3
pd141	31.8	21.1
pd142	31.7	33.9
pd143	39.3	21.0
pd144	41.0	34.0

ID	Mouse Hepatic Microsome CL _H ,int (μ L/min/mg Protein)		ID	Mouse Hepatic Microsome CL _H ,int (μ L/min/mg Protein)	
	NADPH(+)	NADPH(-)		NADPH(+)	NADPH(-)
pd145	35.5	35.7	pd157	31.7	24.9
pd146	20.3	14.1	pd158	19.3	13.7
pd147	13.1	14.8	pd159	49.5	42.0
pd148	25.2	16.8	pd160	21.5	22.3
pd149	10.8	1.5	pd161	35.3	37.0
pd150	15.2	4.2	pd162	12.5	16.3
pd151	29.6	22.4	pd163	28.2	36.5
pd152	40.2	32.5	pd164	14.6	10.0
pd153	15.1	26.0	pd165	40.9	27.2
pd154	41.7	34.3	pd166	32.4	34.0
pd155	48.8	37.2	pd167	35.9	33.0
pd156	34.1	23.7	pd168	21.9	21.8

[0267] 検証した 13 又は 14 残基のアミノ酸からなる環状ペプチド化合物はいずれも代謝安定性が高いことが示された。

[0268] 実施例 4. 環状ペプチド化合物の膜透過性試験

実施例 2 において合成した 13 又は 14 残基のアミノ酸からなる環状ペプチド化合物の膜透過性を、以下に示す WO 2018/225864 において開示された Caco-2 細胞を用いた膜透過性の測定方法に従って評価した。

[0269] Apical 側の培地として 1% DMSO を含む FASSIF と DMEM の混合培地を、Basal 側の培地として DMEM を添加し、5% CO₂、37℃、80 rpm の条件で、Caco-2 細胞とペプチド化合物を 20～24 時間プレインキュベートする。その後、Apical 側及び Basal 側の培地を吸引除去・洗浄し、Apical 側の 1% DMSO を含む FASSIF/HBSS 緩衝液 (1% DMSO) (pH 6.0) にペプチド化合物を含ませ、Basal 側に 4% BSA を含む HBSS 緩衝液 (pH 7.4) を添加し、膜透過性の測定を開始する。各 well は 5% CO₂、37℃、80 rpm で振盪し、開始約 180 分後に Basal 側のサンプルを採取する。LCMS で該サンプル中のペプチド化合物量を測定し、その透過量から膜透

過係数を算出した（表 7）。透過量から膜透過係数（ P_{app} ）を算出する際には、以下の数式が利用できる。

[数2]

$$P_{app} = \frac{dQ}{dt} \times \frac{1}{C_1(0) \times S}$$

[0270] dQ/dt は薬物の透過速度（単位時間あたりに Basal 側に出現する薬物量）、 $C_1(0)$ は Apical 側の薬物添加濃度、 S は細胞全体の表面積を表す。

[0271]

[表7]

ID	Caco2 P _{app} (10 ⁻⁶ cm/sec)	ID	Caco2 P _{app} (10 ⁻⁶ cm/sec)	ID	Caco2 P _{app} (10 ⁻⁶ cm/sec)
pd001	0.94	pd037	0.26	pd073	<0.12
pd002	0.39	pd038	0.04	pd074	0.22
pd003	0.27	pd039	0.03	pd075	0.17
pd004	0.82	pd040	0.17	pd076	<0.10
pd005	0.05	pd041	0.13	pd077	0.32
pd006	<0.11	pd042	0.59	pd078	2.75
pd007	0.11	pd043	0.16	pd079	0.12
pd008	0.04	pd044	0.83	pd080	0.25
pd009	0.13	pd045	0.32	pd081	0.02
pd010	0.72	pd046	0.06	pd082	0.03
pd011	0.11	pd047	0.16	pd083	0.04
pd012	4.30	pd048	0.28	pd084	0.21
pd013	0.04	pd049	0.32	pd085	0.17
pd014	<0.11	pd050	0.54	pd086	0.06
pd015	0.04	pd051	0.21	pd087	<0.07
pd016	0.47	pd052	1.01	pd088	0.11
pd017	0.09	pd053	1.64	pd089	<0.11
pd018	0.11	pd054	0.49	pd090	<0.12
pd019	<0.11	pd055	0.12	pd091	0.11
pd020	<0.11	pd056	0.27	pd092	0.09
pd021	0.15	pd057	1.16	pd093	<0.14
pd022	0.15	pd058	0.72	pd094	<0.13
pd023	0.03	pd059	0.52	pd095	<0.10
pd024	0.30	pd060	0.63	pd096	0.51
pd025	0.05	pd061	0.51	pd097	0.54
pd026	0.58	pd062	<0.11	pd098	0.57
pd027	0.02	pd063	0.03	pd099	0.41
pd028	0.03	pd064	0.04	pd100	<0.12
pd029	0.02	pd065	0.54	pd101	0.16
pd030	0.04	pd066	0.33	pd102	0.09
pd031	0.04	pd067	<0.12	pd103	0.08
pd032	0.72	pd068	0.27	pd104	0.20
pd033	0.03	pd069	<0.08	pd105	0.11
pd034	0.27	pd070	0.03	pd106	0.24
pd035	<0.11	pd071	0.22	pd107	0.81
pd036	0.28	pd072	<0.13	pd108	0.03

ID	Caco2 P_{app} (10^{-6} cm/sec)	ID	Caco2 P_{app} (10^{-6} cm/sec)	ID	Caco2 P_{app} (10^{-6} cm/sec)
pd109	0.83	pd129	0.71	pd149	0.20
pd110	0.43	pd130	3.88	pd150	0.29
pd111	0.04	pd131	2.18	pd151	0.39
pd112	0.35	pd132	0.36	pd152	1.02
pd113	0.20	pd133	0.53	pd153	0.20
pd114	0.16	pd134	0.75	pd154	0.82
pd115	0.09	pd135	1.95	pd155	0.87
pd116	0.19	pd136	0.53	pd156	0.39
pd117	0.17	pd137	0.55	pd157	1.42
pd118	0.46	pd138	0.23	pd158	0.44
pd119	0.50	pd139	1.24	pd159	0.64
pd120	0.69	pd140	0.31	pd160	0.06
pd121	1.02	pd141	0.24	pd161	0.09
pd122	0.06	pd142	0.71	pd162	0.51
pd123	0.56	pd143	4.73	pd163	0.04
pd124	0.13	pd144	1.28	pd164	0.06
pd125	0.13	pd145	0.05	pd165	0.10
pd126	0.88	pd146	0.20	pd166	0.13
pd127	0.36	pd147	0.26	pd167	0.23
pd128	0.05	pd148	0.12	pd168	1.11

[0272] 検証した13又は14残基のアミノ酸からなる環状ペプチド化合物には、膜透過性が高いものから低いものまで様々な化合物が存在することが示された。

[0273] 実施例5. 環状ペプチド化合物の各種propertyと膜透過性の解析

実施例3により示したように、検証した13又は14残基のアミノ酸からなる環状ペプチド化合物は全て代謝安定性が高いことがわかったため、ドラッグライクネスの指標として実施例4により示した膜透過性に着目して、環状ペプチド化合物の各種propertyとの関係を解析した。

[0274] 解析に用いた各環状ペプチドの膜透過性の値、及び各種propertyを表8に示した。

[表8]

ID	Caco2 P_{app} (10^{-6} cm/sec)	totalAA	n-alkyl number	cLogP	totalAB	cLogP/ totalAB
pd001	0.94	14	10	16.1	15	1.07
pd002	0.39	14	10	18.2	15	1.22
pd003	0.27	14	10	15.9	15	1.06
pd004	0.82	14	10	17.3	15	1.16
pd005	0.05	14	10	13.4	15	0.89
pd006	<0.11	14	7	16.2	14	1.16
pd007	0.11	14	7	17.1	14	1.22
pd008	0.04	14	7	14.0	14	1.00
pd009	0.13	14	7	15.9	14	1.14
pd010	0.72	14	7	14.4	14	1.03
pd011	0.11	14	7	13.9	14	0.99
pd012	4.30	14	8	15.4	14	1.10
pd013	0.04	14	7	13.4	15	0.89
pd014	<0.11	14	7	17.2	15	1.15
pd015	0.04	14	7	18.0	15	1.20
pd016	0.47	14	8	16.5	15	1.10
pd017	0.09	14	8	15.2	15	1.01
pd018	0.11	14	8	18.4	15	1.23
pd019	<0.11	14	7	14.3	15	0.95
pd020	<0.11	14	7	15.8	15	1.05
pd021	0.15	14	7	16.4	15	1.09
pd022	0.15	14	7	14.9	15	0.99
pd023	0.03	14	7	14.6	15	0.98
pd024	0.30	14	7	14.1	15	0.94
pd025	0.05	14	7	13.8	15	0.92
pd026	0.58	14	7	15.2	15	1.02
pd027	0.02	14	7	17.7	15	1.18
pd028	0.03	14	7	15.4	15	1.03
pd029	0.02	14	7	16.7	15	1.11
pd030	0.04	14	7	14.9	15	0.99
pd031	0.04	14	7	16.7	15	1.11
pd032	0.72	14	8	17.8	15	1.19
pd033	0.03	14	8	19.0	15	1.26
pd034	0.27	14	8	15.9	15	1.06
pd035	<0.11	14	8	19.4	15	1.29
pd036	0.28	14	8	17.4	15	1.16

ID	Caco2 P _{app} (10 ⁻⁶ cm/sec)	totalAA	n-alkyl number	cLogP	totalAB	cLogP/ totalAB
pd037	0.26	14	8	15.0	15	1.00
pd038	0.04	14	8	13.5	15	0.90
pd039	0.03	14	8	15.0	15	1.00
pd040	0.17	14	9	17.0	15	1.13
pd041	0.13	14	9	15.6	15	1.04
pd042	0.59	14	9	15.4	15	1.03
pd043	0.16	14	9	18.5	15	1.23
pd044	0.83	14	9	16.7	15	1.11
pd045	0.32	14	9	16.7	15	1.11
pd046	0.06	14	9	13.7	15	0.91
pd047	0.16	14	10	17.7	15	1.18
pd048	0.28	14	10	16.2	15	1.08
pd049	0.32	14	8	16.1	14	1.15
pd050	0.54	14	8	14.3	14	1.02
pd051	0.21	14	8	15.1	14	1.08
pd052	1.01	14	8	16.5	14	1.18
pd053	1.64	14	8	17.0	14	1.22
pd054	0.49	14	9	17.0	14	1.21
pd055	0.12	14	9	13.5	14	0.97
pd056	0.27	14	9	16.2	14	1.16
pd057	1.16	14	9	18.1	14	1.30
pd058	0.72	14	10	16.2	14	1.15
pd059	0.52	14	10	14.6	14	1.04
pd060	0.63	14	10	16.8	14	1.20
pd061	0.51	14	10	18.8	14	1.34
pd062	<0.11	14	7	13.6	14	0.97
pd063	0.03	14	7	15.5	14	1.11
pd064	0.04	14	8	17.5	14	1.25
pd065	0.54	14	9	17.6	14	1.26
pd066	0.33	14	10	18.7	14	1.34
pd067	<0.12	14	8	14.7	14	1.05
pd068	0.27	14	9	15.2	14	1.09
pd069	<0.08	14	9	15.3	14	1.09
pd070	0.03	14	9	14.1	14	1.01
pd071	0.22	14	10	15.0	14	1.07
pd072	<0.13	14	10	15.0	14	1.07

ID	Caco2 P _{app} (10 ⁻⁶ cm/sec)	totalAA	n-alkyl number	cLogP	totalAB	cLogP/ totalAB
pd073	<0.12	14	10	15.3	14	1.09
pd074	0.22	14	8	17.2	15	1.15
pd075	0.17	14	8	17.8	15	1.19
pd076	<0.10	14	9	15.5	15	1.03
pd077	0.32	14	9	18.0	15	1.20
pd078	2.75	14	9	17.3	15	1.15
pd079	0.12	14	9	18.8	15	1.26
pd080	0.25	14	9	16.9	15	1.12
pd081	0.02	14	10	15.2	15	1.01
pd082	0.03	14	10	19.6	15	1.31
pd083	0.04	14	10	16.0	15	1.07
pd084	0.21	14	10	19.5	15	1.30
pd085	0.17	14	10	17.5	15	1.17
pd086	0.06	14	8	16.0	15	1.06
pd087	<0.07	14	8	17.0	15	1.13
pd088	0.11	14	8	15.6	15	1.04
pd089	<0.11	14	9	19.6	15	1.31
pd090	<0.12	14	9	14.3	15	0.95
pd091	0.11	14	9	17.9	15	1.19
pd092	0.09	14	9	19.7	15	1.31
pd093	<0.14	14	10	20.3	15	1.35
pd094	<0.13	14	10	14.0	15	0.93
pd095	<0.10	14	10	19.4	15	1.30
pd096	0.51	14	10	16.8	15	1.12
pd097	0.54	13	7	15.7	14	1.12
pd098	0.57	13	8	16.0	14	1.15
pd099	0.41	13	8	16.9	14	1.21
pd100	<0.12	13	7	18.4	14	1.32
pd101	0.16	13	7	15.5	14	1.10
pd102	0.09	13	7	14.8	14	1.05
pd103	0.08	13	7	18.1	14	1.29
pd104	0.20	13	7	16.2	14	1.16
pd105	0.11	13	7	13.9	14	0.99
pd106	0.24	13	7	15.2	14	1.08
pd107	0.81	13	8	16.8	14	1.20
pd108	0.03	13	8	18.4	14	1.31

ID	Caco2 P _{app} (10 ⁻⁶ cm/sec)	totalAA	n-alkyl number	cLogP	totalAB	cLogP/ totalAB
pd109	0.83	13	8	14.3	14	1.02
pd110	0.43	13	8	14.9	14	1.07
pd111	0.04	13	8	18.8	14	1.34
pd112	0.35	13	8	14.5	14	1.03
pd113	0.20	13	8	13.1	14	0.93
pd114	0.16	13	8	16.9	14	1.21
pd115	0.09	13	8	14.0	14	1.00
pd116	0.19	13	9	16.0	14	1.14
pd117	0.17	13	9	14.1	14	1.00
pd118	0.46	13	9	14.4	14	1.03
pd119	0.50	13	9	17.0	14	1.21
pd120	0.69	13	9	13.7	14	0.98
pd121	1.02	13	9	15.7	14	1.12
pd122	0.06	13	9	14.2	14	1.01
pd123	0.56	13	10	17.2	14	1.23
pd124	0.13	13	10	15.3	14	1.09
pd125	0.13	13	10	16.3	14	1.16
pd126	0.88	13	10	15.7	14	1.12
pd127	0.36	13	7	17.0	13	1.31
pd128	0.05	13	7	13.0	13	1.00
pd129	0.71	13	7	14.4	13	1.11
pd130	3.88	13	8	14.8	13	1.14
pd131	2.18	13	8	14.6	13	1.12
pd132	0.36	13	8	13.4	13	1.03
pd133	0.53	13	8	14.4	13	1.11
pd134	0.75	13	8	15.6	13	1.20
pd135	1.95	13	8	17.0	13	1.31
pd136	0.53	13	9	15.5	13	1.19
pd137	0.55	13	9	13.3	13	1.03
pd138	0.23	13	9	13.7	13	1.06
pd139	1.24	13	9	17.2	13	1.32
pd140	0.31	13	10	14.9	13	1.15
pd141	0.24	13	8	15.1	13	1.16
pd142	0.71	13	9	17.6	13	1.35
pd143	4.73	13	10	15.9	13	1.22
pd144	1.28	13	10	16.7	13	1.29

ID	Caco2 P _{app} (10 ⁻⁶ cm/sec)	totalAA	n-alkyl number	cLogP	totalAB	cLogP/ totalAB
pd145	0.05	13	7	13.3	13	1.02
pd146	0.20	13	8	13.2	13	1.01
pd147	0.26	13	9	13.8	13	1.06
pd148	0.12	13	9	14.8	13	1.14
pd149	0.20	13	9	13.5	13	1.04
pd150	0.29	13	10	13.9	13	1.07
pd151	0.39	13	8	16.2	14	1.16
pd152	1.02	13	8	17.2	14	1.23
pd153	0.20	13	9	15.9	14	1.14
pd154	0.82	13	9	17.0	14	1.22
pd155	0.87	13	9	16.8	14	1.20
pd156	0.39	13	9	16.3	14	1.16
pd157	1.42	13	10	18.0	14	1.28
pd158	0.44	13	8	15.0	14	1.07
pd159	0.64	13	8	17.4	14	1.24
pd160	0.06	13	8	18.0	14	1.29
pd161	0.09	13	9	19.0	14	1.36
pd162	0.51	13	9	14.2	14	1.02
pd163	0.04	13	9	17.8	14	1.27
pd164	0.06	13	9	14.9	14	1.07
pd165	0.10	13	9	18.7	14	1.33
pd166	0.13	13	10	18.4	14	1.32
pd167	0.23	13	10	18.4	14	1.31
pd168	1.11	13	10	17.1	14	1.22

[0275] 表8中、total AA（総アミノ酸数、total amino acid）は各環状ペプチドを構成するアミノ酸残基の数を表し、N-alkylnumberは主鎖アミドの内、N-アルキル化されているアミドの数を表す。

[0276] cLogPはコンピューターで計算した分配係数であって、Daylight Chemical Information Systems, Inc.社のDaylight Version4.95を用いて計算した。total AB（総アミド結合数、totalamide bond）は各化合物に含まれる主鎖、及び側鎖のアミド結合の数であり、例えば本実施例中に示す環状ペプチドでは表9に示すいずれかのパターンになる。

[表9]

パターン	total AA	C末端アミノ酸	total AB
1	13	D-3-Abu または D-3-MeAbu	13
2	13	Asp-pip または MeAsp-pip	14
3	14	D-3-Abu または D-3-MeAbu	14
4	14	Asp-pip または MeAsp-pip	15

[0277] cLogP/total ABは、cLogPをtotal ABで除した値を表し、本実施例中ではペプチド化合物の脂溶性の指標として用いた。

[0278] 実施例5-1. N-alkyl数と膜透過性の解析

環状ペプチド化合物のN-alkyl数と膜透過性との関係を解析した（表10）。

[表10]

N-alkyl number	Caco2 P _{app} (10 ⁻⁶ cm/sec)						total compounds
	1.0≤P _{app}		0.4≤P _{app} <1.0		P _{app} <0.4		
7	0 cpds	0%	4 cpds	11%	32 cpds	89%	36 cpds
8	7 cpds	15%	12 cpds	25%	29 cpds	60%	48 cpds
9	4 cpds	8%	13 cpds	27%	31 cpds	65%	48 cpds
10	4 cpds	11%	9 cpds	25%	23 cpds	64%	36 cpds

[0279] N-alkyl数が7である化合物の場合、検証した36化合物のうち4化合物がP_{app} ≥ 0.4 × 10⁻⁶ cm/秒を示したが、P_{app} ≥ 1.0 × 10⁻⁶ cm/秒を示す化合物は無かった。N-alkyl数が8である化合物の場合、検証した48化合物のうち19化合物がP_{app} ≥ 0.4 × 10⁻⁶ cm/秒を示し、さらにそのうち7化合物がP_{app} ≥ 1.0 × 10⁻⁶ cm/秒を示した。N-alkyl数が9である化合物の場合、検証した48化合物のうち17化合物がP_{app} ≥ 0.4 × 10⁻⁶ cm/秒を示し、さらにそのうち4化合物がP_{app} ≥ 1.0 × 10⁻⁶ cm/秒を示した。N-alkyl数が10である化合物の場合、検証した36化合物のうち13化合物がP_{app} ≥ 0.4 × 10⁻⁶ cm/秒を示し、さらにそのうち4化合物がP_{app} ≥ 1.0 × 10⁻⁶ cm/秒を示した。

[0280] 以上より、N-alkyl数が7である化合物はP_{app} ≥ 0.4 × 10⁻⁶ c

m/秒を達成できること、及びN-a l k y l数が8以上である化合物は $P_{app} \geq 1.0 \times 10^{-6}$ cm/秒を達成できることが示された。また、 $P_{app} \geq 0.4 \times 10^{-6}$ cm/秒を達成する化合物の割合は、N-a l k y l数が7である化合物よりもN-a l k y l数が8以上である化合物のほうが高いことが示された。

[0281] 実施例5-2. 脂溶性と膜透過性の解析

環状ペプチド化合物の脂溶性と膜透過性の関係を解析した(表11)。本実施例中では脂溶性の指標としてcLogP/totalABを用いた。

[0282] [表11]

cLogP/totalAB	Caco2 P_{app} (10^{-6} cm/sec)						total compounds
	$1.0 \leq P_{app}$		$0.4 \leq P_{app} < 1.0$		$P_{app} < 0.4$		
cLogP/totalAB < 1.0	0 cpds	0%	1 cpds	5%	19 cpds	95%	20 cpds
$1.0 \leq \text{cLogP/totalAB} < 1.1$	1 cpds	2%	13 cpds	25%	38 cpds	73%	52 cpds
$1.1 \leq \text{cLogP/totalAB}$	14 cpds	15%	24 cpds	25%	58 cpds	60%	96 cpds

[0283] 化合物のcLogP/totalABがcLogP/totalAB < 1.0である場合、検証した20化合物のうち1化合物が $P_{app} \geq 0.4 \times 10^{-6}$ cm/秒を示したが、 $P_{app} \geq 1.0 \times 10^{-6}$ cm/秒を示す化合物は無かった。化合物のcLogP/totalABが $1.0 \leq \text{cLogP/totalAB} < 1.1$ である場合、検証した52化合物のうち14化合物が $P_{app} \geq 0.4 \times 10^{-6}$ cm/秒を示し、さらにそのうち1化合物が $P_{app} \geq 1.0 \times 10^{-6}$ cm/秒を示した。化合物のcLogP/totalABが $1.1 \leq \text{cLogP/totalAB}$ である場合、検証した96化合物のうち39化合物が $P_{app} \geq 0.4 \times 10^{-6}$ cm/秒を示し、さらにそのうち14化合物が $P_{app} \geq 1.0 \times 10^{-6}$ cm/秒を示した。

[0284] 以上より、cLogP/totalAB < 1.0である化合物は $P_{app} \geq 0.4 \times 10^{-6}$ cm/秒を達成することが困難であること、 $1.0 \leq \text{cLogP/totalAB} < 1.1$ である化合物は $P_{app} \geq 1.0 \times 10^{-6}$ cm/秒を達成できること、及び $1.1 \leq \text{cLogP/totalAB}$ である化合物は $P_{app} \geq 1.0 \times 10^{-6}$ cm/秒を達成できることが示された。また、 $P_{app} \geq 0.4 \times 10^{-6}$ cm/秒を達成する化合物の割合は、cLogP/totalAB < 1.1である化合物より $1.1 \leq \text{cLogP/totalAB}$ である化合物のほうが高いことが示された。

[0285] 実施例 5-3. MeLeu と膜透過性の解析

各環状ペプチド化合物について、MeLeu の数と膜透過性の関係を解析した (表 12)。実施例 5-2 より、 $cLogP/totalAB < 1.0$ である化合物の場合は、 $P_{app} \geq 0.4 \times 10^{-6} \text{ cm/秒}$ を達成することが困難であるため、 $cLogP/totalAB \geq 1.0$ の化合物のみにおいて解析した。

[0286] [表12]

MeLeuの数	Caco2 P_{app} (10^{-6} cm/sec)						total compounds
	$1.0 \leq P_{app}$		$0.4 \leq P_{app} < 1.0$		$P_{app} < 0.4$		
1	1 cpds	13%	4 cpds	50%	3 cpds	38%	8 cpds
2	5 cpds	7%	15 cpds	20%	55 cpds	73%	75 cpds
3	9 cpds	14%	18 cpds	29%	36 cpds	57%	63 cpds
4	0 cpds	0%	0 cpds	0%	4 cpds	100%	4 cpds

[0287] MeLeu の数が 1 個である化合物の場合は、検証した 8 化合物のうち 5 化合物が $P_{app} \geq 0.4 \times 10^{-6} \text{ cm/秒}$ を示し、MeLeu の数が 2 個である化合物の場合は、検証した 75 化合物のうち 20 化合物が $P_{app} \geq 0.4 \times 10^{-6} \text{ cm/秒}$ を示し、MeLeu の数が 3 個である化合物の場合は、検証した 63 化合物のうち 27 化合物が $P_{app} \geq 0.4 \times 10^{-6} \text{ cm/秒}$ を示した。一方で MeLeu の数が 4 個である化合物の場合は、検証した 4 化合物のうち $P_{app} \geq 1.0 \times 10^{-6} \text{ cm/秒}$ を示す化合物はなかった。

[0288] 実施例 6. 環状ペプチド化合物のマウス PK 試験

実施例 3~5 により、13 又は 14 残基のアミノ酸からなる環状ペプチド化合物のドラッグライクネスが特に良好であるための条件は、N-alkyl 数が 8 以上であり、かつ $cLogP/totalAB$ が 1.1 以上であることを明らかにした。この条件を満たす 4 種のペプチドをマウスに静脈内又は経口投与した後の血漿中濃度推移を評価した。

[0289] 雄性マウス (C57BL/6J、10 週齢、日本チャールス・リバー株式会社製：1 群 3 匹) に化合物を 1 mg/kg の用量で静脈内投与、又は 50 mg/kg の用量で経口投与し、投与後 24 時間まで経時的に頸静脈より血液を採取した。採取した血液は、抗凝固剤としてヘパリン処理済みのチューブに分注した。遠心分離により血液から血漿を分離し、アセトニトリルによ

る除タンパク処理後、LC/MS/MS装置（XEVO TQ-XS、Waters社製）を用いて血漿中濃度を測定した。得られた血漿中濃度推移より、解析ソフトPhoenix WinNonlin 6.1（Pharsight Corporation社製、USA）を用いて、ノンコンパートメント解析により、以下に示す薬物動態パラメータを算出した（表13、表14）。

[0290] AUC_{inf} ： 血漿中濃度－時間曲線下面積（ $ng \cdot 時間 / mL$ ）

CL ： 全身クリアランス（ $mL / 分 / kg$ ）

V_{ss} ： 定常状態分布容積（ L / kg ）

$t_{1/2}$ ： 消失半減期（時間）

C_{max} ： 最高血漿中濃度（ ng / mL ）

T_{max} ： 最高血漿中濃度到達時間（時間）

F ： バイオアベイラビリティ（%）

[0291] [表13]

静脈内投与時の薬物動態パラメータ

ID	totalAA	AUCinf (ng·h/mL)	CL (mL/min/kg)	Vss (L/kg)	t1/2 (h)
pd057	14	1200	14	11	12
pd065	14	8700	1.9	0.57	5.4
pd135	13	10000	1.7	0.81	6.4
pd144	13	3500	4.9	1.6	5.3

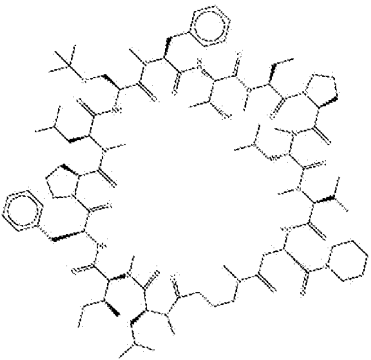
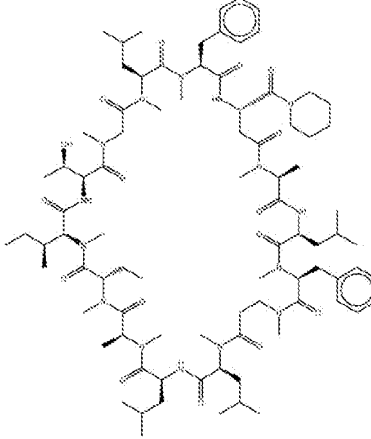
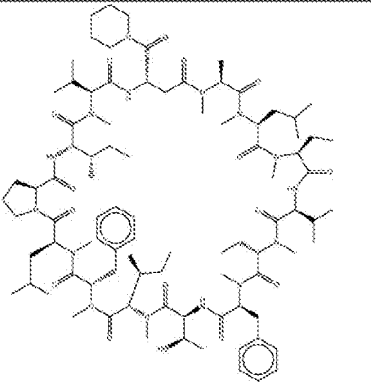
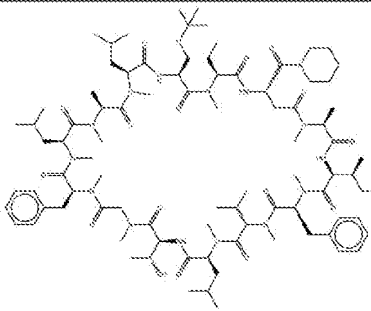
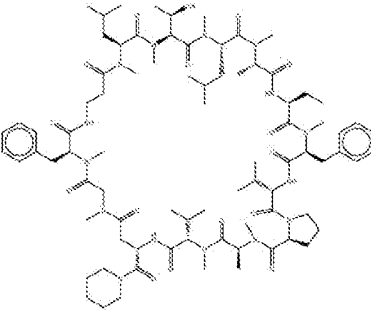
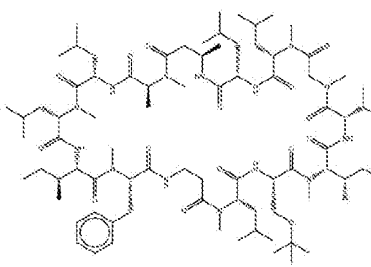
[0292] [表14]

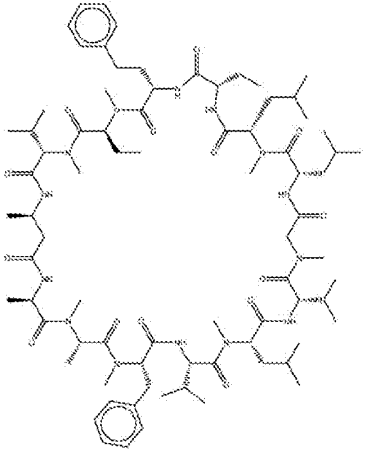
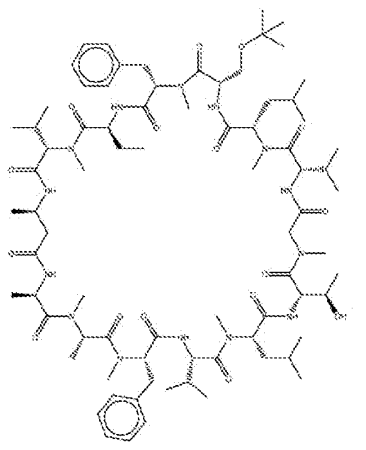
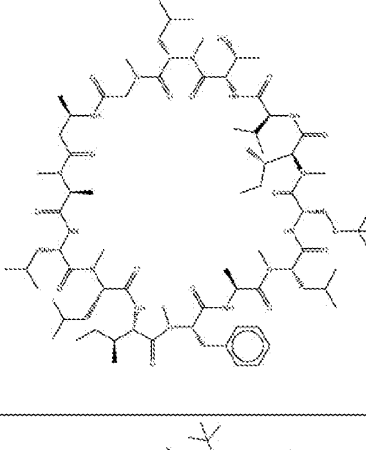
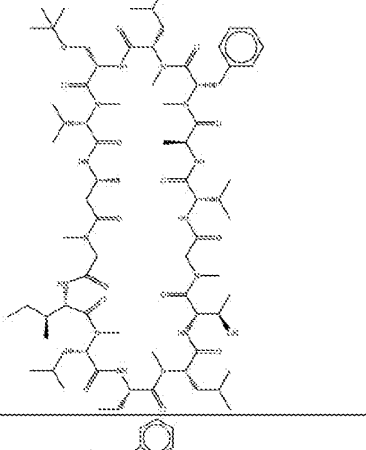
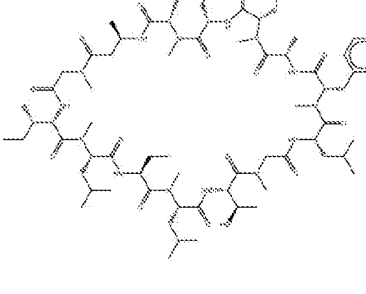
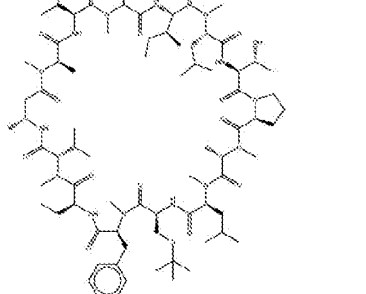
経口投与時の薬物動態パラメータ

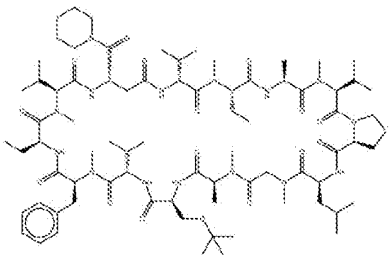
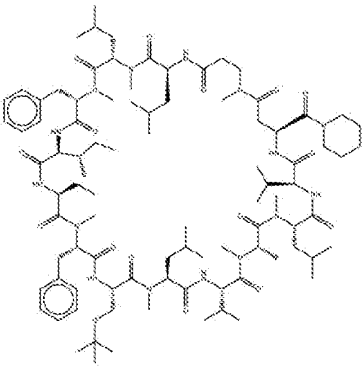
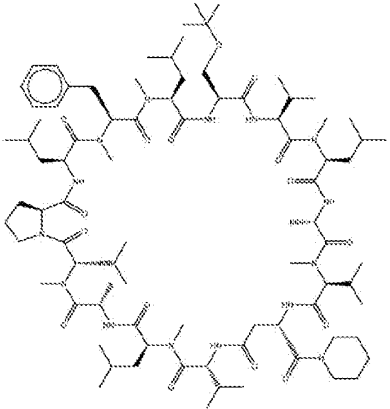
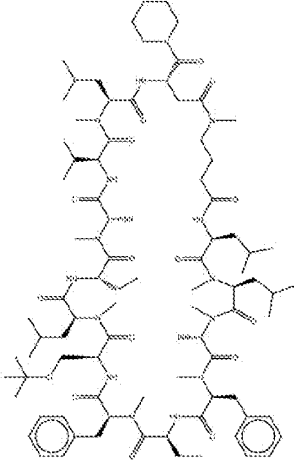
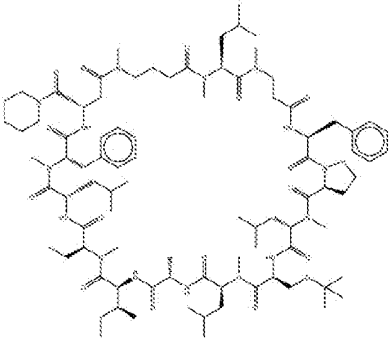
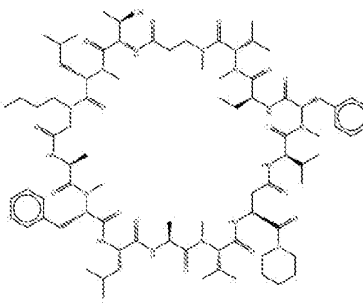
ID	totalAA	AUCinf (ng·h/mL)	t1/2 (h)	Cmax (ng/mL)	Tmax (h)	F (%)
pd057	14	20000	6.6	2200	2.7	33
pd065	14	110000	5.8	11000	2.7	26
pd135	13	79000	7.6	7000	1.7	16
pd144	13	71000	9.7	7000	1.3	40

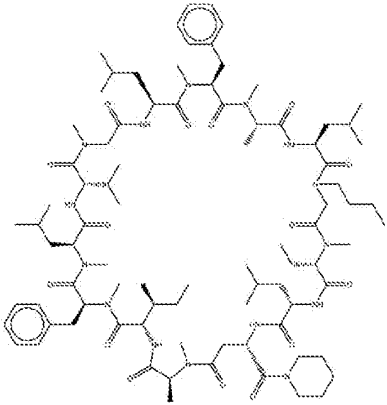
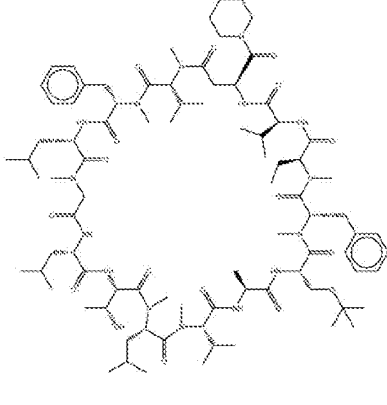
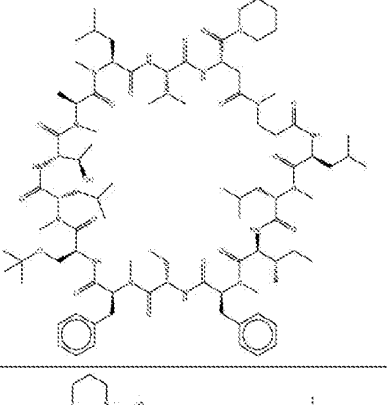
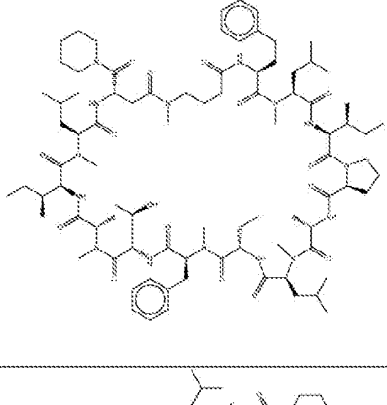
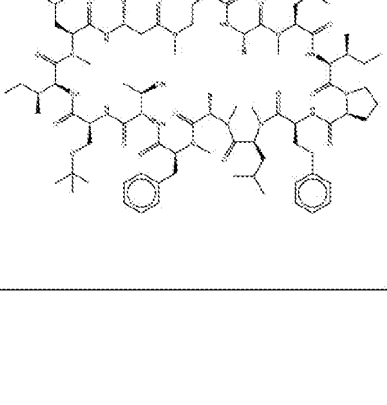
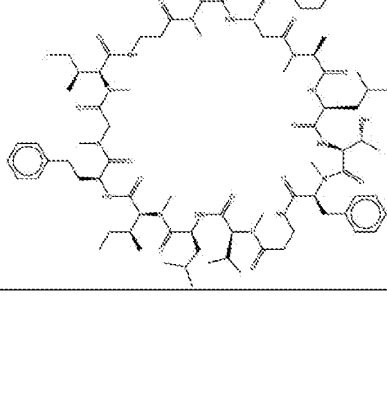
[0293] 静脈内投与後の全身クリアランスはいずれも小さく（1.7－14 mL / 分 / kg）、代謝安定性が高いことが示唆された。化合物のバイオアベイラビリティは最大で40%であり、評価した4種類のペプチドは期待通り経口投与剤として開発可能な経口吸収性を有していた。

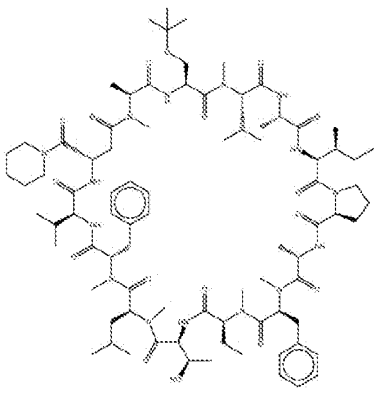
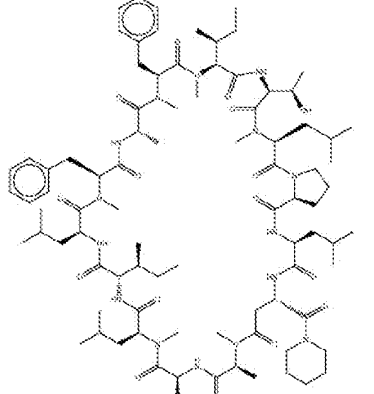
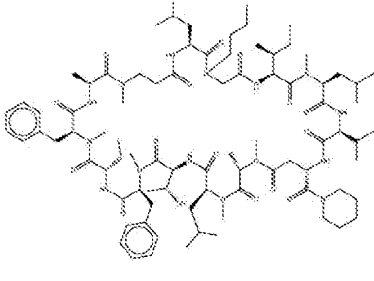
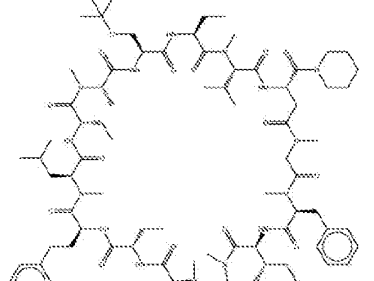
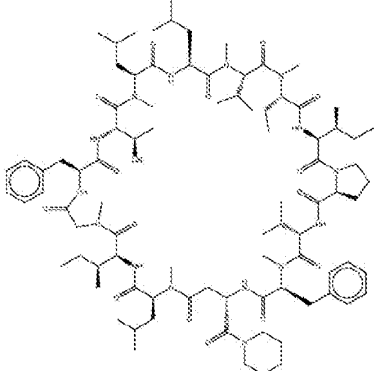
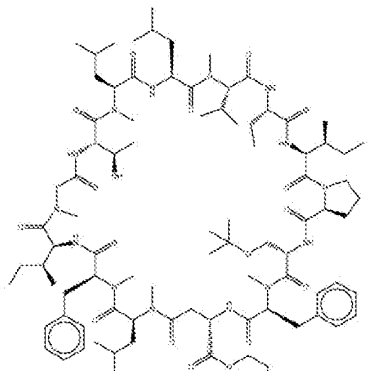
[0294] [表15]

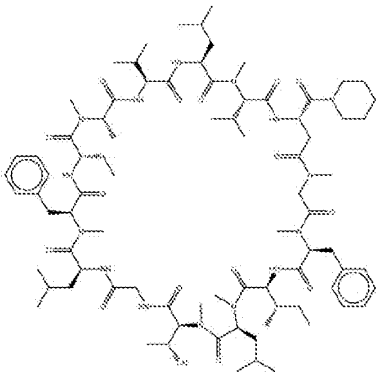
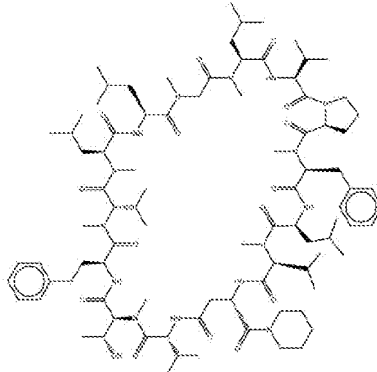
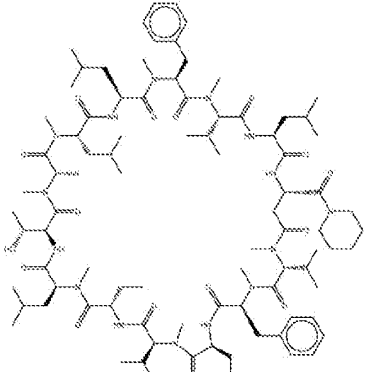
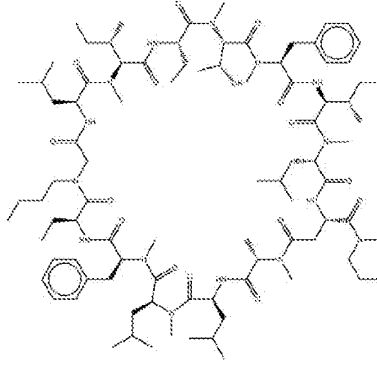
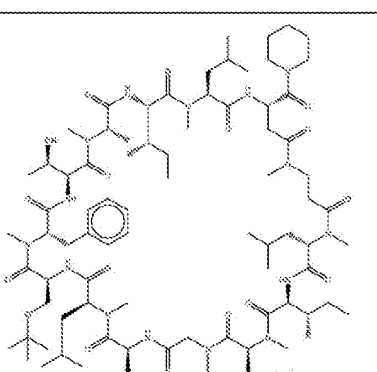
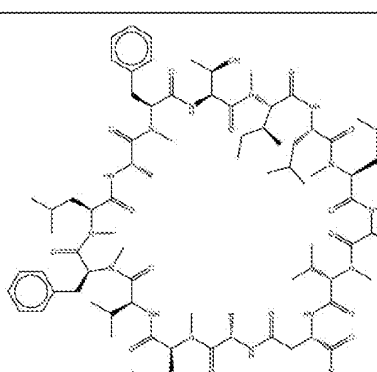
化合物 番号	構造式	化合物 番号	構造式
pd001		pd003	
pd002		pd004	
pd005		pd007	

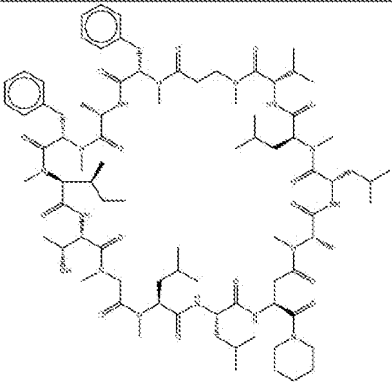
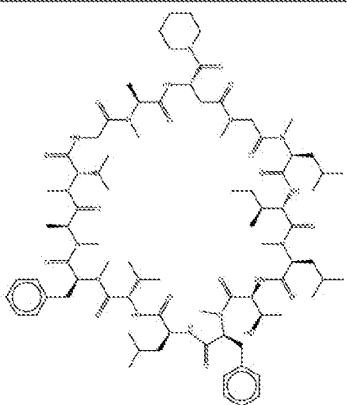
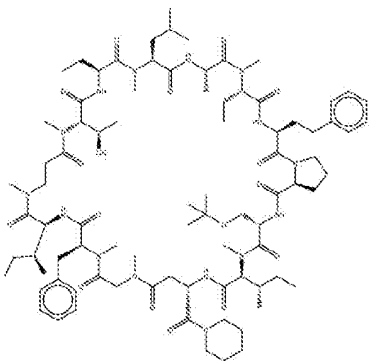
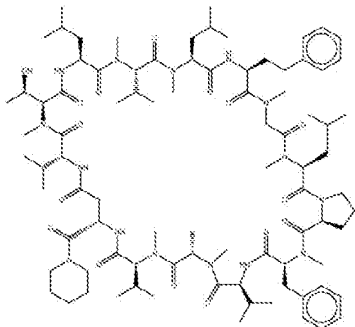
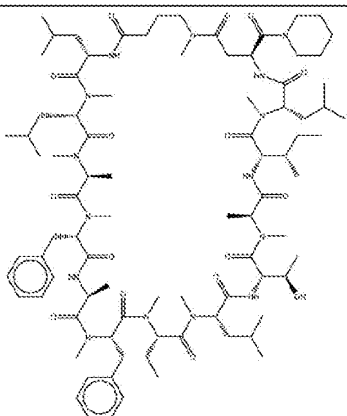
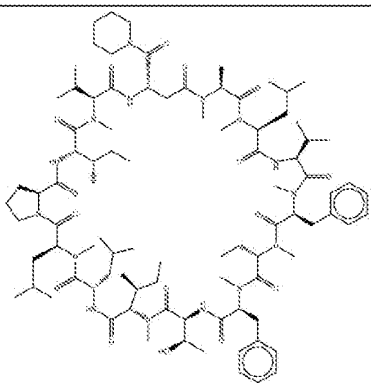
化合物 番号	構造式	化合物 番号	構造式
pd006		pd008	
pd009		pd011	
pd010		pd012	

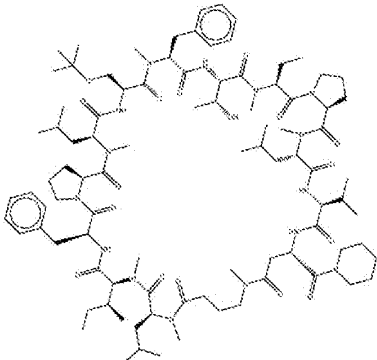
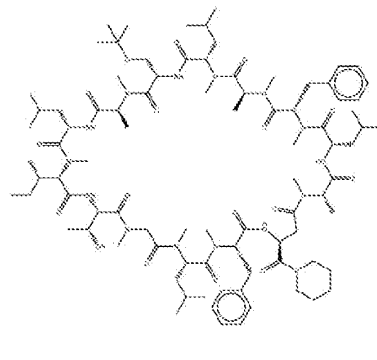
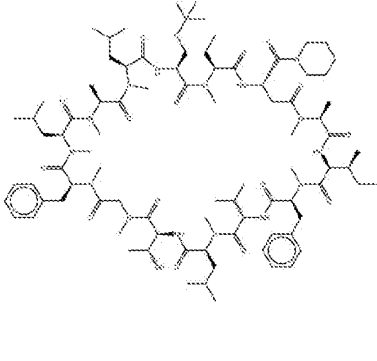
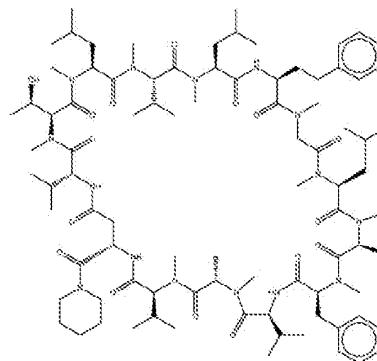
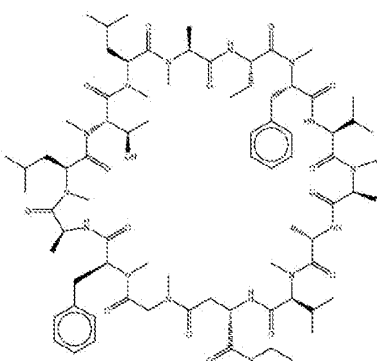
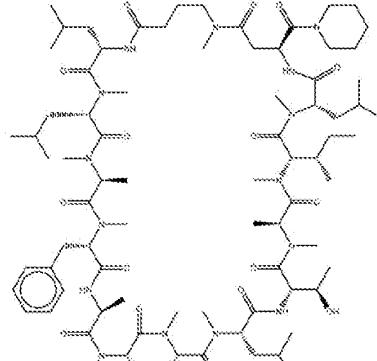
化合物 番号	構造式	化合物 番号	構造式
pd013		pd015	
pd014		pd016	
pd017		pd019	

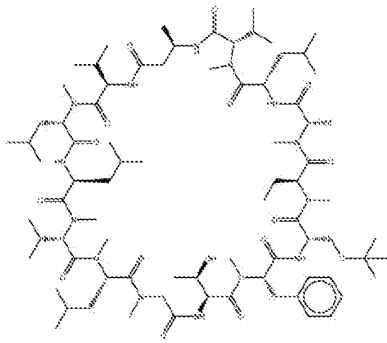
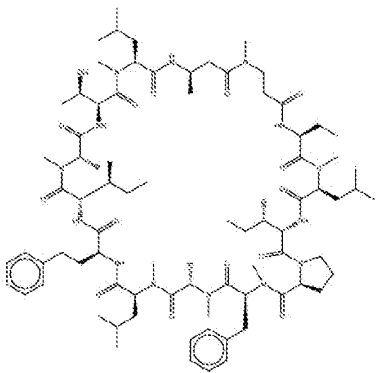
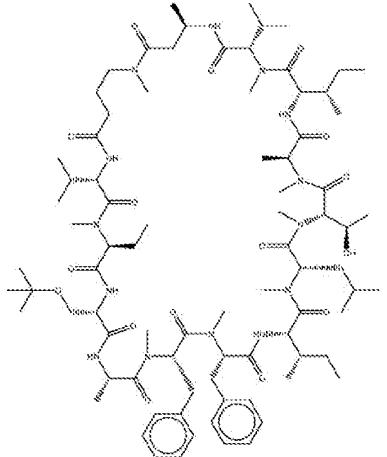
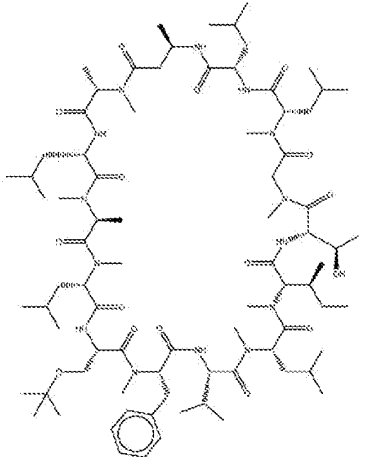
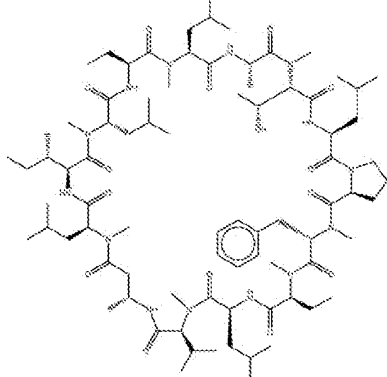
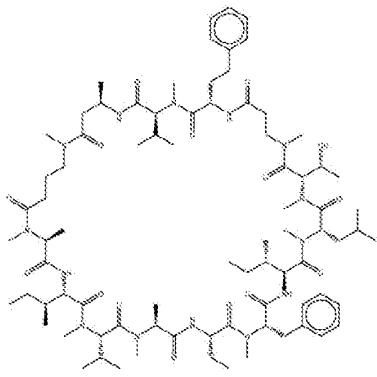
化合物 番号	構造式	化合物 番号	構造式
pd018		pd020	
pd021		pd023	
pd022		pd024	

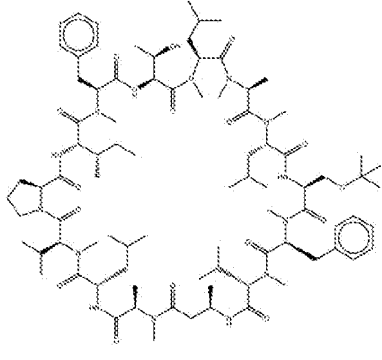
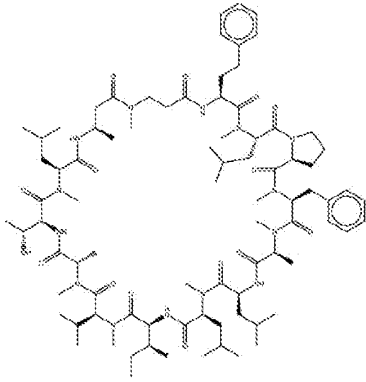
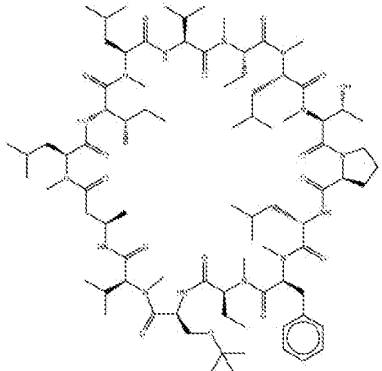
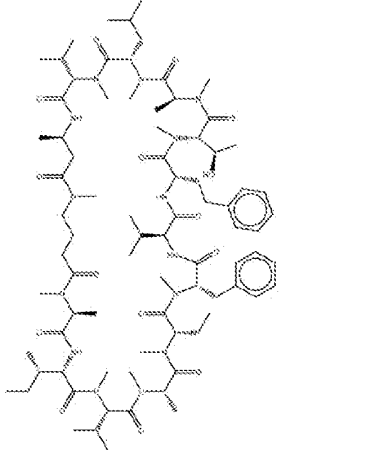
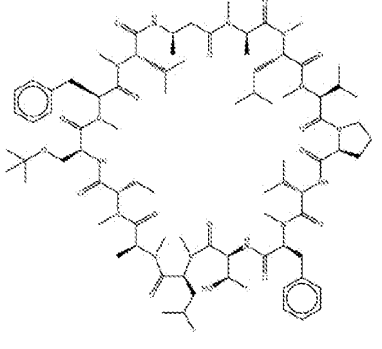
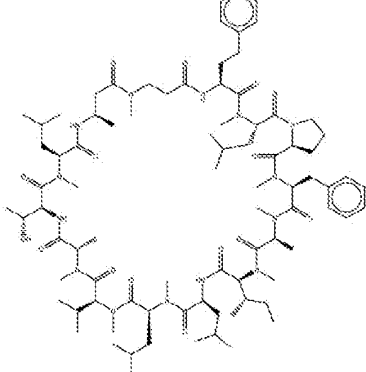
化合物 番号	構造式	化合物 番号	構造式
pd025		pd027	
pd026		pd028	
pd029		pd031	

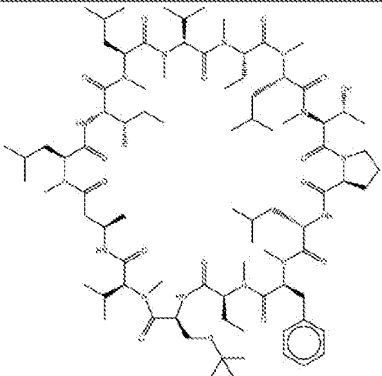
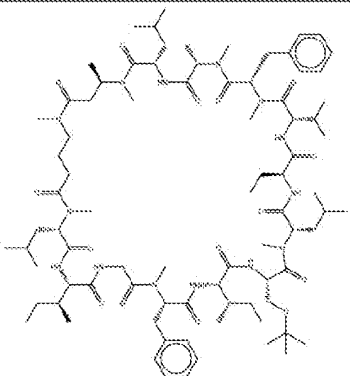
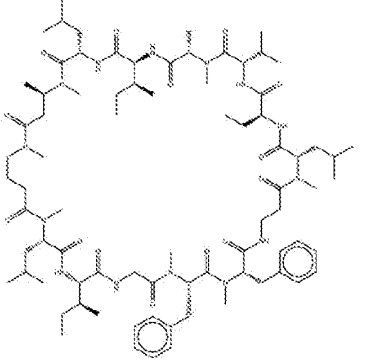
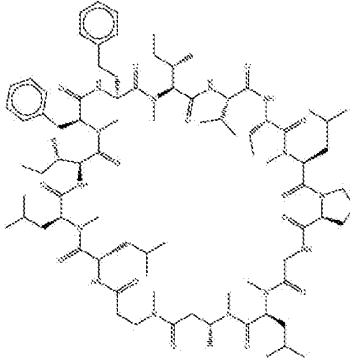
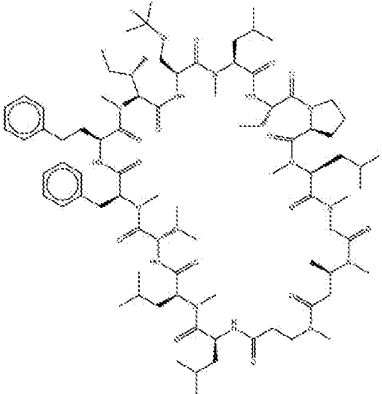
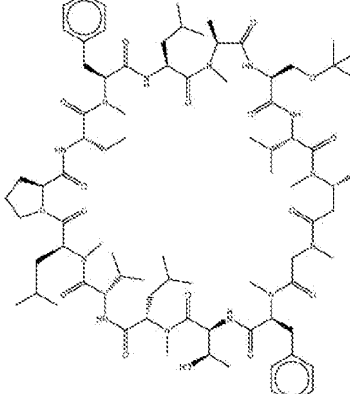
化合物 番号	構造式	化合物 番号	構造式
pd030		pd032	
pd033		pd035	
pd034		pd036	

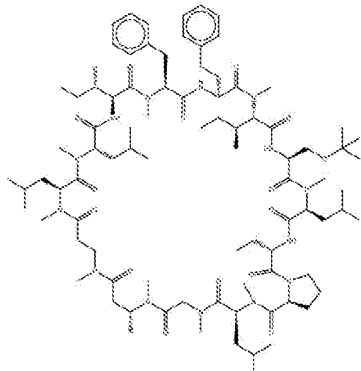
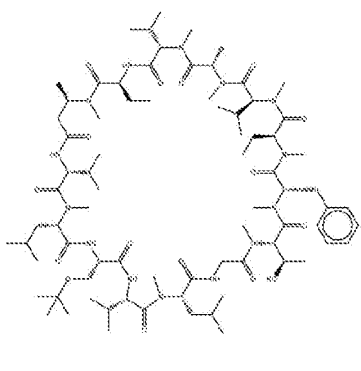
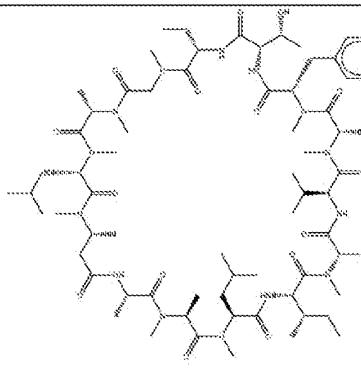
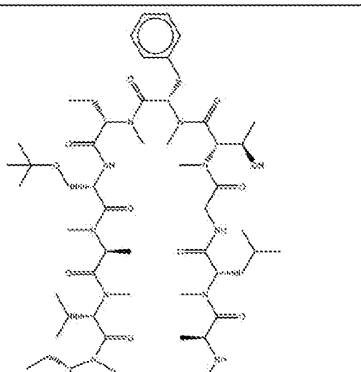
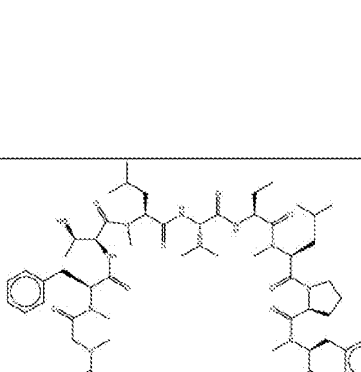
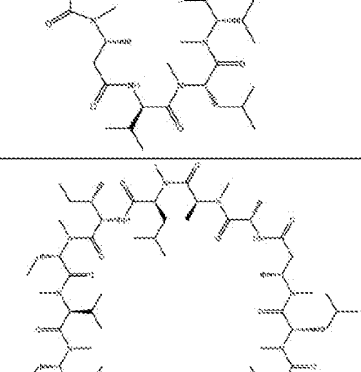
化合物 番号	構造式	化合物 番号	構造式
pd037		pd039	
pd038		pd040	
pd041		pd043	

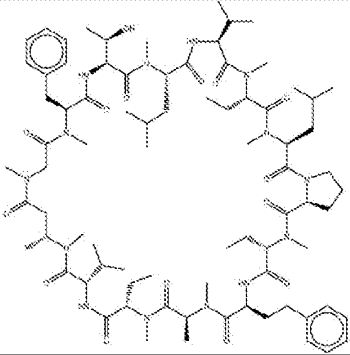
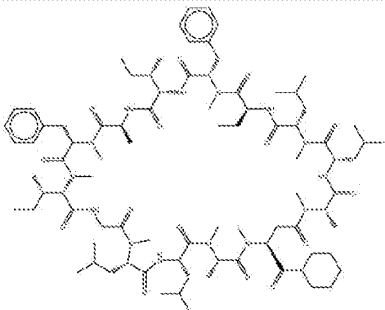
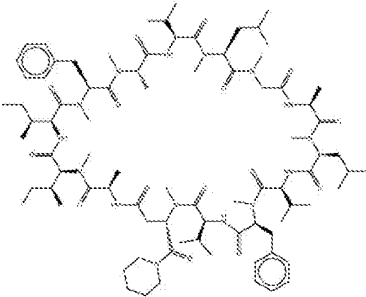
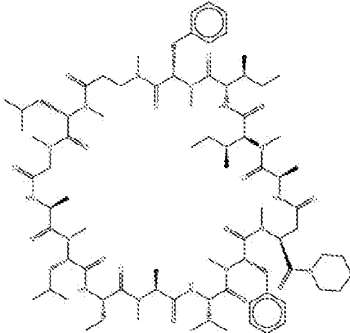
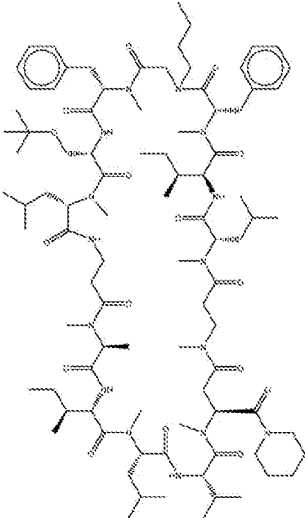
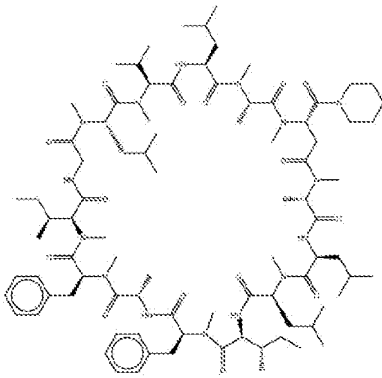
化合物 番号	構造式	化合物 番号	構造式
pd042		pd044	
pd045		pd047	
pd046		pd048	

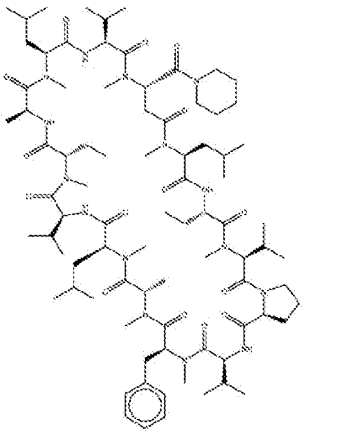
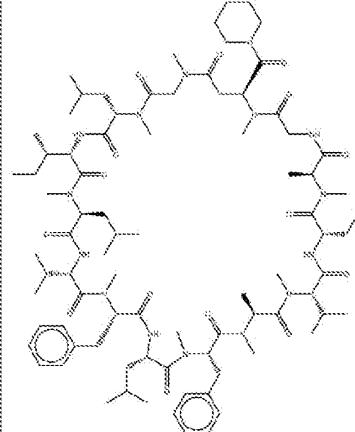
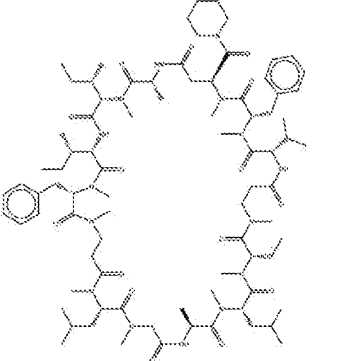
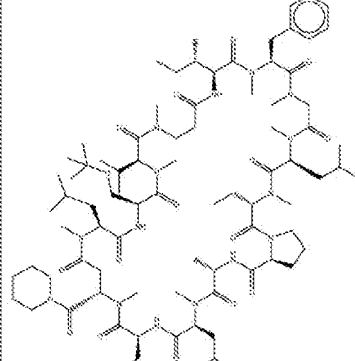
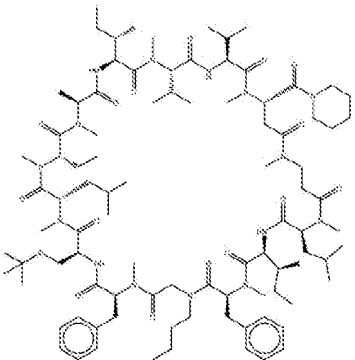
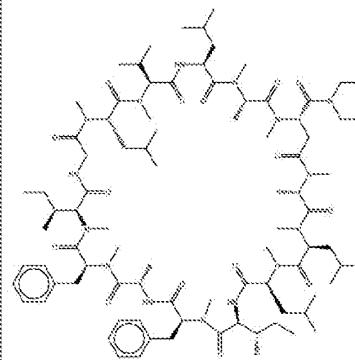
化合物 番号	構造式	化合物 番号	構造式
pd049		pd051	
pd050		pd052	
pd053		pd055	

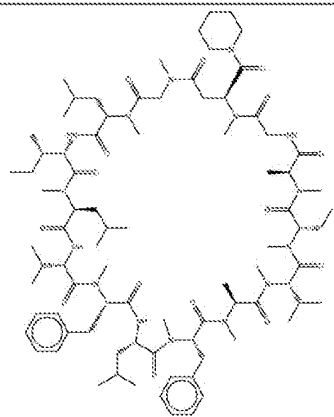
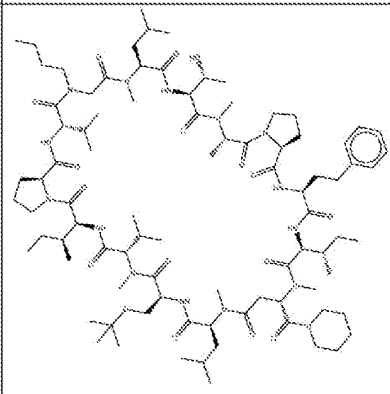
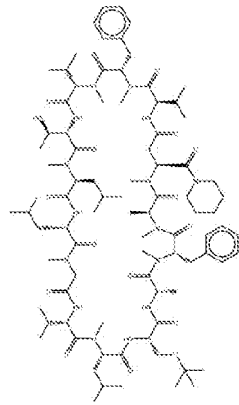
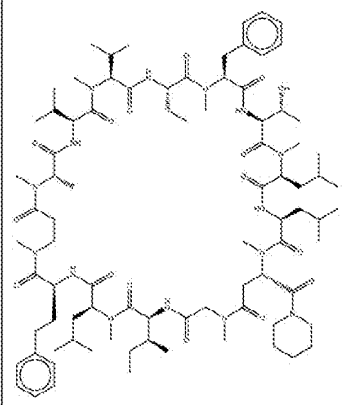
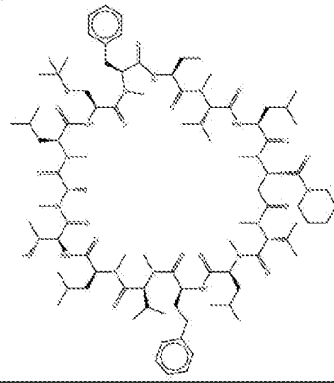
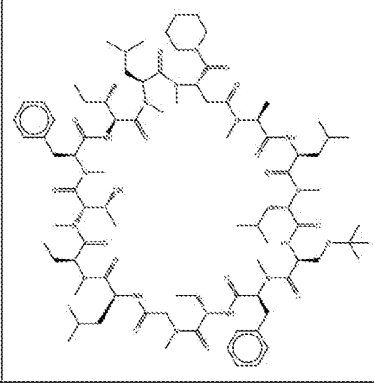
化合物 番号	構造式	化合物 番号	構造式
pd054		pd056	
pd057		pd059	
pd058		pd060	

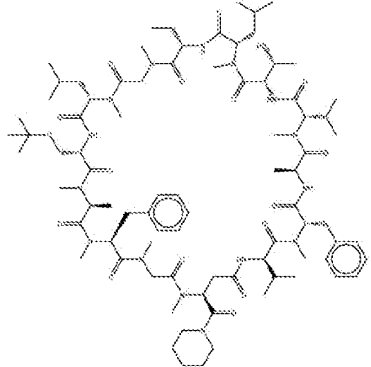
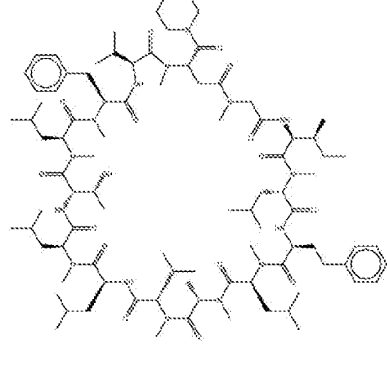
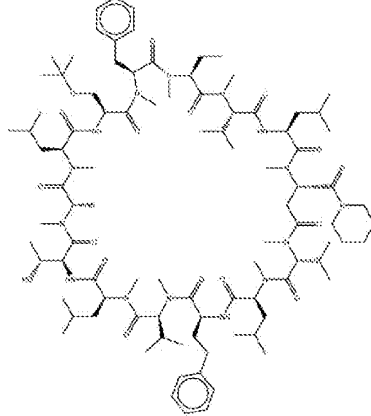
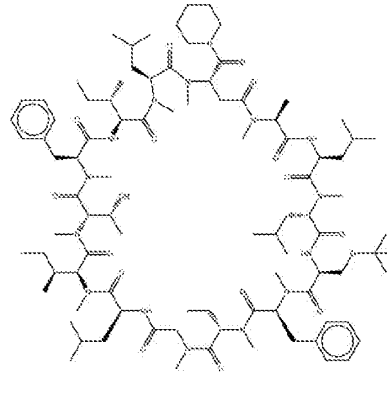
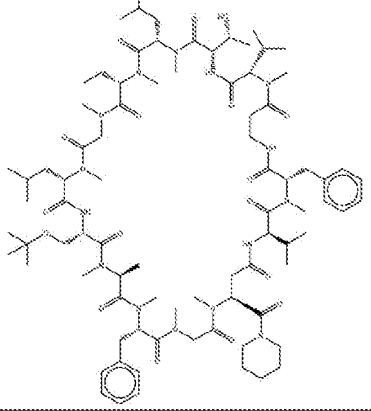
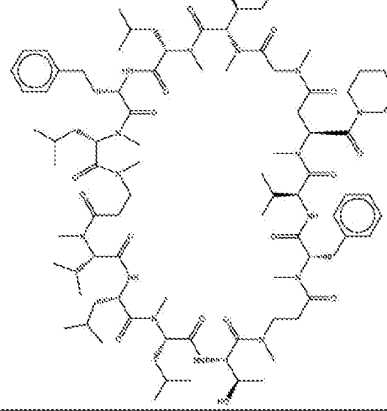
化合物 番号	構造式	化合物 番号	構造式
pd061		pd063	
pd062		pd064	
pd065		pd067	

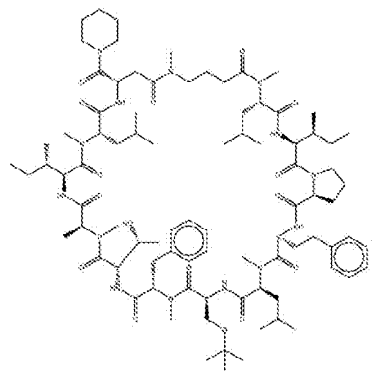
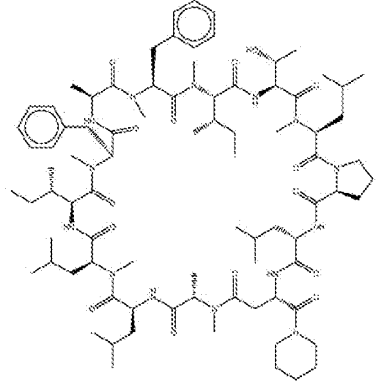
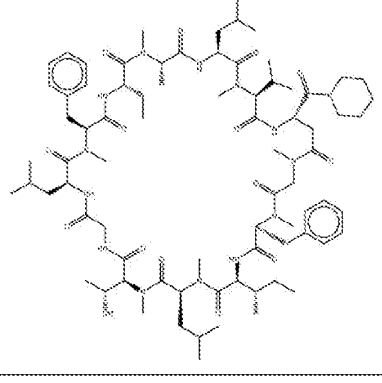
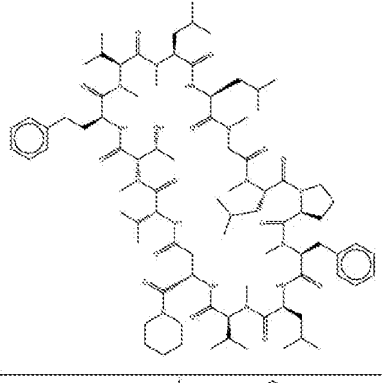
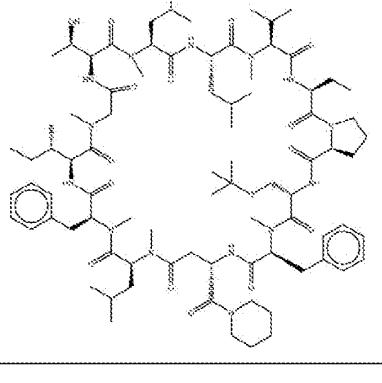
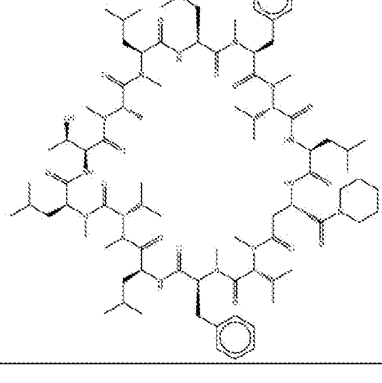
化合物 番号	構造式	化合物 番号	構造式
pd065		pd068	
pd069		pd071	
pd070		pd072	

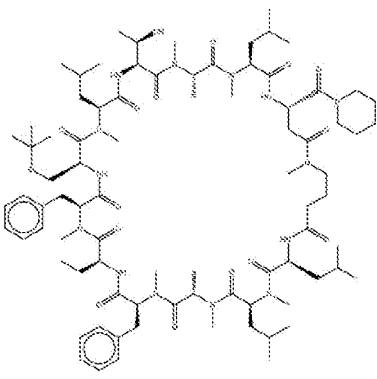
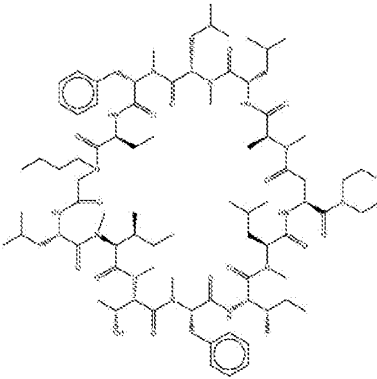
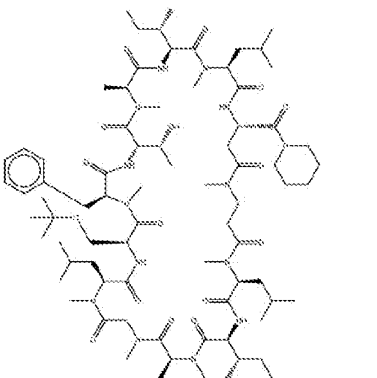
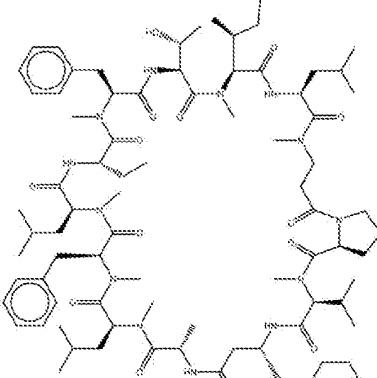
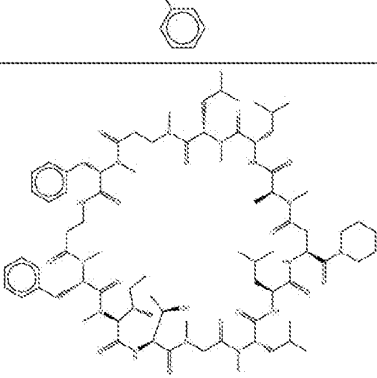
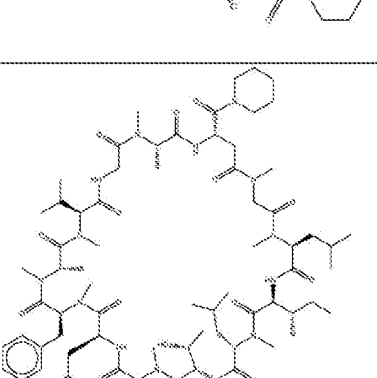
化合物 番号	構造式	化合物 番号	構造式
pd073		pd075	
pd074		pd076	
pd077		pd079	

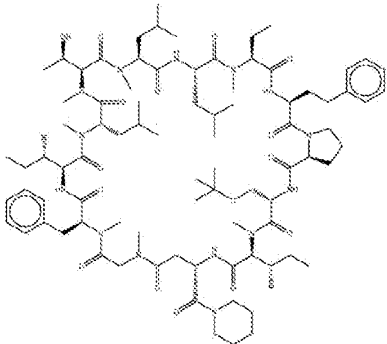
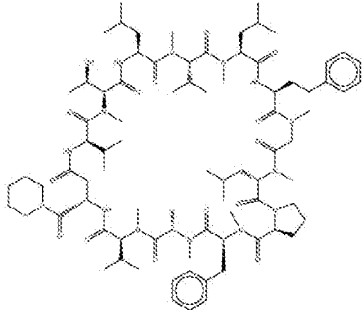
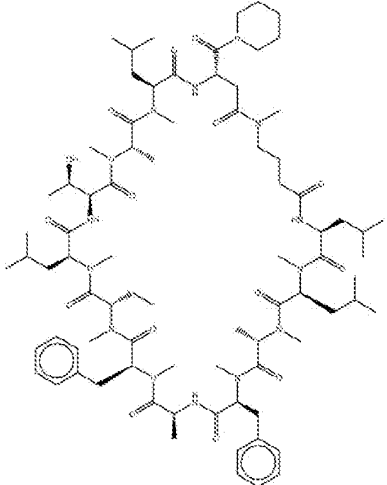
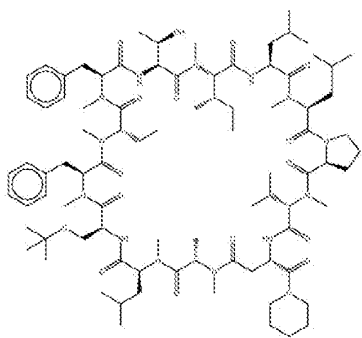
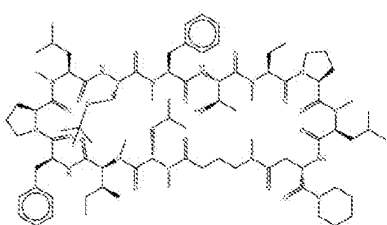
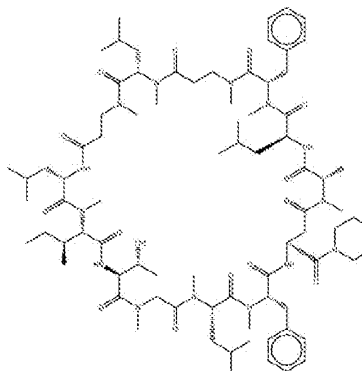
化合物 番号	構造式	化合物 番号	構造式
pd078		pd080	
pd081		pd083	
pd082		pd084	

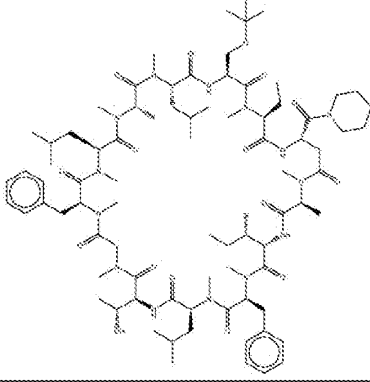
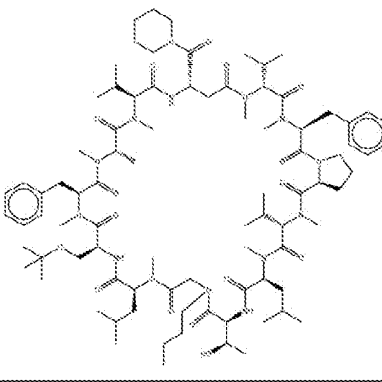
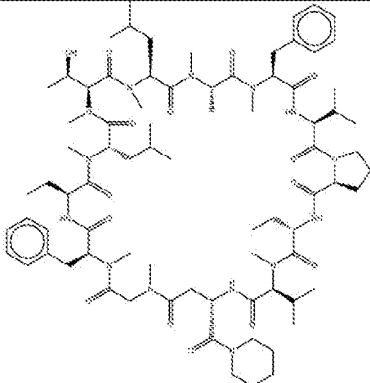
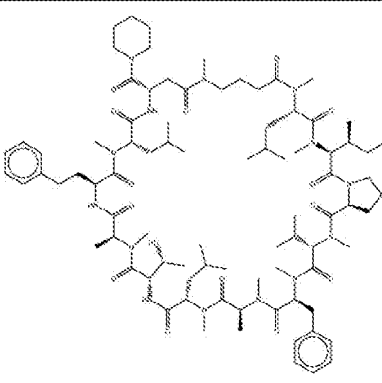
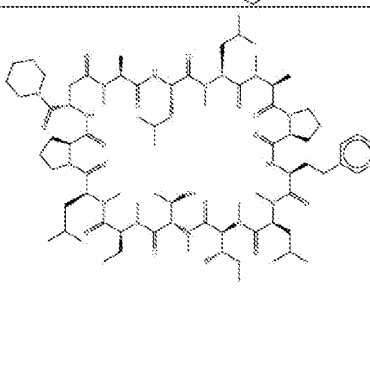
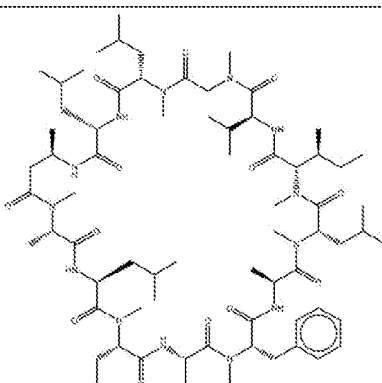
化合物 番号	構造式	化合物 番号	構造式
pd085		pd087	
pd086		pd088	
pd089		pd091	

化合物 番号	構造式	化合物 番号	構造式
pd090		pd092	
pd093		pd095	
pd094		pd096	

化合物 番号	構造式	化合物 番号	構造式
pd102		pd104	
pd105		pd107	
pd106		pd108	

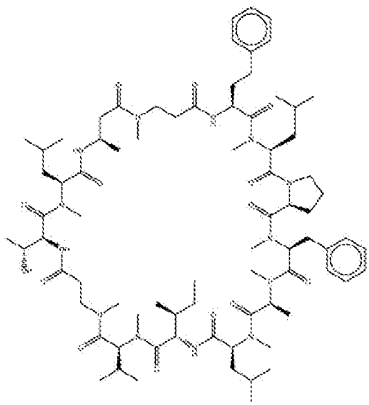
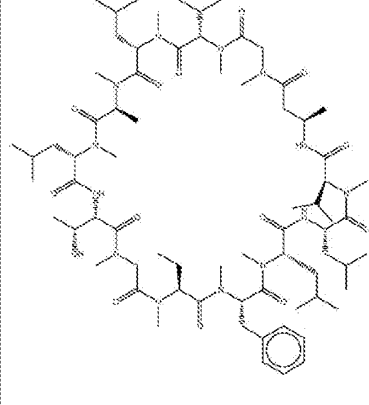
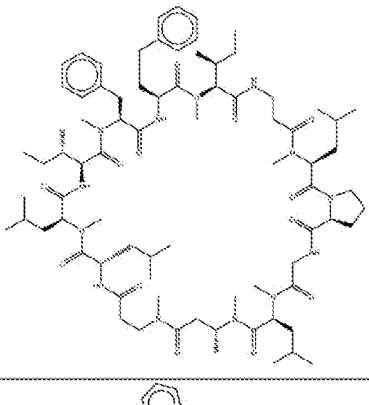
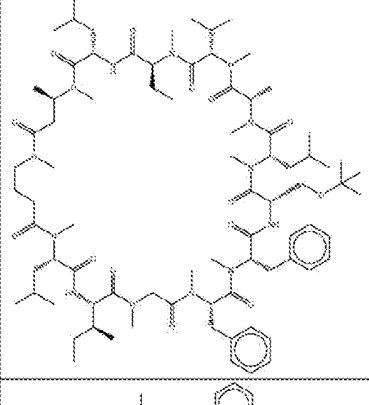
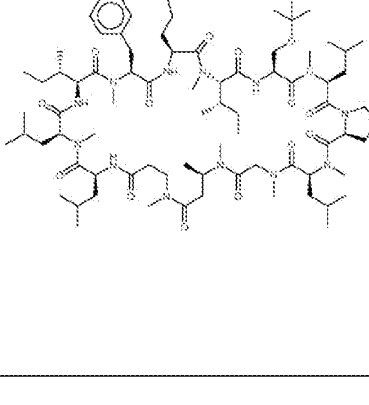
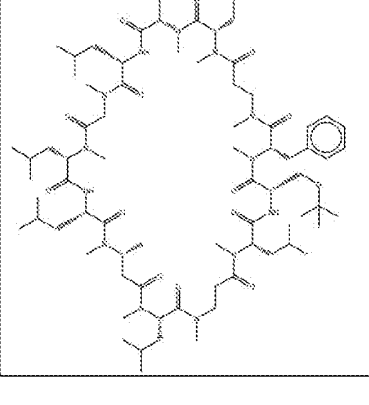
化合物 番号	構造式	化合物 番号	構造式
pd109		pd111	
pd110		pd112	
pd113		pd115	

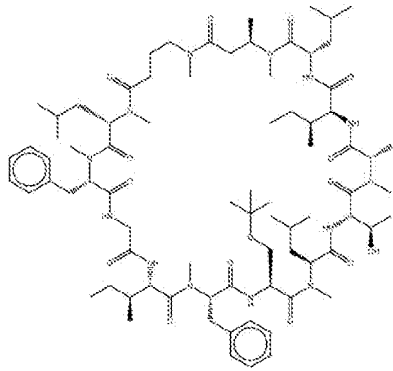
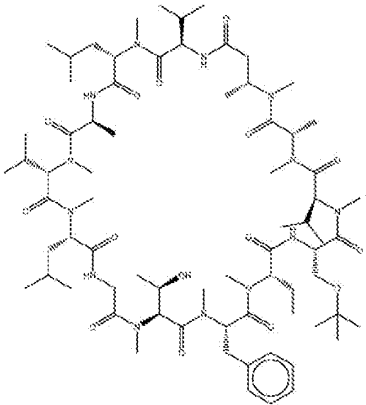
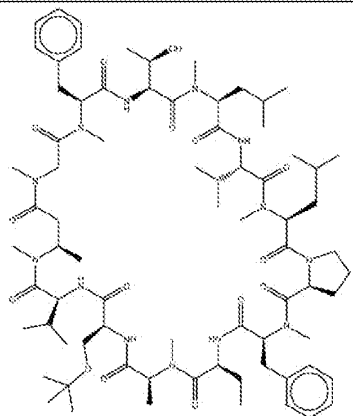
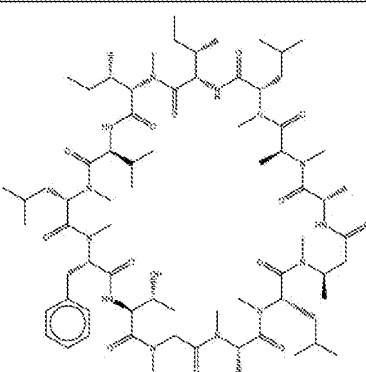
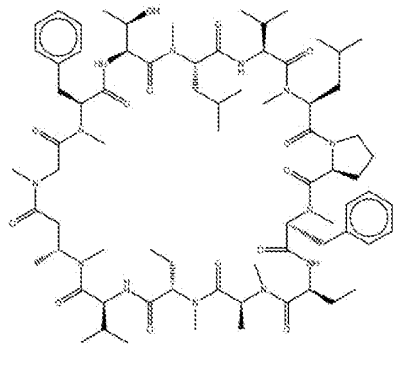
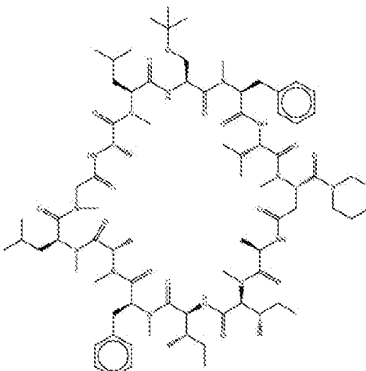
化合物 番号	構造式	化合物 番号	構造式
pd114		pd116	
pd117		pd119	
pd118		pd120	

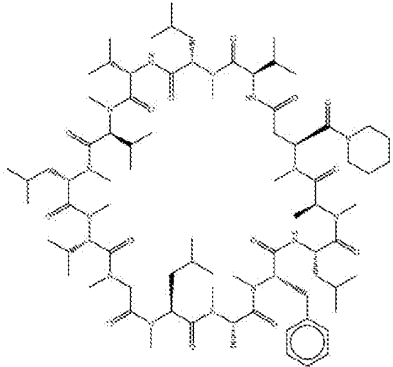
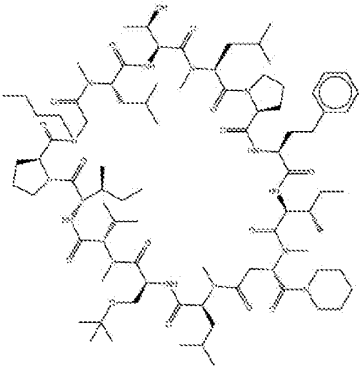
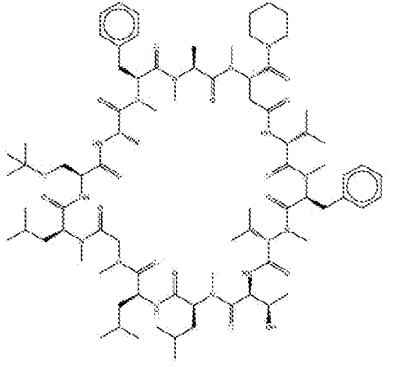
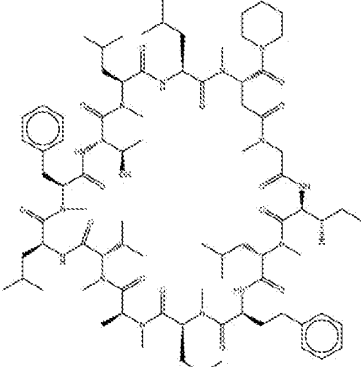
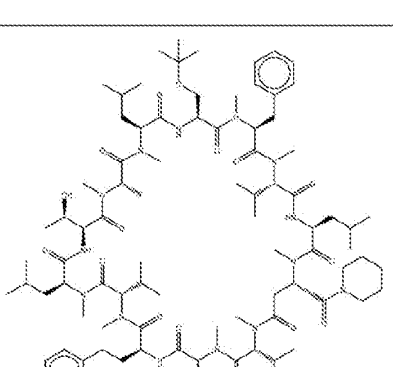
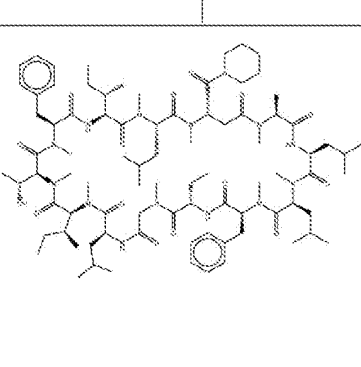
化合物 番号	構造式	化合物 番号	構造式
pd121		pd123	
pd122		pd124	
pd125		pd127	

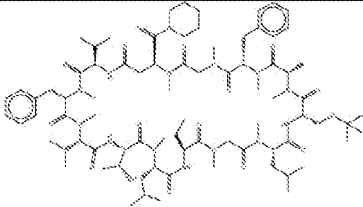
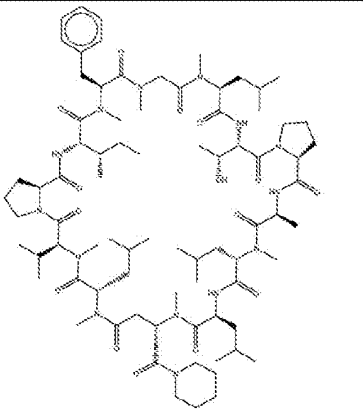
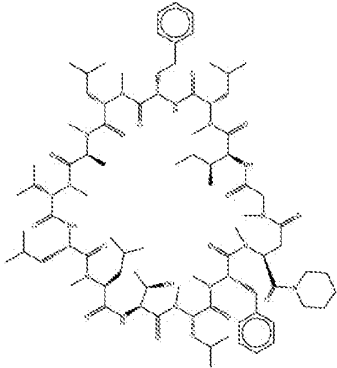
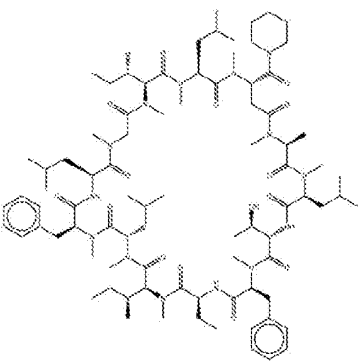
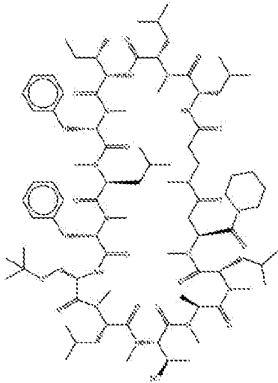
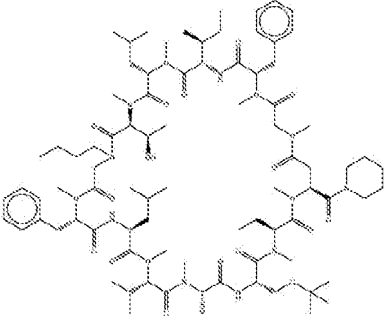
化合物 番号	構造式	化合物 番号	構造式
pd126		pd128	
pd129		pd131	
pd130		pd132	

化合物 番号	構造式	化合物 番号	構造式
pd133		pd135	
pd134		pd136	
pd137		pd139	

化合物 番号	構造式	化合物 番号	構造式
pd138		pd140	
pd141		pd143	
pd142		pd144	

化合物 番号	構造式	化合物 番号	構造式
pd145		pd147	
pd146		pd148	
pd149		pd151	

化合物 番号	構造式	化合物 番号	構造式
pd157		pd159	
pd158		pd160	
pd161		pd163	

化合物 番号	構造式	化合物 番号	構造式
pd162		pd164	
pd165		pd167	
pd166		pd168	

請求の範囲

- [請求項1] 核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物であって、
前記環状ペプチド化合物は、環状部を有し、
(1) 前記環状部が13又は14個のアミノ酸残基で構成されており、
(2) 前記環状部を構成するアミノ酸残基のうち、N置換アミノ酸残基の数が7以上であり、同一側鎖のアミノ酸残基の数が3以下であり、天然アミノ酸残基の数が4以下であり、および
(3) $\text{ClogP}/\text{total amide bond}$ ($\text{ClogP}/\text{total AB}$)が1.0～1.8である、
核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物。
- [請求項2] 前記環状部を構成するN置換アミノ酸の数が7～13である、請求項1に記載の核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物。
- [請求項3] 前記N置換アミノ酸が、N-アルキルアミノ酸である、請求項1または2に記載の核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物。
- [請求項4] 前記環状ペプチド化合物が、3以下の水素結合供与体を有する、請求項1～3のいずれか一項に記載の核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物。
- [請求項5] 前記環状部を構成するアミノ酸の側鎖が、アルキル基、シクロアルキル基、アラルキル基、およびアミド基からなる群より選択される少なくとも一つから構成され、ここで前記アルキル基は、前記アルキル基の任意の原子と前記アミノ酸のアミノ基の窒素原子が一緒になって環を形成していてもよい、請求項1～4のいずれか一項に記載の核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物。
- [請求項6] 前記アルキル基が、ハロゲン原子、ヒドロキシ基、 C_3-C_8 シクロアルキル基、および C_1-C_6 アルコキシ基からなる群より選択される少なくとも1つの基で置換されていてもよい C_1-C_6 アルキル基である、請求項5に記載の核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物。

ド化合物。

- [請求項7] 前記シクロアルキル基が、ハロゲン原子、ヒドロキシ基、 C_1-C_6 アルキル基、 C_1-C_6 ハロアルキル基、 C_1-C_6 アルコキシ基、および C_1-C_6 ハロアルコキシ基からなる群より選択される少なくとも1つの基で置換されていてもよい C_3-C_{10} シクロアルキル基である、請求項5または6に記載の核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物。
- [請求項8] 前記アラルキル基が、ハロゲン原子、 C_1-C_6 アルキル基、 C_1-C_6 ハロアルキル基、 C_1-C_6 アルコキシ基、および C_1-C_6 ハロアルコキシ基からなる群より選択される少なくとも1つの基で置換されていてもよい C_7-C_{14} アラルキル基である、請求項5～7のいずれか一項に記載の核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物。
- [請求項9] 前記アミド基が、式： $-CONR^1R^2$ で表され、式中、 R^1 および R^2 は、それぞれ独立して、水素原子、または C_1-C_6 アルキル基であるか、あるいは R^1 及び R^2 は、それらが結合している窒素原子と一緒にあって4～8員飽和複素環を形成し、該4～8員飽和複素環は、ハロゲン原子、オキソ基、 C_1-C_6 アルキル基、および4～7員ヘテロシクリル基からなる群より独立して選択される少なくとも1つの基で置換されていてもよい、請求項5～8のいずれか一項に記載の核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物。
- [請求項10] 前記環状部を構成するアミノ酸のうち、天然アミノ酸の数が1～4である、請求項1～9のいずれか一項に記載の核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物。
- [請求項11] 前記環状部を構成するアミノ酸が、Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Thr、Phe、およびProからなる群より選択される天然アミノ酸を含む、請求項1～10のいずれか一項に記載の核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物。
- [請求項12] 前記環状部を構成するアミノ酸のうち、非天然アミノ酸の数が9以

上である、請求項1～11のいずれか一項に記載の核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物。

[請求項13] 前記環状部を構成するアミノ酸が、Abu、Asp-pip、bAla、bMeAla、D-3-Abu、D-3-MeAbu、D-Ala、D-MeAla、D-MeVal、D-Val、gMeAbu、Hph、MeAbu、MeAla、MeAsp-pip、MeGly、MeIle、MeLeu、MePhe、MeThr、MeVal、nBuGly、及びSer(tBu)からなる群より選択される非天然アミノ酸を含む、請求項1～12のいずれか一項に記載の核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物。

[請求項14] 前記環状ペプチド化合物の $Caco-2$ P_{app} (cm/sec)の値が 0.4×10^{-6} 以上である、請求項1～13のいずれか一項に記載の核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物。

[請求項15] 請求項1～14のいずれか一項に記載の核酸が連結されていてもよい環状ペプチド化合物を含むライブラリ。

[請求項16] 以下の工程を含む、標的分子に特異的に結合できる環状ペプチド化合物のスクリーニング方法：

(i) 請求項15に記載のライブラリと該標的分子を接触させる工程；及び

(ii) 該標的分子に特異的に結合できる環状ペプチド化合物を選択する工程。