明　細　書

発明の名称 ： ペプチド及びペプチドを含む剤

技術分野

[0001]　本発明は、ペプチド及び当該ペプチドを含む剤などに関する。

背景技術

[0002]　胚性幹細胞（ＥＳ細胞）や人工多能性幹細胞（ｉＰＳ細胞）など多能性を有する幹細胞がこれまでに報告されている。これらの多能性幹細胞から分化誘導された細胞を利用して、再生医療や病態モデルの作製が試みられている。

[0003]　成長因子（Ｇｒｏｗｔｈ　ｆａｃｔｏｒｓ）は、胚発生、組織修復、及び細胞間コミュニケーションの調節に関与する重要なシグナル伝達分子であり、幹細胞の生存、自己複製、分化、及び脱分化において重要な働きをする多数の成長因子が同定されている。このような成長因子を組み合わせることにより、幹細胞培養をさまざまに制御することができる。

[0004]　骨形成タンパク質（ＢＭＰ、Ｂｏｎｅ　Ｍｏｒｐｈｏｇｅｎｅｔｉｃ　Ｐｒｏｔｅｉｎｓ）は、ＴＧＦ－βスーパーファミリーに属する分泌型シグナル伝達分子である。ＢＭＰはもともと軟骨組織や骨形成の制御因子として発見された。少なくとも２０種類のＢＭＰが存在し、成長因子として作用することが明らかとなっている。Ｎｏｇｇｉｎは、ＢＭＰ阻害活性を有する分泌性タンパク質である。Ｎｏｇｇｉｎは、ＢＭＰ自体に結合して、ＢＭＰが受容体に結合するのを妨げることにより、ＢＭＰシグナル伝達を抑制して、細胞の分化・誘導に影響を与える。例えば、ヒトＥＳ細胞をＮｏｇｇｉｎ添加培地で培養すると、ＥＳ細胞が内因性に産生するＢＭＰ－２の作用を抑制することにより、ＥＳ細胞の胚体外内胚葉細胞への分化が抑制され、ＥＳ細胞の未分化状態が維持される。その後、引き続き神経分化培養条件下で培養することにより、神経細胞への分化誘導が促進される（特許文献１）。このようなＢＭＰ阻害剤として作用する分泌性タンパク質としてはＮｏｇｇｉｎの

他、Ｃｈｏｒｄｉｎ、ｆｏｌｌｉｓｔａｔｉｎなどが知られている。しかしながら、これらはタンパク質であるため、細胞の培養に用いる際には、培養コストがかかる上、再現性に乏しいなどの問題点があった。

先行技術文献

特許文献

[0005] 特許文献1：国際特許公開第０１／９８４６３号パンフレット

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0006] 本発明者らは、ＢＭＰ結合活性を有するペプチドを創出することを目的として鋭意研究に努めた結果、本発明を想到した。本発明は、新規なペプチド、当該ペプチドを含む各種剤、及び当該ペプチドの利用を提供する。

課題を解決するための手段

[0007] 上記の課題は、配列番号１などで示される配列を有する新規ペプチドなどにより解決される。

[0008] この明細書に記載されるある発明は、以下のペプチド、又はその薬学的に許容される塩に関する。

以下のアミノ酸配列：

Ｅ－Ｒ－Ｖ－Ｆ４ＣＯＯ－Ａｔｐ－Ｄ－Ｒ－Ｂｐｈ－Ｐ－Ｙ－Ｐ－Ｂｐｈ－Ｙ－Ｆ４ＣＯＯ－Ｆ４ＣＯＯ－Ｓ－Ｃ（配列番号１）

又は、上記のアミノ酸配列の１番目、２番目、４番目、５番目、６番目、７番目、８番目、９番目、１０番目、１１番目、１２番目、１３番目、１４番目、１５番目および１６番目のアミノ酸残基からなるグループから選択される、１－１５個のアミノ酸残基において、置換、付加、欠失又は挿入を有するアミノ酸配列を含む、ペプチド、又はその薬学的に許容される塩。

[0009] この明細書に記載されるある発明は、以下のペプチド、又はその薬学的に許容される塩に関する。

以下のアミノ酸配列：

Ｘ１－Ｘ２－Ｘ３－Ｘ４－Ｘ５－Ｘ６－Ｘ７－Ｘ８－Ｘ９－Ｘ１０－Ｘ１１－Ｘ１２－Ｘ１３－Ｘ１４－Ｘ１５－Ｘ１６－Ｘ１７（配列番号２）で示されるアミノ酸配列を有するペプチド、又はその薬学的に許容される塩、もしくは又は配列番号２で示されるアミノ酸配列から１～１０個のアミノ酸配列が置換、欠失、付加又は挿入したアミノ酸配列を有するペプチド、又はその薬学的に許容される塩であって、

Ｘ１は、Ｅ、Ａ、Ｔ、Ｑ又はＬであり；

Ｘ２は、Ｒ、Ｋ、Ｈｇｌ、任意の極性アミノ酸又は任意の脂肪族アミノ酸であり、

Ｘ３は、Ｖであり；

Ｘ４は、複素環であってもよい芳香族環を側鎖に有するアミノ酸であり；

Ｘ５は、任意の脂肪族アミノ酸、Ｙ、Ｄ、Ａｔｐ、Ｃｈａ４ｔＨ、Ｇｔｈｐ、又はＡ１Ａｃ４ｐｉｐであり；

Ｘ６は、Ｄ、任意の塩基性アミノ酸又は任意の極性アミノ酸であり；

Ｘ７は、任意の塩基性アミノ酸又は任意の極性アミノ酸であり；

Ｘ８は、置換基を有していてもよく、芳香環上のＣがＮに置換されていてもよいビフェニルアラニンであり；

Ｘ９は、任意のアミノ酸であり、

Ｘ１０は、Ｙ、Ｈｔｙ又は４Ｐｙであり；

Ｘ１１は、任意のアミノ酸であり、

Ｘ１２は、置換基を有していてもよく、芳香環上のＣがＮに置換されていてもよいビフェニルアラニンであり；

Ｘ１３は、非置換の若しくは置換されたＦ、４Ｐｙ又は３Ｐｙ６ＮＨ２であり；

Ｘ１４は、Ｆ４ＣＯＯ、Ｄ又はＧであり；

Ｘ１５は、Ｆ４ＣＯＯ、Ｙ、４Ｐｙ、３Ｐｙ６ＮＨ２、Ｗ７Ｎ、Ｈｐｈ又はＮであり；

Ｘ１６は、任意のアミノ酸であり；

Ｘ１７は、Ｃである

ペプチド、又はその薬学的に許容される塩。

[0010] 配列番号２で示されるアミノ酸配列から１～１０個のアミノ酸配列が置換、欠失、付加又は挿入したアミノ酸配列を有するペプチドは、後述するようにＢＭＰ４結合能を有するものが好ましい。また，配列番号２で示されるアミノ酸配列から１～９個（１～８個，１～５個，１～４個，１～３個，２個，又は１個）のアミノ酸配列が置換、欠失、付加又は挿入したアミノ酸配列を有するペプチド、又はその薬学的に許容される塩であってもよい。

[0011] 上記のペプチド、又はその薬学的に許容される塩の好ましい例は、

Ｘ１は、Ｅであり；

Ｘ２は、Ｒ又は任意の極性アミノ酸であり、

Ｘ３は、Ｖであり；

Ｘ４は、非置換の若しくは置換されたＹ又はＦ４ＣＯＯであり；

Ｘ５は、Ｖ又はＡｔｐであり；

Ｘ６は、Ｄ又はＫＣＯｐｉｐｚａａであり；

Ｘ７は、Ｒであり；

Ｘ８は、Ｂｐｈであり；

Ｘ９は、Ｐ又はＳであり；

Ｘ１０は、Ｙ又はＨｔｙであり；

Ｘ１１は、任意の脂肪族アミノ酸であり；

Ｘ１２は、非置換の若しくは置換されたＢｐｈであり；

Ｘ１３は、非置換の若しくは置換されたＦであり；

Ｘ１４は、Ｆ４ＣＯＯであり；

Ｘ１５は、Ｆ４ＣＯＯ又は４Ｐｙであり；

Ｘ１６は、任意のアミノ酸であり；

Ｘ１７は、Ｃである。

[0012] 上記のペプチド、又はその薬学的に許容される塩の好ましい例は、

Ｘ１は、Ｅ、Ａ、Ｔ、Ｑ又はＬであり；

Ｘ２は、Ｒ又はＫＣＯｐｉｐｚａａであり；

Ｘ３は、Ｖであり；

Ｘ４は、Ｙ、Ｆ４Ｆ、Ｆ４ＣＯＯ、４Ｐｙ、Ｈ、又はＦ４ａａＯであり；

Ｘ５は、任意の脂肪族アミノ酸、Ａｔｐ、Ｃｈａ４ｔＨ、Ｇｔｈｐ、又はＡ１Ａｃ４ｐｉｐであり；

Ｘ６は、Ｄ、Ｓ又はＫＣＯｐｉｐｚａａであり；

Ｘ７は、Ｒ又はＫであり；

Ｘ８は、３Ｐｙ６Ｐｈ、Ｂｐｈ、Ｂｐｈ４Ｃ、ｐＢｐｈ２Ｆ又はＢｐｈ３Ｃであり；

Ｘ９は、Ｓ、Ｐ、ＫＣＯｐｉｐｚａａ又はＨであり；

Ｘ１０は、Ｙ又はＨｔｙであり；

Ｘ１１は、任意の脂肪族アミノ酸又はＨｙｐであり；

Ｘ１２は、置換基を有していてもよいビフェニルアラニンであり；

Ｘ１３は、非置換の若しくは置換されたＦ又は４Ｐｙであり；

Ｘ１４は、Ｆ４ＣＯＯであり；

Ｘ１５は、Ｆ４ＣＯＯ又は４Ｐｙであり；

Ｘ１６は、Ｓであり；

Ｘ１７は、Ｃである。

[0013] 上記のペプチド、又はその薬学的に許容される塩の好ましい例は、

以下のアミノ酸配列：Ｘ１－Ｘ２－Ｘ３－Ｘ４－Ｘ５－Ｘ６－Ｘ７－Ｘ８－Ｘ９－Ｘ１０－Ｘ１１－Ｘ１２－Ｘ１３－Ｘ１４－Ｘ１５－Ｘ１６－Ｃ（配列番号４）で示されるアミノ酸配列を有するペプチド又は配列番号４で示されるアミノ酸配列から１～１０個のアミノ酸配列が置換、欠失、付加又は挿入したアミノ酸配列を有するペプチド、又はその薬学的に許容される塩であり、

Ｘ１は、Ａであり；

Ｘ２は、Ｒ、ＫＡｃ、Ｑ又はＫＣＯｐｉｐｚａａであり；

Ｘ３は、Ｖであり；

Ｘ４は、Ｙ、Ｆ４Ｆ又は４Ｐｙであり；

Ｘ５は、Ｖであり；

Ｘ６は、Ｄ、ＫＣＯｐｉｐｚａａ、Ｋ、Ｒ、Ｇ又はＨであり；

Ｘ７は、Ｒ、Ｋ、ＫＡｃ、４Ｐｙ、Ｓ又はＣｉｔであり；

Ｘ８は、３Ｐｙ６Ｐｈ又はＢｐｈであり；

Ｘ９は、Ｐ、Ｓ、Ｋ、Ｈ、Ｇ、Ｓ又はＫＣＯｐｉｐｚａａであり；

Ｘ１０は、Ｙであり；

Ｘ１１は、任意の脂肪族アミノ酸であり；

Ｘ１２は、Ｂｐｈ又は３Ｐｙ６Ｐｈであり；

Ｘ１３は、Ｙ又はＦ４Ｆであり；

Ｘ１４は、Ｆ４ＣＯＯであり；

Ｘ１５は、Ｆ４ＣＯＯ又は４Ｐｙであり；

Ｘ１６は、Ｓである。

[0014] 配列番号４で示されるアミノ酸配列から１～１０個のアミノ酸配列が置換、欠失、付加又は挿入したアミノ酸配列を有するペプチド、又はその薬学的に許容される塩は、後述するようにＢＭＰ４結合能を有するものが好ましい。また，配列番号４で示されるアミノ酸配列から１～９個（１～８個，１～５個，１～４個，１～３個，２個，又は１個）のアミノ酸配列が置換、欠失、付加又は挿入したアミノ酸配列を有するペプチド、又はその薬学的に許容される塩であってもよい。

[0015] 上記したペプチド、又はその薬学的に許容される塩の好ましい例は、ＢＭＰ４への結合能を有するペプチド、又はその薬学的に許容される塩である。

[0016] 上記したペプチド、又はその薬学的に許容される塩の好ましい例は、ＢＭＰ４の阻害活性を有するペプチド、又はその薬学的に許容される塩である。

[0017] 上記したペプチドの好ましい例は、配列番号５－１８７、及び配列番号２４３－４２１のいずれか１つに記載のアミノ酸配列からなるペプチド、又はその薬学的に許容される塩であるか、

配列番号５－１８７、及び配列番号２４３－４２１のいずれか１つに記載のアミノ酸配列から１～１０個のアミノ酸配列が置換、欠失、付加又は挿入したアミノ酸配列を有し、ＢＭＰ４への結合能又はＢＭＰ４の阻害活性を有するペプチド、又はその薬学的に許容される塩である。

[0018] この明細書に記載されるある発明は、以下のペプチド、又はその薬学的に許容される塩に関する。

以下のアミノ酸配列：

Ｆ－Ｇ－ＭｅＦ－Ｇ－Ｂｐｈ－Ｇ－Ｄ－Ｄ－Ｃｈａ－Ａ－ＭｅＦ－Ｌ－Ｈ－Ｃ（配列番号２４１）又は、上記のアミノ酸配列の１番目、３番目、４番目、５番目、６番目、７番目、８番目、９番目、１０番目、１１番目、１２番目および１３番目のアミノ酸残基からなるグループから選択される、１～１２個のアミノ酸残基において、置換、付加、欠失または挿入を有するアミノ酸配列を含むペプチド、又はその薬学的に許容される塩。

[0019] この明細書に記載されるある発明は、以下のペプチドに関する。

以下のアミノ酸配列：

Ｘ１－Ｘ２－Ｘ３－Ｘ４－Ｘ５－Ｘ６－Ｘ７－Ｘ８－Ｘ９－Ｘ１０－Ｘ１１－Ｘ１２－Ｘ１３－Ｘ１４（配列番号２４２）で示されるアミノ酸配列を有するペプチド又は配列番号２４２で示されるアミノ酸配列から１～１２個のアミノ酸配列が置換、欠失、付加又は挿入したアミノ酸配列を有するペプチド、又はその薬学的に許容される塩であって、

Ｘ１は、置換基を有していてもよく、芳香環上のＣがＮに置換されていてもよいフェニルアラニンであり；

Ｘ２は、Ｇであり；

Ｘ３は、置換基を有していてもよいＮ－メチルフェニルアラニンであり；

Ｘ４は、Ｇ、Ｄ体であってもよい脂肪族アミノ酸又は極性アミノ酸であり；

Ｘ５は、芳香環上のＣがＮに置換されていてもよいビフェニルアラニン、又は置換基を有していてもよいフェニルアラニンであり；

Ｘ６は、Ｇ、又はＤ体であってもよいＡであり；

Ｘ７は、任意の極性アミノ酸であり；

Ｘ８は、任意の酸性アミノ酸であり；

Ｘ９は、任意の脂肪族アミノ酸であり；

Ｘ１０は、任意のアミノ酸であり；

Ｘ１１は、置換基を有していてもよいＮ－メチルフェニルアラニンであり；

Ｘ１２は、任意の脂肪族アミノ酸であり；

Ｘ１３は、任意のアミノ酸であり；

Ｘ１４は、Ｃである

ペプチド、又はその薬学的に許容される塩。

[0020] 上記したペプチドの好ましい例は、ＢＭＰ７の阻害活性を有するペプチド、又はその薬学的に許容される塩である。

[0021] 上記ペプチドの好ましい例は、配列番号３２２－４２１のいずれか１つに記載のアミノ酸配列からなるペプチド、又はその薬学的に許容される塩であるか、

配列番号３２２－４２１のいずれか１つに記載のアミノ酸配列から１～１０個のアミノ酸配列が置換、欠失、付加又は挿入したアミノ酸配列を有し、ＢＭＰ７の阻害活性を有するペプチド、又はその薬学的に許容される塩である。

[0022] 上記したペプチドの好ましい例は、環状ペプチド、又はその薬学的に許容される塩である。

[0023] 上記したペプチドの好ましい例は、クロロアセチル化したアミノ酸と、前記ペプチドに含まれるシステイン残基とが結合された環状構造を有するペプチド、又はその薬学的に許容される塩である。

[0024] 上記したペプチドの好ましい例は、付加的なアミノ酸残基配列をさらに含むペプチド、又はその薬学的に許容される塩である。付加的なアミノ酸残基配列の例は、リンカーである。

[0025] 上記したペプチドの好ましい利用例は、上記したいずれかのペプチド、又はその薬学的に許容される塩を含むＢＭＰ４及び／又はＢＭＰ７シグナル伝達阻害剤である。

[0026] 上記したペプチドの好ましい利用例は、上記したいずれかのペプチド、又はその薬学的に許容される塩を含む、ヒト幹細胞分化誘導制御剤である。

[0027] 上記したペプチド、又はその薬学的に許容される塩、ＢＭＰ４及び／又はＢＭＰ７シグナル伝達阻害剤及びヒト幹細胞分化誘導制御剤の好ましい利用例は、これらのうちいずれか１種又は２種以上を含む、培地添加物である。これらを培養培地に添加することで、対象のＢＭＰ４及び／又はＢＭＰ７シグナル伝達を阻害したり、ヒト幹細胞の分化誘導を制御したりできる。

[0028] 上記したペプチド、又はその薬学的に許容される塩の好ましい利用例は、上記したいずれかのペプチド、又はその薬学的に許容される塩を用いて、ＢＭＰ４及び／又はＢＭＰ７のシグナル伝達活性を阻害する方法である。例えば、対象（例えば、ヒト又は非ヒト動物）に上記したいずれかのペプチドを投与することで、対象におけるＢＭＰ４及び／又はＢＭＰ７のシグナル伝達活性を阻害できる。また，試験管内やインビボ実験において、上記したいずれかのペプチドを対象細胞に投与することで、対象細胞におけるＢＭＰ４及び／又はＢＭＰ７のシグナル伝達活性を阻害できる。

[0029] 上記したペプチド、又はその薬学的に許容される塩の好ましい利用例は、上記したいずれかのペプチド、又はその薬学的に許容される塩を用いて、ヒト幹細胞の分化誘導を制御する方法である。例えば、対象（例えば、ヒト）に上記したいずれかのペプチド、又はその薬学的に許容される塩を投与することで、対象におけるヒト幹細胞の分化誘導を制御できる。また試験管内やインビボ実験において、上記したいずれかのペプチドを対象細胞に投与することで、対象細胞における、ヒト幹細胞の分化誘導を制御できる。

発明の効果

[0030] 本発明のペプチド、又はその薬学的に許容される塩は、ＢＭＰ４結合能、ＢＭＰ４の阻害活性、好ましくは、ＢＭＰ４シグナル伝達阻害活性、より好

ましくは、ヒト幹細胞分化誘導制御活性を有する。本発明のペプチド、又はその薬学的に許容される塩は、ＢＭＰ７シグナル伝達阻害活性、好ましくは、ヒト幹細胞分化誘導制御活性を有する。本発明のペプチド、又はその薬学的に許容される塩は、ヒト幹細胞の培養用培地等に使用することができる。

図面の簡単な説明

[0031] [図1]図１は、本発明のペプチド及びＮｏｇｇｉｎを用いた、ＳＭＡＤ１のリン酸化によるＢＭＰシグナル伝達阻害評価の結果を示すグラフである。ＡはＢＭＰ４シグナル伝達阻害評価結果を、ＢはＢＭＰ７シグナル伝達阻害評価結果を示す。図中、黒三角はＢＭＰ４シグナル伝達阻害ペプチドＮｏ．１７７、白三角はＢＭＰ４シグナル伝達阻害ペプチドＮｏ．１８１、白丸はＢＭＰ４シグナル伝達阻害ペプチドＮｏ．８７、黒四角はＮｏｇｇｉｎを示す。横軸はペプチドの濃度（ｎＭ）を，縦軸は、無刺激状態のＳＭＡＤ１のリン酸化値を１００％阻害、ＢＭＰにより誘導されるＳＭＡＤ１のリン酸化の最大値を０％阻害したときの、阻害率を示す。

[図2]図２は、本発明のペプチド及びＮｏｇｇｉｎを用いた、ＳＭＡＤ１のリン酸化によるＢＭＰファミリーシグナル伝達阻害評価の結果を示すグラフである。図中の三角はＢＭＰ４シグナル伝達阻害ペプチドＮｏ．１７７、四角はＮｏｇｇｉｎを示す。横軸はペプチドの濃度（ｎＭ）を，縦軸は、無刺激状態のＳＭＡＤ１のリン酸化値を１００％阻害、ＢＭＰにより誘導されるＳＭＡＤ１のリン酸化の最大値を０％阻害したときの、阻害率を示す。

発明を実施するための形態

[0032] １．略語

本明細書において、特に明記しない限り、以下の略語は下記の意味で使用される。

<u>略語（一般）</u>

オングストローム（単位）としてÅ；

ウシ血清アルブミンとしてＢＳＡ；

ｔｅｒｔ－ブトキシカルボニル基としてＢｏｃ；

クロロアセチルとしてＣＩＡｃ；

ジクロロメタン又は塩化メチレンとしてＤＣＭ；

Ｎ、Ｎ’－ジイソプロピルカルボジイミドとしてＤＩＰＣＩ；

Ｎ、Ｎ－ジイソプロピルエチルアミンとしてＤＩＰＥＡ又はＤＩＥＡ；

ジメチルスルホキシドとしてＤＭＳＯ；

Ｎ、Ｎ－ジメチルホルムアミドとしてＤＭＦ；

３、６－ジオキサ－１、８－オクタンジチオールとしてＤＯＤＴ；

ダルベッコ改変イーグル培地としてＤＭＥＭ；

５０％効果濃度としてＥＣ５０；

ウシ胎児血清としてＦＢＳ；

９－フルオレニルメチルオキシカルボニルとしてＦｍｏｃ；

グラム（単位）としてｇ；

Ｏ－（７－アザベンゾトリアゾール－１－イル）－Ｎ、Ｎ、Ｎ’、Ｎ’－テトラメチルウロニウムヘキサフルオロりん酸塩としてＨＡＴＵ；

高速液体クロマトグラフィーとしてＨＰＬＣ；

液体クロマトグラフィー質量分析計としてＬＣ－ＭＳもしくはＬＣ／ＭＳ；

モーラー（単位）としてＭ；

ミリグラム（単位）としてｍｇ；

ミリリットル（単位）としてｍＬ；

ミリモーラー（単位）としてｍＭ；

アセトニトリルとしてＭｅＣＮ；

分（単位）としてｍｉｎ；

ミリメートル（単位）としてｍｍ；

Ｏ－３－メチル－ペント－３－イル基としてＭｐｅ基；

Ｎ－ヒドロキシコハク酸イミドとしてＮＨＳ；

ナノメートル（単位）としてｎｍ；

マイクロリットル（単位）としてμＬ；

スクシンイミドとしてＯＳｕ；

２、２、４、６、７－ペンタメチルジヒドロベンゾフラン－５－スルホニル基としてＰｂｆ；

ポリエチレングリコールとしてＰＥＧ；

回転毎分（単位）としてｒｐｍ；

ｔｅｒｔ－ブチル基としてｔＢｕ；

トリフルオロ酢酸としてＴＦＡ；

トリイソプロピルシランとしてＴＩＳ；

トリチル基としてＴｒｔまたはＴｒ。

[0033] 略語（非天然アミノ酸）

以下の非天然アミノ酸に関する略語は、主鎖のアミノ基がＢｏｃ基やＦｍｏｃ基等の一般的な保護基で保護されているものも含む。

３Ｐｙ６ＮＨ２、または３Ｐｙ６－ＮＨ２：（Ｓ）－２－アミノ－３－（６－アミノピリジン－３－イル）プロパン酸（ＣＡＳ番号：１２６９９６８－６１－７）；

Ａｉｂ：２－アミノ－２－メチルプロパン酸（ＣＡＳ番号：６２－５７－７）；

ａＭｅＰ：（Ｓ）－２－メチルピロリジン－２－カルボン酸（ＣＡＳ番号：４２８５６－７１－３）；

Ａｚｅ：（Ｓ）－アゼチジン－２－カルボン酸（ＣＡＳ番号：２１３３－３４－８）；

Ｃｉｔ：Ｌ－シトルリン（ＣＡＳ番号：３７２－７５－８）；

Ｆ３ａａ：（Ｓ）－２－アミノ－３－（３－（カルボキシメチル）フェニル）プロパン酸（ＣＡＳ番号：１２７０１０７－３１－７）；

Ｆ４４ｐｉｐ　（Ｓ）－２－アミノ－３－（４－（ピペリジン－４－イル）フェニル）プロパン酸（ＣＡＳ番号：１８８８７０５－９８－３）；

Ｆ４Ｇ：（Ｓ）－２－アミノ－３－（４－グアニジノフェニル）プロパン酸（ＣＡＳ番号：５９５７４－１１－７）；

Ｈｃｉｔ：Ｎ６－カルバモイル－Ｌ－リシン（ＣＡＳ番号：１１９０－４

９－４）；

Ｈｐｈ：（Ｓ）－２－アミノ－４－フェニルブタン酸（ＣＡＳ番号：９４３－７３－７）；

Ｈｐｒ：（Ｓ）－ピペリジン－２－カルボン酸（ＣＡＳ番号：３１０５－９５－１）；

Ｈｔｙ：ホモ－Ｌ－チロシン（ＣＡＳ番号：２２１２４３－０１－２）；

５Ｉｎｄ：（Ｓ）－２－アミノ－３－（１Ｈ－インドール－５－イル）プロパン酸（ＣＡＳ番号：４６００９６－３８－２）；

ＫＣＯｐｉｐｚａａ：Ｎ６－（４－（カルボキシメチル）ピペラジン－１－カルボニル）－Ｌ－リシン（キシダ化学株式会社）；

ＭｅＡ：Ｎ－メチル－Ｌ－アラニン（ＣＡＳ番号：３９１３－６７－５）；

ＭｅＫＣＯｐｉｐｚａａ：Ｎ６－（４－（カルボキシメチル）ピペラジン－１－カルボニル）－Ｎ２－メチル－Ｌ－リシン（キシダ化学株式会社）；

ＭｅＶ：Ｎ－メチル－Ｌ－バリン（ＣＡＳ番号： ２４８０－２３－１）；

Ｐ４Ｆ２：（Ｓ）－４、４－ジフルオロピロリジン－２－カルボン酸（ＣＡＳ番号：５２６８３－８１－５）；

Ｐｃ４Ｆ：（２Ｓ、４Ｓ）－４－フルオロピロリジン－２－カルボン酸（ＣＡＳ番号：２４３８－５７－５）；

Ｐｔ４Ｆ：（２Ｓ、４Ｒ）－４－フルオロピロリジン－２－カルボン酸（ＣＡＳ番号：２５０７－６１－１）；

Ｗ７Ｎ：（Ｓ）－２－アミノ－３－（１Ｈ－ピロロ［２、３－ｂ］ピリジン－３－イル）プロパン酸（ＣＡＳ番号：４９７５８－３５－２）；

Ｙ３ＣＯＯ：（Ｓ）－５－（２－アミノ－２－カルボキシエチル）－２－ヒドロキシ安息香酸（ＣＡＳ番号：４３０３－９５－１）；

Ｙ３ＣＯＮｍｍ：（Ｓ）－２－アミノ－３－（４－ヒドロキシ－３－（メ

チルカルバモイル）フェニル）プロパン酸；

ＯＣＯｍＰＥＧ１００００：メトキシポリエチレングリコールカーボネート（平均分子量１０，０００）；

ＰＥＧ１２Ｍｅ：２，５，８，１１，１４，１７，２０，２３，２６，２９，３２，３５－ドデカオキサヘプタトリアコンタン－３７－アミン；３Ｐｙ　（Ｓ）－２－アミノ－３－（ピリジン－３－イル）プロパン酸（ＣＡＳ番号：６４０９０－９８－８）；

３Ｐｙ６Ｐｈ　（Ｓ）－２－アミノ－３－（６－フェニルピリジン－３－イル）プロパン酸（ＣＡＳ番号：１３３５５６６－０７－８）；

４Ｐｙ　３－（４－ピリジル）－Ｌ－アラニン（ＣＡＳ番号：３７５３５－４９－２）；

４Ｐｙ２ＮＨ２　（Ｓ）－２－アミノ－３－（２－アミノピリジン－４－イル）プロパン酸（ＣＡＳ番号：１２６９９６９－４６－１）；

Ａ１Ａｃ４ｐｉｐ　（Ｓ）－３－（１－アセチルピペリジン－４－イル）－２－アミノプロパン酸（ＣＡＳ番号：２３４９６６６－５９－５）；

Ａｂｕ　（Ｓ）－２－アミノブタン酸（ＣＡＳ番号：１４９２－２４－６）；

Ａｃｐｅ　（Ｓ）－２－アミノ－３－シクロペンチルプロパン酸（ＣＡＳ番号：９９２９５－８２－６）；

Ａｈｐ　（Ｓ）－２－アミノヘプタン酸（ＣＡＳ番号：４４９０２－０２－５）Ａｔｐ　（２Ｓ）－２－アミノ－３－（オキサン－４－イル）プロパン酸（ＣＡＳ番号：１３４４９１０－９１－３）；

ｂＡ　３－アミノプロピオン酸（ＣＡＳ番号：１０７－９５－９）Ｂｐｈ　（Ｓ）－３－（［1，1’－ビフェニル］－４－イル）－２－アミノプロパン酸（ＣＡＳ番号：１５５７６０－０２－４）；

Ｂｐｈ３Ｃ　（Ｓ）－２－アミノ－３－（３’－クロロ－［1，1’－ビフェニル］－４－イル）プロパン酸（Ｆｍｏｃ保護体　ＣＡＳ番号：１３８０４３７－４７－７）；

Ｂｐｈ３Ｆ　（Ｓ）－２－アミノ－３－（３’－フルオロ－［１，１’－ビフェニル］－４－イル）プロパン酸（ＣＡＳ番号：１３８０４３７－４１－１）；

Ｂｐｈ３Ｍｅ　（Ｓ）－２－アミノ－３－（３’－メチル－［１，１’－ビフェニル］－４－イル）プロパン酸（ＣＡＳ番号：１２４１６８０－６７－０）；

Ｂｐｈ３ＯＭｅ　（Ｓ）－２－アミノ－３－（３’－メトキシ－［１，１’－ビフェニル］－４－イル）プロパン酸（ＣＡＳ番号：１４１７３１６－７０－１）；

Ｂｐｈ４Ｃ　（Ｓ）－２－アミノ－３－（４’－クロロ－［１，１’－ビフェニル］－４－イル）プロパン酸（ＣＡＳ番号：１２７００９７－８５－２）；

Ｂｐｈ４Ｆ　（Ｓ）－２－アミノ－３－（４’－フルオロ－［１，１’－ビフェニル］－４－イル）プロパン酸（ＣＡＳ番号：２２３０８７０－０７－０）；

Ｃｂａ　（Ｓ）－２－アミノ－３－シクロブチルプロパン酸（ＣＡＳ番号：１２０１５９３－６５－８）；

ＣＦ３Ａ　（Ｓ）－２－アミノ－４，４，４－トリフルオロブタン酸（ＣＡＳ番号：１５９６０－０５－１）；

Ｃｈａ　（Ｓ）－２－アミノ－３－シクロヘキシルプロパン酸（ＣＡＳ番号：２７５２７－０５－５）；

Ｃｈａ４ｔＨ　（Ｓ）－２－アミノ－３－（（１ｒ，４Ｓ）－４－ヒドロキシシクロヘキシル）プロパン酸（ＣＡＳ番号：２２１２４３－２２－７）；

Ｃｈｇ　（Ｓ）－２－アミノ－２－シクロヘキシル酢酸（ＣＡＳ番号：１４３２８－５１－９）；

ｄａ　Ｄ－アラニン（ＣＡＳ番号：３３８－６９－２）；

ｄｅ　Ｄ－グルタミン酸（ＣＡＳ番号：６８９３－２６－１）；

ｄｓ　Ｄ－セリン（ＣＡＳ番号：３１２－８４－５）；

Ｆ３Ｃ　（Ｓ）－２－アミノ－３－（３－クロロフェニル）プロパン酸（ＣＡＳ番号：８０１２６－５１－８）；

Ｆ３Ｍｅ　（Ｓ）－２－アミノ－３－（ｍ－トルイル）プロパン酸（１１４９２６－３７－３）；

Ｆ４２Ｐｙ　（Ｓ）－２－アミノ－３－（４－（ピリジン－２－イル）フェニル）プロパン酸（ＣＡＳ番号：１３３６２０７－４７－６）；

Ｆ４３Ｐｙ　（Ｓ）－２－アミノ－３－（４－（ピリジン－３－イル）フェニル）プロパン酸（ＣＡＳ番号：９１６９１１－７４－５）；

Ｆ４４Ｐｙ　（Ｓ）－２－アミノ－３－（４－（ピリジン－４－イル）フェニル）プロパン酸（Ｆｍｏｃ保護体　ＣＡＳ番号：１２８２０４２－５６－１）；

Ｆ４４ｔｈｐ　（Ｓ）－２－アミノ－３－（４－（テトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）フェニル）プロパン酸（メチルエステル保護体　ＣＡＳ番号：９３８１９７－４８－９）；

Ｆ４ａａｏ　（Ｓ）－２－アミノ－３－（４－（カルボキシメトキシ）フェニル）プロパン酸（ＣＡＳ番号：２４５５８－６３－２）；

Ｆ４Ｃ　（Ｓ）－２－アミノ－３－（４－クロロフェニル）プロパン酸（ＣＡＳ番号：１４１７３－３９－８）；

Ｆ４ＣＯＯ　（Ｓ）－４－（２－アミノ－２－カルボキシエチル）安息香酸（ＣＡＳ番号：１２６１０９－４２－０）；

Ｆ４Ｆ　（Ｓ）－２－アミノ－３－（４－フルオロフェニル）プロパン酸（ＣＡＳ番号：１１３２－６８－９）；

Ｆ４Ｍｅ　（Ｓ）－２－アミノ－３－（ｐ－トルイル）プロパン酸（ＣＡＳ番号：１９９１－８７－３）；

Ｇｃｐｒ　（Ｓ）－２－アミノ－２－シクロプロピル酢酸（ＣＡＳ番号：４９６０６－９９－７）；

Ｇｔｈｐ　（Ｓ）－２－アミノ－２－（テトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４

ーイル）酢酸（ＣＡＳ番号：８１１８４２－２５－８）；

Ｈｇｌ　Ｌ－２－アミノアジピン酸（ＣＡＳ番号：１１１８－９０－７）；

Ｈｇｎ　（Ｓ）－２，６－ｄｉアミノ－６－オキソヘキサン酸（ＣＡＳ番号：７４３３－３２－１）；

Ｈｔｙ　ホモ－Ｌ－チロシン（ＣＡＳ番号：２２１２４３－０１－２）

Ｈｙｐ　（２Ｓ，４Ｒ）－４－ヒドロキシピロリジン－２－カルボン酸（ＣＡＳ番号：５１－３５－４）；

ＫＣＯｐｉｐｚａａ　Ｎ６－（４－（カルボキシメチル）ピペラジン－１－カルボニル）－Ｌ－リシン（Ｆｍｏｃ保護／ｔｅｒｔ－ブチルエステル保護体　ＣＡＳ番号：２６８０６０７－３４－３）；

ＭｅＦ　メチル－Ｌ－フェニルアラニン（ＣＡＳ番号：２５６６－３０－５）；

ＭｅＦ３Ｃ　（Ｓ）－３－（３－クロロフェニル）－２－（メチルアミノ）プロパン酸（ＣＡＳ番号：２２５５３２４－９１－３）；

ＭｅＦ３Ｍｅ　（Ｓ）－２－（メチルアミノ）－３－（ｍ－トルイル）プロパン酸（Ｆｍｏｃ保護体　ＣＡＳ番号：２６４２３３１－２０－０）；

ＭｅＦ４Ｃ　（Ｓ）－３－（４－クロロフェニル）－２－（メチルアミノ）プロパン酸（ＣＡＳ番号：３４７８５１－７０－１）；

ＭｅＦ４Ｍｅ　（Ｓ）－２－（メチルアミノ）－３－（ｐ－トルイル）プロパン酸（ＣＡＳ番号：２３０７７８２－２５－６）；

ＭｅＹ　メチル－Ｌ－チロシン（ＣＡＳ番号：５３７－４９－５）；

Ｐ４Ｓｈ　（２Ｓ，４Ｓ）－４－ヒドロキシピロリジン－２－カルボン酸（ＣＡＳ番号：６１８－２７－９）；

ｐＢｐｈ２Ｆ　（Ｓ）－２－アミノ－３－（２－フルオロ－［１，１’－ビフェニル］－４－イル）プロパン酸（ＣＡＳ番号：１３８９９００－８８－２）；

ｐＢｐｈ３Ｆ　（Ｓ）－２－アミノ－３－（３－フルオロ－［１，１’－

ビフェニル］－４－イル）プロパン酸。

[0034] ２．ペプチド（Ａ）

本発明の一態様は、ペプチド、又はその薬学的に許容される塩に関する。一態様において、本発明のペプチドは、以下のアミノ酸配列：

Ｅ－Ｒ－Ｖ－Ｆ４ＣＯＯ－Ａｔｐ－Ｄ－Ｒ－Ｂｐｈ－Ｐ－Ｙ－Ｐ－Ｂｐｈ－Ｙ－Ｆ４ＣＯＯ－Ｆ４ＣＯＯ－Ｓ－Ｃ（配列番号１）

あるいは、上記のアミノ酸配列の１番目、２番目、４番目、５番目、６番目、７番目、８番目、９番目、１０番目、１１番目、１２番目、１３番目、１４番目、１５番目及び１６番目のアミノ酸残基からなるグループから選択される、１－１５個のアミノ酸残基において、置換、付加、欠失又は挿入を有するアミノ酸配列を含む。

[0035] Ｅ－Ｒ－Ｖ－Ｆ４ＣＯＯ－Ａｔｐ－Ｄ－Ｒ－Ｂｐｈ－Ｐ－Ｙ－Ｐ－Ｂｐｈ－Ｙ－Ｆ４ＣＯＯ－Ｆ４ＣＯＯ－Ｓ－Ｃ（配列番号１）は、本願明細書の実施例において、ＢＭＰ結合活性を有することが確認されたペプチドである。

配列番号１のアミノ酸配列の１番目、２番目、４番目、５番目、６番目、７番目、８番目、９番目、１０番目、１１番目、１２番目、１３番目、１４番目、１５番目及び１６番目のアミノ酸残基からなるグループから選択される、１－１５個のアミノ酸残基において、置換、付加、欠失又は挿入を有していてもよい。アミノ酸の置換、欠失、付加及び／又は挿入されたアミノ酸の数は、１個以上１０個以下であればよく、その下限は１個である。その上限は１０個、９個、８個、７個、６個、５個、４個、３個、２個であり、最小１個である。好ましくは、アミノ酸の「置換」である。かかるアミノ酸の置換は、好適には保存的アミノ酸置換である。

[0036] 「保存的アミノ酸置換（ｃｏｎｓｅｒｖａｔｉｖｅ ａｍｉｎｏ ａｃｉｄ ｓｕｂｓｔｉｔｕｔｉｏｎ）」とは、機能的に等価又は類似のアミノ酸との置換を意味する。ペプチドにおける保存的アミノ酸置換は、通常、当該ペプチドの機能及び／又は活性に影響を及ぼさない。一般に、あるグループ内の置換は構造及び機能について保存的であると考えることができる。しか

しながら、当業者には自明であるように、特定のアミノ酸残基が果たす役割は当該アミノ酸を含む分子の三次元構造における意味合いにおいて決定され得る。例えば、システイン残基は、還元型の（チオール）フォームと比較してより極性の低い、酸化型の（ジスルフィド）フォームをとることができる。アルギニン側鎖の長い脂肪族の部分は構造的及び機能的に重要な特徴を構成し得る。また、芳香環を含む側鎖（トリプトファン、チロシン、フェニルアラニン）はイオン－芳香族相互作用又は陽イオン－ｐｉ相互作用に寄与し得る。かかる場合において、これらの側鎖を有するアミノ酸を、酸性又は非極性グループに属するアミノ酸と置換しても、構造的及び機能的には保存的であり得る。プロリン、グリシン、システイン（ジスルフィド・フォーム）等の残基は主鎖の立体構造に直接的な効果を与える可能性があり、しばしば構造的ゆがみなしに置換することはできない。

[0037] 保存的アミノ酸置換は、以下に示すとおり、側鎖の類似性に基づく特異的置換（例えば、レーニンジャー、生化学、改訂第２版、１９７５年刊行、７３－７５頁：Ｌ．Ｌｅｈｎｉｎｇｅｒ、Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ、２ｎｄ ｅｄｉｔｉｏｎ、ｐｐ７３－７５、Ｗｏｒｔｈ Ｐｕｂｌｉｓｈｅｒ、Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ（１９７５）に記載の置換）及び典型的置換を含む。また、保存的アミノ酸置換は、例えば、以下のように天然のアミノ酸をその共通する側鎖の性質に基づいて分けたグループにおいて、あるアミノ酸が属するグループと同じグループに属するアミノ酸への置換が好ましい。

[0038] 疎水性（非極性とも言う）アミノ酸：疎水性（非極性）を示すアミノ酸であって、アラニン（「Ａｌａ」又は単に「Ａ」とも記す）、グリシン（「Ｇｌｙ」又は単に「Ｇ」とも記す）、バリン（「Ｖａｌ」又は単に「Ｖ」とも記す）、ロイシン（「Ｌｅｕ」又は単に「Ｌ」とも記す）、イソロイシン（「Ｉｌｅ」又は単に「Ｉ」とも記す）、プロリン（「Ｐｒｏ」又は単に「Ｐ」とも記す）、フェニルアラニン（「Ｐｈｅ」又は単に「Ｆ」とも記す）、トリプトファン（「Ｔｒｐ」又は単に「Ｗ」とも記す）、チロシン（「Ｔｙｒ」又は単に「Ｙ」とも記す）、メチオニン（「Ｍｅｔ」又は単に「Ｍ」

とも記す）を含む。

なお、疎水性アミノ酸はさらに以下のグループに分けることもできる。

脂肪族アミノ酸：側鎖に脂肪酸又は水素を有するアミノ酸であって、Ａｌａ、Ｇｌｙ、Ｖａｌ、Ｉｌｅ、Ｌｅｕを含む。

脂肪族・分岐鎖アミノ酸：側鎖に分岐型脂肪酸を有するアミノ酸であって、Ｖａｌ、Ｉｌｅ、Ｌｅｕを含む。

芳香族アミノ酸：側鎖に芳香環を有するアミノ酸であって、Ｔｒｐ、Ｔｙｒ、Ｐｈｅを含む。

[0039] 親水性（極性とも言う）アミノ酸：親水性（極性）を示すアミノ酸であって、セリン（「Ｓｅｒ」又は単に「S」とも記す）、スレオニン（「Ｔｈｒ」又は単に「T」とも記す）、システイン（「Ｃｙｓ」又は単に「C」とも記す）、アスパラギン（「Ａｓｎ」又は単に「N」とも記す）、グルタミン（「Ｇｌｎ」又は単に「Q」とも記す）、アスパラギン酸（「Ａｓｐ」又は単に「D」とも記す）、グルタミン酸（「Ｇｌｕ」又は単に「E」とも記す）、リジン（リシンとも記す。「Ｌｙｓ」又は単に「K」とも記す）、アルギニン（「Ａｒｇ」又は単に「R」とも記す）、ヒスチジン（「Ｈｉｓ」又は単に「H」とも記す）を含む。

なお、親水性アミノ酸はさらに以下のグループに分けることもできる。

酸性アミノ酸：側鎖が酸性を示すアミノ酸であって、Ａｓｐ、Ｇｌｕを含む。

塩基性アミノ酸：側鎖が塩基性を示すアミノ酸であって、Ｌｙｓ、Ａｒｇ、Ｈｉｓを含む。

[0040] 中性アミノ酸：側鎖が中性を示すアミノ酸であって、Ｓｅｒ、Ｔｈｒ、Ａｓｎ、Ｇｌｎ、Ｃｙｓを含む。

また、Ｇｌｙ及びＰｒｏについては、「主鎖の方角に影響を与えるアミノ酸」に分けることもでき、側鎖に硫黄分子を含むアミノ酸、Ｃｙｓ及びＭｅｔは、「含硫アミノ酸」に分けることもできる。

[0041] 本明細書において、「アミノ酸」は、天然のアミノ酸のみならず、非天然

のアミノ酸も含む。非天然のアミノ酸には、例えば、上記記載した天然のアミノ酸がＮ－アルキル化されたＮ－アルキルアミノ酸、ペプチド結合を形成する窒素が分岐した若しくは分岐しない低級（例えば、Ｃ１－Ｃ５の、好ましくは、Ｃ１－Ｃ３、より好ましくはＣ１）のアルキル基で修飾されたもの、が含まれる。Ｎ－アルキルアミノ酸においては、好ましくはＮ－エチルアミノ酸、Ｎ－ブチルアミノ酸又はＮ－メチルアミノ酸であり、さらに好ましくはＮ－メチルアミノ酸である。また、非天然のアミノ酸には、Ｄ型アミノ酸（Ｄ－アミノ酸とも記する）、β－アミノ酸、γ－アミノ酸、アミノ酸変異体、アミノ酸誘導体等の化学修飾されたアミノ酸、ノルロイシンやオルニチン等の生体内でタンパク質の構成材料とならないアミノ酸などが含まれる。さらに、天然のアミノ酸の側鎖に官能基がさらに付加された又は別の官能基に置換されたアミノ酸（例えば、側鎖のアリーレン基、アルキレン基等の部分に置換や付加を有するアミノ酸、側鎖のアリーレン基、アルキレン基やアルキル基のＣ数が増加したアミノ酸、側鎖の芳香環に置換を有するアミノ酸や、複素環化や縮合環化したアミノ酸など）が含まれる。

[0042] なお、天然のアミノ酸の側鎖に官能基等の構造が付加又は置換等されることで、天然のアミノ酸とは異なる性質を付与することができる。例えば、Ａ４ｐはアラニンの側鎖にピペリジル基を有するアミノ酸であるが、当該ピペリジル基が付加されたことで、非極性アミノ酸グループに属するアラニンとは異なり、塩基性を有する極性アミノ酸の性質を示す。すなわち、天然のアミノ酸をその共通する側鎖の性質に基づいて分けた、前述のグループに、同様の側鎖の性質を有する非天然アミノ酸を含めることが出来る。例えば、塩基性アミノ酸に属するアルギニンの主鎖窒素原子がメチル化されたアミノ酸であるＮ－メチルアルギニン（ＭｅＲ）は、非天然アミノ酸であるが、塩基性を示すため、塩基性アミノ酸に分類することができる。このように、あるアミノ酸と同様の側鎖の性質を示す非天然アミノ酸についても、保存的アミノ酸置換の対象として含むことができる。なお、ｄｅなどのＤ－アミノ酸は、Ｄ－アミノ酸として分類することもできるが、その側鎖の性質に従い分類

することもでき、Ｎ－メチルアミノ酸については、Ｎ－アルキルアミノ酸として分類することもでき、Ｎ－メチル化されていない元のアミノ酸の側鎖の性質に従い分類することもできる。

本明細書において、「非限定的に」、「一態様において」は、同義に用いられ得る。

[0043] 「その薬学的に許容される塩」は、いずれかのペプチドの塩を意味する。薬学的に許容される塩の例は、硫酸、塩酸、燐酸などの鉱酸との塩、酢酸、シュウ酸、乳酸、酒石酸、フマール酸、マレイン酸、メタンスルホン酸、トリフルオロメタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸などの有機酸との塩、トリメチルアミン、メチルアミンなどのアミンとの塩、又はナトリウムイオン、カリウムイオン、カルシウムイオンなどの金属イオンとの塩である。経時変化により、水分を含有することとなった化合物については、そのような水分も薬学的に許容される塩に含まれる。

[0044] 本発明の前記ペプチドは、以下に記載する、グループＡ１に属するペプチド、グループＡ２に属するペプチド、グループＡ３に属するペプチド、及びグループＡ４に属するペプチドを含む。

[0045] グループＡ１に属する本発明のペプチドは、一態様において、

以下のアミノ酸配列：

Ｅ－Ｒ－Ｖ－Ｆ４ＣＯＯ－Ａｔｐ－Ｄ－Ｒ－Ｂｐｈ－Ｐ－Ｙ－Ｐ－Ｂｐｈ－Ｙ－Ｆ４ＣＯＯ－Ｆ４ＣＯＯ－Ｓ－Ｃ（配列番号１）、

又は、上記のアミノ酸配列において、以下の（１－ｉ）～（１－ｘｉｉ）から選択される５つ以下のアミノ酸置換を有するアミノ酸配列を含む、ペプチドである。

（１－ｉ）配列番号１に記載のアミノ酸配列の１番目がＡに置換。

（１－ｉｉ）配列番号１に記載のアミノ酸配列の２番目が任意の極性アミノ酸に置換。

（１－ｉｉｉ）配列番号１に記載のアミノ酸配列の４番目が非置換の若しくは置換されたＹに置換。

（１－ｉｖ）配列番号１に記載のアミノ酸配列の５番目がＶに置換。

（１－ｖ）配列番号１に記載のアミノ酸配列の６番目がＫＣＯｐｉｐｚａａに置換。

（１－ｖｉ）配列番号１に記載のアミノ酸配列の９番目がＳに置換。

（１－ｖｉｉ）配列番号１に記載のアミノ酸配列の１０番目がＨｔｙに置換。

（１－ｖｉｉｉ）配列番号１に記載のアミノ酸配列の１１番目が任意の脂肪族アミノ酸に置換。

（１－ｉｘ）配列番号１に記載のアミノ酸配列の１２番目が置換されたＢｐｈに置換。

（１－ｘ）配列番号１に記載のアミノ酸配列の１３番目がＦ４Ｆに置換。

（１－ｘｉ）配列番号１に記載のアミノ酸配列の１５番目が４Ｐｙに置換。

（１－ｘｉｉ）配列番号１に記載のアミノ酸配列の１６番目がＳを除く任意のアミノ酸に置換。

限定されるものではないが、上記（１－ｉｉ）の任意の極性アミノ酸は、Ｈｃｉｔ又はＫＣＯｐｉｐｚａａであってよく、上記（１－ｉｉｉ）の非置換の若しくは置換されたＹは、非置換のＹであってよく、上記（１－ｖｉｉｉ）の任意の脂肪族アミノ酸は、Ｖであってよく、上記（１－ｘｉｉ）のＳを除く任意のアミノ酸は、Ｈであってよい。

また、限定されるものではないが、グループＡ１に属する本発明のペプチドは、配列番号１に記載のアミノ酸配列において、上記（１－ｉ）～（１－ｘｉｉ）から選択される４つ以下、３つ以下、２つ以下又は１つのアミノ酸置換を有するアミノ酸配列を含むペプチドであってよい。

[0046] また、グループＡ２に属する本発明のペプチドは、一態様において、

以下のアミノ酸配列：

Ｅ－Ｒ－Ｖ－Ｙ－Ｖ－Ｄ－Ｒ－３Ｐｙ６Ｐｈ－Ｓ－Ｙ－Ｖ－Ｂｐｈ－Ｙ－Ｆ４ＣＯＯ－Ｆ４ＣＯＯ－Ｓ－Ｃ（配列番号２）、

あるいは、上記のアミノ酸配列において、以下の（２－ｉ）～（２－ｘｉ）

から選択される５つ以下のアミノ酸置換を有するアミノ酸配列を含む、ペプチド。

（２－ｉ）配列番号２に記載のアミノ酸配列の１番目がＡに置換。

（２－ｉｉ）配列番号２に記載のアミノ酸配列の２番目がＫＣＯｐｉｐｚａａに置換。

（２－ｉｉｉ）配列番号２に記載のアミノ酸配列の４番目がＦ４Ｆ又はＦ４ＣＯＯに置換。

（２－ｉｖ）配列番号２に記載のアミノ酸配列の６番目がＫＣＯｐｉｐｚａａに置換。

（２－ｖ）配列番号２に記載のアミノ酸配列の７番目がＫに置換。

（２－ｖｉ）配列番号２に記載のアミノ酸配列の８番目がＢｐｈに置換。

（２－ｖｉｉ）配列番号２に記載のアミノ酸配列の９番目がＰ又はＫＣＯｐｉｐｚａａに置換。

（２－ｖｉｉｉ）配列番号２に記載のアミノ酸配列の１１番目が任意の脂肪族アミノ酸に置換。

（２－ｉｘ）配列番号２に記載のアミノ酸配列の１２番目が置換されたＢｐｈに置換。

（２－ｘ）配列番号２に記載のアミノ酸配列の１３番目が置換されたＦに置換。

（２－ｘｉ）配列番号２に記載のアミノ酸配列の１５番目が４Ｐｙに置換。

限定されるものではないが、上記（２－ｖｉｉｉ）の任意の脂肪族アミノ酸は、Ｐ、Ｈｙｐ、Ｐ４Ｓｈ、Ｐｃ４Ｆ、Ｐｔ４Ｆ、Ｐ４Ｆ２又はａＭｅＰＶであってよく、上記（２－ｘ）の置換されたＦは、Ｆ４Ｆであってよい。

また、限定されるものではないが、グループＡ２に属する本発明のペプチドは、配列番号２に記載のアミノ酸配列において、上記の（２－ｉ）～（２－ｘｉ）から選択される４つ以下、３つ以下、２つ以下又は１つのアミノ酸置換を有するアミノ酸配列を含むペプチドであってよい。

[0047] また、グループＡ３に属する本発明のペプチドは、一態様において、

以下のアミノ酸配列：

Ａ－Ｒ－Ｖ－Ｙ－Ｖ－Ｄ－Ｒ－Ｂｐｈ－Ｐ－Ｙ－Ａ－Ｂｐｈ－Ｙ－Ｆ４ＣＯＯ－Ｆ４ＣＯＯ－Ｓ－Ｃ（配列番号３）、

あるいは、上記のアミノ酸配列において、以下の（３－ｉ）～（３－ｘ）から選択される５つ以下のアミノ酸置換を有するアミノ酸配列を含む、ペプチド。

（３－ｉ）配列番号３に記載のアミノ酸配列の２番目がＫ、ＫＡｃ、Ｑ又はＫＣＯｐｉｐｚａａに置換。

（３－ｉｉ）配列番号３に記載のアミノ酸配列の４番目がＦ４Ｆ又は４Ｐｙに置換。

（３－ｉｉｉ）配列番号３に記載のアミノ酸配列の６番目がＫＣＯｐｉｐｚａａ、Ｋ、Ｒ、Ｇ又はＨに置換。

（３－ｉｖ）配列番号３に記載のアミノ酸配列の７番目がＫ、ＫＡｃ、４Ｐｙ、Ｓ又はＣｉｔに置換。

（３－ｖ）配列番号３に記載のアミノ酸配列の８番目が３Ｐｙ６Ｐｈに置換。

（３－ｖｉ）配列番号３に記載のアミノ酸配列の９番目がＳ、Ｋ、Ｈ、Ｇ、Ｓ又はＫＣＯｐｉｐｚａａに置換。

（３－ｖｉｉ）配列番号３に記載のアミノ酸配列の１１番目が任意の脂肪族アミノ酸に置換。

（３－ｖｉｉｉ）配列番号３に記載のアミノ酸配列の１２番目が３Ｐｙ６Ｐｈに置換。

（３－ｉｘ）配列番号３に記載のアミノ酸配列の１３番目がＦ４Ｆに置換。

（３－ｘ）配列番号３に記載のアミノ酸配列の１５番目が４Ｐｙに置換。

限定されるものではないが、上記（３－ｖｉｉ）の任意の脂肪族アミノ酸は、Ｖ、Ｐ又はＡであってよい。

また、限定されるものではないが、グループＡ３に属する本発明のペプチドは、配列番号３に記載のアミノ酸配列において、上記の（３－ｉ）～（３

－ｘ）から選択される４つ以下、３つ以下、２つ以下又は１つのアミノ酸置換を有するアミノ酸配列を含むペプチドであってよい。

また、グループＡ４に属する本発明のペプチドは、一態様において、以下のアミノ酸配列：

Ｆ－Ｇ－ＭｅＦ－Ｇ－Ｂｐｈ－Ｇ－Ｄ－Ｄ－Ｃｈａ－Ａ－ＭｅＦ－Ｌ－Ｈ－Ｃ（配列番号２４１）、

又は、上記のアミノ酸配列において、以下の（４－ｉ）～（４－ｘｉｉ）から選択される４つ以下のアミノ酸置換を有するアミノ酸配列を含む、ペプチドである。

（４－ｉ）配列番号２４１に記載のアミノ酸配列の１番目が置換されたフェニルアラニンに置換。

（４－ｉｉ）配列番号２４１に記載のアミノ酸配列の３番目が置換されたＮ－メチルフェニルアラニンに置換。

（４－ｉｉｉ）配列番号２４１に記載のアミノ酸配列の４番目がｄａ若しくはｄｓに置換。

（４－ｉｖ）配列番号２４１に記載のアミノ酸配列の５番目が、芳香環上のＣがＮに置換されたビフェニルアラニンに置換。

（４－ｖ）配列番号２４１に記載のアミノ酸配列の６番目がＡ若しくはｄａに置換。

（４－ｖｉ）配列番号２４１に記載のアミノ酸配列の７番目がＮに置換。

（４－ｖｉｉ）配列番号２４１に記載のアミノ酸配列の８番目がＥに置換。

（４－ｖｉｉｉ）配列番号２４１に記載のアミノ酸配列の９番目がＡｃｐｅに置換。

（４－ｉｘ）配列番号２４１に記載のアミノ酸配列の１０番目が任意の極性アミノ酸に置換。

（４－ｘ）配列番号２４１に記載のアミノ酸配列の１１番目が置換されたＮ－メチルフェニルアラニンに置換。

（４－ｘｉ）配列番号２４１に記載のアミノ酸配列の１２番目が任意の脂肪

族アミノ酸に置換。

（４－ｘｉｉ）配列番号２４１に記載のアミノ酸配列の１３番目が任意の極性アミノ酸に置換。

限定されるものではないが、上記（４－ｉｘ）の任意の極性アミノ酸は、ＨｇＩ又はＱであってよく、上記（４－ｘｉ）の任意の脂肪族アミノ酸は、側鎖の炭素数が７以下であってよく、上記（４－ｘｉｉ）の任意の極性アミノ酸は、Ｐ４Ｓｈ又はＦ４ＣＯＯであってよい。

また、限定されるものではないが、グループＡ４に属する本発明のペプチドは、配列番号２４１に記載のアミノ酸配列において、上記の（４－ｉ）～（４－ｘｉｉ）から選択される３つ以下、２つ以下又は１つのアミノ酸置換を有するアミノ酸配列を含むペプチドであってよい。

前記ペプチドは、一態様において、環状ペプチドである。「環状ペプチド」については、「３．ペプチド（Ｂ）」で詳述する。

[0048] 前記ペプチドは、配列番号５～１８７、配列番号１８８～２４０、配列番号２４３～３２１、及び配列番号３２２～４２１のアミノ酸配列に加えて、付加的なアミノ酸残基を含んでもよい。「付加的なアミノ酸残基」については、「３．ペプチド（Ｂ）」で詳述する。

[0049] 前記グループＡ１乃至Ａ３に属する本発明のペプチドは、ＢＭＰ４に結合する。グループＡ１に属する本発明のペプチドは、好ましくは、さらにＢＭＰ７に結合する。また、グループＡ２に属する本発明のペプチドは、好ましくは、ＢＭＰ７に結合しない。

[0050] 前記グループＡ１乃至Ａ３に属する本発明のペプチドは、ＢＭＰ４阻害活性を有する。前記ペプチドは、より好ましくは、ヒト幹細胞分化誘導制御活性を有する。「ＢＭＰ４に結合する」、「ＢＭＰ４阻害活性を有する」、「ヒト幹細胞分化誘導制御活性を有する」について、「３．ペプチド（Ｂ）」で詳述する。

前記グループＡ４に属するペプチドは、ＢＭＰ７阻害活性を有する。前記ペプチドは、より好ましくは、ヒト幹細胞分化誘導制御活性を有する。「Ｂ

ＭＰ７阻害活性を有する」、「ヒト幹細胞分化誘導制御活性を有する」について、「３．ペプチド（Ｂ）」で詳述する。

[0051] ３．ペプチド（Ｂ）

本発明の上記とは別の一態様は、以下のペプチド（Ｂ）に関する。

この態様の本発明のペプチドは、以下のアミノ酸配列：

Ｘ１－Ｘ２－Ｘ３－Ｘ４－Ｘ５－Ｘ６－Ｘ７－Ｘ８－Ｘ９－Ｘ１０－Ｘ１１－Ｘ１２－Ｘ１３－Ｘ１４－Ｘ１５－Ｘ１６－Ｃ（配列番号４）

ここにおいて、

Ｘ１は、Ｅ、Ａ、Ｔ又はＱであり；

Ｘ２は、Ｒ、Ｋ、Ｈｇｌ、任意の極性アミノ酸又は任意の脂肪族アミノ酸であり；

Ｘ３は、Ｖであり；

Ｘ４は、複素環であってもよい芳香族環を側鎖に有するアミノ酸であり；

Ｘ５は、任意の脂肪族アミノ酸、Ｙ、Ｄ又はＡｔｐであり；

Ｘ６は、Ｄ、任意の塩基性アミノ酸又は任意の極性アミノ酸であり；

Ｘ７は、任意の塩基性アミノ酸又は任意の極性アミノ酸であり；

Ｘ８は、置換基を有していてもよく、芳香環上のＣがＮに置換されていてもよいビフェニルアラニンであり；

Ｘ９は、任意のアミノ酸であり；

Ｘ１０は、Ｙ、Ｈｔｙ又は４Ｐｙであり；

Ｘ１１は、任意のアミノ酸であり；

Ｘ１２は、置換基を有していてもよく、芳香環上のＣがＮに置換されていてもよいビフェニルアラニンであり；

Ｘ１３は、非置換の若しくは置換されたＦ、４Ｐｙ又は３Ｐｙ６ＮＨ２であり；

Ｘ１４は、Ｆ４ＣＯＯ、Ｄ又はＧであり；

Ｘ１５は、Ｆ４ＣＯＯ、Ｙ、４Ｐｙ、３Ｐｙ６ＮＨ２、Ｗ７Ｎ、Ｈｐｈ又

はＮであり；

Ｘ１６は、任意のアミノ酸である

を含む。

Ｘ１－Ｘ１６の上記選択肢は任意の組み合わせで選択しうる。

なお、置換されたＦは、フェニルアラニンが側鎖に有するベンゼン環に置換基を有するアミノ酸、複素環化した環を有するＦの誘導体アミノ酸、又は、縮合多環構造を有するＦの誘導体アミノ酸などを含む。よって、置換されたＦはＹを含む。

一態様において、Ｘ２が、Ｒ、Ｋ、Ｈｇｌ、Ｈｃｉｔ、ＫＣＯｐｉｐｚａａ又はＴｉｃである。

一態様において、Ｘ５が、Ｖ、Ｙ、Ｄ又はＡｔｐである。

一態様において、Ｘ６が、Ｄ、Ｒ、Ｈ、Ｋ、ＫＣＯｐｉｐｚａａ、Ｖ、Ｙ、Ｄ又はＡｔｐである。

一態様において、Ｘ７が、Ｒ、Ｋ又は任意の極性アミノ酸である。

一態様において、Ｘ８が、非置換のＢｐｈ又は非置換の３Ｐｙ６Ｐｈである。

一態様において、Ｘ１２が、非置換のＢｐｈ又は非置換の３Ｐｙ６Ｐｈである。

一態様において、Ｘ１３が、非置換の若しくは置換されたＦである。

一態様において、Ｘ１６が、Ｓ又はＨである。

[0052] 本発明の前記ペプチドは、以下に記載する、グループＢ１に属するペプチド、グループＢ２に属するペプチド、グループＢ３に属するペプチド、及びグループＢ４に属するペプチドを含む。

[0053] 限定されるものではないが、グループＢ１に属する本発明のペプチドは、以下のアミノ酸配列：

Ｘ１－Ｘ２－Ｘ３－Ｘ４－Ｘ５－Ｘ６－Ｘ７－Ｘ８－Ｘ９－Ｘ１０－Ｘ１１－Ｘ１２－Ｘ１３－Ｘ１４－Ｘ１５－Ｘ１６－Ｃ（配列番号４）

ここにおいて、

Ｘ１は、Ｅであり；

Ｘ２は、Ｒ又は任意の極性アミノ酸であり、

Ｘ３は、Ｖであり；

Ｘ４は、非置換の若しくは置換されたＹ又はＦ４ＣＯＯであり；

Ｘ５は、Ｖ又はＡｔｐであり；

Ｘ６は、Ｄ又はＫＣＯｐｉｐｚａａであり；

Ｘ７は、Ｒであり；

Ｘ８は、Ｂｐｈであり；

Ｘ９は、Ｐ又はＳであり；

Ｘ１０は、Ｙ又はＨｔｙであり；

Ｘ１１は、任意のアミノ酸であり；

Ｘ１２は、非置換の若しくは置換されたＢｐｈであり；

Ｘ１３は、非置換の若しくは置換されたＦであり；

Ｘ１４は、Ｆ４ＣＯＯであり；

Ｘ１５は、Ｆ４ＣＯＯ又は４Ｐｙであり；

Ｘ１６は、任意のアミノ酸である

を含む。

Ｘ１－Ｘ１６の上記選択肢は任意の組み合わせで選択しうる。

一態様において、Ｘ２が、Ｒ、Ｈｃｉｔ又はＫＣＯｐｉｐｚａａである。

一態様において、Ｘ４が、Ｙ又はＦ４ＣＯＯである。

一態様において、Ｘ１１が、任意の脂肪族アミノ酸である。

一態様において、Ｘ１２が、Ｂｐｈである。

一態様において、Ｘ１３は、Ｙ又はＦ４Ｆである。

一態様において、Ｘ１５は、Ｆ４ＣＯＯである。

一態様において、Ｘ１６は、Ｓ又はＨである。

一態様において、Ｘ２がＫＣＯｐｉｐｚａａであり、かつ、Ｘ１５が４Ｐｙである。

[0054] また、限定されるものではないが、グループＢ２に属する本発明のペプチ

ドは、

以下のアミノ酸配列：

Ｘ１－Ｘ２－Ｘ３－Ｘ４－Ｘ５－Ｘ６－Ｘ７－Ｘ８－Ｘ９－Ｘ１０－Ｘ１１－Ｘ１２－Ｘ１３－Ｘ１４－Ｘ１５－Ｘ１６－Ｃ（配列番号４）

ここにおいて、

Ｘ１は、Ｅ又はＡであり；

Ｘ２は、Ｒ又はＫＣＯｐｉｐｚａａであり；

Ｘ３は、Ｖであり；

Ｘ４は、Ｙ、Ｆ４Ｆ又はＦ４ＣＯＯであり；

Ｘ５は、Ｖであり；

Ｘ６は、Ｄ又はＫＣＯｐｉｐｚａａであり；

Ｘ７は、Ｒ又はＫであり；

Ｘ８は、３Ｐｙ６Ｐｈ又はＢｐｈであり；

Ｘ９は、Ｓ、Ｐ又はＫＣＯｐｉｐｚａａであり；

Ｘ１０は、Ｙであり；

Ｘ１１は、任意の脂肪族アミノ酸でありであり；

Ｘ１２は、Ｂｐｈであり；

Ｘ１３は、非置換の若しくは置換されたＦであり；

Ｘ１４は、Ｆ４ＣＯＯであり；

Ｘ１５は、Ｆ４ＣＯＯ又は４Ｐｙであり；

Ｘ１６は、Ｓである

を含む。

Ｘ１－Ｘ１６の上記選択肢は任意の組み合わせで選択しうる。

一態様において、Ｘ１１が、Ｖ、Ｐ、Ｈｙｐ、Ｐ４Ｓｈ、Ｐｃ４Ｆ、Ｐｔ４Ｆ、Ｐ４Ｆ２又はａＭｅＰである。

一態様において、Ｘ１２が、Ｂｐｈである。

一態様において、Ｘ１３は、Ｙ又はＦ４Ｆである。

一態様において、Ｘ１５は、Ｆ４ＣＯＯである。

[0055] また、限定されるものではないが、グループＢ３に属する本発明のペプチドは、

以下のアミノ酸配列：

Ｘ１－Ｘ２－Ｘ３－Ｘ４－Ｘ５－Ｘ６－Ｘ７－Ｘ８－Ｘ９－Ｘ１０－Ｘ１１－Ｘ１２－Ｘ１３－Ｘ１４－Ｘ１５－Ｘ１６－Ｃ（配列番号４）

ここにおいて、

Ｘ１は、Ａであり；

Ｘ２は、Ｒ、ＫＡｃ、Ｑ又はＫＣＯｐｉｐｚａａであり；

Ｘ３は、Ｖであり；

Ｘ４は、Ｙ、Ｆ４Ｆ又は４Ｐｙであり；

Ｘ５は、Ｖであり；

Ｘ６は、Ｄ、ＫＣＯｐｉｐｚａａ、Ｋ、Ｒ、Ｇ、又はＨであり；

Ｘ７は、Ｒ、Ｋ、ＫＡｃ、４Ｐｙ、Ｓ、又はＣｉｔであり；

Ｘ８は、３Ｐｙ６Ｐｈ又はＢｐｈであり；

Ｘ９は、Ｐ、Ｓ、Ｋ、Ｈ、Ｇ、Ｓ又はＫＣＯｐｉｐｚａａであり；

Ｘ１０は、Ｙであり；

Ｘ１１は、任意の脂肪族アミノ酸であり；

Ｘ１２は、Ｂｐｈ又は３Ｐｙ６Ｐｈであり；

Ｘ１３は、Ｙ又はＦ４Ｆであり；

Ｘ１４は、Ｆ４ＣＯＯであり；

Ｘ１５は、Ｆ４ＣＯＯ又は４Ｐｙであり；

Ｘ１６は、Ｓである

を含む。

Ｘ１－Ｘ１６の上記選択肢は任意の組み合わせで選択しうる。

一態様において、Ｘ１１が、Ｖ、Ｐ又はＡである。

[0056] また、限定されるものではないが、グループＢ４に属する本発明のペプチドは、

以下のアミノ酸配列：

Ｘ１－Ｘ２－Ｘ３－Ｘ４－Ｘ５－Ｘ６－Ｘ７－Ｘ８－Ｘ９－Ｘ１０－Ｘ１１－Ｘ１２－Ｘ１３－Ｘ１４（配列番号２４２）

ここにおいて、

Ｘ１は、置換基を有していてもよく、芳香環上のＣがＮに置換されていてもよいフェニルアラニンであり；

Ｘ２は、Ｇであり；

Ｘ３は、置換基を有していてもよいＮ－メチルフェニルアラニンであり；

Ｘ４は、Ｇ、Ｄ体であってもよい脂肪族アミノ酸又は極性アミノ酸であり；

Ｘ５は、芳香環上のＣがＮに置換されていてもよいビフェニルアラニン、又は置換基を有していてもよいフェニルアラニンであり；

Ｘ６は、Ｇ、又はＤ体であってもよいＡであり；

Ｘ７は、任意の極性アミノ酸であり；

Ｘ８は、任意の酸性アミノ酸であり；

Ｘ９は、任意の脂肪族アミノ酸であり；

Ｘ１０は、任意のアミノ酸であり；

Ｘ１１は、置換基を有していてもよいＮ－メチルフェニルアラニンであり；

Ｘ１２は、任意の脂肪族アミノ酸であり；

Ｘ１３は、任意のアミノ酸であり；

Ｘ１４は、Ｃである

を含む。

[0057] 前記ペプチドは、一態様において、環状ペプチドである。「環状ペプチド」は、ペプチド中の２つのアミノ酸が結合し、その全部又は一部が環状になっているものをいう。前記ペプチドは、ペプチド中のアミノ酸が架橋構造を形成したもの、ラクタム環形成又はマクロ環化反応により環状構造を形成したもの、ラッソペプチド状構造を有するもの等も含む。すなわち、前記環状ペプチドは、その一部が環状構造を形成するものであればよく、直鎖部を有

していてもよい。

ペプチドは、一般的に生体内において代謝安定性が悪く、またサイズが大きいので細胞膜を透過しづらいという問題がある。そのような課題に対し、ペプチドを環状化させるという方法がとられてきた。ペプチドを環状化すると、プロテアーゼ耐性が向上し代謝安定性が向上し、またコンフォメーション変化にも制限が加わるため、剛直性が増して膜透過性や標的タンパク質との親和性が向上することが示唆されてきた。

一態様において、前記ペプチドは、クロロアセチル化したアミノ酸と、前記ペプチドに含まれるシステイン残基とが結合された環状構造を有する。一態様において、前記ペプチドは、Ｎ末端アミノ酸（１番目のアミノ酸残基）と、前記ペプチドに含まれるシステイン残基とが結合された環状構造を有する。一態様において、前記ペプチドは、Ｎ末端アミノ酸（１番目のアミノ酸残基）と、前記ペプチドに含まれる１７番目のシステイン残基とが結合された環状構造を有する。一態様において、前記ペプチドは、クロロアセチル化したＮ末端アミノ酸（１番目のアミノ酸残基）と、前記ペプチドに含まれる１７番目のシステイン残基とが結合された環状構造を有する。「クロロアセチル化」は、他のハロゲンによる「ハロゲンアセチル化」でもよい。また、「アセチル化」は、アセチル基以外のアシル基による「アシル化」でもよい。

[0058] 前記ペプチドは、一態様において、配列番号５－１８７、配列番号１８８～２４０、配列番号２４３～３２１、及び配列番号３２２～４２１のいずれか１つに記載のアミノ酸配列を含む、又はからなる。前記ペプチドは、一態様において、配列番号５－１８７、配列番号１８８～２４０、配列番号２４３～３２１、及び配列番号３２２～４２１のいずれか１つに記載のアミノ酸配列を含む、又はからなる、環状ペプチドである。前記ペプチドは、配列番号５－１８７、配列番号１８８～２４０、配列番号２４３～３２１、及び配列番号３２２～４２１のいずれか１つに記載のアミノ酸配列からなるペプチドであるか、それらから１～１０個（好ましくは１～４個，１～３個，２個

又は１個）のアミノ酸残基が、置換、欠失、挿入又は付加したアミノ酸配列からなるペプチドである。なお，アミノ酸残基が付加した配列については，付加部分がリンカーであれば，多くのアミノ酸残基（例えば１～１０個の残基）配列がさらに付加してもよい。また，これらアミノ酸残基が、置換、欠失、挿入又は付加したアミノ酸配列からなるペプチドは、例えばＢＭＰ４への結合能を有するか、ＢＭＰ４及び／又はＢＭＰ７阻害活性を有するものが好ましい。

[0059] 前記ペプチドは、配列番号４及び配列番号２４２に記載のアミノ酸配列に加えて、付加的なアミノ酸残基を含んでもよい。付加的なアミノ酸残基は、環状構造を成すペプチドに含まれてもよいし、当該環状ペプチドからさらにアミノ酸残基がリンカー状に付加されていてもよい。ペプチド、ペプチド部位のアミド結合の数（アミノ酸の数・長さ）は特に限定されない。

また、環状ペプチドからさらにリンカーが付加されていてもよい。リンカーとしては、例えば、前述のアミノ酸リンカー（ペプチドリンカー）、化学リンカー、脂肪酸リンカー、核酸リンカー、糖鎖リンカーなどが挙げられ、また、例えば化学リンカーとペプチドリンカーなどの複合体であってもよい。化学リンカーとしては、例えば、１～２４個のエチレングリコール単位からなるＰＥＧリンカーであってよい。また、リンカーは、脂肪酸から誘導される二価化学部分を含む脂肪酸リンカーでもよい。アミノ酸（ペプチド）リンカーは、少なくとも１個のアミノ酸を含むリンカーであり、例えば、米国特許第７、２７１、１４９号に記載のような、配列［Ｇｌｙ－Ｇｌｙ－Ｇｌｙ－Ｇｌｙ－Ｓｅｒ］ｎ（式中、ｎは１、２、３、４、５又は６である）を有するペプチドなどのグリシン－リッチペプチドや、米国特許第５、５２５、４９１号に記載のセリン－リッチペプチドリンカーを用いることができる。なお、ペプチドリンカーにおいては、アミノ酸－アミノ酸間又はアミノ酸－化学リンカー間の結合が、アミノ酸の側鎖を介して結合していても良い。非限定的に、リンカーの付加によりペプチドの物性（例えば溶解度）が変化する場合がある。

リンカーの付加位置については、どこに付加されていても良い。例えば、Ｃ末端側に位置するＣｙｓに結合していてもよく、環状ペプチドに含まれるアミノ酸に結合していても良い。好ましくはＣ末端側に位置するＣｙｓに結合しているか、環状ペプチドに含まれるアミノ酸の側鎖に結合しているものである。

[0060] さらに、前記ペプチドは、リンカーなどを介して多量体を形成していてもよい。

前記グループＢ１乃至Ｂ３に属するペプチドは、ＢＭＰ４への結合能を有する。グループＢ１に属する本発明のペプチドは、好ましくは、さらにＢＭＰ７への結合能を有する。また、グループＢ２に属する本発明のペプチドは、好ましくは、ＢＭＰ７への結合能を有さない。

前記グループＢ４に属するペプチドは、ＢＭＰ７阻害活性を有する。好ましくは、ＢＭＰ４阻害活性を有さない。

[0061] ＢＭＰに結合することについて

前記ペプチドとＢＭＰタンパク質との結合は、公知の分子間結合を測定する任意の方法によって測定することができる。非限定的に、例えば、表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）アッセイ、スキャチャード解析ならびに／又は放射免疫アッセイ（ＲＩＡ）、酵素免疫アッセイ（ＥＩＡ）及びサンドイッチ競合アッセイなどの競合結合アッセイ、ならびに当技術分野でそれ自体公知であるその異なるバリアントを含む、それ自体公知である任意の適切な様式で決定することが可能である。限定されるものではないが、ペプチドとＢＭＰタンパク質について、このような公知の分子間結合を測定する任意の方法（例えば実施例１５に示される方法）によって測定した結果、ＫＤ値が１００ｎＭ以下であった場合に、当該ペプチドは、当該ＢＭＰタンパク質への結合能を有するものとしてよい。

なお、この明細書は新規ペプチドを提供する。ＢＭＰの阻害活性を有するペプチドは、好ましくは、ＢＭＰの結合活性を有するペプチドである。これは、実施例１１，１２で示されたＢＭＰ４及び／又はＢＭＰ７の阻害活性を

有するペプチドが、実施例１５（ＳＰＲ測定）結果で示された通りＢＭＰへの結合活性を有することからも示唆される。ＢＭＰの阻害活性を有するペプチドは、ＢＭＰが関与する各種疾患の治療や予防に有効である。ＢＭＰの結合活性を有するペプチドは、ＢＭＰが関与する各種疾患についての各種実験に有効である。骨形成因子４（ＢＭＰ４）は、主に骨や軟骨の形成と発達に作用し、様々な骨の疾患とも関連がある（特許６５１６７２４号公報）。ＢＭＰ４は、ＢＭＰシグナル伝達経路作用物質である（特許第７１２０５８５号公報）。骨形成因子７（ＢＭＰ－７）は、ＢＭＰシグナル伝達経路作用物質である（特許第７１２０５８５号公報）。

[0062] ＢＭＰ４阻害活性を有することについて

ＢＭＰ４阻害活性については、ＢＭＰ４刺激によるＳＭＡＤ１のリン酸化により評価できる。具体的な方法は、例えば実施例１１に記載の方法に基づいて評価すればよい。ＢＭＰ４活性阻害剤としてＮｏｇｇｉｎが知られている。ＢＭＰ４阻害活性を有するペプチドは、公知のＢＭＰ４活性阻害剤と同程度のＢＭＰ４阻害活性を有することが好ましい。

本明細書において、ＢＭＰ４阻害活性とＢＭＰ４シグナル伝達阻害活性は同義である。

[0063] ＢＭＰ７阻害活性を有することについて

ＢＭＰ７阻害活性については、ＢＭＰ７刺激によるＳＭＡＤ１のリン酸化により評価できる。具体的な方法は、例えば実施例１２に記載の方法に基づいて評価すればよい。ＢＭＰ７活性阻害剤としてＮｏｇｇｉｎが知られている。ＢＭＰ７阻害活性を有するペプチドは、公知のＢＭＰ７活性阻害剤と同程度のＢＭＰ７阻害活性を有することが好ましい。

本明細書において、ＢＭＰ７阻害活性とＢＭＰ７シグナル伝達阻害活性は同義である。

[0064] ヒト幹細胞分化誘導制御活性を有することについて

上記の通り，ＢＭＰ４及び／又はＢＭＰ７阻害活性を有することについて評価することで，ヒト幹細胞分化誘導制御活性（阻害活性）を有することを

評価できる。

[0065] 本明細書において「ペプチド」は、特に言及しない限り、「２．ペプチド（Ａ）」と、「３．ペプチド（Ｂ）」の双方を含む。また、本明細書において、ペプチドにはその薬学的に許容される塩も含まれる。

[0066] ４．ペプチドの製造

本発明のペプチドは、例えば以下のような、ペプチド製造のための任意の公知の方法によって、製造することができる。

液相法、固相法、液相法と固相法を組み合わせたハイブリッド法等の化学合成法；

遺伝子組み換え法、等。

[0067] 固相法は、例えば、水酸基を有するレジンの水酸基と、α－アミノ基が保護基で保護された第一のアミノ酸（通常、目的とするペプチドのＣ末端アミノ酸）のカルボキシ基をエステル化反応させる。エステル化触媒としては、１－メシチレンスルホニル－３－ニトロ－１、２、４－トリアゾール（ＭＳＮＴ）、ジシクロヘキシルカルボジイミド（ＤＣＣ）、ジイソプロピルカルボジイミド（ＤＩＣ）等の公知の脱水縮合剤を用いることができる。

次に、第一アミノ酸のα－アミノ基の保護基を脱離させるとともに、主鎖のカルボキシ基以外のすべての官能基が保護された第二のアミノ酸を加え、当該カルボキシ基を活性化させて、第一及び第二のアミノ酸を結合させる。さらに、第二のアミノ酸のα－アミノ基を脱保護し、主鎖のカルボキシ基以外のすべての官能基が保護された第三のアミノ酸を加え、当該カルボキシ基を活性化させて、第二及び第三のアミノ酸を結合させる。これを繰り返して、目的とする長さのペプチドが合成されたら、すべての官能基を脱保護する。

固相合成のレジンとしては、例えば、Ｍｅｒｒｉｆｉｅｌｄ ｒｅｓｉｎ、ＭＢＨＡ ｒｅｓｉｎ、Ｃｌ－Ｔｒｔ ｒｅｓｉｎ、ＳＡＳＲＩＮ ｒｅｓｉｎ、Ｗａｎｇ ｒｅｓｉｎ、Ｒｉｎｋ ａｍｉｄｅ ｒｅｓｉｎ、ＨＭＦＳ ｒｅｓｉｎ、Ａｍｉｎｏ－ＰＥＧＡ ｒｅｓｉｎ（メルク社）、ＨＭ

ＰＡ－ＰＥＧＡ　ｒｅｓｉｎ（メルク社）等が挙げられる。これらのレジンは、溶剤（ジメチルホルムアミド（ＤＭＦ）、２－プロパノール、塩化メチレン等）で洗浄してから用いることができる。

α－アミノ基の保護基としては、例えば、ベンジルオキシカルボニル（Ｃｂｚ又はＺ）基、ｔｅｒｔ－ブトキシカルボニル（Ｂｏｃ）基、９－フルオレニルメチルオキシカルボニル（Ｆｍｏｃ）基、ベンジル基、アリル基、アリルオキシカルボニル（ＡｌｌｏｃＪ）基等が挙げられる。Ｃｂｚ基はフッ化水素酸、水素化等によって脱保護でき、Ｂｏｃ基はトリフルオロ酢酸（ＴＦＡ）により脱保護でき、Ｆｍｏｃ基はピペリジン又はピロリジンによる処理で脱保護できる。

α－カルボキシ基の保護は、例えば、メチルエステル、エチルエステル、アリルエステル、ベンジルエステル、ｔｅｒｔ－ブチルエステル、シクロヘキシルエステル等を用いることができる。

カルボキシ基の活性化は、縮合剤を用いて行うことができる。縮合剤としては、例えば、ジシクロヘキシルカルボジイミド（ＤＣＣ）、ジイソプロピルカルボジイミド（ＤＩＣ）、１－エチル－３－（３－ジメチルアミノプロピル）カルボジイミド（ＥＤＣあるいはＷＳＣ）、（１Ｈ－ベンゾトリアゾール－１－イルオキシ）トリス（ジメチルアミノ）ホスホニウムヘキサフルオロホスファート（ＢＯＰ）、１－［ビス（ジメチルアミノ）メチル］－１Ｈ－ベンゾトリアゾリウム－３－オキシドヘキサフルオロホスファート（ＨＢＴＵ）等が挙げられる。

レジンからのペプチド鎖の切断は、ＴＦＡ、フッ化水素（ＨＦ）等の酸で処理することによって行うことができる。

[0068] 遺伝子組み換え法（翻訳合成系）によるペプチドの製造は、前記ペプチドをコードする核酸を用いて行うことができる。前記ペプチドをコードする核酸は、ＤＮＡであってもＲＮＡであってもよい。

前記ペプチドをコードする核酸は、公知の方法又はそれに準ずる方法で調製することができる。例えば、自動合成装置によって合成することができる

。得られたＤＮＡをベクターに挿入するために制限酵素認識部位を加えてもよい。あるいは、できたペプチド鎖を酵素などで切り出すためのアミノ酸配列をコードする塩基配列を組み込んでもよい。

宿主由来のプロテアーゼによる分解を抑制するため、目的のペプチドを他のペプチドとのキメラペプチドとして発現させるキメラタンパク質発現法を用いることもできる。この場合、前記核酸としては、目的とするペプチドと、これに結合するペプチドとをコードする核酸が用いられる。

続いて、当該ペプチドをコードする核酸を用いて発現ベクターを調製する。核酸はそのまま、又は制限酵素で消化し、又はリンカーを付加する等して、発現ベクターのプロモータの下流に挿入することができる。ベクターとしては、例えば、大腸菌由来プラスミド（ｐＢＲ３２２、ｐＢＲ３２５、ｐＵＣ１２、ｐＵＣ１３、ｐＵＣ１８、ｐＵＣ１９、ｐＵＣ１１８、ｐＢｌｕｅｓｃｒｉｐｔ　ＩＩ等）、枯草菌由来プラスミド（ｐＵＢ１１０、ｐＴＰ５、ｐＣ１９１２、ｐＴＰ４、ｐＥ１９４、ｐＣ１９４等）、酵母由来プラスミド（ｐＳＨ１９、ｐＳＨ１５、ＹＥｐ、ＹＲｐ、ＹＩｐ、ＹＡＣ等）、バクテリオファージ（ｅファージ、Ｍ１３ファージ等）、ウイルス（レトロウイルス、ワクシニアウイルス、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ）、カリフラワーモザイクウイルス、タバコモザイクウイルス、バキュロウイルス等）、コスミド等が挙げられる。

プロモータは、宿主の種類に応じて適宜選択することができる。宿主が動物細胞である場合は、例えば、ＳＶ４０（ｓｉｍｉａｎ　ｖｉｒｕｓ　４０）由来プロモータ、ＣＭＶ（ｃｙｔｏｍｅｇａｌｏｖｉｒｕｓ）由来プロモータを用いることができる。宿主が大腸菌である場合は、ｔｒｐプロモータ、Ｔ７プロモータ、ｌａｃプロモータ等を用いることができる。

発現ベクターには、例えば、ＤＮＡ複製開始点（ｏｒｉ）、選択マーカー（抗生物質抵抗性、栄養要求性等）、エンハンサー、スプライシングシグナル、ポリＡ付加シグナル、タグ（ＦＬＡＧ、ＨＡ、ＧＳＴ、ＧＦＰなど）をコードする核酸等を組み込むこともできる。

次に、前記発現ベクターで適当な宿主細胞を形質転換する。宿主は、ベクターとの関係で適宜選択することができる。宿主としては、例えば、大腸菌、枯草菌、バチルス属菌、酵母、昆虫又は昆虫細胞、動物細胞等が用いられる。動物細胞として、例えば、ＨＥＫ２９３Ｔ細胞、ＣＨＯ細胞、ＣＯＳ細胞、ミエローマ細胞、ＨｅＬａ細胞、Ｖｅｒｏ細胞を用いることができる。形質転換は、宿主の種類に応じ、リポフェクション法、リン酸カルシウム法、エレクトロポレーション法、マイクロインジェクション法、パーティクルガン法等、公知の方法に従って行うことができる。形質転換体を常法に従って培養することにより、目的とするペプチドが発現する。

[0069] 形質転換体の培養物からのペプチドの精製は、培養細胞を回収し、適当な緩衝液に懸濁してから超音波処理、凍結融解などの方法により細胞を破壊し、遠心分離やろ過によって粗抽出液を得る。培養液中にペプチドが分泌される場合には、上清を回収する。

粗抽出液又は培養上清からの精製も公知の方法又はそれに準ずる方法（例えば、塩析、透析法、限外ろ過法、ゲルろ過法、ＳＤＳ－ＰＡＧＥ法、イオン交換クロマトグラフィー、アフィニティークロマトグラフィー、逆相高速液体クロマトグラフィー等）で行うことができる。

得られたペプチドは、公知の方法又はそれに準ずる方法で遊離体から塩に、又は塩から遊離体に変換してもよい。

[0070] 一態様において、翻訳合成系は、無細胞翻訳系としてもよい。無細胞翻訳系によれば、一般に、発現産物を精製することなく純度の高い形で得ることができる。無細胞翻訳系は、例えば、リボソームタンパク質、アミノアシルｔＲＮＡ合成酵素（ＡＲＳ）、リボソームＲＮＡ、アミノ酸、ｒＲＮＡ、ＧＴＰ、ＡＴＰ、翻訳開始因子（ＩＦ）伸長因子（ＥＦ）、終結因子（ＲＦ）、及びリボソーム再生因子（ＲＲＦ）、並びに翻訳に必要なその他の因子を含む。発現効率を高くするために大腸菌抽出液や小麦胚芽抽出液を加えてもよい。他に、ウサギ赤血球抽出液や昆虫細胞抽出液を加えてもよい。

これらを含む系に、透析を用いて連続的にエネルギーを供給することで、

非限定的に、数１００μｇから数ｍｇ／ｍＬのタンパク質を生産することができる。遺伝子ＤＮＡからの転写を併せて行うためにＲＮＡポリメラーゼを含む系としてもよい。市販されている無細胞翻訳系として、大腸菌由来の系としてはロシュ・ダイアグノスティックス社のＲＴＳ－１００（登録商標）、ジーンフロンティア社のＰＵＲＥＳＹＳＴＥＭやＮＥＷ　ＥＮＧＬＡＮＤ　Ｂｉｏｌａｂｓ社のＰＵＲＥｘｐｒｅｓｓ　Ｉｎ　Ｖｉｔｒｏ　Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ　Ｋｉｔ等を、小麦胚芽抽出液を用いた系としてはゾイジーン社やセルフリーサイエンス社のもの等を使用できる。

[0071]　細胞翻訳系においては、天然のアミノアシルｔＲＮＡ合成酵素に合成されるアミノアシルｔＲＮＡに代えて、所望のアミノ酸又はヒドロキシ酸をｔＲＮＡに連結（アシル化）した人工のアミノアシルｔＲＮＡを用いてもよい。かかるアミノアシルｔＲＮＡは、人工のリボザイムを用いて合成することができる。

かかるリボザイムとしては、フレキシザイム（ｆｌｅｘｉｚｙｍｅ）（Ｈ．Ｍｕｒａｋａｍｉ、Ｈ．Ｓａｉｔｏ、ａｎｄ　Ｈ．Ｓｕｇａ、（２００３）、Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ　＆　Ｂｉｏｌｏｇｙ、Ｖｏｌ．１０、６５５－６６２；及びＷＯ２００７／０６６６２７等）が挙げられる。フレキシザイムは、原型のフレキシザイム（Ｆｘ）、及び、これから改変されたジニトロベンジルフレキシザイム（ｄＦｘ）、エンハンスドフレキシザイム（ｅＦｘ）、アミノフレキシザイム（ａＦｘ）等の呼称でも知られる。

フレキシザイムによって生成された、所望のアミノ酸又はヒドロキシ酸が連結されたｔＲＮＡを用いることにより、所望のコドンを、所望のアミノ酸又はヒドロキシ酸と関連付けて翻訳することができる。所望のアミノ酸としては、特殊アミノ酸を用いてもよい。例えば、上述した環状化に必要な非天然アミノ酸もこの方法により、結合ペプチドに導入することができる。

[0072]　前記ペプチドの化学合成は、例えば、段階的固相合成、配座的に支援される再ライゲーションを経るペプチドフラグメントの半合成、化学ライゲーションを含めた様々な当該技術分野において汎用される方法を使用して合成で

きる。前記ペプチドの合成は、例えば、Ｋ．Ｊ．Ｊｅｎｓｅｎ、Ｐ．Ｔ．Ｓｈｅｌｔｏｎ、Ｓ．Ｌ．Ｐｅｄｅｒｓｅｎ、Ｐｅｐｔｉｄｅ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ ａｎｄ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ、２ｎｄＥｄｉｔｉｏｎ、Ｓｐｒｉｎｇｅｒ、２０１３などに記載されるような種々の固相技術を使用する化学合成である。好ましいストラテジーとして、α－アミノ基を一時的に保護しかつ塩基による選択的除去を可能とするＦｍｏｃ基と、側鎖官能基を一時的に保護しかつ脱Ｆｍｏｃ条件に安定な保護基の組み合わせに基づく。そのような一般的なペプチド側鎖の選択は前述のＰｅｐｔｉｄｅ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ ａｎｄ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ、第２版やＧ．Ｂ．Ｆｉｅｌｄｓ、Ｒ．Ｌ．Ｎｏｂｌｅ、Ｓｏｌｉｄ Ｐｈａｓｅ Ｐｅｐｔｉｄｅ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ Ｕｔｉｌｉｚｉｎｇ ９－Ｆｌｕｏｒｅｎｙｌｍｅｔｈｏｘｙｃａｒｂｏｎｙｌ Ａｍｉｎｏ Ａｃｉｄｓ、Ｉｎｔ．Ｊ．Ｐｅｐｔｉｄｅ Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｒｅｓ．３５、１９９０、１６１－２１４などに記載されているが、好ましいペプチド側鎖保護基としては、例えば、セリンやトレオニンのヒドロキシ基に対するベンジル基やｔｅｒｔ－ブチル基及びトリチル（Ｔｒｔ）基、チロシンのヒドロキシ基に対する２－ブロモベンジルオキシカルボニル基やｔｅｒｔ－ブチル基、リジン側鎖のアミノ基に対するＢｏｃ基、メチルテトラゾールチオール（Ｍｔｔ）基、Ａｌｌｏｃ基、及びｉｖＤｄｅ基、ヒスチジンのイミダゾール基に対するＴｒｔ基やＢｏｃ基、アルギニンのグアニジル基に対する２、２、４、６、７－ペンタメチルジヒドロベンゾフラン－５－スルホニル基（Ｐｂｆ）基、グルタミン酸やアスパラギン酸をはじめとするカルボキシル基に対するｔｅｒｔ－ブチル基、アリル基、及び３－メチルペンタン（Ｍｐｅ）基、グルタミンやアスパラギンのカルボキサミド基に対するＴｒｔ基、また、システインのチオール基に対するＴｒｔ基及びモノメトキシトリチル（Ｍｍｔ）基が挙げられる。

[0073] 前記ペプチドは、前述した固相樹脂上で段階的方法において合成できる。使用するＣ末端アミノ酸及び合成に使用するすべてのアミノ酸やペプチドは、α－アミノ保護基が合成過程において、選択的に除去されなければならな

い。好ましくは前述の固相樹脂を用い、Ｎ末端がＦｍｏｃ基等により適切に保護されたペプチドのＣ末端カルボキシル基又はＦｍｏｃ基で保護されたアミノ酸のＣ末端カルボキシル基を適切な試薬により活性化エステルとしたのち固相樹脂上のアミノ基に付加することにより開始する。引き続くペプチド鎖の伸長は、目的とするペプチドのアミノ酸配列に従って、Ｎ末端保護基（Ｆｍｏｃ基）の除去、次いで保護アミノ酸誘導体の縮合を順次繰り返すことにより達成することが可能である。なお、これらは目的のペプチドを最終段階で遊離させることができる。たとえば遊離させる条件として、Ｔｅｉｘｅｉｒａ、Ｗ．Ｅ．Ｂｅｎｃｋｈｕｉｊｓｅｎ、Ｐ．Ｅ．ｄｅ　Ｋｏｎｉｎｇ、Ａ．Ｒ．Ｐ．Ｍ．Ｖａｌｅｎｔｉｊｎ、Ｊ．Ｗ．Ｄｒｉｊｆｈｏｕｔ、Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｐｅｐｔ．　Ｌｅｔｔ．、２００２、９、３７９－３８５などに挙げられる、ＴＦＡ中に捕捉剤として、水／シリルヒドリド／チオールを含むＴＦＡ溶液で遊離させることができる。典型的な例として、ＴＦＡ／Ｗａｔｅｒ／ＴＩＳ／ＤＯＤＴ（体積比９２．５：２．５：２．５：２．５）が挙げられる。

[0074]　本明細書に記載するペプチドの合成は、単又は多チャネルペプチド合成機、たとえばＣＥＭ　社のＬｉｂｅｒｔｙ　Ｂｌｕｅ合成機又はＢｉｏｔａｇｅ社のＳｙｒｏ　Ｉ合成機やそれらの後継機などを使用することで実施できる。

[0075]　カルボキシ基の活性化は、縮合剤を用いて行うことができる。縮合剤としては、例えば、ジシクロヘキシルカルボジイミド（ＤＣＣ）、ジイソプロピルカルボジイミド（ＤＩＰＣＤＩ）、１－エチル－３－（３－ジメチルアミノプロピル）カルボジイミド（ＥＤＣあるいはＷＳＣ）、（１Ｈ－ベンゾトリアゾール－１－イルオキシ）トリス（ジメチルアミノ）ホスホニウムヘキサフルオロホスファート（ＢＯＰ）、１－［ビス（ジメチルアミノ）メチル］－１Ｈ－ベンゾトリアゾリウム－３－オキシドヘキサフルオロホスファート（ＨＢＴＵ）等が挙げられる。

[0076]　ペプチドの環化については、公知の方法に従って行うことができる。非限

定的に、例えば、ペプチドに２個以上のシステイン残基を含むよう設計することで、翻訳された後、ジスルフィド結合により環状構造を形成できる。また、Ｇｏｔｏらの方法（Ｙ．Ｇｏｔｏ、　ｅｔ　ａｌ．ＡＣＳ　Ｃｈｅｍ．Ｂｉｏｌ．３　１２０－１２９（２００８））に従い、遺伝暗号のリプログラミング技術により、Ｎ末端にクロロアセチル基を有するペプチドを合成し、ペプチド中に硫黄分子を含むシステイン残基を配置しておくことによっても環状化できる。これにより、翻訳後に自発的にメルカプト基がクロロアセチル基に求核攻撃し、ペプチドがチオエーテル結合により環状化する。遺伝暗号のリプログラミング技術により、結合して環状を形成するその他のアミノ酸の組合せをペプチド内に配置して環状化してもよい。あるいは、ペプチド中にＬ－２－アミノアジピン酸残基を配置し、Ｎ末端の主鎖アミノ基との間で結合することによって、環状化してもよい。このように、公知の環状化方法であれば、特に制限されず用いることができる。

[0077]　５．本発明のペプチドを含むＢＭＰ４及び／又はＢＭＰ７シグナル伝達阻害剤、ヒト幹細胞の分化誘導制御剤、培養用培地添加物、培養用培地

本発明のペプチドは、ＢＭＰ４への結合能を有する。ＢＭＰ４は、その受容体であるＢＭＰＲ１Ａと強く結合して、シグナルを細胞内に伝達し、細胞の分化・誘導を制御する機能を有することが知られている。本発明のペプチドは、ＢＭＰ４と結合することにより、ＢＭＰ４とＢＭＰ４受容体との結合を阻害し、これにより細胞内にＢＭＰ４シグナルが伝達するのを阻害する活性を有する。

本発明のペプチドは、ＢＭＰ７シグナル伝達阻害活性を有する。

よって、本発明は、一態様において、前記ペプチドを含むＢＭＰ４及び／又はＢＭＰ７シグナル伝達阻害剤を提供する。

本発明は、一態様において、前記ペプチドを含むＢＭＰ４及び／又はＢＭＰ７シグナル伝達阻害のための組成物を提供する。

本発明は、一態様において、前記ペプチドをＢＭＰ４と接触させる工程を含む、ＢＭＰ４のシグナル伝達活性を阻害する方法を提供する。限定される

ものではないが、前記ペプチドをＢＭＰ４と接触させる工程は、ｉｎ　ｖｉｔｒｏで接触させる工程であってよい。

本発明は、一態様において、ＢＭＰ７のシグナル伝達活性を阻害する方法を提供する。

また、ＢＭＰ４及び／又はＢＭＰ７は、前記シグナル伝達を通じて、ヒト幹細胞の分化・誘導を制御することから、ＢＭＰ４及び／又はＢＭＰ７シグナル伝達阻害活性を有する前記ペプチドは、ヒト幹細胞の分化誘導制御活性を有する。

よって、本発明は、一態様において、前記ペプチドを含むヒト幹細胞の分化誘導制御剤を提供する。

本発明は、一態様において、前記ペプチドを含むヒト幹細胞の分化誘導制御能を有する組成物を提供する。

また、本発明は、一態様において、前記ペプチドを用いて、ヒト幹細胞の分化誘導を制御する方法を提供する。限定されるものではないが、前記方法は、前記ペプチドを、ヒト幹細胞を培養するための培地に添加することによって、実施することができる。前記方法は、好ましくは、ｉｎ　ｖｉｔｒｏで実施する方法であってよい。

[0078] ここで、前記ヒト幹細胞は、胚性幹細胞（ＥＳ細胞）や人工多能性幹細胞（ｉＰＳ細胞）などの多能性幹細胞、間葉系幹細胞などの多分化能幹細胞を含む。

また、前記分化誘導制御能は、分化誘導の促進能又は抑制能であってよく、前記ヒト幹細胞の種類によって異なる。

上記のＢＭＰ４及び／又はＢＭＰ７シグナル伝達阻害のための組成物及び／又はヒト幹細胞の分化誘導制御剤、ヒト幹細胞の分化誘導制御能を有する組成物は、一態様として、医薬組成物であってもよく、また、医薬組成物製造のための原体であってもよい。

[0079] さらに、本発明は、一態様において、ヒト幹細胞の培養用培地添加物であって、前記ペプチド、前記ＢＭＰ４及び／又はＢＭＰ７シグナル伝達阻害剤

、及び／又は、前記ヒト幹細胞分化誘導阻害剤を含む、培地添加物と、前記培地添加物を含むヒト幹細胞の培養用培地を提供する。培養用培地添加物は、溶液の形態であっても、乾燥した固体（例えば、固形状、粉末状等）の形態であってもよい。溶液の形態である場合には、そのまま培養用の培地として用いてもよいし、溶媒で希釈し、必要に応じて上述した添加剤を加えたものを、培養用の培地として用いてもよい。希釈する際に用いる溶媒としては、例えば、水、緩衝液、生理食塩水、各種細胞や組織培養に用いられる培地等が挙げられ、これらは単独で用いても、２種以上を組み合わせて用いてもよい。

本発明の培養用培地は、細胞又は組織を培養するための培地であれば特に限定はされないが、その基本培地として、対象とするヒト幹細胞の培養に通常使用される培地を適宜使用して調製することができる。

[0080] ＢＭＰ阻害剤として作用し、分化誘導制御能を有する分泌性タンパク質としては、ＮｏｇｇｉｎやＣｈｏｒｄｉｎ、ｆｏｌｌｉｓｔａｔｉｎなどが知られていたが、これらはタンパク質であるため、細胞の培養に用いる際には、培養コストがかかる上、再現性に乏しいなどの問題点があった。本発明の前記ペプチドを含むヒト幹細胞の分化誘導制御剤は、上記のタンパク質と比べ、製造コストが安価であり、精製が容易なため含有不純物も少ない。従って、本発明の培養培地の使用により、従来のものと比べ、培養コストを抑制し、再現性が高いヒト幹細胞分化誘導実験を行うことができる。

[0081] 本発明のペプチドを含む組成物は、本発明のペプチド以外に公知の担体（例えば，水，生理食塩水，又は賦形剤）を適宜含んでもよい。

[0082] 本発明のペプチドを含む剤は、本発明のペプチドを有効成分として有効量含む。本発明のペプチドを含む剤は、例えば、本発明のペプチドと公知の担体とを混合することで製造できる。そのような剤の剤形の例は、注射剤、及び経口投与剤である。本発明の剤を哺乳類（例えば，ヒト，マウス，ラット，モルモット，ウサギ，イヌ，ウマ，サル，ブタ，ヒツジ等），特にヒトに投与する場合の投与量は，症状，患者の年齢，性別，体重，感受性差，投与

方法，投与間隔，有効成分の種類，製剤の種類によって異なり，特に限定されないが，例えば，３０μｇ～１０００ｍｇ，１００μｇ～５００ｍｇ，１００μｇ～１００ｍｇを１回又は数回に分けて投与することができる。注射投与の場合，患者の体重により，１μｇ／ｋｇ～３０００μｇ／ｋｇ，３μｇ／ｋｇ～１０００μｇ／ｋｇを１回又は数回に分けて投与してもよい。

[0083] ［実施例］

以下、実施例に基づいて本発明を詳細に説明するが、本発明はこれらの実施例に限定されるものではない。当業者は本明細書の記載に基づいて容易に本発明に修飾及び変更を加えることができ、それらは本発明の技術的範囲に含まれる。

[0084] 化学合成

以下の実施例における化学合成において使用された全ての原料、ビルディングブロック、試薬、酸、塩基、固相樹脂、溶媒は、市販品をそのまま用いたか、もしくは当業者にて有機化学的手法を用いて合成できるものである。なお、保護基を含むアミノ酸は特記が無い限り市販品をそのまま用いた。

固相樹脂におけるペプチド鎖の伸長は、それぞれの実施例に記載された樹脂を出発原料とし、通常用いられるペプチドカップリング反応条件とＦｍｏｃ除去反応条件を用いて行った。反応はペプチド自動合成機であるＢｉｏｔａｇｅ社のＳｙｒｏ　Ｉ、Ｂｉｏｔａｇｅ社のＳｙｒｏ　ＩＩ、ＣＥＭ社のＬｉｂｅｒｔｙ　Ｂｌｕｅ、ＣＥＭ社のＬｉｂｅｒｔｙ　Ｂｌｕｅ　ＨＴ１２、又はＣＥＭ社のＬｉｂｅｒｔｙ　Ｐｒｉｍｅを使用し、製造元のマニュアルに従い行った。

使用した樹脂は、Ｆｍｏｃ－Ｄ－Ｇｌｕ（ｔＢｕ）－Ｗａｎｇ　ｒｅｓｉｎ、ＮｏｖａＰＥＧ　Ｒｉｎｋ　Ａｍｉｄｅ　ｒｅｓｉｎ、又はＳｅｉｂｅｒ　Ａｍｉｄｅ　ｒｅｓｉｎを用い、使用した量は各ペプチドに応じて４ｍｇ－２ｇの範囲であった。

側鎖の脱保護および固相樹脂からの切り出しに用いる反応剤カクテルは、各ペプチドに応じて０．２ｍＬ－５０ｍＬであり、以下の組成の溶液を用い

た。

組成Ａ：ＴＦＡ／H_2O／ＴＩＳ／ＤＯＤＴ（９２．５／２．５／２．５／２．５）

組成Ｂ：ＴＦＡ／H_2O／ＴＩＳ／ＤＯＤＴ（９０／２．５／２．５／５）

[0085] 使用した一般的なアミノ酸を下記に列挙し、側鎖保護基はカッコ内に示した。

Ｆｍｏｃ－Ａｌａ－ＯＨ；

Ｆｍｏｃ－Ａｒｇ（Ｐｂｆ）－ＯＨ；

Ｆｍｏｃ－Ａｓｎ（Ｔｒｔ）－ＯＨ；

Ｆｍｏｃ－Ａｓｐ（ＯＭｐｅ）－ＯＨ；

Ｆｍｏｃ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－ＯＨ；

Ｆｍｏｃ－Ｃｙｓ（Ｔｒｔ）－ＯＨ；

Ｆｍｏｃ－Ｇｌｎ（Ｔｒｔ）－ＯＨ；

Ｆｍｏｃ－Ｇｌｕ（ＯｔＢｕ）－ＯＨ；

Ｆｍｏｃ－Ｇｌｙ－ＯＨ；

Ｆｍｏｃ－Ｉｌｅ－ＯＨ；

Ｆｍｏｃ－Ｈｉｓ（Ｂｏｃ）－ＯＨ；

Ｆｍｏｃ－Ｈｉｓ（Ｔｒｔ）－ＯＨ；

Ｆｍｏｃ－Ｌｅｕ－ＯＨ；

Ｆｍｏｃ－Ｌｙｓ（Ｂｏｃ）－ＯＨ；

Ｆｍｏｃ－Ｐｈｅ－ＯＨ；

Ｆｍｏｃ－Ｐｒｏ－ＯＨ；

Ｆｍｏｃ－Ｓｅｒ（ｔＢｕ）－ＯＨ；

Ｆｍｏｃ－Ｓｅｒ（Ｔｒｔ）－ＯＨ；

Ｆｍｏｃ－Ｔｈｒ（ｔＢｕ）－ＯＨ；

Ｆｍｏｃ－Ｔｈｒ（Ｔｒｔ）－ＯＨ；

Ｆｍｏｃ－Ｔｙｒ（ｔＢｕ）－ＯＨ；

Ｆｍｏｃ－Ｖａｌ－ＯＨ。

[0086] 得られた粗精製ペプチドの精製方法として、Ｗａｔｅｒｓ社ＡｕｔｏＰｕｒｉｆｉｃａｔｉｏｎ Ｓｙｓｔｅｍ－ＳＱＤ２ ｓｉｎｇｌｅ ｑｕａｄｒｕｐｌｅ ｍａｓｓ ｓｐｅｃｔｒｏｍｅｔｅｒで逆相分取ＨＰＬＣを使用し、目的物由来のｍ／ｚイオンをモニタリングしながら溶出した。ＥＳＩ－ｐｏｓｉｔｉｖｅのスキャンモードで得られるマススペクトルと目的物の分子式より計算される多価イオンを含むマススペクトルが使用した質量分析器の誤差範囲で一致していることを確認した。なお、使用したカラムを含む精製条件はそれぞれの実施例に示した。

化学合成されたペプチドの構造決定は、目的配列に従って用いたアミノ酸と必要に応じて用いたビルディングブロックを考慮し計算された分子量を、質量スペクトル分析法におけるＥＳＩ－ＭＳ（＋）により確認した。なお、“ＥＳＩ－ＭＳ（＋）”とは、正イオンモードで実施したエレクトロスプレーイオン化質量スペクトル分析法を示す。検出された質量は“ｍ／ｚ”単位表記によって報告された。なお、分子量がおおよそ１０００より大きい化合物は、多価イオンとして高頻度で検出された。

以下の実施例において合成されたペプチドの質量スペクトル分析には、特に記載がない限り、以下の基本分析装置および基本条件を用いた。勾配Ｂ（％）はＸ／Ｙ／Ｚのいずれかの条件を用いて分析を行った。

[0087] 装置：Ｓｈｉｍａｄｚｕ ＬＣ／ＭＳ ｓｙｓｔｅｍ （ＬＣ－２０ＡＤＸＲ， ＣＴＯ－２０ＡＣ， ＳＰＤ－Ｍ２０Ａ， ＳＩＬ－２０ＡＸＲ， ＣＢＭ－２０Ａ ａｎｄ ＬＣＭＳ－２０２０）

カラム温度：６０°Ｃ

移動相Ａ：０．０２５％ ＴＦＡ ｉｎ H_2O

移動相Ｂ：０．０２５％ ＴＦＡ ｉｎ ＭｅＣＮ

流速：０．５ｍＬ／ｍｉｎ

波長：２２５ｎｍ ＰＤＡ

勾配Ｂ（％）：Ｘ：２０－６０％／７．１５ｍｉｎ，６０－９５％／０．３ｍｉｎ，９５－９５％／１．５５ｍｉｎ；

Ｙ：４０－８０％／７．１５ｍｉｎ，８０－９５％／０．３ｍｉｎ，９５－９５％／１．５５ｍｉｎ；

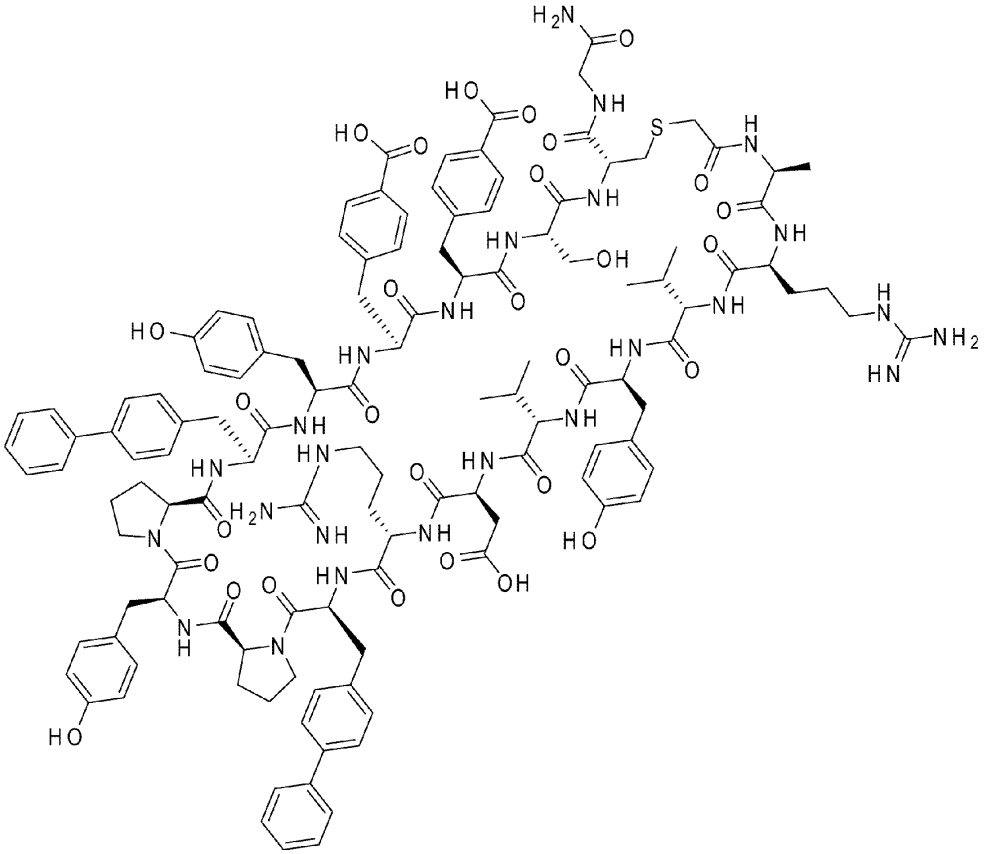
Ｚ：５－４５％／７．１５ｍｉｎ，４５－９５％／０．３ｍｉｎ，９５－９５％／１．５５ｍｉｎ

実施例 1

[0088] ＢＭＰ４シグナル伝達阻害ペプチドＮｏ．５（配列番号５）の合成

本実施例では、以下の構造を有するＢＭＰ４シグナル伝達阻害ペプチドＮｏ．５（配列番号５）を合成した。

[0089] [化1]



[0090] Ｓｉｅｂｅｒ ａｍｉｄｅ ｒｅｓｉｎ（Ｍｅｒｃｋ社、０．４９ｍｍｏｌ／ｇ）を用い、一般的方法にてＦｍｏｃ基の除去から開始し、目的の

ペプチドを合成した。その際、Ｂｉｏｔａｇｅ社のＳｙｒｏ　ＩＩを固相合成機として使用し、製造元のマニュアルに従って合成を行った。各残基の導入には樹脂１当量に対し、Ｆｍｏｃ－ＡＡ／ＨＡＴＵ／ＤＩＥＡ　（４．２当量／３．９当量／８．４当量）を用いＤＭＦ中７５℃下、１０分間２回反応を行った。ただし２残基目、７残基目、１７残基目は５０℃下、３０分間２回反応を行った。

Ｆｍｏｃ除去は、室温下２０％ピペリジンのＤＭＦ溶液と５分間反応させた後、溶液を除去後、再度室温下２０％ピペリジンのＤＭＦ溶液と１５分間反応させた。

クロロアセチル基の導入は、前工程で得られたＦｍｏｃ保護されたペプチドが保持された固相樹脂に対し、前述した方法でα－アミノ基のＦｍｏｃ基を除去したのち、０．３Ｍ　クロロ酢酸のＤＭＦ溶液（４．２当量）、０．２８Ｍ　ＨＣＴＵのＤＭＦ溶液（３．９２当量）、１．０５Ｍ　ＤＩＰＥＡのＤＭＦ溶液（８．４当量）を固相樹脂に加え室温にて３０分間振盪を２回繰り返すことにより行った。

側鎖の脱保護および固相樹脂からの切り出しは、まずクロロアセチル基導入工程後に得られた樹脂をＤＭＦで５回と塩化メチレンで３回洗浄した後、減圧下乾燥し、続いて固相樹脂の入った反応容器に、反応剤カクテル－Ａ（ＴＦＡ／H_2O／ＴＩＳ／ＤＯＤＴの体積比９２．５：２．５：２．５：２．５の混合物）を加え、室温で６０分間振盪した。反応液をフリットより濾過回収した。この濾液を冷やした過剰のジイソプロピルエーテルに加えると沈殿が生じ、この混合物を遠心分離し（８５００　ｒｐｍ、３０秒間）、溶液をデカンテーションした。得られた固体を再度冷やしたジエチルエーテル／ヘキサン（１／１）の混合溶媒にて洗浄後、減圧下乾燥した。得られた固体を次の環化反応に用いた。

ペプチドの環化反応は、ペプチドの終濃度が固相樹脂のモル数を基に２．５ｍＭとなるようにＤＭＳＯに溶解後、トリエチルアミン（０．０１ｍＬ）を加えて、室温で終夜振盪した。得られた反応溶液を減圧濃縮し、得られた

残差にＤＭＳＯ（０．１ｍＬ）を加えた。

得られた上記溶液は以下のとおり固相抽出した。（１）Ｇｉｌｓｏｎ　ＡＳＰＥＣ（登録商標）　Ｃ１８　５００ｍｇ　３ｍＬ（Ｇｉｌｓｏｎ社）カラムを抽出液Ａ（０．１％　ＴＦＡ　ｉｎ　９５％ＭｅＣＮ／H_2O、３ｍＬ）で洗浄した。（２）抽出液Ｂ（０．１％　ＴＦＡ　ｉｎ　５％ＭｅＣＮ／H_2O、３ｍＬ）で前記カラムを平衡化した。（３）上記反応溶液０．１ｍＬを前記カラムにローディングした。（４）抽出液Ｂ（４ｍＬ）で前記カラムを洗浄した。（５）抽出液Ａ（４ｍＬ）で抽出した。得られた抽出液を減圧濃縮した。

目的物の主たるピークの一つの純度は以下の分析条件のＬＣ／ＭＳ（ＵＶ波長２２０ｎｍ）クロマトグラムの面積比から算出し４３．４％であった。

分析条件：保持時間＝１．３９分；

カラム：Ｋｉｎｅｔｅｘ（登録商標）　ＥＶＯ　Ｃ１８　１．７μｍ　２．１　ｘ　５０ｍｍ；

移動相：Ａ　＝　０．０２５％　ＴＦＡ　ｉｎ　H_2O、Ｂ　＝　０．０２５％　ＴＦＡ　ｉｎ　ＭｅＣＮ；

温度：６０℃；

グラジエント（％Ｂ　ｃｏｎｃ）：２．１０分間かけて５－９５％、その後０．７５分間かけて　９５－９５％；

流量：０．６ｍＬ／ｍｉｎ；

ＥＳＩ－ＭＳ（＋）　観測値ｍ／ｚ＝　１２５８．０（Ｍ＋２Ｈ）$^{2+}$.

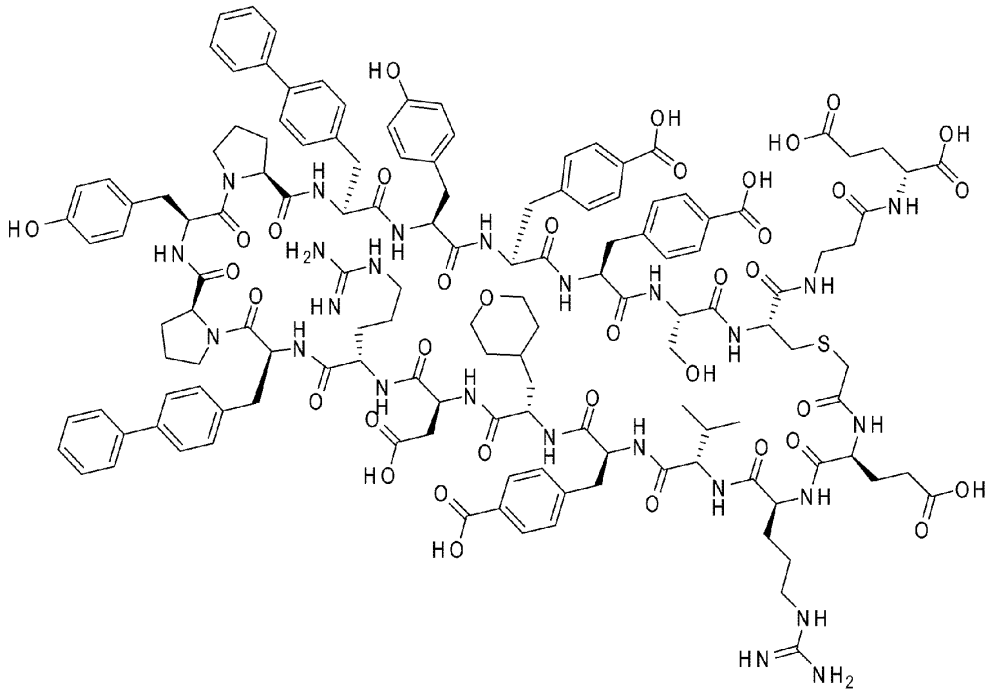
実施例 2

[0091]　ＢＭＰ４シグナル伝達阻害ペプチドＮｏ．１７７（配列番号１７７）の合成

本実施例では、以下の構造を有するＢＭＰ４シグナル伝達阻害ペプチドＮｏ．１７７（配列番号１７７）を合成した。

[0092]

[化2]



[0093] Ｆｍｏｃ－Ｄ－Ｇｌｕ（ｔＢｕ）－Ｗａｎｇ ｒｅｓｉｎ （渡辺化学、０．６２ｍｍｏｌ／ｇ）を用い、一般的方法にてＦｍｏｃ基の除去から開始し、目的のペプチドを合成した。Ｂｉｏｔａｇｅ社のＳｙｒｏ Ｉを固相合成機として使用し、製造元のマニュアルに従って合成を行った。各残基の導入には樹脂１当量に対し、Ｆｍｏｃ－ＡＡ／ＨＡＴＵ／ＤＩＰＥＡ（４．２当量／４当量／８．４当量）を用いＤＭＦ中７５℃下、２０分間２回反応を行った。ただし２残基目、７残基目は室温下、３０分間２回反応を行った。１７残基目は室温下、３０分間１回反応を行った。１８残基目は７５℃下、２０分間１回反応を行った。

Ｆｍｏｃ基除去は、室温下２０％ピペリジンのＤＭＦ溶液と５分間反応させた後、溶液を除去後、再度室温下２０％ピペリジンのＤＭＦ溶液と１５分間反応させる条件を用いた。

クロロアセチル基の導入は、前工程で得られたＦｍｏｃ保護されたペプチ

ドが保持された固相樹脂に対し、前述した方法でα－アミノ基のＦｍｏｃ基を除去した後、クロロ酢酸（１０当量）、ＤＩＰＣＩ（１０当量）とＨＯＳｕ（１０当量）から調整されたＣＩＡｃＯＳｕのＤＣＭ／ＤＭＦ溶液を固相樹脂に加え室温にて６０分間振盪することにより行った。

側鎖の脱保護および固相樹脂からの切り出しは、まずクロロアセチル基導入工程後に得られた樹脂をＤＭＦで５回と塩化メチレンで３回洗浄した後、減圧下乾燥し、続いて固相樹脂の入った反応容器に、反応剤カクテル－Ａ（ＴＦＡ／H_2O／ＴＩＳ／ＤＯＤＴの体積比９２．５：２．５：２．５：２．５の混合物）を加え、室温で９０分間振盪した。反応液をフリットより濾過回収した。反応容器に残った固相樹脂は切り出し用カクテルと再度振盪し、フリットより溶液成分を回収、前述の濾液と混合した。この濾液をジエチルエーテル／ヘキサン（１／１）の混合溶媒に加えると沈殿が生じ、この混合物を遠心分離し、溶液をデカンテーションした。得られた固体を再度ジエチルエーテルにて洗浄後、減圧下乾燥した。得られた固体を次の環化反応に用いた。

[0094] ペプチドの環化反応は、ペプチドの終濃度が固相樹脂のモル数を基に５ｍＭとなるようにＭｅＣＮ／H_2O（１／１）に溶解後、トリエチルアミン（１０当量）を加えて、室温で１５時間振盪した。得られた反応溶液に酢酸を加えた後Ｇｅｎｅｖａｃ　ＥＺ－ＩＩ　ｅｌｉｔｅを用いて減圧濃縮した。

得られた粗生成物を以下の条件を用いて精製した。

カラム：Ｗａｔｅｒｓ　ＸＢｒｉｄｇｅ（登録商標）　Ｃ１８、　３０　ｘ　１５０ｍｍ；

移動相：Ａ　＝　０．１％　ＴＦＡ　ｉｎ　H_2O、Ｂ　＝　０．１％　ＴＦＡ　ｉｎ　ＭｅＣＮ；温度：５０℃；グラジエント（％Ｂ　ｃｏｎｃ．）：３分間かけて９－３４％、その後８分間かけて３４－３９％、その後１分間かけて３９－６０％；流量：　４５ｍＬ／分。

目的物の純度は以下の分析条件のＬＣ／ＭＳ（ＵＶ波長２２５ｎｍ）クロマトグラムの面積比から算出し９３．５％であった。

分析条件：保持時間＝４．４９分；

カラム：Ｋｉｎｅｔｅｘ（登録商標）　ＥＶＯ　Ｃ１８　２．６μｍ　２．１　ｘ　１５０ｍｍ、　１００Å；

移動相：Ａ　＝　０．０２５％　ＴＦＡ　ｉｎ　H_2O、Ｂ　＝　０．０２５％　ＴＦＡ　ｉｎ　ＭｅＣＮ；

温度：６０　℃；グラジエント（％Ｂ　ｃｏｎｃ）：７．１５分間かけて２０－６０％、その後０．３０分間かけて　６０－９５％、その後１．５５分間かけて９５－９５％；

流量：０．５ｍＬ／分

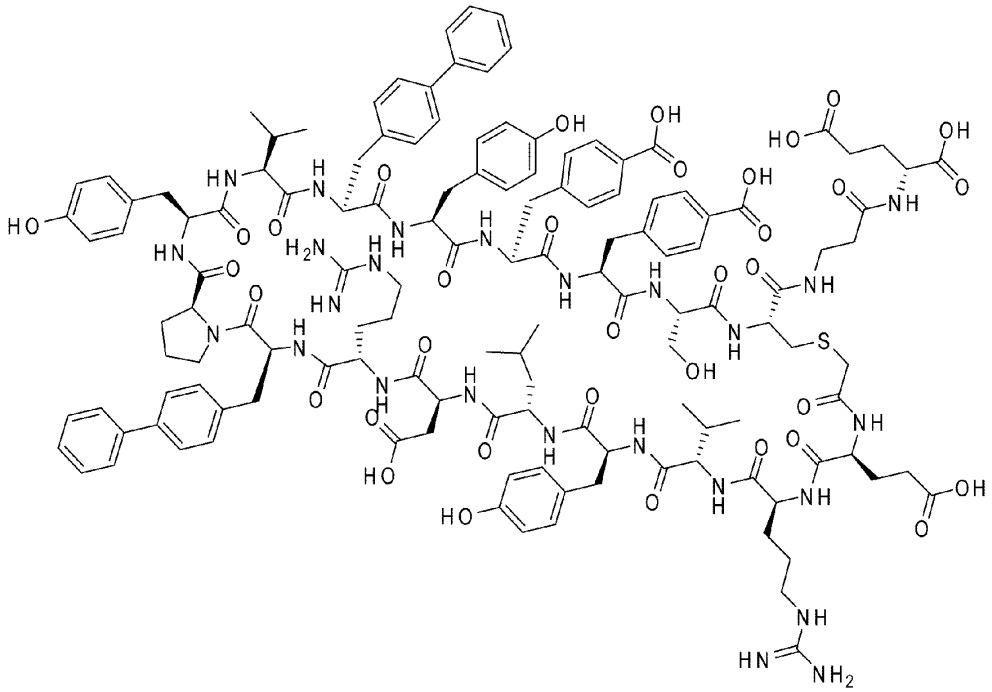
ＥＳＩ－ＭＳ（＋）　観測値ｍ／ｚ＝　１４００．９（Ｍ＋２Ｈ）$^{2+}$.

実施例 3

[0095]　ＢＭＰ４シグナル伝達阻害ペプチドＮｏ．８４（配列番号８４）の合成

本実施例では、以下の構造を有するＢＭＰ４シグナル伝達阻害ペプチドＮｏ．８４（配列番号８４）を合成した。

[0096] [化3]



[0097] Ｆｍｏｃ－Ｄ－Ｇｌｕ（ＯｔＢｕ）－Ｗａｎｇ ｒｅｓｉｎ （渡辺化学、 ０．７９ｍｍｏｌ／ｇ）を用い、一般的方法にてＦｍｏｃ基の除去から開始し、目的のペプチドを合成した。Ｂｉｏｔａｇｅ社のＳｙｒｏ Ｉを固相合成機として使用し、製造元のマニュアルに従って合成を行った。各残基の導入には樹脂１当量に対し、Ｆｍｏｃ－ＡＡ／ＨＡＴＵ／ＤＩＰＥＡ（４．２当量／４当量／８．４当量）を用いＤＭＦ中７５℃下、２０分間２回反応を行った。ただし２残基目は７５℃下、３０分間２回反応を行った。７残基目は５０℃下、３０分間２回反応を行った。１７残基目は室温下、３０分間２回反応を行った。

Ｆｍｏｃ基除去は、室温下２０％ピペリジンのＤＭＦ溶液と５分間反応させた後、溶液を除去後、再度室温下２０％ピペリジンのＤＭＦ溶液と１５分間反応させる条件を用いた。

クロロアセチル基の導入は、前工程で得られたＦｍｏｃ保護されたペプチドが保持された固相樹脂１当量に対し、ＣＩＡｃＯＨ／ＤＩＰＣＩ／ＨＯＳｕ（５．３当量／５．２５当量／５．３当量）から調整されたＣＩＡｃＯＳｕのＮＭＰ／ＤＣＭ溶液を固相樹脂に加え室温にて９０分間振盪することにより行った。

側鎖の脱保護および固相樹脂からの切り出しは、まずクロロアセチル基導入工程後に得られた樹脂をＤＭＦで５回と塩化メチレンで３回洗浄した後、減圧下乾燥し、続いて固相樹脂の入った反応容器に、反応剤カクテル－Ａ（ＴＦＡ／H_2O／ＴＩＳ／ＤＯＤＴの体積比９２．５：２．５：２．５：２．５の混合物）を加え、室温で９０分間振盪した。反応液をフリットより濾過回収した。反応容器に残った固相樹脂は切り出し用カクテルと再度振盪し、フリットより溶液成分を回収、前述の濾液と混合した。この濾液を冷やした過剰のジイソプロピルエーテルに加えると沈殿が生じ、この混合物を遠心分離し、上澄みを除去した。得られた固体を再度冷やしたジエチルエーテルにて洗浄後、減圧下乾燥した。得られた固体を次の環化反応に用いた。

ペプチドの環化反応は、ペプチドの終濃度が固相樹脂のモル数を基に２．５ｍＭとなるようにＤＭＳＯ／H_2O（９／１）に溶解後、トリエチルアミン（１０当量）を加えて、室温で２時間振盪した。得られた反応溶液に酢酸を加えた後Ｇｅｎｅｖａｃ　ＥＺ－ＩＩ　ｅｌｉｔｅを用いて減圧濃縮した。

得られた粗生成物を以下の条件にて精製した。

カラム：Ｊｅａｎｉｏｕｓ　Ｏｎｅ－Ｃｏｌｕｍｎ、　２０　ｘ　１５０ｍｍ（ＣｈｒｏｍａＪｅａｎ社）；

移動相：Ａ　＝　０．１％　ＴＦＡ　ｉｎ　H_2O、Ｂ　＝　０．１％　ＴＦＡ　ｉｎ　ＭｅＣＮ；温度：室温；グラジエント（％Ｂ　ｃｏｎｃ）：９分間かけて２５．９－４５．９％、その後０．０１分間かけて４５．９－９０％；

流量：　２０ｍＬ／分。

目的物の純度は以下の分析条件のＬＣ／ＭＳ（ＵＶ波長２２５ｎｍ）クロマトグラムの面積比から算出し８２．８％であった。

分析条件：保持時間＝４．１４分；カラム：Ｋｉｎｅｔｅｘ（登録商標）ＥＶＯ　Ｃ１８　２．６μｍ　２．１　ｘ　１５０ｍｍ、　１００Å；移動相：Ａ　＝　０．０２５％　ＴＦＡ　ｉｎ　H_2O、Ｂ　＝　０．０２５％　ＴＦＡ　ｉｎ　ＭｅＣＮ；温度：６０　℃；グラジエント（％Ｂ　ｃｏｎｃ）：７．１５分間かけて２０－６０％、その後０．３０分間かけて　６０－９５％、その後１．５５分間かけて９５－９５％；流量：０．５ｍＬ／分ＥＳＩ－ＭＳ（＋）　観測値ｍ／ｚ＝　１３５９．９（Ｍ＋２Ｈ）２＋．

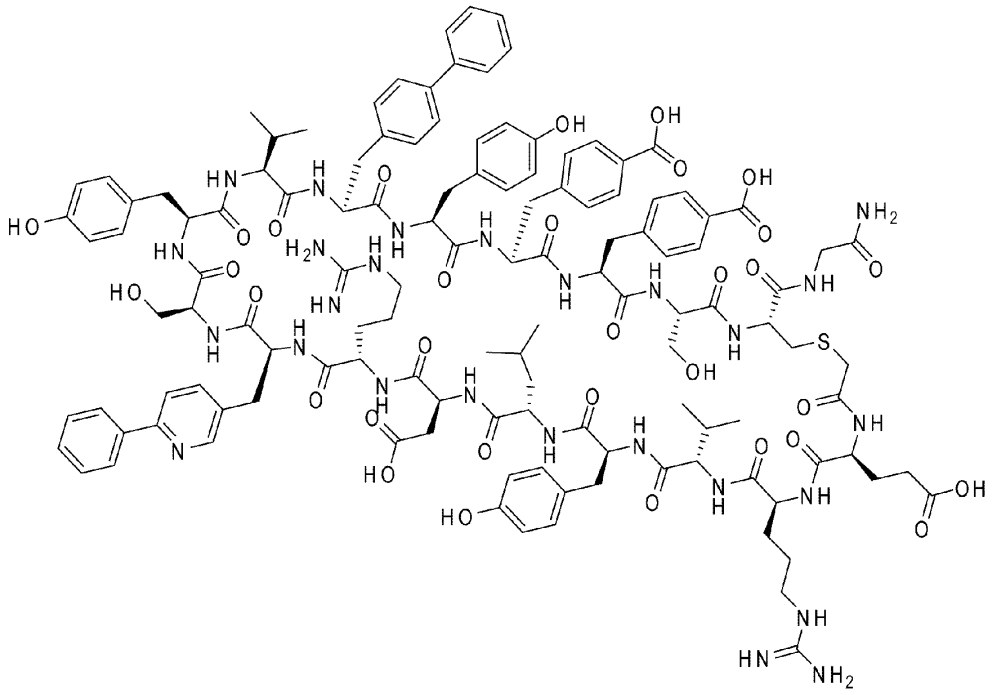
実施例 4

[0098]　ＢＭＰ４シグナル伝達阻害ペプチドＮｏ．８７（配列番号８７）の合成

本実施例では、以下の構造を有するＢＭＰ４シグナル伝達阻害ペプチドＮｏ．８７（配列番号８７）を合成した。

[0099]

[化4]



[0100] Ｓｉｅｂｅｒ Ａｍｉｄｅ ｒｅｓｉｎ （Ｍｅｒｃｋ社、 ０．４８ｍｍｏｌ／ｇ）を用い、前述の一般的方法にてＦｍｏｃ基の除去から開始し、目的のペプチドを合成した。Ｂｉｏｔａｇｅ社のＳｙｒｏ Ｉを固相合成機として使用し、製造元のマニュアルに従って合成を行った。各残基の導入には樹脂１当量に対し、Ｆｍｏｃ－ＡＡ／ＨＡＴＵ／ＤＩＰＥＡ（４．２当量／４当量／８．４当量）を用いＤＭＦ中７５℃下、２０分間２回反応を行った。ただし２残基目は７５℃下、３０分間２回反応を行った。７残基目は５０℃下、３０分間２回反応を行った。１７残基目は室温下、３０分間２回反応を行った。

Ｆｍｏｃ基除去は、室温下２０％ピペリジンのＤＭＦ溶液と５分間反応させた後、溶液を除去後、再度室温下２０％ピペリジンのＤＭＦ溶液と１５分間反応させる条件を用いた。

クロロアセチル基の導入は、前工程で得られたＦｍｏｃ保護されたペプチド

が保持された固相樹脂１当量に対し、ＣＩＡｃＯＨ／ＤＩＰＣＩ／ＨＯＳｕ（５．３当量／５．２５当量／５．３当量）から調整されたＣＩＡｃＯＳｕのＮＭＰ／ＤＣＭ溶液を固相樹脂に加え室温にて９０分間振盪することにより行った。

側鎖の脱保護および固相樹脂からの切り出しは、まずクロロアセチル基導入工程後に得られた樹脂をＤＭＦで５回と塩化メチレンで３回洗浄した後、減圧下乾燥し、続いて固相樹脂の入った反応容器に、反応剤カクテル－Ａ（ＴＦＡ／H_2O／ＴＩＳ／ＤＯＤＴの体積比９２．５：２．５：２．５：２．５の混合物）を加え、室温で９０分間振盪した。反応液をフリットより濾過回収した。反応容器に残った固相樹脂は切り出し用カクテルと再度振盪し、フリットより溶液成分を回収、前述の濾液と混合した。この濾液を冷やした過剰のジイソプロピルエーテルに加えると沈殿が生じ、この混合物を遠心分離し、上澄みを除去した。得られた固体を再度冷やしたジエチルエーテルにて洗浄後、減圧下乾燥した。得られた固体を次の環化反応に用いた。

ペプチドの環化反応は、ペプチドの終濃度が固相樹脂のモル数を基に２．５ｍＭとなるようにＤＭＳＯ／H_2O（９／１）に溶解後、トリエチルアミン（１０当量）を加えて、室温で２時間振盪した。得られた反応溶液に酢酸を加えた後Ｇｅｎｅｖａｃ　ＥＺ－ＩＩ　ｅｌｉｔｅを用いて減圧濃縮した。

　得られた粗生成物を以下の条件を用いて精製した。

カラム：Ｊｅａｎｉｏｕｓ　Ｏｎｅ－Ｃｏｌｕｍｎ、　２０　ｘ　１５０ｍｍ（ＣｈｒｏｍａＪｅａｎ社）；

移動相：Ａ　＝　０．１％　ＴＦＡ　ｉｎ　H_2O、Ｂ　＝　０．１％　ＴＦＡ　ｉｎ　ＭｅＣＮ；温度：室温；グラジエント（％Ｂ　ｃｏｎｃ）：９分間かけて１８．７－３８．７％、その後０．０１分間かけて３８．７－９０％；流量：　２０ｍＬ／分。

目的物の純度は以下の分析条件のＬＣ／ＭＳ（ＵＶ波長２２５ｎｍ）クロマトグラムの面積比から算出し９０．３％であった。

分析条件：保持時間＝３．１５分；カラム：Ｋｉｎｅｔｅｘ（登録商標）

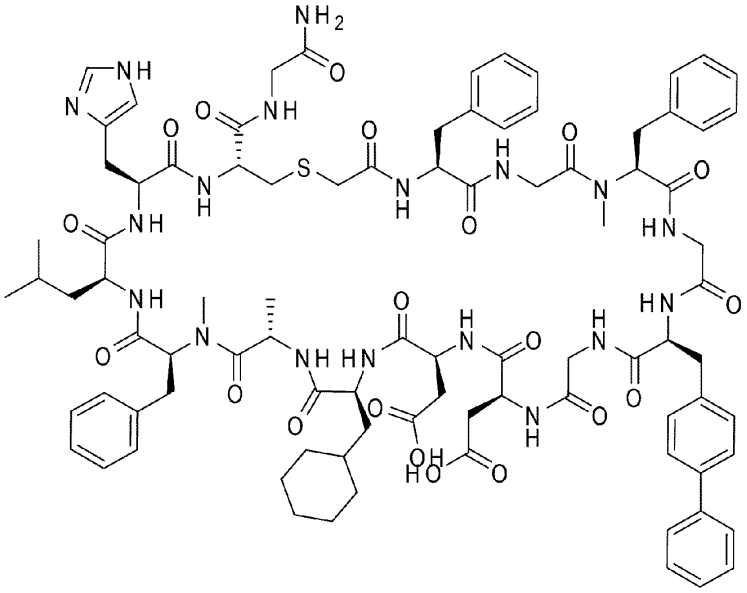
ＥＶＯ Ｃ１８ ２．６μｍ ２．１ ｘ １５０ｍｍ、 １００Å；移動相：Ａ ＝ ０．０２５％ ＴＦＡ ｉｎ H_2O、Ｂ ＝ ０．０２５％ ＴＦＡ ｉｎ ＭｅＣＮ；温度：６０ ℃；グラジエント（％Ｂ ｃｏｎｃ）：７．１５分間かけて２０－６０％、その後０．３０分間かけて ６０－９５％、その後１．５５分間かけて９５－９５％；流量：０．５ｍＬ／分 ＥＳＩ－ＭＳ（＋） 観測値ｍ／ｚ＝ １２８３．６（Ｍ＋２Ｈ）$^{2+}$.

実施例 5

[0101] ＢＭＰ７シグナル伝達阻害ペプチドの合成

本実施例では、以下の構造を有するＢＭＰ７シグナル伝達阻害ペプチド（ＣＩＡｃ－Ｆ－Ｇ－ＭｅＦ－Ｇ－Ｂｐｈ－Ｇ－Ｄ－Ｄ－Ｃｈａ－Ａ－ＭｅＦ－Ｌ－Ｈ－Ｃ－Ｇ－ＮＨ２，配列番号３７１，－ＮＨ２は付加配列）を合成した。

[0102] [化5]



[0103] Ｓｉｅｂｅｒ ａｍｉｄｅ ｒｅｓｉｎ （渡辺化学，０．５７ｍｍｏｌ／ｇ）を用い、一般的方法にてＦｍｏｃ基の除去から開始し、目的のペプチドを合成した。その際、Ｂｉｏｔａｇｅ社のＳｙｒｏ ＩＩを固相合成機として使用し、製造元のマニュアルに従って合成を行った。各残基の導入には

樹脂１当量に対し、Ｆｍｏｃ－ＡＡ／ＨＡＴＵ／ＤＩＥＡ　（４．２当量／３．９当量／８．４当量）を用いＤＭＦ中７５℃下、２０分間２回反応を行った。ただし１１残基目、１３残基目５０℃下、３０分間２回反応を行った。１４残基目は２５℃下、２０分間２回反応を行った。

Ｆｍｏｃ除去は、室温下２０％ピペリジンのＤＭＦ溶液と５分間反応させた後、溶液を除去後、再度室温下２０％ピペリジンのＤＭＦ溶液と１５分間反応させた。

クロロアセチル基の導入は、前工程で得られたＦｍｏｃ保護されたペプチドが保持された固相樹脂に対し、前述した方法でα－アミノ基のＦｍｏｃ基を除去したのち、０．３Ｍ　クロロ酢酸のＤＭＦ溶液（４．２当量）、０．２８Ｍ　ＨＣＴＵのＤＭＦ溶液（３．９当量）、１．０５Ｍ　ＤＩＥＡのＤＭＦ溶液（８．４当量）を固相樹脂に加え室温にて３０分間振盪を２回繰り返すことにより行った。

側鎖の脱保護および固相樹脂からの切り出しは、まずクロロアセチル基導入工程後に得られた樹脂をＤＭＦで３回と塩化メチレンで３回洗浄した後、減圧下乾燥し、続いて固相樹脂の入った反応容器に、反応剤カクテル－Ａ（ＴＦＡ／H_2O／ＴＩＳ／ＤＯＤＴの体積比９２．５：２．５：２．５：２．５の混合物）を加え、室温で６０分振盪した。反応液をフリットより濾過回収した。この濾液を冷やした過剰のジイソプロピルエーテルに加えると沈殿が生じ、この混合物を遠心分離し（８５００ｒｐｍ、３０秒間）、溶液をデカンテーションした。得られた固体を再度冷やしたジエチルエーテル／ヘキサン（１／１）の混合溶媒にて洗浄した。再度この固体を遠心分離し（８５００ｒｐｍ、３０秒間）、溶液をデカンテーションした後、減圧下乾燥した。得られた固体を次の環化反応に用いた。

ペプチドの環化反応は、ペプチドの終濃度が固相樹脂のモル数を基に２．５ｍＭとなるように３０％含水ＤＭＳＯに溶解後、トリエチルアミン（１０当量）を加えて、室温で終夜振盪した。得られた反応溶液をＧｅｎｅｖａｃ　ＥＺ－２　Ｅｌｉｔｅを用いて減圧濃縮し、得られた残差にＤＭＳＯ（０．

１ｍＬ）を加えた。

得られた上記溶液はギルソン社のカラムを用い固相抽出した（カラム：Ｇｉｌｓｏｎ　ＡＳＰＥＣ　Ｃ１８　５００ｍｇ　３ｍＬ）：（１）カラムを抽出液Ａ（０．１％　ＴＦＡ　ｉｎ　９５％ＭｅＣＮ／H_2O、３ｍＬ）で洗浄した。（２）抽出液Ｂ（０．１％　ＴＦＡ　ｉｎ　５％ＭｅＣＮ／H_2O、３ｍＬ）でカラムを平衡化した。（３）上記反応溶液０．１ｍＬをカラムにローディングした。（４）抽出液Ｂ（４ｍＬ）でカラムを洗浄した。（５）抽出液Ａ（４ｍＬ）で抽出した。得られた抽出液をＥＺ－２　Ｅｌｉｔｅを用いて減圧濃縮した。

目的物の主たるピークの一つの純度は以下の分析条件のＬＣ／ＭＳ（ＵＶ波長２２０ｎｍ）クロマトグラムの面積比から算出し６０．１％であった。

分析条件：保持時間＝１．５８分；カラム：Ｋｉｎｅｔｅｘ　ＥＶＯ　Ｃ１８　１．７μｍ　２．１　ｘ　５０ｍｍ；移動相：Ａ　＝　０．０２５％　ＴＦＡ　ｉｎ　H_2O、Ｂ　＝　０．０２５％　ＴＦＡ　ｉｎ　ＭｅＣＮ；温度：６０℃；グラジエント（％Ｂ　ｃｏｎｃ）：２．１０分間かけて５－９５％、その後０．７５分間かけて　９５－９５％；流量：０．６ｍＬ／ｍｉｎ

ＥＳＩ－ＭＳ（＋）　観測値ｍ／ｚ＝　８９４．２（Ｍ＋２Ｈ）$^{2+}$.

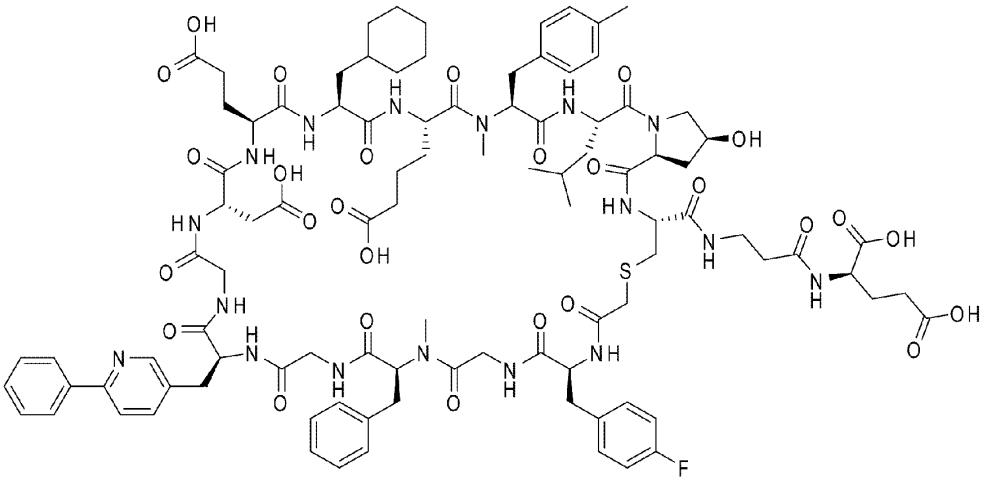
実施例 6

[0104]　ＢＭＰ７シグナル伝達阻害ペプチドの合成

本実施例では、以下の構造を有するＢＭＰ７シグナル伝達阻害ペプチド（ＣｌＡｃ－Ｆ４Ｆ－Ｇ－ＭｅＦ－Ｇ－３Ｐｙ６Ｐｈ－Ｇ－Ｄ－Ｅ－Ｃｈａ－Ｈｇｌ－ＭｅＦ４Ｍｅ－Ｌ－Ｐ４Ｓｈ－Ｃ－ｂＡ－ｄｅ－ＯＨ，配列番号４１７，ｂＡ－ｄｅ－ＯＨは付加配列）を合成した。

[0105]

[化6]



[0106] Ｆｍｏｃ－ｄ－Ｇｌｕ（ｔＢｕ）－Ｗａｎｇ ｒｅｓｉｎ （渡辺化学，０．６２ｍｍｏｌ／ｇ）を用い，一般的方法にてＦｍｏｃ基の除去から開始し，目的のペプチドを合成した。ＣＥＭ社のＬｉｂｅｒｔｙ Ｐｒｉｍｅを固相合成機として使用し，製造元のマニュアルに従って合成を行った。各残基の導入には樹脂１当量に対し，Ｆｍｏｃ－ＡＡ／ＤＩＣ／Ｏｘｙｍａ ｐｕｒｅ（５．２５当量／１０当量／５当量）を用いＤＭＦ中１０５℃下、２分間１回反応を行った。ただし５残基目は、ＮＭＰに溶解したＦｍｏｃ－ＡＡを用いた。２残基目、１０残基目は９０℃下、１０分間２回反応を行った。１４残基目は５０℃下、１５分間１回反応を行った。

Ｆｍｏｃ基除去は，４％ピロリジンのＤＭＦ溶液と１１０℃下、１分間反応させる条件を基本として用いた。ただし１残基目、３残基目、４残基目、５残基目、６残基目、７残基目は１０％ピロリジンのＤＭＦ溶液と５０℃下、９０秒間反応させた。２残基目、１０残基目は１０％ピロリジンのＤＭＦ溶液と１分間反応させた後，溶液を除去後，再度室温下１０％ピロリジンのＤＭＦ溶液と１分間反応させる条件を用いた。

クロロアセチル基の導入は，ＣＩＡｃＯＳｕ（１０当量）のＤＣＭ／ＤＭＦ溶液を固相樹脂に加え室温にて６０分間振盪することにより行った。

側鎖の脱保護および固相樹脂からの切り出しは，まずクロロアセチル基導入工程後に得られた樹脂をＤＭＦと塩化メチレン、ついでジエチルエーテルで洗浄した後，減圧下乾燥し，続いて固相樹脂の入った反応容器に，反応剤カクテル－Ａ（ＴＦＡ／H_2O／ＴＩＳ／ＤＯＤＴの体積比９２．５：２．５：２．５：２．５の混合物）を加え，室温で７５分間振盪した。反応液をフリットより濾過回収した。

得られた濾液を冷やした過剰のジエチルエーテル／ヘキサン（１／１）の混合溶媒に加えると沈殿が生じ，この混合物を遠心分離し，溶液をデカンテーションした。得られた固体を再度ジエチルエーテルにて洗浄後，減圧下乾燥した。得られた固体を次の環化反応に用いた。

ペプチドの環化反応は，ペプチドの終濃度が固相樹脂のモル数を基に５ｍＭとなるようにＤＭＳＯに溶解後，トリエチルアミン（１０当量）を加えて，室温で２０時間振盪した。得られた反応溶液に酢酸を加えた後Ｇｅｎｅｖａｃ　ＥＺ－ＩＩ　ｅｌｉｔｅを用いて減圧濃縮した。

得られた粗生成物を以下の条件を用いて精製した。（カラム：Ｗａｔｅｒｓ　ＸＢｒｉｄｇｅ（登録商標）　Ｃ１８，　１９　ｘ　１５０ｍｍ；移動相：Ａ　＝　０．１％　ＴＦＡ　ｉｎ　H_2O，Ｂ　＝　０．１％　ＴＦＡ　ｉｎ　ＭｅＣＮ；温度：５０℃；グラジエント（％Ｂ　ｃｏｎｃ．）：３分間かけて１２－３７％，その後８分間かけて３７－４２％，その後１分間かけて４２－６０％；流量：　１７ｍＬ／分。

目的物の純度は以下の分析条件のＬＣ／ＭＳ（ＵＶ波長２２５ｎｍ）クロマトグラムの面積比から算出し９７．９３％であった。

分析条件：保持時間＝５．４８分；カラム：Ｋｉｎｅｔｅｘ　ＥＶＯ　Ｃ１８　２．６μｍ　２．１　ｘ　１５０ｍｍ，　１００Å；移動相：Ａ　＝　０．０２５％　ＴＦＡ　ｉｎ　H_2O，Ｂ　＝　０．０２５％　ＴＦＡ　ｉｎ　ＭｅＣＮ；温度：６０　℃；グラジエント（％Ｂ　ｃｏｎｃ）：７．１５分間かけて２０－６０％，その後０．３０分間かけて　６０－９５％，その後１．５５分間かけて９５－９５％；流量：０．５ｍＬ／分

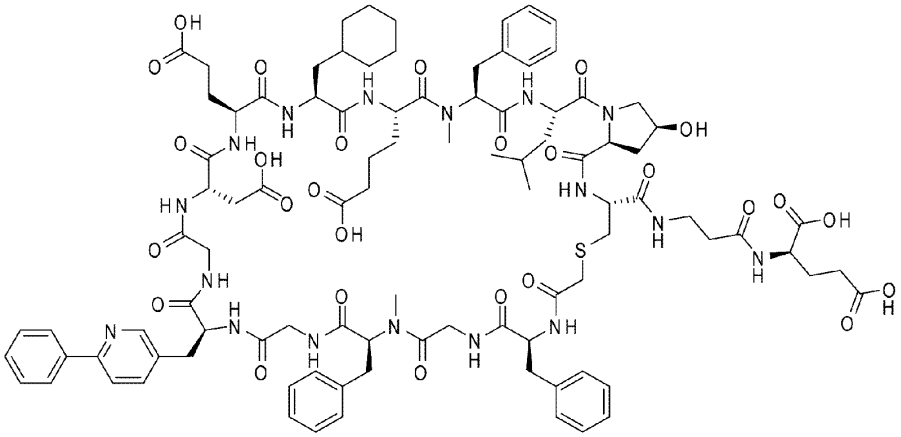
ＥＳＩ－ＭＳ（＋）　観測値ｍ／ｚ＝　１０１３．５（Ｍ＋２Ｈ）$^{2+}$.

実施例 7

[0107]　ＢＭＰ７シグナル伝達阻害ペプチドの合成

__本実施例では、以下の構造を有するＢＭＰ７シグナル伝達阻害ペプチド（ＣｌＡｃ－Ｆ－Ｇ－ＭｅＦ－Ｇ－３Ｐｙ６Ｐｈ－Ｇ－Ｄ－Ｅ－Ｃｈａ－Ｈｇｌ　ＭｅＦ－Ｌ－Ｐ４Ｓｈ－Ｃ－ｂＡ－ｄｅ－ＯＨ，配列番号４１５，ｂＡ－ｄｅ－ＯＨは付加配列）を合成した。

[0108] [化7]



[0109]　Ｆｍｏｃ－ｄ－Ｇｌｕ（ｔＢｕ）－Ｗａｎｇ　ｒｅｓｉｎ　（渡辺化学，０．６２ｍｍｏｌ／ｇ）を用い，一般的方法にてＦｍｏｃ基の除去から開始し，目的のペプチドを合成した。ＣＥＭ社のＬｉｂｅｒｔｙ　Ｐｒｉｍｅを固相合成機として使用し，製造元のマニュアルに従って合成を行った。各残基の導入には樹脂１当量に対し，Ｆｍｏｃ－ＡＡ／ＤＩＣ／Ｏｘｙｍａ　ｐｕｒｅ（５．２５当量／１０当量／５当量）を用いＤＭＦ中１０５℃下、２分間１回反応を行った。ただし５残基目は、ＮＭＰに溶解したＦｍｏｃ－ＡＡを用いた。２残基目、１０残基目は９０℃下、１０分間２回反応を行った。１４残基目は５０℃下、１５分間１回反応を行った。１５残基目は１０５℃下、１分間１回反応を行った。

Ｆｍｏｃ基除去は，４％ピロリジンのＤＭＦ溶液と１１０℃下、１分間反応させる条件を基本として用いた。

ただし１残基目、３残基目、４残基目、５残基目、６残基目、７残基目は１０％ピロリジンのＤＭＦ溶液と５０℃下、９０秒間反応させた。２残基目、１０残基目は１０％ピロリジンのＤＭＦ溶液と１分間反応させた後，溶液を除去後，再度室温下１０％ピロリジンのＤＭＦ溶液と１分間反応させる条件を用いた。

クロロアセチル基の導入は，ＣＩＡｃＯＳｕ（１０当量）のＤＣＭ／ＤＭＦ溶液を固相樹脂に加え室温にて６０分間振盪することにより行った。

側鎖の脱保護および固相樹脂からの切り出しは，まずクロロアセチル基導入工程後に得られた樹脂をＤＭＦと塩化メチレン、ついでジエチルエーテルで洗浄した後，減圧下乾燥し，続いて固相樹脂の入った反応容器に，反応剤カクテル－Ａ（ＴＦＡ／H_2O／ＴＩＳ／ＤＯＤＴの体積比９２．５：２．５：２．５：２．５の混合物）を加え，室温で７５分間振盪した。反応液をフリットより濾過回収した。

得られた濾液を冷やした過剰のジエチルエーテル／ヘキサン（１／１）の混合溶媒に加えると沈殿が生じ，この混合物を遠心分離し，溶液をデカンテーションした。得られた固体を再度ジエチルエーテルにて洗浄後，減圧下乾燥した。得られた固体を次の環化反応に用いた。

ペプチドの環化反応は，ペプチドの終濃度が固相樹脂のモル数を基に５ｍＭとなるようにＤＭＳＯに溶解後，トリエチルアミン（１０当量）を加えて，室温で２０時間振盪した。得られた反応溶液に酢酸を加えた後Ｇｅｎｅｖａｃ　ＥＺ－ＩＩ　ｅｌｉｔｅを用いて減圧濃縮した。

　得られた粗生成物を以下の条件を用いて精製した。（カラム：Ｊｅａｎｉｏｕｓ　Ｏｎｅ－Ｃｏｌｕｍｎ　２０ｍｍＩ．Ｄ．ｘ１５０ｍｍＬ；移動相：Ａ　＝　０．１％　ＴＦＡ　ｉｎ　H_2O，Ｂ　＝　０．１％　ＴＦＡ　ｉｎ　ＭｅＣＮ；温度：６０℃；グラジエント（％Ｂ　ｃｏｎｃ．）：９分間かけて２７．６－４７．６％；流量：　２０ｍＬ／分。

目的物の純度は以下の分析条件のＬＣ／ＭＳ（ＵＶ波長２２５ｎｍ）クロマトグラムの面積比から算出し９４．８８％であった。

分析条件：保持時間＝５．４０分；カラム：Ｋｉｎｅｔｅｘ　ＥＶＯ　Ｃ１８　２．６μｍ　２．１　ｘ　１５０ｍｍ，　１００Å；移動相：Ａ　＝　０．０２５％　ＴＦＡ　ｉｎ　H_2O，Ｂ　＝　０．０２５％　ＴＦＡ　ｉｎ　ＭｅＣＮ；温度：６０　℃；グラジエント（％Ｂ　ｃｏｎｃ）：７．１５分間かけて２０－６０％，その後０．３０分間かけて　６０－９５％，その後１．５５分間かけて９５－９５％；流量：０．５ｍＬ／分

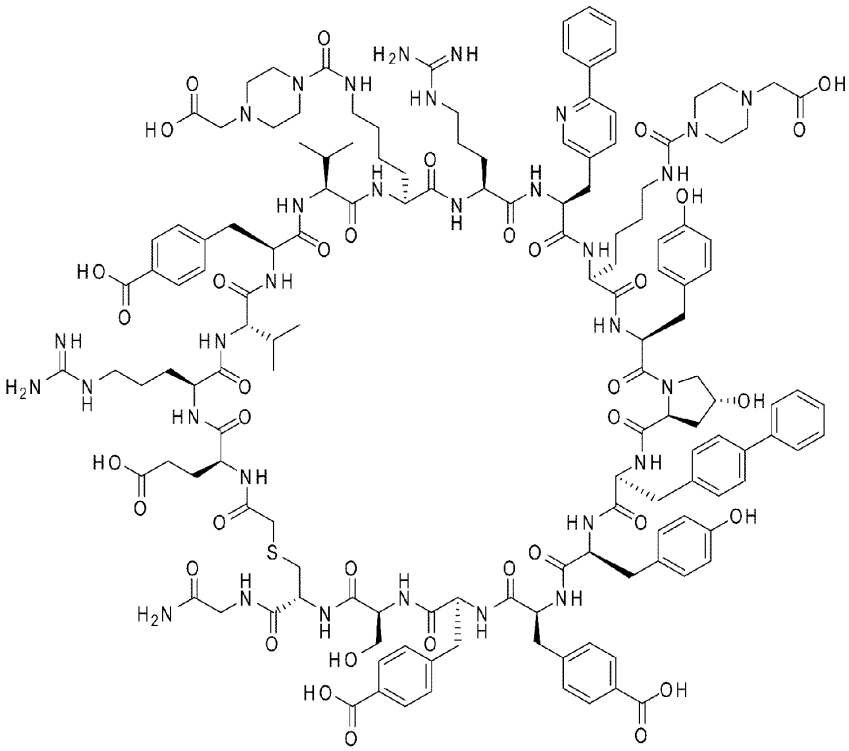
ＥＳＩ－ＭＳ（＋）　観測値ｍ／ｚ＝　９９７．５（Ｍ＋２Ｈ）$^{2+}$.

実施例 8

[0110]　ＢＭＰ４シグナル伝達阻害ペプチドの合成

本実施例では、以下の構造を有するＢＭＰ４シグナル伝達阻害ペプチド（ＣＩＡｃ－Ｅ－Ｒ－Ｖ－Ｆ４ＣＯＯ－Ｖ－ＫＣＯｐｉｐｚａａ－Ｒ－３Ｐｙ６Ｐｈ－ＫＣＯｐｉｐｚａａ－Ｙ－Ｈｙｐ－Ｂｐｈ－Ｙ－Ｆ４ＣＯＯ－Ｆ４ＣＯＯ－Ｓ－Ｃ－Ｇ－ＮＨ２，配列番号２７７）を合成した。

[0111] [化8]



[0112] Ｓｉｅｂｅｒ ａｍｉｄｅ ｒｅｓｉｎ （渡辺化学， ０．５７ｍｍｏｌ／ｇ）を用い，一般的方法にてＦｍｏｃ基の除去から開始し，目的のペプチドを合成した。ＣＥＭ社のＬｉｂｅｒｔｙ Ｐｒｉｍｅを固相合成機として使用し，製造元のマニュアルに従って合成を行った。各残基の導入には樹脂１当量に対し，Ｆｍｏｃ－ＡＡ／ＤＩＣ／Ｏｘｙｍａ ｐｕｒｅ（４．２当量／１６当量／６当量）を用いＤＭＦ中１０５℃下、９０秒間１回反応を行った。ただし８残基目は、ＮＭＰに溶解したＦｍｏｃ－ＡＡを用いた。２残基目、７残基目は５０℃下、１５分間２回反応を行った。１７残基目は５０℃下、１５分間１回反応を行った。

Ｆｍｏｃ基除去は，４％ピロリジンのＤＭＦ溶液と１１０℃下、１分間反応させる条件を用いた。

クロロアセチル基の導入は，ＣＩＡｃＯＳｕ（５当量）のＤＭＦ溶液を固相樹脂に加え室温にて６０分間振盪することにより行った。

側鎖の脱保護および固相樹脂からの切り出しは，まずクロロアセチル基導入工程後に得られた樹脂をＤＭＦと塩化メチレン、ついでジエチルエーテルで洗浄した後，減圧下乾燥し，続いて固相樹脂の入った反応容器に，反応剤カクテル－Ａ（ＴＦＡ／H_2O／ＴＩＳ／ＤＯＤＴの体積比９２．５：２．５：２．５：２．５の混合物）を加え，室温で９０分間振盪した。反応液をフリットより濾過回収した。

得られた濾液を冷やした過剰のジイソプロピルエーテル／ヘキサン（１／１）の混合溶媒に加えると沈殿が生じ，この混合物を遠心分離し，溶液をデカンテーションした。得られた固体を再度ジエチルエーテルにて洗浄後，減圧下乾燥した。得られた固体を次の環化反応に用いた。

ペプチドの環化反応は，ペプチドの終濃度が固相樹脂のモル数を基に２．５ｍＭとなるようにＤＭＳＯに溶解後，トリエチルアミン（１０当量）を加えて，室温で８時間振盪した。得られた反応溶液に酢酸を加えた後Ｇｅｎｅｖａｃ ＥＺ－ＩＩ ｅｌｉｔｅを用いて減圧濃縮した。

得られた粗生成物を以下の条件を用いて精製した。（カラム：Ｗａｔｅｒｓ　ＸＢｒｉｄｇｅ（登録商標）　Ｃ１８，　３０　ｘ　１５０ｍｍ；移動相：Ａ　＝　０．１％　ＴＦＡ　ｉｎ　H_2O，Ｂ　＝　０．１％　ＴＦＡ　ｉｎ　ＭｅＣＮ；温度：５０℃；グラジエント（％Ｂ　ｃｏｎｃ．）：３分間かけて５－２２％，その後８分間かけて２２－２７％，その後１分間かけて２７－６０％；流量：　４５ｍＬ／分。

目的物の純度は以下の分析条件のＬＣ／ＭＳ（ＵＶ波長２２５ｎｍ）クロマトグラムの面積比から算出し９３．２９％であった。

分析条件：保持時間＝５．３６分；カラム：Ｋｉｎｅｔｅｘ　ＥＶＯ　Ｃ１８　２．６μｍ　２．１　ｘ　１５０ｍｍ，　１００Å；移動相：Ａ　＝　０．０２５％　ＴＦＡ　ｉｎ　H_2O，Ｂ　＝　０．０２５％　ＴＦＡ　ｉｎ　ＭｅＣＮ；温度：６０　℃；グラジエント（％Ｂ　ｃｏｎｃ）：７．１５分間かけて５－４５％，その後０．３０分間かけて４５－９５％，その後１．５５分間かけて９５－９５％；流量：０．５ｍＬ／分

ＥＳＩ－ＭＳ（＋）　観測値ｍ／ｚ＝　１００１．３（Ｍ＋３Ｈ）$^{3+}$.

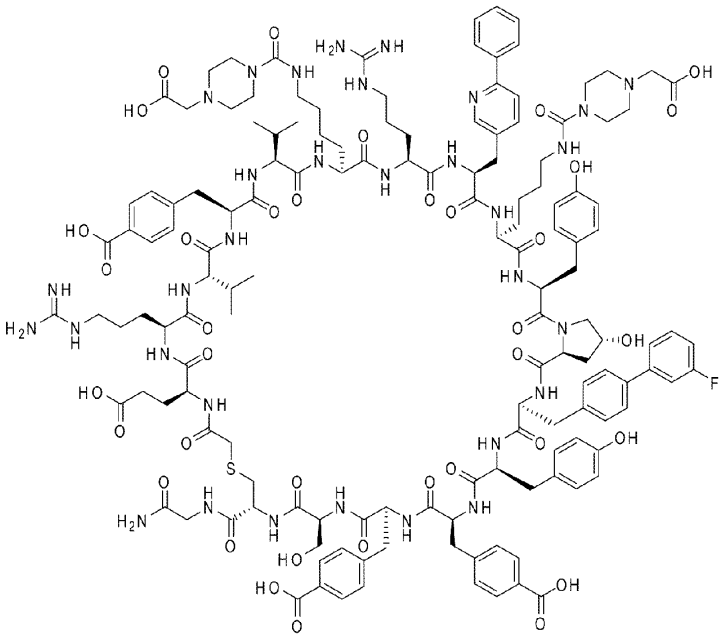
実施例 9

[0113] ＢＭＰ４シグナル伝達阻害ペプチドの合成

本実施例では、以下の構造を有するＢＭＰ４シグナル伝達阻害ペプチド（ＣＩＡｃ－Ｅ－Ｒ－Ｖ－Ｆ４ＣＯＯ－Ｖ－ＫＣＯｐｉｐｚａａ－Ｒ－３Ｐｙ６Ｐｈ－ＫＣＯｐｉｐｚａａ－Ｙ－Ｈｙｐ－　Ｂｐｈ３Ｆ－Ｙ－Ｆ４ＣＯＯ－Ｆ４ＣＯＯ－Ｓ－Ｃ－Ｇ－ＮＨ２，配列番号３１１）を合成した。

[0114]

[化9]



[0115] Ｓｉｅｂｅｒ ａｍｉｄｅ ｒｅｓｉｎを用い，一般的方法にてＦｍｏｃ基の除去から開始し，目的のペプチドを合成した。ＣＥＭ社のＬｉｂｅｒｔｙ Ｐｒｉｍｅを固相合成機として使用し，製造元のマニュアルに従って合成を行った。各残基の導入には樹脂１当量に対し，Ｆｍｏｃ－ＡＡ／ＤＩＣ／Ｏｘｙｍａ ｐｕｒｅ（４．２当量／１６当量／６当量）を用いＤＭＦ中１０５℃下、９０秒間１回反応を行った。ただし８残基目は、ＮＭＰに溶解したＦｍｏｃ－ＡＡを用いた。２残基目、７残基目は５０℃下、１５分間２回反応を行った。

Ｆｍｏｃ基除去は，４％ピロリジンのＤＭＦ溶液と１１０℃下、１分間反応させる条件を用いた。

クロロアセチル基の導入は，ＣＩＡｃＯＨ／ＨＡＴＵ／ＤＩＥＡ（５当量／５当量／１０当量）のＤＭＦ溶液を固相樹脂に加え室温にて３０分間振盪することにより行った。

側鎖の脱保護および固相樹脂からの切り出しは，まずクロロアセチル基導入

工程後に得られた樹脂をＤＭＦと塩化メチレン、ついでジエチルエーテルで洗浄した後，減圧下乾燥し，続いて固相樹脂の入った反応容器に，反応剤カクテル－Ａ（ＴＦＡ／H_2O／ＴＩＳ／ＤＯＤＴの体積比９２．５：２．５：２．５：２．５の混合物）を加え，室温で６０分間振盪した。反応液をフリットより濾過回収した。

得られた濾液を冷やした過剰のジエチルエーテル／ヘキサン（１／１）の混合溶媒に加えると沈殿が生じ，この混合物を遠心分離し，溶液をデカンテーションした。得られた固体を再度ジエチルエーテルにて洗浄後，減圧下乾燥した。得られた固体を次の環化反応に用いた。

ペプチドの環化反応は，ペプチドの終濃度が固相樹脂のモル数を基に２ｍＭとなるようにＭｅＣＮ／H_2O（１／１）に溶解後，トリエチルアミン（２０当量）を加えて，室温で終夜振盪した。得られた反応溶液に酢酸（３０当量）を加えた後Ｇｅｎｅｖａｃ　ＨＴ－１２を用いて減圧濃縮した。

得られた粗生成物を以下の条件を用いて精製した。（カラム：Ｗａｔｅｒｓ　ＸＢｒｉｄｇｅ（登録商標）　Ｃ１８，　３０　ｘ　１５０ｍｍ；移動相：Ａ　＝　０．１％　ＴＦＡ　ｉｎ　H_2O，Ｂ　＝　０．１％　ＴＦＡ　ｉｎ　ＭｅＣＮ；温度：５０℃；グラジエント（％Ｂ　ｃｏｎｃ．）：３分間かけて５－２３％，その後８分間かけて２３－２８％，その後１分間かけて２８－６０％；流量：　４５ｍＬ／分。

目的物の純度は以下の分析条件のＬＣ／ＭＳ（ＵＶ波長２２５ｎｍ）クロマトグラムの面積比から算出し９５．５２％であった。

分析条件：保持時間＝５．０４分；カラム：Ｋｉｎｅｔｅｘ　ＥＶＯ　Ｃ１８　２．６μｍ　２．１　ｘ　１５０ｍｍ，　１００Å；移動相：Ａ　＝　０．０２５％　ＴＦＡ　ｉｎ　H_2O，Ｂ　＝　０．０２５％　ＴＦＡ　ｉｎ　ＭｅＣＮ；温度：６０　℃；グラジエント（％Ｂ　ｃｏｎｃ）：７．１５分間かけて５－４５％，その後０．３０分間かけて４５－９５％，その後１．５５分間かけて９５－９５％；流量：０．５ｍＬ／分

ＥＳＩ－ＭＳ（＋）　観測値ｍ／ｚ＝　１００７．７（Ｍ＋３Ｈ）$^{3+}$.

実施例 10

[0116] 各種ペプチド合成

本実施例では、実施例１または２と同様に、各種環状ペプチドを化学合成した。合成したペプチドの配列を、表１、表５、表６及び表７に示す。なお、実施例１と同様の方法で合成、精製したペプチドは表１、表６及び表７のＳｙｎｔｈｅｓｉｓ列に１と、実施例２と同様の方法で合成、精製したペプチドはＳｙｎｔｈｅｓｉｓ列に２と示した。また、表１において、配列番号４６以外のアミノ酸配列を有するペプチドは、クロロアセチル化された１番目のアミノ酸と１７番目のアミノ酸Ｃｙｓが結合した環化構造をとり、さらにそのＣｙｓ末端にＧｌｙやｂＡ、さらにＰＥＧが結合した構造を有する。なお、配列番号４６は、配列番号４７乃至５０に記載のアミノ酸配列を有するが、Ｃ末端のグリシン（Ｇ）等の付加構造を有さない。表６のペプチドは５’末端のアミノ酸残基がクロロアセチル（ＣｌＡｃ）基で置換されたものである。合成したペプチドを、基本分析装置および基本条件や実施例１－９に記載する分析条件で分析し、質量スペクトル分析法におけるＥＳＩ－ＭＳ（＋）により構造を確認した。得られたＥＳＩ－ＭＳ（＋）観測値（ＥＳＩ（ｍ／ｚ））と、その場合における価数（［Ｍ＋ＸＨ］Ｘ＋）を表１に示す。

[0117] 表１

[表1-1]

SEQ ID No.	Peptide Sequence									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
5	A	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
6	A	R	V	Y	V	K	R	Bph	P	Y
7	A	R	V	Y	V	R	R	Bph	P	Y
8	A	R	V	Y	V	G	R	Bph	P	Y
9	A	R	V	Y	V	S	R	Bph	P	Y
10	A	R	V	Y	V	H	R	Bph	P	Y
11	A	R	V	Y	V	D	R	Bph	K	Y
12	A	R	V	Y	V	D	R	Bph	H	Y
13	A	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
14	A	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
15	A	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
16	A	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
17	A	R	V	Y	V	D	R	Bph	G	Y
18	A	R	V	Y	V	D	R	Bph	S	Y
19	A	R	V	Y	V	D	R	Bph	V	Y
20	A	R	V	Y	V	D	R	Bph	Y	Y
21	A	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
22	A	R	V	Y	V	K	R	Bph	KCOpipzaa	Y
23	A	KCOpipzaa	V	Y	V	K	R	Bph	P	Y
24	A	KCOpipzaa	V	Y	V	KCOpipzaa	R	Bph	P	Y
25	A	K	V	Y	V	D	R	Bph	K	Y
26	A	R	V	4Py	V	D	R	Bph	P	Y
27	A	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	4Py
28	A	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
29	A	R	V	Y	V	D	R	3Py6Ph	P	Y
30	A	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
31	A	R	V	Y	V	D	R	3Py6Ph	P	Y
32	A	R	V	Y	V	D	R	3Py6Ph	P	Y
33	A	R	V	Y	V	D	R	3Py6Ph	P	Y
34	A	K	V	Y	V	D	H	Bph	P	Y
35	A	K	V	Y	V	D	K	Bph	P	Y
36	A	K	V	Y	V	KCOpipzaa	K	Bph	P	Y
37	A	KAc	V	Y	V	D	K	Bph	P	Y
38	A	KCOpipzaa	V	Y	V	D	K	Bph	P	Y
39	A	Q	V	Y	V	D	K	Bph	P	Y
40	A	S	V	Y	V	D	K	Bph	P	Y

[0118]

[表1-2]

SEQ ID	Peptide Sequence(続き)								
No.	11	12	13	14	15	16	17		
5	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
6	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
7	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
8	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
9	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
10	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
11	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
12	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
13	A	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
14	P	Bph	Y	F4COO	Y	S	C	G	-NH2
15	P	Bph	Y	F4COO	4Py	S	C	G	-NH2
16	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	K	C	G	-NH2
17	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
18	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
19	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
20	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
21	V	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
22	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
23	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
24	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
25	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
26	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
27	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
28	P	Bph	4Py	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
29	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
30	P	3Py6Ph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
31	P	Bph	4Py	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
32	P	3Py6Ph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
33	P	3Py6Ph	4Py	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
34	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
35	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
36	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
37	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
38	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
39	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
40	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2

[0119]

[表1-3]

SEQ ID	(続き)					
No.	Ret time	ESI (m/z)	[M+XH]X+	aLISA BMP4	aLISA BMP7	Synthesis
5	4.288	1257.63	2	A	C	2
6	3.6	1264.26	2	A	C	2
7	3.62	1278.22	2	A	C	2
8	4.356	1228.64	2	A	C	2
9	4.316	1243.68	2	A	C	2
10	3.652	1268.7	2	A	C	2
11	3.388	1273.24	2	A	C	2
12	3.476	1277.67	2	A	C	2
13	4.188	1244.68	2	A	C	2
14	4.204	1243.87	2	B	C	2
15	3.576	824.63	3	A	B	2
16	3.556	852.65	3	A	C	2
17	3.924	1237.81	2	A	C	2
18	4.024	1252.72	2	A	C	2
19	4.484	1258.74	2	A	C	2
20	4.336	1290.71	2	A	C	2
21	4.376	1258.73	2	A	C	2
22	3.092	1364.86	2	A	C	2
23	3.676	1335.32	2	A	C	2
24	3.952	1420.41	2	A	C	2
25	3.612	1259.22	2	A	C	2
26	3.696	1250.19	2	A	C	2
27	3.272	1250.17	2	A	D	2
28	3.584	1250.16	2	A	C	2
29	3.46	1258.19	2	A	ND	2
30	3.404	1258.19	2	A	ND	2
31	2.924	834.15	3	A	ND	2
32	5.48	1258.67	2	A	ND	2
33	5.064	1251.17	2	C	ND	2
34	4.208	1234.15	2	A	C	2
35	4.096	1229.7	2	A	ND	2
36	3.836	1321.29	2	A	ND	2
37	4.808	1250.63	2	A	ND	2
38	4.396	1314.77	2	A	ND	2
39	4.748	1229.63	2	C	ND	2
40	4.828	1209.17	2	D	ND	2

[0120]

[表1-4]

SEQ	Peptide Sequence									
ID No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
41	A	Tic	V	Y	V	D	K	Bph	P	Y
42	A	K	V	Y	V	D	KAc	Bph	P	Y
43	A	K	V	Y	V	D	4Py	Bph	P	Y
44	A	K	V	Y	V	D	S	Bph	P	Y
45	A	KCOpipzaa	V	Y	V	KCOpipzaa	K	Bph	P	Y
46	A	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
47	A	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
48	A	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
49	A	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
50	A	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
51	A	KCOpipzaa	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
52	A	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
53	E	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
54	Q	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
55	A	Cit	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
56	A	R	V	F4F	V	D	R	Bph	P	Y
57	A	R	V	Y	V	D	KCOpipzaa	Bph	P	Y
58	A	R	V	Y	V	D	Cit	Bph	P	Y
59	A	KCOpipzaa	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
60	A	KCOpipzaa	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
61	A	KCOpipzaa	V	Y	V	D	KCOpipzaa	Bph	P	Y
62	A	KCOpipzaa	V	Y	V	D	KCOpipzaa	Bph	P	Y
63	E	KCOpipzaa	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
64	E	KCOpipzaa	V	Y	V	D	KCOpipzaa	Bph	P	Y
65	E	KCOpipzaa	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
66	E	KCOpipzaa	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
67	E	KCOpipzaa	V	Y	V	D	KCOpipzaa	Bph	P	Y
68	E	KCOpipzaa	V	Y	V	D	KCOpipzaa	Bph	P	Y
69	A	K	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
70	A	R	V	Y	V	D	K	Bph	P	Y
71	E	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
72	E	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
73	E	KCOpipzaa	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
74	E	R	V	Y	V	KCOpipzaa	R	Bph	P	Y
75	E	R	V	Y	V	D	KCOpipzaa	Bph	P	Y
76	E	KCOpipzaa	V	Y	V	KCOpipzaa	KCOpipzaa	Bph	P	Y
77	E	R	V	Y	V	D	R	Bph	KCOpipzaa	Y
78	E	R	V	Y	V	D	R	Bph	KCOpipzaa	Y

[0121]

[表1-5]

SEQ ID	Peptide Sequence(続き)									
No.	11	12	13	14	15	16	17			
41	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	
42	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	
43	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	
44	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	
45	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	
46	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	-NH2		
47	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	bA	de	-OH
48	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	bA	K	-NH2
49	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	bA	PEG12Me	
50	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	bA	K(OCOmPEG10000)	-NH2
51	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	
52	P	Bph	F4F	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	
53	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	
54	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	
55	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	
56	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	
57	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	
58	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	
59	P	Bph	F4F	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	
60	P	Bph	4Py	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	
61	P	Bph	F4F	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	
62	P	Bph	4Py	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	
63	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	
64	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	
65	P	Bph	F4F	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	
66	P	Bph	4Py	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	
67	P	Bph	F4F	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	
68	P	Bph	4Py	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	
69	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	
70	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	
71	P	Bph	F4F	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	
72	P	Bph	F4F	F4COO	4Py	S	C	G	-NH2	
73	P	Bph	F4F	F4COO	4Py	S	C	G	-NH2	
74	P	Bph	F4F	F4COO	4Py	S	C	G	-NH2	
75	P	Bph	F4F	F4COO	4Py	S	C	G	-NH2	
76	P	Bph	F4F	F4COO	4Py	S	C	G	-NH2	
77	P	Bph	F4F	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	
78	P	Bph	F4F	F4COO	4Py	S	C	G	-NH2	

[0122]

[表1-6]

SEQ ID	(続き)					
No.	Ret time	ESI (m/z)	[M+XH]X+	aLISA BMP4	aLISA BMP7	Synthesis
41	5.296	1245.17	2	C	ND	2
42	4.988	1250.72	2	A	ND	2
43	4.248	1239.79	2	C	ND	2
44	4.928	1209.26	2	A	ND	2
45	4.02	1406.33	2	A	ND	2
46	4.204	1229.18	2	A	ND	2
47	4.172	1329.8	2	A	ND	2
48	3.64	886.17	3	C	ND	2
49	4.652	1024.37	3	C	ND	2
50	3.475	681.69	-	D	B	2
51	4.42	1328.83	2	A	ND	2
52	4.576	1258.73	2	A	ND	2
53	4.152	1286.76	2	A	ND	2
54	4.124	1286.28	2	A	C	2
55	4.792	1258.26	2	A	C	2
56	4.448	1258.74	2	A	ND	2
57	4.528	1328.81	2	C	C	2
58	4.888	1258.22	2	A	C	2
59	4.76	1329.85	2	A	C	2
60	3.832	1321.3	2	A	ND	2
61	4.984	1400.83	2	C	C	2
62	4.056	1392.35	2	D	ND	2
63	4.34	1357.8	2	A	C	2
64	4.576	1428.86	2	C	D	2
65	4.66	1358.78	2	A	C	2
66	3.764	1350.29	2	C	ND	2
67	4.888	1429.89	2	C	C	2
68	3.984	1421.39	2	D	ND	2
69	4.228	1243.73	2	A	C	2
70	4.224	1243.72	2	A	C	2
71	4.396	1287.85	2	A	C	2
72	3.852	844.51	3	A	C	2
73	4.012	891.91	3	A	B	2
74	3.508	905.59	3	A	C	2
75	4.092	891.93	3	C	C	2
76	3.836	1000.36	3	C	C	2
77	3.82	925.95	3	A	C	2
78	3.388	911.6	3	A	C	2

[0123]

[表1-7]

SEQ	Peptide Sequence									
ID No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
79	E	KCOpipzaa	V	Y	V	D	R	Bph	KCOpipzaa	Y
80	E	KCOpipzaa	V	Y	V	D	R	Bph	KCOpipzaa	Y
81	E	KCOpipzaa	V	Y	V	D	R	Bph	MeKCOpipzaa	Y
82	A	KCOpipzaa	V	Y	V	KCOpipzaa	R	Bph	P	Y
83	E	KCOpipzaa	V	Y	V	KCOpipzaa	R	Bph	P	Y
84	E	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
85	E	R	V	Y	V	D	R	Bph	S	Y
86	E	R	V	Y	V	D	R	3Py6Ph	S	Y
87	E	R	V	Y	V	D	R	3Py6Ph	S	Y
88	E	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
89	E	K	V	Y	V	D	K	Bph	P	Y
90	E	K	V	Y	V	D	K	Bph	P	Y
91	E	K	V	Y	V	D	K	Bph	Y	Y
92	E	K	V	Y	V	D	K	Bph	Y	Y
93	E	K	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
94	A	KCOpipzaa	V	Y	V	KCOpipzaa	R	Bph	P	Y
95	E	R	V	Y	V	D	R	Bph	S	Y
96	E	R	V	Y	V	D	R	3Py6Ph	S	Y
97	E	R	V	Y	V	KCOpipzaa	R	Bph	S	Y
98	E	R	V	Y	V	KCOpipzaa	R	3Py6Ph	S	Y
99	E	KCOpipzaa	V	Y	V	D	R	Bph	S	Y
100	E	KCOpipzaa	V	Y	V	KCOpipzaa	R	Bph	S	Y
101	E	KCOpipzaa	V	Y	V	KCOpipzaa	R	3Py6Ph	S	Y
102	E	KCOpipzaa	V	Y	V	KCOpipzaa	R	Bph	S	Y
103	E	R	V	F4COO	V	KCOpipzaa	R	Bph	S	Y
104	E	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
105	E	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
106	E	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
107	E	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
108	E	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
109	E	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
110	E	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
111	E	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
112	E	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
113	E	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
114	E	KCOpipzaa	V	Y	V	KCOpipzaa	R	Bph	P	Y
115	E	KCOpipzaa	V	Y	V	KCOpipzaa	R	Bph	P	Y
116	E	KCOpipzaa	V	Y	V	KCOpipzaa	R	Bph	P	Y

[0124]

[表1-8]

SEQ ID	Peptide Sequence(続き)									
No.	11	12	13	14	15	16	17			
79	P	Bph	F4F	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	
80	P	Bph	F4F	F4COO	4Py	S	C	G	-NH2	
81	P	Bph	F4F	F4COO	4Py	S	C	G	-NH2	
82	V	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	
83	V	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	
84	V	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	bA	de	-OH
85	V	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	bA	de	-OH
86	V	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	bA	de	-OH
87	V	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	
88	V	Bph	F4F	F4COO	F4COO	S	C	bA	de	-OH
89	V	Bph	F4F	F4COO	F4COO	S	C	bA	de	-OH
90	V	Bph	F4F	F4COO	4Py	S	C	bA	de	-OH
91	V	Bph	F4F	F4COO	4Py	S	C	bA	de	-OH
92	V	Bph	F4F	F4COO	4Py	S	C	G	-NH2	
93	V	Bph	F4F	F4COO	F4COO	S	C	bA	de	-OH
94	V	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	bA	de	-OH
95	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	bA	de	-OH
96	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	bA	de	-OH
97	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	bA	de	-OH
98	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	bA	de	-OH
99	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	bA	de	-OH
100	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	bA	de	-OH
101	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	bA	de	-OH
102	V	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	bA	de	-OH
103	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	bA	de	-OH
104	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	bA	de	-OH
105	Aze	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	bA	de	-OH
106	Hpr	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	bA	de	-OH
107	Hyp	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	bA	de	-OH
108	P4Sh	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	bA	de	-OH
109	Pc4F	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	bA	de	-OH
110	Pt4F	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	bA	de	-OH
111	P4F2	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	bA	de	-OH
112	aMeP	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	bA	de	-OH
113	MeV	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	bA	de	-OH
114	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	
115	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-OH	
116	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	bA	-OH	

[0125]

[表1-9]

SEQ ID	(続き)					
No.	Ret time	ESI (m/z)	[M+XH]X+	aLISA BMP4	aLISA BMP7	Synthesis
79	3.968	973.32	3	C	D	2
80	3.524	958.96	3	A	C	2
81	3.54	963.66	3	A	C	2
82	4.052	947.94	3	C	ND	2
83	3.924	967.28	3	A	ND	2
84	4.14	1359.91	2	A	C	2
85	3.956	1354.87	2	A	C	2
86	3.232	903.94	3	A	C	2
87	3.148	856.05	3	A	ND	2
88	4.476	1360.94	2	A	C	2
89	4.396	1333.08	2	C	B	2
90	3.98	874.74	3	C	B	2
91	4.028	896.71	3	C	C	2
92	3.984	848.73	3	C	C	2
93	4.428	1347.05	2	A	C	2
94	4.036	995.95	3	A	C	2
95	3.888	1353.89	2	A	C	2
96	3.184	903.17	3	A	C	2
97	3.588	963.91	3	A	B	2
98	2.956	964.23	3	A	C	2
99	4.064	1424.96	2	A	C	2
100	3.776	1011.31	3	A	C	2
101	3.076	1011.63	3	A	C	2
102	3.828	1011.95	3	C	C	2
103	3.532	973.27	3	A	A	2
104	4.028	1359.16	2	A	B	2
105	4.084	1351.88	2	C	C	2
106	4.408	1365.91	2	C	C	2
107	3.86	1366.89	2	A	C	2
108	3.94	1366.92	2	A	B	2
109	4.088	1367.83	2	C	C	2
110	3.992	1367.88	2	A	B	2
111	4.216	1376.88	2	A	C	2
112	4.38	1365.92	2	A	B	2
113	4.3	1366.92	2	C	C	2
114	3.92	966.63	3	A	C	2
115	4.136	966.97	3	A	C	2
116	3.904	971.93	3	A	C	2

[0126]

[表1-10]

SEQ	Peptide Sequence									
ID No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
117	E	KCOpipzaa	V	Y	V	KCOpipzaa	R	Bph	P	Y
118	E	KCOpipzaa	V	Y	V	KCOpipzaa	R	Bph	P	Y
119	E	KCOpipzaa	V	Y	V	KCOpipzaa	R	3Py6Ph	S	Y
120	E	KCOpipzaa	V	Y	V	KCOpipzaa	R	3Py6Ph	S	Y
121	E	R	V	F4COO	V	D	R	Bph	P	Y
122	E	R	V	F4COO	V	KCOpipzaa	R	Bph	P	Y
123	E	R	V	F4COO	V	KCOpipzaa	R	Bph	P	Y
124	E	R	V	F4COO	V	KCOpipzaa	R	Bph	S	Y
125	E	Hgl	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
126	E	Hph	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
127	E	Hcit	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
128	E	R	V	H	V	D	R	Bph	P	Y
129	E	R	V	W7N	V	D	R	Bph	P	Y
130	E	R	V	Y	Y	D	R	Bph	P	Y
131	E	R	V	Y	D	D	R	Bph	P	Y
132	E	R	V	Y	V	S	R	Bph	P	Y
133	E	R	V	Y	V	D	3Py6-NH2	Bph	P	Y
134	E	R	V	Y	V	D	F4G	Bph	P	Y
135	E	R	V	Y	V	D	Hcit	Bph	P	Y
136	E	R	V	Y	V	D	Atp	Bph	P	Y
137	E	R	V	Y	V	D	R	Bph	Hcit	Y
138	E	R	V	Y	V	D	R	Bph	W7N	Y
139	E	R	V	Y	V	D	R	Bph	D	Y
140	E	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Hty
141	E	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
142	E	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
143	E	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
144	E	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
145	E	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
146	E	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
147	E	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
148	E	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
149	E	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
150	E	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
151	E	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
152	E	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
153	E	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
154	E	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y

[0127]

[表1-11]

SEQ ID	Peptide Sequence(続き)									
No.	11	12	13	14	15	16	17			
117	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	bA	de	-OH
118	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	bA	de	-NH2
119	V	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	
120	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	
121	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	bA	de	-OH
122	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	bA	de	-OH
123	V	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	bA	de	-OH
124	V	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	bA	de	-OH
125	V	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	
126	V	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	
127	V	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	
128	V	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	
129	V	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	
130	V	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	
131	V	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	
132	V	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	
133	V	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	
134	V	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	
135	V	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	
136	V	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	
137	V	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	
138	V	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	
139	V	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	
140	V	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	
141	F4COO	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	
142	F3aa	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	
143	Y	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	
144	R	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	
145	Hcit	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	
146	Atp	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	
147	Q	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	
148	V	Bph	3Py6-NH2	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	
149	V	Bph	Y	F4COO	Y	S	C	G	-NH2	
150	V	Bph	Y	F4COO	3Py6-NH2	S	C	G	-NH2	
151	V	Bph	Y	F4COO	W7N	S	C	G	-NH2	
152	V	Bph	Y	F4COO	N	S	C	G	-NH2	
153	V	Bph	Y	F4COO	F4COO	Hgl	C	G	-NH2	
154	V	Bph	Y	F4COO	F4COO	E	C	G	-NH2	

[0128]

[表1-12]

SEQ ID	(続き)					
No.	Ret time	ESI (m/z)	[M+XH]X+	aLISA BMP4	aLISA BMP7	Synthesis
117	3.952	1014.68	3	C	C	2
118	3.872	1014.34	3	A	C	2
119	3.168	1445.97	2	C	ND	2
120	3.056	963.62	3	A	ND	2
121	4.172	1372.87	2	A	B	2
122	3.724	976.57	3	A	C	2
123	3.78	977.28	3	A	C	2
124	3.632	973.93	3	A	C	2
125	1.5	1281.8	2	E	E	1
126	1.6	1290.3	2	F	ND	1
127	1.5	1295.9	2	D	F	1
128	1.4	1274.9	2	D	E	1
129	1.4	1300.5	2	D	E	1
130	1.4	1320	2	E	E	1
131	1.4	1296.2	2	D	F	1
132	1.4	1273.9	2	E	ND	1
133	1.4	1291.4	2	E	E	1
134	1.4	1312	2	E	E	1
135	1.5	1295.4	2	E	E	1
136	1.6	1287.4	2	E	E	1
137	1.4	1325.1	2	D	E	1
138	1.4	1332.8	2	E	F	1
139	1.4	1296.9	2	D	E	1
140	1.4	1295.2	2	E	ND	1
141	1.4	1334.6	2	D	E	1
142	1.4	1340.8	2	D	E	1
143	1.4	1320	2	D	E	1
144	1.3	1316.8	2	D	E	1
145	1.4	1324.1	2	D	E	1
146	1.4	1316.5	2	D	E	1
147	1.4	1302.4	2	D	E	1
148	1.3	1288.2	2	D	E	1
149	1.4	1273.9	2	E	E	1
150	1.3	1273.7	2	E	E	1
151	1.4	1286	2	E	E	1
152	1.4	1249.3	2	F	E	1
153	1.4	1315.8	2	D	E	1
154	1.4	1309.2	2	D	E	1

[0129]

[表1-13]

SEQ	Peptide Sequence									
ID No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
155	E	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
156	E	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
157	E	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
158	E	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
159	E	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
160	E	R	V	Y	Atp	D	R	Bph	P	Y
161	E	R	V	Y	Atp	D	R	Bph	S	Y
162	E	R	V	Y	V	D	R	Bph	S	Y
163	E	R	V	Y	V	D	R	Bph	S	Y
164	E	R	V	Y	V	D	R	Bph	S	Y
165	E	R	V	Y	Atp	D	R	Bph	S	Y
166	E	R	V	Y	Atp	D	R	Bph	S	Y
167	E	R	V	Y	Atp	D	R	Bph	S	Y
168	E	Hcit	V	Y	V	D	R	Bph	S	Y
169	E	Hcit	V	Y	Atp	D	R	Bph	S	Y
170	E	R	V	Y	Atp	KCOpipzaa	R	Bph	S	Y
171	E	R	V	Y	Atp	KCOpipzaa	R	Bph	S	Y
172	A	R	V	Y3COO	V	D	R	Bph	P	Y
173	A	R	V	Y3CONmm	V	D	R	Bph	P	Y
174	A	R	V	F4COO	V	D	R	Bph	P	Y
175	E	R	V	F4COO	Atp	D	R	Bph	P	Y
176	E	R	V	F4COO	Atp	D	R	Bph	P	Y
177	E	R	V	F4COO	Atp	D	R	Bph	P	Y
178	E	R	V	F4COO	Atp	D	R	Bph	P	Y
179	E	R	V	F4COO	Atp	KCOpipzaa	R	Bph	P	Y
180	E	R	V	F4COO	Atp	KCOpipzaa	R	Bph	P	Y
181	E	R	V	F4COO	Atp	KCOpipzaa	R	Bph	P	Y
182	E	R	V	Y	Atp	KCOpipzaa	R	Bph	P	Y
183	E	R	V	Y	Atp	KCOpipzaa	R	Bph	P	Y
184	E	R	V	Y	Atp	KCOpipzaa	R	Bph	P	Y
185	E	KCOpipzaa	V	F4COO	Atp	D	R	Bph	P	Y
186	E	KCOpipzaa	V	F4COO	Atp	D	R	Bph	P	Y
187	E	KCOpipzaa	V	F4COO	Atp	D	R	Bph	P	Y

[0130]

[表1-14]

SEQ ID	Peptide Sequence(続き)									
No.	11	12	13	14	15	16	17			
155	V	Bph	Y	F4COO	F4COO	V	C	G	-NH2	
156	V	Bph	Y	F4COO	F4COO	Aib	C	G	-NH2	
157	V	Bph	Y	F4COO	F4COO	Hph	C	G	-NH2	
158	V	Bph	Y	F4COO	F4COO	H	C	G	-NH2	
159	V	Bph	Y	F4COO	F4COO	Hcit	C	G	-NH2	
160	V	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	bA	de	-OH
161	V	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	bA	de	-OH
162	F3aa	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	bA	de	-OH
163	Y	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	bA	de	-OH
164	V	Bph	Y	F4COO	F4COO	H	C	bA	de	-OH
165	F3aa	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	bA	de	-OH
166	Y	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	bA	de	-OH
167	V	Bph	Y	F4COO	F4COO	H	C	bA	de	-OH
168	V	Bph	Y	F4COO	F4COO	H	C	bA	de	-OH
169	V	Bph	Y	F4COO	F4COO	H	C	bA	de	-OH
170	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	bA	de	-OH
171	V	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	bA	de	-OH
172	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	
173	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	
174	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	
175	F3aa	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	bA	de	-OH
176	P4Sh	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	bA	de	-OH
177	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	bA	de	-OH
178	V	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	bA	de	-OH
179	F3aa	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	bA	de	-OH
180	P4Sh	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	bA	de	-OH
181	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	bA	de	-OH
182	F3aa	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	bA	de	-OH
183	P4Sh	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	bA	de	-OH
184	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	bA	de	-OH
185	F3aa	Bph	F4F	F4COO	4Py	S	C	bA	de	-OH
186	P4Sh	Bph	F4F	F4COO	4Py	S	C	bA	de	-OH
187	P	Bph	F4F	F4COO	4Py	S	C	bA	de	-OH

[0131]

[表1-15]

SEQ ID	(続き)					
No.	Ret time	ESI (m/z)	[M+XH]X+	aLISA BMP4	aLISA BMP7	Synthesis
155	1.5	1294.2	2	D	E	1
156	1.5	1287.1	2	E	E	1
157	1.5	1325.2	2	E	F	1
158	1.3	1313.4	2	D	F	1
159	1.4	1329.9	2	D	E	1
160	4.264	1387.96	2	A	B	2
161	3.948	1382.88	2	A	B	2
162	3.988	1407.9	2	A	B	2
163	3.908	1386.9	2	A	B	2
164	3.396	920.26	3	A	C	2
165	4.192	1435.98	2	A	B	2
166	4.104	1415	2	A	B	2
167	3.536	939.01	3	A	C	2
168	4.008	925.35	3	A	C	2
169	3.624	944.26	3	C	C	2
170	3.42	982.96	3	A	B	2
171	3.528	983.65	3	A	B	2
172	4.256	1279.73	2	C	C	2
173	4.524	1286.35	2	A	C	2
174	4.092	1271.77	2	A	C	2
175	4.516	970.27	3	A	B	2
176	3.848	1408.84	2	A	B	2
177	4.488	1400.91	2	A	B	2
178	4.612	1401.85	2	A	B	2
179	4.156	1031.35	3	C	B	2
180	3.94	1000.66	3	A	B	2
181	3.708	995.24	3	A	B	2
182	3.784	1021.91	3	A	B	2
183	3.452	991.68	3	A	B	2
184	3.664	986.36	3	A	B	2
185	4.052	1004.29	3	C	B	2
186	3.828	973.2	3	A	B	2
187	4.432	967.96	3	C	B	2

実施例 11

[0132] ＢＭＰ４シグナル伝達阻害活性評価試験

本実施例では、実施例１０で合成した配列番号５－２４０、２４３－４２１に記載のアミノ酸配列からなる各ペプチドのＢＭＰ４シグナル伝達阻害活性を、ＢＭＰ４刺激によるＳＭＡＤ１のリン酸化により検証した。

Ａ５４９細胞を１０％　ＦＢＳ　（サーモフィッシャーサイエンティフィック社）と１×Ｎｏｎ－ｅｓｓｅｎｔｉａｌ　ａｍｉｎｏ　ａｃｉｄｓ（サー

モフィッシャーサイエンティフィック社）、５０ｕｇ／ｍＬ Ｇｅｎｔａｍｉｃｉｎを含むＭＥＭ （サーモフィッシャーサイエンティフィック社）で培養した。ＴｒｙｐＬＥ （Ｇｉｂｃｏ社）を用いて細胞を剥離後、１ウェルあたり２００００細胞となるように接着細胞用９６穴プレートに播種し、４８時間培養した。

上記の通り細胞を培養後、培養液のＦＢＳの代わりに０．１％ ＢＳＡ （Ｓｉｇｍａ社）が含まれた栄養飢餓培地で各濃度に希釈したペプチド溶液とＲｅｃｏｎｂｉｎａｎｔ Ｈｕｍａｎ Ｎｏｇｇｉｎ Ｐｒｏｔｅｉｎ（Ｒ＆Ｄ社）溶液に交換し、３０分培養後、ＢＭＰ４を０．２ ｎＭ （最終濃度）加え６０分刺激した。培地を除去し、ＡｌｐｈａＬＩＳＡ（登録商標） ＳｕｒｅＦｉｒｅ（登録商標） Ｕｌｔｒａ ＳＭＡＤ１ （ｐ－ｓｅｒ ４６３／４６５） Ａｓｓａｙ キット （ＰｅｒｋｉｎＥｌｍｅｒ社）に付属するＬｙｓｉｓ Ｂｕｆｆｅｒで細胞を溶解した。キットのプロトコールに沿って実施し、シグナルの検出にはＳｐｅｃｔｒａＭａｘ（登録商標） Ｐａｒａｄｉｇｍ（登録商標） ｍｕｌｔｉｍｏｄｅ ｍｉｃｒｏｐｌａｔｅ ｒｅａｄｅｒ （Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｄｅｖｉｃｅｓ社）を使用した。得られたシグナルをＧｒａｐｈＰａｄ Ｐｒｉｓｍ（ＧｒａｐｈＰａｄ Ｓｏｆｔｗａｒｅ社）で解析し、無刺激を１００％阻害、ＢＭＰ刺激のみを０％阻害として％ ｉｎｈｉｂｉｔｉｏｎを計算した。

[0133] なお、配列番号５－１８７についてはペプチドの濃度は、実施例２と同様の方法にて合成したペプチド（Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ列に２と示した）は０．０２、０．２、２ｎＭで、実施例１と同様の方法にて合成したペプチド（Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ列に１と示した）は０．２，２，２０ｎＭで、それぞれ実施した。

評価結果は、実施例２と同様の方法にて合成したペプチドを用い評価した結果について、ペプチドを０．２ｎＭになるように添加した区において５０％以上の阻害活性を示したものをＡ、０．２ｎＭ添加区において５０％未満、かつ２ｎＭ添加区において５０％以上の阻害活性を示したものをＢまたはＣ

、２ｎＭ添加区において５０％未満の阻害活性を示したものをＤと示した。

[0134] また、実施例１と同様の方法にて合成したペプチドを用い評価した結果について、０．２ｎＭ添加区において５０％以上の阻害活性を示したものをＤ、０．２ｎＭ添加区において５０％未満、かつ２ｎＭ添加区において５０％以上の阻害活性を示したものをＥ、２ｎＭ添加区において５０％未満、かつ２０ｎＭ添加区において５０％以上の阻害活性を示したものをＦとして示した。各ペプチドの評価結果を表１に示す。

[0135] 配列番号２４３－３２１については、表６に記載した濃度で試験を実施した。評価結果は、ペプチドを０．０２ｎＭになるように添加した区において３０％以上の阻害活性を示したものをＡ、０．０２ｎＭ添加区において３０％未満、かつ０．２ｎＭ添加区において３０％以上の阻害活性を示したものをＢ、０．２ｎＭ添加区において３０％未満、かつ２ｎＭ添加区において３０％以上の阻害活性を示したものをＣと示した。

各ペプチドの評価結果を表６に示す。

[0136] 配列番号３２２－４２１については、表７に記載した濃度で試験を実施した。まず、ＢＭＰ４に対する評価結果は、ペプチド２ｎＭ添加区において３０％未満、かつ２０ｎＭ添加区において３０％以上の阻害活性を示したものをＡ、２０ｎＭ添加区において３０％未満、かつ２００ｎＭ添加区において３０％以上の阻害活性を示したものをＢと示した。各ペプチドの評価結果を表７に示す。

なお、結果のＮＤは、評価した最高濃度で３０％未満の阻害活性であったことを示す。

本結果より、本発明のペプチドはＢＭＰ４シグナル伝達阻害活性を有することが示された。

実施例 12

[0137] ＢＭＰ７シグナル伝達阻害活性評価試験

本実施例では、実施例１０で合成した配列番号５－２４０、２４３－４２１に記載のアミノ酸配列からなる各ペプチドのＢＭＰ７シグナル伝達阻害活

性を、ＢＭＰ７刺激によるＳＭＡＤ１のリン酸化により検証した。

評価は、ＢＭＰ４のかわりにＢＭＰ７を１０ｎＭ使用した。

[0138] なお、配列番号５－２４０についてはペプチドの濃度は、実施例１１と同様に、実施例２と同様の方法にて合成したペプチド（Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ列に２と示した）は１、１０、１００ｎＭで、実施例１と同様の方法にて合成したペプチド（Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ列に１と示した）は１０，１００，１０００ｎＭで、それぞれ実施した。

[0139] 配列番号５－２４０のうち、実施例２と同様の方法にて合成したペプチドについては、ペプチドをそれぞれ１ｎＭ、１０ｎＭ、１００ｎＭのモル濃度で添加した以外は、実施例１１のＡ５４９細胞を用いた検証と同様に実施した。評価結果は、ペプチドを１ｎＭになるように添加した区において５０％以上の阻害活性を示したものをＡ、１ｎＭ添加区において５０％未満、かつ１０ｎＭ添加区において５０％以上の阻害活性を示したものをＢ、１０ｎＭ添加区において５０％未満、かつ１００ｎＭ添加区において５０％以上の阻害活性を示したものをＣ、１００ｎＭ添加区において５０％未満の阻害活性を示したものをＤとした。

[0140] また、実施例１と同様の方法にて合成したペプチドを用い評価した結果については、ペプチドをそれぞれ１０ｎＭ、１００ｎＭ、１０００ｎＭのモル濃度で添加した以外は同様に実施した。評価結果は、それぞれ１０ｎＭになるように添加した区において５０％以上の阻害活性を示したものをＥ、１０ｎＭ添加区において５０％未満、かつ１００ｎＭ添加区において５０％以上の阻害活性を示したものをＦ、１００ｎＭ添加区において５０％未満、かつ１０００ｎＭ添加区において５０％以上の阻害活性を示したものをＧ、１０００ｎＭ添加区において３０％以上５０％未満の阻害活性を示したものをＨとして示した。各ペプチドの評価結果を表１に示す。

なお、結果のＮＤは、評価した最高濃度で３０％未満の阻害活性であったことを示す。

[0141] 配列番号２４３－２７３，及び配列番号２９９－３２１については、表６

に記載した濃度（１０，１００，１０００ｎＭ）で試験を実施した。評価結果は、ペプチドを１０ｎＭになるように添加した区において３０％未満、かつ１００ｎＭ添加区において３０％以上の阻害活性を示したものをＤ、１００ｎＭ添加区において３０％未満、かつ１０００ｎＭ添加区において３０％以上の阻害活性を示したものをＥとして示した。

[0142] また、配列番号２７４－２９８については、表６に記載した濃度（１００，３００，１０００ｎＭ）で試験を実施した。

１００ｎＭ添加区において３０％以上の阻害活性を示したものをＦ、１００ｎＭ添加区において３０％未満、かつ３００ｎＭ添加区において３０％以上の阻害活性を示したものをＧ、３００ｎＭ添加区において３０％未満かつ、かつ１０００ｎＭ添加区において３０％以上の阻害活性を示したものをＨとして示した。各ペプチドの評価結果を表６に示す。

なお、結果のＮＤは、評価した最高濃度で３０％未満の阻害活性であったことを示す。

[0143] 配列番号３２２－３７０及び配列番号３９３－４２１については、濃度（１，１０，１００ｎｍ）で試験を実施した。評価結果は、ペプチドを１ｎＭになるように添加した区において３０％未満、かつ１０ｎＭ添加区において３０％以上の阻害活性を示したものをＣ、１０ｎＭ添加区において３０％未満、かつ１００ｎＭ添加区において３０％以上の阻害活性を示したものをＤとして示した。

[0144] また、配列番号３７１－３９１については、濃度（１０，３０，９０ｎＭ）で試験を実施した。評価結果は、１０ｎＭ添加区において３０％以上の阻害活性を示したものをＥ、１０ｎＭ添加区において３０％未満、かつ３０ｎＭ添加区において３０％以上の阻害活性を示したものをＦ、３０ｎＭ添加区において３０％未満、かつ９０ｎＭ添加区において３０％以上の阻害活性を示したものをＧとして示した。

各ペプチドの評価結果を表７に示す。

本結果より、本発明のペプチドは、ＢＭＰ４及びＢＭＰ７両方のシグナル伝

達阻害活性を有するもの、又はＢＭＰ７シグナル伝達阻害活性を有するものを含むことが示された。

実施例 13

[0145] ＢＭＰ４及びＢＭＰ７に対するＩＣ５０値

本実施例では、実施例１乃至１０で合成した各ＢＭＰ４およびＢＭＰ７シグナル伝達阻害ペプチドを用い、ＢＭＰ４及びＢＭＰ７シグナル阻害活性（ＩＣ５０）を算出した。

配列番号８７、１７７及び１８１のシグナル伝達阻害活性評価試験は、ＢＭＰ４の阻害活性評価についてはペプチド濃度を２ｎＭから１／３倍公比で８点用いた以外はＡ５４９細胞を用いた実施例１１と同様に実施し、ＢＭＰ７の阻害活性評価についてはペプチド濃度を１００ｎＭから１／３倍公比で８点用いた以外は実施例１２と同様に実施した。なお、ポジティブコントロールとしてＲｅｃｏｎｂｉｎａｎｔ Ｈｕｍａｎ Ｎｏｇｇｉｎ Ｐｒｏｔｅｉｎ（Ｒ＆Ｄ社）を、ペプチドと同じ濃度で用いた。

また配列番号２７７（実施例８）について、ＢＭＰ４阻害活性評価はペプチド濃度を２０ｎＭから１／３公比で８点で実施例１１と同様に、ＢＭＰ７阻害活性評価はペプチド濃度１０００ｎＭからから１／３公比で８点で実施例１２と同様に実施した。

また配列番号４１７（実施例６） について、ＢＭＰ４阻害活性評価はペプチド濃度を３００ｎＭから１／４公比で８点で実施例１１と同様に、ＢＭＰ７阻害活性評価はペプチド濃度３００ｎＭからから１／４公比で８点で実施例１２と同様に実施した。

結果を図１、表２－１、及び表２－２に示す。

なお、結果のＮＤは、本評価系において、ＩＣ５０が算出されなかったことを示す。

[0146]

[表2-1]

表 2

Peptide SEQ ID No.	IC50 (nM)	
	BMP4	BMP7
87	0.08	ND
177	0.053	1.4
181	0.052	1.6
Noggin	0.08	2.7

[0147] [表2-2]

表2-2

Peptide SEQ ID No.	IC50(nM)	
	BMP4	BMP7
277	0.073	455
417	ND	15.6
Noggin	0.13	5.74

[0148] 表２－１の結果より、ＢＭＰ４シグナル伝達阻害ペプチドＮｏ．８７、Ｎｏ．１７７、Ｎｏ．１８１はＮｏｇｇｉｎと同程度のＢＭＰ４阻害活性を有することが示された。またＢＭＰ４シグナル伝達阻害ペプチドＮｏ．１７７、Ｎｏ．１８１はＮｏｇｇｉｎと同程度のＢＭＰ７阻害活性をもつことが示された。なお、Ｎｏ．８７はＢＭＰ７のシグナル伝達を阻害しないことが示された。

表２－２の結果より、ＢＭＰ４シグナル伝達阻害ペプチド配列番号２７７（実施例８）はＮｏｇｇｉｎと同程度のＢＭＰ４阻害活性を有することが示された。また、ＢＭＰ７シグナル伝達阻害ペプチド配列番号４１７（実施例６）はＮｏｇｇｉｎと同程度のＢＭＰ７阻害活性を有し、ＢＭＰ４のシグナル伝達を阻害しないことが示された。

実施例 14

[0149] その他のＢＭＰファミリーシグナル伝達阻害活性評価試験

本実施例では、実施例２、実施例８、実施例６で合成したＢＭＰ４シグナル伝達阻害ペプチドＮｏ．１７７、ペプチドＮｏ．２９９８６（配列番号２７７（実施例８））、ペプチド配列番号４１７（実施例６）について、各ＢＭＰファミリーに属するＢＭＰ２、５、６、９、１２、１４によるシグナル伝達阻害活性の有無について実施例１３と同様に検証した。

なお、評価における各ＢＭＰの濃度について、ＢＭＰ２は０．３ｎＭ、ＢＭＰ５は２ｎＭ、ＢＭＰ６は３ｎＭ、ＢＭＰ９及びＢＭＰ１２は１０ｎＭ、ＢＭＰ１４は０．６ｎＭを添加し刺激を与えた。

また、Ｎｏ．１７７について、ペプチドの濃度は、ＢＭＰ２に関しては１０ｎＭから、ＢＭＰ５に関しては２００ｎＭから、ＢＭＰ６に関しては１００ｎＭから、ＢＭＰ９およびＢＭＰ１２に関しては１０００ｎＭから、ＢＭＰ１４に関しては６０ｎＭからそれぞれ１／３倍公比で８点で実施した。上記の点以外は実施例１１と同様に評価した。なお、ポジティブコントロールとしてＲｅｃｏｎｂｉｎａｎｔ Ｈｕｍａｎ Ｎｏｇｇｉｎ Ｐｒｏｔｅｉｎ（Ｒ＆Ｄ社）をペプチドと同じ濃度で用いた。

また、ペプチド配列番号２７７（実施例８）について、ペプチドの濃度は、ＢＭＰ２に関しては３０ｎＭから、ＢＭＰ５に関しては２００ｎＭから、ＢＭＰ６に関しては３００ｎＭから、ＢＭＰ１２に関しては１０００ｎＭから、ＢＭＰ１４に関しては６０ｎＭからそれぞれ１／３倍公比で８点で実施した。

また、ペプチド配列番号４１７（実施例６）について、ペプチドの濃度は、ＢＭＰ２に関しては３００ｎＭから、ＢＭＰ５に関しては２００ｎＭから、ＢＭＰ６に関しては３００ｎＭから、ＢＭＰ１２に関しては１０００ｎＭから、ＢＭＰ１４に関しては６０ｎＭからそれぞれ１／３倍公比で８点で実施した。

[0150] 得られた測定値から各ＢＭＰファミリーのＩＣ５０を算出した結果を表３に記載した。

なお、結果のＮＤは、本評価系において、ＩＣ５０が算出されなかったこ

とを示し、結果のＮＴは、試験を実施していないことを示す。

また、ＢＭＰ４シグナル伝達阻害ペプチド配列番号Ｎｏ．１７７の阻害曲線は図２に記載した。図中の三角はＢＭＰ４シグナル伝達阻害ペプチドＮｏ．１７７、四角はＮｏｇｇｉｎを示す。結果より、ＢＭＰ４シグナル伝達阻害ペプチドＮｏ．１７７は、ＢＭＰ４と７のみならずＢＭＰ２、５及び６に対してもシグナル伝達阻害活性を有することが示された。

[0151] [表3]

表3

Seq. ID. No.	Ligand Conc.	BMP2 0.3 nM	BMP4 0.2 nM	BMP5 2 nM	BMP6 3 nM	BMP7 10 nM	BMP9 10 nM	BMP12 10 nM	BMP14 0.6 nM
177		0.21 nM	0.053 nM	9.17 nM	3.9 nM	1.43 nM	ND	ND	ND
277		0.45 nM	0.073 nM	ND	ND	455 nM	NT	ND	ND
417		ND	ND	19.3 nM	28.7 nM	15.6 nM	NT	ND	ND

実施例 15

[0152] 表面プラスモン共鳴（ＳＰＲ）によるＢＭＰ４／ＢＭＰ７とペプチドとの分子間相互作用評価試験

本実施例では、実施例２及び３で合成した各ペプチドについて、ＢＭＰ４／ＢＭＰ７に対するペプチドの表面プラスモン共鳴（ＳＰＲ）による分子間相互作用を、以下に示す方法によって試験を実施した。具体的な試験方法を以下に示す。

[0153] ［ＳＰＲ測定］

ＢｉａｃｏｒｅＴ２００（Ｃｙｔｉｖａ社）にＣＭ５センサーチップ（Ｃｙｔｉｖａ社）を挿入し、ランニング緩衝液：ＨＢＳ－ＥＰ＋（Ｃｙｔｉｖａ社）でプライム操作を３回実施し、流速３０μＬ／ｍｉｎで平衡化した。６０ｍＭ ＥＤＣ溶液（Ｃｙｔｉｖａ社）、６５０ｍＭ ＮＨＳ溶液（Ｃｙｔｉｖａ社）を各々５０μＬずつ混合させた後、流速１０μＬ／ｍｉｎで４２０秒反応させた。１０ｍＭ 酢酸溶液（ｐＨ５．０）で希釈して０．２μＭ ＢＭＰ４／ＢＭＰ７溶液１５０μＬ調製し、流速１０μＬ／ｍｉｎで４２０秒反応させＣＭ５センサーチップにＢＭＰ４／ＢＭＰ７を固定化した。固定化後、１．０Ｍ エタノールアミン水溶液（Ｃｙｔｉｖａ）を流速１０

μＬ／ｍｉｎで４２０秒反応させキャッピングを行った。ＤＭＳＯ溶液中で１０ｍＭに調製されたペプチド溶解液を、終濃度が１０μＭのペプチド溶解液になるようにランニング緩衝液で希釈した後、１００　ｎＭ、５０　ｎＭ、２５　ｎＭ、１０　ｎＭ、５　ｎＭのペプチド溶液を作製した。上述のサンプルを用い、ＢＭＰ４／ＢＭＰ７に対するペプチドのカイネティクスをＳＰＲ測定により取得した。

カイネティックス評価モデルは、Ｓｉｎｇｌｅ　Ｃｙｃｌｅ　Ｋｉｎｅｔｉｃｓとし、Ｂｉａｃｏｒｅ　Ｔ２００　Ｅｖａｌｕａｔｉｏｎ　Ｓｏｆｔｗａｒｅ　Ｖｅｒｓｉｏｎ　３．０（Ｃｙｔｉｖａ社）を使用してカーブフィッティングを行った。得られたセンサーグラムに対して、最小二乗法によるカーブフィッティングを実施し、そのＫＤ値を求めることでペプチドのＢＭＰ４／ＢＭＰ７に対する結合を評価した。得られた結果を表４に示す。

[0154] [表4]

表 4

Peptide SEQ ID No.	BMP4 (nM)	BMP7 (nM)
84	2.1	21.7
177	0.4	2.3

実施例 16

[0155]　各種ペプチドの合成

実施例１０で作成したペプチドを表５，表６及び表７に示す。

[0156]　表５

[表5-1]

SEQ ID No.	Peptide Sequence									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
188	da	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
189	L	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
190	T	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
191	F	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
192	K	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
193	E	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
194	Q	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
195	A	A	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
196	A	KCOpipzaa	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
197	A	Cit	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
198	A	R	V	F4F	V	D	R	Bph	P	Y
199	A	R	V	5Ind	V	D	R	Bph	P	Y
200	A	R	V	Y	V	D	A	Bph	P	Y
201	A	R	V	Y	V	D	KCOpipzaa	Bph	P	Y
202	A	R	V	Y	V	D	Cit	Bph	P	Y
203	A	R	V	Y	V	D	R	F4Me	P	Y
204	A	R	V	Y	V	D	R	F44pip	P	Y
205	A	R	V	Y	V	D	R	F44pyz	P	Y
206	A	R	V	Y	V	D	R	3Py6Ph	P	Y
207	A	R	V	Y	V	D	R	F43Py	P	Y
208	A	R	V	Y	V	D	R	Bph	MeA	Y
209	A	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	F4F
210	A	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	5Ind
211	A	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
212	A	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
213	A	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
214	A	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
215	A	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y

[0157]

[表5-2]

SEQ ID No.	Peptide Sequence（続き）								
	11	12	13	14	15	16	17		
188	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
189	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
190	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
191	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
192	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
193	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
194	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
195	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
196	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
197	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
198	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
199	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
200	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
201	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
202	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
203	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
204	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
205	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
206	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
207	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
208	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
209	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
210	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
211	MeA	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
212	P	F4Me	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
213	P	F44pip	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
214	P	F44pyz	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
215	P	3Py6Ph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2

[0158]

[表5-3]

SEQ ID No.	Peptide Sequence									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
216	A	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
217	A	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
218	A	R	V	Y	V	D	R	Bph	P	Y
219	T	R	V	Y	V	D	R	3Py6Ph	S	Y
220	Q	R	V	Y	V	D	R	3Py6Ph	S	Y
221	E	R	V	F4COO	V	D	R	3Py6Ph	S	Y
222	E	R	V	Y	V	S	R	3Py6Ph	S	Y
223	E	R	V	Y	V	D	R	3Py6Ph	S	Y
224	E	R	V	Y	V	D	R	3Py6Ph	S	Y
225	E	R	V	Y	V	D	R	3Py6Ph	S	Y
226	E	R	V	Y	V	KCOpipzaa	R	3Py6Ph	S	Y
227	E	R	V	Y	V	D	R	3Py6Ph	KCOpipzaa	Y
228	Q	R	V	Y	V	D	R	3Py6Ph	S	Y
229	E	R	V	F4COO	V	D	R	3Py6Ph	S	Y
230	E	R	V	Y	V	D	R	3Py6Ph	KCOpipzaa	Y
231	Q	R	V	F4COO	V	D	R	3Py6Ph	S	Y
232	Q	R	V	F4aao	V	D	R	3Py6Ph	S	Y
233	E	R	V	F4COO	CF3A	D	R	3Py6Ph	S	Y
234	E	R	V	F4COO	Gcpr	D	R	3Py6Ph	S	Y
235	E	R	V	F4COO	V	D	R	3Py6Ph	KCOpipzaa	Y
236	A	R	V	F4COO	V	D	R	Bph	P	Y
237	E	R	V	F4COO	V	D	R	Bph	P	Y
238	E	R	V	F4COO	V	KCOpipzaa	R	Bph	P	Y
239	E	R	V	F4COO	V	KCOpipzaa	R	Bph	P	Y
240	E	R	V	F4COO	V	KCOpipzaa	R	Bph	S	Y

[0159] [表5-4]

SEQ ID No.	Peptide Sequence（続き）								
	11	12	13	14	15	16	17		
216	P	F43Py	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
217	P	Bph	F4F	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
218	P	Bph	5Ind	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
219	V	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
220	V	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
221	V	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
222	V	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
223	Hyp	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
224	A	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
225	V	Bph	4Py	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
226	V	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
227	V	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
228	V	Bph	4Py	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
229	V	Bph	4Py	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
230	V	Bph	4Py	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
231	V	Bph	4Py	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
232	V	Bph	4Py	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
233	V	Bph	4Py	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
234	V	Bph	4Py	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
235	V	Bph	4Py	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
236	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
237	P	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2
238	P	Bph	F4F	F4COO	4Py	S	C	bA	de -OH
239	V	Bph	F4F	F4COO	4Py	S	C	bA	de -OH
240	V	Bph	F4F	F4COO	4Py	S	C	bA	de -OH

表６

[0160] [表6-1-1]

Seq. No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
243	E	R	V	Y	V	D	R	3Py6Ph	S	Y	V
244	A	R	V	Y	V	D	R	3Py6Ph	S	Y	V
245	L	R	V	Y	V	D	R	3Py6Ph	S	Y	V
246	E	R	V	4Py	V	D	R	3Py6Ph	S	Y	V
247	E	R	V	F4F	V	D	R	3Py6Ph	S	Y	V
248	E	KCOpipzaa	V	Y	V	D	R	3Py6Ph	S	Y	V
249	E	R	V	H	V	D	R	3Py6Ph	S	Y	V
250	E	R	V	Y	V	D	R	3Py6Ph	H	Y	V
251	E	R	V	Y	V	D	R	3Py6Ph	S	Hty	V
252	L	R	V	Y	V	D	R	3Py6Ph	S	Y	V
253	E	R	V	Y	V	S	R	3Py6Ph	S	Y	V
254	E	R	V	Y	V	S	R	3Py6Ph	S	Hty	V
255	E	R	V	Y	V	KCOpipzaa	R	3Py6Ph	S	Y	V
256	E	R	V	F4F	V	S	R	3Py6Ph	S	Y	V
257	T	R	V	Y	V	D	R	3Py6Ph	S	Y	V
258	Q	R	V	Y	V	D	R	3Py6Ph	S	Y	V
259	E	R	V	Y	V	S	R	3Py6Ph	S	Y	V
260	E	R	V	Y	V	D	R	3Py6Ph	S	Y	Hyp
261	E	R	V	Y	V	D	R	3Py6Ph	S	Y	A
262	E	R	V	Y	V	D	R	3Py6Ph	S	Y	V
263	E	R	V	Y	V	KCOpipzaa	R	3Py6Ph	S	Y	V

[0161]

[表6-1-2]

Seq. No.	12	13	14	15	16	17	additional amino acids		Ret time
243	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	1.29
244	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	1.31
245	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	1.34
246	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	1.24
247	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	1.31
248	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	1.32
249	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	1.24
250	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	1.24
251	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	1.3
252	Bph	4Py	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	1.28
253	Bph	4Py	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	1.23
254	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	1.31
255	Bph	4Py	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	1.21
256	Bph	4Py	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	1.25
257	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	3.444
258	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	3.408
259	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	3.464
260	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	5.748
261	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	5.884
262	Bph	4Py	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	5.576
263	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	5.892

[0162]

[表6-1-3]

Seq. No.	ESI (m/z)	[M+XH]X+	aLIZA BMP4 (0.2 nM) % inh	aLIZA BMP7 (10 nM) % inh	Synthesis	Peptide Conc. in Assay (nM)	
						BMP4 Assay	BMP7 Assay
243	855.9	3	C	E	1	0.02, 0.2, 2	10, 100, 1000
244	836.5	3	C	ND	1	0.02, 0.2, 2	10, 100, 1000
245	850.7	3	C	ND	1	0.02, 0.2, 2	10, 100, 1000
246	850.9	3	C	E	1	0.02, 0.2, 2	10, 100, 1000
247	856.5	3	C	E	1	0.02, 0.2, 2	10, 100, 1000
248	903.1	3	C	ND	1	0.02, 0.2, 2	10, 100, 1000
249	847.2	3	C	E	1	0.02, 0.2, 2	10, 100, 1000
250	872.5	3	C	E	1	0.02, 0.2, 2	10, 100, 1000
251	860.5	3	C	ND	1	0.02, 0.2, 2	10, 100, 1000
252	845.6	3	C	ND	1	0.02, 0.2, 2	10, 100, 1000
253	841.6	3	C	ND	1	0.02, 0.2, 2	10, 100, 1000
254	851.3	3	C	ND	1	0.02, 0.2, 2	10, 100, 1000
255	912	3	C	ND	1	0.02, 0.2, 2	10, 100, 1000
256	842.4	3	C	ND	1	0.02, 0.2, 2	10, 100, 1000
257	846.52	3	C	E	2	0.02, 0.2, 2	10, 100, 1000
258	855.54	3	B	E	2	0.02, 0.2, 2	10, 100, 1000
259	846.56	3	C	E	2	0.02, 0.2, 2	10, 100, 1000
260	860.54	3	B	E	2	0.02, 0.2, 2	10, 100, 1000
261	846.52	3	C	E	2	0.02, 0.2, 2	10, 100, 1000
262	850.89	3	C	ND	2	0.02, 0.2, 2	10, 100, 1000
263	916.96	3	C	E	2	0.02, 0.2, 2	10, 100, 1000

[0163]

[表6-2-1]

Seq.No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
264	E	R	V	Y	V	D	R	3Py6Ph	KCOpipzaa	Y	V
265	E	R	V	F4COO	V	D	R	3Py6Ph	S	Y	V
266	Q	R	V	Y	V	D	R	3Py6Ph	S	Y	V
267	E	R	V	F4COO	V	D	R	3Py6Ph	S	Y	V
268	E	R	V	Y	V	D	R	3Py6Ph	KCOpipzaa	Y	V
269	Q	R	V	F4COO	V	D	R	3Py6Ph	S	Y	V
270	Q	R	V	F4aao	V	D	R	3Py6Ph	S	Y	V
271	E	R	V	F4COO	CF3A	D	R	3Py6Ph	S	Y	V
272	E	R	V	F4COO	Gcpr	D	R	3Py6Ph	S	Y	V
273	E	R	V	F4COO	V	D	R	3Py6Ph	KCOpipzaa	Y	V
274	E	R	V	F4COO	V	D	R	3Py6Ph	KCOpipzaa	Y	Hyp
275	E	R	V	F4COO	V	D	R	3Py6Ph	KCOpipzaa	Y	Hyp
276	E	R	V	F4COO	V	KCOpipzaa	R	3Py6Ph	KCOpipzaa	Y	Hyp
277	E	R	V	F4COO	V	KCOpipzaa	R	3Py6Ph	KCOpipzaa	Y	Hyp
278	E	KCOpipzaa	V	F4COO	V	KCOpipzaa	R	3Py6Ph	KCOpipzaa	Y	Hyp
279	E	KCOpipzaa	V	F4COO	V	KCOpipzaa	R	3Py6Ph	KCOpipzaa	Y	Hyp
280	E	R	V	F4COO	V	D	R	3Py6Ph	KCOpipzaa	Y	Hyp
281	E	R	V	F4COO	V	D	R	3Py6Ph	KCOpipzaa	Y	V
282	E	R	V	F4COO	V	D	R	3Py6Ph	KCOpipzaa	Y	Hyp
283	E	R	V	F4COO	V	KCOpipzaa	R	3Py6Ph	KCOpipzaa	Y	Hyp
284	E	R	V	F4COO	V	KCOpipzaa	R	3Py6Ph	KCOpipzaa	Y	V

[0164]

[表6-2-2]

Seq.No.	12	13	14	15	16	17	additional amino acids	Ret time	ESI (m/z)	[M+XH]X+
264	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G -NH2	5.888	926.3	3
265	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G -NH2	3.372	865.2	3
266	Bph	4Py	F4COO	F4COO	S	C	G -NH2	5.576	850.54	3
267	Bph	4Py	F4COO	F4COO	S	C	G -NH2	5.656	860.21	3
268	Bph	4Py	F4COO	F4COO	S	C	G -NH2	5.024	921.67	3
269	Bph	4Py	F4COO	F4COO	S	C	G -NH2	5.548	859.85	3
270	Bph	4Py	F4COO	F4COO	S	C	G -NH2	5.268	870.21	3
271	Bph	4Py	F4COO	F4COO	S	C	G -NH2	5.684	873.43	3
272	Bph	4Py	F4COO	F4COO	S	C	G -NH2	5.552	859.41	3
273	Bph	4Py	F4COO	F4COO	S	C	G -NH2	5.032	930.99	3
274	Bph	4Py	F4COO	F4COO	S	C	G -NH2	5.068	935.15	3
275	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G -NH2	5.556	940.22	3
276	Bph	4Py	F4COO	F4COO	S	C	G -NH2	4.884	996.22	3
277	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G -NH2	5.356	1001.3	3
278	Bph	4Py	F4COO	F4COO	S	C	G -NH2	5.036	1043.6	3
279	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G -NH2	5.472	1048.6	3
280	Bph	4Py	F4COO	F4COO	S	C	bA OH	4.984	940.26	3
281	Bph	4Py	F4COO	F4COO	S	C	bA OH	5.412	935.55	3
282	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	bA OH	5.528	945.28	3
283	Bph	4Py	F4COO	F4COO	S	C	bA OH	4.808	1001.3	3
284	Bph	4Py	F4COO	F4COO	S	C	bA OH	5.14	996.64	3

[0165]

[表6-2-3]

Seq.No.	aLIZA BMP4 (0.2 nM) % inh	aLIZA BMP7 (10 nM) % inh	Synthesis	Peptide Conc. in Assay (nM)	
				BMP4 Assay	BMP7 Assay
264	C	E	2	0.02, 0.2, 2	10, 100, 1000
265	B	E	2	0.02, 0.2, 2	10, 100, 1000
266	C	ND	2	0.02, 0.2, 2	10, 100, 1000
267	C	ND	2	0.02, 0.2, 2	10, 100, 1000
268	C	ND	2	0.02, 0.2, 2	10, 100, 1000
269	C	ND	2	0.02, 0.2, 2	10, 100, 1000
270	C	ND	2	0.02, 0.2, 2	10, 100, 1000
271	C	ND	2	0.02, 0.2, 2	10, 100, 1000
272	C	ND	2	0.02, 0.2, 2	10, 100, 1000
273	C	ND	2	0.02, 0.2, 2	10, 100, 1000
274	B	ND	2	0.02, 0.2, 2	100, 300, 1000
275	B	G	2	0.02, 0.2, 2	100, 300, 1000
276	B	ND	2	0.02, 0.2, 2	100, 300, 1000
277	B	H	2	0.02, 0.2, 2	100, 300, 1000
278	C	ND	2	0.02, 0.2, 2	100, 300, 1000
279	B	H	2	0.02, 0.2, 2	100, 300, 1000
280	B	H	2	0.02, 0.2, 2	100, 300, 1000
281	C	ND	2	0.02, 0.2, 2	100, 300, 1000
282	B	G	2	0.02, 0.2, 2	100, 300, 1000
283	B	H	2	0.02, 0.2, 2	100, 300, 1000
284	C	ND	2	0.02, 0.2, 2	100, 300, 1000

[0166]

[表6-3-1]

Seq.No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
285	E	KCOpipzaa	V	F4COO	V	KCOpipzaa	R	3Py6Ph	KCOpipzaa	Y
286	E	R	V	F4COO	V	D	R	3Py6Ph	KCOpipzaa	Y
287	E	R	V	F4COO	Atp	KCOpipzaa	R	3Py6Ph	KCOpipzaa	Y
288	E	R	V	F4COO	Cha4tH	KCOpipzaa	R	3Py6Ph	KCOpipzaa	Y
289	E	R	V	F4COO	Gthp	KCOpipzaa	R	3Py6Ph	KCOpipzaa	Y
290	E	R	V	F4COO	V	KCOpipzaa	R	Bph4C	KCOpipzaa	Y
291	E	R	V	F4COO	V	KCOpipzaa	R	pBph2F	KCOpipzaa	Y
292	E	R	V	F4COO	V	KCOpipzaa	R	3Py6Ph	KCOpipzaa	Y
293	E	R	V	F4COO	Cha4tH	KCOpipzaa	R	3Py6Ph	KCOpipzaa	Y
294	E	R	V	F4COO	Cha4tH	KCOpipzaa	R	3Py6Ph	KCOpipzaa	Y
295	E	R	V	F4COO	V	KCOpipzaa	R	Bph4C	KCOpipzaa	Y
296	E	R	V	F4COO	V	KCOpipzaa	R	3Py6Ph	KCOpipzaa	Y
297	E	R	V	F4COO	Atp	KCOpipzaa	R	3Py6Ph	KCOpipzaa	Y
298	E	R	V	F4COO	Cha4tH	KCOpipzaa	R	3Py6Ph	KCOpipzaa	Y
299	E	R	V	F4COO	V	KCOpipzaa	R	3Py6Ph	KCOpipzaa	Y
300	E	R	V	F4COO	V	KCOpipzaa	R	3Py6Ph	KCOpipzaa	Y
301	E	R	V	F4COO	V	KCOpipzaa	R	3Py6Ph	KCOpipzaa	Y
302	E	R	V	F4COO	V	KCOpipzaa	R	3Py6Ph	KCOpipzaa	Y
303	E	R	V	F4COO	V	KCOpipzaa	R	Bph3C	KCOpipzaa	Y
304	E	R	V	F4COO	V	KCOpipzaa	R	pBph2F	KCOpipzaa	Y
305	E	R	V	F4COO	A1Ac4pip	KCOpipzaa	R	3Py6Ph	KCOpipzaa	Y

[0167]

[表6-3-2]

Seq.No.	11	12	13	14	15	16	17	additional amino acids			Ret time	ESI (m/z)
285	Hyp	Bph	4Py	F4COO	F4COO	S	C	bA	OH		5	1048.7
286	Hyp	Bph	4Py	F4COO	F4COO	S	C	bA	de	OH	4.956	983.31
287	Hyp	Bph	4Py	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2		4.824	1014.9
288	Hyp	Bph	4Py	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2		4.74	1019.6
289	Hyp	Bph	4Py	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2		4.808	1010.2
290	Hyp	Bph	4Py	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2		5.284	1007.9
291	Hyp	Bph	4Py	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2		5.504	1001.9
292	Hyp	Bph3OMe	4Py	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2		4.924	1006.3
293	Hyp	Bph3OMe	4Py	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2		4.744	1029.6
294	Hyp	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2		5.228	1024.6
295	Hyp	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2		3.396	1012.5
296	Hyp	Bph3OMe	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2		5.356	1011.2
297	Hyp	Bph3OMe	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2		5.3	1029.9
298	Hyp	Bph3OMe	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2		5.22	1034.6
299	Hyp	Bph4F	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2		1.34	1007.6
300	Hyp	Bph3Me	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2		1.35	1006.3
301	Hyp	pBph3F	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2		1.34	1007.6
302	Hyp	pBph2F	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2		1.34	1007.7
303	Hyp	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2		1.42	1012.4
304	Hyp	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2		1.4	1007.3
305	Hyp	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2		1.31	1033.8

[0168]

[表6-3-3]

Seq.No.	[M+XH]X+	aLIZA BMP4 (0.2 nM) % inh	aLIZA BMP7 (10 nM) % inh	Synthesis	Peptide Conc. in Assay (nM)	
					BMP4 Assay	BMP7 Assay
285	3	C	H	2	0.02, 0.2, 2	100, 300, 1000
286	3	B	G	2	0.02, 0.2, 2	100, 300, 1000
287	3	C	H	2	0.02, 0.2, 2	100, 300, 1000
288	3	B	F	2	0.02, 0.2, 2	100, 300, 1000
289	3	C	ND	2	0.02, 0.2, 2	100, 300, 1000
290	3	B	G	2	0.02, 0.2, 2	100, 300, 1000
291	3	B	G	2	0.02, 0.2, 2	100, 300, 1000
292	3	C	ND	2	0.02, 0.2, 2	100, 300, 1000
293	3	C	ND	2	0.02, 0.2, 2	100, 300, 1000
294	3	B	F	2	0.02, 0.2, 2	100, 300, 1000
295	3	B	F	2	0.02, 0.2, 2	100, 300, 1000
296	3	B	ND	2	0.02, 0.2, 2	100, 300, 1000
297	3	C	ND	2	0.02, 0.2, 2	100, 300, 1000
298	3	B	H	2	0.02, 0.2, 2	100, 300, 1000
299	3	C	ND	1	0.02, 0.2, 2	10, 100, 1000
300	3	C	E	1	0.02, 0.2, 2	10, 100, 1000
301	3	C	E	1	0.02, 0.2, 2	10, 100, 1000
302	3	C	E	1	0.02, 0.2, 2	10, 100, 1000
303	3	C	E	1	0.02, 0.2, 2	10, 100, 1000
304	3	C	E	1	0.02, 0.2, 2	10, 100, 1000
305	3	C	E	1	0.02, 0.2, 2	10, 100, 1000

[0169]

[表6-4-1]

Seq.No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
306	E	R	V	F4COO	Cba	KCOpipzaa	R	3Py6Ph	KCOpipzaa	Y	Hyp
307	E	R	V	F4COO	Chg	KCOpipzaa	R	3Py6Ph	KCOpipzaa	Y	Hyp
308	E	R	V	F4COO	Cha	KCOpipzaa	R	3Py6Ph	KCOpipzaa	Y	Hyp
309	E	R	V	F4COO	Gthp	KCOpipzaa	R	3Py6Ph	KCOpipzaa	Y	Hyp
310	E	R	V	F4COO	Atp	KCOpipzaa	R	3Py6Ph	KCOpipzaa	Y	Hyp
311	E	R	V	F4COO	V	KCOpipzaa	R	3Py6Ph	KCOpipzaa	Y	Hyp
312	E	R	V	F4COO	V	KCOpipzaa	R	3Py6Ph	KCOpipzaa	Y	Hyp
313	E	R	V	F4COO	Cba	KCOpipzaa	R	3Py6Ph	KCOpipzaa	Y	Hyp
314	E	R	V	F4COO	Cba	KCOpipzaa	R	3Py6Ph	KCOpipzaa	Y	Hyp
315	E	R	V	F4COO	Cba	KCOpipzaa	R	3Py6Ph	KCOpipzaa	Y	Hyp
316	E	R	V	F4COO	Cba	KCOpipzaa	R	3Py6Ph	KCOpipzaa	Y	Hyp
317	E	R	V	F4COO	Cba	KCOpipzaa	R	3Py6Ph	KCOpipzaa	Y	Hyp
318	E	R	V	F4COO	Cha4tH	KCOpipzaa	R	3Py6Ph	KCOpipzaa	Y	Hyp
319	E	R	V	F4COO	Cha4tH	KCOpipzaa	R	3Py6Ph	KCOpipzaa	Y	Hyp
320	E	R	V	F4COO	Cha4tH	KCOpipzaa	R	3Py6Ph	KCOpipzaa	Y	Hyp
321	E	R	V	F4COO	Cha4tH	KCOpipzaa	R	3Py6Ph	KCOpipzaa	Y	Hyp

[0170] [表6-4-2]

									Ret	ESI
Seq.No.	12	13	14	15	16	17	additional amino acids		time	(m/z)
306	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	1.35	1010.2
307	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	1.35	1014.9
308	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	1.37	1019.5
309	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	1.31	1015.7
310	Bph	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	1.31	1020.2
311	Bph3F	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	5.044	1007.7
312	Bph3C	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	5.212	1013.2
313	Bph3F	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	5.528	1015.9
314	Bph3C	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	5.68	1021.5
315	Bph	4Py	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	5.028	1005
316	Bph3F	4Py	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	4.984	1011
317	Bph3C	4Py	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	5.248	1016.3
318	Bph3F	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	5.132	1030.6
319	Bph3C	Y	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	5.304	1036.1
320	Bph3F	4Py	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	4.592	1025.6
321	Bph3C	4Py	F4COO	F4COO	S	C	G	-NH2	4.768	1031.1

[0171] [表6-4-3]

Seq.No.	[M+XH]X+	aLIZA BMP4 (0.2 nM) % inh	aLIZA BMP7 (10 nM) % inh	Synthesis	Peptide Conc. in Assay (nM)	
					BMP4 Assay	BMP7 Assay
306	3	C	E	1	0.02, 0.2, 2	10, 100, 1000
307	3	C	E	1	0.02, 0.2, 2	10, 100, 1000
308	3	C	E	1	0.02, 0.2, 2	10, 100, 1000
309	3	C	ND	1	0.02, 0.2, 2	10, 100, 1000
310	3	C	E	1	0.02, 0.2, 2	10, 100, 1000
311	3	B	E	2	0.02, 0.2, 2	10, 100, 1000
312	3	A	E	2	0.02, 0.2, 2	10, 100, 1000
313	3	A	E	2	0.02, 0.2, 2	10, 100, 1000
314	3	B	E	2	0.02, 0.2, 2	10, 100, 1000
315	3	B	E	2	0.02, 0.2, 2	10, 100, 1000
316	3	C	ND	2	0.02, 0.2, 2	10, 100, 1000
317	3	B	ND	2	0.02, 0.2, 2	10, 100, 1000
318	3	B	D	2	0.02, 0.2, 2	10, 100, 1000
319	3	B	D	2	0.02, 0.2, 2	10, 100, 1000
320	3	B	E	2	0.02, 0.2, 2	10, 100, 1000
321	3	B	E	2	0.02, 0.2, 2	10, 100, 1000

表 7

[0172]

[表7-1-1]

Seq ID No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
322	4Py	G	MeF	G	Bph	G	D	D	Cha	A
323	3Py	G	MeF	G	Bph	G	D	D	Cha	A
324	F	G	MeF	G	F	G	D	D	Cha	A
325	F	G	MeF	G	F44Py	G	D	D	Cha	A
326	F	G	MeF	G	F43Py	G	D	D	Cha	A
327	F	G	MeF	G	F42Py	G	D	D	Cha	A
328	F	G	MeF	G	3Py6Ph	G	D	D	Cha	A
329	F	G	MeF	G	F44thp	G	D	D	Cha	A
330	F	G	MeF	da	Bph	G	D	D	Cha	A
331	F	G	MeF	ds	Bph	G	D	D	Cha	A
332	F	G	MeF	G	Bph	A	D	D	Cha	A
333	F	G	MeF	G	Bph	da	D	D	Cha	A
334	F	G	MeF	G	Bph	G	N	D	Cha	A
335	F	G	MeF	G	Bph	G	D	D	Acpe	A
336	F	G	MeF	G	Bph	G	D	D	Cha	E
337	F	G	MeF	G	Bph	G	D	D	Cha	Hgl
338	F	G	MeF	G	Bph	G	D	D	Cha	Ahp
339	F	G	MeF	G	Bph	G	D	D	Cha	Abu
340	F	G	MeF	G	Bph	G	D	D	Cha	Q
341	F	G	MeF	G	Bph	G	D	D	Cha	S
342	F	G	MeF	G	Bph	G	D	D	Cha	T
343	F	G	MeF	G	Bph	G	D	D	Cha	Hgn
344	F	G	MeF	G	Bph	G	D	D	Cha	A
345	F	G	MeF	G	Bph	G	D	D	Cha	A
346	F	G	MeF	G	Bph	G	D	D	Cha	A

[0173]

[表7-1-2]

Seq ID No.	11	12	13	14	additional amino acids		Ret time	ESI (m/z)
322	MeF	L	H	C	G	-NH2	1.46	894.4
323	MeF	L	H	C	G	-NH2	1.47	894.6
324	MeF	L	H	C	G	-NH2	1.57	855.9
325	MeF	L	H	C	G	-NH2	1.38	894.4
326	MeF	L	H	C	G	-NH2	1.4	894.4
327	MeF	L	H	C	G	-NH2	1.43	894.4
328	MeF	L	H	C	G	-NH2	1.48	894.4
329	MeF	L	H	C	G	-NH2	1.59	898
330	MeF	L	H	C	G	-NH2	1.66	900.9
331	MeF	L	H	C	G	-NH2	1.64	908.9
332	MeF	L	H	C	G	-NH2	1.65	900.9
333	MeF	L	H	C	G	-NH2	1.65	900.9
334	MeF	L	H	C	G	-NH2	1.64	893.3
335	MeF	L	H	C	G	-NH2	1.62	886.8
336	MeF	L	H	C	G	-NH2	1.62	922.9
337	MeF	L	H	C	G	-NH2	1.63	929.9
338	MeF	L	H	C	G	-NH2	1.73	922
339	MeF	L	H	C	G	-NH2	1.66	900.8
340	MeF	L	H	C	G	-NH2	1.61	922.4
341	MeF	L	H	C	G	-NH2	1.63	901.8
342	MeF	L	H	C	G	-NH2	1.64	908.9
343	MeF	L	H	C	G	-NH2	1.62	929.4
344	MeF	Cha	H	C	G	-NH2	1.78	914.1
345	MeF	Ahp	H	C	G	-NH2	1.68	900.9
346	MeF	I	H	C	G	-NH2	1.63	893.9

[0174]

[表7-1-3]

Seq ID No.	[M+XH]X+	aLISA BMP4 (0.2 nM) % inh	aLISA BMP7 (10nM) % inh	Synthesis	Peptide Conc. in Assay (nM)	
					BMP4 Assay	BMP7 Assay
322	2	ND	D	1	0.2, 2, 20	1, 10, 100
323	2	ND	D	1	0.2, 2, 20	1, 10, 100
324	2	ND	D	1	0.2, 2, 20	1, 10, 100
325	2	ND	D	1	0.2, 2, 20	1, 10, 100
326	2	ND	D	1	0.2, 2, 20	1, 10, 100
327	2	A	D	1	0.2, 2, 20	1, 10, 100
328	2	ND	D	1	0.2, 2, 20	1, 10, 100
329	2	ND	D	1	0.2, 2, 20	1, 10, 100
330	2	ND	D	1	0.2, 2, 20	1, 10, 100
331	2	ND	D	1	0.2, 2, 20	1, 10, 100
332	2	ND	D	1	0.2, 2, 20	1, 10, 100
333	2	ND	D	1	0.2, 2, 20	1, 10, 100
334	2	ND	D	1	0.2, 2, 20	1, 10, 100
335	2	ND	D	1	0.2, 2, 20	1, 10, 100
336	2	ND	D	1	0.2, 2, 20	1, 10, 100
337	2	ND	D	1	0.2, 2, 20	1, 10, 100
338	2	ND	D	1	0.2, 2, 20	1, 10, 100
339	2	ND	D	1	0.2, 2, 20	1, 10, 100
340	2	ND	D	1	0.2, 2, 20	1, 10, 100
341	2	ND	D	1	0.2, 2, 20	1, 10, 100
342	2	ND	D	1	0.2, 2, 20	1, 10, 100
343	2	ND	D	1	0.2, 2, 20	1, 10, 100
344	2	A	D	1	0.2, 2, 20	1, 10, 100
345	2	A	D	1	0.2, 2, 20	1, 10, 100
346	2	ND	D	1	0.2, 2, 20	1, 10, 100

[0175]

[表7-2-1]

Seq ID No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
347	F	G	MeF	G	Bph	G	D	D	Cha	A
348	F	G	MeF	G	Bph	G	D	D	Cha	A
349	F	G	MeF	G	Bph	G	D	D	Cha	A
350	F	G	MeF	G	Bph	G	D	D	Cha	A
351	F	G	MeF	G	Bph	G	D	D	Cha	A
352	F	G	MeF	G	Bph	G	D	D	Cha	A
353	F	G	MeF	G	Bph	G	D	D	Cha	A
354	F	G	MeF	G	Bph	G	D	D	Cha	A
355	F	G	MeF	G	Bph	G	D	D	Cha	A
356	F	G	MeF	G	Bph	G	D	D	Cha	A
357	F	G	MeF	G	Bph	G	D	D	Cha	A
358	F	G	MeF	G	Bph	G	D	E	Cha	A
359	F	G	MeF	G	Bph	G	D	E	Cha	A
360	F	G	MeF	G	Bph	G	D	E	Cha	A
361	F	G	MeF	G	Bph	G	D	E	Cha	A
362	F	G	MeF	G	F	G	D	E	Cha	A
363	F	G	MeF	G	3Py6Ph	G	D	E	Cha	A
364	F	G	MeF	G	Bph	G	D	E	Cha	Q
365	F	G	MeF	G	Bph	G	D	E	Cha	Abu
366	F	G	MeF	G	Bph	G	D	E	Cha	Hgl
367	F	G	MeF	G	F	G	D	E	Cha	Q
368	F	G	MeF	G	Bph	G	D	E	Cha	Q
369	F	G	MeF	G	F	G	D	E	Cha	Q
370	F	G	MeF	G	3Py6Ph	G	D	E	Cha	Q
371	F	G	MeF	G	Bph	G	D	D	Cha	A

[0176]

[表7-2-2]

Seq ID No.	11	12	13	14	additional amino acids		Ret time	ESI (m/z)
347	MeF	Chg	H	C	G	-NH2	1.66	906.9
348	MeF	L	A	C	G	-NH2	1.84	860.8
349	MeF	L	L	C	G	-NH2	1.9	881.8
350	MeF	L	Abu	C	G	-NH2	1.86	867.8
351	MeF	L	4Py2NH2	C	G	-NH2	1.65	906.8
352	MeF	L	G	C	G	-NH2	1.84	853.8
353	MeF	L	S	C	G	-NH2	1.82	868.8
354	MeF	L	N	C	G	-NH2	1.81	882.3
355	MeF	L	Hyp	C	G	-NH2	1.8	881.9
356	MeF	L	P4Sh	C	G	-NH2	1.82	881.8
357	MeF	L	F4COO	C	G	-NH2	1.82	920.9
358	MeF	L	H	C	G	-NH2	6.092	900.9
359	MeF	L	Abu	C	G	-NH2	3.747	875.2
360	MeF	L	4Py2NH2	C	G	-NH2	6.176	914
361	MeF	L	F4COO	C	G	-NH2	3.447	928.3
362	MeF	L	H	C	G	-NH2	5.004	863.3
363	MeF	L	H	C	G	-NH2	4.72	901.5
364	MeF	L	H	C	G	-NH2	5.792	929.5
365	MeF	L	H	C	G	-NH2	6.228	907.9
366	MeF	L	H	C	G	-NH2	6.056	937
367	MeF	L	H	C	G	-NH2	5.016	891.5
368	MeF	L	F4COO	C	G	-NH2	3.064	956.8
369	MeF	L	F4COO	C	G	-NH2	6.3	918.4
370	MeF	L	F4COO	C	G	-NH2	5.088	957.4
371	MeF	L	H	C	G	-NH2	1.6	894.2

[0177]

[表7-2-3]

Seq ID No.	[M+XH]X+	aLISA BMP4 (0.2 nM) % inh	aLISA BMP7 (10nM) % inh	Synthesis	Peptide Conc. in Assay (nM)	
					BMP4 Assay	BMP7 Assay
347	2	ND	D	1	0.2, 2, 20	1, 10, 100
348	2	A	D	1	0.2, 2, 20	1, 10, 100
349	2	ND	D	1	0.2, 2, 20	1, 10, 100
350	2	ND	D	1	0.2, 2, 20	1, 10, 100
351	2	ND	D	1	0.2, 2, 20	1, 10, 100
352	2	ND	D	1	0.2, 2, 20	1, 10, 100
353	2	ND	D	1	0.2, 2, 20	1, 10, 100
354	2	ND	D	1	0.2, 2, 20	1, 10, 100
355	2	A	D	1	0.2, 2, 20	1, 10, 100
356	2	A	C	1	0.2, 2, 20	1, 10, 100
357	2	ND	D	1	0.2, 2, 20	1, 10, 100
358	2	ND	D	2	0.2, 2, 20	1, 10, 100
359	2	ND	D	2	0.2, 2, 20	1, 10, 100
360	2	ND	D	2	0.2, 2, 20	1, 10, 100
361	2	ND	D	2	0.2, 2, 20	1, 10, 100
362	2	ND	D	2	0.2, 2, 20	1, 10, 100
363	2	ND	D	2	0.2, 2, 20	1, 10, 100
364	2	ND	D	2	0.2, 2, 20	1, 10, 100
365	2	ND	D	2	0.2, 2, 20	1, 10, 100
366	2	ND	D	2	0.2, 2, 20	1, 10, 100
367	2	ND	D	2	0.2, 2, 20	1, 10, 100
368	2	ND	C	2	0.2, 2, 20	1, 10, 100
369	2	ND	D	2	0.2, 2, 20	1, 10, 100
370	2	ND	D	2	0.2, 2, 20	1, 10, 100
371	2	A	E	1	2, 20, 200	10, 30, 90

[0178]

[表7-3-1]

Seq ID No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
372	F3C	G	MeF	G	Bph	G	D	D	Cha	A
373	F4C	G	MeF	G	Bph	G	D	D	Cha	A
374	F3Me	G	MeF	G	Bph	G	D	D	Cha	A
375	F4Me	G	MeF	G	Bph	G	D	D	Cha	A
376	F	G	MeF	G	3Py	G	D	D	Cha	A
377	F	G	MeF	G	4Py	G	D	D	Cha	A
378	F	G	MeF	G	F4F	G	D	D	Cha	A
379	F	G	MeF	G	F3C	G	D	D	Cha	A
380	F	G	MeF	G	F4C	G	D	D	Cha	A
381	F	G	MeF	G	F3Me	G	D	D	Cha	A
382	F	G	MeF	G	F4Me	G	D	D	Cha	A
383	F	G	MeF	G	Y	G	D	D	Cha	A
384	F	G	MeF3C	G	Bph	G	D	D	Cha	A
385	F	G	MeF4C	G	Bph	G	D	D	Cha	A
386	F	G	MeF3Me	G	Bph	G	D	D	Cha	A
387	F	G	MeY	G	Bph	G	D	D	Cha	A
388	F	G	MeF	G	Bph	G	D	D	Cha	A
389	F	G	MeF	G	Bph	G	D	D	Cha	A
390	F	G	MeF	G	Bph	G	D	D	Cha	A
391	F	G	MeF	G	Bph	G	D	D	Cha	A
392	F4F	G	MeF	G	Bph	G	D	D	Cha	A
393	F	G	MeF4Me	G	Bph	G	D	D	Cha	A
394	F	G	MeF	G	Bph	G	D	D	Cha	A
395	F4F	G	MeF4Me	G	Bph	G	D	D	Cha	A
396	F4F	G	MeF	G	Bph	G	D	D	Cha	A

[0179]

[表7-3-2]

Seq ID No.	11	12	13	14	additional amino acids		Ret time	ESI (m/z)
372	MeF	L	H	C	G	-NH2	1.63	911.4
373	MeF	L	H	C	G	-NH2	1.63	911.5
374	MeF	L	H	C	G	-NH2	1.63	901.2
375	MeF	L	H	C	G	-NH2	1.63	901.2
376	MeF	L	H	C	G	-NH2	1.31	856.6
377	MeF	L	H	C	G	-NH2	1.3	856.5
378	MeF	L	H	C	G	-NH2	1.52	864.8
379	MeF	L	H	C	G	-NH2	1.54	873.4
380	MeF	L	H	C	G	-NH2	1.55	873.3
381	MeF	L	H	C	G	-NH2	1.54	863.1
382	MeF	L	H	C	G	-NH2	1.54	863.1
383	MeF	L	H	C	G	-NH2	1.44	864.1
384	MeF	L	H	C	G	-NH2	1.64	911.5
385	MeF	L	H	C	G	-NH2	1.64	911.5
386	MeF	L	H	C	G	-NH2	1.63	901.2
387	MeF	L	H	C	G	-NH2	1.54	902.1
388	MeF3C	L	H	C	G	-NH2	1.63	911.7
389	MeF4C	L	H	C	G	-NH2	1.63	911.7
390	MeF3Me	L	H	C	G	-NH2	1.62	901.2
391	MeY	L	H	C	G	-NH2	1.55	902.1
392	MeF	L	H	C	G	-NH2	5.804	903.2
393	MeF	L	H	C	G	-NH2	5.968	901.2
394	MeF4Me	L	H	C	G	-NH2	5.932	901.3
395	MeF	L	H	C	G	-NH2	6.024	910.4
396	MeF4Me	L	H	C	G	-NH2	6	910.3

[0180]

[表7-3-3]

Seq ID No.	[M+XH]X+	aLISA BMP4 (0.2 nM) % inh	aLISA BMP7 (10nM) % inh	Synthesis	Peptide Conc. in Assay (nM)	
					BMP4 Assay	BMP7 Assay
372	2	ND	G	1	2, 20, 200	10, 30, 90
373	2	A	F	1	2, 20, 200	10, 30, 90
374	2	ND	G	1	2, 20, 200	10, 30, 90
375	2	B	F	1	2, 20, 200	10, 30, 90
376	2	ND	G	1	2, 20, 200	10, 30, 90
377	2	ND	F	1	2, 20, 200	10, 30, 90
378	2	ND	F	1	2, 20, 200	10, 30, 90
379	2	ND	G	1	2, 20, 200	10, 30, 90
380	2	B	F	1	2, 20, 200	10, 30, 90
381	2	ND	G	1	2, 20, 200	10, 30, 90
382	2	ND	G	1	2, 20, 200	10, 30, 90
383	2	ND	F	1	2, 20, 200	10, 30, 90
384	2	B	E	1	2, 20, 200	10, 30, 90
385	2	B	F	1	2, 20, 200	10, 30, 90
386	2	B	F	1	2, 20, 200	10, 30, 90
387	2	A	F	1	2, 20, 200	10, 30, 90
388	2	B	E	1	2, 20, 200	10, 30, 90
389	2	B	E	1	2, 20, 200	10, 30, 90
390	2	B	E	1	2, 20, 200	10, 30, 90
391	2	A	F	1	2, 20, 200	10, 30, 90
392	2	A	D	2	0.2, 2, 20	1, 10, 100
393	2	A	D	2	0.2, 2, 20	1, 10, 100
394	2	ND	D	2	0.2, 2, 20	1, 10, 100
395	2	A	D	2	0.2, 2, 20	1, 10, 100
396	2	A	C	2	0.2, 2, 20	1, 10, 100

[0181]

[表7-4-1]

Seq ID No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
397	F	G	MeF4Me	G	Bph	G	D	D	Cha	A
398	F4F	G	MeF4Me	G	Bph	G	D	D	Cha	A
399	F	G	MeF	G	Bph	G	D	E	Cha	Q
400	F	G	MeF	G	Bph	G	D	E	Cha	Q
401	F	G	MeF	G	Bph	G	D	E	Cha	Hgl
402	F	G	MeF	G	Bph	G	D	E	Cha	Hgl
403	F	G	MeF	G	Bph	G	D	E	Cha	Hgl
404	F	G	MeF	G	Bph	G	D	E	Cha	Q
405	F	G	MeF	G	Bph	G	D	E	Cha	Q
406	F	G	MeF	G	Bph	G	D	E	Cha	Q
407	F	G	MeF	G	Bph	G	D	E	Cha	Q
408	F	G	MeF	G	Bph	G	D	E	Cha	Hgl
409	F	G	MeF	G	Bph	G	D	E	Cha	Hgl
410	F	G	MeF	G	3Py6Ph	G	D	E	Cha	Hgl
411	F	G	MeF	G	3Py6Ph	G	D	E	Cha	Hgl
412	F4F	G	MeF	G	3Py6Ph	G	D	E	Cha	Hgl
413	F4F	G	MeF	G	3Py6Ph	G	D	E	Cha	Hgl
414	F	G	MeF	G	3Py6Ph	G	D	E	Cha	Hgl
415	F	G	MeF	G	3Py6Ph	G	D	E	Cha	Hgl
416	F4F	G	MeF	G	3Py6Ph	G	D	E	Cha	Hgl
417	F4F	G	MeF	G	3Py6Ph	G	D	E	Cha	Hgl
418	F	G	MeF	G	3Py6Ph	G	D	E	Cha	Hgl
419	F	G	MeF	G	3Py6Ph	G	D	E	Cha	Hgl
420	F4F	G	MeF	G	3Py6Ph	G	D	E	Cha	Hgl
421	F4F	G	MeF	G	3Py6Ph	G	D	E	Cha	Hgl

[0182]

[表7-4-2]

Seq ID No.	11	12	13	14	additional amino acids			Ret time	ESI (m/z)
397	MeF4Me	L	H	C	G	-NH2		6.156	908.3
398	MeF4Me	L	H	C	G	-NH2		6.204	917.3
399	MeF	L	Abu	C	G	-NH2		3.652	903.3
400	MeF	L	P4Sh	C	G	-NH2		3.256	917.3
401	MeF	L	F4COO	C	G	-NH2		3.56	963.8
402	MeF	L	Abu	C	G	-NH2		3.844	910.8
403	MeF	L	P4Sh	C	G	-NH2		3.44	924.8
404	MeF	L	F4COO	C	-NH2			3.596	927.8
405	MeF	L	F4COO	C	G	OH		3.476	956.9
406	MeF	L	F4COO	C	bA	OH		3.504	963.9
407	MeF	L	F4COO	C	bA	de	OH	3.168	1028
408	MeF	L	F4COO	C	-NH2			3.857	935.4
409	MeF	L	F4COO	C	bA	de	OH	3.317	1036
410	MeF	L	F4COO	C	-NH2			5.7	935.8
411	MeF	L	F4COO	C	bA	de	OH	5.044	1037
412	MeF4Me	L	F4COO	C	-NH2			6.216	952
413	MeF4Me	L	F4COO	C	bA	de	OH	5.88	1053
414	MeF	L	P4Sh	C	-NH2			5.14	897.2
415	MeF	L	P4Sh	C	bA	de	OH	5.396	997.5
416	MeF4Me	L	P4Sh	C	-NH2			6.012	912.9
417	MeF4Me	L	P4Sh	C	bA	de	OH	5.48	1013
418	MeF	L	Abu	C	-NH2			5.948	882.9
419	MeF	L	Abu	C	bA	de	OH	5.576	983.5
420	MeF4Me	L	Abu	C	-NH2			5.852	899.2
421	MeF4Me	L	Abu	C	bA	de	OH	6.04	999.5

[0183]

[表7-4-3]

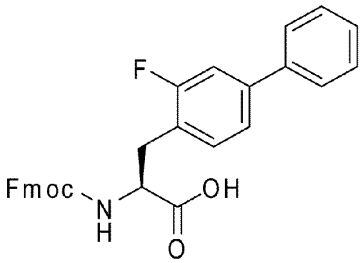
Seq ID No.	[M+XH]X+	aLISA BMP4 (0.2 nM) % inh	aLISA BMP7 (10nM) % inh	Synthesis	Peptide Conc. in Assay (nM)	
					BMP4 Assay	BMP7 Assay
397	2	ND	D	2	0.2, 2, 20	1, 10, 100
398	2	A	D	2	0.2, 2, 20	1, 10, 100
399	2	ND	C	2	0.2, 2, 20	1, 10, 100
400	2	ND	C	2	0.2, 2, 20	1, 10, 100
401	2	ND	C	2	0.2, 2, 20	1, 10, 100
402	2	ND	C	2	0.2, 2, 20	1, 10, 100
403	2	ND	C	2	0.2, 2, 20	1, 10, 100
404	2	ND	C	2	0.2, 2, 20	1, 10, 100
405	2	ND	D	2	0.2, 2, 20	1, 10, 100
406	2	ND	D	2	0.2, 2, 20	1, 10, 100
407	2	ND	C	2	0.2, 2, 20	1, 10, 100
408	2	ND	C	2	0.2, 2, 20	1, 10, 100
409	2	ND	D	2	0.2, 2, 20	1, 10, 100
410	2	ND	D	2	0.2, 2, 20	1, 10, 100
411	2	ND	D	2	0.2, 2, 20	1, 10, 100
412	2	ND	D	2	0.2, 2, 20	1, 10, 100
413	2	ND	D	2	0.2, 2, 20	1, 10, 100
414	2	ND	D	2	0.2, 2, 20	1, 10, 100
415	2	ND	D	2	0.2, 2, 20	1, 10, 100
416	2	ND	D	2	0.2, 2, 20	1, 10, 100
417	2	ND	C	2	0.2, 2, 20	1, 10, 100
418	2	ND	D	2	0.2, 2, 20	1, 10, 100
419	2	ND	D	2	0.2, 2, 20	1, 10, 100
420	2	ND	D	2	0.2, 2, 20	1, 10, 100
421	2	ND	D	2	0.2, 2, 20	1, 10, 100

実施例 17

[0184] （２Ｓ）－２－（｛［（９Ｈ－フルオレン－９－イル）メトキシ］カルボニル｝アミノ）－３－｛３－フルオロ－［１，１’－ビフェニル］－４－イル｝プロパン酸（ｐＢｐｈ３Ｆ）の合成

本実施例では、本発明において使用される以下の構造を有するアミノ酸を合成した。

[0185] [化10]



[0186] 窒素雰囲気下、１－ブロモ－２－フルオロ－４－ヨードベンゼン（１５．０ｇ、４９．９ｍｍｏｌ）とフェニルボロン酸のトルエン（２００ｍＬ）、水（２００ｍＬ）、エタノール（５０ｍＬ）の混合溶液に、炭酸ナトリウム（１０．６ｇ、５４．９ｍｍｏｌ）および［１，１’－ビス（ジフェニルホスフィノ）フェロセン］パラジウム（ＩＩ）ジクロリド　ジクロロメタン付加物（２．０４ｇ、５．５０ｍｍｏｌ）を加え、混合物を１１０℃にて１６時間撹拌した後、酢酸エチル（１００ｍＬ）で三度抽出した。合わせた有機抽出物を飽和食塩水（１００ｍＬ）で三度洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥、ろ過、ろ液を濃縮した。得られた残渣をシリカゲルクロマトグラフィー（酢酸エチル：石油エーテル＝１：２５）にて精製した。

窒素雰囲気下、亜鉛（６．２５ｇ、９５．６ｍｍｏｌ）のＤＭＦ（２００ｍＬ）懸濁液に、メチル（２Ｒ）－２－（｛［（９Ｈ－フルオレン－９－イル）メトキシ］カルボニル｝アミノ）－３－ヨードプロパネート（１７．３ｇ、３８．２ｍｍｏｌ）、ヨウ素（２．４４ｇ、９．６１ｍｍｏｌ）を加え、混合物を室温にて３０分間撹拌した。この反応液に前述で得られた生成物の一部（８．００ｇ、３１．９ｍｍｏｌ）、トリス（（１Ｅ，４Ｅ）－１，５－ジフェニルペンタ－１，４－ジエン－３－オン）ジパラジウム（０．７３０ｇ、０．７９７ｍｍｏｌ）、ジシクロヘキシル（｛2’，6’－ジメトキシ－［１，１’－ビフェニル］－２－イル｝）ホスファン（０．６４０ｇ、１．５６ｍｍｏｌ）を加え、混合物を５０℃にて約１６時間撹拌した。固体をろ別し、ろ液に水６００ｍＬを加えて反応を停止した後、酢酸エチル（２

００ｍＬ）で三度抽出した。合わせた有機抽出物を飽和食塩水（２００ｍＬ）で三度洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥、ろ過、ろ液を濃縮した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（酢酸エチル：石油エーテル＝１：３）にて精製した。

得られた生成物（１２ｇ、２４．４ｍｍｏｌ）の２－プロパノール（１２０ｍＬ）、水（４０ｍＬ）、ＴＨＦ（４０ｍＬ）の混合溶液に、塩化カルシウム（４３．０ｇ、３８７ｍｍｏｌ）を加え、混合物を０℃にて１０分間攪拌した。この反応液に水酸化リチウム一水和物（４．０６ｇ、９６．８ｍｍｏｌ）を加え、混合物を室温にて約１６時間撹拌した。クエン酸水溶液を用いて反応液をｐＨ７に調整した後、固体をろ別し、メタノール：ジクロロメタン＝１／１０（２００ｍＬ）で洗浄した。ろ液と洗浄液を合わせ、有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥、ろ過、ろ液を濃縮した。得られた残渣をジエチルエーテルで洗浄し、減圧乾燥し、表記化合物を得た。^{1}Ｈ　ＮＭＲ（５００ＭＨｚ，ＤＭＳＯ－d_6）　δ７．８８（ｄ，Ｊ＝７．５Ｈｚ，２Ｈ），７．６９－７．５３（ｍ，４Ｈ），７．４８－７．２１（ｍ，１１Ｈ），６．７６－６．１４（ｍ，１Ｈ），４．２５－３．８５（ｍ，４Ｈ），３．３１－３．１１（ｍ，１Ｈ），２．８８－２．６６（ｍ，１Ｈ）．ＬＣ－ＭＳ（ＥＳＩ，ｍ／ｚ）：［Ｍ－Ｈ］$^{-}$　４８０．

[0187]　本明細書中の表と配列表に、万が一齟齬があった場合には、表の記載が正しいと解釈する。

産業上の利用可能性

[0188]　この発明は，医薬産業や生物工学産業において利用されうる。

請求の範囲

[請求項1] 以下のアミノ酸配列：

Ｅ－Ｒ－Ｖ－Ｆ４ＣＯＯ－Ａｔｐ－Ｄ－Ｒ－Ｂｐｈ－Ｐ－Ｙ－Ｐ－Ｂｐｈ－Ｙ－Ｆ４ＣＯＯ－Ｆ４ＣＯＯ－Ｓ－Ｃ（配列番号１）

又は、上記のアミノ酸配列の１番目、２番目、４番目、５番目、６番目、７番目、８番目、９番目、１０番目、１１番目、１２番目、１３番目、１４番目、１５番目および１６番目のアミノ酸残基からなるグループから選択される、１－１５個のアミノ酸残基において、置換、付加、欠失又は挿入を有するアミノ酸配列を含む、ペプチド、又はその薬学的に許容される塩。

[請求項2] 以下のアミノ酸配列：

Ｘ１－Ｘ２－Ｘ３－Ｘ４－Ｘ５－Ｘ６－Ｘ７－Ｘ８－Ｘ９－Ｘ１０－Ｘ１１－Ｘ１２－Ｘ１３－Ｘ１４－Ｘ１５－Ｘ１６－Ｘ１７（配列番号２）で示されるアミノ酸配列を有するペプチド、又はその薬学的に許容される塩、もしくは配列番号２で示されるアミノ酸配列から１～１０個のアミノ酸配列が置換、欠失、付加又は挿入したアミノ酸配列を有するペプチド、又はその薬学的に許容される塩であって、

Ｘ１は、Ｅ、Ａ、Ｔ、Ｑ又はＬであり；

Ｘ２は、Ｒ、Ｋ、Ｈｇｌ、任意の極性アミノ酸又は任意の脂肪族アミノ酸であり、

Ｘ３は、Ｖであり；

Ｘ４は、複素環であってもよい芳香族環を側鎖に有するアミノ酸であり；

Ｘ５は、任意の脂肪族アミノ酸、Ｙ、Ｄ、Ａｔｐ、Ｃｈａ４ｔＨ、Ｇｔｈｐ、又はＡ１Ａｃ４ｐｉｐであり；

Ｘ６は、Ｄ、任意の塩基性アミノ酸又は任意の極性アミノ酸であり；

Ｘ７は、任意の塩基性アミノ酸又は任意の極性アミノ酸であり；

Ｘ８は、置換基を有していてもよく、芳香環上のＣがＮに置換されていてもよいビフェニルアラニンであり；

Ｘ９は、任意のアミノ酸であり、

Ｘ１０は、Ｙ、Ｈｔｙ又は４Ｐｙであり；

Ｘ１１は、任意のアミノ酸であり、

Ｘ１２は、置換基を有していてもよく、芳香環上のＣがＮに置換されていてもよいビフェニルアラニンであり；

Ｘ１３は、非置換の若しくは置換されたＦ、４Ｐｙ又は３Ｐｙ６ＮＨ２であり；

Ｘ１４は、Ｆ４ＣＯＯ、Ｄ又はＧであり；

Ｘ１５は、Ｆ４ＣＯＯ、Ｙ、４Ｐｙ、３Ｐｙ６ＮＨ２、Ｗ７Ｎ、Ｈｐｈ又はＮであり；

Ｘ１６は、任意のアミノ酸であり；

Ｘ１７は、Ｃである

ペプチド、又はその薬学的に許容される塩。

[請求項3] 請求項３に記載のペプチド、又はその薬学的に許容される塩であって、

Ｘ１は、Ｅであり；

Ｘ２は、Ｒ又は任意の極性アミノ酸であり、

Ｘ３は、Ｖであり；

Ｘ４は、非置換の若しくは置換されたＹ又はＦ４ＣＯＯであり；

Ｘ５は、Ｖ又はＡｔｐであり；

Ｘ６は、Ｄ又はＫＣＯｐｉｐｚａａであり；

Ｘ７は、Ｒであり；

Ｘ８は、Ｂｐｈであり；

Ｘ９は、Ｐ又はＳであり；

Ｘ１０は、Ｙ又はＨｔｙであり；

Ｘ１１は、任意の脂肪族アミノ酸であり；

Ｘ１２は、非置換の若しくは置換されたＢｐｈであり；

Ｘ１３は、非置換の若しくは置換されたＦであり；

Ｘ１４は、Ｆ４ＣＯＯであり；

Ｘ１５は、Ｆ４ＣＯＯ又は４Ｐｙであり；

Ｘ１６は、任意のアミノ酸であり；

Ｘ１７は、Ｃである

ペプチド、又はその薬学的に許容される塩。

［請求項4］ 請求項２に記載のペプチド、又はその薬学的に許容される塩であって、

Ｘ１は、Ｅ、Ａ、Ｔ、Ｑ又はＬであり；

Ｘ２は、Ｒ又はＫＣＯｐｉｐｚａａであり；

Ｘ３は、Ｖであり；

Ｘ４は、Ｙ、Ｆ４Ｆ、Ｆ４ＣＯＯ、４Ｐｙ、Ｈ、又はＦ４ａａＯであり；

Ｘ５は、任意の脂肪族アミノ酸、Ａｔｐ、Ｃｈａ４ｔＨ、Ｇｔｈｐ、又はＡ１Ａｃ４ｐｉｐであり；

Ｘ６は、Ｄ、Ｓ又はＫＣＯｐｉｐｚａａであり；

Ｘ７は、Ｒ又はＫであり；

Ｘ８は、３Ｐｙ６Ｐｈ、Ｂｐｈ、Ｂｐｈ４Ｃ、ｐＢｐｈ２Ｆ又はＢｐｈ３Ｃであり；

Ｘ９は、Ｓ、Ｐ、ＫＣＯｐｉｐｚａａ又はＨであり；

Ｘ１０は、Ｙ又はＨｔｙであり；

Ｘ１１は、任意の脂肪族アミノ酸又はＨｙｐであり；

Ｘ１２は、置換基を有していてもよいビフェニルアラニンであり；

Ｘ１３は、非置換の若しくは置換されたＦ又は４Ｐｙであり；

Ｘ１４は、Ｆ４ＣＯＯであり；

Ｘ１５は、Ｆ４ＣＯＯ又は４Ｐｙであり；

Ｘ１６は、Ｓであり；

Ｘ１７は、Ｃである

ペプチド、又はその薬学的に許容される塩。

［請求項5］ 請求項２に記載のペプチド、又はその薬学的に許容される塩であって、

以下のアミノ酸配列：Ｘ１－Ｘ２－Ｘ３－Ｘ４－Ｘ５－Ｘ６－Ｘ７－Ｘ８－Ｘ９－Ｘ１０－Ｘ１１－Ｘ１２－Ｘ１３－Ｘ１４－Ｘ１５－Ｘ１６－Ｃ（配列番号４）で示されるアミノ酸配列を有するペプチド又は配列番号４で示されるアミノ酸配列から１～１０個のアミノ酸配列が置換、欠失、付加又は挿入したアミノ酸配列を有するペプチドであり、

Ｘ１は、Ａであり；

Ｘ２は、Ｒ、ＫＡｃ、Ｑ又はＫＣＯｐｉｐｚａａであり；

Ｘ３は、Ｖであり；

Ｘ４は、Ｙ、Ｆ４Ｆ又は４Ｐｙであり；

Ｘ５は、Ｖであり；

Ｘ６は、Ｄ、ＫＣＯｐｉｐｚａａ、Ｋ、Ｒ、Ｇ又はＨであり；

Ｘ７は、Ｒ、Ｋ、ＫＡｃ、４Ｐｙ、Ｓ又はＣｉｔであり；

Ｘ８は、３Ｐｙ６Ｐｈ又はＢｐｈであり；

Ｘ９は、Ｐ、Ｓ、Ｋ、Ｈ、Ｇ、Ｓ又はＫＣＯｐｉｐｚａａであり；

Ｘ１０は、Ｙであり；

Ｘ１１は、任意の脂肪族アミノ酸であり；

Ｘ１２は、Ｂｐｈ又は３Ｐｙ６Ｐｈであり；

Ｘ１３は、Ｙ又はＦ４Ｆであり；

Ｘ１４は、Ｆ４ＣＯＯであり；

Ｘ１５は、Ｆ４ＣＯＯ又は４Ｐｙであり；

Ｘ１６は、Ｓである

ペプチド、又はその薬学的に許容される塩。

[請求項6] ＢＭＰ４への結合能を有する、請求項１－５のいずれか１項に記載のペプチド、又はその薬学的に許容される塩。

[請求項7] ＢＭＰ４の阻害活性を有する、請求項１－５のいずれか１項に記載のペプチド、又はその薬学的に許容される塩。

[請求項8] 請求項１－７のいずれか１項に記載のペプチドであって、配列番号５－１８７、及び配列番号２４３－４２１のいずれか１つに記載のアミノ酸配列からなるペプチド、又はその薬学的に許容される塩であるか、

配列番号５－１８７、及び配列番号２４３－４２１のいずれか１つに記載のアミノ酸配列から１～１０個のアミノ酸配列が置換、欠失、付加又は挿入したアミノ酸配列を有し、ＢＭＰ４への結合能又はＢＭＰ４の阻害活性を有するペプチド、又はその薬学的に許容される塩。

[請求項9] 以下のアミノ酸配列：

Ｆ－Ｇ－ＭｅＦ－Ｇ－Ｂｐｈ－Ｇ－Ｄ－Ｄ－Ｃｈａ－Ａ－ＭｅＦ－Ｌ－Ｈ－Ｃ(配列番号２４１)

又は、上記のアミノ酸配列の１番目、３番目、４番目、５番目、６番目、７番目、８番目、９番目、１０番目、１１番目、１２番目および１３番目のアミノ酸残基からなるグループから選択される、１～１２個のアミノ酸残基において、置換、付加、欠失または挿入を有するアミノ酸配列を含むペプチド、又はその薬学的に許容される塩。

[請求項10] 以下のアミノ酸配列：

Ｘ１－Ｘ２－Ｘ３－Ｘ４－Ｘ５－Ｘ６－Ｘ７－Ｘ８－Ｘ９－Ｘ１０－Ｘ１１－Ｘ１２－Ｘ１３－Ｘ１４（配列番号２４２）で示されるアミノ酸配列を有するペプチド又は配列番号２４５で示されるアミノ酸配列から１～１２個のアミノ酸配列が置換、欠失、付加又は挿入したアミノ酸配列を有するペプチド、又はその薬学的に許容される塩であって、

Ｘ１は、置換基を有していてもよく、芳香環上のＣがＮに置換されていてもよいフェニルアラニンであり；

Ｘ２は、Ｇであり；

Ｘ３は、置換基を有していてもよいＮ－メチルフェニルアラニンであり；

Ｘ４は、Ｇ、Ｄ体であってもよい脂肪族アミノ酸又は極性アミノ酸であり；

Ｘ５は、芳香環上のＣがＮに置換されていてもよいビフェニルアラニン、又は置換基を有していてもよいフェニルアラニンであり；

Ｘ６は、Ｇ、又はＤ体であってもよいＡであり；

Ｘ７は、任意の極性アミノ酸であり；

Ｘ８は、任意の酸性アミノ酸であり；

Ｘ９は、任意の脂肪族アミノ酸であり；

Ｘ１０は、任意のアミノ酸であり；

Ｘ１１は、置換基を有していてもよいＮ－メチルフェニルアラニンであり；

Ｘ１２は、任意の脂肪族アミノ酸であり；

Ｘ１３は、任意のアミノ酸であり；

Ｘ１４は、Ｃである

ペプチド、又はその薬学的に許容される塩。

[請求項11] ＢＭＰ７の阻害活性を有する、請求項９又は１０に記載のペプチド、又はその薬学的に許容される塩。

[請求項12] 請求項９又は１０に記載のペプチド、又はその薬学的に許容される塩であって、配列番号２４３－４２１のいずれか１つに記載のアミノ酸配列からなるペプチドであるか、

配列番号２４３－４２１のいずれか１つに記載のアミノ酸配列から１～１０個のアミノ酸配列が置換、欠失、付加又は挿入したアミノ酸配列を有し、ＢＭＰ７の阻害活性を有するペプチド、又はその薬学的

に許容される塩。

[請求項13] 環状ペプチドである、請求項１－１２のいずれか１項に記載のペプチド、又はその薬学的に許容される塩。

[請求項14] クロロアセチル化したアミノ酸と、前記ペプチドに含まれるシステイン残基とが結合された環状構造を有する、請求項１３に記載のペプチド、又はその薬学的に許容される塩。

[請求項15] 付加的なアミノ酸残基配列をさらに含むペプチド、又はその薬学的に許容される塩である、請求項１－１４のいずれか１項に記載のペプチド、又はその薬学的に許容される塩。

[請求項16] 請求項１－１５のいずれか１項に記載のペプチド、又はその薬学的に許容される塩を含むＢＭＰ４及び／又はＢＭＰ７シグナル伝達阻害剤。

[請求項17] 請求項１－１５のいずれか１項に記載のペプチド、又はその薬学的に許容される塩を含む、ヒト幹細胞分化誘導制御剤。

[請求項18] ヒト幹細胞培養用の培地添加物であって、請求項１－１５のいずれか１項に記載のペプチド、又はその薬学的に許容される塩、請求項１６に記載のＢＭＰ４及び／又はＢＭＰ７シグナル伝達阻害剤、および請求項１７に記載のヒト幹細胞分化誘導制御剤のうちいずれか１種又は２種以上を含む、培地添加物。

[請求項19] 請求項１－１５のいずれか１項に記載のペプチド、又はその薬学的に許容される塩を用いて、ＢＭＰ４及び／又はＢＭＰ７のシグナル伝達活性を阻害する方法。

[請求項20] 請求項１－１５のいずれか１項に記載のペプチド、又はその薬学的に許容される塩を用いて、ヒト幹細胞の分化誘導を制御する方法。