(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 114173878 A
(43)申请公布日 2022.03.11

(21)申请号 202080036270.1
(22)申请日 2020.03.13
(30)优先权数据
62/819,195 2019.03.15 US
62/926,018 2019.10.25 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2021.11.15
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2020/022682 2020.03.13
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2020/190742 EN 2020.09.24
(71)申请人 艾瑞朗医疗公司
地址 美国马萨诸塞州
(72)发明人 沃伊斯拉夫·武科维奇
路易斯·卡瓦哈尔 D·A·安尼斯
(74)专利代理机构 北京安信方达知识产权代理有限公司 11262
代理人 武晶晶
(51)Int.Cl.
A61P 35/00(2006.01)
A61K 38/10(2006.01)
A61K 38/12(2006.01)
C07K 7/02(2006.01)
C07K 7/04(2006.01)

权利要求书7页 说明书197页 附图24页

(54)发明名称

拟肽大环化合物及其用途

(57)摘要

本公开描述了将拟肽大环化合物与附加疗法联合使用以治疗诸如癌症等病况的方法。在一些实施方案中,所述拟肽大环化合物可以减轻所述附加疗法的副作用(例如,粘膜炎、嗜中性粒细胞减少症或血小板减少症)。



CN 114173878 A

1.一种治疗有需要的受试者中的肿瘤的方法,该方法包括向该受试者施用治疗有效量的拟肽大环化合物和治疗有效量的第一附加药学活性剂,其中:

-所述拟肽大环化合物的施用在所述受试者的非癌组织中诱导细胞周期停滞;

-所述拟肽大环化合物的施用不在所述肿瘤中诱导细胞周期停滞;并且

-所述拟肽大环化合物的施用不在所述肿瘤中诱导凋亡。

2.根据权利要求1所述的方法,其中所述非癌组织是骨髓。

3.根据权利要求1所述的方法,其中所述非癌组织是消化道组织。

4.根据权利要求1所述的方法,其中所述拟肽大环化合物的施用降低所述受试者发生与所述第一附加药学活性剂的施用相关的副作用的可能性。

5.根据权利要求1所述的方法,其中所述拟肽大环化合物的施用降低所述受试者中的副作用水平,其中所述副作用与所述第一附加药学活性剂的施用相关。

6.根据权利要求4所述的方法,其中所述副作用与骨髓抑制相关。

7.根据权利要求4所述的方法,其中所述副作用与消化组织相关。

8.根据权利要求4所述的方法,其中所述副作用是嗜中性粒细胞减少症。

9.根据权利要求4所述的方法,其中所述副作用是血小板减少症。

10.根据权利要求4所述的方法,其中所述副作用是粘膜炎。

11.根据权利要求5所述的方法,其中所述副作用与骨髓抑制相关。

12.根据权利要求5所述的方法,其中所述副作用与消化组织相关。

13.根据权利要求5所述的方法,其中所述副作用是嗜中性粒细胞减少症。

14.根据权利要求5所述的方法,其中所述副作用是血小板减少症。

15.根据权利要求5所述的方法,其中所述副作用是粘膜炎。

16.根据权利要求1所述的方法,其中所述第一附加药学活性剂是化疗剂。

17.根据权利要求1所述的方法,其中所述第一附加药学活性剂是抗肿瘤剂。

18.根据权利要求1所述的方法,其中所述第一附加药学活性剂是拓扑异构酶抑制剂。

19.根据权利要求16所述的方法,其中所述第一附加药学活性剂的治疗有效量为约1.5mg/m^2。

20.根据权利要求1所述的方法,其中所述第一附加药学活性剂是类烷化剂。

21.根据权利要求1所述的方法,其中所述第一附加药学活性剂是紫杉烷。

22.根据权利要求1所述的方法,其进一步包括施用治疗有效量的第二附加药学活性剂。

23.根据权利要求22所述的方法,其中所述第一附加药学活性剂是紫杉烷,并且所述第二附加药学活性剂是类烷化剂。

24.根据权利要求1所述的方法,其中在施用所述第一附加药学活性剂之前约12小时至约36小时施用所述拟肽大环化合物。

25.根据权利要求24所述的方法,其中在施用所述第一附加药学活性剂之前约24小时施用所述拟肽大环化合物。

26.根据权利要求1所述的方法,其中:

-在6天周期的第1、2、3、4和5天施用所述拟肽大环化合物;

-在6天周期的第6天不施用所述拟肽大环化合物;

-在6天周期的第2、3、4、5和6天施用所述第一附加药学活性剂;并且

-在6天周期的第1天不施用所述第一附加药学活性剂。

27.根据权利要求26所述的方法,其中所述拟肽大环化合物的每次施用在每次施用所述第一附加药学活性剂之前约12小时至约36小时进行。

28.根据权利要求1所述的方法,其中所述拟肽大环化合物与MDM2结合。

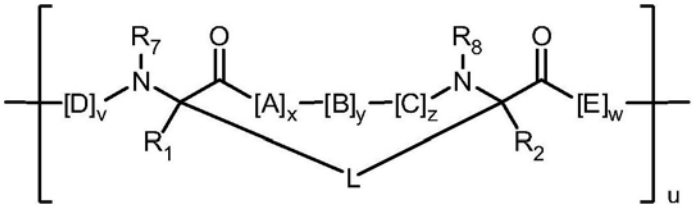
29.根据权利要求1所述的方法,其中所述拟肽大环化合物与MDMX结合。

30.根据权利要求1所述的方法,其中所述拟肽大环化合物与MDM2和MDMX结合。

31.根据权利要求1所述的方法,其中所述拟肽大环化合物在所述非癌组织中诱导p53依赖性细胞周期停滞。

32.根据权利要求1所述的方法,其中所述拟肽大环化合物的治疗有效量小于在所述受试者的非癌组织中诱导凋亡所需的所述拟肽大环化合物的量。

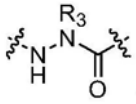
33.根据权利要求1所述的方法,其中所述拟肽大环化合物具有下式:



式(I)

或其药学上可接受的盐,其中:

-每个A、C、D和E独立地为氨基酸;

-每个B独立地为氨基酸、、[-NH-L_3-CO-]、[-NH-L_3-SO_2-]或[-NH-L_3-];

-每个R_1和R_2独立地为氢、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、环烷基烷基、杂烷基或杂环烷基,它们是未取代的或被卤素-取代;或者形成连接至所述D或E氨基酸之一的α位置的大环形成连接体L';

-每个R_3独立地为氢、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、杂烷基、环烷基、杂环烷基、环烷基烷基、芳基或杂芳基,它们任选地被R_5取代;

-每个L和L'独立地为式-L_1-L_2-的大环形成连接体;

-每个L_1、L_2和L_3独立地为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚芳基、亚杂芳基或[-R_4-K-R_4-]$_n$,它们各自任选地被R_5取代;

-每个R_4独立地为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚芳基或亚杂芳基;

-每个K独立地为O、S、SO、SO_2、CO、CO_2或$CONR_3$;

-每个R_5独立地为卤素、烷基、-OR_6、-$N(R_6)_2$、-SR_6、-SOR_6、-SO_2R_6、-CO_2R_6、荧光部分、放射性同位素或治疗剂;

-每个R_6独立地为氢、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基烷基、杂环烷基、荧光部分、放射性同位素或治疗剂;

-每个R_7独立地为氢、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、杂烷基、环烷基烷基、杂环烷

基、芳基或杂芳基，它们任选地被R_5取代，或是与D残基形成的环状结构的一部分；

-每个R_8独立地为氢、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、杂烷基、环烷基烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基，它们任选地被R_5取代，或是与E残基形成的环状结构的一部分；

-每个v独立地为1-1000的整数；

-每个w独立地为1-1000的整数；

-u为1、2、3、4、5、6、7、8、9或10；

-每个x、y和z独立地为1、2、3、4、5、6、7、8、9或10；并且

-每个n独立地为1、2、3、4或5。

34.根据权利要求1所述的方法，其中所述拟肽大环化合物包含与表1、表1a、表1b、表1c、表2a、表2b、表3或表3a中列出的氨基酸序列至少60％相同的氨基酸序列。

35.根据权利要求1所述的方法，其中所述拟肽大环化合物包含与表1、表1a、表1b、表1c、表2a、表2b、表3或表3a中列出的氨基酸序列至少80％相同的氨基酸序列。

36.根据权利要求1所述的方法，其中所述受试者是人。

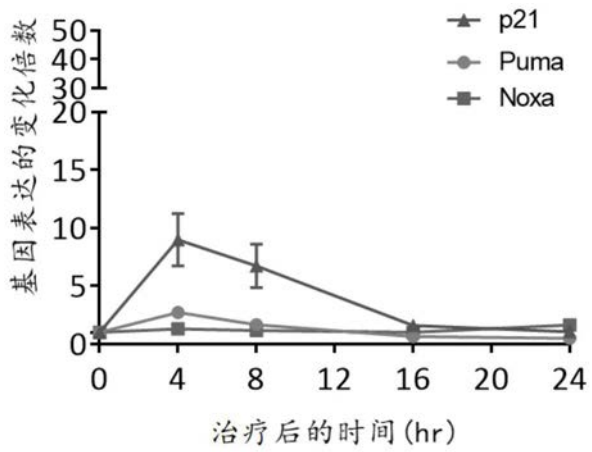
37.根据权利要求1所述的方法，其中，当在带对照的研究中向一组小鼠施用2.4mg/kg的所述拟肽大环化合物时，在这组小鼠的骨髓中发生以下指标的变化：

(i)平均p21 mRNA表达；

(ii)平均p53上调的凋亡调节剂(PUMA)mRNA表达；和

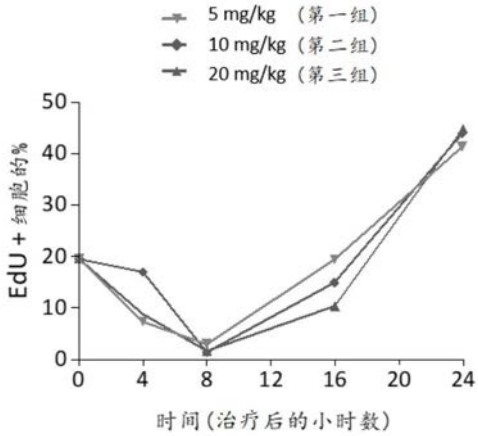
(iii)平均Noxa mRNA表达；

与下图所示的相应线的偏差最多为30％：



。

38.根据权利要求1所述的方法，其中，当在带对照的研究中将5mg/kg的所述拟肽大环化合物施用于第一组5-乙炔基-2'-脱氧尿苷(EdU)治疗的小鼠，将10mg/kg的所述拟肽将大环化合物施用于第二组5-乙炔基-2'-脱氧尿苷(EdU)治疗的小鼠，以及将20mg/kg的所述拟肽大环化合物施用于第三组5-乙炔基-2'-脱氧尿苷(EdU)治疗的小鼠时，所述第一组、第二组和第三组中呈EdU+的谱系阴性、Kit阳性造血干细胞和祖细胞(HSPC)的百分比发生变化，与下图所示的相应线的偏差最多为30％：



。

39.根据权利要求1所述的方法，其中：

-在6天周期的第1、2、3、4和5天施用所述拟肽大环化合物；

-在6天周期的第6天不施用所述拟肽大环化合物；

-在6天周期的第2、3、4、5和6天施用所述第一附加药学活性剂；

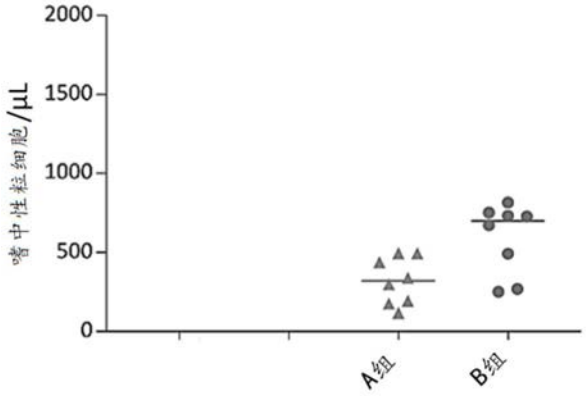
-在6天周期的第1天不施用所述第一附加药学活性剂；并且

-当在带对照的研究中：

(i)A组由在6天研究治疗期的第2、3、4、5和6天用1.5mg/kg的托泊替康治疗，而在6天研究治疗期的第1天不用托泊替康治疗的小鼠组成；并且

(ii)B组由在6天研究治疗期的第1、2、3、4和5天用2.4mg/kg的所述拟肽大环化合物治疗并在6天研究治疗期的第2、3、4、5和6天用1.5mg/kg的托泊替康治疗的小鼠组成，其中B组小鼠在6天研究治疗期的第6天不用所述拟肽大环化合物治疗，并且在6天研究治疗期的第1天不用托泊替康治疗时；

与A组小鼠每μL血液中存在的嗜中性粒细胞数目相比，B组小鼠每μL血液中存在的嗜中性粒细胞数目增加，如下所示：



。

40.根据权利要求1所述的方法，其中：

-在6天周期的第1、2、3、4和5天施用所述拟肽大环化合物；

-在6天周期的第6天不施用所述拟肽大环化合物；

-在6天周期的第2、3、4、5和6天施用所述第一附加药学活性剂；

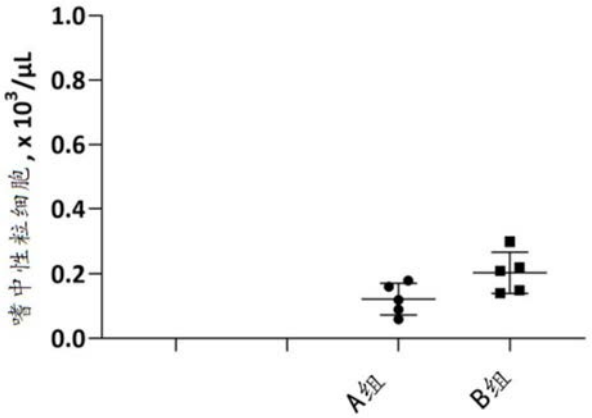
-在6天周期的第1天不施用所述第一附加药学活性剂；并且

-当在带对照的研究中：

(i)A组由在6天研究治疗期的第2、3、4、5和6天用1.5mg/kg的托泊替康治疗，而在6天研究治疗期的第1天不用托泊替康治疗的小鼠组成；并且

(ii)B组由在6天研究治疗期的第1、2、3、4和5天用2.4mg/kg的所述拟肽大环化合物治疗并在6天研究治疗期的第2、3、4、5和6天用1.5mg/kg的托泊替康治疗的小鼠组成，其中B组小鼠在6天研究治疗期的第6天不用所述拟肽大环化合物治疗，并且在6天研究治疗期的第1天不用托泊替康治疗时；

与A组小鼠每μL血液中存在的嗜中性粒细胞数目相比，B组小鼠每μL血液中存在的嗜中性粒细胞数目增加，如下所示：



。

41.根据权利要求1所述的方法，其中：

-在6天周期的第1、2、3、4和5天施用所述拟肽大环化合物；

-在6天周期的第6天不施用所述拟肽大环化合物；

-在6天周期的第2、3、4、5和6天施用所述第一附加药学活性剂；

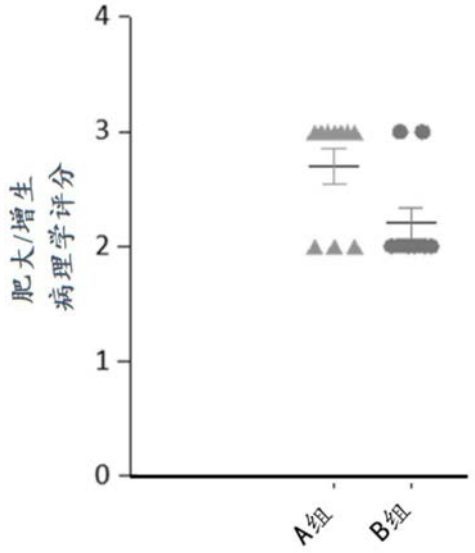
-在6天周期的第1天不施用所述第一附加药学活性剂；并且

-当在带对照的研究中：

(i)A组由在6天研究治疗期的第2、3、4、5和6天用1.5mg/kg的托泊替康治疗，而在6天研究治疗期的第1天不用托泊替康治疗的小鼠组成；并且

(ii)B组由在6天研究治疗期的第1、2、3、4和5天用2.4mg/kg的所述拟肽大环化合物治疗并在6天研究治疗期的第2、3、4、5和6天用1.5mg/kg的托泊替康治疗的小鼠组成，其中B组小鼠在6天研究治疗期的第6天不用所述拟肽大环化合物治疗，并且在6天研究治疗期的第1天不用托泊替康治疗时；

与A组小鼠消化道组织的肥大/增生的测量值相比，B组小鼠消化道组织的肥大/增生的测量值改变，如下所示：



。

42.根据权利要求1所述的方法,其中:

-在6天周期的第1、2、3、4和5天施用所述拟肽大环化合物;

-在6天周期的第6天不施用所述拟肽大环化合物;

-在6天周期的第2、3、4、5和6天施用所述第一附加药学活性剂;

-在6天周期的第1天不施用所述第一附加药学活性剂;并且

-当在带对照的研究中:

(i)A组由在6天研究治疗期的第2、3、4、5和6天用1.5mg/kg的托泊替康治疗,而在6天研究治疗期的第1天不用托泊替康治疗的小鼠组成;并且

(ii)B组由在6天研究治疗期的第1、2、3、4和5天用2.4mg/kg的所述拟肽大环化合物治疗并在6天研究治疗期的第2、3、4、5和6天用1.5mg/kg的托泊替康治疗的小鼠组成,其中B组小鼠在6天研究治疗期的第6天不用所述拟肽大环化合物治疗,并且在6天研究治疗期的第1天不用托泊替康治疗时;

B组小鼠中约80%小鼠的消化道组织样品的肥大/增生评分为2,A组约70%小鼠的消化道组织样品的肥大/增生评分为3。

43.根据权利要求22所述的方法,其中:

-所述拟肽大环化合物的第一次施用在所述第一附加药学活性剂施用前8小时进行;

-所述拟肽大环化合物的第二次施用在所述第一附加药学活性剂施用前1小时进行;

-所述拟肽大环化合物的第三次施用在所述第一附加药学活性剂施用后8小时进行;

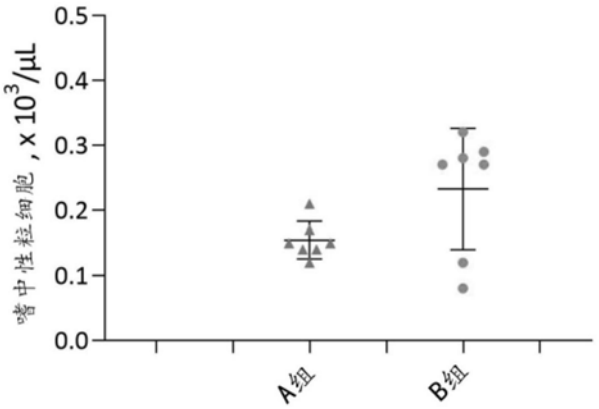
-当在带对照的研究中:

(i)A组由在第一时间点用25mg/kg卡铂和5mg/kg紫杉醇治疗的小鼠组成;

(ii)B组由在第一时间点用25mg/kg卡铂和5mg/kg紫杉醇治疗并在第二时间点、第三时间点和第四时间点用2.4mg/kg的所述拟肽大环化合物治疗的小鼠组成;并且

(iii)第二时间点为第一时间点前约8小时,第三时间点为第一时间点前约1小时,第四时间点为第一时间点后约8小时时;

与A组小鼠每μL血液中存在的嗜中性粒细胞数目相比,B组小鼠每μL血液中存在的嗜中性粒细胞数目增加,如下所示:


嗜中性粒细胞，x 10³/μL
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0.0
A组
B组

。

拟肽大环化合物及其用途

交叉引用

[0001] 本申请要求2019年3月15日提交的第62/819,195号美国临时申请和2019年10月25日提交的第62/926,018号美国临时申请的权益,所述临时申请中的每一个均通过引用而整体并入。

背景技术

[0002] 抗癌疗法可能导致的副作用包括骨髓抑制和粘膜炎。骨髓抑制与骨髓破坏有关,而粘膜炎则涉及消化道粘膜的炎症和溃疡。诸如骨髓抑制和粘膜炎等副作用可限制可以安全地施用于患者的抗癌疗法的剂量。

援引并入

[0003] 本说明书中所提及的所有出版物、专利和专利申请均通过引用并入本文,其程度犹如具体地且单独地指出每个单独的出版物、专利或专利申请均通过引用而并入。

发明内容

[0004] 在一些实施方案中,本公开提供了一种治疗有需要的受试者中的肿瘤的方法,该方法包括向该受试者施用治疗有效量的拟肽大环化合物和治疗有效量的第一附加药学活性剂,其中所述拟肽大环化合物的施用在所述受试者的非癌组织中诱导细胞周期停滞,所述拟肽大环化合物的施用不在所述肿瘤中诱导细胞周期停滞;并且所述拟肽大环化合物的施用不在所述肿瘤中诱导凋亡。

[0005] 在一些实施方案中,本公开提供了一种治疗有需要的受试者中的肿瘤的方法,该方法包括向该受试者施用治疗有效量的拟肽大环化合物和治疗有效量的第一附加药学活性剂,其中所述癌症具有p53灭活突变;所述受试者的非癌性组织包含功能性p53蛋白;并且所述非癌组织是骨髓或消化道组织。

[0006] 在一些实施方案中,本公开提供了一种治疗有需要的受试者中的肿瘤的方法,该方法包括向该受试者施用治疗有效量的拟肽大环化合物和治疗有效量的第一附加药学活性剂,其中所述拟肽大环化合物的施用不在所述肿瘤中诱导细胞周期停滞;所述拟肽大环化合物的施用不在所述肿瘤中诱导凋亡;所述第一附加药学活性剂的治疗有效量与副作用相关;并且所述拟肽大环化合物的施用降低所述受试者发生所述副作用的可能性。

附图说明

[0007] 图1显示了人野生型p53蛋白序列。

[0008] 图2呈现了显示拟肽大环化合物对细胞周期停滞和细胞死亡的剂量依赖性影响的示意图。

[0009] 图3呈现了显示了化学疗法和拟肽大环化合物AP-1的联合治疗如何治疗p53突变肿瘤并预防骨髓抑制的机制的示意图。

[0010] 图4呈现了显示AP-1在p53野生型细胞与p53突变细胞中的作用的数据。

[0011] 图5呈现了AP-1对凋亡(上图)和细胞周期停滞(下图)的影响的数据。对于上图中显示的每组条形图,AP-1的以下剂量水平按从左到右的顺序呈现:媒介物对照、1μM、5μM和10μM。对于下图中显示的每组条形图,AP-1的以下剂量水平按从左到右的顺序呈现:媒介物对照、1μM和2.5μM。

[0012] 图6显示了AP-1对$CD34^+$骨髓细胞中的DNA合成和细胞周期停滞的影响。

[0013] 图7显示了在用媒介物或AP-1处理后的两个不同时间点,5-乙炔基-2'-脱氧尿苷(EdU)阳性$CD34^+$骨髓细胞(其指示细胞处于S期)的百分比。

[0014] 图8显示了如通过γH2AX掺入所测量的,用AP-1预处理对托泊替康诱导的DNA损伤的影响。

[0015] 图9显示了用单剂量AP-1体内治疗后,小鼠骨髓细胞中p21、p53上调的凋亡调节剂(PUMA)和Noxa的mRNA表达水平。

[0016] 图10显示了用10mg/kg的单剂量AP-1体内治疗后,造血干细胞和祖细胞中的EdU掺入。

[0017] 图11显示了用单剂量AP-1体内治疗后,谱系阴性、Kit阳性造血干细胞和祖细胞中的EdU掺入。

[0018] 图12显示了用单剂量AP-1治疗后,小鼠中巨噬细胞抑制性细胞因子-1(MIC-1)的血清水平。

[0019] 图13显示了用20mg/kg AP-1治疗后,MCF-7小鼠肿瘤中的p53、p21和溴脱氧尿苷(BrdU)染色。

[0020] 图14显示了用20mg/kg AP-1治疗后,MCF-7肿瘤组织中p53、p21、聚(ADP-核糖)聚合酶(PARP)和BrdU染色的定量。

[0021] 图15显示了用媒介物、AP-1、Abraxane®或AP-1与Abraxane®联合治疗后,小鼠中的MCF-7.1肿瘤体积。

[0022] 图16A和图16B显示了用媒介物、AP-1、托泊替康或AP-1和托泊替康的组合治疗后,小鼠中的嗜中性粒细胞水平。

[0023] 图16C显示了两个不同治疗组的小鼠中的嗜中性粒细胞水平。

[0024] 图16D显示了两个不同治疗组的小鼠中的嗜中性粒细胞水平。

[0025] 图17A显示了用媒介物、AP-1、托泊替康或AP-1和托泊替康的组合治疗后,MC38肿瘤小鼠癌症模型中的肿瘤体积中值和小鼠存活率。

[0026] 图17B显示了用媒介物、AP-1、托泊替康或AP-1和托泊替康的组合治疗后,H69肿瘤小鼠癌症模型中的肿瘤体积中值和小鼠存活率。

[0027] 图17C显示了用媒介物、AP-1、托泊替康或AP-1和托泊替康的组合治疗后,H211肿瘤小鼠癌症模型中的肿瘤体积中值和小鼠存活率。

[0028] 图18A显示了用媒介物、AP-1、卡铂和紫杉醇,或卡铂和紫杉醇联合AP-1治疗后,小鼠中的嗜中性粒细胞水平。

[0029] 图18B显示了两个单独治疗组的小鼠中的嗜中性粒细胞水平。

[0030] 图19显示了用媒介物、AP-1、多西他赛,或AP-1联合多西他赛治疗后,小鼠中的嗜中性粒细胞水平。

[0031] 图20显示了小细胞肺癌1b期剂量优化研究的研究设计示意图(RP2D=推荐的2期

剂量)。

[0032] 图21显示了小细胞肺癌1b期剂量扩展研究的研究设计示意图。

[0033] 图22显示了小细胞肺癌2期试验的研究设计示意图(RP2D＝推荐的2期剂量)。

[0034] 图23显示了来自用单独的托泊替康或用托泊替康联合AP-1治疗的小鼠的肠组织的组织切片。

[0035] 图24A显示了用媒介物、AP-1、托泊替康或AP-1和托泊替康的组合治疗后,小鼠肠组织中肥大/增生的组织学评分。

[0036] 图24B显示了两个单独治疗组中小鼠的肠组织中肥大/增生的组织学评分。

具体实施方式

[0037] 抗癌疗法例如化疗剂可具有剂量限制性副作用,其可限制此类疗法的功效。剂量限制性副作用可包括,例如,骨髓抑制和粘膜炎。粘膜炎可导致内衬于消化道的粘膜的疼痛性炎症和溃疡。溃疡可导致体重减轻、感染和/或脓毒症。骨髓抑制可导致负责提供免疫力的细胞(白细胞)、携带氧的细胞(红细胞)和介导凝血的细胞(血小板)的产生减少。骨髓抑制可对受试者产生严重的后果,并可导致免疫系统减弱、贫血、嗜中性粒细胞减少症、血小板减少症和/或自发性和严重出血。粘膜炎和骨髓抑制可能分别由抗癌疗法诱导的消化道和骨髓细胞的细胞毒性引起。在一些情况下,在细胞中诱导细胞周期停滞可以保护细胞免受抗癌疗法(例如,化疗剂)的细胞毒性作用的影响。

[0038] 可以通过由TP53基因编码的人转录因子蛋白质p53的激活诱导细胞周期停滞。E3泛素连接酶MDM2(也称为HDM2)通过中和p53反式激活活性的直接结合相互作用而负调节p53的功能。p53反式激活活性的中和导致p53蛋白质从核输出,其靶向p53以供经由泛素化-蛋白酶体途径降解。

[0039] MDMX(MDM4)是p53的负调节剂,并且在MDM2和MDMX的p53结合界面之间存在显著的结构同源性。p53-MDM2和p53-MDMX的蛋白质-蛋白质相互作用由p53的同一个15个残基的α螺旋反式激活域介导,该α螺旋反式激活域插入MDM2和MDMX的表面上的疏水性裂隙内。p53的这个域内的三个残基(F19、W23和L26)对与MDM2和MDMX的结合至关重要。

[0040] 本文描述了调节p53活性的基于p53的拟肽大环化合物。本公开的拟肽大环化合物能够通过例如抑制p53与MDM2和/或p53与MDMX蛋白之间的相互作用来调节p53活性。本文还提供了基于p53的拟肽大环化合物和附加药学活性剂在治疗病况,例如癌症或另一种过度增生性疾病中的用途。此外,本文提供了能够用来减轻由第二药学活性剂引起的副作用(例如,骨髓抑制或粘膜炎)的基于p53的拟肽大环化合物。例如,本文公开的方法可包括通过联合施用拟肽大环化合物与第二药学活性剂(例如,化疗剂)来治疗有需要的受试者的癌症。在一些情况下,拟肽大环化合物可在受试者的骨髓和/或消化道组织中诱导细胞周期停滞,并减轻骨髓抑制相关的副作用(例如,嗜中性粒细胞减少症或血小板减少症)和/或由第二药学活性剂引起的粘膜炎。

定义

[0041] 如本文所用的,术语“大环化合物”是指这样的分子:其具有包括由至少9个共价键合的原子形成的环或环形的化学结构。

[0042] 如本文所用的,术语“拟肽大环化合物”或“交联的多肽”是指包含通过多个肽键连

接的多个氨基酸残基和至少一个大环形成连接体的化合物，所述大环形成连接体在第一天然存在的或非天然存在的氨基酸残基(或类似物)与同一分子内的第二天然存在的或非天然存在的氨基酸残基(或类似物)之间形成大环。拟肽大环化合物包括其中大环形成连接体将第一氨基酸残基(或类似物)的α碳连接至第二氨基酸残基(或类似物)的α碳的实施方案。拟肽大环化合物任选地包含处于一个或多个氨基酸残基和/或氨基酸类似物残基之间的一个或多个非肽键，且除了形成大环化合物的任意残基外，任选地还包含一个或多个非天然存在的氨基酸残基或氨基酸类似物残基。当在拟肽大环化合物的背景下提及时，“相应的非交联多肽”被理解为涉及与该大环化合物长度相同并且包含对应于该大环化合物的野生型序列的等同天然氨基酸的多肽。

[0043] AP-1为α螺旋烃交联的多肽大环化合物，其氨基酸序列的长度小于20个氨基酸，来源于野生型人p53蛋白质的反式激活域。AP-1在野生型人p53蛋白质的反式激活域中相对于彼此的相同位置含有苯丙氨酸、色氨酸和亮氨酸氨基酸。AP-1具有跨越在该氨基酸序列的i到i+7位置的氨基酸的单个交联，并且在i+7位置与羧基末端之间具有超过三个氨基酸。AP-1与人MDM2和MDM4结合，并且具有如通过电喷雾离子化质谱法测得的950-975m/e的观测质量。

[0044] 如本文所用的，术语“稳定性”是指如通过圆二色性、NMR或另一种生物物理测量法测量的，拟肽大环化合物在溶液中维持确定的二级结构，或在体外或体内对蛋白水解降解作用的抗性。本文预期的二级结构的非限制性实例是α-螺旋、3_{10}螺旋、β-转角和β-折叠。

[0045] 如本文所用的，术语“螺旋稳定性”是指如通过圆二色性或NMR测量的，拟肽大环化合物维持α-螺旋结构。在一些实施方案中，与相应的非交联的大环化合物相比，如通过圆二色性确定的，拟肽大环化合物在α-螺旋度上可表现出至少1.25、1.5、1.75或2倍的增加。

[0046] 术语“氨基酸”是指同时含有氨基和羧基的分子。合适的氨基酸包括但不限于天然存在的氨基酸的D-和L-异构体，以及通过有机合成或其他代谢途径制备的非天然存在的氨基酸。本文所用的术语氨基酸包括但不限于α-氨基酸、天然氨基酸、非天然氨基酸和氨基酸类似物。

[0047] 术语“α-氨基酸”是指含有的氨基和羧基都结合到被指定为α-碳的碳上的分子。

[0048] 术语“β-氨基酸”是指含有均为β构型的氨基和羧基的分子。

[0049] 术语“天然存在的氨基酸”是指在自然界合成的肽中通常发现的20种氨基酸中的任一种，已知其单字母缩写为A、R、N、C、D、Q、E、G、H、I、L、K、M、F、P、S、T、W、Y和V。

[0050] 下表示出了天然氨基酸的性质一览：

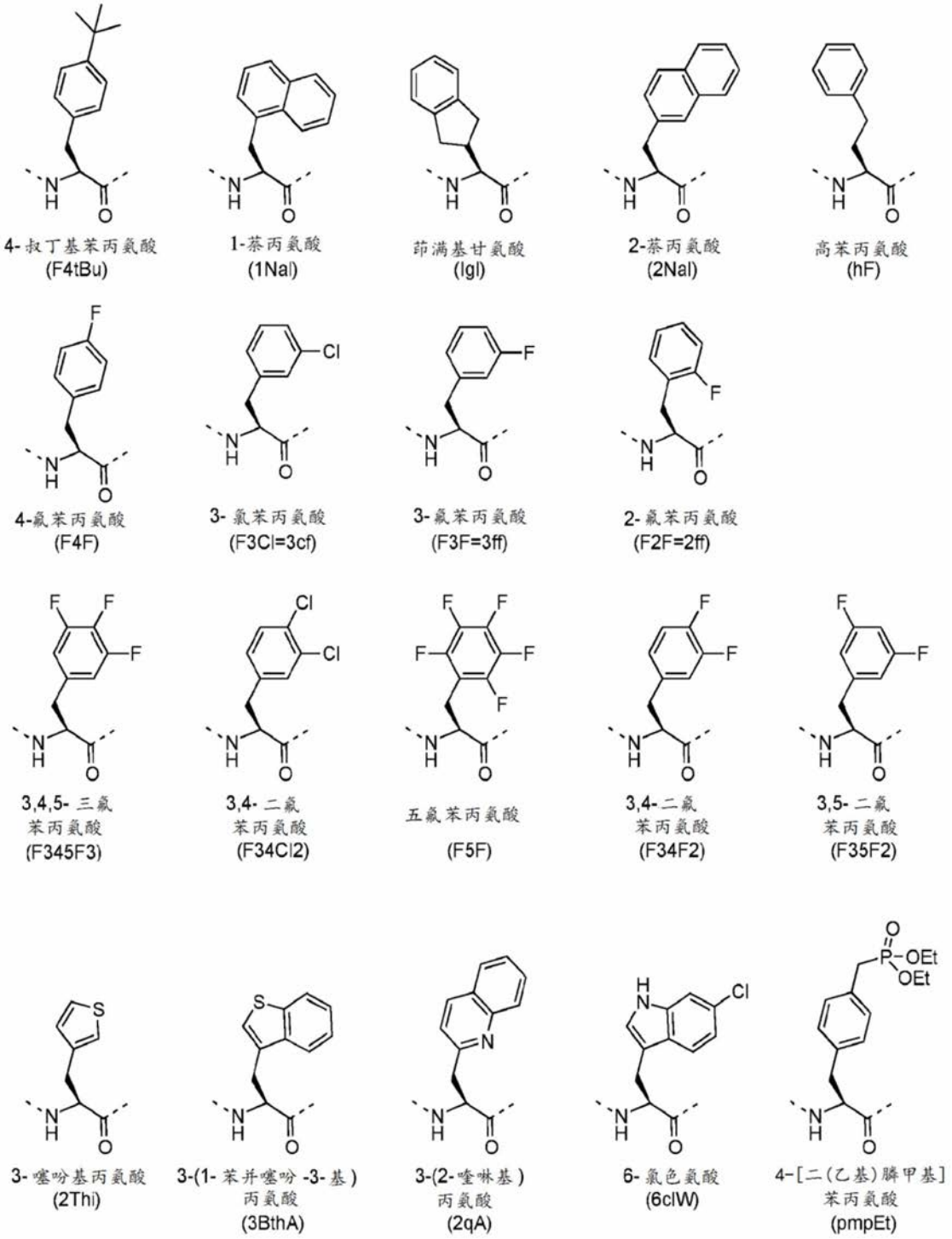
氨基酸	3字母代码	单字母代码	侧链极性	侧链电荷(pH 7.4)	亲水指数
丙氨酸	Ala	A	非极性	中性	1.8
精氨酸	Arg	R	极性	正	−4.5
天冬酰胺	Asn	N	极性	中性	−3.5
天冬氨酸	Asp	D	极性	负	−3.5
半胱氨酸	Cys	C	极性	中性	2.5
谷氨酸	Glu	E	极性	负	−3.5
谷氨酰胺	Gln	Q	极性	中性	−3.5
甘氨酸	Gly	G	非极性	中性	−0.4
组氨酸	His	H	极性	正(10%) 中性(90%)	−3.2
异亮氨酸	Ile	I	非极性	中性	4.5
亮氨酸	Leu	L	非极性	中性	3.8
赖氨酸	Lys	K	极性	正	−3.9
甲硫氨酸	Met	M	非极性	中性	1.9
苯丙氨酸	Phe	F	非极性	中性	2.8
脯氨酸	Pro	P	非极性	中性	−1.6
丝氨酸	Ser	S	极性	中性	−0.8
苏氨酸	Thr	T	极性	中性	−0.7
色氨酸	Trp	W	非极性	中性	−0.9
酪氨酸	Tyr	Y	极性	中性	−1.3
缬氨酸	Val	V	非极性	中性	4.2

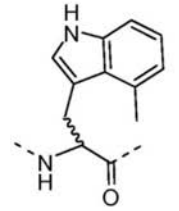
[0051] “疏水性氨基酸”包括小疏水性氨基酸和大疏水性氨基酸。“小疏水性氨基酸”为甘氨酸、丙氨酸、脯氨酸及其类似物。“大疏水性氨基酸”为缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸、色氨酸及其类似物。“极性氨基酸”为丝氨酸、苏氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、半胱氨酸、酪氨酸及其类似物。“带电荷氨基酸”为赖氨酸、精氨酸、组氨酸、天冬氨酸、谷氨酸及其类似物。

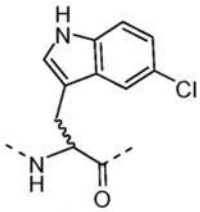
[0052] 术语“氨基酸类似物”是指在结构上类似于氨基酸并且在拟肽大环化合物的形成中可代替氨基酸的分子。氨基酸类似物包括但不限于β-氨基酸和其中氨基或羧基被相似反应性的基团取代(例如,用仲胺或叔胺取代伯胺,或用酯取代羧基)的氨基酸。

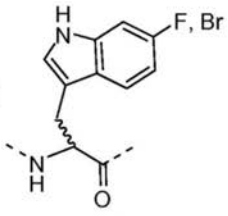
[0053] 术语“非天然氨基酸”是指并非在自然界合成的肽中通常发现的二十种氨基酸(已知其单字母缩写为A、R、N、C、D、Q、E、G、H、I、L、K、M、F、P、S、T、W、Y和V)之一的氨基酸。非天然氨基酸或氨基酸类似物包括但不限于根据以下的结构：

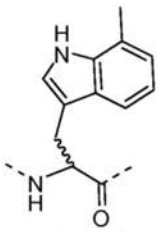
[0054]

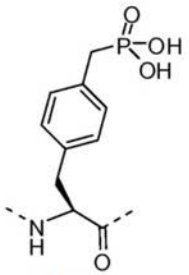

4-叔丁基苯丙氨酸
(F4tBu)
1-萘丙氨酸
(1Nal)
茚满基甘氨酸
(Igl)
2-萘丙氨酸
(2Nal)
高苯丙氨酸
(hF)
4-氟苯丙氨酸
(F4F)
3-氯苯丙氨酸
(F3Cl=3cf)
3-氟苯丙氨酸
(F3F=3ff)
2-氟苯丙氨酸
(F2F=2ff)
3,4,5-三氟
苯丙氨酸
(F345F3)
3,4-二氯
苯丙氨酸
(F34Cl2)
五氟苯丙氨酸
(F5F)
3,4-二氟
苯丙氨酸
(F34F2)
3,5-二氟
苯丙氨酸
(F35F2)
3-噻吩基丙氨酸
(2Thi)
3-(1-苯并噻吩-3-基)
丙氨酸
(3BthA)
3-(2-喹啉基)
丙氨酸
(2qA)
6-氯色氨酸
(6clW)
4-[二(乙基)膦甲基]
苯丙氨酸
(pmpEt)

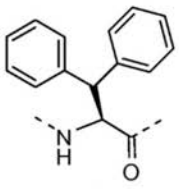

D-或L-4-甲基色氨酸
(dl4mW)

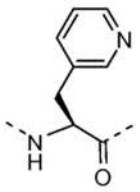

D-或L-5-氯色氨酸
(dl5dW)

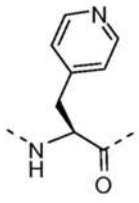

D/L-6-氟色氨酸和D/L-6-溴色氨酸
(dl6fW和dl6brW)

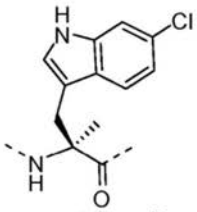

D/L-7-甲基色氨酸
(dl7mW)

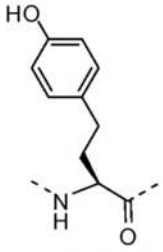

4-(膦酰甲基)苯丙氨酸
(Pmp)

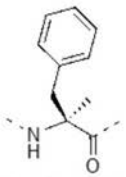

3,3-二苯基丙氨酸
(Dip)

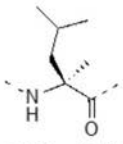

3-吡啶基丙氨酸
(3Pal)

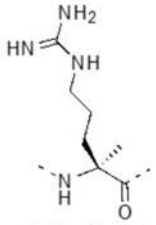

4-吡啶基丙氨酸
(4Pal)

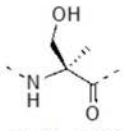

α-甲基-6-氯色氨酸
(Me6clW)

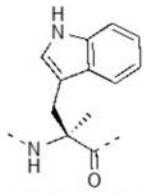

高酪氨酸
(hY)

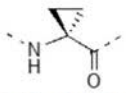

α-甲基-苯丙氨酸
(Amf)

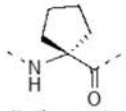

α-甲基-亮氨酸
(Aml)

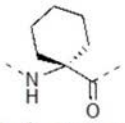

α-甲基-精氨酸
(Amr)

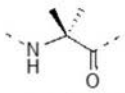

α-甲基-丝氨酸
(Ams)

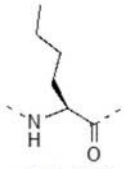

α-甲基-色氨酸
(Amw)

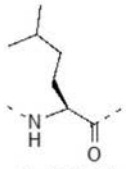

1-氨基-环丙烷-1-羧酸
(Ac3c)

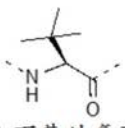

1-氨基-环戊烷-1-羧酸
(Ac5c)

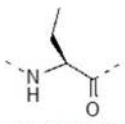

1-氨基-环己烷-1-羧酸
(Ac6c)

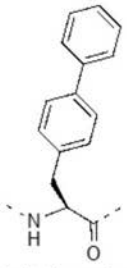

α-氨基异丁酸
(Aib)

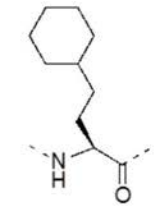

正亮氨酸
(Nle)


高亮氨酸
(hL)

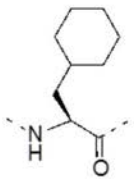

叔丁基甘氨酸
(Tle)


氨基丁酸
(Abu)

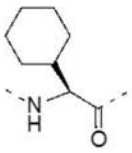

联苯基丙氨酸
(Bip)



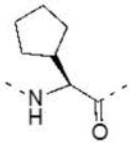
环己基高丙氨酸
(hCha)



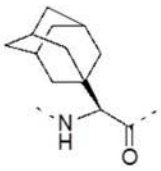
环己基丙氨酸
(Cha)



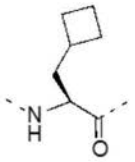
环己基甘氨酸
(Chg)



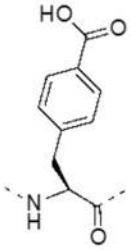
环戊基甘氨酸
(Cpg)



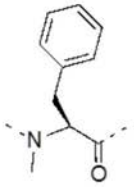
金刚烷基甘氨酸
(Adm)



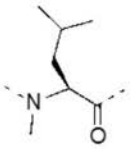
环丁基丙氨酸
(Cba)



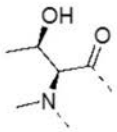
4-羧基
苯丙氨酸
(F4COOH)



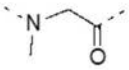
N-甲基
苯丙氨酸
(NmF)



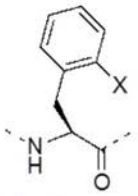
N-甲基
亮氨酸
(NmL)



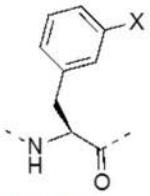
N-甲基
苏氨酸
(NmT)



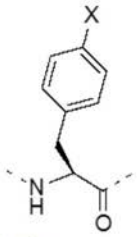
肌氨酸
(Sar)



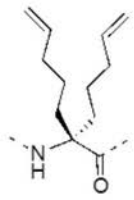
2-氯苯丙氨酸 (X=Cl),
2-溴苯丙氨酸 (X=Br),
2-三甲基苯丙氨酸(X=CF3),
2-氰基苯丙氨酸(X=CN),
2-甲基苯丙氨酸(X=Me),
2-硝基苯丙氨酸(X=NO2),
(F2X, X=Cl,Br,CF3,CN,Me,NO2)



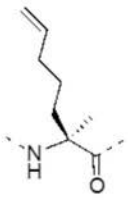
3-氯苯丙氨酸 (X=Cl),
3-溴苯丙氨酸 (X=Br),
3-三甲基苯丙氨酸(X=CF3),
3-氰基苯丙氨酸(X=CN),
3-甲基苯丙氨酸(X=Me),
3-硝基苯丙氨酸(X=NO2),
(F3X, X=Cl,Br,CF3,CN,Me,NO2)



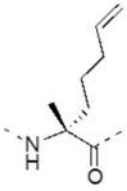
4-氯苯丙氨酸 (X=Cl),
4-溴苯丙氨酸 (X=Br),
4-三甲基苯丙氨酸(X=CF3),
4-氰基苯丙氨酸(X=CN),
4-甲基苯丙氨酸(X=Me),
4-硝基苯丙氨酸(X=NO2),
(F4X, X=Cl,Br,CF3,CN,Me,NO2)



St//



$/



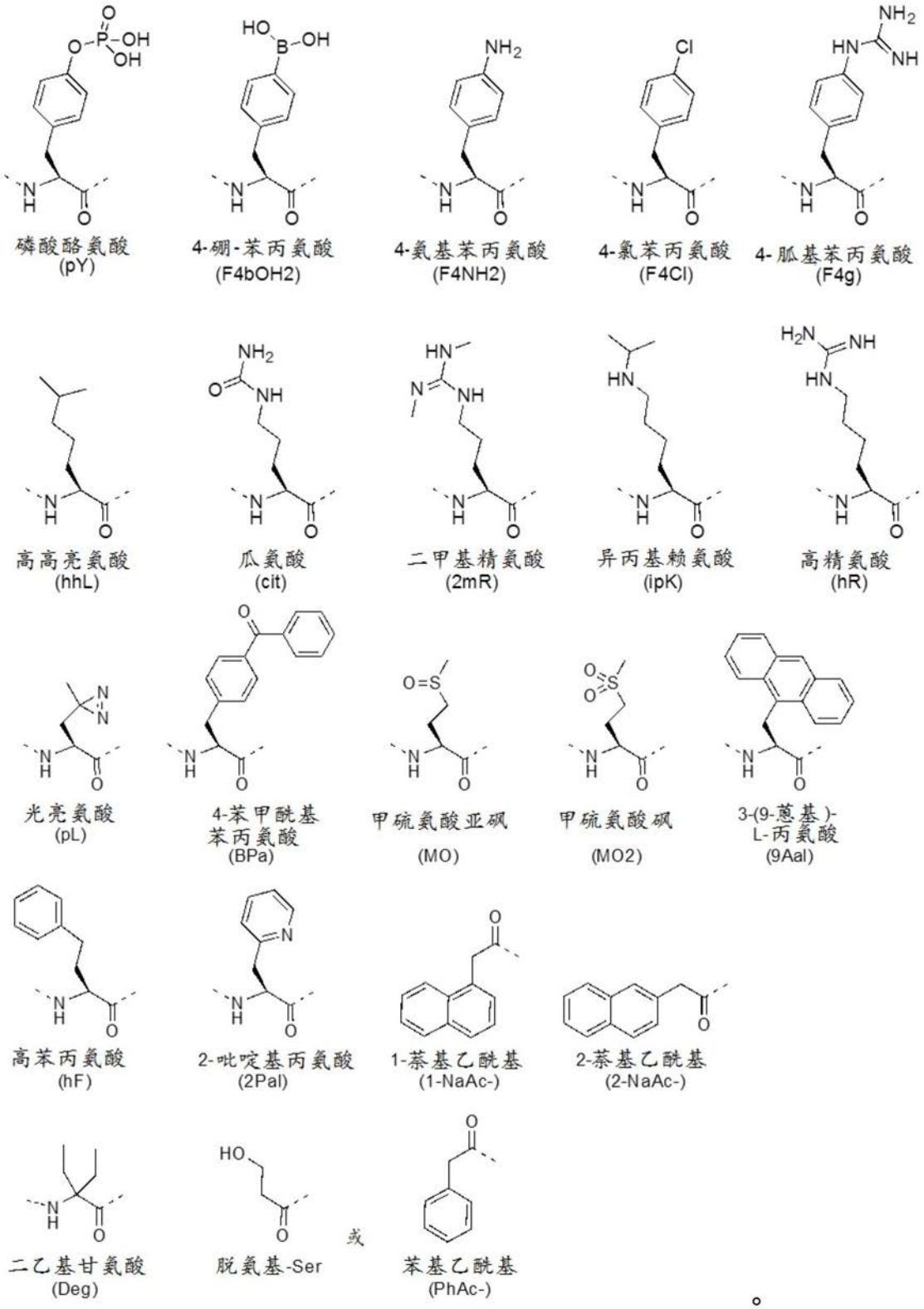
$/r5



$/s8



$/r8



[0055] 氨基酸类似物包括β-氨基酸类似物。β-氨基酸类似物的实例包括但不限以下:环状β-氨基酸类似物;β-丙氨酸;(R)-β-苯丙氨酸;(R)-1,2,3,4-四氢-异喹啉-3-乙酸;(R)-3-氨基-4-(1-萘基)-丁酸;(R)-3-氨基-4-(2,4-二氯苯基)丁酸;(R)-3-氨基-4-(2-氯苯基)-丁酸;(R)-3-氨基-4-(2-氰基苯基)-丁酸;(R)-3-氨基-4-(2-氟苯基)-丁酸;(R)-3-氨基-4-(2-呋喃基)-丁酸;(R)-3-氨基-4-(2-甲苯基)-丁酸;(R)-3-氨基-4-(2-萘基)-丁酸;

(R)-3-氨基-4-(2-噻吩基)-丁酸;(R)-3-氨基-4-(2-三氟甲苯基)-丁酸;(R)-3-氨基-4-(3,4-二氯苯基)丁酸;(R)-3-氨基-4-(3,4-二氟苯基)丁酸;(R)-3-氨基-4-(3-苯并噻吩基)-丁酸;(R)-3-氨基-4-(3-氯苯基)-丁酸;(R)-3-氨基-4-(3-氰基苯基)-丁酸;(R)-3-氨基-4-(3-氟苯基)-丁酸;(R)-3-氨基-4-(3-甲苯基)-丁酸;(R)-3-氨基-4-(3-吡啶基)-丁酸;(R)-3-氨基-4-(3-噻吩基)-丁酸;(R)-3-氨基-4-(3-三氟甲苯基)-丁酸;(R)-3-氨基-4-(4-溴苯基)-丁酸;(R)-3-氨基-4-(4-氯苯基)-丁酸;(R)-3-氨基-4-(4-氰基苯基)-丁酸;(R)-3-氨基-4-(4-氟苯基)-丁酸;(R)-3-氨基-4-(4-碘苯基)-丁酸;(R)-3-氨基-4-(4-甲苯基)-丁酸;(R)-3-氨基-4-(4-硝基苯基)-丁酸;(R)-3-氨基-4-(4-吡啶基)-丁酸;(R)-3-氨基-4-(4-三氟甲苯基)-丁酸;(R)-3-氨基-4-五氟-苯基丁酸;(R)-3-氨基-5-己烯酸;(R)-3-氨基-5-己炔酸;(R)-3-氨基-5-苯基戊酸;(R)-3-氨基-6-苯基-5-己烯酸;(S)-1,2,3,4-四氢-异喹啉-3-乙酸;(S)-3-氨基-4-(1-萘基)-丁酸;(S)-3-氨基-4-(2,4-二氯苯基)丁酸;(S)-3-氨基-4-(2-氯苯基)-丁酸;(S)-3-氨基-4-(2-氰基苯基)-丁酸;(S)-3-氨基-4-(2-氟苯基)-丁酸;(S)-3-氨基-4-(2-呋喃基)-丁酸;(S)-3-氨基-4-(2-甲苯基)-丁酸;(S)-3-氨基-4-(2-萘基)-丁酸;(S)-3-氨基-4-(2-噻吩基)-丁酸;(S)-3-氨基-4-(2-三氟甲苯基)-丁酸;(S)-3-氨基-4-(3,4-二氯苯基)丁酸;(S)-3-氨基-4-(3,4-二氟苯基)丁酸;(S)-3-氨基-4-(3-苯并噻吩基)-丁酸;(S)-3-氨基-4-(3-氯苯基)-丁酸;(S)-3-氨基-4-(3-氰基苯基)-丁酸;(S)-3-氨基-4-(3-氟苯基)-丁酸;(S)-3-氨基-4-(3-甲苯基)-丁酸;(S)-3-氨基-4-(3-吡啶基)-丁酸;(S)-3-氨基-4-(3-噻吩基)-丁酸;(S)-3-氨基-4-(3-三氟甲苯基)-丁酸;(S)-3-氨基-4-(4-溴苯基)-丁酸;(S)-3-氨基-4-(4-氯苯基)-丁酸;(S)-3-氨基-4-(4-氰基苯基)-丁酸;(S)-3-氨基-4-(4-氟苯基)-丁酸;(S)-3-氨基-4-(4-碘苯基)-丁酸;(S)-3-氨基-4-(4-甲苯基)-丁酸;(S)-3-氨基-4-(4-硝基苯基)-丁酸;(S)-3-氨基-4-(4-吡啶基)-丁酸;(S)-3-氨基-4-(4-三氟甲苯基)-丁酸;(S)-3-氨基-4-五氟-苯基丁酸;(S)-3-氨基-5-己烯酸;(S)-3-氨基-5-己炔酸;(S)-3-氨基-5-苯基戊酸;(S)-3-氨基-6-苯基-5-己烯酸;1,2,5,6-四氢吡啶-3-甲酸;1,2,5,6-四氢吡啶-4-甲酸;3-氨基-3-(2-氯苯基)-丙酸;3-氨基-3-(2-噻吩基)-丙酸;3-氨基-3-(3-溴苯基)-丙酸;3-氨基-3-(4-氯苯基)-丙酸;3-氨基-3-(4-甲氧苯基)-丙酸;3-氨基-4,4,4-三氟-丁酸;3-氨基己二酸;D-β-苯丙氨酸;β-亮氨酸;L-β-高丙氨酸;L-β-高天冬氨酸γ-苄酯;L-β-高谷氨酸δ-苄酯;L-β-高异亮氨酸;L-β-高亮氨酸;L-β-高甲硫氨酸;L-β-高苯丙氨酸;L-β-高脯氨酸;L-β-高色氨酸;L-β-高缬氨酸;L-Nω-苄氧羰基-β-高赖氨酸;Nω-L-β-高精氨酸;O-苄基-L-β-高羟脯氨酸;O-苄基-L-β-高丝氨酸;O-苄基-L-β-高苏氨酸;O-苄基-L-β-高酪氨酸;γ-三苯甲基-L-β-高天冬酰胺;(R)-β-苯丙氨酸;L-β-高天冬氨酸γ-叔丁酯;L-β-高谷氨酸δ-叔丁酯;L-Nω-β-高赖氨酸;Nδ-三苯甲基-L-β-高谷氨酰胺;Nω-2,2,4,6,7-五甲基-二氢苯并呋喃-5-磺酰基-L-β-高精氨酸;O-叔丁基-L-β-高羟基-脯氨酸;O-叔丁基-L-β-高丝氨酸;O-叔丁基-L-β-高苏氨酸;O-叔丁基-L-β-高酪氨酸;2-氨基环戊烷羧酸;和2-氨基环己烷羧酸。

[0056] 氨基酸类似物包括丙氨酸、缬氨酸、甘氨酸或亮氨酸的类似物。丙氨酸、缬氨酸、甘氨酸或亮氨酸的氨基酸类似物的实例包括但不限于以下:α-甲氧基甘氨酸;α-烯丙基-L-丙氨酸;α-氨基异丁酸;α-甲基-亮氨酸;β-(1-萘基)-D-丙氨酸;β-(1-萘基)-L-丙氨酸;β-(2-萘基)-D-丙氨酸;β-(2-萘基)-L-丙氨酸;β-(2-吡啶基)-D-丙氨酸;β-(2-吡啶基)-L-丙氨

酸;β-(2-噻吩基)-D-丙氨酸;β-(2-噻吩基)-L-丙氨酸;β-(3-苯并噻吩基)-D-丙氨酸;β-(3-苯并噻吩基)-L-丙氨酸;β-(3-吡啶基)-D-丙氨酸;β-(3-吡啶基)-L-丙氨酸;β-(4-吡啶基)-D-丙氨酸;β-(4-吡啶基)-L-丙氨酸;β-氯-L-丙氨酸;β-氰基-L-丙氨酸;β-环己基-D-丙氨酸;β-环己基-L-丙氨酸;β-环戊烯-1-基-丙氨酸;β-环戊基-丙氨酸;β-环丙基-L-Ala-OH·二环己基铵盐;β-叔丁基-D-丙氨酸;β-叔丁基-L-丙氨酸;γ-氨基丁酸;L-α,β-二氨基丙酸;2,4-二硝基-苯基甘氨酸;2,5-二氢-D-苯基甘氨酸;2-氨基-4,4,4-三氟丁酸;2-氟-苯基甘氨酸;3-氨基-4,4,4-三氟-丁酸;3-氟-缬氨酸;4,4,4-三氟-缬氨酸;4,5-脱氢-L-leu-OH·二环己基铵盐;4-氟-D-苯基甘氨酸;4-氟-L-苯基甘氨酸;4-羟基-D-苯基甘氨酸;5,5,5-三氟-亮氨酸;6-氨基己酸;环戊基-D-Gly-OH·二环己基铵盐;环戊基-Gly-OH·二环己基铵盐;D-α,β-二氨基丙酸;D-α-氨基丁酸;D-α-叔丁基甘氨酸;D-(2-噻吩基)甘氨酸;D-(3-噻吩基)甘氨酸;D-2-氨基己酸;D-2-茚满基甘氨酸;D-烯丙基甘氨酸·二环己基铵盐;D-环己基甘氨酸;D-正缬氨酸;D-苯基甘氨酸;β-氨基丁酸;β-氨基异丁酸;(2-溴苯基)甘氨酸;(2-甲氧基苯基)甘氨酸;(2-甲苯基)甘氨酸;(2-噻唑基)甘氨酸;(2-噻吩基)甘氨酸;2-氨基-3-(二甲氨基)-丙酸;L-α,β-二氨基丙酸;L-α-氨基丁酸;L-α-叔丁基甘氨酸;L-(3-噻吩基)甘氨酸;L-2-氨基-3-(二甲氨基)-丙酸;L-2-氨基己酸二环己基-铵盐;L-2-茚满基甘氨酸;L-烯丙基甘氨酸·二环己基铵盐;L-环己基甘氨酸;L-苯基甘氨酸;L-炔丙基甘氨酸;L-正缬氨酸;N-α-氨基甲基-L-丙氨酸;D-α,γ-二氨基丁酸;L-α,γ-二氨基丁酸;β-环丙基-L-丙氨酸;(N-β-(2,4-二硝基苯基))-L-α,β-二氨基丙酸;(N-β-1-(4,4-二甲基-2,6-二氧代亚环己-1-基)乙基)-D-α,β-二氨基丙酸;(N-β-1-(4,4-二甲基-2,6-二氧环己-1-亚基)乙基)-L-α,β-二氨基丙酸;(N-β-4-甲基三苯甲基)-L-α,β-二氨基丙酸;(N-β-烯丙氧羰基)-L-α,β-二氨基丙酸;(N-γ-1-(4,4-二甲基-2,6-二氧代环己-1-亚基)乙基)-D-α,γ-二氨基丁酸;(N-γ-1-(4,4-二甲基-2,6-二氧代环己-1-亚基)乙基)-L-α,γ-二氨基丁酸;(N-γ-4-甲基三苯甲基)-D-α,γ-二氨基丁酸;(N-γ-4-甲基三苯甲基)-L-α,γ-二氨基丁酸;(N-γ-烯丙氧羰基)-L-α,γ-二氨基丁酸;D-α,γ-二氨基丁酸;4,5-脱氢-L-亮氨酸;环戊基-D-Gly-OH;环戊基-Gly-OH;D-烯丙基甘氨酸;D-环己基高丙氨酸;L-1-茋基丙氨酸;L-2-氨基己酸;L-烯丙基甘氨酸;L-环己基高丙氨酸;和N-(2-羟基-4-甲氧基-Bzl)-Gly-OH。

[0057] 氨基酸类似物包括精氨酸或赖氨酸的类似物。精氨酸和赖氨酸的氨基酸类似物的实例包括但不限于以下:瓜氨酸;L-2-氨基-3-胍基丙酸;L-2-氨基-3-脲基丙酸;L-瓜氨酸;$Lys(Me)_2$-OH;$Lys(N_3)$-OH;Nδ-苄氧羰基-L-鸟氨酸;Nω-硝基-D-精氨酸;Nω-硝基-L-精氨酸;α-甲基-鸟氨酸;2,6-二氨基庚二酸;L-鸟氨酸;(Nδ-1-(4,4-二甲基-2,6-二氧代-环己-1-亚基)乙基)-D-鸟氨酸;(Nδ-1-(4,4-二甲基-2,6-二氧-环己-1-亚基)乙基)-L-鸟氨酸;(Nδ-4-甲基三苯甲基)-D-鸟氨酸;(Nδ-4-甲基三苯甲基)-L-鸟氨酸;D-鸟氨酸;L-鸟氨酸;Arg(Me)(Pbf)-OH;$Arg(Me)_2$-OH(不对称的);$Arg(Me)_2$-OH(对称的);Lys(ivDde)-OH;$Lys(Me)_2$-OH·HCl;$Lys(Me)_3$-OH氯化物;Nω-硝基-D-精氨酸;和Nω-硝基-L-精氨酸。

[0058] 氨基酸类似物包括天冬氨酸或谷氨酸的类似物。天冬氨酸和谷氨酸的氨基酸类似物的实例包括但不限于以下:α-甲基-D-天冬氨酸;α-甲基-谷氨酸;α-甲基-L-天冬氨酸;γ-亚甲基-谷氨酸;(N-γ-乙基)-L-谷氨酰胺;[N-α-(4-氨基苯甲酰基)]-L-谷氨酸;2,6-二氨基庚二酸;L-α-氨基辛二酸;D-2-氨基己二酸;D-α-氨基辛二酸;α-氨基庚二酸;亚氨基

二乙酸;L-2-氨基己二酸;苏-β-甲基-天冬氨酸;γ-羧基-D-谷氨酸γ,γ-二-叔丁酯;γ-羧基-L-谷氨酸γ,γ-二-叔丁酯;Glu(OAll)-OH;L-Asu(OtBu)-OH;和焦谷氨酸。

[0059] 氨基酸类似物包括半胱氨酸和甲硫氨酸的类似物。半胱氨酸和甲硫氨酸的氨基酸类似物的实例包括但不限于Cys(法呢基)-OH、Cys(法呢基)-OMe、α-甲基-甲硫氨酸、Cys(2-羟乙基)-OH、Cys(3-氨丙基)-OH、2-氨基-4-(乙硫基)丁酸、丁硫氨酸、丁硫氨酸亚砜胺、乙硫氨酸、甲硫氨酸甲基锍氯化物、硒代甲硫氨酸、磺丙氨酸、[2-(4-吡啶基)乙基]-DL-青霉胺、[2-(4-吡啶基)乙基]-L-半胱氨酸、4-甲氧苄基-D-青霉胺、4-甲氧苄基-L-青霉胺、4-甲基苄基-D-青霉胺、4-甲基苄基-L-青霉胺、苄基-D-半胱氨酸、苄基-L-半胱氨酸、苄基-DL-高半胱氨酸、氨甲酰基-L-半胱氨酸、羧乙基-L-半胱氨酸、羧甲基-L-半胱氨酸、二苯基甲基-L-半胱氨酸、乙基-L-半胱氨酸、甲基-L-半胱氨酸、叔丁基-D-半胱氨酸、三苯甲基-L-高半胱氨酸、三苯甲基-D-青霉胺、胱硫醚、高胱氨酸、L-高胱氨酸、(2-氨基乙基)-L-半胱氨酸、硒代-L-胱氨酸、胱硫醚、Cys(StBu)-OH和乙酰氨甲基-D-青霉胺。

[0060] 氨基酸类似物包括苯丙氨酸和酪氨酸的类似物。苯丙氨酸和酪氨酸的氨基酸类似物的实例包括β-甲基-苯丙氨酸、β-羟基苯丙氨酸、α-甲基-3-甲氧基-DL-苯丙氨酸、α-甲基-D-苯丙氨酸、α-甲基-L-苯丙氨酸、1,2,3,4-四氢异喹啉-3-甲酸、2,4-二氯-苯丙氨酸、2-(三氟甲基)-D-苯丙氨酸、2-(三氟甲基)-L-苯丙氨酸、2-溴-D-苯丙氨酸、2-溴-L-苯丙氨酸、2-氯-D-苯丙氨酸、2-氯-L-苯丙氨酸、2-氰基-D-苯丙氨酸、2-氰基-L-苯丙氨酸、2-氟-D-苯丙氨酸、2-氟-L-苯丙氨酸、2-甲基-D-苯丙氨酸、2-甲基-L-苯丙氨酸、2-硝基-D-苯丙氨酸、2-硝基-L-苯丙氨酸、2,4,5-三羟基-苯丙氨酸、3,4,5-三氟-D-苯丙氨酸、3,4,5-三氟-L-苯丙氨酸、3,4-二氯-D-苯丙氨酸、3,4-二氯-L-苯丙氨酸、3,4-二氟-D-苯丙氨酸、3,4-二氟-L-苯丙氨酸、3,4-二羟基-L-苯丙氨酸、3,4-二甲氧基-L-苯丙氨酸、3,5,3'-三碘-L-甲状腺原氨酸、3,5-二碘-D-酪氨酸、3,5-二碘-L-酪氨酸、3,5-二碘-L-甲状腺原氨酸、3-(三氟甲基)-D-苯丙氨酸、3-(三氟甲基)-L-苯丙氨酸、3-氨基-L-酪氨酸、3-溴-D-苯丙氨酸、3-溴-L-苯丙氨酸、3-氯-D-苯丙氨酸、3-氯-L-苯丙氨酸、3-氯-L-酪氨酸、3-氰基-D-苯丙氨酸、3-氰基-L-苯丙氨酸、3-氟-D-苯丙氨酸、3-氟-L-苯丙氨酸、3-氟-酪氨酸、3-碘-D-苯丙氨酸、3-碘-L-苯丙氨酸、3-碘-L-酪氨酸、3-甲氧基-L-酪氨酸、3-甲基-D-苯丙氨酸、3-甲基-L-苯丙氨酸、3-硝基-D-苯丙氨酸、3-硝基-L-苯丙氨酸、3-硝基-L-酪氨酸、4-(三氟甲基)-D-苯丙氨酸、4-(三氟甲基)-L-苯丙氨酸、4-氨基-D-苯丙氨酸、4-氨基-L-苯丙氨酸、4-苯甲酰基-D-苯丙氨酸、4-苯甲酰基-L-苯丙氨酸、4-双(2-氯乙基)氨基-L-苯丙氨酸、4-溴-D-苯丙氨酸、4-溴-L-苯丙氨酸、4-氯-D-苯丙氨酸、4-氯-L-苯丙氨酸、4-氰基-D-苯丙氨酸、4-氰基-L-苯丙氨酸、4-氟-D-苯丙氨酸、4-氟-L-苯丙氨酸、4-碘-D-苯丙氨酸、4-碘-L-苯丙氨酸、高苯丙氨酸、甲状腺氨酸、3,3-二苯丙氨酸、甲状腺原氨酸、乙基-酪氨酸和甲基-酪氨酸。

[0061] 氨基酸类似物包括脯氨酸的类似物。脯氨酸的氨基酸类似物的实例包括但不限于3,4-脱氢-脯氨酸、4-氟-脯氨酸、顺-4-羟基-脯氨酸、噻唑烷-2-甲酸和反-4-氟-脯氨酸。

[0062] 氨基酸类似物包括丝氨酸和苏氨酸的类似物。丝氨酸和苏氨酸的氨基酸类似物的实例包括但不限于3-氨基-2-羟基-5-甲基己酸、2-氨基-3-羟基-4-甲基戊酸、2-氨基-3-乙氧丁酸、2-氨基-3-甲氧丁酸、4-氨基-3-羟基-6-甲基庚酸、2-氨基-3-苄氧丙酸、2-氨基-3-苄氧丙酸、2-氨基-3-乙氧丙酸、4-氨基-3-羟基丁酸和α-甲基丝氨酸。

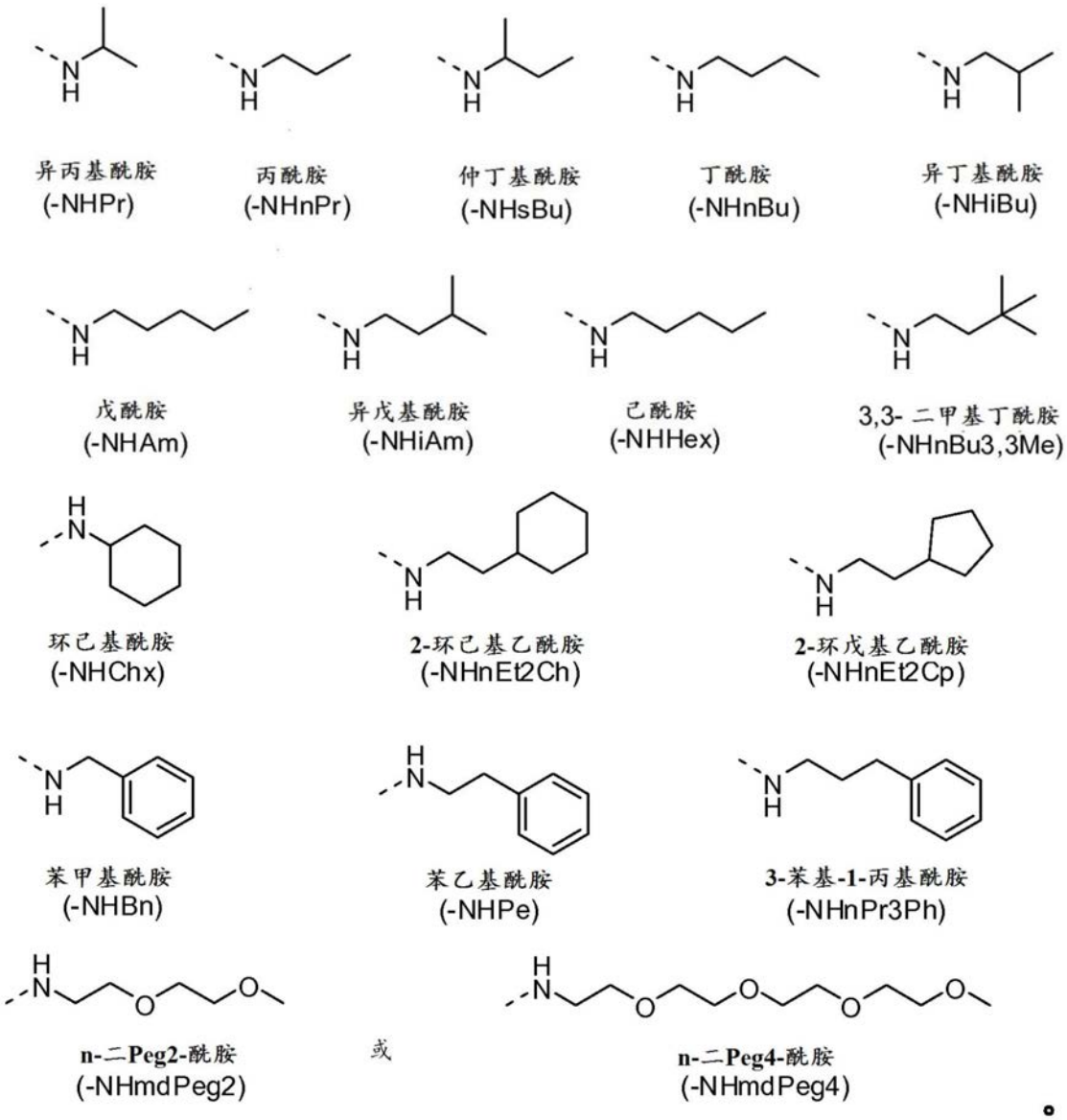
[0063] 氨基酸类似物包括色氨酸的类似物。色氨酸的氨基酸类似物的实例包括但不限于以下:α-甲基-色氨酸;β-(3-苯并噻吩基)-D-丙氨酸;β-(3-苯并噻吩基)-L-丙氨酸;1-甲基-色氨酸;4-甲基-色氨酸;5-苄氧基-色氨酸;5-溴-色氨酸;5-氯-色氨酸;5-氟-色氨酸;5-羟基-色氨酸;5-羟基-L-色氨酸;5-甲氧基-色氨酸;5-甲氧基-L-色氨酸;5-甲基-色氨酸;6-溴-色氨酸;6-氯-D-色氨酸;6-氯-色氨酸;6-氟-色氨酸;6-甲基-色氨酸;7-苄氧基-色氨酸;7-溴-色氨酸;7-甲基-色氨酸;D-1,2,3,4-四氢-去甲哈尔满-3-甲酸;6-甲氧基-1,2,3,4-四氢去甲哈尔满-1-甲酸;7-氮杂色氨酸;L-1,2,3,4-四氢-去甲哈尔满-3-甲酸;5-甲氧基-2-甲基-色氨酸;和6-氯-L-色氨酸。

[0064] 在一些实施方案中,氨基酸类似物是外消旋的。在一些实施方案中,使用氨基酸类似物的D型异构体。在一些实施方案中,使用氨基酸类似物的L型异构体。在其他实施方案中,氨基酸类似物包含为R或S构型的手性中心。在又一些其他实施方案中,β-氨基酸类似物的氨基基团被诸如叔丁氧羰基(BOC基团)、9-芴甲氧羰基(FMOC)、甲苯磺酰基等保护基团取代。在一些其他实施方案中,β-氨基酸类似物的羧酸官能团例如作为其酯衍生物被保护。在一些实施方案中,使用氨基酸类似物的盐。

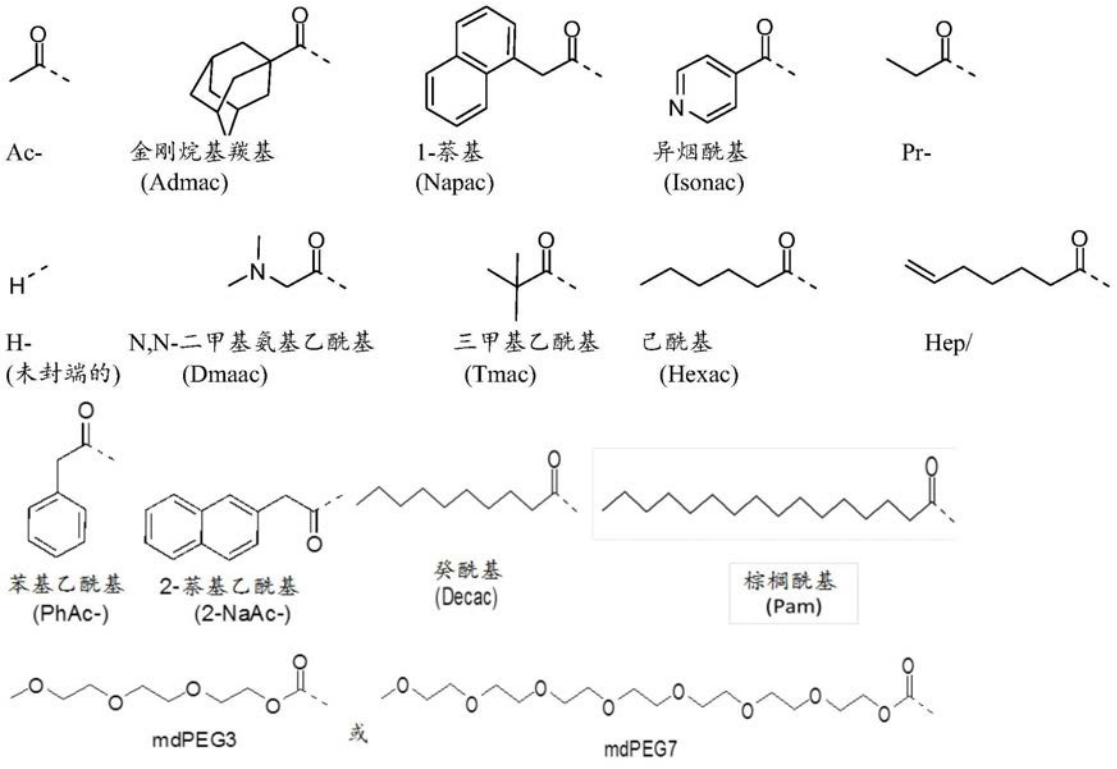
[0065] “非必需”氨基酸残基是相对于多肽的野生型序列可能发生改变而不消除或基本不消除其基本生物学或生物化学活性(例如,受体结合或激活)的残基。“必需”氨基酸残基是当相对于多肽的野生型序列发生改变时导致多肽的基本生物学或生物化学活性消除或基本消除的残基。

[0066] “保守氨基酸置换”是其中氨基酸残基被具有相似侧链的氨基酸残基所替代的氨基酸置换。本领域中已定义了具有相似侧链的氨基酸残基的家族。这些家族包括具有碱性侧链的氨基酸(例如,K、R、H)、具有酸性侧链的氨基酸(例如,D、E)、具有不带电荷的极性侧链的氨基酸(例如,G、N、Q、S、T、Y、C)、具有非极性侧链的氨基酸(例如,A、V、L、I、P、F、M、W)、具有β分支的侧链的氨基酸(例如,T、V、I)和具有芳香族侧链的氨基酸(例如,Y、F、W、H)。因此,多肽中预测的非必需氨基酸残基例如被来自同一侧链家族的另一种氨基酸残基所替代。可接受的置换的其他实例是基于电子等排考虑(例如,正亮氨酸置换甲硫氨酸)或其他性质(如2-噻吩丙氨酸置换苯丙氨酸,或6-Cl-色氨酸置换色氨酸)的置换。

[0067] 术语“封端基团”是指出现在本发明拟肽大环化合物的多肽链的羧基末端或氨基末端的化学部分。羧基末端的封端基团包括未修饰的羧酸(即-COOH)或具有取代基的羧酸。例如,羧基末端可被氨基取代,从而在C末端产生羧酰胺。各种取代基包括但不限于伯胺、仲胺和叔胺,仲胺包括聚乙二醇化的仲胺。用于C末端的代表性的仲胺封端基团包括:



[0068] 氨基末端的封端基团包括未修饰的胺(即-NH_2)或具有取代基的胺。例如,氨基末端可被酰基取代,从而在N-末端生成羧酰胺。各种取代基包括但不限于取代的酰基,包括C_1-C_6羰基、C_7-C_{30}羰基和聚乙二醇化的氨基甲酸酯。用于N-末端的代表性封端基团包括但不限于4-FBzl(4-氟-苄基)及以下:



[0069] 在本文中与大环化合物或大环形成连接体一起使用的术语“元”是指形成或可以形成大环的原子，并且不包括取代基或侧链原子。以此类推，环癸烷、1,2-二氟-癸烷和1,3-二甲基环癸烷都被认为是十元大环化合物，因为氢或氟取代基或甲基侧链都没有参与形成大环。

[0070] 当用作分子结构的一部分时，符号“”是指单键或者反式或顺式双键。

[0071] 术语“氨基酸侧链”是指连接到氨基酸中的α-碳(或另一个骨架原子)上的部分。例如，丙氨酸的氨基酸侧链是甲基，苯丙氨酸的氨基酸侧链是苯甲基，半胱氨酸的氨基酸侧链是硫甲基，天冬氨酸的氨基酸侧链是羧甲基，酪氨酸的氨基酸侧链是4-羟基苯甲基，等等。也包括其他非天然存在的氨基酸侧链，例如，自然产生的氨基酸侧链(例如，氨基酸代谢物)或合成制备的氨基酸侧链(例如，α,α-二取代的氨基酸)。

[0072] 术语“α,α-二取代的氨基酸”是指包含的氨基和羧基都结合到碳(α-碳)上而该碳(α-碳)连接到两个天然或非天然氨基酸侧链上的分子或部分。

[0073] 术语“多肽”包括通过共价键(例如，酰胺键)连接的两个或更多个天然或非天然存在的氨基酸。本文所述的多肽包括全长蛋白质(例如，完全加工的蛋白质)以及较短的氨基酸序列(例如，天然存在的蛋白质的片段或合成的多肽片段)。

[0074] 术语“第一C末端氨基酸”是指最靠近C末端的氨基酸。术语“第二C末端氨基酸”是指连接在第一C末端氨基酸的N末端处的氨基酸。

[0075] 本文所用的术语“大环化试剂”或“大环形成试剂”是指任何可以用来通过介导两个反应性基团之间的反应而制备拟肽大环化合物的试剂。该反应性基团可以是，例如，叠氮和炔，在这种情况下，大环化试剂包括但不限于Cu试剂，如提供反应性Cu(I)物质的试剂，如CuBr、CuI或CuOTf，以及通过加入诸如抗坏血酸或抗坏血酸钠的还原剂可以原位转化为活性Cu(I)试剂的Cu(II)盐，如$Cu(CO_2CH_3)_2$、$CuSO_4$和$CuCl_2$。大环化试剂另外还可以包括，例如，

本领域已知的Ru试剂，如Cp*RuCl(PPh$_3$)$_2$、[Cp*RuCl]$_4$，或其他可以提供反应性Ru(II)物质的Ru试剂。在其他情况下，反应性基团为末端烯烃。在这样的实施方案中，大环化试剂或大环形成试剂为复分解催化剂，包括但不限于稳定的后过渡金属卡宾络合物催化剂，如VIII族过渡金属卡宾催化剂。例如，这样的催化剂为具有+2氧化态、电子计数为16且五配位的Ru和Os金属中心。在其他实例中，催化剂具有W或Mo中心。在一些实施方案中，反应性基团为巯基。在一些实施方案中，大环化试剂为，例如，用两个巯基反应性基团如卤素基团官能化的连接体。

[0076] 术语“卤代”或“卤素”是指氟、氯、溴或碘或其基团。

[0077] 术语“烷基”是指含有指定数目的碳原子的直链或支链烃链。例如，C_1-C_{10}表示该基团中具有1-10(含端值)个碳原子。在没有指定任何数值时，“烷基”是其中具有1-20(含端值)个碳原子的链(直链或支链)。

[0078] 术语“亚烷基”是指二价烷基(即，-R-)。

[0079] 术语“烯基”是指具有一个或多个碳-碳双键的直链或支链烃链。烯基部分含有指定数目的碳原子。例如，C_2-C_{10}表示该基团具有2-10(含端值)个碳原子。术语“低级烯基”是指C_2-C_6烯基链。在没有指定任何数值时，“烯基”是具有2-20(含端值)个碳原子的链(直链或支链)。

[0080] 术语“炔基”是指具有一个或多个碳-碳叁键的直链或支链烃链。炔基部分含有指定数目的碳原子。例如，C_2-C_{10}表示该基团具有2-10(含端值)个碳原子。术语“低级炔基”是指C_2-C_6炔基链。在没有指定任何数值时，“炔基”是具有2-20(含端值)个碳原子的链(直链或支链)。

[0081] 术语“芳基”是指6碳单环或10碳双环的芳香环系，其中各环的0、1、2、3或4个原子被取代基取代。芳基的实例包括苯基、萘基等。术语“芳基烷氧基”是指被芳基取代的烷氧基。

[0082] “烷基芳基(arylalkyl)”是指其中芳基的氢原子中的一个被如上定义的C_1-C_5烷基取代的如上定义的芳基。烷基芳基的代表性实例包括但不限于：2-甲基苯基、3-甲基苯基、4-甲基苯基、2-乙基苯基、3-乙基苯基、4-乙基苯基、2-丙基苯基、3-丙基苯基、4-丙基苯基、2-丁基苯基、3-丁基苯基、4-丁基苯基、2-戊基苯基、3-戊基苯基、4-戊基苯基、2-异丙基苯基、3-异丙基苯基、4-异丙基苯基、2-异丁基苯基、3-异丁基苯基、4-异丁基苯基、2-仲丁基苯基、3-仲丁基苯基、4-仲丁基苯基、2-叔丁基苯基、3-叔丁基苯基和4-叔丁基苯基。

[0083] “酰胺基芳基(arylamido)”是指其中芳基的氢原子中的一个被一个或多个-C(O)NH_2基团取代的如上定义的芳基。酰胺基芳基的代表性实例包括：2-C(O)NH_2-苯基、3-C(O)NH_2-苯基、4-C(O)NH_2-苯基、2-C(O)NH_2-吡啶基、3-C(O)NH_2-吡啶基和4-C(O)NH_2-吡啶基。

[0084] “杂环基烷基(alkylheterocycle)”是指其中C_1-C_5烷基的氢原子中的一个被杂环取代的如上定义的C_1-C_5烷基。杂环基烷基的代表性实例包括但不限于：-CH_2CH_2-吗啉、-CH_2CH_2-哌啶、-$CH_2CH_2CH_2$-吗啉和-$CH_2CH_2CH_2$-咪唑。

[0085] “酰胺基烷基(alkylamido)”是指其中C_1-C_5烷基的氢原子中的一个被-C(O)NH_2基团取代的如上定义的C_1-C_5烷基。酰胺基烷基的代表性实例包括但不限于：-CH_2-C(O)NH_2、-CH_2CH_2-C(O)NH_2、-$CH_2CH_2CH_2$C(O)NH_2、-$CH_2CH_2CH_2CH_2$C(O)NH_2、-$CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2$C(O)NH_2、-CH_2CH(C(O)NH_2)CH_3、-CH_2CH(C(O)NH_2)CH_2CH_3、-CH(C(O)NH_2)CH_2CH_3、-C(CH_3)$_2CH_2$C(O)NH_2、-

CH_2-CH_2-NH-C(O)-CH_3、-CH_2-CH_2-NH-C(O)-CH_3-CH_3和-CH_2-CH_2-NH-C(O)-CH=CH_2。

[0086] “羟烷基(alkanol)”是指其中C_1-C_5烷基的氢原子中的一个被羟基取代的如上定义的C_1-C_5烷基。羟烷基的代表性实例包括但不限于：-CH_2OH、-CH_2CH_2OH、-$CH_2CH_2CH_2OH$、-$CH_2CH_2CH_2CH_2OH$、-$CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2OH$、-$CH_2CH(OH)CH_3$、-$CH_2CH(OH)CH_2CH_3$、-$CH(OH)CH_3$和-$C(CH_3)_2CH_2OH$。

[0087] “羧基烷基(alkylcarboxy)”是指其中C_1-C_5烷基的氢原子中的一个被-COOH基团取代的如上定义的C_1-C_5烷基。羧基烷基的代表性实例包括但不限于：-CH_2COOH、-CH_2CH_2COOH、-$CH_2CH_2CH_2COOH$、-$CH_2CH_2CH_2CH_2COOH$、-$CH_2CH(COOH)CH_3$、-$CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2COOH$、-$CH_2CH(COOH)CH_2CH_3$、-$CH(COOH)CH_2CH_3$和-$C(CH_3)_2CH_2COOH$。

[0088] 本文使用的术语“环烷基”包括具有3-12个碳、优选3-8个碳、更优选3-6个碳的饱和的和部分不饱和的环烃基团，其中环烷基另外任选地被取代。一些环烷基包括但不限于：环丙基、环丁基、环戊基、环戊烯基、环己基、环己烯基、环庚基和环辛基。

[0089] 术语“杂芳基”是指芳香族的5-8元单环、8-12元双环或11-14元三环的环系，其如果是单环则具有1-3个杂原子，如果是双环则具有1-6个杂原子，或者如果是三环则具有1-9个杂原子，所述杂原子选自O、N或S(例如，如果是单环、双环或三环，分别为碳原子和1-3、1-6或1-9个O、N或S杂原子)，其中各个环的0、1、2、3或4个原子被取代基取代。杂芳基的实例包括吡啶基、呋喃基(furyl或furanyl)、咪唑基、苯并咪唑基、嘧啶基、噻吩基(thiophenyl或thienyl)、喹啉基(quinolinyl)、吲哚基、噻唑基等。

[0090] 术语“杂芳基烷基”或术语“杂芳烷基”是指被杂芳基取代的烷基。术语“杂芳基烷氧基”是指被杂芳基取代的烷氧基。

[0091] 术语“杂环基”是指非芳香族的5-8元单环、8-12元双环或11-14元三环的环系，其如果是单环则具有1-3个杂原子，如果是双环则具有1-6个杂原子，或者如果是三环则具有1-9个杂原子，所述杂原子选自O、N或S(例如，如果是单环、双环或三环，分别为碳原子和1-3、1-6或1-9个O、N或S杂原子)，其中各个环的0、1、2或3个原子被取代基取代。杂环基的实例包括哌嗪基、吡咯烷基、二氧杂环己基、吗啉基、四氢呋喃基等。

[0092] 术语“取代基”是指取代任何分子、化合物或部分上的第二原子或基团如氢原子的基团。合适的取代基包括但不限于卤素、羟基、巯基、氧代、硝基、卤代烷基、烷基、烷芳基、芳基、芳烷基、烷氧基、硫代烷氧基、芳氧基、氨基、烷氧羰基、酰胺基、羧基、链烷磺酰基、烷基羰基和氰基。

[0093] 在一些实施方案中，本文公开的化合物包含一个或多个不对称中心，因而作为外消旋体或外消旋混合物、单一对映异构体、单独的非对映异构体和非对映体混合物存在。除非另外明确地指出，包括这些化合物的所有这样的异构体形式。在一些实施方案中，本文公开的化合物也呈现为多种互变异构形式，在这些情况下，所述化合物包括本文所述化合物的所有互变异构形式(例如，如果环系的烷基化作用导致在多个位置发生烷基化，那么本公开包括所有这些反应产物)。除非另外明确地指出，包括这些化合物的所有这些异构体形式。除非另外明确地指出，包括本文所述化合物的所有晶形。

[0094] 如本文所用的，术语“增加”和“减少”分别意味着导致至少5％的统计学显著的(即，$p<0.1$)增加或减少。

[0095] 如本文所用的，提及变量的数值范围旨在表示变量等于该范围内的任意值。因此，

对于本身不连续的变量，该变量等于该数值范围内的任意整数值，包括该范围的端点。类似地，对于本身连续的变量，该变量等于该数值范围内的任意实值，包括该范围的端点。作为实例，而不是限制，如果变量本身是不连续的，描述为具有0-2之间的值的变量取0、1或2的值；而如果变量本身是连续的，则取0.0、0.1、0.01、0.001的值或≥0且≤2的其他任何实值。

[0096] 如本文所用的，除非另外特别指出，单词“或”以“和/或”的包含性含义使用，而非“任一/或”的排它性的含义。

[0097] 术语“平均”表示对于每个数据点通过进行至少3次独立的重复而获得的平均值。

[0098] 术语“生物活性”包括大环化合物的结构和功能性质。生物活性是，例如，结构稳定性、α-螺旋性、对靶标的亲和性、对蛋白水解降解的抗性、细胞透性、细胞内稳定性、体内稳定性或其任意组合。

[0099] 术语“结合亲和力”是指结合相互作用的强度，例如拟肽大环化合物与靶标之间的结合相互作用的强度。结合亲和力可以表示为，例如，平衡解离常数（“K_D”），其表示单位为浓度的量度(例如M、mM、μM、nM等)。在数字上，结合亲和力和K_D值相反地变化，从而使得较低的结合亲和力对应于较高的K_D值，而较高的结合亲和力对应于较低的K_D值。在需要高结合亲和力的情况下，“改善的”结合亲和力是指较高的结合亲和力，因此指较低的K_D值。

[0100] 如本文所用的，术语“治疗”被定义为向患者应用或施用治疗剂，或者向从患者分离的组织或细胞系应用或施用治疗剂，所述患者患有疾病、疾病症状或具有患病倾向，其目的是治愈、恢复、减轻、解除、改变、矫正、缓解、改善或影响疾病、疾病症状或患病倾向。

[0101] 本文使用的术语“联合疗法”或“联合治疗”或“组合”表示用至少两种不同的治疗剂进行的任意形式的同时或平行治疗。

[0102] 术语“体外效力”是指测试化合物如拟肽大环化合物在体外测试系统或试验中产生有益结果的程度。例如，体外效力可以测量为“IC_{50}”或“EC_{50}”值，其表示测试化合物在测试系统中产生50％的最大效应的浓度。

[0103] 术语“体外效力之比”或“体外效力比”是指来自第一试验(分子)与来自第二试验(分母)的IC_{50}或EC_{50}值的比值。因此，针对试验1相比于试验2的改善的体外效力比是指较低的表示为IC_{50}(试验1)/IC_{50}(试验2)或EC_{50}(试验1)/EC_{50}(试验2)的比值。此概念也可表征为在试验1中相比于在试验2中的“改善的选择性”，这可能是由于针对靶标1的IC_{50}或EC_{50}值的降低，也可能是由于针对靶标2的IC_{50}或EC_{50}值的升高。

[0104] 如本申请中所用的，“生物样品”是指来源于正常或患病受试者的身体的任何流体或其他物质，如血液、骨髓、血清、血浆、淋巴、尿、唾液、泪液、脑脊液、乳汁、羊水、胆汁、腹水、脓等。术语“生物样品”的含义内还包括器官或组织提取物，以及其中已经培养有来自受试者的任何细胞或组织制品的培养液。生物样品可以是可从中获得遗传物质的任何样品。生物样品还可包括固体或液体癌细胞样品或样本。癌细胞样品可以是癌细胞组织样品。在一些实施方案中，癌细胞组织样品可从手术切除的组织获得。生物样品的来源的非限制性实例包括细针抽吸、芯针活检、真空辅助的活检、切开活检、切除活检、钻取活检、刮取活检或皮肤活检。在一些情况下，生物样品包括细针抽吸样品。在一些实施方案中，生物样品包括组织样品，包括例如切除活检、切开活检或其他活检。生物样品可包括两种或更多种来源的混合物；例如，细针抽吸物和组织样品。组织样品和细胞样品还可在不进行侵入式手术的情况下通过例如用细针刺取胸壁或腹壁或乳房、甲状腺或其他部位的肿块，并取出细胞物

质(细针抽吸活检)而获得。在一些实施方案中,生物样品为骨髓抽吸物样品。生物样品可以通过本领域已知的方法获得,如本文提供的活检方法、擦拭、刮擦、静脉切开术或任何其他合适的方法。

[0105] 如本文所用的,术语“实体瘤”或“实体癌”是指通常不含有囊肿或液体区域的肿瘤。如本文所用的实体瘤包括肉瘤、癌和淋巴瘤。在多个实施方案中,白血病(血液癌症)不是实体瘤。

[0106] 如本文所用的术语“液体癌”是指存在于体液如血液、淋巴和骨髓中的癌细胞。液体癌包括白血病、骨髓瘤和液体淋巴瘤。液体淋巴瘤包括含有囊肿或液体区域的淋巴瘤。如本文所用的液体癌不包括实体瘤,例如不含有囊肿或液体区域的肉瘤和癌或实体淋巴瘤。

癌症的治疗

[0107] 本文所述的方法可用来治疗癌症。可以用本公开的方法治疗的癌症的类型包括但不限于实体瘤癌症和液体癌症。在一些实施方案中,本文描述的治疗癌症的方法包括联合施用拟肽大环化合物与第二药学活性剂。

[0108] 可通过本文提供的方法治疗的实体瘤癌症包括但不限于肉瘤、癌和淋巴瘤。在特定实施方案中,可根据所述方法治疗的实体瘤包括但不限于乳房、肝、神经母细胞瘤、头、颈、眼、口腔、咽喉、食道、食管、胸部、骨、肺、肾、结肠、直肠或其他胃肠道器官、胃、脾、骨骼肌、皮下组织、前列腺、乳腺、卵巢、睾丸或其他生殖器官、皮肤、甲状腺、血液、淋巴结、肾、肝、胰腺以及脑或中枢神经系统的癌症。可用本方法治疗的实体瘤包括除淋巴癌以外的肿瘤和/或转移(无论位于何处),例如脑和其他中枢神经系统肿瘤(包括但不限于脑膜、脑、脊髓、颅神经和中枢神经系统其他部分的肿瘤,例如胶质母细胞瘤或髓母细胞瘤);头和/或颈癌;乳腺肿瘤;循环系统肿瘤(包括但不限于心脏、纵隔和胸膜以及其他胸腔内器官、血管肿瘤和肿瘤相关血管组织);排泄系统肿瘤(包括但不限于肾、肾盂、输尿管、膀胱、其他和未指定的泌尿器官的肿瘤);胃肠道肿瘤(包括但不限于食管、胃、小肠、结肠、结直肠、直肠乙状结肠连接部、直肠、肛门和肛管的肿瘤,累及肝和肝内胆管、胆囊、其他和未指定的胆道部分、胰腺、其他器官和消化器官的肿瘤);口腔肿瘤(包括但不限于唇、舌、牙龈、口底、腭和口腔其他部分、腮腺和唾液腺其他部分、扁桃体、口咽、鼻咽、梨状隐窝、下咽以及唇、口腔和咽的其他部位的肿瘤);生殖系统肿瘤(包括但不限于外阴、阴道、子宫颈、子宫体、子宫、卵巢和与女性生殖器官有关的其他部位、胎盘、阴茎、前列腺、睾丸和与男性生殖器官有关的其他部位的肿瘤);呼吸道肿瘤(包括但不限于鼻腔和中耳、副鼻窦、喉、气管、支气管和肺的肿瘤,例如小细胞肺癌或非小细胞肺癌);骨骼系统肿瘤(包括但不限于骨和四肢关节软骨、骨关节软骨及其他部位的肿瘤);皮肤肿瘤(包括但不限于皮肤的恶性黑素瘤、非黑素瘤皮肤癌、皮肤的基底细胞癌、皮肤的鳞状细胞癌、间皮瘤、卡波西肉瘤);以及累及包括周围神经和自主神经系统、结缔组织和软组织、腹膜后腔和腹膜、眼睛和附件、甲状腺、肾上腺和其他内分泌腺及相关结构在内的其他组织的肿瘤,继发性和未指明的淋巴结恶性肿瘤、呼吸系统和消化系统的继发性恶性肿瘤以及其他部位的继发性恶性肿瘤。

[0109] 在一些实例中,通过本发明方法治疗的实体瘤是胰腺癌、膀胱癌、结肠癌、肝癌、结直肠癌(结肠癌或直肠癌)、乳腺癌、前列腺癌、肾癌、肝细胞癌、肺癌、卵巢癌、宫颈癌、胃癌、食道癌、头颈癌、黑素瘤、神经内分泌癌、CNS癌、脑肿瘤、骨癌、皮肤癌、眼肿瘤、绒膜癌(胎盘的肿瘤)、肉瘤或软组织癌。

[0110] 在一些实例中，通过本发明方法治疗的实体瘤选自膀胱癌、骨癌、乳腺癌、宫颈癌、CNS癌、结肠癌、眼肿瘤、肾癌、肝癌、肺癌、胰腺癌、绒膜癌(胎盘的肿瘤)、前列腺癌、肉瘤、皮肤癌、软组织癌或胃癌。

[0111] 在一些实例中，通过本发明的方法治疗的实体瘤是乳腺癌。可以通过本发明方法治疗的乳腺癌的非限制性实例包括原位导管癌(DCIS或导管内癌)、原位小叶癌(LCIS)、侵袭性(或浸润性)导管癌、侵袭性(或浸润性)小叶癌、炎性乳腺癌、三阴性乳腺癌、乳头的佩吉特病、叶状瘤(叶状肿瘤或叶状囊性肉瘤)、血管肉瘤、腺样囊性(或囊性腺样)癌、低度腺鳞癌、髓样癌、乳头状癌、小管癌、化生性癌、微乳头状癌和混合癌。

[0112] 在一些实例中，通过本发明方法治疗的实体瘤是骨癌。可以通过本发明方法治疗的骨癌的非限制性实例包括骨肉瘤、软骨肉瘤、尤因肉瘤家族肿瘤(ESFT)。

[0113] 在一些实例中，通过本发明方法治疗的实体瘤是皮肤癌。可以通过本发明方法治疗的皮肤癌的非限制性实例包括黑素瘤、基底细胞皮肤癌和鳞状细胞皮肤癌。

[0114] 在一些实例中，通过本发明方法治疗的实体瘤是眼肿瘤。可以通过本发明方法治疗的眼肿瘤的非限制性实例包括以下眼肿瘤：脉络膜痣、脉络膜黑素瘤、脉络膜转移、脉络膜血管瘤、脉络膜骨瘤、虹膜黑素瘤、葡萄膜黑素瘤、眼内淋巴瘤、黑素细胞瘤、转移性视网膜毛细血管瘤、RPE先天性肥大、RPE腺瘤或视网膜母细胞瘤。

[0115] 可通过本文提供的方法治疗的液体癌包括但不限于白血病、骨髓瘤和液体淋巴瘤。在特定的实施方案中，可根据本文描述的方法治疗的液体癌包括但不限于液体淋巴瘤、白血病和骨髓瘤。可根据本文描述的方法治疗的液体淋巴瘤和白血病的非限制性实例包括慢性淋巴细胞性白血病/小淋巴细胞性淋巴瘤、B细胞幼淋巴细胞性白血病、淋巴浆细胞性淋巴瘤(例如瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症)、脾边缘区淋巴瘤、浆细胞骨髓瘤、浆细胞瘤、单克隆免疫球蛋白沉积疾病、重链病、结外边缘区B细胞淋巴瘤(也称为MALT淋巴瘤)、结节边缘区B细胞淋巴瘤(nmzl)、滤泡性淋巴瘤、套细胞淋巴瘤、弥漫性大B细胞淋巴瘤、纵隔(胸腺)大B细胞淋巴瘤、血管内大B细胞淋巴瘤、原发性渗出性淋巴瘤、伯基特淋巴瘤/白血病、T细胞幼淋巴细胞性白血病、T细胞大颗粒淋巴细胞性白血病、侵袭性NK细胞白血病、成年T细胞白血病/淋巴瘤、结节外NK/T细胞淋巴瘤、鼻型、肠病型T细胞淋巴瘤、肝脾T细胞淋巴瘤、母细胞性NK细胞淋巴瘤、蕈样肉芽肿病/塞扎里综合征、原发性皮肤CD30阳性T细胞淋巴增生性病症、原发性皮肤间变性大细胞淋巴瘤、淋巴瘤样丘疹病、血管免疫母细胞性T细胞淋巴瘤、外周T细胞淋巴瘤、未指明的间变性大细胞淋巴瘤、经典霍奇金淋巴瘤(结节性硬化型、混合细胞型、富淋巴细胞型、淋巴细胞消耗或未消耗型)和以结节性淋巴细胞为主的霍奇金淋巴瘤。

[0116] 液体癌的实例包括涉及造血来源的增生性/赘生性细胞的癌症，例如由髓样、淋巴样或红细胞谱系或其前体细胞引起的癌症。病症的非限制性实例包括：急性白血病，例如成红细胞白血病和急性巨核母细胞白血病。骨髓病症的其他非限制性实例包括但不限于急性早幼粒细胞白血病(APML)、急性髓性白血病(AML)和慢性髓性白血病(CML)；淋巴样恶性肿瘤包括但不限于急性淋巴母细胞性白血病(ALL)，其包括B-谱系ALL和T-谱系ALL、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、幼淋巴细胞性白血病(PLL)、多发性骨髓瘤、多毛细胞白血病(HLL)和瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症(WM)。其他形式的恶性液体淋巴瘤包括但不限于非霍奇金淋巴瘤及其变型、成年T细胞白血病/淋巴瘤(ATL)、皮肤T细胞淋巴瘤(CTCL)、外周T细胞淋巴瘤

(PTCL)、巨粒淋巴细胞白血病(LGF)、霍奇金病和里德-斯特恩伯格病(Reed-Sternberg disease)。例如,液体癌包括但不限于急性淋巴细胞性白血病(ALL);T-细胞急性淋巴细胞性白血病(T-ALL);间变性大细胞淋巴瘤(ALCL);慢性髓细胞性白血病(CML);急性髓样白血病(AML);慢性淋巴细胞性白血病(CLL);B细胞慢性淋巴细胞性白血病(B-CLL);弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL);嗜酸粒细胞过多/慢性嗜酸粒细胞增多;和伯基特淋巴瘤。

[0117] 在一些实施方案中,所述癌症包括急性淋巴母细胞性白血病;急性髓样白血病;AIDS相关癌症;AIDS相关淋巴瘤;慢性淋巴细胞性白血病;慢性髓性白血病;慢性骨髓增生性病症;成年T细胞白血病/淋巴瘤(ATL);皮肤T细胞淋巴瘤(CTCL);外周T细胞淋巴瘤(PTCL);霍奇金淋巴瘤;多发性骨髓瘤;多发性骨髓瘤/浆细胞肿瘤;非霍奇金淋巴瘤;或原发性中枢神经系统(CNS)淋巴瘤。在一些实施方案中,所述液体癌可以是B细胞慢性淋巴细胞性白血病、B细胞淋巴瘤-DLBCL、生发中心样B细胞淋巴瘤-DLBCL、活化B细胞样B细胞淋巴瘤-DLBCL或伯基特淋巴瘤。

[0118] 在一些实施方案中,根据本文提供的方法治疗的受试者是被诊断为或已经被诊断为患有具有p53灭活突变和/或缺乏活性p53的癌症的人。在一些实施方案中,根据本文提供的方法治疗癌症的受试者是倾向于或易患具有p53灭活突变和/或缺乏活性p53的癌症的人。在一些实施方案中,根据本文提供的方法治疗癌症的受试者是处于发生具有p53灭活突变和/或缺乏活性p53的癌症的危险中的人。在一些实例中,p53灭活突变可以是p53蛋白质的DNA结合域中的突变。在一些实例中,p53灭活突变可以是错义突变。在多个实例中,该癌症可以被确定为具有一种或多种p53灭活突变,该突变选自残基R175、G245、R248、R249、R273和R282中的一个或多个处的突变。癌症中p53灭活突变的存在和/或野生型的缺乏可以通过本领域已知的适当方法来确定,例如通过测序、基于阵列的测试、RNA分析和诸如PCR等扩增方法。

[0119] 在某些实施方案,所述人类受试者对于一种或多种其他癌症治疗是难治性的和/或无法忍受的。在一些实施方案中,所述人类受试者曾经经历至少一种未成功的既往癌症治疗和/或疗法。

[0120] 在一些实施方案中,根据本文提供的方法治疗癌症的受试者是被诊断为或已经被诊断为患有癌症的人。在其他实施方案中,根据本文提供的方法治疗癌症的受试者是倾向于或易患癌症的人。在一些实施方案中,根据本文提供的方法治疗癌症的受试者是处于发生癌症的危险中的人。

[0121] 在一些实施方案中,根据本文提供的方法治疗癌症的受试者是被诊断为或已经被诊断为患有癌症的人,该癌症被确定为具有p53灭活突变和/或缺乏野生型p53。在一些实施方案中,根据本文提供的方法治疗癌症的受试者是倾向于或易患癌症的人,该肿瘤被确定为具有p53灭活突变和/或缺乏野生型p53。在一些实施方案中,根据本文提供的方法治疗癌症的受试者是处于发生肿瘤的危险中的人,该肿瘤被确定为具有p53灭活突变和/或表达野生型p53。在一些实施方案中,p53灭活突变可导致p53的体外凋亡活性丧失(或降低)。p53灭活突变的非限制性实例在下表中示出:

以下位置处的突变	氨基酸改变
62	E62_W91del
122	V122X
135	C135S
143	V143A
144	Q144P
146	W146X
157	V157F
158	R158H
163	Y163N
168	H168Y
173	V173L
175	R175H
175	R175P

175	R175Q
175	R175S
219	P219H
234	Y234C
234	Y234H
237	M237I
240	S240R
245	G245C
245	G245S
246	M246I
248	R248Q
248	R248W
249	R249S
272	V272M
273	R273H
274	V274F
279	G279E
280	R280K
281	D281H
282	R282W
306	R306P
308	P300_L308del
327	P300_Y327del
332	D324_I332del
337	R337C
344	L344P

上表列出了图1中所示的p53的序列。氨基酸改变被报告为:被置换的氨基酸,紧接着是被置换的氨基酸在野生型p53序列中的位置,紧接着是用于置换的氨基酸。例如,L344P表示在野生型序列的344位置处的赖氨酸(K)被脯氨酸(P)替代。

[0122] 在一些实施方案中,根据本文提供的方法治疗癌症的受试者是被诊断为或已经被诊断为具有p53阴性的肿瘤的人。在一些实施方案中,根据本文提供的方法治疗癌症的受试者是倾向于或易患p53阴性的癌症的人。在一些实施方案中,根据本文提供的方法治疗癌症的受试者是处于发生p53阴性的癌症的危险中的人。

[0123] 在一些实施方案中,根据本文提供的方法治疗癌症的受试者是被诊断为或已经被诊断为具有肿瘤的人,该肿瘤表达具有功能部分丧失突变的p53。在其他实施方案中,根据本文提供的方法治疗癌症的受试者是倾向于或易患癌症的人,该癌症表达具有功能部分丧失突变的p53。在一些实施方案中,根据本文提供的方法治疗肿瘤的受试者是处于发生癌症

的危险中的人，该癌症表达具有功能部分丧失突变的p53。在一些实施方案中，p53功能部分丧失突变可导致该突变p53表现出一定水平的正常p53功能，但其程度更低或更缓慢。例如，p53功能部分丧失可指细胞的细胞分裂被阻滞为更低程度或更缓慢。

[0124] 在一些实施方案中，根据本文提供的方法治疗癌症的受试者是被诊断为或已经被诊断为具有肿瘤的人，该肿瘤表达具有拷贝丧失突变和灭活突变的p53。在一些实施方案中，根据本文提供的方法治疗癌症的受试者是倾向于或易患肿瘤的人，该肿瘤表达具有拷贝丧失突变和灭活突变的p53。在一些实施方案中，根据本文提供的方法治疗癌症的受试者是处于发生肿瘤的危险中的人，该肿瘤表达具有拷贝丧失突变和灭活突变的p53。

[0125] 在一些实施方案中，根据本文提供的方法治疗癌症的受试者是被诊断为或已经被诊断为患有癌症的人，该癌症表达具有拷贝丧失突变的p53。在其他实施方案中，根据本文提供的方法治疗癌症的受试者是倾向于或易患肿瘤的人，该肿瘤表达具有拷贝丧失突变的p53。在一些实施方案中，根据本文提供的方法治疗癌症的受试者是处于发生癌症的危险中的人，该癌症表达具有拷贝丧失突变的p53。

[0126] 在一些实施方案中，根据本文提供的方法治疗癌症的受试者是被诊断为或已经被诊断为具有肿瘤的人，该肿瘤被确定为具有显性p53灭活突变。如本文所用的，显性p53灭活突变或显性灭活突变是其中突变的p53抑制或破坏野生型p53基因的活性的突变。

[0127] 在一些实施方案中，根据本文提供的方法治疗癌症的受试者是具有包含功能性p53蛋白的非癌组织的人。在一些实施方案中，包含功能性p53蛋白的非癌组织是骨髓或消化道的组织(即，消化道组织)。在一些实施方案中，所述受试者是缺乏p53灭活突变和/或表达野生型p53的人。在一些实例中，p53灭活突变可以是p53蛋白的DNA结合域中的突变。在一些实施方案中，p53灭活突变可以是错义突变。在一些实施方案中，受试者的骨髓可被确定为缺乏选自在残基R175、G245、R248、R249、R273和R282中的一个或多个处的突变的一个或多个p53灭活突变。受试者的非癌组织中p53灭活突变的缺乏和/或野生型p53的存在可通过任何合适的方法，例如通过测序、基于阵列的检测、RNA分析和扩增方法如PCR来确定。

[0128] 在一些实施方案中，根据本文提供的方法治疗癌症的受试者是具有表达具有一个或多个沉默突变的p53的非癌组织(例如，骨髓或消化道组织)的人。沉默突变可以是不导致编码的p53氨基酸序列改变的突变。

[0129] 在一些实施方案中，根据本文提供的方法治疗癌症的受试者是具有被确定为缺乏显性p53灭活突变的非癌组织(例如，骨髓或消化道组织)的人。

[0130] 在一些实施方案中，根据本文提供的方法治疗癌症的受试者是具有表达具有功能部分丧失突变的p53的非癌组织(例如，骨髓或消化道组织)的人。

检测野生型p53和/或p53突变的方法

[0131] 在一些实施方案中，患有具有p53灭活突变的癌症并且其非癌组织包含功能性p53蛋白的受试者是用本文公开的方法进行癌症治疗的候选者。在用本公开的化合物治疗之前，可以测定来自受试者的癌细胞和/或非癌组织，以便确定p53灭活突变的存在与否和/或癌/非癌组织中野生型p53的表达。在一些实施方案中，该非癌组织是骨髓。在一些实施方案中，该非癌组织是消化道组织。

[0132] p53途径的活性可以通过参与p53途径的基因的突变状态来确定，这些基因包括例如AKT1、AKT2、AKT3、ALK、BRAF、CDK4、CDKN2A、DDR2、EGFR、ERBB2(HER2)、FGFR1、FGFR3、

GNA11、GNQ、GNAS、KDR、KIT、KRAS、MAP2K1(MEK1)、MET、HRAS、NOTCH1、NRAS、NTRK2、PIK3CA、NF1、PTEN、RAC1、RB1、NTRK3、STK11、PIK3R1、TSC1、TSC2、RET、TP53和VHL。还可以评估调节p53活性的基因,包括,例如,激酶:ABL1、JAK1、JAAK2、JAK3;受体酪氨酸激酶:FLT3和KIT;受体:CSF3R、IL7R、MPL和NOTCH1;转录因子:BCOR、CEBPA、CREBBP、ETV6、GATA1、GATA2、MLL、KZF1、PAX5、RUNX1、STAT3、WT1和TP53;表观遗传因子:ASXL1、DNMT3A、EZH2、KDM6A(UTX)、SUZ12、TET2、PTPN11、SF3B1、SRSF2、U2AF35和ZRSR2;RAS蛋白:HRAS、KRAS和NRAS;衔接子CBL和CBL-B;FBXW7、IDH1、IDH2和NPM1。

[0133] 例如,可以经由原发性或转移性肿瘤切除(例如,肺切除术、肺叶切除术(lobetomy)、楔形切除术和开颅术)、原发性或转移性疾病活检(例如经支气管活检或针芯活检)、胸膜或腹水(例如FFPE细胞团块)或肿瘤富集区(实体瘤)的宏观解剖,从实体瘤或液体肿瘤获得癌细胞样品。

[0134] 为了检测癌组织中的p53野生型基因和/或p53灭活突变的缺乏,可以从周围正常组织中分离癌组织。例如,可以从石蜡或冷冻切片分离组织。也可以通过流式细胞术将癌细胞与正常细胞分开。

[0135] 非癌组织样品可以获自,例如,骨髓、骨髓抽吸物、骨髓凝块、骨髓活检物、消化道组织如肠内衬、胃内衬和粘膜;肝脏、脾脏、胰腺、皮肤、肺、心脏、肾脏、胆囊、阑尾、脑、口、舌、喉、眼组织、脂肪、肌肉和淋巴结。

[0136] 分析野生型p53和/或p53突变的各种方法和试验适用于本公开的方法。试验的非限制性示例包括聚合酶链反应(PCR)、限制性片段长度多态性(RFLP)、微阵列、Southern印迹法、Northern印迹法、Western印迹法、Eastern印迹法、苏木精和曙红(H&E)染色法、肿瘤的显微评估、DNA测序、RNA测序、下一代DNA测序(NGS)(例如DNA的提取、纯化、定量和扩增,文库制备)、免疫组织化学和荧光原位杂交(FISH)。

[0137] 微阵列允许研究人员研究附接至表面的多个DNA序列,例如由玻璃或硅制成的DNA芯片,或者聚合物珠子或树脂。DNA序列与荧光或发光探针杂交。基于样品序列与探针杂交,然后洗涤并随后检测该探针,微阵列可以指示样品中存在寡核苷酸序列。荧光或发光信号的定量指示样品中存在已知的寡核苷酸序列。

[0138] 微阵列允许研究人员研究附接至表面的多个DNA序列,例如由玻璃或硅制成的DNA芯片,或者聚合物珠子或树脂。DNA序列与荧光或发光探针杂交。基于样品序列与探针杂交,然后洗涤并随后检测该探针,微阵列可以指示样品中存在寡核苷酸序列。荧光或发光信号的定量指示样品中存在已知的寡核苷酸序列。

[0139] 在一些实施方案中,试验包括从生物样品如骨髓或癌样品扩增生物分子。该生物分子可以是核酸分子,如DNA或RNA。在一些实施方案中,所述试验包含核酸分子的环化,然后消化所环化的核酸分子。

[0140] 在一些实施方案中,所述试验包括使生物体或从生物体收集的生物化学样品(如核酸样品)与寡核苷酸(如PCR引物)的文库接触。该文库可以含有任何数目的寡核苷酸分子。该寡核苷酸分子可以结合单独的DNA或RNA基序,或本文所述基序的任意组合。这些基序可以相隔任何距离,并且该距离可以是已知的或未知的。在一些实施方案中,同一文库中的两种或更多种寡核苷酸结合亲本核酸序列中相隔已知距离的基序。引物与亲本序列的结合可以基于引物与亲本序列的互补性而发生。例如,结合可以在退火或在严格条件下发生。

[0141] 在一些实施方案中，使用试验的结果来设计新的寡核苷酸序列以备将来使用。在一些实施方案中，使用试验的结果来设计新的寡核苷酸文库以备将来使用。在一些实施方案中，试验的结果用于修改、改进或更新现有的寡核苷酸文库以备将来使用。例如，试验可以揭示先前未记录的核酸序列与靶物质的存在相关联。该信息可以用来设计或重新设计核酸分子和文库。

[0142] 在一些实施方案中，文库中的一种或多种核酸分子包含条形码标签。在一些实施方案中，文库中的一种或多种核酸分子包含适于环化和切割经扩增的样品核酸序列的I型或II型限制位点。这样的引物可以用于环化PCR产物并切割PCR产物，以提供具有与样品生物体天然核酸序列不同组织化的序列的产物核酸序列。

[0143] 在PCR实验之后，可以验证扩增序列的存在。用于寻找扩增序列的方法的非限制性实例包括DNA测序、全转录物组鸟枪法测序(WTSS或RNA-seq)、质谱法(MS)、微阵列、焦磷酸测序、柱纯化分析、聚丙烯酰胺凝胶电泳和由索引标记的引物产生的PCR产物的索引标签测序。

[0144] 在一些实施方案中，扩增样品生物体中的超过一种核酸序列。在PCR产物混合物中分离不同核酸序列的方法的非限制性实例包括柱纯化、高校液相色谱法(HPLC)、HPLC/MS、聚丙烯酰胺凝胶电泳、大小排阻色谱法。

[0145] 扩增的核酸分子可以通过测序来鉴别。核酸测序可以在自动化仪器上进行。测序实验可以平行地进行，以同时分析数十、数百或数千个序列。测序技术的非限制性实例如下。

[0146] 在焦磷酸测序中，DNA在含有与油溶液中的引物包被的珠子结合的单个DNA模板的小水滴内扩增。将核苷酸添加至生长中的序列中，并且通过可见光证明每个碱基的添加。

[0147] 离子半导体测序将核酸残基的添加作为与合成期间释放的氢离子相关的电信号的形式来检测。包含模板的反应孔用四种类型的核苷酸结构单元充满，一次一种。电信号的时序鉴别添加了哪种结构单元，并鉴别模板中相应的残基。

[0148] DNA纳米球使用滚环复制将DNA扩增成纳米球。纳米球的解链连接测序揭示了DNA序列。

[0149] 在可逆染料方法中，使核酸分子与载玻片上的引物退火，并扩增。添加四种类型的荧光染料残基，其中每一种与天然核碱基互补，添加与核酸序列中的下一个碱基互补的残基，并从载玻片上漂洗未掺入的染料。添加四种类型的可逆终止子碱基(RT-碱基)，并且洗掉未掺入的核苷酸。荧光指示加入了染料残基，从而鉴别模板序列中的互补碱基。以化学方式除去染料残基，并重复该循环。

[0150] 点突变的存在或不存在的检测可以通过存在于癌细胞组织中的p53等位基因的分子克隆和对等位基因进行测序来完成。或者，可以利用聚合酶链反应直接从来自生物样品如骨髓、消化道组织、癌细胞或癌组织的基因组DNA制品中扩增p53基因序列。然后可以确定扩增的序列的DNA序列。也可以检测p53基因的特定缺失。例如，针对p53基因或周围标志物基因的限制性片段长度多态性(RFLP)探针可用来对p53等位基因的丢失进行评分。

[0151] 野生型p53基因的丢失也可以基于p53基因的野生型表达产物的丢失来检测。这样的表达产物包括mRNA以及p53蛋白质产物本身。点突变可以通过直接对mRNA进行测序或通过从mRNA制备的cDNA的分子克隆来检测。克隆的cDNA的序列可以使用DNA测序技术来确定。

cDNA也可以通过聚合酶链反应(PCR)进行测序。

[0152] 或者,可以使用错配检测来检测p53基因或mRNA产物中的点突变的存在或不存在。该方法可以包括使用与人类野生型p53基因互补的标记的核糖核酸探针。核糖核酸探针和从癌细胞组织中分离的mRNA或DNA退火(杂交)在一起,随后用能够检测双链RNA结构中的一些错配的酶RNA酶A消化。如果通过RNA酶A检测到错配,则该酶在错配位点处切割。因此,当退火的RNA制品在电泳凝胶基质上分离时,如果错配已经被检测到并且被RNA酶A切割,则可以看到比用于核糖核酸探针和p53 mRNA或DNA的全长双链RNA更小的RNA产物。核糖核酸探针不一定是p53 mRNA或基因的全长,而可以是其中任一个的区段。如果核糖核酸探针仅包含p53 mRNA的区段,则可以使用许多这样的探针来筛选整个mRNA序列的错配。

[0153] 以类似的方式,可以通过酶促或化学切割,使用DNA探针来检测错配的存在或不存在。或者,可以通过错配的双链体相对于匹配的双链体的电泳迁移率的变化来检测错配。采用核糖核酸探针或DNA探针,可在杂交前使用PCR来扩增可能含有突变的细胞mRNA或DNA。

[0154] 还可以使用等位基因特异性探针来筛选已经使用聚合酶链反应扩增的来自生物样品如骨髓、消化道组织、癌细胞或癌组织的p53基因的DNA序列。这些探针是核酸寡聚物,其中每一个都含有携带已知突变的p53基因序列的区域。例如,一个寡聚物可以是约30个核苷酸的长度,对应于p53基因序列的一部分。在编码p53基因第175个密码子的位置处,该寡聚物编码丙氨酸,而不是野生型密码子缬氨酸。通过使用一系列这样的等位基因特异性探针,可以筛选PCR扩增产物,以鉴定p53基因中先前鉴定的突变的存在。等位基因特异性探针与扩增的p53序列的杂交可以在例如尼龙滤膜上进行。与特定探针的杂交指示在生物样品中存在与在等位基因特异性探针中相同的突变。

[0155] 通过应用一系列多样化的高分辨率、高通量微阵列平台,可以促进生物样品如骨髓、消化道组织、癌细胞或癌组织中p53基因结构变化的鉴定。基本上两种类型的阵列包括携带来自克隆的核酸(例如cDNA、BAC、粘粒)的PCR产物的阵列和使用寡核苷酸的阵列。这些方法可以提供调查全基因组DNA拷贝数异常和表达水平的方法,以允许将相同样品中基因表达过高和表达过低的癌细胞中的丢失、获得和扩增相关联。提供生物样品中mRNA水平的估计的基因表达阵列已经产生了可以鉴定基因表达水平、可变剪接事件和mRNA加工改变的外显子特异性阵列。

[0156] 可以使用寡核苷酸阵列探询整个基因组中的单核苷酸多态性(SNP)以供连锁和关联研究,并且它们已经被适应于量化拷贝数异常和杂合性事件的丢失。DNA测序阵列可以允许对染色体区域、外显子组和全基因组进行重新测序。

[0157] 基于单核苷酸多态性(SNP)的阵列或其他基因阵列或芯片可以确定野生型p53等位基因的存在与否和突变的结构。SNP可以是同义或非同义置换。由于遗传密码的简并性,同义SNP置换不会导致蛋白质中氨基酸的改变,但是可以以其他方式影响功能。例如,编码膜转运蛋白的基因中看似沉默的突变可减慢翻译,从而使肽链错误折叠,并产生功能性较低的突变膜转运蛋白。非同义SNP置换可以是错义置换或无义置换。当单个碱基改变导致蛋白质的氨基酸序列改变并且其失常导致疾病时,发生错义置换。当点突变导致转录的mRNA中密码子提前终止或无义密码子时,发生无义置换,其导致截短的且通常无功能的蛋白质产物。由于SNP在整个进化过程中以及在群体内高度保守,因此SNP图谱充当用于研究的优良基因型标志物。SNP阵列skny是研究全基因组的有用工具。

[0158] 另外，基于SNP的阵列可用于研究杂合性丢失(LOH)。LOH是等位基因失衡的一种形式，其可能是由等位基因的完全丢失或一个等位基因的拷贝数相对于另一个等位基因的增加造成的。其他基于芯片的方法(例如，比较基因组杂交)只能检测基因组获得或缺失，而基于SNP的阵列具有检测由于单亲二体性(UPD)引起的拷贝数中性LOH的额外优势。在UPD中，来自一个亲本的一个等位基因或整个染色体丢失，而另一个亲本等位基因重复(单亲＝来自一个亲本，二体性＝重复)。在疾病情况下，当野生型等位基因(例如来自母本)丢失并且存在两个拷贝的杂合等位基因(例如来自父本)时，这种情况可能是病理性的。基于SNP的阵列的这种使用在癌症诊断中具有巨大的潜力，因为LOH是大多数人类癌症的突出特征。基于SNP的阵列技术显示，由于基因组缺失或UPD和基因组获得，癌症(例如胃癌、肝癌等)和血液系统恶性肿瘤(ALL、MDS、CML等)具有高LOH率。在本公开中，使用高密度基于SNP的阵列来检测LOH可允许鉴定等位基因不平衡的模式，以确定野生型p53等位基因的存在。

[0159] 野生型p53基因的突变也可以基于p53基因的野生型表达产物的突变来检测。这类表达产物包括mRNA以及p53蛋白质产物本身。点突变可以通过直接对mRNA进行测序或者通过由mRNA制成的cDNA的分子克隆来检测。克隆的cDNA的序列可以采用DNA测序技术来确定。cDNA也可以经由聚合酶链反应(PCR)来测序。可以使用一组单克隆抗体，其中参与p53功能的每个表位由一种单克隆抗体代表。该组中单克隆抗体结合的丧失或扰动可指示p53蛋白的突变改变，因而指示p53基因本身的突变改变。突变p53基因或基因产物也可以在包括例如骨髓、消化道组织、癌细胞、癌组织、血清、粪便、尿和痰在内的身体样品中检测到。以上针对检测组织中的突变p53基因或基因产物所讨论的相同技术可以应用于其他身体样品。

[0160] 野生型p53基因的丢失也可以通过筛选野生型p53蛋白功能的丧失来检测。蛋白质p53与SV40大T抗原以及腺病毒E1B抗原结合。p53蛋白与这些抗原之一或两者结合的能力的丧失表明该蛋白质中的突变改变，并反映了基因的突变改变。或者，可以使用一组单克隆抗体，其中参与p53功能的每个表位由一种单克隆抗体代表。该组中单克隆抗体结合的丧失或扰动将指示p53蛋白的突变改变，因而指示p53基因的突变改变。任何检测改变的p53蛋白的方法都可以用来检测野生型p53基因的丢失。

[0161] 癌组织或非癌组织中的野生型p53和/或p53突变可以在施用拟肽大环化合物和/或另一种药学活性剂之前、期间或之后的任何时间检测。在一些实施方案中，在施用拟肽大环化合物或其他药学活性剂之前，例如在第一次施用拟肽大环化合物或其他药学活性剂之前约5年-1个月、4年-1个月、3年-1个月、2年-1个月、1年-1个月、5年-1周、4年-1周、3年-1个月、2年-1周、1年-1周、5年-1天、4年-1天、3年-1天，2年-1天、1年-1天、15个月-1个月、15个月-1周、15个月-1天、12个月-1个月、12个月-1周、12个月-1天、6个月-1个月、6个月-1周、6个月-1天、3个月-1个月、3个月-1周或3个月-1天进行检测。在一些实例中，野生型p53和/或p53突变在向受试者第一次施用拟肽大环化合物或其他药学活性剂之前至多6年、至多5年、至多4年、至多3年、至多24个月、至多23个月、至多22个月、至多21个月、至多20个月、至多19个月、至多18个月、至多17个月、至多16个月、至多15个月、至多14个月、至多13个月、至多12个月、至多11个月、至多10个月、至多9个月、至多8个月、至多7个月、至多6个月、至多5个月、至多4个月、至多3个月、至多2个月、至多1个月、至多4周(28天)、至多3周(21天)、至多2周(14天)、至多1周(7天)、至多6天、至多5天、至多4天、至多3天、至多2天或至多1天进行检测。

骨髓保护剂

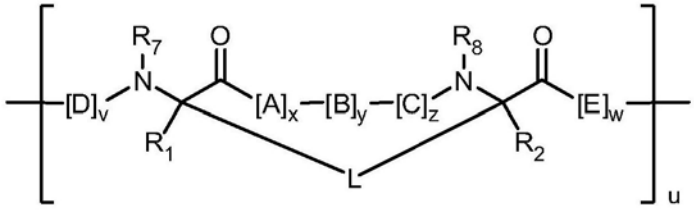
[0162] 本文公开的方法可包括联合施用拟肽大环化合物与第二药学活性剂。在一些情况下，拟肽大环化合物可充当骨髓保护剂。骨髓保护剂可以预防、减轻骨髓抑制性副作用或降低其可能性。骨髓抑制性副作用可能是由于药学活性剂对骨髓细胞的细胞毒性作用。骨髓抑制性副作用的非限制性实例包括贫血、白细胞减少、嗜中性粒细胞减少症、血小板减少症和全血细胞减少症。在一些情况下，经历细胞周期停滞的细胞对药学活性剂的细胞毒性作用具有抗性。例如，可以通过激活p53来诱导细胞周期停滞。在一些实施方案中，本文公开的治疗癌症的方法包括通过p53激活来诱导骨髓中的细胞周期停滞，以减轻药学活性剂的骨髓抑制性副作用。例如，通过经由施用本文公开的拟肽大环化合物来抑制MDM2和/或MDMX蛋白，可以诱导p53激活。在一些实施方案中，拟肽大环化合物与MDM2和/或MDMX蛋白结合。在一些实施方案中，拟肽大环化合物以低于在组织如骨髓中诱导凋亡所需的剂量的剂量来施用。

预防药物诱发的粘膜炎

[0163] 在一些实施方案中，本文公开的拟肽大环化合物可以预防、减轻由第二药学活性剂引起的粘膜炎或降低其可能性。粘膜炎可能是由于药学活性剂对内衬于消化道的细胞的细胞毒性作用所致。沿消化道的细胞死亡可导致上皮变薄，从而导致粘膜破坏。在一些情况下，经历细胞周期停滞的消化道细胞对药学活性剂(例如，化疗剂)的细胞毒性作用具有抗性。例如，可以通过激活p53来诱导细胞周期停滞。在一些实施方案中，本文公开的治疗癌症的方法包括通过p53激活来诱导消化道中的细胞周期停滞，以减轻由药学活性剂引起的粘膜炎。例如，通过经由施用拟肽大环化合物来抑制MDM2和/或MDMX蛋白，可以诱导p53激活。在一些实施方案中，拟肽大环化合物与MDM2和/或MDMX蛋白结合。在一些实施方案中，拟肽大环化合物以低于在组织如消化道组织中诱导凋亡所需的剂量的剂量来施用。

拟肽大环化合物

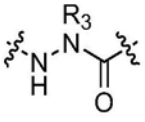
[0164] 在一些实施方案中，拟肽大环化合物具有式(I)：



式（I）

其中：

-每个A、C、D和E独立地为天然或非天然氨基酸或氨基酸类似物，并且每个末端D和E独立任选地包括封端基团；

-每个B独立地为天然或非天然氨基酸、氨基酸类似物、、[-NH-L_3-CO-]、[-NH-L_3-SO_2-]或[-NH-L_3-]；

-每个R_1和R_2独立地为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、环烷基烷基、杂烷基或杂环烷基，它们是未取代的或被卤素-取代，或者R_1和R_2中的至少一个形成连接至所述D或E氨基酸之一的α位置的大环形成连接体L’；

-每个R_3独立地为氢、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、杂烷基、环烷基、杂环烷基、环烷

基烷基、芳基或杂芳基，它们任选地被R_5取代；

-每个L和L'独立地为式-L_1-L_2-的大环形成连接体；

-每个L_1、L_2和L_3独立地为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚芳基、亚杂芳基或$[-R_4-K-R_4-]_n$，其中每一个任选地被R_5取代；

-每个R_4独立地为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚芳基或亚杂芳基；

-每个K独立地为O、S、SO、SO_2、CO、CO_2或$CONR_3$；

-每个R_5独立地为卤素、烷基、-OR_6、-$N(R_6)_2$、-SR_6、-SOR_6、-SO_2R_6、-CO_2R_6、荧光部分、放射性同位素或治疗剂；

-每个R_6独立地为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基烷基、杂环烷基、荧光部分、放射性同位素或治疗剂；

-每个R_7独立地为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、杂烷基、环烷基烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基，它们任选地被R_5取代，或是与D残基形成的环状结构的一部分；

-每个R_8独立地为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、杂烷基、环烷基烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基，它们任选地被R_5取代，或是与E残基形成的环状结构的一部分；

-每个v和w独立地为1-1000，例如1-500、1-200、1-100、1-50、1-30、1-20或1-10的整数；

-u为1-10，例如1-5、1-3或1-2的整数；

-每个x、y和z独立地为0-10的整数，例如x+y+z之和为2、3或6；且

-n为1-5的整数。

[0165] 在一些实施方案中，v和w为1-30的整数。在一些实施方案中，w为3-1000，例如3-500、3-200、3-100、3-50、3-30、3-20或3-10的整数。在一些实施方案中，x+y+z之和为3或6。在一些实施方案中，x+y+z之和为3。在其他实施方案中，x+y+z之和为6。

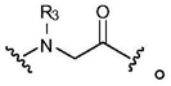
[0166] 在一些实施方案中，w为3-10，例如3-6、3-8、6-8或6-10的整数。在一些实施方案中，w为3。在其他实施方案中，w为6。在一些实施方案中，v为1-1000，例如1-500、1-200、1-100、1-50、1-30、1-20或1-10的整数。在一些实施方案中，v为2。

[0167] 在本文所述任何通式的实施方案中，L_1和L_2单独地或组合地不形成三唑或硫醚。

[0168] 在一个实例中，R_1和R_2中的至少一个为未取代或被卤素-取代的烷基。在另一个实例中，R_1和R_2均独立地为未取代或被卤素-取代的烷基。在一些实施方案中，R_1和R_2中的至少一个为甲基。在其他实施方案中，R_1和R_2为甲基。

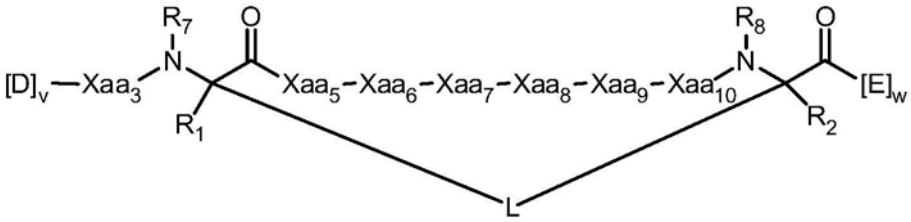
[0169] 在一些实施方案中，x+y+z至少为3。在其他实施方案中，x+y+z为1、2、3、4、5、6、7、8、9或10。在一些实施方案中，x+y+z之和为3或6。在一些实施方案中，x+y+z之和为3。在其他实施方案中，x+y+z之和为6。大环化合物或大环化合物前体中每次出现的A、B、C、D或E独立地选择。例如，由式$[A]_x$表示的序列，当x为3时，包括其中氨基酸不相同的实施方案，例如Gln-Asp-Ala，以及其中氨基酸相同的实施方案，例如Gln-Gln-Gln。这适用于x、y或z在指定范围内的任意值。类似地，当u大于1时，每种化合物可包括相同或不同的拟肽大环化合物。例如，化合物可包括含有不同连接体长度或化学组成的拟肽大环化合物。

[0170] 在一些实施方案中，所述拟肽大环化合物包含为α-螺旋的二级结构且R_8为-H，从而允许螺旋内氢键键合。在一些实施方案中，A、B、C、D或E中的至少一个为α,α-二取代的氨

基酸。在一个实例中，B为α,α-二取代的氨基酸。例如，A、B、C、D或E中的至少一个为2-氨基异丁酸。在其他实施方案中，A、B、C、D或E中的至少一个为。

[0171] 在其他实施方案中，选择从第一Cα到第二Cα测量的大环形成连接体L的长度，以稳定希望的二级肽结构，例如由拟肽大环化合物的残基(包括但不是必须限于第一Cα到第二Cα之间的残基)形成的α-螺旋。

[0172] 在一些实施方案中，还提供了下式的拟肽大环化合物：



其中：

-Xaa_3、Xaa_5、Xaa_6、Xaa_7、Xaa_8、Xaa_9和Xaa_{10}中的每一个单独地为氨基酸，其中Xaa_3、Xaa_5、Xaa_6、Xaa_7、Xaa_8、Xaa_9和Xaa_{10}中的至少三个是与序列Phe_3-X_4-His_5-Tyr_6-Trp_7-Ala_8-Gln_9-Leu_{10}-X_{11}-Ser_{12}相应位置处的氨基酸相同的氨基酸，其中每个X为氨基酸；

-每个D和E独立地为天然或非天然氨基酸或氨基酸类似物；

-R_1和R_2独立地为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、环烷基烷基、杂烷基或杂环烷基，它们是未取代的或被卤素-取代；或者R_1和R_2中的至少一个形成连接至所述D或E氨基酸之一的α位置的大环形成连接体L'；

-每个L和L'独立地为式-L_1-L_2-的大环形成连接体；

-每个L_1和L_2独立地为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚芳基、亚杂芳基或[-R_4-K-R_4-]$_n$，其中每一个任选地被R_5取代；

-每个R_4独立地为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚芳基或亚杂芳基；

-每个K独立地为O、S、SO、SO_2、CO、CO_2或$CONR_3$；

-每个R_5独立地为卤素、烷基、-OR_6、-$N(R_6)_2$、-SR_6、-SOR_6、-SO_2R_6、-CO_2R_6、荧光部分、放射性同位素或治疗剂；

-每个R_6独立地为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基烷基、杂环烷基、荧光部分、放射性同位素或治疗剂；

-R_7为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、杂烷基、环烷基烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基，它们任选地被R_5取代，或是与D残基形成的环状结构的一部分；

-R_8为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、杂烷基、环烷基烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基，它们任选地被R_5取代，或是与E残基形成的环状结构的一部分；

-v为1-1000，例如1-500、1-200、1-100、1-50、1-30、1-20或1-10的整数；

-w为3-1000，例如3-500、3-200、3-100、3-50、3-30、3-20或3-10的整数；且

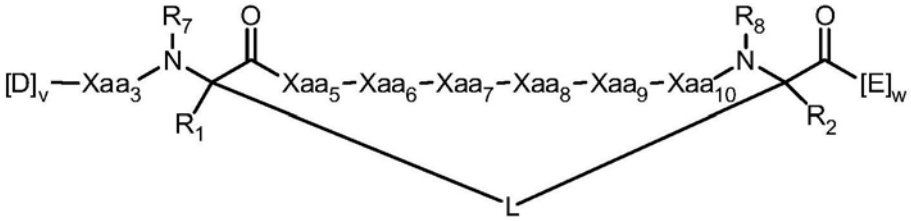
-n为1-5的整数。

[0173] 在一些实施方案中，v和w为1-30的整数。在一些实施方案中，w或v为3-1000，例如3-500、3-200、3-100、3-50、3-30、3-20或3-10的整数。在一些实施方案中，x+y+z之和为3或

6。在一些实施方案中，x+y+z之和为3。在其他实施方案中，x+y+z之和为6。

[0174] 在本文所述任何通式的一些实施方案中，Xaa_3、Xaa_5、Xaa_6、Xaa_7、Xaa_8、Xaa_9和Xaa_{10}中的至少三个是与序列Phe_3-X_4-His_5-Tyr_6-Trp_7-Ala_8-Gln_9-Leu_{10}-X_{11}-Ser_{12}相应位置处的氨基酸相同的氨基酸。在其他实施方案中，Xaa_3、Xaa_5、Xaa_6、Xaa_7、Xaa_8、Xaa_9和Xaa_{10}中的至少四个是与序列Phe_3-X_4-His_5-Tyr_6-Trp_7-Ala_8-Gln_9-Leu_{10}-X_{11}-Ser_{12}相应位置处的氨基酸相同的氨基酸。在其他实施方案中，Xaa_3、Xaa_5、Xaa_6、Xaa_7、Xaa_8、Xaa_9和Xaa_{10}中的至少五个是与序列Phe_3-X_4-His_5-Tyr_6-Trp_7-Ala_8-Gln_9-Leu_{10}-X_{11}-Ser_{12}相应位置处的氨基酸相同的氨基酸。在其他实施方案中，Xaa_3、Xaa_5、Xaa_6、Xaa_7、Xaa_8、Xaa_9和Xaa_{10}中的至少六个是与序列Phe_3-X_4-His_5-Tyr_6-Trp_7-Ala_8-Gln_9-Leu_{10}-X_{11}-Ser_{12}相应位置处的氨基酸相同的氨基酸。在其他实施方案中，Xaa_3、Xaa_5、Xaa_6、Xaa_7、Xaa_8、Xaa_9和Xaa_{10}中的至少七个是与序列Phe_3-X_4-His_5-Tyr_6-Trp_7-Ala_8-Gln_9-Leu_{10}-X_{11}-Ser_{12}相应位置处的氨基酸相同的氨基酸。

[0175] 在一些实施方案中，拟肽大环化合物具有下式：



其中：

-Xaa_3、Xaa_5、Xaa_6、Xaa_7、Xaa_8、Xaa_9和Xaa_{10}中的每一个单独地为氨基酸，其中Xaa_3、Xaa_5、Xaa_6、Xaa_7、Xaa_8、Xaa_9和Xaa_{10}中的至少三个是与序列Phe_3-X_4-Glu_5-Tyr_6-Trp_7-Ala_8-Gln_9-Leu_{10}/Cba_{10}-X_{11}-Ala_{12}相应位置处的氨基酸相同的氨基酸，其中每个X为氨基酸；

-每个D独立地为天然或非天然氨基酸或氨基酸类似物；

-每个E独立地为天然或非天然氨基酸或氨基酸类似物，例如选自Ala(丙氨酸)、D-Ala(D-丙氨酸)、Aib(α-氨基异丁酸)、Sar(N-甲基甘氨酸)和Ser(丝氨酸)的氨基酸；

-R_1和R_2独立地为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、环烷基烷基、杂烷基或杂环烷基，它们是未取代的或被卤素-取代；或者R_1和R_2中的至少一个形成连接至所述D或E氨基酸之一的α位置的大环形成连接体L'；

-每个L和L'独立地为式-L_1-L_2-的大环形成连接体；

-每个L_1和L_2独立地为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚芳基、亚杂芳基或[-R_4-K-R_4-]$_n$，其中每一个任选地被R_5取代；

-每个R_4独立地为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚芳基或亚杂芳基；

-每个K独立地为O、S、SO、SO_2、CO、CO_2或$CONR_3$；

-每个R_5独立地为卤素、烷基、-OR_6、-$N(R_6)_2$、-SR_6、-SOR_6、-SO_2R_6、-CO_2R_6、荧光部分、放射性同位素或治疗剂；

-每个R_6独立地为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基烷基、杂环烷基、荧光部分、放射性同位素或治疗剂；

-R_7为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、杂烷基、环烷基烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基，它们任选地被R_5取代，或是与D残基形成的环状结构的一部分；

-R_8为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、杂烷基、环烷基烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基，它们任选地被R_5取代，或是与E残基形成的环状结构的一部分；

-v为1-1000，例如1-500、1-200、1-100、1-50、1-30、1-20或1-10的整数；

-w为3-1000，例如3-500、3-200、3-100、3-50、3-30、3-20或3-10的整数；且

-n为1-5的整数。

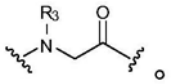
[0176] 在上述通式的一些实施方案中，Xaa_3、Xaa_5、Xaa_6、Xaa_7、Xaa_8、Xaa_9和Xaa_{10}中的至少三个是与序列Phe_3-X_4-Glu_5-Tyr_6-Trp_7-Ala_8-Gln_9-Leu_{10}/Cba_{10}-X_{11}-Ala_{12}相应位置处的氨基酸相同的氨基酸。在上述通式的其他实施方案中，Xaa_3、Xaa_5、Xaa_6、Xaa_7、Xaa_8、Xaa_9和Xaa_{10}中的至少四个是与序列Phe_3-X_4-Glu_5-Tyr_6-Trp_7-Ala_8-Gln_9-Leu_{10}/Cba_{10}-X_{11}-Ala_{12}相应位置处的氨基酸相同的氨基酸。在上述通式的其他实施方案中，Xaa_3、Xaa_5、Xaa_6、Xaa_7、Xaa_8、Xaa_9和Xaa_{10}中的至少五个是与序列Phe_3-X_4-Glu_5-Tyr_6-Trp_7-Ala_8-Gln_9-Leu_{10}/Cba_{10}-X_{11}-Ala_{12}相应位置处的氨基酸相同的氨基酸。在上述通式的其他实施方案中，Xaa_3、Xaa_5、Xaa_6、Xaa_7、Xaa_8、Xaa_9和Xaa_{10}中的至少六个是与序列Phe_3-X_4-Glu_5-Tyr_6-Trp_7-Ala_8-Gln_9-Leu_{10}/Cba_{10}-X_{11}-Ala_{12}相应位置处的氨基酸相同的氨基酸。在上述通式的其他实施方案中，Xaa_3、Xaa_5、Xaa_6、Xaa_7、Xaa_8、Xaa_9和Xaa_{10}中的至少七个是与序列Phe_3-X_4-Glu_5-Tyr_6-Trp_7-Ala_8-Gln_9-Leu_{10}/Cba_{10}-X_{11}-Ala_{12}相应位置处的氨基酸相同的氨基酸。

[0177] 在一些实施方案中，w为3-10，例如3-6、3-8、6-8或6-10的整数。在一些实施方案中，w为3。在其他实施方案中，w为6。在一些实施方案中，v为1-10的整数。在一些实施方案中，v为2。

[0178] 在本文所述任何通式的实施方案中，L_1和L_2单独地或组合地不形成三唑或硫醚。

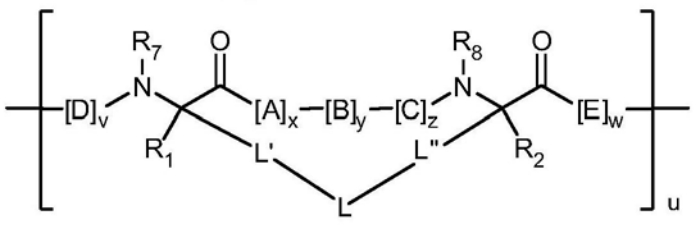
[0179] 在一个实例中，R_1和R_2中的至少一个为未取代的或被卤素-取代的烷基。在另一个实例中，R_1和R_2均独立地为未取代的或被卤素-取代的烷基。在一些实施方案中，R_1和R_2中的至少一个为甲基。在其他实施方案中，R_1和R_2为甲基。

[0180] 在一些实施方案中，x+y+z至少为3。在其他实施方案中，x+y+z为1、2、3、4、5、6、7、8、9或10。在一些实施方案中，x+y+z之和为3或6。在一些实施方案中，x+y+z之和为3。在其他实施方案中，x+y+z之和为6。大环化合物或大环化合物前体中每次出现的A、B、C、D或E独立地选择。例如，由式$[A]_x$表示的序列，当x为3时，包括其中氨基酸不相同的实施方案，例如Gln-Asp-Ala，以及其中氨基酸相同的实施方案，例如Gln-Gln-Gln。这适用于x、y或z在指定范围内的任意值。类似地，当u大于1时，每种化合物可包含相同或不同的拟肽大环化合物。例如，化合物可以包括含有不同连接体长度或化学组成的拟肽大环化合物。

[0181] 在一些实施方案中，所述拟肽大环化合物包括为α-螺旋的二级结构且R_8为-H，从而允许螺旋内氢键键合。在一些实施方案中，A、B、C、D或E中的至少一个为α,α-二取代的氨基酸。在一个实例中，B为α,α-二取代的氨基酸。例如，A、B、C、D或E中的至少一个为2-氨基异丁酸。在其他实施方案中，A、B、C、D或E中的至少一个为。

[0182] 在其他实施方案中，选择从第一Cα到第二Cα测量的大环形成连接体L的长度，以稳定希望的二级肽结构，例如由拟肽大环化合物的残基(包括但不是必须限于第一Cα到第二Cα之间的残基)形成的α-螺旋。

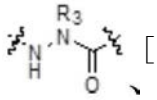
[0183] 在一些实施方案中，式(I)的拟肽大环化合物具有式(Ia)：



式（Ia）

其中：

-每个A、C、D和E独立地为天然或非天然氨基酸或氨基酸类似物；

-每个B独立地为天然或非天然氨基酸、氨基酸类似物、、[-NH-L_3-CO-]、[-NH-L_3-SO_2-]或[-NH-L_3-]；

-每个L独立地为大环形成连接体；

-每个L’独立地为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚芳基或亚杂芳基，其中每一个任选地被R_5取代，或者是键，或者与R_1以及结合至R_1和L’两者的原子一起形成环；

-每个L”独立地为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚芳基或亚杂芳基，其中每一个任选地被R_5取代，或者是键，或者与R_2以及结合至R_2和L”两者的原子一起形成环；

-每个R_1独立地为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、环烷基烷基、杂烷基或杂环烷基，它们是未取代的或被卤素-取代，或者与L’以及结合至R_1和L’两者的原子一起形成环；

-每个R_2独立地为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、环烷基烷基、杂烷基或杂环烷基，它们是未取代的或被卤素-取代，或者与L”以及结合至R_2和L”两者的原子一起形成环；

-每个R_3独立地为氢、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、杂烷基、环烷基、杂环烷基、环烷基烷基、芳基或杂芳基，它们任选地被R_5取代；

-每个L_3独立地为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚芳基、亚杂芳基或$[-R_4-K-R_4-]_n$，其中每一个任选地被R_5取代；

-每个R_4独立地为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚芳基或亚杂芳基；

-每个K独立地为O、S、SO、SO_2、CO、CO_2或$CONR_3$；

-n为1-5的整数；

-每个R_5独立地为卤素、烷基、$-OR_6$、$-N(R_6)_2$、$-SR_6$、$-SOR_6$、$-SO_2R_6$、$-CO_2R_6$、荧光部分、放射性同位素或治疗剂；

-每个R_6独立地为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基烷基、杂环烷基、荧光部分、放射性同位素或治疗剂；

-每个R_7独立地为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、杂烷基、环烷基烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基，它们任选地被R_5取代，或是与D残基形成的环状结构的一部分；

-每个R_8独立地为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、杂烷基、环烷基烷基、杂

环烷基、芳基或杂芳基，它们任选地被R_5取代，或是与E残基形成的环状结构的一部分；

-每个v和w独立地为1-1000，例如1-500、1-200、1-100、1-50、1-40、1-25、1-20、1-15或1-10的整数；

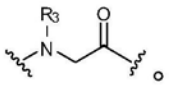
-每个x、y和z独立地为0-10的整数，例如x+y+z为2、3或6；且

-u为1-10，例如1-5、1-3或1-2的整数。

[0184] 在一些实施方案中，L为式-L_1-L_2-的大环形成连接体。在一些实施方案中，每个L_1和L_2独立地为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚芳基、亚杂芳基或[-R_4-K-R_4-]$_n$，其中每一个任选地被R_5取代；每个R_4独立地为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚芳基或亚杂芳基；每个K独立地为O、S、SO、SO_2、CO、CO_2或$CONR_3$；且n为1-5的整数。

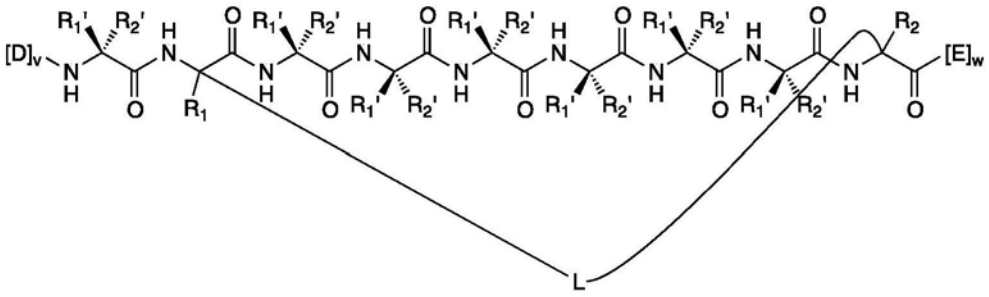
[0185] 在一个实例中，R_1和R_2中的至少一个为未取代的或被卤素-取代的烷基。在另一个实例中，R_1和R_2均独立地为未取代的或被卤素-取代的烷基。在一些实施方案中，R_1和R_2中的至少一个为甲基。在其他实施方案中，R_1和R_2为甲基。

[0186] 在一些实施方案中，x+y+z至少为2。在其他实施方案中，x+y+z为1、2、3、4、5、6、7、8、9或10。大环化合物或大环化合物前体中每次出现的A、B、C、D或E独立地选择。例如，由式[A]$_x$表示的序列，当x为3时，包括其中氨基酸不同的实施方案，例如Gln-Asp-Ala，以及其中氨基酸相同的实施方案，例如Gln-Gln-Gln。这适用于x、y或z在指定范围内的任意值。类似地，当u大于1时，每种化合物可包括相同或不同的拟肽大环化合物。例如，化合物可包括含有不同连接体长度或化学组成的拟肽大环化合物。

[0187] 在一些实施方案中，所述拟肽大环化合物包含为螺旋的二级结构且R_8为-H，从而允许螺旋内氢键键合。在一些实施方案中，A、B、C、D或E中的至少一个为α，α-二取代的氨基酸。在一个实例中，B为α，α-二取代的氨基酸。例如，A、B、C、D或E中的至少一个为2-氨基异丁酸。在其他实施方案中，A、B、C、D或E中的至少一个为

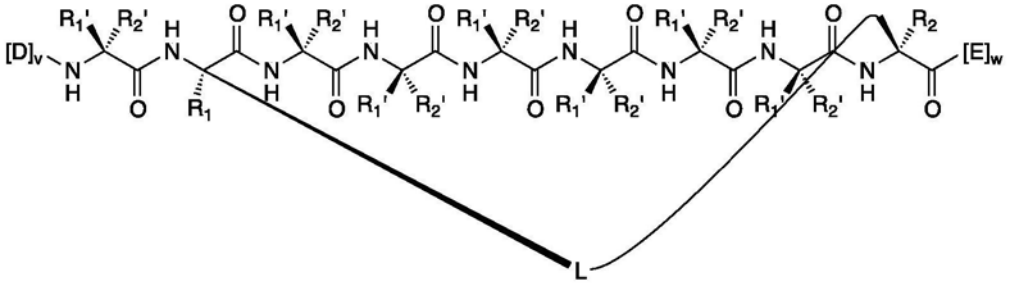
[0188] 在其他实施方案中，选择从第一Cα到第二Cα测量的大环形成连接体L的长度，以稳定希望的二级肽结构，例如由拟肽大环化合物的残基(包括但不是必须限于第一Cα到第二Cα之间的残基)形成的螺旋。

[0189] 在一个实施方案中，式(I)的拟肽大环化合物为：



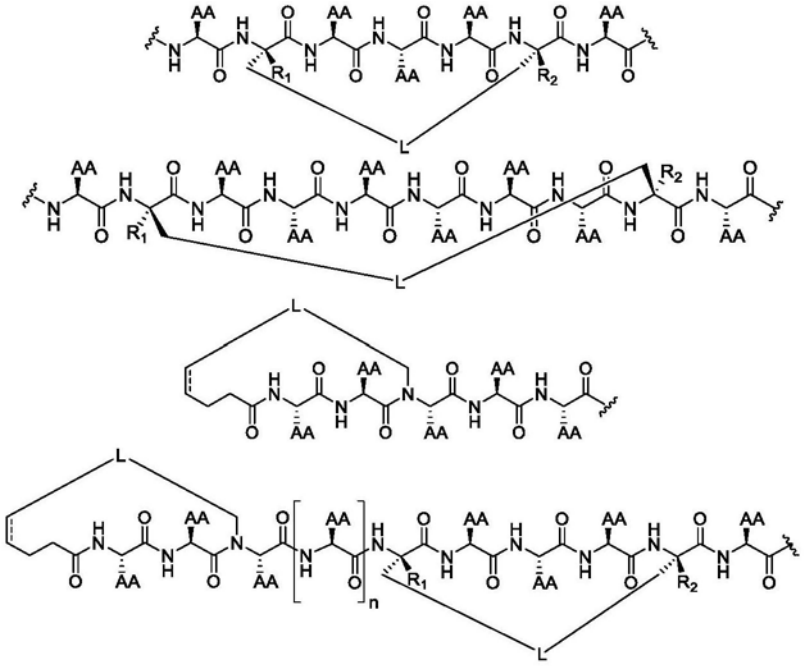
其中每个R_1和R_2独立地为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、环烷基烷基、杂烷基或杂环烷基，它们是未取代的或被卤素-取代。

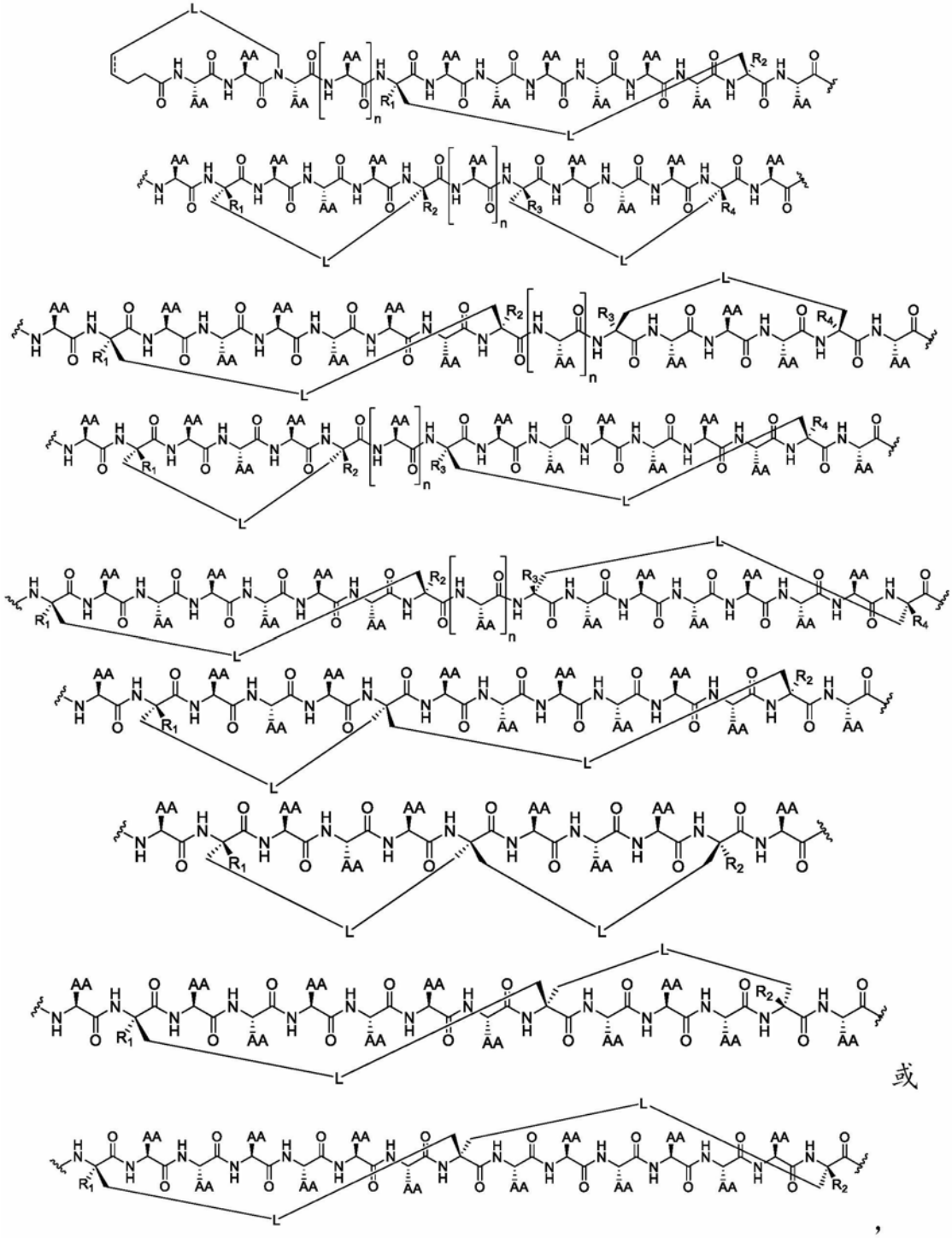
[0190] 在相关实施方案中，式(I)的拟肽大环化合物为：



其中每个R_1'和R_2'独立地为氨基酸。

[0191] 在其他实施方案中,式(I)的拟肽大环化合物是以下所示任何通式的化合物:



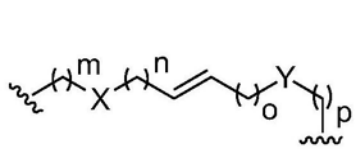


或

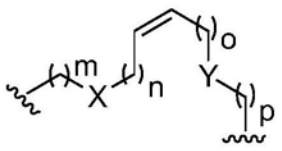
，

其中“AA”表示任何天然或非天然氨基酸侧链，且“$[D]_v$、$[E]_w$”为如上定义的$[D]_v$、$[E]_w$，且n为0至20、50、100、200、300、400或500的整数。在一些实施方案中，n为0。在其他实施方案中，n小于50。

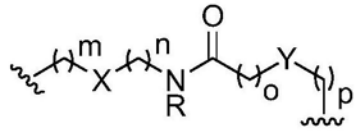
[0192] 以下示出了大环形成连接体L的实施方案的非限制性实例。



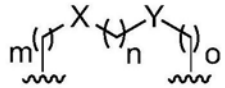
其中X, Y = -CH_2-, O, S 或 NH
m, n, o, p = 0-10



其中X, Y = -CH_2-, O, S 或 NH
m, n, o, p = 0-10



其中 X, Y = -CH_2-, O, S 或 NH
m, n, o, p = 0-10
R = H, 烷基, 其它取代基

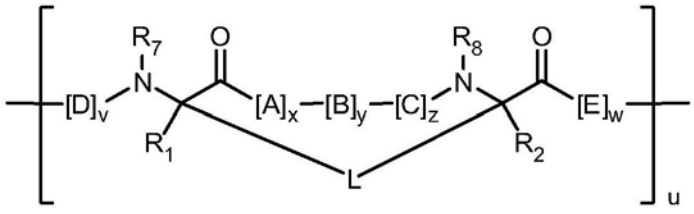


其中 X, Y = -CH_2-, O, S 或 NH
m, n, o = 0-10

[0193] 在其他实施方案中，为了促进细胞摄取，进一步修饰式I化合物中的D和/或E。在一些实施方案中，将拟肽大环化合物脂质化(lipidating)或PEG化有利于细胞摄取、提高生物利用度、增强血液循环、改变药代动力学、降低免疫原性和/或降低所需的给药频率。

[0194] 在其他实施方案中，式I化合物中的[D]和[E]中的至少一个代表包含另外的大环形成连接体的部分，使得该拟肽大环化合物包含至少两个大环形成连接体。在特定实施方案中，拟肽大环化合物包含两个大环形成连接体。在一个实施方案中，u为2。

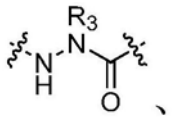
[0195] 在一些实施方案中，所述拟肽大环化合物具有式(I)：



式（I）

其中：

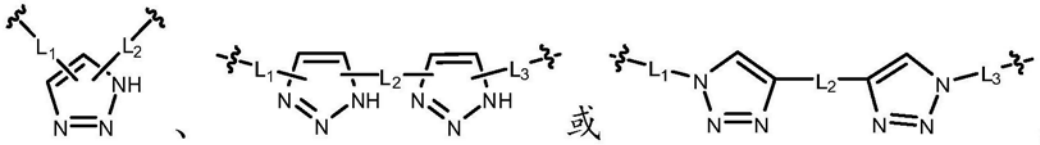
-每个A、C、D和E独立地为天然或非天然氨基酸或氨基酸类似物；

-每个B独立地为天然或非天然氨基酸、氨基酸类似物、、[-NH-L_3-CO-]、[-NH-L_3-SO_2-]或[-NH-L_3-]；

-每个R_1和R_2独立地为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、环烷基烷基、杂烷基或杂环烷基，它们是未取代的或被卤素-取代，或者R_1和R_2中的至少一个形成连接至所述D或E氨基酸之一的α位置的大环形成连接体L’；

-每个R_3独立地为氢、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、杂烷基、环烷基、杂环烷基、环烷基烷基、芳基或杂芳基，它们任选地被R_5取代；

-每个L和L’独立地为下式的大环形成连接体



其中每个L_1、L_2和L_3独立地为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚芳基、亚杂芳基或$[-R_4-K-R_4-]_n$，其中每一个任选地被R_5取代；

-每个R_4独立地为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚芳基或亚杂芳基；

-每个K独立地为O、S、SO、SO_2、CO、CO_2或$CONR_3$；

-每个R_5独立地为卤素、烷基、$-OR_6$、$-N(R_6)_2$、$-SR_6$、$-SOR_6$、$-SO_2R_6$、$-CO_2R_6$、荧光部分、放射性同位素或治疗剂；

-每个R_6独立地为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基烷基、杂环烷基、荧光部分、放射性同位素或治疗剂；

-每个R_7独立地为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、杂烷基、环烷基烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基，它们任选地被R_5取代，或是与D残基形成的环状结构的一部分；

-每个R_8独立地为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、杂烷基、环烷基烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基，它们任选地被R_5取代，或是与E残基形成的环状结构的一部分；

-每个v和w独立地为1-1000的整数；

-每个x、y和z独立地为0-10的整数；

-u为1-10的整数；且

-n为1-5的整数。

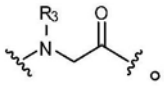
[0196] 在一个实例中，R_1和R_2中的至少一个为未取代或被卤素-取代的烷基。在另一个实例中，R_1和R_2均独立地为未取代或被卤素-取代的烷基。在一些实施方案中，R_1和R_2中的至少一个为甲基。在其他实施方案中，R_1和R_2为甲基。

[0197] 在一些实施方案中，x+y+z至少为2。在其他实施方案中，x+y+z为1、2、3、4、5、6、7、8、9或10。大环化合物或大环化合物前体中每次出现的A、B、C、D或E独立地选择。例如，由式$[A]_x$表示的序列，当x为3时，包括其中氨基酸不同的实施方案，例如Gln-Asp-Ala，以及其中氨基酸相同的实施方案，例如Gln-Gln-Gln。这适用于x、y或z在指定范围内的任意值。

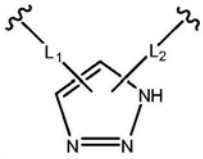
[0198] 在一些实施方案中，前两个由E表示的氨基酸中的每一个包含不带电荷的侧链或带负电荷的侧链。在一些实施方案中，前三个由E表示的氨基酸中的每一个包含不带电荷的侧链或带负电荷的侧链。在一些实施方案中，前四个由E表示的氨基酸中的每一个包含不带电荷的侧链或带负电荷的侧链。在一些实施方案中，关于由E表示的Xaa_{13}为i+1、i+2、i+3、i+4、i+5和/或i+6的一个或多个或每个氨基酸包含不带电荷的侧链或带负电荷的侧链。

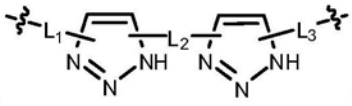
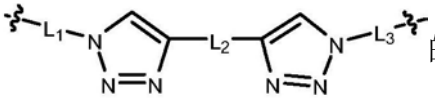
[0199] 在一些实施方案中，由E表示的第一C末端氨基酸和/或第二C末端氨基酸包含疏水性侧链。例如，由E表示的第一C末端氨基酸和/或第二C末端氨基酸包含疏水性侧链，例如小疏水性侧链。在一些实施方案中，由E表示的第一C末端氨基酸、第二C末端氨基酸和/或第三C末端氨基酸包含疏水性侧链。例如，由E表示的第一C末端氨基酸、第二C末端氨基酸和/或第三C末端氨基酸包含疏水性侧链，例如小疏水性侧链。在一些实施方案中，关于由E表示的Xaa_{13}为i+1、i+2、i+3、i+4、i+5和/或i+6的一个或多个或每个氨基酸包含不带电荷的侧链或带负电荷的侧链。

[0200] 在一些实施方案中，w为1至1000。例如，由E表示的第一氨基酸包含小疏水性侧链。在一些实施方案中，w为2至1000。例如，由E表示的第二氨基酸包含小疏水性侧链。在一些实施方案中，w为3至1000。例如，由E表示的第三氨基酸包含小疏水性侧链。例如，由E表示的第三氨基酸包含小疏水性侧链。在一些实施方案中，w为4至1000。在一些实施方案中，w为5至1000。在一些实施方案中，w为6至1000。在一些实施方案中，w为7至1000。在一些实施方案中，w为8至1000。

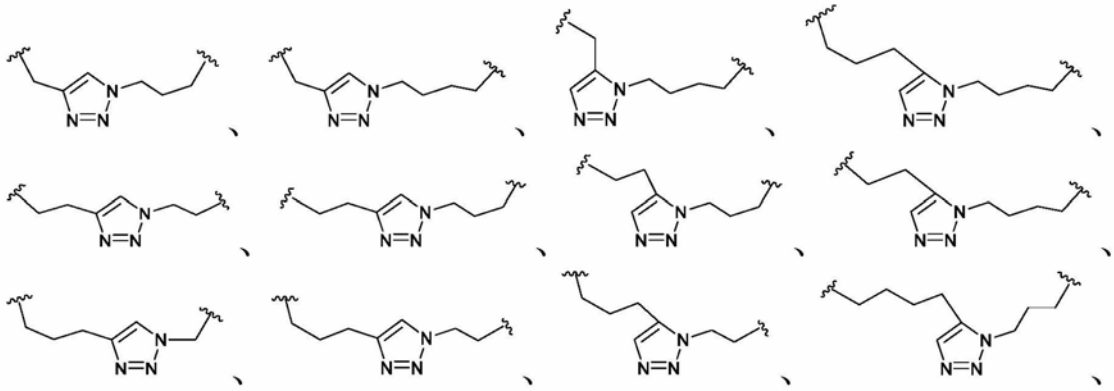
[0201] 在一些实施方案中，所述拟肽大环化合物包含为α-螺旋的二级结构且R_8为-H，从而允许螺旋内氢键键合。在一些实施方案中，A、B、C、D或E中的至少一个为α，α-二取代的氨基酸。在一个实例中，B为α，α-二取代的氨基酸。例如，A、B、C、D或E中的至少一个为2-氨基异丁酸。在其他实施方案中，A、B、C、D或E中的至少一个为

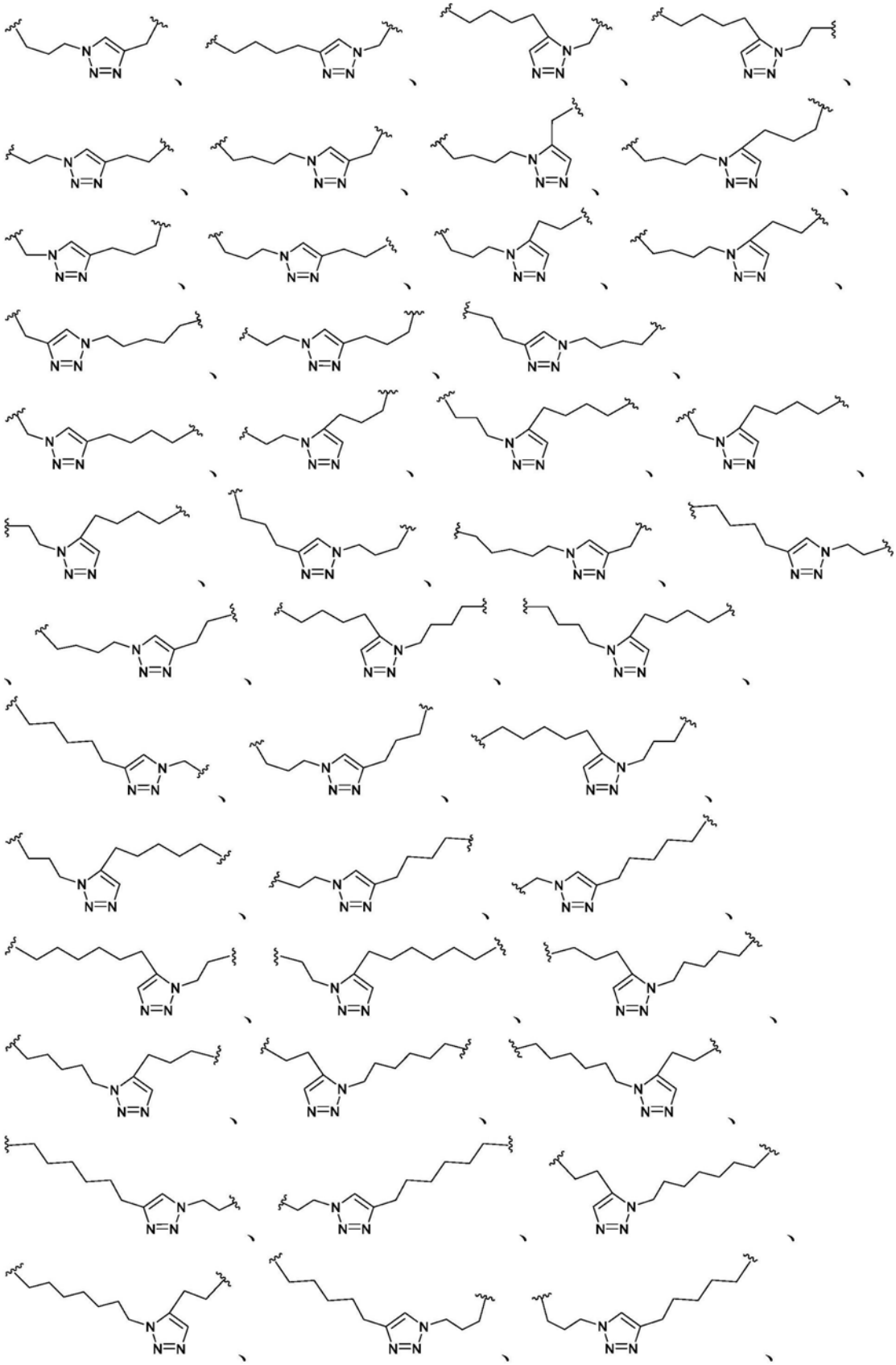
[0202] 在其他实施方案中，选择从第一Cα到第二Cα测量的大环形成连接体L的长度，以稳定希望的二级肽结构，例如由拟肽大环化合物的残基(包括但不是必须限于第一Cα到第二Cα之间的残基)形成的α-螺旋。

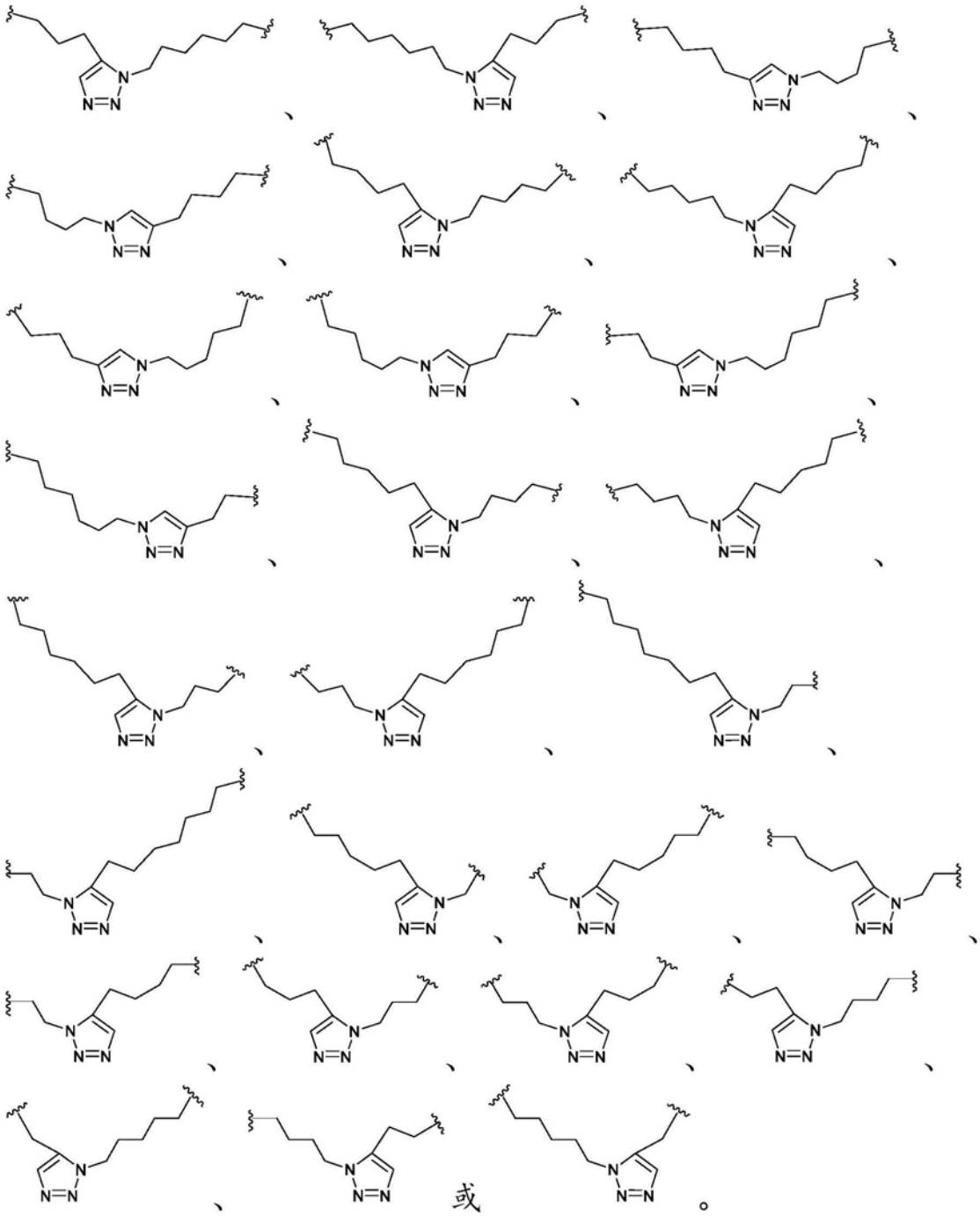
[0203] 在一些实施方案中，L为式的大环形成连接体。

[0204] 在一些实施方案中，L为式或的大环形成连接体；或其互变异构体。

[0205] 以下示出了大环形成连接体L的实施方案的非限制性实例。







[0206] 在形成三唑交联体中使用的氨基酸根据以下所示的图例来表示。在每个氨基酸α位置处的立体化学是S,除非另有说明。对于叠氮氨基酸,所示的碳原子的数目是指α碳与末端叠氮基团之间的亚甲基单位数目。对于炔烃氨基酸,所示的碳原子的数目是指α位置与三唑部分之间的亚甲基单位加上衍生自该炔烃的三唑基团内的两个碳原子的数目。

$5a5α-Me炔烃1,5三唑(5个碳)

$5n3α-Me叠氮1,5三唑(3个碳)

$4rn6α-Me R-叠氮1,4三唑(6个碳)

$4a5α-Me炔烃1,4三唑(5个碳)

[0207] 在一些实施方案中,本文所述的任何大环形成连接体可以与表1、表1a、表1b、表

1c、表2a、表2b、表3或表3a中所示的任何序列任意组合使用，也可以与本文所述的任何R-取代基任意组合使用。

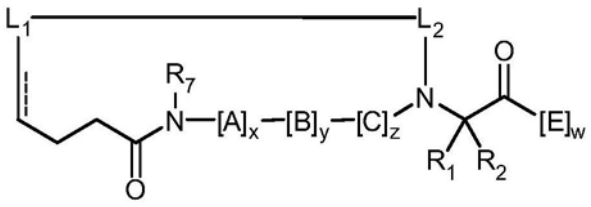
[0208] 在一些实施方案中，所述拟肽大环化合物包含至少一个α-螺旋基序。例如，式I化合物中的A、B和/或C包含一个或多个α-螺旋。一般来说，α-螺旋每圈包含3至4个氨基酸残基。在一些实施方案中，拟肽大环化合物的α-螺旋包括1至5圈，因此包含3至20个氨基酸残基。在特定实施方案中，α-螺旋包括1圈、2圈、3圈、4圈或5圈。在一些实施方案中，大环形成连接体稳定化在拟肽大环化合物内包含的α-螺旋基序。因此，在一些实施方案中，选择大环形成连接体L从第一Cα到第二Cα的长度，以提高α-螺旋的稳定性。

[0209] 在一些实施方案中，大环形成连接体跨越α-螺旋的1圈至5圈。在一些实施方案中，大环形成连接体跨越α-螺旋的大约1圈、2圈、3圈、4圈或5圈。在一些实施方案中，大环形成连接体的长度为每圈α-螺旋大约5 Å至9 Å，或每圈α-螺旋大约6 Å至8 Å。

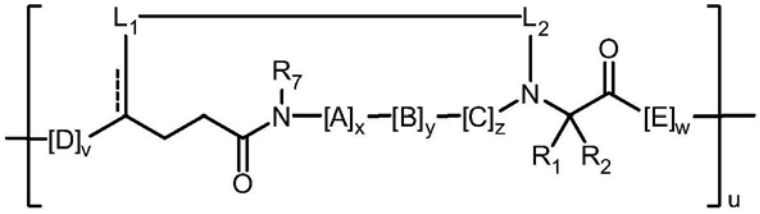
[0210] 当大环形成连接体跨越大约1圈α-螺旋时，长度等于大约5个碳-碳键至13个碳-碳键，大约7个碳-碳键至11个碳-碳键，或大约9个碳-碳键。当大环形成连接体跨越大约2圈α-螺旋时，长度等于大约8个碳-碳键至16个碳-碳键，大约10个碳-碳键至14个碳-碳键，或大约12个碳-碳键。当大环形成连接体跨越大约3圈α-螺旋时，长度等于大约14个碳-碳键至22个碳-碳键，大约16个碳-碳键至20个碳-碳键，或大约18个碳-碳键。当大环形成连接体跨越大约4圈α-螺旋时，长度等于大约20个碳-碳键至28个碳-碳键，大约22个碳-碳键至26个碳-碳键，或大约24个碳-碳键。当大环形成连接体跨越大约5圈α-螺旋时，长度等于大约26个碳-碳键至34个碳-碳键，大约28个碳-碳键至32个碳-碳键，或大约30个碳-碳键。当大环形成连接体跨越大约1圈α-螺旋时，连接含有大约4个原子至12个原子，大约6个原子至10个原子，或大约8个原子。当大环形成连接体跨越大约2圈α-螺旋时，连接含有大约7个原子至15个原子，大约9个原子至13个原子，或大约11个原子。当大环形成连接体跨越大约3圈α-螺旋时，连接含有大约13个原子至21个原子，大约15个原子至19个原子，或大约17个原子。当大环形成连接体跨越大约4圈α-螺旋时，连接含有大约19个原子至27个原子，大约21个原子至25个原子，或大约23个原子。当大环形成连接体跨越大约5圈α-螺旋时，连接含有大约25个原子至33个原子，大约27个原子至31个原子，或大约29个原子。

[0211] 当大环形成连接体跨越大约1圈α-螺旋时，得到的大环形成含有大约17元至25元、大约19元至23元或大约21元的环。当大环形成连接体跨越大约2圈α-螺旋时，得到的大环形成含有大约29元至37元、大约31元至35元或大约33元的环。当大环形成连接体跨越大约3圈α-螺旋时，得到的大环形成含有大约44元至52元、大约46元至50元或大约48元的环。当大环形成连接体跨越大约4圈α-螺旋时，得到的大环形成含有大约59元至67元、大约61元至65元或大约63元的环。当大环形成连接体跨越大约5圈α-螺旋时，得到的大环形成含有大约74元至82元、大约76元至80元或大约78元的环。

[0212] 在其他实施方案中，提供了式(II)或(IIa)的拟肽大环化合物：



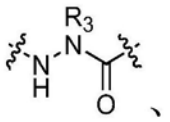
式（II）



式（IIa）

其中：

-每个A、C、D和E独立地为天然或非天然氨基酸或氨基酸类似物，并且末端D和E独立任选地包括封端基团；

-每个B独立地为天然或非天然氨基酸、氨基酸类似物、、[-NH-L_3-CO-]、[-NH-L_3-SO_2-]或[-NH-L_3-]；

-每个R_1和R_2独立地为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、环烷基烷基、杂烷基或杂环烷基，它们是未取代的或被卤素-取代；或者R_1和R_2中的至少一个形成连接至所述D或E氨基酸之一的α位置的大环形成连接体L'；

-每个R_3独立地为氢、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、杂烷基、环烷基、杂环烷基、环烷基烷基、芳基或杂芳基，它们任选地被R_5取代；

-每个L和L'为式-L_1-L_2-的大环形成连接体；

-每个L_1、L_2和L_3独立地为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚芳基、亚杂芳基或[-R_4-K-R_4-]$_n$，其中每一个任选地被R_5取代；

-每个R_4独立地为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚芳基或亚杂芳基；

-每个K独立地为O、S、SO、SO_2、CO、CO_2或$CONR_3$；

-每个R_5独立地为卤素、烷基、-OR_6、-$N(R_6)_2$、-SR_6、-SOR_6、-SO_2R_6、-CO_2R_6、荧光部分、放射性同位素或治疗剂；

-每个R_6独立地为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基烷基、杂环烷基、荧光部分、放射性同位素或治疗剂；

-每个R_7独立地为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、杂烷基、环烷基烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基，它们任选地被R_5取代；

-每个v和w独立地为1-1000的整数；

-u为1-10的整数；

-每个x、y和z独立地为0-10的整数；且

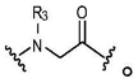
-n为1-5的整数。

[0213] 在一个实例中，L_1和L_2单独地或组合地不形成三唑或硫醚。

[0214] 在一个实例中，R_1和R_2中的至少一个是未取代的或被卤素-取代的烷基。在另一个实例中，R_1和R_2均独立地为未取代的或被卤素-取代的烷基。在一些实施方案中，R_1和R_2中的至少一个为甲基。在其他实施方案中，R_1和R_2为甲基。

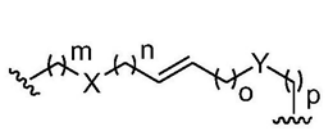
[0215] 在一些实施方案中，x+y+z之和至少为1。在其他实施方案中，x+y+z之和至少为2。在其他实施方案中，x+y+z之和为1、2、3、4、5、6、7、8、9或10。大环化合物或大环化合物前体

中每次出现的A、B、C、D或E独立地选择。例如，由式$[A]_x$表示的序列，当x为3时，包括其中氨基酸不相同的实施方案，例如Gln-Asp-Ala，以及其中氨基酸相同的实施方案，例如Gln-Gln-Gln。这适用于x、y或z在指定范围内的任意值。

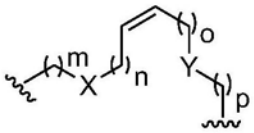
[0216] 在一些实施方案中，所述拟肽大环化合物包含为α-螺旋的二级结构且R_8为-H，从而允许螺旋内氢键键合。在一些实施方案中，A、B、C、D或E中的至少一个为α，α-二取代的氨基酸。在一个实例中，B为α，α-二取代的氨基酸。例如，A、B、C、D或E中的至少一个为2-氨基异丁酸。在其他实施方案中，A、B、C、D或E中的至少一个为。

[0217] 在其他实施方案中，选择从第一Cα到第二Cα测量的大环形成连接体L的长度，以稳定希望的二级肽结构，例如由拟肽大环化合物的残基(包括但不是必须限于第一Cα到第二Cα之间的残基)形成的α-螺旋。

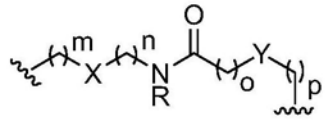
[0218] 以下示出了大环形成连接体-L_1-L_2-的实施方案的非限制性实例。



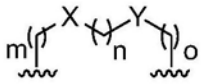
其中X, Y = -CH_2-, O, S 或 NH
m, n, o, p = 0-10



其中X, Y = -CH_2-, O, S 或 NH
m, n, o, p = 0-10

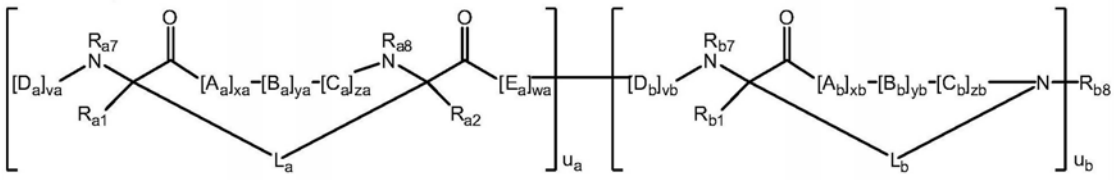


其中 X, Y = -CH_2-, O, S 或 NH
m, n, o, p = 0-10
R = H, 烷基, 其它取代基



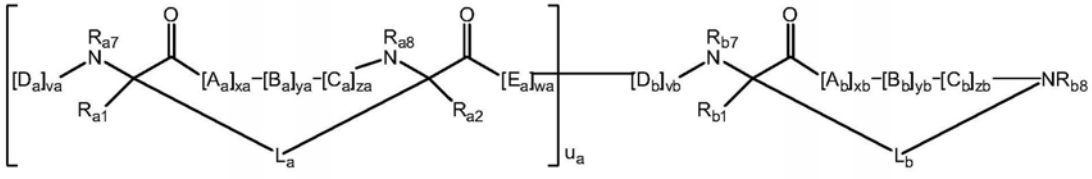
其中 X, Y = -CH_2-, O, S 或 NH
m, n, o = 0-10

[0219] 在一些实施方案中，所述拟肽大环化合物具有式(III)或式(IIIa)，或其药学上可接受的盐：



式（III）

或

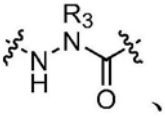


，

式（IIIa）

其中：

-每个A_a、C_a、D_a、E_a、A_b、C_b和D_b独立地为天然或非天然氨基酸或氨基酸类似物；

-每个B_a和B_b独立地为天然或非天然氨基酸、氨基酸类似物、、[-NH-L_4-CO-]、[-NH-L_4-SO_2-]或[-NH-L_4-]；

-每个R_{a1}独立地为烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、环烷基烷基、杂烷基或杂环烷基，其中任一个为未取代或取代的；或者为H；或者R_{a1}形成连接至D_a或E_a氨基酸之一的α位置的大环形成连接体L'；或与L_a一起形成未取代或取代的环；

-每个R_{a2}独立地为烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、环烷基烷基、杂烷基或杂环烷基，其中任一个为未取代或取代的；或者为H；或者R_{a2}形成连接至D_a或E_a氨基酸之一的α位置的大环形成连接体L'；或与L_a一起形成未取代或取代的环；

-每个R_{b1}独立地为烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、环烷基烷基、杂烷基或杂环烷基，其中任一个为未取代或取代的；或者为H；或者R_{b1}形成连接至D_b氨基酸之一的α位置的大环形成连接体L'；或与L_b一起形成未取代或取代的环；

-每个R_3独立地为烷基、烯基、炔基、芳基烷基、杂烷基、环烷基、杂环烷基、环烷基烷基、环芳基或杂环芳基，其中任一个为未取代或取代的，或者为H；

-每个L_a独立地为大环形成连接体，并且任选地与未取代或取代的R_{a1}或R_{a2}形成环；

-每个L_b独立地为大环形成连接体，并且任选地与未取代或取代的R_{b1}形成环；

-每个L'独立地为大环形成连接体；

-每个L_4独立地为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚环芳基、亚杂环芳基或$[-R_4-K-R_4-]_n$，其中任一个为未取代或取代的；

-每个R_4独立地为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚芳基或亚杂芳基，其中任一个为未取代或取代的；

-每个K独立地为O、S、SO、SO_2、CO、CO_2、OCO_2、NR_3、$CONR_3$、$OCONR_3$、OSO_2NR_3、NR_{3q}、$CONR_{3q}$、$OCONR_{3q}$或OSO_2NR_{3q}，其中每个R_{3q}独立地为附接至R_{a1}、R_{a2}或R_{b1}的附接点；

-R_{a7}为烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、杂烷基、环烷基烷基、杂环烷基、环芳基或杂环芳基，其中任一个为未取代或取代的；或者为H；或是与D_a氨基酸形成的环状结构的一部分；

-R_{b7}为烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、杂烷基、环烷基烷基、杂环烷基、环芳基或杂环芳基，其中任一个为未取代或取代的；或者为H；或是与D_b氨基酸形成的环状结构的一部分；

-R_{a8}为烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、杂烷基、环烷基烷基、杂环烷基、环芳基或杂环芳基，其中任一个为未取代或取代的；或者为H；或是与E_a氨基酸形成的环状结构的一部分；

-R_{b8}为烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、杂烷基、环烷基烷基、杂环烷基、环芳基或杂环芳基，其中任一个为未取代或取代的；或者为H；或1-1000个氨基酸残基的氨基酸序列；

-每个va和vb独立地为0-1000的整数；

-每个wa和wb独立地为0-1000的整数；

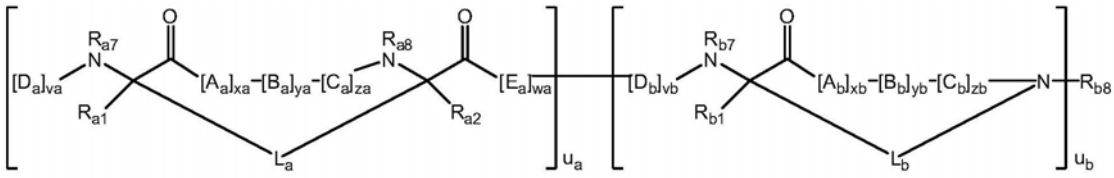
-每个ua和ub独立地为0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10，其中ua+ub至少为1；

-每个xa和xb独立地为0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10；

-每个ya和yb独立地为0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10；

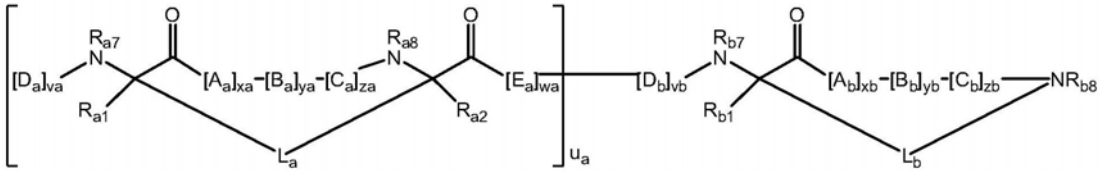
-每个za和zb独立地为0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10；且-每个n独立地为1、2、3、4或5。

[0220] 在一些实施方案中，所述拟肽大环化合物具有式(III)或式(IIIa)，或其药学上可接受的盐：



式（III）

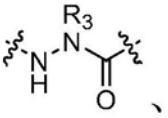
或



式（IIIa）

其中：

-每个A_a、C_a、D_a、E_a、A_b、C_b和D_b独立地为天然或非天然氨基酸或氨基酸类似物；

-每个B_a和B_b独立地为天然或非天然氨基酸、氨基酸类似物、、[-NH-L_4-CO-]、[-NH-L_4-SO_2-]或[-NH-L_4-]；

-每个R_{a1}独立地为烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、环烷基烷基、杂烷基或杂环烷基，其中任一个为未取代或取代的；或者为H；或者R_{a1}形成连接至D_a或E_a氨基酸之一的α位置的大环形成连接体L'；或与L_a一起形成未取代或取代的环；

-每个R_{a2}独立地为烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、环烷基烷基、杂烷基或杂环烷基，其中任一个为未取代或取代的；或者为H；或者R_{a2}形成连接至D_a或E_a氨基酸之一的α位置的大环形成连接体L'；或与L_a一起形成未取代或取代的环；

-每个R_{b1}独立地为烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、环烷基烷基、杂烷基或杂环烷基，其中任一个为未取代或取代的；或者为H；或者R_{b1}形成连接至D_b氨基酸之一的α位置的大环形成连接体L'；或与L_b一起形成未取代或取代的环；

-每个R_3独立地为烷基、烯基、炔基、芳基烷基、杂烷基、环烷基、杂环烷基、环烷基烷基、环芳基或杂环芳基，其中任一个为未取代的或被R_5取代，或者为H；

-每个L_a独立地为大环形成连接体，并且任选地与未取代或取代的R_{a1}或R_{a2}形成环；

-每个L_b独立地为大环形成连接体，并且任选地与未取代或取代的R_{b1}形成环；

-每个L'独立地为大环形成连接体；

-每个L_4独立地为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚环芳基、亚杂环芳基或$[-R_4-K-R_4-]_n$,其中任一个为未取代的或被R_5取代;

-每个R_4独立地为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚芳基或亚杂芳基,其中任一个为未取代的或被R_5取代;

-每个K独立地为O、S、SO、SO_2、CO、CO_2、OCO_2、NR_3、$CONR_3$、$OCONR_3$、OSO_2NR_3、NR_{3q}、$CONR_{3q}$、$OCONR_{3q}$或OSO_2NR_{3q},其中每个R_{3q}独立地为附接至R_{a1}、R_{a2}或R_{b1}的附接点;

-每个R_5独立地为卤素、烷基、$-OR_6$、$-N(R_6)_2$、$-SR_6$、$-SOR_6$、$-SO_2R_6$、$-CO_2R_6$、荧光部分、放射性同位素或治疗剂;

-每个R_6独立地为H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基烷基、杂环烷基、荧光部分、放射性同位素或治疗剂;

-每个R_{a7}独立地为烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、杂烷基、环烷基烷基、杂环烷基、环芳基或杂环芳基,其中任一个为未取代的或被R_5取代;或者为H;或是与D_a氨基酸形成的环状结构的一部分;

-R_{b7}为烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、杂烷基、环烷基烷基、杂环烷基、环芳基或杂环芳基,其中任一个为未取代的或被R_5取代;或者为H;或是与D_b氨基酸形成的环状结构的一部分;

-每个R_{a8}独立地为烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、杂烷基、环烷基烷基、杂环烷基、环芳基或杂环芳基,其中任一个为未取代的或被R_5取代;或者为H;或是与E_a氨基酸形成的环状结构的一部分;

-R_{b8}为烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、杂烷基、环烷基烷基、杂环烷基、环芳基或杂环芳基,其中任一个为未取代的或被R_5取代;或者为H;或1-1000个氨基酸残基的氨基酸序列;

-每个va和vb独立地为0-1000的整数;

-每个wa和wb独立地为0-1000的整数;

-每个ua和ub独立地为0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10,其中ua+ub至少为1;

-每个xa和xb独立地为0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10;

-每个ya和yb独立地为0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10;

-每个za和zb独立地为0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10;且

-每个n独立地为1、2、3、4或5。

[0221] 在一些实施方案中,本发明的拟肽大环化合物具有以上定义的通式,或其药学上可接受的盐,其中:

-每个L_a独立地为式$-L_1-L_2-$的大环形成连接体,并且任选地与未取代或取代的R_{a1}或R_{a2}形成环;

-每个L_b独立地为式$-L_1-L_2-$的大环形成连接体,并且任选地与未取代或取代的R_{b1}形成环;

-每个L'独立地为式$-L_1-L_2-$的大环形成连接体;

-每个L_1和L_2独立地为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚环芳基、亚杂环芳基或$[-R_4-K-R_4-]_n$,其中任一个为未取代的或被R_5取代;

-每个R_4独立地为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚芳

基或亚杂芳基，其中任一个为未取代的或被R_5取代；

-每个K独立地为O、S、SO、SO_2、CO、CO_2、OCO_2、NR_3、$CONR_3$、$OCONR_3$、OSO_2NR_3、NR_{3q}、$CONR_{3q}$、$OCONR_{3q}$或OSO_2NR_{3q}，其中每个R_{3q}独立地为附接至R_{a1}、R_{a2}或R_{b1}的附接点；

-每个R_5独立地为卤素、烷基、$-OR_6$、$-N(R_6)_2$、$-SR_6$、$-SOR_6$、$-SO_2R_6$、$-CO_2R_6$、荧光部分、放射性同位素或治疗剂；且

-每个R_6独立地为H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基烷基、杂环烷基、荧光部分、放射性同位素或治疗剂。

[0222] 在一些实施方案中，所述拟肽大环化合物具有以上定义的通式，其中L_a和L_b之一为含双硫醚的大环形成连接体。在一些实施方案中，L_a和L_b之一为式$-L_1-S-L_2-S-L_3-$的大环形成连接体。

[0223] 在一些实施方案中，所述拟肽大环化合物具有以上定义的通式，其中L_a和L_b之一为含双砜的大环形成连接体。在一些实施方案中，L_a和L_b之一为式$-L_1-SO_2-L_2-SO_2-L_3-$的大环形成连接体。

[0224] 在一些实施方案中，所述拟肽大环化合物具有以上定义的通式，其中L_a和L_b之一为含双亚砜的大环形成连接体。在一些实施方案中，L_a和L_b之一为式$-L_1-S(O)-L_2-S(O)-L_3-$的大环形成连接体。

[0225] 在一些实施方案中，本发明的拟肽大环化合物包含一种或多种二级结构。在一些实施方案中，该拟肽大环化合物包含为α-螺旋的二级结构。在一些实施方案中，该拟肽大环化合物包含为β-发夹折叠的二级结构。

[0226] 在一些实施方案中，u_a为0。在一些实施方案中，u_a为0，且L_b为交联α-螺旋二级结构的大环形成连接体。在一些实施方案中，u_a为0，且L_b为交联β-发夹二级结构的大环形成连接体。在一些实施方案中，u_a为0，且L_b为交联α-螺旋二级结构的含烃大环形成连接体。在一些实施方案中，u_a为0，且L_b为交联β-发夹二级结构的含烃大环形成连接体。

[0227] 在一些实施方案中，u_b为0。在一些实施方案中，u_b为0，且L_a为交联α-螺旋二级结构的大环形成连接体。在一些实施方案中，u_b为0，且L_a为交联β-发夹二级结构的大环形成连接体。在一些实施方案中，u_b为0，且L_a为交联α-螺旋二级结构的含烃大环形成连接体。在一些实施方案中，u_b为0，且L_a为交联β-发夹二级结构的含烃大环形成连接体。

[0228] 在一些实施方案中，所述拟肽大环化合物仅包含α-螺旋二级结构。在其他实施方案中，所述拟肽大环化合物仅包含β-发夹二级结构。

[0229] 在其他实施方案中，所述拟肽大环化合物包含二级结构的组合，其中所述二级结构为α-螺旋和β-发夹结构。在一些实施方案中，L_a和L_b为含烃、含三唑或含硫大环形成连接体的组合。在一些实施方案中，该拟肽大环化合物包含L_a和L_b，其中L_a为交联β-发夹结构的含烃大环形成连接体，且L_b为交联α-螺旋结构的含三唑大环形成连接体。在一些实施方案中，该拟肽大环化合物包含L_a和L_b，其中L_a为交联α-螺旋结构的含烃大环形成连接体，且L_b为交联β-发夹结构的含三唑大环形成连接体。在一些实施方案中，该拟肽大环化合物包含L_a和L_b，其中L_a为交联α-螺旋结构的含三唑大环形成连接体，且L_b为交联β-发夹结构的含烃大环形成连接体。在一些实施方案中，该拟肽大环化合物包含L_a和L_b，其中L_a为交联β-发夹结构的含三唑大环形成连接体，且L_b为交联α-螺旋结构的含烃大环形成连接体。

[0230] 在一些实施方案中，u_a+u_b至少为1。在一些实施方案中，$u_a+u_b=2$。

[0231] 在一些实施方案中，u_a为1，u_b为1，L_a为交联α-螺旋二级结构的含三唑大环形成连接体，且L_b为交联α-螺旋结构的含烃大环形成连接体。在一些实施方案中，u_a为1，u_b为1，L_a为交联α-螺旋二级结构的含三唑大环形成连接体，且L_b为交联β-发夹结构的含烃大环形成连接体。在一些实施方案中，u_a为1，u_b为1，L_a为交联β-发夹二级结构的含三唑大环形成连接体，且L_b为交联α-螺旋结构的含烃大环形成连接体。在一些实施方案中，u_a为1，u_b为1，L_a为交联β-发夹二级结构的含三唑大环形成连接体，且L_b为交联β-发夹结构的含烃大环形成连接体。

[0232] 在一些实施方案中，u_a为1，u_b为1，L_a为交联α-螺旋二级结构的含烃大环形成连接体，且L_b为交联α-螺旋二级结构的含三唑大环形成连接体。在一些实施方案中，u_a为1，u_b为1，L_a为交联α-螺旋二级结构的含烃大环形成连接体，且L_b为交联β-发夹二级结构的含三唑大环形成连接体。在一些实施方案中，u_a为1，u_b为1，L_a为交联β-发夹二级结构的含烃大环形成连接体，且L_b为交联α-螺旋二级结构的含三唑大环形成连接体。在一些实施方案中，u_a为1，u_b为1，L_a为交联β-发夹二级结构的含烃大环形成连接体，且L_b为交联β-发夹二级结构的含三唑大环形成连接体。

[0233] 在一些实施方案中，u_a为1，u_b为1，L_a为具有α-螺旋二级结构的含烃大环形成连接体，且L_b为含硫大环形成连接体。在一些实施方案中，u_a为1，u_b为1，L_a为具有β-发夹二级结构的含烃大环形成连接体，且L_b为含硫大环形成连接体。

[0234] 在一些实施方案中，u_a为1，u_b为1，L_a为含硫大环形成连接体，且L_b为具有α-螺旋二级结构的含烃大环形成连接体。在一些实施方案中，u_a为1，u_b为1，L_a为含硫大环形成连接体，且L_b为具有β-发夹二级结构的含烃大环形成连接体。

[0235] 在一些实施方案中，u_a为1，u_b为1，L_a为交联α-螺旋结构的含烃大环形成连接体，且L_b为交联α-螺旋结构的含烃大环形成连接体。在一些实施方案中，u_a为1，u_b为1，L_a为交联α-螺旋结构的含烃大环形成连接体，且L_b为交联β-发夹结构的含烃大环形成连接体。在一些实施方案中，u_a为1，u_b为1，L_a为交联β-发夹结构的含烃大环形成连接体，且L_b为交联α-螺旋结构的含烃大环形成连接体。在一些实施方案中，u_a为1，u_b为1，L_a为交联β-发夹结构的含烃大环形成连接体，且L_b为交联β-发夹结构的含烃大环形成连接体。

[0236] 在一些实施方案中，R_{b1}为H。

[0237] 除非另有说明，否则任何化合物(包括拟肽大环化合物、大环化合物前体和其他组合物)也意在包括仅在是否存在一个或多个同位素富集的原子方面不同的化合物。例如，涉及除了氢原子被氘或氚替代或者碳原子被^{13}C或^{14}C替代以外具有所述结构的化合物。

[0238] 在一些实施方案中，本文公开的化合物可以在构成此类化合物的一个或多个原子处含有非自然比例的原子同位素。例如，该化合物可以用诸如例如氚(^{3}H)、碘-125(^{125}I)或碳-14(^{14}C)的放射性同位素进行放射性标记。在其他实施方案中，一个或多个碳原子被硅原子替代。本文涉及本文公开的化合物的所有同位素变化，无论是放射性的还是非放射性的。

[0239] 在一些实施方案中，所述拟肽大环化合物包含与表1、表1a、表1b、表1c、表2a、表2b、表3或表3a中列出的氨基酸序列至少60％、至少65％、至少70％、至少75％、至少80％、至少85％、至少90％或至少95％相同的氨基酸序列。在一些实施方案中，所述拟肽大环化合物包含与表1、表1a、表1b、表1c、表2a、表2b、表3或表3a中列出的氨基酸序列至少60％相同的氨基酸序列。在一些实施方案中，所述拟肽大环化合物包含与表1、表1a、表1b、表1c、表2a、

表2b、表3或表3a中列出的氨基酸序列至少65％相同的氨基酸序列。在一些实施方案中，所述拟肽大环化合物包含与表1、表1a、表1b、表1c、表2a、表2b、表3或表3a中列出的氨基酸序列至少70％相同的氨基酸序列。在一些实施方案中，所述拟肽大环化合物包含与表1、表1a、表1b、表1c、表2a、表2b、表3或表3a中列出的氨基酸序列至少75％相同的氨基酸序列。

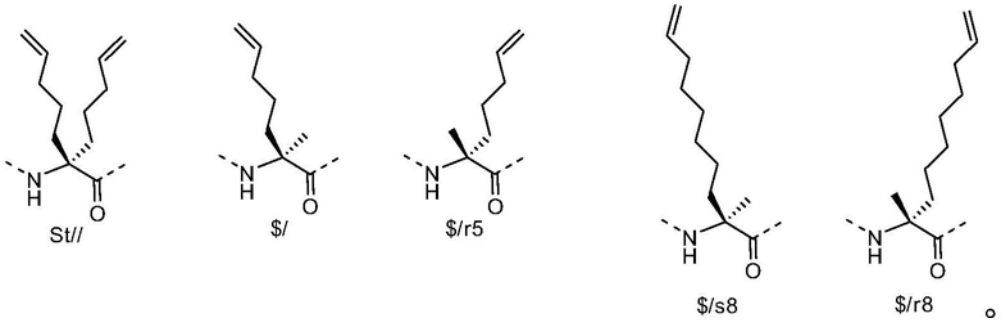
[0240] 在一些实施方案中，所述拟肽大环化合物与表1、表1a、表1b、表1c、表2a、表2b、表3或表3a中列出的氨基酸序列至少60％、至少65％、至少70％、至少75％、至少80％、至少85％、至少90％或至少95％相同。在一些实施方案中，所述拟肽大环化合物与表1、表1a、表1b、表1c、表2a、表2b、表3或表3a中列出的氨基酸序列至少60％相同。在一些实施方案中，所述拟肽大环化合物与表1、表1a、表1b、表1c、表2a、表2b、表3或表3a中列出的氨基酸序列至少65％相同。在一些实施方案中，所述拟肽大环化合物与表1、表1a、表1b、表1c、表2a、表2b、表3或表3a中列出的氨基酸序列至少70％相同。在一些实施方案中，所述拟肽大环化合物与表1、表1a、表1b、表1c、表2a、表2b、表3或表3a中列出的氨基酸序列至少75％相同。

[0241] 在一些实施方案中，拟肽大环化合物具有的氨基酸序列包含羧基末端、跨越在该氨基酸序列的i到i+7位置的氨基酸的交联以及在该氨基酸序列的i+7位置与羧基末端之间的至少1个、至少2个、至少3个、至少4个、至少5个、1-100、2-100、3-100、4-100、5-100、1-10、2-10、3-10、4-10或5-10个氨基酸。

拟肽大环化合物的制备

[0242] 拟肽大环化合物可以通过本领域已知的众多方法中的任意方法来制备。例如，在表1、表1a、表1b、表1c、表2a、表2b、表3或表3a中由“$”或“$r8”表示的任何残基可以被替换为能够与同一分子中的第二残基形成交联体的残基或这样的残基的前体。

[0243] α,α-二取代的氨基酸和氨基酸前体可以在拟肽大环化合物前体多肽的合成中使用。例如，“S5-烯烃氨基酸”是(S)-α-(2’-戊烯基)丙氨酸，且“R8-烯烃氨基酸”是(R)-α-(2’-辛烯基)丙氨酸。在将这样的氨基酸掺入前体多肽中之后，末端烯烃与复分解反应催化剂反应，从而导致拟肽大环化合物的形成。在多个实施方案中，下列氨基酸可用于合成拟肽大环化合物：



[0244] 在其他实施方案中，所述拟肽大环化合物为式IV或IVa。在这样的实施方案中，使用在α-位含有另外的取代基R-的氨基酸前体。这样的氨基酸在希望的位置并入大环化合物前体中，其可以处于交联体被取代的位置，或者，备选地，在大环化合物前体序列中的其他位置。然后根据指定的方法实现前体的环化。

药学上可接受的盐

[0245] 本发明提供本文描述的任何治疗性化合物的药学上可接受的盐的用途。药学上可接受的盐包括，例如，酸加成盐和碱加成盐。添加至化合物以形成酸加成盐的酸可以是有机

酸或无机酸。添加至化合物以形成碱加成盐的碱可以是有机碱或无机碱。在一些实施方案中，药学上可接受的盐是金属盐。在一些实施方案中，药学上可接受的盐是铵盐。

[0246] 金属盐可以通过向本发明化合物添加无机碱而产生。无机碱由与诸如氢氧根、碳酸根、碳酸氢根或磷酸根等碱性平衡离子配对的金属阳离子组成。该金属可以是碱金属、碱土金属、过渡金属或主族金属。在一些实施方案中，该金属是锂、钠、钾、铯、铈、镁、锰、铁、钙、锶、钴、钛、铝、铜、镉或锌。

[0247] 在一些实施方案中，金属盐为锂盐、钠盐、钾盐、铯盐、铈盐、镁盐、锰盐、铁盐、钙盐、锶盐、钴盐、钛盐、铝盐、铜盐、镉盐或锌盐。

[0248] 铵盐可以通过向本发明化合物添加氨或有机胺而产生。在一些实施方案中，该有机胺是三乙胺、二异丙胺、乙醇胺、二乙醇胺、三乙醇胺、吗啉、N-甲基吗啉、哌啶、N-甲基哌啶、N-乙基哌啶、二苄胺、哌嗪、吡啶、吡唑、吡咯唑(pipyrrazole)、咪唑、吡嗪或哌咯嗪(pipyrazine)。

[0249] 在一些实施方案中，铵盐是三乙胺盐、二异丙胺盐、乙醇胺盐、二乙醇胺盐、三乙醇胺盐、吗啉盐、N-甲基吗啉盐、哌啶盐、N-甲基哌啶盐、N-乙基哌啶盐、二苄胺盐、哌嗪盐、吡啶盐、吡唑盐、吡咯唑盐、咪唑盐、吡嗪盐或哌咯嗪盐。

[0250] 酸加成盐可以通过向本发明化合物添加酸而产生。在一些实施方案中，该酸是有机的。在一些实施方案中，该酸是无机的。在一些实施方案中，该酸为盐酸、氢溴酸、氢碘酸、硝酸、亚硝酸、硫酸、亚硫酸、磷酸、异烟酸、乳酸、水杨酸、酒石酸、抗坏血酸、龙胆酸、葡糖酸、葡糖醛酸(glucaronic acid)、糖二酸(saccaric acid)、甲酸、苯甲酸、谷氨酸、泛酸、乙酸、丙酸、丁酸、富马酸、琥珀酸、甲磺酸、乙磺酸、苯磺酸、对甲苯磺酸、柠檬酸、草酸或马来酸。合适的酸式盐的实例包括乙酸盐、己二酸盐、苯甲酸盐、苯磺酸盐、丁酸盐、柠檬酸盐、二葡糖酸盐、十二烷基硫酸盐、甲酸盐、延胡索酸盐、乙醇酸盐、半硫酸盐、庚酸盐、己酸盐、盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、乳酸盐、马来酸盐、丙二酸盐、甲磺酸盐、2-萘磺酸盐、烟酸盐、硝酸盐、帕莫酸盐(palmoate)、磷酸盐、苦味酸盐、新戊酸盐、丙酸盐、水杨酸盐、琥珀酸盐、硫酸盐、酒石酸盐、甲苯磺酸盐和十一酸盐(undecanoate)。由合适的碱衍生的盐包括碱金属盐(例如，钠盐)、碱土金属盐(例如，镁盐)、铵盐和N-(烷基)$_4^+$盐。

[0251] 在一些实施方案中，所述盐是盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、硝酸盐、亚硝酸盐、硫酸盐、亚硫酸盐、磷酸盐、异烟酸盐、乳酸盐、水杨酸盐、酒石酸盐、抗坏血酸盐、龙胆酸盐、葡糖酸盐、葡糖醛酸盐、糖二酸盐、甲酸盐、苯甲酸盐、谷氨酸盐、泛酸盐、乙酸盐、丙酸盐、丁酸盐、富马酸盐、琥珀酸盐、甲烷磺酸盐(甲磺酸盐)、乙磺酸盐、苯磺酸盐、对甲苯磺酸盐、柠檬酸盐、草酸盐或马来酸盐。

本发明化合物的纯度

[0252] 本文的任何化合物可以被纯化。本文的化合物可以是至少1％纯、至少2％纯、至少3％纯、至少4％纯、至少5％纯、至少6％纯、至少7％纯、至少8％纯、至少9％纯、至少10％纯、至少11％纯、至少12％纯、至少13％纯、至少14％纯、至少15％纯、至少16％纯、至少17％纯、至少18％纯、至少19％纯、至少20％纯、至少21％纯、至少22％纯、至少23％纯、至少24％纯、至少25％纯、至少26％纯、至少27％纯、至少28％纯、至少29％纯、至少30％纯、至少31％纯、至少32％纯、至少33％纯、至少34％纯、至少35％纯、至少36％纯、至少37％纯、至少38％纯、至少39％纯、至少40％纯、至少41％纯、至少42％纯、至少43％纯、至少44％纯、至少45％纯、

至少46％纯、至少47％纯、至少48％纯、至少49％纯、至少50％纯、至少51％纯、至少52％纯、至少53％纯、至少54％纯、至少55％纯、至少56％纯、至少57％纯、至少58％纯、至少59％纯、至少60％纯、至少61％纯、至少62％纯、至少63％纯、至少64％纯、至少65％纯、至少66％纯、至少67％纯、至少68％纯、至少69％纯、至少70％纯、至少71％纯、至少72％纯、至少73％纯、至少74％纯、至少75％纯、至少76％纯、至少77％纯、至少78％纯、至少79％纯、至少80％纯、至少81％纯、至少82％纯、至少83％纯、至少84％纯、至少85％纯、至少86％纯、至少87％纯、至少88％纯、至少89％纯、至少90％纯、至少91％纯、至少92％纯、至少93％纯、至少94％纯、至少95％纯、至少96％纯、至少97％纯、至少98％纯、至少99％纯、至少99.1％纯、至少99.2％纯、至少99.3％纯、至少99.4％纯、至少99.5％纯、至少99.6％纯、至少99.7％纯、至少99.8％纯或至少99.9％纯。

药物组合物

[0253] 本文公开的药物组合物包含拟肽大环化合物及其药学上可接受的衍生物或前药。“药学上可接受的衍生物”意指本文公开的化合物的任何药学上可接受的盐、酯、酯的盐、前药或其他衍生物，其在向接受者施用后能够(直接或间接地)提供本文公开的化合物。尤其有利的药学上可接受的衍生物是当向哺乳动物施用时可以提高该化合物的生物利用度(例如，通过提高口服施用的化合物进入血液的吸收)，或相对于母体物质增加活性化合物向生物区室(例如，脑或淋巴系统)的递送的那些衍生物。一些药学上可接受的衍生物包含提高水溶性或跨过胃肠粘膜的主动转运的化学基团。

[0254] 在一些实施方案中，拟肽大环化合物通过共价或非共价地连接的合适的官能团进行修饰，以提高选择性的生物学性质。这样的修饰包括那些提高进入给定生物区室(例如，血液、淋巴系统、中枢神经系统)的生物学渗透性、提高口服利用度、增加溶解度以允许注射施用、改变代谢以及改变排泄率的修饰。

[0255] 为了由本文公开的化合物制备药物组合物，药学上可接受的载体包括固体或液体载体。固体形式的制剂包括粉剂、片剂、丸剂、胶囊剂、扁囊剂、栓剂和分散颗粒剂。固体载体可以是一种或多种物质，其也可以作为稀释剂、调味剂、粘合剂、防腐剂、片剂崩解剂或包封材料发挥作用。

[0256] 在粉剂中，载体是细碎的固体，其与细碎的活性成分混合。在片剂中，活性成分与具有必要粘合性质的载体按照适当的比例混合，并压制成需要的形状和大小。

[0257] 合适的固体赋形剂是碳水化合物或蛋白质填料，包括但不限于：糖，包括乳糖、蔗糖、甘露醇或山梨醇；来自玉米、小麦、水稻、马铃薯或其他植物的淀粉；纤维素，如甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素或羧甲基纤维素钠；和树胶，包括阿拉伯树胶和黄蓍胶；以及蛋白质，如明胶和胶原蛋白。如果需要的话，加入崩解剂或增溶剂，如交联的聚乙烯吡咯烷酮、琼脂、藻酸或其盐如藻酸钠。

[0258] 液体形式的制剂包括溶液、悬浮液和乳液，例如，水或水/丙二醇溶液。对于肠胃外注射，液体制剂可以在聚乙二醇水溶液中配制成溶液。

[0259] 药物制剂可以是单位剂型。在这样的形式中，制剂细分为含有适量活性成分的单位剂量。单位剂型可以是包装制剂，该包装包含不连续量的制剂，如包装的片剂、胶囊和小瓶或安瓿中的粉末。另外，单位剂型也可以是胶囊、片剂、扁囊剂或锭剂本身，或者可以是包装形式的适当数目的这些剂型中的任一种。

[0260] 当一种或多种本文公开的组合物包含拟肽大环化合物和一种或多种附加治疗剂或预防剂的组合时，该化合物和附加药剂都应该以通常在单一治疗方案中施用的剂量的大约1-100％的剂量水平，更优选大约5-95％的剂量水平存在。在一些实施方案中，附加药剂作为多剂量方案的一部分与一种或多种本文公开的化合物分开施用。或者，这些药剂是单一剂型的一部分，在单一组合物中与本文公开的化合物混合在一起。

[0261] 在一些实施方案中，本文公开的药物组合物包含浓度为约5mg/mL至约50mg/mL的拟肽大环化合物。在一些实施方案中，本文公开的药物组合物包含浓度为约5mg/mL至约10mg/mL、约5mg/mL至约15mg/mL、约5mg/mL至约20mg/mL、约5mg/mL至约30mg/mL、约5mg/mL至约40mg/mL、约5mg/mL至约50mg/mL、约10mg/mL至约15mg/mL、约10mg/mL至约20mg/mL、约10mg/mL至约30mg/mL、约10mg/mL至约40mg/mL、约10mg/mL至约50mg/mL、约15mg/mL至约20mg/mL、约15mg/mL至约30mg/mL、约15mg/mL至约40mg/mL、约15mg/mL至约50mg/mL、约20mg/mL至约30mg/mL、约20mg/mL至约40mg/mL、约20mg/mL至约50mg/mL、约30mg/mL至约40mg/mL、约30mg/mL至约50mg/mL或约40mg/mL至约50mg/mL的拟肽大环化合物。在一些实施方案中，本文公开的药物组合物包含浓度为约5mg/mL、约10mg/mL、约15mg/mL、约20mg/mL、约30mg/mL、约40mg/mL或约50mg/mL的拟肽大环化合物。在一些实施方案中，本文公开的药物组合物包含浓度为至少约5mg/mL、约10mg/mL、约15mg/mL、约20mg/mL、约30mg/mL或约40mg/mL的拟肽大环化合物。在一些实施方案中，本文公开的药物组合物包含浓度为至多约10mg/mL、约15mg/mL、约20mg/mL、约30mg/mL、约40mg/mL或约50mg/mL的拟肽大环化合物。

[0262] 在一些实施方案中，本文公开的药物组合物包含海藻糖。在一些实施方案中，本文公开的药物组合物中海藻糖的浓度为约10mg/mL至约500mg/mL。在一些实施方案中，本文公开的药物组合物中海藻糖的浓度为约10mg/mL至约20mg/mL、约10mg/mL至约30mg/mL、约10mg/mL至约40mg/mL、约10mg/mL至约50mg/mL、约10mg/mL至约60mg/mL、约10mg/mL至约70mg/mL、约10mg/mL至约80mg/mL、约10mg/mL至约90mg/mL、约10mg/mL至约100mg/mL、约10mg/mL至约250mg/mL、约10mg/mL至约500mg/mL、约20mg/mL至约30mg/mL、约20mg/mL至约40mg/mL、约20mg/mL至约50mg/mL、约20mg/mL至约60mg/mL、约20mg/mL至约70mg/mL、约20mg/mL至约80mg/mL、约20mg/mL至约90mg/mL、约20mg/mL至约100mg/mL、约20mg/mL至约250mg/mL、约20mg/mL至约500mg/mL、约30mg/mL至约40mg/mL、约30mg/mL至约50mg/mL、约30mg/mL至约60mg/mL、约30mg/mL至约70mg/mL、约30mg/mL至约80mg/mL、约30mg/mL至约90mg/mL、约30mg/mL至约100mg/mL、约30mg/mL至约250mg/mL、约30mg/mL至约500mg/mL、约40mg/mL至约50mg/mL、约40mg/mL至约60mg/mL、约40mg/mL至约70mg/mL、约40mg/mL至约80mg/mL、约40mg/mL至约90mg/mL、约40mg/mL至约100mg/mL、约40mg/mL至约250mg/mL、约40mg/mL至约500mg/mL、约50mg/mL至约60mg/mL、约50mg/mL至约70mg/mL、约50mg/mL至约80mg/mL、约50mg/mL至约90mg/mL、约50mg/mL至约100mg/mL、约50mg/mL至约250mg/mL、约50mg/mL至约500mg/mL、约60mg/mL至约70mg/mL、约60mg/mL至约80mg/mL、约60mg/mL至约90mg/mL、约60mg/mL至约100mg/mL、约60mg/mL至约250mg/mL、约60mg/mL至约500mg/mL、约70mg/mL至约80mg/mL、约70mg/mL至约90mg/mL、约70mg/mL至约100mg/mL、约70mg/mL至约250mg/mL、约70mg/mL至约500mg/mL、约80mg/mL至约90mg/mL、约80mg/mL至约100mg/mL、约80mg/mL至约250mg/mL、约80mg/mL至约500mg/mL、约90mg/mL至约100mg/mL、约90mg/mL至约250mg/mL、约90mg/mL至约500mg/mL、约100mg/mL至约250mg/mL、约100mg/mL至约500mg/mL

或约250mg/mL至约500mg/mL。在一些实施方案中，本文公开的药物组合物中海藻糖的浓度为约10mg/mL、约20mg/mL、约30mg/mL、约40mg/mL、约50mg/mL、约60mg/mL、约70mg/mL、约80mg/mL、约90mg/mL、约100mg/mL、约250mg/mL或约500mg/mL。在一些实施方案中，本文公开的药物组合物中海藻糖的浓度为至少约10mg/mL、约20mg/mL、约30mg/mL、约40mg/mL、约50mg/mL、约60mg/mL、约70mg/mL、约80mg/mL、约90mg/mL、约100mg/mL或约250mg/mL。在一些实施方案中，本文公开的药物组合物中海藻糖的浓度为至多约20mg/mL、约30mg/mL、约40mg/mL、约50mg/mL、约60mg/mL、约70mg/mL、约80mg/mL、约90mg/mL、约100mg/mL、约250mg/mL或约500mg/mL。

[0263] 在一些实施方案中，本文公开的药物组合物中海藻糖的浓度为约100mM至约500mM。在一些实施方案中，本文公开的药物组合物中海藻糖的浓度为约100mM至约200mM、约100mM至约220mM、约100mM至约240mM、约100mM至约260mM、约100mM至约280mM、约100mM至约300mM、约100mM至约350mM、约100mM至约400mM、约100mM至约450mM、约100mM至约500mM、约200mM至约220mM、约200mM至约240mM、约200mM至约260mM、约200mM至约280mM、约200mM至约300mM、约200mM至约350mM、约200mM至约400mM、约200mM至约450mM、约200mM至约500mM、约220mM至约240mM、约220mM至约260mM、约220mM至约280mM、约220mM至约300mM、约220mM至约350mM、约220mM至约400mM、约220mM至约450mM、约220mM至约500mM、约240mM至约260mM、约240mM至约280mM、约240mM至约300mM、约240mM至约350mM、约240mM至约400mM、约240mM至约450mM、约240mM至约500mM、约260mM至约280mM、约260mM至约300mM、约260mM至约350mM、约260mM至约400mM、约260mM至约450mM、约260mM至约500mM、约280mM至约300mM、约280mM至约350mM、约280mM至约400mM、约280mM至约450mM、约280mM至约500mM、约300mM至约350mM、约300mM至约400mM、约300mM至约450mM、约300mM至约500mM、约350mM至约400mM、约350mM至约450mM、约350mM至约500mM、约400mM至约450mM、约400mM至约500mM或约450mM至约500mM。在一些实施方案中，本文公开的药物组合物中海藻糖的浓度为约100mM、约200mM、约220mM、约240mM、约260mM、约280mM、约300mM、约350mM、约400mM、约450mM或约500mM。在一些实施方案中，本文公开的药物组合物中海藻糖的浓度为至少约100mM、约200mM、约220mM、约240mM、约260mM、约280mM、约300mM、约350mM、约400mM或约450mM。在一些实施方案中，本文公开的药物组合物中海藻糖的浓度为至多约200mM、约220mM、约240mM、约260mM、约280mM、约300mM、约350mM、约400mM、约450mM或约500mM.

[0264] 在一些实施方案中，本文公开的药物组合物包含张度调节剂。在一些实施方案中，张度调节剂的浓度为约100mM至约500mM。在一些实施方案中，张度调节剂的浓度为约100mM至约200mM、约100mM至约220mM、约100mM至约240mM、约100mM至约260mM、约100mM至约280mM、约100mM至约300mM、约100mM至约350mM、约100mM至约400mM、约100mM至约450mM、约100mM至约500mM、约200mM至约220mM、约200mM至约240mM、约200mM至约260mM、约200mM至约280mM、约200mM至约300mM、约200mM至约350mM、约200mM至约400mM、约200mM至约450mM、约200mM至约500mM、约220mM至约240mM、约220mM至约260mM、约220mM至约280mM、约220mM至约300mM、约220mM至约350mM、约220mM至约400mM、约220mM至约450mM、约220mM至约500mM、约240mM至约260mM、约240mM至约280mM、约240mM至约300mM、约240mM至约350mM、约240mM至约400mM、约240mM至约450mM、约240mM至约500mM、约260mM至约280mM、约260mM至约300mM、约260mM至约350mM、约260mM至约400mM、约260mM至约450mM、约260mM至约500mM、约280mM至约

300mM、约280mM至约350mM、约280mM至约400mM、约280mM至约450mM、约280mM至约500mM、约300mM至约350mM、约300mM至约400mM、约300mM至约450mM、约300mM至约500mM、约350mM至约400mM、约350mM至约450mM、约350mM至约500mM、约400mM至约450mM、约400mM至约500mM或约450mM至约500mM。在一些实施方案中，张度调节剂的浓度为约100mM、约200mM、约220mM、约240mM、约260mM、约280mM、约300mM、约350mM、约400mM、约450mM或约500mM。在一些实施方案中，张度调节剂的浓度为至少约100mM、约200mM、约220mM、约240mM、约260mM、约280mM、约300mM、约350mM、约400mM或约450mM。在一些实施方案中，张度调节剂的浓度为至多约200mM、约220mM、约240mM、约260mM、约280mM、约300mM、约350mM、约400mM、约450mM或约500mM。在一些实施方案中，张度调节剂为海藻糖。

[0265] 本公开的药物组合物可包含聚山梨醇酯。在一些实施方案中，聚山梨醇酯充当稳定剂。在一些实施方案中，聚山梨醇酯以约50ppm至约500ppm的浓度存在于本文公开的药物组合物中。在一些实施方案中，聚山梨醇酯以约50ppm至约100ppm、约50ppm至约150ppm、约50ppm至约200ppm、约50ppm至约250ppm、约50ppm至约300ppm、约50ppm至约350ppm、约50ppm至约400ppm、约50ppm至约450ppm、约50ppm至约500ppm、约100ppm至约150ppm、约100ppm至约200ppm、约100ppm至约250ppm、约100ppm至约300ppm、约100ppm至约350ppm、约100ppm至约400ppm、约100ppm至约450ppm、约100ppm至约500ppm、约150ppm至约200ppm、约150ppm至约250ppm、约150ppm至约300ppm、约150ppm至约350ppm、约150ppm至约400ppm、约150ppm至约450ppm、约150ppm至约500ppm、约200ppm至约250ppm、约200ppm至约300ppm、约200ppm至约350ppm、约200ppm至约400ppm、约200ppm至约450ppm、约200ppm至约500ppm、约250ppm至约300ppm、约250ppm至约350ppm、约250ppm至约400ppm、约250ppm至约450ppm、约250ppm至约500ppm、约300ppm至约350ppm、约300ppm至约400ppm、约300ppm至约450ppm、约300ppm至约500ppm、约350ppm至约400ppm、约350ppm至约450ppm、约350ppm至约500ppm、约400ppm至约450ppm、约400ppm至约500ppm或约450ppm至约500ppm的浓度存在于本文公开的药物组合物中。在一些实施方案中，聚山梨醇酯以约50ppm、约100ppm、约150ppm、约200ppm、约250ppm、约300ppm、约350ppm、约400ppm、约450ppm或约500ppm的浓度存在于本文公开的药物组合物中。在一些实施方案中，聚山梨醇酯以至少约50ppm、约100ppm、约150ppm、约200ppm、约250ppm、约300ppm、约350ppm、约400ppm或约450ppm的浓度存在于本文公开的药物组合物中。在一些实施方案中，聚山梨醇酯以至多约100ppm、约150ppm、约200ppm、约250ppm、约300ppm、约350ppm、约400ppm、约450ppm或约500ppm的浓度存在于本文公开的药物组合物中。本文公开的药物组合物中存在的聚山梨醇酯的非限制性实例包括聚山梨醇酯20、聚山梨醇酯21、聚山梨醇酯40、聚山梨醇酯60、聚山梨醇酯61、聚山梨醇酯65、聚山梨醇酯80、聚山梨醇酯81、聚山梨醇酯85或聚山梨醇酯120。

[0266] 在一方面，本公开提供了包含与一种或多种药学上可接受的载体(添加剂)和/或稀释剂一起配制的、治疗有效量的一种或多种上述拟肽大环化合物的药物制剂。在一个实施方案中，一种或多种本文所述的拟肽大环化合物被配制用于肠胃外给药，本文公开的一种或多种拟肽大环化合物可被配制为水性或非水性溶液、分散液、悬浮液或乳液，或可在临使用前重建成无菌可注射溶液或分散液的无菌粉末。这样的制剂可包含糖、醇、抗氧化剂、缓冲液、抑菌剂、使该制剂与意向接受者的血液等渗的溶质，或悬浮剂或增稠剂。这些组合物还可含有辅剂，如防腐剂、润湿剂、乳化剂和分散剂。可通过包含各种抗细菌剂和抗真菌

剂，例如，对羟基苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚山梨酸等，确保防止微生物作用于主题化合物。还可期望组合物中包含等渗剂，如糖、氯化钠等。此外，可通过包含延缓吸收的药剂如单硬脂酸铝和明胶，导致可注射药物形式的延长吸收。若需要，可在使用前，用例如等渗盐水溶液或右旋糖溶液稀释该制剂。在一些实例中，所述拟肽大环化合物被配置为水溶液并静脉内施用。

给药方式

[0267] 治疗有效量的本公开的拟肽大环化合物可以作为单剂量或多剂量通过任何接受的给药方式施用。在一些实施方案中，肠胃外施用本公开的拟肽大环化合物，例如通过皮下、肌肉内、鞘内、静脉内或硬膜外注射。例如，静脉内、动脉内、皮下或通过输注施用所述拟肽大环化合物。在一些实例中，静脉内施用所述拟肽大环化合物。在一些实例中，动脉内施用所述拟肽大环化合物。

[0268] 无论所选择的给药途径如何，本公开的拟肽大环化合物和/或本公开的药物组合物均配制成药学上可接受的剂型。通过与其他药物类似的方法，可将根据本公开的拟肽大环化合物配制用于以任何方便的方式施用以用于人类或兽医学中。

[0269] 在一些实施方案中，拟肽大环化合物与附加药学活性剂，例如本文所述的任何附加治疗剂联合施用。在一些实施方案中，附加药学活性剂经肠胃外施用，例如通过皮下、肌肉内、鞘内、静脉内或硬膜外注射来施用。拟肽大环化合物和附加药学活性剂，例如本文所述的任何附加治疗剂可以经由相同或不同的给药途径施用。例如，静脉内施用拟肽大环化合物或附加药学活性剂，例如本文所述的任何附加治疗剂，而全身或口服施用另一种可能是有利的。例如，可以静脉内施用拟肽大环化合物，而可以口服施用附加药学活性剂。在另一个实例中，拟肽大环化合物和附加药学活性剂，例如本文所述的任何附加治疗剂均静脉内施用。

联合治疗

[0270] 本文提供了治疗癌症的方法，其涉及将本文公开的拟肽大环化合物与一种或多种附加疗法联合施用于患有癌症的受试者。在一些实施方案中，该癌症具有p53灭活突变和/或缺乏野生型p53。在一些实施方案中，在治疗开始之前确定癌症具有p53灭活突变和/或缺乏野生型p53。在一些实施方案中，受试者在非癌组织如骨髓或消化道组织中具有野生型p53。在一些实施方案中，本文提出了用于治疗癌症的联合疗法，其包括将有效量的本文公开的拟肽大环化合物与有效量的附加药学活性剂联合施用于患有p53突变型癌症并且其骨髓表达野生型p53的受试者。在一些实施方案中，本文提出了用于治疗癌症的联合疗法，其包括将有效量的本文公开的拟肽大环化合物与有效量的附加药学活性剂联合施用于患有缺乏野生型p53的癌症并且其骨髓表达野生型p53的受试者。在一些实施方案中，本文提出了用于治疗癌症的联合疗法，其包括将有效量的本文公开的拟肽大环化合物与有效量的附加药学活性剂联合施用于患有p53突变型癌症并且其消化道组织表达野生型p53的受试者。在一些实施方案中，本文提出了用于治疗癌症的联合疗法，其包括将有效量的本文公开的拟肽大环化合物与有效量的附加药学活性剂联合施用于患有缺乏野生型p53的癌症并且其消化道组织表达野生型p53的受试者。

[0271] 在拟肽大环化合物施用的语境中，如本文所用的术语“联合”是指在施用用于治疗癌症的一种或多种附加疗法(例如，药学活性剂、手术或辐射)之前、同时或之后施用拟肽大

环化合物。术语“联合”的使用不限制向受试者施用拟肽大环化合物以及一种或多种附加疗法的顺序。

[0272] 所述拟肽大环化合物或包含其的组合物，以及所述至少一种附加药学活性剂，例如本文所述的任何附加治疗剂，或包含其的组合物，可以同时地施用(即同时施用)和/或顺序地施用(即顺序施用)。

[0273] 根据某些实施方案，所述拟肽大环化合物和所述至少一种附加药学活性剂，例如本文所述的任何附加治疗剂，在相同组合物中或在不同组合物中同时施用。在一些实施方案中，拟肽大环化合物和至少一种附加药学活性剂，例如本文所述的任何附加治疗剂的同时施用，涉及以不超过数分钟，例如少于约15分钟、少于约10分钟、少于约5分钟或少于约1分钟的时间间隔施用拟肽大环化合物和附加药学活性剂。当药物同时施用时，所述拟肽大环化合物和所述至少一种附加药学活性剂，例如本文所述的任何附加治疗剂，可包含于相同组合物(例如，包含该拟肽大环化合物和所述至少附加药学活性剂的组合物)中或不同组合物中(例如，该拟肽大环化合物包含于一种组合物中，而所述至少附加药学活性剂包含于另一种组合物中)。

[0274] 根据另外的实施方案，所述拟肽大环化合物和所述至少一种附加药学活性剂，例如本文所述的任何附加治疗剂，按顺序施用，即，在施用该附加药学活性剂之前或之后施用该拟肽大环化合物。如本文所用的术语“顺序施用”意指拟肽大环化合物和附加药学活性剂，例如本文所述的任何附加治疗剂，以超过数分钟，例如超过约15分钟、超过约20分钟或更多分钟、超过约30分钟或更多分钟、超过约40分钟或更多分钟、超过约50分钟或更多分钟、或者超过约60或更多分钟的时间间隔施用。在一些实施方案中，在附加药学活性剂，例如本文所述的任何附加治疗剂之前施用拟肽大环化合物。在一些实施方案中，在拟肽大环化合物之前施用药学活性剂，例如本文所述的任何附加治疗剂。拟肽大环化合物和附加药学活性剂，例如本文所述的任何附加治疗剂，可包含于不同的组合物中，这些组合物可包含于相同或不同的包装中。

[0275] 在一些实施方案中，所述拟肽大环化合物和附加药学活性剂，例如本文所述的任何附加治疗剂的施用是并行的，即，拟肽大环化合物的施用期间和药剂的施用期间彼此重叠。在一些实施方案中，所述拟肽大环化合物和附加药学活性剂，例如本文所述的任何附加治疗剂的施用是非并行的。例如，在一些实施方案中，在施用附加药学活性剂，例如本文所述的任何附加治疗剂之前终止施用拟肽大环化合物。在一些实施方案中，在施用拟肽大环化合物之前终止施用附加药学活性剂，例如本文所述的任何附加治疗剂。这两个非并行施用之间的时间段可以在相隔数天到相隔数周的范围内。

[0276] 基于给药医师的判断，可在治疗过程中调整所述拟肽大环化合物和所述至少一种附加药学活性剂，例如本文所述的任何附加治疗剂的给药频率。当分开施用时，该拟肽大环化合物和所述至少一种附加药学活性剂，例如本文所述的任何附加治疗剂可以以不同的给药频率或间隔施用。例如，该拟肽大环化合物可以每天施用，而所述至少一种附加药学活性剂，例如本文所述的任何附加治疗剂可以更频繁或更不频繁地施用。或者，该拟肽大环化合物和所述至少一种附加药学活性剂，例如本文所述的任何附加治疗剂，均可以每天施用。在一些实施方案中，采用拟肽大环化合物的治疗可以在用附加药学活性剂治疗前1、2、3、4、5、6、7、8、9或10天开始。另外，该拟肽大环化合物和所述至少一种附加药学活性剂，例如本文

所述的任何附加治疗剂，可以使用相同的给药途径或使用不同的给药途径来施用。

[0277] 拟肽大环化合物与一种或多种附加疗法的组合可在同一药物组合物中施用于受试者。或者，拟肽大环化合物以及一种或多种附加疗法可在单独的药物组合物中同时施用于受试者。拟肽大环化合物以及一种或多种附加疗法可在单独的药物组合物中顺序地施用于受试者。可以通过相同或不同的给药途径将含有拟肽大环化合物的药物组合物或者一种或多种附加疗法施用于受试者。

[0278] 本文提供的联合疗法可包括将拟肽大环化合物与用于治疗癌症的其他疗法联合施用于有需要的受试者。用于癌症或与癌症相关的状况的其他疗法可能旨在控制或减轻一种或多种症状。相应地，在一些实施方案中，本文提供的联合疗法包括向有需要的受试者施用止痛药或旨在缓解或控制与癌症相关的一种或多种症状或与癌症相关的状况的其他疗法。

联合治疗的给药方案

[0279] 本文公开的联合治疗可以用多种给药方案施用。拟肽大环化合物或附加药学活性剂的给药时机和所选择的给药剂量水平可取决于多种因素，包括所采用的特定拟肽大环化合物的活性，给药途径，所采用的特定拟肽大环化合物的排出或代谢速率，治疗的持续时间，与所采用的特定拟肽大环化合物联合使用的特定药学活性剂，所治疗的患者的年龄、性别、体重、状况、总体健康和既往医疗史，以及其他因素。剂量值还可随待缓解的状况的严重程度而变化。对于任何特定的受试者，可根据个体需要以及施用该组合物或监督该组合物的施用的人的专业判断而随时间调整具体剂量方案。

[0280] 医学专业人员如医师或兽医可以容易地确定并开具所需的化合物的有效量。例如，该医师或兽医可以以低于达到所需治疗效果所需水平的水平开始在药物组合物中采用的本发明化合物的给药，并逐渐增加剂量直到实现所需的效果。

[0281] 在一些实施方案中，本公开的拟肽大环化合物的合适的每日剂量可以是为在具有功能性p53蛋白的组织中有效诱导细胞周期停滞的最低剂量的拟肽大环化合物的量。在一些实施方案中，本公开的拟肽大环化合物的合适的剂量低于在具有功能性p53蛋白的组织中诱导凋亡所需的拟肽大环化合物的量。这样的有效剂量可取决于上述因素。在一些情况下，将在给定患者中产生最有效治疗的任何特定拟肽大环化合物或其他药学活性剂的准确给药时间和量可取决于特定拟肽大环化合物的活性、药代动力学和生物利用度，患者的生理学状况(包括年龄、性别、疾病类型和阶段、总体身体状况、对给定剂量的响应性和药物类型)、给药途径，等等。

[0282] 剂量可基于每kg患者体重的拟肽大环化合物的量。其他量是本领域技术人员已知的并且容易确定。或者，可通过参考拟肽大环化合物的血浆浓度来确定本发明的剂量。例如，可以使用最大血浆浓度(Cmax)和从时间0至无穷大的血浆浓度-时间曲线下面积(AUC)。

[0283] 在一些实施方案中，所述受试者是人类受试者。本文公开的拟肽大环化合物和/或附加药学活性剂的剂量可以在约0.01mg/kg至约1000mg/kg/天(例如，约0.01mg/kg至约100mg/kg/天、约0.01mg/kg至约10mg/kg/天、约0.01mg/kg至约3.2mg/kg/天、约0.1mg/kg至约100mg/kg/天、约0.1mg/kg至约50mg/kg/天、约0.1mg/kg至约10mg/kg/天、约0.1mg/kg至约3.2mg/kg/天、至多约3.2mg/kg/天)本文所述组合的一种或每种组分的范围内。在一些实施方案中，用于人类治疗的拟肽大环化合物的剂量在约0.01mg/kg至约100mg/kg/天(例如，

约0.01mg/kg至约10mg/kg/天、约0.1mg/kg至约100mg/kg/天、约0.1mg/kg至约50mg/kg/天、约0.1mg/kg至约10mg/kg/天、约1mg/kg/天)的范围内。在一些实施方案中,用于人类治疗的附加药学活性剂,例如本文所述的任何附加治疗剂的剂量可在约0.01mg/kg至约100mg/kg/天(例如,约0.1mg/kg至约100mg/kg/天、约0.1mg/kg至约50mg/kg/天、约10mg/kg/天或约30mg/kg/天)的范围内。所需剂量可以方便地以单剂量施用,或以适当的间隔按多剂量施用,例如每天两个、三个、四个或更多个亚剂量。

[0284] 在一些实施方案中,例如当与至少一种附加药学活性剂,例如本文所述的任何附加治疗剂联合给予时,拟肽大环化合物的剂量可以以相对较低的剂量给予。在一些实施方案中,拟肽大环化合物的剂量可以是约1ng/kg至约100mg/kg。拟肽大环化合物的剂量可以是任何剂量,包括但不限于约1μg/kg、25μg/kg、50μg/kg、75μg/kg、100μg/kg、125μg/kg、150μg/kg、175μg/kg、200μg/kg、225μg/kg、250μg/kg、275μg/kg、300μg/kg、325μg/kg、350μg/kg、375μg/kg、400μg/kg、425μg/kg、450μg/kg、475μg/kg、500μg/kg、525μg/kg、550μg/kg、575μg/kg、600μg/kg、625μg/kg、650μg/kg、675μg/kg、700μg/kg、725μg/kg、750μg/kg、775μg/kg、800μg/kg、825μg/kg、850μg/kg、875μg/kg、900μg/kg、925μg/kg、950μg/kg、975μg/kg、1mg/kg、1.5mg/kg、2.0mg/kg、2.5mg/kg、3mg/kg、3.1mg/kg、5mg/kg、10mg/kg、15mg/kg、20mg/kg、25mg/kg、30mg/kg、35mg/kg、40mg/kg、45mg/kg、50mg/kg、60mg/kg、70mg/kg、80mg/kg、90mg/kg或100mg/kg。

[0285] 在一些实施方案中,附加药学活性剂,例如本文所述的任何附加治疗剂的剂量可以是约1ng/kg至约100mg/kg。附加药学活性剂的剂量可以是任何剂量,包括但不限于约1μg/kg、25μg/kg、50μg/kg、75μg/kg、100μμg/kg、125μg/kg、150μg/kg、175μg/kg、200μg/kg、225μg/kg、250μg/kg、275μg/kg、300μg/kg、325μg/kg、350μg/kg、375μg/kg、400μg/kg、425μg/kg、450μg/kg、475μg/kg、500μg/kg、525μg/kg、550μg/kg、575μg/kg、600μg/kg、625μg/kg、650μg/kg、675μg/kg、700μg/kg、725μg/kg、750μg/kg、775μg/kg、800μg/kg、825μg/kg、850μg/kg、875μg/kg、900μg/kg、925μg/kg、950μg/kg、975μg/kg、1mg/kg、2.5mg/kg、5mg/kg、10mg/kg、15mg/kg、20mg/kg、25mg/kg、30mg/kg、35mg/kg、40mg/kg、45mg/kg、50mg/kg、60mg/kg、70mg/kg、80mg/kg、90mg/kg或100mg/kg。

[0286] 在一些实施方案中,附加药学活性剂,例如本文所述的任何附加治疗剂的剂量作为受试者单位体表面积的药剂量(例如mg/m^2)来提供。在一些实施方案中,附加药学活性剂,例如本文所述的任何附加治疗剂的剂量为约0.1mg/m^2至约100mg/m^2。在一些实施方案中,附加药学活性剂,例如本文所述的任何附加治疗剂的剂量为约0.1mg/m^2至约0.25mg/m^2、约0.1mg/m^2至约0.5mg/m^2、约0.1mg/m^2至约0.75mg/m^2、约0.1mg/m^2至约1mg/m^2、约0.1mg/m^2至约1.5mg/m^2、约0.1mg/m^2至约2mg/m^2、约0.1mg/m^2至约2.5mg/m^2、约0.1mg/m^2至约5mg/m^2、约0.1mg/m^2至约10mg/m^2、约0.1mg/m^2至约75mg/m^2、约0.1mg/m^2至约100mg/m^2、约0.25mg/m^2至约0.5mg/m^2、约0.25mg/m^2至约0.75mg/m^2、约0.25mg/m^2至约1mg/m^2、约0.25mg/m^2至约1.5mg/m^2、约0.25mg/m^2至约2mg/m^2、约0.25mg/m^2至约2.5mg/m^2、约0.25mg/m^2至约5mg/m^2、约0.25mg/m^2至约10mg/m^2、约0.25mg/m^2至约75mg/m^2、约0.25mg/m^2至约100mg/m^2、约0.5mg/m^2至约0.75mg/m^2、约0.5mg/m^2至约1mg/m^2、约0.5mg/m^2至约1.5mg/m^2、约0.5mg/m^2至约2mg/m^2、约0.5mg/m^2至约2.5mg/m^2、约0.5mg/m^2至约5mg/m^2、约0.5mg/m^2至约10mg/m^2、约0.5mg/m^2至约75mg/m^2、约0.5mg/m^2至约100mg/m^2、约0.75mg/m^2至约1mg/m^2、约0.75mg/m^2至约1.5mg/m^2、

约0.75mg/m^2至约2mg/m^2、约0.75mg/m^2至约2.5mg/m^2、约0.75mg/m^2至约5mg/m^2、约0.75mg/m^2至约10mg/m^2、约1mg/m^2至约1.5mg/m^2、约1mg/m^2至约2mg/m^2、约1mg/m^2至约2.5mg/m^2、约1mg/m^2至约5mg/m^2、约1mg/m^2至约10mg/m^2、约1mg/m^2至约75mg/m^2、约1mg/m^2至约100mg/m^2、约1.5mg/m^2至约2mg/m^2、约1.5mg/m^2至约2.5mg/m^2、约1.5mg/m^2至约5mg/m^2、约1.5mg/m^2至约10mg/m^2、约1.5mg/m^2至约75mg/m^2、约1.5mg/m^2至约100mg/m^2、约2mg/m^2至约2.5mg/m^2、约2mg/m^2至约5mg/m^2、约2mg/m^2至约10mg/m^2、约2mg/m^2至约75mg/m^2、约2mg/m^2至约100mg/m^2、约2.5mg/m^2至约5mg/m^2、约2.5mg/m^2至约10mg/m^2、约2.5mg/m^2至约75mg/m^2、约2.5mg/m^2至约100mg/m^2、约5mg/m^2至约10mg/m^2、5mg/m^2至约75mg/m^2、约5mg/m^2至约100mg/m^2、约10mg/m^2至约75mg/m^2、约10mg/m^2至约100mg/m^2或约75mg/m^2至约100mg/m^2。在一些实施方案中，附加药学活性剂，例如本文所述的任何附加治疗剂的剂量为约0.1mg/m^2、约0.25mg/m^2、约0.5mg/m^2、约0.75mg/m^2、约1mg/m^2、约1.5mg/m^2、约2mg/m^2、约2.3mg/m^2、约2.5mg/m^2、约5mg/m^2、约10mg/m^2、约75mg/m^2或约100mg/m^2。在一些实施方案中，附加药学活性剂，例如本文所述的任何附加治疗剂的剂量为至少约0.1mg/m^2、约0.25mg/m^2、约0.5mg/m^2、约0.75mg/m^2、约1mg/m^2、约1.5mg/m^2、约2mg/m^2、约2.5mg/m^2或约5mg/m^2。在一些实施方案中，附加药学活性剂，例如本文所述的任何附加治疗剂的剂量为至多约0.25mg/m^2、约0.5mg/m^2、约0.75mg/m^2、约1mg/m^2、约1.5mg/m^2、约2mg/m^2、约2.5mg/m^2、约5mg/m^2、约10mg/m^2或约75mg/m^2。

[0287] 在一些实施方案中，附加药学活性剂的剂量是从附加药学活性剂的标签可见的批准剂量。在一些实施方案中，附加药学活性剂的剂量是1.5mg/m^2或2.3mg/m^2托泊替康或其药学上可接受的盐。在一些实施方案中，附加药学活性剂的剂量是75mg/m^2托泊替康或其药学上可接受的盐。在一些实施方案中，可以降低附加药学活性剂的批准剂量以解决不良副作用，如肾损害或肝损害。

[0288] 拟肽大环化合物和附加药学活性剂，例如本文所述的任何附加治疗剂，可以以单一单位剂型提供，以便一起服用或作为单独的实体(例如在单独的容器中)服用。拟肽大环化合物和附加药学活性剂，例如本文所述的任何附加治疗剂，可以同时施用或以某种时间差施用。该时间差可以是，例如，约0.1小时至约1周。在一些实施方案中，该时间差是约0.1小时至约6天、约0.1小时至约5天、约0.1小时至约4天、约0.1小时至约3天、约0.1小时至约48小时、约0.1小时至约36小时、约0.1小时至约24小时、约0.1小时至约12小时、约0.1小时至约6小时、约0.1小时至约1小时、约0.1小时至约0.5小时、约0.5小时至约1周、约0.5小时至约6天、约0.5小时至约5天、约0.5小时至约4天、约0.5小时至约3天、约0.5小时至约48小时、约0.5小时至约36小时、约0.5小时至约24小时、约0.5小时至约12小时、约0.5小时至约6小时、约0.5小时至约1小时、约1小时至约1周、约1小时至约6天、约1小时至约5天、约1小时至约4天、约1小时至约3天、约1小时至约48小时、约1小时至约36小时、约1小时至约24小时、约1小时至约12小时、约1小时至约6小时、约6小时至约12小时、约6小时至约1周、约6小时至约6天、约6小时至约5天、约6小时至约4天、约6小时至约3天、约6小时至约48小时、约6小时至约36小时、约6小时至约24小时、约6小时至约12小时、约12小时至约1周、约12小时至约6天、约12小时至约5天、约12小时至约4天、约12小时至约3天、约12小时至约48小时、约12小时至约36小时、约12小时至约24小时、约24小时至约1周、约24小时至约6天、约24小时至约5天、约24小时至约4天、约24小时至约3天、约24小时至约48小时、约24小时至约36小时、约36小时至约1周、约36小时至约6天、约36小时至约5天、约36小时至约4天、约36小时至约3天、

约36小时至约48小时或约48小时至约1周。在一些实施方案中，该时间段是约1周、约6天、约5天、约4天、约3天、约48小时、约36小时、约12小时、约6小时、约0.5小时或约0.1小时。在一些实施方案中，该时间段是至多约1周、至多约6天、至多约5天、至多约4天、至多约3天、至多约48小时、至多约36小时、至多约12小时、至多约6小时或至多约0.5小时。在一些实施方案中，该时间段是至少约6天、至少约5天、至少约4天、至少约3天、至少约48小时、至少约36小时、至少约12小时、至少约6小时、至少约0.5小时或至少约0.1小时。在一些实施方案中，先施用拟肽大环化合物，随后是时间差，随后施用附加药学活性剂，例如，本文所述的任何附加治疗剂。在一些实施方案中，施用附加药学活性剂，例如，本文所述的任何附加治疗剂，随后是时间差，随后施用拟肽大环化合物。

[0289] 在一些实施方案中，在施用附加药学活性剂，例如本文所述的任何附加治疗剂之前约0.1小时、约0.2小时、约0.3小时、约0.4小时、约0.5小时、约1小时、约6小时、约12小时、约24小时、约36小时、约48小时、约3天、约4天、约5天、约6天或约1周施用拟肽大环化合物。在一些实施方案中，在施用附加药学活性剂，例如本文所述的任何附加治疗剂之前约1天施用拟肽大环化合物。

[0290] 在一些实施方案中，在施用附加药学活性剂，例如本文所述的任何附加治疗剂之后约0.1小时、约0.2小时、约0.3小时、约0.4小时、约0.5小时、约1小时、约6小时、约12小时、约24小时、约36小时、约48小时、约3天、约4天、约5天、约6天或约1周施用拟肽大环化合物。在一些实施方案中，在施用附加药学活性剂，例如本文所述的任何附加治疗剂之后约6小时施用拟肽大环化合物。

[0291] 在一些实施方案中，在时间上在附加药学活性剂，例如本文所述的任何附加治疗剂之前施用拟肽大环化合物。在一些实施方案中，在施用附加药学活性剂，例如本文所述的任何附加治疗剂之前约0.1小时至约1周、约0.1小时至约6天、约0.1小时至约5天、约0.1小时至约4天、约0.1小时至约3天、约0.1小时至约48小时、约0.1小时至约36小时、约0.1小时至约24小时、约0.1小时至约12小时、约0.1小时至约6小时、约0.1小时至约1小时、约0.1小时至约0.5小时、约0.5小时至约1周、约0.5小时至约6天、约0.5小时至约5天、约0.5小时至约4天、约0.5小时至约3天、约0.5小时至约48小时、约0.5小时至约36小时、约0.5小时至约24小时、约0.5小时至约12小时、约0.5小时至约6小时、约0.5小时至约1小时、约1小时至约1周、约1小时至约6天、约1小时至约5天、约1小时至约4天、约1小时至约3天、约1小时至约48小时、约1小时至约36小时、约1小时至约24小时、约1小时至约12小时、约1小时至约6小时、约6小时至约12小时、约6小时至约1周、约6小时至约6天、约6小时至约5天、约6小时至约4天、约6小时至约3天、约6小时至约48小时、约6小时至约36小时、约6小时至约24小时、约6小时至约12小时、约12小时至约1周、约12小时至约6天、约12小时至约5天、约12小时至约4天、约12小时至约3天、约12小时至约48小时、约12小时至约36小时、约12小时至约24小时、约24小时至约1周、约24小时至约6天、约24小时至约5天、约24小时至约4天、约24小时至约3天、约24小时至约48小时、约24小时至约36小时、约36小时至约1周、约36小时至约6天、约36小时至约5天、约36小时至约4天、约36小时至约3天、约36小时至约48小时、约48小时至约1周或其任意组合，施用拟肽大环化合物。在一些实施方案中，在施用附加药学活性剂，例如本文所述的任何附加治疗剂之前至少约6天、至少约5天、至少约4天、至少约3天、至少约48小时、至少约36小时、至少约12小时、至少约6小时、至少约0.5小时、至少约0.1小时或其任意

组合，施用拟肽大环化合物。例如，可在施用拓扑异构酶抑制剂(例如，托泊替康)之前至少1天施用拟肽大环化合物。

[0292] 在一些实施方案中，在施用附加药学活性剂之前至多约1周、至多约6天、至多约5天、至多约4天、至多约3天、至多约48小时、至多约36小时、至多约12小时、至多约6小时、至多约0.5小时或其任意组合，施用拟肽大环化合物。例如，可在施用拓扑异构酶抑制剂(例如托泊替康)之前至多约1周、至多约6天、至多约5天、至多约4天、至多约3天、至多约48小时、至多约36小时、至多约12小时、至多约6小时、至多约0.5小时或其任意组合，施用拟肽大环化合物。

[0293] 在一些实施方案中，在施用附加药学活性剂，例如本文所述的任何附加治疗剂之前约1周、约6天、约5天、约4天、约3天、约48小时、约36小时、约24小时、约12小时、约8小时、约6小时、约0.5小时、约0.1小时，或其任意组合，施用拟肽大环化合物。例如，可在施用拓扑异构酶抑制剂(例如托泊替康)之前约1周、约6天、约5天、约4天、约3天、约48小时、约36小时、约12小时、约6小时、约0.5小时、约0.1小时或其任意组合，施用拟肽大环化合物。

[0294] 在一些实施方案中，拟肽大环化合物与所述至少一种附加药学活性剂，例如本文所述的任何附加治疗剂在时间上同时施用。

[0295] 在一些实施方案中，在时间上在附加药学活性剂，例如本文所述的任何附加治疗剂之后施用拟肽大环化合物。在一些实施方案中，在施用拟肽大环化合物之后0.1小时至约1周、约0.1小时至约6天、约0.1小时至约5天、约0.1小时至约4天、约0.1小时至约3天、约0.1小时至约48小时、约0.1小时至约36小时、约0.1小时至约24小时、约0.1小时至约12小时、约0.1小时至约6小时、约0.1小时至约1小时、约0.1小时至约0.5小时、约0.5小时至约1周、约0.5小时至约6天、约0.5小时至约5天、约0.5小时至约4天、约0.5小时至约3天、约0.5小时至约48小时、约0.5小时至约36小时、约0.5小时至约24小时、约0.5小时至约12小时、约0.5小时至约6小时、约0.5小时至约1小时、约1小时至约1周、约1小时至约6天、约1小时至约5天、约1小时至约4天、约1小时至约3天、约1小时至约48小时、约1小时至约36小时、约1小时至约24小时、约1小时至约12小时、约1小时至约6小时、约6小时至约12小时、约6小时至约1周、约6小时至约6天、约6小时至约5天、约6小时至约4天、约6小时至约3天、约6小时至约48小时、约6小时至约36小时、约6小时至约24小时、约6小时至约12小时、约12小时至约1周、约12小时至约6天、约12小时至约5天、约12小时至约4天、约12小时至约3天、约12小时至约48小时、约12小时至约36小时、约12小时至约24小时、约24小时至约1周、约24小时至约6天、约24小时至约5天、约24小时至约4天、约24小时至约3天、约24小时至约48小时、约24小时至约36小时、约36小时至约1周、约36小时至约6天、约36小时至约5天、约36小时至约4天、约36小时至约3天、约36小时至约48小时、约48小时至约1周、约7-30天或其任意组合，施用附加药学活性剂，例如本文所述的任何附加治疗剂。在一些实施方案中，在施用拟肽大环化合物之后至少约0.1小时、至少约0.5小时、至少约1小时、至少约6小时、至少约12小时、至少约24小时、至少约36小时、至少约48小时、至少约3天、至少约4天、至少约5天、至少约6天、至少约1周、至少约2周、至少约3周、至少约4周、至少约1个月或其任意组合，施用附加药学活性剂。

[0296] 在一些实施方案中，在施用拟肽大环化合物之后至多约0.1小时、至多约0.5小时、至多约1小时、至多约6小时、至多约12小时、至多约24小时、至多约36小时、至多约48小时、至多约3天、至多约4天、至多约5天、至多约6天、至多约1周、至多约2周、至多约3周、至多约4

周、至多约1个月或其任意组合，施用拓扑异构酶抑制剂(例如托泊替康)。例如，可在施用拟肽大环化合物之后至多约0.1小时、至多约0.5小时、至多约1小时、至多约6小时、至多约12小时、至多约24小时、至多约36小时、至多约48小时、至多约3天、至多约4天、至多约5天、至多约6天、至多约1周、至多约2周、至多约3周、至多约4周、至多约1个月或其任意组合，施用托泊替康。

[0297] 在一些实施方案中，在施用拟肽大环化合物之后约0.1小时、约0.5小时、约1小时、约6小时、约8小时、约12小时、约24小时、约36小时、约48小时、约3天、约4天、约5天、约6天、约1周、约2周、约3周、约4周、约1个月或其任意组合，施用药学活性剂(例如托泊替康、多西他赛、卡铂、紫杉醇或其任意组合)。

[0298] 另外，本文考虑在施用拟肽大环化合物和附加药学活性剂，例如本文所述的任何附加治疗剂之间采用休药期。休药期可以是在施用附加药学活性剂，例如本文所述的任何附加治疗剂之后，并且在施用拟肽大环化合物之前的天数。休药期可以是在施用拟肽大环化合物之后，并且在施用附加药学活性剂，例如本文所述的任何附加治疗剂之前的天数。休药期可以是在顺序施用拟肽大环化合物和附加药学活性剂，例如本文所述的任何附加治疗剂中的一种或多种之后，并且在施用拟肽大环化合物、附加药学活性剂或另一种治疗剂之前的天数。例如，休药期可以是在顺序地先施用拟肽大环化合物、后施用附加药学活性剂，例如本文所述的任何附加治疗剂之后，并且在再次施用拟肽大环化合物之前的天数。例如，休药期可以是在顺序地先施用附加药学活性剂、后施用拟肽大环化合物之后，并且在施用附加药学活性剂，例如本文所述的任何附加治疗剂之前的天数。

[0299] 适当地，休药期可以是1天、2天、3天、4天、5天、6天、7天、8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、15天、16天、17天、18天、19天、20天、21天、22天、23天、24天、25天、26天、27天或28天；或1-24、2-24、3-24、4-24、5-24、6-24、7-24、8-24、9-24、10-24、11-24或12-24小时；1-30、2-30、3-30、4-30、5-30、6-30、7-30、8-30、9,-30、10-30、11-30、12-30、13-30、14-30、15-30、16-30、17-30、18-30、19-30、20-30、21-30、22-30、23-30、24-30、25-30、26-30、27-30、28-30或29-30天、1-4、2-4或3-4周；或1-12、2-12、3-12、4-12、5-12、6-12、7-12、8-12、9-12、10-12或11-12个月的时段。

[0300] 在一些实施方案中，按顺序首先施用附加药学活性剂，例如本文所述的任何附加治疗剂，随后是可选的休药期，随后施用拟肽大环化合物。在一些实施方案中，按顺序首先施用附加药学活性剂，例如本文所述的任何附加治疗剂，随后施用拟肽大环化合物，随后是可选的休药期，随后施用附加药学活性剂。

[0301] 在一些实施方案中，附加药学活性剂，例如本文所述的任何附加治疗剂施用连续1-24、2-24、3-24、4-24、5-24、6-24、7-24、8-24、9-24、10-24、11-24或12-24小时；连续1-30、2-30、3-30、4-30、5-30、6-30、7-30、8-30、9-30、10-30、11-30、12-30、13-30、14-30、15-30、16-30、17-30、18-30、19-30、20-30、21-30、22-30、23-30、24-30、25-30、26-30、27-30、28-30或29-30天，连续1-4、2-4或3-4周；或连续1-12、2-12、3-12、4-12、5-12、6-12、7-12、8-12、9-12、10-12或11-12个月，随后是可选的休药期；随后施用拟肽大环化合物连续1-24、2-24、3-24、4-24、5-24、6-24、7-24、8-24、9-24、10-24、11-24或12-24小时；连续1-30、2-30、3-30、4-30、5-30、6-30、7-30、8-30、9-30、10-30、11-30、12-30、13-30、14-30、15-30、16-30、17-30、18-30、19-30、20-30、21-30、22-30、23-30、24-30、25-30、26-30、27-30、28-30或29-30天，连

续1-4、2-4或3-4周;或连续1-12、2-12、3-12、4-12、5-12、6-12、7-12、8-12、9-12、10-12或11-12个月。例如,拓扑异构酶抑制剂施用连续1-24、2-24、3-24、4-24、5-24、6-24、7-24、8-24、9-24、10-24、11-24或12-24小时;连续1-30、2-30、3-30、4-30、5-30、6-30、7-30、8-30、9-30、10-30、11-30、12-30、13-30、14-30、15-30、16-30、17-30、18-30、19-30、20-30、21-30、22-30、23-30、24-30、25-30、26-30、27-30、28-30或29-30天,连续1-4、2-4或3-4周;或连续1-12、2-12、3-12、4-12、5-12、6-12、7-12、8-12、9-12、10-12或11-12个月;随后是连续1-24、2-24、3-24、4-24、5-24、6-24、7-24、8-24、9-24、10-24、11-24或12-24小时;连续1-30、2-30、3-30、4-30、5-30、6-30、7-30、8-30、9-30、10-30、11-30、12-30、13-30、14-30、15-30、16-30、17-30、18-30、19-30、20-30、21-30、22-30、23-30、24-30、25-30、26-30、27-30、28-30或29-30天,连续1-4、2-4或3-4周;或连续1-12、2-12、3-12、4-12、5-12、6-12、7-12、8-12、9-12、10-12或11-12个月的休药期;随后施用拟肽大环化合物连续1-24、2-24、3-24、4-24、5-24、6-24、7-24、8-24、9-24、10-24、11-24或12-24小时;连续1-30、2-30、3-30、4-30、5-30、6-30、7-30、8-30、9-30、10-30、11-30、12-30、13-30、14-30、15-30、16-30、17-30、18-30、19-30、20-30、21-30、22-30、23-30、24-30、25-30、26-30、27-30、28-30或29-30天,连续1-4、2-4或3-4周;或连续1-12、2-12、3-12、4-12、5-12、6-12、7-12、8-12、9-12、10-12或11-12个月。

[0302] 在一些实施方案中,附加药学活性剂,例如本文所述的任何附加治疗剂施用连续1-24、2-24、3-24、4-24、5-24、6-24、7-24、8-24、9-24、10-24、11-24或12-24小时;连续1-30、2-30、3-30、4-30、5-30、6-30、7-30、8-30、9-30、10-30、11-30、12-30、13-30、14-30、15-30、16-30、17-30、18-30、19-30、20-30、21-30、22-30、23-30、24-30、25-30、26-30、27-30、28-30或29-30天,连续1-4、2-4或3-4周;或连续1-12、2-12、3-12、4-12、5-12、6-12、7-12、8-12、9-12、10-12或11-12个月,随后施用拟肽大环化合物连续1-24、2-24、3-24、4-24、5-24、6-24、7-24、8-24、9-24、10-24、11-24或12-24小时;连续1-30、2-30、3-30、4-30、5-30、6-30、7-30、8-30、9-30、10-30、11-30、12-30、13-30、14-30、15-30、16-30、17-30、18-30、19-30、20-30、21-30、22-30、23-30、24-30、25-30、26-30、27-30、28-30或29-30天,连续1-4、2-4或3-4周;或连续1-12、2-12、3-12、4-12、5-12、6-12、7-12、8-12、9-12、10-12或11-12个月随后是可选的休药期;随后施用附加药学活性剂。例如,拓扑异构酶抑制剂施用连续1-24、2-24、3-24、4-24、5-24、6-24、7-24、8-24、9-24、10-24、11-24或12-24小时;连续1-30、2-30、3-30、4-30、5-30、6-30、7-30、8-30、9-30、10-30、11-30、12-30、13-30、14-30、15-30、16-30、17-30、18-30、19-30、20-30、21-30、22-30、23-30、24-30、25-30、26-30、27-30、28-30或29-30天,连续1-4、2-4或3-4周;或连续1-12、2-12、3-12、4-12、5-12、6-12、7-12、8-12、9-12、10-12或11-12个月;随后施用拟肽大环化合物连续1-24、2-24、3-24、4-24、5-24、6-24、7-24、8-24、9-24、10-24、11-24或12-24小时;连续1-30、2-30、3-30、4-30、5-30、6-30、7-30、8-30、9-30、10-30、11-30、12-30、13-30、14-30、15-30、16-30、17-30、18-30、19-30、20-30、21-30、22-30、23-30、24-30、25-30、26-30、27-30、28-30或29-30天,连续1-4、2-4或3-4周;或连续1-12、2-12、3-12、4-12、5-12、6-12、7-12、8-12、9-12、10-12或11-12个月,随后是可选的连续1-24、2-24、3-24、4-24、5-24、6-24、7-24、8-24、9-24、10-24、11-24或12-24小时;连续1-30、2-30、3-30、4-30、5-30、6-30、7-30、8-30、9-30、10-30、11-30、12-30、13-30、14-30、15-30、16-30、17-30、18-30、19-30、20-30、21-30、22-30、23-30、24-30、25-30、26-30、27-30、28-30或29-30天,连续1-4、2-4或3-4周;或连续1-12、2-12、3-12、4-12、5-12、6-12、7-12、8-12、9-

12、10-12或11-12个月的休药期;随后施用拓扑异构酶抑制剂。

[0303] 在一些实施方案中,按顺序首先施用拟肽大环化合物,随后是可选的休药期,随后施用附加药学活性剂,例如本文所述的任何附加治疗剂。在一些实施方案中,按顺序首先施用拟肽大环化合物,随后施用附加药学活性剂,例如本文所述的任何附加治疗剂,随后是可选的休药期,随后施用拟肽大环化合物。

[0304] 在一些实施方案中,拟肽大环化合物施用连续1-24、2-24、3-24、4-24、5-24、6-24、7-24、8-24、9-24、10-24、11-24或12-24小时;连续1-30、2-30、3-30、4-30、5-30、6-30、7-30、8-30、9-30、10-30、11-30、12-30、13-30、14-30、15-30、16-30、17-30、18-30、19-30、20-30、21-30、22-30、23-30、24-30、25-30、26-30、27-30、28-30或29-30天,连续1-4、2-4或3-4周;或连续1-12、2-12、3-12、4-12、5-12、6-12、7-12、8-12、9-12、10-12或11-12个月,随后是可选的休药期;随后施用附加药学活性剂,例如本文所述的任何附加治疗剂连续1-24、2-24、3-24、4-24、5-24、6-24、7-24、8-24、9-24、10-24、11-24或12-24小时;连续1-30、2-30、3-30、4-30、5-30、6-30、7-30、8-30、9-30、10-30、11-30、12-30、13-30、14-30、15-30、16-30、17-30、18-30、19-30、20-30、21-30、22-30、23-30、24-30、25-30、26-30、27-30、28-30或29-30天,连续1-4、2-4或3-4周;或连续1-12、2-12、3-12、4-12、5-12、6-12、7-12、8-12、9-12、10-12或11-12个月。例如,拟肽大环化合物施用连续1-24、2-24、3-24、4-24、5-24、6-24、7-24、8-24、9-24、10-24、11-24或12-24小时;连续1-30、2-30、3-30、4-30、5-30、6-30、7-30、8-30、9-30、10-30、11-30、12-30、13-30、14-30、15-30、16-30、17-30、18-30、19-30、20-30、21-30、22-30、23-30、24-30、25-30、26-30、27-30、28-30或29-30天,连续1-4、2-4或3-4周;或连续1-12、2-12、3-12、4-12、5-12、6-12、7-12、8-12、9-12、10-12或11-12个月;随后是连续1-24、2-24、3-24、4-24、5-24、6-24、7-24、8-24、9-24、10-24、11-24或12-24小时;连续1-30、2-30、3-30、4-30、5-30、6-30、7-30、8-30、9-30、10-30、11-30、12-30、13-30、14-30、15-30、16-30、17-30、18-30、19-30、20-30、21-30、22-30、23-30、24-30、25-30、26-30、27-30、28-30或29-30天,连续1-4、2-4或3-4周;或连续1-12、2-12、3-12、4-12、5-12、6-12、7-12、8-12、9-12、10-12或11-12个月的休药期;随后施用拓扑异构酶抑制剂连续1-24、2-24、3-24、4-24、5-24、6-24、7-24、8-24、9-24、10-24、11-24或12-24小时;连续1-30、2-30、3-30、4-30、5-30、6-30、7-30、8-30、9-30、10-30、11-30、12-30、13-30、14-30、15-30、16-30、17-30、18-30、19-30、20-30、21-30、22-30、23-30、24-30、25-30、26-30、27-30、28-30或29-30天,连续1-4、2-4或3-4周;或连续1-12、2-12、3-12、4-12、5-12、6-12、7-12、8-12、9-12、10-12或11-12个月。

[0305] 在一些实施方案中,拟肽大环化合物施用连续1-24、2-24、3-24、4-24、5-24、6-24、7-24、8-24、9-24、10-24、11-24或12-24小时;连续1-30、2-30、3-30、4-30、5-30、6-30、7-30、8-30、9-30、10-30、11-30、12-30、13-30、14-30、15-30、16-30、17-30、18-30、19-30、20-30、21-30、22-30、23-30、24-30、25-30、26-30、27-30、28-30或29-30天,连续1-4、2-4或3-4周;或连续1-12、2-12、3-12、4-12、5-12、6-12、7-12、8-12、9-12、10-12或11-12个月,随后施用附加药学活性剂,例如本文所述的任何附加治疗剂连续1-24、2-24、3-24、4-24、5-24、6-24、7-24、8-24、9-24、10-24、11-24或12-24小时;连续1-30、2-30、3-30、4-30、5-30、6-30、7-30、8-30、9-30、10-30、11-30、12-30、13-30、14-30、15-30、16-30、17-30、18-30、19-30、20-30、21-30、22-30、23-30、24-30、25-30、26-30、27-30、28-30或29-30天,连续1-4、2-4或3-4周;或连续1-12、2-12、3-12、4-12、5-12、6-12、7-12、8-12、9-12、10-12或11-12个月,随后是可

选的休药期;随后施用拟肽大环化合物。例如,拟肽大环化合物施用连续1-24、2-24、3-24、4-24、5-24、6-24、7-24、8-24、9-24、10-24、11-24或12-24小时;连续1-30、2-30、3-30、4-30、5-30、6-30、7-30、8-30、9-30、10-30、11-30、12-30、13-30、14-30、15-30、16-30、17-30、18-30、19-30、20-30、21-30、22-30、23-30、24-30、25-30、26-30、27-30、28-30或29-30天,连续1-4、2-4或3-4周;或连续1-12、2-12、3-12、4-12、5-12、6-12、7-12、8-12、9-12、10-12或11-12个月;随后施用拓扑异构酶抑制剂连续1-24、2-24、3-24、4-24、5-24、6-24、7-24、8-24、9-24、10-24、11-24或12-24小时;连续1-30、2-30、3-30、4-30、5-30、6-30、7-30、8-30、9-30、10-30、11-30、12-30、13-30、14-30、15-30、16-30、17-30、18-30、19-30、20-30、21-30、22-30、23-30、24-30、25-30、26-30、27-30、28-30或29-30天,连续1-4、2-4或3-4周;或连续1-12、2-12、3-12、4-12、5-12、6-12、7-12、8-12、9-12、10-12或11-12个月,随后是可选的连续1-24、2-24、3-24、4-24、5-24、6-24、7-24、8-24、9-24、10-24、11-24或12-24小时;连续1-30、2-30、3-30、4-30、5-30、6-30、7-30、8-30、9-30、10-30、11-30、12-30、13-30、14-30、15-30、16-30、17-30、18-30、19-30、20-30、21-30、22-30、23-30、24-30、25-30、26-30、27-30、28-30或29-30天,连续1-4、2-4或3-4周;或连续1-12、2-12、3-12、4-12、5-12、6-12、7-12、8-12、9-12、10-12或11-12个月的休药期;随后施用拟肽大环化合物。

[0306] 在一些实施方案中,按顺序首先施用附加药学活性剂,例如本文所述的任何附加治疗剂,随后是可选的休药期,随后施用拟肽大环化合物。在一些实施方案中,按顺序首先施用拓扑异构酶抑制剂,随后是可选的休药期,随后施用拟肽大环化合物,随后是可选的休药期,随后施用拓扑异构酶抑制剂。

[0307] 在一些实施方案中,附加药学活性剂,例如本文所述的任何附加治疗剂施用连续1至30天,随后是可选的休药期,随后施用拟肽大环化合物连续1至30天。在一些实施方案中,附加药学活性剂,例如本文所述的任何附加治疗剂施用连续1至21天,随后是可选的休药期,随后施用拟肽大环化合物连续1至21天。在一些实施方案中,附加药学活性剂,例如本文所述的任何附加治疗剂施用连续1至14天,随后是可选的休药期,随后施用拟肽大环化合物连续1至14天。在一些实施方案中,附加药学活性剂,例如本文所述的任何附加治疗剂施用连续14天,随后是可选的休药期,随后施用拟肽大环化合物连续7天。在一些实施方案中,附加药学活性剂,例如本文所述的任何附加治疗剂施用连续7天,随后是可选的休药期,随后施用拟肽大环化合物连续7天。

[0308] 在一些实施方案中,拟肽大环化合物施用连续1至30天,随后是可选的休药期,随后施用附加药学活性剂,例如本文所述的任何附加治疗剂连续1至30天。在一些实施方案中,拟肽大环化合物施用连续1至21天,随后是可选的休药期,随后施用附加药学活性剂,例如本文所述的任何附加治疗剂连续1至21天。在一些实施方案中,拟肽大环化合物施用连续1至14天,随后是可选的休药期,随后施用附加药学活性剂,例如本文所述的任何附加治疗剂连续1至14天。在一些实施方案中,拟肽大环化合物施用连续14天,随后是可选的休药期,随后施用附加药学活性剂,例如本文所述的任何附加治疗剂连续14天。在一些实施方案中,拟肽大环化合物施用连续7天,随后是可选的休药期,随后施用附加药学活性剂,例如本文所述的任何附加治疗剂连续7天。

[0309] 在一些实施方案中,拟肽大环化合物和附加药学活性剂,例如本文所述的任何附加治疗剂中的一种施用连续2至30天,随后是可选的休药期,随后施用拟肽大环化合物和附

加药学活性剂中的另一种连续2至30天。在一些实施方案中，拟肽大环化合物和附加药学活性剂，例如本文所述的任何附加治疗剂中的一种施用连续2至21天，随后是可选的休药期，随后施用拟肽大环化合物和附加药学活性剂中的另一种连续2至21天。在一些实施方案中，拟肽大环化合物和附加药学活性剂，例如本文所述的任何附加治疗剂中的一种施用连续2至14天，随后是1至14天的休药期，随后施用拟肽大环化合物和附加药学活性剂中的另一种连续2至14天。在一些实施方案中，拟肽大环化合物和附加药学活性剂，例如本文所述的任何附加治疗剂中的一种施用连续3至7天，随后是3至10天的休药期，随后施用拟肽大环化合物和附加药学活性剂中的另一种连续3至7天。

[0310] 在一些实施方案中，拟肽大环化合物每天施用一次、两次或三次，持续连续2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30天，随后休息1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30天(例如，不施用拟肽大环化合物/中止治疗)，为1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30天的周期；并且在一天或更多天(例如，周期1的第1天)，在施用拟肽大环化合物之前、同时或之后施用附加药学活性剂，例如本文所述的任何附加治疗剂。在一些实施方案中，联合疗法施用1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、12或13个周期，该周期为1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28天或更多天。在一些实施方案中，联合疗法施用1至12或13个28天的周期(例如，约12个月)。

[0311] 在一些实施方案中，将本文所述的联合疗法的组分(例如，拟肽大环化合物和本文公开的任何附加治疗剂)周期性地施用于患者。在一些实施方案中，次级活性剂与本文提供的联合疗法以周期性给药的方式共同施用。周期性疗法包括施用活性剂一段时间，然后休息一段时间，然后重复该顺序给药。可以在规定的持续时间内，针对每种活性剂(例如，拟肽大环化合物和附加药学活性剂和/或次级药剂)独立地进行周期性疗法。在一些实施方案中，每种活性剂的周期性施用取决于施用于受试者的一种或多种活性剂。在一些实施方案中，拟肽大环化合物或附加药学活性剂，例如本文公开的任何治疗剂的施用固定了拟肽大环化合物和附加治疗活性剂的给药天数或持续时间。

[0312] 在一些实施方案中，给药频率在大约每天给药至大约每月给药的范围内。在一些实施方案中，给药是每天一次、每天两次、每天三次、每天四次、每隔一天一次、每周两次、每周一次、每两周一次、每三周一次或每四周一次。在一些实施方案中，用于本文所述的联合疗法的化合物每天施用一次。在一些实施方案中，用于本文所述的联合疗法的化合物每天施用两次。在一些实施方案中，用于本文所述的联合疗法的化合物每天施用三次。在一些实施方案中，用于本文所述的联合疗法的化合物每天施用四次。

[0313] 在一些实施方案中，拟肽大环化合物的给药频率在大约每天给药至大约每月给药的范围内。在一些实施方案中，拟肽大环化合物的给药是每天一次、每天两次、每天三次、每天四次、每隔一天一次、每周两次、每周一次、每两周一次、每三周一次或每四周一次。在一些实施方案中，用于本文所述的联合疗法的拟肽大环化合物每天施用一次。在一些实施方案中，用于本文所述的联合疗法的拟肽大环化合物每天施用两次。在一些实施方案中，用于本文所述的联合疗法的拟肽大环化合物每天施用三次。在一些实施方案中，用于本文所述的联合疗法的拟肽大环化合物每天施用四次。

[0314] 在一些实施方案中，附加药学活性剂，例如本文所述的任何附加治疗剂的给药频率在大约每天给药至大约每月给药的范围内。在一些实施方案中，附加药学活性剂，例如本文所述的任何附加治疗剂的给药是每天一次、每天两次、每天三次、每天四次、每隔一天一次、每周两次、每周一次、每两周一次、每三周一次或每四周一次。

[0315] 在一些实施方案中，用于本文所述的联合疗法的附加药学活性剂，例如本文所述的任何附加治疗剂每天施用一次。在一些实施方案中，用于本文所述的联合疗法的附加药学活性剂，例如本文所述的任何附加治疗剂每天施用两次。在一些实施方案中，用于本文所述的联合疗法的附加药学活性剂，例如本文所述的任何附加治疗剂每天施用三次。在一些实施方案中，用于本文所述的联合疗法的附加药学活性剂，例如本文所述的任何附加治疗剂每天施用四次。

[0316] 在一些实施方案中，用于本文所述的联合疗法的化合物每天施用一次，持续一天至六个月、一周至三个月、一周至四周、一周至三周或从一周至两周。在一些实施方案中，用于本文所述的联合疗法的化合物每天施用一次，持续一周、两周、三周或四周。在一些实施方案中，用于本文所述的联合疗法的化合物每天施用一次，持续一周。在一些实施方案中，用于本文所述的联合疗法的化合物每天施用一次，持续两周。在一些实施方案中，用于本文所述的联合疗法的化合物每天施用一次，持续三周。在一些实施方案中，用于本文所述的联合疗法的化合物每天施用一次，持续四周。

[0317] 治疗性组合物可以施用1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20次或更多次，并且它们可以每1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24小时或每1、2、3、4、5、6、7天或每1、2、3、4、5周或每1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12个月施用一次。

[0318] 在一些实施方案中，每天进行拟肽大环化合物和/或附加药学活性剂，例如本文所述的任何附加治疗剂的定期给药。在一些实施方案中，拟肽大环化合物和/或附加药学活性剂，例如本文所述的任何附加治疗剂的定期给药每天以一半的量进行两次。

[0319] 在一些实施方案中，拟肽大环化合物和/或附加药学活性剂，例如本文所述的任何附加治疗剂的定期给药每3至11天进行一次；或每5至9天进行一次；或每7天进行一次；或每24小时进行一次。在一些实施方案中，拟肽大环化合物和/或附加药学活性剂，例如本文所述的任何附加治疗剂的定期给药每2天、3天、4天、5天、6天、7天、8天、9天、10天、11天、12天、13天、14天、15天、6天、16天、17天、18天、19天、20天、21天、22天、23天、24天、25天、26天、27天、28天、29天或30天进行一次。

[0320] 在一些实施方案中，拟肽大环化合物和/或附加药学活性剂的定期给药每天进行一次、两次或三次。

[0321] 对于拟肽大环化合物的每种给药方案，附加药学活性剂，例如本文所述的任何附加治疗剂的定期给药可以每16-32小时进行一次；或每18-30小时进行一次；或每20-28小时进行一次；或每22-26小时进行一次。在一些实施方案中，拟肽大环化合物的给药基本上在附加药学活性剂，例如本文所述的任何附加治疗剂之前。在一些实施方案中，附加药学活性剂，例如本文所述的任何附加治疗剂的给药基本上在拟肽大环化合物的给药之前。

[0322] 在一些实施方案中，拟肽大环化合物和附加药学活性剂，例如本文所述的任何附加治疗剂可以施用至少4天的一段时间。在一些实施方案中，该时间段可以是5天至5年；或

10天至3年;或2周至1年;或1个月至6个月;或3个月至4个月。在一些实施方案中,拟肽大环化合物和附加药学活性剂,例如本文所述的任何附加治疗剂,可以在受试者的一生中施用。

[0323] 在一些实施方案中,在治疗期间施用拟肽大环化合物和附加药学活性剂,例如,本文所述的任何附加治疗剂。本文公开的治疗期可以是,例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30天的治疗期。治疗期的第一天可以被表示为,例如,第0天或第1天。例如,22天的治疗期可以开始于第0天并结束于第21天。在另一个实例中,22天的治疗期可以开始于第1天并结束于第22天。可在治疗期的第0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29和/或30天中的任何天施用拟肽大环化合物和/或附加药学活性剂,例如本文所述的任何附加治疗剂。拟肽大环化合物和/或附加药学活性剂,例如本文所述的任何附加治疗剂,可以在治疗期的一天或多天施用。在一些情况下,在治疗期的一天或多天既不施用拟肽大环化合物也不施用附加药学活性剂。在一些情况下,拟肽大环化合物和附加药学活性剂,例如本文所述的任何附加治疗剂,均在治疗期的某些天施用,而在治疗期的其他天,仅施用大环化合物或附加药学活性剂之一。例如,可以在治疗期的第1、2、3、4和5天施用拟肽大环化合物,并且可以在治疗期的第2、3、4、5和6天施用附加药学活性剂(例如,本文所述的任何附加治疗剂)。在一些实施方案中,可以在治疗期的第0、1、2、3和4天施用拟肽大环化合物,并且可以在治疗期的第1、2、3、4和5天施用附加药学活性剂(例如,本文所述的任何附加治疗剂)。在一些实施方案中,可以在治疗期的第0、1和2天施用拟肽大环化合物,并且可以在治疗期的第1天施用附加药学活性剂(例如,本文所述的任何附加治疗剂)。在一些实施方案中,可以在治疗期的第1、2和3天施用拟肽大环化合物,并且可以在治疗期的第2天施用附加药学活性剂(例如,本文所述的任何附加治疗剂)。

[0324] 在一些实施方案中,治疗期是治疗周期的一部分。例如,在表示为开始于第1天并且结束于第22天的周期期间,可以在该周期的第1、2、3、4和5天施用拟肽大环化合物,可以在该周期的第2、3、4、5和6天施用附加药学活性剂(例如,本文所述的任何附加治疗剂),并且在该周期的第7-22天既不施用大环化合物也不施用附加药剂。

[0325] 在另一个实例中,可以在表示为开始于第1天并且结束于第22天的周期的第1、2和3天施用拟肽大环化合物,可以在该周期的第2天施用附加药学活性剂,并且可以在该周期的第4-22天既不施用大环化合物也不施用附加药剂。

[0326] 在一些实施方案中,可以施用多个治疗周期。例如,本文公开的方法可包括施用1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15个或更多个治疗周期。在一些实施方案中,本文公开的方法包括施用至少1个、至少2个、至少3个、至少4个、至少5个、至少6个、至少7个、至少8个、至少9个、至少10个、至少11个、至少12个、至少13个、至少14个或至少15个治疗周期。在一些实施方案中,本公开的方法包括根据以下所示的示例治疗时间表联合施用拟肽大环化合物与托泊替康,施用的治疗周期的数目不同:

治疗周期数	周期开始*	周期结束	大环化合物施用日	托泊替康施用日	大环化合物或托泊替康不施用日
1	第 1 天	第 22 天	第 1-5 天	第 2-6 天	第 7-22 天
2	第 23 天	第 44 天	第 23-27 天	第 24-28 天	第 29-44 天
3	第 45 天	第 66 天	第 45-49 天	第 46-50 天	第 51-66 天
4	第 67 天	第 88 天	第 67-71 天	第 68-72 天	第 73-88 天
5	第 89 天	第 110 天	第 89-93 天	第 90-94 天	第 95-110 天
6	第 111 天	第 132 天	第 111-115 天	第 112-116 天	第 117-132 天
7	第 133 天	第 154 天	第 133-137 天	第 134-138 天	第 139-154 天
8	第 155 天	第 176 天	第 155-159 天	第 156-160 天	第 161-176 天
9	第 177 天	第 198 天	第 177-181 天	第 178-182 天	第 183-198 天
10	第 199 天	第 220 天	第 199-203 天	第 200-204 天	第 205-220 天
11	第 221 天	第 242 天	第 221-225 天	第 222-226 天	第 227-242 天
12	第 243 天	第 264 天	第 243-247 天	第 244-248 天	第 249-264 天
13	第 265 天	第 286 天	第 265-269 天	第 266-270 天	第 271-286 天
14	第 287 天	第 308 天	第 287-291 天	第 288-292 天	第 293-308 天
15	第 309 天	第 330 天	第 309-313 天	第 310-314 天	第 315-330 天

*第1天被表示为首次向受试者施用拟肽大环化合物的那一天。随后的每一天都连续编号。

[0327] 在一些实施方案中，本公开的方法包括根据以下所示的示例治疗时间表联合施用拟肽大环化合物与多西他赛，施用的治疗周期的数目不同：

治疗周期数	周期开始*	周期结束	大环化合物施用日	多西他赛施用日	大环化合物或多西他赛不施用日
1	第 1 天	第 22 天	第 1-3 天	第 2 天	第 4-22 天
2	第 23 天	第 44 天	第 23-25 天	第 24 天	第 26-44 天
3	第 45 天	第 66 天	第 45-47 天	第 46 天	第 48-66 天
4	第 67 天	第 88 天	第 67-69 天	第 68 天	第 70-88 天
5	第 89 天	第 110 天	第 89-91 天	第 90 天	第 92-110 天
6	第 111 天	第 132 天	第 111-113 天	第 112 天	第 114-132 天
7	第 133 天	第 154 天	第 133-135 天	第 134 天	第 136-154 天
8	第 155 天	第 176 天	第 155-157 天	第 156 天	第 158-176 天
9	第 177 天	第 198 天	第 177-179 天	第 178 天	第 180-198 天
10	第 199 天	第 220 天	第 199-201 天	第 200 天	第 202-220 天
11	第 221 天	第 242 天	第 221-223 天	第 222 天	第 224-242 天
12	第 243 天	第 264 天	第 243-245 天	第 244 天	第 246-264 天
13	第 265 天	第 286 天	第 265-267 天	第 266 天	第 268-286 天
14	第 287 天	第 308 天	第 287-289 天	第 288 天	第 290-308 天
15	第 309 天	第 330 天	第 309-311 天	第 310 天	第 312-330 天

*第1天被表示为首次向受试者施用拟肽大环化合物的那一天。随后的每一天都连续编号。

[0328] 在一些实施方案中，所述拟肽大环化合物和/或附加药学活性剂在段时间内逐渐

施用。可在约0.1h-24h的时间段内逐渐施用所需量的拟肽大环化合物或附加药学活性剂。在一些情况下，在0.1h、0.5h、1h、1.5h、2h、2.5h、3h、3.5h、4h、4.5h、5h、6h、7h、8h、9h、10h、11h、12h、13h、14h、15h、16h、17h、18h、19h、20h、21h、22h、23h或24h的时间段内逐渐施用所需量的拟肽大环化合物或附加药学活性剂。在一些实例中，在0.25-12h的时间段内，例如在0.25-1h、0.25-2h、0.25-3h、0.25-4h、0.25-6h、0.25-8h、0.25-10h的时间段内逐渐施用所需量的拟肽大环化合物或附加药学活性剂。在一些实例中，在0.25-2h的时间段内逐渐施用所需量的拟肽大环化合物或附加药学活性剂。在一些实例中，在0.25-1h的时间段内逐渐施用所需量的拟肽大环化合物或附加药学活性剂。在一些实例中，在0.25h、0.3h、0.4h、0.5h、0.6h、0.7h、0.8h、0.9h、1.0h、1.1h、1.2h、1.3h、1.4h、1.5h、1.6h、1.7h、1.8h、1.9h或2.0h的时间段内逐渐施用所需量的拟肽大环化合物或附加药学活性剂。在一些实例中，在1h的时间段内逐渐施用所需量的拟肽大环化合物或附加药学活性剂。在一些实例中，在2h的时间段内逐渐施用所需量的拟肽大环化合物或附加药学活性剂。

[0329] 只要需要可以继续施用所述拟肽大环化合物和/或附加药学活性剂，以治疗有需要的受试者的癌症。在一些实施方案中，本公开的一种或多种拟肽大环化合物或附加药学活性剂施用超过1天、1周、1个月、2个月、3个月、4个月、5个月、6个月、7个月、8个月、9个月、10个月、11个月、12个月、13个月、14个月、15个月、16个月、17个月、18个月、19个月、20个月、21个月、22个月、23个月或24个月。在一些实施方案中，本公开的一种或多种拟肽大环化合物施用少于1周、1个月、2个月、3个月、4个月、5个月、6个月、7个月、8个月、9个月、10个月、11个月、12个月、13个月、14个月、15个月、16个月、17个月、18个月、19个月、20个月、21个月、22个月、23个月或24个月。

[0330] 在一些实施方案中，本公开的一种或多种拟肽大环化合物和/或附加药学活性剂，例如本文公开的任何附加治疗剂，持续地长期施用。在一些实施方案中，本公开的一种或多种拟肽大环化合物的施用持续到记录到疾病进展、不可接受的毒性，或者患者或医师决定中止施用。

联合治疗的效果

[0331] 在一些实施方案中，相对于单独施用拟肽大环化合物或一种或多种附加疗法，根据本文呈现的方法施用拟肽大环化合物以及所述一种或多种附加疗法具有累加效应。在一些实施方案中，相对于单独施用拟肽大环化合物或一种或多种附加疗法，根据本文呈现的方法施用拟肽大环化合物以及所述一种或多种附加疗法具有协同效应。

[0332] 在一些实施方案中，拟肽大环化合物与一种或多种附加疗法(例如，药学活性剂)的联合施用具有协同效应。在一些实施方案中，两种或更多种药剂(例如拟肽大环化合物和本文公开的任何附加药学活性剂)的协同效应是两种或更多种药剂的组合的效果，该效果大于所述两种或更多种药剂的累加效应。在一些实施方案中，联合疗法的协同效应允许使用更低剂量(例如，次优剂量)的拟肽大环化合物或附加疗法，并且/或者允许向受试者更低频率地施用拟肽大环化合物或附加疗法。在一些实施方案中，使用更低剂量的拟肽大环化合物或附加疗法和/或更低频率地施用该拟肽大环化合物或所述附加疗法的能力使得与该拟肽大环化合物或所述附加疗法的施用相关的对受试者的毒性降低，而不降低该拟肽大环化合物或所述附加疗法在治疗癌症中的效力。在一些实施方案中，协同效应导致该拟肽大环化合物或每一种所述附加疗法在治疗癌症中的效力提高。

[0333] 在一些实施方案中，拟肽大环化合物与一种或多种附加疗法(例如，药学活性剂)的组合的协同效应避免或减少了与使用任何单一疗法相关的不利或不希望的副作用。可通过本公开拟肽大环化合物与附加疗法的组合的协同效应减轻的副作用的非限制性实例是粘膜炎，与骨髓抑制相关的副作用，如嗜中性粒细胞减少症和血小板减少症；神经毒性、腹泻、脱发、呕吐和恶心。在一些实施方案中，本公开的拟肽大环化合物与一种或多种附加疗法的组合的协同效应是骨髓保护作用。在一些实施方案中，粘膜炎、嗜中性粒细胞减少症、血小板减少症或骨髓抑制的减轻是由于拟肽大环化合物诱导的诸如骨髓和/或消化道组织等组织中的细胞周期停滞所致。在一些实施方案中，由本公开的拟肽大环化合物和附加疗法的组合引起的副作用减轻允许与当单独施用拟肽大环化合物或附加疗法时拟肽大环化合物或附加疗法的最大耐受剂量相比，拟肽大环化合物或附加疗法的最大耐受剂量增加。

[0334] 在一些实施方案中，拟肽大环化合物与附加药学活性剂，例如本文公开的任何附加治疗剂的联合施用不会降低附加药学活性剂的效果。例如，在单独施用附加药学活性剂后或在与本文公开的拟肽大环化合物联合施用附加药学活性剂后，受试者的预期存活和/或肿瘤生长抑制可以相同。在一些实施方案中，与单独施用附加药学活性剂引起的效果相比，拟肽大环化合物与附加药学活性剂的联合施用可以将附加药学活性剂的效果(例如，受试者的预期存活或肿瘤生长抑制)降低小于约1％、小于约2％、小于约3％、小于约4％、小于约5％、小于约6％、小于约7％、小于约8％、小于约9％或小于约10％。

附加药学活性剂

[0335] 本文公开的附加疗法可包括，例如，药学活性剂。可与拟肽大环化合物联合使用的药学活性剂的非限制性实例包括：激素剂(例如，芳香酶抑制剂、选择性雌激素受体调节剂(SERM)和雌激素受体拮抗剂)、化疗剂(例如，微管解装配阻断剂、抗代谢物、拓扑异构酶抑制剂和DNA交联剂或损伤剂)和抗-抗原剂(例如，VEGF拮抗剂、受体拮抗剂、整联蛋白拮抗剂、血管靶向剂(VTA)/血管破坏剂(VDA))。在一些实施方案中，本文公开的附加疗法是放射疗法或常规手术。

[0336] 可与拟肽大环化合物联合使用的激素剂的非限制性实例包括芳香酶抑制剂、SERM和雌激素受体拮抗剂。作为芳香酶抑制剂的激素剂可以是甾体或非甾体的。非甾体激素剂的非限制性实例包括来曲唑、阿那曲唑、氨鲁米特、法倔唑和伏罗唑。甾体激素剂的非限制性实例包括阿诺新(依西美坦)、福美坦和睾内酯。作为SERM的激素剂的非限制性实例包括他莫昔芬(以Nolvadex®为品牌/销售的)、阿非昔芬、阿佐昔芬、巴多昔芬、氯米芬、femarelle、拉索昔芬、奥美昔芬、雷洛昔芬和托瑞米芬。作为雌激素受体拮抗剂的激素剂的非限制性实例包括氟维司群。其他激素剂包括但不限于阿比特龙和洛那立生。

[0337] 可与拟肽大环化合物联合使用的化疗剂的非限制性实例包括微管解装配阻断剂、抗代谢物、拓扑异构酶抑制剂和DNA交联剂或损伤剂。作为微管解装配阻断剂的化疗剂包括但不限于紫杉烷类(例如，紫杉醇(以TAXOL®为品牌/销售的)、多西他赛、艾日布林、Abraxane ®、拉罗他赛、奥他赛和替司他赛)；埃博霉素类(例如，伊沙匹隆)；以及长春花生物碱类(例如，长春瑞滨、长春碱、长春地辛和长春新碱(以ONCOVIN®为品牌/销售的))。

[0338] 作为抗代谢物的化疗剂包括但不限于叶酸抗代谢物(例如，甲氨蝶呤、氨基蝶呤、

培美曲塞、雷替曲塞)；嘌呤抗代谢物(例如，克拉屈滨、氯法拉滨、氟达拉滨、巯基嘌呤、喷司他丁、硫鸟嘌呤)；嘧啶抗代谢物(例如，5-氟尿嘧啶、卡培他滨、吉西他滨(GEMZAR®)、阿糖胞苷、地西他滨、氟尿苷、喃氟啶、卡培他滨)；以及脱氧核糖核苷酸抗代谢物(例如，羟基脲)。

[0339] 作为拓扑异构酶抑制剂的化疗剂包括但不限于I类拓扑异构酶抑制剂如托泊替康(以HYCAMTIN®为品牌/销售的)、伊立替康、芦比替康和贝洛替康)；II类拓扑异构酶抑制剂(例如，依托泊苷或VP-16，以及替尼泊苷)；蒽环类(例如，多柔比星、表柔比星、Doxil、阿柔比星、氨柔比星、柔红霉素、伊达比星、吡柔比星、戊柔比星和佐柔比星)；以及蒽二酮类(例如，米托蒽醌和匹克生琼)。

[0340] 作为DNA交联剂(或DNA损伤剂)的化疗剂包括但不限于烷化剂(例如，环磷酰胺、氮芥、异环磷酰胺(以IFEX®为品牌/销售的)、曲磷胺、苯丁酸氮芥、美法仑、泼尼氮芥、苯达莫司汀、乌拉莫司汀、雌氮芥、卡莫司汀(以BiCNU®为品牌/销售的)、洛莫司汀、司莫司汀、福莫司汀、尼莫司汀、雷莫司汀、链脲菌素、白消安、甘露舒凡、曲奥舒凡、卡巴醌、N,N′N′-三亚乙基硫代磷酰胺、三亚胺醌、三乙撑密胺)；类烷化剂(例如，卡铂(以PARAPLATIN®为品牌/销售的)、顺铂、奥沙利铂、奈达铂、四硝酸三铂、沙铂、吡铂)；非经典DNA交联剂(例如，丙卡巴肼、达卡巴嗪、替莫唑胺(以TEMODAR®为品牌/销售的)、六甲蜜胺、二溴甘露醇)；以及嵌入剂(例如，放线菌素、博来霉素、丝裂霉素和普卡霉素)。

[0341] 可与拟肽大环化合物联合施用于受试者的其他疗法的非限制性实例包括：(1)他汀类，如洛伐他汀(例如，以MEVACOR®为品牌/销售的)；(2)mTOR抑制剂，诸如还被称为雷帕霉素的西罗莫司(以RAPAMUNE®为品牌/销售的)、坦罗莫司(例如，以TORISEL®为品牌/销售的)、依罗莫司(例如，以AFINITOR®为品牌/销售的)和地磷莫司；(3)法呢酰基转移酶抑制剂，如替匹法尼；(4)抗纤维化剂，如吡非尼酮；(5)聚乙二醇化的干扰素，如PEG-干扰素α-2b；(6)CNS兴奋剂，如哌醋甲酯(以RITALIN®为品牌/销售的)；(7)HER-2拮抗剂，如抗HER-2抗体(例如，曲妥珠单抗)和激酶抑制剂(例如，拉帕替尼)；(8)IGF-1拮抗剂如抗IGF-1抗体(例如，AVE1642和IMC-A11)或IGF-1激酶抑制剂；(9)EGFR/HER-1拮抗剂，如抗EGFR抗体(例如，西妥昔单抗、帕尼单抗)或EGFR激酶抑制剂(例如，厄洛替尼；吉非替尼)；(10)SRC拮抗剂，如波舒替尼；(11)细胞周期蛋白依赖性激酶(CDK)抑制剂，如塞利西利；(12)Janus激酶2抑制剂，如来妥替尼；(13)蛋白酶体抑制剂，如硼替佐米；(14)磷酸二酯酶抑制剂，如阿那格雷；(15)肌苷单磷酸脱氢酶抑制剂，如噻唑呋林；(16)脂氧合酶抑制剂，如马索罗酚；(17)内皮缩血管肽拮抗剂；(18)类视黄醇受体拮抗剂，如维A酸或阿利维A酸；(19)免疫调节剂，如来那度胺、泊马度胺或沙立度胺；(20)激酶(例如，酪氨酸激酶)抑制剂，如伊马替尼、达沙替尼、厄洛替尼、尼洛替尼、吉非替尼、索拉非尼、舒尼替尼、拉帕替尼或TG100801；(21)非甾体抗炎剂，如塞来昔布(以CELEBREX®为品牌/销售的)；(22)人粒细胞集落刺激因子(G-CSF)，如非格司亭(以NEUPOGEN®为品牌/销售的)；(23)亚叶酸或亚叶酸钙；(24)整联蛋白拮抗剂，如整联蛋白α5β1-拮抗剂(例如，JSM6427)；(25)核因子κβ(NF-κβ)拮抗剂如OT-551，其也是抗氧化剂；(26)刺猬蛋白抑制剂，

如CUR61414、环杷明、GDC-0449和抗刺猬蛋白抗体；(27)组蛋白脱乙酰酶(HDAC)抑制剂，如SAHA(也被称为伏林司他(以ZOLINZA为品牌/销售的))、PCI-24781、SB939、CHR-3996、CRA-024781、ITF2357、JNJ-26481585或PCI-24781；(28)类视黄醇，如异维A酸(例如，以ACCUTANE®为品牌/销售的)；(29)肝细胞生长因子/分散因子(HGF/SF)拮抗剂，如HGF/SF单克隆抗体(例如，AMG 102)；(30)合成化学品，如抗瘤酮；(31)抗糖尿病剂，如罗格列酮(例如，以AVANDIA®为品牌/销售的)；(32)抗疟疾药和杀阿米巴药，如氯喹(例如，以ARALEN®为品牌/销售的)；(33)合成缓激肽，如RMP-7；(34)血小板衍生生长因子受体抑制剂，如SU-101；(35)Flk-1/KDR/VEGFR2、FGFR1和PDGFRβ的受体酪氨酸激酶抑制剂，如SU5416和SU6668；(36)抗炎剂，如柳氮磺胺吡啶(例如，以AZULFIDINE®为品牌/销售的)；以及(37)TGF-β反义疗法。

[0342] 在一些实施方案中，抗肿瘤剂可以与拟肽大环化合物联合施用于受试者。抗肿瘤剂的非限制性实例可包括拓扑异构酶抑制剂，例如托泊替康。

[0343] 在一些实施方案中，本文公开的拟肽大环化合物可在临床相关的浓度下抑制一种或多种转运蛋白酶(例如，OATP1B1、OATP1B3、BSEP)。因此，本文公开的这类拟肽大环化合物可与主要由肝胆转运蛋白清除的药物相互作用。在一些实施方案中，甲氨蝶呤和他汀类(例如，阿托伐他汀、氟伐他汀、洛伐他汀、匹伐他汀、普伐他汀、瑞舒伐他汀和辛伐他汀)不在施用这类拟肽大环化合物的48h、36h、24h或12h内(例如，24h内)给药。可能受共施用本文公开的这类拟肽大环化合物影响的药物的非限制性实例在下表中列出：

药物	治疗领域
伊立替康	肿瘤学
波生坦	肺动脉高压
卡泊芬净	抗真菌
甲氨蝶呤	肿瘤学和风湿病学
瑞格列奈	糖尿病
阿托伐他汀	高胆固醇血症
西立伐他汀	高胆固醇血症
氟伐他汀	高胆固醇血症
洛伐他汀	高胆固醇血症
匹伐他汀	高胆固醇血症
普伐他汀	高胆固醇血症
瑞舒伐他汀	高胆固醇血症
辛伐他汀	高胆固醇血症

在一些实施方案中，一种或多种选自上表的药物不在施用这类拟肽大环化合物的48h、36h、24h或12h内(例如，24h内)给药。

受试者对治疗的反应

[0344] 通过本文公开的方法进行的癌症治疗的有效性和/或反应可通过任何合适的方法来确定。该反应可以是完全反应，其可以是客观反应、临床反应或对治疗的病理反应。该反应可以是存活持续时间(或这种持续时间的概率)或无进展间隔时间。这类事件的时机或持

续时间可以大约从诊断时间,或大约从治疗开始的时间,或大约从治疗结束的时间(如拟肽大环化合物和/或附加药学活性剂的最后施用)来确定。或者,该反应可基于肿瘤大小、肿瘤体积或肿瘤代谢的降低,或基于总肿瘤负荷,或基于血清标志物的水平,特别是在疾病状态下血清标志物升高的情况下。

[0345] 个体患者的反应可被描述为完全反应、部分反应、病情稳定和疾病进展。在一些实施方案中,该反应是完全反应(CR)。在一些实例中,完全反应可被定义为所有目标病变消失,即任何病理性淋巴结(无论是目标还是非目标的)的短轴均必须缩小至<10mm。在某些实施方案中,该反应是部分反应(PR)。部分反应可被定义为以基线直径总和为参考,目标病变的直径总和减少至少30%。在一些实施方案中,该反应为疾病进展(PD)。疾病进展可被定义为以研究的最小总和(如果基线总和是最小的,则这包括基线总和)为参考,目标病变的直径总和至少增加20%,以及目标病变的直径总和的绝对增加为至少5mm。一个或多个新病变的出现也可被视为进展。在一些实施方案中,该疾病可以是病情稳定的(SD)。病情稳定的特征可以在于,以研究中的最小直径总和为参考,既没有出现符合PR的充分缩小,也没有出现符合PD的充分增加。在某些实施方案中,该反应是病理学完全反应。例如,由病理学家在检查手术或活检时移除的组织后确定的病理学完全反应通常是指手术样本中不存在侵袭性肿瘤细胞的组织学证据。

[0346] 在一些实施方案中,本文公开的方法的有效性根据在受试者或受试者群体中观察到的不良反应减轻水平来评估。例如,嗜中性粒细胞减少症、血小板减少症和/或其他血液学毒性参数的频率和/或严重程度可以在用本文公开的拟肽大环化合物与附加药学活性剂(例如,本文公开的任何附加治疗剂)的组合治疗的受试者中进行评估,并与单独用附加药学活性剂治疗的受试者中的嗜中性粒细胞减少症、血小板减少症和/或其他血液学毒性参数的频率和/或严重程度进行比较。在一些情况下,使用不良事件通用术语标准(Common Terminology Criteria for Adverse Events,CTCAE)分级量表来评估不良事件的严重程度。

试验

[0347] 例如,拟肽大环化合物的性质通过使用下面所述的方法进行分析。在一些实施方案中,拟肽大环化合相对于缺乏本文所述的取代基的相应多肽具有改善的生物学性质。

a.用于测定α-螺旋度的试验

[0348] 在溶液中,具有α-螺旋结构域的多肽的二级结构在随机卷曲结构和α-螺旋结构之间达到动态平衡,这通常被称为“百分螺旋度”。因此,例如,α-螺旋结构域在溶液中主要是随机卷曲,α-螺旋含量通常低于25%。另一方面,具有优化的连接体的拟肽大环化合物具有例如至少为相应的非交联多肽的2倍的α-螺旋度。在一些实施方案中,大环化合物具有高于50%的α-螺旋度。为了测定拟肽大环化合物的螺旋度,将化合物溶解于水溶液(例如,pH 7的50mM磷酸钾溶液或蒸馏水,达到25-50μM的浓度)。使用标准测量参数(例如,温度,20℃;波长,190-260nm;步级分辨率(step resolution),0.5nm;速度,20nm/sec;累积,10;响应,1秒;带宽,1nm;路径长度,0.1cm)在分光偏振计上获得圆二色性(CD)谱。通过将平均残基椭圆度(例如,[Φ]222obs)除以模型螺旋十肽的报道值来计算各个肽的α-螺旋含量。

b.用于测量解链温度(Tm)的试验

[0349] 含有二级结构如α-螺旋的拟肽大环化合物显示出例如比相应的非交联多肽更高

的解链温度。拟肽大环化合物显示出>60℃的Tm，表明在水溶液中高度稳定的结构。为了分析大环形成对解链温度的影响，将拟肽大环化合物或未修饰的肽溶于蒸馏水中(例如，以50μM的终浓度)，并且通过使用标准参数(例如，波长，222nm;步级分辨率，0.5nm;速度，20nm/sec;累积，10;响应，1秒;带宽，1nm;温度上升速度，1℃/分钟;路径长度，0.1cm)在分光偏振计上测量椭圆度在一定温度范围(例如，4-95℃)内的变化来确定Tm。

c.蛋白酶抗性试验

[0350] 肽骨架的酰胺键易受到蛋白酶的水解，从而致使肽化合物在体内易于快速降解。但是，肽螺旋的形成包埋酰胺骨架，因此可以保护其免于蛋白水解裂解。拟肽大环化合物可以经历体外胰蛋白酶的蛋白水解，以评价与相应的非交联多肽相比其降解速率的任何变化。例如，拟肽大环化合物和相应的非交联多肽与胰蛋白酶琼脂糖一起孵育，并在各个时间点通过离心猝灭反应，随后进行HPLC注入以根据280nm处的紫外吸收对残留的底物进行定量。简单来说，拟肽大环化合物和拟肽前体(5mcg)与胰蛋白酶琼脂糖(S/E～125)孵育0、10、20、90和180分钟。通过台式离心机高速离心猝灭反应;通过基于HPLC的在280nm处的峰检测对分离的上清液中残余的底物进行定量。蛋白水解反应显示出一级动力学，且速率常数k由ln[S]相对于时间的曲线确定(k＝-1X斜率)。

d.离体稳定性试验

[0351] 具有优化的连接体的拟肽大环化合物具有例如至少为相应的非交联多肽的2倍的离体半衰期，且具有12小时或更长的离体半衰期。对于离体血清稳定性研究，可以使用多种试验。例如，将拟肽大环化合物和相应的非交联多肽(2mcg)与新鲜的小鼠、大鼠和/或人血清(2mL)一起在37℃下孵育0、1、2、4、8和24小时。为了测定完整化合物的水平，可以使用下面的程序:通过将100μl的血清转移到2ml离心管中，接着加入10μL的50％甲酸和500μL乙腈并在4±2℃下以14,000RPM离心10分钟来提取样品。然后将上清液转移到新的2ml管中，并在N_2<10psi、37℃下在Turbovap上蒸发。样品在100μL的50:50乙腈:水中重建，并进行LC-MS/MS分析。

e.体外结合试验

[0352] 为了评估拟肽大环化合物和拟肽前体与受体蛋白质的结合和亲和力，例如使用荧光偏振试验(FPA)。FPA技术使用偏振光和荧光示踪剂测量分子取向和分子迁移率。当用偏振光激发时，由于附接在具有高表观分子量的分子(例如，与大蛋白质结合的FITC标记的肽)上的荧光示踪剂(例如，FITC)与附接在较小分子(例如，在溶液中游离的FITC标记的肽)上的荧光示踪剂相比具有较慢的旋转速度，附接在具有高表观分子量的分子上的荧光示踪剂发射较高水平的偏振荧光。例如，荧光标记的(fluoresceinated)拟肽大环化合物(25nM)与接受体蛋白质(25-1000nM)在结合缓冲液(140mM NaCl、50mM Tris-HCL，pH 7.4)中在室温下孵育30分钟。例如，用发光分光光度计通过荧光偏振测定结合活性。可以使用例如GraphPad Prism软件通过非线性回归分析来确定Kd值。在一些实施方案中，拟肽大环化合物显示出与相应的非交联多肽类似的或更低的Kd。

f.用于表征肽-蛋白质相互作用的拮抗剂的体外置换试验

[0353] 为了评估拮抗肽与接受体蛋白质之间相互作用的化合物的结合和亲和力，例如，使用利用来源于拟肽前体序列的荧光标记的拟肽大环化合物的荧光偏振试验(FPA)。FPA技术使用偏振光和荧光示踪剂测量分子取向和分子迁移率。当用偏振光激发时，由于附接在

具有高表观分子量的分子(例如,与大蛋白质结合的FITC标记的肽)上的荧光示踪剂(例如,FITC)与附接在较小分子(例如,在溶液中游离的FITC标记的肽)上的荧光示踪剂相比具有较低的旋转速度,附接在具有高表观分子量的分子上的荧光示踪剂发射较高水平的偏振荧光。拮抗荧光标记的拟肽大环化合物与接受体蛋白质之间相互作用的化合物在竞争性结合FPA实验中进行检测。

[0354] 例如,推定的拮抗剂化合物(1nM至1mM)和荧光标记的拟肽大环化合物(25nM)与接受体蛋白质(50nM)一起在结合缓冲液(140mM NaCl、50mM Tris-HCL,pH 7.4)中在室温下孵育30分钟。例如,用发光分光光度计通过荧光偏振测定拮抗剂结合活性。可以通过非线性回归分析来确定Kd值。任何类别的分子,如有机小分子、肽、寡核苷酸或蛋白质,都可以在该试验中作为推定的拮抗剂进行检测。

g.通过亲和选择-质谱法对蛋白质-配体结合的分析

[0355] 为了评估测试化合物对蛋白质的结合和亲和力,例如采用亲和选择-质谱分析试验。按照以下对全系统对照实验概述的代表性程序,使用1μM拟肽大环化合物加5μM hMDM2进行蛋白质-配体结合实验。将40μM拟肽大环化合物储备溶液的1μL DMSO等份溶解在19μL PBS(含有150mM NaCl的50mM,pH 7.5磷酸盐缓冲液)中。得到的溶液通过反复吸液进行混合并通过以10,000g离心10分钟进行澄清。向4μL等份得到的上清液中加入4μL 10μM hMDM2的PBS溶液。每个8.0μL实验样品因此含有在PBS中的浓度为5.0μM的40pmol(1.5μg)蛋白质,加1μM拟肽大环化合物和2.5%DMSO。针对每个浓度点如此制备的双份样品在室温下孵育60分钟,然后冷却至4℃,之后进行5.0μL注入液的大小排阻层析-LC-MS分析。将含有靶蛋白、蛋白质-配体复合物和未结合的化合物的样品注入到SEC柱上,通过快速SEC步骤将复合物与未结合的成分在该柱上分离。采用UV检测器监测SEC柱洗脱液,以证实在SEC柱的外水体积中洗脱的早期洗脱的蛋白质级分从保留在柱上的未结合的成分中良好地分离出来。在含有蛋白质和蛋白质-配体复合物的级分从主UV检测器洗脱后,该级分进入样品环路,在其中该级分从SEC阶段的流上截下,并通过阀门机构直接转移到LC-MS。通过ESI-MS以预期的m/z观察拟肽大环化合物的$(M+3H)^{3+}$离子,证实检测到蛋白质-配体复合物。

h.用于蛋白质-配体Kd滴定实验的分析

[0356] 为了评估测试化合物对蛋白质的结合和亲和力,例如,进行蛋白质-配体Kd滴定实验。蛋白质-配体K_d滴定实验如下进行:制备连续稀释的滴定剂拟肽大环化合物储备溶液(5、2.5、...、0.098mM)的2μL DMSO等份,然后溶解在38μL PBS中。得到的溶液通过反复吸液进行混合并通过以10 000g离心10分钟进行澄清。向4.0μL等份得到的上清液中加入4.0μL 10μM hMDM2的PBS溶液。每个8.0μL实验样品因此含有在PBS中的浓度为5.0μM的40pmol(1.5μg)蛋白质,不同浓度(125、62.5、...、0.24μM)的滴定肽和2.5%DMSO。针对每个浓度点如此制备的双份样品在室温下孵育30分钟,然后冷却至4℃,之后进行2.0μL注入液的SEC-LC-MS分析。通过ESI-MS观察$(M+H)^{1+}$、$(M+2H)^{2+}$、$(M+3H)^{3+}$和/或$(M+Na)^{1+}$离子;对提取的离子色谱图进行定量,然后与方程拟合,以推导出结合亲和力K_d。

i.通过亲和选择-质谱法进行竞争性结合实验的分析

[0357] 为了确定测试化合物竞争性结合蛋白质的能力,例如,进行亲和选择-质谱分析试验。通过将三种化合物中每一种的2μL等份400μM储备溶液与14μL DMSO混合制备每种成分40μM的配体混合物。然后,将1μL等份的该每种成分40μM的混合物与滴定剂拟肽大环化合物

连续稀释储备溶液(10、5、2.5、...、0.078mM)的1μL DMSO等份混合。将这些2μL样品溶解在38μL PBS中。得到的溶液通过反复吸液进行混合并通过以10,000g离心10分钟进行澄清。向4.0μL等份得到的上清液中加入4.0μL 10μM hMDM2蛋白的PBS溶液。每个8.0μL实验样品因此含有在PBS中的浓度为5.0μM的40pmol(1.5μg)蛋白质,加0.5μM配体、2.5%DMSO和不同浓度(125、62.5、...、0.98μM)的滴定剂拟肽大环化合物。针对每个浓度点如此制备的双份样品在室温下孵育60分钟,然后冷却至4℃,之后进行2.0μL注入液的SEC-LC-MS分析。

j.在完整细胞中的结合分析

[0358] 可以通过免疫沉淀实验测定肽或拟肽大环化合物与其天然受体在完整细胞中的结合。例如,完整的细胞与荧光标记的(FITC-标记的)化合物在无血清的情况下孵育4小时,接着进行血清置换并进一步孵育4-18小时。然后使细胞沉淀,并在4℃下在裂解缓冲液(50mM Tris[pH7.6]、150mM NaCl、1%的CHAPS和蛋白酶抑制剂混合物)中孵育10分钟。用离心机以14,000rpm离心提取物15分钟,收集上清液,并与10μl山羊抗-FITC抗体一起孵育2小时,在4℃下旋转,接着进一步在4℃下与蛋白A/G Sepharose(50μl的50%微珠浆)孵育2小时。快速离心之后,将沉淀物在含有渐增的盐浓度(例如,150、300、500mM)的裂解缓冲液中洗涤。随后以150mM NaCl再平衡微珠,之后加入含有SDS的样品缓冲液并煮沸。离心之后,任选地使用4%-12%梯度的Bis-Tris凝胶对上清液进行电泳,接着转移到Immobilon-P膜上。封闭后,任选地将印迹与检测FITC的抗体一起孵育,也与一种或多种检测与拟肽大环化合物结合的蛋白质的抗体一起孵育。

k.细胞透性分析

[0359] 与相应的非交联大环化合物相比,拟肽大环化合物例如可具有更高的细胞透性。具有优化的连接体的拟肽大环化合物可具有例如是相应的非交联大环化合物的至少2倍的细胞透性。常常可观察到20%或更多的应用的拟肽大环化合物在4小时后已渗透入细胞。为了测量拟肽大环化合物和相应的非交联大环化合物的细胞透性,将完整的细胞与荧光标记的(例如荧光化的(fluoresceinated))拟肽大环化合物或相应的非交联大环化合物(10μM)一起在不含血清的培养基中37℃孵育4小时,用培养基洗涤2次,并与胰蛋白酶(0.25%)在37℃下孵育10分钟。再次洗涤细胞,并将其重悬浮于PBS中。分析细胞荧光。

l.细胞效力分析

[0360] 例如,在基于细胞的杀伤试验中,使用多种致瘤和非致瘤的细胞系及源自人类或小鼠细胞群体的原代细胞测定某些拟肽大环化合物的效力。例如,在与拟肽大环化合物(0.5-50μM)一起孵育的24-96小时期间监测细胞的活力,以鉴定那些以EC_{50}<10μM杀死细胞的化合物。检测细胞活力的几种标准分析是可以通过商业途径得到的,并且任选地用来评价拟肽大环化合物的效力。测定膜联蛋白V和胱天蛋白酶激活的分析任选地用来评价拟肽大环化合物是否通过激活凋亡机制杀死细胞。例如,采用Cell Titer-glo试验,该试验确定随细胞内ATP浓度变化的细胞活力。

m.体内稳定性分析

[0361] 为了研究拟肽大环化合物的体内稳定性,例如,向小鼠和/或大鼠通过静脉内、腹膜内、口服或吸入途径以0.1-50mg/kg的浓度施用化合物,并在注射后0’、5’、15’、30’、1小时、4小时、8小时和24小时抽取血样。然后如上所述通过LC-MS/MS测定25μL新鲜血清中的完整化合物的水平。

n.在动物模型中的体内效力

[0362] 为了确定拟肽大环化合物在体内的抗致癌活性，例如，化合物单独给予(静脉内、腹膜内、口服、通过吸入或鼻途径)或与亚最佳剂量的相关化疗剂(例如，环磷酰胺、阿霉素、依托泊苷)联合给予。在一个实例中，在NOD-SCID小鼠遭受全身辐射3小时后，通过尾静脉注射稳定表达萤光素酶的5x 10^6RS4;11细胞(从急性淋巴细胞白血病患者的骨髓建立)。如果不予处理，在该模型中这种形式的白血病在3周内是致命的。例如，通过对小鼠注射D-萤光素(60mg/kg)并对麻醉的动物进行成像可以容易地监测该白血病。通过Living Image Software进行光子通量(photonic flux)(光子/秒)的积分(integration)来对全身生物发光进行定量。例如，拟肽大环化合物单独地或与亚最佳剂量的相关化疗剂联合地通过尾静脉或静脉内途径以0.1mg/kg-50mg/kg的剂量向白血病小鼠施用(注射后10天/实验第1天，生物发光范围为14-16)7-21天。任选地，在整个实验过程中每隔一天对小鼠成像，并在实验期间每天监测其存活。在实验结束时任选地对死亡的小鼠进行尸体检查。另一种动物模型是将稳定表达萤光素酶的DoHH2(源自人类滤泡性淋巴瘤的细胞系)植入到NOD-SCID小鼠中。这些体内试验任选地产生初步的药代动力学、药效学和毒理学数据。

o.用拟肽大环化合物治疗的小鼠骨髓中的体内基因表达

[0363] 为了评估本公开的拟肽大环化合物对骨髓中的基因表达的影响，进行了带对照的体内临床前研究。将治疗有效量(例如2.4mg/kg)的本公开的拟肽大环化合物静脉内施用于一组小鼠。在大环化合物给药后0、4、8、16和24小时，从小鼠的总骨髓样品中提取mRNA。通过实时聚合酶链反应(PCR)评估鼠p21(p53依赖性细胞周期停滞的下游介体)、Noxa(凋亡标志物)和p53上调的凋亡调节剂(PUMA)mRNA表达。在一些实施方案中，在拟肽大环化合物施用后约4小时，小鼠骨髓中的平均p21 mRNA表达增加约7.5倍至约10倍，在拟肽大环化合物施用后约8小时增加约5倍至约7.5倍，并且到拟肽大环化合物施用后约16小时恢复到大约基线水平。在一些实施方案中，在拟肽大环化合物施用后约4小时，平均PUMA mRNA表达增加约1倍至约3倍，并在拟肽大环化合物施用后约8小时恢复到大约基线水平。在一些实施方案中，在拟肽大环化合物施用后，小鼠骨髓中的平均Noxa mRNA表达没有变化。在一些实施方案中，这组小鼠的骨髓中发生的平均p21 mRNA表达、平均PUMA mRNA表达和/或平均Noxa mRNA表达的变化与图9所示的相应线的偏差最多为10％、20％、30％、40％或50％。

p.临床前模型的骨髓中的细胞周期停滞

[0364] 为了评估本公开的拟肽大环化合物对骨髓中的细胞周期停滞的影响，在小鼠中进行了带对照的体内研究。通过静脉内给药用5mg/kg、10mg/kg或20mg/kg的拟肽大环化合物治疗小鼠。然后在治疗前(治疗后0小时)以及治疗后4小时、8小时、16小时和24小时，在谱系阴性、Kit阳性的造血干细胞和祖细胞中，使用5-乙炔基-2'-脱氧尿苷(EdU)掺入，通过流式细胞术测量小鼠骨髓中的细胞周期停滞。在一些实施方案中，EdU+细胞的百分比在治疗前为约20％，在治疗后约8小时小于约5％，在治疗后约16小时为约10％至约25％，在治疗后约24小时为约40％至约50％。在一些实施方案中，呈EdU+的谱系阴性、Kit阳性造血干细胞和祖细胞(HSPC)的百分比发生变化，与图11所示的相应线的偏差最多为10％、20％、30％、40％或50％。

q.拟肽大环化合物施用对托泊替康诱发的嗜中性粒细胞减少症的影响

[0365] 在带对照的体内研究中评估了本公开的拟肽大环化合物对托泊替康诱发的嗜中

性粒细胞减少症的影响。该研究包括四组小鼠，药剂的施用在6天的治疗期内进行。第一组小鼠(第1组)在治疗期的第2、3、4、5和6天用媒介物对照处理。第二组小鼠(第2组)在6天治疗期的第1、2、3、4和5天用2.4mg/kg的拟肽大环化合物静脉内治疗。第三组小鼠(第3组)在6天治疗期的第2、3、4、5和6天用1.5mg/kg的托泊替康治疗。第四组小鼠(第4组)在6天治疗期的第1、2、3、4和5天用2.4mg/kg的拟肽大环化合物治疗，并在6天治疗期的第2、3、4、5和6天用1.5mg/kg的托泊替康治疗。在治疗期之后，进行全血细胞计数以确定每μL血液中存在的嗜中性粒细胞数目。在一些实施方案中，第4组小鼠每μL血液平均具有约588个嗜中性粒细胞。在一些实施方案中，第4组小鼠中每μL血液的嗜中性粒细胞数目在约200至约1000的范围内。在一些实施方案中，第3组小鼠每μL血液平均具有约320个嗜中性粒细胞。在一些实施方案中，第3组小鼠中每μL血液的嗜中性粒细胞数目在约10至约500的范围内。在一些实施方案中，第2组小鼠每μL血液的嗜中性粒细胞数目中值为约1000。在一些实施方案中，第2组小鼠中每μL血液的嗜中性粒细胞数目在约200至约1800的范围内。在一些实施方案中，第1组小鼠每μL血液的嗜中性粒细胞数目中值为约600。在一些实施方案中，第1组小鼠中每μL血液的嗜中性粒细胞数目在约450至约1000的范围内。在一些实施方案中，与第3组小鼠每μL血液中存在的嗜中性粒细胞平均数相比，第4组小鼠每μL血液中存在的嗜中性粒细胞平均数增加了约20％、40％、50％、60％、70％、80％、100％、120％或140％。在一些实施方案中，与第3组小鼠每μL血液中存在的嗜中性粒细胞数相比，第4组小鼠每μL血液中存在的嗜中性粒细胞数增加，如图16A或16B所示。

r.拟肽大环化合物施用对卡铂和紫杉醇诱发的嗜中性粒细胞减少症的影响

[0366] 在带对照的体内研究中评估了本公开的拟肽大环化合物对卡铂和紫杉醇诱发的嗜中性粒细胞减少症的影响。将小鼠分成六个治疗组，并施用媒介物对照、单独的拟肽大环化合物、卡铂和紫杉醇的组合，或拟肽大环化合物、卡铂和紫杉醇的组合。拟肽大环化合物相对于卡铂和紫杉醇的给药时间不同，卡铂/紫杉醇给药时间被表示为时间0小时。正时间(例如时间+8小时)表示在用卡铂/紫杉醇治疗后进行的拟肽大环化合物治疗，负时间(例如，-1小时)表示在卡铂/紫杉醇施用之前的拟肽大环化合物治疗。AP-1和紫杉醇通过静脉内施用，而卡铂通过腹膜内注射施用。

[0367] 第1组用媒介物对照处理。第2组在时间-8小时、-1小时和+8小时用拟肽大环化合物(2.4mg/kg)治疗。第3组在时间0小时用卡铂(25mg/kg)和紫杉醇(5mg/kg)治疗(C+P)。第4组在时间-24小时和-1小时用拟肽大环化合物治疗，并在时间0小时用卡铂(25mg/kg)和紫杉醇(5mg/kg)治疗。第5组在时间-8小时、-1小时和+8小时用拟肽大环化合物治疗，并在时间0小时用卡铂(25mg/kg)和紫杉醇(5mg/kg)治疗。第6组在时间-8小时和-1小时用拟肽大环化合物治疗，并在时间0小时用卡铂(25mg/kg)和紫杉醇(5mg/kg)治疗。治疗后，从小鼠收集血液，并测定血液中的嗜中性粒细胞水平。在一些实施方案中，第6组小鼠每μL血液平均具有约225个嗜中性粒细胞。在一些实施方案中，第6组小鼠中每μL血液的嗜中性粒细胞数目在约100至约400的范围内。在一些实施方案中，第5组小鼠每μL血液平均具有约250个嗜中性粒细胞。在一些实施方案中，第5组小鼠中每μL血液的嗜中性粒细胞数目在约50至约350的范围内。在一些实施方案中，第4组小鼠每μL血液平均具有约150个嗜中性粒细胞。在一些实施方案中，第4组小鼠中每μL血液的嗜中性粒细胞数目在约100至约200的范围内。在一些实施方案中，第3组小鼠每μL血液平均具有约150个嗜中性粒细胞。在一些实施方案中，

第3组小鼠中每μL血液的嗜中性粒细胞数目在约100至约225的范围内。在一些实施方案中，第2组小鼠每μL血液平均具有约225个嗜中性粒细胞。在一些实施方案中，第2组小鼠中每μL血液的嗜中性粒细胞数目在约150至约375的范围内。在一些实施方案中，第1组小鼠每μL血液平均具有约275个嗜中性粒细胞。在一些实施方案中，第1组小鼠中每μL血液的嗜中性粒细胞数目在约175至约475的范围内。在一些实施方案中，与第3组小鼠每μL血液中存在的嗜中性粒细胞平均数相比，第5组小鼠每μL血液中存在的嗜中性粒细胞平均数增加了约20％、40％、50％、60％、70％、80％、100％、120％或140％。在一些实施方案中，与第3组小鼠每μL血液中存在的嗜中性粒细胞数相比，第5组小鼠每μL血液中存在的嗜中性粒细胞数增加，如图18A所示。

s.拟肽大环化合物施用对托泊替康诱发的粘膜炎的影响

[0368] 在带对照的体内研究中评估了本公开的拟肽大环化合物对托泊替康诱发的粘膜炎的影响。该研究包括四组小鼠(每组10只小鼠)，药剂的施用在6天的治疗期内进行。第一组小鼠(第1组)在治疗期的第2、3、4、5和6天用媒介物对照处理。第二组小鼠(第2组)在6天治疗期的第1、2、3、4和5天用2.4mg/kg的拟肽大环化合物静脉内治疗。第三组小鼠(第3组)在6天治疗期的第2、3、4、5和6天用1.5mg/kg的托泊替康治疗。第四组小鼠(第4组)在6天治疗期的第1、2、3、4和5天用2.4mg/kg的拟肽大环化合物治疗，并在6天治疗期的第2、3、4、5和6天用1.5mg/kg的托泊替康治疗。然后在治疗后第7天和第9天从小鼠中取出肠样品。进行肠样品的组织病理学分析，以评估肥大/增生。在一些实施方案中，来自第1组和第2组小鼠的所有肠样品的肥大/增生评分均为0。在一些实施方案中，来自第3组的约70％(例如7/10)小鼠的肠样品的增生/肥大评分为3，并且来自约30％(例如3/10)小鼠的肠样品的肥大/增生评分为2。在一些实施方案中，来自第4组的约80％(例如8/10)小鼠的肠样品的增生/肥大评分为2，并且来自约20％(例如2/10)小鼠的肠样品的肥大/肥大评分为3。在一些实施方案中，与第3组小鼠消化道组织的肥大/增生的相比，第4组小鼠消化道组织的肥大/增生的测量值得到改善，如图24A所示。

t.临床试验

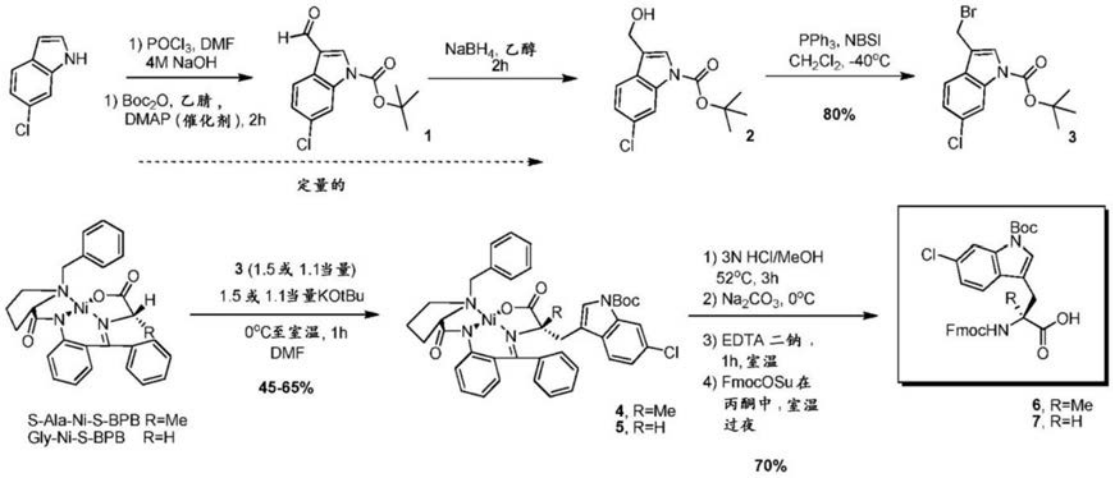
[0369] 为了确定采用本文公开的拟肽大环化合物和附加疗法(例如，本文公开的任何附加治疗剂)的联合治疗对于人类的适用性，进行了临床试验。例如，可选择出被诊断为患有癌症并且需要治疗的患者并将他们分成联合治疗组和一个或多个对照组，其中，对联合治疗组施用拟肽大环化合物联合附加治疗剂，而对照组接受安慰剂或单独的附加治疗剂。这样，可以通过对患者组就诸如副作用的存在与否、生存率和生活质量的因素进行比较来评价该联合治疗的治疗安全性和有效性。在本实例中，相比于用安慰剂或单独的附加治疗剂处理的患者对照组，用拟肽大环化合物和附加治疗剂的组合治疗的患者组可以显示出提高的长期生存率和/或降低的副作用。

[0370] 还可以在用拟肽大环化合物治疗之前或之后通过东部肿瘤协作组(Eastern Cooperative Oncology Group，ECOG)表现状态(PS)来评估受试者的整体健康状况。ECOG表现状态根据下表中显示的标准为受试者分配0-5分：

等级	ECOG 表现状态
0	具有完全活动能力，能够不受限制地进行所有疾病前表现
1	重体力活动受限，但可以走动，并且能够从事轻体力或久坐的工作，例如，轻度家务劳动、办公室工作
2	可以走动，能够完全自理，但不能从事任何工作活动；超过50%的清醒时间能够下床走动
3	只能进行有限的自理；超过50%的清醒时间被限制在床上或椅子上
4	完全失能；完全不能自理；完全被限制在床上或椅子上
5	死亡

实施例

实施例1:6-氯色氨酸Fmoc氨基酸的合成



[0371] 6-氯-3-甲酰基-1H-吲哚-1-甲酸叔丁酯,1。在氩气下于0℃向搅拌中的无水DMF(12mL)的溶液中逐滴加入$POCl_3$(3.92mL,43mmol,1.3当量)。在0℃下搅拌该溶液20分钟,然后逐滴加入6-氯吲哚(5.0g,33mmol,1当量)的无水DMF(30mL)溶液。使所得到的混合物升温至室温,并再搅拌2.5h。向反应混合物中加水(50mL),并用4M NaOH水溶液(pH～8)中和该溶液。滤出所得到的固体,用水洗涤,并在真空下干燥。该材料无需额外的纯化而用于下一步。

[0372] 在N_2和室温下,向搅拌中的粗甲酰吲哚(33mmol,1当量)的THF(150mL)溶液中相继添加Boc_2O(7.91g,36.3mmol,1.1当量)和DMAP(0.4g,3.3mmol,0.1当量)。在室温下搅拌所得混合物1.5h,减压蒸发溶剂。将残留物用EtOAc吸收,并用1N HCl洗涤,干燥并浓缩,得到呈白色固体的甲酰吲哚1(经2步,9g,98%)。^1H NMR($CDCl_3$)δ:1.70(s,Boc,9H);7.35(dd,1H);8.21(m,3H);10.07(s,1H)。

[0373] 6-氯-3-(羟甲基)-1H-吲哚-1-甲酸叔丁酯,2。向化合物1(8.86g,32mmol,1当量)的乙醇(150mL)溶液中加入$NaBH_4$(2.4g,63mmol,2当量)。在室温下搅拌反应液3h。浓缩反应混合物,并将残留物倒入乙醚和水中。分离有机层,用硫酸镁干燥并浓缩,从而得到白色固

体(8.7g,98%)。这种材料无需额外的纯化而直接用于下一步。^{1}H NMR($CDCl_3$)δ:1.65(s,Boc,9H);4.80(s,2H,CH_2);7.21(dd,1H);7.53(m,2H);8.16(bs,1H)。

[0374] αMe-6Cl-Trp(Boc)-Ni-S-BPB,4。在氩气下向S-Ala-Ni-S-BPB(2.66g,5.2mmol,1当量)和KO-tBu(0.87g,7.8mmol,1.5当量)中加入50mL DMF。将溴化物衍生化合物3(2.68g,7.8mmol,1.5当量)溶解在DMF(5.0mL)中,并使用注射器加入到反应混合物中。在环境温度下搅拌反应混合物1h。然后用5%的醋酸水溶液猝灭溶液,并用水稀释。在二氯甲烷中萃取所需产物,干燥并浓缩。在使用EtOAc和己烷作为洗脱液的正相上通过快速色谱法(固体加载)纯化油状产物4,得到红色固体(1.78g,45%产率)。M+H计算775.21,M+H观测775.26;^{1}H NMR($CDCl_3$)δ:1.23(s,3H,αMe);1.56(m,11H,Boc+CH_2);1.82-2.20(m,4H,2CH_2);3.03(m,1H,CH_α);3.24(m,2H,CH_2);3.57和4.29(AB系统,2H,CH_2(苯甲基),J=12.8Hz);6.62(d,2H);6.98(d,1H);7.14(m,2H);7.23(m,1H);7.32-7.36(m,5H);7.50(m,2H);7.67(bs,1H);7.98(d,2H);8.27(m,2H)。

[0375] 6Cl-Trp(Boc)-Ni-S-BPB,5。在氩气下向Gly-Ni-S-BPB(4.6g,9.2mmol,1当量)和KO-tBu(1.14g,10.1mmol,1.1当量)中加入95mL DMF。将溴化物衍生化合物3(3.5g,4.6mmol,1.1当量)溶解在DMF(10mL)中,并使用注射器加入到反应混合物中。在环境温度下搅拌反应混合物1h。然后用5%的醋酸水溶液猝灭溶液,并用水稀释。在二氯甲烷中萃取所需产物,干燥并浓缩。在正相上使用EtOAc和己烷作为洗脱液通过快速色谱法(固体加载)纯化油状产物5,得到红色固体(5g,71%产率)。M+H计算761.20,M+H观测761.34;^{1}H NMR($CDCl_3$)δ:1.58(m,11H,Boc+CH_2);1.84(m,1H);1.96(m,1H);2.24(m,2H,CH_2);3.00(m,1H,CH_α);3.22(m,2H,CH_2);3.45和4.25(AB系统,2H,CH_2(苯甲基),J=12.8Hz);4.27(m,1H,CH_α);6.65(d,2H);6.88(d,1H);7.07(m,2H);7.14(m,2H);7.28(m,3H);7.35-7.39(m,2H);7.52(m,2H);7.96(d,2H);8.28(m,2H)。

[0376] Fmoc-αMe-6Cl-Trp(Boc)-OH,6。向50℃的3N HCl/MeOH(1/3,15mL)溶液中逐滴加入化合物4(1.75g,2.3mmol,1当量)的MeOH(5ml)溶液。原始材料在3-4h内消失。然后用冰浴使酸性溶液冷却至0℃,并用Na_2CO_3(1.21g,11.5mmol,5当量)水溶液将其猝灭。除去甲醇,并向悬浮液中添加8当量的Na_2CO_3(1.95g,18.4mmol)。然后添加EDTA二钠盐二水合物(1.68g,4.5mmol,2当量),并搅拌所得悬浮液2h。添加Fmoc-OSu(0.84g,2.5mmol,1.1当量)的丙酮(50mL)溶液并搅拌该反应液过夜。用乙醚和1N HCl稀释该反应液。然后用硫酸镁干燥有机层,并在真空中浓缩。在正相上使用丙酮和二氯甲烷作为洗脱液纯化所需产物6,得到白色泡沫(0.9g,70%产率)。M+H计算575.19,M+H观测575.37;^{1} H NMR($CDCl_3$)1.59(s,9H,Boc);1.68(s,3H,Me);3.48(bs,2H,CH_2);4.22(m,1H,CH);4.39(bs,2H,CH_2);5.47(s,1H,NH);7.10(m,1H);7.18(m,2H);7.27(m,2H);7.39(m,2H);7.50(m,2H);7.75(d,2H);8.12(bs,1H)。

[0377] Fmoc-6Cl-Trp(Boc)-OH,7。向50℃下的3N HCl/MeOH(1/3,44mL)溶液中逐滴加入化合物5(5g,6.6mmol,1当量)在MeOH(10ml)中的溶液。原始材料在3-4h内消失。然后用冰浴使酸性溶液冷却至0℃,并用Na_2CO_3(3.48g,33mmol,5当量)水溶液将其猝灭。除去甲醇,并向悬浮液中添加8当量的Na_2CO_3(5.57g,52mmol)。向悬浮液中添加EDTA二钠盐二水合物(4.89g,13.1mmol,2当量),并搅拌所得悬浮液2h。添加Fmoc-OSu(2.21g,6.55mmol,1.1当量)在丙酮(100mL)中的溶液,并搅拌反应液过夜。用乙醚和1N HCl稀释该反应液。然后用硫酸镁干燥有机层,并在真空中浓缩。在正相上使用丙酮和二氯甲烷作为洗脱液纯化所需产

物7,得到白色泡沫(2.6g,69%产率)。M+H计算561.17,M+H观测561.37;^{1}H NMR($CDCl_3$)1.63(s,9H,Boc);3.26(m,2H,CH_2);4.19(m,1H,CH);4.39(m,2H,CH_2);4.76(m,1H);5.35(d,1H,NH);7.18(m,2H);7.28(m,2H);7.39(m,3H);7.50(m,2H);7.75(d,2H);8.14(bs,1H)。

实施例2:拟肽大环化合物

[0378] 通过用相对应的合成氨基酸替代两个或多个天然存在的氨基酸来设计拟肽大环化合物。替代发生在i和i+4以及i和i+7位。在固相条件下,使用rink amide AM树脂和Fmoc主链保护基团化学方法,人工地或使用自动化肽合成仪进行肽合成。对于天然Fmoc保护的氨基酸的偶联,使用10当量的氨基酸和1:1:2摩尔比的偶联试剂HBTU/HOBt/DIEA。非天然氨基酸(4当量)与1:1:2摩尔比的HATU/HOBt/DIEA偶联。合成肽的N末端被乙酰化,且C末端被酰胺化。

[0379] 在反相C18柱上通过HPLC来实现交联化合物的纯化,以产生纯的化合物。通过LC/MS质谱法和氨基酸分析确认该纯产物的化学组成。

[0380] 包括SP662、SP663和SP664在内的二炔交联的拟肽大环化合物的合成。以0.2mmol规模在PEG-PS树脂(加载0.45mmol/g)上合成完全保护的结合树脂的肽。通过采用在DMF中的20%(v/v)的哌啶对结合树脂的肽进行3×10min的处理来实现临时Fmoc基团的脱保护。用NMP(3×)、二氯甲烷(3×)和NMP(3×)洗涤后,通过与适当的预活化的Fmoc-氨基酸衍生物进行1×60min的孵育来实现每个连续氨基酸的偶联。在将偶联溶液转移至脱保护的结合树脂的肽之前,将所有被保护的氨基酸(0.4mmol)溶解在NMP中,并用HCTU(0.4mmol)和DIEA(0.8mmol)进行活化。偶联反应完成后,洗涤树脂,准备下一个脱保护/偶联循环。

[0381] 在存在于NMP中的乙酸酐/DIEA的存在下进行氨基末端的乙酰化。对从完全组装的结合树脂的肽的等分试样所获得的已切割和脱保护的样品进行LC-MS分析以验证每个偶联的完成。在典型的实例中,将四氢呋喃(4ml)和三乙胺(2ml)加入到在40ml玻璃小瓶中的肽树脂(0.2mmol)中并摇动10分钟。然后加入$Pd(PPh_3)_2Cl_2$(0.014g,0.02mmol)和碘化亚铜(0.008g,0.04mmol),并将所得反应混合物在大气开放的同时机械摇动16小时。在室温下通过用TFA/H_2O/TIS(95/5/5v/v)处理2.5h来将二炔环化的结合树脂的肽脱保护并从固体支持物上切下。将树脂过滤后,使TFA溶液在冷乙醚中沉淀并进行离心,以生产呈固体的所需产物。通过制备型HPLC对粗产物进行纯化。

[0382] 包括SP665在内的单炔烃交联的拟肽大环化合物的合成。以0.1mmol规模在Rink amide MBHA树脂(加载0.62mmol/g)上合成完全保护的结合树脂的肽。通过采用在NMP中的25%(v/v)的哌啶对结合树脂的肽进行2×20min的处理来实现临时Fmoc基团的脱保护。采用NMP和二氯甲烷进行充分的流动洗涤后,通过与适当的预活化的Fmoc-氨基酸衍生物进行1×60min的孵育来实现每个连续氨基酸的偶联。在将偶联溶液转移至脱保护的结合树脂的肽之前,将所有被保护的氨基酸(1mmol)溶解在NMP中,并用HCTU(1mmol)和DIEA(1mmol)进行活化。偶联反应完成后,对树脂进行充分的流动洗涤,准备下一个脱保护/偶联循环。

[0383] 在存在于NMP/NMM中的乙酸酐/DIEA的存在下进行氨基末端的乙酰化。对从完全组装的结合树脂的肽的等分试样所获得的已切割和脱保护的样品进行LC-MS分析以验证每个偶联反应的完成。在一个典型的实例中,用DCM洗涤肽树脂(0.1mmol)。将树脂装入微波小瓶中。对容器进行抽真空并用氮气进行吹扫。加入六羰基钼(0.01当量)。将无水氯苯加入到反应容器中。然后加入2-氟苯酚(1当量)。将反应物装入微波炉,并在130℃下保持10分钟。当

完成反应需要时，推动反应持续较长的一段时间。在室温下通过用TFA/H_2O/TIS(94/3/3v/v)处理固体支持物3h来对炔烃复分解的树脂结合肽进行脱保护并将其从固体支持物上切下。将树脂过滤后，使TFA溶液在冷乙醚中沉淀并进行离心，以得到呈固体的所需产物。通过制备型HPLC对粗产物进行纯化。

[0384] 表1示出了所制备的拟肽大环化合物的列表。

表1

SP	序列	异构体	准确质量	实测质量	计算(M+1)/1	计算(M+2)/2	计算(M+3)/3
1	Ac-F$r8AYWEAc3cL$AAA-NH_2		1456.78	729.44	1457.79	729.4	486.6
2	Ac-F$r8AYWEAc3cL$AAibA-NH_2		1470.79	736.4	1471.8	736.4	491.27
3	Ac-LTF$r8AYWAQL$SANle-NH_2		1715.97	859.02	1716.98	858.99	573
4	Ac-LTF$r8AYWAQL$SAL-NH_2		1715.97	859.02	1716.98	858.99	573
5	Ac-LTF$r8AYWAQL$SAM-NH_2		1733.92	868.48	1734.93	867.97	578.98
6	Ac-LTF$r8AYWAQL$SAhL-NH_2		1729.98	865.98	1730.99	866	577.67

SP	序列	异构体	准确质量	实测质量	计算(M+1)/1	计算(M+2)/2	计算(M+3)/3
7	Ac-LTF$r8AYWAQL$SAF-NH_2		1749.95	876.36	1750.96	875.98	584.32
8	Ac-LTF$r8AYWAQL$SAI-NH_2		1715.97	859.02	1716.98	858.99	573
9	Ac-LTF$r8AYWAQL$SAChg-NH_2		1741.98	871.98	1742.99	872	581.67
10	Ac-LTF$r8AYWAQL$SAAib-NH_2		1687.93	845.36	1688.94	844.97	563.65
11	Ac-LTF$r8AYWAQL$SAA-NH_2		1673.92	838.01	1674.93	837.97	558.98
12	Ac-LTF$r8AYWA$LSNle-NH_2		1767.04	884.77	1768.05	884.53	590.02
13	Ac-LTF$r8AYWA$LSA-NH_2		1724.99	864.23	1726	863.5	576
14	Ac-F$r8AYWEAc3cL$AANle-NH_2		1498.82	750.46	1499.83	750.42	500.61
15	Ac-F$r8AYWEAc3cL$AAL-NH_2		1498.82	750.46	1499.83	750.42	500.61
16	Ac-F$r8AYWEAc3cL$AAM-NH_2		1516.78	759.41	1517.79	759.4	506.6
17	Ac-F$r8AYWEAc3cL$AAhL-NH_2		1512.84	757.49	1513.85	757.43	505.29
18	Ac-F$r8AYWEAc3cL$AAF-NH_2		1532.81	767.48	1533.82	767.41	511.94
19	Ac-F$r8AYWEAc3cL$AAI-NH_2		1498.82	750.39	1499.83	750.42	500.61
20	Ac-F$r8AYWEAc3cL$AAChg-NH_2		1524.84	763.48	1525.85	763.43	509.29
21	Ac-F$r8AYWEAc3cL$AACha-NH_2		1538.85	770.44	1539.86	770.43	513.96
22	Ac-F$r8AYWEAc3cL$AAAib-NH_2		1470.79	736.84	1471.8	736.4	491.27
23	Ac-LTF$r8AYWAQL$AAAibV-NH_2		1771.01	885.81	1772.02	886.51	591.34
24	Ac-LTF$r8AYWAQL$AAAibV-NH_2	iso2	1771.01	886.26	1772.02	886.51	591.34
25	Ac-LTF$r8AYWAQL$SAibAA-NH_2		1758.97	879.89	1759.98	880.49	587.33
26	Ac-LTF$r8AYWAQL$SAibAA-NH_2	iso2	1758.97	880.34	1759.98	880.49	587.33
27	Ac-HLTF$r8HHWHQL$AANleNle-NH_2		2056.15	1028.86	2057.16	1029.08	686.39
28	Ac-DLTF$r8HHWHQL$RRLV-NH_2		2190.23	731.15	2191.24	1096.12	731.08
29	Ac-HHTF$r8HHWHQL$AAML-NH_2		2098.08	700.43	2099.09	1050.05	700.37
30	Ac-F$r8HHWHQL$RRDCha-NH_2		1917.06	959.96	1918.07	959.54	640.03
31	Ac-F$r8HHWHQL$HRFV-NH_2		1876.02	938.65	1877.03	939.02	626.35
32	Ac-HLTF$r8HHWHQL$AAhLA-NH_2		2028.12	677.2	2029.13	1015.07	677.05
33	Ac-DLTF$r8HHWHQL$RRChgl-NH_2		2230.26	1115.89	2231.27	1116.14	744.43
34	Ac-DLTF$r8HHWHQL$RRChgl-NH_2	iso2	2230.26	1115.96	2231.27	1116.14	744.43
35	Ac-HHTF$r8HHWHQL$AAChav-NH_2		2106.14	1053.95	2107.15	1054.08	703.05
36	Ac-F$r8HHWHQL$RRDa-NH_2		1834.99	918.3	1836	918.5	612.67
37	Ac-F$r8HHWHQL$HRAibG-NH_2		1771.95	886.77	1772.96	886.98	591.66
38	Ac-F$r8AYWAQL$HHNleL-NH_2		1730.97	866.57	1731.98	866.49	578
39	Ac-F$r8AYWSAL$HQANle-NH_2		1638.89	820.54	1639.9	820.45	547.3
40	Ac-F$r8AYWVQL$QHChgl-NH_2		1776.01	889.44	1777.02	889.01	593.01
41	Ac-F$r8AYWTAL$QQNlev-NH_2		1671.94	836.97	1672.95	836.98	558.32
42	Ac-F$r8AYWYQL$HAibAa-NH_2		1686.89	844.52	1687.9	844.45	563.3
43	Ac-LTF$r8AYWAQL$HHLa-NH_2		1903.05	952.27	1904.06	952.53	635.36
44	Ac-LTF$r8AYWAQL$HHLa-NH_2	iso2	1903.05	952.27	1904.06	952.53	635.36
45	Ac-LTF$r8AYWAQL$HQNlev-NH_2		1922.08	962.48	1923.09	962.05	641.7
46	Ac-LTF$r8AYWAQL$HQNlev-NH_2	iso2	1922.08	962.4	1923.09	962.05	641.7
47	Ac-LTF$r8AYWAQL$QQMl-NH_2		1945.05	973.95	1946.06	973.53	649.36

SP	序列	异构体	准确质量	实测质量	计算(M+1)/1	计算(M+2)/2	计算(M+3)/3
48	Ac-LTF$r8AYWAQL$QQMl-NH_2	iso2	1945.05	973.88	1946.06	973.53	649.36
49	Ac-LTF$r8AYWAQL$HAibhLV-NH_2		1893.09	948.31	1894.1	947.55	632.04
50	Ac-LTF$r8AYWAQL$AHFA-NH_2		1871.01	937.4	1872.02	936.51	624.68
51	Ac-HLTF$r8HHWHQL$AANlel-NH_2		2056.15	1028.79	2057.16	1029.08	686.39
52	Ac-DLTF$r8HHWHQL$RRLa-NH_2		2162.2	721.82	2163.21	1082.11	721.74
53	Ac-HHTF$r8HHWHQL$AAMv-NH_2		2084.07	1042.92	2085.08	1043.04	695.7
54	Ac-F$r8HHWHQL$RRDA-NH_2		1834.99	612.74	1836	918.5	612.67
55	Ac-F$r8HHWHQL$HRFCha-NH_2		1930.06	966.47	1931.07	966.04	644.36
56	Ac-F$r8AYWEAL$AA-NHAm		1443.82	1445.71	1444.83	722.92	482.28
57	Ac-F$r8AYWEAL$AA-NHiAm		1443.82	723.13	1444.83	722.92	482.28
58	Ac-F$r8AYWEAL$AA-NHnPr3Ph		1491.82	747.3	1492.83	746.92	498.28
59	Ac-F$r8AYWEAL$AA-NHnBu33Me		1457.83	1458.94	1458.84	729.92	486.95
60	Ac-F$r8AYWEAL$AA-NHnPr		1415.79	709.28	1416.8	708.9	472.94
61	Ac-F$r8AYWEAL$AA-NHnEt2Ch		1483.85	1485.77	1484.86	742.93	495.62
62	Ac-F$r8AYWEAL$AA-NHnEt2Cp		1469.83	1470.78	1470.84	735.92	490.95
63	Ac-F$r8AYWEAL$AA-NHHex		1457.83	730.19	1458.84	729.92	486.95
64	Ac-LTF$r8AYWAQL$AAIA-NH_2		1771.01	885.81	1772.02	886.51	591.34
65	Ac-LTF$r8AYWAQL$AAIA-NH_2	iso2	1771.01	866.8	1772.02	886.51	591.34
66	Ac-LTF$r8AYWAAL$AAMA-NH_2		1731.94	867.08	1732.95	866.98	578.32
67	Ac-LTF$r8AYWAAL$AAMA-NH_2	iso2	1731.94	867.28	1732.95	866.98	578.32
68	Ac-LTF$r8AYWAQL$AANleA-NH_2		1771.01	867.1	1772.02	886.51	591.34
69	Ac-LTF$r8AYWAQL$AANleA-NH_2	iso2	1771.01	886.89	1772.02	886.51	591.34
70	Ac-LTF$r8AYWAQL$AAIa-NH_2		1771.01	886.8	1772.02	886.51	591.34
71	Ac-LTF$r8AYWAQL$AAIa-NH_2	iso2	1771.01	887.09	1772.02	886.51	591.34
72	Ac-LTF$r8AYWAAL$AAMa-NH_2		1731.94	867.17	1732.95	866.98	578.32
73	Ac-LTF$r8AYWAAL$AAMa-NH_2	iso2	1731.94	867.37	1732.95	866.98	578.32
74	Ac-LTF$r8AYWAQL$AANlea-NH_2		1771.01	887.08	1772.02	886.51	591.34
75	Ac-LTF$r8AYWAQL$AANlea-NH_2	iso2	1771.01	887.08	1772.02	886.51	591.34
76	Ac-LTF$r8AYWAAL$AAIv-NH_2		1742.02	872.37	1743.03	872.02	581.68
77	Ac-LTF$r8AYWAAL$AAIv-NH_2	iso2	1742.02	872.74	1743.03	872.02	581.68
78	Ac-LTF$r8AYWAQL$AAMv-NH_2		1817	910.02	1818.01	909.51	606.67
79	Ac-LTF$r8AYWAAL$AANlev-NH_2		1742.02	872.37	1743.03	872.02	581.68
80	Ac-LTF$r8AYWAAL$AANlev-NH_2	iso2	1742.02	872.28	1743.03	872.02	581.68
81	Ac-LTF$r8AYWAQL$AAIl-NH_2		1813.05	907.81	1814.06	907.53	605.36
82	Ac-LTF$r8AYWAQL$AAIl-NH_2	iso2	1813.05	907.81	1814.06	907.53	605.36
83	Ac-LTF$r8AYWAAL$AAMl-NH_2		1773.99	887.37	1775	888	592.34
84	Ac-LTF$r8AYWAQL$AANlel-NH_2		1813.05	907.61	1814.06	907.53	605.36
85	Ac-LTF$r8AYWAQL$AANlel-NH_2	iso2	1813.05	907.71	1814.06	907.53	605.36
86	Ac-F$r8AYWEAL$AAMA-NH_2		1575.82	789.02	1576.83	788.92	526.28
87	Ac-F$r8AYWEAL$AANleA-NH_2		1557.86	780.14	1558.87	779.94	520.29
88	Ac-F$r8AYWEAL$AAIa-NH_2		1557.86	780.33	1558.87	779.94	520.29

SP	序列	异构体	准确质量	实测质量	计算(M+1)/1	计算(M+2)/2	计算(M+3)/3
89	Ac-F$r8AYWEAL$AAMa-NH_2		1575.82	789.3	1576.83	788.92	526.28
90	Ac-F$r8AYWEAL$AANlea-NH_2		1557.86	779.4	1558.87	779.94	520.29
91	Ac-F$r8AYWEAL$AAIv-NH_2		1585.89	794.29	1586.9	793.95	529.64
92	Ac-F$r8AYWEAL$AAMv-NH_2		1603.85	803.08	1604.86	802.93	535.62
93	Ac-F$r8AYWEAL$AANlev-NH_2		1585.89	793.46	1586.9	793.95	529.64
94	Ac-F$r8AYWEAL$AAIl-NH_2		1599.91	800.49	1600.92	800.96	534.31
95	Ac-F$r8AYWEAL$AAMl-NH_2		1617.86	809.44	1618.87	809.94	540.29
96	Ac-F$r8AYWEAL$AANlel-NH_2		1599.91	801.7	1600.92	800.96	534.31
97	Ac-F$r8AYWEAL$AANlel-NH_2	iso2	1599.91	801.42	1600.92	800.96	534.31
98	Ac-LTF$r8AY6clWAQL$SAA-NH_2		1707.88	855.72	1708.89	854.95	570.3
99	Ac-LTF$r8AY6clWAQL$SAA-NH_2	iso2	1707.88	855.35	1708.89	854.95	570.3
100	Ac-WTF$r8FYWSQL$AVAa-NH_2		1922.01	962.21	1923.02	962.01	641.68
101	Ac-WTF$r8FYWSQL$AVAa-NH_2	iso2	1922.01	962.49	1923.02	962.01	641.68
102	Ac-WTF$r8VYWSQL$AVA-NH_2		1802.98	902.72	1803.99	902.5	602
103	Ac-WTF$r8VYWSQL$AVA-NH_2	iso2	1802.98	903	1803.99	902.5	602
104	Ac-WTF$r8FYWSQL$SAAa-NH_2		1909.98	956.47	1910.99	956	637.67
105	Ac-WTF$r8FYWSQL$SAAa-NH_2	iso2	1909.98	956.47	1910.99	956	637.67
106	Ac-WTF$r8VYWSQL$AVAaa-NH_2		1945.05	974.15	1946.06	973.53	649.36
107	Ac-WTF$r8VYWSQL$AVAaa-NH_2	iso2	1945.05	973.78	1946.06	973.53	649.36
108	Ac-LTF$r8AYWAQL$AVG-NH_2		1671.94	837.52	1672.95	836.98	558.32
109	Ac-LTF$r8AYWAQL$AVG-NH_2	iso2	1671.94	837.21	1672.95	836.98	558.32
110	Ac-LTF$r8AYWAQL$AVQ-NH_2		1742.98	872.74	1743.99	872.5	582
111	Ac-LTF$r8AYWAQL$AVQ-NH_2	iso2	1742.98	872.74	1743.99	872.5	582
112	Ac-LTF$r8AYWAQL$SAa-NH_2		1673.92	838.23	1674.93	837.97	558.98
113	Ac-LTF$r8AYWAQL$SAa-NH_2	iso2	1673.92	838.32	1674.93	837.97	558.98
114	Ac-LTF$r8AYWAQhL$SAA-NH_2		1687.93	844.37	1688.94	844.97	563.65
115	Ac-LTF$r8AYWAQhL$SAA-NH_2	iso2	1687.93	844.81	1688.94	844.97	563.65
116	Ac-LTF$r8AYWEQLStSA$-NH_2		1826	905.27	1827.01	914.01	609.67
117	Ac-LTF$r8AYWAQL$SLA-NH_2		1715.97	858.48	1716.98	858.99	573
118	Ac-LTF$r8AYWAQL$SLA-NH_2	iso2	1715.97	858.87	1716.98	858.99	573
119	Ac-LTF$r8AYWAQL$SWA-NH_2		1788.96	895.21	1789.97	895.49	597.33
120	Ac-LTF$r8AYWAQL$SWA-NH_2	iso2	1788.96	895.28	1789.97	895.49	597.33
121	Ac-LTF$r8AYWAQL$SVS-NH_2		1717.94	859.84	1718.95	859.98	573.65
122	Ac-LTF$r8AYWAQL$SAS-NH_2		1689.91	845.85	1690.92	845.96	564.31
123	Ac-LTF$r8AYWAQL$SVG-NH_2		1687.93	844.81	1688.94	844.97	563.65
124	Ac-ETF$r8VYWAQL$SAa-NH_2		1717.91	859.76	1718.92	859.96	573.64
125	Ac-ETF$r8VYWAQL$SAA-NH_2		1717.91	859.84	1718.92	859.96	573.64
126	Ac-ETF$r8VYWAQL$SVA-NH_2		1745.94	873.82	1746.95	873.98	582.99
127	Ac-ETF$r8VYWAQL$SLA-NH_2		1759.96	880.85	1760.97	880.99	587.66
128	Ac-ETF$r8VYWAQL$SWA-NH_2		1832.95	917.34	1833.96	917.48	611.99
129	Ac-ETF$r8KYWAQL$SWA-NH_2		1861.98	931.92	1862.99	932	621.67

SP	序列	异构体	准确质量	实测质量	计算(M+1)/1	计算(M+2)/2	计算(M+3)/3
130	Ac-ETF$r8VYWAQL$SVS-NH_2		1761.93	881.89	1762.94	881.97	588.32
131	Ac-ETF$r8VYWAQL$SAS-NH_2		1733.9	867.83	1734.91	867.96	578.97
132	Ac-ETF$r8VYWAQL$SVG-NH_2		1731.92	866.87	1732.93	866.97	578.31
133	Ac-LTF$r8VYWAQL$SSa-NH_2		1717.94	859.47	1718.95	859.98	573.65
134	Ac-ETF$r8VYWAQL$SSa-NH_2		1733.9	867.83	1734.91	867.96	578.97
135	Ac-LTF$r8VYWAQL$SNa-NH_2		1744.96	873.38	1745.97	873.49	582.66
136	Ac-ETF$r8VYWAQL$SNa-NH_2		1760.91	881.3	1761.92	881.46	587.98
137	Ac-LTF$r8VYWAQL$SAa-NH_2		1701.95	851.84	1702.96	851.98	568.32
138	Ac-LTF$r8VYWAQL$SVA-NH_2		1729.98	865.53	1730.99	866	577.67
139	Ac-LTF$r8VYWAQL$SVA-NH_2	iso2	1729.98	865.9	1730.99	866	577.67
140	Ac-LTF$r8VYWAQL$SWA-NH_2		1816.99	909.42	1818	909.5	606.67
141	Ac-LTF$r8VYWAQL$SVS-NH_2		1745.98	873.9	1746.99	874	583
142	Ac-LTF$r8VYWAQL$SVS-NH_2	iso2	1745.98	873.9	1746.99	874	583
143	Ac-LTF$r8VYWAQL$SAS-NH_2		1717.94	859.84	1718.95	859.98	573.65
144	Ac-LTF$r8VYWAQL$SAS-NH_2	iso2	1717.94	859.91	1718.95	859.98	573.65
145	Ac-LTF$r8VYWAQL$SVG-NH_2		1715.97	858.87	1716.98	858.99	573
146	Ac-LTF$r8VYWAQL$SVG-NH_2	iso2	1715.97	858.87	1716.98	858.99	573
147	Ac-LTF$r8EYWAQCha$SAA-NH_2		1771.96	886.85	1772.97	886.99	591.66
148	Ac-LTF$r8EYWAQCha$SAA-NH_2	iso2	1771.96	886.85	1772.97	886.99	591.66
149	Ac-LTF$r8EYWAQCpg$SAA-NH_2		1743.92	872.86	1744.93	872.97	582.31
150	Ac-LTF$r8EYWAQCpg$SAA-NH_2	iso2	1743.92	872.86	1744.93	872.97	582.31
151	Ac-LTF$r8EYWAQF$SAA-NH_2		1765.91	883.44	1766.92	883.96	589.64
152	Ac-LTF$r8EYWAQF$SAA-NH_2	iso2	1765.91	883.89	1766.92	883.96	589.64
153	Ac-LTF$r8EYWAQCba$SAA-NH_2		1743.92	872.42	1744.93	872.97	582.31
154	Ac-LTF$r8EYWAQCba$SAA-NH_2	iso2	1743.92	873.39	1744.93	872.97	582.31
155	Ac-LTF3Cl$r8EYWAQL$SAA-NH_2		1765.89	883.89	1766.9	883.95	589.64
156	Ac-LTF3Cl$r8EYWAQL$SAA-NH_2	iso2	1765.89	883.96	1766.9	883.95	589.64
157	Ac-LTF34F2$r8EYWAQL$SAA-NH_2		1767.91	884.48	1768.92	884.96	590.31
158	Ac-LTF34F2$r8EYWAQL$SAA-NH_2	iso2	1767.91	884.48	1768.92	884.96	590.31
159	Ac-LTF34F2$r8EYWAQhL$SAA-NH_2		1781.92	891.44	1782.93	891.97	594.98
160	Ac-LTF34F2$r8EYWAQhL$SAA-NH_2	iso2	1781.92	891.88	1782.93	891.97	594.98
161	Ac-ETF$r8EYWAQL$SAA-NH_2		1747.88	874.34	1748.89	874.95	583.63
162	Ac-LTF$r8AYWVQL$SAA-NH_2		1701.95	851.4	1702.96	851.98	568.32
163	Ac-LTF$r8AHWAQL$SAA-NH_2		1647.91	824.83	1648.92	824.96	550.31
164	Ac-LTF$r8AEWAQL$SAA-NH_2		1639.9	820.39	1640.91	820.96	547.64
165	Ac-LTF$r8ASWAQL$SAA-NH_2		1597.89	799.38	1598.9	799.95	533.64
166	Ac-LTF$r8AEWAQL$SAA-NH_2	iso2	1639.9	820.39	1640.91	820.96	547.64
167	Ac-LTF$r8ASWAQL$SAA-NH_2	iso2	1597.89	800.31	1598.9	799.95	533.64
168	Ac-LTF$r8AF4coohWAQL$SAA-NH_2		1701.91	851.4	1702.92	851.96	568.31
169	Ac-LTF$r8AF4coohWAQL$SAA-NH_2	iso2	1701.91	851.4	1702.92	851.96	568.31
170	Ac-LTF$r8AHWAQL$AAIa-NH_2		1745	874.13	1746.01	873.51	582.67

SP	序列	异构体	准确质量	实测质量	计算(M+1)/1	计算(M+2)/2	计算(M+3)/3
171	Ac-ITF$r8FYWAQL$AAIa-NH_2		1847.04	923.92	1848.05	924.53	616.69
172	Ac-ITF$r8EHWAQL$AAIa-NH_2		1803.01	903.17	1804.02	902.51	602.01
173	Ac-ITF$r8EHWAQL$AAIa-NH_2	iso2	1803.01	903.17	1804.02	902.51	602.01
174	Ac-ETF$r8EHWAQL$AAIa-NH_2		1818.97	910.76	1819.98	910.49	607.33
175	Ac-ETF$r8EHWAQL$AAIa-NH_2	iso2	1818.97	910.85	1819.98	910.49	607.33
176	Ac-LTF$r8AHWVQL$AAIa-NH_2		1773.03	888.09	1774.04	887.52	592.02
177	Ac-ITF$r8FYWVQL$AAIa-NH_2		1875.07	939.16	1876.08	938.54	626.03
178	Ac-ITF$r8EYWVQL$AAIa-NH_2		1857.04	929.83	1858.05	929.53	620.02
179	Ac-ITF$r8EHWVQL$AAIa-NH_2		1831.04	916.86	1832.05	916.53	611.35
180	Ac-LTF$r8AEWAQL$AAIa-NH_2		1736.99	869.87	1738	869.5	580
181	Ac-LTF$r8AF4coohWAQL$AAIa-NH_2		1799	900.17	1800.01	900.51	600.67
182	Ac-LTF$r8AF4coohWAQL$AAIa-NH_2	iso2	1799	900.24	1800.01	900.51	600.67
183	Ac-LTF$r8AHWAQL$AHFA-NH_2		1845.01	923.89	1846.02	923.51	616.01
184	Ac-ITF$r8FYWAQL$AHFA-NH_2		1947.05	975.05	1948.06	974.53	650.02
185	Ac-ITF$r8FYWAQL$AHFA-NH_2	iso2	1947.05	976.07	1948.06	974.53	650.02
186	Ac-ITF$r8FHWAQL$AEFA-NH_2		1913.02	958.12	1914.03	957.52	638.68
187	Ac-ITF$r8FHWAQL$AEFA-NH_2	iso2	1913.02	957.86	1914.03	957.52	638.68
188	Ac-ITF$r8EHWAQL$AHFA-NH_2		1903.01	952.94	1904.02	952.51	635.34
189	Ac-ITF$r8EHWAQL$AHFA-NH_2	iso2	1903.01	953.87	1904.02	952.51	635.34
190	Ac-LTF$r8AHWVQL$AHFA-NH_2		1873.04	937.86	1874.05	937.53	625.35
191	Ac-ITF$r8FYWVQL$AHFA-NH_2		1975.08	988.83	1976.09	988.55	659.37
192	Ac-ITF$r8EYWVQL$AHFA-NH_2		1957.05	979.35	1958.06	979.53	653.36
193	Ac-ITF$r8EHWVQL$AHFA-NH_2		1931.05	967	1932.06	966.53	644.69
194	Ac-ITF$r8EHWVQL$AHFA-NH_2	iso2	1931.05	967.93	1932.06	966.53	644.69
195	Ac-ETF$r8EYWAAL$SAA-NH_2		1690.86	845.85	1691.87	846.44	564.63
196	Ac-LTF$r8AYWVAL$SAA-NH_2		1644.93	824.08	1645.94	823.47	549.32
197	Ac-LTF$r8AHWAAL$SAA-NH_2		1590.89	796.88	1591.9	796.45	531.3
198	Ac-LTF$r8AEWAAL$SAA-NH_2		1582.88	791.9	1583.89	792.45	528.63
199	Ac-LTF$r8AEWAAL$SAA-NH_2	iso2	1582.88	791.9	1583.89	792.45	528.63
200	Ac-LTF$r8ASWAAL$SAA-NH_2		1540.87	770.74	1541.88	771.44	514.63
201	Ac-LTF$r8ASWAAL$SAA-NH_2	iso2	1540.87	770.88	1541.88	771.44	514.63
202	Ac-LTF$r8AYWAAL$AAIa-NH_2		1713.99	857.39	1715	858	572.34
203	Ac-LTF$r8AYWAAL$AAIa-NH_2	iso2	1713.99	857.84	1715	858	572.34
204	Ac-LTF$r8AYWAAL$AHFA-NH_2		1813.99	907.86	1815	908	605.67
205	Ac-LTF$r8EHWAQL$AHIa-NH_2		1869.03	936.1	1870.04	935.52	624.02
206	Ac-LTF$r8EHWAQL$AHIa-NH_2	iso2	1869.03	937.03	1870.04	935.52	624.02
207	Ac-LTF$r8AHWAQL$AHIa-NH_2		1811.03	906.87	1812.04	906.52	604.68
208	Ac-LTF$r8EYWAQL$AHIa-NH_2		1895.04	949.15	1896.05	948.53	632.69
209	Ac-LTF$r8AYWAQL$AAFa-NH_2		1804.99	903.2	1806	903.5	602.67
210	Ac-LTF$r8AYWAQL$AAFa-NH_2	iso2	1804.99	903.28	1806	903.5	602.67
211	Ac-LTF$r8AYWAQL$AAWa-NH_2		1844	922.81	1845.01	923.01	615.67

SP	序列	异构体	准确质量	实测质量	计算(M+1)/1	计算(M+2)/2	计算(M+3)/3
212	Ac-LTF$r8AYWAQL$AAVa-NH_2		1756.99	878.86	1758	879.5	586.67
213	Ac-LTF$r8AYWAQL$AAVa-NH_2	iso2	1756.99	879.3	1758	879.5	586.67
214	Ac-LTF$r8AYWAQL$AALa-NH_2		1771.01	886.26	1772.02	886.51	591.34
215	Ac-LTF$r8AYWAQL$AALa-NH_2	iso2	1771.01	886.33	1772.02	886.51	591.34
216	Ac-LTF$r8EYWAQL$AAIa-NH_2		1829.01	914.89	1830.02	915.51	610.68
217	Ac-LTF$r8EYWAQL$AAIa-NH_2	iso2	1829.01	915.34	1830.02	915.51	610.68
218	Ac-LTF$r8EYWAQL$AAFa-NH_2		1863	932.87	1864.01	932.51	622.01
219	Ac-LTF$r8EYWAQL$AAFa-NH_2	iso2	1863	932.87	1864.01	932.51	622.01
220	Ac-LTF$r8EYWAQL$AAVa-NH_2		1815	908.23	1816.01	908.51	606.01
221	Ac-LTF$r8EYWAQL$AAVa-NH_2	iso2	1815	908.31	1816.01	908.51	606.01
222	Ac-LTF$r8EHWAQL$AAIa-NH_2		1803.01	903.17	1804.02	902.51	602.01
223	Ac-LTF$r8EHWAQL$AAIa-NH_2	iso2	1803.01	902.8	1804.02	902.51	602.01
224	Ac-LTF$r8EHWAQL$AAWa-NH_2		1876	939.34	1877.01	939.01	626.34
225	Ac-LTF$r8EHWAQL$AAWa-NH_2	iso2	1876	939.62	1877.01	939.01	626.34
226	Ac-LTF$r8EHWAQL$AALa-NH_2		1803.01	902.8	1804.02	902.51	602.01
227	Ac-LTF$r8EHWAQL$AALa-NH_2	iso2	1803.01	902.9	1804.02	902.51	602.01
228	Ac-ETF$r8EHWVQL$AALa-NH_2		1847	924.82	1848.01	924.51	616.67
229	Ac-LTF$r8AYWAQL$AAAa-NH_2		1728.96	865.89	1729.97	865.49	577.33
230	Ac-LTF$r8AYWAQL$AAAa-NH_2	iso2	1728.96	865.89	1729.97	865.49	577.33
231	Ac-LTF$r8AYWAQL$AAAibA-NH_2		1742.98	872.83	1743.99	872.5	582
232	Ac-LTF$r8AYWAQL$AAAibA-NH_2	iso2	1742.98	872.92	1743.99	872.5	582
233	Ac-LTF$r8AYWAQL$AAAAa-NH_2		1800	901.42	1801.01	901.01	601.01
234	Ac-LTF$r5AYWAQL$s8AAIa-NH_2		1771.01	887.17	1772.02	886.51	591.34
235	Ac-LTF$r5AYWAQL$s8SAA-NH_2		1673.92	838.33	1674.93	837.97	558.98
236	Ac-LTF$r8AYWAQCba$AANleA-NH_2		1783.01	892.64	1784.02	892.51	595.34
237	Ac-ETF$r8AYWAQCba$AANleA-NH_2		1798.97	900.59	1799.98	900.49	600.66
238	Ac-LTF$r8EYWAQCba$AANleA-NH_2		1841.01	922.05	1842.02	921.51	614.68
239	Ac-LTF$r8AYWAQCba$AWNleA-NH_2		1898.05	950.46	1899.06	950.03	633.69
240	Ac-ETF$r8AYWAQCba$AWNleA-NH_2		1914.01	958.11	1915.02	958.01	639.01
241	Ac-LTF$r8EYWAQCba$AWNleA-NH_2		1956.06	950.62	1957.07	979.04	653.03
242	Ac-LTF$r8EYWAQCba$SAFA-NH_2		1890.99	946.55	1892	946.5	631.34
243	Ac-LTF34F2$r8EYWAQCba$SANleA-NH_2		1892.99	947.57	1894	947.5	632
244	Ac-LTF$r8EF4coohWAQCba$SANleA-NH_2		1885	943.59	1886.01	943.51	629.34
245	Ac-LTF$r8EYWSQCba$SANleA-NH_2		1873	937.58	1874.01	937.51	625.34
246	Ac-LTF$r8EYWWQCba$SANleA-NH_2		1972.05	987.61	1973.06	987.03	658.36
247	Ac-LTF$r8EYWAQCba$AAIa-NH_2		1841.01	922.05	1842.02	921.51	614.68
248	Ac-LTF34F2$r8EYWAQCba$AAIa-NH_2		1876.99	939.99	1878	939.5	626.67
249	Ac-LTF$r8EF4coohWAQCba$AAIa-NH_2		1869.01	935.64	1870.02	935.51	624.01
250	Pam-ETF$r8EYWAQCba$SAA-NH_2		1956.1	979.57	1957.11	979.06	653.04
251	Ac-LThF$r8EFWAQCba$SAA-NH_2		1741.94	872.11	1742.95	871.98	581.65

SP	序列	异构体	准确质量	实测质量	计算(M+1)/1	计算(M+2)/2	计算(M+3)/3
252	Ac-LTA$r8EYWAQCba$SAA-NH_2		1667.89	835.4	1668.9	834.95	556.97
253	Ac-LTF$r8EYAAQCba$SAA-NH_2		1628.88	815.61	1629.89	815.45	543.97
254	Ac-LTF$r8EY2NalAQCba$SAA-NH_2		1754.93	879.04	1755.94	878.47	585.98
255	Ac-LTF$r8AYWAQCba$SAA-NH_2		1685.92	844.71	1686.93	843.97	562.98
256	Ac-LTF$r8EYWAQCba$SAF-NH_2		1819.96	911.41	1820.97	910.99	607.66
257	Ac-LTF$r8EYWAQCba$SAFa-NH_2		1890.99	947.41	1892	946.5	631.34
258	Ac-LTF$r8AYWAQCba$SAF-NH_2		1761.95	882.73	1762.96	881.98	588.32
259	Ac-LTF34F2$r8AYWAQCba$SAF-NH_2		1797.93	900.87	1798.94	899.97	600.32
260	Ac-LTF$r8AF4coohWAQCba$SAF-NH_2		1789.94	896.43	1790.95	895.98	597.65
261	Ac-LTF$r8EY6clWAQCba$SAF-NH_2		1853.92	929.27	1854.93	927.97	618.98
262	Ac-LTF$r8AYWSQCba$SAF-NH_2		1777.94	890.87	1778.95	889.98	593.65
263	Ac-LTF$r8AYWWQCba$SAF-NH_2		1876.99	939.91	1878	939.5	626.67
264	Ac-LTF$r8AYWAQCba$AAIa-NH_2		1783.01	893.19	1784.02	892.51	595.34
265	Ac-LTF34F2$r8AYWAQCba$AAIa-NH_2		1818.99	911.23	1820	910.5	607.34
266	Ac-LTF$r8AY6clWAQCba$AAIa-NH_2		1816.97	909.84	1817.98	909.49	606.66
267	Ac-LTF$r8AF4coohWAQCba$AAIa-NH_2		1811	906.88	1812.01	906.51	604.67
268	Ac-LTF$r8EYWAQCba$AAFa-NH_2		1875	938.6	1876.01	938.51	626.01
269	Ac-LTF$r8EYWAQCba$AAFa-NH_2	iso2	1875	938.6	1876.01	938.51	626.01
270	Ac-ETF$r8AYWAQCba$AWNlea-NH_2		1914.01	958.42	1915.02	958.01	639.01
271	Ac-LTF$r8EYWAQCba$AWNlea-NH_2		1956.06	979.42	1957.07	979.04	653.03
272	Ac-ETF$r8EYWAQCba$AWNlea-NH_2		1972.01	987.06	1973.02	987.01	658.34
273	Ac-ETF$r8EYWAQCba$AWNlea-NH_2	iso2	1972.01	987.06	1973.02	987.01	658.34
274	Ac-LTF$r8AYWAQCba$SAFa-NH_2		1832.99	917.89	1834	917.5	612
275	Ac-LTF$r8AYWAQCba$SAFa-NH_2	iso2	1832.99	918.07	1834	917.5	612
276	Ac-ETF$r8AYWAQL$AWNlea-NH_2		1902.01	952.22	1903.02	952.01	635.01
277	Ac-LTF$r8EYWAQL$AWNlea-NH_2		1944.06	973.5	1945.07	973.04	649.03
278	Ac-ETF$r8EYWAQL$AWNlea-NH_2		1960.01	981.46	1961.02	981.01	654.34
279	Dmaac-LTF$r8EYWAQhL$SAA-NH_2		1788.98	896.06	1789.99	895.5	597.33
280	Hexac-LTF$r8EYWAQhL$SAA-NH_2		1802	902.9	1803.01	902.01	601.67
281	Napac-LTF$r8EYWAQhL$SAA-NH_2		1871.99	937.58	1873	937	625
282	Decac-LTF$r8EYWAQhL$SAA-NH_2		1858.06	930.55	1859.07	930.04	620.36
283	Admac-LTF$r8EYWAQhL$SAA-NH_2		1866.03	934.07	1867.04	934.02	623.02
284	Tmac-LTF$r8EYWAQhL$SAA-NH_2		1787.99	895.41	1789	895	597
285	Pam-LTF$r8EYWAQhL$SAA-NH_2		1942.16	972.08	1943.17	972.09	648.39
286	Ac-LTF$r8AYWAQCba$AANleA-NH_2	iso2	1783.01	892.64	1784.02	892.51	595.34
287	Ac-LTF34F2$r8EYWAQCba$AAIa-NH_2	iso2	1876.99	939.62	1878	939.5	626.67
288	Ac-LTF34F2$r8EYWAQCba$SAA-NH_2		1779.91	892.07	1780.92	890.96	594.31
289	Ac-LTF34F2$r8EYWAQCba$SAA-NH_2	iso2	1779.91	891.61	1780.92	890.96	594.31
290	Ac-LTF$r8EF4coohWAQCba$SAA-NH_2		1771.92	887.54	1772.93	886.97	591.65
291	Ac-LTF$r8EF4coohWAQCba$SAA-NH_2	iso2	1771.92	887.63	1772.93	886.97	591.65
292	Ac-LTF$r8EYWSQCba$SAA-NH_2		1759.92	881.9	1760.93	880.97	587.65

SP	序列	异构体	准确质量	实测质量	计算(M+1)/1	计算(M+2)/2	计算(M+3)/3
293	Ac-LTF$r8EYWSQCba$SAA-NH_2	iso2	1759.92	881.9	1760.93	880.97	587.65
294	Ac-LTF$r8EYWAQhL$SAA-NH_2		1745.94	875.05	1746.95	873.98	582.99
295	Ac-LTF$r8AYWAQhL$SAF-NH_2		1763.97	884.02	1764.98	882.99	589
296	Ac-LTF$r8AYWAQhL$SAF-NH_2	iso2	1763.97	883.56	1764.98	882.99	589
297	Ac-LTF34F2$r8AYWAQhL$SAA-NH_2		1723.92	863.67	1724.93	862.97	575.65
298	Ac-LTF34F2$r8AYWAQhL$SAA-NH_2	iso2	1723.92	864.04	1724.93	862.97	575.65
299	Ac-LTF$r8AF4coohWAQhL$SAA-NH_2		1715.93	859.44	1716.94	858.97	572.98
300	Ac-LTF$r8AF4coohWAQhL$SAA-NH_2	iso2	1715.93	859.6	1716.94	858.97	572.98
301	Ac-LTF$r8AYWSQhL$SAA-NH_2		1703.93	853.96	1704.94	852.97	568.98
302	Ac-LTF$r8AYWSQhL$SAA-NH_2	iso2	1703.93	853.59	1704.94	852.97	568.98
303	Ac-LTF$r8EYWAQL$AANleA-NH_2		1829.01	915.45	1830.02	915.51	610.68
304	Ac-LTF34F2$r8AYWAQL$AANleA-NH_2		1806.99	904.58	1808	904.5	603.34
305	Ac-LTF$r8AF4coohWAQL$AANleA-NH_2		1799	901.6	1800.01	900.51	600.67
306	Ac-LTF$r8AYWSQL$AANleA-NH_2		1787	894.75	1788.01	894.51	596.67
307	Ac-LTF34F2$r8AYWAQhL$AANleA-NH_2		1821	911.79	1822.01	911.51	608.01
308	Ac-LTF34F2$r8AYWAQhL$AANleA-NH_2	iso2	1821	912.61	1822.01	911.51	608.01
309	Ac-LTF$r8AF4coohWAQhL$AANleA-NH_2		1813.02	907.95	1814.03	907.52	605.35
310	Ac-LTF$r8AF4coohWAQhL$AANleA-NH_2	iso2	1813.02	908.54	1814.03	907.52	605.35
311	Ac-LTF$r8AYWSQhL$AANleA-NH_2		1801.02	901.84	1802.03	901.52	601.35
312	Ac-LTF$r8AYWSQhL$AANleA-NH_2	iso2	1801.02	902.62	1802.03	901.52	601.35
313	Ac-LTF$r8AYWAQhL$AAAAa-NH_2		1814.01	908.63	1815.02	908.01	605.68
314	Ac-LTF$r8AYWAQhL$AAAAa-NH_2	iso2	1814.01	908.34	1815.02	908.01	605.68
315	Ac-LTF$r8AYWAQL$AAAAAa-NH_2		1871.04	936.94	1872.05	936.53	624.69
316	Ac-LTF$r8AYWAQL$AAAAAAa-NH_2	iso2	1942.07	972.5	1943.08	972.04	648.37
317	Ac-LTF$r8AYWAQL$AAAAAAa-NH_2	iso1	1942.07	972.5	1943.08	972.04	648.37
318	Ac-LTF$r8EYWAQhL$AANleA-NH_2		1843.03	922.54	1844.04	922.52	615.35
319	Ac-AATF$r8AYWAQL$AANleA-NH_2		1800	901.39	1801.01	901.01	601.01
320	Ac-LTF$r8AYWAQL$AANleAA-NH_2		1842.04	922.45	1843.05	922.03	615.02
321	Ac-ALTF$r8AYWAQL$AANleAA-NH_2		1913.08	957.94	1914.09	957.55	638.7
322	Ac-LTF$r8AYWAQCba$AANleAA-NH_2		1854.04	928.43	1855.05	928.03	619.02
323	Ac-LTF$r8AYWAQhL$AANleAA-NH_2		1856.06	929.4	1857.07	929.04	619.69
324	Ac-LTF$r8EYWAQCba$SAAA-NH_2		1814.96	909.37	1815.97	908.49	605.99
325	Ac-LTF$r8EYWAQCba$SAAA-NH_2	iso2	1814.96	909.37	1815.97	908.49	605.99
326	Ac-LTF$r8EYWAQCba$SAAAA-NH_2		1886	944.61	1887.01	944.01	629.67
327	Ac-LTF$r8EYWAQCba$SAAAA-NH_2	iso2	1886	944.61	1887.01	944.01	629.67
328	Ac-ALTF$r8EYWAQCba$SAA-NH_2		1814.96	909.09	1815.97	908.49	605.99
329	Ac-ALTF$r8EYWAQCba$SAAA-NH_2		1886	944.61	1887.01	944.01	629.67
330	Ac-ALTF$r8EYWAQCba$SAA-NH_2	iso2	1814.96	909.09	1815.97	908.49	605.99

SP	序列	异构体	准确质量	实测质量	计算(M+1)/1	计算(M+2)/2	计算(M+3)/3
331	Ac-LTF$r8EYWAQL$AAAAAa-NH_2	iso2	1929.04	966.08	1930.05	965.53	644.02
332	Ac-LTF$r8EY6clWAQCba$SAA-NH_2		1777.89	890.78	1778.9	889.95	593.64
333	Ac-LTF$r8EF4cooh6clWAQCba$SANleA-NH_2		1918.96	961.27	1919.97	960.49	640.66
334	Ac-LTF$r8EF4cooh6clWAQCba$SANleA-NH_2	iso2	1918.96	961.27	1919.97	960.49	640.66
335	Ac-LTF$r8EF4cooh6clWAQCba$AAIa-NH_2		1902.97	953.03	1903.98	952.49	635.33
336	Ac-LTF$r8EF4cooh6clWAQCba$AAIa-NH_2	iso2	1902.97	953.13	1903.98	952.49	635.33
337	Ac-LTF$r8AY6clWAQL$AAAAAa-NH_2		1905	954.61	1906.01	953.51	636.01
338	Ac-LTF$r8AY6clWAQL$AAAAAa-NH_2	iso2	1905	954.9	1906.01	953.51	636.01
339	Ac-F$r8AY6clWEAL$AAAAAAa-NH_2		1762.89	883.01	1763.9	882.45	588.64
340	Ac-ETF$r8EYWAQL$AAAAAa-NH_2		1945	974.31	1946.01	973.51	649.34
341	Ac-ETF$r8EYWAQL$AAAAAa-NH_2	iso2	1945	974.49	1946.01	973.51	649.34
342	Ac-LTF$r8EYWAQL$AAAAAAa-NH_2		2000.08	1001.6	2001.09	1001.05	667.7
343	Ac-LTF$r8EYWAQL$AAAAAAa-NH_2	iso2	2000.08	1001.6	2001.09	1001.05	667.7
344	Ac-LTF$r8AYWAQL$AANleAAa-NH_2		1913.08	958.58	1914.09	957.55	638.7
345	Ac-LTF$r8AYWAQL$AANleAAa-NH_2	iso2	1913.08	958.58	1914.09	957.55	638.7
346	Ac-LTF$r8EYWAQCba$AAAAAa-NH_2		1941.04	972.55	1942.05	971.53	648.02
347	Ac-LTF$r8EYWAQCba$AAAAAa-NH_2	iso2	1941.04	972.55	1942.05	971.53	648.02
348	Ac-LTF$r8EF4coohWAQCba$AAAAAa-NH_2		1969.04	986.33	1970.05	985.53	657.35
349	Ac-LTF$r8EF4coohWAQCba$AAAAAa-NH_2	iso2	1969.04	986.06	1970.05	985.53	657.35
350	Ac-LTF$r8EYWSQCba$AAAAAa-NH_2		1957.04	980.04	1958.05	979.53	653.35
351	Ac-LTF$r8EYWSQCba$AAAAAa-NH_2	iso2	1957.04	980.04	1958.05	979.53	653.35
352	Ac-LTF$r8EYWAQCba$SAAa-NH_2		1814.96	909	1815.97	908.49	605.99
353	Ac-LTF$r8EYWAQCba$SAAa-NH_2	iso2	1814.96	909	1815.97	908.49	605.99
354	Ac-ALTF$r8EYWAQCba$SAAa-NH_2		1886	944.52	1887.01	944.01	629.67
355	Ac-ALTF$r8EYWAQCba$SAAa-NH_2	iso2	1886	944.98	1887.01	944.01	629.67
356	Ac-ALTF$r8EYWAQCba$SAAAa-NH_2		1957.04	980.04	1958.05	979.53	653.35
357	Ac-ALTF$r8EYWAQCba$SAAAa-NH_2	iso2	1957.04	980.04	1958.05	979.53	653.35
358	Ac-AALTF$r8EYWAQCba$SAAAa-NH_2		2028.07	1016.1	2029.08	1015.04	677.03
359	Ac-AALTF$r8EYWAQCba$SAAAa-NH_2	iso2	2028.07	1015.57	2029.08	1015.04	677.03
360	Ac-RTF$r8EYWAQCba$SAA-NH_2		1786.94	895.03	1787.95	894.48	596.65
361	Ac-LRF$r8EYWAQCba$SAA-NH_2		1798.98	901.51	1799.99	900.5	600.67
362	Ac-LTF$r8EYWRQCba$SAA-NH_2		1828.99	916.4	1830	915.5	610.67
363	Ac-LTF$r8EYWARCba$SAA-NH_2		1771.97	887.63	1772.98	886.99	591.66
364	Ac-LTF$r8EYWAQCba$RAA-NH_2		1812.99	908.08	1814	907.5	605.34
365	Ac-LTF$r8EYWAQCba$SRA-NH_2		1828.99	916.12	1830	915.5	610.67

SP	序列	异构体	准确质量	实测质量	计算(M+1)/1	计算(M+2)/2	计算(M+3)/3
366	Ac-LTF$r8EYWAQCba$SAR-NH_2		1828.99	916.12	1830	915.5	610.67
367	5-FAM-BaLTF$r8EYWAQCba$SAA-NH_2		2131	1067.09	2132.01	1066.51	711.34
368	5-FAM-BaLTF$r8AYWAQL$AANleA-NH_2		2158.08	1080.6	2159.09	1080.05	720.37
369	Ac-LAF$r8EYWAQL$AANleA-NH_2		1799	901.05	1800.01	900.51	600.67
370	Ac-ATF$r8EYWAQL$AANleA-NH_2		1786.97	895.03	1787.98	894.49	596.66
371	Ac-AAF$r8EYWAQL$AANleA-NH_2		1756.96	880.05	1757.97	879.49	586.66
372	Ac-AAAF$r8EYWAQL$AANleA-NH_2		1827.99	915.57	1829	915	610.34
373	Ac-AAAAF$r8EYWAQL$AANleA-NH_2		1899.03	951.09	1900.04	950.52	634.02
374	Ac-AATF$r8EYWAQL$AANleA-NH_2		1858	930.92	1859.01	930.01	620.34
375	Ac-AALTF$r8EYWAQL$AANleA-NH_2		1971.09	987.17	1972.1	986.55	658.04
376	Ac-AAALTF$r8EYWAQL$AANleA-NH_2		2042.12	1023.15	2043.13	1022.07	681.71
377	Ac-LTF$r8EYWAQL$AANleAA-NH_2		1900.05	952.02	1901.06	951.03	634.36
378	Ac-ALTF$r8EYWAQL$AANleAA-NH_2		1971.09	987.63	1972.1	986.55	658.04
379	Ac-AALTF$r8EYWAQL$AANleAA-NH_2		2042.12	1022.69	2043.13	1022.07	681.71
380	Ac-LTF$r8EYWAQCba$AANleAA-NH_2		1912.05	958.03	1913.06	957.03	638.36
381	Ac-LTF$r8EYWAQhL$AANleAA-NH_2		1914.07	958.68	1915.08	958.04	639.03
382	Ac-ALTF$r8EYWAQhL$AANleAA-NH_2		1985.1	994.1	1986.11	993.56	662.71
383	Ac-LTF$r8ANmYWAQL$AANleA-NH_2		1785.02	894.11	1786.03	893.52	596.01
384	Ac-LTF$r8ANmYWAQL$AANleA-NH_2	iso2	1785.02	894.11	1786.03	893.52	596.01
385	Ac-LTF$r8AYNmWAQL$AANleA-NH_2		1785.02	894.11	1786.03	893.52	596.01
386	Ac-LTF$r8AYNmWAQL$AANleA-NH_2	iso2	1785.02	894.11	1786.03	893.52	596.01
387	Ac-LTF$r8AYAmwAQL$AANleA-NH_2		1785.02	894.01	1786.03	893.52	596.01
388	Ac-LTF$r8AYAmwAQL$AANleA-NH_2	iso2	1785.02	894.01	1786.03	893.52	596.01
389	Ac-LTF$r8AYWAibQL$AANleA-NH_2		1785.02	894.01	1786.03	893.52	596.01
390	Ac-LTF$r8AYWAibQL$AANleA-NH_2	iso2	1785.02	894.01	1786.03	893.52	596.01
391	Ac-LTF$r8AYWAQL$AAibNleA-NH_2		1785.02	894.38	1786.03	893.52	596.01
392	Ac-LTF$r8AYWAQL$AAibNleA-NH_2	iso2	1785.02	894.38	1786.03	893.52	596.01
393	Ac-LTF$r8AYWAQL$AaNleA-NH_2		1771.01	887.54	1772.02	886.51	591.34
394	Ac-LTF$r8AYWAQL$AaNleA-NH_2	iso2	1771.01	887.54	1772.02	886.51	591.34
395	Ac-LTF$r8AYWAQL$ASarNleA-NH_2		1771.01	887.35	1772.02	886.51	591.34
396	Ac-LTF$r8AYWAQL$ASarNleA-NH_2	iso2	1771.01	887.35	1772.02	886.51	591.34
397	Ac-LTF$r8AYWAQL$AANleAib-NH_2		1785.02	894.75	1786.03	893.52	596.01
398	Ac-LTF$r8AYWAQL$AANleAib-NH_2	iso2	1785.02	894.75	1786.03	893.52	596.01
399	Ac-LTF$r8AYWAQL$AANleNmA-NH_2		1785.02	894.6	1786.03	893.52	596.01
400	Ac-LTF$r8AYWAQL$AANleNmA-NH_2	iso2	1785.02	894.6	1786.03	893.52	596.01
401	Ac-LTF$r8AYWAQL$AANleSar-NH_2		1771.01	886.98	1772.02	886.51	591.34
402	Ac-LTF$r8AYWAQL$AANleSar-NH_2	iso2	1771.01	886.98	1772.02	886.51	591.34
403	Ac-LTF$r8AYWAQL$AANleAAib-NH_2		1856.06		1857.07	929.04	619.69
404	Ac-LTF$r8AYWAQL$AANleAAib-NH_2	iso2	1856.06		1857.07	929.04	619.69
405	Ac-LTF$r8AYWAQL$AANleANmA-NH_2		1856.06	930.37	1857.07	929.04	619.69
406	Ac-LTF$r8AYWAQL$AANleANmA-NH_2	iso2	1856.06	930.37	1857.07	929.04	619.69

SP	序列	异构体	准确质量	实测质量	计算(M+1)/1	计算(M+2)/2	计算(M+3)/3
407	Ac-LTF$r8AYWAQL$AANleAa-NH_2		1842.04	922.69	1843.05	922.03	615.02
408	Ac-LTF$r8AYWAQL$AANleAa-NH_2	iso2	1842.04	922.69	1843.05	922.03	615.02
409	Ac-LTF$r8AYWAQL$AANleASar-NH_2		1842.04	922.6	1843.05	922.03	615.02
410	Ac-LTF$r8AYWAQL$AANleASar-NH_2	iso2	1842.04	922.6	1843.05	922.03	615.02
411	Ac-LTF$/r8AYWAQL$/AANleA-NH_2		1799.04	901.14	1800.05	900.53	600.69
412	Ac-LTFAibAYWAQLAibAANleA-NH_2		1648.9	826.02	1649.91	825.46	550.64
413	Ac-LTF$r8Cou4YWAQL$AANleA-NH_2		1975.05	989.11	1976.06	988.53	659.36
414	Ac-LTF$r8Cou4YWAQL$AANleA-NH_2	iso2	1975.05	989.11	1976.06	988.53	659.36
415	Ac-LTF$r8AYWCou4QL$AANleA-NH_2		1975.05	989.11	1976.06	988.53	659.36
416	Ac-LTF$r8AYWAQL$Cou4ANleA-NH_2		1975.05	989.57	1976.06	988.53	659.36
417	Ac-LTF$r8AYWAQL$Cou4ANleA-NH_2	iso2	1975.05	989.57	1976.06	988.53	659.36
418	Ac-LTF$r8AYWAQL$ACou4NleA-NH_2		1975.05	989.57	1976.06	988.53	659.36
419	Ac-LTF$r8AYWAQL$ACou4NleA-NH_2	iso2	1975.05	989.57	1976.06	988.53	659.36
420	Ac-LTF$r8AYWAQL$AANleA-OH		1771.99	887.63	1773	887	591.67
421	Ac-LTF$r8AYWAQL$AANleA-OH	iso2	1771.99	887.63	1773	887	591.67
422	Ac-LTF$r8AYWAQL$AANleA-NHnPr		1813.05	908.08	1814.06	907.53	605.36
423	Ac-LTF$r8AYWAQL$AANleA-NHnPr	iso2	1813.05	908.08	1814.06	907.53	605.36
424	Ac-LTF$r8AYWAQL$AANleA-NHnBu33Me		1855.1	929.17	1856.11	928.56	619.37
425	Ac-LTF$r8AYWAQL$AANleA-NHnBu33Me	iso2	1855.1	929.17	1856.11	928.56	619.37
426	Ac-LTF$r8AYWAQL$AANleA-NHHex		1855.1	929.17	1856.11	928.56	619.37
427	Ac-LTF$r8AYWAQL$AANleA-NHHex	iso2	1855.1	929.17	1856.11	928.56	619.37
428	Ac-LTA$r8AYWAQL$AANleA-NH_2		1694.98	849.33	1695.99	848.5	566
429	Ac-LThL$r8AYWAQL$AANleA-NH_2		1751.04	877.09	1752.05	876.53	584.69
430	Ac-LTF$r8AYAAQL$AANleA-NH_2		1655.97	829.54	1656.98	828.99	553
431	Ac-LTF$r8AY2NalAQL$AANleA-NH_2		1782.01	892.63	1783.02	892.01	595.01
432	Ac-LTF$r8EYWCou4QCba$SAA-NH_2		1947.97	975.8	1948.98	974.99	650.33
433	Ac-LTF$r8EYWCou7QCba$SAA-NH_2		16.03	974.9	17.04	9.02	6.35
434	Ac-LTF%r8EYWAQCba%SAA-NH_2		1745.94	874.8	1746.95	873.98	582.99
435	Dmaac-LTF$r8EYWAQCba$SAA-NH_2		1786.97	894.8	1787.98	894.49	596.66
436	Dmaac-LTF$r8AYWAQL$AAAAAa-NH_2		1914.08	958.2	1915.09	958.05	639.03
437	Dmaac-LTF$r8AYWAQL$AAAAAa-NH_2	iso2	1914.08	958.2	1915.09	958.05	639.03
438	Dmaac-LTF$r8EYWAQL$AAAAAa-NH_2		1972.08	987.3	1973.09	987.05	658.37
439	Dmaac-LTF$r8EYWAQL$AAAAAa-NH_2	iso2	1972.08	987.3	1973.09	987.05	658.37
440	Dmaac-LTF$r8EF4coohWAQCba$AAIa-NH_2		1912.05	957.4	1913.06	957.03	638.36
441	Dmaac-LTF$r8EF4coohWAQCba$AAIa-NH_2	iso2	1912.05	957.4	1913.06	957.03	638.36
442	Dmaac-LTF$r8AYWAQL$AANleA-NH_2		1814.05	908.3	1815.06	908.03	605.69
443	Dmaac-LTF$r8AYWAQL$AANleA-NH_2	iso2	1814.05	908.3	1815.06	908.03	605.69
444	Ac-LTF%r8AYWAQL%AANleA-NH_2		1773.02	888.37	1774.03	887.52	592.01

SP	序列	异构体	准确质量	实测质量	计算(M+1)/1	计算(M+2)/2	计算(M+3)/3
445	Ac-LTF%r8EYWAQL%AAAAAa-NH_2		1931.06	966.4	1932.07	966.54	644.69
446	Cou6BaLTF$r8EYWAQhL$SAA-NH_2		2018.05	1009.9	2019.06	1010.03	673.69
447	Cou8BaLTF$r8EYWAQhL$SAA-NH_2		1962.96	982.34	1963.97	982.49	655.32
448	Ac-LTF4I$r8EYWAQL$AAAAAa-NH_2		2054.93	1028.68	2055.94	1028.47	685.98
449	Ac-LTF$r8EYWAQL$AAAAAa-NH_2		1929.04	966.17	1930.05	965.53	644.02
550	Ac-LTF$r8EYWAQL$AAAAAa-OH		1930.02	966.54	1931.03	966.02	644.35
551	Ac-LTF$r8EYWAQL$AAAAAa-OH	iso2	1930.02	965.89	1931.03	966.02	644.35
552	Ac-LTF$r8EYWAEL$AAAAAa-NH_2		1930.02	966.82	1931.03	966.02	644.35
553	Ac-LTF$r8EYWAEL$AAAAAa-NH_2	iso2	1930.02	966.91	1931.03	966.02	644.35
554	Ac-LTF$r8EYWAEL$AAAAAa-OH		1931.01	967.28	1932.02	966.51	644.68
555	Ac-LTF$r8EY6clWAQL$AAAAAa-NH_2		1963	983.28	1964.01	982.51	655.34
556	Ac-LTF$r8EF4bOH2WAQL$AAAAAa-NH_2		1957.05	980.04	1958.06	979.53	653.36
557	Ac-AAALTF$r8EYWAQL$AAAAAa-NH_2		2142.15	1072.83	2143.16	1072.08	715.06
558	Ac-LTF34F2$r8EYWAQL$AAAAAa-NH_2		1965.02	984.3	1966.03	983.52	656.01
559	Ac-RTF$r8EYWAQL$AAAAAa-NH_2		1972.06	987.81	1973.07	987.04	658.36
560	Ac-LTA$r8EYWAQL$AAAAAa-NH_2		1853.01	928.33	1854.02	927.51	618.68
561	Ac-LTF$r8EYWAibQL$AAAAAa-NH_2		1943.06	973.48	1944.07	972.54	648.69
562	Ac-LTF$r8EYWAQL$AAibAAAa-NH_2		1943.06	973.11	1944.07	972.54	648.69
563	Ac-LTF$r8EYWAQL$AAAibAAa-NH_2		1943.06	973.48	1944.07	972.54	648.69
564	Ac-LTF$r8EYWAQL$AAAAibAa-NH_2		1943.06	973.48	1944.07	972.54	648.69
565	Ac-LTF$r8EYWAQL$AAAAAiba-NH_2		1943.06	973.38	1944.07	972.54	648.69
566	Ac-LTF$r8EYWAQL$AAAAAiba-NH_2	iso2	1943.06	973.38	1944.07	972.54	648.69
567	Ac-LTF$r8EYWAQL$AAAAAAib-NH_2		1943.06	973.01	1944.07	972.54	648.69
568	Ac-LTF$r8EYWAQL$AaAAAa-NH_2		1929.04	966.54	1930.05	965.53	644.02
569	Ac-LTF$r8EYWAQL$AAaAAa-NH_2		1929.04	966.35	1930.05	965.53	644.02
570	Ac-LTF$r8EYWAQL$AAAaAa-NH_2		1929.04	966.54	1930.05	965.53	644.02
571	Ac-LTF$r8EYWAQL$AAAaAa-NH_2	iso2	1929.04	966.35	1930.05	965.53	644.02
572	Ac-LTF$r8EYWAQL$AAAAaa-NH_2		1929.04	966.35	1930.05	965.53	644.02
573	Ac-LTF$r8EYWAQL$AAAAAA-NH_2		1929.04	966.35	1930.05	965.53	644.02
574	Ac-LTF$r8EYWAQL$ASarAAAa-NH_2		1929.04	966.54	1930.05	965.53	644.02
575	Ac-LTF$r8EYWAQL$AASarAAa-NH_2		1929.04	966.35	1930.05	965.53	644.02
576	Ac-LTF$r8EYWAQL$AAASarAa-NH_2		1929.04	966.35	1930.05	965.53	644.02
577	Ac-LTF$r8EYWAQL$AAAASara-NH_2		1929.04	966.35	1930.05	965.53	644.02
578	Ac-LTF$r8EYWAQL$AAAAASar-NH_2		1929.04	966.08	1930.05	965.53	644.02
579	Ac-7LTF$r8EYWAQL$AAAAAa-NH_2		1918.07	951.99	1919.08	960.04	640.37
581	Ac-TF$r8EYWAQL$AAAAAa-NH_2		1815.96	929.85	1816.97	908.99	606.33
582	Ac-F$r8EYWAQL$AAAAAa-NH_2		1714.91	930.92	1715.92	858.46	572.64
583	Ac-LVF$r8EYWAQL$AAAAAa-NH_2		1927.06	895.12	1928.07	964.54	643.36
584	Ac-AAF$r8EYWAQL$AAAAAa-NH_2		1856.98	859.51	1857.99	929.5	620
585	Ac-LTF$r8EYWAQL$AAAAa-NH_2		1858	824.08	1859.01	930.01	620.34

SP	序列	异构体	准确质量	实测质量	计算(M+1)/1	计算(M+2)/2	计算(M+3)/3
586	Ac-LTF$r8EYWAQL$AAAa-NH_2		1786.97	788.56	1787.98	894.49	596.66
587	Ac-LTF$r8EYWAQL$AAa-NH_2		1715.93	1138.57	1716.94	858.97	572.98
588	Ac-LTF$r8EYWAQL$Aa-NH_2		1644.89	1144.98	1645.9	823.45	549.3
589	Ac-LTF$r8EYWAQL$a-NH_2		1573.85	1113.71	1574.86	787.93	525.62
590	Ac-LTF$r8EYWAQL$AAA-OH		1716.91	859.55	1717.92	859.46	573.31
591	Ac-LTF$r8EYWAQL$A-OH		1574.84	975.14	1575.85	788.43	525.95
592	Ac-LTF$r8EYWAQL$AAA-NH_2		1715.93	904.75	1716.94	858.97	572.98
593	Ac-LTF$r8EYWAQCba$SAA-OH		1744.91	802.49	1745.92	873.46	582.64
594	Ac-LTF$r8EYWAQCba$S-OH		1602.83	913.53	1603.84	802.42	535.28
595	Ac-LTF$r8EYWAQCba$S-NH_2		1601.85	979.58	1602.86	801.93	534.96
596	4-FBzl-LTF$r8EYWAQL$AAAAAa-NH_2		2009.05	970.52	2010.06	1005.53	670.69
597	4-FBzl-LTF$r8EYWAQCba$SAA-NH_2		1823.93	965.8	1824.94	912.97	608.98
598	Ac-LTF$r8RYWAQL$AAAAAa-NH_2		1956.1	988.28	1957.11	979.06	653.04
599	Ac-LTF$r8HYWAQL$AAAAAa-NH_2		1937.06	1003.54	1938.07	969.54	646.69
600	Ac-LTF$r8QYWAQL$AAAAAa-NH_2		1928.06	993.92	1929.07	965.04	643.69
601	Ac-LTF$r8CitYWAQL$AAAAAa-NH_2		1957.08	987	1958.09	979.55	653.37
602	Ac-LTF$r8GlaYWAQL$AAAAAa-NH_2		1973.03	983	1974.04	987.52	658.68
603	Ac-LTF$r8F4gYWAQL$AAAAAa-NH_2		2004.1	937.86	2005.11	1003.06	669.04
604	Ac-LTF$r82mRYWAQL$AAAAAa-NH_2		1984.13	958.58	1985.14	993.07	662.38
605	Ac-LTF$r8ipKYWAQL$AAAAAa-NH_2		1970.14	944.52	1971.15	986.08	657.72
606	Ac-LTF$r8F4$NH_2$YWAQL$AAAAAa-NH_2		1962.08	946	1963.09	982.05	655.03
607	Ac-LTF$r8EYWAAL$AAAAAa-NH_2		1872.02	959.32	1873.03	937.02	625.01
608	Ac-LTF$r8EYWALL$AAAAAa-NH_2		1914.07	980.88	1915.08	958.04	639.03
609	Ac-LTF$r8EYWAAibL$AAAAAa-NH_2		1886.03	970.61	1887.04	944.02	629.68
610	Ac-LTF$r8EYWASL$AAAAAa-NH_2		1888.01	980.51	1889.02	945.01	630.34
611	Ac-LTF$r8EYWANL$AAAAAa-NH_2		1915.02	1006.41	1916.03	958.52	639.35
612	Ac-LTF$r8EYWACitL$AAAAAa-NH_2		1958.07		1959.08	980.04	653.7
613	Ac-LTF$r8EYWAHL$AAAAAa-NH_2		1938.04	966.24	1939.05	970.03	647.02
614	Ac-LTF$r8EYWARL$AAAAAa-NH_2		1957.08		1958.09	979.55	653.37
615	Ac-LTF$r8EpYWAQL$AAAAAa-NH_2		2009.01		2010.02	1005.51	670.68
616	Cbm-LTF$r8EYWAQCba$SAA-NH_2		1590.85		1591.86	796.43	531.29
617	Cbm-LTF$r8EYWAQL$AAAAAa-NH_2		1930.04		1931.05	966.03	644.35
618	Ac-LTF$r8EYWAQL$SAAAAa-NH_2		1945.04	1005.11	1946.05	973.53	649.35
619	Ac-LTF$r8EYWAQL$AAAASa-NH_2		1945.04	986.52	1946.05	973.53	649.35
620	Ac-LTF$r8EYWAQL$SAAASa-NH_2		1961.03	993.27	1962.04	981.52	654.68
621	Ac-LTF$r8EYWAQTba$AAAAAa-NH_2		1943.06	983.1	1944.07	972.54	648.69
622	Ac-LTF$r8EYWAQAdm$AAAAAa-NH_2		2007.09	990.31	2008.1	1004.55	670.04
623	Ac-LTF$r8EYWAQCha$AAAAAa-NH_2		1969.07	987.17	1970.08	985.54	657.36
624	Ac-LTF$r8EYWAQhCha$AAAAAa-NH_2		1983.09	1026.11	1984.1	992.55	662.04
625	Ac-LTF$r8EYWAQF$AAAAAa-NH_2		1963.02	957.01	1964.03	982.52	655.35
626	Ac-LTF$r8EYWAQhF$AAAAAa-NH_2		1977.04	1087.81	1978.05	989.53	660.02

SP	序列	异构体	准确质量	实测质量	计算(M+1)/1	计算(M+2)/2	计算(M+3)/3
627	Ac-LTF$r8EYWAQL$AANleAAa-NH_2		1971.09	933.45	1972.1	986.55	658.04
628	Ac-LTF$r8EYWAQAdm$AANleAAa-NH_2		2049.13	1017.97	2050.14	1025.57	684.05
629	4-FBz-BaLTF$r8EYWAQL$AAAAAa-NH_2		2080.08		2081.09	1041.05	694.37
630	4-FBz-BaLTF$r8EYWAQCba$SAA-NH_2		1894.97		1895.98	948.49	632.66
631	Ac-LTF$r5EYWAQL$s8AAAAAa-NH_2		1929.04	1072.68	1930.05	965.53	644.02
632	Ac-LTF$r5EYWAQCba$s8SAA-NH_2		1743.92	1107.79	1744.93	872.97	582.31
633	Ac-LTF$r8EYWAQL$AAhhLAAa-NH_2		1999.12		2000.13	1000.57	667.38
634	Ac-LTF$r8EYWAQL$AAAAAAAa-NH_2		2071.11		2072.12	1036.56	691.38
635	Ac-LTF$r8EYWAQL$AAAAAAAAa-NH_2		2142.15	778.1	2143.16	1072.08	715.06
636	Ac-LTF$r8EYWAQL$AAAAAAAAAa-NH_2		2213.19	870.53	2214.2	1107.6	738.74
637	Ac-LTA$r8EYAAQCba$SAA-NH_2		1552.85		1553.86	777.43	518.62
638	Ac-LTA$r8EYAAQL$AAAAAa-NH_2		1737.97	779.45	1738.98	869.99	580.33
639	Ac-LTF$r8EPmpWAQL$AAAAAa-NH_2		2007.03	779.54	2008.04	1004.52	670.02
640	Ac-LTF$r8EPmpWAQCba$SAA-NH_2		1821.91	838.04	1822.92	911.96	608.31
641	Ac-ATF$r8HYWAQL$S-NH_2		1555.82	867.83	1556.83	778.92	519.61
642	Ac-LTF$r8HAWAQL$S-NH_2		1505.84	877.91	1506.85	753.93	502.95
643	Ac-LTF$r8HYWAQA$S-NH_2		1555.82	852.52	1556.83	778.92	519.61
644	Ac-LTF$r8EYWAQCba$SA-NH_2		1672.89	887.18	1673.9	837.45	558.64
645	Ac-LTF$r8EYWAQL$SAA-NH_2		1731.92	873.32	1732.93	866.97	578.31
646	Ac-LTF$r8HYWAQCba$SAA-NH_2		1751.94	873.05	1752.95	876.98	584.99
647	Ac-LTF$r8SYWAQCba$SAA-NH_2		1701.91	844.88	1702.92	851.96	568.31
648	Ac-LTF$r8RYWAQCba$SAA-NH_2		1770.98	865.58	1771.99	886.5	591.33
649	Ac-LTF$r8KYWAQCba$SAA-NH_2		1742.98	936.57	1743.99	872.5	582
650	Ac-LTF$r8QYWAQCba$SAA-NH_2		1742.94	930.93	1743.95	872.48	581.99
651	Ac-LTF$r8EYWAACba$SAA-NH_2		1686.9	1032.45	1687.91	844.46	563.31
652	Ac-LTF$r8EYWAQCba$AAA-NH_2		1727.93	895.46	1728.94	864.97	576.98
653	Ac-LTF$r8EYWAQL$AAAAA-OH		1858.99	824.54	1860	930.5	620.67
654	Ac-LTF$r8EYWAQL$AAAA-OH		1787.95	894.48	1788.96	894.98	596.99
655	Ac-LTF$r8EYWAQL$AA-OH		1645.88	856	1646.89	823.95	549.63
656	Ac-LTF$r8AF4bOH2WAQL$AAAAAa-NH_2						
657	Ac-LTF$r8AF4bOH2WAAL$AAAAAa-NH_2						
658	Ac-LTF$r8EF4bOH2WAQCba$SAA-NH_2						
659	Ac-LTF$r8ApYWAQL$AAAAAa-NH_2						
660	Ac-LTF$r8ApYWAAL$AAAAAa-NH_2						
661	Ac-LTF$r8EpYWAQCba$SAA-NH_2						
662	Ac-LTF$rda6AYWAQL$da5AAAAAa-NH_2		1974.06	934.44			

SP	序列	异构体	准确质量	实测质量	计算(M+1)/1	计算(M+2)/2	计算(M+3)/3
663	Ac-LTF$rda6EYWAQCba$da5SAA-NH_2		1846.95	870.52		869.94	
664	Ac-LTF$rda6EYWAQL$da5AAAAAa-NH_2						
665	Ac-LTF$ra9EYWAQL$a6AAAAAa-NH_2			936.57		935.51	
666	Ac-LTF$ra9EYWAQL$a6AAAAAa-NH_2						
667	Ac-LTF$ra9EYWAQCba$a6SAA-NH_2						
668	Ac-LTA$ra9EYWAQCba$a6SAA-NH_2						
669	5-FAM-BaLTF$ra9EYWAQCba$a6SAA-NH_2						
670	5-FAM-BaLTF$r8EYWAQL$AAAAAa-NH_2		2316.11				
671	5-FAM-BaLTF$/r8EYWAQL$/AAAAAa-NH_2		2344.15				
672	5-FAM-BaLTA$r8EYWAQL$AAAAAa-NH_2		2240.08				
673	5-FAM-BaLTF$r8AYWAQL$AAAAAa-NH_2		2258.11				
674	5-FAM-BaATF$r8EYWAQL$AAAAAa-NH_2		2274.07				
675	5-FAM-BaLAF$r8EYWAQL$AAAAAa-NH_2		2286.1				
676	5-FAM-BaLTF$r8EAWAQL$AAAAAa-NH_2		2224.09				
677	5-FAM-BaLTF$r8EYAAQL$AAAAAa-NH_2		2201.07				
678	5-FAM-BaLTA$r8EYAAQL$AAAAAa-NH_2		2125.04				
679	5-FAM-BaLTF$r8EYWAAL$AAAAAa-NH_2		2259.09				
680	5-FAM-BaLTF$r8EYWAQA$AAAAAa-NH_2		2274.07				
681	5-FAM-BaLTF$/r8EYWAQCba$/SAA-NH_2		2159.03				
682	5-FAM-BaLTA$r8EYWAQCba$SAA-NH_2		2054.97				
683	5-FAM-BaLTF$r8EYAAQCba$SAA-NH_2		2015.96				
684	5-FAM-BaLTA$r8EYAAQCba$SAA-NH_2		1939.92				
685	5-FAM-BaQSQQTF$r8NLWRLL$QN-NH_2		2495.23				
686	5-TAMRA-BaLTF$r8EYWAQCba$SAA-NH_2		2186.1				
687	5-TAMRA-BaLTA$r8EYWAQCba$SAA-NH_2		2110.07				
688	5-TAMRA-BaLTF$r8EYAAQCba$SAA-NH_2		2071.06				
689	5-TAMRA-BaLTA$r8EYAAQCba$SAA-		1995.03				

SP	序列	异构体	准确质量	实测质量	计算(M+1)/1	计算(M+2)/2	计算(M+3)/3
	NH_2						
690	5-TAMRA-BaLTF$/r8EYWAQCba$/SAA-NH_2		2214.13				
691	5-TAMRA-BaLTF$r8EYWAQL$AAAAAa-NH_2		2371.22				
692	5-TAMRA-BaLTA$r8EYWAQL$AAAAAa-NH_2		2295.19				
693	5-TAMRA-BaLTF$/r8EYWAQL$/AAAAAa-NH_2		2399.25				
694	Ac-LTF$r8EYWCou7QCba$SAA-OH		1947.93				
695	Ac-LTF$r8EYWCou7QCba$S-OH		1805.86				
696	Ac-LTA$r8EYWCou7QCba$SAA-NH_2		1870.91				
697	Ac-LTF$r8EYACou7QCba$SAA-NH_2		1831.9				
698	Ac-LTA$r8EYACou7QCba$SAA-NH_2		1755.87				
699	Ac-LTF$/r8EYWCou7QCba$/SAA-NH_2		1974.98				
700	Ac-LTF$r8EYWCou7QL$AAAAAa-NH_2		2132.06				
701	Ac-LTF$/r8EYWCou7QL$/AAAAAa-NH_2		2160.09				
702	Ac-LTF$r8EYWCou7QL$AAAAA-OH		2062.01				
703	Ac-LTF$r8EYWCou7QL$AAAA-OH		1990.97				
704	Ac-LTF$r8EYWCou7QL$AAA-OH		1919.94				
705	Ac-LTF$r8EYWCou7QL$AA-OH		1848.9				
706	Ac-LTF$r8EYWCou7QL$A-OH		1777.86				
707	Ac-LTF$r8EYWAQL$AAAASa-NH_2	iso2		974.4		973.53	
708	Ac-LTF$r8AYWAAL$AAAAAa-NH_2	iso2	1814.01	908.82	1815.02	908.01	605.68
709	Biotin-BaLTF$r8EYWAQL$AAAAAa-NH_2		2184.14	1093.64	2185.15	1093.08	729.05
710	Ac-LTF$r8HAWAQL$S-NH_2	iso2	1505.84	754.43	1506.85	753.93	502.95
711	Ac-LTF$r8EYWAQCba$SA-NH_2	iso2	1672.89	838.05	1673.9	837.45	558.64
712	Ac-LTF$r8HYWAQCba$SAA-NH_2	iso2	1751.94	877.55	1752.95	876.98	584.99
713	Ac-LTF$r8SYWAQCba$SAA-NH_2	iso2	1701.91	852.48	1702.92	851.96	568.31
714	Ac-LTF$r8RYWAQCba$SAA-NH_2	iso2	1770.98	887.45	1771.99	886.5	591.33
715	Ac-LTF$r8KYWAQCba$SAA-NH_2	iso2	1742.98	872.92	1743.99	872.5	582
716	Ac-LTF$r8EYWAQCba$AAA-NH_2	iso2	1727.93	865.71	1728.94	864.97	576.98
717	Ac-LTF$r8EYWAQL$AAAAAaBaC-NH_2		2103.09	1053.12	2104.1	1052.55	702.04
718	Ac-LTF$r8EYWAQL$AAAAAadPeg4C-NH_2		2279.19	1141.46	2280.2	1140.6	760.74
719	Ac-LTA$r8AYWAAL$AAAAAa-NH_2		1737.98	870.43	1738.99	870	580.33
720	Ac-LTF$r8AYAAAL$AAAAAa-NH_2		1698.97	851	1699.98	850.49	567.33
721	5-FAM-BaLTF$r8AYWAAL$AAAAAa-NH_2		2201.09	1101.87	2202.1	1101.55	734.7
722	Ac-LTA$r8AYWAQL$AAAAAa-NH_2		1795	898.92	1796.01	898.51	599.34
723	Ac-LTF$r8AYAAQL$AAAAAa-NH_2		1755.99	879.49	1757	879	586.34
724	Ac-LTF$rda6AYWAAL$da5AAAAAa-		1807.97		1808.98	904.99	603.66

SP	序列	异构体	准确质量	实测质量	计算(M+1)/1	计算(M+2)/2	计算(M+3)/3
	NH_2						
725	FITC-BaLTF$r8EYWAQL$AAAAAa-NH_2		2347.1	1174.49	2348.11	1174.56	783.37
726	FITC-BaLTF$r8EYWAQCba$SAA-NH_2		2161.99	1082.35	2163	1082	721.67
733	Ac-LTF$r8EYWAQL$EAAAAa-NH_2		1987.05	995.03	1988.06	994.53	663.36
734	Ac-LTF$r8AYWAQL$EAAAAa-NH_2		1929.04	966.35	1930.05	965.53	644.02
735	Ac-LTF$r8EYWAQL$AAAAAaBaKbio-NH_2		2354.25	1178.47	2355.26	1178.13	785.76
736	Ac-LTF$r8AYWAAL$AAAAAa-NH_2		1814.01	908.45	1815.02	908.01	605.68
737	Ac-LTF$r8AYAAAL$AAAAAa-NH_2	iso2	1698.97	850.91	1699.98	850.49	567.33
738	Ac-LTF$r8AYAAQL$AAAAAa-NH_2	iso2	1755.99	879.4	1757	879	586.34
739	Ac-LTF$r8EYWAQL$EAAAAa-NH_2	iso2	1987.05	995.21	1988.06	994.53	663.36
740	Ac-LTF$r8AYWAQL$EAAAAa-NH_2	iso2	1929.04	966.08	1930.05	965.53	644.02
741	Ac-LTF$r8EYWAQCba$SAAAAa-NH_2		1957.04	980.04	1958.05	979.53	653.35
742	Ac-LTF$r8EYWAQLStAAA$r5AA-NH_2		2023.12	1012.83	2024.13	1012.57	675.38
743	Ac-LTF$r8EYWAQL$AAAAA-NH_2		2108.17	1055.44	2109.18	1055.09	703.73
744	Ac-LTF$r8EYWAQL$AAAAAA-NH_2		2179.21	1090.77	2180.22	1090.61	727.41
745	Ac-LTF$r8EYWAQL$AAAAAAA-NH_2		2250.25	1126.69	2251.26	1126.13	751.09
746	Ac-AAALTF$r8EYWAQL$AAA-OH		1930.02		1931.03	966.02	644.35
747	Ac-AAALTF$r8EYWAQL$AAA-NH_2		1929.04	965.85	1930.05	965.53	644.02
748	Ac-AAAALTF$r8EYWAQL$AAA-NH_2		2000.08	1001.4	2001.09	1001.05	667.7
749	Ac-AAAAALTF$r8EYWAQL$AAA-NH_2		2071.11	1037.13	2072.12	1036.56	691.38
750	Ac-AAAAAALTF$r8EYWAQL$AAA-NH_2		2142.15		2143.16	1072.08	715.06
751	Ac-LTF$rda6EYWAQCba$da6SAA-NH_2	iso2	1751.89	877.36	1752.9	876.95	584.97
752	Ac-t$r5wya$r5f4CF3ekllr-NH_2			844.25			
753	Ac-tawy$r5nf4CF3e$r5llr-NH_2			837.03			
754	Ac-tawya$r5f4CF3ek$r5lr-NH_2			822.97			
755	Ac-tawyanf4CF3e$r5llr$r5a-NH_2			908.35			
756	Ac-t$s8wyanf4CF3e$r5llr-NH_2			858.03			
757	Ac-tawy$s8nf4CF3ekll$r5a-NH_2			879.86			
758	Ac-tawya$s8f4CF3ekllr$r5a-NH_2			936.38			
759	Ac-tawy$s8naekll$r5a-NH_2			844.25			
760	5-FAM-Batawy$s8nf4CF3ekll$r5a-NH_2						
761	5-FAM-Batawy$s8naekll$r5a-NH_2						
762	Ac-tawy$s8nf4CF3eall$r5a-NH_2						
763	Ac-tawy$s8nf4CF3ekll$r5aaaaa-NH_2						
764	Ac-tawy$s8nf4CF3eall$r5aaaaa-NH_2						

[0385] 表1a示出了拟肽大环化合物的选择。

表1a

SP	序列	异构体	准确质量	实测质量	计算(M+1)/1	计算(M+2)/2	计算(M+3)/3
244	Ac-LTF$r8EF4coohWAQCba$SANleA-NH_2		1885	943.59	1886.01	943.51	629.34
331	Ac-LTF$r8EYWAQL$AAAAAa-NH_2	iso2	1929.04	966.08	1930.05	965.53	644.02
555	Ac-LTF$r8EY6clWAQL$AAAAAa-NH_2		1963	983.28	1964.01	982.51	655.34
557	Ac-AAALTF$r8EYWAQL$AAAAAa-NH_2		2142.15	1072.83	2143.16	1072.08	715.06
558	Ac-LTF34F2$r8EYWAQL$AAAAAa-NH_2		1965.02	984.3	1966.03	983.52	656.01
562	Ac-LTF$r8EYWAQL$AAibAAAa-NH_2		1943.06	973.11	1944.07	972.54	648.69
564	Ac-LTF$r8EYWAQL$AAAAibAa-NH_2		1943.06	973.48	1944.07	972.54	648.69
566	Ac-LTF$r8EYWAQL$AAAAAiba-NH_2	iso2	1943.06	973.38	1944.07	972.54	648.69
567	Ac-LTF$r8EYWAQL$AAAAAAib-NH_2		1943.06	973.01	1944.07	972.54	648.69
572	Ac-LTF$r8EYWAQL$AAAAaa-NH_2		1929.04	966.35	1930.05	965.53	644.02
573	Ac-LTF$r8EYWAQL$AAAAAA-NH_2		1929.04	966.35	1930.05	965.53	644.02
578	Ac-LTF$r8EYWAQL$AAAAASar-NH_2		1929.04	966.08	1930.05	965.53	644.02
551	Ac-LTF$r8EYWAQL$AAAAAa-OH	iso2	1930.02	965.89	1931.03	966.02	644.35
662	Ac-LTF$rda6AYWAQL$da5AAAAAa-NH_2		1974.06	934.44		933.49	
367	5-FAM-BaLTF$r8EYWAQCba$SAA-NH_2		2131	1067.09	2132.01	1066.51	711.34
349	Ac-LTF$r8EF4coohWAQCba$AAAAAa-NH_2	iso2	1969.04	986.06	1970.05	985.53	657.35
347	Ac-LTF$r8EYWAQCba$AAAAAa-NH_2	iso2	1941.04	972.55	1942.05	971.53	648.02

[0386] 表1b示出了拟肽大环化合物的进一步选择。

表1b

SP	序列	异构体	准确质量	实测质量	计算(M+1)/1	计算(M+2)/2	计算(M+3)/3
581	Ac-TF$r8EYWAQL$AAAAAa-NH_2		1815.96	929.85	1816.97	908.99	606.33
582	Ac-F$r8EYWAQL$AAAAAa-NH_2		1714.91	930.92	1715.92	858.46	572.64
583	Ac-LVF$r8EYWAQL$AAAAAa-NH_2		1927.06	895.12	1928.07	964.54	643.36
584	Ac-AAF$r8EYWAQL$AAAAAa-NH_2		1856.98	859.51	1857.99	929.5	620
585	Ac-LTF$r8EYWAQL$AAAAa-NH_2		1858	824.08	1859.01	930.01	620.34
586	Ac-LTF$r8EYWAQL$AAAa-NH_2		1786.97	788.56	1787.98	894.49	596.66
587	Ac-LTF$r8EYWAQL$AAa-NH_2		1715.93	1138.57	1716.94	858.97	572.98
588	Ac-LTF$r8EYWAQL$Aa-NH_2		1644.89	1144.98	1645.9	823.45	549.3
589	Ac-LTF$r8EYWAQL$a-NH_2		1573.85	1113.71	1574.86	787.93	525.62

[0387] 在上文和别处显示的序列中，使用了以下缩写：“Nle”表示正亮氨酸，“Aib”表示2-氨基异丁酸，“Ac”表示乙酰基，并且“Pr”表示丙酰基。由“$”表示的氨基酸是由全碳交联体连接的α-Me S5-戊烯基-丙氨酸烯烃氨基酸，其包含一个双键。由“$r5”表示的氨基酸是由全碳交联体连接的α-Me R5-戊烯基-丙氨酸烯烃氨基酸，其包含一个双键。由“$s8”表示的氨基酸是由全碳交联体连接的α-Me S8-辛烯基-丙氨酸烯烃氨基酸，其包含一个双键。由“$r8”表示的氨基酸是由全碳交联体连接的α-Me R8-辛烯基-丙氨酸烯烃氨基酸，其包含一个双键。“Ahx”表示氨基环己基连接体。

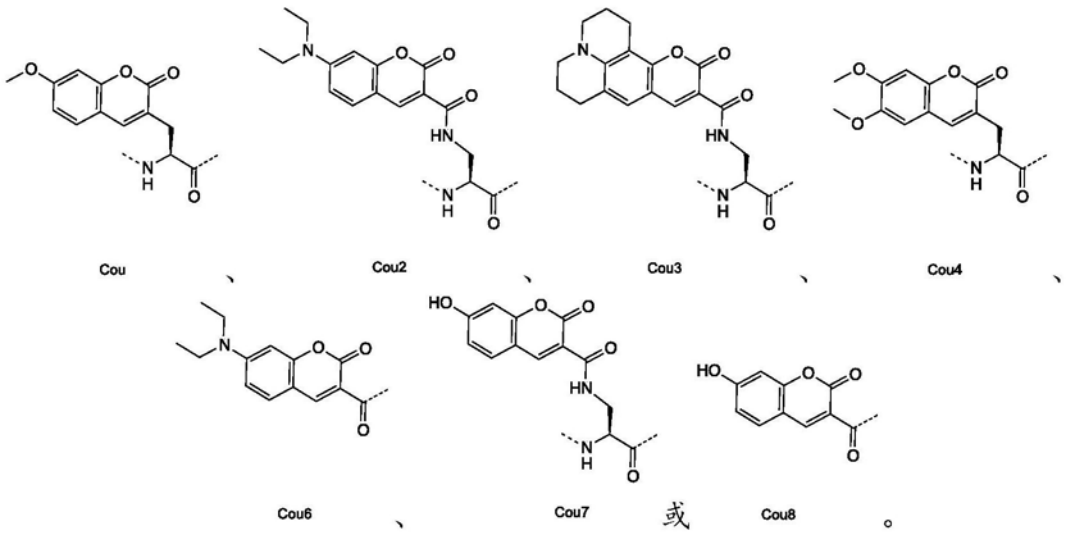
[0388] 所述交联体是直链全碳交联体，其在每个氨基酸的α碳之间包含8个或11个碳原子。由“$/”表示的氨基酸是并非由任何交联体连接的α-Me S5-戊烯基-丙氨酸烯烃氨基酸。由“$/r5”表示的氨基酸是未由任何交联体连接的α-Me R5-戊烯基-丙氨酸烯烃氨基酸。由“$/s8”表示的氨基酸是未由任何交联体连接的α-Me S8-辛烯基-丙氨酸烯烃氨基酸。由“$/r8”表示的氨基酸是未由任何交联体连接的α-Me R8-辛烯基-丙氨酸烯烃氨基酸。

[0389] 由“Amw”表示的氨基酸是氨基酸α-Me色氨酸。由“Aml”表示的氨基酸是氨基酸α-Me亮氨酸。由“Amf”表示的氨基酸是氨基酸α-Me苯丙氨酸。由“2ff”表示的氨基酸是氨基酸2-氟-苯丙氨酸。由“3ff”表示的氨基酸是氨基酸3-氟-苯丙氨酸。由“St”表示的氨基酸是包含两条戊烯基丙氨酸烯烃侧链且如所示每条侧链与另一氨基酸交联的氨基酸。由“St//”表示的氨基酸是包含两条不交联的戊烯基丙氨酸烯烃侧链的氨基酸。由“%St”表示的氨基酸是包含两条戊烯基丙氨酸烯烃侧链且如所示每条侧链通过完全饱和的烃交联与另一氨基酸交联的氨基酸。由“Ba”表示的氨基酸是β-丙氨酸。交联氨基酸的名称内的小写字母“e”或“z”(例如“$er8”或“$zr8”)表示双键构型(分别为E或Z)。在其他情况下,诸如“a”或“f”的小写字母表示D氨基酸(例如,分别为D-丙氨酸或D-苯丙氨酸)。

[0390] 指定为“NmW”的氨基酸表示N-甲基色氨酸。指定为“NmY”的氨基酸表示N-甲基酪氨酸。指定为“NmA”的氨基酸表示N-甲基丙氨酸。“Kbio”表示连接至赖氨酸残基的侧链氨基的生物素基团。指定为“Sar”的氨基酸表示肌氨酸。指定为“Cha”的氨基酸表示环己基丙氨酸。指定为“Cpg”的氨基酸表示环戊基甘氨酸。指定为“Cba”的氨基酸表示环丁基丙氨酸。指定为“F4I”的氨基酸表示4-碘代苯丙氨酸。“7L”表示N15同位素亮氨酸。指定为“F3Cl”的氨基酸表示3-氯苯丙氨酸。指定为“F4cooh”的氨基酸表示4-羧基苯丙氨酸。指定为“F34F2”的氨基酸表示3,4-二氟苯丙氨酸。指定为“6clW”的氨基酸表示6-氯色氨酸。指定为“$rda6”的氨基酸表示经由二炔键交联至第二炔基氨基酸的α-Me R6-己炔基-丙氨酸炔基氨基酸。

[0391] 指定为“$da5”的氨基酸表示α-Me S5-戊炔基-丙氨酸炔基氨基酸,其中该炔烃与第二炔基氨基酸形成二炔键的一半。指定为“$ra9”的氨基酸表示经由炔烃复分解反应与第二炔基氨基酸交联的α-Me R9-壬炔基-丙氨酸炔基氨基酸。指定为“$a6”的氨基酸表示经由炔烃复分解反应与第二炔基氨基酸交联的α-Me S6-己炔基-丙氨酸炔基氨基酸。指定“iso1”或“iso2”指示该拟肽大环化合物是单一异构体。

[0392] 指定为“Cit”的氨基酸表示瓜氨酸。分别指定为“Cou4”、“Cou6”、“Cou7”和“Cou8”的氨基酸表示下列结构:

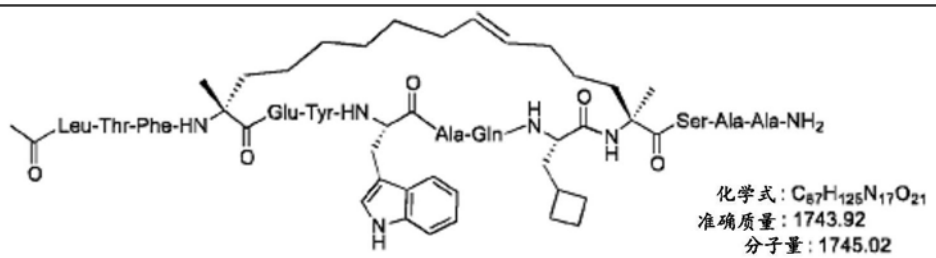
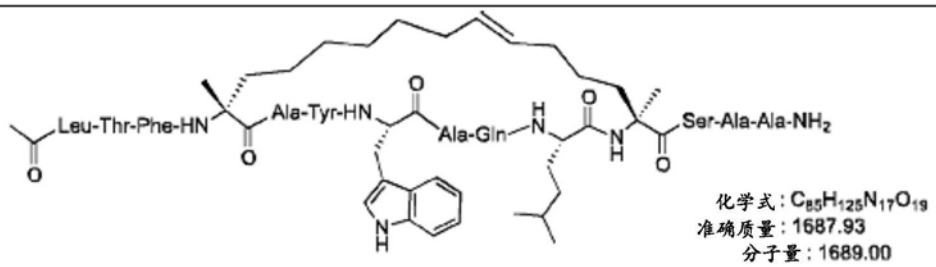
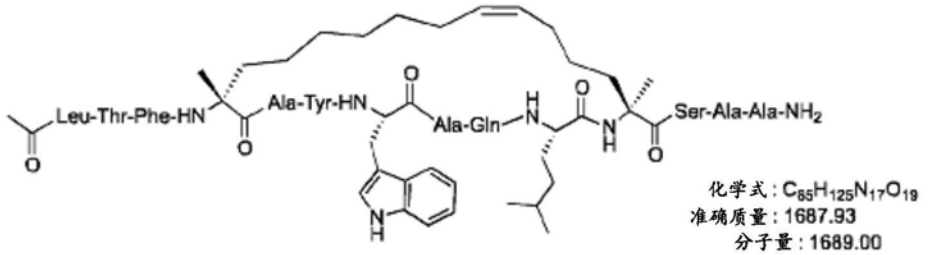
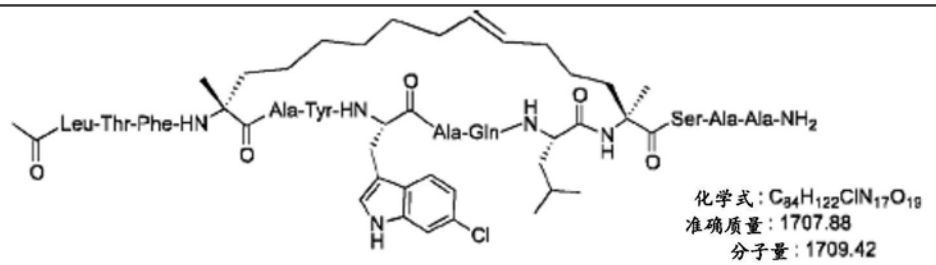
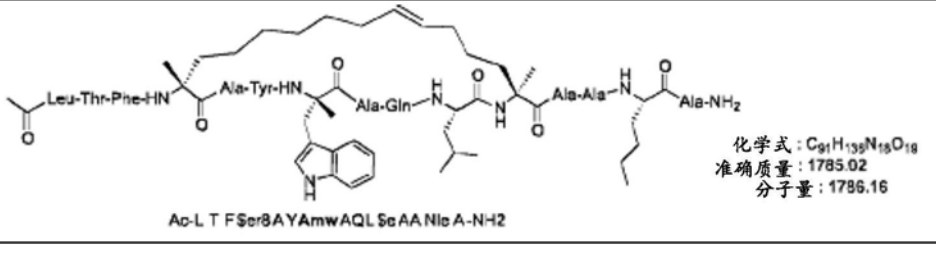


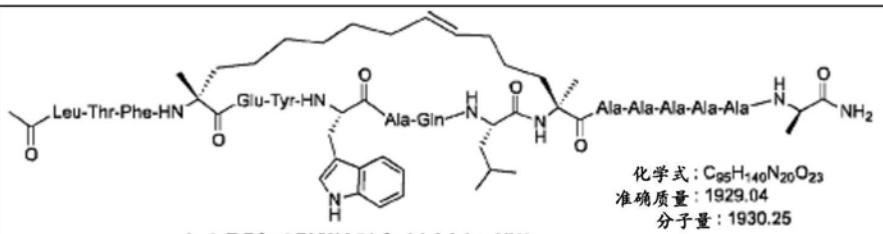
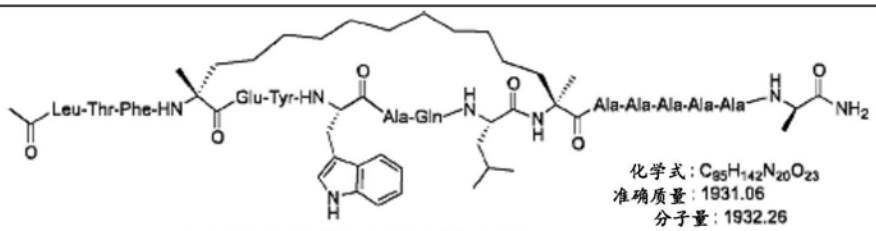
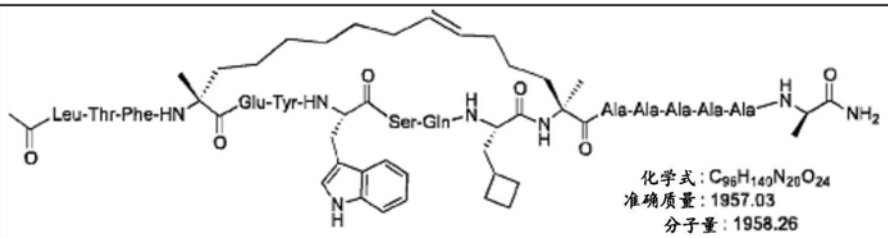
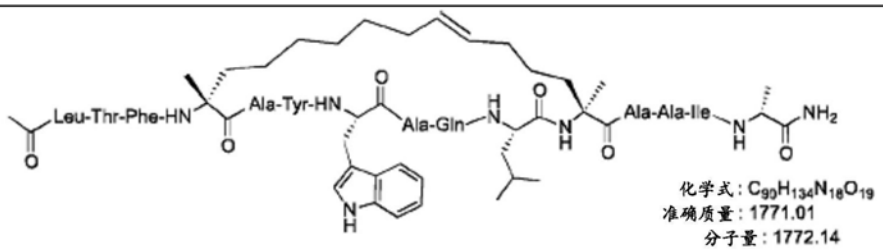
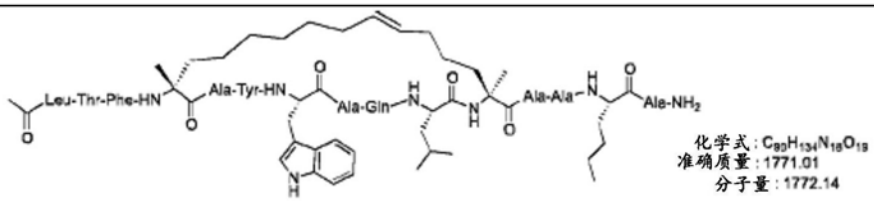
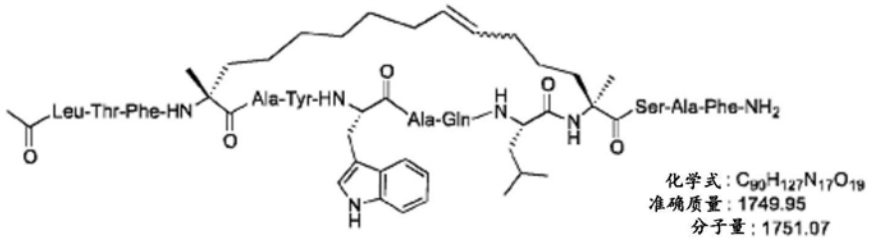
[0393] 在一些实施方案中,拟肽大环化合物以多于一种异构体获得,例如这是由于交联体结构中双键的构型(E与Z)造成的。此类异构体能够或不能通过常规的色谱法分离。在一些实施方案中,一种异构体相对于其他异构体具有改善的生物学性质。在一个实施方案中,

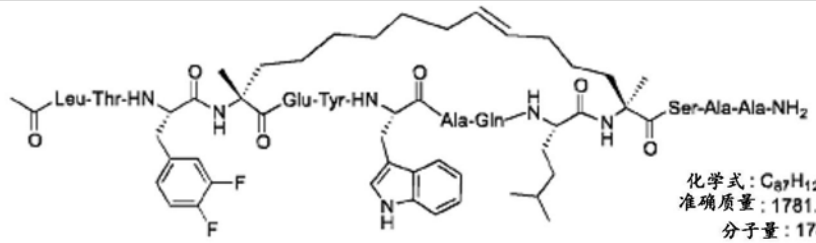
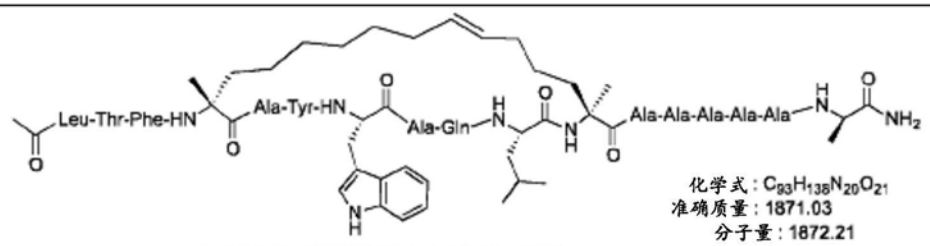
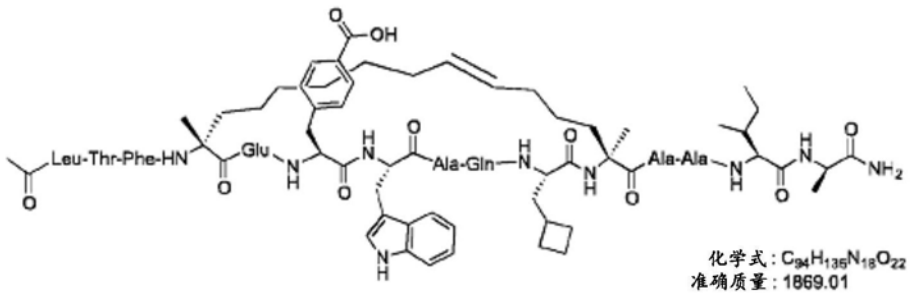
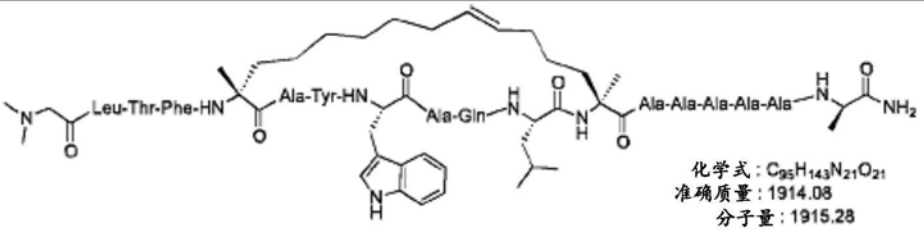
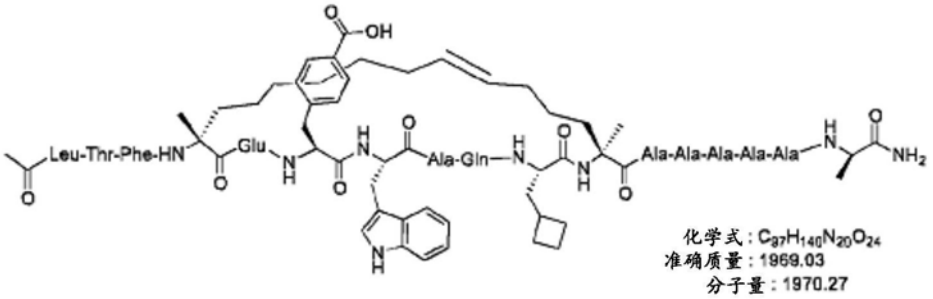
拟肽大环化合物的E交联体烯烃异构体相对于其Z对应物具有更好的溶解度、更好的靶标亲和性、更好的体内或体外效力、更高的螺旋度或提高的细胞透性。在一个实施方案中，拟肽大环化合物的Z交联体烯烃异构体相对于其E对应物具有更好的溶解度、更好的靶标亲和性、更好的体内或体外效力、更高的螺旋度或提高的细胞透性。

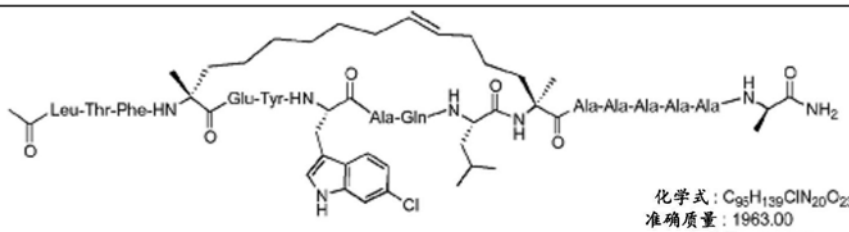
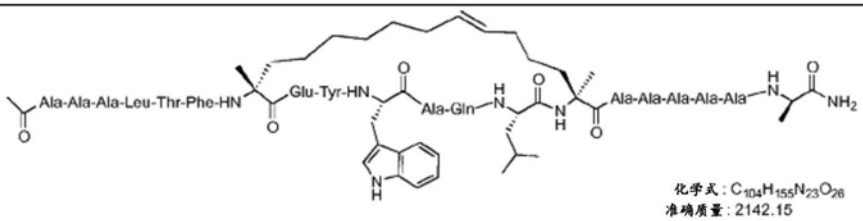
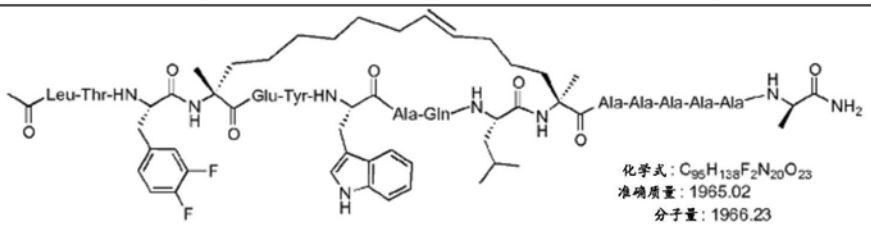
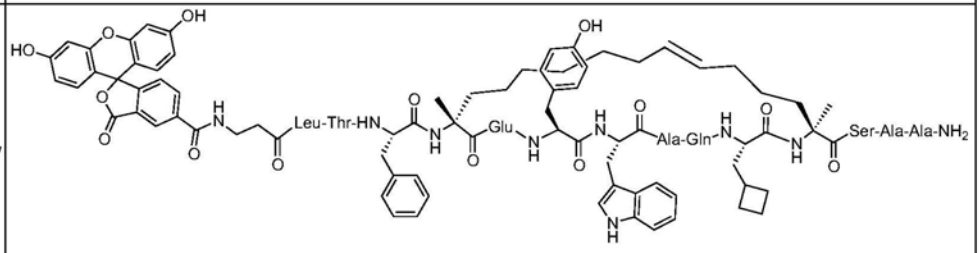
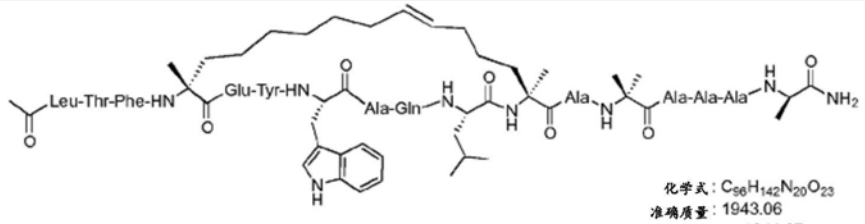
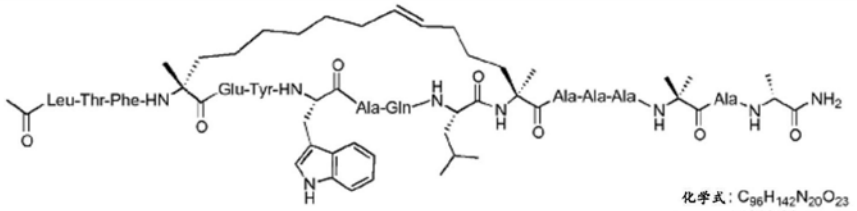
[0394] 表1c显示了拟肽大环化合物的非限制性实例。

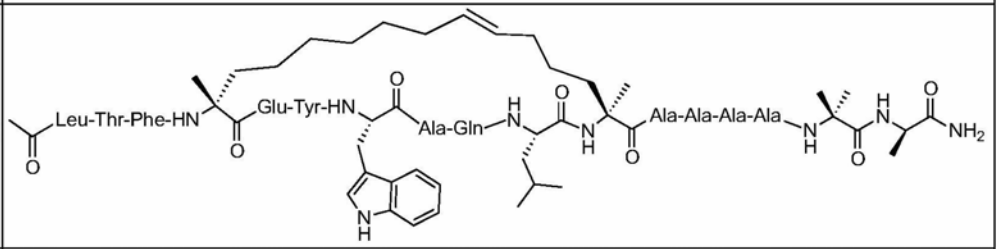
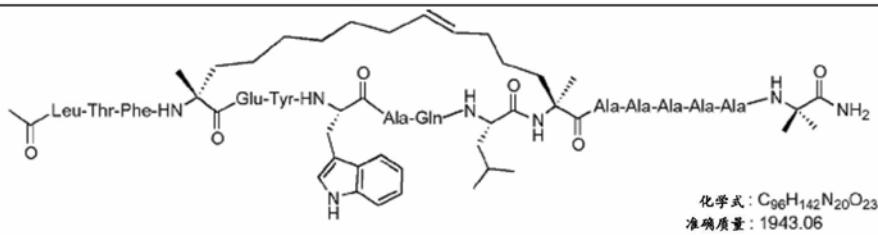
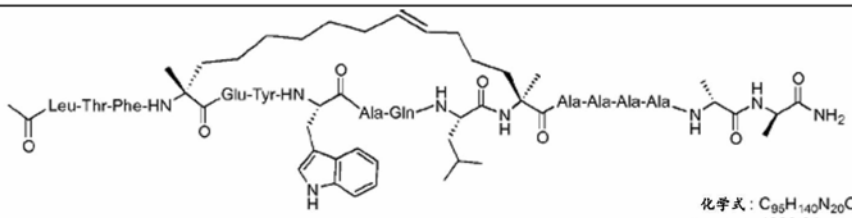
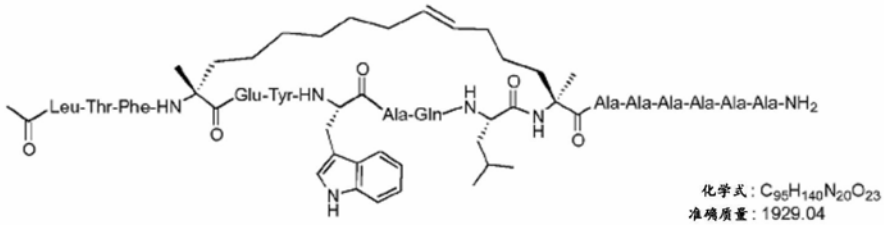
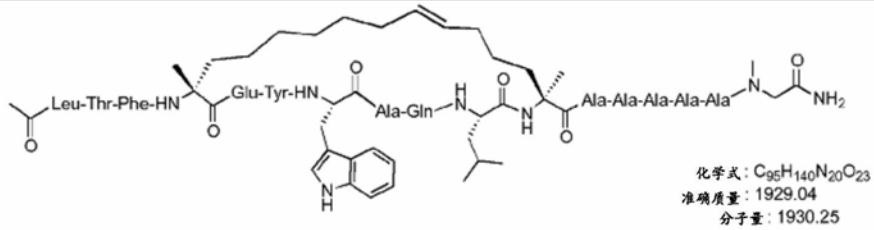
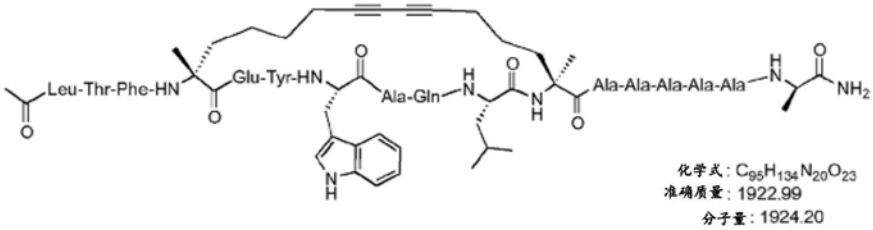
表1c

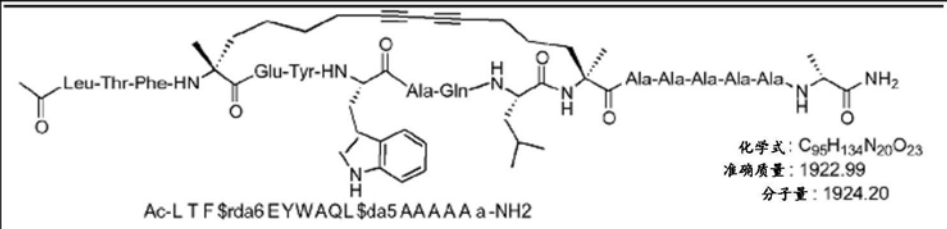
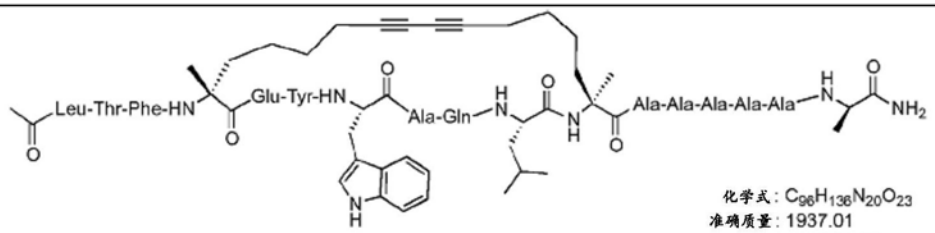
SP #	结构
154	 化学式：$C_{87}H_{125}N_{17}O_{21}$ 准确质量：1743.92 分子量：1745.02 Ac-L T F $er8 E Y W AQ Cba $e SAA -NH2
115	 化学式：$C_{85}H_{125}N_{17}O_{19}$ 准确质量：1687.93 分子量：1689.00 Ac-L T F Ser8 A YW AQ hL $e SAA -NH2
114	 化学式：$C_{85}H_{125}N_{17}O_{19}$ 准确质量：1687.93 分子量：1689.00 Ac-L T F Szr8 A YW AQ hL Sz SAA -NH2
99	 化学式：$C_{84}H_{122}ClN_{17}O_{19}$ 准确质量：1707.88 分子量：1709.42 Ac-L T F $er8 A Y6clW AQ L $e SAA -NH2
388	 化学式：$C_{91}H_{139}N_{19}O_{19}$ 准确质量：1785.02 分子量：1786.16 Ac-L T F $er8 A Y Amw AQ L $c AA Nle A-NH2

SP #	结构
331	 化学式：$C_{95}H_{140}N_{20}O_{23}$ 准确质量：1929.04 分子量：1930.25 Ac-L T F$er8EYWAQL$eAAAAAa-NH2
445	 化学式：$C_{95}H_{142}N_{20}O_{23}$ 准确质量：1931.06 分子量：1932.26 Ac-L T F%r8EYWAQL%AAAAAa-NH2
351	 化学式：$C_{96}H_{140}N_{20}O_{24}$ 准确质量：1957.03 分子量：1958.26 Ac-L T F$er8EYWSQCba$eAAAAAa-NH2
71	 化学式：$C_{99}H_{134}N_{18}O_{19}$ 准确质量：1771.01 分子量：1772.14 Ac-L T F$er8AYWAQL$eAA I a-NH2
69	 化学式：$C_{99}H_{134}N_{18}O_{19}$ 准确质量：1771.01 分子量：1772.14 Ac-L T F$er8AYWAQL$eAANleA-NH2
7	 化学式：$C_{90}H_{127}N_{17}O_{19}$ 准确质量：1749.95 分子量：1751.07 Ac-L T F$r8AYWAQL$SA F-NH2

SP #	结构
160	 化学式：$C_{87}H_{125}F_2N_{17}O_{21}$ 准确质量：1781.92 分子量：1783.02 Ac-L T F34F2 $er8 E Y W AQhL Se SAA -NH2
315	 化学式：$C_{93}H_{138}N_{20}O_{21}$ 准确质量：1871.03 分子量：1872.21 Ac-L T F $er8 A Y W AQL Se AAAAA a -NH2
249	 化学式：$C_{94}H_{135}N_{19}O_{22}$ 准确质量：1869.01 分子量：1870.19 Ac-L T F $er8 E F4cooh W AQ Cba $e A A-l-a -NH2
437	 化学式：$C_{95}H_{143}N_{21}O_{21}$ 准确质量：1914.08 分子量：1915.28 Dmaac- L T F Ser8 A Y W AQL $e AAAAA a -NH2
349	 化学式：$C_{97}H_{140}N_{20}O_{24}$ 准确质量：1969.03 分子量：1970.27 Ac-L T F $er8 E F4cooh W AQ Cba Se A A A A a -NH2

SP #	结构
555	 化学式：$C_{95}H_{139}ClN_{20}O_{23}$ 准确质量：1963.00 分子量：1964.69 Ac-L T F $er8 E Y6clW AQL $e AAAAA a-NH2
557	 化学式：$C_{104}H_{155}N_{23}O_{26}$ 准确质量：2142.15 分子量：2143.48 Ac-A A A L T F $er8 E YW AQL $e AAAAA a-NH2
558	 化学式：$C_{95}H_{138}F_2N_{20}O_{23}$ 准确质量：1965.02 分子量：1966.23 Ac-L T F34F2 $er8 E YW AQL $e AAA AA a-NH2
367	 5-FAM- Ba L T F $er8 E YW AQCba $e SAA -NH2
562	 化学式：$C_{96}H_{142}N_{20}O_{23}$ 准确质量：1943.06 分子量：1944.27 Ac-L T F $er8 E YW AQL $e AAib A A A a-NH2
564	 化学式：$C_{96}H_{142}N_{20}O_{23}$ 准确质量：1943.06 分子量：1944.27 Ac-L T F $er8 E YW AQL $e AA A Aib A a-NH2

SP #	结构
566	
567	 化学式：$C_{96}H_{142}N_{20}O_{23}$ 准确质量：1943.06 分子量：1944.27 Ac-L T F $er8 E Y W A Q L $e A A A A A Aib -NH2
572	 化学式：$C_{95}H_{140}N_{20}O_{23}$ 准确质量：1929.04 分子量：1930.25 Ac-L T F Ser8 E Y W A Q L $e A A A A a a -NH2
573	 化学式：$C_{95}H_{140}N_{20}O_{23}$ 准确质量：1929.04 分子量：1930.25 Ac-L T F $er8 E Y W A Q L $e A A A A A A -NH2
578	 化学式：$C_{95}H_{140}N_{20}O_{23}$ 准确质量：1929.04 分子量：1930.25 Ac-L T F $er8 E Y W A Q L $e A A A A A Sar -NH2
664	 化学式：$C_{95}H_{134}N_{20}O_{23}$ 准确质量：1922.99 分子量：1924.20 Ac-LTF$rda6EYWAQL$da5AAAAAa-NH2

SP #	结构
662	 Ac-L T F $rda6 E Y W A Q L $da5 A A A A A a-NH2
	

[0395] 在一些实施方案中，拟肽大环化合物包括表2a中示出的拟肽大环化合物：

表2a

序列
L$r5QETFSD$s8WKLLPEN
LSQ$r5TFSDLW$s8LLPEN
LSQE$r5FSDLWK$s8LPEN
LSQET$r5SDLWKL$s8PEN
LSQETF$r5DLWKLL$s8EN
LXQETFS$r5LWKLLP$s8N
LSQETFSD$r5WKLLPE$s8
LSQQTF$r5DLWKLL$s8EN
LSQETF$r5DLWKLL$s8QN
LSQQTF$r5DLWKLL$s8QN
LSQETF$r5NLWKLL$s8QN
LSQQTF$r5NLWKLL$s8QN
LSQQTF$r5NLWRLL$s8QN
QSQQTF$r5NLWKLL$s8QN
QSQQTF$r5NLWRLL$s8QN
QSQQTA$r5NLWRLL$s8QN
L$r8QETFSD$WKLLPEN
LSQ$r8TFSDLW$LLPEN
LSQE$r8FSDLWK$LPEN
LSQET$r8SDLWKL$PEN
LSQETF$r8DLWKLL$EN

序列
LXQETFS$r8LWKLLP$N
LSQETFSD$r8WKLLPE$
LSQQTF$r8DLWKLL$EN
LSQETF$r8DLWKLL$QN
LSQQTF$r8DLWKLL$QN
LSQETF$r8NLWKLL$QN
LSQQTF$r8NLWKLL$QN
LSQQTF$r8NLWRLL$QN
QSQQTF$r8NLWKLL$QN
QSQQTF$r8NLWRLL$QN
QSQQTA$r8NLWRLL$QN
QSQQTF$r8NLWRKK$QN
QQTF$r8DLWRLL$EN
QQTF$r8DLWRLL$
LSQQTFDLWLL
QQTFDLWLL
QQTA$r8DLWRLL$EN
QSQQTF$r5NLWRLL$s8QN (二羟基化烯烃)
QSQQTA$r5NLWRLL$s8QN (二羟基化烯烃)
QSQQTF$r8DLWRLL$QN
QTF$r8NLWRLL$
QSQQTFNLWLLPQN
QSQTFNLWRLLPQN
TFSLWKLL
ETFDLWLL
QTFNLWLL
SQEFSNLWKLL

[0396] 在表2a中，所述肽可包含N-末端封端基团如乙酰基或另外的连接体，如在封端基团与肽序列的起点之间的β-丙氨酸。

[0397] 在一些实施方案中，拟肽大环化合物包括表2b所示的拟肽大环化合物：

表2b

SP	序列	准确质量	M+2	观测质量 (m/e)
1	Ac-LSQETF$r8DLWKLL$EN-NH_2	2068.13	1035.07	1035.36
2	Ac-LSQETF$r8NLWKLL$QN-NH_2	2066.16	1034.08	1034.31
3	Ac-LSQQTF$r8NLWRLL$QN-NH_2	2093.18	1047.59	1047.73
4	Ac-QSQQTF$r8NLWKLL$QN-NH_2	2080.15	1041.08	1041.31
5	Ac-QSQQTF$r8NLWRLL$QN-NH_2	2108.15	1055.08	1055.32
6	Ac-QSQQTA$r8NLWRLL$QN-NH_2	2032.12	1017.06	1017.24
7	Ac-QAibQQTF$r8NLWRLL$QN-NH_2	2106.17	1054.09	1054.34
8	Ac-QSQQTFSNLWRLLPQN-NH_2	2000.02	1001.01	1001.26
9	Ac-QSQQTF$/r8NLWRLL$/QN-NH_2	2136.18	1069.09	1069.37
10	Ac-QSQAibTF$r8NLWRLL$QN-NH_2	2065.15	1033.58	1033.71
11	Ac-QSQQTF$r8NLWRLL$AN-NH_2	2051.13	1026.57	1026.70
12	Ac-ASQQTF$r8NLWRLL$QN-NH_2	2051.13	1026.57	1026.90
13	Ac-QSQQTF$r8ALWRLL$QN-NH_2	2065.15	1033.58	1033.41
14	Ac-QSQETF$r8NLWRLL$QN-NH_2	2109.14	1055.57	1055.70
15	Ac-RSQQTF$r8NLWRLL$QN-NH_2	2136.20	1069.10	1069.17
16	Ac-RSQQTF$r8NLWRLL$EN-NH_2	2137.18	1069.59	1069.75
17	Ac-LSQETFSDLWKLLPEN-NH_2	1959.99	981.00	981.24
18	Ac-QSQTFSLWRLLPQN-NH_2	2008.09	1005.05	1004.97
19	Ac-QSQQFSNWRLLPQN-NH_2	2036.06	1019.03	1018.86
20	Ac-QSQQTSNLRLLPQN-NH_2	1917.04	959.52	959.32
21	Ac-QSQQTFNLWLLPQN-NH_2	2007.06	1004.53	1004.97
22	Ac-RTQATF$r8NQWAibANle$TNAibTR-NH_2	2310.26	1156.13	1156.52
23	Ac-QSQQTF$r8NLWRLL$RN-NH_2	2136.20	1069.10	1068.94
24	Ac-QSQRTF$r8NLWRLL$QN-NH_2	2136.20	1069.10	1068.94
25	Ac-QSQQTF$r8NNleWRLL$QN-NH_2	2108.15	1055.08	1055.44
26	Ac-QSQQTF$r8NLWRNleL$QN-NH_2	2108.15	1055.08	1055.84
27	Ac-QSQQTF$r8NLWRLNle$QN-NH_2	2108.15	1055.08	1055.12
28	Ac-QSQQTY$r8NLWRLL$QN-NH_2	2124.15	1063.08	1062.92
29	Ac-RAibQQTF$r8NLWRLL$QN-NH_2	2134.22	1068.11	1068.65
30	Ac-MPRFMDYWEGLN-NH_2	1598.70	800.35	800.45
31	Ac-RSQQRF$r8NLWRLL$QN-NH_2	2191.25	1096.63	1096.83
32	Ac-QSQQRF$r8NLWRLL$QN-NH_2	2163.21	1082.61	1082.87
33	Ac-RAibQQRF$r8NLWRLL$QN-NH_2	2189.27	1095.64	1096.37
34	Ac-RSQQRF$r8NFWRLL$QN-NH_2	2225.23	1113.62	1114.37
35	Ac-RSQQRF$r8NYWRLL$QN-NH_2	2241.23	1121.62	1122.37
36	Ac-RSQQTF$r8NLWQLL$QN-NH_2	2108.15	1055.08	1055.29
37	Ac-QSQQTF$r8NLWQAmlL$QN-NH_2	2094.13	1048.07	1048.32
38	Ac-QSQQTF$r8NAmlWRLL$QN-NH_2	2122.17	1062.09	1062.35
39	Ac-NlePRF$r8DYWEGL$QN-NH_2	1869.98	935.99	936.20
40	Ac-NlePRF$r8NYWRLL$QN-NH_2	1952.12	977.06	977.35
41	Ac-RF$r8NLWRLL$Q-NH_2	1577.96	789.98	790.18
42	Ac-QSQQTF$r8N2ffWRLL$QN-NH_2	2160.13	1081.07	1081.40

SP	序列	准确质量	M+2	观测质量 (m/e)
43	Ac-QSQQTF$r8N3ffWRLL$QN-NH_2	2160.13	1081.07	1081.34
44	Ac-QSQQTF#r8NLWRLL#QN-NH_2	2080.12	1041.06	1041.34
45	Ac-RSQQTA$r8NLWRLL$QN-NH_2	2060.16	1031.08	1031.38
46	Ac-QSQQTF%r8NLWRLL%QN-NH_2	2110.17	1056.09	1056.55
47	HepQSQ$TFSNLWRLLPQN-$NH_2$	2051.10	1026.55	1026.82
48	HepQSQTFr8NLWRLL$QN-$NH_2$	2159.23	1080.62	1080.89
49	Ac-QSQQTF$r8NL6clWRLL$QN-NH_2	2142.11	1072.06	1072.35
50	Ac-QSQQTF$r8NLMe6clwRLL$QN-NH_2	2156.13	1079.07	1079.27
51	Ac-LTFEHYWAQLTS-NH_2	1535.74	768.87	768.91
52	Ac-LTFHYWQLTS-NH_2	1585.83	793.92	794.17
53	Ac-LTFEYWALTS-NH_2	1520.79	761.40	761.67
54	Ac-LTF$zr8HYWAQL$zS-NH_2	1597.87	799.94	800.06
55	Ac-LTF$r8HYWRQL$S-NH_2	1682.93	842.47	842.72
56	Ac-QS$QTFStNLWRLL$s8QN-NH_2	2145.21	1073.61	1073.90
57	Ac-QSQQTASNLWRLLPQN-NH_2	1923.99	963.00	963.26
58	Ac-QSQQTA$/r8NLWRLL$/QN-NH_2	2060.15	1031.08	1031.24
59	Ac-ASQQTF$/r8NLWRLL$/QN-NH_2	2079.16	1040.58	1040.89
60	Ac-SQQFSNLWRLLAibQN-NH_2	2009.09	1005.55	1005.86
61	Ac-QSQTFNLWRLLAibQN-NH_2	2023.10	1012.55	1012.79
62	Ac-QSQQFSNWRLLAibQN-NH_2	2024.06	1013.03	1013.31
63	Ac-QSQQTFNLWLLAibQN-NH_2	1995.06	998.53	998.87
64	Ac-QSQQTFSLWRLAibQN-NH_2	2011.06	1006.53	1006.83
65	Ac-QSQQTFSNLWLLAN-NH_2	1940.02	971.01	971.29
66	Ac-$/SQQ$/FSNLWRLLAibQN-NH_2	2037.12	1019.56	1019.78
67	Ac-QS$/QTF$/NLWRLLAibQN-NH_2	2051.13	1026.57	1026.90
68	Ac-QSQQ$/FSN$/WRLLAibQN-NH_2	2052.09	1027.05	1027.36
69	Ac-QSQQTF$/NLW$/LLAibQN-NH_2	2023.09	1012.55	1013.82
70	Ac-QSQTFSLWRLLAibQN-NH_2	1996.09	999.05	999.39
71	Ac-QSQ$/TFS$/LWRLLAibQN-NH_2	2024.12	1013.06	1013.37
72	Ac-QS$/QTFSt//NLWRLL$/s8QN-NH_2	2201.27	1101.64	1102.00
73	Ac-$r8SQQTFS$LWRLLAibQN-NH_2	2038.14	1020.07	1020.23
74	Ac-QSQ$r8TFSNLW$LLAibQN-NH_2	1996.08	999.04	999.32
75	Ac-QSQQTFS$r8LWRLLA$N-NH_2	2024.12	1013.06	1013.37
76	Ac-QS$r5QTFStNLW$LLAibQN-NH_2	2032.12	1017.06	1017.39
77	Ac-$/r8SQQTFS$/LWRLLAibQN-NH_2	2066.17	1034.09	1034.80
78	Ac-QSQ$/r8TFSNLW$/LLAibQN-NH_2	2024.11	1013.06	1014.34
79	Ac-QSQQTFS$/r8LWRLLA$/N-NH_2	2052.15	1027.08	1027.16
80	Ac-QS$/r5QTFSt//NLW$/LLAibQN-NH_2	2088.18	1045.09	1047.10
81	Ac-QSQQTFSNLWRLLAibQN-NH_2	1988.02	995.01	995.31
82	Hep/QSQ$/TF$/r8NLWRLL$/QN-$NH_2$	2215.29	1108.65	1108.93
83	Ac-ASQQTF$r8NLRWLL$QN-NH_2	2051.13	1026.57	1026.90
84	Ac-QSQQTF$/r8NLWRLL$/Q-NH_2	2022.14	1012.07	1012.66
85	Ac-QSQQTF$r8NLWRLL$Q-NH_2	1994.11	998.06	998.42
86	Ac-AAARAA$r8AAARAA$AA-NH_2	1515.90	758.95	759.21

SP	序列	准确质量	M+2	观测质量 (m/e)
87	Ac-LTFEHYWAQLTSA-NH_2	1606.78	804.39	804.59
88	Ac-LTF$r8HYWAQL$SA-NH_2	1668.90	835.45	835.67
89	Ac-ASQQTFSNLWRLLPQN-NH_2	1943.00	972.50	973.27
90	Ac-QS$QTFStNLW$r5LLAibQN-NH_2	2032.12	1017.06	1017.30
91	Ac-QSQQTFAibNLWRLLAibQN-NH_2	1986.04	994.02	994.19
92	Ac-QSQQTFNleNLWRLLNleQN-NH_2	2042.11	1022.06	1022.23
93	Ac-QSQQTF$/r8NLWRLLAibQN-$NH_2$	2082.14	1042.07	1042.23
94	Ac-QSQQTF$/r8NLWRLLNleQN-$NH_2$	2110.17	1056.09	1056.29
95	Ac-QSQQTFAibNLWRLL$/QN-$NH_2$	2040.09	1021.05	1021.25
96	Ac-QSQQTFNleNLWRLL$/QN-$NH_2$	2068.12	1035.06	1035.31
97	Ac-QSQQTF%r8NL6clWRNleL%QN-NH_2	2144.13	1073.07	1073.32
98	Ac-QSQQTF%r8NLMe6clWRLL%QN-NH_2	2158.15	1080.08	1080.31
101	Ac-FNleYWEL-NH_2	1160.63	-	1161.70
102	Ac-F$r8AYWELL$A-NH_2	1344.75	-	1345.90
103	Ac-F$r8AYWQLL$A-NH_2	1343.76	-	1344.83
104	Ac-NlePRF$r8NYWELL$QN-NH_2	1925.06	963.53	963.69
105	Ac-NlePRF$r8DYWRLL$QN-NH_2	1953.10	977.55	977.68
106	Ac-NlePRF$r8NYWRLL$Q-NH_2	1838.07	920.04	920.18
107	Ac-NlePRF$r8NYWRLL$-NH_2	1710.01	856.01	856.13
108	Ac-QSQQTF$r8DLWRLL$QN-NH_2	2109.14	1055.57	1055.64
109	Ac-QSQQTF$r8NLWRLL$EN-NH_2	2109.14	1055.57	1055.70
110	Ac-QSQQTF$r8NLWRLL$QD-NH_2	2109.14	1055.57	1055.64
111	Ac-QSQQTF$r8NLWRLL$S-NH_2	1953.08	977.54	977.60
112	Ac-ESQQTF$r8NLWRLL$QN-NH_2	2109.14	1055.57	1055.70
113	Ac-LTF$r8NLWRNleL$Q-NH_2	1635.99	819.00	819.10
114	Ac-LRF$r8NLWRNleL$Q-NH_2	1691.04	846.52	846.68
115	Ac-QSQQTF$r8NWWRNleL$QN-NH_2	2181.15	1091.58	1091.64
116	Ac-QSQQTF$r8NLWRNleL$Q-NH_2	1994.11	998.06	998.07
117	Ac-QTF$r8NLWRNleL$QN-NH_2	1765.00	883.50	883.59
118	Ac-NlePRF$r8NWWRLL$QN-NH_2	1975.13	988.57	988.75
119	Ac-NlePRF$r8NWWRLL$A-NH_2	1804.07	903.04	903.08
120	Ac-TSFAEYWNLLNH$_2$	1467.70	734.85	734.90
121	Ac-QTF$r8HWWSQL$S-NH_2	1651.85	826.93	827.12
122	Ac-FMYWEL-NH_2	1178.58	-	1179.64
123	Ac-QTFEHWWSQLLS-NH_2	1601.76	801.88	801.94
124	Ac-QSQQTF$r8NLAmwRLNle$QN-NH_2	2122.17	1062.09	1062.24
125	Ac-FMAibY6clWEAc3cL-NH_2	1130.47	-	1131.53
126	Ac-FNle$Y6clWE$L-NH_2	1194.59	-	1195.64
127	Ac-F$zr8AY6clWEAc3cL$z-NH_2	1277.63	639.82	1278.71
128	Ac-F$r8AY6clWEAc3cL$A-NH_2	1348.66	-	1350.72
129	Ac-NlePRF$r8NY6clWRLL$QN-NH_2	1986.08	994.04	994.64
130	Ac-AF$r8AAWALA$A-NH_2	1223.71	-	1224.71
131	Ac-TF$r8AAWRLA$Q-NH_2	1395.80	698.90	399.04
132	Pr-TF$r8AAWRLA$Q-NH_2	1409.82	705.91	706.04

SP	序列	准确质量	M+2	观测质量 (m/e)
133	Ac-QSQQTF%r8NLWRNleL%QN-NH_2	2110.17	1056.09	1056.22
134	Ac-LTF%r8HYWAQL%SA-NH_2	1670.92	836.46	836.58
135	Ac-NlePRF%r8NYWRLL%QN-NH_2	1954.13	978.07	978.19
136	Ac-NlePRF%r8NY6clWRLL%QN-NH_2	1988.09	995.05	995.68
137	Ac-LTF%r8HY6clWAQL%S-NH_2	1633.84	817.92	817.93
138	Ac-QS%QTF%StNLWRLL%s8QN-NH_2	2149.24	1075.62	1075.65
139	Ac-LTF%r8HY6clWRQL%S-NH_2	1718.91	860.46	860.54
140	Ac-QSQQTF%r8NL6clWRLL%QN-NH_2	2144.13	1073.07	1073.64
141	Ac-%r8SQQTFS%LWRLLAibQN-NH_2	2040.15	1021.08	1021.13
142	Ac-LTF%r8HYWAQL%S-NH_2	1599.88	800.94	801.09
143	Ac-TSF%r8QYWNLL%P-NH_2	1602.88	802.44	802.58
147	Ac-LTFEHYWAQLTS-NH_2	1535.74	768.87	769.5
152	Ac-F$er8AY6clWEAc3cL$e-NH_2	1277.63	639.82	1278.71
153	Ac-AF$r8AAWALA$A-NH_2	1277.63	639.82	1277.84
154	Ac-TF$r8AAWRLA$Q-NH_2	1395.80	698.90	699.04
155	Pr-TF$r8AAWRLA$Q-NH_2	1409.82	705.91	706.04
156	Ac-LTF$er8HYWAQL$eS-NH_2	1597.87	799.94	800.44
159	Ac-CCPGCCBaQSQQTF$r8NLWRLL$QN-NH_2	2745.30	1373.65	1372.99
160	Ac-CCPGCCBaQSQQTA$r8NLWRLL$QN-NH_2	2669.27	1335.64	1336.09
161	Ac-CCPGCCBaNlePRF$r8NYWRLL$QN-NH_2	2589.26	1295.63	1296.2
162	Ac-LTF$/r8HYWAQL$/S-NH_2	1625.90	813.95	814.18
163	Ac-F%r8HY6clWRAc3cL%-NH_2	1372.72	687.36	687.59
164	Ac-QTF%r8HWWSQL%S-NH_2	1653.87	827.94	827.94
165	Ac-LTA$r8HYWRQL$S-NH_2	1606.90	804.45	804.66
166	Ac-Q$r8QQTFSN$WRLLAibQN-NH_2	2080.12	1041.06	1041.61
167	Ac-QSQQ$r8FSNLWR$LAibQN-NH_2	2066.11	1034.06	1034.58
168	Ac-F$r8AYWEAc3cL$A-NH_2	1314.70	658.35	1315.88
169	Ac-F$r8AYWEAc3cL$S-NH_2	1330.70	666.35	1331.87
170	Ac-F$r8AYWEAc3cL$Q-NH_2	1371.72	686.86	1372.72
171	Ac-F$r8AYWEAibL$S-NH_2	1332.71	667.36	1334.83
172	Ac-F$r8AYWEAL$S-NH_2	1318.70	660.35	1319.73
173	Ac-F$r8AYWEQL$S-NH_2	1375.72	688.86	1377.53
174	Ac-F$r8HYWEQL$S-NH_2	1441.74	721.87	1443.48
175	Ac-F$r8HYWAQL$S-NH_2	1383.73	692.87	1385.38
176	Ac-F$r8HYWAAc3cL$S-NH_2	1338.71	670.36	1340.82
177	Ac-F$r8HYWRAc3cL$S-NH_2	1423.78	712.89	713.04
178	Ac-F$r8AYWEAc3cL#A-$NH_2$	1300.69	651.35	1302.78
179	Ac-NlePTF%r8NYWRLL%QN-NH_2	1899.08	950.54	950.56
180	Ac-TF$r8AAWRAL$Q-NH_2	1395.80	698.90	699.13
181	Ac-TSF%r8HYWAQL%S-NH_2	1573.83	787.92	787.98
184	Ac-F%r8AY6clWEAc3cL%A-NH_2	1350.68	676.34	676.91
185	Ac-LTF$r8HYWAQI$S-NH_2	1597.87	799.94	800.07
186	Ac-LTF$r8HYWAQNle$S-NH_2	1597.87	799.94	800.07
187	Ac-LTF$r8HYWAQL$A-NH_2	1581.87	791.94	792.45

SP	序列	准确质量	M+2	观测质量 (m/e)
188	Ac-LTF$r8HYWAQL$Abu-NH_2	1595.89	798.95	799.03
189	Ac-LTF$r8HYWAbuQL$S-NH_2	1611.88	806.94	807.47
190	Ac-LTF$er8AYWAQL$eS-NH_2	1531.84	766.92	766.96
191	Ac-LAF$r8HYWAQL$S-NH_2	1567.86	784.93	785.49
192	Ac-LAF$r8AYWAQL$S-NH_2	1501.83	751.92	752.01
193	Ac-LTF$er8AYWAQL$eA-NH_2	1515.85	758.93	758.97
194	Ac-LAF$r8AYWAQL$A-NH_2	1485.84	743.92	744.05
195	Ac-LTF$r8NLWANleL$Q-NH_2	1550.92	776.46	776.61
196	Ac-LTF$r8NLWANleL$A-NH_2	1493.90	747.95	1495.6
197	Ac-LTF$r8ALWANleL$Q-NH_2	1507.92	754.96	755
198	Ac-LAF$r8NLWANleL$Q-NH_2	1520.91	761.46	761.96
199	Ac-LAF$r8ALWANleL$A-NH_2	1420.89	711.45	1421.74
200	Ac-A$r8AYWEAc3cL$A-NH_2	1238.67	620.34	1239.65
201	Ac-F$r8AYWEAc3cL$AA-NH_2	1385.74	693.87	1386.64
202	Ac-F$r8AYWEAc3cL$Abu-NH_2	1328.72	665.36	1330.17
203	Ac-F$r8AYWEAc3cL$Nle-NH_2	1356.75	679.38	1358.22
204	Ac-F$r5AYWEAc3cL$s8A-NH_2	1314.70	658.35	1315.51
205	Ac-F$AYWEAc3cL$r8A-NH_2	1314.70	658.35	1315.66
206	Ac-F$r8AYWEAc3cI$A-NH_2	1314.70	658.35	1316.18
207	Ac-F$r8AYWEAc3cNle$A-NH_2	1314.70	658.35	1315.66
208	Ac-F$r8AYWEAmlL$A-NH_2	1358.76	680.38	1360.21
209	Ac-F$r8AYWENleL$A-NH_2	1344.75	673.38	1345.71
210	Ac-F$r8AYWQAc3cL$A-NH_2	1313.72	657.86	1314.7
211	Ac-F$r8AYWAAc3cL$A-NH_2	1256.70	629.35	1257.56
212	Ac-F$r8AYWAbuAc3cL$A-NH_2	1270.71	636.36	1272.14
213	Ac-F$r8AYWNleAc3cL$A-NH_2	1298.74	650.37	1299.67
214	Ac-F$r8AbuYWEAc3cL$A-NH_2	1328.72	665.36	1329.65
215	Ac-F$r8NleYWEAc3cL$A-NH_2	1356.75	679.38	1358.66
216	5-FAM-BaLTFEHYWAQLTS-NH_2	1922.82	962.41	962.87
217	5-FAM-BaLTF%r8HYWAQL%S-NH_2	1986.96	994.48	994.97
218	Ac-LTF$r8HYWAQhL$S-NH_2	1611.88	806.94	807
219	Ac-LTF$r8HYWAQTle$S-NH_2	1597.87	799.94	799.97
220	Ac-LTF$r8HYWAQAdm$S-NH_2	1675.91	838.96	839.09
221	Ac-LTF$r8HYWAQhCha$S-NH_2	1651.91	826.96	826.98
222	Ac-LTF$r8HYWAQCha$S-NH_2	1637.90	819.95	820.02
223	Ac-LTF$r8HYWAc6cQL$S-NH_2	1651.91	826.96	826.98
224	Ac-LTF$r8HYWAc5cQL$S-NH_2	1637.90	819.95	820.02
225	Ac-LThF$r8HYWAQL$S-NH_2	1611.88	806.94	807
226	Ac-LTIgl$r8HYWAQL$S-NH_2	1625.90	813.95	812.99
227	Ac-LTF$r8HYWAQChg$S-NH_2	1623.88	812.94	812.99
228	Ac-LTF$r8HYWAQF$S-NH_2	1631.85	816.93	816.99
229	Ac-LTF$r8HYWAQIgl$S-NH_2	1659.88	830.94	829.94
230	Ac-LTF$r8HYWAQCba$S-NH_2	1609.87	805.94	805.96
231	Ac-LTF$r8HYWAQCpg$S-NH_2	1609.87	805.94	805.96

SP	序列	准确质量	M+2	观测质量 (m/e)
232	Ac-LTF$r8HhYWAQL$S-NH_2	1611.88	806.94	807
233	Ac-F$r8AYWEAc3chL$A-NH_2	1328.72	665.36	665.43
234	Ac-F$r8AYWEAc3cTle$A-NH_2	1314.70	658.35	1315.62
235	Ac-F$r8AYWEAc3cAdm$A-NH_2	1392.75	697.38	697.47
236	Ac-F$r8AYWEAc3chCha$A-NH_2	1368.75	685.38	685.34
237	Ac-F$r8AYWEAc3cCha$A-NH_2	1354.73	678.37	678.38
238	Ac-F$r8AYWEAc6cL$A-NH_2	1356.75	679.38	679.42
239	Ac-F$r8AYWEAc5cL$A-NH_2	1342.73	672.37	672.46
240	Ac-hF$r8AYWEAc3cL$A-NH_2	1328.72	665.36	665.43
241	Ac-Igl$r8AYWEAc3cL$A-NH_2	1342.73	672.37	671.5
243	Ac-F$r8AYWEAc3cF$A-NH_2	1348.69	675.35	675.35
244	Ac-F$r8AYWEAc3cIgl$A-NH_2	1376.72	689.36	688.37
245	Ac-F$r8AYWEAc3cCba$A-NH_2	1326.70	664.35	664.47
246	Ac-F$r8AYWEAc3cCpg$A-NH_2	1326.70	664.35	664.39
247	Ac-F$r8AhYWEAc3cL$A-NH_2	1328.72	665.36	665.43
248	Ac-F$r8AYWEAc3cL$Q-NH_2	1371.72	686.86	1372.87
249	Ac-F$r8AYWEAibL$A-NH_2	1316.72	659.36	1318.18
250	Ac-F$r8AYWEAL$A-NH_2	1302.70	652.35	1303.75
251	Ac-LAF$r8AYWAAL$A-NH_2	1428.82	715.41	715.49
252	Ac-LTF$r8HYWAAc3cL$S-NH_2	1552.84	777.42	777.5
253	Ac-NleTF$r8HYWAQL$S-NH_2	1597.87	799.94	800.04
254	Ac-VTF$r8HYWAQL$S-NH_2	1583.85	792.93	793.04
255	Ac-FTF$r8HYWAQL$S-NH_2	1631.85	816.93	817.02
256	Ac-WTF$r8HYWAQL$S-NH_2	1670.86	836.43	836.85
257	Ac-RTF$r8HYWAQL$S-NH_2	1640.88	821.44	821.9
258	Ac-KTF$r8HYWAQL$S-NH_2	1612.88	807.44	807.91
259	Ac-LNleF$r8HYWAQL$S-NH_2	1609.90	805.95	806.43
260	Ac-LVF$r8HYWAQL$S-NH_2	1595.89	798.95	798.93
261	Ac-LFF$r8HYWAQL$S-NH_2	1643.89	822.95	823.38
262	Ac-LWF$r8HYWAQL$S-NH_2	1682.90	842.45	842.55
263	Ac-LRF$r8HYWAQL$S-NH_2	1652.92	827.46	827.52
264	Ac-LKF$r8HYWAQL$S-NH_2	1624.91	813.46	813.51
265	Ac-LTF$r8NleYWAQL$S-NH_2	1573.89	787.95	788.05
266	Ac-LTF$r8VYWAQL$S-NH_2	1559.88	780.94	780.98
267	Ac-LTF$r8FYWAQL$S-NH_2	1607.88	804.94	805.32
268	Ac-LTF$r8WYWAQL$S-NH_2	1646.89	824.45	824.86
269	Ac-LTF$r8RYWAQL$S-NH_2	1616.91	809.46	809.51
270	Ac-LTF$r8KYWAQL$S-NH_2	1588.90	795.45	795.48
271	Ac-LTF$r8HNleWAQL$S-NH_2	1547.89	774.95	774.98
272	Ac-LTF$r8HVWAQL$S-NH_2	1533.87	767.94	767.95
273	Ac-LTF$r8HFWAQL$S-NH_2	1581.87	791.94	792.3
274	Ac-LTF$r8HWWAQL$S-NH_2	1620.88	811.44	811.54
275	Ac-LTF$r8HRWAQL$S-NH_2	1590.90	796.45	796.52
276	Ac-LTF$r8HKWAQL$S-NH_2	1562.90	782.45	782.53

SP	序列	准确质量	M+2	观测质量 (m/e)
277	Ac-LTF$r8HYWNleQL$S-NH_2	1639.91	820.96	820.98
278	Ac-LTF$r8HYWVQL$S-NH_2	1625.90	813.95	814.03
279	Ac-LTF$r8HYWFQL$S-NH_2	1673.90	837.95	838.03
280	Ac-LTF$r8HYWWQL$S-NH_2	1712.91	857.46	857.5
281	Ac-LTF$r8HYWKQL$S-NH_2	1654.92	828.46	828.49
282	Ac-LTF$r8HYWANleL$S-NH_2	1582.89	792.45	792.52
283	Ac-LTF$r8HYWAVL$S-NH_2	1568.88	785.44	785.49
284	Ac-LTF$r8HYWAFL$S-NH_2	1616.88	809.44	809.47
285	Ac-LTF$r8HYWAWL$S-NH_2	1655.89	828.95	829
286	Ac-LTF$r8HYWARL$S-NH_2	1625.91	813.96	813.98
287	Ac-LTF$r8HYWAQL$Nle-NH_2	1623.92	812.96	813.39
288	Ac-LTF$r8HYWAQL$V-NH_2	1609.90	805.95	805.99
289	Ac-LTF$r8HYWAQL$F-NH_2	1657.90	829.95	830.26
290	Ac-LTF$r8HYWAQL$W-NH_2	1696.91	849.46	849.5
291	Ac-LTF$r8HYWAQL$R-NH_2	1666.94	834.47	834.56
292	Ac-LTF$r8HYWAQL$K-NH_2	1638.93	820.47	820.49
293	Ac-Q$r8QQTFSN$WRLLAibQN-NH_2	2080.12	1041.06	1041.54
294	Ac-QSQQ$r8FSNLWR$LAibQN-NH_2	2066.11	1034.06	1034.58
295	Ac-LT2Pal$r8HYWAQL$S-NH_2	1598.86	800.43	800.49
296	Ac-LT3Pal$r8HYWAQL$S-NH_2	1598.86	800.43	800.49
297	Ac-LT4Pal$r8HYWAQL$S-NH_2	1598.86	800.43	800.49
298	Ac-LTF2CF3$r8HYWAQL$S-NH_2	1665.85	833.93	834.01
299	Ac-LTF2CN$r8HYWAQL$S-NH_2	1622.86	812.43	812.47
300	Ac-LTF2Me$r8HYWAQL$S-NH_2	1611.88	806.94	807
301	Ac-LTF3Cl$r8HYWAQL$S-NH_2	1631.83	816.92	816.99
302	Ac-LTF4CF3$r8HYWAQL$S-NH_2	1665.85	833.93	833.94
303	Ac-LTF4tBu$r8HYWAQL$S-NH_2	1653.93	827.97	828.02
304	Ac-LTF5F$r8HYWAQL$S-NH_2	1687.82	844.91	844.96
305	Ac-LTF$r8HY3BthAAQL$S-NH_2	1614.83	808.42	808.48
306	Ac-LTF2Br$r8HYWAQL$S-NH_2	1675.78	838.89	838.97
307	Ac-LTF4Br$r8HYWAQL$S-NH_2	1675.78	838.89	839.86
308	Ac-LTF2Cl$r8HYWAQL$S-NH_2	1631.83	816.92	816.99
309	Ac-LTF4Cl$r8HYWAQL$S-NH_2	1631.83	816.92	817.36
310	Ac-LTF3CN$r8HYWAQL$S-NH_2	1622.86	812.43	812.47
311	Ac-LTF4CN$r8HYWAQL$S-NH_2	1622.86	812.43	812.47
312	Ac-LTF34Cl2$r8HYWAQL$S-NH_2	1665.79	833.90	833.94
313	Ac-LTF34F2$r8HYWAQL$S-NH_2	1633.85	817.93	817.95
314	Ac-LTF35F2$r8HYWAQL$S-NH_2	1633.85	817.93	817.95
315	Ac-LTDip$r8HYWAQL$S-NH_2	1673.90	837.95	838.01
316	Ac-LTF2F$r8HYWAQL$S-NH_2	1615.86	808.93	809
317	Ac-LTF3F$r8HYWAQL$S-NH_2	1615.86	808.93	809
318	Ac-LTF4F$r8HYWAQL$S-NH_2	1615.86	808.93	809
319	Ac-LTF4I$r8HYWAQL$S-NH_2	1723.76	862.88	862.94
320	Ac-LTF3Me$r8HYWAQL$S-NH_2	1611.88	806.94	807.07

SP	序列	准确质量	M+2	观测质量 (m/e)
321	Ac-LTF4Me$r8HYWAQL$S-NH_2	1611.88	806.94	807
322	Ac-LT1Nal$r8HYWAQL$S-NH_2	1647.88	824.94	824.98
323	Ac-LT2Nal$r8HYWAQL$S-NH_2	1647.88	824.94	825.06
324	Ac-LTF3CF3$r8HYWAQL$S-NH_2	1665.85	833.93	834.01
325	Ac-LTF4NO2$r8HYWAQL$S-NH_2	1642.85	822.43	822.46
326	Ac-LTF3NO2$r8HYWAQL$S-NH_2	1642.85	822.43	822.46
327	Ac-LTF$r82ThiYWAQL$S-NH_2	1613.83	807.92	807.96
328	Ac-LTF$r8HBipWAQL$S-NH_2	1657.90	829.95	830.01
329	Ac-LTF$r8HF4tBuWAQL$S-NH_2	1637.93	819.97	820.02
330	Ac-LTF$r8HF4CF3WAQL$S-NH_2	1649.86	825.93	826.02
331	Ac-LTF$r8HF4ClWAQL$S-NH_2	1615.83	808.92	809.37
332	Ac-LTF$r8HF4MeWAQL$S-NH_2	1595.89	798.95	799.01
333	Ac-LTF$r8HF4BrWAQL$S-NH_2	1659.78	830.89	830.98
334	Ac-LTF$r8HF4CNWAQL$S-NH_2	1606.87	804.44	804.56
335	Ac-LTF$r8HF4NO2WAQL$S-NH_2	1626.86	814.43	814.55
336	Ac-LTF$r8H1NalWAQL$S-NH_2	1631.89	816.95	817.06
337	Ac-LTF$r8H2NalWAQL$S-NH_2	1631.89	816.95	816.99
338	Ac-LTF$r8HWAQL$S-NH_2	1434.80	718.40	718.49
339	Ac-LTF$r8HY1NalAQL$S-NH_2	1608.87	805.44	805.52
340	Ac-LTF$r8HY2NalAQL$S-NH_2	1608.87	805.44	805.52
341	Ac-LTF$r8HYWAQI$S-NH_2	1597.87	799.94	800.07
342	Ac-LTF$r8HYWAQNle$S-NH_2	1597.87	799.94	800.44
343	Ac-LTF$er8HYWAQL$eA-NH_2	1581.87	791.94	791.98
344	Ac-LTF$r8HYWAQL$Abu-NH_2	1595.89	798.95	799.03
345	Ac-LTF$r8HYWAbuQL$S-NH_2	1611.88	806.94	804.47
346	Ac-LAF$r8HYWAQL$S-NH_2	1567.86	784.93	785.49
347	Ac-LTF$r8NLWANleL$Q-NH_2	1550.92	776.46	777.5
348	Ac-LTF$r8ALWANleL$Q-NH_2	1507.92	754.96	755.52
349	Ac-LAF$r8NLWANleL$Q-NH_2	1520.91	761.46	762.48
350	Ac-F$r8AYWAAc3cL$A-NH_2	1256.70	629.35	1257.56
351	Ac-LTF$r8AYWAAL$S-NH_2	1474.82	738.41	738.55
352	Ac-LVF$r8AYWAQL$S-NH_2	1529.87	765.94	766
353	Ac-LTF$r8AYWAbuQL$S-NH_2	1545.86	773.93	773.92
354	Ac-LTF$r8AYWNleQL$S-NH_2	1573.89	787.95	788.17
355	Ac-LTF$r8AbuYWAQL$S-NH_2	1545.86	773.93	773.99
356	Ac-LTF$r8AYWHQL$S-NH_2	1597.87	799.94	799.97
357	Ac-LTF$r8AYWKQL$S-NH_2	1588.90	795.45	795.53
358	Ac-LTF$r8AYWOQL$S-NH_2	1574.89	788.45	788.5
359	Ac-LTF$r8AYWRQL$S-NH_2	1616.91	809.46	809.51
360	Ac-LTF$r8AYWSQL$S-NH_2	1547.84	774.92	774.96
361	Ac-LTF$r8AYWRAL$S-NH_2	1559.89	780.95	780.95
362	Ac-LTF$r8AYWRQL$A-NH_2	1600.91	801.46	801.52
363	Ac-LTF$r8AYWRAL$A-NH_2	1543.89	772.95	773.03
364	Ac-LTF$r5HYWAQL$s8S-NH_2	1597.87	799.94	799.97

SP	序列	准确质量	M+2	观测质量 (m/e)
365	Ac-LTF$HYWAQL$r8S-NH_2	1597.87	799.94	799.97
366	Ac-LTF$r8HYWAAL$S-NH_2	1540.84	771.42	771.48
367	Ac-LTF$r8HYWAAbuL$S-NH_2	1554.86	778.43	778.51
368	Ac-LTF$r8HYWALL$S-NH_2	1582.89	792.45	792.49
369	Ac-F$r8AYWHAL$A-NH_2	1310.72	656.36	656.4
370	Ac-F$r8AYWAAL$A-NH_2	1244.70	623.35	1245.61
371	Ac-F$r8AYWSAL$A-NH_2	1260.69	631.35	1261.6
372	Ac-F$r8AYWRAL$A-NH_2	1329.76	665.88	1330.72
373	Ac-F$r8AYWKAL$A-NH_2	1301.75	651.88	1302.67
374	Ac-F$r8AYWOAL$A-NH_2	1287.74	644.87	1289.13
375	Ac-F$r8VYWEAc3cL$A-NH_2	1342.73	672.37	1343.67
376	Ac-F$r8FYWEAc3cL$A-NH_2	1390.73	696.37	1392.14
377	Ac-F$r8WYWEAc3cL$A-NH_2	1429.74	715.87	1431.44
378	Ac-F$r8RYWEAc3cL$A-NH_2	1399.77	700.89	700.95
379	Ac-F$r8KYWEAc3cL$A-NH_2	1371.76	686.88	686.97
380	Ac-F$r8ANleWEAc3cL$A-NH_2	1264.72	633.36	1265.59
381	Ac-F$r8AVWEAc3cL$A-NH_2	1250.71	626.36	1252.2
382	Ac-F$r8AFWEAc3cL$A-NH_2	1298.71	650.36	1299.64
383	Ac-F$r8AWWEAc3cL$A-NH_2	1337.72	669.86	1338.64
384	Ac-F$r8ARWEAc3cL$A-NH_2	1307.74	654.87	655
385	Ac-F$r8AKWEAc3cL$A-NH_2	1279.73	640.87	641.01
386	Ac-F$r8AYWVAc3cL$A-NH_2	1284.73	643.37	643.38
387	Ac-F$r8AYWFAc3cL$A-NH_2	1332.73	667.37	667.43
388	Ac-F$r8AYWWAc3cL$A-NH_2	1371.74	686.87	686.97
389	Ac-F$r8AYWRAc3cL$A-NH_2	1341.76	671.88	671.94
390	Ac-F$r8AYWKAc3cL$A-NH_2	1313.75	657.88	657.88
391	Ac-F$r8AYWEVL$A-NH_2	1330.73	666.37	666.47
392	Ac-F$r8AYWEFL$A-NH_2	1378.73	690.37	690.44
393	Ac-F$r8AYWEWL$A-NH_2	1417.74	709.87	709.91
394	Ac-F$r8AYWERL$A-NH_2	1387.77	694.89	1388.66
395	Ac-F$r8AYWEKL$A-NH_2	1359.76	680.88	1361.21
396	Ac-F$r8AYWEAc3cL$V-NH_2	1342.73	672.37	1343.59
397	Ac-F$r8AYWEAc3cL$F-NH_2	1390.73	696.37	1392.58
398	Ac-F$r8AYWEAc3cL$W-NH_2	1429.74	715.87	1431.29
399	Ac-F$r8AYWEAc3cL$R-NH_2	1399.77	700.89	700.95
400	Ac-F$r8AYWEAc3cL$K-NH_2	1371.76	686.88	686.97
401	Ac-F$r8AYWEAc3cL$AV-NH_2	1413.77	707.89	707.91
402	Ac-F$r8AYWEAc3cL$AF-NH_2	1461.77	731.89	731.96
403	Ac-F$r8AYWEAc3cL$AW-NH_2	1500.78	751.39	751.5
404	Ac-F$r8AYWEAc3cL$AR-NH_2	1470.80	736.40	736.47
405	Ac-F$r8AYWEAc3cL$AK-NH_2	1442.80	722.40	722.41
406	Ac-F$r8AYWEAc3cL$AH-NH_2	1451.76	726.88	726.93
407	Ac-LTF2NO2$r8HYWAQL$S-NH_2	1642.85	822.43	822.54
408	Ac-LTA$r8HYAAQL$S-NH_2	1406.79	704.40	704.5

SP	序列	准确质量	M+2	观测质量 (m/e)
409	Ac-LTF$r8HYAAQL$S-NH_2	1482.82	742.41	742.47
410	Ac-QSQQTF$r8NLWALL$AN-NH_2	1966.07	984.04	984.38
411	Ac-QAibQQTF$r8NLWALL$AN-NH_2	1964.09	983.05	983.42
412	Ac-QAibQQTF$r8ALWALL$AN-NH_2	1921.08	961.54	961.59
413	Ac-AAAATF$r8AAWAAL$AA-NH_2	1608.90	805.45	805.52
414	Ac-F$r8AAWRAL$Q-NH_2	1294.76	648.38	648.48
415	Ac-TF$r8AAWAAL$Q-NH_2	1310.74	656.37	1311.62
416	Ac-TF$r8AAWRAL$A-NH_2	1338.78	670.39	670.46
417	Ac-VF$r8AAWRAL$Q-NH_2	1393.82	697.91	697.99
418	Ac-AF$r8AAWAAL$A-NH_2	1223.71	612.86	1224.67
420	Ac-TF$r8AAWKAL$Q-NH_2	1367.80	684.90	684.97
421	Ac-TF$r8AAWOAL$Q-NH_2	1353.78	677.89	678.01
422	Ac-TF$r8AAWSAL$Q-NH_2	1326.73	664.37	664.47
423	Ac-LTF$r8AAWRAL$Q-NH_2	1508.89	755.45	755.49
424	Ac-F$r8AYWAQL$A-NH_2	1301.72	651.86	651.96
425	Ac-F$r8AWWAAL$A-NH_2	1267.71	634.86	634.87
426	Ac-F$r8AWWAQL$A-NH_2	1324.73	663.37	663.43
427	Ac-F$r8AYWEAL$-NH_2	1231.66	616.83	1232.93
428	Ac-F$r8AYWAAL$-NH_2	1173.66	587.83	1175.09
429	Ac-F$r8AYWKAL$-NH_2	1230.72	616.36	616.44
430	Ac-F$r8AYWOAL$-NH_2	1216.70	609.35	609.48
431	Ac-F$r8AYWQAL$-NH_2	1230.68	616.34	616.44
432	Ac-F$r8AYWAQL$-NH_2	1230.68	616.34	616.37
433	Ac-F$r8HYWDQL$S-NH_2	1427.72	714.86	714.86
434	Ac-F$r8HFWEQL$S-NH_2	1425.74	713.87	713.98
435	Ac-F$r8AYWHQL$S-NH_2	1383.73	692.87	692.96
436	Ac-F$r8AYWKQL$S-NH_2	1374.77	688.39	688.45
437	Ac-F$r8AYWOQL$S-NH_2	1360.75	681.38	681.49
438	Ac-F$r8HYWSQL$S-NH_2	1399.73	700.87	700.95
439	Ac-F$r8HWWEQL$S-NH_2	1464.76	733.38	733.44
440	Ac-F$r8HWWAQL$S-NH_2	1406.75	704.38	704.43
441	Ac-F$r8AWWHQL$S-NH_2	1406.75	704.38	704.43
442	Ac-F$r8AWWKQL$S-NH_2	1397.79	699.90	699.92
443	Ac-F$r8AWWOQL$S-NH_2	1383.77	692.89	692.96
444	Ac-F$r8HWWSQL$S-NH_2	1422.75	712.38	712.42
445	Ac-LTF$r8NYWANleL$Q-NH_2	1600.90	801.45	801.52
446	Ac-LTF$r8NLWAQL$Q-NH_2	1565.90	783.95	784.06
447	Ac-LTF$r8NYWANleL$A-NH_2	1543.88	772.94	773.03
448	Ac-LTF$r8NLWAQL$A-NH_2	1508.88	755.44	755.49
449	Ac-LTF$r8AYWANleL$Q-NH_2	1557.90	779.95	780.06
450	Ac-LTF$r8ALWAQL$Q-NH_2	1522.89	762.45	762.45
451	Ac-LAF$r8NYWANleL$Q-NH_2	1570.89	786.45	786.5
452	Ac-LAF$r8NLWAQL$Q-NH_2	1535.89	768.95	769.03
453	Ac-LAF$r8AYWANleL$A-NH_2	1470.86	736.43	736.47

SP	序列	准确质量	M+2	观测质量 (m/e)
454	Ac-LAF$r8ALWAQL$A-NH_2	1435.86	718.93	719.01
455	Ac-LAF$r8AYWAAL$A-NH_2	1428.82	715.41	715.41
456	Ac-F$r8AYWEAc3cL$AAib-NH_2	1399.75	700.88	700.95
457	Ac-F$r8AYWAQL$AA-NH_2	1372.75	687.38	687.78
458	Ac-F$r8AYWAAc3cL$AA-NH_2	1327.73	664.87	664.84
459	Ac-F$r8AYWSAc3cL$AA-NH_2	1343.73	672.87	672.9
460	Ac-F$r8AYWEAc3cL$AS-NH_2	1401.73	701.87	701.84
461	Ac-F$r8AYWEAc3cL$AT-NH_2	1415.75	708.88	708.87
462	Ac-F$r8AYWEAc3cL$AL-NH_2	1427.79	714.90	714.94
463	Ac-F$r8AYWEAc3cL$AQ-NH_2	1442.76	722.38	722.41
464	Ac-F$r8AFWEAc3cL$AA-NH_2	1369.74	685.87	685.93
465	Ac-F$r8AWWEAc3cL$AA-NH_2	1408.75	705.38	705.39
466	Ac-F$r8AYWEAc3cL$SA-NH_2	1401.73	701.87	701.99
467	Ac-F$r8AYWEAL$AA-NH_2	1373.74	687.87	687.93
468	Ac-F$r8AYWENleL$AA-NH_2	1415.79	708.90	708.94
469	Ac-F$r8AYWEAc3cL$AbuA-NH_2	1399.75	700.88	700.95
470	Ac-F$r8AYWEAc3cL$NleA-NH_2	1427.79	714.90	714.86
471	Ac-F$r8AYWEAibL$NleA-NH_2	1429.80	715.90	715.97
472	Ac-F$r8AYWEAL$NleA-NH_2	1415.79	708.90	708.94
473	Ac-F$r8AYWENleL$NleA-NH_2	1457.83	729.92	729.96
474	Ac-F$r8AYWEAibL$Abu-NH_2	1330.73	666.37	666.39
475	Ac-F$r8AYWENleL$Abu-NH_2	1358.76	680.38	680.39
476	Ac-F$r8AYWEAL$Abu-NH_2	1316.72	659.36	659.36
477	Ac-LTF$r8AFWAQL$S-NH_2	1515.85	758.93	759.12
478	Ac-LTF$r8AWWAQL$S-NH_2	1554.86	778.43	778.51
479	Ac-LTF$r8AYWAQI$S-NH_2	1531.84	766.92	766.96
480	Ac-LTF$r8AYWAQNle$S-NH_2	1531.84	766.92	766.96
481	Ac-LTF$r8AYWAQL$SA-NH_2	1602.88	802.44	802.48
482	Ac-LTF$r8AWWAQL$A-NH_2	1538.87	770.44	770.89
483	Ac-LTF$r8AYWAQI$A-NH_2	1515.85	758.93	759.42
484	Ac-LTF$r8AYWAQNle$A-NH_2	1515.85	758.93	759.42
485	Ac-LTF$r8AYWAQL$AA-NH_2	1586.89	794.45	794.94
486	Ac-LTF$r8HWWAQL$S-NH_2	1620.88	811.44	811.47
487	Ac-LTF$r8HRWAQL$S-NH_2	1590.90	796.45	796.52
488	Ac-LTF$r8HKWAQL$S-NH_2	1562.90	782.45	782.53
489	Ac-LTF$r8HYWAQL$W-NH_2	1696.91	849.46	849.5
491	Ac-F$r8AYWAbuAL$A-NH_2	1258.71	630.36	630.5
492	Ac-F$r8AbuYWEAL$A-NH_2	1316.72	659.36	659.51
493	Ac-NlePRF%r8NYWRLL%QN-NH_2	1954.13	978.07	978.54
494	Ac-TSF%r8HYWAQL%S-NH_2	1573.83	787.92	787.98
495	Ac-LTF%r8AYWAQL%S-NH_2	1533.86	767.93	768
496	Ac-HTF$r8HYWAQL$S-NH_2	1621.84	811.92	811.96
497	Ac-LHF$r8HYWAQL$S-NH_2	1633.88	817.94	818.02
498	Ac-LTF$r8HHWAQL$S-NH_2	1571.86	786.93	786.94

SP	序列	准确质量	M+2	观测质量 (m/e)
499	Ac-LTF$r8HYWHQL$S-NH_2	1663.89	832.95	832.38
500	Ac-LTF$r8HYWAHL$S-NH_2	1606.87	804.44	804.48
501	Ac-LTF$r8HYWAQL$H-NH_2	1647.89	824.95	824.98
502	Ac-LTF$r8HYWAQL$S-NHPr	1639.91	820.96	820.98
503	Ac-LTF$r8HYWAQL$S-NHsBu	1653.93	827.97	828.02
504	Ac-LTF$r8HYWAQL$S-NHiBu	1653.93	827.97	828.02
505	Ac-LTF$r8HYWAQL$S-NHBn	1687.91	844.96	844.44
506	Ac-LTF$r8HYWAQL$S-NHPe	1700.92	851.46	851.99
507	Ac-LTF$r8HYWAQL$S-NHChx	1679.94	840.97	841.04
508	Ac-ETF$r8AYWAQL$S-NH_2	1547.80	774.90	774.96
509	Ac-STF$r8AYWAQL$S-NH_2	1505.79	753.90	753.94
510	Ac-LEF$r8AYWAQL$S-NH_2	1559.84	780.92	781.25
511	Ac-LSF$r8AYWAQL$S-NH_2	1517.83	759.92	759.93
512	Ac-LTF$r8EYWAQL$S-NH_2	1589.85	795.93	795.97
513	Ac-LTF$r8SYWAQL$S-NH_2	1547.84	774.92	774.96
514	Ac-LTF$r8AYWEQL$S-NH_2	1589.85	795.93	795.9
515	Ac-LTF$r8AYWAEL$S-NH_2	1532.83	767.42	766.96
516	Ac-LTF$r8AYWASL$S-NH_2	1490.82	746.41	746.46
517	Ac-LTF$r8AYWAQL$E-NH_2	1573.85	787.93	787.98
518	Ac-LTF2CN$r8HYWAQL$S-NH_2	1622.86	812.43	812.47
519	Ac-LTF3Cl$r8HYWAQL$S-NH_2	1631.83	816.92	816.99
520	Ac-LTDip$r8HYWAQL$S-NH_2	1673.90	837.95	838.01
521	Ac-LTF$r8HYWAQTle$S-NH_2	1597.87	799.94	800.04
522	Ac-F$r8AY6clWEAL$A-NH_2	1336.66	669.33	1338.56
523	Ac-F$r8AYdl6brWEAL$A-NH_2	1380.61	691.31	692.2
524	Ac-F$r8AYdl6fWEAL$A-NH_2	1320.69	661.35	1321.61
525	Ac-F$r8AYdl4mWEAL$A-NH_2	1316.72	659.36	659.36
526	Ac-F$r8AYdl5clWEAL$A-NH_2	1336.66	669.33	669.35
527	Ac-F$r8AYdl7mWEAL$A-NH_2	1316.72	659.36	659.36
528	Ac-LTF%r8HYWAQL%A-NH_2	1583.89	792.95	793.01
529	Ac-LTF$r8HCouWAQL$S-NH_2	1679.87	840.94	841.38
530	Ac-LTFEHCouWAQLTS-NH_2	1617.75	809.88	809.96
531	Ac-LTA$r8HCouWAQL$S-NH_2	1603.84	802.92	803.36
532	Ac-F$r8AYWEAL$AbuA-NH_2	1387.75	694.88	694.88
533	Ac-F$r8AYWEAI$AA-NH_2	1373.74	687.87	687.93
534	Ac-F$r8AYWEANle$AA-NH_2	1373.74	687.87	687.93
535	Ac-F$r8AYWEAmlL$AA-NH_2	1429.80	715.90	715.97
536	Ac-F$r8AYWQAL$AA-NH_2	1372.75	687.38	687.48
537	Ac-F$r8AYWAAL$AA-NH_2	1315.73	658.87	658.92
538	Ac-F$r8AYWAbuAL$AA-NH_2	1329.75	665.88	665.95
539	Ac-F$r8AYWNleAL$AA-NH_2	1357.78	679.89	679.94
540	Ac-F$r8AbuYWEAL$AA-NH_2	1387.75	694.88	694.96
541	Ac-F$r8NleYWEAL$AA-NH_2	1415.79	708.90	708.94
542	Ac-F$r8FYWEAL$AA-NH_2	1449.77	725.89	725.97

SP	序列	准确质量	M+2	观测质量 (m/e)
543	Ac-LTF$r8HYWAQhL$S-NH_2	1611.88	806.94	807
544	Ac-LTF$r8HYWAQAdm$S-NH_2	1675.91	838.96	839.04
545	Ac-LTF$r8HYWAQIgl$S-NH_2	1659.88	830.94	829.94
546	Ac-F$r8AYWAQL$AA-NH_2	1372.75	687.38	687.48
547	Ac-LTF$r8ALWAQL$Q-NH_2	1522.89	762.45	762.52
548	Ac-F$r8AYWEAL$AA-NH_2	1373.74	687.87	687.93
549	Ac-F$r8AYWENleL$AA-NH_2	1415.79	708.90	708.94
550	Ac-F$r8AYWEAibL$Abu-NH_2	1330.73	666.37	666.39
551	Ac-F$r8AYWENleL$Abu-NH_2	1358.76	680.38	680.38
552	Ac-F$r8AYWEAL$Abu-NH_2	1316.72	659.36	659.36
553	Ac-F$r8AYWEAc3cL$AbuA-NH_2	1399.75	700.88	700.95
554	Ac-F$r8AYWEAc3cL$NleA-NH_2	1427.79	714.90	715.01
555	H-LTF$r8AYWAQL$S-NH_2	1489.83	745.92	745.95
556	mdPEG3-LTF$r8AYWAQL$S-NH_2	1679.92	840.96	840.97
557	mdPEG7-LTF$r8AYWAQL$S-NH_2	1856.02	929.01	929.03
558	Ac-F$r8ApmpEt6clWEAL$A-NH_2	1470.71	736.36	788.17
559	Ac-LTF3Cl$r8AYWAQL$S-NH_2	1565.81	783.91	809.18
560	Ac-LTF3Cl$r8HYWAQL$A-NH_2	1615.83	808.92	875.24
561	Ac-LTF3Cl$r8HYWWQL$S-NH_2	1746.87	874.44	841.65
562	Ac-LTF3Cl$r8AYWWQL$S-NH_2	1680.85	841.43	824.63
563	Ac-LTF$r8AYWWQL$S-NH_2	1646.89	824.45	849.98
564	Ac-LTF$r8HYWWQL$A-NH_2	1696.91	849.46	816.67
565	Ac-LTF$r8AYWWQL$A-NH_2	1630.89	816.45	776.15
566	Ac-LTF4F$r8AYWAQL$S-NH_2	1549.83	775.92	776.15
567	Ac-LTF2F$r8AYWAQL$S-NH_2	1549.83	775.92	776.15
568	Ac-LTF3F$r8AYWAQL$S-NH_2	1549.83	775.92	785.12
569	Ac-LTF34F2$r8AYWAQL$S-NH_2	1567.83	784.92	785.12
570	Ac-LTF35F2$r8AYWAQL$S-NH_2	1567.83	784.92	1338.74
571	Ac-F3Cl$r8AYWEAL$A-NH_2	1336.66	669.33	705.28
572	Ac-F3Cl$r8AYWEAL$AA-NH_2	1407.70	704.85	680.11
573	Ac-F$r8AY6clWEAL$AA-NH_2	1407.70	704.85	736.83
574	Ac-F$r8AY6clWEAL$-NH_2	1265.63	633.82	784.1
575	Ac-LTF$r8HYWAQLSt/S-$NH_2$	16.03	9.02	826.98
576	Ac-LTF$r8HYWAQL$S-NHsBu	1653.93	827.97	828.02
577	Ac-STF$r8AYWAQL$S-NH_2	1505.79	753.90	753.94
578	Ac-LTF$r8AYWAEL$S-NH_2	1532.83	767.42	767.41
579	Ac-LTF$r8AYWAQL$E-NH_2	1573.85	787.93	787.98
580	mdPEG3-LTF$r8AYWAQL$S-NH_2	1679.92	840.96	840.97
581	Ac-LTF$r8AYWAQhL$S-NH_2	1545.86	773.93	774.31
583	Ac-LTF$r8AYWAQCha$S-NH_2	1571.88	786.94	787.3
584	Ac-LTF$r8AYWAQChg$S-NH_2	1557.86	779.93	780.4
585	Ac-LTF$r8AYWAQCba$S-NH_2	1543.84	772.92	780.13
586	Ac-LTF$r8AYWAQF$S-NH_2	1565.83	783.92	784.2
587	Ac-LTF4F$r8HYWAQhL$S-NH_2	1629.87	815.94	815.36

SP	序列	准确质量	M+2	观测质量 (m/e)
588	Ac-LTF4F$r8HYWAQCha$S-NH_2	1655.89	828.95	828.39
589	Ac-LTF4F$r8HYWAQChg$S-NH_2	1641.87	821.94	821.35
590	Ac-LTF4F$r8HYWAQCba$S-NH_2	1627.86	814.93	814.32
591	Ac-LTF4F$r8AYWAQhL$S-NH_2	1563.85	782.93	782.36
592	Ac-LTF4F$r8AYWAQCha$S-NH_2	1589.87	795.94	795.38
593	Ac-LTF4F$r8AYWAQChg$S-NH_2	1575.85	788.93	788.35
594	Ac-LTF4F$r8AYWAQCba$S-NH_2	1561.83	781.92	781.39
595	Ac-LTF3Cl$r8AYWAQhL$S-NH_2	1579.82	790.91	790.35
596	Ac-LTF3Cl$r8AYWAQCha$S-NH_2	1605.84	803.92	803.67
597	Ac-LTF3Cl$r8AYWAQChg$S-NH_2	1591.82	796.91	796.34
598	Ac-LTF3Cl$r8AYWAQCba$S-NH_2	1577.81	789.91	789.39
599	Ac-LTF$r8AYWAQhF$S-NH_2	1579.84	790.92	791.14
600	Ac-LTF$r8AYWAQF3CF3$S-NH_2	1633.82	817.91	818.15
601	Ac-LTF$r8AYWAQF3Me$S-NH_2	1581.86	791.93	791.32
602	Ac-LTF$r8AYWAQ1Nal$S-NH_2	1615.84	808.92	809.18
603	Ac-LTF$r8AYWAQBip$S-NH_2	1641.86	821.93	822.13
604	Ac-LTF$r8FYWAQL$A-NH_2	1591.88	796.94	797.33
605	Ac-LTF$r8HYWAQL$S-NHAm	1667.94	834.97	835.92
606	Ac-LTF$r8HYWAQL$S-NHiAm	1667.94	834.97	835.55
607	Ac-LTF$r8HYWAQL$S-NHnPr3Ph	1715.94	858.97	859.79
608	Ac-LTF$r8HYWAQL$S-NHnBu3,3Me	1681.96	841.98	842.49
610	Ac-LTF$r8HYWAQL$S-NHnPr	1639.91	820.96	821.58
611	Ac-LTF$r8HYWAQL$S-NHnEt2Ch	1707.98	854.99	855.35
612	Ac-LTF$r8HYWAQL$S-NHHex	1681.96	841.98	842.4
613	Ac-LTF$r8AYWAQL$S-NHmdPeg2	1633.91	817.96	818.35
614	Ac-LTF$r8AYWAQL$A-NHmdPeg2	1617.92	809.96	810.3
615	Ac-LTF$r8AYWAQL$A-NHmdPeg4	1705.97	853.99	854.33
616	Ac-F$r8AYdl4mWEAL$A-NH_2	1316.72	659.36	659.44
617	Ac-F$r8AYdl5clWEAL$A-NH_2	1336.66	669.33	669.43
618	Ac-LThF$r8AYWAQL$S-NH_2	1545.86	773.93	774.11
619	Ac-LT2Nal$r8AYWAQL$S-NH_2	1581.86	791.93	792.43
620	Ac-LTA$r8AYWAQL$S-NH_2	1455.81	728.91	729.15
621	Ac-LTF$r8AYWVQL$S-NH_2	1559.88	780.94	781.24
622	Ac-LTF$r8HYWAAL$A-NH_2	1524.85	763.43	763.86
623	Ac-LTF$r8VYWAQL$A-NH_2	1543.88	772.94	773.37
624	Ac-LTF$r8IYWAQL$S-NH_2	1573.89	787.95	788.17
625	Ac-FTF$r8VYWSQL$S-NH_2	1609.85	805.93	806.22
626	Ac-ITF$r8FYWAQL$S-NH_2	1607.88	804.94	805.2
627	Ac-2NalTF$r8VYWSQL$S-NH_2	1659.87	830.94	831.2
628	Ac-ITF$r8LYWSQL$S-NH_2	1589.89	795.95	796.13
629	Ac-FTF$r8FYWAQL$S-NH_2	1641.86	821.93	822.13
630	Ac-WTF$r8VYWAQL$S-NH_2	1632.87	817.44	817.69
631	Ac-WTF$r8WYWAQL$S-NH_2	1719.88	860.94	861.36
632	Ac-VTF$r8AYWSQL$S-NH_2	1533.82	767.91	768.19

SP	序列	准确质量	M+2	观测质量 (m/e)
633	Ac-WTF$r8FYWSQL$S-NH_2	1696.87	849.44	849.7
634	Ac-FTF$r8IYWAQL$S-NH_2	1607.88	804.94	805.2
635	Ac-WTF$r8VYWSQL$S-NH_2	1648.87	825.44	824.8
636	Ac-FTF$r8LYWSQL$S-NH_2	1623.87	812.94	812.8
637	Ac-YTF$r8FYWSQL$S-NH_2	1673.85	837.93	837.8
638	Ac-LTF$r8AY6clWEAL$A-NH_2	1550.79	776.40	776.14
639	Ac-LTF$r8AY6clWSQL$S-NH_2	1581.80	791.90	791.68
640	Ac-F$r8AY6clWSAL$A-NH_2	1294.65	648.33	647.67
641	Ac-F$r8AY6clWQAL$AA-NH_2	1406.72	704.36	703.84
642	Ac-LHF$r8AYWAQL$S-NH_2	1567.86	784.93	785.21
643	Ac-LTF$r8AYWAQL$S-NH_2	1531.84	766.92	767.17
644	Ac-LTF$r8AHWAQL$S-NH_2	1505.84	753.92	754.13
645	Ac-LTF$r8AYWAHL$S-NH_2	1540.84	771.42	771.61
646	Ac-LTF$r8AYWAQL$H-NH_2	1581.87	791.94	792.15
647	H-LTF$r8AYWAQL$A-NH_2	1473.84	737.92	737.29
648	Ac-HHF$r8AYWAQL$S-NH_2	1591.83	796.92	797.35
649	Ac-aAibWTF$r8VYWSQL$S-NH_2	1804.96	903.48	903.64
650	Ac-AibWTF$r8HYWAQL$S-NH_2	1755.91	878.96	879.4
651	Ac-AibAWTF$r8HYWAQL$S-NH_2	1826.95	914.48	914.7
652	Ac-fWTF$r8HYWAQL$S-NH_2	1817.93	909.97	910.1
653	Ac-AibWWTF$r8HYWAQL$S-NH_2	1941.99	972.00	972.2
654	Ac-WTF$r8LYWSQL$S-NH_2	1662.88	832.44	832.8
655	Ac-WTF$r8NleYWSQL$S-NH_2	1662.88	832.44	832.6
656	Ac-LTF$r8AYWSQL$a-NH_2	1531.84	766.92	767.2
657	Ac-LTF$r8EYWARL$A-NH_2	1601.90	801.95	802.1
658	Ac-LTF$r8EYWAHL$A-NH_2	1582.86	792.43	792.6
659	Ac-aTF$r8AYWAQL$S-NH_2	1489.80	745.90	746.08
660	Ac-AibTF$r8AYWAQL$S-NH_2	1503.81	752.91	753.11
661	Ac-AmfTF$r8AYWAQL$S-NH_2	1579.84	790.92	791.14
662	Ac-AmwTF$r8AYWAQL$S-NH_2	1618.86	810.43	810.66
663	Ac-NmLTF$r8AYWAQL$S-NH_2	1545.86	773.93	774.11
664	Ac-LNmTF$r8AYWAQL$S-NH_2	1545.86	773.93	774.11
665	Ac-LSarF$r8AYWAQL$S-NH_2	1501.83	751.92	752.18
667	Ac-LGF$r8AYWAQL$S-NH_2	1487.82	744.91	745.15
668	Ac-LTNmF$r8AYWAQL$S-NH_2	1545.86	773.93	774.2
669	Ac-TF$r8AYWAQL$S-NH_2	1418.76	710.38	710.64
670	Ac-ETF$r8AYWAQL$A-NH_2	1531.81	766.91	767.2
671	Ac-LTF$r8EYWAQL$A-NH_2	1573.85	787.93	788.1
672	Ac-LT2Nal$r8AYWSQL$S-NH_2	1597.85	799.93	800.4
673	Ac-LTF$r8AYWAAL$S-NH_2	1474.82	738.41	738.68
674	Ac-LTF$r8AYWAQhCha$S-NH_2	1585.89	793.95	794.19
675	Ac-LTF$r8AYWAQChg$S-NH_2	1557.86	779.93	780.97
676	Ac-LTF$r8AYWAQCba$S-NH_2	1543.84	772.92	773.19
677	Ac-LTF$r8AYWAQF3CF3$S-NH_2	1633.82	817.91	818.15

SP	序列	准确质量	M+2	观测质量 (m/e)
678	Ac-LTF$r8AYWAQ1Nal$S-NH_2	1615.84	808.92	809.18
679	Ac-LTF$r8AYWAQBip$S-NH_2	1641.86	821.93	822.32
680	Ac-LT2Nal$r8AYWAQL$S-NH_2	1581.86	791.93	792.15
681	Ac-LTF$r8AYWVQL$S-NH_2	1559.88	780.94	781.62
682	Ac-LTF$r8AWWAQL$S-NH_2	1554.86	778.43	778.65
683	Ac-FTF$r8VYWSQL$S-NH_2	1609.85	805.93	806.12
684	Ac-ITF$r8FYWAQL$S-NH_2	1607.88	804.94	805.2
685	Ac-ITF$r8LYWSQL$S-NH_2	1589.89	795.95	796.22
686	Ac-FTF$r8FYWAQL$S-NH_2	1641.86	821.93	822.41
687	Ac-VTF$r8AYWSQL$S-NH_2	1533.82	767.91	768.19
688	Ac-LTF$r8AHWAQL$S-NH_2	1505.84	753.92	754.31
689	Ac-LTF$r8AYWAQL$H-NH_2	1581.87	791.94	791.94
690	Ac-LTF$r8AYWAHL$S-NH_2	1540.84	771.42	771.61
691	Ac-aAibWTF$r8VYWSQL$S-NH_2	1804.96	903.48	903.9
692	Ac-AibWTF$r8HYWAQL$S-NH_2	1755.91	878.96	879.5
693	Ac-AibAWTF$r8HYWAQL$S-NH_2	1826.95	914.48	914.7
694	Ac-fWTF$r8HYWAQL$S-NH_2	1817.93	909.97	910.2
695	Ac-AibWWTF$r8HYWAQL$S-NH_2	1941.99	972.00	972.7
696	Ac-WTF$r8LYWSQL$S-NH_2	1662.88	832.44	832.7
697	Ac-WTF$r8NleYWSQL$S-NH_2	1662.88	832.44	832.7
698	Ac-LTF$r8AYWSQL$a-NH_2	1531.84	766.92	767.2
699	Ac-LTF$r8EYWARL$A-NH_2	1601.90	801.95	802.2
700	Ac-LTF$r8EYWAHL$A-NH_2	1582.86	792.43	792.6
701	Ac-aTF$r8AYWAQL$S-NH_2	1489.80	745.90	746.1
702	Ac-AibTF$r8AYWAQL$S-NH_2	1503.81	752.91	753.2
703	Ac-AmfTF$r8AYWAQL$S-NH_2	1579.84	790.92	791.2
704	Ac-AmwTF$r8AYWAQL$S-NH_2	1618.86	810.43	810.7
705	Ac-NmLTF$r8AYWAQL$S-NH_2	1545.86	773.93	774.1
706	Ac-LNmTF$r8AYWAQL$S-NH_2	1545.86	773.93	774.4
707	Ac-LSarF$r8AYWAQL$S-NH_2	1501.83	751.92	752.1
708	Ac-TF$r8AYWAQL$S-NH_2	1418.76	710.38	710.8
709	Ac-ETF$r8AYWAQL$A-NH_2	1531.81	766.91	767.4
710	Ac-LTF$r8EYWAQL$A-NH_2	1573.85	787.93	788.2
711	Ac-WTF$r8VYWSQL$S-NH_2	1648.87	825.44	825.2
713	Ac-YTF$r8FYWSQL$S-NH_2	1673.85	837.93	837.3
714	Ac-F$r8AY6clWSAL$A-NH_2	1294.65	648.33	647.74
715	Ac-ETF$r8EYWVQL$S-NH_2	1633.84	817.92	817.36
716	Ac-ETF$r8EHWAQL$A-NH_2	1563.81	782.91	782.36
717	Ac-ITF$r8EYWAQL$S-NH_2	1589.85	795.93	795.38
718	Ac-ITF$r8EHWVQL$A-NH_2	1575.88	788.94	788.42
719	Ac-ITF$r8EHWAQL$S-NH_2	1563.85	782.93	782.43
720	Ac-LTF4F$r8AYWAQCba$S-NH_2	1561.83	781.92	781.32
721	Ac-LTF3Cl$r8AYWAQhL$S-NH_2	1579.82	790.91	790.64
722	Ac-LTF3Cl$r8AYWAQCha$S-NH_2	1605.84	803.92	803.37

SP	序列	准确质量	M+2	观测质量 (m/e)
723	Ac-LTF3Cl$r8AYWAQChg$S-NH_2	1591.82	796.91	796.27
724	Ac-LTF3Cl$r8AYWAQCba$S-NH_2	1577.81	789.91	789.83
725	Ac-LTF$r8AY6clWSQL$S-NH_2	1581.80	791.90	791.75
726	Ac-LTF4F$r8HYWAQhL$S-NH_2	1629.87	815.94	815.36
727	Ac-LTF4F$r8HYWAQCba$S-NH_2	1627.86	814.93	814.32
728	Ac-LTF4F$r8AYWAQhL$S-NH_2	1563.85	782.93	782.36
729	Ac-LTF4F$r8AYWAQChg$S-NH_2	1575.85	788.93	788.35
730	Ac-ETF$r8EYWVAL$S-NH_2	1576.82	789.41	788.79
731	Ac-ETF$r8EHWAAL$A-NH_2	1506.79	754.40	754.8
732	Ac-ITF$r8EYWAAL$S-NH_2	1532.83	767.42	767.75
733	Ac-ITF$r8EHWVAL$A-NH_2	1518.86	760.43	760.81
734	Ac-ITF$r8EHWAAL$S-NH_2	1506.82	754.41	754.8
735	Pam-LTF$r8EYWAQL$S-NH_2	1786.07	894.04	894.48
736	Pam-ETF$r8EYWAQL$S-NH_2	1802.03	902.02	902.34
737	Ac-LTF$r8AYWLQL$S-NH_2	1573.89	787.95	787.39
738	Ac-LTF$r8EYWLQL$S-NH_2	1631.90	816.95	817.33
739	Ac-LTF$r8EHWLQL$S-NH_2	1605.89	803.95	804.29
740	Ac-LTF$r8VYWAQL$S-NH_2	1559.88	780.94	781.34
741	Ac-LTF$r8AYWSQL$S-NH_2	1547.84	774.92	775.33
742	Ac-ETF$r8AYWAQL$S-NH_2	1547.80	774.90	775.7
743	Ac-LTF$r8EYWAQL$S-NH_2	1589.85	795.93	796.33
744	Ac-LTF$r8HYWAQL$S-NHAm	1667.94	834.97	835.37
745	Ac-LTF$r8HYWAQL$S-NHiAm	1667.94	834.97	835.27
746	Ac-LTF$r8HYWAQL$S-NHnPr3Ph	1715.94	858.97	859.42
747	Ac-LTF$r8HYWAQL$S-NHnBu3,3Me	1681.96	841.98	842.67
748	Ac-LTF$r8HYWAQL$S-NHnBu	1653.93	827.97	828.24
749	Ac-LTF$r8HYWAQL$S-NHnPr	1639.91	820.96	821.31
750	Ac-LTF$r8HYWAQL$S-NHnEt2Ch	1707.98	854.99	855.35
751	Ac-LTF$r8HYWAQL$S-NHHex	1681.96	841.98	842.4
752	Ac-LTF$r8AYWAQL$S-NHmdPeg2	1633.91	817.96	855.35
753	Ac-LTF$r8AYWAQL$A-NHmdPeg2	1617.92	809.96	810.58
754	Ac-LTF$r5AYWAAL$s8S-NH_2	1474.82	738.41	738.79
755	Ac-LTF$r8AYWCouQL$S-NH_2	1705.88	853.94	854.61
756	Ac-LTF$r8CouYWAQL$S-NH_2	1705.88	853.94	854.7
757	Ac-CouTF$r8AYWAQL$S-NH_2	1663.83	832.92	833.33
758	H-LTF$r8AYWAQL$A-NH_2	1473.84	737.92	737.29
759	Ac-HHF$r8AYWAQL$S-NH_2	1591.83	796.92	797.72
760	Ac-LT2Nal$r8AYWSQL$S-NH_2	1597.85	799.93	800.68
761	Ac-LTF$r8HCouWAQL$S-NH_2	1679.87	840.94	841.38
762	Ac-LTF$r8AYWCou2QL$S-NH_2	1789.94	895.97	896.51
763	Ac-LTF$r8Cou2YWAQL$S-NH_2	1789.94	895.97	896.5
764	Ac-Cou2TF$r8AYWAQL$S-NH_2	1747.90	874.95	875.42
765	Ac-LTF$r8ACou2WAQL$S-NH_2	1697.92	849.96	850.82
766	Dmaac-LTF$r8AYWAQL$S-NH_2	1574.89	788.45	788.82

SP	序列	准确质量	M+2	观测质量 (m/e)
767	Hexac-LTF$r8AYWAQL$S-NH_2	1587.91	794.96	795.11
768	Napac-LTF$r8AYWAQL$S-NH_2	1657.89	829.95	830.36
769	Pam-LTF$r8AYWAQL$S-NH_2	1728.06	865.03	865.45
770	Ac-LT2Nal$r8HYAAQL$S-NH_2	1532.84	767.42	767.61
771	Ac-LT2Nal$/r8HYWAQL$/S-NH_2	1675.91	838.96	839.1
772	Ac-LT2Nal$r8HYFAQL$S-NH_2	1608.87	805.44	805.9
773	Ac-LT2Nal$r8HWAAQL$S-NH_2	1555.86	778.93	779.08
774	Ac-LT2Nal$r8HYAWQL$S-NH_2	1647.88	824.94	825.04
775	Ac-LT2Nal$r8HYAAQW$S-NH_2	1605.83	803.92	804.05
776	Ac-LTW$r8HYWAQL$S-NH_2	1636.88	819.44	819.95
777	Ac-LT1Nal$r8HYWAQL$S-NH_2	1647.88	824.94	825.41

[0398] 表2c示出了包含D-氨基酸的交联和非交联多肽的实例。

表2c

SP	序列		异构体	准确质量	实测质量	计算(M+1)/1	计算(M+2)/2	计算(M+3)/3
765	Ac-tawyanfekllr-NH_2	1490			777.46			
766	Ac-tawyanf4CF3ekllr-NH_2	1491			811.41			

[0399] 实施例3:三唑交联的拟肽大环化合物的合成

[0400] 在用于制备包含1,4-三唑基团的拟肽大环化合物(例如SP153)的典型实例中,将DMF中的20%(v/v)的2,6-二甲基吡啶加入到在40ml玻璃小瓶中的肽树脂(0.5mmol)中并摇动10分钟。然后加入抗坏血酸钠(0.25g,1.25mmol)和二异丙基乙胺(0.22ml,1.25mmol),随后加入碘化亚铜(I)(0.24g,1.25mmol),并将所得反应混合物在环境温度下机械摇动16小时。

[0401] 在用于制备包含1,5-三唑基团的拟肽大环化合物(SP932,SP933)的典型实例中,用无水DCM洗涤肽树脂(0.25mmol)。将树脂装入微波小瓶中。对容器进行抽真空并用氮气吹扫。加入氯(五甲基环戊二烯基)双(三苯基膦)钌(II),10%装载量,(Strem 44-0117)。将无水甲苯加入到反应容器中。然后将反应物装入微波炉中,并在90℃下保持10分钟。可能需要在随后的时间推动反应以完成反应。在其他情况下,可使用氯(1,5-环辛二烯)(五甲基环戊二烯基)钌("Cp*RuCl(cod)"),例如,在室温下在包含甲苯的溶剂中。

[0402] 在用于制备包含碘取代的三唑基团的拟肽大环化合物(例如SP457)的典型实例中,将THF(2ml)加入到在40ml玻璃小瓶中的肽树脂(0.05mmol)中,并摇动10分钟。然后加入N-溴代琥珀酰亚胺(0.04g,0.25mmol)、碘化亚铜(I)(0.05g,0.25mmol)和二异丙基乙胺(0.04ml,0.25mmol),并将所得反应混合物在环境温度下机械摇动16小时。碘代-三唑交联体可通过例如采用硼酸的偶联反应进一步被取代,以产生拟肽大环化合物如SP465。在典型的实例中,将DMF(3ml)加入到在40ml玻璃小瓶中的碘代-三唑肽树脂(0.1mmol)中,并摇动10分钟。然后加入苯基硼酸(0.04g,0.3mmol)、四(三苯基膦)钯(0)(0.006g,0.005mmol)和碳酸钾(0.083g,0.6mmol),并将所得反应混合物在70℃下机械摇动16小时。碘代-三唑交联体也可通过例如采用末端炔烃的偶联反应(例如Sonogashira偶联)进一步被取代,以产生

拟肽大环化合物如SP468。在典型的实例中，将2:1的THF:三乙胺(3ml)加入到在40ml玻璃小瓶中的碘代-三唑肽树脂(0.1mmol)中，并摇动10分钟。加入N-BOC-4-戊炔-1-胺(0.04g，0.2mmol)和双(三苯基膦)氯化钯(0.014g,0.02mmol)，并摇动5分钟。然后加入碘化亚铜(I)(0.004g,0.02mmol)，并将所得反应混合物在70℃下机械摇动16小时。

[0403] 通过在室温下用TFA/H_2O/TIS(95/5/5v/v)处理2.5h，对三唑环化的与树脂结合的肽进行脱保护并从固体支持物上切下。将树脂过滤后，使TFA溶液在冷乙醚中沉淀并进行离心，以得到呈固体的所需产物。通过制备型HPLC对粗产物进行纯化。例如，通过在反相C18柱(Varian)上的高效液相色谱法(HPLC)(Varian ProStar)实现交联化合物的纯化，以产生纯化合物。通过LC/MS质谱法(与Agilent 1100HPLC系统接口连接的Micromass LCT)和氨基酸分析(Applied Biosystems，型号420A)确认该纯产物的化学组成。

[0404] 表3和表3A显示了式I的拟肽大环化合物的列表。

表3

SP-	序列
778	Ac-F$4rn6AYWEAc3cL$4a5AAA-NH2
779	Ac-F$4rn6AYWEAc3cL$4a5AAibA-NH2
780	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5SANle-NH2
781	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5SAL-NH2
782	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5SAM-NH2
783	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5SAhL-NH2
784	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5SAF-NH2
785	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5SAI-NH2
786	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5SAChg-NH2
787	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5SAAib-NH2
788	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5SAA-NH2
789	Ac-LTF$4rn6AYWA$4a5LSNle-NH2
790	Ac-LTF$4rn6AYWA$4a5LSA-NH2
791	Ac-F$4rn6AYWEAc3cL$4a5AANle-NH2
792	Ac-F$4rn6AYWEAc3cL$4a5AAL-NH2
793	Ac-F$4rn6AYWEAc3cL$4a5AAM-NH2
794	Ac-F$4rn6AYWEAc3cL$4a5AAhL-NH2
795	Ac-F$4rn6AYWEAc3cL$4a5AAF-NH2
796	Ac-F$4rn6AYWEAc3cL$4a5AAI-NH2
797	Ac-F$4rn6AYWEAc3cL$4a5AAChg-NH2
798	Ac-F$4rn6AYWEAc3cL$4a5AACha-NH2
799	Ac-F$4rn6AYWEAc3cL$4a5AAAib-NH2
800	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5AAAibV-NH2
801	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5AAAibV-NH2
802	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5SAibAA-NH2
803	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5SAibAA-NH2
804	Ac-HLTF$4rn6HHWHQL$4a5AANleNle-NH2
805	Ac-DLTF$4rn6HHWHQL$4a5RRLV-NH2
806	Ac-HHTF$4rn6HHWHQL$4a5AAML-NH2
807	Ac-F$4rn6HHWHQL$4a5RRDCha-NH2
808	Ac-F$4rn6HHWHQL$4a5HRFV-NH2
809	Ac-HLTF$4rn6HHWHQL$4a5AAhLA-NH2
810	Ac-DLTF$4rn6HHWHQL$4a5RRChgl-NH2
811	Ac-DLTF$4rn6HHWHQL$4a5RRChgl-NH2
812	Ac-HHTF$4rn6HHWHQL$4a5AAChav-NH2
813	Ac-F$4rn6HHWHQL$4a5RRDa-NH2
814	Ac-F$4rn6HHWHQL$4a5HRAibG-NH2
815	Ac-F$4rn6AYWAQL$4a5HHNleL-NH2
816	Ac-F$4rn6AYWSAL$4a5HQANle-NH2
817	Ac-F$4rn6AYWVQL$4a5QHChgl-NH2

SP-	序列
818	Ac-F$4rn6AYWTAL$4a5QQNlev-NH2
819	Ac-F$4rn6AYWYQL$4a5HAibAa-NH2
820	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5HHLa-NH2
821	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5HHLa-NH2
822	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5HQNlev-NH2
823	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5HQNlev-NH2
824	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5QQMl-NH2
825	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5QQMl-NH2
826	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5HAibhLV-NH2
827	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5AHFA-NH2
828	Ac-HLTF$4rn6HHWHQL$4a5AANlel-NH2
829	Ac-DLTF$4rn6HHWHQL$4a5RRLa-NH2
830	Ac-HHTF$4rn6HHWHQL$4a5AAMv-NH2
831	Ac-F$4rn6HHWHQL$4a5RRDA-NH2
832	Ac-F$4rn6HHWHQL$4a5HRFCha-NH2
833	Ac-F$4rn6AYWEAL$4a5AA-NHAm
834	Ac-F$4rn6AYWEAL$4a5AA-NHiAm
835	Ac-F$4rn6AYWEAL$4a5AA-NHnPr3Ph
836	Ac-F$4rn6AYWEAL$4a5AA-NHnBu33Me
837	Ac-F$4rn6AYWEAL$4a5AA-NHnPr
838	Ac-F$4rn6AYWEAL$4a5AA-NHnEt2Ch
839	Ac-F$4rn6AYWEAL$4a5AA-NHnEt2Cp
840	Ac-F$4rn6AYWEAL$4a5AA-NHHex
841	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5AAIA-NH2
842	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5AAIA-NH2
843	Ac-LTF$4rn6AYWAAL$4a5AAMA-NH2
844	Ac-LTF$4rn6AYWAAL$4a5AAMA-NH2
845	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5AAIa-NH2
846	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5AAIa-NH2
847	Ac-LTF$4rn6AYWAAL$4a5AAMa-NH2
848	Ac-LTF$4rn6AYWAAL$4a5AAMa-NH2
849	Ac-LTF$4rn6AYWAAL$4a5AAIv-NH2
850	Ac-LTF$4rn6AYWAAL$4a5AAIv-NH2
851	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5AAMv-NH2
852	Ac-LTF$4rn6AYWAAL$4a5AANlev-NH2
853	Ac-LTF$4rn6AYWAAL$4a5AANlev-NH2
854	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5AAIl-NH2
855	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5AAIl-NH2
856	Ac-LTF$4rn6AYWAAL$4a5AAMl-NH2
857	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5AANlel-NH2
858	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5AANlel-NH2
859	Ac-F$4rn6AYWEAL$4a5AAMA-NH2

SP-	序列
860	Ac-F$4rn6AYWEAL$4a5AANleA-NH2
861	Ac-F$4rn6AYWEAL$4a5AAIa-NH2
862	Ac-F$4rn6AYWEAL$4a5AAMa-NH2
863	Ac-F$4rn6AYWEAL$4a5AANlea-NH2
864	Ac-F$4rn6AYWEAL$4a5AAIv-NH2
865	Ac-F$4rn6AYWEAL$4a5AAMv-NH2
866	Ac-F$4rn6AYWEAL$4a5AANlev-NH2
867	Ac-F$4rn6AYWEAL$4a5AAIl-NH2
868	Ac-F$4rn6AYWEAL$4a5AAMl-NH2
869	Ac-F$4rn6AYWEAL$4a5AANlel-NH2
870	Ac-F$4rn6AYWEAL$4a5AANlel-NH2
871	Ac-LTF$4rn6AY6clWAQL$4a5SAA-NH2
872	Ac-LTF$4rn6AY6clWAQL$4a5SAA-NH2
873	Ac-WTF$4rn6FYWSQL$4a5AVAa-NH2
874	Ac-WTF$4rn6FYWSQL$4a5AVAa-NH2
875	Ac-WTF$4rn6VYWSQL$4a5AVA-NH2
876	Ac-WTF$4rn6VYWSQL$4a5AVA-NH2
877	Ac-WTF$4rn6FYWSQL$4a5SAAa-NH2
878	Ac-WTF$4rn6FYWSQL$4a5SAAa-NH2
879	Ac-WTF$4rn6VYWSQL$4a5AVAaa-NH2
880	Ac-WTF$4rn6VYWSQL$4a5AVAaa-NH2
881	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5AVG-NH2
882	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5AVG-NH2
883	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5AVQ-NH2
884	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5AVQ-NH2
885	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5SAa-NH2
886	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5SAa-NH2
887	Ac-LTF$4rn6AYWAQhL$4a5SAA-NH2
888	Ac-LTF$4rn6AYWAQhL$4a5SAA-NH2
889	Ac-LTF$4rn6AYWEQLStSA$4a5-NH2
890	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5SLA-NH2
891	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5SLA-NH2
892	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5SWA-NH2
893	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5SWA-NH2
894	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5SVS-NH2
895	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5SAS-NH2
896	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5SVG-NH2
897	Ac-ETF$4rn6VYWAQL$4a5SAa-NH2
898	Ac-ETF$4rn6VYWAQL$4a5SAA-NH2
899	Ac-ETF$4rn6VYWAQL$4a5SVA-NH2
900	Ac-ETF$4rn6VYWAQL$4a5SLA-NH2
901	Ac-ETF$4rn6VYWAQL$4a5SWA-NH2

SP-	序列
902	Ac-ETF$4rn6KYWAQL$4a5SWA-NH2
903	Ac-ETF$4rn6VYWAQL$4a5SVS-NH2
904	Ac-ETF$4rn6VYWAQL$4a5SAS-NH2
905	Ac-ETF$4rn6VYWAQL$4a5SVG-NH2
906	Ac-LTF$4rn6VYWAQL$4a5SSa-NH2
907	Ac-ETF$4rn6VYWAQL$4a5SSa-NH2
908	Ac-LTF$4rn6VYWAQL$4a5SNa-NH2
909	Ac-ETF$4rn6VYWAQL$4a5SNa-NH2
910	Ac-LTF$4rn6VYWAQL$4a5SAa-NH2
911	Ac-LTF$4rn6VYWAQL$4a5SVA-NH2
912	Ac-LTF$4rn6VYWAQL$4a5SVA-NH2
913	Ac-LTF$4rn6VYWAQL$4a5SWA-NH2
914	Ac-LTF$4rn6VYWAQL$4a5SVS-NH2
915	Ac-LTF$4rn6VYWAQL$4a5SVS-NH2
916	Ac-LTF$4rn6VYWAQL$4a5SAS-NH2
917	Ac-LTF$4rn6VYWAQL$4a5SAS-NH2
918	Ac-LTF$4rn6VYWAQL$4a5SVG-NH2
919	Ac-LTF$4rn6VYWAQL$4a5SVG-NH2
920	Ac-LTF$4rn6EYWAQCha$4a5SAA-NH2
921	Ac-LTF$4rn6EYWAQCha$4a5SAA-NH2
922	Ac-LTF$4rn6EYWAQCpg$4a5SAA-NH2
923	Ac-LTF$4rn6EYWAQCpg$4a5SAA-NH2
924	Ac-LTF$4rn6EYWAQF$4a5SAA-NH2
925	Ac-LTF$4rn6EYWAQF$4a5SAA-NH2
926	Ac-LTF3Cl$4rn6EYWAQL$4a5SAA-NH2
927	Ac-LTF3Cl$4rn6EYWAQL$4a5SAA-NH2
928	Ac-LTF34F2$4rn6EYWAQL$4a5SAA-NH2
929	Ac-LTF34F2$4rn6EYWAQL$4a5SAA-NH2
930	Ac-LTF34F2$4rn6EYWAQhL$4a5SAA-NH2
931	Ac-LTF34F2$4rn6EYWAQhL$4a5SAA-NH2
932	Ac-ETF$4rn6EYWAQL$4a5SAA-NH2
933	Ac-LTF$4rn6AYWVQL$4a5SAA-NH2
934	Ac-LTF$4rn6AHWAQL$4a5SAA-NH2
935	Ac-LTF$4rn6AEWAQL$4a5SAA-NH2
936	Ac-LTF$4rn6ASWAQL$4a5SAA-NH2
937	Ac-LTF$4rn6AEWAQL$4a5SAA-NH2
938	Ac-LTF$4rn6ASWAQL$4a5SAA-NH2
939	Ac-LTF$4rn6AF4coohWAQL$4a5SAA-NH2
940	Ac-LTF$4rn6AF4coohWAQL$4a5SAA-NH2
941	Ac-LTF$4rn6AHWAQL$4a5AAIa-NH2
942	Ac-ITF$4rn6FYWAQL$4a5AAIa-NH2
943	Ac-ITF$4rn6EHWAQL$4a5AAIa-NH2

SP-	序列
944	Ac-ITF$4rn6EHWAQL$4a5AAIa-NH2
945	Ac-ETF$4rn6EHWAQL$4a5AAIa-NH2
946	Ac-ETF$4rn6EHWAQL$4a5AAIa-NH2
947	Ac-LTF$4rn6AHWVQL$4a5AAIa-NH2
948	Ac-ITF$4rn6FYWVQL$4a5AAIa-NH2
949	Ac-ITF$4rn6EYWVQL$4a5AAIa-NH2
950	Ac-ITF$4rn6EHWVQL$4a5AAIa-NH2
951	Ac-LTF$4rn6AEWAQL$4a5AAIa-NH2
952	Ac-LTF$4rn6AF4coohWAQL$4a5AAIa-NH2
953	Ac-LTF$4rn6AF4coohWAQL$4a5AAIa-NH2
954	Ac-LTF$4rn6AHWAQL$4a5AHFA-NH2
955	Ac-ITF$4rn6FYWAQL$4a5AHFA-NH2
956	Ac-ITF$4rn6FYWAQL$4a5AHFA-NH2
957	Ac-ITF$4rn6FHWAQL$4a5AEFA-NH2
958	Ac-ITF$4rn6FHWAQL$4a5AEFA-NH2
959	Ac-ITF$4rn6EHWAQL$4a5AHFA-NH2
960	Ac-ITF$4rn6EHWAQL$4a5AHFA-NH2
961	Ac-LTF$4rn6AHWVQL$4a5AHFA-NH2
962	Ac-ITF$4rn6FYWVQL$4a5AHFA-NH2
963	Ac-ITF$4rn6EYWVQL$4a5AHFA-NH2
964	Ac-ITF$4rn6EHWVQL$4a5AHFA-NH2
965	Ac-ITF$4rn6EHWVQL$4a5AHFA-NH2
966	Ac-ETF$4rn6EYWAAL$4a5SAA-NH2
967	Ac-LTF$4rn6AYWVAL$4a5SAA-NH2
968	Ac-LTF$4rn6AHWAAL$4a5SAA-NH2
969	Ac-LTF$4rn6AEWAAL$4a5SAA-NH2
970	Ac-LTF$4rn6AEWAAL$4a5SAA-NH2
971	Ac-LTF$4rn6ASWAAL$4a5SAA-NH2
972	Ac-LTF$4rn6ASWAAL$4a5SAA-NH2
973	Ac-LTF$4rn6AYWAAL$4a5AAIa-NH2
974	Ac-LTF$4rn6AYWAAL$4a5AAIa-NH2
975	Ac-LTF$4rn6AYWAAL$4a5AHFA-NH2
976	Ac-LTF$4rn6EHWAQL$4a5AHIa-NH2
977	Ac-LTF$4rn6EHWAQL$4a5AHIa-NH2
978	Ac-LTF$4rn6AHWAQL$4a5AHIa-NH2
979	Ac-LTF$4rn6EYWAQL$4a5AHIa-NH2
980	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5AAFa-NH2
981	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5AAFa-NH2
982	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5AAWa-NH2
983	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5AAVa-NH2
984	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5AAVa-NH2
985	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5AALa-NH2

SP-	序列
986	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5AALa-NH2
987	Ac-LTF$4rn6EYWAQL$4a5AAIa-NH2
988	Ac-LTF$4rn6EYWAQL$4a5AAIa-NH2
989	Ac-LTF$4rn6EYWAQL$4a5AAFa-NH2
990	Ac-LTF$4rn6EYWAQL$4a5AAFa-NH2
991	Ac-LTF$4rn6EYWAQL$4a5AAVa-NH2
992	Ac-LTF$4rn6EYWAQL$4a5AAVa-NH2
993	Ac-LTF$4rn6EHWAQL$4a5AAIa-NH2
994	Ac-LTF$4rn6EHWAQL$4a5AAIa-NH2
995	Ac-LTF$4rn6EHWAQL$4a5AAWa-NH2
996	Ac-LTF$4rn6EHWAQL$4a5AAWa-NH2
997	Ac-LTF$4rn6EHWAQL$4a5AALa-NH2
998	Ac-LTF$4rn6EHWAQL$4a5AALa-NH2
999	Ac-ETF$4rn6EHWVQL$4a5AALa-NH2
1000	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5AAAa-NH2
1001	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5AAAa-NH2
1002	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5AAAibA-NH2
1003	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5AAAibA-NH2
1004	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5AAAAa-NH2
1005	Ac-LTF$r5AYWAQL$4a5s8AAIa-NH2
1006	Ac-LTF$r5AYWAQL$4a5s8SAA-NH2
1007	Ac-LTF$4rn6AYWAQCba$4a5AANleA-NH2
1008	Ac-ETF$4rn6AYWAQCba$4a5AANleA-NH2
1009	Ac-LTF$4rn6EYWAQCba$4a5AANleA-NH2
1010	Ac-LTF$4rn6AYWAQCba$4a5AWNleA-NH2
1011	Ac-ETF$4rn6AYWAQCba$4a5AWNleA-NH2
1012	Ac-LTF$4rn6EYWAQCba$4a5AWNleA-NH2
1013	Ac-LTF$4rn6EYWAQCba$4a5SAFA-NH2
1014	Ac-LTF34F2$4rn6EYWAQCba$4a5SANleA-NH2
1015	Ac-LTF$4rn6EF4coohWAQCba$4a5SANleA-NH2
1016	Ac-LTF$4rn6EYWSQCba$4a5SANleA-NH2
1017	Ac-LTF$4rn6EYWWQCba$4a5SANleA-NH2
1018	Ac-LTF$4rn6EYWAQCba$4a5AAIa-NH2
1019	Ac-LTF34F2$4rn6EYWAQCba$4a5AAIa-NH2
1020	Ac-LTF$4rn6EF4coohWAQCba$4a5AAIa-NH2
1021	Pam-ETF$4rn6EYWAQCba$4a5SAA-NH2
1022	Ac-LThF$4rn6EFWAQCba$4a5SAA-NH2
1023	Ac-LTF$4rn6EYAAQCba$4a5SAA-NH2
1024	Ac-LTF$4rn6EY2NalAQCba$4a5SAA-NH2
1025	Ac-LTF$4rn6AYWAQCba$4a5SAA-NH2
1026	Ac-LTF$4rn6EYWAQCba$4a5SAF-NH2
1027	Ac-LTF$4rn6EYWAQCba$4a5SAFa-NH2

SP-	序列
1028	Ac-LTF$4rn6AYWAQCba$4a5SAF-NH2
1029	Ac-LTF34F2$4rn6AYWAQCba$4a5SAF-NH2
1030	Ac-LTF$4rn6AF4coohWAQCba$4a5SAF-NH2
1031	Ac-LTF$4rn6EY6clWAQCba$4a5SAF-NH2
1032	Ac-LTF$4rn6AYWSQCba$4a5SAF-NH2
1033	Ac-LTF$4rn6AYWWQCba$4a5SAF-NH2
1034	Ac-LTF$4rn6AYWAQCba$4a5AAIa-NH2
1035	Ac-LTF34F2$4rn6AYWAQCba$4a5AAIa-NH2
1036	Ac-LTF$4rn6AY6clWAQCba$4a5AAIa-NH2
1037	Ac-LTF$4rn6AF4coohWAQCba$4a5AAIa-NH2
1038	Ac-LTF$4rn6EYWAQCba$4a5AAFa-NH2
1039	Ac-LTF$4rn6EYWAQCba$4a5AAFa-NH2
1040	Ac-ETF$4rn6AYWAQCba$4a5AWNlea-NH2
1041	Ac-LTF$4rn6EYWAQCba$4a5AWNlea-NH2
1042	Ac-ETF$4rn6EYWAQCba$4a5AWNlea-NH2
1043	Ac-ETF$4rn6EYWAQCba$4a5AWNlea-NH2
1044	Ac-LTF$4rn6AYWAQCba$4a5SAFa-NH2
1045	Ac-LTF$4rn6AYWAQCba$4a5SAFa-NH2
1046	Ac-ETF$4rn6AYWAQL$4a5AWNlea-NH2
1047	Ac-LTF$4rn6EYWAQL$4a5AWNlea-NH2
1048	Ac-ETF$4rn6EYWAQL$4a5AWNlea-NH2
1049	Dmaac-LTF$4rn6EYWAQhL$4a5SAA-NH2
1050	Hexac-LTF$4rn6EYWAQhL$4a5SAA-NH2
1051	Napac-LTF$4rn6EYWAQhL$4a5SAA-NH2
1052	Decac-LTF$4rn6EYWAQhL$4a5SAA-NH2
1053	Admac-LTF$4rn6EYWAQhL$4a5SAA-NH2
1054	Tmac-LTF$4rn6EYWAQhL$4a5SAA-NH2
1055	Pam-LTF$4rn6EYWAQhL$4a5SAA-NH2
1056	Ac-LTF$4rn6AYWAQCba$4a5AANleA-NH2
1057	Ac-LTF34F2$4rn6EYWAQCba$4a5AAIa-NH2
1058	Ac-LTF34F2$4rn6EYWAQCba$4a5SAA-NH2
1059	Ac-LTF34F2$4rn6EYWAQCba$4a5SAA-NH2
1060	Ac-LTF$4rn6EF4coohWAQCba$4a5SAA-NH2
1061	Ac-LTF$4rn6EF4coohWAQCba$4a5SAA-NH2
1062	Ac-LTF$4rn6EYWSQCba$4a5SAA-NH2
1063	Ac-LTF$4rn6EYWSQCba$4a5SAA-NH2
1064	Ac-LTF$4rn6EYWAQhL$4a5SAA-NH2
1065	Ac-LTF$4rn6AYWAQhL$4a5SAF-NH2
1066	Ac-LTF$4rn6AYWAQhL$4a5SAF-NH2
1067	Ac-LTF34F2$4rn6AYWAQhL$4a5SAA-NH2
1068	Ac-LTF34F2$4rn6AYWAQhL$4a5SAA-NH2
1069	Ac-LTF$4rn6AF4coohWAQhL$4a5SAA-NH2

SP-	序列
1070	Ac-LTF$4rn6AF4coohWAQhL$4a5SAA-NH2
1071	Ac-LTF$4rn6AYWSQhL$4a5SAA-NH2
1072	Ac-LTF$4rn6AYWSQhL$4a5SAA-NH2
1073	Ac-LTF$4rn6EYWAQL$4a5AANleA-NH2
1074	Ac-LTF34F2$4rn6AYWAQL$4a5AANleA-NH2
1075	Ac-LTF$4rn6AF4coohWAQL$4a5AANleA-NH2
1076	Ac-LTF$4rn6AYWSQL$4a5AANleA-NH2
1077	Ac-LTF34F2$4rn6AYWAQhL$4a5AANleA-NH2
1078	Ac-LTF34F2$4rn6AYWAQhL$4a5AANleA-NH2
1079	Ac-LTF$4rn6AF4coohWAQhL$4a5AANleA-NH2
1080	Ac-LTF$4rn6AF4coohWAQhL$4a5AANleA-NH2
1081	Ac-LTF$4rn6AYWSQhL$4a5AANleA-NH2
1082	Ac-LTF$4rn6AYWSQhL$4a5AANleA-NH2
1083	Ac-LTF$4rn6AYWAQhL$4a5AAAAa-NH2
1084	Ac-LTF$4rn6AYWAQhL$4a5AAAAa-NH2
1085	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5AAAAAAa-NH2
1086	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5AAAAAAa-NH2
1087	Ac-LTF$4rn6EYWAQhL$4a5AANleA-NH2
1088	Ac-AATF$4rn6AYWAQL$4a5AANleA-NH2
1089	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5AANleAA-NH2
1090	Ac-ALTF$4rn6AYWAQL$4a5AANleAA-NH2
1091	Ac-LTF$4rn6AYWAQCba$4a5AANleAA-NH2
1092	Ac-LTF$4rn6AYWAQhL$4a5AANleAA-NH2
1093	Ac-LTF$4rn6EYWAQCba$4a5SAAA-NH2
1094	Ac-LTF$4rn6EYWAQCba$4a5SAAA-NH2
1095	Ac-LTF$4rn6EYWAQCba$4a5SAAAA-NH2
1096	Ac-LTF$4rn6EYWAQCba$4a5SAAAA-NH2
1097	Ac-ALTF$4rn6EYWAQCba$4a5SAA-NH2
1098	Ac-ALTF$4rn6EYWAQCba$4a5SAAA-NH2
1099	Ac-ALTF$4rn6EYWAQCba$4a5SAA-NH2
1100	Ac-LTF$4rn6EY6clWAQCba$4a5SAA-NH2
1101	Ac-LTF$4rn6EF4cooh6clWAQCba$4a5SANleA-NH2
1102	Ac-LTF$4rn6EF4cooh6clWAQCba$4a5SANleA-NH2
1103	Ac-LTF$4rn6EF4cooh6clWAQCba$4a5AAIa-NH2
1104	Ac-LTF$4rn6EF4cooh6clWAQCba$4a5AAIa-NH2
1105	Ac-LTF$4rn6AY6clWAQL$4a5AAAAAa-NH2
1106	Ac-LTF$4rn6AY6clWAQL$4a5AAAAAa-NH2
1107	Ac-F$4rn6AY6clWEAL$4a5AAAAAAa-NH2
1108	Ac-ETF$4rn6EYWAQL$4a5AAAAAa-NH2
1109	Ac-ETF$4rn6EYWAQL$4a5AAAAAa-NH2
1110	Ac-LTF$4rn6EYWAQL$4a5AAAAAAa-NH2
1111	Ac-LTF$4rn6EYWAQL$4a5AAAAAAa-NH2

SP-	序列
1112	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5AANleAAa-NH2
1113	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5AANleAAa-NH2
1114	Ac-LTF$4rn6EYWAQCba$4a5AAAAAa-NH2
1115	Ac-LTF$4rn6EYWAQCba$4a5AAAAAa-NH2
1116	Ac-LTF$4rn6EF4coohWAQCba$4a5AAAAAa-NH2
1117	Ac-LTF$4rn6EF4coohWAQCba$4a5AAAAAa-NH2
1118	Ac-LTF$4rn6EYWSQCba$4a5AAAAAa-NH2
1119	Ac-LTF$4rn6EYWSQCba$4a5AAAAAa-NH2
1120	Ac-LTF$4rn6EYWAQCba$4a5SAAa-NH2
1121	Ac-LTF$4rn6EYWAQCba$4a5SAAa-NH2
1122	Ac-ALTF$4rn6EYWAQCba$4a5SAAa-NH2
1123	Ac-ALTF$4rn6EYWAQCba$4a5SAAa-NH2
1124	Ac-ALTF$4rn6EYWAQCba$4a5SAAAa-NH2
1125	Ac-ALTF$4rn6EYWAQCba$4a5SAAAa-NH2
1126	Ac-AALTF$4rn6EYWAQCba$4a5SAAAa-NH2
1127	Ac-AALTF$4rn6EYWAQCba$4a5SAAAa-NH2
1128	Ac-RTF$4rn6EYWAQCba$4a5SAA-NH2
1129	Ac-LRF$4rn6EYWAQCba$4a5SAA-NH2
1130	Ac-LTF$4rn6EYWRQCba$4a5SAA-NH2
1131	Ac-LTF$4rn6EYWARCba$4a5SAA-NH2
1132	Ac-LTF$4rn6EYWAQCba$4a5RAA-NH2
1133	Ac-LTF$4rn6EYWAQCba$4a5SRA-NH2
1134	Ac-LTF$4rn6EYWAQCba$4a5SAR-NH2
1135	5-FAM-BaLTF$4rn6AYWAQL$4a5AANleA-NH2
1136	Ac-LAF$4rn6EYWAQL$4a5AANleA-NH2
1137	Ac-ATF$4rn6EYWAQL$4a5AANleA-NH2
1138	Ac-AAF$4rn6EYWAQL$4a5AANleA-NH2
1139	Ac-AAAF$4rn6EYWAQL$4a5AANleA-NH2
1140	Ac-AAAAF$4rn6EYWAQL$4a5AANleA-NH2
1141	Ac-AATF$4rn6EYWAQL$4a5AANleA-NH2
1142	Ac-AALTF$4rn6EYWAQL$4a5AANleA-NH2
1143	Ac-AAALTF$4rn6EYWAQL$4a5AANleA-NH2
1144	Ac-LTF$4rn6EYWAQL$4a5AANleAA-NH2
1145	Ac-ALTF$4rn6EYWAQL$4a5AANleAA-NH2
1146	Ac-AALTF$4rn6EYWAQL$4a5AANleAA-NH2
1147	Ac-LTF$4rn6EYWAQCba$4a5AANleAA-NH2
1148	Ac-LTF$4rn6EYWAQhL$4a5AANleAA-NH2
1149	Ac-ALTF$4rn6EYWAQhL$4a5AANleAA-NH2
1150	Ac-LTF$4rn6ANmYWAQL$4a5AANleA-NH2
1151	Ac-LTF$4rn6ANmYWAQL$4a5AANleA-NH2
1152	Ac-LTF$4rn6AYNmWAQL$4a5AANleA-NH2
1153	Ac-LTF$4rn6AYNmWAQL$4a5AANleA-NH2

SP-	序列
1154	Ac-LTF$4rn6AYAmwAQL$4a5AANleA-NH2
1155	Ac-LTF$4rn6AYAmwAQL$4a5AANleA-NH2
1156	Ac-LTF$4rn6AYWAibQL$4a5AANleA-NH2
1157	Ac-LTF$4rn6AYWAibQL$4a5AANleA-NH2
1158	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5AAibNleA-NH2
1159	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5AAibNleA-NH2
1160	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5ASarNleA-NH2
1161	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5ASarNleA-NH2
1162	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5AANleAib-NH2
1163	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5AANleAib-NH2
1164	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5AANleNmA-NH2
1165	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5AANleNmA-NH2
1166	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5AANleSar-NH2
1167	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5AANleSar-NH2
1168	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5AANleAAib-NH2
1169	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5AANleAAib-NH2
1170	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5AANleANmA-NH2
1171	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5AANleANmA-NH2
1172	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5AANleAa-NH2
1173	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5AANleAa-NH2
1174	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5AANleASar-NH2
1175	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5AANleASar-NH2
1176	Ac-LTF$4rn6Cou4YWAQL$4a5AANleA-NH2
1177	Ac-LTF$4rn6Cou4YWAQL$4a5AANleA-NH2
1178	Ac-LTF$4rn6AYWCou4QL$4a5AANleA-NH2
1179	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5Cou4ANleA-NH2
1180	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5Cou4ANleA-NH2
1181	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5ACou4NleA-NH2
1182	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5ACou4NleA-NH2
1183	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5AANleA-OH
1184	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5AANleA-OH
1185	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5AANleA-NHnPr
1186	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5AANleA-NHnPr
1187	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5AANleA-NHnBu33Me
1188	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5AANleA-NHnBu33Me
1189	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5AANleA-NHHex
1190	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5AANleA-NHHex
1191	Ac-LTA$4rn6AYWAQL$4a5AANleA-NH2
1192	Ac-LThL$4rn6AYWAQL$4a5AANleA-NH2
1193	Ac-LTF$4rn6AYAAQL$4a5AANleA-NH2
1194	Ac-LTF$4rn6AY2NalAQL$4a5AANleA-NH2
1195	Ac-LTF$4rn6EYWCou4QCba$4a5SAA-NH2

SP-	序列
1196	Ac-LTF$4rn6EYWCou7QCba$4a5SAA-NH2
1197	Dmaac-LTF$4rn6EYWAQCba$4a5SAA-NH2
1198	Dmaac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5AAAAAa-NH2
1199	Dmaac-LTF$4rn6EYWAQL$4a5AAAAAa-NH2
1200	Dmaac-LTF$4rn6EF4coohWAQCba$4a5AAIa-NH2
1201	Dmaac-LTF$4rn6EF4coohWAQCba$4a5AAIa-NH2
1202	Dmaac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5AANleA-NH2
1203	Cou6BaLTF$4rn6EYWAQhL$4a5SAA-NH2
1204	Cou8BaLTF$4rn6EYWAQhL$4a5SAA-NH2
1205	Ac-LTF4I$4rn6EYWAQL$4a5AAAAAa-NH2

表3A

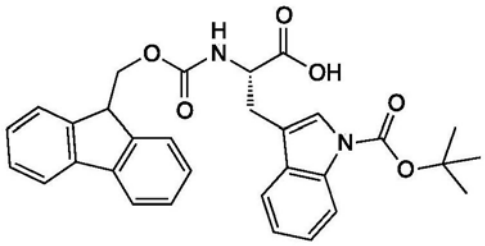
SP	序列	准确质量	实测质量	计算(M+1)/1	计算(M+2)/2	计算(M+3)/3
1206	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5AANleA-NH2	1812.01	907.89	1813.02	907.01	605.01
1207	Ac-LTF$4rn6AYWAQL$4a5AAAAAa-NH2	1912.04	957.75	1913.05	957.03	638.35
1208	Ac-LTF$4rn6EYWAQL$4a5AAAAAa-NH2	1970.04	986.43	1971.05	986.03	657.69
1209	Ac-LTF$5rn6AYWAQL$5a5AAAAAa-NH2	1912.04	957.38	1913.05	957.03	638.35
1210	Ac-LTF$4rn6EYWAQCba$4a5SAA-NH2	1784.93	894.38	1785.94	893.47	595.98
1211	Ac-LTF$4rn4EYWAQCba$4a5SAA-NH2	1756.89	880.05	1757.9	879.45	586.64
1212	Ac-LTF$4rn5EYWAQCba$4a5SAA-NH2	1770.91	887.08	1771.92	886.46	591.31
1213	Ac-LTF$5rn6EYWAQCba$5a5SAA-NH2	1784.92	894.11	1785.93	893.47	595.98
1214	Ac-LTF$4rn6EYWAQCba5I-$4a5SAA-NH2	1910.82	957.01	1911.83	956.42	637.95

SP	序列	准确质量	实测质量	计算(M+1)/1	计算(M+2)/2	计算(M+3)/3
1215	Ac-LTA$5rn6EYWAQCba$5a5SAA-NH2	1708.89	856	1709.9	855.45	570.64
1216	Ac-LTA$4rn6EYWAQCba$4a5SAA-NH2	1708.89	856	1709.9	855.45	570.64
1217	5-FAM-BaLTF$4rn6EYWAQCba$4a5SAA-NH2	2172	1087.81	2173.01	1087.01	725.01
1218	5-FAM-BaLTA$4rn6EYWAQCba$4a5SAA-NH2	2095.97	1049.79	2096.98	1048.99	699.66
1219	5-FAM-BaLTF$5rn6EYWAQCba$5a5SAA-NH2	2172	1087.53	2173.01	1087.01	725.01
1220	5-FAM-BaLTA$5rn6EYWAQCba$5a5SAA-NH2	2095.97	1049.98	2096.98	1048.99	699.66
1221	Ac-LTF$4rn6EYWAQCba5Ph-$4a5SAA-NH2	1675.87	932.31	1676.88	931.48	559.63
1222	Ac-LTF$4rn6EYWAQCba5Prp-$4a5SAA-NH2	1675.87	914.46	1676.88	913.48	559.63
1223	Ac-LTF$4rn6AYWAAL$4a5AAAAAa-NH2	1855.01		1856.02	928.51	619.34
1224	Ac-LTF$4rn6EYWAQCba5penNH2-$4a5SAA-NH2	1675.87		1676.88	838.94	559.63
1225	Ac-LTF$4rn6EYWAQCba5BnzNH2-$4a5SAA-NH2	1675.87		1676.88	838.94	559.63
1226	Ac-LTF$4rn6EYWAQCba5prpOMe-$4a5SAA-NH2		929.17		928.48	
1227	Ac-LTF$5rn6EYWAQL4Me$5a5AAAAAa-NH2	1926.05		1927.06	964.03	643.02
1228	Ac-LTF$5rn6EYWAQL4Ph$5a5AAAAAa-NH2	1988.07		1989.07	995.04	663.70
1229	Ac-	1740.93		1741.94	871.48	581.32

SP	序列	准确质量	实测质量	计算(M+1)/1	计算(M+2)/2	计算(M+3)/3
	LTF$5rn6EYWAQCba4Me$5a5SAANH2					
1230	Ac-LTF$5rn6EYWAQCba4Ph$5a5SAANH2	1802.95		1803.96	902.48	601.99

实施例4:使用Boc保护的氨基酸制备拟肽大环化合物

[0405] 制备包含在第“i”位的R8氨基酸和在第“i+7”位的S5氨基酸的拟肽大环化合物的前体。在第“i+3”位的氨基酸为在固相合成中被合并的Boc保护的色氨酸。具体而言,在固相合成中使用如下所示的Boc保护的色氨酸:



[0406] 在进行切割和脱保护步骤之前,使用钌催化剂进行复分解反应。通过HPLC分析确定环化后得到的组合物,发现其主要含有具有包含反式烯烃(“iso2”,包含在E构型中的双键)的交联体的初级拟肽大环化合物。出乎意料的是,分别观察到比例为90:10的反式和顺式产物。

实施例5:使用Boc保护的氨基酸制备拟肽大环化合物

[0407] 首先将拟肽大环化合物溶解于纯的N,N-二甲基乙酰胺(DMA)中以制备在20-140mg/mL的浓度范围的20X储备溶液。将DMA储备溶液在含有2%Solutol-HS-15、25mM组氨酸和45mg/mL甘露醇的水性媒介物中稀释20倍,以获得拟肽大环化合物在5%DMA、2%Solutol-HS-15、25mM组氨酸和45mg/mL甘露醇中的1-7mg/ml的终浓度。通过反复移液或轻轻涡旋将终溶液轻轻地混合,然后在室温下将终溶液在超声波水浴中超声处理10分钟。使用7x目视放大器在通风橱中进行仔细的目视观察,以确定沉淀物是否在烧瓶底部上或作为悬浮物存在。根据需要检测另外的浓度范围,以确定每种拟肽大环化合物的最大溶解度极限。

实施例6:与MDMX复合的拟肽大环化合物的X射线共晶学

[0408] 对于与肽46(表2b)的共结晶,将来自在DMSO中的100mM储备溶液的化学计算量的化合物加入到斑马鱼MDMX蛋白质溶液中。在建立结晶实验前,将该溶液在4℃下静置过夜。使用pET15b载体从大肠杆菌BL21(DE3)表达系统中获得蛋白质(残基15-129,L46V/V95L)。使细胞在37℃下生长并用1mM IPTG以0.7细胞的OD_{600}进行诱导以使细胞在23℃下再生长18小时。使用Ni-NT琼脂糖随后使用以50mM $NaPO_4$、pH 8.0、150mM NaCl和2mM TCEP缓冲的Superdex 75纯化蛋白质,并浓缩至24mg/ml。将缓冲液更换为20mM Tris(pH 8.0),50mM NaCl和2mM DTT用于结晶实验。采用Nextal AMS筛#94得到初始晶体,且最终优化的储液为2.6M AMS,75mM的Hepes,pH 7.5。晶体在4℃下按常规作为薄片生长,并通过含有浓缩的

(3.4M)丙二酸酯牵引晶体进行冷沉淀保护,然后骤冷,储存,并在液氮中装运。

[0409] 在APS,在100°K且波长0.97929Å的光束线31-ID(SGX-CAT)下进行数据收集。光束线配备有Rayonix 225-HE探测器。对于数据收集,采用0.8秒的曝光时间使晶体以1°的增量在整个180°进行旋转。使用Mosflm/scala(CCP4)以空间群C2(晶胞:a=109.2786,b=81.0836,C=30.9058Å,α=90,β=89.8577,γ=90°)对数据进行处理并缩减。采用程序Molrep(CCP4)的分子置换通过采用结构的MDMX分量进行,并在非对称单元中鉴别了两个分子。采用程序Refmac仅对斑马鱼MDMX的两个分子进行初始精炼(CCP4)产生0.3424的R-因子(Rfree=0.3712)和键的rmsd值(0.018 Å)和角度(1.698°)。对于从Gln19开始且包括整个脂肪族钉(staple)的钉合肽成分的电子密度是非常明确的。使用CNX及数据进一步细化为2.3Å的分辨率产生了被很好地精炼(Rf=0.2601,Rfree=0.3162,rmsd 键= 0.007 Å及rmsd角=0.916°)的模型(由来自MDMX的1448个原子、来自钉合肽的272个原子和46个水分子组成)。

实施例7:α-螺旋度的圆二色性(CD)分析

[0410] 使用分光偏振计通过CD光谱法分析肽溶液。使用温度控制器保持对光单元的温度控制。结果表示为从公式[θ]=θobs·MRW/10*l*c计算得到的平均摩尔椭圆度[θ](deg cm2 dmol-1),在该公式中,θobs为观察到的以毫度为单位的椭圆度,MRW为肽的平均残基重量(肽的分子量/残基数),l为以厘米为单位的单元的光程长度,c为以mg/ml为单位的肽浓度。通过氨基酸分析确定肽浓度。在温和CD缓冲液(20mM磷酸,pH 2)中制备肽的储备溶液。使用该储备溶液在温和CD缓冲液或含有50%三氟乙醇(TFE)的CD缓冲液中制备0.05mg/ml的肽溶液,以用于在10mm光程单元中的分析。在4℃下,从195至250nm,以0.2nm的增量以及每分钟50nm的扫描速度扫描肽溶液的可变波长测量值。报告了六次扫描的平均值。

[0411] 表4显示了针对选定的拟肽大环化合物的CD数据:

表4

SP#	摩尔椭圆度良性(222 于 0%TFE)	摩尔椭圆度 50%TFE (222 于 50%TFE)	摩尔椭圆度 TFE - 摩尔椭圆度良性	%螺旋 50% TFE, 相比于 50%TFE 亲本 (CD)	%螺旋良性, 相比于 50%TFE 亲本 (CD)
7	124	-19921.4	-20045.4	137.3	-0.9
11	-398.2	-16623.4	16225.2	106.1	2.5
41	-909	-21319.4	20410.4	136	5.8
43	-15334.5	-18247.4	2912.9	116.4	97.8
69	-102.6	-21509.7	-21407.1	148.2	0.7
71	-121.2	-17957	-17835.9	123.7	0.8
154	-916.2	-30965.1	-30048.9	213.4	6.3
230	-213.2	-17974	-17760.8	123.9	1.5
233	-477.9	-19032.6	-18554.7	131.2	3.3

[0412] 实施例8:利用荧光偏振(FP)对MDM2的直接结合测定

[0413] 该测定按照以下通用方案进行:

1.将MDM2(内部,41kD)稀释到FP缓冲液(高盐缓冲液-200mM NaCl,5mM CHAPS,pH 7.5)中,从而制备10μM工作储备溶液。

2.将30μl 10μM蛋白质储备溶液添加到96孔黑色HE微孔板(Molecular Devices)的A1和B1孔中。

3.将30μl FP缓冲液填充到第A2至A12、B2至B12、C1至C12和D1至D12列中。

4.蛋白质储备溶液从A1、B1经2或3倍系列稀释至A2、B2;A2、B2稀释至A3、B3;...在最后一个稀释点达到个位数的nM浓度。

5.用DMSO将1mM(在100％DMSO中)FAM标记的线性肽稀释到100μM(1:10稀释)。然后,用水从100μM稀释到10μM(1:10稀释),然后用FP缓冲液从10μM稀释到40nM(1:250稀释)。这即为工作溶液,其在孔中是10nM浓度(1:4稀释)。将稀释的FAM标记的肽保持在暗处,直至使用。

6.将10μl 10nMFAM标记的肽添加到各孔中并孵育,并在不同时间点读数。5-FAM-BaLTFEHYWAQLTS-NH_2(SEQ ID NO:1947)的K_D约为13.38nM。

实施例9:对MDM2的竞争性荧光偏振测定

[0414] 将MDM2(41kD)稀释到FP缓冲液(高盐缓冲液-200mM NaCl,5mM CHAPS,pH 7.5)中,以制备84nM(2X)工作储备溶液。将20μl 84nM(2X)蛋白质储备溶液添加到96孔黑色微孔板的各孔中。用DMSO将1mM(在100％DMSO中的)FAM标记的线性肽稀释到100μM(1:10稀释)。然后,用水从100μM进一步稀释到10μM(1:10稀释),并再次用FP缓冲液从10μM稀释到40nM(1:250稀释)。所得工作溶液在各孔中产生10nM浓度(1:4稀释)。将稀释的FAM标记的肽保持在暗处直至使用。

[0415] 从1μM(终浓度)肽开始,用FP缓冲液制备未标记的肽剂量板。使用以下稀释方案为6个点进行5倍系列稀释。用DMSO将10mM溶液(在100％DMSO中)稀释到5mM(1:2稀释);用H_2O从5mM稀释到500μM(1:10稀释);并用FP缓冲液从500μM稀释到20μM(1:25稀释)。从4μM(4X)为6个点进行5倍系列稀释。将10μl系列稀释的未标记的肽转移到充填有20μl 84nM蛋白质的各孔中。将10μl 10nM(4X)FAM标记的肽添加到各孔中,并在读取前将孔孵育3h。

实施例10:利用荧光偏振(FP)对MDMX的直接结合测定

[0416] 将MDMX(40kD)稀释到FP缓冲液(高盐缓冲液-200mM NaCl,5mM CHAPS,pH 7.5)中,以制备10μM工作储备溶液。将30μl 10μM蛋白质储备溶液添加到96孔黑色微孔的A1和B1孔中。将30μl FP缓冲液填充到第A2至A12、B2至B12、C1至C12和D1至D12列中。通过从A1、B1到A2、B2;A2、B2到A3、B3;...在最后一个稀释点达到个位数的nM浓度,创建蛋白质储备溶液的2或3倍系列稀释。用DMSO将1mM(在100％DMSO中的)FAM标记的线性肽稀释到100μM(1:10稀释)。用水将所得溶液从100μM稀释到10μM(1:10稀释),并再次用FP缓冲液从10μM稀释到40nM(1:250稀释)。该工作溶液在各孔中产生10nM浓度(1:4稀释)。将FAM标记的肽保持在暗处直至使用。将10μl 10nMFAM标记的肽添加到各孔中,将板孵育,并在不同时间点读取。5-FAM-BaLTFEHYWAQLTS-NH_2(SEQ ID NO:1947)的K_D约为51nM。

实施例11:对MDMX的竞争性荧光偏振测定

[0417] 将MDMX(40kD)稀释到FP缓冲液(高盐缓冲液-200mM NaCl,5mM CHAPS,pH 7.5)中,以制备300nM(2X)工作储备溶液。将20μl 300nM(2X)蛋白质储备溶液添加到96孔黑色微孔板的各孔中。用DMSO将1mM(在100％DMSO中的)FAM标记的线性肽稀释到100μM的浓度(1:10稀释)。将溶液用水从100μM稀释到10μM(1:10稀释),并用FP缓冲液从10μM进一步稀释到40nM(1:250稀释)。最终工作溶液产生每孔10nM的浓度(1:4稀释)。将稀释的FAM标记的肽

保持在暗处直至使用。从5μM(终浓度)肽开始,用FP缓冲液准备未标记的肽剂量板。使用以下稀释方案为6个点准备5倍系列稀释。用DMSO稀释10mM(在100%DMSO中的)溶液,以制备5mM(1:2稀释)溶液。将溶液用H_2O从5mM稀释到500μM(1:10稀释),并用FP缓冲液从500μM进一步稀释到20μM(1:25稀释)。从20μM(4X)为6个点准备5倍系列稀释。将10μl系列稀释的未标记的肽转移到填充有20μl 300nM蛋白质溶液的各孔中。将10μl 10nM(4X)FAM标记的肽添加到各孔中,并在读取前孵育3h。

[0418] 实施例8至实施例11的结果在表5中示出。使用下列标度:"+"表示大于1000nM的值,"++"表示大于100nM且小于或等于1000nM的值,"+++"表示大于10nM且小于或等于100nM的值,而"++++"表示小于或等于10nM的值。

表5

SP#	IC_{50} (MDM2)	IC_{50} (MDMX)	Ki (MDM2)	Ki (MDMX)
3	++	++	+++	+++
4	+++	++	++++	+++
5	+++	++	++++	+++
6	++	++	+++	+++
7	+++	+++	++++	+++
8	++	++	+++	+++
9	++	++	+++	+++
10	++	++	+++	+++
11	+++	++	++++	+++
12	+	+	+++	++
13	++	++	+++	++
14	+++	+++	++++	++++
15	+++	++	+++	+++
16	+++	+++	++++	+++
17	+++	+++	++++	+++
18	+++	+++	++++	++++
19	++	+++	+++	+++
20	++	++	+++	+++
21	++	+++	+++	+++
22	+++	+++	++++	+++
23	++	++	+++	+++
24	+++	++	++++	+++
26	+++	++	++++	+++
28	+++	+++	++++	+++
30	++	++	+++	+++
32	+++	++	++++	+++
38	+	++	++	+++

SP#	IC_{50} (MDM2)	IC_{50} (MDMX)	Ki (MDM2)	Ki (MDMX)
39	+	++	++	++
40	++	++	++	+++
41	++	+++	+++	+++
42	++	++	+++	++
43	+++	+++	++++	+++
45	+++	+++	++++	++++
46	+++	+++	++++	+++
47	++	++	+++	+++
48	++	++	+++	+++
49	++	++	+++	+++
50	+++	++	++++	+++
52	+++	+++	++++	++++
54	++	++	+++	+++
55	+	+	++	++
65	+++	++	++++	+++
68	++	++	+++	+++
69	+++	++	++++	+++
70	++	++	++++	+++
71	+++	++	++++	+++
75	+++	++	++++	+++
77	+++	++	++++	+++
80	+++	++	++++	+++
81	++	++	+++	+++
82	++	++	+++	+++
85	+++	++	++++	+++
99	++++	++	++++	+++
100	++	++	++++	+++
101	+++	++	++++	+++
102	++	++	++++	+++
103	++	++	++++	+++
104	+++	++	++++	+++
105	+++	++	++++	+++
106	++	++	+++	+++
107	++	++	+++	+++
108	+++	++	++++	+++
109	+++	++	++++	+++
110	++	++	++++	+++
111	++	++	++++	+++
112	++	++	+++	+++
113	++	++	+++	+++
114	+++	++	++++	+++
115	++++	++	++++	+++

SP#	IC_{50} (MDM2)	IC_{50} (MDMX)	Ki (MDM2)	Ki (MDMX)
116	+	+	++	++
118	++++	++	++++	+++
120	+++	++	++++	+++
121	++++	++	++++	+++
122	++++	++	++++	+++
123	++++	++	++++	+++
124	++++	++	++++	+++
125	++++	++	++++	+++
126	++++	++	++++	+++
127	++++	++	++++	+++
128	++++	++	++++	+++
129	++++	++	++++	+++
130	++++	++	++++	+++
133	++++	++	++++	+++
134	++++	++	++++	+++
135	++++	++	++++	+++
136	++++	++	++++	+++
137	++++	++	++++	+++
139	++++	++	++++	+++
142	++++	+++	++++	+++
144	++++	++	++++	+++
146	++++	++	++++	+++
148	++++	++	++++	+++
150	++++	++	++++	+++
153	++++	+++	++++	+++
154	++++	+++	++++	++++
156	++++	++	++++	+++
158	++++	++	++++	+++
160	++++	++	++++	+++
161	++++	++	++++	+++
166	++++	++	++++	+++
167	+++	++	++++	++
169	++++	+++	++++	+++
170	++++	++	++++	+++
173	++++	++	++++	+++
175	++++	++	++++	+++
177	+++	++	++++	+++
180	+++	++	++++	+++
182	++++	++	++++	+++
185	+++	+	++++	++
186	+++	++	++++	+++
189	+++	++	++++	+++

SP#	IC_{50} (MDM2)	IC_{50} (MDMX)	Ki (MDM2)	Ki (MDMX)
192	+++	++	++++	+++
194	+++	++	++++	++
196	+++	++	++++	+++
197	++++	++	++++	+++
199	+++	++	++++	++
201	+++	++	++++	++
203	+++	++	++++	+++
204	+++	++	++++	+++
206	+++	++	++++	+++
207	++++	++	++++	+++
210	++++	++	++++	+++
211	++++	++	++++	+++
213	++++	++	++++	+++
215	+++	++	++++	+++
217	++++	++	++++	+++
218	++++	++	++++	+++
221	++++	+++	++++	+++
227	++++	++	++++	+++
230	++++	+++	++++	++++
232	++++	++	++++	+++
233	++++	+++	++++	+++
236	+++	++	++++	+++
237	+++	++	++++	+++
238	+++	+++	++++	+++
239	+++	++	+++	+++
240	+++	++	++++	+++
241	+++	++	++++	+++
242	+++	++	++++	+++
243	+++	+++	++++	+++
244	+++	+++	++++	++++
245	+++	+++	++++	+++
246	+++	++	++++	+++
247	+++	+++	++++	+++
248	+++	+++	++++	+++
249	+++	+++	++++	++++
250	++	+	++	+
252	++	+	++	+
254	+++	++	++++	+++
255	+++	+++	++++	+++
256	+++	+++	++++	+++
257	+++	+++	++++	+++
258	+++	++	++++	+++

SP#	IC_{50} (MDM2)	IC_{50} (MDMX)	Ki (MDM2)	Ki (MDMX)
259	+++	+++	++++	+++
260	+++	+++	++++	+++
261	+++	++	++++	+++
262	+++	++	++++	+++
263	+++	++	++++	+++
264	+++	+++	++++	+++
266	+++	++	++++	+++
267	+++	+++	++++	++++
270	++++	+++	++++	+++
271	++++	+++	++++	++++
272	++++	+++	++++	++++
276	+++	+++	++++	++++
277	+++	+++	++++	++++
278	+++	+++	++++	++++
279	++++	+++	++++	+++
280	+++	++	++++	+++
281	+++	+	+++	++
282	++	+	+++	+
283	+++	++	+++	++
284	+++	++	++++	+++
289	+++	+++	++++	+++
291	+++	+++	++++	++++
293	++++	+++	++++	+++
306	++++	++	++++	+++
308	++	++	+++	+++
310	+++	+++	++++	+++
312	+++	++	+++	+++
313	++++	++	++++	+++
314	++++	+++	++++	++++
315	+++	+++	++++	+++
316	++++	++	++++	+++
317	+++	++	+++	+++
318	+++	++	+++	+++
319	+++	++	+++	++
320	+++	++	+++	++
321	+++	++	++++	+++
322	+++	++	+++	++
323	+++	+	+++	++
328	+++	+++	++++	+++
329	+++	+++	++++	+++
331	++++	+++	++++	++++
332	++++	+++	++++	++++

SP#	IC_{50} (MDM2)	IC_{50} (MDMX)	Ki (MDM2)	Ki (MDMX)
334	++++	+++	++++	++++
336	++++	+++	++++	++++
339	++++	++	++++	+++
341	+++	+++	++++	++++
343	+++	+++	++++	++++
347	+++	+++	++++	+++
349	++++	+++	++++	++++
351	++++	+++	++++	++++
353	++++	+++	++++	++++
355	++++	+++	++++	++++
357	++++	+++	++++	++++
359	++++	+++	++++	+++
360	++++	++++	++++	++++
363	+++	+++	++++	++++
364	+++	+++	++++	++++
365	+++	+++	++++	++++
366	+++	+++	++++	+++
369	++	++	+++	+++
370	+++	+++	++++	+++
371	++	++	+++	+++
372	++	++	+++	+++
373	+++	+++	+++	+++
374	+++	+++	++++	++++
375	+++	+++	++++	++++
376	+++	+++	++++	++++
377	+++	+++	++++	+++
378	+++	+++	++++	+++
379	+++	+++	++++	+++
380	+++	+++	++++	+++
381	+++	+++	++++	+++
382	+++	+++	++++	++++
384	++	+	++	+
386	++	+	++	+
388	++	+++	+++	++++
390	+++	+++	++++	+++
392	+++	+++	++++	++++
394	++++	+++	++++	++++
396	++++	++++	++++	++++
398	+++	+++	++++	+++
402	++++	++++	++++	++++
404	+++	+++	++++	++++
408	+++	+++	++++	+++

SP#	IC_{50} (MDM2)	IC_{50} (MDMX)	Ki (MDM2)	Ki (MDMX)
410	++++	++++	++++	++++
411	++	+	++	+
412	++++	+++	++++	++++
415	++++	++++	++++	++++
416	+++	+++	++++	+++
417	+++	+++	++++	+++
418	++++	+++	++++	++++
419	+++	+++	+++	++++
421	++++	++++	++++	++++
423	+++	+++	++++	+++
425	+++	+++	+++	+++
427	++	++	+++	+++
432	++++	+++	++++	++++
434	+++	+++	++++	+++
435	++++	+++	++++	++++
437	+++	+++	++++	+++
439	++++	+++	++++	++++
441	++++	++++	++++	++++
443	+++	+++	++++	+++
445	+++	++	++++	+++
446	+++	+	++++	+
447	++	+	++	+
551	N/A	N/A	++++	+++
555	N/A	N/A	++++	+++
556	N/A	N/A	++++	+++
557	N/A	N/A	+++	+++
558	N/A	N/A	+++	+++
559	N/A	N/A	+++	+++
560	N/A	N/A	+	+
561	N/A	N/A	++++	+++
562	N/A	N/A	+++	+++
563	N/A	N/A	+++	+++
564	N/A	N/A	++++	+++
565	N/A	N/A	+++	+++
566	N/A	N/A	++++	+++
567	N/A	N/A	++++	+++
568	N/A	N/A	++++	++++
569	N/A	N/A	++++	+++
570	N/A	N/A	++++	+++
571	N/A	N/A	++++	+++
572	N/A	N/A	+++	+++
573	N/A	N/A	+++	+++

SP#	IC_{50} (MDM2)	IC_{50} (MDMX)	Ki (MDM2)	Ki (MDMX)
574	N/A	N/A	++++	+++
575	N/A	N/A	++++	+++
576	N/A	N/A	++++	+++
577	N/A	N/A	++++	+++
578	N/A	N/A	++++	+++
585	N/A	N/A	+++	+++
586	N/A	N/A	++++	+++
587	N/A	N/A	++++	++++
589	N/A	N/A	++++	
594	N/A	N/A	++++	++++
596	N/A	N/A	++++	+++
597	N/A	N/A	++++	+++
598	N/A	N/A	++++	+++
600	N/A	N/A	++++	++++
602	N/A	N/A	++++	++++
603	N/A	N/A	++++	++++
604	N/A	N/A	+++	+++
608	N/A	N/A	++++	+++
609	N/A	N/A	++++	+++
610	N/A	N/A	++++	+++
611	N/A	N/A	++++	+++
612	N/A	N/A	++++	+++
613	N/A	N/A	++++	+++
615	N/A	N/A	++++	++++
433	N/A	N/A	++++	+++
686	N/A	N/A	++++	+++
687	N/A	N/A	++	++
595	N/A	N/A	+	N/A
665	N/A	N/A	+++	N/A
708	N/A	N/A	+++	+++
710	N/A	N/A	+++	+++
711	N/A	N/A	+++	++
712	N/A	N/A	++++	++++
713	N/A	N/A	++++	++++
716	N/A	N/A	++++	++++
765	+	+		
766	+++	+		
752	++	+		
753	+++	+		
754	++	+		
755	++++	+		
756	+++	+		

SP#	IC_{50} (MDM2)	IC_{50} (MDMX)	Ki (MDM2)	Ki (MDMX)
757	++++	+		
758	+++	+		

实施例12:针对MDM2和MDMX的竞争性结合ELISA测定

[0419] 在室温下将p53-His6蛋白质("His6"被公开为SEQ ID NO:1948)(30nM/孔)在96孔板的孔中包被过夜。在实验当天,使用自动ELISA洗板器用1X PBS-吐温20(0.05%)洗板,并在室温下采用ELISA微孔封闭将板封闭30分钟。通过用1X PBS-吐温20(0.05%)洗板以洗掉过量的封闭剂。使用无菌水将肽从10mM DMSO储备溶液稀释至500μM工作储备溶液。在0.5%DMSO中进行进一步稀释,以在样品中保持DMSO浓度恒定。向孔中加入50μL体积的2X期望浓度的肽溶液,随后添加稀释的GST-MDM2或GST-HMDX蛋白质(最终浓度:10nM)。在室温下孵育样品2h,用PBS-吐温20(0.05%)洗板,之后添加100μL的在HRP稳定缓冲液中稀释至0.5μg/ml的HRP偶联抗GST抗体。将板与检测抗体孵育30min,洗板,并与100μL/孔的TMB-E底物溶液孵育高达30分钟。用1M HCL终止反应,并使用读板仪在450nm下测量吸光度。使用Graph Pad PRISM软件分析数据。

实施例13:细胞活力试验

[0420] 在进行细胞活力试验前一天对细胞进行胰蛋白酶化,计数,并以预定密度接种在96孔板中。对每种细胞系使用以下细胞密度:SJSA-1:7500个细胞/孔;RKO:5000个细胞/孔;RKO-E6:5000个细胞/孔;HCT-116:5000个细胞/孔;SW-480:2000个细胞/孔;MCF7:5000个细胞/孔。在细胞活力试验当天,在室温下将培养基替换为含有11%FBS的新鲜培养基(测定培养基)。向每孔中添加180μL测定培养基。制备不含细胞的对照孔,并且对照孔接收200μL培养基。

[0421] 在室温下制备肽稀释液,并在室温下将稀释的肽溶液添加至细胞。在DMSO中制备肽的10mM储备溶液。利用1:3稀释方案系列在DMSO中稀释储备溶液,以得到10mM、3.3mM、1.1mM、0.33mM、0.11mM、0.03mM和0.01mM溶液。使用无菌水将系列DMSO稀释的肽稀释,产生一系列10X工作储备溶液。制备DMSO/无菌水(3%DMSO)溶液以用于对照孔。工作储备溶液浓度范围为300μM、100μM、30μM、10μM、3μM、1μM、0.3μM和0μM。使用多通道移液器在各稀释步骤充分混合所述溶液。

[0422] 板的H行含有对照。H1-H3孔接收20μl测定培养基。H4-H9行接收20μl 3%DMSO-水媒介物。H10-H12孔接收不含细胞的单独培养基对照。MDM2小分子抑制剂Nutlin-3a(10mM)用作阳性对照。使用用于肽的相同稀释方案稀释Nutlin-3a。

[0423] 向适当的孔中添加20μL 10X浓度的肽储备溶液,以在各孔中在200μl中达到终浓度。例如,20μL 300μM肽溶液+180μL培养基中的细胞=在孔中在200μL体积中的30μM终浓度。使用移液管将溶液轻柔混合数次。终浓度范围是30μM、10μM、3μM、1μM、0.3μM、0.1μM、0.03μM和0μM。对强的肽进行进一步的稀释。对照包括未接收肽但与包含肽的孔包含相同浓度的DMSO的孔,和不含细胞的孔。将板在37℃下在潮湿的5%CO_2气氛下孵育72小时。

[0424] 使用MTT试剂测定细胞的活力。SJSA-1、RKO、RKO-E6、HCT-116细胞的活力在第3天测定。MCF7细胞的活力在第5天测定。SW-480细胞的活力在第6天测定。在指定的孵育时间结束时,将板冷却到室温。从各孔中移除80μL测定培养基。然后向各孔中添加15μL解冻的MTT试剂。将板在37℃下在潮湿的5%CO_2气氛下孵育2h。向各孔中添加100μL增溶试剂。将板在

室温下摇动孵育1h,并使用多板读板仪读取570nm处的吸光度。分析相对于DMSO对照的细胞活力。

[0425] 来自细胞活力试验的结果在表6和表7中示出。“+”表示大于30μM的值,“++”表示大于15μM且小于或等于30μM的值,“+++”表示大于5μM且小于或等于15μM的值,而“++++”表示小于或等于5μM的值。“IC_{50}比”表示p53+/+细胞中的平均IC_{50}相对于p53-/-细胞中的平均IC_{50}的比值。

表6

SP#	SJSA-1 EC50 (72h)	SP#	SJSA-1 EC50 (72h)	SP#	SJSA-1 EC50 (72h)	SP#	SJSA-1 EC50 (72h)
3	+++	170	++++	295	+++	443	++++
4	+++	171	++	296	++++	444	+++
5	++++	173	+++	297	+++	445	++++
6	++	174	++++	298	++++	449	++++
7	++++	175	+++	300	++++	551	++++
8	+++	176	+++	301	++++	552	++++
9	+++	177	++++	302	++++	554	+
10	+++	179	+++	303	++++	555	++++
11	++++	180	+++	304	++++	586	++++
12	++	181	+++	305	++++	587	++++
13	+++	182	++++	306	++++	588	++++
14	+	183	++++	307	+++	589	+++
15	++	184	+++	308	++++	432	++++
16	+	185	+++	309	+++	672	+
17	+	186	++	310	++++	673	++
18	+	188	++	312	++++	682	+
19	++	190	++++	313	++++	686	+
20	+	192	+++	314	++++	557	++++
21	+	193	++	315	++++	558	++++
22	+	194	+	316	++++	560	+
24	+++	195	++++	317	++++	561	++++
26	++++	196	++++	318	++++	562	++++
28	+	197	++++	319	++++	563	++++
29	+	198	++	320	++++	564	++++
30	+	199	+++	321	++++	566	++++
32	++	200	+++	322	++++	567	++++
38	+	201	++++	323	++++	568	+++
39	+	202	+++	324	++++	569	++++
40	+	203	++++	326	++++	571	++++
41	+	204	++++	327	++++	572	++++
42	+	205	++	328	++++	573	++++
43	++	206	++	329	++++	574	++++
45	+	207	+++	330	++++	575	++++
46	+	208	+++	331	++++	576	++++
47	+	209	++++	332	++++	577	++++
48	+	210	+++	333	++	578	++++
49	+++	211	++++	334	+++	585	++++
50	++++	213	++++	335	++++	687	+
52	+	214	++++	336	++++	662	++++

SP#	SJSA-1 EC50 (72h)	SP#	SJSA-1 EC50 (72h)	SP#	SJSA-1 EC50 (72h)	SP#	SJSA-1 EC50 (72h)
54	+	215	++++	337	++++	663	++++
55	+	216	++++	338	++++	553	+++
65	++++	217	++++	339	++++	559	++++
68	++++	218	++++	340	++++	579	++++
69	++++	219	++++	341	++++	581	++++
70	++++	220	+++	342	++++	582	++
71	++++	221	++++	343	++++	582	++++
72	++++	222	+++	344	++++	584	+++
74	++++	223	++++	345	++++	675	++++
75	++++	224	++	346	++++	676	++++
77	++++	225	+++	347	++++	677	+
78	++	226	++	348	++++	679	++++
80	++++	227	+++	349	++++	700	+++
81	+++	228	++++	350	++++	704	+++
82	+++	229	++++	351	++++	591	+
83	+++	230	++++	352	++++	706	++
84	+	231	++++	353	++++	695	++
85	+++	232	++++	355	++++	595	++++
99	++++	233	++++	357	++++	596	++++
102	+++	234	++++	358	++++	597	+++
103	+++	235	++++	359	++++	598	+++
104	+++	236	++++	360	++++	599	++++
105	+++	237	++++	361	+++	600	++++
108	+++	238	++++	362	++++	601	+++
109	+++	239	+++	363	++++	602	+++
110	+++	240	++	364	++++	603	+++
111	++	241	+++	365	+++	604	+++
114	++++	242	++++	366	++++	606	++++
115	++++	243	++++	367	++++	607	++++
118	++++	244	++++	368	+	608	++++
120	++++	245	++++	369	++++	610	++++
121	++++	246	+++	370	++++	611	++++
122	++++	247	++++	371	++++	612	++++
123	++++	248	++++	372	+++	613	+++
124	+++	249	++++	373	+++	614	+++
125	++++	250	++	374	++++	615	++++
126	++++	251	+	375	++++	618	++++
127	++++	252	+	376	++++	619	++++
128	+++	253	+	377	++++	707	++++
129	++	254	+++	378	++++	620	++++

SP#	SJSA-1 EC50 (72h)	SP#	SJSA-1 EC50 (72h)	SP#	SJSA-1 EC50 (72h)	SP#	SJSA-1 EC50 (72h)
130	++++	255	+++	379	++++	621	++++
131	+++	256	++	380	++++	622	++++
132	++++	257	+++	381	++++	623	++++
133	+++	258	+++	382	++++	624	++++
134	+++	259	++	386	+++	625	++++
135	+++	260	++	388	++	626	+++
136	++	261	++	390	++++	631	++++
137	+++	262	+++	392	+++	633	++++
139	++++	263	++	394	+++	634	++++
142	+++	264	++++	396	+++	635	+++
144	++++	266	+++	398	+++	636	+++
147	++++	267	++++	402	+++	638	+
148	++++	270	++	404	+++	641	+++
149	++++	271	++	408	++++	665	++++
150	++++	272	++	410	+++	708	++++
152	+++	276	++	411	+++	709	+++
153	++++	277	++	412	+	710	+
154	++++	278	++	421	+++	711	++++
155	++	279	++++	423	++++	712	++++
156	+++	280	+++	425	++++	713	++++
157	+++	281	++	427	++++	714	+++
158	+++	282	++	434	+++	715	+++
160	++++	283	++	435	++++	716	++++
161	++++	284	++++	436	++++	765	+
162	+++	289	++++	437	++++	753	+
163	+++	290	+++	438	++++	754	+
166	++	291	++++	439	++++	755	+
167	+++	292	++++	440	++++	756	+
168	++	293	++++	441	++++	757	++++
169	++++	294	++++	442	++++	758	+++

表7

SP#	HCT-116 EC50 (72h)	RKO EC_{50} (72h)	RKO-E6 EC_{50} (72h)	SW480 EC50 (6 天)	IC_{50} 比
4	++++	++++	+++	++++	
5	++++	++++	+++	++++	
7	++++	++++	+++	++++	
10	++++	+++	+++	+++	
11	++++	++++	++	+++	
50	++++	++++	++	+++	

SP#	HCT-116 EC50 (72h)	RKO EC_{50} (72h)	RKO-E6 EC_{50} (72h)	SW480 EC50 (6 天)	IC_{50} 比
65	+++	+++	+++	+++	
69	++++	++++	+	++++	
70	++++	++++	++	+++	
71	++++	++++	+++	+++	
81	+++	+++	+++	+++	
99	++++	++++	+++	++++	
109	++++	++++	++	+++	
114		+++	+	+++	
115		+++	+	+++	1-29
118	+++	++++	+	++++	
120	++++	++++	+	++++	
121	++++	++++	+	++++	
122		+++	+	+++	1-29
125	+++	+++	+	+	
126	+	+	+	+	
148		++	+	+	
150		++	+	+	
153	+++		+		
154	+++	+++	+	+	30-49
158	+	+	+	+	
160	+++	+	+	+	1-29
161	+++	+	+	+	
175	+	+	+	+	
196	++++	++++	+++	++++	
219	++++	+++	+	+	1-29
233	++++				
237	++++		+	+	
238	++++		+	+	
243	++++		+	+	
244	++++		+	+	≥50
245	++++		+	+	
247	++++		+	+	
249	++++	++++	+	+	≥50
255	++++		+		
291			+		
293	+++		+		
303	+++		+		1-29
305			+		
306	++++		+		
310	++++		+		
312	++++				

SP#	HCT-116 EC50 (72h)	RKO EC_{50} (72h)	RKO-E6 EC_{50} (72h)	SW480 EC50 (6 天)	IC_{50} 比
313	++++		++		
314			+		
315	++++	++++	++	++++	≥50
316	++++	++++	+	+++	≥50
317	+++		+	++	
321	++++		+		
324	+++		+		
325	+++				
326	+++		+		
327	+++		+		
328	+++		++		
329	++++		+		
330			+		
331	++++	++++	+	+	≥50
338	++++	++++	++	+++	
341	+++	++	+	+	
343	+++		+	+	
346	++++		+	+	
347	+++		+	+	
349	++++	+++	+	+	30-49
350	++++		+	+	
351	++++	+++	+	+	30-49
353	++	++	+	+	
355	++++	++	+	+	1-29
357	++++	++++	+	+	
358	++++	++	+	+	
359	++++	++	+	+	
367	++++		+	+	30-49
386	++++	++++	++++	++++	
388	++	++	+	+++	1-29
390	++++	++++	+++	++++	
435	+++	++	+		
436	++++	++++	++		
437	++++	++++	++	++++	30-49
440	++	++	+		
442	++++	++++	++		
444	++++	++++	+++		
445	++++	+++	+	+	≥50
555					≥50
557					≥50
558					30-49

SP#	HCT-116 EC50 (72h)	RKO EC_{50} (72h)	RKO-E6 EC_{50} (72h)	SW480 EC50 (6天)	IC_{50} 比
562					30-49
564					30-49
566					30-49
567					≥50
572					≥50
573					30-49
578					30-49
662					≥50
379					1-29
375					1-29
559					≥50
561					1-29
563					1-29
568					1-29
569					1-29
571					1-29
574					1-29
575					1-29
576					1-29
577					30-49
433					1-29
551					30-49
553					1-29
710				+	
711				+	
712				++	
713				++	
714				+++	
715				+++	
716				+	

实施例14:p21 ELISA测定

[0426] 在进行测定前一天对SJSA1细胞进行胰蛋白酶化,计数,并以7500个细胞/100μL/孔的密度接种在96孔板中。在测定当天,将培养基替换为新鲜的RPMI-11%FBS(测定培养基)。向每孔中添加90μL测定培养基。不含细胞的对照孔接收100μL测定培养基。

[0427] 在DMSO中制备肽的10mM储备溶液。利用1:3稀释方案在DMSO中系列稀释所述储备溶液,得到10mM、3.3mM、1.1mM、0.33mM、0.11mM、0.03mM和0.01mM溶液。使用无菌水对溶液进行33.3倍系列稀释,得到一系列10X工作储备溶液。制备DMSO/无菌水(3%DMSO)溶液以用于对照孔。工作储备溶液浓度范围为300μM、100μM、30μM、10μM、3μM、1μM、0.3μM和0μM。使用多通道移液器在各稀释步骤充分混合每种溶液。H行含有对照孔。H1-H3行接收10μL测定培养基。H4-H9孔接收10μL 3%DMSO-水溶液。H10-H12孔接收单独的培养基且不含细胞。HDM2小分子抑制剂Nutlin-3a(10mM)用作阳性对照。使用用于肽的相同稀释方案稀释Nutlin-3a。

[0428] 向适当的孔中添加10μL 10X肽溶液,以在100μL体积中达到终浓度。例如,10μL

300μM肽+90μl培养基中的细胞＝在孔中在100μL体积中的30μM终浓度。使用的终浓度范围是30μM、10μM、3μM、1μM、0.3μM和0μM。对照孔包括未接收肽但与包含肽的孔包含相同浓度的DMSO的孔，以及不含细胞的孔。

[0429] 孵育后20h，从孔中吸出培养基；用1X PBS(不含Ca^{++}/Mg^{++})洗涤细胞，并在冰上在60μL1X细胞裂解缓冲液(稀释到1X并补充有蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂的10X缓冲液)中裂解30min。将板在4℃下以5000rpm的速度离心8min。收集澄清的上清液并于-80℃冷冻直至进一步使用。使用来自BCA蛋白质检测试剂盒和BSA标准来测定裂解物的总蛋白质含量。每孔含有约6-7μg蛋白质。每孔使用50μl裂解物来建立p21 ELISA测定。对于人类总p21 ELISA测定，每孔使用50μL裂解物，并且各孔一式三份建立。

实施例15:胱天蛋白酶3检测试验：

[0430] 在进行该试验前一天对SJSA1细胞进行胰蛋白酶化，计数，并以7500个细胞/100μL/孔的密度接种在96孔板中。在测定当天，将培养基替换为新鲜的RPMI-11％FBS测定培养基。向每孔中添加180μL测定培养基。对照孔不含细胞，并接收200μL培养基。

[0431] 在DMSO中制备肽的10mM储备溶液。利用1:3稀释方案在DMSO中系列稀释储备溶液，得到10mM、3.3mM、1.1mM、0.33mM、0.11mM、0.03mM和0.01mM溶液。使用无菌水对溶液进行33.3倍系列稀释，得到一系列10X工作储备溶液。制备DMSO/无菌水(3％DMSO)溶液以用于对照孔。工作储备溶液浓度范围为300μM、100μM、30μM、10μM、3μM、1μM、0.3μM和0μM。使用多通道移液器在各稀释步骤充分混合每个孔。向适当的孔中添加20uL 10X工作储备溶液。板的H行具有对照孔。H1-H3孔接收20uL测定培养基。H4-H9孔接收20uL3％DMSO-水溶液。H10-H12孔接收培养基，并且不含细胞。MDM2小分子抑制剂Nutlin-3a(10mM)用作阳性对照。使用与肽相同的稀释方案稀释Nutlin。

[0432] 向适当的孔中添加10μL 10X储备溶液，以在100μL总体积中达到终浓度。例如，10μL300μM肽+90μL培养基中的细胞＝在孔中在100μL体积中的30μM终浓度。使用的终浓度范围是30μM、10μM、3μM、1μM、0.3μM和0μM。对照不包含肽，但含有与包含肽的孔相同浓度的DMSO，以及不含细胞的孔。孵育后48h，从各孔中吸出80μL培养基。向每孔中添加100μL胱天蛋白酶3/7Glo测定试剂。将板在室温下在轻柔振荡下孵育1h。使用多板读板仪读取发光。数据作为相对于DMSO处理的细胞的胱天蛋白酶3激活进行分析。来自实施例14和15的结果示于表8中：

表8

SP#	胱天蛋白酶 0.3μM	胱天蛋白酶 1 μM	胱天蛋白酶 3μM	胱天蛋白酶 10μM	胱天蛋白酶 30μM	p21 0.3μM	p21 1μM	p21 3μM	p21 10μM	p21 30μM
4			9	37	35			317	3049	3257
7	0.93	1.4	5.08	21.7	23.96		18	368	1687	2306
8			1	19	25			34	972	2857
10	1		1	17	32		10	89	970	2250
11	1		5	23	33.5		140	350	2075.5	3154
26	1		1	3	14					
50			8	29	29		44	646	1923	1818
65	1		6	28	34	-69	-24	122	843	1472
69	4.34	9.51	16.39	26.59	26.11	272	458.72	1281.39	2138.88	1447.22
70			1	9	26		-19	68	828	1871

SP#	胱天蛋白酶 0.3μM	胱天蛋白酶 1 μM	胱天蛋白酶 3μM	胱天蛋白酶 10μM	胱天蛋白酶 30μM	p21 0.3μM	p21 1μM	p21 3μM	p21 10μM	p21 30μM
71	0.95	1.02	3.68	14.72	23.52		95	101	1204	2075
72	1		1	4	10	-19	57	282	772	1045
77	1		2	19	23					
80	1		2	13	20					
81	1		1	6	21		0	0	417	1649
99	1		7	31	33	-19	117	370	996	1398
109			4	16	25		161	445	1221	1680
114	1		6	28	34	-21	11	116	742	910
115	1		10	26	32	-10	36	315	832	1020
118	1		2	18	27	-76	-62	-11	581	1270
120	2		11	20	30	-4	30	164	756	1349
121	1		5	19	30	9	33	81	626	1251
122	1		2	15	30	-39	-18	59	554	1289
123	1		1	6	14					
125	1		3	9	29	50	104	196	353	1222
126	1		1	6	30	-47	-10	90	397	1443
127	1		1	4	13					
130	1		2	6	17					
139	1		2	9	18					
142	1		2	15	20					
144	1		4	10	16					
148	1		11	23	31	-23	55	295	666	820
149	1		2	4	10	35	331	601	1164	1540
150	2		11	19	35	-37	24	294	895	906
153	2		10	15	20					
154	2.68	4	13.93	19.86	30.14	414.04	837.45	1622.42	2149.51	2156.98
158	1		1.67	5	16.33	-1.5	95	209.5	654	1665.5
160	2		10	16	31	-43	46	373	814	1334
161	2		8	14	22	13	128	331	619	1078
170	1		1	16	20					
175	1		5	12	21	-65	1	149	543	1107
177	1		1	8	20					
183	1		1	4	8	-132	-119	-14	1002	818
196	1		4	33	26	-49	-1	214	1715	687
197	1		1	10	20					
203	1		3	12	10	77	329	534	1805	380
204	1		4	10	10	3	337	928	1435	269
218	1		2	8	18					
219	1		5	17	34	28	53	289	884	1435
221	1		3	6	12	127	339	923	1694	1701

SP#	胱天蛋白酶 0.3μM	胱天蛋白酶 1 μM	胱天蛋白酶 3μM	胱天蛋白酶 10μM	胱天蛋白酶 30μM	p21 0.3μM	p21 1μM	p21 3μM	p21 10μM	p21 30μM
223	1		1	5	18					
230	1		2	3	11	245.5	392	882	1549	2086
233	6	8	17	22	23	2000	2489	3528	3689	2481
237	1		5	9	15	0	0	2	284	421
238	1		2	4	21	0	149	128	825	2066
242	1		4	5	18	0	0	35	577	595
243	1		2	5	23	0	0	0	456	615
244	1		2	7	17	0	178	190	708	1112
245	1		3	9	16	0	0	0	368	536
247	1		3	11	24	0	0	49	492	699
248						0	50	22	174	1919
249	2		5	11	23	0	0	100	907	1076
251						0	0	0	0	0
252						0	0	0	0	0
253						0	0	0	0	0
254	1	3	7	14	22	118	896	1774	3042	3035
286	1	4	11	20	22	481	1351	2882	3383	2479
287	1	1	3	11	23	97	398	986	2828	3410
315	11	14.5	25.5	32	34	2110	2209	2626	2965	2635
316	6.5	10.5	21	32	32.5	1319	1718	2848	2918	2540
317	3	4	9	26	35	551	624	776	1367	1076
331	4.5	8	11	14.5	30.5	1510	1649	2027	2319	2509
338	1	5	23	20	29	660.37	1625.38	3365.87	2897.62	2727
341	3	8	11	14	21	1325.62	1873	2039.75	2360.75	2574
343	1	1	2	5	29	262	281	450	570	1199
346						235.86	339.82	620.36	829.32	1695.78
347	2	3	5	8	29	374	622	659	905	1567
349	1	8	11	16	24	1039.5	1598.88	1983.75	2191.25	2576.38
351	3	9	13	15	24	1350.67	1710.67	2030.92	2190.67	2668.54
353	1	2	5	7	30	390	490	709	931	1483
355	1	4	11	13	30	191	688	1122	1223	1519
357	2	7	11	15	23	539	777	1080	1362	1177
358	1	2	3	6	24	252	321	434	609	1192
359	3	9	11	13	23	1163.29	1508.79	1780.29	2067.67	2479.29
416						33.74	39.82	56.57	86.78	1275.28
417						0	0	101.13	639.04	2016.58
419						58.28	97.36	221.65	1520.69	2187.94
432						54.86	68.86	105.11	440.28	1594.4

实施例16:由拟肽大环化合物引起的细胞裂解

[0433] 提前一天以7500个细胞/孔的密度并使用100μL/孔的生长培养基将SJSA-1细胞接种在透明平底板中。H行10-12列保持为空,以便用单独的培养基处理。在试验当天,将培养基更换为RPMI 1%FBS培养基,产生每孔90μL培养基。在100%的DMSO中制备拟肽大环化合物的10mM储备溶液。将拟肽大环化合物在100%的DMSO中进行连续稀释,进一步在无菌水中

稀释20倍，以制备在5％DMSO/水中的工作储备溶液。拟肽大环化合物的浓度在500μM至62.5μM的范围内。

[0434] 将10uL的各化合物溶液加入到90μL的SJSA-1细胞中，以在含0.5％DMSO的培养基中得到50μM至6.25μM的终浓度。阴性对照(非裂解)样品为单独的0.5％DMSO。阳性对照(裂解)样品包括10μM蜂毒肽和1％Triton X-100。将细胞板在37℃下孵育1h。在孵育1h后，通过显微镜检查细胞的形态。然后在室温下将该板以1200rpm离心5min。对于每种拟肽大环化合物和对照样品，将40μL上清液转移到透明的测定板上。使用LDH细胞毒性测定试剂盒测定LDH的释放。细胞裂解试验的结果示于表9中：

表9

SP#	6.25 μM %裂解的细胞(1h LDH)	12.5 μM %裂解的细胞(1h LDH)	25 μM %裂解的细胞(1h LDH)	50 μM %裂解的细胞(1h LDH)
3	1	0	1	3
4	-2	1	1	2
6	1	1	1	1
7	0	0	0	0
8	-1	0	1	1
9	-3	0	0	2
11	-2	1	2	3
15	1	2	2	5
18	0	1	2	4
19	2	2	3	21
22	0	-1	0	0
26	2	5	-1	0
32	0	0	2	0
39	0	-1	0	3
43	0	0	-1	-1
55	1	5	9	13

SP#	6.25 μM %裂解的细胞(1h LDH)	12.5 μM %裂解的细胞(1h LDH)	25 μM %裂解的细胞(1h LDH)	50 μM %裂解的细胞(1h LDH)
65	0	0	0	2
69	1	0.5	-0.5	5
71	0	0	0	0
72	2	1	0	3
75	-1	3	1	1
77	-2	-2	1	-1
80	0	1	1	5
81	1	1	0	0
82	0	0	0	1
99	1.5	3	2	3.5
108	0	0	0	1
114	3	-1	4	9
115	0	1	-1	6
118	4	2	2	4
120	0	-1	0	6
121	1	0	1	7
122	1	3	0	6
123	-2	2	5	3
125	0	1	0	2
126	1	2	1	1
130	1	3	0	-1
139	-2	-3	-1	-1
142	1	0	1	3
144	1	2	-1	2
147	8	9	16	55
148	0	1	-1	0
149	6	7	7	21
150	-1	-2	0	2
153	4	3	2	3
154	-1	-1.5	-1	-1
158	0	-6	-2	
160	-1	0	-1	1
161	1	1	-1	0
169	2	3	3	7
170	2	2	1	-1
174	5	3	2	5
175	3	2	1	0
177	-1	-1	0	1
182	0	2	3	6
183	2	1	0	3
190	-1	-1	0	1

SP#	6.25 μM %裂解的细胞(1h LDH)	12.5 μM %裂解的细胞(1h LDH)	25 μM %裂解的细胞(1h LDH)	50 μM %裂解的细胞(1h LDH)
196	0	-2	0	3
197	1	-4	-1	-2
203	0	-1	2	2
204	4	3	2	0
211	5	4	3	1
217	2	1	1	2
218	0	-3	-4	1
219	0	0	-1	2
221	3	3	3	11
223	-2	-2	-4	-1
230	0.5	-0.5	0	3
232	6	6	5	5
233	2.5	4.5	3.5	6
237	0	3	7	55
243	4	23	39	64
244	0	1	0	4
245	1	14	11	56
247	0	0	0	4
249	0	0	0	0
254	11	34	60	75
279	6	4	5	6
280	5	4	6	18
284	5	4	5	6
286	0	0	0	0
287	0	6	11	56
316	0	1	0	1
317	0	1	0	0
331	0	0	0	0
335	0	0	0	1
336	0	0	0	0
338	0	0	0	1
340	0	2	0	0
341	0	0	0	0
343	0	1	0	0
347	0	0	0	0
349	0	0	0	0
351	0	0	0	0
353	0	0	0	0
355	0	0	0	0
357	0	0	0	0
359	0	0	0	0

SP#	6.25 μM %裂解的细胞(1h LDH)	12.5 μM %裂解的细胞(1h LDH)	25 μM %裂解的细胞(1h LDH)	50 μM %裂解的细胞(1h LDH)
413	5	3	3	3
414	3	3	2	2
415	4	4	2	2

实施例17:拟肽大环化合物作为骨髓保护剂的机理原理。

[0435] 某些化疗剂(例如拓扑异构酶抑制剂)的细胞毒性在不活跃分裂的细胞中降低。在具有野生型p53的细胞中,通过施用拟肽大环化合物的p53激活可以诱导短暂的、剂量依赖性的细胞周期停滞,如图2所示。细胞周期停滞的诱导可以降低对化学疗法诱导的细胞毒性的敏感性。p53突变癌细胞的细胞周期不受拟肽大环化合物的影响,其使细胞容易受到化学疗法的细胞毒性作用的影响,如图3所示。

[0436] 图4呈现了显示AP-1在p53野生型细胞与p53突变细胞中的作用的数据。各种细胞系在RPMI1640、10％FBS、2mM L-丙氨酰-L-谷氨酰胺、1mM丙酮酸钠或特殊培养基中在5％CO_2潮湿气氛下于37℃生长。将细胞接种在384孔板中,并在接种后24小时将AP-1添加到细胞中。将AP-1连续稀释3.16倍,并在10种浓度下进行测定。使用4X物镜采集16位TIFF图像。使用非线性回归将数据拟合到S形4点、4参数单位点剂量响应模型,从而计算EC50值,其中:y(拟合)＝A+[(B-A)/(1+((C/x)^D))]。如图4所示,与具有野生型p53的细胞系相比,p53突变细胞系中AP-1的EC50增加。

实施例18:AP-1对p53-WT MOLM13细胞中的细胞死亡和细胞周期停滞的影响。

[0437] MOLM13细胞在体外培养,并用媒介物对照或不同浓度的AP-1处理24小时。处理期后,分别通过碘化丙锭和膜联蛋白V染色来分析AP-1对细胞周期阻滞和凋亡的影响。如图5中可见,AP-1触发剂量依赖性凋亡。当细胞用1μM AP-1处理时,在细胞中诱导细胞周期停滞。

实施例19:AP-1在$CD34^+$骨髓细胞中诱导细胞周期停滞。

[0438] 培养$CD34^+$骨髓细胞并用不同浓度的AP-1处理。DNA合成和S期细胞的百分比通过细胞的EdU染色来检测,如经由流式细胞术所测量的。结果示于图6中,表明与媒介物对照相比,用AP-1处理降低了DNA合成和S期细胞的百分比。

实施例20:AP-1在骨髓CD34+细胞中诱导的细胞周期停滞的可逆性。

[0439] 两组骨髓CD34+细胞与1μM AP-1或媒介物对照一起在体外孵育24小时。对于一组骨髓CD34+细胞(第1组)在AP-1孵育后立即,而在第二组(第2组)中在洗掉AP-1后24小时,通过EdU染色和流式细胞术评估细胞周期停滞。如图7中可见,如通过EdU染色和流式细胞术所测量的,对于第1组细胞观察到与媒介物对照相比,S期细胞的百分比降低,但对于第2组细胞则未观察到。这些结果表明,AP-1在人骨髓细胞中诱导短暂的、可逆的细胞周期停滞。

实施例21:防止托泊替康诱导的DNA损伤。

[0440] 骨髓CD34+细胞在体外用1μM AP-1或媒介物对照处理24小时。用AP-1或媒介物处理后,洗涤细胞并用1μM托泊替康处理24小时。然后通过测量γ-H2AX评估与托泊替康孵育的细胞中的DNA损伤。如图8中可见,与用媒介物对照预处理的细胞相比,用AP-1预处理减少了托泊替康诱导的DNA损伤,如γ-H2AX的减少所示。

实施例22:p21表达的体内诱导。

[0441] 在给药后0、4、8、16和24小时，从来自用2.4mg/kg或10mg/kg AP-1治疗的小鼠的总骨髓样品中提取mRNA。然后通过实时PCR评估鼠p21(p53依赖性细胞周期停滞的下游介体)、Noxa(凋亡标志物)和p53上调的凋亡调节剂(PUMA)mRNA表达。如图9中可见，结果显示AP-1治疗后p21、Noxa和PUMA mRNA表达增加。在2.4mg/kg剂量下，p21表达的增加大于PUMA和Noxa表达的增加，而在10mg/kg剂量下，p21表达的增加大于PUMA表达的增加，但不大于Noxa表达的增加。

实施例23:骨髓中细胞周期停滞的体内诱导。

[0442] C57BL/6小鼠用10mg/kg AP-1治疗。在AP-1给药后的特定时间点(4、8、16小时)，从经EdU治疗的动物收集骨髓，随后对造血干细胞和祖细胞(HSPC)中的DNA合成进行流式细胞术分析。如图10中可见，在施用AP-1后4小时内在HSPC中观察到DNA合成的抑制，并在回到基线前8小时达到最低点。

[0443] 另外的小鼠用5mg/kg、10mg/kg或20mg/kg AP-1治疗。然后在治疗前(治疗后0小时)以及治疗后4小时、8小时、16小时和24小时，在谱系阴性、Kit阳性的造血干细胞和祖细胞中，使用EdU掺入，通过流式细胞术测量小鼠骨髓中的细胞周期停滞。如图11中可见，观察到治疗后0-8小时EdU+细胞的百分比降低。治疗后8-24小时，这种降低逆转。这些结果表明，AP-1在体内可逆地诱导小鼠骨髓细胞中的细胞周期停滞。

实施例24:AP-1治疗后的MIC-1水平。

[0444] 图12显示了在用2.4mg/kg或10mg/kg剂量的AP-1治疗之前(时间0)或之后，小鼠血清中MIC-1(p53活化的临床生物标志物)的水平。结果显示，如通过ELISA所测量的，鼠MIC-1水平在AP-1治疗后4至8小时之间达到峰值，与体内细胞周期抑制相关，如图11所示。

实施例25:MCF-肿瘤中细胞周期停滞的诱导。

[0445] 对MCF-7肿瘤荷瘤小鼠静脉内施用单次20mg/kg剂量的AP-1。给药后16小时收集肿瘤样品，并针对p53、p21、PARP和溴脱氧尿苷(BrdU)(这是细胞增殖的指标)进行染色。如图13中可见，AP-1治疗增加了p53和p21表达，同时也导致细胞周期停滞，如BrdU染色的减少所示。此外，对于AP-1治疗观察到PARP染色的增加。给药后16、24和48小时的p53、p21、PARP和BrdU染色的定量显示在图14中。实施例26:用AP-1和Abraxane ®对MCF-7.1小鼠模型的联合治疗。

[0446] 携带已建立的皮下MCF-7.1肿瘤的雌性无胸腺裸鼠用5mg/kg AP-1、15mg/kg Abraxane®、5mg/kg AP-1和15mg/kg Abraxane®或媒介物对照进行静脉内治疗。Abraxane®每周给药一次(qwk)，而媒介物和AP-1每周给药两次。在联合治疗组中，在Abraxane®给药前24小时施用AP-1。如图15中可见，对于Abraxane®或Abraxane® AP-1联合治疗，MCF-7.1肿瘤体减小。

实施例27:防止托泊替康诱导的嗜中性粒细胞耗竭。

[0447] 在治疗期的第1-5天，用1.5mg/kg托泊替康治疗雌性C57BL/6小鼠。在首次托泊替康给药前24小时，用2.4mg/kg AP-1或媒介物对照治疗小鼠(每组n＝5只小鼠)。然后在每次后续托泊替康给药前30分钟，用2.4mg/kg AP-1或媒介物对照治疗小鼠。如图16A中可见，与用媒介物对照预处理的小鼠相比，用AP-1预处理的小鼠具有更高的嗜中性粒细胞计数。当用每组n＝7只小鼠重复该实验时，获得了类似的结果，如图16B所示。结果表明，AP-1对托泊

替康诱导的嗜中性粒细胞耗竭具有保护作用。

[0448] 在一些实施方案中,可以基于对两个治疗组的嗜中性粒细胞水平的分析得出临床前或临床结论。例如,临床前结论可以基于如图16C或图16D所示的A组和B组嗜中性粒细胞水平的分析,其中A组由在治疗期的第1-5天用1.5mg/kg托泊替康治疗的小鼠组成,B组由在治疗期的第1-5天用托泊替康治疗并且在首次托泊替康给药前24小时和每次后续托泊替康给药前30分钟用AP-1治疗的小鼠组成。

实施例28:AP-1对p53-突变小鼠癌症模型中托泊替康的抗肿瘤活性的影响。

[0449] 携带已建立的同基因MC38结肠癌肿瘤的C57BL/6小鼠或携带已建立的H69或H211异种移植肿瘤的nu/nu小鼠在第1-5天用托泊替康治疗,并在第0-4天用AP-1或媒介物治疗。评估了肿瘤体积中值和小鼠存活率。如图17A、图17B和图17C中可见,托泊替康治疗导致肿瘤体积减小和存活率增加。托泊替康的抗肿瘤活性并未因AP-1预处理而减弱。在MC38和H69模型中,用AP-1预处理导致小鼠存活率的适度提高。

实施例29:防止卡铂/紫杉醇诱导的嗜中性粒细胞耗竭。

[0450] 将小鼠分成六个治疗组,并施用媒介物对照、单独的AP-1、卡铂与紫杉醇的组合,或AP-1、卡铂和紫杉醇的组合。AP-1相对于卡铂和紫杉醇的给药时间不同,卡铂/紫杉醇给药时间被表示为时间0小时。正时间(例如时间+8小时)表示在用卡铂/紫杉醇治疗后进行的AP-1治疗,负时间(例如,-1小时)表示在卡铂/紫杉醇施用之前的AP-1治疗。AP-1和紫杉醇通过静脉内施用,而卡铂通过腹膜内注射施用。

[0451] 第1组用媒介物对照处理。第2组在时间-8小时、-1小时和+8小时用AP-1(2.4mg/kg)治疗(AP-1@-8hr、-1hr、+8hr)。第3组在时间0小时用卡铂(25mg/kg)和紫杉醇(5mg/kg)治疗(C+P)。第4组在时间-24小时和-1小时用AP-1治疗,并在时间0小时用卡铂(25mg/kg)和紫杉醇(5mg/kg)治疗(C+P+AP-1@-24hr、-1hr)。第5组在时间-8小时、-1小时和+8小时用AP-1治疗,并在时间0小时用卡铂(25mg/kg)和紫杉醇(5mg/kg)治疗(C+P+AP-1@-8hr、-1hr、+8hr)。第6组在时间-8小时和-1小时用AP-1治疗,并在时间0小时用卡铂(25mg/kg)和紫杉醇(5mg/kg)治疗(C+P+AP-1@-8hr、-1hr)。治疗后,从小鼠采集血液并测定血液中的嗜中性粒细胞水平。每个治疗组的小鼠在卡铂和紫杉醇治疗后4天的嗜中性粒细胞水平的结果显示在图18A中。

[0452] 在一些实施方案中,可以基于对两个治疗组的嗜中性粒细胞水平的分析得出临床前或临床结论。例如,临床前结论可以基于如图18B所示的A组和B组嗜中性粒细胞水平的分析,其中A组由在时间0小时用卡铂(25mg/kg)和紫杉醇(5mg/kg)治疗的小鼠组成,而B组由在时间-8小时、-1小时和+8小时用AP-1治疗并在时间0小时用卡铂(25mg/kg)和紫杉醇(5mg/kg)治疗的小鼠组成。

实施例30:拟肽大环化合物对多西他赛诱导的嗜中性粒细胞耗竭的影响。

[0453] 将小鼠分成四个治疗组,并施用媒介物对照、单独的AP-1、多西他赛,或AP-1和多西他赛的组合。AP-1相对于多西他赛的给药时间不同,多西他赛给药时间被表示为时间0小时。正时间(例如时间+8小时)表示在用多西他赛治疗后进行的AP-1治疗,负时间(例如,-1小时)表示在多西他赛施用之前的AP-1治疗。AP-1和多西他赛通过静脉内施用。

[0454] 第1组用媒介物对照处理。第2组在时间-8小时、-1小时和+8小时用AP-1(2.4mg/kg)治疗(AP-1@-8hr、-1hr、+8hr)。第3组在时间0小时用多西他赛(10mg/kg)治疗。第4组在

时间-8小时、-1小时和+8小时用AP-1治疗，并在时间0小时用多西他赛(10mg/kg)治疗(多西他赛AP-1@-8hr、-1hr、+8hr)。治疗后，从小鼠采集血液并测定血液中的嗜中性粒细胞水平。每个治疗组的小鼠在多西他赛治疗后4天的嗜中性粒细胞水平的结果显示在图19中。

实施例31:AP-1用于预防化学疗法诱导的骨髓抑制的1b/2期试验。

1b期研究目标：

[0455] 该试验的主要目标是：

• 当施用于接受托泊替康作为二线治疗的TP53突变广泛性疾病(ED)小细胞肺癌(SCLC)患者时，评价AP-1的安全性和耐受性，并确定AP-1的推荐2期剂量(RP2D)。

[0456] 该试验的次要目标是：

• 评价AP-1在施用于经历托泊替康二线治疗的TP53突变ED SCLC患者时的初步骨髓保护效果。

• 评价托泊替康在作为二线治疗施用时对接受AP-1支持性治疗的TP53突变EDS CLC患者的功效。

• 评价AP-1在与托泊替康一起施用时的药代动力学(PK)谱

[0457] 该研究的一个探索性目标是评估血液中的药效学(PD)生物标志物并评估与临床反应的相关性。

1b期研究终点：

[0458] 主要的1b期研究终点包括具有美国国家癌症研究所(NCI)不良事件通用术语标准(CTCAE)3/4级治疗紧急不良事件(TEAE)的患者的比例。次要终点包括：

• 计划治疗周期因毒性而延迟的比例。

• 根据实体瘤反应评价标准(RECIST)1.1的总反应率(ORR)。

• 无进展生存期(PFS)。

• 总生存期(OS)。

• AP-1的PK参数(例如，曲线下面积[AUC]、最大浓度[C_{max}]、C_{max}时间[t_{max}]、半衰期[$t_{1/2}$])。

[0459] 探索性终点包括：

• 血液中巨噬细胞抑制性细胞因子-1(MIC-1)水平相对于骨髓保护参数的剂量响应曲线。

• p21 RNA水平和p53诱导的外周血单核细胞(PBMC)的细胞停滞的其他下游指标。

2期研究目标：

[0460] 主要的2期研究目标是评价AP-1在以RP2D施用于经历托泊替康二线治疗的TP53突变ED SCLC患者时的骨髓保护效果。

[0461] 次要的2期目标是

• 进一步评价AP-1在托泊替康治疗期间作为支持性医护的安全性和耐受性。

• 进一步评价托泊替康在作为二线治疗施用时对接受AP-1支持性治疗的TP53突变ED SCLC患者的功效。

• 进一步评价AP-1在与托泊替康一起施用时的PK谱。

[0462] 探索性2期研究目标是评估PD生物标志物并评估PD生物标志物与临床反应的相关性。

2期研究终点：

[0463] 2期研究的主要终点是周期1中嗜中性粒细胞减少症等级≥3的患者的比例。2期研究的次要终点是：

- 具有NCI CTCAE等级3/4TEAE的患者的比例
- 计划治疗周期因毒性而延迟的比例
- ORR
- PFS
- OS
- AP-1的PK参数(例如，AUC、C_{max}、t_{max}、$t_{1/2}$)

[0464] 2期研究的探索性终点是：

- 血液中的MIC-1水平相对于骨髓保护参数的剂量响应曲线。
- p21 RNA水平和p53诱导的PBMC的细胞停滞的其他下游指标。研究设计/描述：

[0465] 小细胞肺癌：在该研究的1b期剂量优化阶段，AP-1和托泊替康作为一个或多个治疗周期的一部分进行施用。治疗周期被表示为开始于第0天并且结束于第21天。在治疗周期的第1-5天按照标准实践施用托泊替康。将患者随机化为接受2个初始AP-1剂量水平之一，在每个周期的第0-4天，大约在每次计划的托泊替康给药前24小时施用。在施用两种药物的给药日(第1-4天)，在完成托泊替康输注后施用AP-1。在治疗周期的第6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20和21天，既不施用托泊替康也不施用AP-1。

[0466] SCLC 1b期剂量优化研究设计的示意图在图20中示出。

[0467] 还包括1b期时间表优化和扩展阶段，在此期间，在托泊替康之前6小时施用AP-1。

[0468] 如果安全性和骨髓保护活性的预定标准得到满足并且AP-1的RP2D被确定，则在SCLC患者中触发该研究的随机化1b期扩展和2期部分。

[0469] 在随机化1b期扩展阶段，将20名需要托泊替康二线治疗的携带p53失功能突变的ED SCLC患者以交叉方式1:1随机分配到周期1和2期间的两个治疗顺序之一：

- 随机分配到顺序A的患者在周期1期间接受托泊替康+AP-1治疗，如上所概述；在周期2期间接受单独的托泊替康。在所有后续治疗周期(周期≥3)中，顺序A中的患者接受托泊替康+AP-1治疗。
- 随机分配到顺序B的患者在周期1期间接受单独的托泊替康治疗；在周期2期间接受托泊替康+AP-1。在所有后续治疗周期(周期≥3)中，顺序B中的患者接受托泊替康+AP-1治疗。

[0470] SCLC 1b期剂量扩展研究设计的示意图在图21中示出。

[0471] 如对于1b期剂量优化所描述的那样监测血液学毒性。

[0472] 在2期时，将需要托泊替康二线治疗的ED SCLC患者以1:1随机化为接受单独的托泊替康(对照组)或接受托泊替康与支持性AP-1治疗(实验组)。血液学毒性的监测如1b期中那样进行。SCLC 2期研究设计的示意图在图1 22中示出。

研究群体：

[0473] SCLC入组标准包括：

1.组织病理学证实ED SCLC已经复发或对标准铂类化疗或免疫化疗的单线治疗是难治性的。在铂类化疗后接受免疫治疗的患者仍然符合条件。

[0474] SCLC排除标准包括：

1.对ED SCLC进行过一线以上的既往化疗

治疗方案：

[0475] SCLC:AP-1和托泊替康作为治疗周期的一部分施用。治疗周期被表示为开始于第0天并且结束于第21天。托泊替康在每个治疗周期的第1-5天以1.5mg/m^2的剂量在30分钟内通过静脉内(IV)输注给予。AP-1在每个治疗周期的第0-4天在1小时内通过静脉内输注给予。第一剂AP-1(第0天)在第一剂托泊替康(第1天)前大约24小时施用。在施用两种药物的给药日(第1-4天)，在完成托泊替康输注后施用AP-1。在治疗周期的第6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20和21天，既不施用托泊替康也不施用AP-1。

[0476] 在1b期剂量优化期间，将患者随机分配到初始AP-1剂量水平。在审查初步安全性和有效性数据后，还可以评价替代剂量水平。替代剂量水平是根据先前剂量水平出现的安全性、耐受性和骨髓保护活性以及PK/PD数据确定的。

[0477] 在1b期剂量扩展期间，将患者随机分配到顺序A或顺序B。两个治疗组中的所有患者在每个治疗周期的第1-5天接受1.5mg/m^2剂量的托泊替康。随机分配到顺序A的患者在周期1的第0-4天以RP2D在1小时内以静脉内输注形式接受AP-1，在周期2期间接受单独的托泊替康，并且对于所有≥3的周期接受AP-1+托泊替康。随机分配到顺序B的患者在周期1期间接受单独的托泊替康，在周期2的第0-4天和所有后续周期(周期≥3)以RP2D在1小时内以静脉内输注形式接受AP-1。在治疗周期的第6-21天，既不施用托泊替康也不施用AP-1。

[0478] 在2期中，随机分配到实验组的患者在每个周期的第0-4天以RP2D在1小时内以静脉内输注形式接受AP-1，并在每个周期的第1-5天以1.5mg/m^2的剂量接受托泊替康。在治疗周期的第6-21天，既不施用托泊替康也不施用AP-1。随机分配到对照组的患者按照相同的剂量和时间表接受托泊替康，但不接受任何AP-1给药。

骨髓保护活动评估：

[0479] 在1b期和2期中，治疗对患者个体的血液学效果基于当地的实验室结果。

安全性评估：

[0480] 其他安全性评估包括使用NCI CTCAE(5.0版)评价不良事件(AE)、临床实验室评估(化学、血液学)、生命体征测量(血压、心率、呼吸频率和体温)、12导联心电图(ECG)测量和体格检查。

[0481] SCLC:在1b期剂量优化阶段的每个剂量水平时，首先招募并评价6名患者，之后在该剂量水平招募其他患者以完成群组。如果出现安全性或耐受性问题，则可以使用来自较低剂量水平的安全性信息来确定更高剂量水平的进一步招募。可以探索替代剂量水平。

PK/PD评估：

[0482] 对于参与1b期剂量优化和剂量扩展的患者(随机分配到SCLC群组的顺序B的患者除外)和随机分配至2期实验组的患者，在周期1期间采集用于AP-1的PK评估的血液样品。对于随机分配到SCLC扩展群组的顺序B的患者，在周期2期间采集用于AP-1的PK评估的血液样品。

肿瘤反应的评价：

[0483] 为了评估AP-1对托泊替康和多西他赛的疗效的潜在影响，每2个周期后通过放射照相术评估患者对治疗的反应。反应基于研究者根据RECIST(1.1)的评估。

治疗持续时间：

[0484] 患者继续接受托泊替康或托泊替康加支持性AP-1(SCLC)，直到有不可接受的毒性、疾病进展、死亡或撤回同意，以先发生者为准。

实施例32：针对托泊替康诱导的粘膜炎的化学保护。

[0485] 将C57BL/6小鼠(每组n＝10)分为四个治疗组。第1组用媒介物对照处理。第2组在第0、1、2、3和4(0-4)天用2.4mg/kg AP-1治疗。第3组在第1、2、3、4和5(1-5)天用1.5mg/kg托泊替康治疗。第4组在第0-4天用2.4mg/kg AP-1治疗，并在第1-5天用1.5mg/kg托泊替康治疗。在共同施用托泊替康和AP-1的给药日，在托泊替康之前30分钟给予AP-1。在治疗后第7天和第9天从小鼠中取出肠样品以评估肥大和增生。来自用单一药剂托泊替康治疗的小鼠的肠样品的组织病理学分析显示出明显的上皮肥大/增生、固有层的中度扩张(图23的黑色箭头)和中度至重度的隐窝丢失(图23上图的白色箭头)。在托泊替康之前用AP-1治疗的动物的肠组织显示出较不广泛的肥大/增生；和轻度隐窝丢失(图23下图的白色箭头)。图像和肠组织以及病理学评分的量化可以在图24A中看到。

[0486] 在一些实施方案中，可以基于对两个治疗组的量化病理学评分的分析得出临床前或临床结论。例如，临床前结论可以基于如图24B所示的A组和B组量化病理学评分的分析，其中A组由在治疗期的第1-5天用1.5mg/kg托泊替康治疗的小鼠组成，而B组由在治疗期的第1-5天用托泊替康治疗并且在首次托泊替康给药前24小时和每次后续托泊替康给药前30分钟用AP-1治疗的小鼠组成。

实施方案

[0487] 以下非限制性实施方案提供了本文公开的方法的说明性示例，但并非限制本公开的范围。

[0488] 实施方案1.一种治疗有需要的受试者中的肿瘤的方法，该方法包括向该受试者施用治疗有效量的拟肽大环化合物和治疗有效量的第一附加药学活性剂，其中：

-所述拟肽大环化合物的施用在所述受试者的非癌组织中诱导细胞周期停滞；

-所述拟肽大环化合物的施用不在所述肿瘤中诱导细胞周期停滞；并且

-所述拟肽大环化合物的施用不在所述肿瘤中诱导凋亡。

[0489] 实施方案2.实施方案1的方法，其中所述非癌组织是骨髓。

[0490] 实施方案3.实施方案1的方法，其中所述非癌组织是消化道组织。

[0491] 实施方案4.实施方案1-3中任一项所述的方法，其中所述肿瘤具有p53灭活突变。

[0492] 实施方案5.实施方案4的方法，其进一步包括检测所述p53灭活突变。

[0493] 实施方案6.实施方案1-5中任一项的方法，其中所述非癌组织包含功能性p53蛋白。

[0494] 实施方案7.实施方案6的方法，其进一步包括确认所述功能性p53蛋白的存在。

[0495] 实施方案8.实施方案1-7中任一项的方法，其中所述拟肽大环化合物的施用降低所述受试者发生与所述第一附加药学活性剂的施用相关的副作用的可能性。

[0496] 实施方案9.实施方案1-8中任一项的方法，其中所述拟肽大环化合物的施用降低所述受试者中的副作用水平，其中所述副作用与所述第一附加药学活性剂的施用相关。

[0497] 实施方案10.实施方案8的方法，其中所述副作用与骨髓抑制相关。

[0498] 实施方案11.实施方案8的方法，其中所述副作用与消化组织相关。

[0499] 实施方案12.实施方案8的方法,其中所述副作用是嗜中性粒细胞减少症。

[0500] 实施方案13.实施方案8的方法,其中所述副作用是血小板减少症。

[0501] 实施方案14.实施方案8的方法,其中所述副作用是粘膜炎。

[0502] 实施方案15.实施方案9的方法,其中所述副作用与骨髓抑制相关。

[0503] 实施方案16.实施方案9的方法,其中所述副作用与消化组织相关。

[0504] 实施方案17.实施方案9的方法,其中所述副作用是嗜中性粒细胞减少症。

[0505] 实施方案18.实施方案9的方法,其中所述副作用是血小板减少症。

[0506] 实施方案19.实施方案9的方法,其中所述副作用是粘膜炎。

[0507] 实施方案20.实施方案9的方法,其中所述拟肽大环化合物的施用增加所述第一附加药学活性剂的最大耐受剂量。

[0508] 实施方案21.实施方案1-20中任一项的方法,其中所述第一附加药学活性剂是拓扑异构酶抑制剂。

[0509] 实施方案22.实施方案21的方法,其中所述拓扑异构酶抑制剂是I类拓扑异构酶抑制剂。

[0510] 实施方案23.实施方案21的方法,其中所述拓扑异构酶抑制剂是II类拓扑异构酶抑制剂。

[0511] 实施方案24.实施方案21的方法,其中所述拓扑异构酶抑制剂是托泊替康。

[0512] 实施方案25.实施方案21的方法,其中所述拓扑异构酶抑制剂是芦比替康。

[0513] 实施方案26.实施方案21的方法,其中所述拓扑异构酶抑制剂是贝洛替康。

[0514] 实施方案27.实施方案21的方法,其中所述拓扑异构酶抑制剂是依托泊苷。

[0515] 实施方案28.实施方案21的方法,其中所述拓扑异构酶抑制剂是替尼泊苷。

[0516] 实施方案29.实施方案21的方法,其中所述第一附加药学活性剂的治疗有效量为约1.5mg/m^2。

[0517] 实施方案30.实施方案1-20中任一项的方法,其中所述第一附加药学活性剂是微管解装配阻断剂。

[0518] 实施方案31.实施方案30的方法,其中所述微管解装配阻断剂是多西他赛。

[0519] 实施方案32.实施方案30的方法,其中所述第一附加药学活性剂的治疗有效量为约75mg/m^2。

[0520] 实施方案33.实施方案1-20中任一项的方法,其中所述第一附加药学活性剂是类烷化剂。

[0521] 实施方案34.根据实施方案33所述的方法,其中所述类烷化剂是卡铂。

[0522] 实施方案35.实施方案1-20中任一项的方法,其中所述第一附加药学活性剂是紫杉烷。

[0523] 实施方案36.实施方案35的方法,其中所述紫杉烷是紫杉醇。

[0524] 实施方案37.实施方案1-36中任一项的方法,其进一步包括施用治疗有效量的第二附加药学活性剂。

[0525] 实施方案38.实施方案37的方法,其中所述第一附加药学活性剂是紫杉烷,并且所述第二附加药学活性剂是类烷化剂。

[0526] 实施方案39.实施方案38的方法,其中所述紫杉烷是紫杉醇。

[0527] 实施方案40.实施方案38或39的方法,其中所述类烷化剂是卡铂。

[0528] 实施方案41.实施方案37的方法,其中所述第一附加药学活性剂和所述第二附加药学活性剂同时施用。

[0529] 实施方案42.实施方案37的方法,其中所述第一附加药学活性剂和所述第二附加药学活性剂顺序施用。

[0530] 实施方案43.实施方案1-42中任一项的方法,其中所述拟肽大环化合物和所述第一附加药学活性剂同时施用。

[0531] 实施方案44.实施方案1-42中任一项的方法,其中所述拟肽大环化合物和所述第一附加药学活性剂顺序施用。

[0532] 实施方案45.实施方案1-42或44中任一项的方法,其中在施用所述第一附加药学活性剂之前约12小时至约36小时施用所述拟肽大环化合物。

[0533] 实施方案46.实施方案45的方法,其中在施用所述第一附加药学活性剂之前约24小时施用所述拟肽大环化合物。

[0534] 实施方案47.实施方案1-46中任一项的方法,其中:

-在6天周期的第1、2、3、4和5天施用所述拟肽大环化合物;

-在6天周期的第6天不施用所述拟肽大环化合物;

-在6天周期的第2、3、4、5和6天施用所述第一附加药学活性剂;并且

-在6天周期的第1天不施用所述第一附加药学活性剂。

[0535] 实施方案48.实施方案47的方法,其中所述拟肽大环化合物的每次施用在每次施用所述第一附加药学活性剂之前约12小时至约36小时进行。

[0536] 实施方案49.实施方案1-46中任一项的方法,其中:

-在3天周期的第1、2和3天施用所述拟肽大环化合物;

-在3天周期的第2天施用所述第一附加药学活性剂;并且

-在3天周期的第1天或第3天不施用所述第一附加药学活性剂。

[0537] 实施方案50.实施方案1-49中任一项的方法,其中所述拟肽大环化合物与MDM2结合。

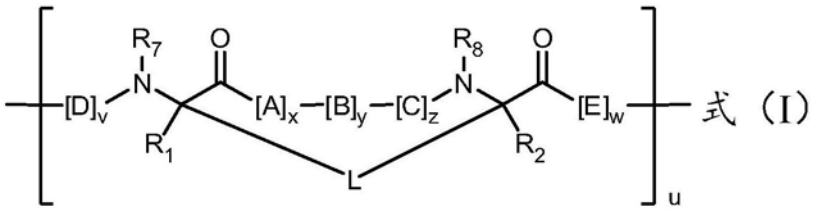
[0538] 实施方案51.实施方案1-50中任一项的方法,其中所述拟肽大环化合物与MDMX结合。

[0539] 实施方案52.实施方案1-49中任一项的方法,其中所述拟肽大环化合物与MDM2和MDMX结合。

[0540] 实施方案53.实施方案1-52中任一项的方法,其中所述拟肽大环化合物在所述非癌组织中诱导p53依赖性细胞周期停滞。

[0541] 实施方案54.实施方案1-53中任一项的方法,其中所述拟肽大环化合物的治疗有效量小于在所述受试者的非癌组织中诱导凋亡所需的所述拟肽大环化合物的量。

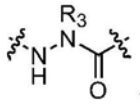
[0542] 实施方案55.实施方案1-54中任一项的方法,其中所述拟肽大环化合物具有下式:



式（I）

或其药学上可接受的盐，其中：

-每个A、C、D和E独立地为氨基酸；

-每个B独立地为氨基酸、、[-NH-L_3-CO-]、[-NH-L_3-SO_2-]或[-NH-L_3-]；

-每个R_1和R_2独立地为氢、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、环烷基烷基、杂烷基或杂环烷基，它们是未取代的或被卤素-取代；或者形成连接至所述D或E氨基酸之一的α位置的大环形成连接体L'；

-每个R_3独立地为氢、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、杂烷基、环烷基、杂环烷基、环烷基烷基、芳基或杂芳基，它们任选地被R_5取代；

-每个L和L'独立地为式-L_1-L_2-的大环形成连接体；

-每个L_1、L_2和L_3独立地为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚芳基、亚杂芳基或[-R_4-K-R_4-]$_n$，它们各自任选地被R_5取代；

-每个R_4独立地为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚芳基或亚杂芳基；

-每个K独立地为O、S、SO、SO_2、CO、CO_2或$CONR_3$；

-每个R_5独立地为卤素、烷基、-OR_6、-N(R_6)$_2$、-SR_6、-SOR_6、-SO_2R_6、-CO_2R_6、荧光部分、放射性同位素或治疗剂；

-每个R_6独立地为氢、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基烷基、杂环烷基、荧光部分、放射性同位素或治疗剂；

-每个R_7独立地为氢、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、杂烷基、环烷基烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基，它们任选地被R_5取代，或是与D残基形成的环状结构的一部分；

-每个R_8独立地为氢、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、杂烷基、环烷基烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基，它们任选地被R_5取代，或是与E残基形成的环状结构的一部分；

-每个v独立地为1-1000的整数；

-每个w独立地为1-1000的整数；

-u为1、2、3、4、5、6、7、8、9或10；

-每个x、y和z独立地为1、2、3、4、5、6、7、8、9或10；并且

-每个n独立地为1、2、3、4或5。

[0543] 实施方案56.实施方案55的方法，其中v为3-10。

[0544] 实施方案57.实施方案55的方法，其中v为3。

[0545] 实施方案58.实施方案55-57中任一项的方法，其中w为3-10。

[0546] 实施方案59.实施方案55-57中任一项的方法，其中w为6。

[0547] 实施方案60.实施方案55-59中任一项的方法，其中x+y+z＝6。

[0548] 实施方案61.实施方案55-60中任一项的方法，其中每个L_1和L_2独立地为亚烷基、亚

烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚芳基或亚杂芳基。

[0549] 实施方案62.实施方案55-60中任一项的方法，其中每个L_1和L_2独立地为亚烷基或亚烯基。

[0550] 实施方案63.实施方案55-62中任一项的方法，其中每个R_1和R_2独立地为氢、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、环烷基烷基、杂烷基或杂环烷基，它们是未取代的或被卤素-取代。

[0551] 实施方案64.实施方案55-62中任一项的方法，其中每个R_1和R_2独立地为氢。

[0552] 实施方案65.实施方案55-62中任一项的方法，其中每个R_1和R_2独立地为烷基。

[0553] 实施方案66.实施方案55-62中任一项的方法，其中每个R_1和R_2独立地为甲基。

[0554] 实施方案67.实施方案55-65中任一项的方法，其中u为1。

[0555] 实施方案68.实施方案55-67中任一项的方法，其中每个E为Ser或Ala，或d-Ala。

[0556] 实施方案69.实施方案1-68中任一项的方法，其中所述拟肽大环化合物包含与表1、表1a、表1b、表1c、表2a、表2b、表3或表3a中列出的氨基酸序列至少60％相同的氨基酸序列。

[0557] 实施方案70.实施方案1-68中任一项的方法，其中所述拟肽大环化合物包含与表1、表1a、表1b、表1c、表2a、表2b、表3或表3a中列出的氨基酸序列至少80％相同的氨基酸序列。

[0558] 实施方案71.实施方案1-70中任一项的方法，其中所述受试者是人。

[0559] 实施方案72.实施方案1-71中任一项的方法，其中，当在带对照的研究中向一组小鼠施用2.4mg/kg的所述拟肽大环化合物时，在这组小鼠的骨髓中发生以下指标的变化：

(i)平均p21 mRNA表达；

(ii)平均p53上调的凋亡调节剂(PUMA)mRNA表达；和

(iii)平均Noxa mRNA表达；

与图9所示的相应线的偏差最多为30％。

[0560] 实施方案73.实施方案1-71中任一项的方法，其中，当在带对照的研究中将5mg/kg的所述拟肽大环化合物施用于第一组5-乙炔基-2'-脱氧尿苷(EdU)治疗的小鼠，将10mg/kg的所述拟肽将大环化合物施用于第二组5-乙炔基-2'-脱氧尿苷(EdU)治疗的小鼠，以及将20mg/kg的所述拟肽大环化合物施用于第三组5-乙炔基-2'-脱氧尿苷(EdU)治疗的小鼠时，所述第一组、第二组和第三组中呈EdU+的谱系阴性、Kit阳性造血干细胞和祖细胞(HSPC)的百分比发生变化，与图11所示的相应线的偏差最多为30％。

[0561] 实施方案74.实施方案1-71中任一项的方法，其中：

-在6天周期的第1、2、3、4和5天施用所述拟肽大环化合物；

-在6天周期的第6天不施用所述拟肽大环化合物；

-在6天周期的第2、3、4、5和6天施用所述第一附加药学活性剂；

-在6天周期的第1天不施用所述第一附加药学活性剂；并且

-当在带对照的研究中：

(i)A组由在6天研究治疗期的第2、3、4、5和6天用1.5mg/kg的托泊替康治疗，而在6天研究治疗期的第1天不用托泊替康治疗的小鼠组成；并且

(ii)B组由在6天研究治疗期的第1、2、3、4和5天用2.4mg/kg的所述拟肽大环化合

物治疗并在6天研究治疗期的第2、3、4、5和6天用1.5mg/kg的托泊替康治疗的小鼠组成，其中B组小鼠在6天研究治疗期的第6天不用所述拟肽大环化合物治疗，并且在6天研究治疗期的第1天不用托泊替康治疗时；

与A组小鼠每μL血液中存在的嗜中性粒细胞数目相比，B组小鼠每μL血液中存在的嗜中性粒细胞数目增加，如图16D所示。

[0562] 实施方案75.实施方案1-71中任一项的方法，其中：

-在6天周期的第1、2、3、4和5天施用所述拟肽大环化合物；

-在6天周期的第6天不施用所述拟肽大环化合物；

-在6天周期的第2、3、4、5和6天施用所述第一附加药学活性剂；

-在6天周期的第1天不施用所述第一附加药学活性剂；并且

-当在带对照的研究中：

(i)A组由在6天研究治疗期的第2、3、4、5和6天用1.5mg/kg的托泊替康治疗，而在6天研究治疗期的第1天不用托泊替康治疗的小鼠组成；并且

(ii)B组由在6天研究治疗期的第1、2、3、4和5天用2.4mg/kg的所述拟肽大环化合物治疗并在6天研究治疗期的第2、3、4、5和6天用1.5mg/kg的托泊替康治疗的小鼠组成，其中B组小鼠在6天研究治疗期的第6天不用所述拟肽大环化合物治疗，并且在6天研究治疗期的第1天不用托泊替康治疗时；

与A组小鼠每μL血液中存在的嗜中性粒细胞数目相比，B组小鼠每μL血液中存在的嗜中性粒细胞数目增加，如图16C所示。

[0563] 实施方案76.实施方案1-71中任一项的方法，其中：

-在6天周期的第1、2、3、4和5天施用所述拟肽大环化合物；

-在6天周期的第6天不施用所述拟肽大环化合物；

-在6天周期的第2、3、4、5和6天施用所述第一附加药学活性剂；

-在6天周期的第1天不施用所述第一附加药学活性剂；并且

-当在带对照的研究中：

(i)A组由在6天研究治疗期的第2、3、4、5和6天用1.5mg/kg的托泊替康治疗，而在6天研究治疗期的第1天不用托泊替康治疗的小鼠组成；并且

(ii)B组由在6天研究治疗期的第1、2、3、4和5天用2.4mg/kg的所述拟肽大环化合物治疗并在6天研究治疗期的第2、3、4、5和6天用1.5mg/kg的托泊替康治疗的小鼠组成，其中B组小鼠在6天研究治疗期的第6天不用所述拟肽大环化合物治疗，并且在6天研究治疗期的第1天不用托泊替康治疗时；

与A组小鼠消化道组织的肥大/增生的测量值相比，B组小鼠消化道组织的肥大/增生的测量值改变，如图24B所示。

[0564] 实施方案77.实施方案1-71中任一项的方法，其中：

-在6天周期的第1、2、3、4和5天施用所述拟肽大环化合物；

-在6天周期的第6天不施用所述拟肽大环化合物；

-在6天周期的第2、3、4、5和6天施用所述第一附加药学活性剂；

-在6天周期的第1天不施用所述第一附加药学活性剂；并且

-当在带对照的研究中：

(i)A组由在6天研究治疗期的第2、3、4、5和6天用1.5mg/kg的托泊替康治疗，而在6天研究治疗期的第1天不用托泊替康治疗的小鼠组成；并且

(ii)B组由在6天研究治疗期的第1、2、3、4和5天用2.4mg/kg的所述拟肽大环化合物治疗并在6天研究治疗期的第2、3、4、5和6天用1.5mg/kg的托泊替康治疗的小鼠组成，其中B组小鼠在6天研究治疗期的第6天不用所述拟肽大环化合物治疗，并且在6天研究治疗期的第1天不用托泊替康治疗时；

B组小鼠中约80％小鼠的消化道组织样品的肥大/增生评分为2，A组约70％小鼠的消化道组织样品的肥大/增生评分为3。

[0565] 实施方案78.实施方案37的方法，其中：

-所述拟肽大环化合物的第一次施用在所述第一附加药学活性剂施用前8小时进行；

-所述拟肽大环化合物的第二次施用在所述第一附加药学活性剂施用前1小时进行；

-所述拟肽大环化合物的第三次施用在所述第一附加药学活性剂施用后8小时进行；

-当在带对照的研究中：

(i)A组由在第一时间点用25mg/kg卡铂和5mg/kg紫杉醇治疗的小鼠组成；

(ii)B组由在第一时间点用25mg/kg卡铂和5mg/kg紫杉醇治疗并在第二时间点、第三时间点和第四时间点用2.4mg/kg的所述拟肽大环化合物治疗的小鼠组成；并且

(iii)第二时间点为第一时间点前约8小时，第三时间点为第一时间点前约1小时，第四时间点为第一时间点后约8小时时；

与A组小鼠每μL血液中存在的嗜中性粒细胞数目相比，B组小鼠每μL血液中存在的嗜中性粒细胞数目增加，如图18B所示。

[0566] 实施方案79.一种治疗有需要的受试者中的癌症的方法，该方法包括向该受试者施用治疗有效量的拟肽大环化合物和治疗有效量的第一附加药学活性剂，其中：

-所述癌症具有p53灭活突变；

-所述受试者的非癌组织包含功能性p53蛋白；并且

-所述非癌组织是骨髓或消化道组织。

[0567] 实施方案80.实施方案79的方法，其进一步包括检测所述p53灭活突变。

[0568] 实施方案81.实施方案79或80的方法，其中所述非癌组织是骨髓。

[0569] 实施方案82.实施方案79或80的方法，其中所述非癌组织是消化道组织。

[0570] 实施方案83.实施方案79-82中任一项的方法，其中所述拟肽大环化合物的施用在所述非癌组织中诱导细胞周期停滞。

[0571] 实施方案84.实施方案79-83中任一项的方法，其中所述拟肽大环化合物的施用不在所述癌症中诱导细胞周期停滞或凋亡。

[0572] 实施方案85.实施方案79-84中任一项的方法，其中所述拟肽大环化合物的施用降低所述受试者发生与所述第一附加药学活性剂的施用相关的副作用的可能性。

[0573] 实施方案86.实施方案79-85中任一项的方法，其中所述拟肽大环化合物的施用降低所述受试者中的副作用水平，其中所述副作用与所述第一附加药学活性剂的施用相关。

[0574] 实施方案87.实施方案85的方法,其中所述副作用与骨髓抑制相关。

[0575] 实施方案88.实施方案85的方法,其中所述副作用与消化组织相关。

[0576] 实施方案89.实施方案85的方法,其中所述副作用是嗜中性粒细胞减少症。

[0577] 实施方案90.实施方案85的方法,其中所述副作用是血小板减少症。

[0578] 实施方案91.实施方案85的方法,其中所述副作用是粘膜炎。

[0579] 实施方案92.实施方案86的方法,其中所述副作用与骨髓抑制相关。

[0580] 实施方案93.实施方案86的方法,其中所述副作用与消化组织相关。

[0581] 实施方案94.实施方案86的方法,其中所述副作用是嗜中性粒细胞减少症。

[0582] 实施方案95.实施方案86的方法,其中所述副作用是血小板减少症。

[0583] 实施方案96.实施方案86的方法,其中所述副作用是粘膜炎。

[0584] 实施方案97.实施方案79-96中任一项的方法,其中所述拟肽大环化合物的施用增加所述第一附加药学活性剂的最大耐受剂量。

[0585] 实施方案98.实施方案79-97中任一项的方法,其中所述第一附加药学活性剂是拓扑异构酶抑制剂。

[0586] 实施方案99.实施方案98的方法,其中所述拓扑异构酶抑制剂是II类拓扑异构酶抑制剂。

[0587] 实施方案100.实施方案98的方法,其中所述拓扑异构酶抑制剂是I类拓扑异构酶抑制剂。

[0588] 实施方案101.实施方案98的方法,其中所述拓扑异构酶抑制剂是托泊替康。

[0589] 实施方案102.实施方案98的方法,其中所述拓扑异构酶抑制剂是芦比替康。

[0590] 实施方案103.实施方案98的方法,其中所述拓扑异构酶抑制剂是贝洛替康。

[0591] 实施方案104.实施方案98的方法,其中所述拓扑异构酶抑制剂是依托泊苷。

[0592] 实施方案105.实施方案98的方法,其中所述拓扑异构酶抑制剂是替尼泊苷。

[0593] 实施方案106.实施方案98的方法,其中所述第一附加药学活性剂的治疗有效量为约1.5mg/m^2。

[0594] 实施方案107.实施方案79-97中任一项的方法,其中所述第一附加药学活性剂是微管解装配阻断剂。

[0595] 实施方案108.实施方案107的方法,其中所述微管解装配阻断剂是多西他赛。

[0596] 实施方案109.实施方案107的方法,其中所述第一附加药学活性剂的治疗有效量为约75mg/m^2。

[0597] 实施方案110.实施方案79-97中任一项的方法,其中所述第一附加药学活性剂是类烷化剂。

[0598] 实施方案111.根据实施方案110所述的方法,其中所述类烷化剂是卡铂。

[0599] 实施方案112.实施方案79-97中任一项的方法,其中所述第一附加药学活性剂是紫杉烷。

[0600] 实施方案113.实施方案112的方法,其中所述紫杉烷是紫杉醇。

[0601] 实施方案114.实施方案79-113中任一项的方法,其进一步包括施用治疗有效量的第二附加药学活性剂。

[0602] 实施方案115.实施方案114的方法,其中所述第一附加药学活性剂是紫杉烷,并且

所述第二附加药学活性剂是类烷化剂。

[0603] 实施方案116.实施方案115的方法，其中所述紫杉烷是紫杉醇。

[0604] 实施方案117.实施方案115或116的方法，其中所述类烷化剂是卡铂。

[0605] 实施方案118.实施方案114的方法，其中所述第一附加药学活性剂和所述第二附加药学活性剂同时施用。

[0606] 实施方案119.实施方案114的方法，其中所述第一附加药学活性剂和所述第二附加药学活性剂顺序施用。

[0607] 实施方案120.实施方案79-119中任一项的方法，其中所述拟肽大环化合物和所述第一附加药学活性剂同时施用。

[0608] 实施方案121.实施方案79-119中任一项的方法，其中所述拟肽大环化合物和所述第一附加药学活性剂顺序施用。

[0609] 实施方案122.实施方案79-119或121中任一项的方法，其中在施用所述第一附加药学活性剂之前约12小时至约36小时施用所述拟肽大环化合物。

[0610] 实施方案123.实施方案122的方法，其中在施用所述第一附加药学活性剂之前约24小时施用拟肽大环化合物。

[0611] 实施方案124.实施方案79-123中任一项的方法，其中：

-在6天周期的第1、2、3、4和5天施用所述拟肽大环化合物；

-在6天周期的第6天不施用所述拟肽大环化合物；

-在6天周期的第2、3、4、5和6天施用所述第一附加药学活性剂；并且

-在6天周期的第1天不施用所述第一附加药学活性剂。

[0612] 实施方案125.实施方案124的方法，其中所述拟肽大环化合物的每次施用在每次施用所述第一附加药学活性剂之前约12小时至约36小时进行。

[0613] 实施方案126.实施方案79-123中任一项的方法，其中：

-在3天周期的第1、2和3天施用所述拟肽大环化合物；

-在3天周期的第2天施用所述第一附加药学活性剂；并且

-在3天周期的第1天或第3天不施用所述第一附加药学活性剂。

[0614] 实施方案127.实施方案79-126中任一项的方法，其中所述拟肽大环化合物与MDM2结合。

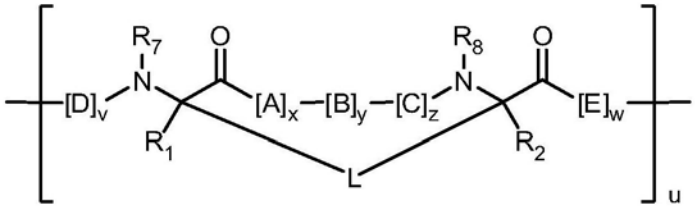
[0615] 实施方案128.实施方案79-127中任一项的方法，其中所述拟肽大环化合物与MDMX结合。

[0616] 实施方案129.实施方案79-126中任一项的方法，其中所述拟肽大环化合物与MDM2和MDMX结合。

[0617] 实施方案130.实施方案79-129中任一项的方法，其中所述拟肽大环化合物在所述非癌组织中诱导p53依赖性细胞周期停滞。

[0618] 实施方案131.实施方案79-130中任一项的方法，其中所述拟肽大环化合物的治疗有效量小于在所述受试者的非癌组织中诱导凋亡所需的所述拟肽大环化合物的量。

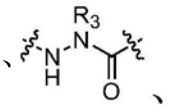
[0619] 实施方案132.实施方案79-131中任一项的方法，其中所述拟肽大环化合物具有下式：



式（I）

或其药学上可接受的盐，其中：

-每个A、C、D和E独立地为氨基酸；

-每个B独立地为氨基酸、、[-NH-L_3-CO-]、[-NH-L_3-SO_2-]或[-NH-L_3-]；

-每个R_1和R_2独立地为氢、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、环烷基烷基、杂烷基或杂环烷基，它们是未取代的或被卤素-取代；或者形成连接至所述D或E氨基酸之一的α位置的大环形成连接体L'；

-每个R_3独立地为氢、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、杂烷基、环烷基、杂环烷基、环烷基烷基、芳基或杂芳基，它们任选地被R_5取代；

-每个L和L'独立地为式-L_1-L_2-的大环形成连接体；

-每个L_1、L_2和L_3独立地为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚芳基、亚杂芳基或[-R_4-K-R_4-]$_n$，它们各自任选地被R_5取代；

-每个R_4独立地为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚芳基或亚杂芳基；

-每个K独立地为O、S、SO、SO_2、CO、CO_2或$CONR_3$；

-每个R_5独立地为卤素、烷基、-OR_6、-N(R_6)$_2$、-SR_6、-SOR_6、-SO_2R_6、-CO_2R_6、荧光部分、放射性同位素或治疗剂；

-每个R_6独立地为氢、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基烷基、杂环烷基、荧光部分、放射性同位素或治疗剂；

-每个R_7独立地为氢、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、杂烷基、环烷基烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基，它们任选地被R_5取代，或是与D残基形成的环状结构的一部分；

-每个R_8独立地为氢、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、杂烷基、环烷基烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基，它们任选地被R_5取代，或是与E残基形成的环状结构的一部分；

-每个v独立地为1-1000的整数；

-每个w独立地为1-1000的整数；

-u为1、2、3、4、5、6、7、8、9或10；

-每个x、y和z独立地为1、2、3、4、5、6、7、8、9或10；并且

-每个n独立地为1、2、3、4或5。

[0620] 实施方案133.实施方案132的方法，其中v为3-10。

[0621] 实施方案134.实施方案132的方法，其中v为3。

[0622] 实施方案135.实施方案132-134中任一项的方法，其中w为3-10。

[0623] 实施方案136.实施方案132-134中任一项的方法，其中w为6。

[0624] 实施方案137.实施方案132-136中任一项的方法，其中每个L_1和L_2独立地为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚芳基或亚杂芳基。

[0625] 实施方案138.实施方案132-136中任一项的方法，其中每个L_1和L_2独立地为亚烷基或亚烯基。

[0626] 实施方案139.实施方案132-136中任一项的方法，其中每个L_1和L_2独立地为亚烷基或亚烯基。

[0627] 实施方案140.实施方案132-139中任一项的方法，其中每个R_1和R_2独立地为氢、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、环烷基烷基、杂烷基或杂环烷基，它们是未取代的或被卤素-取代。

[0628] 实施方案141.实施方案132-139中任一项的方法，其中每个R_1和R_2独立地为氢。

[0629] 实施方案142.实施方案132-139中任一项的方法，其中每个R_1和R_2独立地为烷基。

[0630] 实施方案143.实施方案132-139中任一项的方法，其中每个R_1和R_2独立地为甲基。

[0631] 实施方案144.实施方案132-143中任一项的方法，其中u为1。

[0632] 实施方案145.实施方案132-144中任一项的方法，其中每个E为Ser或Ala，或d-Ala。

[0633] 实施方案146.实施方案79-145中任一项的方法，其中所述拟肽大环化合物包含与表1、表1a、表1b、表1c、表2a、表2b、表3或表3a中列出的氨基酸序列至少60％相同的氨基酸序列。

[0634] 实施方案147.实施方案79-145中任一项的方法，其中所述拟肽大环化合物包含与表1、表1a、表1b、表1c、表2a、表2b、表3或表3a中列出的氨基酸序列至少80％相同的氨基酸序列。

[0635] 实施方案148.实施方案79-147中任一项的方法，其中所述受试者是人。

[0636] 实施方案149.实施方案79-148中任一项的方法，其中，当在带对照的研究中向一组小鼠施用2.4mg/kg的所述拟肽大环化合物时，在这组小鼠的骨髓中发生以下指标的变化：

(i)平均p21 mRNA表达；

(ii)平均p53上调的凋亡调节剂(PUMA)mRNA表达；和

(iii)平均Noxa mRNA表达；

与图9所示的相应线的偏差最多为30％。

[0637] 实施方案150.实施方案79-148中任一项的方法，其中，当在带对照的研究中将5mg/kg的所述拟肽大环化合物施用于第一组5-乙炔基-2'-脱氧尿苷(EdU)治疗的小鼠，将10mg/kg的所述拟肽将大环化合物施用于第二组5-乙炔基-2'-脱氧尿苷(EdU)治疗的小鼠，以及将20mg/kg的所述拟肽大环化合物施用于第三组5-乙炔基-2'-脱氧尿苷(EdU)治疗的小鼠时，所述第一组、第二组和第三组中呈EdU+的谱系阴性、Kit阳性造血干细胞和祖细胞(HSPC)的百分比发生变化，与图11所示的相应线的偏差最多为30％。

[0638] 实施方案151.实施方案79-148中任一项的方法，其中：

-在6天周期的第1、2、3、4和5天施用所述拟肽大环化合物；

-在6天周期的第6天不施用所述拟肽大环化合物；

-在6天周期的第2、3、4、5和6天施用所述第一附加药学活性剂；

-在6天周期的第1天不施用所述第一附加药学活性剂;并且

-当在带对照的研究中:

(i)A组由在6天研究治疗期的第2、3、4、5和6天用1.5mg/kg的托泊替康治疗,而在6天研究治疗期的第1天不用托泊替康治疗的小鼠组成;并且

(ii)B组由在6天研究治疗期的第1、2、3、4和5天用2.4mg/kg的所述拟肽大环化合物治疗并在6天研究治疗期的第2、3、4、5和6天用1.5mg/kg的托泊替康治疗的小鼠组成,其中B组小鼠在6天研究治疗期的第6天不用所述拟肽大环化合物治疗,并且在6天研究治疗期的第1天不用托泊替康治疗时;

与A组小鼠每μL血液中存在的嗜中性粒细胞数目相比,B组小鼠每μL血液中存在的嗜中性粒细胞数目增加,如图16D所示。

[0639] 实施方案152.实施方案79-148中任一项的方法,其中:

-在6天周期的第1、2、3、4和5天施用所述拟肽大环化合物;

-在6天周期的第6天不施用所述拟肽大环化合物;

-在6天周期的第2、3、4、5和6天施用所述第一附加药学活性剂;

-在6天周期的第1天不施用所述第一附加药学活性剂;并且

-当在带对照的研究中:

(i)A组由在6天研究治疗期的第2、3、4、5和6天用1.5mg/kg的托泊替康治疗,而在6天研究治疗期的第1天不用托泊替康治疗的小鼠组成;并且

(ii)B组由在6天研究治疗期的第1、2、3、4和5天用2.4mg/kg的所述拟肽大环化合物治疗并在6天研究治疗期的第2、3、4、5和6天用1.5mg/kg的托泊替康治疗的小鼠组成,其中B组小鼠在6天研究治疗期的第6天不用所述拟肽大环化合物治疗,并且在6天研究治疗期的第1天不用托泊替康治疗时;

与A组小鼠每μL血液中存在的嗜中性粒细胞数目相比,B组小鼠每μL血液中存在的嗜中性粒细胞数目增加,如图16C所示。

[0640] 实施方案153.实施方案79-148中任一项的方法,其中:

-在6天周期的第1、2、3、4和5天施用所述拟肽大环化合物;

-在6天周期的第6天不施用所述拟肽大环化合物;

-在6天周期的第2、3、4、5和6天施用所述第一附加药学活性剂;

-在6天周期的第1天不施用所述第一附加药学活性剂;并且

-当在带对照的研究中:

(i)A组由在6天研究治疗期的第2、3、4、5和6天用1.5mg/kg的托泊替康治疗,而在6天研究治疗期的第1天不用托泊替康治疗的小鼠组成;并且

(ii)B组由在6天研究治疗期的第1、2、3、4和5天用2.4mg/kg的所述拟肽大环化合物治疗并在6天研究治疗期的第2、3、4、5和6天用1.5mg/kg的托泊替康治疗的小鼠组成,其中B组小鼠在6天研究治疗期的第6天不用所述拟肽大环化合物治疗,并且在6天研究治疗期的第1天不用托泊替康治疗时;

与A组小鼠消化道组织的肥大/增生的测量值相比,B组小鼠消化道组织的肥大/增生的测量值改变,如图24B所示。

[0641] 实施方案154.实施方案79-148中任一项的方法,其中:

-在6天周期的第1、2、3、4和5天施用所述拟肽大环化合物；

-在6天周期的第6天不施用所述拟肽大环化合物；

-在6天周期的第2、3、4、5和6天施用所述第一附加药学活性剂；

-在6天周期的第1天不施用所述第一附加药学活性剂；并且

-当在带对照的研究中：

(i)A组由在6天研究治疗期的第2、3、4、5和6天用1.5mg/kg的托泊替康治疗，而在6天研究治疗期的第1天不用托泊替康治疗的小鼠组成；并且

(ii)B组由在6天研究治疗期的第1、2、3、4和5天用2.4mg/kg的所述拟肽大环化合物治疗并在6天研究治疗期的第2、3、4、5和6天用1.5mg/kg的托泊替康治疗的小鼠组成，其中B组小鼠在6天研究治疗期的第6天不用所述拟肽大环化合物治疗，并且在6天研究治疗期的第1天不用托泊替康治疗时；

B组小鼠中约80％小鼠的消化道组织样品的肥大/增生评分为2，A组约70％小鼠的消化道组织样品的肥大/增生评分为3。

[0642] 实施方案155.实施方案114的方法，其中：

-所述拟肽大环化合物的第一次施用在所述第一附加药学活性剂施用前8小时进行；

-所述拟肽大环化合物的第二次施用在所述第一附加药学活性剂施用前1小时进行；

-所述拟肽大环化合物的第三次施用在所述第一附加药学活性剂施用后8小时进行；

-当在带对照的研究中：

(i)A组由在第一时间点用25mg/kg卡铂和5mg/kg紫杉醇治疗的小鼠组成；

(ii)B组由在第一时间点用25mg/kg卡铂和5mg/kg紫杉醇治疗并在第二时间点、第三时间点和第四时间点用2.4mg/kg的所述拟肽大环化合物治疗的小鼠组成；并且

(iii)第二时间点为第一时间点前约8小时，第三时间点为第一时间点前约1小时，第四时间点为第一时间点后约8小时时；

与A组小鼠每μL血液中存在的嗜中性粒细胞数目相比，B组小鼠每μL血液中存在的嗜中性粒细胞数目增加，如图18B所示。

[0643] 实施方案156.一种治疗有需要的受试者中的肿瘤的方法，该方法包括向该受试者施用治疗有效量的拟肽大环化合物和治疗有效量的第一附加药学活性剂，其中：

-所述拟肽大环化合物的施用不在所述肿瘤中诱导细胞周期停滞；

-所述拟肽大环化合物的施用不在所述肿瘤中诱导凋亡；

-所述治疗有效量的第一附加药学活性剂与副作用相关；并且

-所述拟肽大环化合物的施用降低所述受试者发生所述副作用的可能性。

[0644] 实施方案157.根据实施方案156的方法，其中所述受试者是人。

[0645] 实施方案158.实施方案156或157的方法，其中所述拟肽大环化合物的施用在非癌组织中诱导细胞周期停滞。

[0646] 实施方案159.实施方案156-158中任一项所述的方法，其中所述肿瘤具有p53灭活突变。

[0647] 实施方案160.实施方案159的方法,其进一步包括检测所述p53灭活突变。

[0648] 实施方案161.实施方案156-160中任一项的方法,其中所述拟肽大环化合物的施用降低所述副作用的水平。

[0649] 实施方案162.实施方案156-161中任一项的方法,其中所述副作用与骨髓抑制相关。

[0650] 实施方案163.实施方案156-161中任一项的方法,其中所述副作用与消化道组织相关。

[0651] 实施方案164.实施方案156-162中任一项的方法,其中所述副作用是嗜中性粒细胞减少症。

[0652] 实施方案165.实施方案156-162中任一项的方法,其中所述副作用是血小板减少症。

[0653] 实施方案166.实施方案156-161或163中任一项的方法,其中所述副作用是粘膜炎。

[0654] 实施方案167.实施方案156-166中任一项的方法,其中所述拟肽大环化合物的施用增加所述第一附加药学活性剂的最大耐受剂量。

[0655] 实施方案168.实施方案156-167中任一项的方法,其中所述第一附加药学活性剂是拓扑异构酶抑制剂。

[0656] 实施方案169.实施方案168的方法,其中所述拓扑异构酶抑制剂是I类拓扑异构酶抑制剂。

[0657] 实施方案170.实施方案168的方法,其中所述拓扑异构酶抑制剂是II类拓扑异构酶抑制剂。

[0658] 实施方案171.实施方案168的方法,其中所述拓扑异构酶抑制剂是托泊替康。

[0659] 实施方案172.实施方案168的方法,其中所述拓扑异构酶抑制剂是芦比替康。

[0660] 实施方案173.实施方案168的方法,其中所述拓扑异构酶抑制剂是贝洛替康。

[0661] 实施方案174.实施方案168的方法,其中所述拓扑异构酶抑制剂是依托泊苷。

[0662] 实施方案175.实施方案168的方法,其中所述拓扑异构酶抑制剂是替尼泊苷。

[0663] 实施方案176.实施方案168的方法,其中所述第一附加药学活性剂的治疗有效量为约1.5mg/m^2。

[0664] 实施方案177.实施方案156-167中任一项的方法,其中所述第一附加药学活性剂是微管解装配阻断剂。

[0665] 实施方案178.实施方案177的方法,其中所述微管解装配阻断剂是多西他赛。

[0666] 实施方案179.实施方案177的方法,其中所述第一附加药学活性剂的治疗有效量为约75mg/m^2。

[0667] 实施方案180.实施方案156-167中任一项的方法,其中所述第一附加药学活性剂是类烷化剂。

[0668] 实施方案181.根据实施方案180所述的方法,其中所述类烷化剂是卡铂。

[0669] 实施方案182.实施方案156-167中任一项的方法,其中所述第一附加药学活性剂是紫杉烷。

[0670] 实施方案183.实施方案182的方法,其中所述紫杉烷是紫杉醇。

[0671] 实施方案184.实施方案156-183中任一项的方法,其进一步包括施用治疗有效量的第二附加药学活性剂。

[0672] 实施方案185.实施方案184的方法,其中所述第一附加药学活性剂是紫杉烷,并且所述第二附加药学活性剂是类烷化剂。

[0673] 实施方案186.实施方案185的方法,其中所述紫杉烷是紫杉醇。

[0674] 实施方案187.实施方案185或186的方法,其中所述类烷化剂是卡铂。

[0675] 实施方案188.实施方案184-187中任一项的方法,其中所述第一附加药学活性剂和所述第二附加药学活性剂同时施用。

[0676] 实施方案189.实施方案184-187中任一项的方法,其中所述第一附加药学活性剂和所述第二附加药学活性剂顺序施用。

[0677] 实施方案190.实施方案156-189中任一项的方法,其中所述拟肽大环化合物和所述第一附加药学活性剂同时施用。

[0678] 实施方案191.实施方案156-189中任一项的方法,其中所述拟肽大环化合物和所述第一附加药学活性剂顺序施用。

[0679] 实施方案192.实施方案156-189或191中任一项的方法,其中在施用所述第一附加药学活性剂之前约12小时至约36小时施用所述拟肽大环化合物。

[0680] 实施方案193.实施方案192的方法,其中在施用所述第一附加药学活性剂之前约24小时施用所述拟肽大环化合物。

[0681] 实施方案194.实施方案156-193中任一项的方法,其中:

-在6天周期的第1、2、3、4和5天施用所述拟肽大环化合物;

-在6天周期的第6天不施用所述拟肽大环化合物;

-在6天周期的第2、3、4、5和6天施用所述第一附加药学活性剂;并且

-在6天周期的第1天不施用所述第一附加药学活性剂。

[0682] 实施方案195.实施方案194的方法,其中所述拟肽大环化合物的每次施用在每次施用所述第一附加药学活性剂之前约12小时至约36小时进行。

[0683] 实施方案196.实施方案156-193中任一项的方法,其中:

-在3天周期的第1、2和3天施用所述拟肽大环化合物;

-在3天周期的第2天施用所述第一附加药学活性剂;并且

-在3天周期的第1天或第3天不施用所述第一附加药学活性剂。

[0684] 实施方案197.实施方案156-196中任一项的方法,其中所述拟肽大环化合物与MDM2结合。

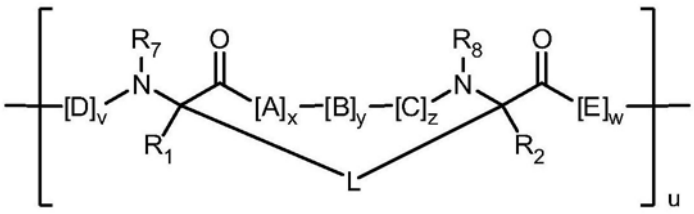
[0685] 实施方案198.实施方案156-197中任一项的方法,其中所述拟肽大环化合物与MDMX结合。

[0686] 实施方案199.实施方案156-196中任一项的方法,其中所述拟肽大环化合物与MDM2和MDMX结合。

[0687] 实施方案200.实施方案156-199中任一项的方法,其中所述拟肽大环化合物在非癌组织中诱导p53依赖性细胞周期停滞。

[0688] 实施方案201.实施方案156-200中任一项的方法,其中所述拟肽大环化合物的治疗有效量小于在所述受试者的非癌组织中诱导凋亡所需的所述拟肽大环化合物的量。

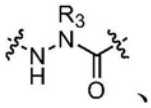
[0689] 实施方案202.实施方案156-201中任一项的方法，其中所述拟肽大环化合物具有下式：



式（I）

或其药学上可接受的盐，其中：

-每个A、C、D和E独立地为氨基酸；

-每个B独立地为氨基酸、、[-NH-L_3-CO-]、[-NH-L_3-SO_2-]或[-NH-L_3-]；

-每个R_1和R_2独立地为氢、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、环烷基烷基、杂烷基或杂环烷基，它们是未取代的或被卤素-取代；或者形成连接至所述D或E氨基酸之一的α位置的大环形成连接体L'；

-每个R_3独立地为氢、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、杂烷基、环烷基、杂环烷基、环烷基烷基、芳基或杂芳基，它们任选地被R_5取代；

-每个L和L'独立地为式-L_1-L_2-的大环形成连接体；

-每个L_1、L_2和L_3独立地为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚芳基、亚杂芳基或[-R_4-K-R_4-]$_n$，它们各自任选地被R_5取代；

-每个R_4独立地为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚芳基或亚杂芳基；

-每个K独立地为O、S、SO、SO_2、CO、CO_2或$CONR_3$；

-每个R_5独立地为卤素、烷基、-OR_6、-$N(R_6)_2$、-SR_6、-SOR_6、-SO_2R_6、-CO_2R_6、荧光部分、放射性同位素或治疗剂；

-每个R_6独立地为氢、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基烷基、杂环烷基、荧光部分、放射性同位素或治疗剂；

-每个R_7独立地为氢、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、杂烷基、环烷基烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基，它们任选地被R_5取代，或是与D残基形成的环状结构的一部分；

-每个R_8独立地为氢、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、杂烷基、环烷基烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基，它们任选地被R_5取代，或是与E残基形成的环状结构的一部分；

-每个v独立地为1-1000的整数；

-每个w独立地为1-1000的整数；

-u为1、2、3、4、5、6、7、8、9或10；

-每个x、y和z独立地为1、2、3、4、5、6、7、8、9或10；并且

-每个n独立地为1、2、3、4或5。

[0690] 实施方案203.实施方案202的方法，其中v为3-10。

[0691] 实施方案204.实施方案202的方法，其中v为3。

[0692] 实施方案205.实施方案202-204中任一项的方法，其中w为3-10。

[0693] 实施方案206.实施方案202-204中任一项的方法，其中w为6。

[0694] 实施方案207.实施方案202-206中任一项的方法，其中x+y+z＝6。

[0695] 实施方案208.实施方案202-207中任一项的方法，其中每个L_1和L_2独立地为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚芳基或亚杂芳基。

[0696] 实施方案209.实施方案202-207中任一项的方法，其中每个L_1和L_2独立地为亚烷基或亚烯基。

[0697] 实施方案210.实施方案202-209中任一项的方法，其中每个R_1和R_2独立地为氢、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、环烷基烷基、杂烷基或杂环烷基，它们是未取代的或被卤素-取代。

[0698] 实施方案211.实施方案202-209中任一项的方法，其中每个R_1和R_2独立地为氢。

[0699] 实施方案212.实施方案202-209中任一项的方法，其中每个R_1和R_2独立地为烷基。

[0700] 实施方案213.实施方案202-209中任一项的方法，其中每个R_1和R_2独立地为甲基。

[0701] 实施方案214.实施方案202-213中任一项的方法，其中u为1。

[0702] 实施方案215.实施方案202-214中任一项的方法，其中每个E为Ser或Ala，或d-Ala。

[0703] 实施方案216.实施方案156-215中任一项的方法，其中所述拟肽大环化合物包含与表1、表1a、表1b、表1c、表2a、表2b、表3或表3a中列出的氨基酸序列至少60％相同的氨基酸序列。

[0704] 实施方案217.实施方案156-215中任一项的方法，其中所述拟肽大环化合物包含与表1、表1a、表1b、表1c、表2a、表2b、表3或表3a中列出的氨基酸序列至少80％相同的氨基酸序列。

[0705] 实施方案218.实施方案156-217中任一项的方法，其中，当在带对照的研究中向一组小鼠施用2.4mg/kg的所述拟肽大环化合物时，在这组小鼠的骨髓中发生以下指标的变化：

(i)平均p21 mRNA表达；

(ii)平均p53上调的凋亡调节剂(PUMA)mRNA表达；和

(iii)平均Noxa mRNA表达；

与图9所示的相应线的偏差最多为30％。

[0706] 实施方案219.实施方案156-217中任一项的方法，其中，当在带对照的研究中将5mg/kg的所述拟肽大环化合物施用于第一组5-乙炔基-2'-脱氧尿苷(EdU)治疗的小鼠，将10mg/kg的所述拟肽将大环化合物施用于第二组5-乙炔基-2'-脱氧尿苷(EdU)治疗的小鼠，以及将20mg/kg的所述拟肽大环化合物施用于第三组5-乙炔基-2'-脱氧尿苷(EdU)治疗的小鼠时，所述第一组、第二组和第三组中呈EdU+的谱系阴性、Kit阳性造血干细胞和祖细胞(HSPC)的百分比发生变化，与图11所示的相应线的偏差最多为30％。

[0707] 实施方案220.实施方案156-217中任一项的方法，其中：

-在6天周期的第1、2、3、4和5天施用所述拟肽大环化合物；

-在6天周期的第6天不施用所述拟肽大环化合物；

-在6天周期的第2、3、4、5和6天施用所述第一附加药学活性剂；

-在6天周期的第1天不施用所述第一附加药学活性剂;并且

-当在带对照的研究中:

(i)A组由在6天研究治疗期的第2、3、4、5和6天用1.5mg/kg的托泊替康治疗,而在6天研究治疗期的第1天不用托泊替康治疗的小鼠组成;并且

(ii)B组由在6天研究治疗期的第1、2、3、4和5天用2.4mg/kg的所述拟肽大环化合物治疗并在6天研究治疗期的第2、3、4、5和6天用1.5mg/kg的托泊替康治疗的小鼠组成,其中B组小鼠在6天研究治疗期的第6天不用所述拟肽大环化合物治疗,并且在6天研究治疗期的第1天不用托泊替康治疗时;

与A组小鼠每μL血液中存在的嗜中性粒细胞数目相比,B组小鼠每μL血液中存在的嗜中性粒细胞数目增加,如图16D所示。

[0708] 实施方案221.实施方案156-217中任一项的方法,其中:

-在6天周期的第1、2、3、4和5天施用所述拟肽大环化合物;

-在6天周期的第6天不施用所述拟肽大环化合物;

-在6天周期的第2、3、4、5和6天施用所述第一附加药学活性剂;

-在6天周期的第1天不施用所述第一附加药学活性剂;并且

-当在带对照的研究中:

(i)A组由在6天研究治疗期的第2、3、4、5和6天用1.5mg/kg的托泊替康治疗,而在6天研究治疗期的第1天不用托泊替康治疗的小鼠组成;并且

(ii)B组由在6天研究治疗期的第1、2、3、4和5天用2.4mg/kg的所述拟肽大环化合物治疗并在6天研究治疗期的第2、3、4、5和6天用1.5mg/kg的托泊替康治疗的小鼠组成,其中B组小鼠在6天研究治疗期的第6天不用所述拟肽大环化合物治疗,并且在6天研究治疗期的第1天不用托泊替康治疗时;

与A组小鼠每μL血液中存在的嗜中性粒细胞数目相比,B组小鼠每μL血液中存在的嗜中性粒细胞数目增加,如图16C所示。

[0709] 实施方案222.实施方案156-217中任一项的方法,其中:

-在6天周期的第1、2、3、4和5天施用所述拟肽大环化合物;

-在6天周期的第6天不施用所述拟肽大环化合物;

-在6天周期的第2、3、4、5和6天施用所述第一附加药学活性剂;

-在6天周期的第1天不施用所述第一附加药学活性剂;并且

-当在带对照的研究中:

(i)A组由在6天研究治疗期的第2、3、4、5和6天用1.5mg/kg的托泊替康治疗,而在6天研究治疗期的第1天不用托泊替康治疗的小鼠组成;并且

(ii)B组由在6天研究治疗期的第1、2、3、4和5天用2.4mg/kg的所述拟肽大环化合物治疗并在6天研究治疗期的第2、3、4、5和6天用1.5mg/kg的托泊替康治疗的小鼠组成,其中B组小鼠在6天研究治疗期的第6天不用所述拟肽大环化合物治疗,并且在6天研究治疗期的第1天不用托泊替康治疗时;

与A组小鼠消化道组织的肥大/增生的测量值相比,B组小鼠消化道组织的肥大/增生的测量值改变,如图24B所示。

[0710] 实施方案223.实施方案156-217中任一项的方法,其中:

-在6天周期的第1、2、3、4和5天施用所述拟肽大环化合物；

-在6天周期的第6天不施用所述拟肽大环化合物；

-在6天周期的第2、3、4、5和6天施用所述第一附加药学活性剂；

-在6天周期的第1天不施用所述第一附加药学活性剂;并且

-当在带对照的研究中：

(i)A组由在6天研究治疗期的第2、3、4、5和6天用1.5mg/kg的托泊替康治疗,而在6天研究治疗期的第1天不用托泊替康治疗的小鼠组成;并且

(ii)B组由在6天研究治疗期的第1、2、3、4和5天用2.4mg/kg的所述拟肽大环化合物治疗并在6天研究治疗期的第2、3、4、5和6天用1.5mg/kg的托泊替康治疗的小鼠组成,其中B组小鼠在6天研究治疗期的第6天不用所述拟肽大环化合物治疗,并且在6天研究治疗期的第1天不用托泊替康治疗时；

B组小鼠中约80％小鼠的消化道组织样品的肥大/增生评分为2,A组约70％小鼠的消化道组织样品的肥大/增生评分为3。

[0711] 实施方案224.实施方案156-217中任一项的方法,其中：

-所述拟肽大环化合物的第一次施用在所述第一附加药学活性剂施用前8小时进行；

-所述拟肽大环化合物的第二次施用在所述第一附加药学活性剂施用前1小时进行；

-所述拟肽大环化合物的第三次施用在所述第一附加药学活性剂施用后8小时进行；

-当在带对照的研究中：

(i)A组由在第一时间点用25mg/kg卡铂和5mg/kg紫杉醇治疗的小鼠组成；

(ii)B组由在第一时间点用25mg/kg卡铂和5mg/kg紫杉醇治疗并在第二时间点、第三时间点和第四时间点用2.4mg/kg的所述拟肽大环化合物治疗的小鼠组成;并且

(iii)第二时间点为第一时间点前约8小时,第三时间点为第一时间点前约1小时,第四时间点为第一时间点后约8小时时；

与A组小鼠每μL血液中存在的嗜中性粒细胞数目相比,B组小鼠每μL血液中存在的嗜中性粒细胞数目增加,如图18B所示。

[0712] 实施方案225.实施方案1-22或43-78中任一项的方法,其中所述第一附加药学活性剂是化疗剂。

[0713] 实施方案226.实施方案1-22或43-78中任一项的方法,其中所述第一附加药学活性剂是抗肿瘤剂。

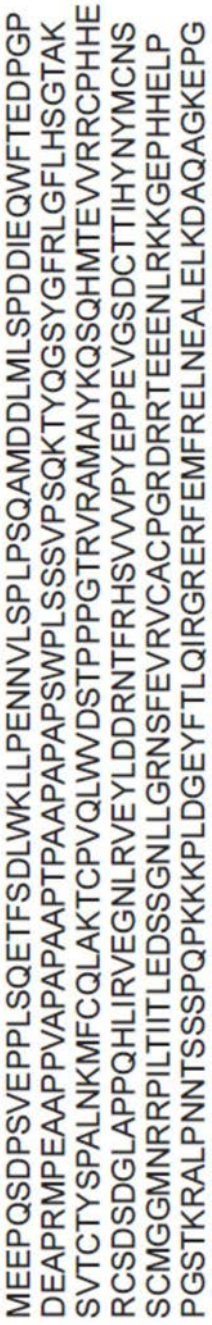
[0714] 实施方案227.实施方案79-97或120-155中任一项的方法,其中所述第一附加药学活性剂是化疗剂。

[0715] 实施方案228.实施方案79-97或120-155中任一项的方法,其中所述第一附加药学活性剂是抗肿瘤剂。

[0716] 实施方案229.实施方案156-167或190-224中任一项的方法,其中所述第一附加药学活性剂是化疗剂。

[0717] 实施方案230.实施方案156-167或190-224中任一项的方法,其中所述第一附加药

学活性剂是抗肿瘤剂。



人野生型P53蛋白质序列

图1

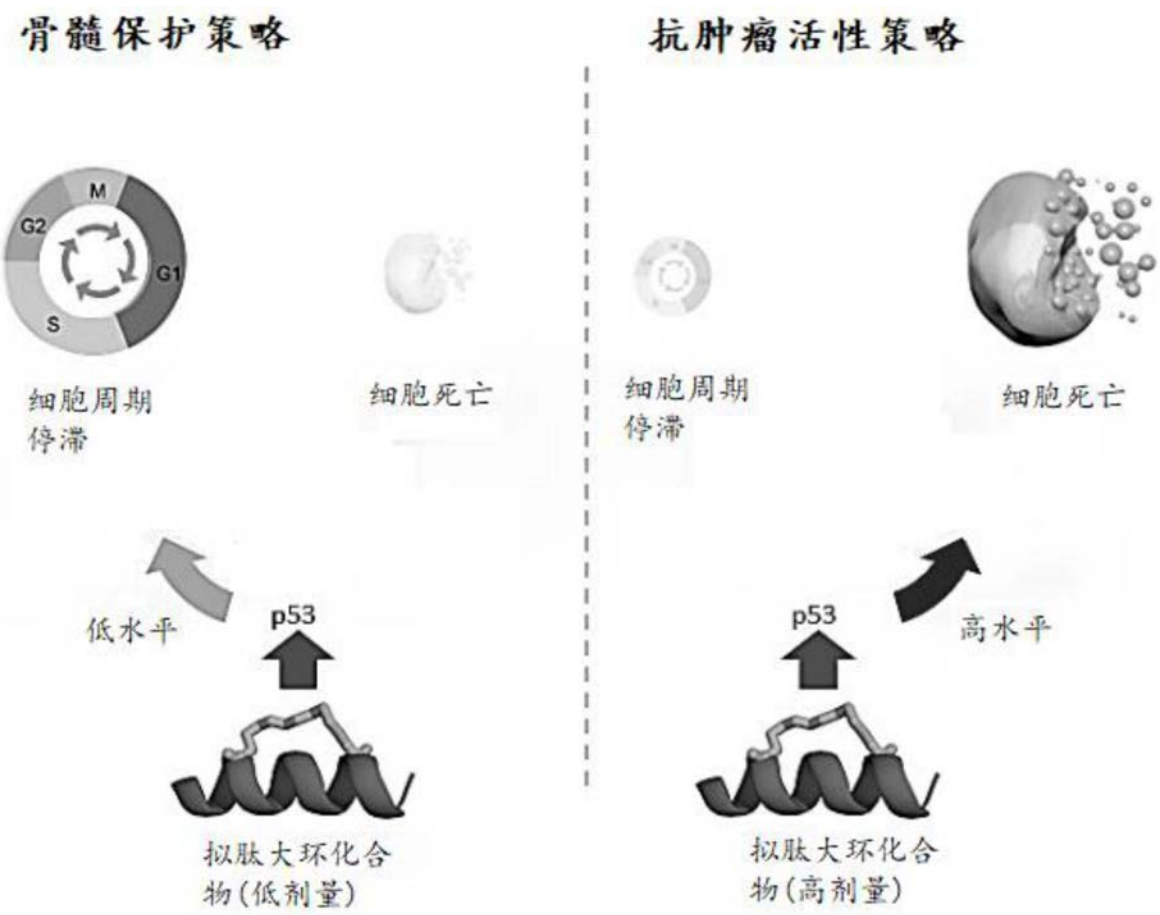

骨髓保护策略
M
G2
G1
S
细胞周期
停滞
细胞死亡
低水平
p53
拟肽大环化合
物(低剂量)
抗肿瘤活性策略
细胞周期
停滞
细胞死亡
p53
高水平
拟肽大环化合
物(高剂量)

图2

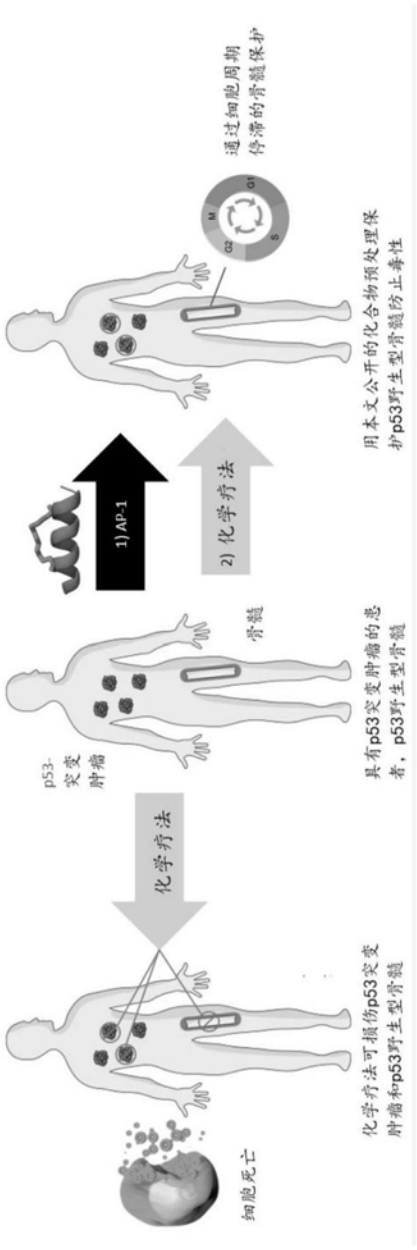
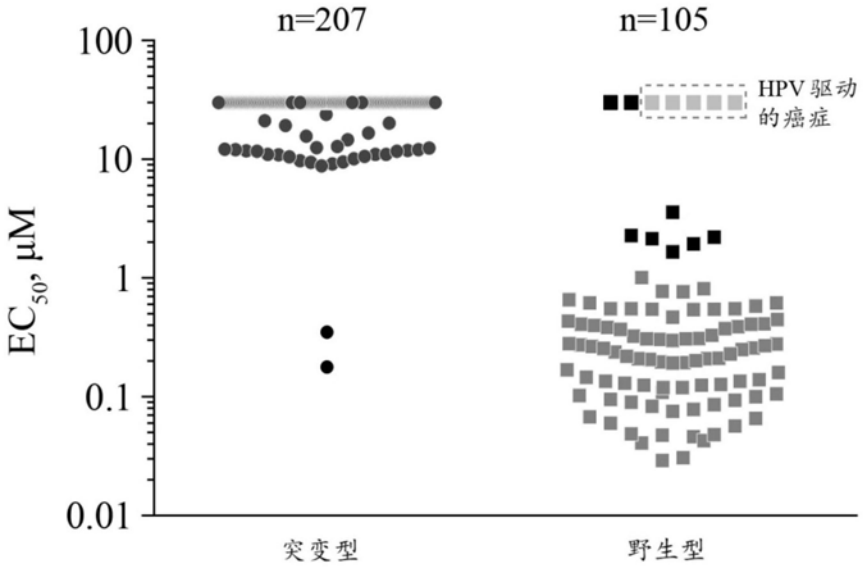

细胞死亡
化学疗法可损伤p53突变肿瘤和p53野生型骨髓
化学疗法
p53-突变肿瘤
骨髓
具有p53突变肿瘤的患者，p53野生型骨髓
1) AP-1
2) 化学疗法
通过细胞周期停滞的骨髓保护
用本文公开的化合物预处理保护p53野生型骨髓防止毒性

图3



EC_{50} = 50%的肿瘤细胞被杀死时的药物浓度
≥ 30 μM 的 EC_{50} 值显示为 30 μM

图4

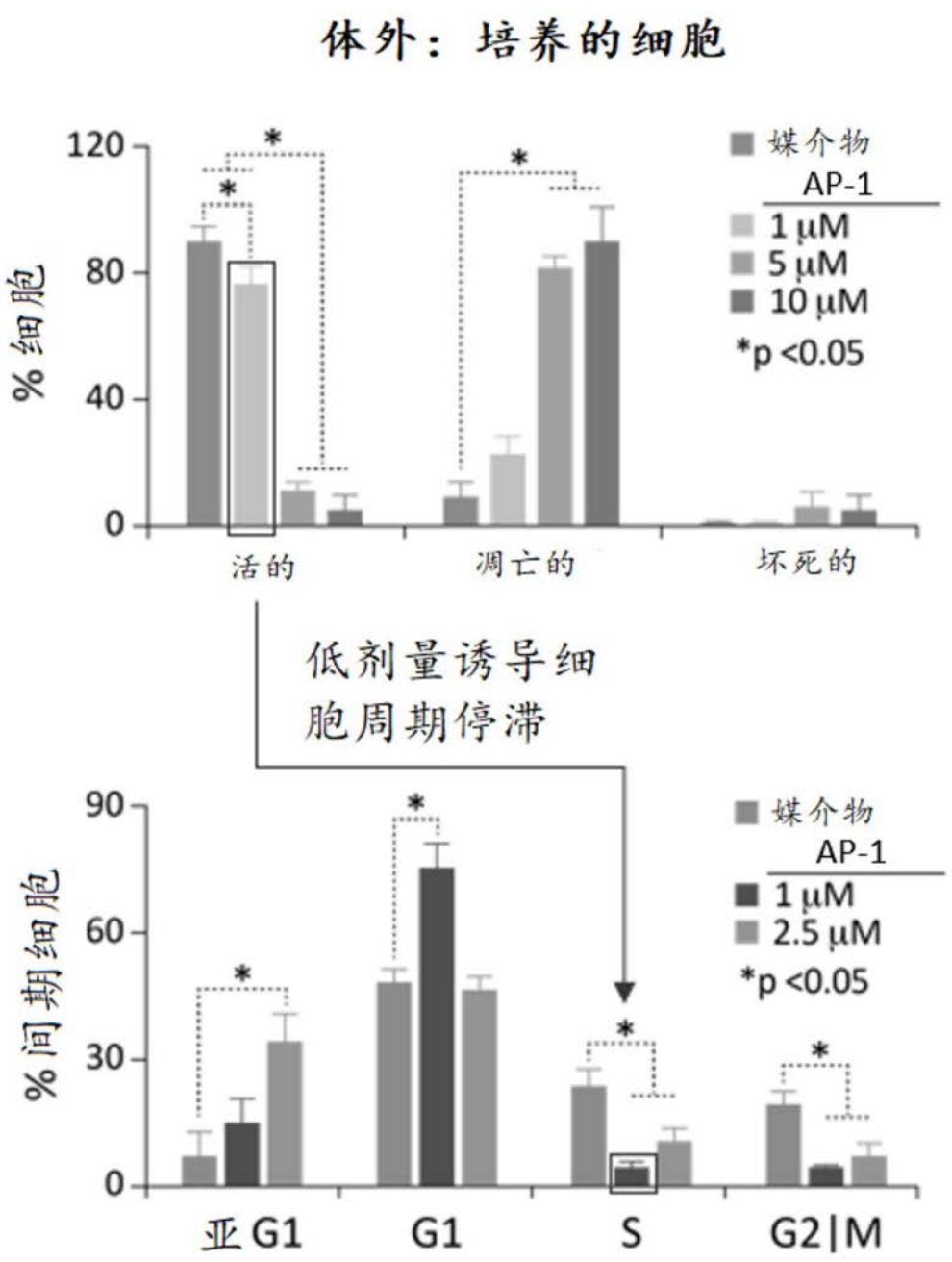

体外：培养的细胞
120
80
40
0
% 细胞
活的
凋亡的
坏死的
媒介物
AP-1
1 μM
5 μM
10 μM
*p <0.05
低剂量诱导细胞周期停滞
90
60
30
0
% 间期细胞
亚G1
G1
S
G2|M
媒介物
AP-1
1 μM
2.5 μM
*p <0.05

图5

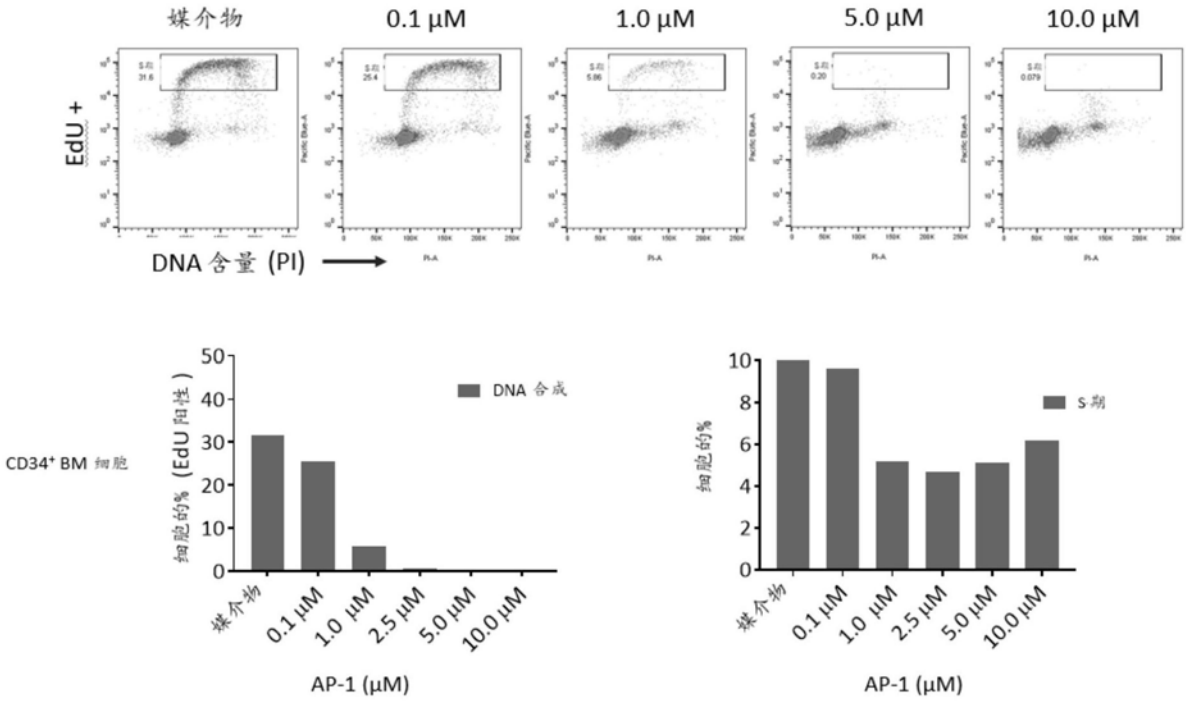

媒介物
0.1 μM
1.0 μM
5.0 μM
10.0 μM
EdU +
DNA 含量 (PI)
CD34+ BM 细胞
细胞的% (EdU 阳性)
DNA 合成
AP-1 (μM)
细胞的%
S 期
AP-1 (μM)

图6

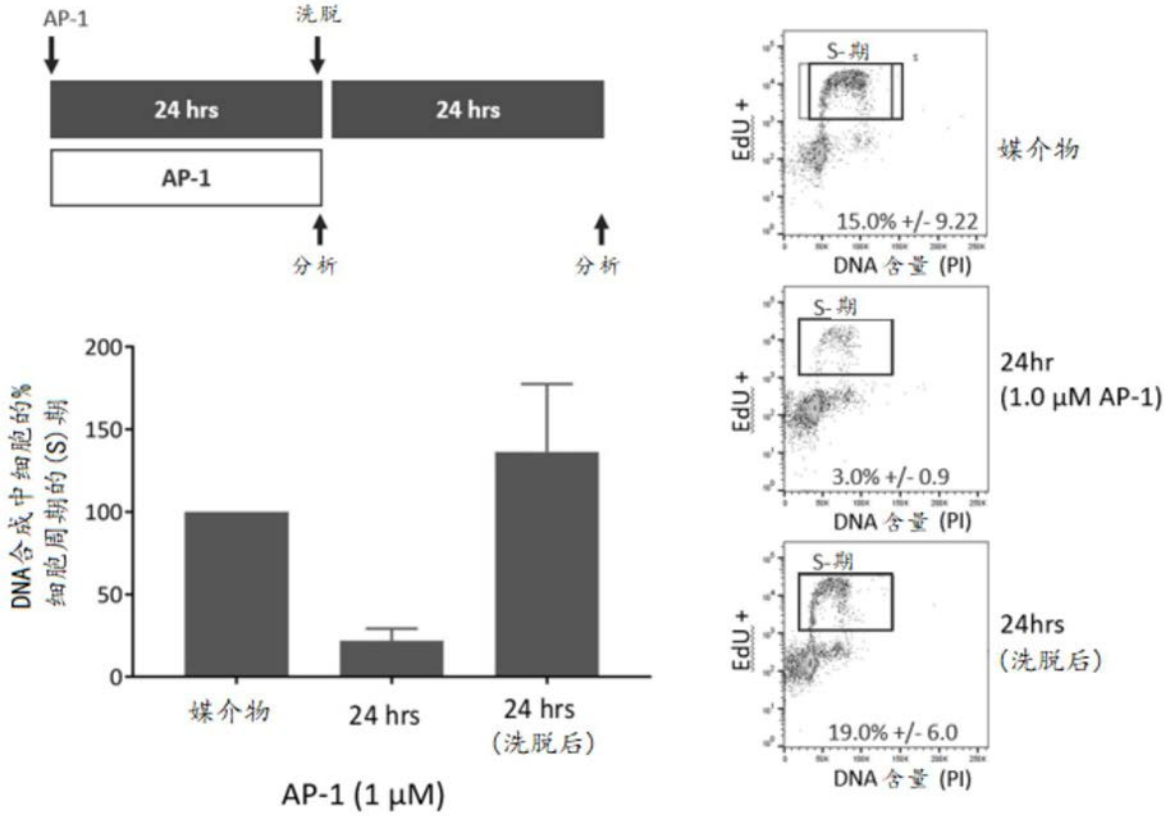

AP-1
洗脱
24 hrs
24 hrs
AP-1
分析
分析
DNA合成中细胞的%
细胞周期的(S)期
媒介物
24 hrs
24 hrs
(洗脱后)
AP-1 (1 μM)
S-期
EdU +
15.0% +/- 9.22
媒介物
DNA 含量 (PI)
3.0% +/- 0.9
24hr
(1.0 μM AP-1)
19.0% +/- 6.0
24hrs
(洗脱后)

图7

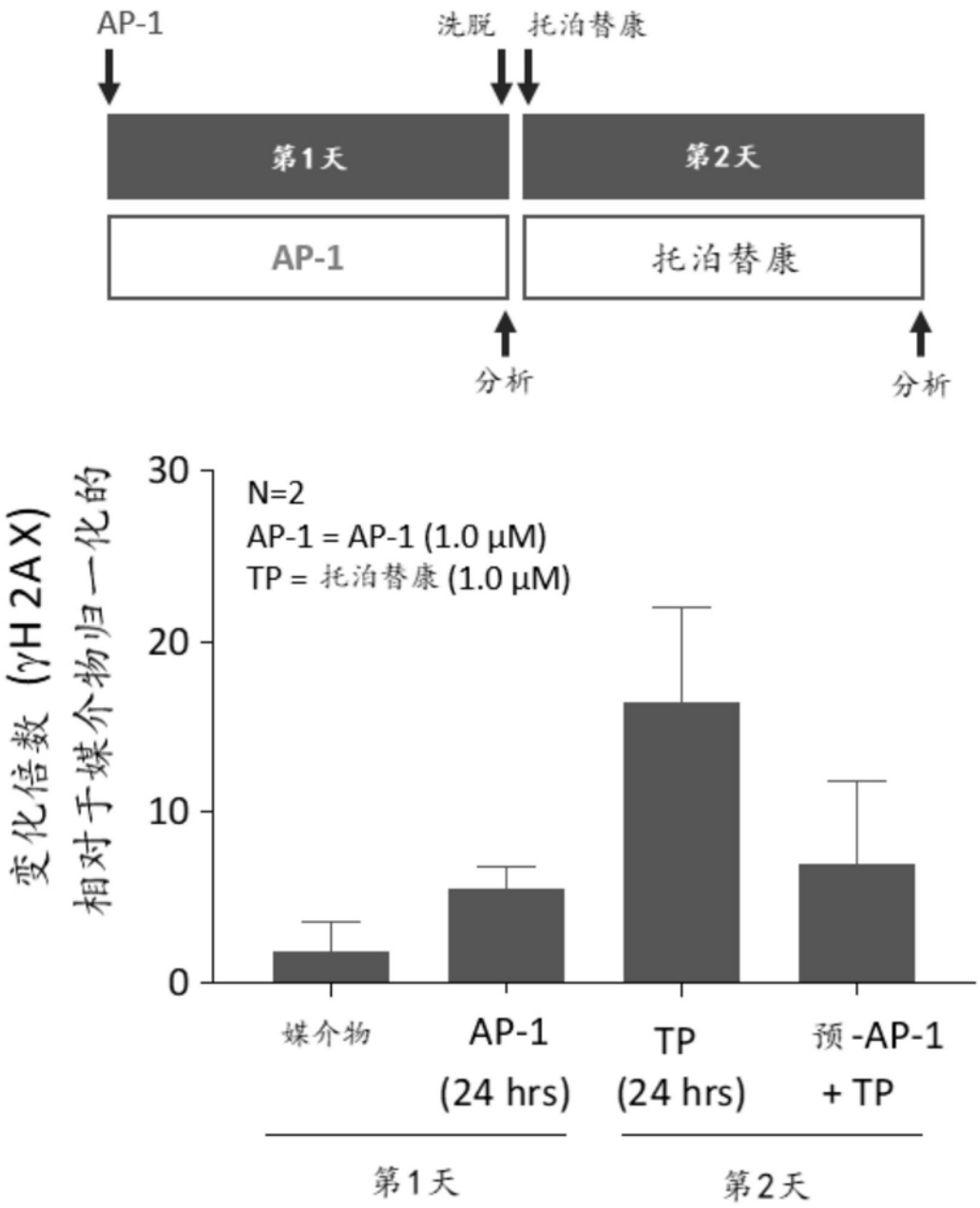

AP-1
洗脱
托泊替康
第1天
第2天
AP-1
托泊替康
分析
分析
变化倍数 (γH2AX)
相对于媒介物归一化的
30
20
10
0
N=2
AP-1 = AP-1 (1.0 μM)
TP = 托泊替康 (1.0 μM)
媒介物
AP-1
(24 hrs)
TP
(24 hrs)
预-AP-1
+ TP
第1天
第2天

图8

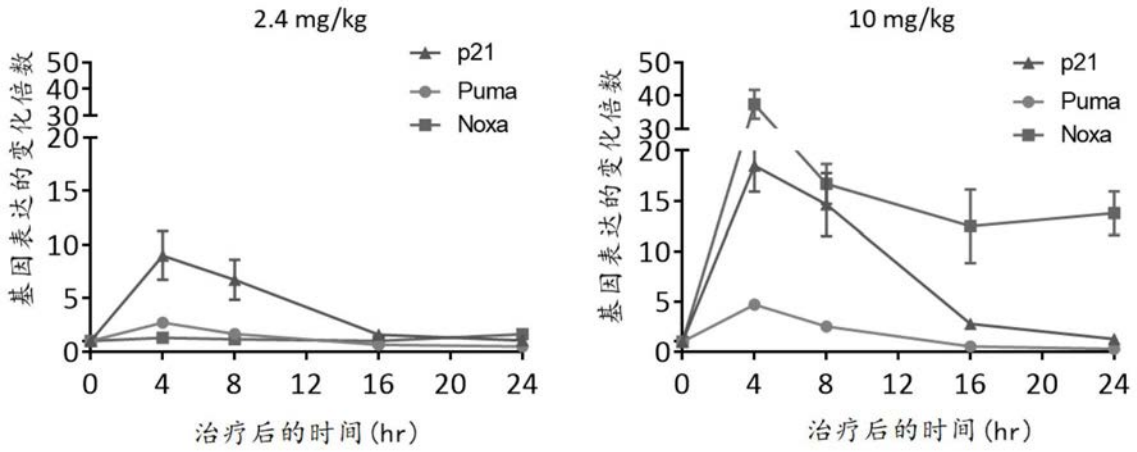

2.4 mg/kg
10 mg/kg
p21
Puma
Noxa
基因表达的变化倍数
治疗后的时间(hr)

图9

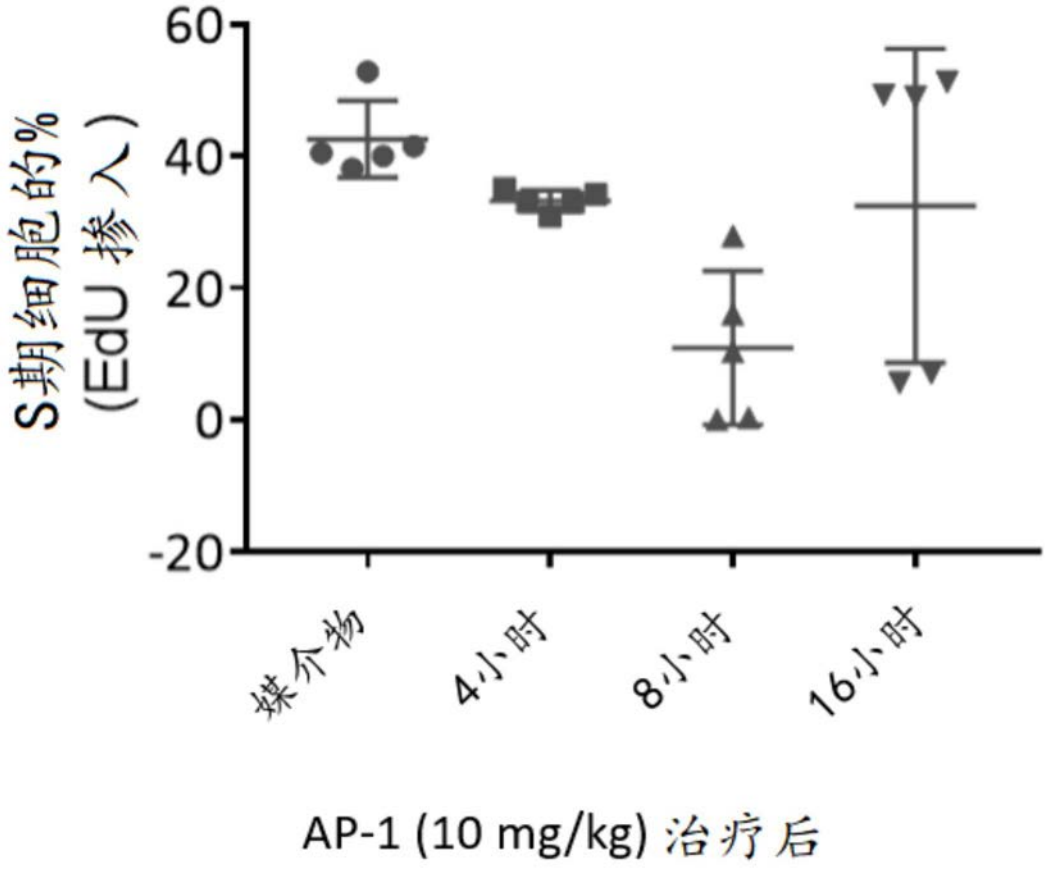

S期细胞的%
(EdU 掺入)
60
40
20
0
-20
媒介物
4小时
8小时
16小时
AP-1 (10 mg/kg) 治疗后

图10

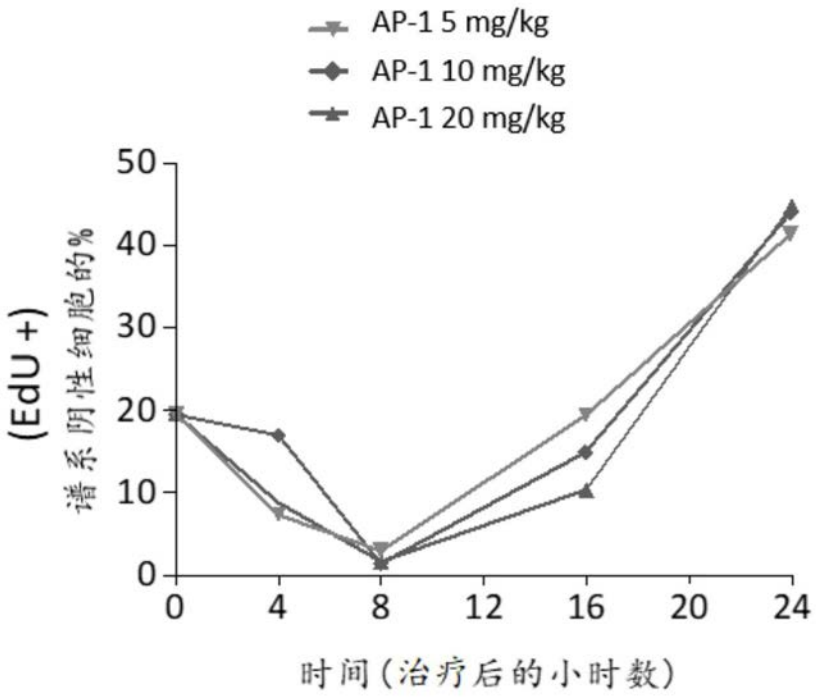

AP-1 5 mg/kg
AP-1 10 mg/kg
AP-1 20 mg/kg
50
40
30
20
10
0
(EdU+)
谱系阴性细胞的%
0
4
8
12
16
20
24
时间(治疗后的小时数)

图11

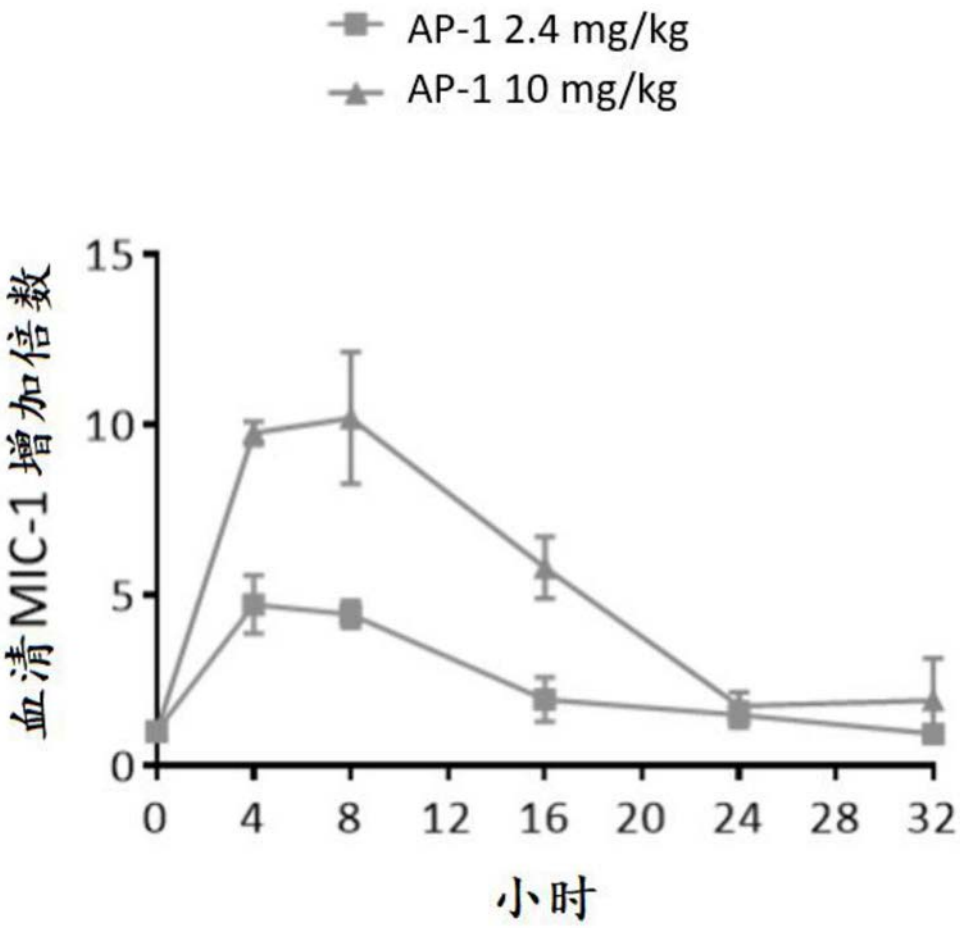

AP-1 2.4 mg/kg
AP-1 10 mg/kg
血清MIC-1增加倍数
15
10
5
0
0
4
8
12
16
20
24
28
32
小时

图12

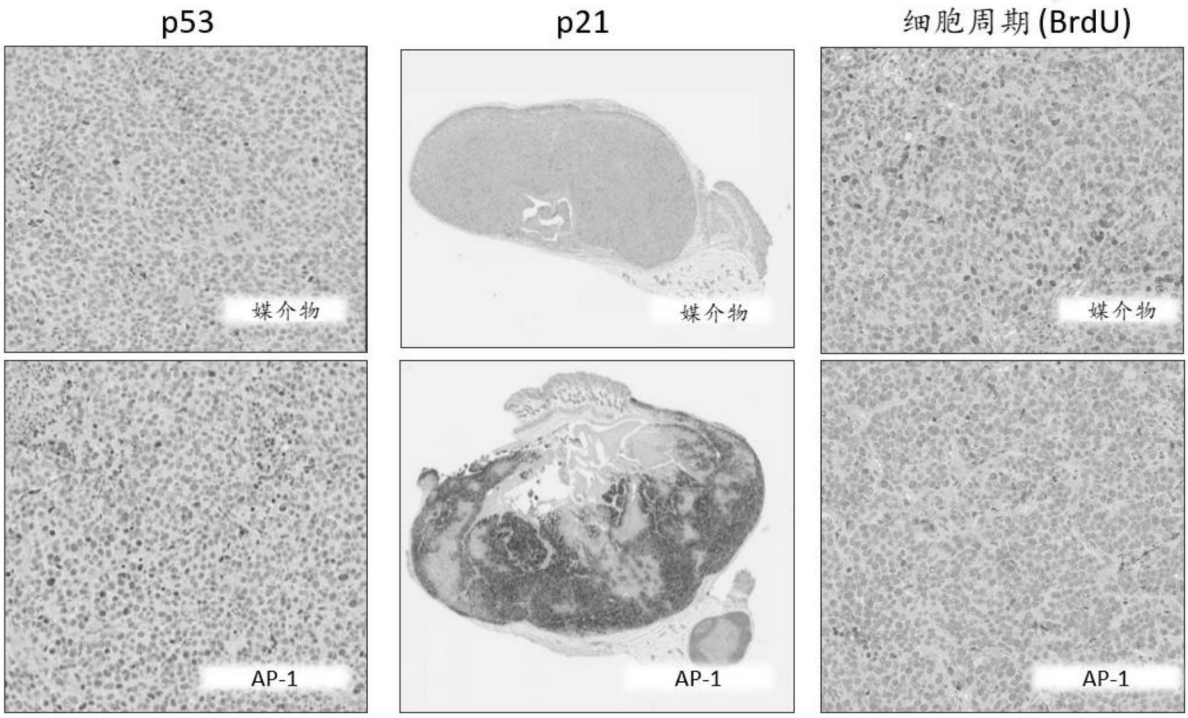

p53
p21
细胞周期(BrdU)
媒介物
媒介物
媒介物
AP-1
AP-1
AP-1

图13

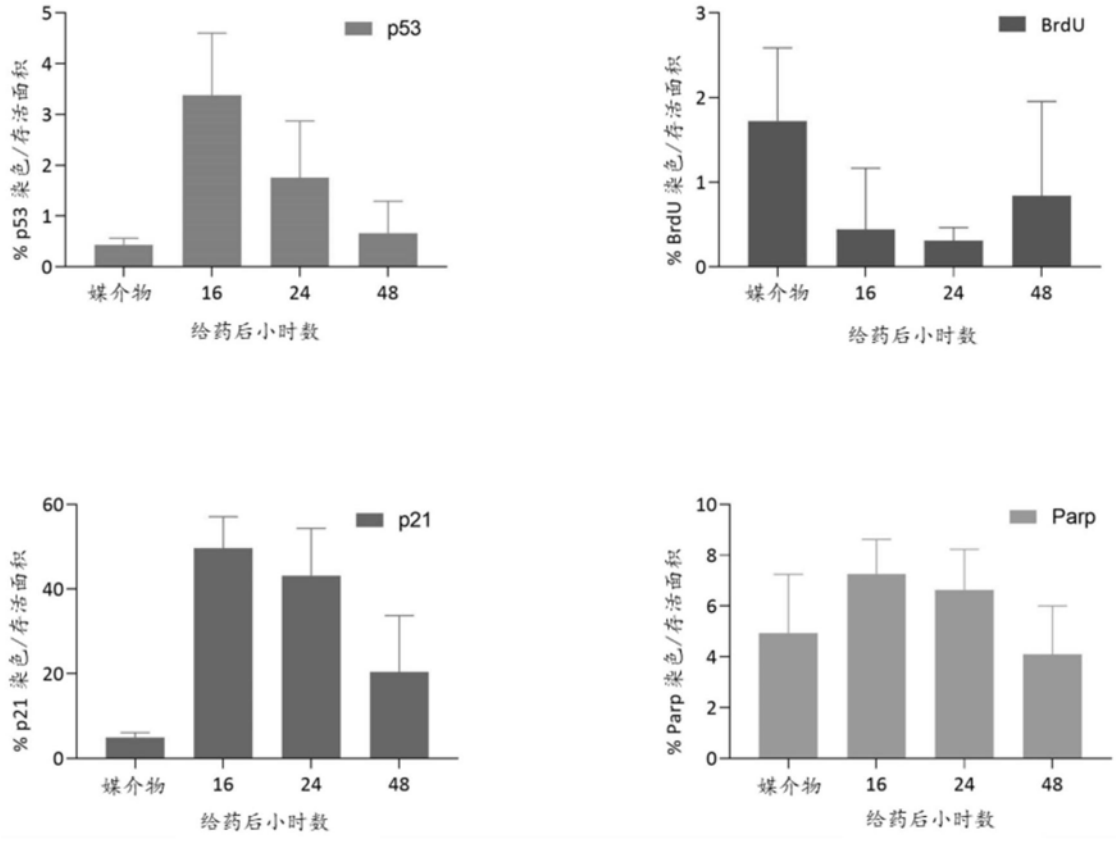

% p53 染色/存活面积
p53
媒介物
16
24
48
给药后小时数
% BrdU 染色/存活面积
BrdU
媒介物
16
24
48
给药后小时数
% p21 染色/存活面积
p21
媒介物
16
24
48
给药后小时数
% Parp 染色/存活面积
Parp
媒介物
16
24
48
给药后小时数

图14

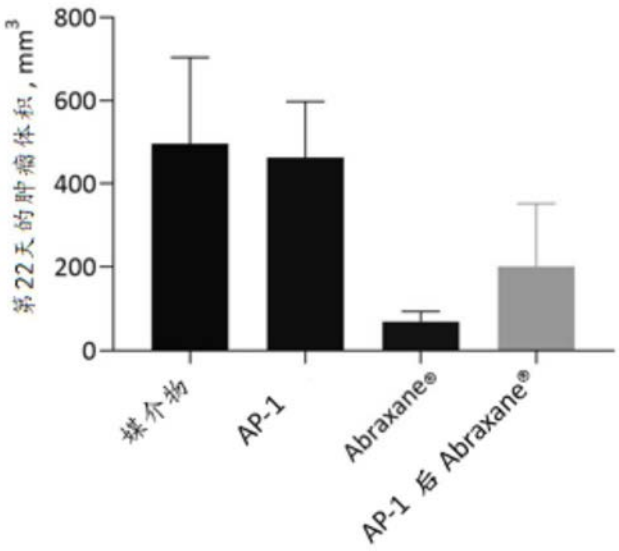

第22天的肿瘤体积，mm3
800
600
400
200
0
媒介物
AP-1
Abraxane®
AP-1 后 Abraxane®

图15

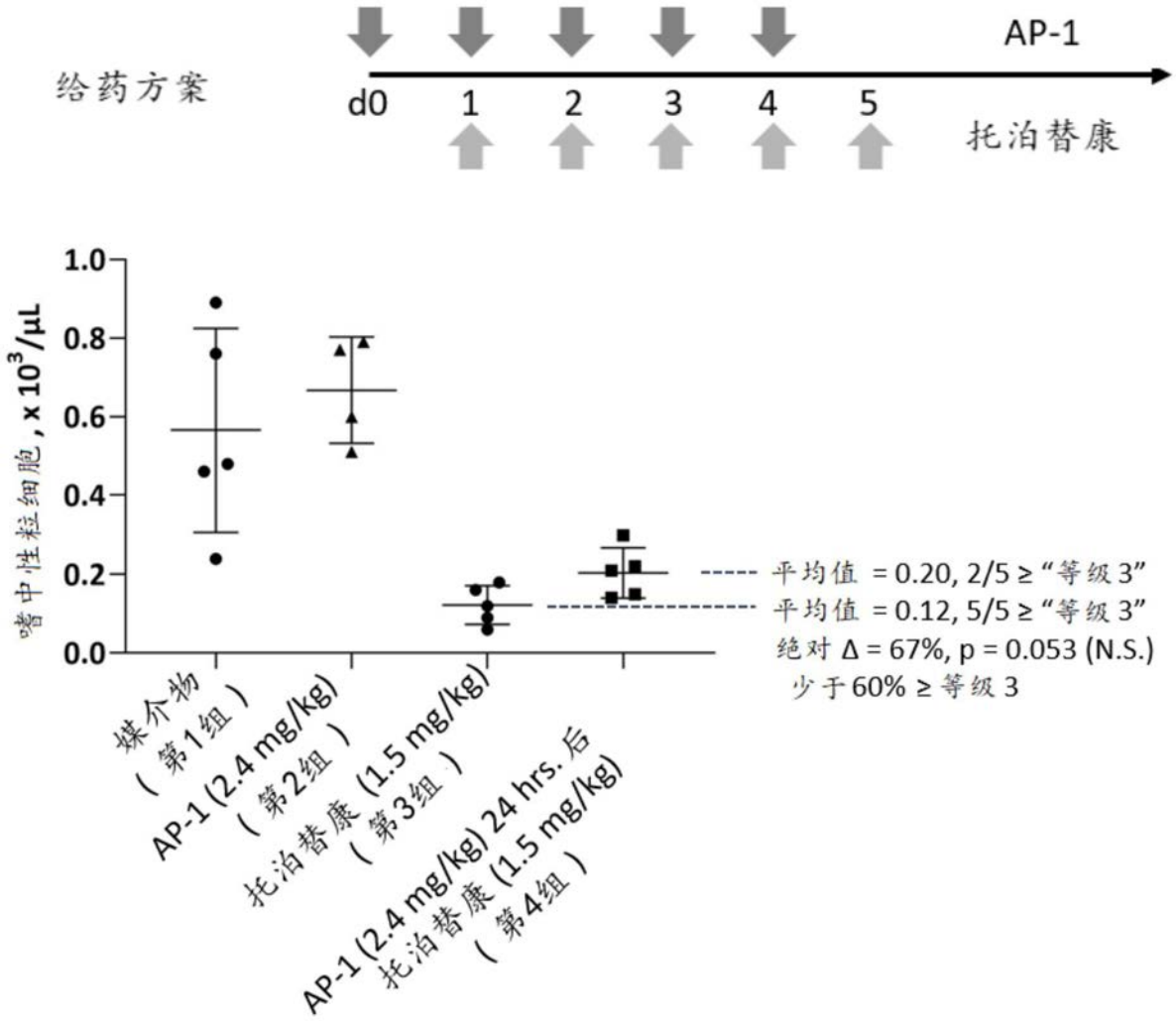

给药方案
AP-1
d0
1
2
3
4
5
托泊替康
嗜中性粒细胞，x 10³/μL
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
平均值 = 0.20, 2/5 ≥ “等级 3”
平均值 = 0.12, 5/5 ≥ “等级 3”
绝对 Δ = 67%, p = 0.053 (N.S.)
少于60% ≥ 等级 3
媒介物（第1组）
AP-1 (2.4 mg/kg)（第2组）
托泊替康 (1.5 mg/kg)（第3组）
AP-1 (2.4 mg/kg) 24 hrs. 后 托泊替康 (1.5 mg/kg)（第4组）

图16A

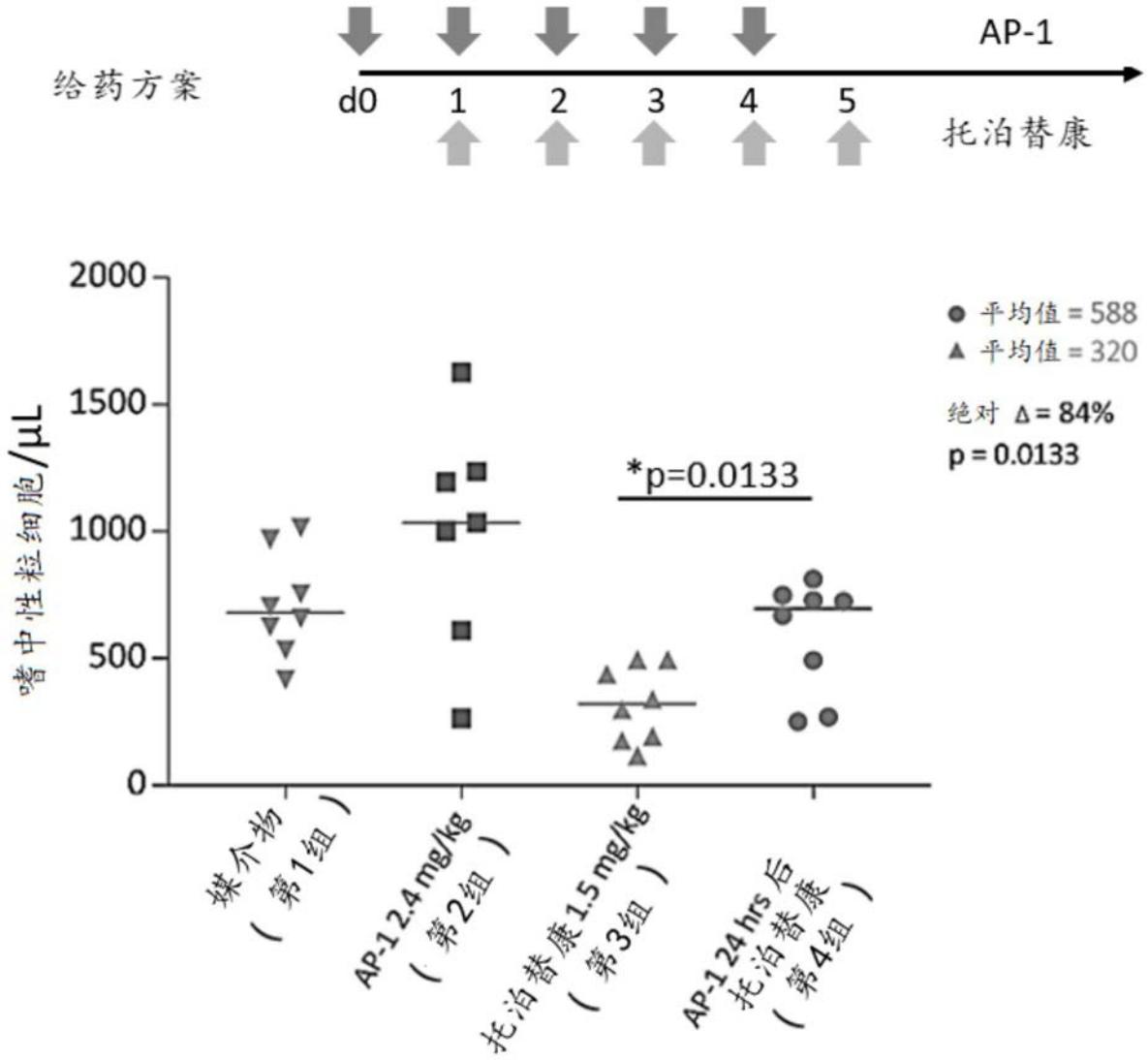

给药方案
d0
1
2
3
4
5
AP-1
托泊替康
嗜中性粒细胞/μL
2000
1500
1000
500
0
*p=0.0133
平均值 = 588
平均值 = 320
绝对 Δ = 84%
p = 0.0133
媒介物（第1组）
AP-1 2.4 mg/kg（第2组）
托泊替康 1.5 mg/kg（第3组）
AP-1 24 hrs 后 托泊替康（第4组）

图16B

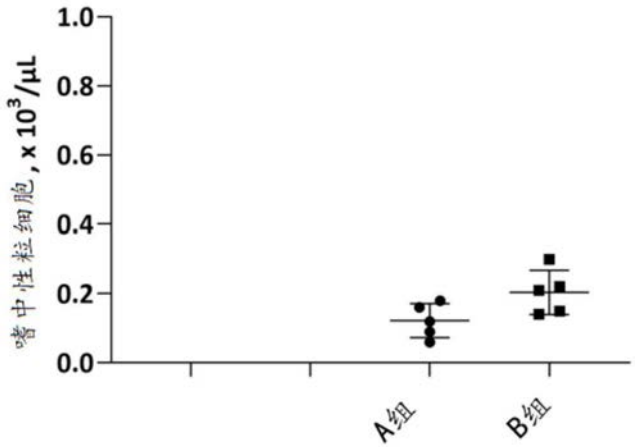

嗜中性粒细胞, x 10³/μL
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
A组
B组

图16C

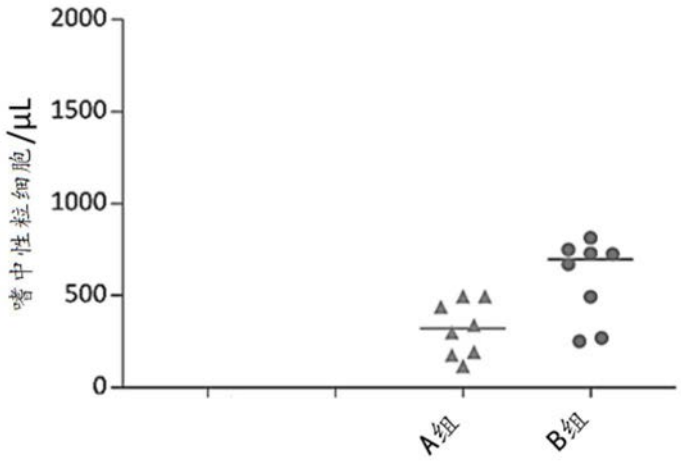


图16D

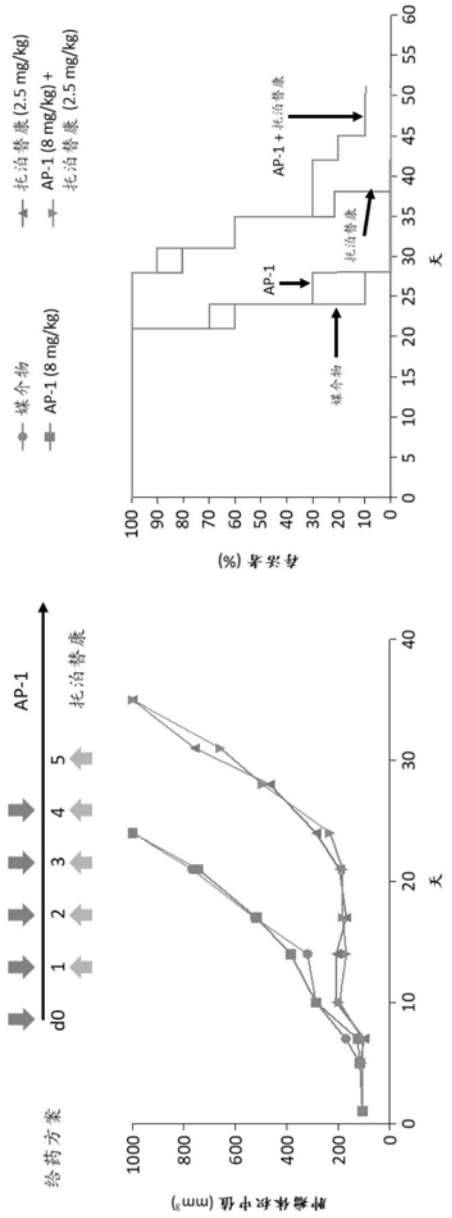

媒介物
AP-1 (8 mg/kg)
托泊替康(2.5 mg/kg)
AP-1 (8 mg/kg) + 托泊替康 (2.5 mg/kg)
存活者 (%)
天
AP-1
托泊替康
AP-1 + 托泊替康
媒介物
给药方案
AP-1
托泊替康
d0
1
2
3
4
5
肿瘤体积中值 (mm³)
天

图17A

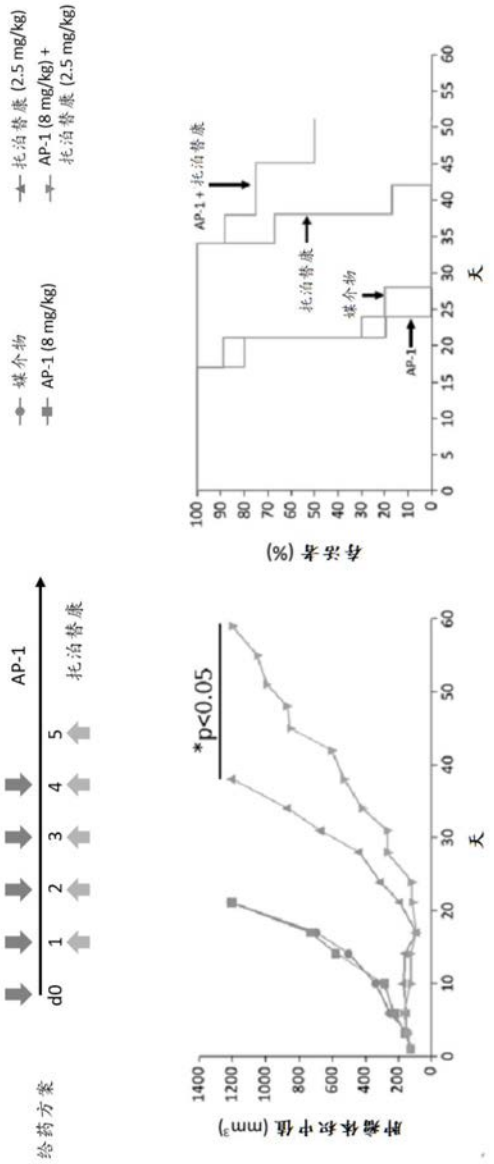

媒介物
AP-1 (8 mg/kg)
托泊替康 (2.5 mg/kg)
AP-1 (8 mg/kg) + 托泊替康 (2.5 mg/kg)
给药方案
d0
AP-1
托泊替康
存活者 (%)
AP-1+托泊替康
托泊替康
媒介物
AP-1
天
*p<0.05
肿瘤体积中值 (mm³)
天

图17B

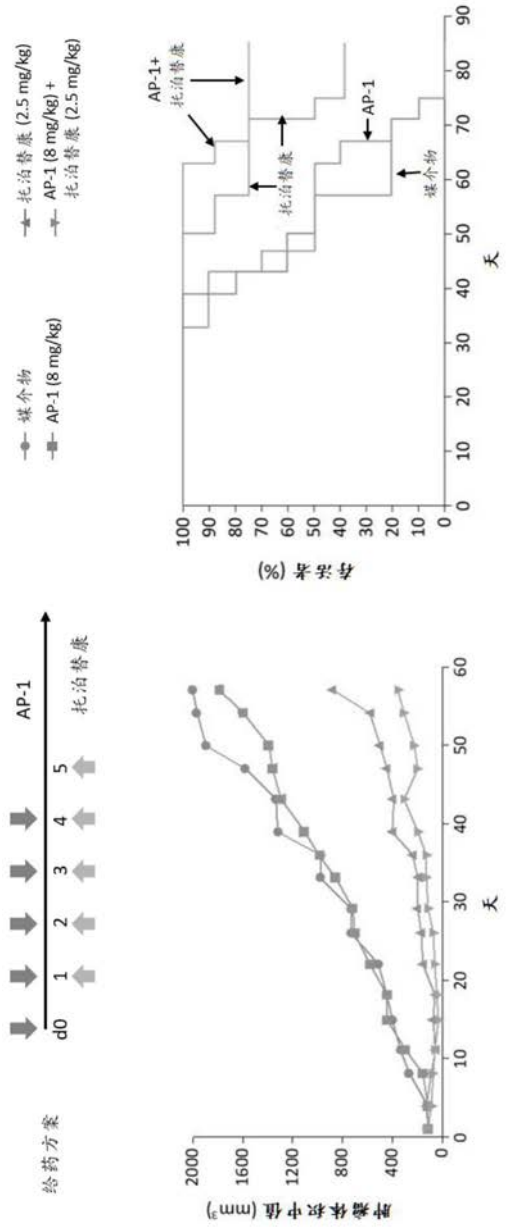

媒介物
AP-1 (8 mg/kg)
托泊替康 (2.5 mg/kg)
AP-1 (8 mg/kg) + 托泊替康 (2.5 mg/kg)
存活者 (%)
天
AP-1+ 托泊替康
托泊替康
AP-1
媒介物
肿瘤体积中值 (mm³)
天
给药方案
d0
1
2
3
4
5
AP-1
托泊替康

图17C

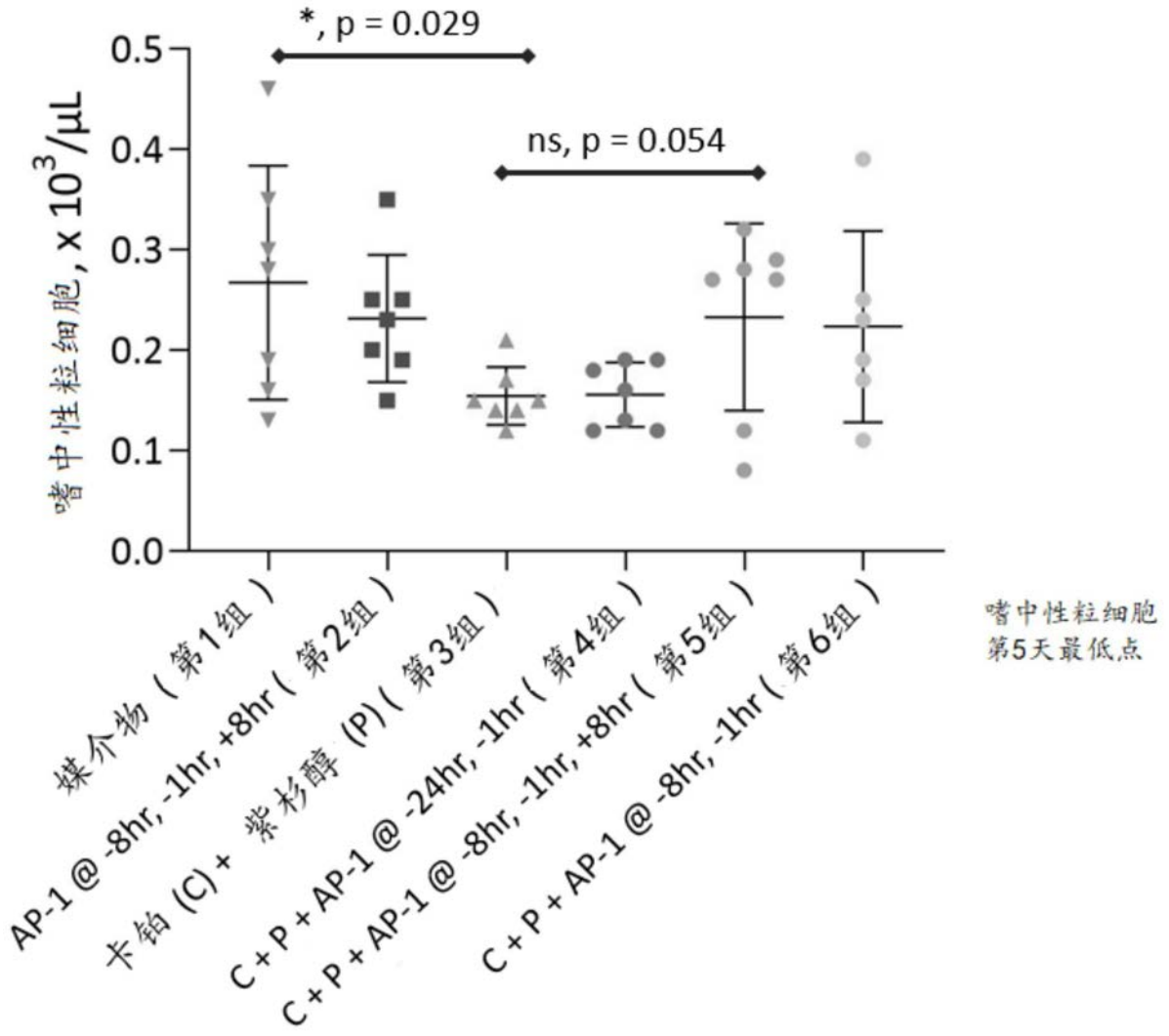

*, p = 0.029
ns, p = 0.054
嗜中性粒细胞, x 10³/μL
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0.0
媒介物（第1组）
AP-1 @ -8hr, -1hr, +8hr（第2组）
卡铂 (C) + 紫杉醇 (P)（第3组）
C + P + AP-1 @ -24hr, -1hr（第4组）
C + P + AP-1 @ -8hr, -1hr, +8hr（第5组）
C + P + AP-1 @ -8hr, -1hr（第6组）
嗜中性粒细胞
第5天最低点

图18A

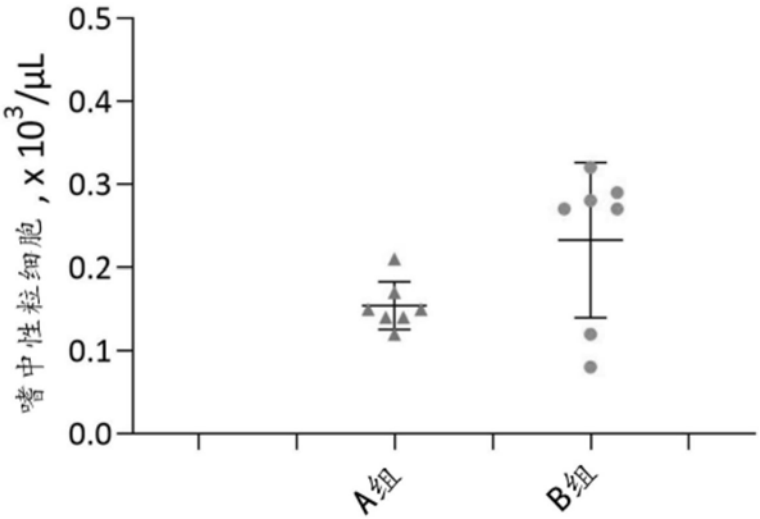

嗜中性粒细胞, x 10³/μL
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0.0
A组
B组

图18B

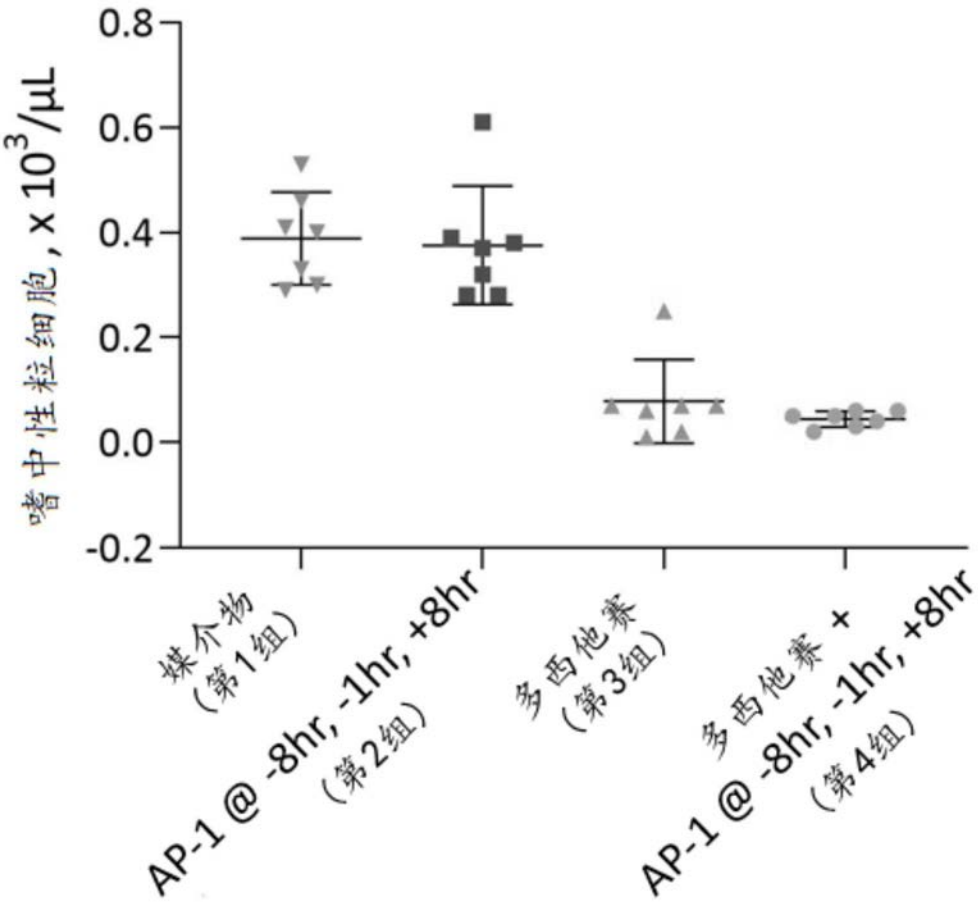

嗜中性粒细胞，x 10³/μL
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
-0.2
媒介物
（第1组）
AP-1 @ -8hr, -1hr, +8hr
（第2组）
多西他赛
（第3组）
多西他赛 +
AP-1 @ -8hr, -1hr, +8hr
（第4组）

图19

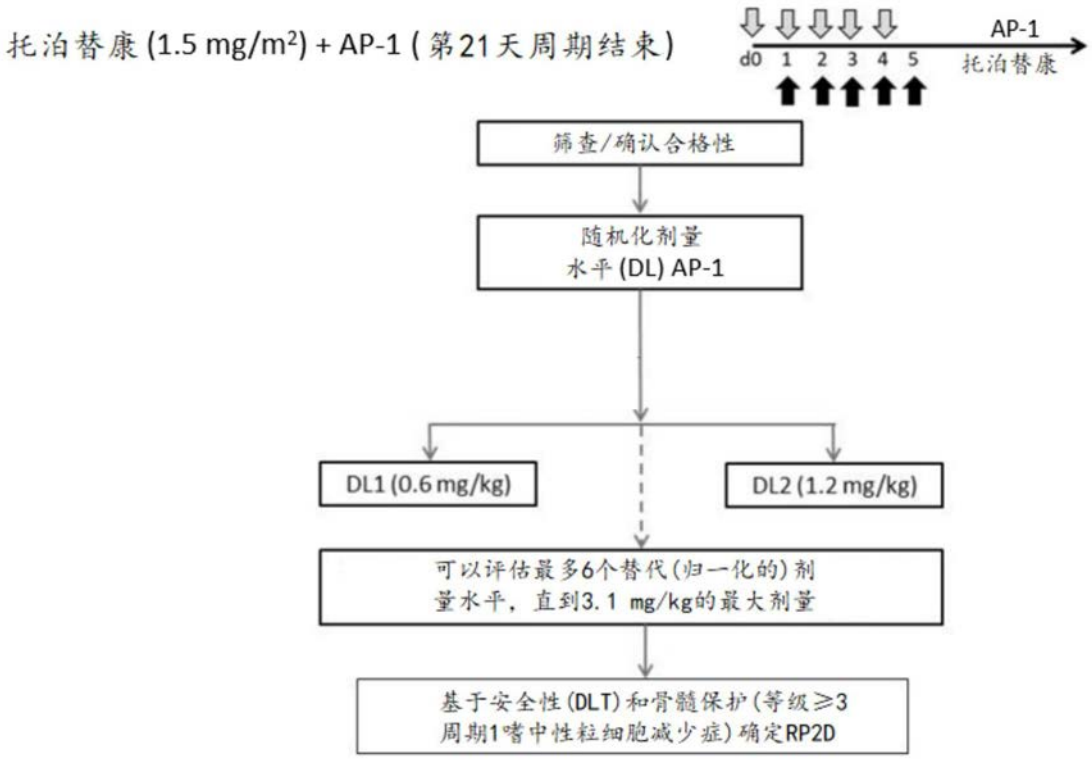

托泊替康 (1.5 mg/m²) + AP-1 (第21天周期结束)
AP-1
d0 1 2 3 4 5
托泊替康
筛查/确认合格性
随机化剂量
水平 (DL) AP-1
DL1 (0.6 mg/kg)
DL2 (1.2 mg/kg)
可以评估最多6个替代(归一化的)剂
量水平，直到3.1 mg/kg的最大剂量
基于安全性(DLT)和骨髓保护(等级≥3
周期1嗜中性粒细胞减少症)确定RP2D

图20

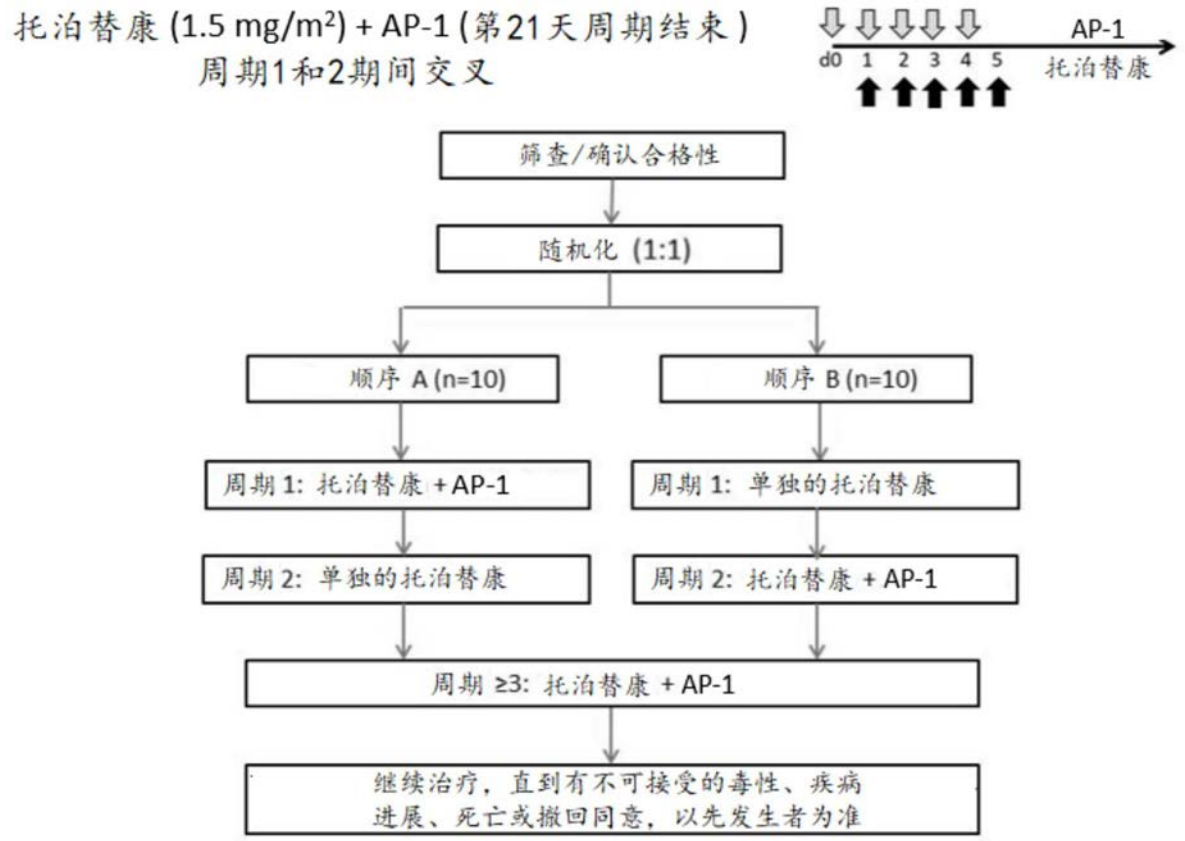

托泊替康 (1.5 mg/m²) + AP-1 (第21天周期结束)
周期1和2期间交叉
AP-1
d0 1 2 3 4 5
托泊替康
筛查/确认合格性
随机化 (1:1)
顺序 A (n=10)
顺序 B (n=10)
周期 1: 托泊替康 + AP-1
周期 1: 单独的托泊替康
周期 2: 单独的托泊替康
周期 2: 托泊替康 + AP-1
周期 ≥3: 托泊替康 + AP-1
继续治疗，直到有不可接受的毒性、疾病进展、死亡或撤回同意，以先发生者为准

图21

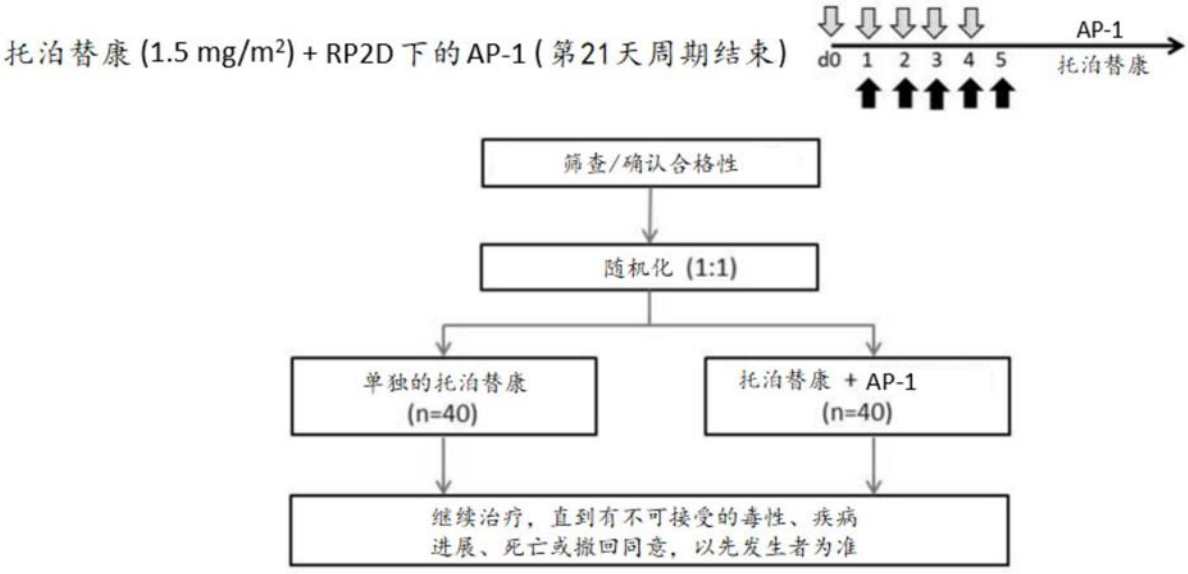

托泊替康 (1.5 mg/m²) + RP2D 下的 AP-1 (第21天周期结束)
AP-1
d0 1 2 3 4 5
托泊替康
筛查/确认合格性
随机化 (1:1)
单独的托泊替康 (n=40)
托泊替康 + AP-1 (n=40)
继续治疗，直到有不可接受的毒性、疾病进展、死亡或撤回同意，以先发生者为准

图22

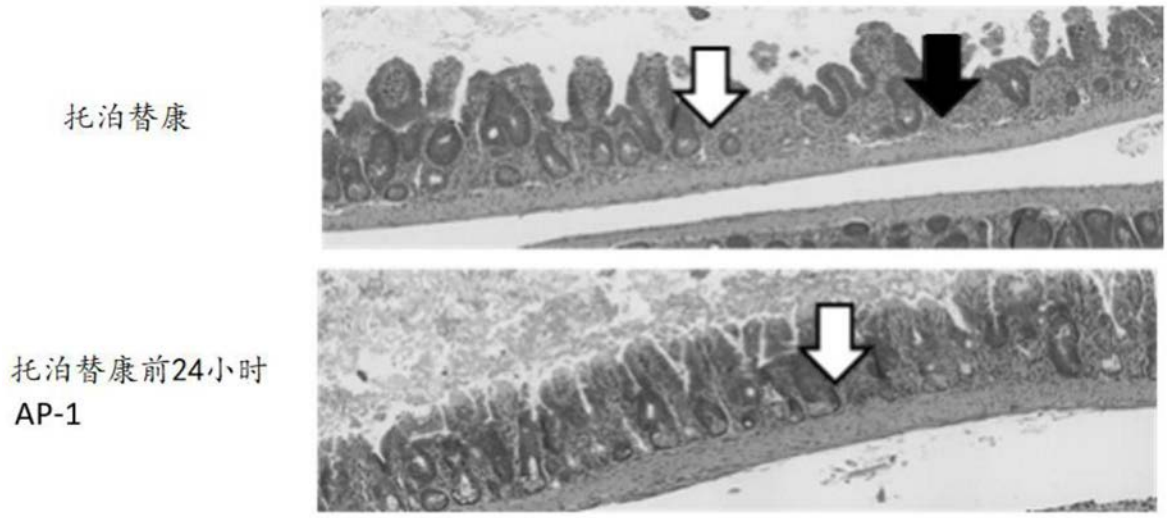


图23

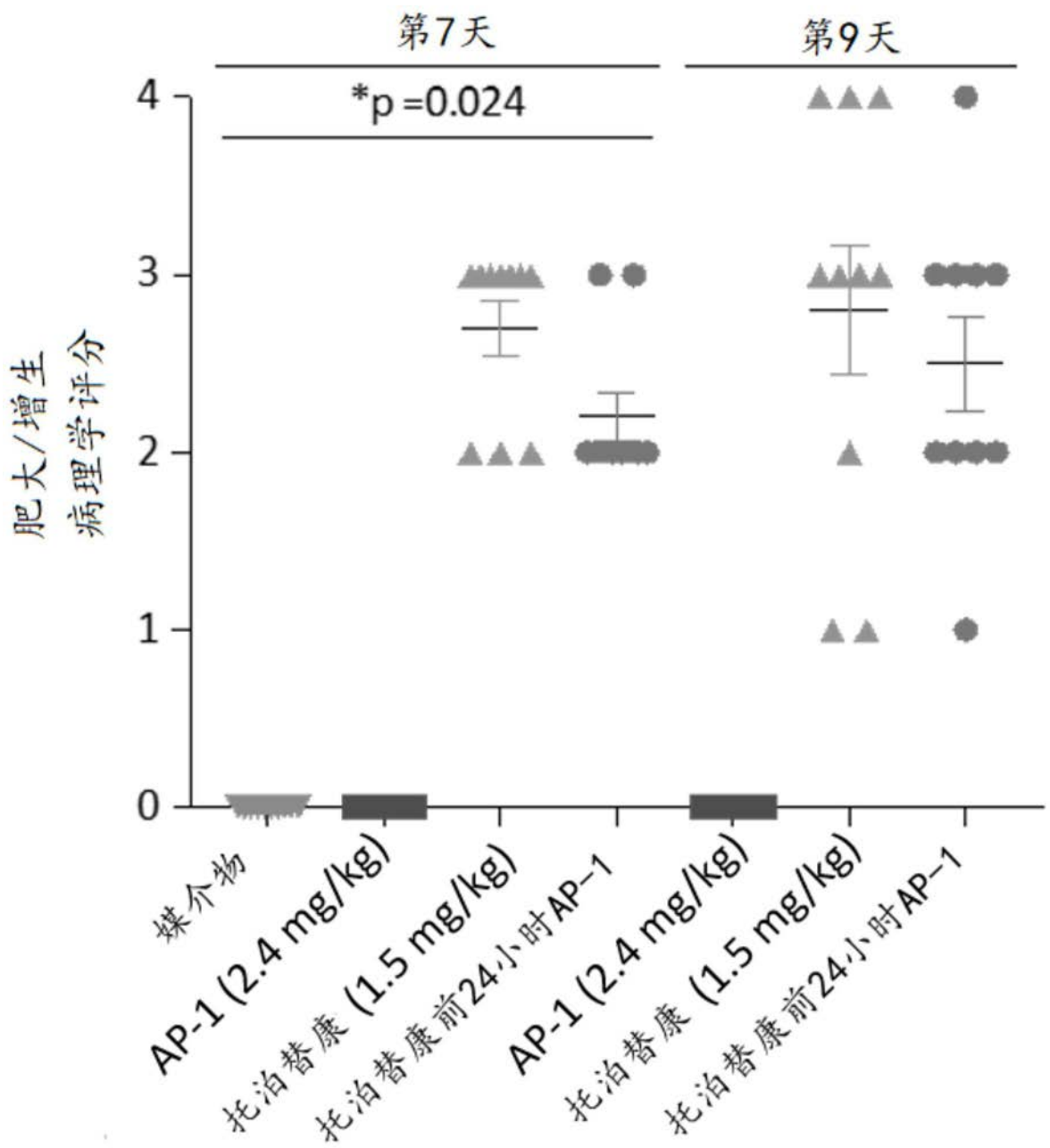

第7天
第9天
*p =0.024
肥大/增生
病理学评分
4
3
2
1
0
媒介物
AP-1 (2.4 mg/kg)
托泊替康 (1.5 mg/kg)
托泊替康前24小时AP-1
AP-1 (2.4 mg/kg)
托泊替康 (1.5 mg/kg)
托泊替康前24小时AP-1

图24A

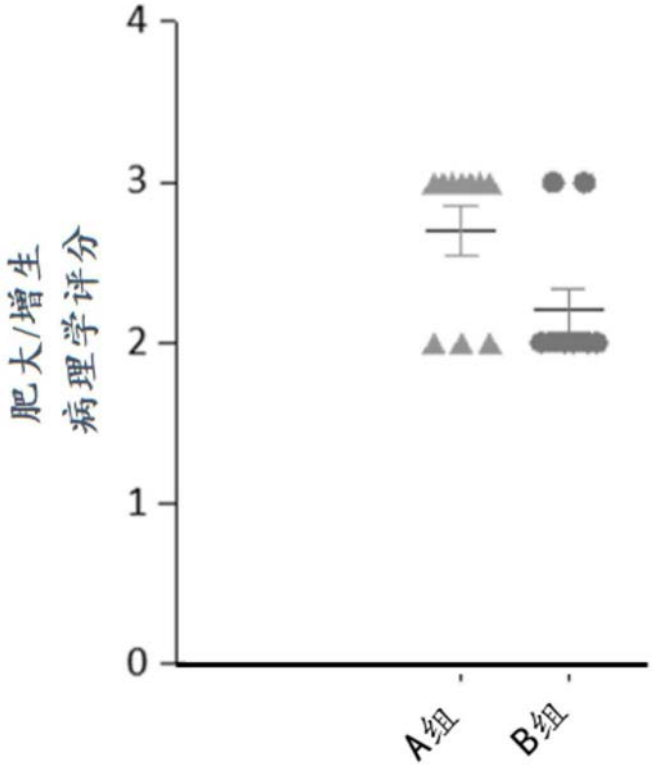


图24B