

明 細 書

発明の名称：

ペプチド、ペプチド複合体、医薬組成物、細胞培養用組成物、及び医療用、診断用又は研究用に用いられる組成物

技術分野

[0001] 本発明は、ペプチド、ペプチド複合体、医薬組成物、細胞培養用組成物、及び医療用、診断用又は研究用に用いられる組成物に関する。

本願は、2023年11月10日に、日本に出願された特願2023-192587号に基づき優先権を主張し、その内容をここに援用する。

背景技術

[0002] Wntは、分子量が約4万の分泌性糖タンパク質で、初期発生や形態形成、また、出生後の増殖、分化、細胞運動、極性などを制御する。Wntは、ヒト及びマウスにおいて19種類が同定されており、Wntファミリーの一種であるWnt3aは、7回膜貫通型のFrizzled受容体及び共受容体である1回膜貫通型のLRP5又はLRP6に結合して、Wntシグナル伝達経路を活性化する。この経路を慢性的に活性化すると、細胞増殖及び生存が制御されない結果、細胞増殖性疾患、例えば癌疾患を引き起こし、あるいはこの経路を著しく阻害すると、骨量の減少及び他の骨疾患をもたらす。よって、上記癌疾患や骨疾患の治療のため、Wntシグナル伝達経路を標的にした薬剤や抗体が多く報告されている（特許文献1～9、非特許文献1～2）。

一方で、Wntシグナル伝達経路の活性化は、初期発生や正常な組織幹細胞の維持、増殖、分化に重要な役割を果たしており、特にWnt3aは、小腸、大腸、胃、すい臓、肺などの様々なオルガノイドの作成に使用されている。

先行技術文献

特許文献

[0003] 特許文献1：特表2022-544308号公報

特許文献2：特表2022-544307号公報

特許文献3：特表2022-551380号公報

特許文献4：特開2022-137092号公報

特許文献5：特開2020-178701号公報

特許文献6：特開2020-063262号公報

特許文献7：特表2013-530929号公報

特許文献8：特許第6093692号公報

特許文献9：特開2009-142274号公報

非特許文献

[0004] 非特許文献1：松本真司，外1名、「Wntシグナルの研究を基盤とした新規の抗がん剤の開発」、領域融合レビュー、2018年12月27日、第7巻、e009

非特許文献2：Neiheisel, A.、外4名、“Wnt pathway modulators in cancer therapeutics: An update on completed and ongoing clinical trials”、International Journal of Cancer、2022年3月、第150巻、第5号、p. 727-740

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0005] Wnt3aは、脂溶性タンパク質であるため、培地中での溶解性が低く、不安定であることが課題となっていた。しかし、化学合成可能なWnt3代替ペプチドはまだ提供されていない。

[0006] 本発明は、Wntシグナル伝達経路を活性化するペプチド複合体を提供することを課題とする。

課題を解決するための手段

[0007] 本発明者らは、上記課題を解決すべく鋭意検討を重ねた結果、特定のペプチドを含むペプチド複合体がWntシグナル経路を活性化することを知得し、本発明を完成させた。

すなわち、本発明は以下の態様を含む。

[0008] [1] 式A1で示されるアミノ酸配列、又は式A1で示されるアミノ酸配列において1若しくは複数個のアミノ酸残基が、置換、欠失、付加又は挿入されたアミノ酸配列、を含むペプチド。

A1: X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13-X14

但し、

X1は、任意のD-アミノ酸残基であり、

X2及びX3は、それぞれ独立に、任意のアミノ酸残基であり、

X4及びX5は、それぞれ独立に、置換されていてもよい脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

X6は、置換されていてもよいアリール基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

X7は、置換されていてもよいアリール基又は置換されていてもよいシクロアルキル基を側鎖に有するN-アルキルアミノ酸残基であり、

X8は、任意のアミノ酸残基であり、

X9は、L-スレオニン（T）残基であり、

X10は、任意のN-アルキル化アミノ酸残基であり、

X11は、任意のアミノ酸残基であり、

X12は、脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

X13は、置換されていてもよい脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

X14は、L-システイン（C）残基であり、

式A1において、アミノ酸配列はN末端側からC末端側に記述されている

。

[2] 式A1において、

X1が、D-フェニルアラニン(df)残基、(R)-2-アミノ-3-(ピリジン-4-イル)プロパン酸(d4py)残基、(R)-2-アミノ-3-(ピリジン-3-イル)プロパン酸(d3py)残基、(R)-2-アミノ-3-(3-メトキシフェニル)プロパン酸(df3OMe)残基、(R)-2-アミノ-3-(4-メトキシフェニル)プロパン酸(df4OMe)残基、(R)-2-アミノ-5-ウレイドペンタン酸(dcit)残基、D-チロシン(dy)残基又は(R)-2-アミノ-3-(4-フルオロフェニル)プロパン酸(df4F)残基であり、

X2が、L-セリン(S)残基、L-アスパラギン(N)残基、L-アスパラギン酸(D)残基、L-2-アミノアジピン酸(Hgl)残基、L-シトルリン(Cit)残基又は(S)-2-アミノ-6-モルフォリノヘキサン酸(Kmor)残基であり、

X3が、L-アスパラギン酸(D)残基、L-アルギニン(R)残基、L-シトルリン(Cit)残基、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(KCOpipzaa)残基、(2S)-2-アミノ-3-(オキサン-4-イル)プロパン酸(Atp)残基、L-アスパラギン(N)残基又はL-セリン(S)残基であり、

X4が、L-イソロイシン(l)残基又はO-メチル-L-スレオニン(TMe)残基であり、

X5が、L-アルギニン(R)残基、L-グルタミン酸(E)残基、(S)-2-アミノヘプタン酸(Ahp)残基、L-セリン(S)残基、L-ホモセリン(Hse)残基、L-シトルリン(Cit)残基、N6-カルバモイル-L-リシン(Hcit)残基、(S)-2-アミノ-4-ウレイドブタン酸(Ncit)残基又は(S)-5-アセトアミド-2-アミノペンタン酸(OrnAc)残基であり、

X6が、L-チロシン(Y)残基、メチル-L-チロシン(MeY)残基、(S)-2-アミノ-3-(4-フルオロフェニル)プロパン酸(F4F

) 残基、(S)-2-アミノ-3-(4-クロロフェニル)プロパン酸(F4C)残基、(S)-2-アミノ-3-(ピリジン-4-イル)プロパン酸(4Py)残基又は(S)-3-(2-アミノ-2-カルボキシエチル)安息香酸(F3COO)残基であり、

X7が、メチル-L-フェニルアラニン(MeF)残基、(S)-2-(メチルアミノ)-3-(ピリジン-3-イル)プロパン酸(Me3Py)残基、(S)-2-(メチルアミノ)-3-(ピリジン-4-イル)プロパン酸(Me4Py)残基、(S)-3-(2-カルボキシ-2-(メチルアミノ)エチル)安息香酸(MeF3COO)残基、(S)-4-(2-カルボキシ-2-(メチルアミノ)エチル)安息香酸(MeF4COO)残基又は(S)-2-(メチルアミノ)-3-(テトラヒドロ-2H-ピラン-4-イル)プロパン酸(MeAtP)残基であり、

X8が、L-グルタミン(Q)残基、L-バリン(V)残基、L-2-アミノアジピン酸(HgI)残基、1-(カルボキシメチル)-L-トリプトファン(W1aa)残基、(S)-2-アミノヘプタン酸(Ahp)残基、ホモ-L-チロシン(Hty)残基、L-スレオニン(T)残基、アロースレオニン(aIT)残基、L-シトルリン(Cit)残基、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(KCOpipzaa)残基、(S)-2-アミノ-2-(テトラヒドロ-2H-ピラン-4-イル)酢酸(Gthp)残基、(S)-2-アミノ-2-(1-(カルボキシメチル)ピペリジン-4-イル)酢酸(G4pipaa)残基、(S)-2-アミノ-2-シクロブチル酢酸(Cbg)残基、(S)-2-アミノ-2-シクロヘキシル酢酸(Chg)残基又はO-メチルスレオニン(TMe)残基であり、

X10が、メチル-L-フェニルアラニン(MeF)残基、(S)-2-(メチルアミノ)ヘキサン酸(MeNie)残基、(S)-2-(メチルアミノ)-3-(ピリジン-3-イル)プロパン酸(Me3Py)残基、(S)-2-(メチルアミノ)-3-(ピリジン-4-イル)プロパン酸(Me

4 P y) 残基、(S) - 4 - (2 - カルボキシ - 2 - (メチルアミノ) エチル) 安息香酸 (M e F 4 C O O) 残基又は (S) - 2 - (メチルアミノ) - 3 - (テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 4 - イル) プロパン酸 (M e A t p) 残基であり、

X 1 1 が、L - イソロイシン (I) 残基、L - チロシン (Y) 残基、(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 (F 4 a a o) 残基又は O - メチル - L - スレオニン (T M e) 残基であり、

X 1 2 が、L - バリン (V) 残基、メチル - L - バリン (M e V) 残基又は N - メチル - L - シクロヘキシルグリシン (M e C h g) 残基であり、

X 1 3 が、グリシン (G) 残基、D - アラニン (d a) 残基又は D - セリン (d s) 残基である、

[1] に記載のペプチド。

[3] 式 A 2 で示されるアミノ酸配列、又は式 A 2 で示されるアミノ酸配列において 1 番目、2 番目、3 番目、4 番目、5 番目、6 番目、7 番目、8 番目、10 番目、11 番目、12 番目及び 13 番目のアミノ酸残基からなる群から選択される 1 ~ 12 個のアミノ酸残基において少なくとも 1 個のアミノ酸残基が、置換、欠失、付加又は挿入されたアミノ酸配列、を含むペプチド。

A 2 : d f - S - D - I - R - Y - M e F - Q - T - M e F - I - V - G - C (配列番号 164)

但し、

d f は、D - フェニルアラニン残基であり、

S は、L - セリン残基であり、

D は、L - アスパラギン酸残基であり、

I は、L - イソロイシン残基であり、

R は、L - アルギニン残基であり、

Y は、L - チロシン残基であり、

Me F は、メチル-L-フェニルアラニン残基であり、

Q は、L-グルタミン残基であり、

T は、L-スレオニン残基であり、

V は、L-バリン残基であり、

G は、グリシン残基であり、

C は、L-システイン残基である。

[4] C末端にさらにグリシン残基を有する、[1]～[3]のいずれか1つに記載のペプチド。

[5] 環状ペプチドである、[1]～[3]のいずれか1つに記載のペプチド。

[6] 環状ペプチドである、[4]に記載のペプチド。

[7] クロロアセチル化したアミノ酸に由来するアミノ酸残基と、前記ペプチドに含まれるL-システイン残基とが結合された環状構造を有する、[1]～[6]のいずれか1つに記載のペプチド。

[8] さらに、付加的なアミノ酸残基を含む、[1]～[7]のいずれか1つに記載のペプチド。

[9] Fz d 受容体に結合性を有する、[1]～[8]のいずれか1つに記載のペプチド。

[10] Fz d 受容体2、Fz d 受容体7及びFz d 受容体8からなる群から選択される少なくとも1つへの結合能を有する、[9]に記載のペプチド。

[11] 式A3で示されるアミノ酸配列からなる、[1]～[3]のいずれか1つに記載のペプチド。

A3 : C l A c - X 1 - X 2 - X 3 - X 4 - X 5 - X 6 - X 7 - X 8 - X 9
- X 1 0 - X 1 1 - X 1 2 - X 1 3 - X 1 4

但し、C l A c はクロロアセチル基であり、X 1、X 2、X 3、X 4、X 5、X 6、X 7、X 8、X 9、X 1 0、X 1 1、X 1 2、X 1 3、及びX 1 4 は表1に示すアミノ酸残基であり、表1において、

d f は、D-フェニルアラニン残基であり、

d 4 p y は、(R)-2-アミノ-3-(ピリジン-4-イル)プロパン酸残基であり、

d 3 p y は、(R)-2-アミノ-3-(ピリジン-3-イル)プロパン酸残基であり、

d f 3 OMe は、(R)-2-アミノ-3-(3-メトキシフェニル)プロパン酸残基であり、

d f 4 OMe は、(R)-2-アミノ-3-(4-メトキシフェニル)プロパン酸残基であり、

d c i t は、(R)-2-アミノ-5-ウレイドペンタン酸残基であり、

d y は、D-チロシン残基であり、

d f 4 F は、(R)-2-アミノ-3-(4-フルオロフェニル)プロパン酸残基であり、

S は、L-セリン残基であり、

N は、L-アスパラギン残基であり、

D は、L-アスパラギン酸残基であり、

H g l は、L-2-アミノアジピン酸残基であり、

C i t は、L-シトルリン残基であり、

K m o r は、(S)-2-アミノ-6-モルフォリノヘキサン酸残基であり、

R は、L-アルギニン残基であり、

K C O p i p z a a は、N6-(4-(カルボキシメチル)ピペラジーン-1-カルボニル)-L-リシン残基であり、

A t p は、(2S)-2-アミノ-3-(オキサソ-4-イル)プロパン酸残基であり、

I は、L-イソロイシン残基であり、

T M e は、O-メチル-L-スレオニン残基であり、

E は、L-グルタミン酸残基であり、

A h p は、(S) - 2 - アミノヘプタン酸残基であり、
H s e は、L - ホモセリン残基であり、
H c i t は、N 6 - カルバモイル - L - リシン残基であり、
N c i t は、(S) - 2 - アミノ - 4 - ウレイドブタン酸残基であり、
O r n A c は、(S) - 5 - アセトアミド - 2 - アミノペンタン酸残基であり、
Y は、L - チロシン残基であり、
M e Y は、メチル - L - チロシン残基であり、
F 4 F は、(S) - 2 - アミノ - 3 - (4 - フルオロフェニル) プロパン酸残基であり、
F 4 C は、(S) - 2 - アミノ - 3 - (4 - クロロフェニル) プロパン酸残基であり、
4 P y は、(S) - 2 - アミノ - 3 - (ピリジン - 4 - イル) プロパン酸残基であり、
F 3 C O O は、(S) - 3 - (2 - アミノ - 2 - カルボキシエチル) 安息香酸残基であり、
M e F は、メチル - L - フェニルアラニン残基であり、
M e 3 P y は、(S) - 2 - (メチルアミノ) - 3 - (ピリジン - 3 - イル) プロパン酸残基であり、
M e 4 P y は、(S) - 2 - (メチルアミノ) - 3 - (ピリジン - 4 - イル) プロパン酸残基であり、
M e F 3 C O O は、(S) - 3 - (2 - カルボキシ - 2 - (メチルアミノ) エチル) 安息香酸残基であり、
M e F 4 C O O は、(S) - 4 - (2 - カルボキシ - 2 - (メチルアミノ) エチル) 安息香酸残基であり、
M e A t p は、(S) - 2 - (メチルアミノ) - 3 - (テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 4 - イル) プロパン酸残基であり、
Q は、L - グルタミン残基であり、

Vは、L-バリン残基であり、

W1 a aは、1-(カルボキシメチル)-L-トリプトファン残基であり

、

H t yは、ホモ-L-チロシン残基であり、

Tは、L-スレオニン残基であり、

a l Tは、アロースレオニン残基であり、

G t h pは、(S)-2-アミノ-2-(テトラヒドロ-2H-ピラン-4-イル)酢酸残基であり、

G 4 p i p a aは、(S)-2-アミノ-2-(1-(カルボキシメチル)ピペリジン-4-イル)酢酸残基であり、

C b gは、(S)-2-アミノ-2-シクロブチル酢酸残基であり、

C h gは、(S)-2-アミノ-2-シクロヘキシル酢酸残基であり、

M e N l eは、(S)-2-(メチルアミノ)ヘキサン酸残基であり、

F 4 a a oは、(S)-2-アミノ-3-(4-(カルボキシメトキシ)フェニル)プロパン酸残基であり、

M e Vは、メチル-L-バリン残基であり、

M e C h gは、N-メチル-L-シクロヘキシルグリシン残基であり、

Gは、グリシン残基であり、

Cは、L-システイン残基である。

[12] 式B1で示されるアミノ酸配列、又は式B1で示されるアミノ酸配列において1若しくは複数個のアミノ酸残基が、置換、欠失、付加又は挿入されたアミノ酸配列、を含むペプチド。

B1 : Y1-Y2-Y3-Y4-Y5-Y6-Y7-Y8-Y9-Y10-Y11-Y12-Y13-Y14

但し、

Y1は、置換されていてもよいL-フェニルアラニン(F)残基であり、

Y2は、置換されていてもよいL-アルギニン(R)残基であり、

Y3は、置換されていてもよいL-トリプトファン(W)残基又は置換さ

れていてもよい (S) - 2 - アミノ - 3 - (ナフタレン - 1 - イル) プロパン酸 (N a l 1) 残基であり、

Y 4 は、酸性アミノ酸残基又は中性アミノ酸残基であり、

Y 5 は、置換されていてもよい芳香族アミノ酸残基、脂肪族アミノ酸残基又は L - プロリン (P) 残基であり、

Y 6 は、置換されていてもよい脂肪族アミノ酸残基であり、

Y 7 は、N - アルキル化芳香族アミノ酸残基であり、

Y 8 は、側鎖にヒドロキシ基、カルボキシ基、又はアミド基を有するアミノ酸に由来するアミノ酸残基であり、

Y 9 は、任意のアミノ酸残基であり、

Y 1 0 は、置換されていてもよい L - トリプトファン (W) 残基であり、

Y 1 1 は、置換されていてもよい L - アスパラギン (N) 残基、又は L - グルタミン (Q) 残基であり、

Y 1 2 は、置換されていてもよい (S) - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロイソキノリン - 3 - カルボン酸 (T i c) 残基であり、

Y 1 3 は、置換されていてもよい中性アミノ酸残基又は酸性アミノ酸残基であり、

Y 1 4 は、L - システイン (C) 残基であり、

式 B 1 において、アミノ酸配列は N 末端側から C 末端側に記述されている。

[1 3] 式 B 1 において、

Y 1 が、L - フェニルアラニン (F) 残基、(S) - 2 - アミノ - 3 - (4 - フルオロフェニル) プロパン酸 (F 4 F) 残基、(S) - 2 - アミノ - 3 - (p - トルイル) プロパン酸 (F 4 M e) 残基又は (S) - 2 - アミノ - 3 - (m - トルイル) プロパン酸 (F 3 M e) 残基であり、

Y 2 が、L - アルギニン (R) 残基又は N 6 - カルバモイル - L - リシン (H c i t) 残基であり、

Y 3 が、L - トリプトファン (W) 残基、メチル - L - トリプトファン (

MeW) 残基、(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(W7N) 残基、(S)-2-アミノ-3-(1H-ピロロ[3,2-c]ピリジン-3-イル)プロパン酸(W5N) 残基、(S)-2-アミノ-3-(1-メチル-1H-ピロロ[2,3-b]ピリジン-3-イル)プロパン酸(W1Me7N) 残基、(S)-2-アミノ-3-(5-メチル-1H-ピロロ[2,3-b]ピリジン-3-イル)プロパン酸(W7N5Me) 残基、(S)-2-アミノ-3-(ナフタレン-1-イル)プロパン酸(Na11) 残基又は(S)-2-アミノ-3-(キノリン-4-イル)プロパン酸(Na114N) 残基であり、

Y4が、L-アスパラギン酸(D) 残基、L-グルタミン酸(E) 残基、L-アスパラギン(N) 残基又はL-グルタミン(Q) 残基であり、

Y5が、L-バリン(V) 残基、メチル-L-バリン(MeV) 残基、1-(カルボキシメチル)-L-トリプトファン(W1aa) 残基、(S)-2-アミノ-3-シクロヘキシルプロパン酸(Cha) 残基、(S)-2-アミノ-3-(ナフタレン-1-イル)プロパン酸(Na11) 残基、(S)-2-アミノ-3-(5-フェニルピリジン-3-イル)プロパン酸(3Py5Ph) 残基、(S)-2-アミノ-2-シクロブチル酢酸(Cbg) 残基又はL-プロリン(P) 残基であり、

Y6が、L-アルギニン(R) 残基、メチル-L-アルギニン(MeR) 残基、(S)-2-アミノ-6-モルフォリノヘキサン酸(Kmor) 残基、L-シトルリン(Cit) 残基、N6-カルバモイル-L-リシン(Hcit) 残基、(S)-2-アミノ-4-ウレイドブタン酸(Ncit) 残基又は(S)-5-アセトアミド-2-アミノペンタン酸(OrnAc) 残基であり、

Y7が、メチル-L-フェニルアラニン(MeF) 残基、(S)-4-(2-カルボキシ-2-(メチルアミノ)エチル)安息香酸(MeF4COO) 残基、メチル-L-チロシン(MeY) 残基、(S)-2-(メチルアミノ)-3-(p-トルイル)プロパン酸(MeF4Me) 残基、(S)-3

－（４－クロロフェニル）－２－（メチルアミノ）プロパン酸（MeF4C）残基、（S）－３－（２－カルボキシ－２－（メチルアミノ）エチル）安息香酸（MeF3COO）残基、（S）－２－（メチルアミノ）－３－（メトイル）プロパン酸（MeF3Me）残基又は（S）－３－（３－クロロフェニル）－２－（メチルアミノ）プロパン酸（MeF3C）残基であり、

Y8が、L－セリン（S）残基、１－（カルボキシメチル）－L－トリプトファン（W1aa）残基、ホモ－L－チロシン（Hty）残基、アロースレオニン（alT）残基、L－スレオニン（T）残基、L－アスパラギン（N）残基、L－グルタミン（Q）残基、L－アスパラギン酸（D）残基又はL－グルタミン酸（E）残基であり、

Y9が、L－アスパラギン（N）残基、メチル－L－アスパラギン（MeN）残基、L－２－アミノアジピン酸（Hgl）残基、（S）－２－アミノ－３－シクロヘキシルプロパン酸（Cha）残基、ホモ－L－チロシン（Hty）残基、（S）－２－アミノ－４－（１H－ピロロ〔２，３－b〕ピリジン－３－イル）ブタン酸（Hw7N）残基、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（KCOpipzaa）残基、L－グルタミン（Q）残基、L－アスパラギン酸（D）残基又はL－グルタミン酸（E）残基であり、

Y10が、L－トリプトファン（W）残基、（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（W7N）残基、（S）－２－アミノ－３－（１H－ピロロ〔２，３－c〕ピリジン－３－イル）プロパン酸（W6N）残基、（S）－２－アミノ－３－（１－メチル－１H－ピロロ〔２，３－b〕ピリジン－３－イル）プロパン酸（W1Me7N）残基又は（S）－２－アミノ－３－（５－メチル－１H－ピロロ〔２，３－b〕ピリジン－３－イル）プロパン酸（W7N5Me）残基であり、

Y11が、L－アスパラギン（N）残基、L－グルタミン（Q）残基又は

(2S) - 2 - アミノ - 4 - (メチルアミノ) - 4 - オキシブタン酸 (Nm m) 残基であり、

Y12が、(S) - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロイソキノリン - 3 - カルボン酸 (Tic) 残基、(S) - 6 - クロロ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロイソキノリン - 3 - カルボン酸 (Tic6C) 残基、(S) - 7 - ヒドロキシ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロイソキノリン - 3 - カルボン酸 (Tic7H) 残基又は (S) - 7 - クロロ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロイソキノリン - 3 - カルボン酸 (Tic7C) 残基であり、

Y13が、L - アスパラギン (N) 残基、L - アスパラギン酸 (D) 残基、L - グルタミン (Q) 残基、(2S) - 2 - アミノ - 4 - (メチルアミノ) - 4 - オキシブタン酸 (Nm m) 残基又は N4, N4 - ジメチル - L - アスパラギン (Nd m) 残基である、

[12] に記載のペプチド。

[14] 式B2で示されるアミノ酸配列、又は式B2で示されるアミノ酸配列において1番目、2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番目及び13番目のアミノ酸残基からなる群から選択される1～13個のアミノ酸残基において少なくとも1個のアミノ酸残基が、置換、付加、欠失又は挿入されたアミノ酸配列を含む、ペプチド。

B2 : F - R - W - D - V - R - MeF - S - N - W - N - Tic - N - C
(配列番号165)

但し、

Fは、L - フェニルアラニン残基であり、

Rは、L - アルギニン残基であり、

Wは、L - トリプトファン残基であり、

Dは、L - アスパラギン酸残基であり、

Vは、L - バリン残基であり、

MeFは、メチル - L - フェニルアラニン残基であり、

Sは、L-セリン残基であり、

T i cは、(S)-1, 2, 3, 4-テトラヒドロイソキノリン-3-カルボン酸残基であり、

Nは、L-アスパラギン残基であり、

Cは、L-システイン残基である。

[15] C末端にさらにグリシン残基を有する、[12]～[14]のいずれか1つに記載のペプチド。

[16] 環状ペプチドである、[12]～[14]のいずれか1つに記載のペプチド。

[17] 環状ペプチドである、[15]に記載のペプチド。

[18] クロロアセチル化したアミノ酸に由来するアミノ酸残基と、前記ペプチドに含まれるL-システイン残基とが結合された環状構造を有する、[12]～[17]のいずれか1つに記載のペプチド。

[19] さらに、付加的なアミノ酸残基を含む、[12]～[18]のいずれか1つに記載のペプチド。

[20] LRPに対する結合性を有する、[12]～[19]のいずれか1つに記載のペプチド。

[21] LRP5及びLRP6からなる群から選択される少なくとも1つへの結合能を有する、[20]に記載のペプチド。

[22] DKK1様活性を有する、[12]～[19]のいずれか1つに記載のペプチド。

[23] 式B3で示されるアミノ酸配列からなる、[12]～[14]のいずれか1つに記載のペプチド。

B3: C I A c - Y 1 - Y 2 - Y 3 - Y 4 - Y 5 - Y 6 - Y 7 - Y 8 - Y 9 - Y 10 - Y 11 - Y 12 - Y 13 - Y 14

但し、C I A cはクロロアセチル基であり、Y1、Y2、Y3、Y4、Y5、Y6、Y7、Y8、Y9、Y10、Y11、Y12、Y13、及びY14は表2に示すアミノ酸残基であり、表2において、

F は、L-フェニルアラニン残基であり、

F 4 F は、(S)-2-アミノ-3-(4-フルオロフェニル)プロパン酸残基であり、

F 4 Me は、(S)-2-アミノ-3-(p-トルイル)プロパン酸残基であり、

F 3 Me は、(S)-2-アミノ-3-(m-トルイル)プロパン酸残基であり、

R は、L-アルギニン残基であり、

H c i t は、N6-カルバモイル-L-リシン残基であり、

W は、L-トリプトファン残基であり、

Me W は、メチル-L-トリプトファン残基であり、

W 7 N は、(S)-2-アミノ-3-(1H-ピロロ[2,3-b]ピリジン-3-イル)プロパン酸残基であり、

W 5 N は、(S)-2-アミノ-3-(1H-ピロロ[3,2-c]ピリジン-3-イル)プロパン酸残基であり、

W 1 Me 7 N は、(S)-2-アミノ-3-(1-メチル-1H-ピロロ[2,3-b]ピリジン-3-イル)プロパン酸残基であり、

W 7 N 5 Me は、(S)-2-アミノ-3-(5-メチル-1H-ピロロ[2,3-b]ピリジン-3-イル)プロパン酸残基であり、

N a l 1 は、(S)-2-アミノ-3-(ナフタレン-1-イル)プロパン酸残基であり、

N a l 1 4 N は、(S)-2-アミノ-3-(キノリン-4-イル)プロパン酸残基であり、

D は、L-アスパラギン酸残基であり、

E は、L-グルタミン酸残基であり、

N は、L-アスパラギン残基であり、

Q は、L-グルタミン残基であり、

V は、L-バリン残基であり、

Me Vは、メチル-L-バリン残基であり、

W1 a aは、1-(カルボキシメチル)-L-トリプトファン残基であり、

、

Ch aは、(S)-2-アミノ-3-シクロヘキシルプロパン酸残基であり、

3 P y 5 P hは、(S)-2-アミノ-3-(5-フェニルピリジン-3-イル)プロパン酸残基であり、

C b gは、(S)-2-アミノ-2-シクロブチル酢酸残基であり、

Pは、L-プロリン残基であり、

Me Rは、メチル-L-アルギニン残基であり、

K m o rは、(S)-2-アミノ-6-モルフォリノヘキサン酸残基であり、

C i tは、L-シトルリン残基であり、

N c i tは、(S)-2-アミノ-4-ウレイドブタン酸残基であり、

O r n A cは、(S)-5-アセトアミド-2-アミノペンタン酸残基であり、

Me Fは、メチル-L-フェニルアラニン残基であり、

Me F 4 C O Oは、(S)-4-(2-カルボキシ-2-(メチルアミノ)エチル)安息香酸残基であり、

Me Yは、メチル-L-チロシン残基であり、

Me F 4 Meは、(S)-2-(メチルアミノ)-3-(p-トルイル)プロパン酸残基であり、

Me F 4 Cは、(S)-3-(4-クロロフェニル)-2-(メチルアミノ)プロパン酸残基であり、

Me F 3 C O Oは、(S)-3-(2-カルボキシ-2-(メチルアミノ)エチル)安息香酸残基であり、

Me F 3 Meは、(S)-2-(メチルアミノ)-3-(m-トルイル)プロパン酸残基であり、

MeF3Cは、(S)-3-(3-クロロフェニル)-2-(メチルアミノ)プロパン酸残基であり、

Sは、L-セリン残基であり、

Htyは、ホモ-L-チロシン残基であり、

alTは、アロースレオニン残基であり、

Tは、L-スレオニン残基であり、

MeNは、メチル-L-アスパラギン残基であり、

Hglは、L-2-アミノアジピン酸残基であり、

Hw7Nは、(S)-2-アミノ-4-(1H-ピロロ[2,3-b]ピリジン-3-イル)ブタン酸残基であり、

KCOpipzaaは、N6-(4-(カルボキシメチル)ピペラジン-1-カルボニル)-L-リシン残基であり、

W6Nは、(S)-2-アミノ-3-(1H-ピロロ[2,3-c]ピリジン-3-イル)プロパン酸残基であり、

Nmmは、(2S)-2-アミノ-4-(メチルアミノ)-4-オキソブタン酸残基であり、

Ticは、(S)-1,2,3,4-テトラヒドロイソキノリン-3-カルボン酸残基であり、

Tic6Cは、(S)-6-クロロ-1,2,3,4-テトラヒドロイソキノリン-3-カルボン酸残基であり、

Tic7Hは、(S)-7-ヒドロキシ-1,2,3,4-テトラヒドロイソキノリン-3-カルボン酸残基であり、

Tic7Cは、(S)-7-クロロ-1,2,3,4-テトラヒドロイソキノリン-3-カルボン酸残基であり、

Ndmは、N4,N4-ジメチル-L-アスパラギン残基であり、

Cは、L-システイン残基であり、

Gは、グリシン残基である。

[0009] [24] 第1のペプチド及び第2のペプチドを含むペプチド複合体であっ

て、

前記第1のペプチドは、[1]～[11]のいずれか1つに記載のペプチドであり、

前記第2のペプチドは、[12]～[23]のいずれか1つに記載のペプチドである、

ペプチド複合体。

[25] 前記ペプチド複合体は、前記第1のペプチドと、前記第2のペプチドと、前記第1のペプチド及び前記第2のペプチドを接続するリンカーとからなる、[24]に記載のペプチド複合体。

[26] 前記第1のペプチドのC末端と前記第2のペプチドのC末端とが前記リンカーを介して結合している、[25]に記載のペプチド複合体。

[27] 前記リンカーが表3に記載のリンカーから選択される、[25]に記載のペプチド複合体。

ただし、表3中、*-click-*はクリック・ケミストリーにより形成される結合を表す。

[28] 前記第1のペプチドは、式A1で示されるアミノ酸配列からなるペプチドであり、

前記第2のペプチドは、式B1で示されるアミノ酸配列からなるペプチドである、

[24]～[27]のいずれか1つに記載のペプチド複合体。

A1: X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13-X14

B1: Y1-Y2-Y3-Y4-Y5-Y6-Y7-Y8-Y9-Y10-Y11-Y12-Y13-Y14

但し、

式A1において、

X1が、D-フェニルアラニン(df)残基であり、

X2が、L-セリン(S)残基又はL-2-アミノアジピン酸(Hgl)

残基であり、

X 3 が、L-アスパラギン酸 (D) 残基、L-シトルリン (C i t) 残基又は (2 S) - 2 - アミノ - 3 - (オキサン - 4 - イル) プロパン酸 (A t p) 残基であり、

X 4 が、L-イソロイシン (I) 残基であり、

X 5 が、L-アルギニン (R) 残基又はL-シトルリン (C i t) 残基であり、

X 6 が、L-チロシン (Y) 残基であり、

X 7 が、メチル-L-フェニルアラニン (M e F) 残基又は (S) - 3 - (2 - カルボキシ - 2 - (メチルアミノ) エチル) 安息香酸 (M e F 3 C O O) 残基であり、

X 8 が、L-グルタミン (Q) 残基、L-バリン (V) 残基、ホモ-L-チロシン (H t y) 残基、L-スレオニン (T) 残基、L-シトルリン (C i t) 残基又はO-メチル-L-スレオニン (T M e) 残基であり、

X 1 0 が、メチル-L-フェニルアラニン (M e F) 残基又は (S) - 2 - (メチルアミノ) - 3 - (ピリジン - 4 - イル) プロパン酸 (M e 4 P y) 残基であり、

X 1 1 が、L-イソロイシン (I) 残基又はL-チロシン (Y) 残基であり、

X 1 2 が、L-バリン (V) 残基又はメチル-L-バリン (M e V) 残基であり、

X 1 3 が、グリシン (G) 残基又はD-セリン (d s) 残基であり、

式B 1 において、

Y 1 が、L-フェニルアラニン (F) 残基であり、

Y 2 が、L-アルギニン (R) 残基であり、

Y 3 が、L-トリプトファン (W) 残基又は (S) - 2 - アミノ - 3 - (1 H - ピロロ [2, 3 - b] ピリジン - 3 - イル) プロパン酸 (W 7 N) 残基であり、

Y 4 が、L-アスパラギン酸 (D) 残基であり、

Y 5 が、L-バリン (V) 残基であり、

Y 6 が、L-アルギニン (R) 残基又は (S) - 2 - アミノ - 6 - モルフォリノヘキサン酸 (K m o r) 残基であり、

Y 7 が、メチル-L-フェニルアラニン (M e F) 残基又は (S) - 3 - (2 - カルボキシ - 2 - (メチルアミノ) エチル) 安息香酸 (M e F 3 C O O) 残基であり、

Y 8 が、L-セリン (S) 残基又はL-グルタミン酸 (E) 残基であり、

Y 9 が、L-アスパラギン (N) 残基、N 6 - (4 - (カルボキシメチル) ピペラジン - 1 - カルボニル) - L-リシン (K C O p i p z a a) 残基又はL-グルタミン酸 (E) 残基であり、

Y 1 0 が、L-トリプトファン (W) 残基又は (S) - 2 - アミノ - 3 - (1 H - ピロロ [2, 3 - b] ピリジン - 3 - イル) プロパン酸 (W 7 N) 残基であり、

Y 1 1 が、L-アスパラギン (N) 残基であり、

Y 1 2 が、(S) - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロイソキノリン - 3 - カルボン酸 (T i c) 残基であり、

Y 1 3 が、L-アスパラギン (N) 残基又はL-アスパラギン酸 (D) 残基である。

[29] W n t シグナルを活性化する、[24] ~ [28] のいずれか 1 つに記載のペプチド複合体。

[0010] [30] [1] ~ [23] のいずれか 1 つに記載のペプチドを含む、医薬組成物。

[31] [24] ~ [29] のいずれか 1 つに記載のペプチド複合体を含む、医薬組成物。

[0011] [32] [24] ~ [29] のいずれか 1 つに記載のペプチド複合体を含み、細胞培養に用いられる細胞培養用組成物。

[0012] [33] [24] ~ [29] のいずれか 1 つに記載のペプチド複合体を含

み、医療用、診断用又は研究用に用いられる組成物。

[0013] [34] [1]～[11]及び[12]～[23]のいずれか1つに記載のペプチドを含み、医療用、診断用又は研究用に用いられる組成物。

[0014] [35] 乳がん、大腸がん、肺がん、若しくは胃がん等の癌疾患、又は炎症性腸疾患の治療又は予防において使用するための、[1]～[23]のいずれか1つに記載のペプチド。

[0015] [36] 骨粗しょう症等の骨代謝疾患の治療又は予防において使用するための、[24]～[29]のいずれか1つに記載のペプチド複合体。

[0016] [37] 乳がん、大腸がん、肺がん、若しくは胃がん等の癌疾患、又は炎症性腸疾患の治療又は予防用医薬組成物を製造するための、[1]～[23]のいずれか1つに記載のペプチドの使用。

[0017] [38] 骨粗しょう症等の骨代謝疾患の治療又は予防用医薬組成物を製造するための、[24]～[29]のいずれか1つに記載のペプチド複合体の使用。

[0018] [39] 有効量の、[1]～[23]のいずれか1つに記載のペプチドを、その治療又は予防が必要な対象に投与することを含む、乳がん、大腸がん、肺がん、若しくは胃がん等の癌疾患、又は炎症性腸疾患の治療又は予防方法。

[0019] [40] 有効量の、[24]～[29]のいずれか1つに記載のペプチド複合体を、その治療又は予防が必要な対象に投与することを含む、骨粗しょう症等の骨代謝疾患の治療又は予防方法。

[0020] [41] 小腸、大腸、胃、すい臓、又は肺等のオルガノイドの作成のための、[24]～[29]のいずれか1つに記載のペプチド複合体の使用。

発明の効果

[0021] 本発明は、Wntシグナル伝達経路を活性化するペプチド複合体を提供する。

発明を実施するための形態

[0022] 以下では本発明のペプチド、ペプチド複合体、医薬組成物、細胞培養用組

成物、及び医療用、診断用又は研究用に用いられる組成物の実施形態について詳細に説明する。ただし、本発明は後述する実施形態に限定されるものではなく、本発明の要旨を逸脱しない限り種々の改変が可能である。

[0023] [略語 (一般)]

Å : オングストローム (単位, 10^{-10}m)

AcOH : 酢酸

BSA : ウシ血清アルブミン

Boc : tert-ブトキシカルボニル基

ClAc : クロロアセチル

ClAcOSu : (2, 5-ジオキソピロリジン-1-イル) 2-クロロアセテート (CAS番号 : 27243-15-8)

$[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4]\text{PF}_6$: テトラキス (アセトニトリル) 銅 (I) ヘキサフルオロホスファート (CAS番号 : 64443-05-6)

DCM : ジクロロメタン又は塩化メチレン

DICI 又は DIC : N, N'-ジイソプロピルカルボジイミド

DIPEA 又は DIEA : N, N'-ジイソプロピルエチルアミン

DMA : N, N'-ジメチルアセトアミド

Dmb : ジメトキシベンジル基

DMEM : ダルベッコ改変イーグル培地

DMF : N, N'-ジメチルホルムアミド

DMSO : ジメチルスルホキシド

DODT : 3, 6-ジオキサ-1, 8-オクタンジチオール

EC50 : 50%効果濃度

FBS : ウシ胎児血清

Fmoc : 9-フルオレニルメチルオキシカルボニル

Fmoc-Lys (Fmoc)-OH : N², N⁶-ビス ((9H-フルオレン-9-イル) メトキシ) カルボニル) -L-リシン

g : グラム (単位)

HATU : 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リン酸塩

HPLC : 高速液体クロマトグラフィー

LC-MS又はLC/MS : 液体クロマトグラフィー質量分析計

M : モーラー (単位)

MeCN : アセトニトリル

mg : ミリグラム (単位)

min : 分 (単位)

mL : ミリリットル (単位)

mM : ミリモーラー (単位)

mm : ミリメートル (単位)

Mpe基 : 3-メチル-ペント-3-イル基

NHS : N-ヒドロキシコハク酸イミド

nm : ナノメートル (単位)

μ L : マイクロリットル (単位)

OSu : オキシスクシンイミド

Pbf : 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

PEG : ポリエチレングリコール

rpm : 回転毎分 (単位)

Sub : ジベンゾスベリル基

TBTA : トリス [(1-ベンジル-1H-1, 2, 3-トリアゾール-4-イル) メチル] アミン (CAS番号 : 510758-28-8)

tBu : tert-ブチル基

TEAA : 酢酸トリエチルアミン

TFA : トリフルオロ酢酸

TIS : トリイソプロピルシラン

Trt又はTr : トリチル基

[0024] [略語 (非天然アミノ酸)]

3 P y 5 P h : (S) - 2 - アミノ - 3 - (5 - フェニルピリジン - 3 - イル) プロパン酸 (CAS 番号 : 2973752 - 28 - 0)

3 P y 6 N H 2 : (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)

4 P y : (S) - 2 - アミノ - 3 - (ピリジン - 4 - イル) プロパン酸 (CAS 番号 : 37535 - 49 - 2)

A h p : (S) - 2 - アミノヘプタン酸 (CAS 番号 : 44902 - 02 - 5)

a l T : アロースレオニン (CAS 番号 : 28954 - 12 - 3)

A t b : (S) - 2 - アミノ - 4, 4 - ジメチルペンタン酸 (CAS 番号 : 57224 - 50 - 7)

A t p : (2S) - 2 - アミノ - 3 - (オキサン - 4 - イル) プロパン酸 (CAS 番号 : 1344910 - 91 - 3)

A Z (L 08) - P 12 - P S : 2, 5 - ジオキソピロリジン - 1 - イル
40 - (33 - アジド - 29 - オキソ - 4, 7, 10, 13, 16, 19,
22, 25 - オクタオキサ - 28 - アザトリトリアコンタンアミド) - 40
- (2, 5, 8, 11, 14, 17, 20, 23, 26, 29, 32, 35,
38 - トリデカオキサノナトリアコンチル) - 43 - オキソ - 2, 5, 8,
11, 14, 17, 20, 23, 26, 29, 32, 35, 38, 42 -
テトラデカオキサ - 44 - アザヘプタテトラコンタン - 47 - オエート (日油株式会社)

C b g : (S) - 2 - アミノ - 2 - シクロブチル酢酸 (CAS 番号 : 49607 - 08 - 1)

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

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

C i t : L-シトルリン (CAS 番号 : 3 7 2 - 7 5 - 8)

c P E G 9 c : 4, 7, 1 0, 1 3, 1 6, 1 9, 2 2, 2 5, 2 8-ノナ
オキサヘントリアコンタンジオイック酸 (CAS 番号 : 1 2 6 8 4 8 8 - 7
0 - 5)

c P E G 1 3 c : 4, 7, 1 0, 1 3, 1 6, 1 9, 2 2, 2 5, 2 8, 3
1, 3 4, 3 7, 4 0-トリデカオキサトリテトラコンタンジオイック酸 (CAS 番号 : 2 2 2 5 9 0 3 - 6 6 - 0)

c P E G 1 7 c : 4, 7, 1 0, 1 3, 1 6, 1 9, 2 2, 2 5, 2 8, 3
1, 3 4, 3 7, 4 0, 4 3, 4 6, 4 9, 5 2-ヘプタデカオキサペンタ
ペンタコンタンジオイック酸 (CAS 番号 : 2 2 2 6 8 9 7 - 7 4 - 9)

d 3 p y : (R) - 2-アミノ-3- (ピリジン-3-イル) プロパン酸 (CAS 番号 : 7 0 7 0 2 - 4 7 - 5)

d 4 p y : (R) - 2-アミノ-3- (ピリジン-4-イル) プロパン酸 (CAS 番号 : 3 7 5 3 5 - 5 0 - 5)

d a : D-アラニン (CAS 番号 : 3 3 8 - 6 9 - 2)

d c i t : (R) - 2-アミノ-5-ウレイドペンタン酸 (CAS 番号 : 1
3 5 9 4 - 5 1 - 9)

d f : D-フェニルアラニン (CAS 番号 : 6 7 3 - 0 6 - 3)

d f 3 O M e (R) - 2-アミノ-3- (3-メトキシフェニル) プロパ
ン酸 (CAS 番号 : 1 4 5 3 0 6 - 6 5 - 6)

d f 4 F : (R) - 2-アミノ-3- (4-フルオロフェニル) プロパン酸
(CAS 番号 : 1 8 1 2 5 - 4 6 - 7)

d f 4 O M e : (R) - 2-アミノ-3- (4-メトキシフェニル) プロパ
ン酸 (CAS 番号 : 3 9 8 7 8 - 6 5 - 4)

d k C O p i p z a a : N 6- (4- (カルボキシメチル) ピペラジン-1
-カルボニル) -D-リシン (CAS 番号 : 2 9 7 3 7 5 7 - 4 2 - 3)

d s : D-セリン (CAS 番号 : 3 1 2 - 8 4 - 5)

d y : D-チロシン (CAS 番号 : 5 5 6 - 0 2 - 5)

F3COO: (S) - 3 - (2 - アミノ - 2 - カルボキシエチル) 安息香酸
(CAS 番号: 13861-02-4)

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

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 (C
AS 番号: 14173-39-8)

F4F: (S) - 2 - アミノ - 3 - (4 - フルオロフェニル) プロパン酸 (C
AS 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)

G4pipaa: (S) - 2 - アミノ - 2 - (1 - (カルボキシメチル) ピ
ペリジン - 4 - イル) 酢酸 (CAS 番号: 2973756-12-4)

Gpra: (S) - 2 - アミノペント - 4 - イン酸 (CAS 番号: 23235
-01-0)

Gthp: (S) - 2 - アミノ - 2 - (テトラヒドロ - 2H - ピラン - 4 -
イル) 酢酸 (CAS 番号: 811842-25-8)

Hcit: N6 - カルバモイル - L - リシン (CAS 番号: 1190-49
-4)

Hgl: L - 2 - アミノアジピン酸 (CAS 番号: 1118-90-7)

Hse: L - ホモセリン (CAS 番号: 672-15-1)

Hty: ホモ - L - チロシン (CAS 番号: 221243-01-2)

Hw7N: (S) - 2 - アミノ - 4 - (1H - ピロロ [2, 3-b] ピリジ
ン - 3 - イル) ブタン酸 (CAS 番号: 2349860-05-3)

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 (CAS 番号: 2913141-21-4)

Kmor: (S) - 2 - アミノ - 6 - モルフォリノヘキサン酸 (CAS 番号

: 960135-14-2)

KN3: N6-ジアゾ-L-リシン (CAS番号: 159610-92-1)

Me3Py: (S)-2-(メチルアミノ)-3-(ピリジン-3-イル)プロパン酸 (CAS番号: 2651172-69-7)

Me4Py: (S)-2-(メチルアミノ)-3-(ピリジン-4-イル)プロパン酸 (CAS番号: 2913141-25-8)

MeAtp: (S)-2-(メチルアミノ)-3-(テトラヒドロ-2H-ピラン-4-イル)プロパン酸 (CAS番号: 2973752-56-4)

MeChg: (S)-2-シクロヘキシル-2-(メチルアミノ)酢酸 (CAS番号: 145963-18-4)

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)

MeF3COO: (S)-3-(2-カルボキシ-2-(メチルアミノ)エチル)安息香酸 (CAS番号: 2913141-26-9)

MeF3Me: (S)-2-(メチルアミノ)-3-(m-トルイル)プロパン酸

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)

MeF4COO: (S)-4-(2-カルボキシ-2-(メチルアミノ)エチル)安息香酸 (CAS番号: 2973752-03-1)

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)

MeN: メチル-L-アスパラギン (CAS番号: 19026-58-5)

MeNie: (S)-2-(メチルアミノ)ヘキサン酸 (CAS番号: 17343-27-0)

MeR : メチル-L-アルギニン (CAS 番号 : 2480-28-6)

MeV : メチル-L-バリン (CAS 番号 : 2480-23-1)

MeW : メチル-L-トリプトファン (CAS 番号 : 526-31-8)

MeY : メチル-L-チロシン (CAS 番号 : 537-49-5)

NaI1 : (S) - 2-アミノ-3- (ナフタレン-1-イル) プロパン酸
(CAS 番号 : 55516-54-6)

NaI14N : (S) - 2-アミノ-3- (キノリン-4-イル) プロパン酸
(CAS 番号 : 137855-78-8)

NcIt : (S) - 2-アミノ-4-ウレイドブタン酸 (CAS 番号 : 1190-47-2)

Nmm : (2S) - 2-アミノ-4- (メチルアミノ) -4-オキソブタン酸
(CAS 番号 : 7175-34-0)

Ndm : (2S) - 2-アミノ-4- (ジメチルアミノ) -4-オキソブタン酸
(CAS 番号 : 62937-43-3)

OrnAc : (S) - 5-アセトアミド-2-アミノペンタン酸 (CAS 番号 : 2185-16-2)

PEG4c : 1-アミノ-3, 6, 9, 12-テトラオキサペンタデカン-15-オイック酸 (CAS 番号 : 663921-15-1)

PEG8c : 1-アミノ-3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24-オクタオキサヘプタコサン-27-オイック酸 (CAS 番号 : 756526-04-2)

PEG12c : 1-アミノ-3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 27, 30, 33, 36-ドデカオキサノナトリアコンタン-39-オイック酸
(CAS 番号 : 1415408-69-3)

SMe : O-メチル-L-セリン (CAS 番号 : 32620-11-4)

Tbg : (S) - 2-アミノ-3, 3-ジメチルブタン酸 (CAS 番号 : 20859-02-3)

Tic : (S) - 1, 2, 3, 4-テトラヒドロイソキノリン-3-カルボ

ン酸 (CAS 番号: 74163-81-8)

T i c 6 C : (S) - 6 - クロロ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロイソキノ
リン - 3 - カルボン酸 (CAS 番号: 1344407-69-7)

T i c 7 C : (S) - 7 - クロロ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロイソキノ
リン - 3 - カルボン酸 (CAS 番号: 1344492-44-9)

T i c 7 H : (S) - 7 - ヒドロキシ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロイソ
キノリン - 3 - カルボン酸 (CAS 番号: 128502-56-7)

T M e : O - メチル - L - スレオニン (CAS 番号: 4144-02-9)

W 1 a a : 1 - (カルボキシメチル) - L - トリプトファン (CAS 番号:
773823-50-0)

W 1 M e 7 N : (S) - 2 - アミノ - 3 - (1 - メチル - 1 H - ピロロ [2
, 3 - b] ピリジン - 3 - イル) プロパン酸 (CAS 番号: 1632971
- 18-6)

W 5 N : (S) - 2 - アミノ - 3 - (1 H - ピロロ [3, 2 - c] ピリジン
- 3 - イル) プロパン酸 (CAS 番号: 149704-62-1)

W 6 N : (S) - 2 - アミノ - 3 - (1 H - ピロロ [2, 3 - c] ピリジン
- 3 - イル) プロパン酸 (CAS 番号: 149704-63-2)

W 7 N : (S) - 2 - アミノ - 3 - (1 H - ピロロ [2, 3 - b] ピリジン
- 3 - イル) プロパン酸 (CAS 番号: 49758-35-2)

W 7 N 5 M e : (S) - 2 - アミノ - 3 - (5 - メチル - 1 H - ピロロ [2
, 3 - b] ピリジン - 3 - イル) プロパン酸 (CAS 番号: 1270158
- 20-7)

[0025] [W n t]

W n t は、分子量が約4万の分泌性糖タンパク質で、初期発生や形態形成、また、出生後の増殖、分化、細胞運動、極性などを制御する。W n t は、ヒト及びマウスにおいて19種類 (W n t 1 ~ 19) が同定されている。

W n t は、F r i z z l e d (F z d) 受容体ファミリーメンバー及び共受容体である L R P 5、L R P 6、R O R、又は R Y K に結合して、W n t

シグナル伝達経路を活性化する。

本発明のペプチド複合体は、F r i z z l e d受容体 (F z d 2、F z d 7、F z d 8) 及び／又はL R P (L R P 5、L R P 6) に結合して、W n t シグナル伝達経路を活性化するため、天然に存在するW n t ファミリーの代替として使用できる。本発明のペプチド複合体により代替可能なW n t ファミリーの例としては、W n t 3やW n t 1が挙げられるが、好ましくはW n t 3である。

[0026] [W n t シグナル活性化能]

W n t シグナル活性化能とは、天然に存在するW n t によってもたらされる効果に類似する効果をもたらす能力をいう。また、特異的にW n t シグナル伝達経路を活性化する能力をいう。

W n t シグナル活性化能は、例えば、W n t - β カテニン経路の活性化で評価してもよい。例えば、非限定的に、細胞における β カテニンの核移行や、T C F / L E F レポーターアッセイにより評価することができる。非限定的に、例えば、P a t h H u n t e r e X p r e s s β -C a t e n i n N u c l e a r T r a n s l o c a t i o n A s s a y (D i s c o v e r X社)、T C F / L E F R e p o r t e r - H E K 293細胞株 (B P S B i o s c i e n c e社) などを用いた評価が挙げられる。いずれの評価系であっても、標準の手順に従い、最適条件において最適濃度のペプチド又はペプチド複合体を使用した場合にW n t シグナル活性化能を検出できるときに、W n t シグナル活性化能を有するという。

[0027] [W n t 阻害活性]

W n t 阻害活性とは、W n t シグナル伝達経路を阻害する活性を意味する。例えば、本発明のペプチドが、W n t の共受容体であるL R P 5及び／又はL R P 6に結合し、W n t がこの共受容体に結合することを阻害することにより、W n t シグナル伝達経路が阻害される。

W n t 阻害活性は、例えば、W n t - β カテニン経路の活性化阻害で評価してもよい。例えば、非限定的に、細胞における β カテニンの核移行や、T

CF/LEFレポーターアッセイにより評価することができる。非限定的に、例えば、PathHunter eXpress β -Catenin Nuclear Translocation Assay (DiscoverX社)、TCF/LEF Reporter-HEK 293細胞株 (BPS Bioscience社) などを用いた評価が挙げられる。いずれの評価系であっても、標準の手順に従い、最適条件において最適濃度のペプチド又はペプチド複合体を使用した場合にWnt阻害活性を検出できるときに、Wnt阻害活性を有するという。

[0028] [古典的Wntシグナル伝達経路及び非古典的Wntシグナル伝達経路]

Neiheisel, A.、外4名、“Wnt pathway modulators in cancer therapeutics: An update on completed and ongoing clinical trials”、International Journal of Cancer、2022年3月、第150巻、第5号、p. 727-740を参照。

[0029] シグナル伝達経路は、一般的にタンパク質-タンパク質相互作用、例えば受容体への成長因子の結合によって開始され、細胞のある部分から細胞の別の部分へのシグナルの伝達をもたらす生化学的因果関係をいう。Wntシグナル伝達経路は、上記成長因子がWntである場合に生じる生化学的因果関係をいう。

[0030] Wntシグナル伝達経路は、古典的Wntシグナル伝達経路と非古典的Wntシグナル伝達経路に分類される。

[0031] 〈古典的Wntシグナル伝達経路〉

Wntリガンドが存在しない状態では、APC、Axin、CK1、及びGSK3 β からなる分解複合体により、 β -カテニンのリン酸化、ユビキチン化、プロテアソームでの分解が行われる。その結果、 β -カテニンの細胞質内でのレベルは低く維持され、Wntが標的とする遺伝子の転写が抑制される。一方で、WntリガンドがFrizzled受容体及び共受容体であ

るLRP5又はLRP6に結合すると、Dvlタンパク質が原形質膜に引き付けられ、 β -カテニン分解複合体が不安定化する。Wntリガンドの上記受容体への結合は、細胞質中のリン酸化されない β -カテニンの蓄積をもたらし、 β -カテニンが核内へ移行し、TCF/LEFと複合体を形成し、Wntが標的とする遺伝子の転写が起こる。なお、RespondinのLGR5への結合も、上記の古典的Wntシグナル伝達経路を活性化することが報告されている。

[0032] Wntシグナル伝達経路は、分泌型タンパク質リガンドのWntファミリーのメンバーがLRP及びFrizzled (Fzd) の受容体複合体に結合し、それにより β -カテニンが核内に移動し、TCF/LEF転写因子と相互作用し、標的遺伝子の発現を活性化することができる、古典的Wntシグナル伝達経路をいう。

[0033] 〈非古典的Wntシグナル伝達経路〉

非古典的Wntシグナル伝達経路は、平面内細胞極性 (planar cell polarity: PCP) を制御するPCP経路と細胞内におけるカルシウムイオンの動員を促進する Ca^{2+} 経路の少なくとも2種類が存在する。

[0034] (PCP経路)

WntリガンドがFrizzled受容体及び共受容体であるROR又はRYKに結合すると、Dvlタンパク質が引き付けられ、細胞骨格を制御するROCK又は細胞応答をもたらす転写因子であるJunの活性化を引き起こすJNKを活性化する。

[0035] (Ca^{2+} 経路)

WntリガンドがFrizzled受容体及び共受容体であるRORと相互作用すると、膜結合性酵素であるPLCを活性化し、膜結合性リン脂質であるPIP2をIP3とDAGに変換する。IP3は、小胞体から細胞質へのカルシウムイオンの放出を引き起こす。さらに、カルシウムイオンは、カルモジュリンとPKCを活性化する。PKCの活性化は細胞応答をもたらす

。

[0036] [F z d 受容体]

F z d 受容体は、Gタンパク質共役受容体（GPCR）スーパーファミリーの7回膜貫通ドメインタンパク質であり、システインリッチドメイン（CRD）又はF r i ドメインとして知られる10個の保存システインを有する大きな細胞外N末端リガンド結合ドメインを含有する。F z d 受容体は、ヒトにおいて10種類（F z d 1～10）が同定されており、発生、細胞増殖、生存、遊走、及び幹細胞維持などの多くの重要な生物学過程に関与している。

成体動物では、W n t リガンドがF z d 受容体ファミリーメンバーと相互作用することにより、W n t シグナル伝達経路が活性化され、胚発生、組織恒常性中の幹細胞及び前駆細胞の再生、細胞分化が制御される。

[0037] [F z d 結合活性]

F z d（F r i z z l e d）結合活性とは、F z d（F r i z z l e d）受容体に特異的に結合する活性、好ましくはF z d 2、F z d 7、及び／又はF z d 8受容体に結合する活性を意味する。

[0038] [L R P 5／6]

L R Pは、低密度リボタンパク質受容体関連タンパク質の略称であり、L R P 1～6、L R P 1 B、L R P 8、L R P 10～12が含まれる。L R P メンバーであるL R P 5及びL R P 6は、細胞表面に存在する1回膜貫通受容体であり、古典的W n t シグナル伝達経路に関与するL R P 5／L R P 6／F z d 共受容体群の一部を形成する。

L R P 5及びL R P 6は相同性が高く、その細胞外及び細胞内ドメインにおいてそれぞれ73%及び64%の同一性を有する。それらは、胚形成の間及び成熟組織において広く共発現しており、機能的にも重複している。

[0039] [L R P 結合活性]

L R P 結合活性とは、L R P に特異的に結合する活性、好ましくはL R P 5及び／又はL R P 6に結合する活性を意味する。

[0040] [Dkk]

Dkk (Dickkopf) は、Dkkファミリーメンバーの核酸及びタンパク質であり、Dkk1～4、Soggy及び関連Dkkタンパク質が含まれる。本願において、好ましい例は、Dkk1であるが、それに限定されない。

Dkk1は、Wntの共受容体であるLRP5及びLRP6に結合し、Wntがこの共受容体に結合することを阻害することにより、Wntシグナル伝達経路を阻害する。Dkk1は、Wnt1及びWnt3a媒介性シグナル伝達の両方を阻害することが明らかにされている。本明細書において、「DKK1様活性」とは、上記の機序により、Wntシグナル伝達経路を阻害する活性のことをいう。

[0041] [保存的アミノ酸置換]

本発明のペプチド及びペプチド複合体においては、特定のアミノ酸配列から、1個、2個又は3個のアミノ酸残基が置換、欠失、付加又は挿入される場合、保存的アミノ酸置換がなされることが好ましい。

[0042] 「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。

[0043] ペプチドにおける保存的アミノ酸置換は、当該ペプチドのアミノ酸配列に静的変化をもたらす。例えば、同様の極性を有する一つ又は二つ以上のアミノ酸は機能的に等価に作用し、かかるペプチドのアミノ酸配列に静的変化をもたらす。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られることができる。

[0044] 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。

[0045] 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。

- [0046] 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。
- [0047] 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）はイオンー芳香族相互作用又は陽イオンー π 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。
- [0048] 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。
- [0049] 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（レーニンジャ、生化学、改訂第2版、1975年刊行、73乃至75頁：L. Lehninger, Biochemistry, 2nd edition, pp73~75, Worth Publisher, New York (1975)) 及び典型的置換を含む。
- [0050] 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。
- [0051] 疎水性（非極性ともいう）アミノ酸：疎水性（非極性）を示すアミノ酸であり、例えばL-アラニン（A）、グリシン（G）、L-バリン（V）、L-ロイシン（L）、L-イソロイシン（I）、L-プロリン（P）、L-フェニルアラニン（F）、L-トリプトファン（W）、L-チロシン（Y）、L-メチオニン（M）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。
- [0052] 脂肪族アミノ酸：側鎖に脂肪族炭化水素基又は水素原子を有するアミノ酸であり、例えばL-アラニン（A又はA l a）、グリシン（G又はG l y）、L-バリン（V又はV a l）、L-イソロイシン（I又はI l e）、及びL-ロイシン（L又はL e u）を含む。

- [0053] 脂肪族・分岐鎖アミノ酸：側鎖に分岐型脂肪族炭化水素基を有するアミノ酸であり、例えばＬーバリン（Ｖ）、Ｌーイソロイシン（Ｉ）、及びＬーロイシン（Ｌ）を含む。
- [0054] 芳香族アミノ酸：側鎖に芳香環を有するアミノ酸であり、例えばＬートリプトファン（Ｗ）、Ｌーチロシン（Ｙ）、及びＬーフェニルアラニン（Ｆ）を含む。
- [0055] 親水性（極性ともいう）アミノ酸：親水性（極性）を示すアミノ酸であり、例えばＬーセリン（Ｓ）、Ｌースレオニン（Ｔ）、Ｌーシステイン（Ｃ）、Ｌーアスパラギン（Ｎ）、Ｌーグルタミン（Ｑ）、Ｌーアスパラギン酸（Ｄ）、Ｌーグルタミン酸（Ｅ）、Ｌーリシン（Ｋ）、Ｌーアルギニン（Ｒ）、Ｌーヒスチジン（Ｈ）を含む。
- [0056] 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。
- [0057] 酸性アミノ酸：側鎖が酸性を示すアミノ酸であり、例えばＬーアスパラギン酸（Ｄ）及びＬーグルタミン酸（Ｅ）を含む。
- [0058] 塩基性アミノ酸：側鎖が塩基性を示すアミノ酸であり、例えばＬーリシン（Ｋ）、アルギニン（Ｒ）、及びＬーヒスチジン（Ｈ）を含む。
- [0059] 中性アミノ酸：側鎖が中性を示すアミノ酸であり、例えばＬーセリン（Ｓ）、Ｌースレオニン（Ｔ）、Ｌーアスパラギン（Ｎ）、Ｌーグルタミン（Ｑ）、及びＬーシステイン（Ｃ）を含む。
- [0060] グリシン（Ｇ）及びＬープロリン（Ｐ）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る。
- [0061] 側鎖に硫黄分子を含むＬーシステイン（Ｃ）及びＬーメチオニン（Ｍ）は、「含硫アミノ酸」に分けることもできる。
- [0062] 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ーアルキル化されたＮーアルキルアミノ酸、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ーＣ５の、好ましくは、Ｃ１ー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。

[0063] 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。

[0064] 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。

[0065] 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、（S）-2-アミノ-3-（ピリジン-4-イル）プロパン酸（4Py）は側鎖にピリジル基（ピリジン環）が付加されたアラニンであるが、ピ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、塩基性という極性を示す。

[0066] 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できる。例えば、塩基性アミノ酸に属するアルギニンのN-メチル化アミノ酸であるメチル-L-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。

[0067] 非限定的に、非天然のアミノ酸には、N-メチルアミノ酸、（S）-2-アミノ-3-（ピリジン-4-イル）プロパン酸（4Py）、アロースレオニン（aIT）、L-シトルリン（Cit）、O-メチル-L-セリン（S

Me)、(2S)-2-アミノ-3-(オキサン-4-イル)プロパン酸 (At p)、L-2-アミノアジピン酸 (Hg l)、(S)-2-アミノ-3-(ナフタレン-1-イル)プロパン酸 (Na l 1)、(S)-2-アミノ-3-(1H-ピロロ[2, 3-c]ピリジン-3-イル)プロパン酸 (W 6 N)、及び(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 (W 7 N)等を含む。なお、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。

[0068] [ペプチド及びその薬学的に許容される塩、エステル、又は溶媒和物]

薬学的に許容される塩の例は、無機酸塩、有機酸塩、無機塩基塩、有機塩基塩、酸性又は塩基性アミノ酸塩である。ただし、これらに限定されるものではない。

[0069] 無機酸塩の例は、塩酸塩、臭化水素酸塩、硫酸塩、硝酸塩、リン酸塩である。ただし、これらに限定されるものではない。

[0070] 有機酸塩の例は、酢酸塩、コハク酸塩、フマル酸塩、マレイン酸塩、酒石酸塩、クエン酸塩、乳酸塩、ステアリン酸塩、安息香酸塩、メタンスルホン酸塩、及びp-トルエンスルホン酸塩である。ただし、これらに限定されるものではない。

[0071] 前記無機塩基塩の例は、ナトリウム塩、カリウム塩などのアルカリ金属塩、カルシウム塩、マグネシウム塩などのアルカリ土類金属塩、アルミニウム塩、及びアンモニウム塩である。ただし、これらに限定されるものではない。

[0072] 前記有機塩基塩の例は、ジエチルアミン塩、ジエタノールアミン塩、メグルミン塩、及びN, N'-ジベンジルエチレンジアミン塩である。ただし、これらに限定されるものではない。

[0073] 前記酸性アミノ酸塩の例は、アスパラギン酸塩、及びグルタミン酸塩である。塩基性アミノ酸塩の例は、アルギニン塩、リジン塩、及びオルニチン塩である。ただし、これらに限定されるものではない。

[0074] 薬学的に許容されるエステル例は、酢酸エステル及び硫酸エステルである。ただしこれらに限定されるものではない。

[0075] 薬学的に許容される溶媒和物の例は、水和物である。ただしこれに限定されるものではない。

[0076] [ペプチド]

本発明のペプチドは、薬学的に許容される塩、エステル、又は溶媒和物であってもよい。溶媒和物の例は、水和物である。

〈第一の実施形態〉

本発明のペプチドの第一の実施形態は、式A1で示されるアミノ酸配列、又は式A1で示されるアミノ酸配列において1若しくは複数個のアミノ酸残基が、置換、欠失、付加又は挿入されたアミノ酸配列、を含むペプチドである。なお、式A1において、アミノ酸配列はN末端側からC末端側に記述されている。

[0077] A1 : X1 - X2 - X3 - X4 - X5 - X6 - X7 - X8 - X9 - X10 -
X11 - X12 - X13 - X14

[0078] 但し、

X1は、任意のD-アミノ酸残基であり、

X2及びX3は、それぞれ独立に、任意のアミノ酸残基であり、

X4及びX5は、それぞれ独立に、置換されていてもよい脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

X6は、置換されていてもよいアリール基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

X7は、置換されていてもよいアリール基又は置換されていてもよいシクロアルキル基を側鎖に有するN-アルキルアミノ酸残基であり、

X8は、任意のアミノ酸残基であり、

X9は、L-スレオニン（T）残基であり、

X10は、任意のN-アルキル化アミノ酸残基であり、

X11は、任意のアミノ酸残基であり、

X 1 2 は、脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

X 1 3 は、置換されていてもよい脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

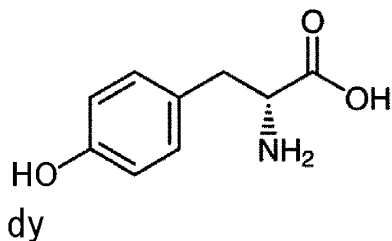
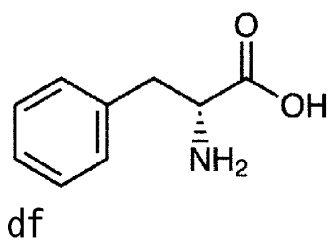
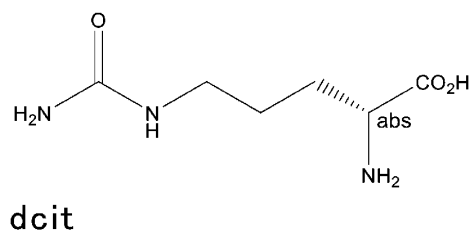
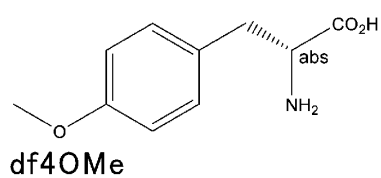
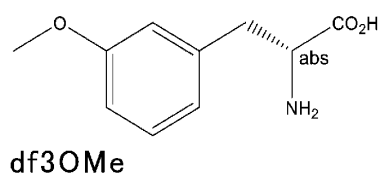
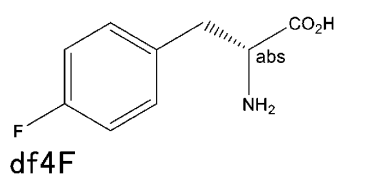
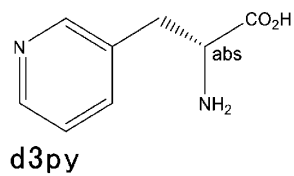
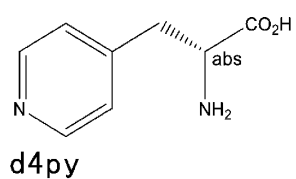
X 1 4 は、L-システイン (C) 残基である。

[0079] 前記第一の実施形態のペプチドにおいて、X 1 は、D-フェニルアラニン (d f) 残基、(R)-2-アミノ-3-(ピリジン-4-イル) プロパン酸 (d 4 p y) 残基、(R)-2-アミノ-3-(ピリジン-3-イル) プロパン酸 (d 3 p y) 残基、(R)-2-アミノ-3-(3-メトキシフェニル) プロパン酸 (d f 3 O M e) 残基、(R)-2-アミノ-3-(4-メトキシフェニル) プロパン酸 (d f 4 O M e) 残基、(R)-2-アミノ-5-ウレイドペンタン酸 (d c i t) 残基、D-チロシン (d y) 残基、又は (R)-2-アミノ-3-(4-フルオロフェニル) プロパン酸 (d f 4 F) 残基であることが好ましい。

d 4 p y、d 3 p y、d f 4 F、d f 3 O M e、d f 4 O M e、d c i t、d f、及び d y の構造を以下に示す。

[0080]

[化1]

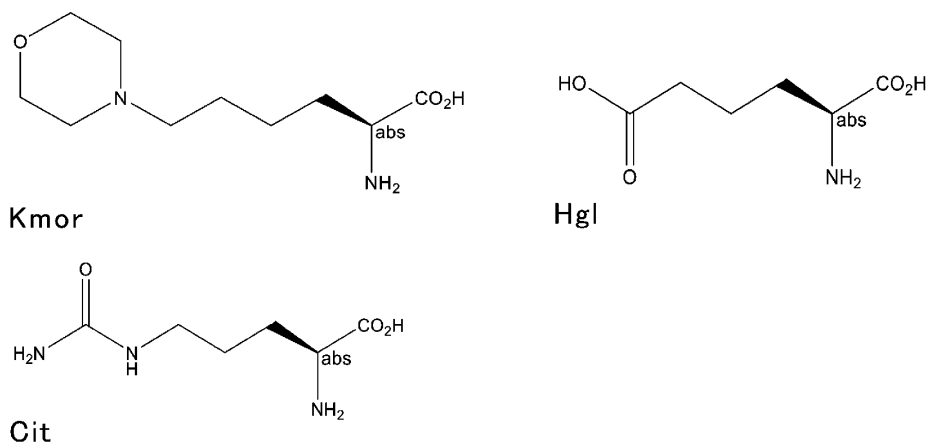


[0081] 前記第一の実施形態のペプチドにおいて、X2は、L-セリン(S)残基、L-アスパラギン(N)残基、L-アスパラギン酸(D)残基、L-2-アミノアジピン酸(Hgl)残基、L-シトルリン(Cit)残基、又は(S)-2-アミノ-6-モルフォリノヘキサン酸(Kmor)残基であることが好ましい。

Kmor、Hgl、及びCitの構造を以下に示す。

[0082]

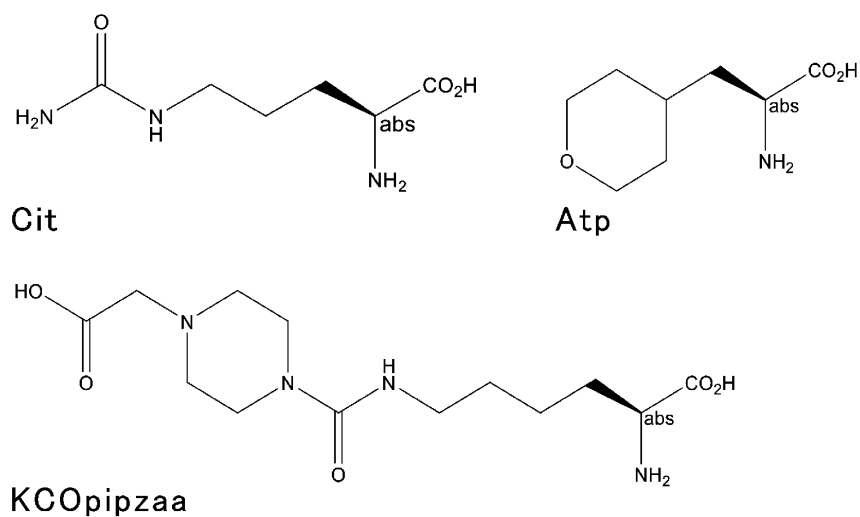
[化2]



[0083] 前記第一の実施形態のペプチドにおいて、X3は、L-アスパラギン酸（D）残基、L-アルギニン（R）残基、L-シトルリン（Cit）残基、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（KCOpipzaa）残基、（2S）-2-アミノ-3-（オキサノ-4-イル）プロパン酸（Atp）残基、L-アスパラギン（N）残基、又はL-セリン（S）残基であることが好ましい。

Cit、Atp、及びKCOpipzaaの構造を以下に示す。

[0084] [化3]

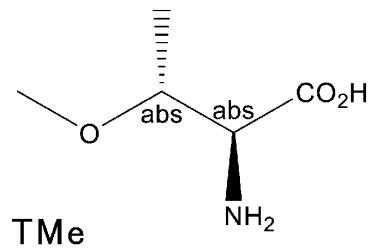


[0085] 前記第一の実施形態のペプチドにおいて、X4は、L-イソロイシン（I

）残基又はO-メチル-L-スレオニン（TMe）残基であることが好ましい。

TMeの構造を以下に示す。

[0086] [化4]

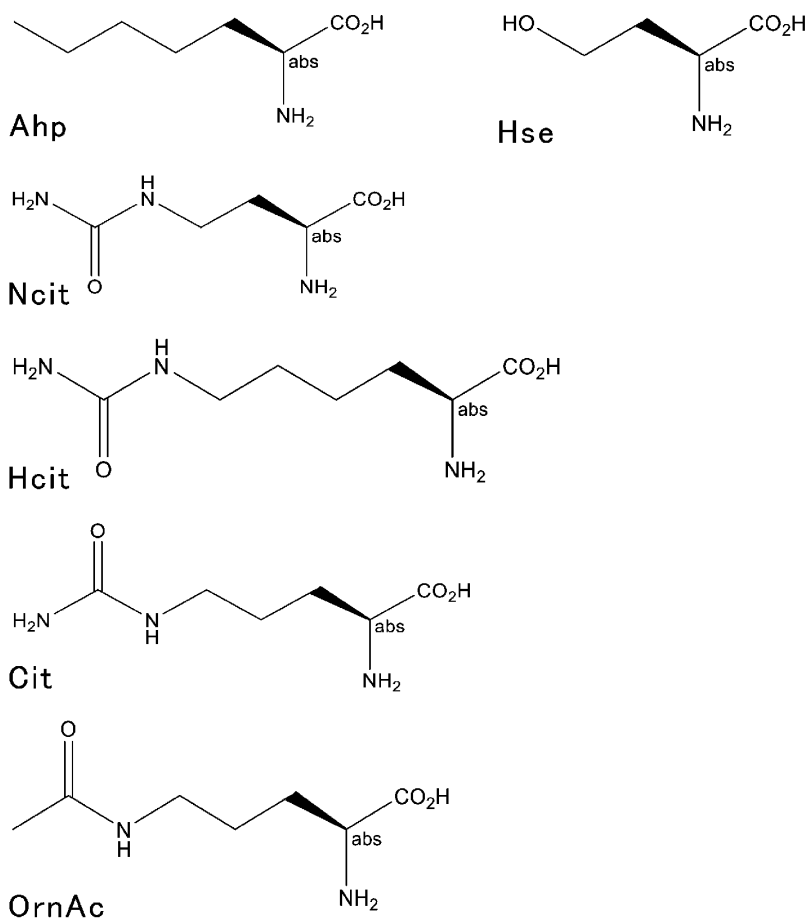


[0087] 前記第一の実施形態のペプチドにおいて、X5は、L-アルギニン（R）残基、L-グルタミン酸（E）残基、（S）-2-アミノヘプタン酸（Ahp）残基、L-セリン（S）残基、L-ホモセリン（Hse）残基、L-シトルリン（Cit）残基、N6-カルバモイル-L-リシン（Hcit）残基、（S）-2-アミノ-4-ウレイドブタン酸（Ncit）残基、又は（S）-5-アセトアミド-2-アミノペンタン酸（OrnAc）残基であることが好ましい。

Ahp、Hse、Ncit、Hcit、Cit、及びOrnAcの構造を以下に示す。

[0088]

[化5]

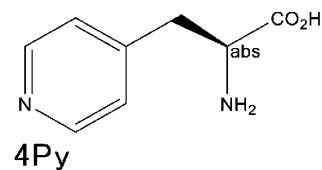
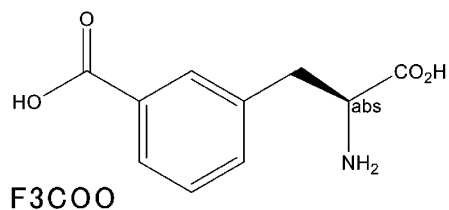
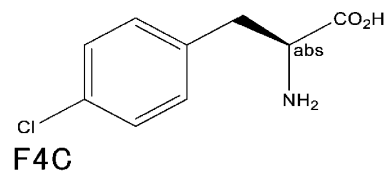
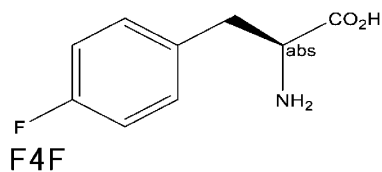


[0089] 前記第一の実施形態のペプチドにおいて、X 6は、L-チロシン (Y) 残基、メチル-L-チロシン (Me Y) 残基、(S)-2-アミノ-3-(4-フルオロフェニル)プロパン酸 (F 4 F) 残基、(S)-2-アミノ-3-(4-クロロフェニル)プロパン酸 (F 4 C) 残基、(S)-2-アミノ-3-(ピリジン-4-イル)プロパン酸 (4 P y) 残基、又は (S)-3-(2-アミノ-2-カルボキシエチル)安息香酸 (F 3 C O O) 残基であることが好ましい。

以下に F 4 F、F 4 C、F 3 C O O、及び 4 P y の構造を以下に示す。

[0090]

[化6]

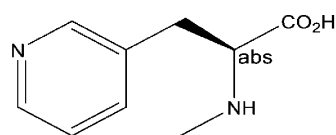


[0091] 前記第一の実施形態のペプチドにおいて、X7は、メチル-L-フェニルアラニン (MeF) 残基、(S)-2-(メチルアミノ)-3-(ピリジン-3-イル)プロパン酸 (Me3Py) 残基、(S)-2-(メチルアミノ)-3-(ピリジン-4-イル)プロパン酸 (Me4Py) 残基、(S)-3-(2-カルボキシ-2-(メチルアミノ)エチル)安息香酸 (MeF3COO) 残基、(S)-4-(2-カルボキシ-2-(メチルアミノ)エチル)安息香酸 (MeF4COO) 残基、又は (S)-2-(メチルアミノ)-3-(テトラヒドロ-2H-ピラン-4-イル)プロパン酸 (MeAtP) 残基であることが好ましい。

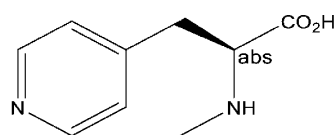
Me3Py、Me4Py、MeF3COO、MeF4COO、及びMeAtPの構造を以下に示す。

[0092]

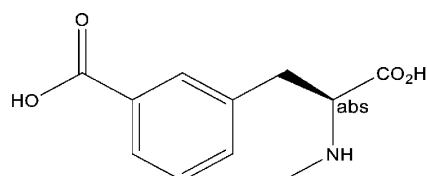
[化7]



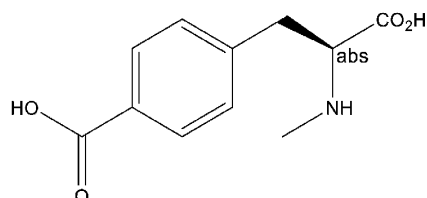
Me3Py



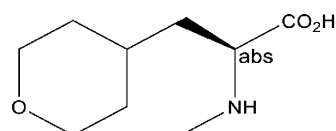
Me4Py



MeF3COO



MeF4COO



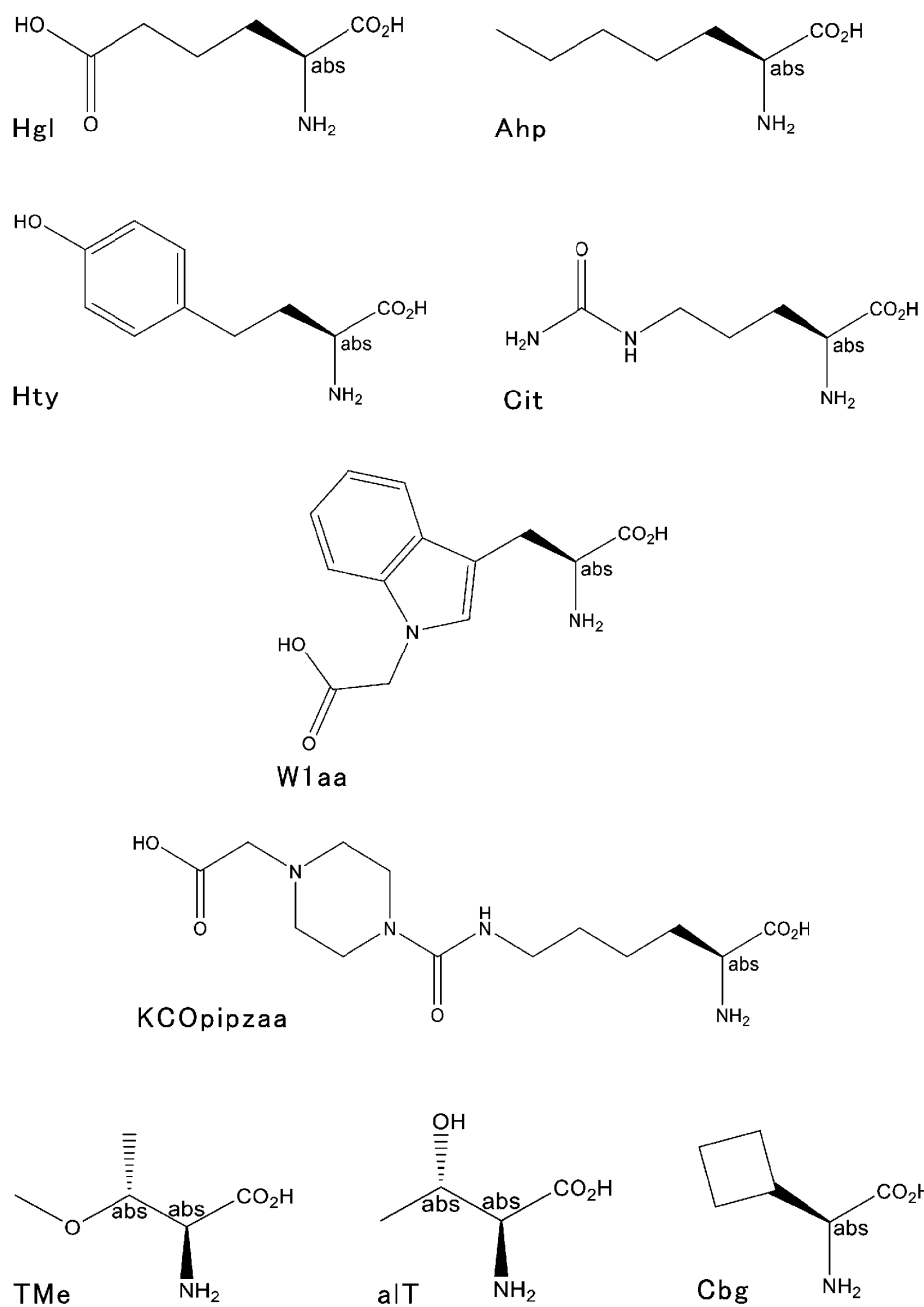
MeAtp

[0093] 前記第一の実施形態のペプチドにおいて、X8は、L-グルタミン (Q) 残基、L-バリン (V) 残基、L-2-アミノアジピン酸 (Hgl) 残基、1-(カルボキシメチル)-L-トリプトファン (W1aa) 残基、(S)-2-アミノヘプタン酸 (Ahp) 残基、ホモ-L-チロシン (Hty) 残基、L-スレオニン (T) 残基、アロ-スレオニン (alT) 残基、L-シトルリン (Cit) 残基、N6-(4-(カルボキシメチル)ピペラジーン-1-カルボニル)-L-リシン (KCOpipzaa) 残基、(S)-2-アミノ-2-(テトラヒドロ-2H-ピラン-4-イル)酢酸 (Gthp) 残基、(S)-2-アミノ-2-(1-(カルボキシメチル)ピペリジン-4-イル)酢酸 (G4pipaa) 残基、(S)-2-アミノ-2-シクロブチル酢酸 (Cbg) 残基、(S)-2-アミノ-2-シクロヘキシル酢酸 (Chg) 残基又はO-メチルスレオニン (TMe) 残基であることが好ましい。

Hgl、Ahp、Hty、Cit、W1aa、KCOpipzaa、TMe、alT、Cbg、Gthp、G4pipaa、及びChgの構造を以下

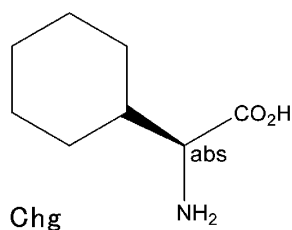
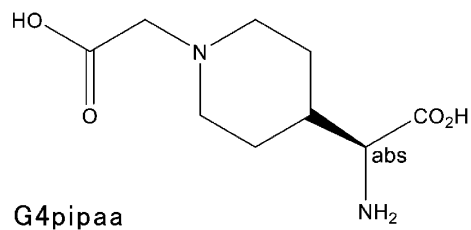
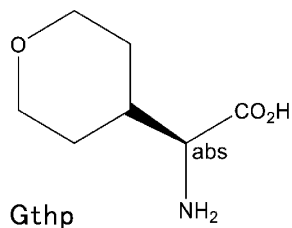
に示す。

[0094] [化8A]



[0095]

[化8B]

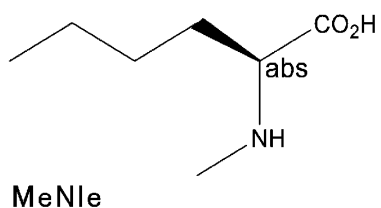
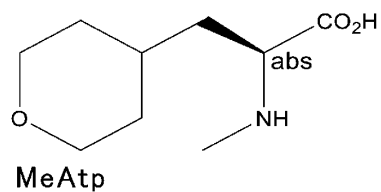
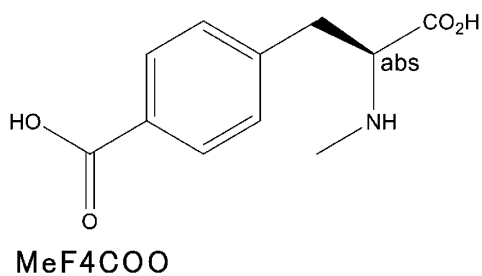
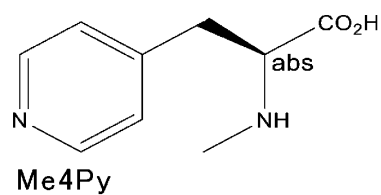
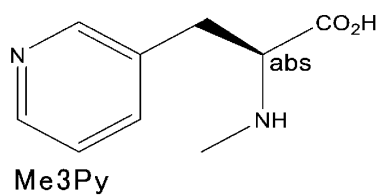


[0096] 前記第一の実施形態のペプチドにおいて、X10は、メチル-L-フェニルアラニン (MeF) 残基、(S)-2-(メチルアミノ)ヘキサン酸 (MeNie) 残基、(S)-2-(メチルアミノ)-3-(ピリジン-3-イル)プロパン酸 (Me3Py) 残基、(S)-2-(メチルアミノ)-3-(ピリジン-4-イル)プロパン酸 (Me4Py) 残基、(S)-4-(2-カルボキシ-2-(メチルアミノ)エチル)安息香酸 (MeF4COO) 残基、又は (S)-2-(メチルアミノ)-3-(テトラヒドロ-2H-ピラン-4-イル)プロパン酸 (MeAtp) 残基であることが好ましい。

Me3Py、Me4Py、MeF4COO、MeAtp、及びMeNieの構造を以下に示す。

[0097]

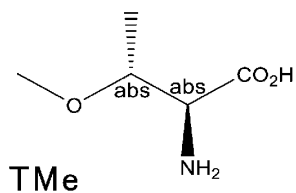
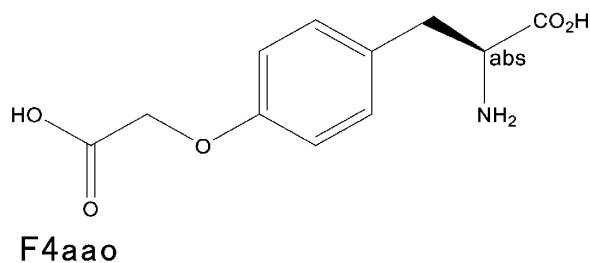
[化9]



[0098] 前記第一の実施形態のペプチドにおいて、X11は、L-イソロイシン（I）残基、L-チロシン（Y）残基、（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（F4aao）残基、又はO-メチル-L-スレオニン（TMe）残基であることが好ましい。

F4aao及びTMeの構造を以下に示す。

[0099] [化10]

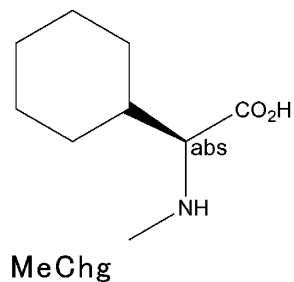


[0100] 前記第一の実施形態のペプチドにおいて、X12は、L-バリン（V）残

基、メチル-L-バリン (MeV) 残基、又はN-メチル-L-シクロヘキシルグリシン (MeChg) 残基であることが好ましい。

MeChgの構造を以下に示す。

[0101] [化11]



[0102] 前記第一の実施形態のペプチドにおいて、X13は、グリシン (G) 残基、D-アラニン (da) 残基、又はD-セリン (ds) 残基であることが好ましい。

[0103] 前記第一の実施形態のペプチドにおいて、式A2で示されるアミノ酸配列、又は式A2で示されるアミノ酸配列において1番目、2番目、3番目、4番目、5番目、6番目、7番目、8番目、10番目、11番目、12番目及び13番目のアミノ酸残基からなる群から選択される1～12個のアミノ酸残基において少なくとも1個のアミノ酸残基が、置換、欠失、付加又は挿入されたアミノ酸配列、を含むペプチドであることが好ましい。なお、式A2において、アミノ酸配列はN末端側からC末端側に記述されている。

[0104] A2 : df-S-D-I-R-Y-MeF-Q-T-MeF-I-V-G-C
(配列番号164)

[0105] 但し、

dfは、D-フェニルアラニン残基であり、

Sは、L-セリン残基であり、

Dは、L-アスパラギン酸残基であり、

Iは、L-イソロイシン残基であり、

Rは、L-アルギニン残基であり、

Yは、L-チロシン残基であり、

Me Fは、メチル-L-フェニルアラニン残基であり、

Qは、L-グルタミン残基であり、

Tは、L-スレオニン残基であり、

Vは、L-バリン残基であり、

Gは、グリシン残基であり、

Cは、L-システイン残基である。

[0106] 前記第一の実施形態のペプチドにおいて、C末端にさらにグリシン残基を有することが好ましい。

[0107] 前記第一の実施形態のペプチドにおいて、環状ペプチドであることが好ましい。

[0108] 前記第一の実施形態のペプチドにおいて、環状ペプチドである場合は、クロロアセチル化したアミノ酸に由来するアミノ酸残基と、前記ペプチドに含まれるL-システイン残基とが結合された環状構造を有することが好ましい。

[0109] 環状ペプチドとは、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。なお、本明細書においては、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や、ラッセペプチド状構造を有するもの等をも包含される。すなわち、本明細書において環状ペプチドは、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。

[0110] 本実施形態のペプチドの環化のためにアミノ酸の一部を改変する場合がある。本実施形態のペプチドは、そのような一部の改変がなされたアミノ酸を含むペプチドも包含する。環化のための改変の例として、N末端に位置するアミノ酸にクロロアセチル基を付加し、ペプチド中のシステイン残基と結合し環化するような場合がある。クロロアセチル基が付加された各種（天然／非天然）アミノ酸を含むペプチドも本明細書におけるペプチドに包含される。

- [0111] 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ため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、ペプチドを環化させるという方法がとられてきた。ペプチドを環化すると、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。
- [0112] 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。これに限られるものではないが、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（Goto, Y. 他、ACS Chem. Biol., 2008年、第3巻、p. 120-129）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、ペプチド中にシステイン残基を配置しておくことによっても環化できる。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、結合して環状構造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化してもよい。あるいは、N末端にシクロアミドを有するペプチドを合成し、ペプチド中にL-2-アミノアジピン酸残基を配置し、それらの間で結合することによって、環化してもよい。このように、公知の環化方法であれば、特に制限されず用いることができる。
- [0113] 前記第一の実施形態のペプチドにおいて、さらに、付加的なアミノ酸残基を含むことが好ましい。この場合の付加的なアミノ酸残基は特に限定されない。
- [0114] 前記第一の実施形態のペプチドにおいて、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が、総アミノ酸

残基（環状構造を成すペプチドに含まれるアミノ酸残基数をいい、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る場合は、それらのアミノ酸は含めない）が、20残基以内であることが好ましい。好ましいペプチド長は、アミノ酸残基が6以上、7以上、8以上、9以上、10以上、11以上であり、好ましくはアミノ酸残基が19以下、18以下、である。更に好ましいペプチド長は、アミノ酸残基が13以上16以下であり、最も好ましくはアミノ酸が14又は15である。

[0115] 前記第一の実施形態のペプチドにおいて、Fzd受容体に結合性を有することが好ましい。

前記Fzd受容体は、Fzd受容体2、Fzd受容体7及びFzd受容体8からなる群から選択される少なくとも1つであることが好ましい。

[0116] 前記第一の実施形態のペプチドにおいて、式A3で示されるアミノ酸配列からなるペプチドであることが好ましい。

A3 : C l A c - X 1 - X 2 - X 3 - X 4 - X 5 - X 6 - X 7 - X 8 - X 9
- X 1 0 - X 1 1 - X 1 2 - X 1 3 - X 1 4

但し、C l A cはクロロアセチル基であり、X1、X2、X3、X4、X5、X6、X7、X8、X9、X10、X11、X12、X13、及びX14は表1に示すアミノ酸残基である。表1中のアミノ酸残基の略号は上述したものである。

[0117]

[表1A]

表1 (1 of 4)															
配列番号	X1	X2	X3	X4	X5	X6	X7	X8	X9	X10	X11	X12	X13	X14	X15
1	df	S	D	I	R	Y	MeF	Q	T	MeF	I	V	G	C	G
2	dcit	S	D	I	R	Y	MeF	Q	T	MeF	I	V	G	C	G
3	dy	S	D	I	R	Y	MeF	Q	T	MeF	I	V	G	C	G
4	df4F	S	D	I	R	Y	MeF	Q	T	MeF	I	V	G	C	G
5	df	S	D	I	R	MeY	MeF	Q	T	MeF	I	V	G	C	G
6	df	S	D	I	R	Y	MeF	Q	T	MeF	I	MeV	G	C	G
7	df	S	D	I	R	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G
8	df	Knor	D	I	R	Y	MeF	Q	T	MeF	I	V	G	C	G
9	df	S	R	I	R	Y	MeF	Q	T	MeF	I	V	G	C	G
10	df	S	Cit	I	R	Y	MeF	Q	T	MeF	I	V	G	C	G
11	df	S	KC0pipzaa	I	R	Y	MeF	Q	T	MeF	I	V	G	C	G
12	df	S	Atp	I	R	Y	MeF	Q	T	MeF	I	V	G	C	G
13	df	S	D	I	E	Y	MeF	Q	T	MeF	I	V	G	C	G
14	df	S	D	I	Ahp	Y	MeF	Q	T	MeF	I	V	G	C	G
15	df	S	D	I	R	Y	MeF	HgI	T	MeF	I	V	G	C	G
16	df	S	D	I	R	Y	MeF	W1aa	T	MeF	I	V	G	C	G
17	df	S	D	I	R	Y	MeF	V	T	MeF	I	V	G	C	G
18	df	S	D	I	R	Y	MeF	Ahp	T	MeF	I	V	G	C	G
19	df	S	D	I	R	Y	MeF	Hty	T	MeF	I	V	G	C	G
20	df	S	D	I	R	Y	MeF	T	T	MeF	I	V	G	C	G

[表1B]

表1 (2 of 4)

配列 番号	X1	X2	X3	X4	X5	X6	X7	X8	X9	X10	X11	X12	X13	X14	X15
21	df	S	D	I	R	Y	MeF	aIT	T	MeF	I	V	G	C	G
22	df	S	D	I	R	Y	MeF	Cit	T	MeF	I	V	G	C	G
23	df	S	D	I	R	Y	MeF	KCOpipzaa	T	MeF	I	V	G	C	G
24	df	S	D	I	R	Y	MeF	Q	T	MeNle	I	V	G	C	G
25	df	S	D	I	R	Y	MeF	Q	T	MeF	Y	V	G	C	G
26	df	S	D	I	R	Y	MeF	Q	T	MeF	F4aao	V	G	C	G
27	d4py	S	D	I	R	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G
28	d3py	S	D	I	R	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G
29	df30Me	S	D	I	R	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G
30	df40Me	S	D	I	R	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G
31	df	N	D	I	R	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G
32	df	D	D	I	R	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G
33	df	Hgl	D	I	R	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G
34	df	Cit	D	I	R	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G
35	df	S	Atp	I	R	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G
36	df	S	N	I	R	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G
37	df	S	S	I	R	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G
38	df	S	D	TMe	R	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G
39	df	S	D	I	S	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G
40	df	S	D	I	Hse	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G

[表1C]

表1 (3 of 4)														
配列番号	X1	X2	X3	X4	X5	X6	X7	X8	X9	X10	X11	X12	X13	X14 X15
41	df	S	D	I	Cit	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C G
42	df	S	D	I	Hcit	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C G
43	df	S	D	I	Ncit	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C G
44	df	S	D	I	OrnAc	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C G
45	df	S	D	I	R	F4F	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C G
46	df	S	D	I	R	F4C	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C G
47	df	S	D	I	R	4Py	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C G
48	df	S	D	I	R	F3C00	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C G
49	df	S	D	I	R	Y	Me3Py	V	T	MeF	I	MeV	G	C G
50	df	S	D	I	R	Y	Me4Py	V	T	MeF	I	MeV	G	C G
51	df	S	D	I	R	Y	MeF3C00	V	T	MeF	I	MeV	G	C G
52	df	S	D	I	R	Y	MeF4C00	V	T	MeF	I	MeV	G	C G
53	df	S	D	I	R	Y	MeAtp	V	T	MeF	I	MeV	G	C G
54	df	S	D	I	R	Y	MeF	Gthp	T	MeF	I	MeV	G	C G
55	df	S	D	I	R	Y	MeF	G4pipaa	T	MeF	I	MeV	G	C G
56	df	S	D	I	R	Y	MeF	Cbg	T	MeF	I	MeV	G	C G
57	df	S	D	I	R	Y	MeF	Chg	T	MeF	I	MeV	G	C G
58	df	S	D	I	R	Y	MeF	TMe	T	MeF	I	MeV	G	C G
59	df	S	D	I	R	Y	MeF	V	T	Me3Py	I	MeV	G	C G
60	df	S	D	I	R	Y	MeF	V	T	Me4Py	I	MeV	G	C G

[表1D]

表1(4 of 4)

配列番号	X1	X2	X3	X4	X5	X6	X7	X8	X9	X10	X11	X12	X13	X14	X15
61	df	S	D	I	R	Y	MeF	V	T	MeF4C00	I	MeV	G	C	G
62	df	S	D	I	R	Y	MeF	V	T	MeAtp	I	MeV	G	C	G
63	df	S	D	I	R	Y	MeF	V	T	MeF	TMe	MeV	G	C	G
64	df	S	D	I	R	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeChg	G	C	G
65	df	S	D	I	R	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	da	C	G
66	df	S	D	I	R	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	ds	C	G
67	df	S	Atp	I	R	Y	MeF	V	T	MeF	I	V	G	C	G
68	df	S	Cit	I	R	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G
69	df	S	Atp	I	R	Y	MeF	V	T	MeF	Y	MeV	G	C	G
70	df	Hgl	D	I	R	Y	MeF	V	T	Me4Py	I	MeV	G	C	G
71	df	Hgl	D	I	R	Y	MeF3C00	V	T	Me4Py	I	MeV	G	C	G
72	df	Hgl	D	I	Cit	Y	MeF3C00	V	T	Me4Py	I	MeV	G	C	G
73	df	Hgl	D	I	Cit	Y	MeF3C00	TMe	T	Me4Py	I	MeV	ds	C	G
74	df	S	D	I	R	Y	MeF	V	T	Me4Py	I	MeV	ds	C	G
75	df	Hgl	D	I	R	Y	MeF	V	T	Me4Py	I	MeV	ds	C	G
76	df	S	Cit	I	R	Y	MeF	V	T	Me4Py	I	MeV	ds	C	G
77	df	Hgl	D	I	R	Y	MeF3C00	V	T	Me4Py	I	MeV	ds	C	G
78	df	Hgl	D	I	Cit	Y	MeF3C00	V	T	Me4Py	I	MeV	ds	C	G

[0121] 〈第二の実施形態〉

本発明のペプチドの第二の実施形態は、式B 1 で示されるアミノ酸配列、

又は式 B 1 で示されるアミノ酸配列において 1 若しくは複数個のアミノ酸残基が、置換、欠失、付加又は挿入されたアミノ酸配列、を含むペプチドである。なお、式 B 1 において、アミノ酸配列は N 末端側から C 末端側に記述されている。

[0122] B 1 : Y 1 - Y 2 - Y 3 - Y 4 - Y 5 - Y 6 - Y 7 - Y 8 - Y 9 - Y 1 0 -
Y 1 1 - Y 1 2 - Y 1 3 - Y 1 4

[0123] 但し、

Y 1 は、置換されていてもよい L - フェニルアラニン (F) 残基であり、

Y 2 は、置換されていてもよい L - アルギニン (R) 残基であり、

Y 3 は、置換されていてもよい L - トリプトファン (W) 残基又は置換されていてもよい (S) - 2 - アミノ - 3 - (ナフタレン - 1 - イル) プロパン酸 (N a l 1) 残基であり、

Y 4 は、酸性アミノ酸残基又は中性アミノ酸残基であり、

Y 5 は、置換されていてもよい芳香族アミノ酸残基、脂肪族アミノ酸残基又は L - プロリン (P) 残基であり、

Y 6 は、置換されていてもよい脂肪族アミノ酸残基であり、

Y 7 は、N - アルキル化芳香族アミノ酸残基であり、

Y 8 は、側鎖にヒドロキシ基、カルボキシ基、又はアミド基を有するアミノ酸に由来するアミノ酸残基であり、

Y 9 は、任意のアミノ酸残基であり、

Y 1 0 は、置換されていてもよい L - トリプトファン (W) 残基であり、

Y 1 1 は、置換されていてもよい L - アスパラギン (N) 残基又はグルタミン (Q) 残基であり、

Y 1 2 は、置換されていてもよい (S) - 1 , 2 , 3 , 4 - テトラヒドロイソキノリン - 3 - カルボン酸 (T i c) 残基であり、

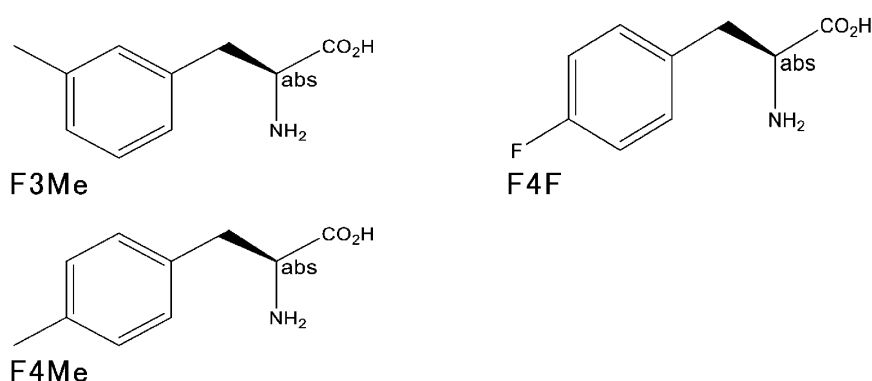
Y 1 3 は、置換されていてもよい中性アミノ酸残基、又は酸性アミノ酸残基であり、

Y 1 4 は、L - システイン (C) 残基である。

[0124] 前記第二の実施形態のペプチドにおいて、Y 1 は、L-フェニルアラニン (F) 残基、(S)-2-アミノ-3-(4-フルオロフェニル) プロパン酸 (F 4 F) 残基、(S)-2-アミノ-3-(p-トルイル) プロパン酸 (F 4 Me) 残基、又は (S)-2-アミノ-3-(m-トルイル) プロパン酸 (F 3 Me) 残基であることが好ましい。

F 3 Me、F 4 F、及び F 4 Me の構造を以下に示す。

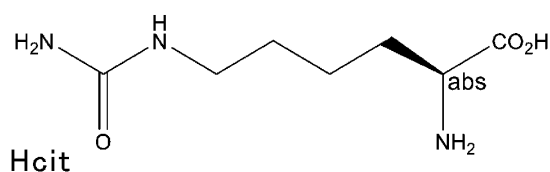
[0125] [化12]



[0126] 前記第二の実施形態のペプチドにおいて、Y 2 は、L-アルギニン (R) 残基、又は N 6-カルバモイル-L-リシン (H c i t) 残基であることが好ましい。

H c i t の構造を以下に示す。

[0127] [化13]

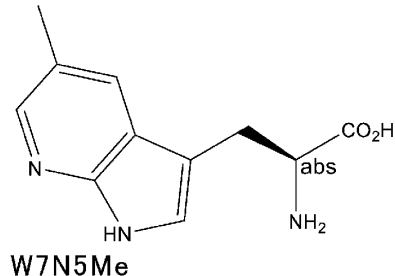
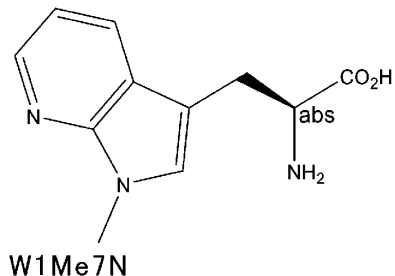
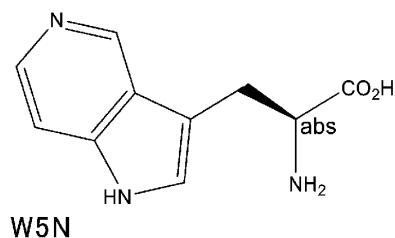
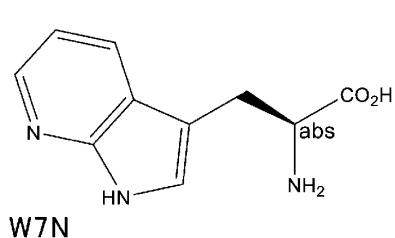


[0128] 前記第二の実施形態のペプチドにおいて、Y 3 は、L-トリプトファン (W) 残基、メチル-L-トリプトファン (Me W) 残基、(S)-2-アミノ-3-(1H-ピロロ[2,3-b]ピリジン-3-イル) プロパン酸 (W 7 N) 残基、(S)-2-アミノ-3-(1H-ピロロ[3,2-c]ピリジン-3-イル) プロパン酸 (W 5 N) 残基、(S)-2-アミノ-3-

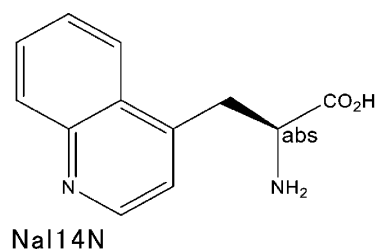
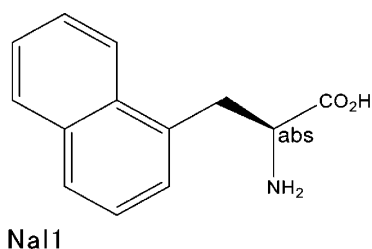
(1-メチル-1H-ピロロ[2,3-b]ピリジン-3-イル)プロパン酸(W1Me7N)残基、(S)-2-アミノ-3-(5-メチル-1H-ピロロ[2,3-b]ピリジン-3-イル)プロパン酸(W7N5Me)残基、(S)-2-アミノ-3-(ナフタレン-1-イル)プロパン酸(Na11)残基、又は(S)-2-アミノ-3-(キノリン-4-イル)プロパン酸(Na114N)残基であることが好ましい。

W7N、W5N、W1Me7N、W7N5Me、Na11、及びNa114Nの構造を以下に示す。

[0129] [化14A]



[0130] [化14B]



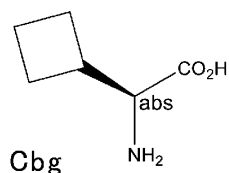
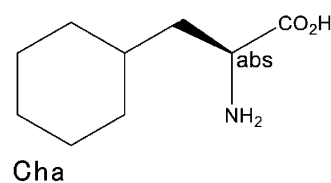
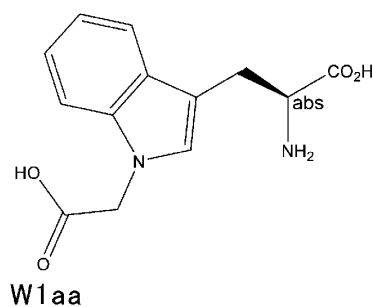
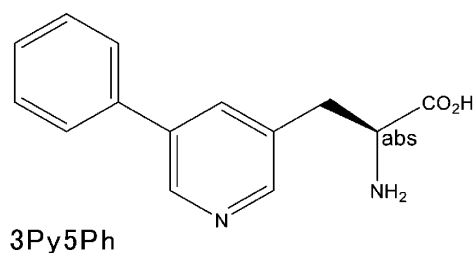
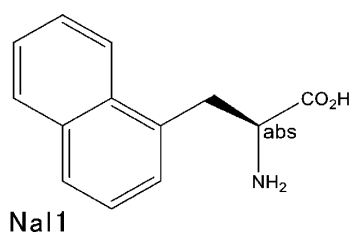
[0131] 前記第二の実施形態のペプチドにおいて、Y4は、L-アスパラギン酸(D)残基、L-グルタミン酸(E)残基、L-アスパラギン(N)残基、又

はL-グルタミン（Q）残基であることが好ましい。

[0132] 前記第二の実施形態のペプチドにおいて、Y5は、L-バリン（V）残基、メチル-L-バリン（MeV）残基、1-（カルボキシメチル）-L-トリプトファン（W1aa）残基、（S）-2-アミノ-3-シクロヘキシルプロパン酸（Cha）残基、（S）-2-アミノ-3-（ナフタレン-1-イル）プロパン酸（Na11）残基、（S）-2-アミノ-3-（5-フェニルピリジン-3-イル）プロパン酸（3Py5Ph）残基、（S）-2-アミノ-2-シクロブチル酢酸（Cbg）残基、又はL-プロリン（P）残基であることが好ましい。

Na11、3Py5Ph、W1aa、Cha、及びCbgの構造を以下に示す。

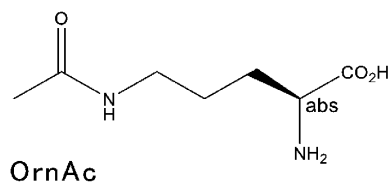
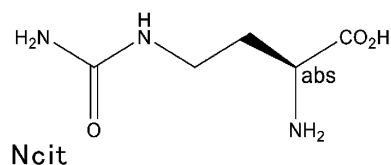
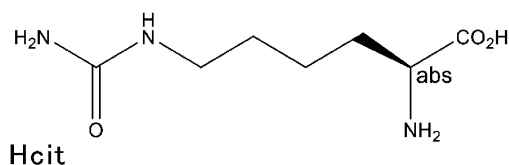
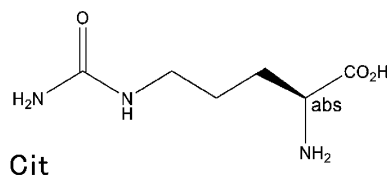
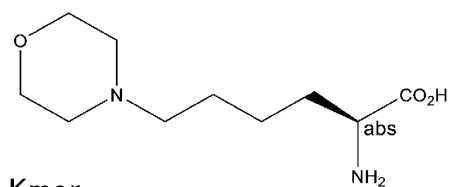
[0133] [化15]



[0134] 前記第二の実施形態のペプチドにおいて、Y 6は、L-アルギニン (R) 残基、メチル-L-アルギニン (Me R) 残基、(S)-2-アミノ-6-モルフォリノヘキサン酸 (K m o r) 残基、L-シトルリン (C i t) 残基、N 6-カルバモイル-L-リシン (H c i t) 残基、(S)-2-アミノ-4-ウレイドブタン酸 (N c i t) 残基、又は (S)-5-アセトアミド-2-アミノペンタン酸 (O r n A c) 残基であることが好ましい。

K m o r、C i t、H c i t、N c i t、及びO r n A cの構造を以下に示す。

[0135] [化16]

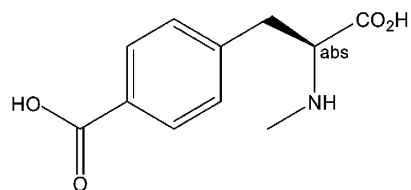


[0136] 前記第二の実施形態のペプチドにおいて、Y 7は、メチル-L-フェニルアラニン (Me F) 残基、(S)-4-(2-カルボキシ-2-(メチルアミノ)エチル)安息香酸 (Me F 4 C O O) 残基、メチル-L-チロシン (Me Y) 残基、(S)-2-(メチルアミノ)-3-(p-トルイル)プロパン酸 (Me F 4 Me) 残基、(S)-3-(4-クロロフェニル)-2-(メチルアミノ)プロパン酸 (Me F 4 C) 残基、(S)-3-(2-カルボキシ-2-(メチルアミノ)エチル)安息香酸 (Me F 3 C O O) 残基、(S)-2-(メチルアミノ)-3-(m-トルイル)プロパン酸 (Me F

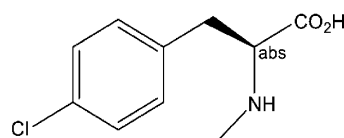
3 Me) 残基、又は (S) - 3 - (3 - クロロフェニル) - 2 - (メチルアミノ) プロパン酸 (Me F 3 C) 残基であることが好ましい。

Me F 4 C O O、Me F 4 C、Me F 4 Me、Me F 3 Me、Me F 3 C O O、及び Me F 3 C の構造を以下に示す。

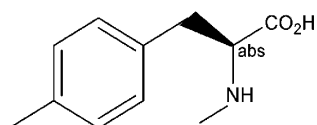
[0137] [化17]



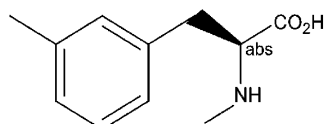
MeF4COO



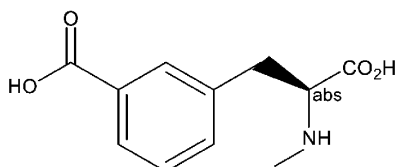
MeF4C



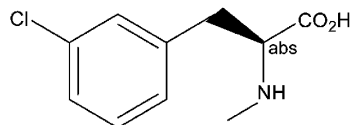
MeF4Me



MeF3Me



MeF3COO



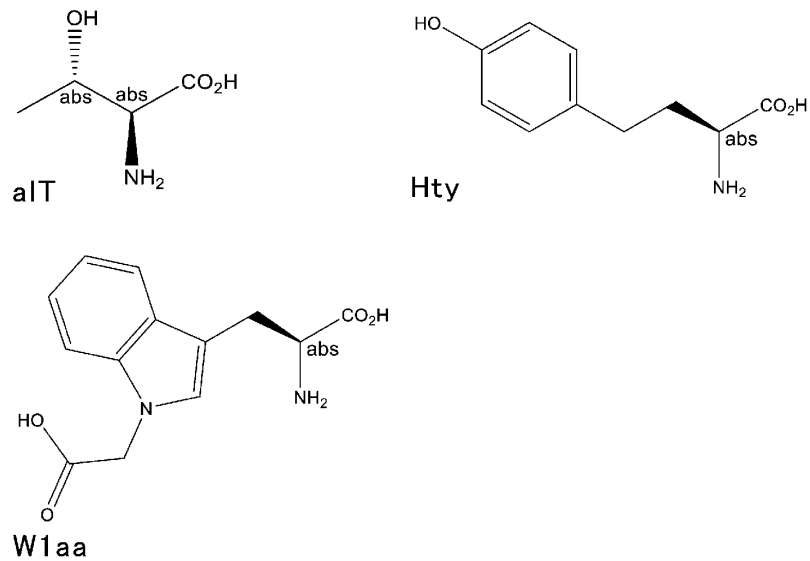
MeF3C

[0138] 前記第二の実施形態のペプチドにおいて、Y 8 は、L - セリン (S) 残基、1 - (カルボキシメチル) - L - トリプトファン (W 1 a a) 残基、ホモ - L - チロシン (H t y) 残基、アロースレオニン (a l T) 残基、L - スレオニン (T) 残基、L - アスパラギン (N) 残基、L - グルタミン (Q) 残基、L - アスパラギン酸 (D) 残基、又は L - グルタミン酸 (E) 残基であることが好ましい。

a l T、H t y、及び W 1 a a の構造を以下に示す。

[0139]

[化18]

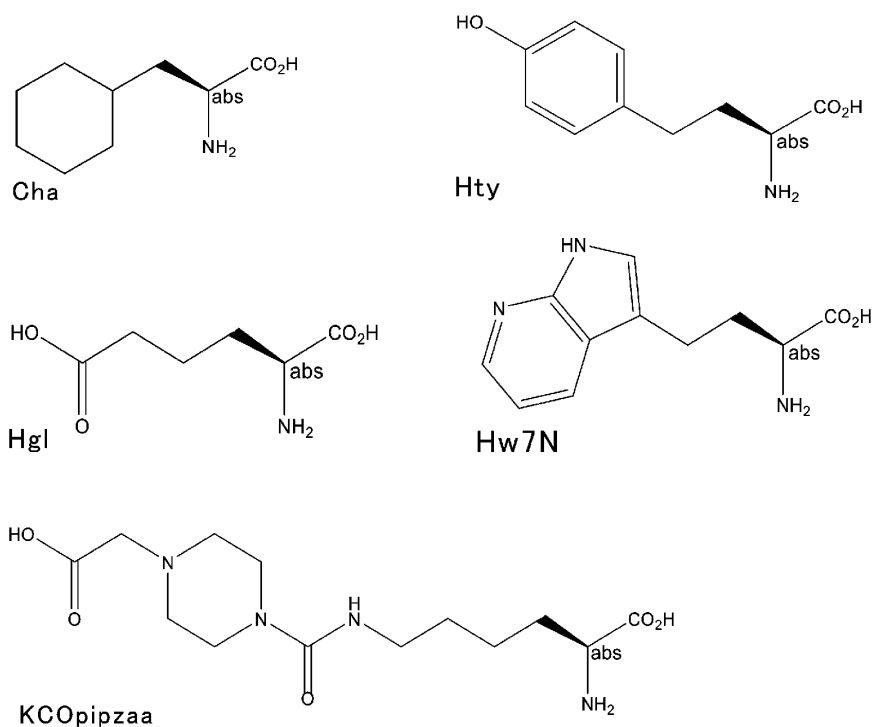


[0140] 前記第二の実施形態のペプチドにおいて、Y 9は、L-アスパラギン(N)残基、メチル-L-アスパラギン(MeN)残基、L-2-アミノアジピン酸(HgI)残基、(S)-2-アミノ-3-シクロヘキシルプロパン酸(Cha)残基、ホモ-L-チロシン(Hty)残基、(S)-2-アミノ-4-(1H-ピロロ[2,3-b]ピリジン-3-イル)ブタン酸(Hw7N)残基、N6-(4-(カルボキシメチル)ピペラジン-1-カルボニル)-L-リシン(KCOpipzaa)残基、L-グルタミン(Q)残基、L-アスパラギン酸(D)残基、又はL-グルタミン酸(E)残基であることが好ましい。

Cha、Hty、HgI、Hw7N、及びKCOpipzaaの構造を以下に示す。

[0141]

[化19]

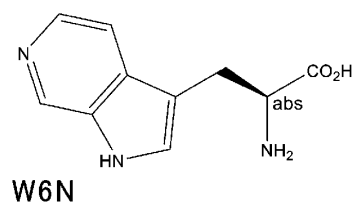
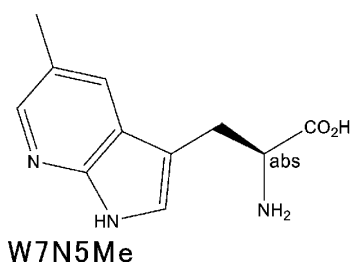
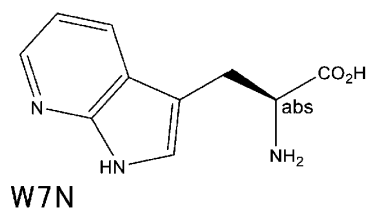
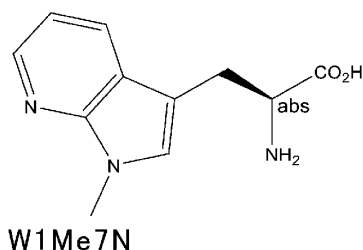


[0142] 前記第二の実施形態のペプチドにおいて、Y10は、L-トリプトファン(W)残基、(S)-2-アミノ-3-(1H-ピロロ[2,3-b]ピリジン-3-イル)プロパン酸(W7N)残基、(S)-2-アミノ-3-(1H-ピロロ[2,3-c]ピリジン-3-イル)プロパン酸(W6N)残基、(S)-2-アミノ-3-(1-メチル-1H-ピロロ[2,3-b]ピリジン-3-イル)プロパン酸(W1Me7N)残基、又は(S)-2-アミノ-3-(5-メチル-1H-ピロロ[2,3-b]ピリジン-3-イル)プロパン酸(W7N5Me)残基であることが好ましい。

W1Me7N、W7N、W7N5Me、及びW6Nの構造を以下に示す。

[0143]

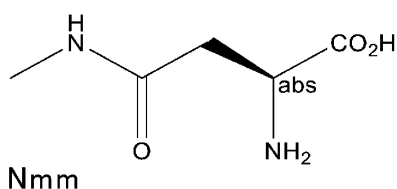
[化20]



[0144] 前記第二の実施形態のペプチドにおいて、Y 1 1 は、L-アスパラギン（N）残基、L-グルタミン（Q）残基、又は（2S）-2-アミノ-4-（メチルアミノ）-4-オキソブタン酸（Nmm）残基であることが好ましい。

Nmmの構造を以下に示す。

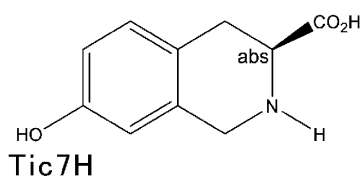
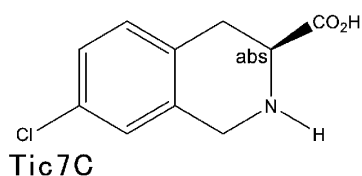
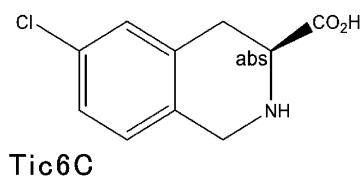
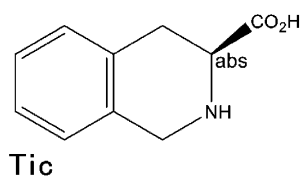
[0145] [化21]



[0146] 前記第二の実施形態のペプチドにおいて、Y 1 2 は、（S）-1, 2, 3, 4-テトラヒドロイソキノリン-3-カルボン酸（Tic）残基、（S）-6-クロロ-1, 2, 3, 4-テトラヒドロイソキノリン-3-カルボン酸（Tic6C）残基、（S）-7-ヒドロキシ-1, 2, 3, 4-テトラヒドロイソキノリン-3-カルボン酸（Tic7H）残基、又は（S）-7-クロロ-1, 2, 3, 4-テトラヒドロイソキノリン-3-カルボン酸（Tic7C）残基であることが好ましい。

Tic、Tic6C、Tic7C、及びTic7Hの構造を以下に示す。

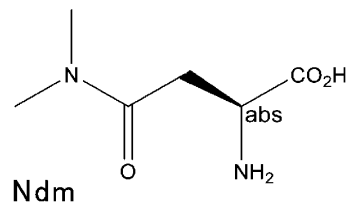
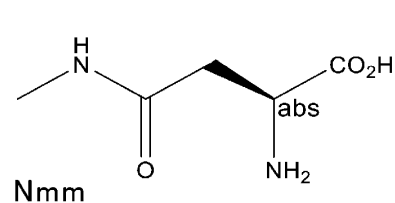
[0147] [化22]



[0148] 前記第二の実施形態のペプチドにおいて、Y13は、L-アスパラギン（N）残基、L-アスパラギン酸（D）残基、L-グルタミン（Q）残基、（2S）-2-アミノ-4-（メチルアミノ）-4-オキソブタン酸（Nmm）残基、又はN4，N4-ジメチル-L-アスパラギン（Ndm）残基であることが好ましい。

Nmm及びNdmの構造を以下に示す。

[0149] [化23]



[0150] 前記第二の実施形態のペプチドにおいて、式B2で示されるアミノ酸配列、又は式B2で示されるアミノ酸配列において1番目、2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番目及び13番目のアミノ酸残基からなる群から選択される1～13個のアミノ酸残基において少なくとも1個のアミノ酸残基が、置換、付加、欠失又は挿入されたアミノ酸配列を含む、ペプチドであることが好ましい。なお、式B2において、アミノ酸配列はN末端側からC末端側に記述されている

。

[0151] B 2 : F - R - W - D - V - R - M e F - S - N - W - N - T i c - N - C

(配列番号 1 6 5)

[0152] 但し、

F は、L - フェニルアラニン残基であり、

R は、L - アルギニン残基であり、

W は、L - トリプトファン残基であり、

D は、L - アスパラギン酸残基であり、

V は、L - バリン残基であり、

M e F は、メチル - L - フェニルアラニン残基であり、

S は、L - セリン残基であり、

T i c は、(S) - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロイソキノリン - 3 - カルボン酸残基であり、

N は、L - アスパラギン残基であり、

C は、L - システイン残基である。

[0153] 前記第二の実施形態のペプチドにおいて、C 末端にさらにグリシン残基を有することが好ましい。グリシン残基の個数は 1 個以上であれば特に限定されない。

[0154] 前記第二の実施形態のペプチドにおいて、環状ペプチドであることが好ましい。

前記第二の実施形態のペプチドにおいて、環状ペプチドである場合、クロロアセチル化したアミノ酸に由来するアミノ酸残基と、前記ペプチドに含まれる L - システイン残基とが結合された環状構造を有することが好ましい。

[0155] 前記第二の実施形態のペプチドにおいて、さらに、付加的なアミノ酸残基を含むことが好ましい。

付加的なアミノ酸残基は特に限定されない。

[0156] 前記第二の実施形態のペプチドにおいて、LRP に対する結合性を有することが好ましい。

前記L P Rは、L R P 5及びL R P 6からなる群から選択される少なくとも1つであることが好ましい。

[0157] 前記第二の実施形態のペプチドにおいて、D K K 1様活性を有することが好ましい。

[0158] 前記第二の実施形態のペプチドは、式B 3で示されるアミノ酸配列からなることが好ましい。

[0159] B 3 : C l A c - Y 1 - Y 2 - Y 3 - Y 4 - Y 5 - Y 6 - Y 7 - Y 8 - Y 9 - Y 1 0 - Y 1 1 - Y 1 2 - Y 1 3 - Y 1 4

[0160] 但し、C l A cはクロロアセチル基であり、Y 1、Y 2、Y 3、Y 4、Y 5、Y 6、Y 7、Y 8、Y 9、Y 1 0、Y 1 1、Y 1 2、Y 1 3、及びY 1 4は表2に示すアミノ酸残基である。表2中のアミノ酸残基の略号は上述したものである。

[0161]

[表2A]

表2(1 of 5)

配列 番号	Y1	Y2	Y3	Y4	Y5	Y6	Y7	Y8	Y9	Y10	Y11	Y12	Y13	Y14	Y15
79	F	R	W	D	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G
80	F4F	R	W	D	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G
81	F	R	MeW	D	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G
82	F	R	W	D	MeV	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G
83	F	R	W	D	V	MeR	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G
84	F	R	W	D	V	R	MeF	S	MeN	W	N	Tic	N	C	G
85	F	R	W7N	D	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G
86	F	R	W	D	W1aa	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G
87	F	R	W	D	Cha	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G
88	F	R	W	D	NaI1	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G
89	F	R	W	D	3Py5Ph	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G
90	F	R	W	D	V	Kmor	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G
91	F	R	W	D	V	R	MeF	W1aa	N	W	N	Tic	N	C	G
92	F	R	W	D	V	R	MeF	HTy	N	W	N	Tic	N	C	G
93	F	R	W	D	V	R	MeF	aIT	N	W	N	Tic	N	C	G
94	F	R	W	D	V	R	MeF	S	Hgl	W	N	Tic	N	C	G
95	F	R	W	D	V	R	MeF	S	Cha	W	N	Tic	N	C	G
96	F	R	W	D	V	R	MeF	S	HTy	W	N	Tic	N	C	G
97	F	R	W	D	V	R	MeF	S	Hw7N	W	N	Tic	N	C	G
98	F	R	W	D	V	R	MeF	S	KC0pipzaa	W	N	Tic	N	C	G

[表2B]

表2(2 of 5)

配列 番号	Y1	Y2	Y3	Y4	Y5	Y6	Y7	Y8	Y9	Y10	Y11	Y12	Y13	Y14	Y15
99	F	R	W	D	V	R	MeF	S	N	W7N	N	Tic	N	C	G
100	F	R	W	D	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic	D	C	G
101	F4Me	R	W	D	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G
102	F3Me	R	W	D	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G
103	F	Hcit	W	D	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G
104	F	R	W5N	D	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G
105	F	R	W7N	D	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G
106	F	R	W1Me7N	D	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G
107	F	R	W7N5Me	D	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G
108	F	R	Na1	D	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G
109	F	R	Na14N	D	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G
110	F	R	W	E	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G
111	F	R	W	N	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G
112	F	R	W	Q	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G
113	F	R	W	D	Gbg	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G
114	F	R	W	D	P	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G
115	F	R	W	D	V	Cit	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G
116	F	R	W	D	V	Hcit	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G
117	F	R	W	D	V	Ncit	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G
118	F	R	W	D	V	OrnAc	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G

[表2C]

表2(3 of 5)

配列番号	Y1	Y2	Y3	Y4	Y5	Y6	Y7	Y8	Y9	Y10	Y11	Y12	Y13	Y14	Y15
119	F	R	W	D	V	R	MeF4C00	S	N	W	N	Tic	N	C	G
120	F	R	W	D	V	R	MeY	S	N	W	N	Tic	N	C	G
121	F	R	W	D	V	R	MeF4Me	S	N	W	N	Tic	N	C	G
122	F	R	W	D	V	R	MeF4C	S	N	W	N	Tic	N	C	G
123	F	R	W	D	V	R	MeF3C00	S	N	W	N	Tic	N	C	G
124	F	R	W	D	V	R	MeF3Me	S	N	W	N	Tic	N	C	G
125	F	R	W	D	V	R	MeF3C	S	N	W	N	Tic	N	C	G
126	F	R	W	D	V	R	MeF	T	N	W	N	Tic	N	C	G
127	F	R	W	D	V	R	MeF	N	N	W	N	Tic	N	C	G
128	F	R	W	D	V	R	MeF	Q	N	W	N	Tic	N	C	G
129	F	R	W	D	V	R	MeF	D	N	W	N	Tic	N	C	G
130	F	R	W	D	V	R	MeF	E	N	W	N	Tic	N	C	G
131	F	R	W	D	V	R	MeF	S	Q	W	N	Tic	N	C	G
132	F	R	W	D	V	R	MeF	S	D	W	N	Tic	N	C	G
133	F	R	W	D	V	R	MeF	S	E	W	N	Tic	N	C	G
134	F	R	W	D	V	R	MeF	S	N	W6N	N	Tic	N	C	G
135	F	R	W	D	V	R	MeF	S	N	W1Me7N	N	Tic	N	C	G
136	F	R	W	D	V	R	MeF	S	N	W7N5Me	N	Tic	N	C	G
137	F	R	W	D	V	R	MeF	S	N	W	Q	Tic	N	C	G
138	F	R	W	D	V	R	MeF	S	N	W	Nmm	Tic	N	C	G

[表2D]

表2(4 of 5)

配列 番号	Y1	Y2	Y3	Y4	Y5	Y6	Y7	Y8	Y9	Y10	Y11	Y12	Y13	Y14	Y15
139	F	R	W	D	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic6C	N	C	G
140	F	R	W	D	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic7H	N	C	G
141	F	R	W	D	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic7C	N	C	G
142	F	R	W	D	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic	Q	C	G
143	F	R	W	D	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic	Nmm	C	G
144	F	R	W	D	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic	Ndm	C	G
145	F	R	W7N	D	V	R	MeF	S	N	W7N	N	Tic	N	C	G
146	F	R	W7N5Me	D	V	R	MeF	S	N	W7N	N	Tic	N	C	G
147	F	R	Na14N	D	V	R	MeF	S	N	W7N	N	Tic	N	C	G
148	F	R	W7N	D	Cbg	R	MeF	S	N	W7N	N	Tic	N	C	G
149	F	R	W7N	D	P	R	MeF	S	N	W7N	N	Tic	N	C	G
150	F	R	W7N	D	V	Kmor	MeF	S	N	W7N	N	Tic	N	C	G
151	F	R	W7N	D	V	R	MeF4C00	S	N	W7N	N	Tic	N	C	G
152	F	R	W7N	D	V	R	MeF3C00	S	N	W7N	N	Tic	N	C	G
153	F	R	W7N	D	V	R	MeF	E	N	W7N	N	Tic	N	C	G
154	F	R	W7N	D	V	R	MeF	S	E	W7N	N	Tic	N	C	G
155	F	R	W7N	D	V	R	MeF	S	N	W7N5Me	N	Tic	N	C	G
156	F	R	W7N	D	V	R	MeF	S	N	W7N	N	Tic7C	N	C	G
157	F	R	W7N	D	V	R	MeF	S	N	W7N	N	Tic	Nmm	C	G
158	F	R	W7N	D	V	R	MeF	S	N	W7N	N	Tic	D	C	G

[表2E]

表2(5 of 5)

配列 番号	Y1	Y2	Y3	Y4	Y5	Y6	Y7	Y8	Y9	Y10	Y11	Y12	Y13	Y14	Y15
159	F	R	W7N	D	V	R	MeF	E	E	W7N	N	Tic	N	C	G
160	F	R	W7N	D	V	R	MeF	E	E	W7N	N	Tic	D	C	G
161	F	R	W7N	D	V	R	MeF3C00	E	E	W7N	N	Tic	D	C	G
162	F	R	W7N	D	V	Kmor	MeF3C00	E	E	W7N	N	Tic	D	C	G
163	F	R	W7N	D	V	R	MeF3C00	S	E	W7N	N	Tic	D	C	G

[0166] [ペプチド複合体]

本発明のペプチド複合体は、第一のペプチドを含み、W n tシグナル活性化能を有する。また、本発明のペプチド複合体は、W n tシグナル活性化能に由来する細胞増殖能を有してもよい。

- [0167] 前記ペプチド複合体は、第一のペプチドとその他のペプチドや化合物を含むペプチド、ペプチド含有化合物、又はその薬学的に許容される塩である。前記ペプチド複合体は、第一のペプチドを1つ又は2つ以上（3つ以上又は4つ以上）含んでもよい。
- [0168] 前記ペプチド複合体は、さらに第一のペプチドとは異なる部分ペプチドを1又は2つ以上含んでもよい。前記ペプチド複合体は、第一のペプチドや部分ペプチドがリンカーを介して結合していることが好ましい。前記ペプチド複合体は、同一のアミノ酸配列を有するペプチドのみを含むホモマルチマーであってよい。前記ペプチド複合体は、異なるアミノ酸配列を有するペプチドを含むヘテロマルチマーであってよい。前記ペプチド複合体は、異なるアミノ酸配列を有する第一のペプチド及び第二のペプチドを有し、第一のペプチドと第二のペプチドがリンカーを介して結合するヘテロダイマーが好ましい。実施例に示された通り、第一のペプチドと第二のペプチドはリンカーを介したペプチド複合体構造をとることで、Wntシグナル活性化能を示す。
- [0169] 本発明のペプチド複合体は、第一のペプチドと、第二のペプチドと、第一のペプチドと第二のペプチドを接続するリンカーとからなるものであってもよい。この場合、第二のペプチドは、第一のペプチドと同一であっててもよいし、異なってもよい。
- [0170] 本発明のペプチド複合体の一実施形態は、第一のペプチド及び第二のペプチドを含むペプチド複合体であって、前記第一のペプチドは、前記第一の実施形態のペプチドであり、前記第二のペプチドは、前記第二の実施形態のペプチドである。
- [0171] 前記ペプチド複合体は、前記第一のペプチドと、前記第二のペプチドと、前記第一のペプチド及び前記第二のペプチドを接続するリンカーとからなることが好ましい。
- [0172] 前記リンカーは、前記ペプチド複合体において複数のペプチドを互いにつながり構造体であっててもよい。前記リンカーとしては、例えば、アミノ酸リンカー（ペプチドリinker）、化学リンカー、脂肪酸リンカー、核酸リンカー

、及び糖鎖リンカーが挙げられ、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。

[0173] 化学リンカーの例は、PEG (Polyethylene glycol)
リンカーである。

PEGリンカーは、1～36個のエチレングリコール単位からなるリン
カーであってよい。

[0174] また、前記リンカーは、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 $[G-G-G-G-S]_n$ （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ーリッチペプチドや、
米国特許第5,525,491号明細書に記載のセリンーリッチペプチドリ
ンカーを用いることができる。

[0175] 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。さらに、前記リンカーは、上記のリンカーの組合せであ
ってよい。例えば、アミノ酸リンカーとしてグリシン（G）ーLーリシン（
K）が結合し、さらに当該Lysの側鎖末端にPEGリンカーが結合した形
であってよい。また、リンカーは、PEGーアミノ酸ーPEGのように、ア
ミノ酸とPEGが交互に結合する構造をとっていてもよい。ここで、PEG
はPEGリンカーを意味する。

[0176] リンカーの別の例は、PEGリンカー部分に1～6個のアミノ酸が付加し
たリンカーである。このリンカーは、PEGリンカー部分の片方の端部にア
ミノ酸が付加した構造を有するものでもよいし、PEGリンカー部分の両端
にアミノ酸が付加した構造を有するものであってもよい。PEG部分に付加
するアミノ酸の好ましい例は、Lーリシン（K）であるものの、Lーリシン
（K）に限定されず、他のアミノ酸であってもよい。

[0177] リンカーの付加位置については、ペプチドのどこに付加されていてもよい
。例えば、ペプチドのC末端に位置しており、1番目のアミノ酸と結合し環

状構造を形成するL-システイン（C）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よい。限定するものではないが、前記リンカーは、C末端に位置するL-システイン（C）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ことが好ましい。

[0178] なお、例えば配列番号1～163で示されるアミノ酸配列において、15番目のグリシン（G）はリンカーに含まれるとみなすこともできる。好ましくは、15番目のグリシン（G）はリンカーに含まれる。配列番号1～163で示されるアミノ酸配列において1番目のアミノ酸が14番目のアミノ酸であるL-システイン（C）と結合した環状ペプチドであって、下記式に示される構造（下記式には、14番目のアミノ酸であるL-システイン（C）に付加された15番目のグリシンが含まれる）を介してダイマー構造を取っている場合においては、リンカー構造は、下記式に示される構造である。ダイマーは、第1のペプチドのC末端と第2のペプチドのC末端がリンカーを介して結合しているものが好ましい。

[0179]

[化25A]

リンカー構造番号	リンカー名称	構造
1	P08K_d	
2	click_P04K/c_P04K	
3	click_P04K_OH	
4	click_P08K	

[0180]

[化25B]

リンカー構造番号	リンカー名称	構造
5	click_P12K	
6	click_P04K_branch	
7	click_P08K_branch	

[0181]

[化25C]

リンカー 構造 番号	リンカー名称	構造
8	N0F	
9	tag	

[0182] 前記リンカーは、表3に記載のリンカーから選択されることも好ましい。

ただし、表 3 中、－c l i c k－はクリック・ケミストリーにより形成される結合を表す。

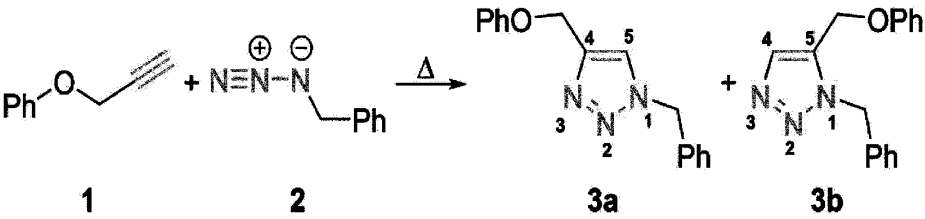
[0183] [表3]

表3

P08K_d
click_P04K/c_P04K
click_P04K_0H
click_P08K
click_P12K
click_P04K_branch
click_P08K_branch
NOF
tag

[0184] クリック・ケミストリーの一例としては、アルキンとアジド化合物が付加環化反応を起こし、1，2，3－トリアゾール環を形成するフーズゲン反応（下記式）が挙げられる。

[0185] [化26]



[0186] 本実施形態のペプチド複合体において、前記第 1 のペプチドが式 A 1 で示されるアミノ酸配列からなるペプチドであり、前記第 2 のペプチドが、式 B 1 で示されるアミノ酸配列からなるペプチドであることが好ましい。

[0187] A 1 : X 1－X 2－X 3－X 4－X 5－X 6－X 7－X 8－X 9－X 1 0－
X 1 1－X 1 2－X 1 3－X 1 4

[0188] 但し、式 A 1 において、

X 1 は、D-フェニルアラニン (d f) 残基であり、

X 2 は、L-セリン (S) 残基又はL-2-アミノアジピン酸 (H g l) 残基であり、

X 3 は、L-アスパラギン酸 (D) 残基、L-シトルリン (C i t) 残基又は (2 S) - 2-アミノ-3- (オキサン-4-イル) プロパン酸 (A t p) 残基であり、

X 4 は、L-イソロイシン (l) 残基であり、

X 5 は、L-アルギニン (R) 残基又はL-シトルリン (C i t) 残基であり、

X 6 は、L-チロシン (Y) 残基であり、

X 7 は、メチル-L-フェニルアラニン (M e F) 残基又は (S) - 3- (2-カルボキシ-2- (メチルアミノ) エチル) 安息香酸 (M e F 3 C O O) 残基であり、

X 8 は、L-グルタミン (Q) 残基、L-バリン (V) 残基、ホモ-L-チロシン (H t y) 残基、L-スレオニン (T) 残基、L-シトルリン (C i t) 残基又はO-メチル-L-スレオニン (T M e) 残基であり、

X 9 は、L-スレオニン (T) 残基であり、

X 1 0 は、メチル-L-フェニルアラニン (M e F) 残基又は (S) - 2- (メチルアミノ) - 3- (ピリジン-4-イル) プロパン酸 (M e 4 P y) 残基であり、

X 1 1 は、L-イソロイシン (l) 残基又はL-チロシン (Y) 残基であり、

X 1 2 は、L-バリン (V) 残基又はメチル-L-バリン (M e V) 残基であり、

X 1 3 は、グリシン (G) 残基又はD-セリン (d s) 残基であり、

X 1 4 は、L-システイン (C) 残基である。

[0189] B 1 : Y 1 - Y 2 - Y 3 - Y 4 - Y 5 - Y 6 - Y 7 - Y 8 - Y 9 - Y 1 0 -
Y 1 1 - Y 1 2 - Y 1 3 - Y 1 4

[0190] 但し、式B1において、

Y1は、L-フェニルアラニン(F)残基であり、

Y2は、L-アルギニン(R)残基であり、

Y3は、L-トリプトファン(W)残基又は(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(W7N)残基であり、

Y4は、L-アスパラギン酸(D)残基であり、

Y5は、L-バリン(V)残基であり、

Y6は、L-アルギニン(R)残基又は(S)-2-アミノ-6-モルフォリノヘキサン酸(Kmor)残基であり、

Y7は、メチル-L-フェニルアラニン(MeF)残基又は(S)-3-(2-カルボキシ-2-(メチルアミノ)エチル)安息香酸(MeF3COO)残基であり、

Y8は、L-セリン(S)残基又はL-グルタミン酸(E)残基であり、

Y9は、L-アスパラギン(N)残基、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(KCOpipzaa)残基又はL-グルタミン酸(E)残基であり、

Y10は、L-トリプトファン(W)残基又は(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(W7N)残基であり、

Y11は、L-アスパラギン(N)残基であり、

Y12は、(S)-1,2,3,4-テトラヒドロイソキノリン-3-カルボン酸(Tic)残基であり、

Y13は、L-アスパラギン(N)残基又はL-アスパラギン酸(D)残基であり、

Y14は、L-システイン(C)残基である。

[0191] 本実施形態のペプチド複合体は、Wntシグナルを活性化することが好ましい。

[0192] [医薬組成物]

本発明のまた別の実施形態は、医薬組成物である。

本実施形態の医薬組成物の一態様は、上述したペプチド及びその薬学的に許容される塩、エステル、又は溶媒和物からなる群から選択される少なくとも1種（以下、簡単のため単に「本発明のペプチド」ともいう。）を含む医薬組成物であり、別の態様は、上述したペプチド複合体及びその薬学的に許容される塩、エステル、又は溶媒和物からなる群から選択される少なくとも1種（以下、簡単のため単に「本発明のペプチド複合体」ともいう。）を含む医薬組成物であり、また別の態様は、上述したペプチド及びペプチド複合体並びにそれらの薬学的に許容される塩、エステル、又は溶媒和物からなる群から選択される少なくとも1種を含む医薬組成物である。

[0193] 前記医薬組成物は、本発明のペプチド又は本発明のペプチド複合体を有効成分として有効量含むものが好ましい。

前記医薬組成物の対象となる疾患は、F r i z z l e d受容体（F z d 2、F z d 7、F z d 8）及び／又はL R P（L R P 5、L R P 6）の発現又は活性の増加又は減少によって引き起こされる、それによって悪化する、又はそれ以外でそれに関連するあらゆる疾患、又はW n tシグナル伝達、若しくは前記F r i z z l e d受容体及び／又は前記L R Pを介して活性化される他のあらゆる細胞内シグナル伝達カスケードの増加又は減少によって引き起こされる、それによって悪化する、又はそれ以外でそれに関連するあらゆる疾患を指す。例えば、骨粗しょう症等の骨代謝疾患（M a n o l a g a s, S. C., “W n t signaling and osteoporosis”, M a t u r i t a s, 2014年、第78巻、第3号、p. 233-237を参照）、炎症性腸疾患（M o p a r t h i, L., 外1名、 “W n t signaling in intestinal inflammation”, D i f f e r e n t i a t i o n, 2019年、第108巻、p. 24-32を参照）、乳がん、大腸がん、肺がん、胃がん等の癌疾患（P a r k, W. - J., 外1名、 “A New Wave of Tar

getting ‘Undruggable’ Wnt Signaling for Cancer Therapy: Challenges and Opportunities”, Cells、2023年、第12巻、1110を参照)等を指すが、これに限定されるものではない。

[0194] 前記医薬組成物の投与形態は特に限定されず、経口的投与でも非経口的投与でもよい。非経口的投与としては、例えば、筋肉内注射、静脈内注射、皮下注射等の注射投与、経皮投与、経粘膜投与（経鼻、経口腔、経眼、経肺、経膈、経直腸）等が挙げられる。

[0195] 前記医薬組成物中のペプチドは、代謝及び排泄されやすい性質に鑑みて、各種の修飾を行うことができる。例えば、ポリペプチドにポリエチレングリコール（PEG）や糖鎖を付加して血中滞留時間を長くし、抗原性を低下させることができる。また、ポリ乳酸・グリコール（PLGA）などの生体内分解性の高分子化合物、多孔性ヒドロキシアパタイト、リポソーム、表面修飾リポソーム、不飽和脂肪酸で調製したエマルジョン、ナノパーティクル、ナノスフェア等を徐放化基剤として用い、これにポリペプチドを内包させてもよい。経皮投与する場合、弱い電流を皮膚表面に流して角質層を透過させることもできる（イオントフォoresis法）。

[0196] 前記医薬組成物は、有効成分をそのまま用いてもよいし、薬学的に許容できる担体、賦形剤、添加剤等を加えて製剤化してもよい。剤形としては、例えば、液剤（例えば注射剤）、分散剤、懸濁剤、錠剤、丸剤、粉末剤、坐剤、散剤、細粒剤、顆粒剤、カプセル剤、シロップ剤、トローチ剤、吸入剤、軟膏剤、点眼剤、点鼻剤、点耳剤、パップ剤等が挙げられる。

[0197] 前記製剤化は、例えば、賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、溶解剤、溶解補助剤、着色剤、矯味矯臭剤、安定化剤、乳化剤、吸収促進剤、界面活性剤、pH調整剤、防腐剤、抗酸化剤などを適宜使用し、常法により行うことができる。

[0198] 前記製剤化に用いられる成分の例としては、精製水、食塩水、リン酸緩衝液、デキストロース、グリセロール、エタノール等薬学的に許容される有機

溶剤、動植物油、乳糖、マンニトール、ブドウ糖、ソルビトール、結晶セルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、デンプン、コーンスターチ、無水ケイ酸、ケイ酸アルミニウムマグネシウム、コラーゲン、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、カルボキシビニルポリマー、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ポリアクリル酸ナトリウム、アルギン酸ナトリウム、水溶性デキストラン、カルボキシメチルスターチナトリウム、ペクチン、メチルセルロース、エチルセルロース、キサンタンガム、アラビアゴム、トラガント、カゼイン、寒天、ポリエチレングリコール、ジグリセリン、グリセリン、プロピレングリコール、ワセリン、パラフィン、ミリスチン酸オクチルドデシル、ミリスチン酸イソプロピル、高級アルコール、ステアリルアルコール、ステアリン酸、ヒト血清アルブミン、トレハロース、ポリソルベート等が挙げられるがこれらに限定されない。

[0199] 前記吸収促進剤は、難吸収性薬物の吸収を改善するために使用することができる。前記吸収促進剤として、ポリオキシエチレンラウリルエーテル類、ラウリル硫酸ナトリウム、サポニン等の界面活性剤；グリココール酸、デオキシコール酸、タウロコール酸等の胆汁酸塩；EDTA、サリチル酸類等のキレート剤；カプロン酸、カプリン酸、ラウリン酸、オレイン酸、リノール酸、混合ミセル等の脂肪酸類；エナミン誘導体、N-アシルコラーゲンペプチド、N-アシルアミノ酸、シクロデキストリン類、キトサン類、一酸化窒素供与体等を用いてもよい。

[0200] 前記丸剤又は錠剤は、糖衣、胃溶性、腸溶性物質で被覆することもできる。前記注射剤は、注射用蒸留水、生理食塩水、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、植物油、アルコール類等を含むことができる。さらに、湿潤剤、乳化剤、分散剤、安定化剤、溶解剤、溶解補助剤、防腐剤等を加えることができる。

[0201] 本発明の医薬組成物は、前記疾患に有用な他の医薬や治療法と併用投与してもよい。

[0202] 本発明の医薬組成物を哺乳類（例えば、ヒト、マウス、ラット、モルモット

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、 $30\mu\text{g}\sim 1000\text{mg}$ 、 $100\mu\text{g}\sim 500\text{mg}$ 、 $100\mu\text{g}\sim 100\text{mg}$ 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、 $1\mu\text{g}/\text{kg}\sim 3000\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $3\mu\text{g}/\text{kg}\sim 1000\mu\text{g}/\text{kg}$ を1回又は数回に分けて投与してもよい。

[0203] [細胞培養用組成物]

本発明のまた別の実施形態は、上述したペプチド複合体を含む、細胞培養に用いられる細胞培養用組成物である。

[0204] 前記ペプチド複合体は、Wntシグナル活性化能を有するため、細胞培養のための培地用試薬又は添加剤、好ましくは哺乳類細胞、さらに好ましくはヒト細胞の培養のための培地用試薬又は添加剤としても利用され得る。前記細胞培養のための培地用試薬又は添加剤は、細胞培養肉の生産のために細胞を培養するための培地用試薬又は添加剤であってもよい。

[0205] また、前記ペプチド複合体は、消化管オルガノイドや肺オルガノイド等を作製するための試薬又は添加剤としても使用され得る。前記オルガノイドは、非限定的に、多能性幹細胞から内胚葉、さらに各組織の細胞への分化誘導を経て作成される。この分化誘導にはWntシグナルが重要な役割を果たすことから上述したペプチド複合体は多能性幹細胞から内胚葉への分化誘導や各細胞への分化誘導ステップに使用され得るが、これに限定されるものではない(Yiangou, L., 外3名, “Human Pluripotent Stem Cell-Derived Endoderm for Modeling Development and Clinical Applications”, Cell Stem Cell, 2018年、第22巻、第4号、p. 485-499を参照)。

[0206] 前記培地は、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。前記培地は、血清培地であってよく、好ましくは無血清培地や低血清

培地である。

[0207] 前記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。

[0208] 前記培養用培地添加物が乾燥した固体の形態である場合には、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の溶媒に溶解し、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。

[0209] 前記細胞又は組織を培養するための培地中、又はこれから得られた細胞用の培地中の本発明のペプチド複合体の含有量は、例えば、組成物全量又は培地全量に対して、最終濃度として、約0.01～約10000nmol/L、好ましくは約0.1～約1000nmol/L、より好ましくは約0.5～約1000nmol/L、更に好ましくは約1～約100nmol/Lであり得る。

[0210] [医療用、診断用又は研究用に用いられる組成物]

本発明のまた別の実施形態は、医療用、診断用又は研究用に用いられる組成物である。本実施形態の医療用、診断用又は研究用に用いられる組成物は、上述したペプチド及びその薬学的に許容される塩、エステル、又は溶媒和物からなる群から選択される少なくとも1種（以下、簡単のため単に「本発明のペプチド」ともいう。）を含む医薬組成物であり、別の一態様は、上述したペプチド複合体及びその薬学的に許容される塩、エステル、又は溶媒和物からなる群から選択される少なくとも1種（以下、簡単のため単に「本発明のペプチド複合体」ともいう。）を含む組成物である。

[0211] 〈医療用に用いられる組成物〉

本実施形態の医療用に用いられる組成物（以下、単に「医療用組成物」ともいう。）は、本発明のペプチド及びペプチド複合体からなる群から選択される少なくとも1種を含む。

[0212] 前記医療用組成物は、本発明のペプチド又は本発明のペプチド複合体を有効成分として有効量含むものが好ましい。

前記医療用組成物の対象となる疾患は、F r i z z l e d受容体（F z d 2、F z d 7、F z d 8）及び／又はL R P（L R P 5、L R P 6）の発現又は活性の増加又は減少によって引き起こされる、それによって悪化する、又はそれ以外でそれに関連するあらゆる疾患、又はW n tシグナル伝達、若しくは前記F r i z z l e d受容体及び／又は前記L R Pを介して活性化される他のあらゆる細胞内シグナル伝達カスケードの増加又は減少によって引き起こされる、それによって悪化する、又はそれ以外でそれに関連するあらゆる疾患を指す。例えば、骨粗しょう症等の骨代謝疾患（M a n o l a g a s, S. C., “W n t signaling and osteoporosis”, M a t u r i t a s, 2014年、第78巻、第3号、p. 233-237を参照）、炎症性腸疾患（M o p a r t h i, L., 外1名、 “W n t signaling in intestinal inflammation”, D i f f e r e n t i a t i o n, 2019年、第108巻、p. 24-32を参照）、乳がん、大腸がん、肺がん、胃がん等の癌疾患（P a r k, W. -J., 外1名、 “A New Wave of Targeting ‘Undruggable’ W n t Signaling for Cancer Therapy: Challenges and Opportunities”, C e l l s, 2023年、第12巻、1110を参照）等を指すが、これに限定されるものではない。

[0213] 前記医療用組成物の投与形態は特に限定されず、経口的投与でも非経口的投与でもよい。非経口的投与としては、例えば、筋肉内注射、静脈内注射、皮下注射等の注射投与、経皮投与、経粘膜投与（経鼻、経口腔、経眼、経肺、経膣、経直腸）等が挙げられる。

- [0214] 前記医療用組成物中のペプチドは、代謝及び排泄されやすい性質に鑑みて、各種の修飾を行うことができる。例えば、ポリペプチドにポリエチレングリコール（PEG）や糖鎖を付加して血中滞留時間を長くし、抗原性を低下させることができる。また、ポリ乳酸・グリコール（PLGA）などの生体内分解性の高分子化合物、多孔性ヒドロキシアパタイト、リポソーム、表面修飾リポソーム、不飽和脂肪酸で調製したエマルジョン、ナノパーティクル、ナノスフェア等を徐放化基剤として用い、これにポリペプチドを内包させてもよい。経皮投与する場合、弱い電流を皮膚表面に流して角質層を透過させることもできる（イオントフォレシス法）。
- [0215] 前記医療用組成物は、有効成分をそのまま用いてもよいし、薬学的に許容できる担体、賦形剤、添加剤等を加えて製剤化してもよい。剤形としては、例えば、液剤（例えば注射剤）、分散剤、懸濁剤、錠剤、丸剤、粉末剤、坐剤、散剤、細粒剤、顆粒剤、カプセル剤、シロップ剤、トローチ剤、吸入剤、軟膏剤、点眼剤、点鼻剤、点耳剤、パップ剤等が挙げられる。
- [0216] 前記製剤化は、例えば、賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、溶解剤、溶解補助剤、着色剤、矯味矯臭剤、安定化剤、乳化剤、吸収促進剤、界面活性剤、pH調整剤、防腐剤、抗酸化剤などを適宜使用し、常法により行うことができる。
- [0217] 前記製剤化に用いられる成分の例としては、精製水、食塩水、リン酸緩衝液、デキストロース、グリセロール、エタノール等薬学的に許容される有機溶剤、動植物油、乳糖、マンニトール、ブドウ糖、ソルビトール、結晶セルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、デンプン、コーンスターチ、無水ケイ酸、ケイ酸アルミニウムマグネシウム、コラーゲン、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、カルボキシビニルポリマー、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ポリアクリル酸ナトリウム、アルギン酸ナトリウム、水溶性デキストラン、カルボキシメチルスターチナトリウム、ペクチン、メチルセルロース、エチルセルロース、キサンタンガム、アラビアゴム、トラガント、カゼイン、寒天、ポリエチレングリコール、ジグリセリン、グ

リセリン、プロピレングリコール、ワセリン、パラフィン、ミリスチン酸オクチルドデシル、ミリスチン酸イソプロピル、高級アルコール、ステアリルアルコール、ステアリン酸、ヒト血清アルブミン、トレハロース、ポリソルベート等が挙げられるがこれらに限定されない。

[0218] 前記吸収促進剤は、難吸収性薬物の吸収を改善するために使用することができる。前記吸収促進剤として、ポリオキシエチレンラウリルエーテル類、ラウリル硫酸ナトリウム、サポニン等の界面活性剤；グリココール酸、デオキシコール酸、タウロコール酸等の胆汁酸塩；EDTA、サリチル酸類等のキレート剤；カプロン酸、カプリン酸、ラウリン酸、オレイン酸、リノール酸、混合ミセル等の脂肪酸類；エナミン誘導体、N-アシルコラーゲンペプチド、N-アシルアミノ酸、シクロデキストリン類、キトサン類、一酸化窒素供与体等を用いてもよい。

[0219] 前記丸剤又は錠剤は、糖衣、胃溶性、腸溶性物質で被覆することもできる。前記注射剤は、注射用蒸留水、生理食塩水、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、植物油、アルコール類等を含むことができる。さらに、湿潤剤、乳化剤、分散剤、安定化剤、溶解剤、溶解補助剤、防腐剤等を加えることができる。

[0220] 本発明の医療用組成物は、前記疾患に有用な他の医薬や治療法と併用投与してもよい。

[0221] 本発明の医療用組成物を哺乳類（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、 $30\mu\text{g} \sim 1000\text{mg}$ 、 $100\mu\text{g} \sim 500\text{mg}$ 、 $100\mu\text{g} \sim 100\text{mg}$ 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、 $1\mu\text{g}/\text{kg} \sim 3000\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $3\mu\text{g}/\text{kg} \sim 1000\mu\text{g}/\text{kg}$ を1回又は数回に分けて投与してもよい。

[0222] 〈診断用に用いられる組成物〉

本実施形態の診断用に用いられる組成物（以下、単に「診断用組成物」ともいう。）は、本発明のペプチド及びペプチド複合体からなる群から選択される少なくとも1種を含む。

[0223] 前記ペプチド及び前記ペプチド複合体は、F r i z z l e d受容体（F z d 2、F z d 7、F z d 8）及び／又はLRP（LRP 5、LRP 6）に結合する。したがって、前記F r i z z l e d受容体及び／又は前記LRPを検出する診断薬としても使用し得る。前記診断薬としては、前記F r i z z l e d受容体及び／又は前記LRPの発現量を検出する検出薬であってよく、検出薬として用いる場合は、本発明のペプチド又はペプチド複合体は、検出可能に標識してもよい。このようにして、前記ペプチド又は前記ペプチド複合体、又はそれらを含む組成物は、前記F r i z z l e d受容体及び／又は前記LRPを検出する診断薬として利用できる。

[0224] 〈研究用に用いられる組成物〉

本実施形態の研究用に用いられる組成物（以下、単に「研究用組成物」ともいう。）は、本発明のペプチド及びペプチド複合体からなる群から選択される少なくとも1種を含む。

[0225] 前記ペプチド及び前記ペプチド複合体は、F r i z z l e d受容体（F z d 2、F z d 7、F z d 8）及び／又はLRP（LRP 5、LRP 6）に結合する。したがって、前記F r i z z l e d受容体及び／又は前記LRPが関与する研究に好ましく用いることができる。

[0226] 本実施形態の研究用組成物は、前記ペプチド又は前記ペプチド複合体、及び／又は前記ペプチド又は前記ペプチド複合体にリンカーを介してさらに結合した物質を含む複合体について、以下の少なくとも1つを試験する試験方法において使用することが好ましい。

a) 溶媒への溶解度。

b) F r i z z l e d受容体（F z d 2、F z d 7、F z d 8）及び／又はLRP（LRP 5、LRP 6）との結合能。

c) 細胞及び／又は組織への毒性。

d) 実験動物への毒性。

- [0227] 前記試験方法について、前記ペプチド又は前記ペプチド複合体、及び／又は前記ペプチド又は前記ペプチド複合体にリンカーを介してさらに結合した物質を含む複合体の、溶媒への溶解度の試験は、溶解度の測定であってよい。溶解度の測定にあたっては、溶媒は限定されるものではなく、目的に応じて自由に選択してよい。また、溶解度の測定方法に関しては、溶媒の種類に応じて、公知の方法を適切に選択することができる。
- [0228] 前記 *F r i z z l e d* 受容体及び／又は前記 *L R P* との結合能の試験は、前記 *F r i z z l e d* 受容体及び／又は前記 *L R P* との結合能の測定であってよく、限定されるものではないが、表面プラズモン共鳴（*S P R*）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（*R I A*）、酵素免疫アッセイ（*E I A*）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法など、公知の方法を好ましく使用することができる。
- [0229] 細胞及び／又は組織への毒性の試験は、細胞及び／又は組織を用いた公知の毒性評価試験であってよく、例えば、*i n v i t r o* で実施する方法であってよい。細胞や組織は、医薬品について通常、毒性評価試験を行う細胞及び／又は組織であってよく、限定されるものではない。
- [0230] 実験動物の毒性の試験方法は、実験動物を使用した公知の毒性評価試験であってよい。実験動物について、通常使用されているものであれば特に限定されないが、例として、マウス、ラット、モルモット、スナネズミ、ハムスター、フェレット、ウサギ、イヌ、ネコ、ブタ、ヤギ、ウマ、ウシ、鳥類（例えば、ニワトリ、ウズラなど）、サル、ヒトを除く霊長類（例えば、カニクイザル、マーモセット、アカゲザルなど）などが挙げられる。上記の毒性評価試験は、限定されるものではないが、医薬品の非臨床試験において通常行われる安全性に関する試験であってよく、例として、一般毒性試験（単回投与毒性試験／反復投与毒性試験）、遺伝毒性試験（*A m e s* 試験／染色体異常試験／*I n v i t r o* 小核試験）、がん原性試験、生殖発生毒性試験（*I C H - I* , *I I* , *I I I* ）、局所刺激性試験（眼刺激性試験、皮膚刺激

性試験等）、その他の毒性試験（皮膚感作性試験、光毒性試験、抗原性試験）、化学分析・生体分析（TK／PK）などが挙げられる。

[0231] [核酸]

本発明のさらに別の実施形態は、上述したペプチド又はペプチドをコードする核酸である。

本実施形態の核酸は、天然であってもよいし、非天然であってもよい。また、核酸は、DNA、RNA、及びこれらのキメラを含むが、これらに限定されない。本実施形態の核酸は、上述したペプチド又はペプチド複合体のアミノ酸配列を基に公知の方法で設計し、製造することができる。

[0232] [ペプチドドラッグコンジュゲート（PDC）]

本発明のさらに別の実施形態は、上述したペプチド又はペプチド複合体と、Frizzled受容体（Fzd2、Fzd7、Fzd8）及び／又はLRP（LRP5、LRP6）に送達したい所望の物質と、前記ペプチド又はペプチド複合体と前記物質を結合するためのリンカーとを含む複合体（ペプチドドラッグコンジュゲート，PDC）である。

前記ペプチドは、前記Frizzled受容体又は前記LRPに結合する。前記ペプチド複合体は、前記Frizzled受容体及び前記LRPに結合する。したがって、前記ペプチド又はペプチド複合体は、物質を前記Frizzled受容体及び／又は前記LRPに送達することが可能である。

前記物質は前記Frizzled受容体及び／又は前記LRPに送達することを希望する物質であれば、当業者の希望する何らの物質であってよい。

前記物質は特に限定されないが、例えば、化合物、ペプチド、RI（放射性同位体）、タンパク質、核酸、及びDDS（ドラッグデリバリーシステム）に用いる分子が挙げられる。

前記化合物は、特に限定されないが、低分子化合物又は中分子化合物が好ましく、例えば公知の低分子薬剤が挙げられる。

前記ペプチドは、特に限定されないが、体内の標的に結合して何らかの効果を示すペプチドが好ましく、例えば環状ペプチドが挙げられる。

前記R Iは、特に限定されないが、放射性同位元素でラベルした低分子化合物、中分子化合物又は抗体等の放射性同位元素でラベルした化合物であればよく、例えばPET（陽電子放射断層撮影法）検査用の化合物が挙げられる。

前記タンパク質は、特に限定されないが、抗体又は酵素等の、体内にて有用な機能を示すタンパク質であれば何でもよい。例えば、酵素補充療法に用いられる酵素が挙げられる。

前記核酸は、DNA、RNA、これらのキメラであってよく、特に限定されない。例えば、核酸医薬品が挙げられる。

前記DDSに用いる分子は、特に限定されないが、リポソーム又はミセル等のDDSに使われる公知の分子が好ましい。前記DDSに用いる分子には内部にさらに医薬品等の化合物が含まれていてもよい。

また、前記Frizzled受容体及び／又は前記LRPに送達することを希望する物質は、上記に挙げた物質の複合体であってよい。

実施例

[0233] 以下では実施例に基づいて本発明をより具体的に説明するが、本発明は後述する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・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。

[0234] [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、及び溶媒は、市販品をそのまま用いたか、又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。

[0235] 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って行った。

使用した樹脂は、NovaPEG Rink Amide resin、HMPB-MBHA resin、又はSeiber Amide resinを用い、使用した量は各ペプチドに応じて5 mg - 2 gの範囲であった。

。

[0236] 側鎖の脱保護及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4 mL - 50 mLであり、以下の組成の溶液を用いた。

A : TFA / H₂O / TIS / DODT (92.5 / 2.5 / 2.5 / 2.5)

B : TFA / H₂O / TIS / DODT (90 / 2.5 / 2.5 / 5)

使用した一般的なFmocアミノ酸を表4に列挙し、側鎖保護基は括弧内に示した。

[0237]

[表4A]

表4(1/4)

Fmocアミノ酸	CAS登録番号
Fmoc-3Py5Ph-OH	2973755-13-2
Fmoc-4Py-OH	169555-95-7
Fmoc-Ahp-OH	1197020-22-6
Fmoc-aIT(tBu)-OH	201481-37-0
Fmoc-Arg(Pbf)-OH	154445-77-9
Fmoc-Asn(Trt)-OH	132388-59-1
Fmoc-Asp(Mpe)-OH	180675-08-5
Fmoc-Atb-OH	139551-74-9
Fmoc-Atp-OH	368866-34-6
Fmoc-Cbg-OH	1391630-31-1
Fmoc-Cha-OH	135673-97-1
Fmoc-Chg-OH	161321-36-4
Fmoc-Cit-OH	133174-15-9
Fmoc-Cys(Trt)-OH	103213-32-7
Fmoc-d3py-OH	142994-45-4
Fmoc-d4py-OH	205528-30-9
Fmoc-da-OH	79990-15-1
Fmoc-dcit-OH	200344-33-8
Fmoc-df3OMe-OH	917099-04-8
Fmoc-df4F-OH	177966-64-2
Fmoc-df4OMe-OH	201335-88-8
Fmoc-df-OH	86123-10-6

[0238]

[表4B]

表4(2/4)

Fmocアミノ酸	CAS登録番号
Fmoc-ds(Trt)-OH	212688-51-2
Fmoc-dy(tBu)-OH	118488-18-9
Fmoc-F3C00(tBu)-OH	210282-33-0
Fmoc-F3Me-OH	211637-74-0
Fmoc-F4aao(tBu)-OH	181951-92-8
Fmoc-F4C-OH	175453-08-4
Fmoc-F4F-OH	169243-86-1
Fmoc-F4Me-OH	199006-54-7
Fmoc-G4pipaa(tBu)-OH	2973753-14-7
Fmoc-Gln(Trt)-OH	132327-80-1
Fmoc-Glu(tBu)-OH	71989-18-9
Fmoc-Gly(Dmb)-OH	166881-42-1
Fmoc-Gly-OH	29022-11-5
Fmoc-Gpra-OH	198561-07-8
Fmoc-Gthp-OH	368866-31-3
Fmoc-Hcit-OH	201485-17-8
Fmoc-Hgl(tBu)-OH	159751-47-0
Fmoc-Hse(Trt)-OH	111061-55-3
Fmoc-Hty(tBu)-OH	204384-69-0
Fmoc-Hw7N-OH	2350159-31-6
Fmoc-Ile-OH	71989-23-6
Fmoc-KC0pipzaa(tBu)-OH	2680607-34-3
Fmoc-Kmor-OH	2349553-17-7
Fmoc-KN3-OH	159610-89-6

[表4C]

表4(3/4)

Fmocアミノ酸	CAS登録番号
Fmoc-Me3Py-OH	1979173-93-7
Fmoc-Me4Py-OH	2381854-90-4
Fmoc-MeAtp-OH	2973755-43-8
Fmoc-MeChg-OH	925240-97-7
Fmoc-MeF3C-OH	1446478-28-9
Fmoc-MeF3C00(tBu)-OH	2973754-48-0
Fmoc-MeF3Me-OH	2642331-20-0
Fmoc-MeF4C-OH	1217716-50-1
Fmoc-MeF4C00(tBu)-OH	2708283-41-2
Fmoc-MeF4Me-OH	227616-20-8
Fmoc-MeF-OH	77128-73-5
Fmoc-MeN(Trt)-OH	941296-80-6
Fmoc-MeNle-OH	112883-42-8
Fmoc-MeR(Pbf)-OH	913733-27-4
Fmoc-MeV-OH	84000-11-3
Fmoc-MeW(Boc)-OH	197632-75-0
Fmoc-MeY(tBu)-OH	133373-24-7
Fmoc-Nal14N-OH	1998513-62-4
Fmoc-Nal1-OH	96402-49-2
Fmoc-Ncit-OH	2973754-85-5
Fmoc-Ndm-OH	138585-02-1
Fmoc-Nmm-OH	149204-93-3
Fmoc-OrnAc-OH	172690-48-1
Fmoc-P-OH	71989-31-6

[0240]

[表4D]

表4(4/4)

Fmocアミノ酸	CAS登録番号
Fmoc-PEG4c-OH	557756-85-1
Fmoc-PEG8c-OH	756526-02-0
Fmoc-PEG12c-OH	1952360-91-6
Fmoc-Phe-OH	35661-40-6
Fmoc-Ser(tBu)-OH	71989-33-8
Fmoc-Ser(Trt)-OH	111061-56-4
Fmoc-Tbg-OH	132684-60-7
Fmoc-Thr(tBu)-OH	71989-35-0
Fmoc-Thr(Trt)-OH	133180-01-5
Fmoc-Tic6C-OH	N/A(US63/460619)
Fmoc-Tic7C-OH	2411591-51-8
Fmoc-Tic7H-OH	178432-49-0
Fmoc-Tic-OH	136030-33-6
Fmoc-TMe-OH	928063-81-4
Fmoc-Trp(Boc)-OH	143824-78-6
Fmoc-Tyr(tBu)-OH	71989-38-3
Fmoc-Val-OH	68858-20-8
Fmoc-W1aa(tBu)-OH	1629658-33-8
Fmoc-W1Me7N-OH	1813528-10-7
Fmoc-W5N(Boc)-OH	2973753-21-6
Fmoc-W6N(Boc)-OH	N/A(US63/460619)
Fmoc-W7N5Me-OH	N/A(US63/460619)
Fmoc-W7N-OH	737007-45-3

[0241] 得られた粗精製ペプチドの精製方法としては、特に記載がない限り、以下

A) / B) / C) / D) / E) のいずれかの逆相分取精製装置を用いた。

A) Shimadzu prep-HPLC system (LC-20AP、SPD-M20A、CTO-20AC、and CBM-20A)。

B) Waters AutoPurification System。

C) Waters AutoPurification System with SQD。

D) Waters Preparative HPLC System。

E) YMC Contichrom CUBE。

[0242] 使用したカラムは特に記載がない限り、以下a)～k)のいずれかを用いた。

a) Jeanius One-Column 20mm I. D. x 150mm L。

b) Kinetex EVO C18 5 μ m 21.2x150mm。

c) Waters XBridge C18 5 μ m 19x150mm。

d) Waters XBridge C18 5 μ m 30x150mm。

e) Waters XBridge C18 5 μ m 50x150mm。

f) Waters XBridge C18 5 μ m 50x250mm。

g) Waters XSelect C18 30x150mm。

h) Waters XSelect C18 5 μ m 19x150mm。

i) Waters XSelect C18 5 μ m 30x150mm。

j) Waters XSelect CSH Prep C18 5 μ m OBD 50x250mm。

k) YMC-Triart Prep C18-S 10 μ m 10x250mm。

[0243] 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。

[0244] 基本分析装置及び基本条件

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及び基本条件を用いた。勾配B (%)はw/x/y/zのいずれかの条件を用いて分析を行った。

[0245] (基本分析装置)

Waters社AutoPurification System-SQ
D2 single quadrupole mass spectrometer

(基本条件)

カラム: Kinetex EVO C18 (1.7 μ m, 2.1 $\times$ 50 mm, 100 Å)

カラム温度: 60°C

移動相A: 0.025% TFA in H₂O

移動相B: 0.025% TFA in MeCN

流速: 0.6 mL/分

波長: 220 nm

勾配B (%): w) 5~95%/2.10 min, 95~95%/0.75 min

[0246] (基本分析装置)

Shimadzu LC/MS system (LC-20ADXR、CTO-20AC、SPD-M20A、SIL-20AXR、CBM-20A及びLCMS-2020)

(基本条件)

カラム：Kinetex EVO C18 (2.6 μ m, 2.1 $\times$ 150 mm, 100 Å)

カラム温度：60°C

移動相A：0.025% TFA in H₂O

移動相B：0.025% TFA in MeCN

流速：0.5 mL/分

波長：225 nm PDA

勾配B (%)：x) 5~45%/7.15 min, 45~95%/0.3 min, 95~95%/1.55 min

y) 20~60%/7.15 min, 60~95%/0.3 min, 95~95%/1.55 min

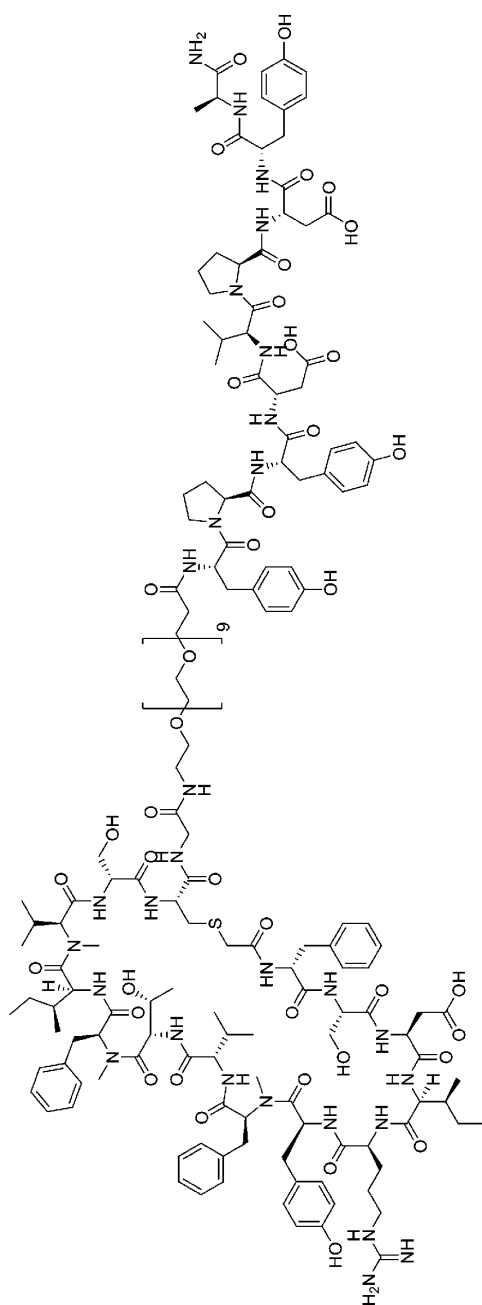
z) 20~60%/54.15 min, 60~95%/0.3 min, 95~95%/1.55 min

[0247] [実施例1]

ペプチド複合体（ペプチド配列番号66にリンカー構造番号9が付加したペプチド複合体）の合成

[0248]

[化27]



[0249] Sieber amide resin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。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-A
A/HATU/DIEA(8.4当量/7.84当量/16.8当量)を用
いDMF中75℃下、20分間2回反応を行った。ただし5残基目、14残
基目は50℃下、30分間2回反応を行った。6残基目、7残基目、8残基
目、9残基目、10残基目、11残基目、12残基目は75℃下、20分間
3回反応を行った。16残基目のFmoc-PEG10cの導入は25℃下
、60分間1回反応を行った。

[0250] Fmoc基の除去は、10%ピロリジンのDMF溶液と25℃下、3分間
反応させた。

[0251] 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、ClAcOSu(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。

[0252] 側鎖の脱保護及び固相樹脂からの切り出しは、固相樹脂の入った反応容器
に、反応剤カクテル-A(TFA/H₂O/TIS/DODTの体積比92
.5:2.5:2.5:2.5の混合物)を加えよく振盪した後、室温で6
0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白濁沈殿が生じ、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冷やしたジイ
ソプロピルエーテル/ヘキサン(1/1)の混合溶媒にて洗浄後、60分間
乾燥した。得られた固体を次の環化反応に用いた。

[0253] 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1.
25mMとなるようにDMSO/H₂O(7/3)に溶解後、トリエチルアミ
ン(10当量)を加えて、室温で終夜静置した。得られた反応溶液をGene
vac EZ-2 Eliteを用いて減圧濃縮した後、ペプチド濃度が
12.5mMになるようにDMSOを加えた。

[0254] 得られた粗生成物はギルソン社のカラムを用い固相抽出した(カラム:G
ilson ASPEC C18, 50mg, 1mL)

(1) カラムを抽出液A (0.1% TFA in 95% MeCN/H₂O, 0.3 mL) で洗浄した。

(2) 抽出液B (0.1% TFA in 5% MeCN/H₂O, 0.3 mL) でカラムを平衡化した。

(3) 上記溶液0.02 mL をカラムにローディングした。

(4) 抽出液B (0.4 mL) でカラムを洗浄した。

(5) 抽出液A (0.4 mL) 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。

[0255] 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220 nm) クロマトグラムの面積比から算出し55%であった。

[0256] (分析条件)

保持時間: 1.52分

カラム: Kinetex EVO C18 (1.7 μm 2.1 × 50 mm, 100 Å)

移動相: A) 0.025% TFA in H₂O、

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: 0.6 mL/分

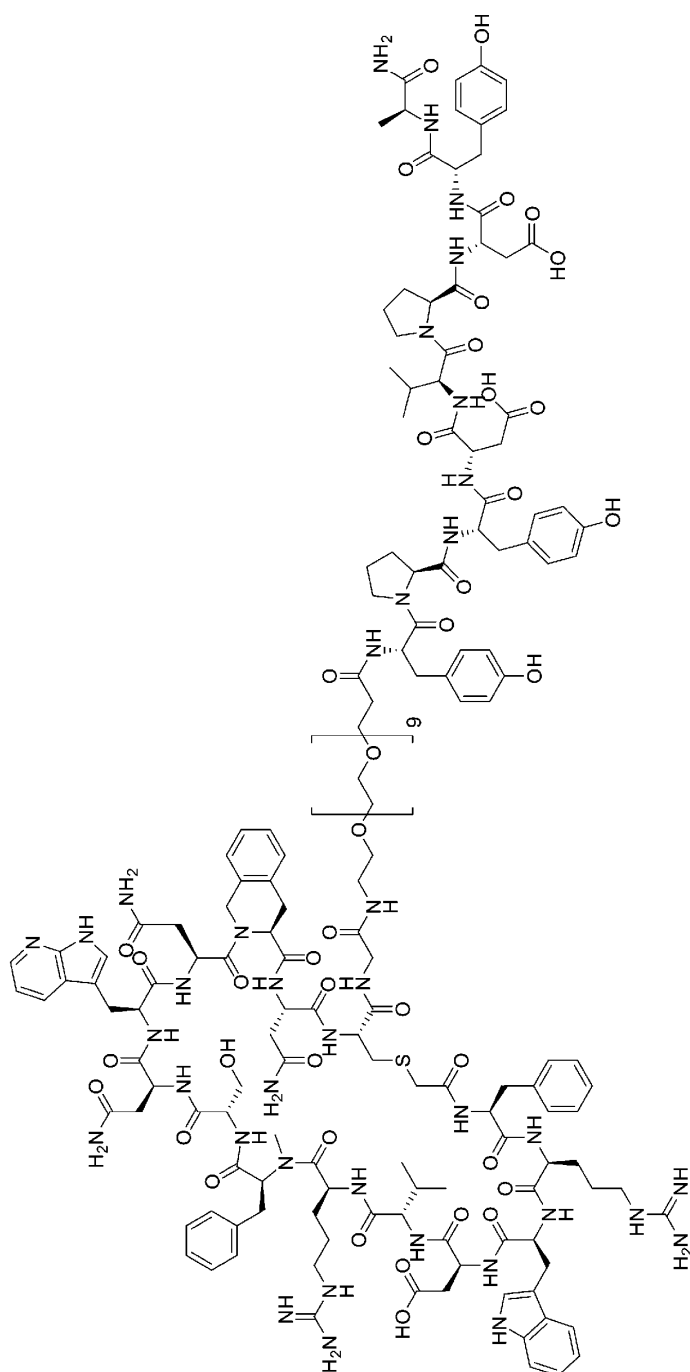
ESI-MS (+) 観測値 $m/z = 1144$ (M+3H)³⁺

[0257] [実施例2]

ペプチド複合体 (ペプチド配列番号99にリンカー構造番号9が付加したペプチド複合体) の合成

[0258]

[化28]



[0259] Sieber amide resin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。その際、Biot

age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/3.92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、14残基目は50℃下、30分間2回反応を行った。6残基目は50℃下、60分間2回反応を行った。7残基目は75℃下、30分間2回反応を行った。16残基目のFmoc-PEG10cの導入は室温下、60分間1回反応を行った。

[0260] Fmoc基の除去は、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。

[0261] 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、ClAcOSu(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。

[0262] 側鎖の脱保護及び固相樹脂からの切り出しは、固相樹脂の入った反応容器に、反応剤カクテルA(TFA/H₂O/TIS/DODTの体積比92.5:2.5:2.5:2.5の混合物)を加えよく振盪した後、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。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白濁沈殿が生じ、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冷やしたジイソプロピルエーテル/ヘキサン(1/1)の混合溶媒にて洗浄後、60分間乾燥した。得られた固体を次の環化反応に用いた。

[0263] 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/H₂O(7/3)に溶解後、トリエチルアミン(20当量)を加えて攪拌した後、室温で終夜静置した。得られた反応溶液をGenevac EZ-2 Eliteを用いて12.5mMになるように減圧濃縮した。

- [0264] 得られた粗生成物はギルソン社のカラムを用い固相抽出した（カラム：G
ilson ASPEC C18, 50mg, 1mL）
（１）カラムを抽出液A（0.1% TFA in 95%MeCN/H₂O、0.3mL）で洗浄した。
（２）抽出液B（0.1% TFA in 5%MeCN/H₂O、0.3mL）でカラムを平衡化した。
（３）上記溶液0.02mLをカラムにローディングした。
（４）抽出液B（0.4mL）でカラムを洗浄した。
（５）抽出液A（0.4mL）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。
- [0265] 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50%であった。
- [0266] （分析条件）
保持時間：1.24分
カラム：Kinetex EVO C18（1.7μm, 2.1×50mm, 100Å）
移動相：A) 0.025% TFA in H₂O
 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/分
ESI-MS（+） 観測値m/z = 1204（M+3H）³⁺
- [0267] [実施例3]
ペプチド複合体（ダイマー構造番号62のダイマー）の合成
- [0268] 1. ペプチド複合体（ペプチド配列番号74のペプチドにリンカー構造番号2の一部が付加したペプチド複合体）の合成
- [0269]

させる条件、又は50℃下、90秒間反応させる条件、又は75℃下、3分間反応させる条件、又は室温下、1分間反応させる条件を用いた。

[0272] クロロアセチル基の導入は、ClAcOSu（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。

[0273] 側鎖の脱保護及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に続いて塩化メチレン、さらにジエチルエーテルで洗浄した後、減圧下乾燥し、固相樹脂の入った反応容器に、反応剤カクテル-A（TFA/H₂O/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/ヘキサン（1/1）の混合溶媒に加えると白濁沈殿が生じ、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。

[0274] 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3.1 mMとなるようにMeCN/H₂O（1/1）に溶解後、トリエチルアミン（10当量）を加えて、室温で1時間振盪した後、酢酸を加えた。得られた反応溶液をGenevac HT-12を用いて濃縮した。

[0275] 得られた粗生成物を以下の条件を用いて精製した。

（精製条件）

カラム：Waters XBridge C18（5 μm, 50×150 mm）

移動相：A) 0.1% TFA in H₂O

B) 0.1% TFA in MeCN

温度：40℃

グラジエント（%B conc.）：2分間かけて5%、1分間かけて5～28%、その後8分間かけて28～33%、その後1分間かけて33～60%

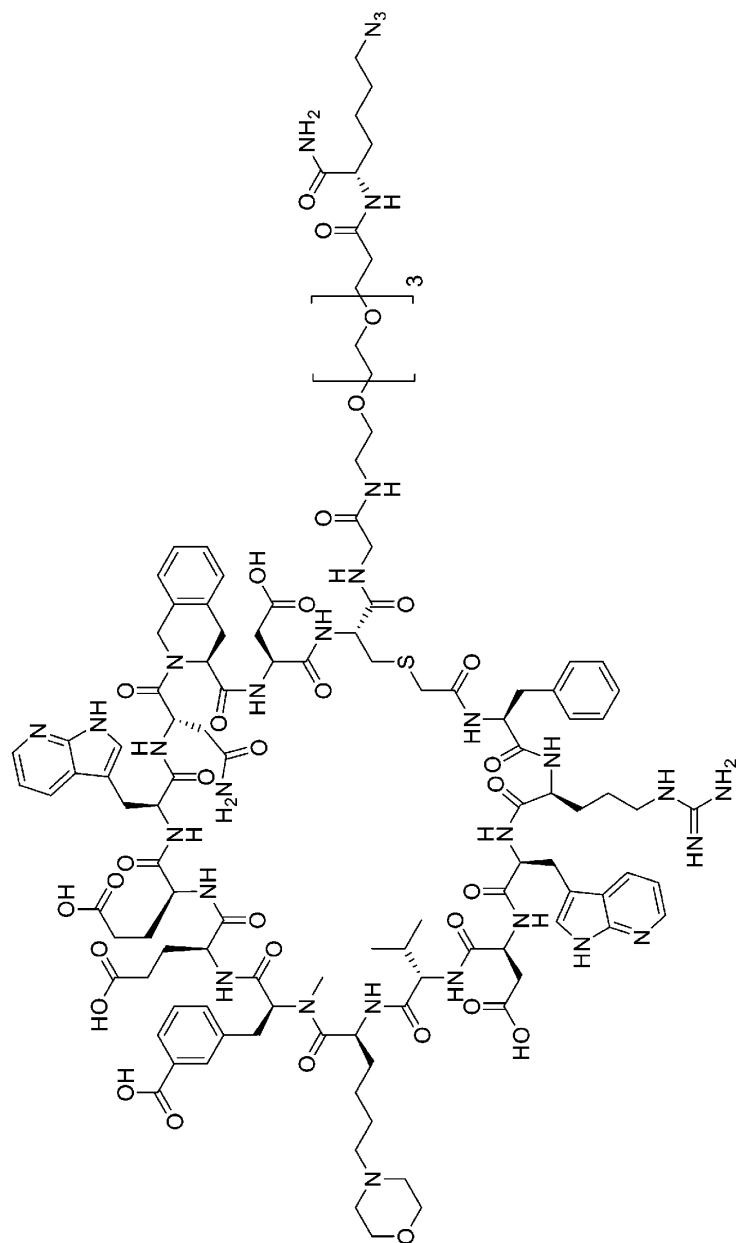
流速：1分間かけて20mL／分、その後1分間かけて20mL／分～120mL／分、その後120mL／分

[0276] 凍結乾燥後、ペプチド配列番号74のペプチドにリンカー構造番号2の一部が付加したペプチド複合体（190mg）を得た。

[0277] ⅠⅠ．ペプチド複合体（ペプチド配列番号162のペプチドにリンカー構造番号2の一部が付加したペプチド複合体）の合成

[0278]

[化30]



[0279] Sieber amide resin (渡辺化学, 0.54 mmol/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。その際、CEM 社の Liberty Blue 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/DIPCI/Oxyma pure (4.2 当量/8 当量/4 当量) を用い DMF 中 90℃ 下、3 分間 1 回反応を行った。ただし 2 残基目は 50℃ 下、15 分間 2 回反応を行った。11 残基目、12 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 2 回反応を行った。6 残基目は室温下、60 分間 2 回反応を行い、その際 Fmoc-AA/HATU/DIEA (4.2 当量/4 当量/8 当量) の縮合条件を用いた。また Fmoc-W7N-OH、Fmoc-Kmor-OH、Fmoc-KN3-OH を導入する際は、それらアミノ酸を NMP に溶解させたものを用いた。Fmoc 除去は、10% ピロリジンの DMF 溶液と 90℃ 下、1 分間反応させる条件、50℃ 下、90 秒間反応させる条件、又は室温下、1 分間反応させることを 2 回連続で実施する条件を用いた。

[0280] クロロアセチル基の導入は、ClAcOSu (5 当量) の DMF/DCM (1/1) 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。

[0281] 側鎖の脱保護及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 に続いて塩化メチレン、さらにジエチルエーテルで洗浄した後、減圧下乾燥し、固相樹脂の入った反応容器に、反応剤カクテル-A (TFA/H₂O/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/ヘキサン (1/1) の混合溶媒に加えると白濁沈殿が生じ、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。

[0282] 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 5 mM となるように MeCN/H₂O (1/1) に溶解後、トリエチルアミン (10 当量) を加えて、室温で 1 時間振盪した後、酢酸を加えた。得られた反応

溶液をGenevac HT-12を用いて濃縮した。

[0283] 得られた粗生成物を以下の条件を用いて精製した。

(精製条件)

カラム: Waters XBridge C18 (5 μ m, 50 $\times$ 150 mm)

移動相: A) 0.1% TFA in H₂O

B) 0.1% TFA in MeCN

温度: 40°C

グラジエント (%B conc): 2分間かけて5%、1分間かけて5~21%、その後8分間かけて21~26%、その後1分間かけて26~60%

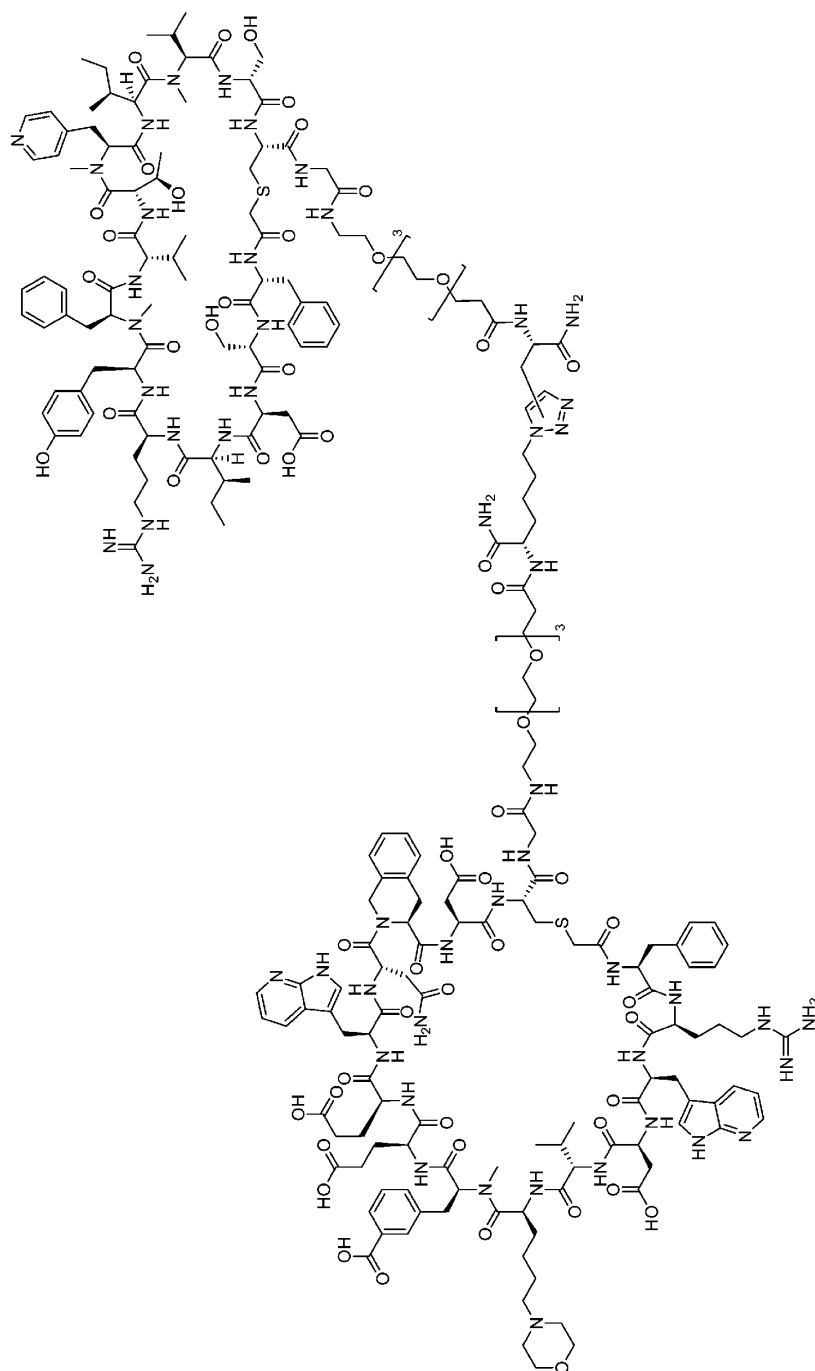
流速: 1分間かけて20 mL/分、その後1分間かけて20 mL/分-120 mL/分

[0284] 凍結乾燥後、ペプチド配列番号162のペプチドにリンカー構造番号2の一部が付加したペプチド複合体 (161 mg) を得た。

[0285] III. ペプチド複合体 (ダイマー構造番号62のダイマー) の合成

[0286]

[化31]



[0287] ペプチド複合体の合成は、ペプチド複合体（ペプチド配列番号162のペプチドにリンカー構造番号2の一部が付加したペプチド複合体）（30mg

）をDMF／H₂O（3／1）に溶解した後、ペプチド複合体（ペプチド配列番号74のペプチドにリンカー構造番号2の一部が付加したペプチド複合体）（27mg、1.1当量）、[Cu(CH₃CN)₄]PF₆（4当量）を加え室温にて30分間攪拌した。

[0288] 得られた粗生成物を以下の条件を用いて精製した。

（精製条件）

カラム：Waters XSelect CSH Prep C18（5μm, OBD, 50×250mm）

移動相：A) 1% AcOH in H₂O

B) 1% AcOH in MeCN

C) 0.2M TEAA in H₂O

D) MeCN

温度：50℃；

メインポンプ グラジエント

（%A conc.）：5.0分間かけて0.1%、その後0.1分間かけて0.1～100%、5.1分以降100%→%B

（%B conc.）：5.1分間かけて0%、その後1.9分間かけて0～4.2%、その後20分間かけて4.2～50%、その後4分間かけて50～90%

（%C conc.）：5.0分間かけて99.9%、その後0.1分間かけて99.9～0%、5.1分以降0%

（%D conc.）：0%.

流速：5.1分間かけて18mL／分、その後1.9分間かけて18mL／分～118mL／分、その後118mL／分

At-column-dilutionポンプ 1% AcOH in H₂O／MeCN（1／1）

流速：2mL／分

[0289] 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95.06%であった。

[0290] (分析条件)

保持時間：5.80分

カラム：Kinetex EVO C18 (2.6 μ m, 2.1 $\times$ 150 mm, 100 Å)

移動相：A) 0.025% TFA in H₂O

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%

流速：0.5 mL/分

ESI-MS (+) 観測値 m/z = 1186 (M+4H)⁴⁺

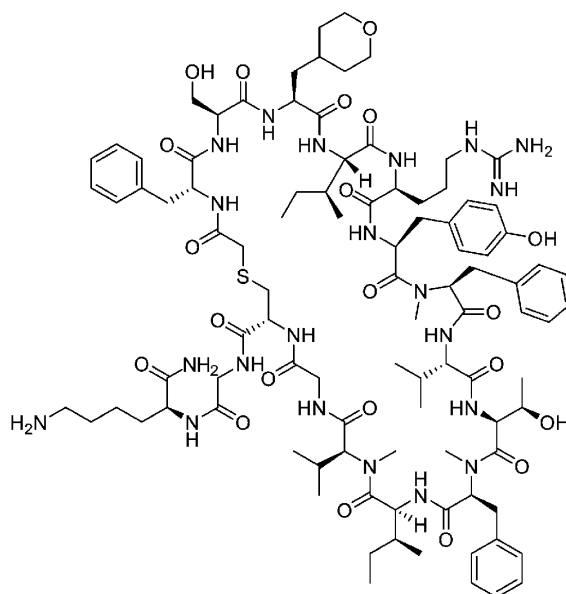
[0291] [実施例4]

ペプチド複合体（ダイマー構造番号46のダイマー）の合成

[0292] 1. ペプチド複合体（ペプチド配列番号35のペプチドにリンカー構造番号8の一部が付加したペプチド複合体）の合成

[0293]

[化32]



[0294] Sieber amide resin (渡辺化学, 0.54 mmol/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。その際、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/DIPCl/Oxymapure (4.2当量/8当量/4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50℃下、15分間2回反応を行った。6残基目、9残基目、11残基目は75℃下、30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。

[0295] Fmoc除去は、83 mM Oxymapureの4%ピロリジンのDMF溶液と110℃下、90秒間反応させることを基本条件としつつ、10%ピロリジンのDMF溶液と室温下、1分間反応させることを2回連続で実施する条件も用いて行った。

[0296] クロロアセチル基の導入は、ClAcOSu (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。

[0297] 側鎖の脱保護及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に続いて塩化メチレン、さらにジエチルエーテルで洗浄した後、減圧下乾燥し、固相樹脂の入った反応容器に、反応剤カクテル-A (TFA/H₂O/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/ヘキサン(1/1)の混合溶媒に加えると白濁沈殿が生じ、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。

[0298] 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2.5 mMとなるようにMeCN/H₂O(1/1)に溶解後、トリエチルアミン(10当量)を加えて、室温で4時間振盪した後、酢酸を加えた。得られた反応溶液をGenevac EZ-2 Eliteを用いて濃縮した。得られた粗生成物を以下の条件を用いて精製し、ペプチド複合体(ペプチド配列番号35のペプチドにリンカー構造番号8の一部が付加したペプチド複合体)を得た。

[0299] (精製条件)

カラム: Waters XBridge C18 (5 μm, 50×150 mm)

移動相: A) 0.1% TFA in H₂O

B) 0.1% TFA in MeCN

温度: 40°C

グラジエント(%B conc.): 2分間かけて9%、1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%

流速: 1分間かけて20 mL/分、その後1分間かけて20 mL/分~120 mL/分、その後120 mL/分

[0300] 目的物の純度は以下の分析条件のLC/MS(UV波長225 nm)クロ

マトグラムの面積比から算出し97.80%であった。

[0301] (分析条件)

保持時間：4.25分

カラム：Kinetex EVO C18 (2.6 μ m, 2.1 $\times$ 150 mm, 100 Å)

移動相：A) 0.025% TFA in H₂O

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%

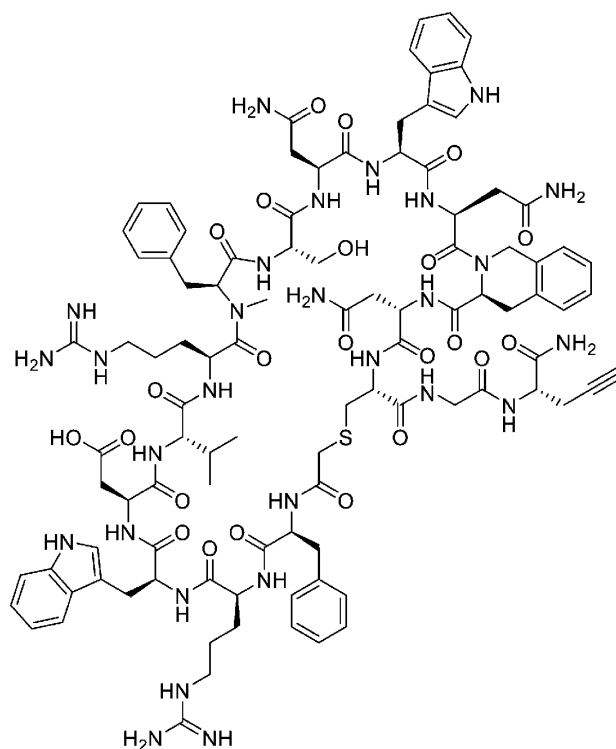
流速：0.5 mL/分

ESI-MS (+) 観測値 $m/z = 988$ (M+2H)²⁺

[0302] II. ペプチド複合体 (ペプチド配列番号79のペプチドにリンカー構造番号8の一部が付加したペプチド複合体) の合成

[0303]

[化33]



[0304] Sieber amide resin (渡辺化学, 0.54 mmol/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。その際、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/DIPCI/Oxyma pure (4.2当量/8当量/4当量) を用いDMF中105℃下、2分間1回反応を行った。ただし2残基目、6残基目は50℃下、15分間2回反応を行った。11残基目、12残基目は105℃下、3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。

[0305] Fmoc除去は、83 mM Oxyma pureの4%ピロリジンのDMF溶液と110℃下、90秒間反応させることを基本条件としつつ、10%ピロリジンのDMF溶液と室温下、1分間反応させることを2回連続で実施する条件、又は10%ピロリジンのDMF溶液と50℃下、90秒間反応

させる条件も用いて行った。

[0306] クロロアセチル基の導入は、C l A c O S u（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。

[0307] 側鎖の脱保護及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に続いて塩化メチレン、さらにジエチルエーテルで洗浄した後、減圧下乾燥し、固相樹脂の入った反応容器に、反応剤カクテル-A（TFA/H₂O/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／ヘキサン（1／1）の混合溶媒に加えると白濁沈殿が生じ、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。

[0308] 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2.5 mMとなるようにMeCN/H₂O（1／1）に溶解後、トリエチルアミン（10当量）を加えて、室温で4時間振盪した後、酢酸を加えた。得られた反応溶液をGenevac EZ-2 Eliteを用いて濃縮した。得られた粗生成物を以下の条件を用いて精製し、ペプチド複合体（ペプチド配列番号79のペプチドにリンカー構造番号8の一部が付加したペプチド複合体）を得た。

[0309]（精製条件）

カラム：Waters XBridge C18（5 μm, 50×150 mm）

移動相：A) 0.1% TFA in H₂O

B) 0.1% TFA in MeCN

温度：40℃

グラジエント（%B conc.）：2分間かけて5%、1分間かけて5～27%、その後8分間かけて27～32%、その後1分間かけて32～6

0%

流速：1分間かけて20 mL/分、その後1分間かけて20 mL/分～1
20 mL/分、その後120 mL/分

[0310] 目的物の純度は以下の分析条件のLC/MS (UV波長225 nm) クロマトグラムの面積比から算出し95.95%であった。

[0311] (分析条件)

保持時間：5.85分

カラム：Kinetex EVO C18 (2.6 μ m, 2.1 $\times$ 150
mm, 100 Å)

移動相：A) 0.025% TFA in H₂O

B) 0.025% TFA in MeCN

温度：60°C

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95～9
5%

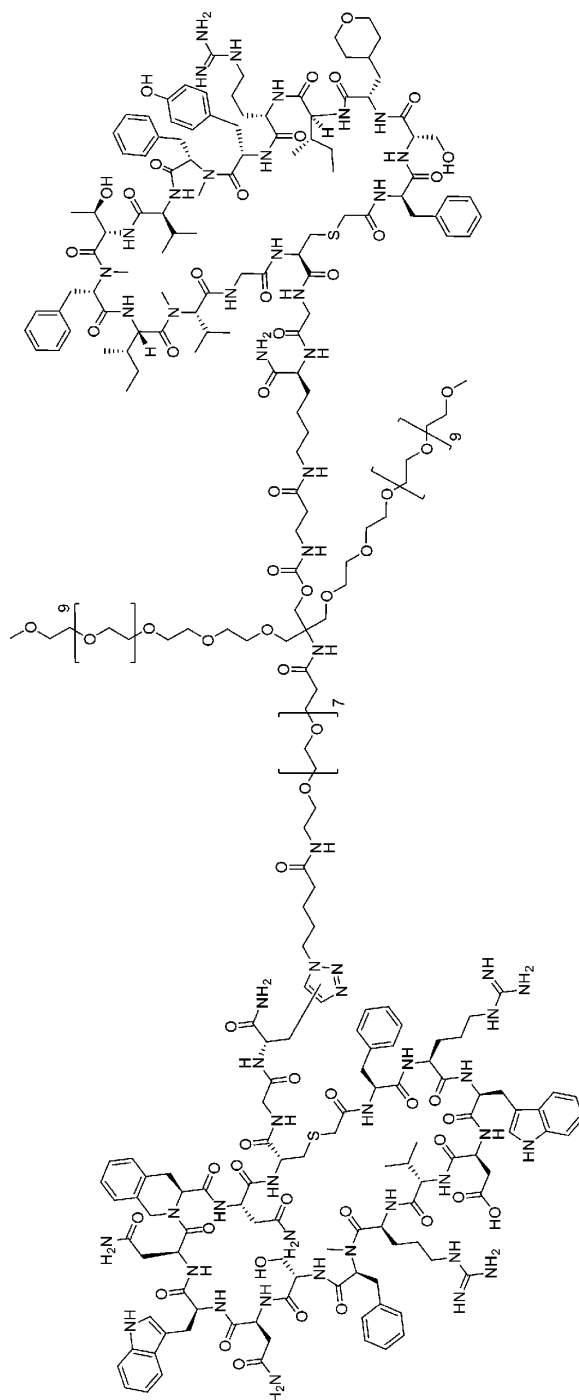
流速：0.5 mL/分

ESI-MS (+) 観測値 $m/z = 1055$ (M+2H)²⁺

[0312] III. ペプチド複合体 (ダイマー構造番号46のダイマー) の合成

[0313]

[化34]



[0314] ペプチド複合体の合成は、ペプチド複合体（ペプチド配列番号35）にリンカー構造番号8の一部が付加したペプチド複合体（20mg）に0.0

175 M AZ (L08) - P12-PSのDMA溶液 (0.36 mL) と DIPEA (0.012 mL) を 40℃ で加え、同温で 2 時間攪拌した後、再度 0.0175 M AZ (L08) - P12-PSのDMA溶液 (0.13 mL) を加え、同温で 1 時間攪拌した。反応液に水 (0.36 mL)、ペプチド複合体 (ペプチド配列番号 79 のペプチドにリンカー構造番号 8 の一部が付加したペプチド複合体) (20.05 mg) の DMA 溶液 (0.36 mL)、TBTA (7.2 mg)、及び $[\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4]\text{PF}_6$ (3.4 mg) を加え室温にて 1 時間攪拌した後、酢酸を加えた。得られた粗生成物を以下の条件を用いて精製し、目的物 (17 mg) を得た。

[0315] (精製条件)

カラム: Waters XBridge C18 ($5\mu\text{m}$, $19\times 150\text{ mm}$)

移動相: A) 0.1% TFA in H_2O

B) 0.1% TFA in MeCN

温度: 40℃

グラジエント (%B conc.): 3 分間かけて 14~39%、その後 8 分間かけて 39~44%、その後 1 分間かけて 44~60%

流速: 17 mL/分

[0316] 目的物の純度は以下の分析条件の LC/MS (UV 波長 225 nm) クロマトグラムの面積比から算出し 94.64% であった。

[0317] (分析条件)

保持時間 = 5.40 分

カラム: Kinetex EVO C18 ($2.6\mu\text{m}$, $2.1\times 150\text{ mm}$, $100\text{ \AA}$)

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%

流速：0.5 mL/分

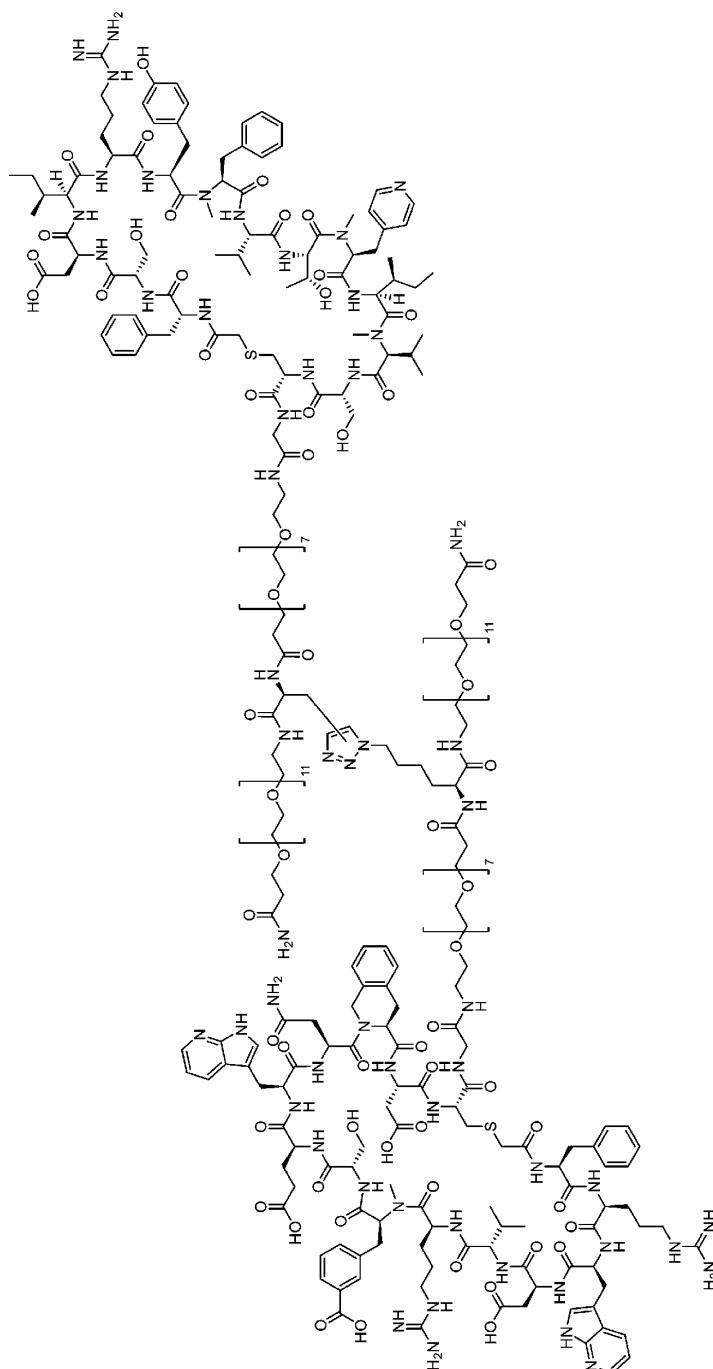
ESI-MS (+) 観測値 $m/z = 1484 (M+4H)^{4+}$

[0318] [実施例5]

ペプチド複合体（ダイマー構造番号63のダイマー）の合成

[0319]

[化35]



[0320] 実施例3と同様の方法で合成し目的物を得た。

[0321] 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97.49%であった。

[0322] (分析条件)

保持時間：4.10分

カラム：Kinetex EVO C18 (2.6 μ m, 2.1 $\times$ 150 mm, 100 Å)

移動相：A) 0.025% TFA in H₂O

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%

流速：0.5 mL/分

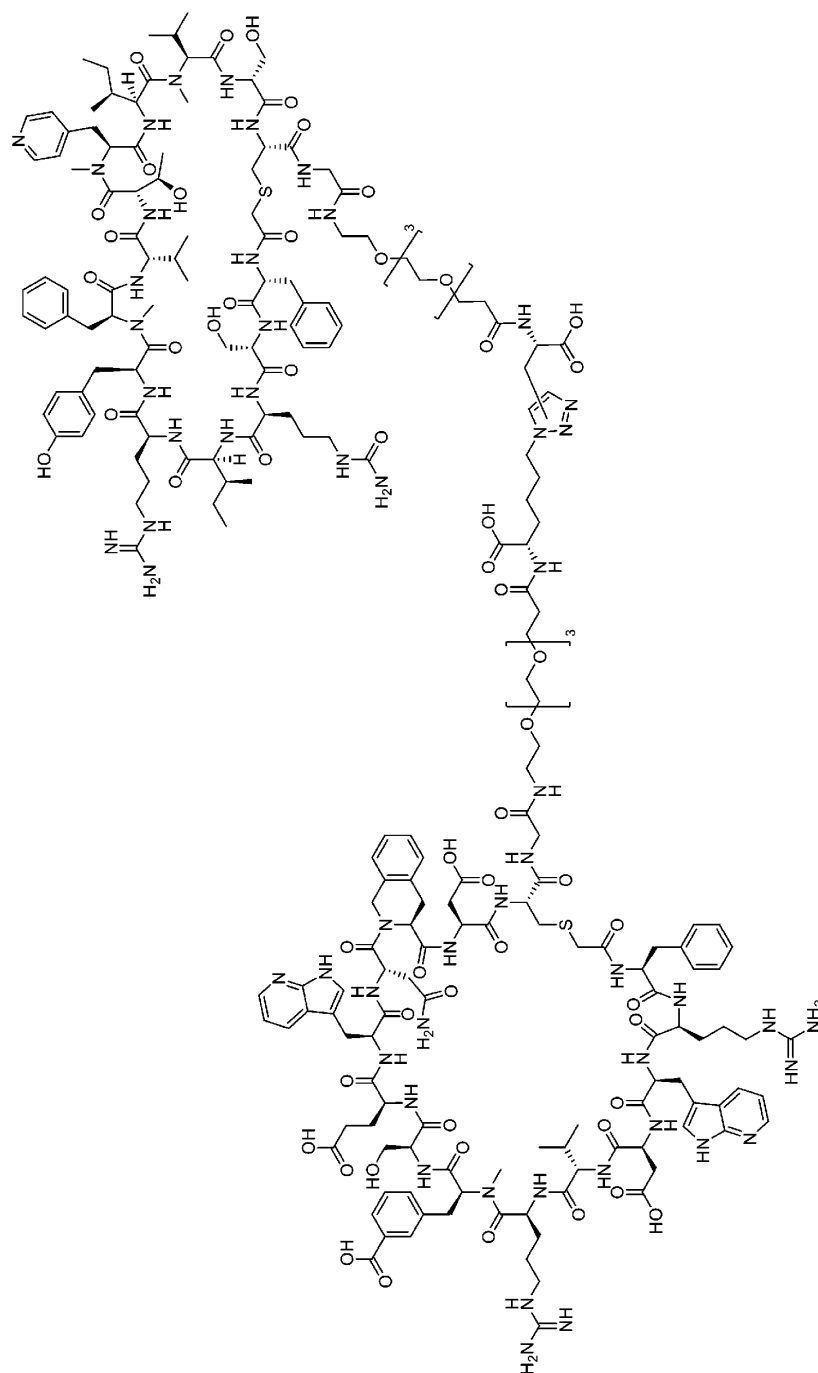
ESI-MS (+) 観測値 m/z = 1242 (M+5H)⁵⁺

[0323] [実施例6]

ペプチド複合体（ダイマー構造番号66のダイマー）の合成

[0324]

[化36]



[0325] HMPB-MBHA resin (Novabiochem, 0.69 mol/g)、及び樹脂1当量に対してFmoc-Gpra-OH/DIC

／DMAP（4当量／4当量／0.5当量）を、DMF／DCM（1／2）中、室温にて1時間1回反応を行い合成したFmoc-Gpra-HMPB-MBHA resinを用いて、実施例3と同様に合成したペプチド複合体（ペプチド配列番号163のペプチドにリンカー構造番号3の一部が付加したペプチド複合体）、及びHMPB-MBHA resin（Novabiochem、0.69mmol／g）、及び樹脂1当量に対してFmoc-KN3-OH／DIC／DMAP（4当量／4当量／0.5当量）を、DMF／DCM（1／2）中、室温にて1時間1回反応を行い合成したFmoc-KN3-HMPB-MBHA resinを用いて、実施例3と同様に合成したペプチド複合体（ペプチド配列番号76のペプチドにリンカー構造番号3の一部が付加したペプチド複合体）を用い実施例3と同様の方法で合成し目的物を得た。

[0326] 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95.04％であった。

[0327]（分析条件）

保持時間：2.80分

カラム：Kinetex EVO C18（2.6μm，2.1×150mm，100Å）

移動相：A）0.025％ TFA in H₂O

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％

流速：0.5mL／分

ESI-MS（+）観測値m／z＝1176（M+4H）4+

[0328] [実施例7]

各種ペプチド合成

本実施例では、実施例 1 ～実施例 6 と同様に、各種ペプチド複合体を化学合成した。合成した環状ペプチドのアミノ酸配列を表 5 及び表 6 に、リンカーの構造を下記式に、環状ペプチドがリンカーを介してダイマー化したペプチド複合体を表 7 に示す。

合成したペプチド複合体は、実施例 1 ～実施例 6 に記載するいずれかの分析条件で分析し、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 (+) 観測値と保持時間、価数、分析に用いた移動相Bの濃度勾配 (%) を表 5、表 6、及び表 7 に示す。

[0329] なお、表 5 及び表 6 に記載の分析結果は、ペプチド配列番号で示されるペプチドにリンカー構造番号 9 で示されるリンカーが付加したペプチド複合体を分析した結果得られた値である。

[0330]

[表5A]

表5(1 of 4)

ペプチド配列 番号	SEQ ID NO.	ペプチド配列(Fzd)															Ret. Time (m/z)	ESI [M+XH] ⁺	QC condition Concentration gradient of B (%)	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15				
1	1	CIAc	df	S	D	I	R	Y	MeF	Q	T	MeF	I	V	G	C	G	1.57 1140	3	w
2	2	CIAc	dcit	S	D	I	R	Y	MeF	Q	T	MeF	I	V	G	C	G	1.51 1143	3	w
3	3	CIAc	dy	S	D	I	R	Y	MeF	Q	T	MeF	I	V	G	C	G	1.54 1145	3	w
4	4	CIAc	df4F	S	D	I	R	Y	MeF	Q	T	MeF	I	V	G	C	G	1.58 1146	3	w
5	5	CIAc	df	S	D	I	R	MeY	MeF	Q	T	MeF	I	V	G	C	G	1.59 1111	3	w
6	6	CIAc	df	S	D	I	R	Y	MeF	Q	T	MeF	I	MeV	G	C	G	1.60 1145	3	w
7	7	CIAc	df	S	D	I	R	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G	1.53 1135	3	w
8	8	CIAc	df	Kmor	D	I	R	Y	MeF	Q	T	MeF	I	V	G	C	G	1.34 1177	3	w
9	9	CIAc	df	S	R	I	R	Y	MeF	Q	T	MeF	I	V	G	C	G	1.34 1154	3	w
10	10	CIAc	df	S	Cit	I	R	Y	MeF	Q	T	MeF	I	V	G	C	G	1.44 1154	3	w
11	11	CIAc	df	S	KC0ipipzaa	I	R	Y	MeF	Q	T	MeF	I	V	G	C	G	1.40 1201	3	w
12	12	CIAc	df	S	Atp	I	R	Y	MeF	Q	T	MeF	I	V	G	C	G	1.45 1153	3	w
13	13	CIAc	df	S	D	I	E	Y	MeF	Q	T	MeF	I	V	G	C	G	1.55 1131	3	w
14	14	CIAc	df	S	D	I	Ahp	Y	MeF	Q	T	MeF	I	V	G	C	G	1.61 1130	3	w
15	15	CIAc	df	S	D	I	R	Y	MeF	Hgl	T	MeF	I	V	G	C	G	1.45 1145	3	w
16	16	CIAc	df	S	D	I	R	Y	MeF	W1aa	T	MeF	I	V	G	C	G	1.50 1179	3	w
17	17	CIAc	df	S	D	I	R	Y	MeF	V	T	MeF	I	V	G	C	G	1.48 1130	3	w
18	18	CIAc	df	S	D	I	R	Y	MeF	Ahp	T	MeF	I	V	G	C	G	1.52 1140	3	w
19	19	CIAc	df	S	D	I	R	Y	MeF	Hty	T	MeF	I	V	G	C	G	1.48 1156	3	w
20	20	CIAc	df	S	D	I	R	Y	MeF	T	T	MeF	I	V	G	C	G	1.46 1131	3	w

[表5B]

表5(2 of 4)

ペプチド 配列 番号	SEQ ID No.	ペプチド配列(Fzd)										Ret. Time (m/z)	ESI [M+XH] X+	QC condition Concentration gradient of B (%)							
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10				11	12	13	14	15		
21	21	CIAc	df	S	D	I	R	Y	MeF	aIT	T	MeF	I	V	G	C	G	1.47	1131	3	w
22	22	CIAc	df	S	D	I	R	Y	MeF	Cit	T	MeF	I	V	G	C	G	1.45	1150	3	w
23	23	CIAc	df	S	D	I	R	Y	MeF	KQ0pipzaa	T	MeF	I	V	G	C	G	1.42	1197	3	w
24	24	CIAc	df	S	D	I	R	Y	MeF	Q	T	MeNle	I	V	G	C	G	1.43	1129	3	w
25	25	CIAc	df	S	D	I	R	Y	MeF	Q	T	MeF	Y	V	G	C	G	1.42	1157	3	w
26	26	CIAc	df	S	D	I	R	Y	MeF	Q	T	MeF	F4aao	V	G	C	G	1.42	1176	3	w
27	27	CIAc	d4py	S	D	I	R	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G	1.39	1135	3	w
28	28	CIAc	d3py	S	D	I	R	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G	1.4	1135	3	w
29	29	CIAc	df30Me	S	D	I	R	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G	1.54	1145	3	w
30	30	CIAc	df40Me	S	D	I	R	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G	1.54	1145	3	w
31	31	CIAc	df	N	D	I	R	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G	1.53	1144	3	w
32	32	CIAc	df	D	D	I	R	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G	1.53	1144	3	w
33	33	CIAc	df	Hgl	D	I	R	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G	1.53	1153	3	w
34	34	CIAc	df	Cit	D	I	R	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G	1.52	1158	3	w
35	35	CIAc	df	S	Atp	I	R	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G	1.55	1148	3	w
36	36	CIAc	df	S	N	I	R	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G	1.53	1134	3	w
37	37	CIAc	df	S	S	I	R	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G	1.53	1125	3	w
38	38	CIAc	df	S	D	TMe	R	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G	1.51	1135	3	w
39	39	CIAc	df	S	D	I	S	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G	1.66	1112	3	w
40	40	CIAc	df	S	D	I	Hse	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G	1.66	1116	3	w

[表5C]

ペプチド配列番号		ペプチド配列(Fzd)															Ret. Time (m/z)	ESI [M+X] ⁺	QC condition		
SEQ ID NO.		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15			Concentration gradient of B (%)		
41	41	CIAC	df	S	D	I	Cit	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G	1.66	1135	3	w
42	42	CIAC	df	S	D	I	Hcit	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G	1.67	1140	3	w
43	43	CIAC	df	S	D	I	Ncit	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G	1.66	1130	3	w
44	44	CIAC	df	S	D	I	OrnAc	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G	1.67	1135	3	w
45	45	CIAC	df	S	D	I	R	F4F	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G	1.61	1135	3	w
46	46	CIAC	df	S	D	I	R	F4C	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G	1.64	1141	3	w
47	47	CIAC	df	S	D	I	R	4Py	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G	1.41	1130	3	w
48	48	CIAC	df	S	D	I	R	F3C00	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G	1.55	1144	3	w
49	49	CIAC	df	S	D	I	R	Y	Me3Py	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G	1.37	1135	3	w
50	50	CIAC	df	S	D	I	R	Y	Me4Py	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G	1.36	1135	3	w
51	51	CIAC	df	S	D	I	R	Y	MeF3C00	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G	1.48	1150	3	w
52	52	CIAC	df	S	D	I	R	Y	MeF4C00	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G	1.48	1149	3	w
53	53	CIAC	df	S	D	I	R	Y	MeAtp	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G	1.49	1137	3	w
54	54	CIAC	df	S	D	I	R	Y	MeF	Gthp	T	MeF	I	MeV	G	C	G	1.52	1149	3	w
55	55	CIAC	df	S	D	I	R	Y	MeF	G4pipaa	T	MeF	I	MeV	G	C	G	1.47	1168	3	w
56	56	CIAC	df	S	D	I	R	Y	MeF	Cbg	T	MeF	I	MeV	G	C	G	1.54	1139	3	w
57	57	CIAC	df	S	D	I	R	Y	MeF	Chg	T	MeF	I	MeV	G	C	G	1.57	1148	3	w
58	58	CIAC	df	S	D	I	R	Y	MeF	TMe	T	MeF	I	MeV	G	C	G	1.53	1140	3	w
59	59	CIAC	df	S	D	I	R	Y	MeF	V	T	Me3Py	I	MeV	G	C	G	1.36	1135	3	w
60	60	CIAC	df	S	D	I	R	Y	MeF	V	T	Me4Py	I	MeV	G	C	G	1.35	1135	3	w

表5(3 of 4)

[表5D]

表5(4 of 4)

ペプチド配列番号	ペプチド配列(Fzd)															Ret. Time (m/z)	ESI [M+XH] ⁺	QC condition Concentration gradient of B (%)	
	SEQ ID NO.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14				15
61	CIAC	df	S	D	I	R	Y	MeF	V	T	MeF4C00	I	MeV	G	C	G	1.47 1149	3	w
62	CIAC	df	S	D	I	R	Y	MeF	V	T	MeAtp	I	MeV	G	C	G	1.49 1137	3	w
63	CIAC	df	S	D	I	R	Y	MeF	V	T	MeF	TMe	MeV	G	C	G	1.51 1135	3	w
64	CIAC	df	S	D	I	R	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeChg	G	C	G	1.59 1148	3	w
65	CIAC	df	S	D	I	R	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	da	C	G	1.55 1139	3	w
66	CIAC	df	S	D	I	R	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	ds	C	G	1.52 1144	3	w
67	CIAC	df	S	Atp	I	R	Y	MeF	V	T	MeF	I	V	G	C	G	1.50 1144	3	w
68	CIAC	df	S	Cit	I	R	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G	1.50 1149	3	w
69	CIAC	df	S	Atp	I	R	Y	MeF	V	T	MeF	Y	MeV	G	C	G	1.50 1165	3	w
70	CIAC	df	Hgl	D	I	R	Y	MeF	V	T	Me4Py	I	MeV	G	C	G	1.34 1154	3	w
71	CIAC	df	Hgl	D	I	R	Y	MeF3C00	V	T	Me4Py	I	MeV	G	C	G	1.29 1169	3	w
72	CIAC	df	Hgl	D	I	Cit	Y	MeF3C00	V	T	Me4Py	I	MeV	G	C	G	1.38 1169	3	w
73	CIAC	df	Hgl	D	I	Cit	Y	MeF3C00	TMe	T	Me4Py	I	MeV	ds	C	G	1.37 1184	3	w
74	CIAC	df	S	D	I	R	Y	MeF	V	T	Me4Py	I	MeV	ds	C	G	1.31 1145	3	w
75	CIAC	df	Hgl	D	I	R	Y	MeF	V	T	Me4Py	I	MeV	ds	C	G	1.32 1164	3	w
76	CIAC	df	S	Cit	I	R	Y	MeF	V	T	Me4Py	I	MeV	ds	C	G	1.31 1159	3	w
77	CIAC	df	Hgl	D	I	R	Y	MeF3C00	V	T	Me4Py	I	MeV	ds	C	G	1.28 1179	3	w
78	CIAC	df	Hgl	D	I	Cit	Y	MeF3C00	V	T	Me4Py	I	MeV	ds	C	G	1.36 1179	3	w

[表6A]

ペプチド配列番号		ペプチド配列(LRP)															Ret. Time	ESI (m/z)	[M+XH] ⁺ X ⁺	QC condition Concentration gradient of B (%)
		SEQ ID NO.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14				
79	CIAC	F	R	W	D	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G	1.43	1204	3	W
80	CIAC	F4F	R	W	D	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G	1.43	1210	3	W
81	CIAC	F	R	MeW	D	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G	1.43	1209	3	W
82	CIAC	F	R	W	D	MeV	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G	1.44	1209	3	W
83	CIAC	F	R	W	D	V	MeR	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G	1.43	1209	3	W
84	CIAC	F	R	W	D	V	R	MeF	S	MeN	W	N	Tic	N	C	G	1.44	1209	3	W
85	CIAC	F	R	W7N	D	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G	1.23	1205	3	W
86	CIAC	F	R	W	D	W1aa	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G	1.32	1253	3	W
87	CIAC	F	R	W	D	Cha	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G	1.35	1222	3	W
88	CIAC	F	R	W	D	Na11	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G	1.35	1237	3	W
89	CIAC	F	R	W	D	3py5Ph	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G	1.28	1246	3	W
90	CIAC	F	R	W	D	V	Kmor	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G	1.31	1218	3	W
91	CIAC	F	R	W	D	V	R	MeF	W1aa	N	W	N	Tic	N	C	G	1.34	1257	3	W
92	CIAC	F	R	W	D	V	R	MeF	Hty	N	W	N	Tic	N	C	G	1.32	1234	3	W
93	CIAC	F	R	W	D	V	R	MeF	a1T	N	W	N	Tic	N	C	G	1.30	1209	3	W
94	CIAC	F	R	W	D	V	R	MeF	S	Hgl	W	N	Tic	N	C	G	1.31	1214	3	W
95	CIAC	F	R	W	D	V	R	MeF	S	Cha	W	N	Tic	N	C	G	1.39	1217	3	W
96	CIAC	F	R	W	D	V	R	MeF	S	Hty	W	N	Tic	N	C	G	1.33	1225	3	W
97	CIAC	F	R	W	D	V	R	MeF	S	Hw7N	W	N	Tic	N	C	G	1.28	1234	3	W
98	CIAC	F	R	W	D	V	R	MeF	S	KO0pip2aa	W	N	Tic	N	C	G	1.29	1266	3	W

表6(1 of 5)

[表6B]

表6(2 of 5)

ペプチド配列番号	ペプチド配列(LRP)															Ret. Time	ESI (m/z)	[M+XH] ⁺ X ⁺	QC condition Concentration gradient of B (%)		
	SEQ ID NO.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14					15	
99	99	CIAC	F	R	W	D	V	R	MeF	S	N	W7N	N	Tic	N	C	G	1.24	1204	3	W
100	100	CIAC	F	R	W	D	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic	D	C	G	1.31	1205	3	W
101	101	CIAC F4Me	R	W	W	D	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G	1.34	1209	3	W
102	102	CIAC F3Me	R	W	W	D	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G	1.34	1209	3	W
103	103	CIAC	F	Hcit	W	D	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G	1.40	1209	3	W
104	104	CIAC	F	R	W5N	D	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G	1.21	1204	3	W
105	105	CIAC	F	R	W7N	D	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G	1.25	1204	3	W
106	106	CIAC	F	R	W1Me7N	D	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G	1.29	1209	3	W
107	107	CIAC	F	R	W7N5Me	D	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G	1.25	1209	3	W
108	108	CIAC	F	R	Na11	D	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G	1.37	1208	3	W
109	109	CIAC	F	R	Na14N	D	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G	1.24	1208	3	W
110	110	CIAC	F	R	W	E	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G	1.32	1209	3	W
111	111	CIAC	F	R	W	N	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G	1.32	1204	3	W
112	112	CIAC	F	R	W	Q	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G	1.32	1208	3	W
113	113	CIAC	F	R	W	D	Obg	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G	1.33	1208	3	W
114	114	CIAC	F	R	W	D	P	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G	1.32	1203	3	W
115	115	CIAC	F	R	W	D	V	Cit	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G	1.41	1204	3	W
116	116	CIAC	F	R	W	D	V	Hcit	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G	1.43	1209	3	W
117	117	CIAC	F	R	W	D	V	Ncit	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G	1.41	1200	3	W
118	118	CIAC	F	R	W	D	V	OrnAc	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G	1.43	1204	3	W

表6(2 of 5)

[表6C]

表6(3 of 5)

ペプチド 配列 番号	SEQ ID NO.	ペプチド配列(LRP)															Ret. Time	ESI (m/z)	[M+XH] X+	QC condition Concentration gradient of B (%)
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15				
119	CIAC	F	R	W	D	V	R	MeF4C00	S	N	W	N	Tic	N	C	G	1.31	1219	3	W
120	CIAC	F	R	W	D	V	R	MeY	S	N	W	N	Tic	N	C	G	1.3	1209	3	W
121	CIAC	F	R	W	D	V	R	MeF4Me	S	N	W	N	Tic	N	C	G	1.34	1209	3	W
122	CIAC	F	R	W	D	V	R	MeF4C	S	N	W	N	Tic	N	C	G	1.34	1215	3	W
123	CIAC	F	R	W	D	V	R	MeF3C00	S	N	W	N	Tic	N	C	G	1.3	1219	3	W
124	CIAC	F	R	W	D	V	R	MeF3Me	S	N	W	N	Tic	N	C	G	1.34	1209	3	W
125	CIAC	F	R	W	D	V	R	MeF3C	S	N	W	N	Tic	N	C	G	1.34	1216	3	W
126	CIAC	F	R	W	D	V	R	MeF	T	N	W	N	Tic	N	C	G	1.33	1209	3	W
127	CIAC	F	R	W	D	V	R	MeF	N	N	W	N	Tic	N	C	G	1.31	1213	3	W
128	CIAC	F	R	W	D	V	R	MeF	Q	N	W	N	Tic	N	C	G	1.31	1218	3	W
129	CIAC	F	R	W	D	V	R	MeF	D	N	W	N	Tic	N	C	G	1.32	1213	3	W
130	CIAC	F	R	W	D	V	R	MeF	E	N	W	N	Tic	N	C	G	1.31	1218	3	W
131	CIAC	F	R	W	D	V	R	MeF	S	Q	W	N	Tic	N	C	G	1.33	1209	3	W
132	CIAC	F	R	W	D	V	R	MeF	S	D	W	N	Tic	N	C	G	1.33	1204	3	W
133	CIAC	F	R	W	D	V	R	MeF	S	E	W	N	Tic	N	C	G	1.33	1209	3	W
134	CIAC	F	R	W	D	V	R	MeF	S	N	W6N	N	Tic	N	C	G	1.18	1204	3	W
135	CIAC	F	R	W	D	V	R	MeF	S	N	W1Me7N	N	Tic	N	C	G	1.28	1209	3	W
136	CIAC	F	R	W	D	V	R	MeF	S	N	W7N5Me	N	Tic	N	C	G	1.23	1209	3	W
137	CIAC	F	R	W	D	V	R	MeF	S	N	W	Q	Tic	N	C	G	1.32	1209	3	W
138	CIAC	F	R	W	D	V	R	MeF	S	N	W	Nmm	Tic	N	C	G	1.32	1209	3	W

[0337]

[表6D]

表6(4 of 5)

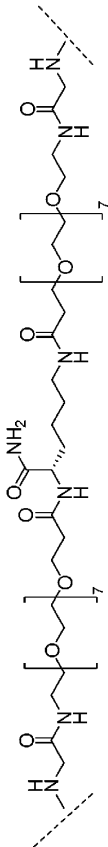
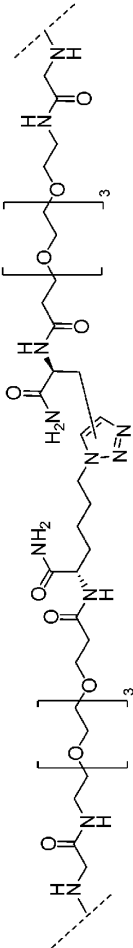
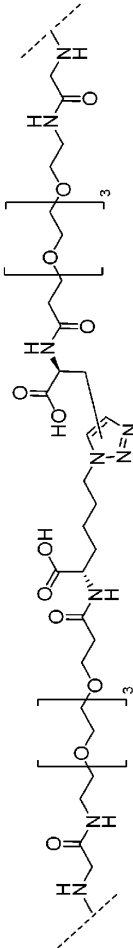
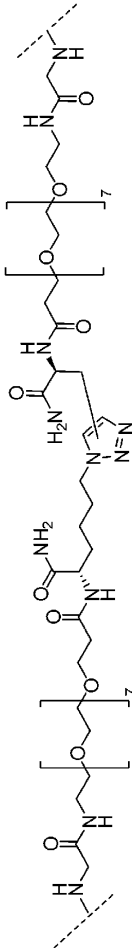
ペプチド配列番号	SEQ ID NO.	ペプチド配列(LRP)															Ret. Time	ESI (m/z)	[M+XH] X+	QC condition Concentration gradient of B (%)
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15				
139	139 ClAc	F	R	W	D	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic6C	N	C	G	1.35	1216	3	W
140	140 ClAc	F	R	W	D	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic7H	N	C	G	1.29	1209	3	W
141	141 ClAc	F	R	W	D	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic7C	N	C	G	1.34	1216	3	W
142	142 ClAc	F	R	W	D	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic	Q	C	G	1.32	1209	3	W
143	143 ClAc	F	R	W	D	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic	Nmm	C	G	1.33	1209	3	W
144	144 ClAc	F	R	W	D	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic	Ndm	C	G	1.34	1213	3	W
145	145 ClAc	F	R	W7N	D	V	R	MeF	S	N	W7N	N	Tic	N	C	G	1.16	1205	3	W
146	146 ClAc	F	R	W7N5Me	D	V	R	MeF	S	N	W7N	N	Tic	N	C	G	1.17	1210	3	W
147	147 ClAc	F	R	NaI14N	D	V	R	MeF	S	N	W7N	N	Tic	N	C	G	1.16	1209	3	W
148	148 ClAc	F	R	W7N	D	Cbg	R	MeF	S	N	W7N	N	Tic	N	C	G	1.17	1209	3	W
149	149 ClAc	F	R	W7N	D	P	R	MeF	S	N	W7N	N	Tic	N	C	G	1.16	1204	3	W
150	150 ClAc	F	R	W7N	D	V	Kmor	MeF	S	N	W7N	N	Tic	N	C	G	1.17	1219	3	W
151	151 ClAc	F	R	W7N	D	V	R	MeF4C00	S	N	W7N	N	Tic	N	C	G	1.15	1220	3	W
152	152 ClAc	F	R	W7N	D	V	R	MeF3C00	S	N	W7N	N	Tic	N	C	G	1.19	not detected		W
153	153 ClAc	F	R	W7N	D	V	R	MeF	E	N	W7N	N	Tic	N	C	G	1.16	1219	3	W
154	154 ClAc	F	R	W7N	D	V	R	MeF	S	E	W7N	N	Tic	N	C	G	1.17	1210	3	W
155	155 ClAc	F	R	W7N	D	V	R	MeF	S	N	W7N5Me	N	Tic	N	C	G	1.20	not detected		W
156	156 ClAc	F	R	W7N	D	V	R	MeF	S	N	W7N	N	Tic7C	N	C	G	1.18	1217	3	W
157	157 ClAc	F	R	W7N	D	V	R	MeF	S	N	W7N	N	Tic	Nmm	C	G	1.17	1210	3	W
158	158 ClAc	F	R	W7N	D	V	R	MeF	S	N	W7N	N	Tic	D	C	G	1.17	905	4	W

[表6E]

表6(5 of 5)

ペプチド配列番号	ペプチド配列(LRP)															Ret. Time	ESI (m/z)	[M+XH] X+	QC condition Concentration gradient of B (%)
	SEQ ID NO.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14				
159	CIAc	F	R	W7N	D	V	R	MeF	E	E	W7N	N	Tic	N	C	G	1.17	3	w
160	CIAc	F	R	W7N	D	V	R	MeF	E	E	W7N	N	Tic	D	C	G	1.17	3	w
161	CIAc	F	R	W7N	D	V	R	MeF3000	E	E	W7N	N	Tic	D	C	G	1.16	3	w
162	CIAc	F	R	W7N	D	V	Kmor	MeF3000	E	E	W7N	N	Tic	D	C	G	1.17	3	w
163	CIAc	F	R	W7N	D	V	R	MeF3000	S	E	W7N	N	Tic	D	C	G	1.16	3	w

[化37A]

リンカー構造番号	リンカー名称	構造
1	P08K_d	
2	click_P04K/c_P04K	
3	click_P04K_OH	
4	click_P08K	

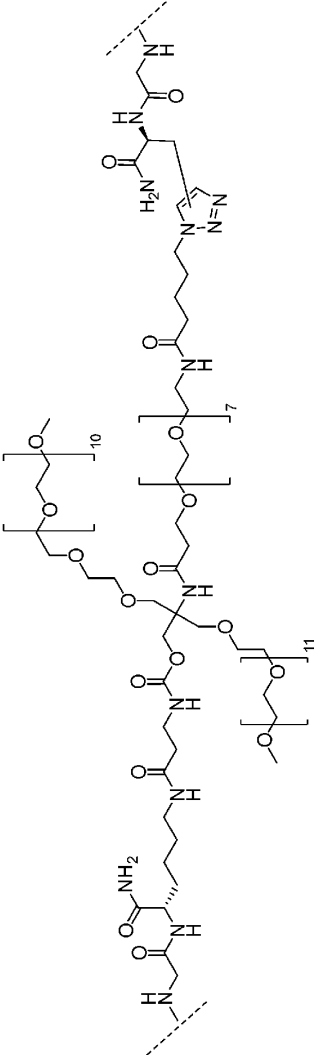
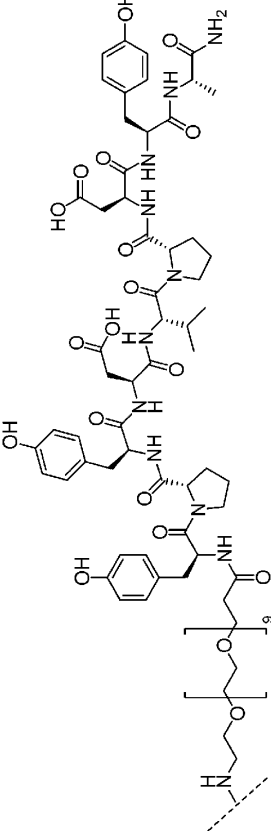
[0340]

[化37B]

リンカー構造番号	リンカー名称	構造
5	click_P12K	
6	click_P04K_branch	
7	click_P08K_branch	

[0341]

[化37C]

リンカー構造番号	リンカー名称	構造
8	N0F	
9	tag	

[0342]

[表7A]

表7(1 of 3)

ダイマー 構造 番号	ペプチド 配列 番号	リンカー 構造 番号	ペプチド 配列 番号	Ret time	ESI (m/z)	[M+XH] X+	QC condition
							Concentration gradient of B (%)
1	1	1	79	4.44	1199	4	x
2	1	2	79	4.23	1146	4	x
3	1	4	79	4.37	1234	4	x
4	1	5	79	4.51	1322	4	x
5	12	2	79	4.90	1155	4	x
6	17	2	79	4.72	1138	4	x
7	19	2	79	4.70	1157	4	x
8	20	2	79	4.61	1138	4	x
9	22	2	79	4.88	1152	4	x
10	6	2	79	4.59	1149	4	x
11	67	2	79	4.80	1148	4	x
12	7	2	79	4.86	1141	4	x
13	35	2	79	4.94	1151	4	x
14	17	4	79	4.76	1226	4	x
15	35	2	85	4.20	1152	4	x
16	35	2	99	4.12	1152	4	x
17	35	2	145	3.84	1152	4	x
18	35	2	90	4.60	1162	4	x
19	68	2	79	4.56	1152	4	x
20	35	2	98	4.50	1198	4	x
21	35	2	100	4.74	1152	4	x
22	69	2	79	4.54	1164	4	x
23	33	2	145	4.06	1156	4	x
24	41	2	145	4.39	1142	4	x
25	51	2	145	3.75	1153	4	x
26	70	2	145	3.18	1156	4	x
27	71	2	145	2.93	1167	4	x
28	72	2	145	3.16	1167	4	x
29	77	2	145	5.59	1175	4	y
30	78	2	145	5.79	1175	4	y

[0343]

[表7B]

表7(2 of 3)

ダイマー 構造 番号	ペプチド 配列 番号	リンカー 構造 番号	ペプチド 配列 番号	Ret time	ESI (m/z)	[M+XH] X+	QC condition
							Concentration gradient of B (%)
31	73	2	145	5.84	1179	4	y
32	7	2	150	3.98	1152	4	x
33	7	2	152	3.88	1153	4	x
34	7	2	154	3.97	764	6	x
35	7	2	159	3.98	1156	4	x
36	7	2	160	4.01	1156	4	x
37	7	2	161	3.75	1168	4	x
38	7	2	162	3.78	1178	4	x
39	74	2	161	3.26	1168	4	x
40	75	2	161	3.22	1189	4	x
41	66	2	161	3.65	1175	4	x
42	66	2	162	4.98	1185	4	x
43	66	2	163	4.97	1164	4	x
44	35	6	79	5.04	1451	4	x
45	35	7	79	5.16	1232	5	x
46	35	8	79	5.40	1484	4	x
47	35	8	79	5.42	1484	4	x
48	1	6	79	4.73	1445	4	x
49	1	7	79	4.86	1227	5	x
50	7	2	145	4.07	1142	4	x
51	60	2	145	2.86	1142	4	x
52	60	7	161	4.16	1245	5	x
53	75	7	161	4.14	1262	5	x
54	66	7	161	4.76	1251	5	x
55	66	7	162	4.88	1259	5	x
56	66	7	163	4.86	1242	5	x
57	74	7	161	4.09	1251	5	x
58	74	2	161	5.43	1175	4	y
59	76	7	161	4.06	1259	5	x
60	76	2	161	5.40	1186	4	y

[0344]

[表7C]

表7(1 of 3)

ダイマー 構造 番号	ペプチド 配列 番号	リンカー 構造 番号	ペプチド 配列 番号	Ret time	ESI (m/z)	[M+XH] X+	QC condition
							Concentration gradient of B (%)
61	74	7	162	4.12	1259	5	z
62	74	2	162	5.80	1186	4	y
63	74	7	163	4.10	1242	5	x
64	74	2	163	5.44	1165	4	y
65	76	2	163	3.01	1175	4	x
66	76	3	163	2.80	1176	4	x
67	76	7	163	3.58	1251	5	x

[0345] [実施例8]

ELISAによるFrizzledへの結合活性評価

合成したペプチド複合体（ペプチド配列番号1～78にリンカー構造番号9が付加したペプチド複合体）のFrizzledへの結合活性を評価する為に、ELISA法を用いた結合活性評価を以下の工程で実施した。

[0346] ストレプトアビジンコート済み96ウェルプレート（Thermo；436014）にビオチン標識したPolyclonal Anti-Human IgG（eBioscience；13-4998）を1ウェルあたり200μg添加し、30分間静置した。

[0347] PBS-Tで3回洗浄した後、Fcタグ融合Frizzled-2（R&D systems；1307-FZ）又はFrizzled-7（R&D systems；6178-FZ）又はFrizzled-8（R&D systems；6129-FZ）を1ウェルあたり3pmol添加し、30分間静置することで各Frizzledをプレート上に固定化した。

[0348] PBS-Tで3回洗浄した後、Frizzled-2、Frizzled-7に対しては10nMに希釈したペプチド複合体を、Frizzled-8に対しては500nMに希釈したペプチド複合体を添加し1時間静置した。

[0349] PBS-Tで3回洗浄した後、PBS-Tで5000倍希釈したAnti

—H A — t a g m A b — H R P — D i r e c T (M B L ; M 1 8 0 — 7)
を添加し30分静置した。

[0350] P B S — T で 3 回 洗 浄 後、 S u r e B l u e T M B 1 — C o m p o n
e n t M i c r o w e l l P e r o x i d a s e S u b s t r a t e
(S e r a C a r e ; 5 1 2 0 — 0 0 7 7) を 加 え 1 0 分 間 静 置 後、 T M B
S t o p S o l u t i o n (S e r a C a r e ; 5 1 5 0 — 0 0 2 1
) を 等 量 添 加 す る こ と で 反 応 を 停 止 し た。

[0351] I n f i n i t e M N a n o * (T E C A N) を 用 い て 4 5 0 n m の
吸 光 度 を 測 定 し た。 各 ペ プ チ ド 複 合 体 の 結 合 シ グ ナ ル は、 ペ プ チ ド を 添 加 し
た ウ ェ ル の 吸 光 度 か ら ペ プ チ ド 複 合 体 非 添 加 ウ ェ ル の 吸 光 度 を 差 し 引 く こ と
で 算 出 し た。

[0352] 結 果 を 表 8 に 示 し た。 合 成 し た ペ プ チ ド 複 合 体 は、 F r i z z l e d — 2
(F Z D 2)、 F r i z z l e d — 7 (F Z D 7)、 及 び F r i z z l e d
— 8 (F Z D 8) へ の 結 合 活 性 を 有 す る こ と が 示 さ れ た。

[0353]

[表8A]

表8(1 of 3)

ペプチド 配列 番号	ELISA signal		
	Frizzled-2 (FZD2)	Frizzled-7 (FZD7)	Frizzled-8 (FZD8)
1	1.5	1.4	0.7
2	0.0	0.0	0.4
3	0.3	0.3	0.1
4	0.3	0.3	0.0
5	0.3	0.3	0.1
6	1.7	1.7	1.5
7	1.7	1.6	1.3
8	1.2	1.1	0.5
9	1.2	1.2	0.1
10	1.3	1.2	0.4
11	1.2	1.1	0.4
12	1.2	1.2	0.2
13	0.2	0.1	0.5
14	1.2	0.7	0.5
15	1.2	1.1	0.4
16	1.4	1.4	0.4
17	1.3	1.3	0.7
18	1.4	1.4	0.2
19	1.6	1.5	0.3
20	1.3	1.3	0.5
21	1.2	1.1	0.4
22	1.2	1.2	0.7
23	1.2	1.2	0.5
24	1.0	0.8	0.8
25	1.1	1.1	0.5
26	1.0	1.0	0.7
27	1.4	1.3	1.0
28	1.3	1.3	1.1
29	1.5	1.5	1.3
30	1.6	1.5	1.3

[0354]

[表8B]

表8(2 of 3)

ペプチド 配列 番号	ELISA signal		
	Frizzled-2 (FZD2)	Frizzled-7 (FZD7)	Frizzled-8 (FZD8)
31	1.5	1.5	1.4
32	1.6	1.5	1.4
33	1.3	1.4	1.5
34	1.5	1.5	1.1
35	1.4	1.4	0.6
36	1.5	1.5	0.7
37	1.4	1.5	0.7
38	0.2	0.2	0.8
39	1.3	1.3	1.2
40	1.3	1.3	1.2
41	1.5	1.4	1.2
42	1.4	1.4	1.2
43	1.3	1.3	1.2
44	1.4	1.4	1.3
45	0.6	0.6	0.9
46	0.2	0.2	0.4
47	0.4	0.3	0.6
48	0.4	0.2	0.7
49	1.2	1.1	0.6
50	1.1	1.1	0.9
51	1.4	1.4	1.0
52	0.7	0.4	1.0
53	0.2	0.2	1.2
54	1.5	1.5	1.1
55	1.4	1.4	0.8
56	1.6	1.6	1.2
57	1.5	1.5	1.1
58	1.5	1.5	1.3
59	1.4	1.1	1.1
60	1.5	1.3	1.2

[0355]

[表8C]

表8(3 of 3)

ペプチド 配列 番号	ELISA signal		
	Frizzled-2 (FZD2)	Frizzled-7 (FZD7)	Frizzled-8 (FZD8)
61	0.0	0.0	0.8
62	1.4	1.3	1.2
63	1.5	1.5	1.4
64	0.8	0.8	1.0
65	1.4	1.5	1.4
66	1.4	1.5	1.3
67	1.3	1.3	0.3
68	1.3	1.4	0.4
69	1.4	1.4	0.4
70	1.3	1.1	0.5
71	1.0	0.9	0.4
72	0.8	0.7	0.4
73	1.2	1.1	0.7
74	1.4	1.3	0.8
75	1.3	1.2	0.7
76	1.4	1.4	0.5
77	1.3	1.2	0.7
78	1.2	1.1	0.5

[0356] [実施例9]

ELISAによるLRPへの結合活性評価

合成したペプチド複合体（ペプチド配列番号79～163にリンカー構造番号9が付加したペプチド複合体）のLRPへの結合活性を評価する為に、ELISA法を用いた結合活性評価を以下の工程で実施した。

[0357] I. ペプチド複合体のLRP5への結合活性評価

ストレプトアビジンコート済み96ウェルプレート（Thermo；436014）にビオチン標識したLRP5（ACROBiosystems；LR5-H82E6）を1ウェルあたり3 pmol添加し、30分間静置することでLRP5をプレート上に固定化した。

[0358] PBS-Tで3回洗浄した後、10 nMに希釈したペプチド複合体を添加し1時間静置した。

- [0359] PBS-Tで3回洗浄した後、PBS-Tで5000倍希釈したAnti-HA-tag mAb-HRP-Direct (MBL; M180-7)を添加し、30分静置した。
- [0360] PBS-Tで3回洗浄した後、検出用試薬SureBlue TMB 1-Component Microwell Peroxidase Substrate (SeraCare; 5120-0077)を加え10分間静置後、TMB Stop Solution (SeraCare; 5150-0021)を等量添加することで反応を停止した。
- [0361] Infinite M Nano* (TECAN)を用いて450nmの吸光度を測定した。各ペプチド複合体の結合シグナルは、各ペプチド複合体を添加したウェルの吸光度からペプチド複合体非添加ウェルの吸光度を差し引くことで算出した。
- [0362] I. ペプチド複合体のLRP6への結合活性評価
ストレプトアビジンコート済み96ウェルプレート (Thermo; 436014) にビオチン標識したPolyclonal Anti-Human IgG (eBioscience; 13-4998)を1ウェルあたり200 μ g添加し30分間静置した。
- [0363] PBS-Tで3回洗浄した後、Fcタグ融合LRP6 (R&D systems; 1505-LR)を1ウェルあたり3 pmol添加することでLRP6をプレート上に固定化した。
- [0364] PBS-Tで3回洗浄した後、100 nMに希釈したペプチド複合体を添加し1時間静置した。以降は“I. ペプチド複合体のLRP5への結合活性評価”と同様の方法で抗体反応、吸光度検出を実施した。
- [0365] 結果を表9に示した。合成したペプチド複合体は、LRP5及びLRP6への結合活性を有することが示された。
- [0366]

[表9A]

表9(1 of 3)

ペプチド 配列 番号	ELISA signal	
	LRP5	LRP6
79	1.9	0.6
80	1.6	0.0
81	1.8	0.7
82	0.9	0.0
83	1.7	0.3
84	0.5	0.0
85	2.0	0.9
86	1.9	0.8
87	1.9	0.9
88	1.6	0.6
89	1.6	0.5
90	1.6	0.8
91	1.9	0.6
92	1.8	0.5
93	2.1	0.8
94	1.7	0.9
95	1.8	0.5
96	1.8	0.7
97	1.9	0.7
98	1.8	0.9
99	2.0	1.1
100	1.9	0.8
101	1.6	0.2
102	1.1	0.0
103	1.0	0.2
104	1.6	0.0
105	2.1	0.7
106	1.8	0.5
107	1.5	1.3
108	1.5	0.8
109	1.4	1.0
110	1.8	0.8

[0367]

[表9B]

表9(2 of 3)

ペプチド 配列 番号	ELISA signal	
	LRP5	LRP6
111	1.8	0.4
112	1.5	0.1
113	1.8	0.7
114	1.7	0.2
115	1.4	0.2
116	1.3	0.1
117	1.4	0.1
118	1.1	0.1
119	2.0	0.9
120	2.2	1.2
121	2.2	1.1
122	2.3	1.2
123	2.3	0.9
124	2.1	0.9
125	2.1	1.0
126	2.1	0.7
127	1.9	0.6
128	2.0	0.7
129	1.8	0.5
130	2.2	0.7
131	2.2	0.9
132	1.9	0.8
133	2.1	0.7
134	1.1	0.2
135	2.2	0.5
136	2.1	1.0
137	1.1	0.1
138	1.9	0.1
139	1.7	0.2
140	2.1	0.5

[0368]

o Fisher Scientific)を含むEMEM (Fuji F ILM) で培養した。

[0372] TrypLE (Thermo Fisher Scientific) を用いて細胞を剥離後、10% FBS、50 ug/mL Gentamicin、10 mM LiCl (Sigma) を含むEMEMで懸濁した。

[0373] 1ウェルあたり35,000細胞となるように細胞接着用、発光検出用白色96ウェルプレート (Thermo Fisher Scientific) に播種し、一晚培養した。

[0374] ペプチドを加えた後、1 nM Recombinant Human R-spondin 1 (R&D systems) と10 nM Wnt3a を添加した。37°CのCO₂インキュベータ内で5時間30分刺激した。

[0375] ONE-Glo Luciferase Assay System (Promega) を加えて4分間振盪し、SpectraMax Paradigm multimode microplate reader (Molecular Devices) を使用して発光シグナルを検出した。得られたシグナルをGraphPad Prismで解析し、Wnt3a、R-spondinで誘導されるシグナル値を0%阻害、Wnt3a、R-spondin無添加のシグナル値を100%阻害として各ペプチドの% inhibitionを計算した。

[0376] ペプチドの添加濃度は1 nM、10 nM、100 nMで試験を実施した。

[0377] % inhibitionについて、ペプチドを1 nM添加時に50%以上の阻害活性があるものを1-a、ペプチドを10 nM添加時に50%以上の阻害活性があるものを1-b、ペプチドを100 nM添加時に50%以上の阻害活性があるものを1-c、ペプチドを100 nM添加時に1%以上50%未満の阻害活性があるものを1-dとした。

[0378] 結果を表10に示した。合成したペプチドは、Wnt3a阻害活性を有することが示された。

[0379]

[表10]

ペプチド 配列 番号	TCF/LEFレポーター アッセイ結果
79	1-b
81	1-b
83	1-b
85	1-b
86	1-b
87	1-b
88	1-b
89	1-b
90	1-b
91	1-b
92	1-c
93	1-b
94	1-b
95	1-b
96	1-b
98	1-a
99	1-a
100	1-b

[0380] [実施例 11]

Wntシグナル活性化能の評価

[0381] 合成したペプチド複合体（ダイマー構造番号1～67）のWntシグナル活性化能を評価する為に、TCF／LEFレポーターによる転写活性を評価した。

[0382] TCF／LEF Reporter-HEK 293細胞（BPS Bioscience）を10％FBS（Thermo Fisher Scientific）、50μg／mL Gentamicin（Nacalaitesque）、400μg／mL Geneticin（Thermo Fisher Scientific）を含むEMEM（Fuji FILLM）で培養した。

[0383] TrypLE（Thermo Fisher Scientific）を用いて細胞を剥離後、10％FBS、50μg／mL Gentamici

n、10mM LiCl (Sigma) を含むEMEMで懸濁した。

[0384] 1ウェルあたり35、000細胞となるように細胞接着用、発光検出用白色96ウェルプレート (Thermo Fisher Scientific) に播種し、一晚培養した。

[0385] その後1nM Recombinant Human R-spondin 1 (R&D systems) 存在下でRecombinant Human Wnt-3a Protein (R&D systems) 又はペプチド複合体を加え、37°CのCO₂インキュベータ内で、5時間30分刺激した。

[0386] ONE-Glo Luciferase Assay System (Promega) を加えて4分間振盪し、SpectraMax Paradigm multimode microplate reader (Molecular Devices) を使用して発光シグナルを検出した。

[0387] 得られたシグナルをGraphPad Prismで解析し、Wnt-3aで誘導されるシグナルの最大値を100%、無刺激を0%として% activityを計算した。Wntの濃度は0.03~30nMで評価し、100%の値を決定した。

[0388] 各ダイマー構造番号について、以下に示されるペプチド複合体の添加濃度で試験を実施した。

a) ダイマー構造番号1については、1nM、10nM、100nM、1000nM b) ダイマー構造番号2~4については、1nM、10nM、100nM

c) ダイマー構造番号5~14については、0.1nM、1nM、10nM、100nM

d) ダイマー構造番号15~43については、0.1nM、1nM、10nM

e) ダイマー構造番号44~56については、30nMから1/4倍公比で6点 (0.03nM、0.12nM、0.47nM、1.9nM、7.

5 nM、30 nM)

f) ペプチド配列番号57～67については、30 nMから1／5倍公比で6点(0.0096、0.048、0.24、1.2、6.0、30 nM)

[0389] %a c t i v i t yについて、ペプチド複合体を0.1 nM添加時に50%以上活性があるものを2-A、ペプチド複合体を1 nM添加時に50%以上活性があるものを2-B、ペプチド複合体を10 nM添加時に50%以上活性があるものを2-C、ペプチド複合体を100 nM添加時に50%以上活性があるものを2-D、ペプチド複合体を100 nM添加時に1%以上50%未満活性があるものを2-Eとした。

[0390] ペプチド複合体を0.03 nM添加時に50%以上活性があるものを3-A、ペプチド複合体を0.12 nM添加時に50%以上活性があるものを3-B、ペプチド複合体を0.47 nM添加時に50%以上活性があるものを3-C、ペプチド複合体を1.9 nM添加時に50%以上活性があるものを3-D、ペプチド複合体を7.5 nM添加時に50%以上活性があるものを3-E、ペプチド複合体を30 nM添加時に50%以上活性があるものを3-F、ペプチド複合体を30 nM添加時に1%以上50%未満活性があるものを3-Gとした。

[0391] ペプチド複合体を0.0096 nM添加時に50%以上活性があるものを4-A、ペプチド複合体を0.048 nM添加時に50%以上活性があるものを4-B、ペプチド複合体を0.24 nM添加時に50%以上活性があるものを4-C、ペプチド複合体を1.2 nM添加時に50%以上活性があるものを4-D、ペプチド複合体を6 nM添加時に50%以上活性があるものを4-E、ペプチド複合体を30 nM添加時に50%以上活性があるものを4-F、ペプチド複合体を30 nM添加時に1%以上50%未満活性があるものを4-Gとした。

[0392] 結果を表11に示した。合成したペプチド複合体は、リコンビナントタンパク質のWnt3aと同様に、Wntシグナル活性化能を有することが示さ

れた。

[0393] [表11A]

表11(1 of 3)

ダイマー 構造 番号	TCF/LEFレポーター アッセイ結果
1	2-C
2	2-C
3	2-C
4	2-C
5	2-C
6	2-B
7	2-C
8	2-C
9	2-C
10	2-B
11	2-B
12	2-B
13	2-B
14	2-B
15	2-B
16	2-A
17	2-B
18	2-B
19	2-B
20	2-B
21	2-B
22	2-B
23	2-B
24	2-B
25	2-B
26	2-B
27	2-B
28	2-B
29	2-B
30	2-B

[0394]

[表11B]

表11(2 of 3)

ダイマー 構造 番号	TCF/LEFレポーター アッセイ結果
31	2-B
32	2-B
33	2-B
34	2-B
35	2-B
36	2-B
37	2-B
38	2-A
39	2-B
40	2-B
41	2-B
42	2-A
43	2-A
44	3-D
45	3-D
46	3-D
47	3-D
48	3-F
49	3-F
50	3-D
51	3-D
52	3-C
53	3-C
54	3-C
55	3-C
56	3-B
57	4-D
58	4-D
59	4-D
60	4-D

[0395]

[表11C]

表11(3 of 3)

ダイマー 構造 番号	TCF/LEFレポーター アッセイ結果
61	4-D
62	4-C
63	4-C
64	4-C
65	4-C
66	4-C
67	4-C

産業上の利用可能性

[0396] 本発明のペプチド複合体は、F r i z z l e d受容体及び共受容体であるL R P 5及び／又はL R P 6に結合して、W n tシグナル伝達経路を活性化する。そのため、本発明のペプチド複合体は、小腸、大腸、胃、すい臓、肺などの様々なオルガノイドの作成に有用である。また、本発明のペプチドは、L R P 5及び／又はL R P 6に結合し、W n t阻害活性を有する。そのため、本発明のペプチドは、W n tシグナル伝達経路を阻害する薬剤に使用できる。

請求の範囲

[請求項1] 式A1で示されるアミノ酸配列、又は式A1で示されるアミノ酸配列において1若しくは複数個のアミノ酸残基が、置換、欠失、付加又は挿入されたアミノ酸配列、を含むペプチド。

A1: X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13-X14

但し、

X1は、任意のD-アミノ酸残基であり、

X2及びX3は、それぞれ独立に、任意のアミノ酸残基であり、

X4及びX5は、それぞれ独立に、置換されていてもよい脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

X6は、置換されていてもよいアリール基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

X7は、置換されていてもよいアリール基又は置換されていてもよいシクロアルキル基を側鎖に有するN-アルキルアミノ酸残基であり、

X8は、任意のアミノ酸残基であり、

X9は、L-スレオニン（T）残基であり、

X10は、任意のN-アルキル化アミノ酸残基であり、

X11は、任意のアミノ酸残基であり、

X12は、脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

X13は、置換されていてもよい脂肪族炭化水素基を側鎖に有するアミノ酸残基であり、

X14は、L-システイン（C）残基であり、

式A1において、アミノ酸配列はN末端側からC末端側に記述されている。

[請求項2] 式A1において、

X1が、D-フェニルアラニン（df）残基、（R）-2-アミノ

−3−(ピリジン−4−イル)プロパン酸(d4py)残基、(R)−2−アミノ−3−(ピリジン−3−イル)プロパン酸(d3py)残基、(R)−2−アミノ−3−(3−メトキシフェニル)プロパン酸(df3OMe)残基、(R)−2−アミノ−3−(4−メトキシフェニル)プロパン酸(df4OMe)残基、(R)−2−アミノ−5−ウレイドペンタン酸(dcit)残基、D−チロシン(dy)残基又は(R)−2−アミノ−3−(4−フルオロフェニル)プロパン酸(df4F)残基であり、

X2が、L−セリン(S)残基、L−アスパラギン(N)残基、L−アスパラギン酸(D)残基、L−2−アミノアジピン酸(HgI)残基、L−シトルリン(Cit)残基又は(S)−2−アミノ−6−モルフォリノヘキサン酸(Kmor)残基であり、

X3が、L−アスパラギン酸(D)残基、L−アルギニン(R)残基、L−シトルリン(Cit)残基、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(KCOpipzaa)残基、(2S)−2−アミノ−3−(オキサン−4−イル)プロパン酸(Atp)残基、L−アスパラギン(N)残基又はL−セリン(S)残基であり、

X4が、L−イソロイシン(I)残基又はO−メチル−L−スレオニン(TMe)残基であり、

X5が、L−アルギニン(R)残基、L−グルタミン酸(E)残基、(S)−2−アミノヘプタン酸(Ahp)残基、L−セリン(S)残基、L−ホモセリン(Hse)残基、L−シトルリン(Cit)残基、N6−カルバモイル−L−リシン(Hcit)残基、(S)−2−アミノ−4−ウレイドブタン酸(Ncit)残基又は(S)−5−アセトアミド−2−アミノペンタン酸(OrnAc)残基であり、

X6が、L−チロシン(Y)残基、メチル−L−チロシン(MeY)残基、(S)−2−アミノ−3−(4−フルオロフェニル)プロパ

ン酸 (F 4 F) 残基、(S) - 2 - アミノ - 3 - (4 - クロロフェニル) プロパン酸 (F 4 C) 残基、(S) - 2 - アミノ - 3 - (ピリジン - 4 - イル) プロパン酸 (4 P y) 残基又は (S) - 3 - (2 - アミノ - 2 - カルボキシエチル) 安息香酸 (F 3 C O O) 残基であり、

X 7 が、メチル - L - フェニルアラニン (M e F) 残基、(S) - 2 - (メチルアミノ) - 3 - (ピリジン - 3 - イル) プロパン酸 (M e 3 P y) 残基、(S) - 2 - (メチルアミノ) - 3 - (ピリジン - 4 - イル) プロパン酸 (M e 4 P y) 残基、(S) - 3 - (2 - カルボキシ - 2 - (メチルアミノ) エチル) 安息香酸 (M e F 3 C O O) 残基、(S) - 4 - (2 - カルボキシ - 2 - (メチルアミノ) エチル) 安息香酸 (M e F 4 C O O) 残基又は (S) - 2 - (メチルアミノ) - 3 - (テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 4 - イル) プロパン酸 (M e A t p) 残基であり、

X 8 が、L - グルタミン (Q) 残基、L - バリン (V) 残基、L - 2 - アミノアジピン酸 (H g l) 残基、1 - (カルボキシメチル) - L - トリプトファン (W 1 a a) 残基、(S) - 2 - アミノヘプタン酸 (A h p) 残基、ホモ - L - チロシン (H t y) 残基、L - スレオニン (T) 残基、アロ - スレオニン (a l T) 残基、L - シトルリン (C i t) 残基、N 6 - (4 - (カルボキシメチル) ピペラジン - 1 - カルボニル) - L - リシン (K C O p i p z a a) 残基、(S) - 2 - アミノ - 2 - (テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 4 - イル) 酢酸 (G t h p) 残基、(S) - 2 - アミノ - 2 - (1 - (カルボキシメチル) ピペリジン - 4 - イル) 酢酸 (G 4 p i p a a) 残基、(S) - 2 - アミノ - 2 - シクロブチル酢酸 (C b g) 残基、(S) - 2 - アミノ - 2 - シクロヘキシル酢酸 (C h g) 残基又は O - メチル - スレオニン (T M e) 残基であり、

X 1 0 が、メチル - L - フェニルアラニン (M e F) 残基、(S) - 2 - (メチルアミノ) ヘキサン酸 (M e N l e) 残基、(S) - 2

ー（メチルアミノ）－３－（ピリジン－３－イル）プロパン酸（Me 3 P y）残基、（S）－２－（メチルアミノ）－３－（ピリジン－４－イル）プロパン酸（Me 4 P y）残基、（S）－４－（２－カルボキシ－２－（メチルアミノ）エチル）安息香酸（Me F 4 C O O）残基又は（S）－２－（メチルアミノ）－３－（テトラヒドロ－２Ｈ－ピラン－４－イル）プロパン酸（Me A t p）残基であり、

X 1 1 が、Ｌ－イソロイシン（I）残基、Ｌ－チロシン（Y）残基、（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（F 4 a a o）残基又はＯ－メチル－Ｌ－スレオニン（T M e）残基であり、

X 1 2 が、Ｌ－バリン（V）残基、メチル－Ｌ－バリン（Me V）残基又はＮ－メチル－Ｌ－シクロヘキシルグリシン（Me C h g）残基であり、

X 1 3 が、グリシン（G）残基、Ｄ－アラニン（d a）残基又はＤ－セリン（d s）残基である、

請求項 1 に記載のペプチド。

〔請求項 3〕

式 A 2 で示されるアミノ酸配列、又は式 A 2 で示されるアミノ酸配列において 1 番目、2 番目、3 番目、4 番目、5 番目、6 番目、7 番目、8 番目、1 0 番目、1 1 番目、1 2 番目及び 1 3 番目のアミノ酸残基からなる群から選択される 1 ～ 1 2 個のアミノ酸残基において少なくとも 1 個のアミノ酸残基が、置換、欠失、付加又は挿入されたアミノ酸配列、を含むペプチド。

A 2 : d f－S－D－I－R－Y－Me F－Q－T－Me F－I－V－G－C （配列番号 1 6 4）

但し、

d f は、Ｄ－フェニルアラニン残基であり、

S は、Ｌ－セリン残基であり、

D は、Ｌ－アスパラギン酸残基であり、

I は、L-イソロイシン残基であり、
R は、L-アルギニン残基であり、
Y は、L-チロシン残基であり、
Me F は、メチル-L-フェニルアラニン残基であり、
Q は、L-グルタミン残基であり、
T は、L-スレオニン残基であり、
V は、L-バリン残基であり、
G は、グリシン残基であり、
C は、L-システイン残基である。

[請求項4] C末端にさらにグリシン残基を有する、請求項1～3のいずれか1項に記載のペプチド。

[請求項5] 環状ペプチドである、請求項1～3のいずれか1項に記載のペプチド。

[請求項6] 環状ペプチドである、請求項4に記載のペプチド。

[請求項7] クロロアセチル化したアミノ酸に由来するアミノ酸残基と、前記ペプチドに含まれるL-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1～3のいずれか1項に記載のペプチド。

[請求項8] さらに、付加的なアミノ酸残基を含む、請求項1～3のいずれか1項に記載のペプチド。

[請求項9] Fz d 受容体に結合性を有する、請求項1～3のいずれか1項に記載のペプチド。

[請求項10] Fz d 受容体2、Fz d 受容体7及びFz d 受容体8からなる群から選択される少なくとも1つへの結合能を有する、請求項9に記載のペプチド。

[請求項11] 式A3で示されるアミノ酸配列からなる、請求項1～3のいずれか1項に記載のペプチド。

A3 : C I A c - X 1 - X 2 - X 3 - X 4 - X 5 - X 6 - X 7 - X 8
- X 9 - X 1 0 - X 1 1 - X 1 2 - X 1 3 - X 1 4

但し、C l A cはクロロアセチル基であり、X 1、X 2、X 3、X 4、X 5、X 6、X 7、X 8、X 9、X 1 0、X 1 1、X 1 2、X 1 3、及びX 1 4は表1に示すアミノ酸残基であり、表1において、

d fは、D-フェニルアラニン残基であり、

d 4 p yは、(R)-2-アミノ-3-(ピリジン-4-イル)プロパン酸残基であり、

d 3 p yは、(R)-2-アミノ-3-(ピリジン-3-イル)プロパン酸残基であり、

d f 3 O M eは、(R)-2-アミノ-3-(3-メトキシフェニル)プロパン酸残基であり、

d f 4 O M eは、(R)-2-アミノ-3-(4-メトキシフェニル)プロパン酸残基であり、

d c i tは、(R)-2-アミノ-5-ウレイドペンタン酸残基であり、

d yは、D-チロシン残基であり、

d f 4 Fは、(R)-2-アミノ-3-(4-フルオロフェニル)プロパン酸残基であり、

Sは、L-セリン残基であり、

Nは、L-アスパラギン残基であり、

Dは、L-アスパラギン酸残基であり、

H g lは、L-2-アミノアジピン酸残基であり、

C i tは、L-シトルリン残基であり、

K m o rは、(S)-2-アミノ-6-モルフォリノヘキサン酸残基であり、

Rは、L-アルギニン残基であり、

K C O p i p z a aは、N 6-(4-(カルボキシメチル)ピペラジン-1-カルボニル)-L-リシン残基であり、

A t pは、(2 S)-2-アミノ-3-(オキサソ-4-イル)プロ

ロパン酸残基であり、

I は、L-イソロイシン残基であり、

TMe は、O-メチル-L-スレオニン残基であり、

E は、L-グルタミン酸残基であり、

Ahp は、(S)-2-アミノヘプタン酸残基であり、

Hse は、L-ホモセリン残基であり、

Hcit は、N6-カルバモイル-L-リシン残基であり、

Ncit は、(S)-2-アミノ-4-ウレイドブタン酸残基であり、

OrnAc は、(S)-5-アセトアミド-2-アミノペンタン酸残基であり、

Y は、L-チロシン残基であり、

MeY は、メチル-L-チロシン残基であり、

F4F は、(S)-2-アミノ-3-(4-フルオロフェニル)プロパン酸残基であり、

F4C は、(S)-2-アミノ-3-(4-クロロフェニル)プロパン酸残基であり、

4Py は、(S)-2-アミノ-3-(ピリジン-4-イル)プロパン酸残基であり、

F3COO は、(S)-3-(2-アミノ-2-カルボキシエチル)安息香酸残基であり、

MeF は、メチル-L-フェニルアラニン残基であり、

Me3Py は、(S)-2-(メチルアミノ)-3-(ピリジン-3-イル)プロパン酸残基であり、

Me4Py は、(S)-2-(メチルアミノ)-3-(ピリジン-4-イル)プロパン酸残基であり、

MeF3COO は、(S)-3-(2-カルボキシ-2-(メチルアミノ)エチル)安息香酸残基であり、

MeF4COOは、(S) - 4 - (2 - カルボキシ - 2 - (メチルアミノ) エチル) 安息香酸残基であり、

MeAtpは、(S) - 2 - (メチルアミノ) - 3 - (テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 4 - イル) プロパン酸残基であり、

Qは、L - グルタミン残基であり、

Vは、L - バリン残基であり、

W1aaは、1 - (カルボキシメチル) - L - トリプトファン残基であり、

Htyは、ホモ - L - チロシン残基であり、

Tは、L - スレオニン残基であり、

aITは、アロ - スレオニン残基であり、

Gthpは、(S) - 2 - アミノ - 2 - (テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 4 - イル) 酢酸残基であり、

G4pipaaは、(S) - 2 - アミノ - 2 - (1 - (カルボキシメチル) ピペリジン - 4 - イル) 酢酸残基であり、

Cbgは、(S) - 2 - アミノ - 2 - シクロブチル酢酸残基であり、

Chgは、(S) - 2 - アミノ - 2 - シクロヘキシル酢酸残基であり、

MeNieは、(S) - 2 - (メチルアミノ) ヘキサン酸残基であり、

F4aaoは、(S) - 2 - アミノ - 3 - (4 - (カルボキシメトキシ) フェニル) プロパン酸残基であり、

MeVは、メチル - L - バリン残基であり、

MeChgは、N - メチル - L - シクロヘキシルグリシン残基であり、

Gは、グリシン残基であり、

Cは、L - システイン残基である。

[表1A]

表1(1 of 4)															
配列 番号	X1	X2	X3	X4	X5	X6	X7	X8	X9	X10	X11	X12	X13	X14	X15
1	df	S	D	I	R	Y	MeF	Q	T	MeF	I	V	G	C	G
2	dcit	S	D	I	R	Y	MeF	Q	T	MeF	I	V	G	C	G
3	dy	S	D	I	R	Y	MeF	Q	T	MeF	I	V	G	C	G
4	df4F	S	D	I	R	Y	MeF	Q	T	MeF	I	V	G	C	G
5	df	S	D	I	R	MeY	MeF	Q	T	MeF	I	V	G	C	G
6	df	S	D	I	R	Y	MeF	Q	T	MeF	I	MeV	G	C	G
7	df	S	D	I	R	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G
8	df	Kmor	D	I	R	Y	MeF	Q	T	MeF	I	V	G	C	G
9	df		S	R	I	R	Y	MeF	Q	T	MeF	I	V	G	C
10	df	S	Cit	I	R	Y	MeF	Q	T	MeF	I	V	G	C	G
11	df	S		KCOpipzaa	I	R	Y	MeF	Q	T	MeF	I	V	G	C
12	df	S	Atp	I	R	Y	MeF	Q	T	MeF	I	V	G	C	G
13	df	S	D	I	E	Y	MeF	Q	T	MeF	I	V	G	C	G
14	df	S	D	I	Ahp	Y	MeF	Q	T	MeF	I	V	G	C	G
15	df	S	D	I	R	Y	MeF	Hgl	T	MeF	I	V	G	C	G
16	df	S	D	I	R	Y	MeF	W1aa	T	MeF	I	V	G	C	G
17	df	S	D	I	R	Y	MeF	V	T	MeF	I	V	G	C	G
18	df	S	D	I	R	Y	MeF	Ahp	T	MeF	I	V	G	C	G
19	df	S	D	I	R	Y	MeF	Hty	T	MeF	I	V	G	C	G
20	df	S	D	I	R	Y	MeF	T	T	MeF	I	V	G	C	G

[表1B]

表1(2 of 4)

配列 番号	X1	X2	X3	X4	X5	X6	X7	X8	X9	X10	X11	X12	X13	X14	X15
21	df	S	D	I	R	Y	MeF	aIT	T	MeF	I	V	G	C	G
22	df	S	D	I	R	Y	MeF	Cit	T	MeF	I	V	G	C	G
23	df	S	D	I	R	Y	MeF	KCOpipzaa	T	MeF	I	V	G	C	G
24	df	S	D	I	R	Y	MeF	Q	T	MeNle	I	V	G	C	G
25	df	S	D	I	R	Y	MeF	Q	T	MeF	Y	V	G	C	G
26	df	S	D	I	R	Y	MeF	Q	T	MeF	F4aao	V	G	C	G
27	d4py	S	D	I	R	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G
28	d3py	S	D	I	R	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G
29	df30Me	S	D	I	R	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G
30	df40Me	S	D	I	R	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G
31	df	N	D	I	R	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G
32	df	D	D	I	R	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G
33	df	Hgl	D	I	R	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G
34	df	Cit	D	I	R	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G
35	df	S	Atp	I	R	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G
36	df	S	N	I	R	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G
37	df	S	S	I	R	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G
38	df	S	D	TMe	R	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G
39	df	S	D	I	S	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G
40	df	S	D	I	Hse	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G

[表1C]

表1(3 of 4)

配列番号	X1	X2	X3	X4	X5	X6	X7	X8	X9	X10	X11	X12	X13	X14	X15
41	df	S	D	I	Cit	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G
42	df	S	D	I	Hcit	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G
43	df	S	D	I	Ncit	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G
44	df	S	D	I	OrnAc	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G
45	df	S	D	I	R	F4F	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G
46	df	S	D	I	R	F4C	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G
47	df	S	D	I	R	4Py	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G
48	df	S	D	I	R	F3C00	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G
49	df	S	D	I	R	Y	Me3Py	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G
50	df	S	D	I	R	Y	Me4Py	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G
51	df	S	D	I	R	Y	MeF3C00	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G
52	df	S	D	I	R	Y	MeF4C00	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G
53	df	S	D	I	R	Y	MeAtp	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G
54	df	S	D	I	R	Y	MeF	Gthp	T	MeF	I	MeV	G	C	G
55	df	S	D	I	R	Y	MeF	G4p ipaa	T	MeF	I	MeV	G	C	G
56	df	S	D	I	R	Y	MeF	Cbg	T	MeF	I	MeV	G	C	G
57	df	S	D	I	R	Y	MeF	Chg	T	MeF	I	MeV	G	C	G
58	df	S	D	I	R	Y	MeF	TMe	T	MeF	I	MeV	G	C	G
59	df	S	D	I	R	Y	MeF	V	T	Me3Py	I	MeV	G	C	G
60	df	S	D	I	R	Y	MeF	V	T	Me4Py	I	MeV	G	C	G

[表1D]

表1(4 of 4)

配列番号	X1	X2	X3	X4	X5	X6	X7	X8	X9	X10	X11	X12	X13	X14	X15
61	df	S	D	I	R	Y	MeF	V	T	MeF4C00	I	MeV	G	C	G
62	df	S	D	I	R	Y	MeF	V	T	MeAtp	I	MeV	G	C	G
63	df	S	D	I	R	Y	MeF	V	T	MeF	TMe	MeV	G	C	G
64	df	S	D	I	R	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeChg	G	C	G
65	df	S	D	I	R	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	da	C	G
66	df	S	D	I	R	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	ds	C	G
67	df	S	Atp	I	R	Y	MeF	V	T	MeF	I	V	G	C	G
68	df	S	Cit	I	R	Y	MeF	V	T	MeF	I	MeV	G	C	G
69	df	S	Atp	I	R	Y	MeF	V	T	MeF	Y	MeV	G	C	G
70	df	Hgl	D	I	R	Y	MeF	V	T	Me4Py	I	MeV	G	C	G
71	df	Hgl	D	I	R	Y	MeF3C00	V	T	Me4Py	I	MeV	G	C	G
72	df	Hgl	D	I	Cit	Y	MeF3C00	V	T	Me4Py	I	MeV	G	C	G
73	df	Hgl	D	I	Cit	Y	MeF3C00	TMe	T	Me4Py	I	MeV	ds	C	G
74	df	S	D	I	R	Y	MeF	V	T	Me4Py	I	MeV	ds	C	G
75	df	Hgl	D	I	R	Y	MeF	V	T	Me4Py	I	MeV	ds	C	G
76	df	S	Cit	I	R	Y	MeF	V	T	Me4Py	I	MeV	ds	C	G
77	df	Hgl	D	I	R	Y	MeF3C00	V	T	Me4Py	I	MeV	ds	C	G
78	df	Hgl	D	I	Cit	Y	MeF3C00	V	T	Me4Py	I	MeV	ds	C	G

[請求項12] 式B 1で示されるアミノ酸配列、又は式B 1で示されるアミノ酸配列において1若しくは複数個のアミノ酸残基が、置換、欠失、付加又は挿入されたアミノ酸配列、を含むペプチド。

B 1 : Y 1 − Y 2 − Y 3 − Y 4 − Y 5 − Y 6 − Y 7 − Y 8 − Y 9 − Y 1 0 − Y 1 1 − Y 1 2 − Y 1 3 − Y 1 4

但し、

Y 1 は、置換されていてもよい L-フェニルアラニン (F) 残基であり、

Y 2 は、置換されていてもよい L-アルギニン (R) 残基であり、

Y 3 は、置換されていてもよい L-トリプトファン (W) 残基又は置換されていてもよい (S)-2-アミノ-3-(ナフタレン-1-イル) プロパン酸 (N a l 1) 残基であり、

Y 4 は、酸性アミノ酸残基又は中性アミノ酸残基であり、

Y 5 は、置換されていてもよい芳香族アミノ酸残基、脂肪族アミノ酸残基又は L-プロリン (P) 残基であり、

Y 6 は、置換されていてもよい脂肪族アミノ酸残基であり、

Y 7 は、N-アルキル化芳香族アミノ酸残基であり、

Y 8 は、側鎖にヒドロキシ基、カルボキシ基、又はアミド基を有するアミノ酸に由来するアミノ酸残基であり、

Y 9 は、任意のアミノ酸残基であり、

Y 1 0 は、置換されていてもよい L-トリプトファン (W) 残基であり、

Y 1 1 は、置換されていてもよい L-アスパラギン (N) 残基、又はグルタミン (Q) 残基であり、

Y 1 2 は、置換されていてもよい (S)-1, 2, 3, 4-テトラヒドロイソキノリン-3-カルボン酸 (T i c) 残基であり、

Y 1 3 は、置換されていてもよい中性アミノ酸残基又は酸性アミノ酸残基であり、

Y 1 4 は、L-システイン (C) 残基であり、

式 B 1 において、アミノ酸配列は N 末端側から C 末端側に記述されている。

[請求項13]

式 B 1 において、

Y 1 が、L-フェニルアラニン (F) 残基、(S)-2-アミノ-3-(4-フルオロフェニル) プロパン酸 (F 4 F) 残基、(S)-

2-アミノ-3-(p-トルイル)プロパン酸(F4Me)残基又は(S)-2-アミノ-3-(m-トルイル)プロパン酸(F3Me)残基であり、

Y2が、L-アルギニン(R)残基又はN6-カルバモイル-L-リシン(Hcit)残基であり、

Y3が、L-トリプトファン(W)残基、メチル-L-トリプトファン(MeW)残基、(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(W7N)残基、(S)-2-アミノ-3-(1H-ピロロ[3,2-c]ピリジン-3-イル)プロパン酸(W5N)残基、(S)-2-アミノ-3-(1-メチル-1H-ピロロ[2,3-b]ピリジン-3-イル)プロパン酸(W1Me7N)残基、(S)-2-アミノ-3-(5-メチル-1H-ピロロ[2,3-b]ピリジン-3-イル)プロパン酸(W7N5Me)残基、(S)-2-アミノ-3-(ナフタレン-1-イル)プロパン酸(Na11)残基又は(S)-2-アミノ-3-(キノリン-4-イル)プロパン酸(Na114N)残基であり、

Y4が、L-アスパラギン酸(D)残基、L-グルタミン酸(E)残基、L-アスパラギン(N)残基又はL-グルタミン(Q)残基であり、

Y5が、L-バリン(V)残基、メチル-L-バリン(MeV)残基、1-(カルボキシメチル)-L-トリプトファン(W1aa)残基、(S)-2-アミノ-3-シクロヘキシルプロパン酸(Cha)残基、(S)-2-アミノ-3-(ナフタレン-1-イル)プロパン酸(Na11)残基、(S)-2-アミノ-3-(5-フェニルピリジン-3-イル)プロパン酸(3Py5Ph)残基、(S)-2-アミノ-2-シクロブチル酢酸(Cbg)残基又はL-プロリン(P)残基であり、

Y6が、L-アルギニン(R)残基、メチル-L-アルギニン(M

e R) 残基、(S)-2-アミノ-6-モルフォリノヘキサン酸 (K m o r) 残基、L-シトルリン (C i t) 残基、N6-カルバモイル-L-リシン (H c i t) 残基、(S)-2-アミノ-4-ウレイドブタン酸 (N c i t) 残基又は (S)-5-アセトアミド-2-アミノペンタン酸 (O r n A c) 残基であり、

Y 7 が、メチル-L-フェニルアラニン (M e F) 残基、(S)-4-(2-カルボキシ-2-(メチルアミノ)エチル)安息香酸 (M e F 4 C O O) 残基、メチル-L-チロシン (M e Y) 残基、(S)-2-(メチルアミノ)-3-(p-トルイル)プロパン酸 (M e F 4 M e) 残基、(S)-3-(4-クロロフェニル)-2-(メチルアミノ)プロパン酸 (M e F 4 C) 残基、(S)-3-(2-カルボキシ-2-(メチルアミノ)エチル)安息香酸 (M e F 3 C O O) 残基、(S)-2-(メチルアミノ)-3-(m-トルイル)プロパン酸 (M e F 3 M e) 残基又は (S)-3-(3-クロロフェニル)-2-(メチルアミノ)プロパン酸 (M e F 3 C) 残基であり、

Y 8 が、L-セリン (S) 残基、1-(カルボキシメチル)-L-トリプトファン (W 1 a a) 残基、ホモ-L-チロシン (H t y) 残基、アロースレオニン (a l T) 残基、L-スレオニン (T) 残基、L-アスパラギン (N) 残基、L-グルタミン (Q) 残基、L-アスパラギン酸 (D) 残基又は L-グルタミン酸 (E) 残基であり、

Y 9 が、L-アスパラギン (N) 残基、メチル-L-アスパラギン (M e N) 残基、L-2-アミノアジピン酸 (H g l) 残基、(S)-2-アミノ-3-シクロヘキシルプロパン酸 (C h a) 残基、ホモ-L-チロシン (H t y) 残基、(S)-2-アミノ-4-(1H-ピロロ[2,3-b]ピリジン-3-イル)ブタン酸 (H w 7 N) 残基、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 (K C O p i p z a a) 残基、L-グルタミン (Q) 残基、L-アスパラギン酸 (D) 残基又は L-グルタミン酸 (E) 残

基であり、

Y10が、L-トリプトファン(W)残基、(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(W7N)残基、(S)-2-アミノ-3-(1H-ピロロ[2,3-c]ピリジン-3-イル)プロパン酸(W6N)残基、(S)-2-アミノ-3-(1-メチル-1H-ピロロ[2,3-b]ピリジン-3-イル)プロパン酸(W1Me7N)残基又は(S)-2-アミノ-3-(5-メチル-1H-ピロロ[2,3-b]ピリジン-3-イル)プロパン酸(W7N5Me)残基であり、

Y11が、L-アスパラギン(N)残基、L-グルタミン(Q)残基又は(2S)-2-アミノ-4-(メチルアミノ)-4-オキソブタン酸(Nmm)残基であり、

Y12が、(S)-1,2,3,4-テトラヒドロイソキノリン-3-カルボン酸(Tic)残基、(S)-6-クロロ-1,2,3,4-テトラヒドロイソキノリン-3-カルボン酸(Tic6C)残基、(S)-7-ヒドロキシ-1,2,3,4-テトラヒドロイソキノリン-3-カルボン酸(Tic7H)残基又は(S)-7-クロロ-1,2,3,4-テトラヒドロイソキノリン-3-カルボン酸(Tic7C)残基であり、

Y13が、L-アスパラギン(N)残基、L-アスパラギン酸(D)残基、L-グルタミン(Q)残基、(2S)-2-アミノ-4-(メチルアミノ)-4-オキソブタン酸(Nmm)残基又はN4,N4-ジメチル-L-アスパラギン(Ndm)残基である、

請求項12に記載のペプチド。

[請求項14]

式B2で示されるアミノ酸配列、又は式B2で示されるアミノ酸配列において1番目、2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番目及び13番目のアミノ酸残基からなる群から選択される1~13個のアミノ酸残基に

において少なくとも1個のアミノ酸残基が、置換、付加、欠失又は挿入されたアミノ酸配列を含む、ペプチド。

B 2 : F - R - W - D - V - R - M e F - S - N - W - N - T i c -
N - C (配列番号 1 6 5)

但し、

F は、L - フェニルアラニン残基であり、

R は、L - アルギニン残基であり、

W は、L - トリプトファン残基であり、

D は、L - アスパラギン酸残基であり、

V は、L - バリン残基であり、

M e F は、メチル - L - フェニルアラニン残基であり、

S は、L - セリン残基であり、

T i c は、(S) - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロイソキノリン -
3 - カルボン酸残基であり、

N は、L - アスパラギン残基であり、

C は、L - システイン残基である。

[請求項15] C末端にさらにグリシン残基を有する、請求項12～14のいずれか1項に記載のペプチド。

[請求項16] 環状ペプチドである、請求項12～14のいずれか1項に記載のペプチド。

[請求項17] 環状ペプチドである、請求項15に記載のペプチド。

[請求項18] クロロアセチル化したアミノ酸に由来するアミノ酸残基と、前記ペプチドに含まれるL - 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12～14のいずれか1項に記載のペプチド。

[請求項19] さらに、付加的なアミノ酸残基を含む、請求項12～14のいずれか1項に記載のペプチド。

[請求項20] L R P に対する結合性を有する、請求項12～14のいずれか1項に記載のペプチド。

[請求項21] L R P 5 及び L R P 6 からなる群から選択される少なくとも1つへの結合能を有する、請求項20に記載のペプチド。

[請求項22] D K K 1 様活性を有する、請求項12～14のいずれか1項に記載のペプチド。

[請求項23] 式B3で示されるアミノ酸配列からなる、請求項12～14のいずれか1項に記載のペプチド。

B 3 : C I A c - Y 1 - Y 2 - Y 3 - Y 4 - Y 5 - Y 6 - Y 7 - Y 8 - Y 9 - Y 1 0 - Y 1 1 - Y 1 2 - Y 1 3 - Y 1 4

但し、C I A c はクロロアセチル基であり、Y 1、Y 2、Y 3、Y 4、Y 5、Y 6、Y 7、Y 8、Y 9、Y 1 0、Y 1 1、Y 1 2、Y 1 3、及びY 1 4 は表2に示すアミノ酸残基であり、表2において、

F は、L - フェニルアラニン残基であり、

F 4 F は、(S) - 2 - アミノ - 3 - (4 - フルオロフェニル) プロパン酸残基であり、

F 4 M e は、(S) - 2 - アミノ - 3 - (p - トルイル) プロパン酸残基であり、

F 3 M e は、(S) - 2 - アミノ - 3 - (m - トルイル) プロパン酸残基であり、

R は、L - アルギニン残基であり、

H c i t は、N 6 - カルバモイル - L - リシン残基であり、

W は、L - トリプトファン残基であり、

M e W は、メチル - L - トリプトファン残基であり、

W 7 N は、(S) - 2 - アミノ - 3 - (1 H - ピロロ [2, 3 - b] ピリジン - 3 - イル) プロパン酸残基であり、

W 5 N は、(S) - 2 - アミノ - 3 - (1 H - ピロロ [3, 2 - c] ピリジン - 3 - イル) プロパン酸残基であり、

W 1 M e 7 N は、(S) - 2 - アミノ - 3 - (1 - メチル - 1 H - ピロロ [2, 3 - b] ピリジン - 3 - イル) プロパン酸残基であり、

W7N5Meは、(S)-2-アミノ-3-(5-メチル-1H-ピロロ[2,3-b]ピリジン-3-イル)プロパン酸残基であり、

Nal1は、(S)-2-アミノ-3-(ナフタレン-1-イル)プロパン酸残基であり、

Nal14Nは、(S)-2-アミノ-3-(キノリン-4-イル)プロパン酸残基であり、

Dは、L-アスパラギン酸残基であり、

Eは、L-グルタミン酸残基であり、

Nは、L-アスパラギン酸残基であり、

Qは、L-グルタミン酸残基であり、

Vは、L-バリン残基であり、

MeVは、メチル-L-バリン残基であり、

W1aaは、1-(カルボキシメチル)-L-トリプトファン残基であり、

Chaは、(S)-2-アミノ-3-シクロヘキシルプロパン酸残基であり、

3Py5Phは、(S)-2-アミノ-3-(5-フェニルピリジン-3-イル)プロパン酸残基であり、

Cbgは、(S)-2-アミノ-2-シクロブチル酢酸残基であり、

Pは、L-プロリン残基であり、

MeRは、メチル-L-アルギニン残基であり、

Kmorは、(S)-2-アミノ-6-モルフォリノヘキサン酸残基であり、

Citは、L-シトルリン残基であり、

Ncitは、(S)-2-アミノ-4-ウレイドブタン酸残基であり、

OrnAcは、(S)-5-アセトアミド-2-アミノペンタン酸

残基であり、

MeFは、メチル-L-フェニルアラニン残基であり、

MeF4COOは、(S)-4-(2-カルボキシ-2-(メチルアミノ)エチル)安息香酸残基であり、

MeYは、メチル-L-チロシン残基であり、

MeF4Meは、(S)-2-(メチルアミノ)-3-(p-トルイル)プロパン酸残基であり、

MeF4Cは、(S)-3-(4-クロロフェニル)-2-(メチルアミノ)プロパン酸残基であり、

MeF3COOは、(S)-3-(2-カルボキシ-2-(メチルアミノ)エチル)安息香酸残基であり、

MeF3Meは、(S)-2-(メチルアミノ)-3-(m-トルイル)プロパン酸残基であり、

MeF3Cは、(S)-3-(3-クロロフェニル)-2-(メチルアミノ)プロパン酸残基であり、

Sは、L-セリン残基であり、

Htyは、ホモ-L-チロシン残基であり、

alTは、アロースレオニン残基であり、

Tは、L-スレオニン残基であり、

MeNは、メチル-L-アスパラギン残基であり、

Hglは、L-2-アミノアジピン酸残基であり、

Hw7Nは、(S)-2-アミノ-4-(1H-ピロロ[2,3-b]ピリジン-3-イル)ブタン酸残基であり、

KCOpipzaaは、N6-(4-(カルボキシメチル)ピペラジン-1-カルボニル)-L-リシン残基であり、

W6Nは、(S)-2-アミノ-3-(1H-ピロロ[2,3-c]ピリジン-3-イル)プロパン酸残基であり、

Nmmは、(2S)-2-アミノ-4-(メチルアミノ)-4-オ

キソブタン酸残基であり、

T i c は、(S) - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロイソキノリン - 3 - カルボン酸残基であり、

T i c 6 C は、(S) - 6 - クロロ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロイソキノリン - 3 - カルボン酸残基であり、

T i c 7 H は、(S) - 7 - ヒドロキシ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロイソキノリン - 3 - カルボン酸残基であり、

T i c 7 C は、(S) - 7 - クロロ - 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロイソキノリン - 3 - カルボン酸残基であり、

N d m は、N 4, N 4 - ジメチル - L - アスパラギン残基であり、

C は、L - システイン残基であり、

G は、グリシン残基である。

[表2A]

表2(1 of 5)

配列 番号	Y1	Y2	Y3	Y4	Y5	Y6	Y7	Y8	Y9	Y10	Y11	Y12	Y13	Y14	Y15
79	F	R	W	D	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G
80	F4F	R	W	D	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G
81	F	R	MeW	D	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G
82	F	R	W	D	MeV	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G
83	F	R	W	D	V	MeR	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G
84	F	R	W	D	V	R	MeF	S	MeN	W	N	Tic	N	C	G
85	F	R	W7N	D	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G
86	F	R	W	D	W1aa	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G
87	F	R	W	D	Cha	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G
88	F	R	W	D	NaI1	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G
89	F	R	W	D	3Py5Ph	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G
90	F	R	W	D	V	Knor	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G
91	F	R	W	D	V	R	MeF	W1aa	N	W	N	Tic	N	C	G
92	F	R	W	D	V	R	MeF	Hty	N	W	N	Tic	N	C	G
93	F	R	W	D	V	R	MeF	aIT	N	W	N	Tic	N	C	G
94	F	R	W	D	V	R	MeF	S	HgI	W	N	Tic	N	C	G
95	F	R	W	D	V	R	MeF	S	Cha	W	N	Tic	N	C	G
96	F	R	W	D	V	R	MeF	S	Hty	W	N	Tic	N	C	G
97	F	R	W	D	V	R	MeF	S	Hw7N	W	N	Tic	N	C	G
98	F	R	W	D	V	R	MeF	S	KC0pipzaa	W	N	Tic	N	C	G

[表2B]

表2(2 of 5)

配列 番号	Y1	Y2	Y3	Y4	Y5	Y6	Y7	Y8	Y9	Y10	Y11	Y12	Y13	Y14	Y15
99	F	R	W	D	V	R	MeF	S	N	W7N	N	Tic	N	C	G
100	F	R	W	D	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic	D	C	G
101	F4Me	R	W	D	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G
102	F3Me	R	W	D	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G
103	F	Hcit	W	D	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G
104	F	R	W5N	D	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G
105	F	R	W7N	D	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G
106	F	R	W1Me7N	D	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G
107	F	R	W7N5Me	D	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G
108	F	R	Na11	D	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G
109	F	R	Na14N	D	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G
110	F	R	W	E	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G
111	F	R	W	N	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G
112	F	R	W	Q	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G
113	F	R	W	D	Cbg	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G
114	F	R	W	D	P	R	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G
115	F	R	W	D	V	Cit	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G
116	F	R	W	D	V	Hcit	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G
117	F	R	W	D	V	Ncit	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G
118	F	R	W	D	V	OrnAc	MeF	S	N	W	N	Tic	N	C	G

[表2C]

表2(3 of 5)

配列 番号	Y1	Y2	Y3	Y4	Y5	Y6	Y7	Y8	Y9	Y10	Y11	Y12	Y13	Y14	Y15
119	F	R	W	D	V	R	MeF4C00	S	N	W	N	Tic	N	C	G
120	F	R	W	D	V	R	MeY	S	N	W	N	Tic	N	C	G
121	F	R	W	D	V	R	MeF4Me	S	N	W	N	Tic	N	C	G
122	F	R	W	D	V	R	MeF4C	S	N	W	N	Tic	N	C	G
123	F	R	W	D	V	R	MeF3C00	S	N	W	N	Tic	N	C	G
124	F	R	W	D	V	R	MeF3Me	S	N	W	N	Tic	N	C	G
125	F	R	W	D	V	R	MeF3C	S	N	W	N	Tic	N	C	G
126	F	R	W	D	V	R	MeF	T	N	W	N	Tic	N	C	G
127	F	R	W	D	V	R	MeF	N	N	W	N	Tic	N	C	G
128	F	R	W	D	V	R	MeF	Q	N	W	N	Tic	N	C	G
129	F	R	W	D	V	R	MeF	D	N	W	N	Tic	N	C	G
130	F	R	W	D	V	R	MeF	E	N	W	N	Tic	N	C	G
131	F	R	W	D	V	R	MeF	S	Q	W	N	Tic	N	C	G
132	F	R	W	D	V	R	MeF	S	D	W	N	Tic	N	C	G
133	F	R	W	D	V	R	MeF	S	E	W	N	Tic	N	C	G
134	F	R	W	D	V	R	MeF	S	N	W6N	N	Tic	N	C	G
135	F	R	W	D	V	R	MeF	S	N	W1Me7N	N	Tic	N	C	G
136	F	R	W	D	V	R	MeF	S	N	W7N5Me	N	Tic	N	C	G
137	F	R	W	D	V	R	MeF	S	N	W	Q	Tic	N	C	G
138	F	R	W	D	V	R	MeF	S	N	W	Nmm	Tic	N	C	G

[表2D]

表2(4 of 5)

配列 番号	Y1	Y2	Y3	Y4	Y5	Y6	Y7	Y8	Y9	Y10	Y11	Y12	Y13	Y14	Y15
139	F	R	W	D	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic6C	N	C	G
140	F	R	W	D	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic7H	N	C	G
141	F	R	W	D	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic7C	N	C	G
142	F	R	W	D	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic	Q	C	G
143	F	R	W	D	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic	Nmm	C	G
144	F	R	W	D	V	R	MeF	S	N	W	N	Tic	Ndm	C	G
145	F	R	W7N	D	V	R	MeF	S	N	W7N	N	Tic	N	C	G
146	F	R	W7N5Me	D	V	R	MeF	S	N	W7N	N	Tic	N	C	G
147	F	R	Na114N	D	V	R	MeF	S	N	W7N	N	Tic	N	C	G
148	F	R	W7N	D	Cbg	R	MeF	S	N	W7N	N	Tic	N	C	G
149	F	R	W7N	D	P	R	MeF	S	N	W7N	N	Tic	N	C	G
150	F	R	W7N	D	V	Knor	MeF	S	N	W7N	N	Tic	N	C	G
151	F	R	W7N	D	V	R	MeF4C00	S	N	W7N	N	Tic	N	C	G
152	F	R	W7N	D	V	R	MeF3C00	S	N	W7N	N	Tic	N	C	G
153	F	R	W7N	D	V	R	MeF	E	N	W7N	N	Tic	N	C	G
154	F	R	W7N	D	V	R	MeF	S	E	W7N	N	Tic	N	C	G
155	F	R	W7N	D	V	R	MeF	S	N	W7N5Me	N	Tic	N	C	G
156	F	R	W7N	D	V	R	MeF	S	N	W7N	N	Tic7C	N	C	G
157	F	R	W7N	D	V	R	MeF	S	N	W7N	N	Tic	Nmm	C	G
158	F	R	W7N	D	V	R	MeF	S	N	W7N	N	Tic	D	C	G

[表2E]

表2(5 of 5)

配列番号	Y1	Y2	Y3	Y4	Y5	Y6	Y7	Y8	Y9	Y10	Y11	Y12	Y13	Y14	Y15
159	F	R	W7N	D	V	R	MeF	E	E	W7N	N	Tic	N	C	G
160	F	R	W7N	D	V	R	MeF	E	E	W7N	N	Tic	D	C	G
161	F	R	W7N	D	V	R	MeF3C00	E	E	W7N	N	Tic	D	C	G
162	F	R	W7N	D	V	Kmor	MeF3C00	E	E	W7N	N	Tic	D	C	G
163	F	R	W7N	D	V	R	MeF3C00	S	E	W7N	N	Tic	D	C	G

- [請求項24]

第 1 のペプチド及び第 2 のペプチドを含むペプチド複合体であって、
前記第 1 のペプチドは、請求項 1 に記載のペプチドであり、
前記第 2 のペプチドは、請求項 1 2 に記載のペプチドである、
ペプチド複合体。
- [請求項25]

前記ペプチド複合体は、前記第 1 のペプチドと、前記第 2 のペプチドと、前記第 1 のペプチド及び前記第 2 のペプチドを接続するリンカ

一とからなる、請求項 2 4 に記載のペプチド複合体。

[請求項26] 前記第 1 のペプチドの C 末端と前記第 2 のペプチドの C 末端とが前記リンカーを介して結合している、請求項 2 5 に記載のペプチド複合体。

[請求項27] 前記リンカーが表 3 に記載のリンカーから選択される、請求項 2 5 に記載のペプチド複合体。

ただし、表 3 中、－c l i c k－はクリック・ケミストリーにより形成される結合を表す。

[表3]

表3
P08K_d
click_P04K/c_P04K
click_P04K_0H
click_P08K
click_P12K
click_P04K_branch
click_P08K_branch
NOF
tag

[請求項28] 前記第 1 のペプチドは、式 A 1 で示されるアミノ酸配列からなるペプチドであり、

前記第 2 のペプチドは、式 B 1 で示されるアミノ酸配列からなるペプチドである、

請求項 2 5 に記載のペプチド複合体。

A 1 : X 1－X 2－X 3－X 4－X 5－X 6－X 7－X 8－X 9－X
1 0－X 1 1－X 1 2－X 1 3－X 1 4
B 1 : Y 1－Y 2－Y 3－Y 4－Y 5－Y 6－Y 7－Y 8－Y 9－Y
1 0－Y 1 1－Y 1 2－Y 1 3－Y 1 4

但し、

式A1において、

X1が、D-フェニルアラニン(df)残基であり、

X2が、L-セリン(S)残基又はL-2-アミノアジピン酸(Hgl)残基であり、

X3が、L-アスパラギン酸(D)残基、L-シトルリン(Cit)残基又は(2S)-2-アミノ-3-(オキサン-4-イル)プロパン酸(Atp)残基であり、

X4が、L-イソロイシン(I)残基であり、

X5が、L-アルギニン(R)残基又はL-シトルリン(Cit)残基であり、

X6が、L-チロシン(Y)残基であり、

X7が、メチル-L-フェニルアラニン(MeF)残基又は(S)-3-(2-カルボキシ-2-(メチルアミノ)エチル)安息香酸(MeF3COO)残基であり、

X8が、L-グルタミン(Q)残基、L-バリン(V)残基、ホモ-L-チロシン(Hty)残基、L-スレオニン(T)残基、L-シトルリン(Cit)残基又はO-メチル-L-スレオニン(TMe)残基であり、

X10が、メチル-L-フェニルアラニン(MeF)残基又は(S)-2-(メチルアミノ)-3-(ピリジン-4-イル)プロパン酸(Me4Py)残基であり、

X11が、L-イソロイシン(I)残基又はL-チロシン(Y)残基であり、

X12が、L-バリン(V)残基又はメチル-L-バリン(MeV)残基であり、

X13が、グリシン(G)残基又はD-セリン(ds)残基であり、

、

式B 1において、

Y 1が、L-フェニルアラニン (F) 残基であり、

Y 2が、L-アルギニン (R) 残基であり、

Y 3が、L-トリプトファン (W) 残基又は (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 (W 7 N) 残基であり、

Y 4が、L-アスパラギン酸 (D) 残基であり、

Y 5が、L-バリン (V) 残基であり、

Y 6が、L-アルギニン (R) 残基又は (S) - 2-アミノ-6-モルフォリノヘキサン酸 (K m o r) 残基であり、

Y 7が、メチル-L-フェニルアラニン (M e F) 残基又は (S) - 3- (2-カルボキシ-2- (メチルアミノ) エチル) 安息香酸 (M e F 3 C O O) 残基であり、

Y 8が、L-セリン (S) 残基又はL-グルタミン酸 (E) 残基であり、

Y 9が、L-アスパラギン (N) 残基、N 6- (4- (カルボキシメチル) ピペラジン-1-カルボニル) -L-リシン (K C O p i p z a a) 残基又はL-グルタミン酸 (E) 残基であり、

Y 1 0が、L-トリプトファン (W) 残基又は (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 (W 7 N) 残基であり、

Y 1 1が、L-アスパラギン (N) 残基であり、

Y 1 2が、(S) - 1, 2, 3, 4-テトラヒドロイソキノリン-3-カルボン酸 (T i c) 残基であり、

Y 1 3が、L-アスパラギン (N) 残基又はL-アスパラギン酸 (D) 残基である。

[請求項29] W n t シグナルを活性化する、請求項 2 5 に記載のペプチド複合体。
。

- [請求項30] 請求項 1 ～ 3 及び 1 2 ～ 1 4 のいずれか 1 項に記載のペプチドを含む、医薬組成物。
- [請求項31] 請求項 2 5 に記載のペプチド複合体を含む、医薬組成物。
- [請求項32] 請求項 2 5 に記載のペプチド複合体を含み、細胞培養に用いられる細胞培養用組成物。
- [請求項33] 請求項 2 5 に記載のペプチド複合体を含み、医療用、診断用又は研究用に用いられる組成物。
- [請求項34] 請求項 1 ～ 3 及び 1 2 ～ 1 4 のいずれか 1 項に記載のペプチドを含み、医療用、診断用又は研究用に用いられる組成物。