



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 112245565 A

(43) 申请公布日 2021.01.22

(21) 申请号 202011119724.X

(22) 申请日 2015.09.24

(30) 优先权数据

62/054,861 2014.09.24 US

62/213,831 2015.09.03 US

62/216,670 2015.09.10 US

(62) 分案原申请数据

201580063937.6 2015.09.24

(71) 申请人 艾瑞朗医疗公司

地址 美国马萨诸塞州

(72) 发明人 休伯特·陈 D·A·安尼斯 常勇

曼纽尔·艾瓦多 卡伦·奥尔森

克里斯·J·维奥

(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.

A61K 38/12 (2006.01)

A61K 45/06 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

权利要求书3页 说明书159页 附图16页

(54) 发明名称

拟肽大环化合物及其用途

(57) 摘要

本发明提供了治疗受试者中被确定为缺乏p53灭活突变的实体瘤的方法。还提供了用于治疗受试者中被确定为缺乏p53灭活突变的实体瘤的拟肽大环化合物。

1. 拟肽大环化合物和另外的抗癌剂在制备用于治疗有此需要的受试者的癌症的药物中的应用,其中所述拟肽大环化合物降低与所述另外的抗癌剂相关的副作用。

2. 如权利要求1所述的应用,其中所述拟肽大环化合物与所述另外的抗癌剂在治疗中具有协同效应。

3. 如权利要求1所述的应用,其中所述另外的抗癌剂的量低于在所述拟肽大环化合物不存在的情况下所述的另外的抗癌剂的量。

4. 如权利要求1所述的应用,其中所述副作用为毒性。

5. 如权利要求1所述的应用,其中所述其他的抗癌剂选自激素剂、芳香酶抑制剂、选择性雌激素受体调节剂(SERM)、雌激素受体拮抗剂)、化疗剂、微管解装配阻断剂、抗代谢物、拓扑异构酶抑制剂、DNA交联剂或损伤剂、抗-抗原剂、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)以及它们的组合;

其中所述微管解装配阻断剂包括紫杉烷类、紫杉醇或TAXOL®、多西他赛、abraxane、拉罗他赛、奥他赛和替司他赛、埃博霉素类、伊沙匹隆、长春花生物碱类、长春瑞滨、长春碱、长春地辛和长春新碱或ONCOVIN®;

其中所述抗代谢物包括叶酸抗代谢物、甲氨蝶呤、氨基蝶呤、培美曲塞、雷替曲塞、嘌呤抗代谢物、克拉屈滨、氟达拉滨、氟达拉滨、巯基嘌呤、喷司他丁、硫鸟嘌呤、嘧啶抗代谢物、5-氟尿嘧啶、卡培他滨、吉西他滨或GEMZAR®、阿糖胞苷、地西他滨、氟尿苷、喃氟啶、脱氧核糖核苷酸抗代谢物和羟基脲;

其中所述拓扑异构酶抑制剂包括I类(喜树属)拓扑异构酶抑制剂、托泊替康或HYCAMTIN®、伊立替康、芦比替康、贝洛替康、II类(鬼臼属)拓扑异构酶抑制剂、依托泊苷、VP-16、替尼泊苷、蒽环类、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、佐柔比星、蒽二酮类、米托蒽醌和匹克生琼;并且

其中所述DNA交联剂或DNA损伤剂包括但不限于烷化剂、环磷酰胺、氮芥、异环磷酰胺或IFEX®、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、卡莫司汀或BiCNU®、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'-三亚乙基硫代磷酰胺、三亚胺醌、三乙撑密胺、类烷化剂、卡铂或PARAPLATIN®、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、丙卡巴肼、达卡巴嗪、替莫唑胺或TEMODAR®、六甲蜜胺、二溴甘露醇、嵌入剂、放线菌素、博来霉素、丝裂霉素和普利霉素。

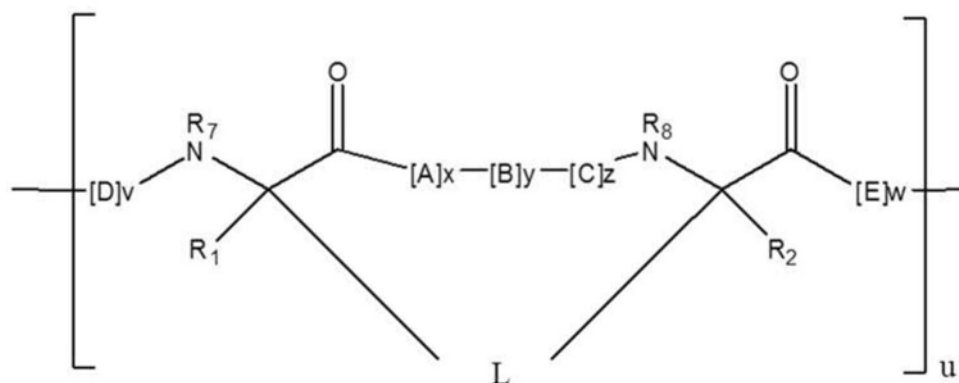
6. 如权利要求1所述的应用,其中所述副作用与造血器官和/或组织有关。

7. 如权利要求1所述的应用,其中所述药物配制为包含每千克人类受试者体重0.5-20mg的量的所述拟肽大环化合物。

8. 如权利要求1所述的应用,其中所述药物配制为包含每千克人类受试者体重约0.04mg、约0.08mg、约0.16mg、约0.32mg、约0.64mg、约1.28mg、约3.56mg、约7.12mg、约14.24mg的量的所述拟肽大环化合物。

9. 如权利要求1-8中任一项所述的应用,其中所述拟肽大环化合物包含与表3、表3a、表3b和表3c任一个中的氨基酸序列具有至少约60%同一性的氨基酸序列,其中该拟肽大环化

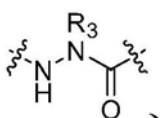
合物具有下式：



式(I)

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R₁和R₂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，它们为未取代的或被卤素-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R₃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、环芳基或杂环芳基，它们任选地被R₅取代；

每个L和L'独立地为式-L₁-L₂-的大环形成连接体；

每个L₁、L₂和L₃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 $[-R_4-K-R_4-]_n$ ，它们各自任选地被R₅取代；

每个R₄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、SO₂、CO、CO₂或CONR₃；

每个R₅独立地为卤素、烷基、-OR₆、-N(R₆)₂、-SR₆、-SOR₆、-SO₂R₆、-CO₂R₆、荧光部分、放射性同位素或治疗剂；

每个R₆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R₇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、环芳基或杂环芳基，它们任选地被R₅取代，或是与D残基形成的环状结构的一部分；

每个R₈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、环芳基或杂环芳基，它们任选地被R₅取代，或是与E残基形成的环状结构的一部分；

每个v独立地为整数；

每个w独立地为3-1000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

每个n独立地为1-5的整数。

10. 如权利要求1-8中任一项所述的应用，其中所述拟肽大环化合物在所述受试者中诱导细胞周期停滞。

拟肽大环化合物及其用途

本申请是申请日为2015年09月24日、申请号为 201580063937.6、发明名称为“拟肽大环化合物及其用途”的中国专利申请(其对应PCT申请的申请日为2015年09月24日、申请号为 PCT/US2015/052031)的分案申请。

交叉引用

[0001] 本申请要求提交于2014年9月24日的第62/054,861号美国临时申请、提交于2015年9月3日的第62/213,831号美国临时申请以及提交于2015年9月10日的第62/216,670号美国临时申请的优先权,每一个所述申请均通过引用而全文并入于此。

背景技术

[0001] 人转录因子蛋白质p53响应于DNA损伤和细胞应激而诱导细胞周期停滞和凋亡,从而在保护细胞免于恶性转化方面发挥关键作用。E3遍在蛋白连接酶MDM2(也称为HDM2或人双微体2)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,导致p53蛋白质从核输出,并经由遍在蛋白化-蛋白酶体途径靶向p53使其降解。由缺失、突变或MDM2过表达而引起的p53活性丧失是人类癌症的最常见缺陷。表达野生型p53的肿瘤易受到稳定或提高活性p53浓度的药剂的攻击。在此背景下,已出现了对MDM2活性的抑制,作为经过验证的、用于在体外和体内恢复p53活性并使癌细胞再次对凋亡敏感的方法。MDMX(也称为MDM4、HDM4或人双微体4)最近已被鉴定为p53的相似的负调节剂,并且研究显示在MDM2和MDMX的p53结合界面之间具有显著的结构同源性。也已观察到MDMX在人类肿瘤中过表达。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,所述 α 螺旋反式激活域插入MDM2和MDMX的表面上的疏水性裂隙内。野生型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。

[0002] 对于治疗实体瘤的方法存在相当大的需求。本文提供了能够与p53、MDM2和/或MDMX结合并调节其活性的化合物。本文还提供了包含能调节p53活性的基于p53的拟肽大环化合物的药物制剂。本文还提供了包含能抑制p53、MDM2和/或MDMX蛋白之间相互作用的基于p53的拟肽大环化合物的药物制剂。此外,本文提供了能够用于治疗包括但不限于实体瘤和其他高增生性疾病的疾病的方法。

发明内容

[0003] 在一个方面,本发明提供了治疗人类受试者中被确定为缺乏p53灭活突变的实体瘤的方法,其中该方法包括向该人类受试者施用治疗有效量的拟肽大环化合物或其药学上可接受的盐,其中该拟肽大环化合物与MDM2和/或MDMX蛋白结合。在一些实施方案中,所述拟肽大环化合物破坏p53与MDM2和MDMX之间的相互作用。

[0004] 在另一方面,本发明提供了治疗有需要的人类受试者中缺乏p53灭活突变的实体瘤的方法,其中该方法包括向该人类受试者施用包含治疗有效量的拟肽大环化合物或治疗等效量的其药学上可接受的盐的药物组合物,其中该拟肽大环化合物与MDM2和/或MDMX蛋白结合。

[0005] 在另一方面,本发明提供了治疗有需要的人类受试者中的在p53 基因中具有p53 灭活突变的实体瘤的方法,其中该方法包括向该人类受 试者施用包含治疗有效量的拟肽大环化合物或治疗等效量的其药学上可 接受的盐的药物组合物,其中该拟肽大环化合物与MDM2和/或MDMX 蛋白结合。

[0006] 在另一方面,本发明提供了治疗有需要的人类受试者的实体瘤的 方法,其中该方法包括向该人类受试者施用包含治疗有效量的拟肽大环 化合物或治疗等效量的其药学上可接受的盐的药物组合物,其中该拟肽 大环化合物与MDM2和/或MDMX蛋白结合,并且其中所述实体瘤不是p53蛋白表达阴性的(如表达野生型p53蛋白或具有部分功能性的突变 p53蛋白的实体瘤)。

[0007] 在另一方面,本发明提供了治疗有需要的人类受试者的实体瘤的 方法,其中该方法包括向该人类受试者施用包含治疗有效量的拟肽大环 化合物或治疗等效量的其药学上可接受的盐的药物组合物,其中该拟肽 大环化合物与MDM2和/或MDMX蛋白结合,并且其中所述实体瘤表达 具有功能获得突变的p53蛋白(如超级凋亡p53)。

[0008] 在另一方面,本发明提供了治疗有需要的人类受试者的实体瘤的 方法,其中该方法包括向该人类受试者施用包含治疗有效量的拟肽大环 化合物或治疗等效量的其药学上可接受的盐的药物组合物,其中该拟肽 大环化合物与MDM2和/或MDMX蛋白结合,并且其中所述实体瘤表达 具有导致功能部分丧失的突变的p53蛋白。

[0009] 在另一方面,本发明提供了治疗有需要的人类受试者的实体瘤的 方法,其中该方法包括向该人类受试者施用包含治疗有效量的拟肽大环 化合物或治疗等效量的其药学上可接受的盐的药物组合物,其中该拟肽 大环化合物与MDM2和/或MDMX蛋白结合,并且其中所述实体瘤中的 细胞仅从p53基因的单一基因组拷贝表达p53(例如,在细胞具有拷贝丢失突变,例如为单倍功能不全时)。

[0010] 在另一方面,本发明提供了治疗有需要的人类受试者的实体瘤的 方法,其中该方法包括向该人类受试者施用包含治疗有效量的拟肽大环 化合物或治疗等效量的其药学上可接受的盐的药物组合物,其中该拟肽 大环化合物与MDM2和/或MDMX蛋白结合,并且其中所述实体瘤表达 具有一个或多个沉默突变的p53蛋白。

[0011] 在另一方面,本发明提供了治疗有需要的人类受试者的实体瘤的 方法,其中该方法包括向该人类受试者施用包含治疗有效量的拟肽大环 化合物或治疗等效量的其药学上可接受的盐的药物组合物,其中该拟肽 大环化合物与MDM2和/或MDMX蛋白结合,并且其中所述实体瘤中的 细胞是p53表达阴性的。

[0012] 在另一方面,本发明提供了治疗有需要的人类受试者中的在p53 基因中具有p53 灭活突变的实体瘤的方法,其中该方法包括向该人类受 试者施用包含治疗有效量的拟肽大环化合物或治疗等效量的其药学上可 接受的盐的药物组合物,其中该拟肽大环化合物与MDM2和/或MDMX 蛋白结合,并且其中所述实体瘤中的细胞在p53基因的一个拷贝中具有 p53灭活突变。在一些实施方案中,所述实体瘤中的细胞在p53基因的第二拷贝中具有第二 p53灭活突变。在一些实施方案中,所述p53基因 的一个拷贝中的p53灭活突变与p53基因的第二拷贝中的第二p53灭活 突变相同。在一些实施方案中,所述p53基因的一个拷贝中的 p53灭活 突变与p53基因的第二拷贝中的第二p53灭活突变不同。

[0013] 在一些实施方案中,所述p53基因中的p53灭活突变导致缺乏从 所述p53基因表达

p53蛋白,或导致功能部分丧失的部分p53蛋白的表达。在一些实施方案中,p53基因的第二拷贝中的第二p53灭活突变导致缺乏从所述p53基因表达p53蛋白,或导致功能部分丧失的部分p53蛋白的表达。

[0014] 在本文所述方法的一些实施方案中,所述实体瘤的细胞在p53基因的拷贝中具有至少一个突变,其中与从非突变p53基因的拷贝表达的野生型p53相比,所述突变消除或降低从所述p53基因的拷贝表达的p53蛋白的活性。

[0015] 在另一方面,本发明提供了治疗有需要的人类受试者的实体瘤的方法,其中该方法包括向该人类受试者施用包含治疗有效量的拟肽大环化合物或治疗等效量的其药学上可接受的盐的药物组合物,其中该拟肽大环化合物与MDM2和/或MDMX蛋白结合。

[0016] 在一些实施方案中,在本文所述的各种方法中使用的拟肽大环化合物为破坏p53与MDM2和MDMX之间的相互作用的拟肽大环化合物。

[0017] 在一些实施方案中,本文所述的各种方法进一步包括在施用所述药物组合物之前确定所述实体瘤中缺乏所述p53灭活突变。在一些实施方案中,确定缺乏p53灭活突变包括确认所述实体瘤中存在野生型p53。

[0018] 在一些实施方案中,本文所述的各种方法进一步包括确定所述实体瘤中存在p53功能获得突变。

[0019] 在一些实施方案中,本文所述的各种方法进一步包括确定所述实体瘤中存在p53的灭活突变。

[0020] 在一些实施方案中,本文所述的各种方法进一步包括确定所述实体瘤中存在p53的拷贝丢失突变。

[0021] 在一些实施方案中,本文所述的各种方法进一步包括确定所述实体瘤中存在P53的功能部分丧失突变。

[0022] 在一些实施方案中,本文所述的方法可进一步包括在施用所述拟肽大环化合物之前确认所述实体瘤中缺乏p53灭活突变。例如,确认所述实体瘤中存在野生型p53。

[0023] 在一些实施方案中,本文所述的方法可进一步包括确认所述实体瘤中存在p53功能获得突变。

[0024] 在一些实施方案中,本文所述的方法可进一步包括确认所述实体瘤中存在p53的灭活突变。

[0025] 在一些实施方案中,本文所述的方法可进一步包括确认所述实体瘤中存在p53的拷贝丢失突变。

[0026] 在一些实施方案中,本文所述的方法可进一步包括确认所述实体瘤中存在P53的功能部分丧失突变。

[0027] 在多个实施方案中,所述确定或确认在施用所述拟肽大环化合物之前3年、2年、1年、1-12个月、1-3个月、1个月或21天内进行。

[0028] 在多个实施方案中,本文提供的治疗方法可导致所述人类受试者中p53途径的重新激活、肿瘤细胞增殖减少、p53蛋白增加、p21增加和/或凋亡增加。

[0029] 所述拟肽大环化合物可以每周施用两次或三次,例如,每周两次。在一些实例中,所述拟肽大环化合物每2或3周施用一次。在其他实例中,所述拟肽大环化合物每1或2周施用一次。在一些实施方案中,所述拟肽大环化合物在28天周期的第1天、第8天和第15天施

用。在其他实例中,所述拟肽大环化合物每周施用一次。在一些实例中,所述药物组合物的剂量在21天周期的第1天、第4天、第8天和第11天施用。

[0030] 所施用的拟肽大环化合物的量为每千克人类受试者体重约0.5-20 mg,例如,每千克人类受试者体重0.5-10mg。在一些实施方案中,所施用的拟肽大环化合物的量为每千克人类受试者体重约0.04mg、0.08 mg、0.16mg、0.32mg、0.64mg、1.28mg、3.56mg、7.12mg或14.24mg。在一些实例中,所施用的拟肽大环化合物的量为每千克人类受试者体重约1.25mg、2.5mg、5.0mg、10.0mg或20.0mg,并且所述拟肽大环化合物每周施用两次。在其他实例中,所施用的拟肽大环化合物的量为每千克人类受试者体重约1.25mg、2.5mg、5.0mg或10.0mg,并且所述拟肽大环化合物每周施用两次。在其他实例中,所施用的拟肽大环化合物的量为每千克人类受试者体重0.32mg、0.64mg、1.25mg、2.5mg或5.0mg,并且所述药物组合物每周施用两次。在一些实例中,所施用的拟肽大环化合物的量为每千克人类受试者体重约0.32mg、0.64mg、1.25 mg、2.5mg或5.0mg,并且所述药物组合物在21天周期的第1天、第4天、第8天和第11天施用。在一些实例中,所施用的拟肽大环化合物的量为每千克人类受试者体重约0.16mg、0.32mg、0.64mg、1.25mg、2.5 mg、5mg或10mg,并且所述药物组合物在28天周期的第1天、第8天和第15天施用。

[0031] 在其他实例中,所施用的拟肽大环化合物的量为每千克人类受试者体重约1.25mg、2.5mg、5.0mg、10.0mg或20.0mg,并且所述拟肽大环化合物每周施用一次。在一些实例中,所施用的拟肽大环化合物的量为每千克人类受试者体重约1.25mg、2.5mg、5.0mg或10.0mg,并且所述拟肽大环化合物每周施用一次。

[0032] 在一些实例中,所施用的拟肽大环化合物的量为每千克人类受试者体重约1.25mg、2.5mg、5.0mg、10.0mg或20.0mg,并且所述拟肽大环化合物每天施用一次,在七天期间施用三次、五次或七次。例如,所述拟肽大环化合物每天静脉内施用一次,在七天期间施用七次。

[0033] 在一些实例中,所施用的拟肽大环化合物的量为每千克人类受试者体重约1.25mg、2.5mg、5.0mg或10.0mg,并且所述拟肽大环化合物每天施用一次,在七天期间施用三次、五次或七次。例如,所述拟肽大环化合物每天静脉内施用一次,七天期间施用七次。

[0034] 所述拟肽大环化合物可在0.25-12h的时间内,例如在0.25h、0.5 h、1h、2h、3h、4h、5h、6h、7h、8h、9h、10h、11h或12h的时间内逐渐施用。在一些实例中,所述拟肽大环化合物在0.25-2.0h的时间内施用。在一些实施方案中,所述拟肽大环化合物在1h的时间内逐渐施用。在其他实施方案中,所述拟肽大环化合物在2h的时间内逐渐施用。

[0035] 本文提供的方法可导致肿瘤体积减小。例如,根据本文提供的方法的治疗可导致肿瘤体积在治疗开始后1个月的时间内减小约95%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10%或5%。在一些实例中,所述治疗导致肿瘤体积在治疗开始后1个月的时间内减小至少60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%。在一些实例中,所述治疗导致肿瘤体积在治疗开始后1年的时间内减小约95%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10%或5%。在一些实施方案中,所述治疗导致肿瘤体积在治疗开始后1年的时间内减小至少60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%。在一些实例中,所述治疗导致肿瘤体积在治疗开始后6个月的时间内减小约95%、90%、85%、80%、

75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10%或5%。在一些实例中,所述治疗导致肿瘤体积在治疗开始后6个月的时间内减小至少60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%。在一些实例中,所述治疗导致肿瘤体积在治疗开始后3个月的时间段内减小约95%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10%或5%。在一些实例中,所述治疗导致肿瘤体积在治疗开始后3个月的时间段内减小至少60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%。在一些实施方案中,所述实体瘤是稳定的疾病。在一些实施方案中,所述实体瘤是进行性疾病。

[0036] 在一些实施方案中,本文提供的方法可导致所述人类受试者的存活时间与如果所述人类受试者未用所述拟肽大环化合物进行治疗而预期的人类受试者存活时间相比增加。在一些实例中,所述人类受试者的存活时间的增加为至少30天、至少3个月、至少6个月或至少1年。

[0037] 所述拟肽大环化合物的体内循环半衰期为约1h-12h,例如约1h、2h、3h、4h、5h、6h、7h、8h、9h、10h或12h。在一些实例中,所述拟肽大环化合物的体内循环半衰期为约4h、约6h。

[0038] 所述拟肽大环化合物的生物组织半衰期为约1h-12h,例如约1h、2h、3h、4h、5h、6h、7h、8h、9h、10h或12h。在一些实例中,所述拟肽大环化合物的生物组织半衰期为约10h。

[0039] 在一些实施方案中,根据本发明的方法治疗的人类受试者对所述实体瘤的一种或多种其他治疗而言是难治性的和/或无法忍受的。在一些实施方案中,所述人类受试者已经历至少一种不成功的既往实体瘤治疗和/或疗法。

[0040] 在一些实施方案中,所述实体瘤表达野生型p53蛋白。

[0041] 通过本发明的方法治疗的实体瘤选自胰腺癌、膀胱癌、结肠癌、肝癌、结直肠癌、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、黑色素瘤、神经内分泌癌、CNS癌、脑肿瘤、骨癌、皮肤癌、眼肿瘤、直肠癌、绒膜癌(胎盘的肿瘤)、肉瘤和软组织癌、睾丸癌、胆囊癌和胆管癌。在一些实施方案中,所述实体瘤选自膀胱癌、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、胃癌、胆囊癌、胆管癌、肾癌或神经内分泌癌。所述眼肿瘤可为脉络膜痣、脉络膜黑色素瘤、脉络膜转移、脉络膜血管瘤、脉络膜骨瘤、虹膜黑色素瘤、葡萄膜黑色素瘤、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。在一些实施方案中,所述实体瘤选自非小细胞肺癌、小细胞肺癌、结肠癌、CNS癌、黑色素瘤、卵巢癌、肾癌、前列腺癌和乳腺癌。在一些实施方案中,所述实体瘤为乳腺癌。在一些实施方案中,所述实体瘤为胆囊癌。在一些实施方案中,所述实体瘤为胆管癌。在一些实施方案中,所述实体瘤为神经内分泌癌。在一些实施方案中,所述实体瘤为骨癌。在一些实施方案中,所述实体瘤为骨肉瘤。在一些实施方案中,所述实体瘤为皮肤癌。在一些实施方案中,所述实体瘤为黑色素瘤。

[0042] 在一些实例中,通过本发明的方法治疗的实体瘤不是HPV阳性的癌症。

[0043] 在一些实例中,通过本发明的方法治疗的实体瘤不是HPV阳性的宫颈癌、HPV阳性的肛门癌或HPV阳性的头颈癌,如口咽癌。

[0044] 在一些实施方案中,静脉内施用所述拟肽大环化合物。

[0045] 在一些实施方案中,本发明的方法进一步包括除所述拟肽大环化合物或其药学上可接受的盐之外还向所述人类受试者施用治疗有效量的至少一种额外的治疗剂和/或治疗程序。

[0046] 在一些实施方案中,所述人类受试者对所述治疗表现出完全响应。在一些实施方案中,所述人类受试者对所述治疗表现出部分响应。

[0047] 在一些实施方案中,本发明的方法进一步包括确定所施用的拟肽大环化合物的临床活性。该临床活性可通过选自计算机断层扫描(CT)、磁共振成像(MRI)和骨扫描的成像方法来确定。

[0048] 本发明的方法可进一步包括在一个或多个特定时间点从所述人类受试者获得生物样品,并用分析程序分析该生物样品。所述生物样品可用于生物标记评估、药代动力学评价、免疫原性测定和/或药效学评价。所述药代动力学评价可包括研究所述生物样品中的拟肽大环化合物和/或其代谢物在特定时间点的水平。所述药效学评价可包括研究所述生物样品中的p53、MDM2、MDMX、p21和/或胱天蛋白酶在特定时间点的水平。

[0049] 所述分析程序可选自血液化学分析、染色体易位分析、针吸活检、组织活检、荧光原位杂交、实验室生物标记分析、免疫组织化学染色法、流式细胞术,或它们的组合。所述方法可进一步包括将所述分析程序的结果制表和/或作图。所述一个或多个特定时间点可包括在向所述人类受试者施用所述拟肽大环化合物之前的时间点。所述一个或多个特定时间点可包括在向所述人类受试者施用所述拟肽大环化合物之后的时间点。所述一个或多个特定时间点可包括在向所述人类受试者施用所述拟肽大环化合物之前的时间点和之后的时间点。所述一个或多个特定时间点包括在向所述人类受试者施用所述拟肽大环化合物之前和之后的多个时间点。所述方法可进一步包括比较在向所述人类受试者施用所述拟肽大环化合物之前和之后收集的生物样品,或比较在所述多个时间点收集的生物样品。所述生物样品可为血液样品或肿瘤样本。

[0050] 本发明的方法可进一步包括在向所述人类受试者施用所述拟肽大环化合物之前在所述人类受试者中选择并且/或者鉴别至少一处目标病变。所述方法还可包括测量在一个或多个特定时间点的累积直径,其中该累积直径是所述至少一处目标病变在所述特定时间点的直径之和。所述一个或多个特定时间点可包括所述治疗后的时间点。所述方法还可包括测量基线直径总和,其中该基线直径总和是在向所述人类受试者施用所述药物组合物之前,所述至少一处目标病变的直径之和。在一些实例中,根据本发明的方法的治疗导致所述至少一处目标病变消失。在一些实施方案中,在所述治疗后,所述人类受试者的所有病态淋巴结都表现出短轴缩短至小于10mm。在一些实例中,在所述治疗后的时间点的累积直径比所述基线直径总和至少小30%。在一些实例中,以所述基线直径总和为参考,所述治疗既不导致所述一个或多个特定时间点的累积直径充分增加,也不导致其充分降低。

[0051] 在一些实例中,所述拟肽大环化合物不是细胞色素p450同种型的抑制剂。在一些实例中,所述治疗基本不导致剂量限制的血小板减少症。在一些实例中,所述治疗基本不在正常造血器官和/或组织中产生不良反应。在一些实例中,所述治疗基本不在所述人类受试者中产生可能、或许或必定与所述拟肽大环化合物施用有关的不良事件。在一些实例中,所述治疗基本不在所述人类受试者中产生可能、或许或必定与所述拟肽大环化合物

施用有关的严重不良事件。

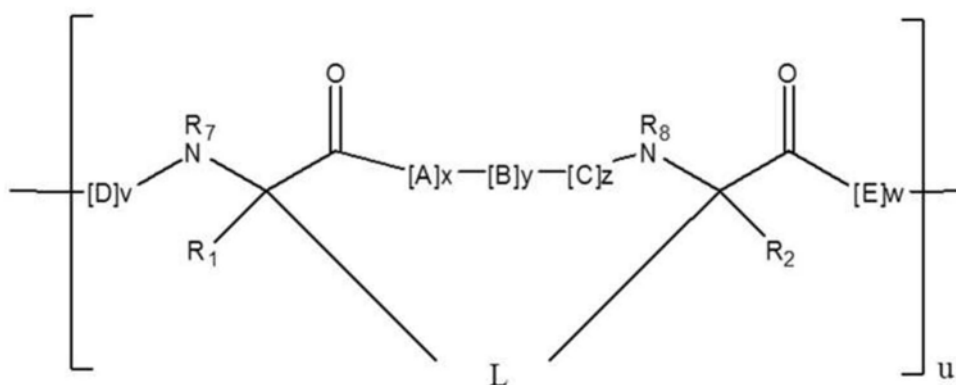
[0052] 可通过本领域已知的任何已知方法确定p53灭活突变的缺乏。在一些实例中,可通过对编码p53蛋白的核酸进行DNA测序来确定p53 灭活突变的缺乏。在一些实例中,可通过基于RNA阵列的检测来确定 p53灭活突变的缺乏。在一些实例中,可通过RNA分析来确定p53灭活 突变的缺乏。在一些实例中,可通过聚合酶链反应 (PCR) 来确定p53灭 活突变的缺乏。

[0053] 在一些实施方案中,所述p53灭活突变可包括在所述蛋白质的 DNA结合域中的突变。在一些实施方案中,所述p53灭活突变可包括错义突变。在一些实施方案中,所述p53灭活突变为显性灭活突变。在一些实施方案中,所述p53灭活突变包括选自V173L、R175H、G245C、R248W、R249S和R273H的一个或多个突变。在一些实施方案中,所述 p53灭活突变包括表1a中所示的一个或多个突变。在一些实施方案中,所述p53功能获得突变包括表1b中所示的一个或多个突变。

[0054] 在另一方面,本发明提供了治疗被确定为缺乏p53灭活突变的人类受试者的实体瘤的方法,其中该方法包括在28天周期的第1天、第8 天和第15天向所述人类受试者施用每千克人类受试者体重0.5-20mg, 例如0.5-10mg的拟肽大环化合物或其药学上可接受的盐。在一些实施方案中,在第8天和/或第15天输入的所述拟肽大环化合物的量大于在第1天输入的所述拟肽大环化合物的量。在一些实施方案中,在第8天 和/或第15天输入的所述拟肽大环化合物与在第1天输入的所述拟肽大 环化合物的量相等。在一些实施方案中,在第1天和/或第8天输入的所述拟肽大环化合物比在第15天输入的所述拟肽大环化合物的量大。在一些实施方案中,在第1天、第8天和第15天施用等量的所述拟肽大环化合物。在一些实施方案中,所述28天周期重复2次或3次。

[0055] 在另一方面,本发明提供了治疗人类受试者的实体瘤的方法,其中该方法包括在21天周期的第1天、第4天、第8天和第11天向所述 人类受试者施用每千克人类受试者体重0.32-10mg的拟肽大环化合物或 其药学上可接受的盐。在一些实施方案中,所述实体瘤被确定为缺乏p53 灭活突变。在一些实施方案中,在21天周期的第1天、第4天、第8 天和第11天施用每千克人类受试者体重0.32mg的所述拟肽大环化合物 或药学上可接受的盐。在一些实施方案中,在21天周期的第1天、第4 天、第8天和第11天施用每千克人类受试者体重0.64mg的所述拟肽大 环化合物或药学上可接受的盐。在一些实施方案中,在21天周期的第1 天、第4天、第8天和第11天施用每千克人类受试者体重1.25mg的所述拟肽大环化合物或药学上可接受的盐。在一些实施方案中,在21天周 期的第1天、第4天、第8天和第11天施用每千克人类受试者体重2.5mg 的所述拟肽大环化合物或药学上可接受的盐。在一些实施方案中,在21 天周期的第1天、第4天、第8天和第11天施用每千克人类受试者体重 5.0mg的所述拟肽大环化合物或药学上可接受的盐。

[0056] 在多个实施方案中,本文所述的方法中使用的拟肽大环化合物包含与表3、表3a、表3b和表3c任一个中的氨基酸序列具有至少约60%、70%、80%、90%或95%同一性的氨基酸序列,其中该拟肽大环化合物 具有下式:



式(I)

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、 $\begin{array}{c} R_3 \\ | \\ N \\ | \\ H \end{array}$ 、 $\begin{array}{c} R_3 \\ | \\ N \\ | \\ O \end{array}$ 、 $[-NH-L_3-CO-]$ 、 $[-NH-L_3-SO_2-]$ 或 $[-NH-L_3-]$ ；

每个R₁和R₂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，它们为未取代的或被卤素-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R₃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、环芳基或杂环芳基，它们任选地被R₅取代；

每个L和L'独立地为式-L₁-L₂-的大环形成连接体；

每个L₁、L₂和L₃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 $[-R_4-K-R_4-]_n$ ，它们各自任选地被R₅取代；

每个R₄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、SO₂、CO、CO₂或CONR₃；

每个R₅独立地为卤素、烷基、-OR₆、-N(R₆)₂、-SR₆、-SOR₆、-SO₂R₆、-CO₂R₆、荧光部分、放射性同位素或治疗剂；

每个R₆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R₇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、环芳基或杂环芳基，它们任选地被R₅取代，或是与D残基形成的环状结构的一部分；

每个R₈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、环芳基或杂环芳基，它们任选地被R₅取代，或是与E残基形成的环状结构的一部分；

每个v独立地为整数；

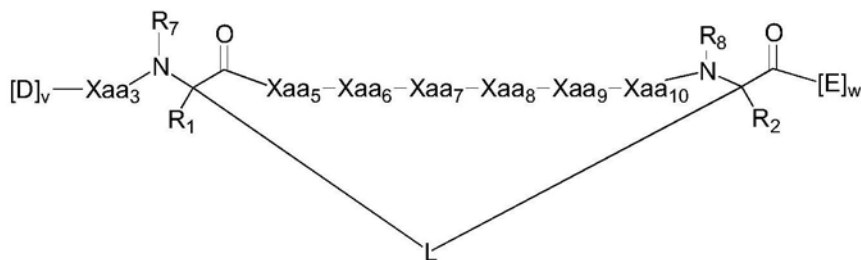
每个w独立地为3-1000的整数；

u为1-10的整数；

每个x、y和z独立地为0-10的整数；且

每个n独立地为1-5的整数。

[0057] 在多个实施方案中,本文所述的方法中使用的拟肽大环化合物具有下式:



其中:

Xaa3、Xaa5、Xaa6、Xaa7、Xaa8、Xaa9和Xaa10中的每一个单独地为氨基酸,其中Xaa3、Xaa5、Xaa6、Xaa7、Xaa8、Xaa9和Xaa10中的至少三个是与序列Phe₃-X₄-His₅-Tyr₆-Trp₇-Ala₈-Gln₉-Leu₁₀-X₁₁-Ser₁₂ (SEQ ID NO:8) 或Phe₃-X₄-Glu₅-Tyr₆-Trp₇-Ala₈-Gln₉-Leu₁₀/Cba₁₀-X₁₁-Ala₁₂ (SEQ ID NO:9) 的相应位置处的氨基酸相同的氨基酸,其中每个X₄和X₁₁独立地为氨基酸;

每个D和E独立地为氨基酸;

每个R₁和R₂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,它们为未取代的或被卤素-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L或L'独立地为大环形成连接体

每个R₅独立地为卤素、烷基、-OR₆、-N(R₆)₂、-SR₆、-SOR₆、-SO₂R₆、-CO₂R₆、荧光部分、放射性同位素或治疗剂;

每个R₆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R₇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、环芳基或杂环芳基,它们任选地被R₅取代,或是与D残基形成的环状结构的一部分;

每个R₈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、环芳基或杂环芳基,它们任选地被R₅取代,或是与E残基形成的环状结构的一部分;

v为1-1000的整数;

w为0-1000的整数。

[0058] 在一些实施方案中,本文所述通式中的至少一个大环形成连接体具有式-L₁-L₂-, 其中

每个L₁和L₂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[-R₄-K-R₄-]_n,它们各自任选地被R₅取代;

每个R₄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、SO₂、CO、CO₂或CONR₃;

每个R₃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、环芳基或杂环芳基,它们任选地被R₅取代;且

n为1-5的整数。

[0059] 在一些实施方案中,本文所述通式中的至少一个大环形成连接体,每个w为3-1000,例如3-500、3-200、3-100、3-50、3-30、3-20或3-10的整数。

- [0060] 在一些实施方案中,Xaa5为Glu或其氨基酸类似物。
- [0061] 在一些实施方案中,每个E独立地为Ala(丙氨酸)、Ser(丝氨酸)或其类似物。
- [0062] 在一些实施方案中,[D]v为-Leu₁-Thr₂。
- [0063] 在一些实施方案中,w为3-10。在一些实施方案中,w为3-6。在一些实施方案中,w为6-10。在一些实施方案中,w为6。
- [0064] 在一些实施方案中,v为1-10。在一些实施方案中,v为2-10。在一些实施方案中,v为2-5。在一些实施方案中,v为2。
- [0065] 在一些实施方案中,本文所述通式中的每个L₁、L₂和L₃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、亚环芳基或亚杂环芳基,它们各自任选地被R₅取代。
- [0066] 在一些实施方案中,每个L₁、L₂和L₃独立地为亚烷基或亚烯基。
- [0067] 在一些实施方案中,L为亚烷基、亚烯基或亚炔基。在一些实施方案中,L为亚烷基。在一些实施方案中,L为C3-C16亚烷基。在一些实施方案中,L为C10-C14亚烷基。
- [0068] 在一些实施方案中,本文所述通式中的每个R₁和R₂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,它们为未取代的或被卤素-取代。在一些实施方案中,R₁和R₂为H。在一些实施方案中,每个R₁和R₂独立地为烷基。在一些实施方案中,R₁和R₂为甲基。
- [0069] 在一些实施方案中,本文所述通式中的x+y+z为6。
- [0070] 在一些实施方案中,本文所述通式中的u为1。
- [0071] 在一些实施方案中,拟肽大环化合物包含至少一个为氨基酸类似物的氨基酸。在一些实施方案中,所述拟肽大环化合物选自表3c中所示的拟肽大环化合物。
- [0072] 在一个方面,本发明提供了鉴别缺乏p53灭活突变的人类受试者中的一种或多种实体瘤生物标记的方法,其包括向所述人类受试者施用治疗有效量的本文所述的拟肽大环化合物。在一些实例中,所述生物标记选自p53状态、MDM2表达水平和MDMX表达水平。
- [0073] 在多个实施方案中,所述药物组合物包含所述拟肽大环化合物的药学上可接受的盐。在一些实施方案中,所述药学上可接受的盐为钠盐、钾盐或钙盐。在一些实施方案中,所述药学上可接受的盐为钠盐。

援引并入

- [0074] 本说明书中提及的所有出版物、专利和专利申请均通过引用并入本文,其程度如同明确地且分别地指出每个单独的出版物、专利或专利申请通过引用而并入。

附图说明

- [0075] 在所附的权利要求书中详细地阐述了本发明的新特征。通过参考以下对利用本发明原理的说明性实施方案加以阐述的详细说明和附图,将会获得对本发明的特征和优点的更好的理解,在这些附图中:
- [0076] 图1.示出了人野生型P53蛋白质序列。
- [0077] 图2.示出了示例性剂量水平和给药方案。
- [0078] 图3.示出了示例性给药概述。
- [0079] 图4.示出了针对每个剂量水平(DL)和剂量方案所施用的Aileron肽-1的量。

- [0080] 图5.示出了本发明的示例性剂量递增策略。
- [0081] 图6.示出了将Aileron肽-1设计用于抑制MDMX和MDM2两者 以重新激活WT p53的一种方式。
- [0082] 图7.示出了Aileron肽-1的潜在适应症(来自孤儿药适应症或大市 场机会)。
- [0083] 图8.示出了Aileron肽-1对多种不同癌症的效果。
- [0084] 图9.示出了在MDMX导致的MCF-7乳腺癌异种移植模型中,通 过静脉内或IV注射施用的Aileron肽-1的效果。
- [0085] 图10.示出了基于“3+3”剂量递增设计的剂量递增。
- [0086] 图11a和11b示出了对于队列在剂量水平中的(测量或预测的)药物 浓度。
- [0087] 图12.示出了Aileron肽-1的药代动力学模型,其示出了2房室平 行非线性Michaelis-Menten清除和线性消除。
- [0088] 图13.示出了MIC-1的剂量依赖性增加。
- [0089] 图14.表明,已完成至少两个治疗周期的患者具有稳定的疾病。Aileron肽-1显示出稳定的发病率。
- [0090] 图15.表明,Aileron肽-1显示出对患者血细胞中p21和p53的中 靶活化。

具体实施方式

[0091] 虽然在本文中已经示出和描述了本发明的优选实施方案,但是对 于本领域技术人员显而易见的是,这些实施方案仅以示例的方式提供。在不脱离本公开内容的情况下,本领域技术人员将会想到许多变化、改 变和替换。应当理解,本文所述公开内容的实施方案的各种替代方案可 用于实施本发明。旨在由以下权利要求限定本发明的范围,并且由此涵 盖这些权利要求的范围内的方法和结构及其等同物。

定义

[0092] 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。

[0093] 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。

[0094] 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。例如,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 -螺旋度上表现出至少1.25、1.5、1.75或2倍的增加。

[0095] 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。

[0096] 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。

[0097] 术语“ β -氨基酸”是指含有均为 β 构型的氨基和羧基的分子。

[0098] 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。

[0099] 下表表示出了天然氨基酸的性质一览:

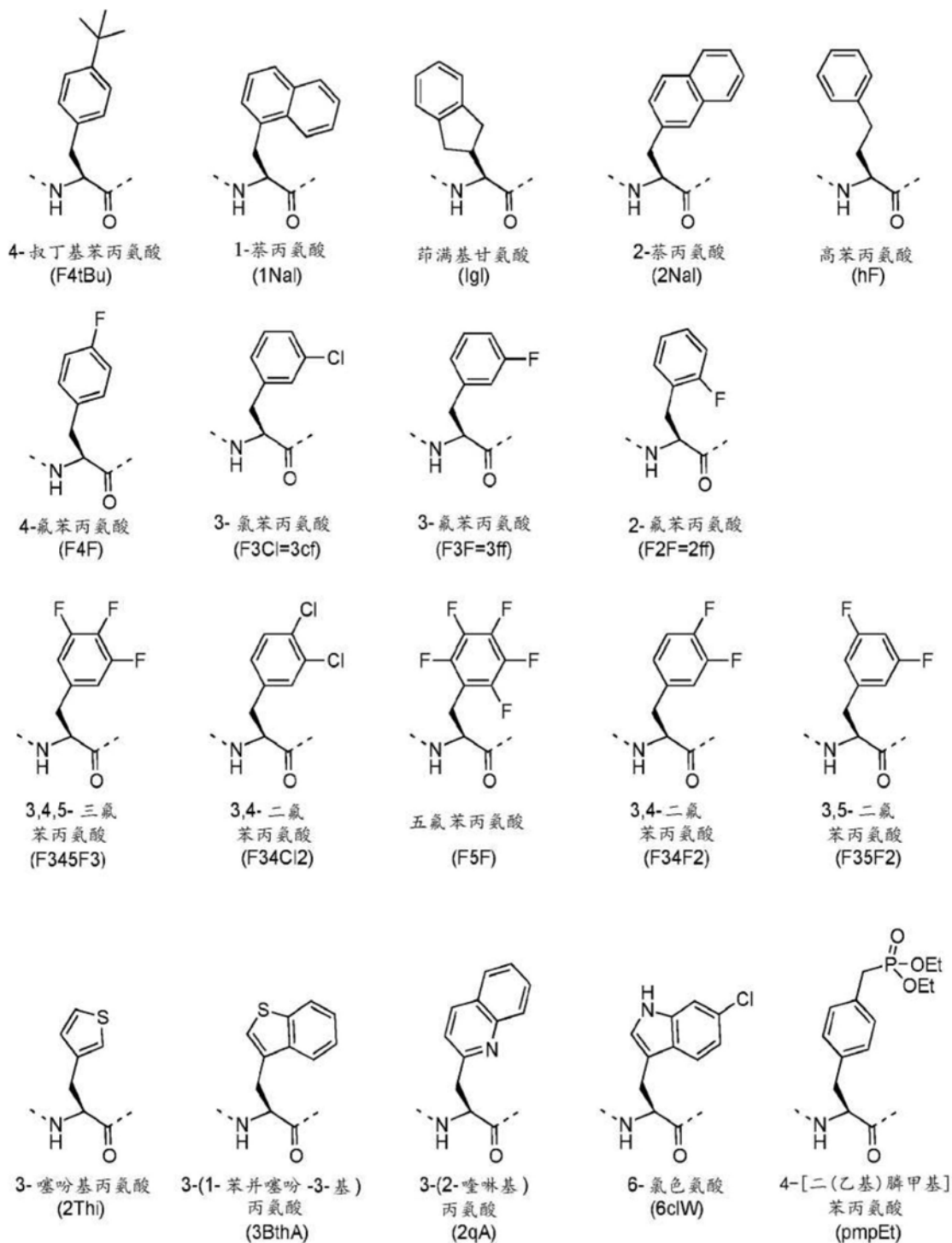
氨基酸	3 字母代码	单字母代码	侧链极性	侧链电荷 (pH 7.4)	亲水指数
丙氨酸	Ala	A	非极性	中性	1.8
精氨酸	Arg	R	极性	正	-4.5
天冬酰胺	Asn	N	极性	中性	-3.5
天冬氨酸	Asp	D	极性	负	-3.5
半胱氨酸	Cys	C	极性	中性	2.5
谷氨酸	Glu	E	极性	负	-3.5
谷氨酰胺	Gln	Q	极性	中性	-3.5
甘氨酸	Gly	G	非极性	中性	-0.4
组氨酸	His	H	极性	正(10%) 中性(90%)	-3.2
异亮氨酸	Ile	I	非极性	中性	4.5
亮氨酸	Leu	L	非极性	中性	3.8
赖氨酸	Lys	K	极性	正	-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

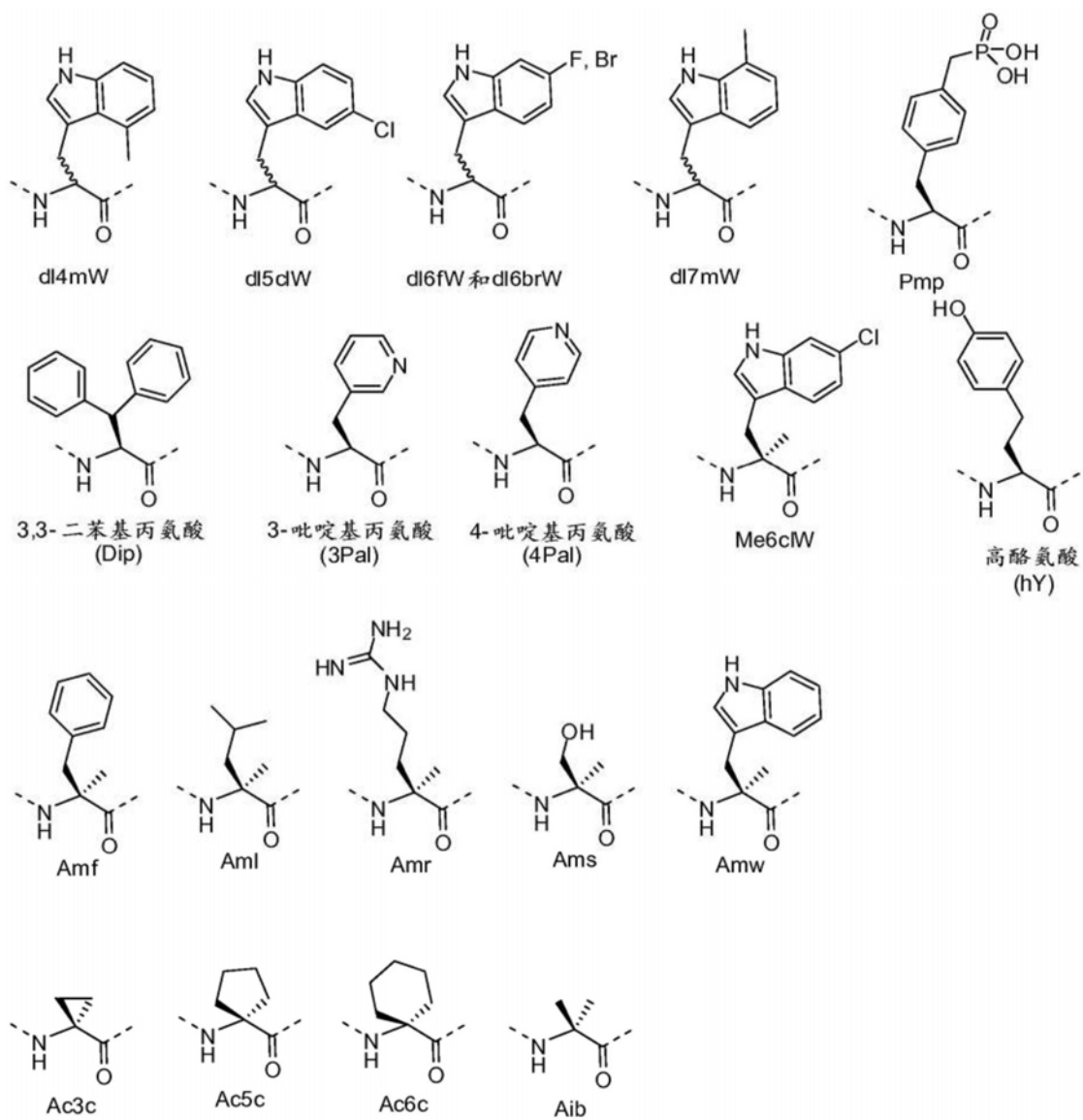
[0100] “疏水性氨基酸”包括小疏水性氨基酸和大疏水性氨基酸。“小疏水性氨基酸”为甘氨酸、丙氨酸、脯氨酸及其类似物。“大疏水性氨基酸”为缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸、色氨酸及其类似物。“极性氨基酸”为丝氨酸、苏氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、半胱氨酸、酪氨酸及其类似物。“带电荷氨基酸”为赖氨酸、精氨酸、组氨酸、天冬氨酸、谷氨酸及其类似物。

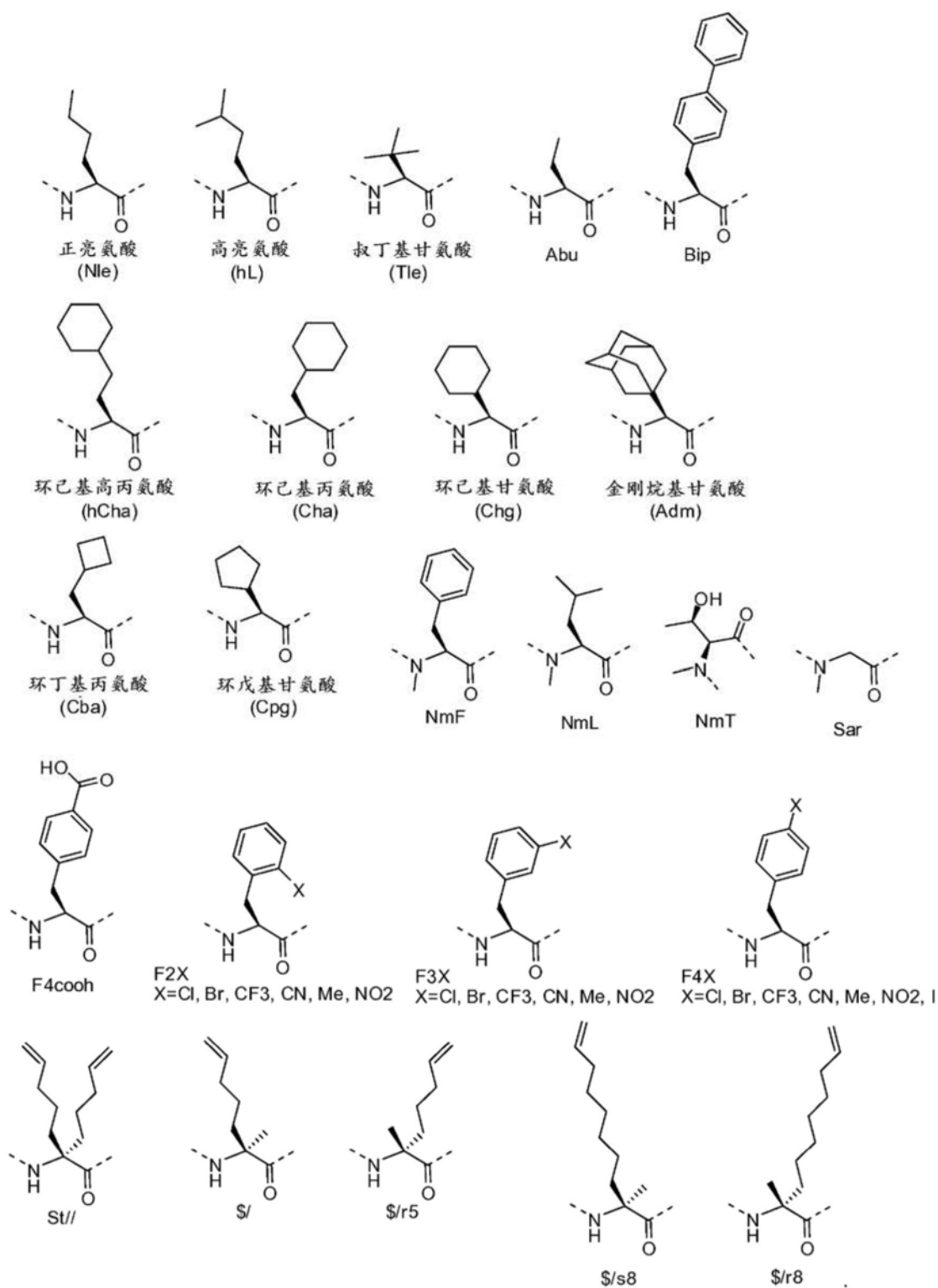
[0101] 术语“氨基酸类似物”是指在结构上类似于氨基酸并且在拟肽大环化合物的形成中可代替氨基酸的分子。氨基酸类似物包括但不限于 β -氨基酸和其中氨基或羧基被相似反应性基团取代(例如,用仲胺或叔胺取代伯胺,或用酯取代羧基)的氨基酸。

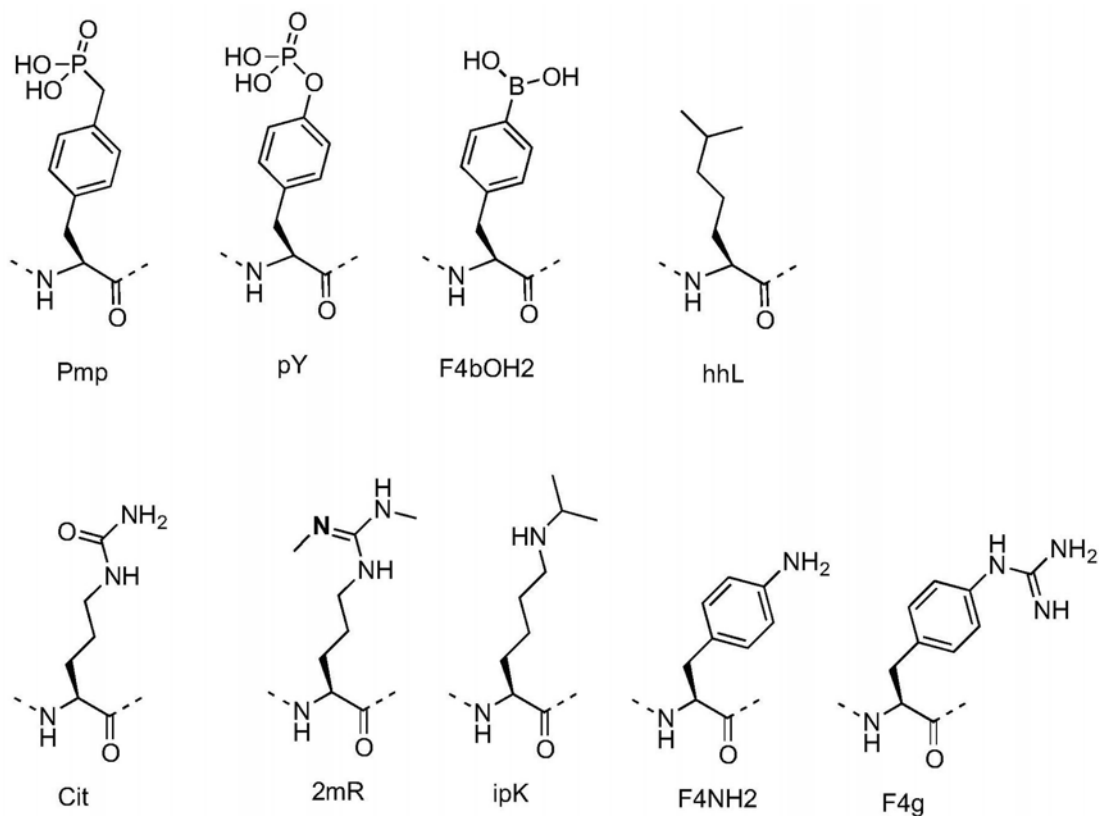
[0102] 术语“非天然氨基酸”是指并非在自然界合成的肽中通常发现的二十种氨基酸

(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:









[0103] 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 但不限于以下：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

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-(3-三氟甲基苯基)-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-(4-三氟甲基苯基)-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-甲氧基苯基)-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。

[0104] 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-苊基丙氨酸;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。

[0105] 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-脒基丙酸;L-瓜氨酸;Lys(Me)₂-OH;Lys(N₃)-OH;N δ -苊氧 羰基-L-鸟氨酸;N ω -硝基-D-精氨酸;N ω -硝基-L-精氨酸; α -甲基-鸟氨 酸;2,6-二氨基庚二酸;L-鸟氨酸;(N δ -1-(4,4-二甲基-2,6-二氧代- 环己-1- 亚基) 乙基)-D-鸟氨酸;(N δ -1-(4,4-二甲基-2,6-二氧-环己-1-亚基) 乙基)-L- 鸟氨酸;(N δ -4-甲基三苯甲基)-D-鸟氨酸;(N δ -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;N ω -硝基-D-精氨酸;和N ω -硝基-L-精氨酸。

[0106] 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。

[0107] 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、丁硫氨酸亚砷 胺、乙硫氨酸、甲硫 氨酸甲基硫氯化物、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。

[0108] 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。

[0109] 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、噁唑烷-2-甲酸和反-4-氟-脯氨酸。

[0110] 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。

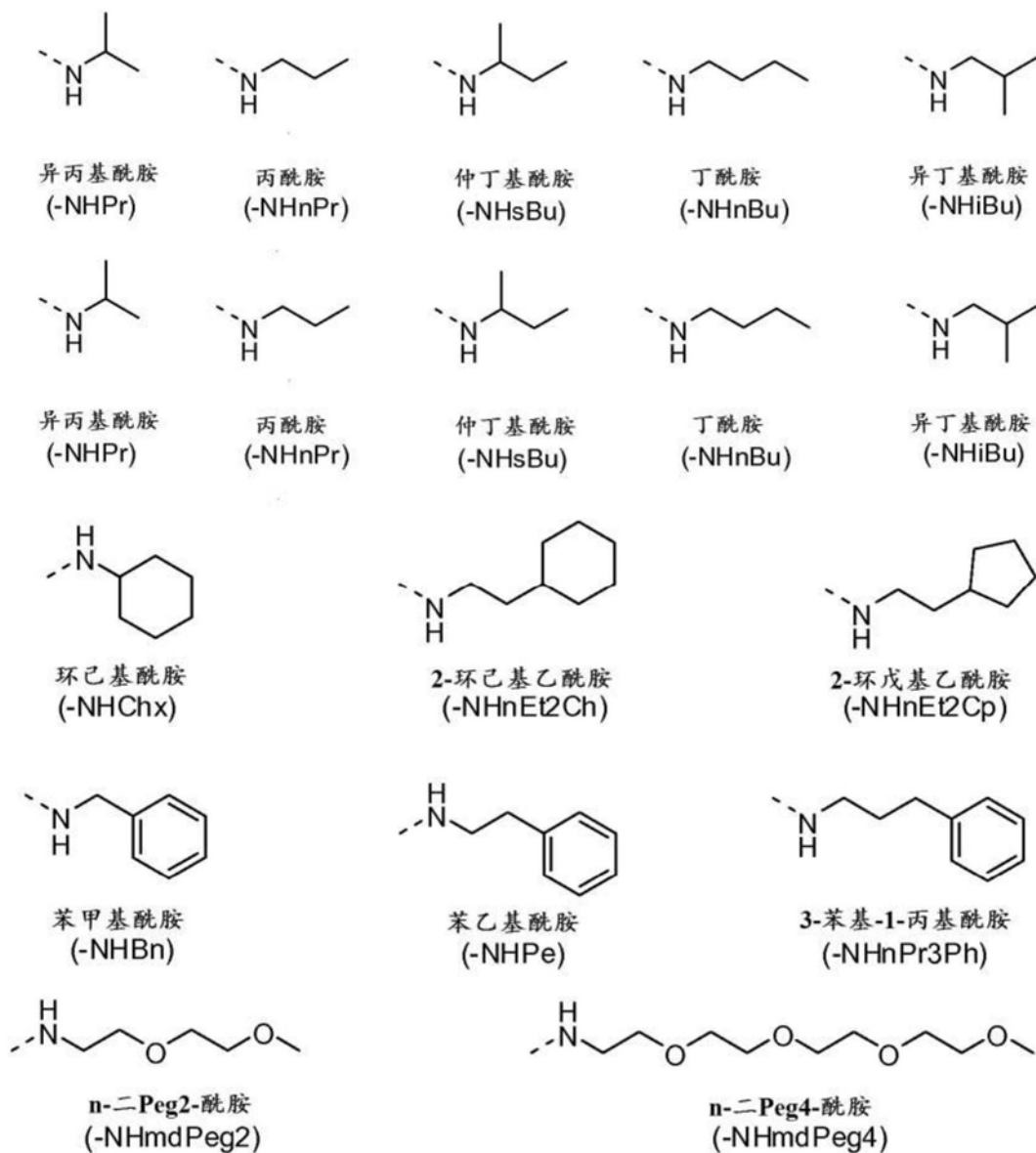
[0111] 氨基酸类似物包括色氨酸的类似物。色氨酸的氨基酸类似物的实例包括但不限于以下： α -甲基-色氨酸； β -(3-苯并噻吩基)-D-丙氨酸； β -(3-苯并噻吩基)-L-丙氨酸；1-甲基-色氨酸；4-甲基-色氨酸；5-苄氧基-色氨酸；5-溴-色氨酸；5-氯-色氨酸；5-氟-色氨酸；5-羟基-色氨酸；5-羟基-L-色氨酸；5-甲氧基-色氨酸；5-甲氧基-L-色氨酸；5-甲基-色氨酸；6-溴-色氨酸；6-氯-D-色氨酸；6-氯-色氨酸；6-氟-色氨酸；6-甲基-色氨酸；7-苄氧基-色氨酸；7-溴-色氨酸；7-甲基-色氨酸；D-1,2,3,4-四氢-去甲哈尔满-3-甲酸；6-甲氧基-1,2,3,4-四氢去甲哈尔满-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。

[0112] 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。

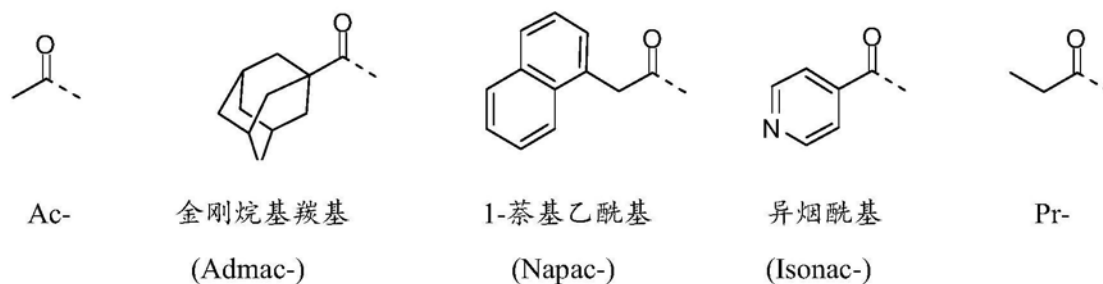
[0113] “非必需”氨基酸残基是相对于多肽的野生型序列可能发生改变而 不消除或基本不改变其基本生物学或生物化学活性 (例如,受体结合或激 活) 的残基。“必需”氨基酸残基是当相对于多肽的野生型序列发生改变时 导致多肽的基本生物学或生物化学活性消除或基本消除的残基。

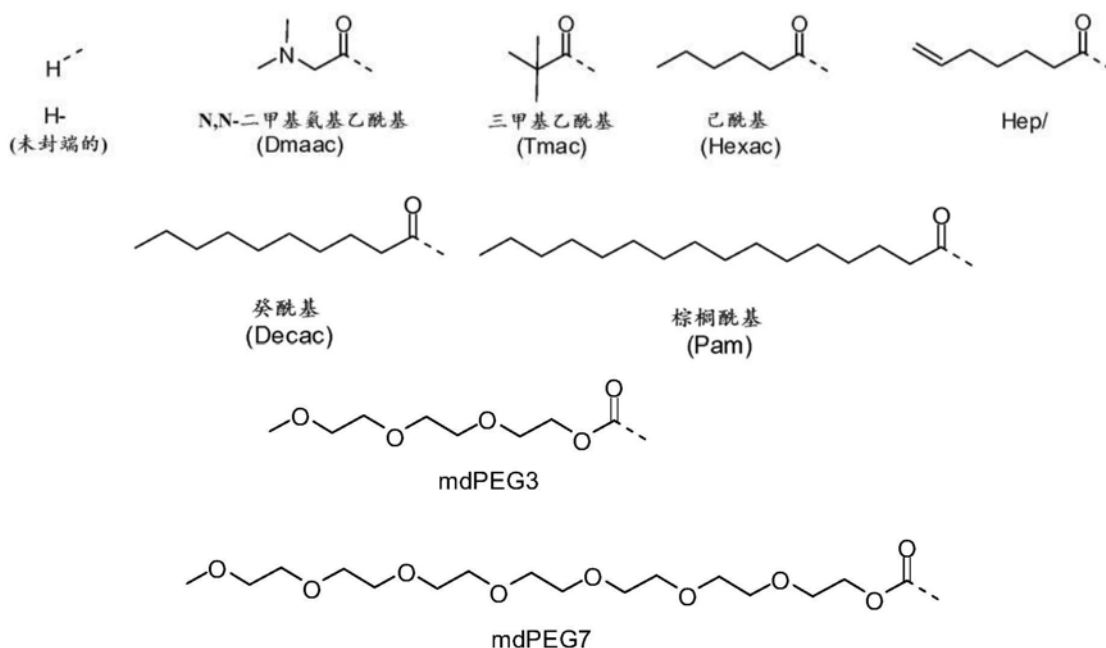
[0114] “保守氨基酸置换”是其中氨基酸残基被具有相似侧链的氨基酸残 基所替代的氨基酸置换。本领域中已定义了具有相似侧链的氨基酸残基 的家族。这些家族包括具有碱性侧链的氨基酸 (例如,K、R、H)、具有 酸性侧链的氨基酸 (例如,D、E)、具有不带电荷的极性侧链的氨基酸 (例 如,G、N、Q、S、T、Y、C)、具有非极性侧链的氨基酸 (例如,A、V、 L、I、P、F、M、W)、具有 β 分支的侧链的氨基酸 (例如,T、V、I) 和 具有芳香族侧链的氨基酸 (例如,Y、F、W、H)。因此,多肽中预测的 非必需氨基酸残基例如被来自同一侧链家族的另一种氨基酸残基所替代。可接受的置换的其他例子是基于电子等排考虑 (例如,正亮氨酸取代甲硫 氨酸) 或其他性质 (如2-噻吩丙氨酸取代苯丙氨酸,或6-Cl-色氨酸取代色 氨酸) 的置换。

[0115] 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和仲胺,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:




[0116] 氨基末端的封端基团包括未修饰的胺(即-NH₂)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C₁-C₆羰基、C₇-C₃₀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-FBz1(4-氟- 苄基)及以下:





[0117] 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。

[0118] 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。

[0119] 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)。

[0120] 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。

[0121] 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)。

[0122] 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。

[0123] 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(CO₂CH₃)₂、CuSO₄和CuCl₂。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(PPh₃)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。各种催化剂在Grubbs等人,"Ring Closing Metathesis and Related Processes in Organic Synthesis" Acc.Chem.Res.1995,28,446-452,美国专利号5,811,515;美国专利号 7,932,397;美国申请号2011/0065915;美国申请号2011/0245477;Yu 等人,"Synthesis of Macrocyclic Natural Products by Catalyst-Controlled Stereoselective Ring-Closing Metathesis,"Nature 2011,479,88;和 Peryshkov等人,"Z-Selective Olefin Metathesis Reactions Promoted by Tungsten Oxo Alkylidene Complexes," J.Am.Chem.Soc.2011,133,20754 中公开。在另外其他的情况下,反应性基团为巯基。在这样的实施方案中,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。在一些实例中,大环化试剂包括钯试剂,例如Pd(PPh₃)₄、Pd(PPh₃)₂Cl₂、Pd(dppe)Cl、Pd(dppp)Cl₂和Pd(dppf)Cl₂。

[0124] 术语“卤代”或“卤素”是指氟、氯、溴或碘或其基团。

[0125] 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,C₁-C₁₀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)。

[0126] 术语“亚烷基”是指二价烷基(即,-R-)。

[0127] 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,C₂-C₁₀表示该基团中具有2-10(含端值)个碳原子。术语“低级烯基”是指C₂-C₆烯基链。在没有指定任何数值时,“烯基”是其中具有2-20(含端值)个碳原子的链(直链或支链)。

[0128] 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,C₂-C₁₀表示该基团中具有2-10(含端值)个碳原子。术语“低级炔基”是指C₂-C₆炔基链。在没有指定任何数值时,“炔基”是其中具有2-20(含端值)个碳原子的链(直链或支链)。

[0129] 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。芳基的例子包括苯基、萘基等。术语“芳基烷氧基”是指被芳基取代的烷氧基。

[0130] “芳基烷基(arylalkyl)”是指其中芳基的氢原子中的一个被如上定义的C₁-C₅烷基取代的如上定义的芳基。芳基烷基的代表性例子包括但不限于: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。

[0131] “芳基酰胺基(arylamido)”是指其中芳基的氢原子中的一个被一个或多个-C(O)NH₂基团取代的如上定义的芳基。芳基酰胺基的代表性例子包括:2-C(O)NH₂-苯基、3-C(O)NH₂-苯基、4-C(O)NH₂-苯基、2-C(O)NH₂-吡啶基、3-C(O)NH₂-吡啶基和4-C(O)NH₂-吡啶基。

[0132] “烷基杂芳基(alkylheterocycle)”是指其中C₁-C₅烷基的氢原子中的一个被杂环

取代的如上定义的C₁-C₅烷基。烷基杂芳基的代表性例子包括但不限于：-CH₂CH₂-吗啉、-CH₂CH₂-哌啶、-CH₂CH₂CH₂-吗啉和 -CH₂CH₂CH₂-咪唑。

[0133] “烷基酰胺基(alkylamido)”是指其中C₁-C₅烷基的氢原子中的一个 被-C(O)NH₂基团取代的如上定义的C₁-C₅烷基。烷基酰胺基的代表性例子包括但不限于：-CH₂-C(O)NH₂、-CH₂CH₂-C(O)NH₂、-CH₂CH₂CH₂-C(O)NH₂、-CH₂CH₂CH₂CH₂-C(O)NH₂、-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂-C(O)NH₂、-CH₂CH(C(O)NH₂)CH₃、-CH₂CH(C(O)NH₂)CH₂CH₃、-CH(C(O)NH₂)CH₂CH₃、-C(CH₃)₂CH₂-C(O)NH₂、-CH₂-CH₂-NH-C(O)-CH₃、-CH₂-CH₂-NH-C(O)-CH₃-CH₃和-CH₂-CH₂-NH-C(O)-CH=CH₂。

[0134] “烷醇(alkanol)”是指其中C₁-C₅烷基的氢原子中的一个被羟基取代的如上定义的C₁-C₅烷基。烷醇的代表性例子包括但不限于：-CH₂OH、-CH₂CH₂OH、-CH₂CH₂CH₂OH、-CH₂CH₂CH₂CH₂OH、-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂OH、-CH₂CH(OH)CH₃、-CH₂CH(OH)CH₂CH₃、-CH(OH)CH₃和-C(CH₃)₂CH₂OH。

[0135] “烷基羧基(alkylcarboxy)”是指其中C₁-C₅烷基的氢原子中的一个 被-COOH基团取代的如上定义的C₁-C₅烷基。烷基羧基的代表性例子包括但不限于：-CH₂COOH、-CH₂CH₂COOH、-CH₂CH₂CH₂COOH、-CH₂CH₂CH₂CH₂COOH、-CH₂CH(COOH)CH₃、-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂COOH、-CH₂CH(COOH)CH₂CH₃、-CH(COOH)CH₂CH₃和-C(CH₃)₂CH₂COOH。

[0136] 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。

[0137] 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。杂芳基的例子包括吡啶基、呋喃基(furyl或furanlyl)、咪唑基、 苯并咪唑基、噻吩基、噻吩基(thiophenyl或thienyl)、喹啉基(quinolinylyl)、吡啶基、噻唑基等。

[0138] 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。

[0139] 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。

[0140] 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。杂环基的例子包括哌嗪基、吡咯烷基、二氧杂环己基、吗啉基、四氢呋喃基等。

[0141] 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。

[0142] 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,那么本发明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。

[0143] 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。

[0144] 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。作为例子,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。

[0145] 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。

[0146] 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。

[0147] 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。

[0148] 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、 μ M、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。

[0149] 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。

[0150] 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。

[0151] 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。

[0152] 如本文所用的术语“不良事件”(AE)包括由临床研究的任何阶段发生的身体体征、症状和/或实验室变化所指示的,任何有害的、病理的或非有意的解剖学、生理学或代谢功能的变化,不论其是否与研究药物的施用在时间上相关,并且不论其是否被认为与研究药物有关。该定义包括先前存在的医学状况或事件的加重、并发疾病、超敏反应、药物相

互作用或临床上有意义的实验室检查结果。AE不包括以下各项：(i) 医学或手术程序，例如，拔牙、输血、手术（导致该程序的医学状况将被记录为AE）；(ii) 在研究开始时存在或检测到且没有恶化的先前存在的状况或程序；(iii) 因选择性手术或其中未发生不利医学事件的其他情况而住院；(iv) 异常的实验室值，除非研究人员认为它在临床上有意义，需要干预，或导致研究药物的延迟、中止或剂量变化；(v) 未伴有体征/症状的研究药物或伴随用药的给药过量；如果出现体征/症状，则最终诊断应被记录为AE；(vi) 妊娠，除非妊娠期间发生导致住院的并发症；在这种情况下，导致住院的医学状况将被记录为AE；以及(vii) 作为此研究中的效力参数而收集、因此不记录为AE的所研究的疾病的显著恶化。

[0153] 如本文所用的术语严重不良事件 (SAE) 是指导致以下任一种结果的不良事件：(i) 死亡；(ii) 危及生命的不良体验（即，事件发生时存在因其而死亡的直接风险；这包括在以更严重的形式发生时可能导致死亡的不良事件）；(iii) 持续或重大的残疾/失能；(iv) 住院或现有住院延长；以及(v) 先天性异常/出生缺陷。在根据医学判断可能危及患者或可能需要医疗或外科手术来防止该定义中所列出的一种结果时，可能不会导致死亡、危及生命或需要住院的重要医疗事件可被视为严重的。因潜在疾病而住院将不会被报告为SAE，除非有理由怀疑与研究药物有因果关系。

[0154] 如果AE或疑似不良反应没有在拟肽大环化合物研究者手册中列出或没有以已观察到的特异性或严重性列出；或者与方案或其他地方描述的风险信息不一致，则其被视为“非预期的”（被称为非预期的不良事件 (UAE)）。例如，在该定义下，如果研究者手册仅提到肝酶升高或肝炎，则肝坏死将是非预期的（由于严重性更高）。类似地，如果研究者的手册仅列出脑血管意外，则脑血栓栓塞和脑血管炎将是非预期的（由于特异性更高）。该定义中使用的“非预期的”还指在研究者手册中提到伴随一类药物发生，或从拟肽大环化合物的药理学性质可以预期，但没有具体提及伴随该拟肽大环化合物发生的AE或疑似不良反应。

[0155] 如本文所用的，“剂量限制毒性” (DLT) 被定义为据认为可能、或许或必定与研究药物有关的任何 ≥ 3 级的AE，以下情况除外：(1) 对于恶心、呕吐、腹泻、皮疹或粘膜炎，只有在48小时内不对标准支持性/药理治疗发生响应的 ≥ 3 级的AE才被视为DLT；(2) 对于电解质失衡，只有在24小时内不对纠正发生响应的 ≥ 3 级的AE才被视为DLT。此外，具体的血液学DLT被定义为：

(i) 血小板减少—任意持续时间的4级，3级持续 ≥ 7 天，或伴有临床上有意义的出血的3级

(ii) 中性粒细胞减少—4级持续 ≥ 3 天，或任何 ≥ 3 级的发热性中性粒细胞减少

[0156] 上述标准可用于在整个试验过程中对剂量减少、中断或中止进行单独的患者评定，但在第1周期发生的DLT将用于告知剂量递增决定的安全性和耐受性评价。

[0157] 如本文所用的“最大耐受剂量” (MTD) 被定义为6名患者中 ≤ 1 名患者经历符合DLT的治疗相关毒性并且下一更高剂量使至多6名患者中 ≥ 2 名患者经历DLT的剂量。在加入队列中的所有患者完成第1周期、中止治疗或减少剂量之前不能建立MTD。如果在之后的周期中观察到DLT，则将重新评价之前建立的剂量水平的耐受性。

[0158] 如本文所用的“可测量疾病” (MD) 由至少一个可测量病变的存在来定义。

[0159] 可测量病变被定义为可以在至少一个维度[待记录的测量平面中的最长直径 (LD)]上准确测量的那些病变，其中通过CT扫描测量的最小大小为10mm (CT扫描切片厚度

不超过5mm),通过临床检查卡尺测量的最小大小为10mm(可将不能用卡尺准确测量的病变记录为不可测量的),或通过胸部X光检查测量的最小大小为20mm。

[0160] 如果通过CT扫描(CT扫描切片厚度不超过5mm)评估的淋巴结短轴为 $\geq 15\text{mm}$,则“恶性淋巴结”将被视为病理学增大并且可测量的。

[0161] 如本文所用的“不可测量的疾病”包括不可测量的所有其他病变(或疾病部位),包括被视为不可测量疾病的小病变(最长直径 $<10\text{mm}$ 或具有 ≥ 10 至 $<15\text{mm}$ 的短轴的病变淋巴结)。被视为真正不可测量的病变包括:通过体检鉴别、未随后进行CT或MRI的软脑膜疾病、腹水、胸膜/心包积液、皮肤/肺淋巴管炎、炎症性乳腺疾病、腹部肿块/腹部脏器肿大。

[0162] 如本文所用的“目标病变”包括所有可测量的病变,每个器官最多有多达两处病变且合计五处病变,代表被鉴别为目标病变并且在基线处进行记录和测量的所有受累器官。目标病变的选择可基于其大小(具有最长直径的病变)以及其用于准确重复测量(通过成像技术或临床地)的适宜性。可以计算所有目标病变的直径(非结节病变的最长直径,结节病变的短轴)之和,并将其报告为基线直径总和。该基线直径总和可用作表征目标肿瘤响应的参考。

[0163] 如本文所用的“非目标病变”包括包含不是目标病变的病变淋巴结的所有其他病变(或疾病部位)。可将非目标的病变鉴别为非目标病变,并也可在基线对其进行记录。可能不需要测量这些病变,并且可将这些病变归为“存在”、“不存在”,或在罕见情况下的“明确进展”。此外,可以能够将涉及同一器官的多个非目标病变在病例报告表格上记录为单个项目(例如,“多个增大的骨盆淋巴结”或“多个肝转移”)。

[0164] 如本文所用的“完全响应”(CR)被定义为所有目标病变消失。任何病变淋巴结(无论是目标的还是非目标的)的短轴必须缩短至 $<10\text{mm}$ 。

[0165] 如本文所用的“部分响应(PR)”被定义为以基线直径总和为参考,目标病变的直径总和至少减少30%。

[0166] 如本文所用的“进行性疾病(PD)”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%。除了20%的相对增加之外,该总和还必须显示出至少5mm的绝对增加。一个或多个新病变的出现也可被视为进展。

[0167] 如本文所用的“稳定的疾病”(SD)被定义为以研究中的最小直径总和为参考,没有出现符合PR的充分缩小也没有出现符合PD的充分增加的情况。

[0168] 术语“受试者”或“患者”包括哺乳动物和非哺乳动物。哺乳动物的实例包括但不限于人;非人类灵长类动物,如黑猩猩,及其他猿类和猴物种;农场动物,如牛、马、绵羊、山羊、猪;家养动物,如兔子、狗和猫;实验动物,包括啮齿动物,如大鼠、小鼠和豚鼠,等等。非哺乳动物的实例包括但不限于鸟、鱼等。在本文提供的方法和组合物中的一个实施方案中,所述哺乳动物为人。

[0169] 术语“单倍功能不全”指当二倍体生物体只有基因的单一功能拷贝(另一拷贝由于突变而失活)并且该单一功能拷贝不产生足够的基因产物(通常是蛋白质)以实现野生型条件从而导致异常或疾病状态时发生的状况。

[0170] 如本文所用的术语“沉默突变”是基因编码区中的一种突变类型,其实际上并未改变所产生的蛋白质的氨基酸序列。

[0171] 在下面的附图和描述中阐述了本发明的一个或多个具体实施方案 的细节。从说明书、附图和权利要求书可以明显看出本发明的其他特征、目的和优势。

概述

[0172] 在一个方面,本发明提供了治疗受试者的实体瘤的方法。例如, 本文公开的方法可用于治疗非p53阴性的实体瘤。在一些情况下,本文 公开的方法可用于治疗已被确定为缺乏p53灭活突变的实体瘤。本发明 的方法还可用于治疗表达功能获得突变p53,即超级凋亡p53的实体瘤。在其他实例中,本发明的方法在治疗实体瘤中是有用的,其中该实体瘤表达具有功能部分丧失突变的p53,具有拷贝丢失突变的p53,或具有一个或多个沉默突变的p53。在一些实例中,该实体瘤表达具有拷贝丢失 突变和灭活突变的p53。

[0173] 所述方法包括向受试者施用包含治疗有效量的拟肽大环化合物或 治疗等效量的其药学上可接受的盐的药物组合物,其中该拟肽大环化 合物与MDM2和/或MDMX蛋白结合。在一些实施方案中,该拟肽大环化 合物破坏p53与MDM2和MDMX之间的相互作用。

[0174] 在另一方面,本发明提供了治疗受试者的表达野生型p53的实体 瘤的方法。该方法包括向受试者施用包含治疗有效量的拟肽大环化合物 或治疗等效量的其药学上可接受的盐的药物组合物,其中该拟肽大环化 合物与MDM2和/或MDMX蛋白结合。在一些实施方案中,该拟肽大环 化合物破坏p53与MDM2和MDMX之间的相互作用。

[0175] 在一些实施方案中,通过本文公开的方法治疗的受试者为人。在 一些实施方案中,根据本文提供的方法治疗的受试者是已被诊断或被诊 断为患有缺乏p53灭活突变并且/或者表达野生型p53的实体瘤的人。在 一些实施方案中,根据本文提供的方法对实体瘤进行治疗的受试者是易 发或易患缺乏p53灭活突变并且/或者表达野生型p53的实体瘤的人。在 一些实施方案中,根据本文提供的方法对实体瘤进行治疗的受试者是处 于发展出缺乏p53灭活突变并且/或者表达野生型p53的实体瘤的风险中 的人。在一些实例中,p53灭活突变可为p53蛋白的DNA结合域中的突 变。在一些实例中,p53灭活突变可为错义突变。在多个实施方案中, 所述实体瘤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。实体瘤 中p53灭活突变的缺乏和/或野生型p53的存在可通过本领域已知的任何 合适的方法来确定,例如通过测序、基于阵列的检测、RNA分析和扩增 方法如PCR。

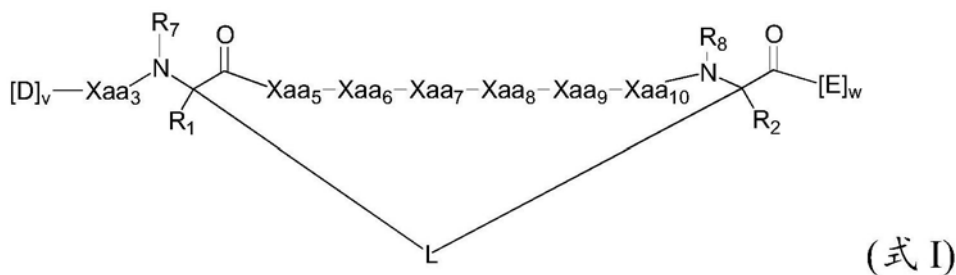
[0176] 在某些实施方案中,所述人类受试者对本领域已知的实体瘤的一 种或多种其他标准治疗而言是难治性的和/或无法忍受的。在一些实施方 案中,所述人类受试者已经历至少一次不成功的既往实体瘤治疗和/或疗 法。

[0177] 在一些实施方案中,根据本发明的方法治疗的受试者是已被诊断 或被诊断为患有非p53阴性的实体瘤的人。在一些实施方案中,根据本 发明的方法治疗的受试者是已被诊断或被诊断为患有表达功能获得突变 体p53,即超级凋亡p53的实体瘤的人。在一些实施方案中,根据本发 明的方法治疗的受试者是已被诊断或被诊断为患有表达具有功能部分丧 失突变的p53的实体瘤的人。在一些实施方案中,根据本文提供的方法 治疗的受试者是已被诊断或被诊断为患有表达具有拷贝丢失突变的p53 的实体瘤的人。在一些实施方案中,根据本文提供的方法治疗的受试者 是已被诊断或被诊断为患有表达具有一个或多个沉默突变的p53的实体 瘤的人。在一些实施方案中,根据本文提供的方法治疗的受试者是 已被 诊断或被诊断为患有表达具有拷贝丢失突变和灭活突变的p53的实体瘤 的人。

[0178] 在一些实施方案中,本文提供的用于治疗实体瘤的方法抑制、减小、缩小、阻止或稳定与该实体瘤相关的肿瘤。在一些实施方案中,本文提供的用于治疗实体瘤的方法抑制、减小、缩小、阻止或稳定与该实体瘤或其一种或多种症状相关的肿瘤中的血液流动、代谢或水肿。在一些实施方案中,本文提供的用于治疗实体瘤的方法导致肿瘤、肿瘤血流、肿瘤代谢或肿瘤周围水肿以及/或者与该实体瘤相关的一种或多种症状的消退。在一些实施方案中,如通过本领域技术人员可用的常规方法如超声、CT扫描、MRI、动态造影增强MRI或PET扫描所测量的,本文提供的用于治疗实体瘤的方法保持该肿瘤的大小,使其不增加,或使其增加得比施用标准疗法后的肿瘤增加少。在特定实施方案中,本文提供的用于治疗实体瘤的方法使肿瘤大小减小。在一些实施方案中,本文提供的用于治疗实体瘤的方法使肿瘤形成减少。在某些实施方案中,本文提供的用于治疗实体瘤的方法根除、去除或控制与该实体瘤相关的原发性肿瘤、区域性肿瘤和/或转移性肿瘤。在一些实施方案中,本文提供的用于治疗实体瘤的方法减少与该实体瘤相关的转移的次数或大小。在一些实施方案中,本文提供的用于治疗实体瘤的方法导致对该治疗的完全响应。在一些实施方案中,本文提供的用于治疗实体瘤的方法导致对该治疗的部分响应。在一些实施方案中,通过本文公开的方法治疗的实体瘤是稳定的疾病。在一些实施方案中,通过本文公开的方法治疗的实体瘤是进行性疾病。

[0179] 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、眼睛、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。

[0180] 所述拟肽大环化合物可为任何交联的肽,即,包含在第一氨基酸残基(或类似物)与第二氨基酸残基之间形成大环的至少一个大环形成连接体的任何肽。例如,所述拟肽大环化合物可为能够与MDM2和/或MDMX蛋白结合的拟肽大环化合物。在一些实施方案中,所述拟肽大环可为式I的拟肽大环化合物:



其中:

Xaa3、Xaa5、Xaa6、Xaa7、Xaa8、Xaa9和Xaa10中的每一个单独地为氨基酸,其中Xaa3、Xaa5、Xaa6、Xaa7、Xaa8、Xaa9和Xaa10中的至少三个是与序列Phe3-X4-His5-Tyr6-Trp7-Ala8-Gln9-Leu10-X11-Ser12 (SEQ ID NO:8) 或Phe3-X4-Glu5-Tyr6-Trp7-Ala8-Gln9-Leu10/Cba10-X11-Ala12 (SEQ ID NO:9) 的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独立地为氨基酸;

每个R1和R2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,它们为未取代的或被卤素-取代;或者R1和R2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或L' 独立地为大环形成连接体

每个R₅独立地为卤素、烷基、-OR₆、-N(R₆)₂、-SR₆、-SOR₆、-SO₂R₆、-CO₂R₆、荧光部分、放射性同位素或治疗剂；

每个R₆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R₇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、环芳基或杂环芳基，它们任选地被R₅取代，或 是与D残基形成的环状结构的一部分；

每个R₈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、环芳基或杂环芳基，它们任选地被R₅取代，或 是与E残基形成的环状结构的一部分；

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

每个w为0-1000，例如1-500、1-200、1-100、1-50、1-30、1-20 或1-10的整数。

[0181] 包含治疗有效量的拟肽大环化合物或治疗等效量的其药学上可接 受的盐的药物组合物的施用可通过任何合适的手段实现。例如，该药物 组合物可肠胃外施用。例如，施用可以是静脉内施用、动脉内施用、骨 内输注、肌肉内施用、脑内施用、脑室内施用、鞘内施用或皮下施用。在一些实施方案中，进行静脉内施用。

[0182] 在一些实施方案中，本文公开的方法另外或任选地包括对本发明 的包含治疗有效量的拟肽大环化合物或治疗等效量的其药学上可接受的 盐的药物组合物在患有被确定为缺乏p53灭活突变的实体瘤或患有表达 野生型(WT) p53蛋白的实体瘤的受试者中的安全性和/或耐受性进行评 价。

[0183] 本文还提供了用于确定本文公开的拟肽大环化合物在患有被确定 为缺乏p53灭活突变的实体瘤或患有表达野生型(WT) p53蛋白的实体瘤 的受试者中的剂量限制毒性(DLT)和最大耐受剂量(MTD)的方法。

[0184] 在一些实施方案中，本文公开的方法另外或任选地包括在向受试 者单次和/或多次施用拟肽大环化合物后，对血液中的所述拟肽大环化合 物和/或其代谢物进行药代动力学(PK)分析。

[0185] 在一些实施方案中，本文公开的方法另外或任选地包括研究所述 拟肽大环化合物对肿瘤活检样品(例如，p21、胱天蛋白酶、MDM2)和血 液样品(例如，巨噬细胞抑制细胞因子-1[MIC-1])中的药效学生物标记的 影响，以及评估这些生物标记与临床响应之间的关系。

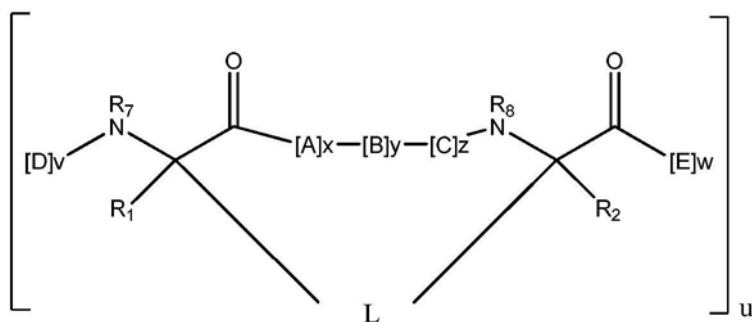
[0186] 在一些实施方案中，本文公开的方法另外或任选地包括用于评估 潜在的患者生物标记(例如，p53状态、MDM2和MDMX表达水平)、拟 肽大环化合物治疗对这些生物标记的影响，以及这些生物标记与拟肽大 环化合物的临床响应之间可能的关系的步骤。

[0187] 本文还提供了用于评价拟肽大环化合物在剂量扩充阶段于具有缺 乏p53灭活突变并且/或者表达WT p53的特定肿瘤类型的受试者中的临 床活性的方法。

化合物和组合物

拟肽大环化合物

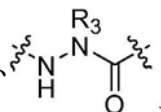
[0188] 在一些实施方案中，拟肽大环化合物具有式(I)：



式I

其中：

每个A、C和D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E独立地为选自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；

每个R₃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、环芳基或杂环芳基，它们任选地被R₅取代；

每个R₁和R₂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，它们为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L和L'独立地为大环形成连接体；

每个L₃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 $[-R_4-K-R_4-]_n$ ，它们各自任选地被R₅取代；

每个R₄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、SO₂、CO、CO₂或CONR₃；

每个R₅独立地为卤素、烷基、-OR₆、-N(R₆)₂、-SR₆、-SOR₆、-SO₂R₆、-CO₂R₆、荧光部分、放射性同位素或治疗剂；

每个R₆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R₇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、环芳基或杂环芳基，它们任选地被R₅取代，或是与D残基形成的环状结构的一部分；

每个R₈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、环芳基或杂环芳基，它们任选地被R₅取代，或是与E残基形成的环状结构的一部分；

每个v独立地为整数；

每个w独立地为3-1000的整数；

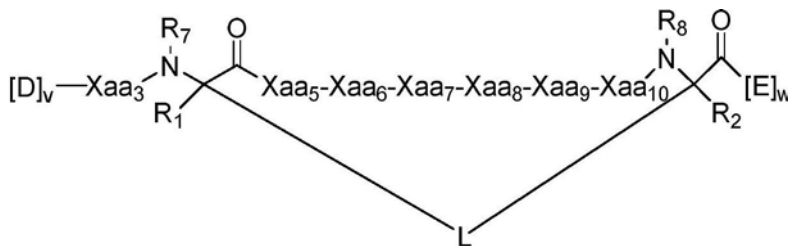
u为1-10的整数；

每个x、y和z独立地为0-10的整数；且

每个n独立地为1-5的整数。

[0189] 在一些实施方案中,每个v和w独立地为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。

[0190] 在一些实施方案中,还提供了下式的拟肽大环化合物:



其中:

Xaa3、Xaa5、Xaa6、Xaa7、Xaa8、Xaa9和Xaa10中的每一个单独地为氨基酸,其中Xaa3、Xaa5、Xaa6、Xaa7、Xaa8、Xaa9和Xaa10中的至少三个是与序列Phe3-X4-His5-Tyr6-Trp7-Ala8-Gln9-Leu10-X11-Ser12 (SEQ ID NO:8)的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独立地为氨基酸;

每个R1和R2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,它们为未取代的或被卤素-取代;或者 R1和R2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或L' 独立地为大环形成连接体;

每个R5独立地为卤素、烷基、-OR6、-N(R6)2、-SR6、-SOR6、-SO2R6、-CO2R6、荧光部分、放射性同位素或治疗剂;

每个R6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R7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、环芳基或杂环芳基,它们任选地被R5取代,或是与D残基形成的环状结构的一部分;

每个R8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、环芳基或杂环芳基,它们任选地被R5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;且

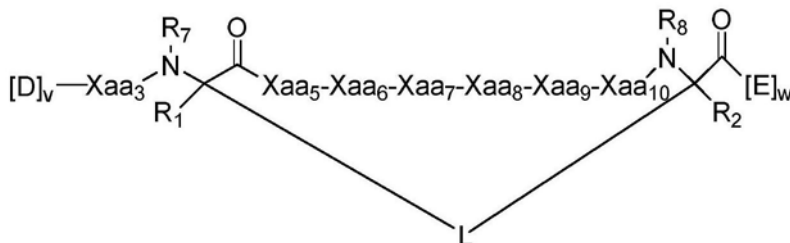
w为3-1000,例如3-500、3-200、3-100、3-50、3-30、3-20或3-10 的整数。

[0191] 在一些实施方案中,每个v和w独立地为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。

[0192] 在本文所述任何通式的一些实施方案中,Xaa3、Xaa5、Xaa6、Xaa7、Xaa8、Xaa9和Xaa10中的至少三个是与序列 Phe3-X4-His5-Tyr6-Trp7-Ala8-Gln9-Leu10-X11-Ser12 (SEQ ID NO:8)的相应位置处的氨基酸相同的氨基酸。在其他实施方案中,Xaa3、Xaa5、Xaa6、Xaa7、Xaa8、Xaa9和Xaa10中的至少四个是与序列 Phe3-X4-His5-Tyr6-Trp7-Ala8-Gln9-Leu10-X11-Ser12 (SEQ ID NO:8)的相应位置处的氨基酸相同的氨基酸。在其他实施方案中,Xaa3、Xaa5、Xaa6、Xaa7、Xaa8、Xaa9和Xaa10中的至少五个是与序列 Phe3-X4-His5-Tyr6-Trp7-Ala8-Gln9-Leu10-X11-Ser12 (SEQ ID NO:8)的相应位置处的氨基酸相同的氨基酸。在其他实施方案中,Xaa3、Xaa5、Xaa6、Xaa7、Xaa8、Xaa9和Xaa10中的至少六个是与序列 Phe3-X4-His5-Tyr6-Trp7-

Ala₈-Gln₉-Leu₁₀-X₁₁-Ser₁₂ (SEQ ID NO:8) 的相应位置处的氨基酸相同的氨基酸。在其他实施方案中, Xaa₃、Xaa₅、Xaa₆、Xaa₇、Xaa₈、Xaa₉和Xaa₁₀中的至少七个是与序列 Phe₃-X₄-His₅-Tyr₆-Trp₇-Ala₈-Gln₉-Leu₁₀-X₁₁-Ser₁₂ (SEQ ID NO:8) 的相应位置处的氨基酸相同的氨基酸。

[0193] 在一些实施方案中, 拟肽大环化合物具有下式:



其中:

Xaa₃、Xaa₅、Xaa₆、Xaa₇、Xaa₈、Xaa₉和Xaa₁₀中的每一个单独地为氨基酸, 其中Xaa₃、Xaa₅、Xaa₆、Xaa₇、Xaa₈、Xaa₉和Xaa₁₀中的至少三个是与序列Phe₃-X₄-Glu₅-Tyr₆-Trp₇-Ala₈-Gln₉-Leu₁₀/Cba₁₀-X₁₁-Ala₁₂ (SEQ ID NO:9) 的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独立地为氨基酸;

每个E独立地为氨基酸, 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;

每个R₁和R₂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, 它们为未取代的或被卤素取代; 或者 R₁和R₂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或L' 独立地为大环形成连接体;

每个R₅独立地为卤素、烷基、-OR₆、-N(R₆)₂、-SR₆、-SOR₆、-SO₂R₆、-CO₂R₆、荧光部分、放射性同位素或治疗剂;

每个R₆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R₇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、环芳基或杂环芳基, 它们任选地被R₅取代, 或是与D残基形成的环状结构的一部分;

每个R₈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、环芳基或杂环芳基, 它们任选地被R₅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;

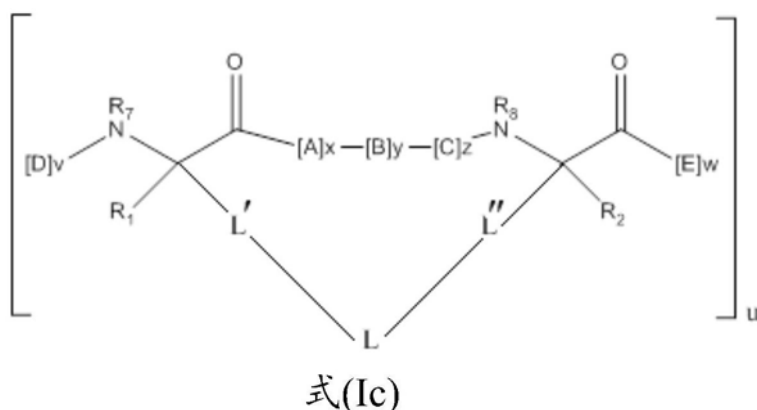
w为3-1000, 例如3-500、3-200、3-100、3-50、3-30、3-20或3-10 的整数; 且。

[0194] 在上述通式的一些实施方案中, Xaa₃、Xaa₅、Xaa₆、Xaa₇、Xaa₈、Xaa₉和Xaa₁₀中的至少三个是与序列 Phe₃-X₄-Glu₅-Tyr₆-Trp₇-Ala₈-Gln₉-Leu₁₀/Cba₁₀-X₁₁-Ala₁₂ (SEQ ID NO:9) 的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, Xaa₃、Xaa₅、Xaa₆、Xaa₇、Xaa₈、Xaa₉和Xaa₁₀中的至少四个是与序列 Phe₃-X₄-Glu₅-Tyr₆-Trp₇-Ala₈-Gln₉-Leu₁₀/Cba₁₀-X₁₁-Ala₁₂ (SEQ ID NO:9) 的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, Xaa₃、Xaa₅、Xaa₆、Xaa₇、Xaa₈、Xaa₉和Xaa₁₀中的至少五个是与序列 Phe₃-X₄-

Glu₅-Tyr₆-Trp₇-Ala₈-Gln₉-Leu₁₀/Cba₁₀-X₁₁-Ala₁₂ (SEQ ID NO:9) 的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, Xaa₃、Xaa₅、Xaa₆、Xaa₇、Xaa₈、Xaa₉和Xaa₁₀中的至少六个是与序列 Phe₃-X₄-Glu₅-Tyr₆-Trp₇-Ala₈-Gln₉-Leu₁₀/Cba₁₀-X₁₁-Ala₁₂ (SEQ ID NO:9) 的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, Xaa₃、Xaa₅、Xaa₆、Xaa₇、Xaa₈、Xaa₉和Xaa₁₀中的至少七个是与序列 Phe₃-X₄-Glu₅-Tyr₆-Trp₇-Ala₈-Gln₉-Leu₁₀/Cba₁₀-X₁₁-Ala₁₂ (SEQ ID NO:9) 的相应位置处的氨基酸相同的氨基酸。

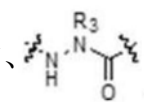
[0195] 在一些实施方案中, w为3-10, 例如3-6、3-8、6-8或6-10的整数。在一些实施方案中, w为3。在其他实施方案中, w为6。在一些实施方案中, v为1-10, 例如2-5的整数。在一些实施方案中, v为2。

[0196] 在一个实施方案中, 式 (I) 拟肽大环化合物具有式 (Ic) :



其中:

每个A、C、D和E独立地为天然或非天然氨基酸;

每个B独立地为天然或非天然氨基酸、氨基酸类似物、 [-NH-L₃-CO-]、[-NH-

L₃-SO₂-]或[-NH-L₃-];

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, 它们各自任选地被R₅取代, 或者是键, 或者与R₁以及结合至R₁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, 它们各自任选地被R₅取代, 或者是键, 或者与R₂以及结合至R₂和L''两者的原子一起形成环;

每个R₁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, 它们为未取代的或被卤素-取代, 或者与L'以及结合至R₁和L'两者的原子一起形成环;

每个R₂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, 它们为未取代的或被卤素-取代, 或者与L''以及结合至R₁和L''两者的原子一起形成环;

R₃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R₅取代;

每个L₃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R₅取代；

每个R₄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为O、S、SO、SO₂、CO、CO₂或CONR₃；

每个n为1-5的整数；

每个R₅独立地为卤素、烷基、-OR₆、-N(R₆)₂、-SR₆、-SOR₆、-SO₂R₆、-CO₂R₆、荧光部分、放射性同位素或治疗剂；

每个R₆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；

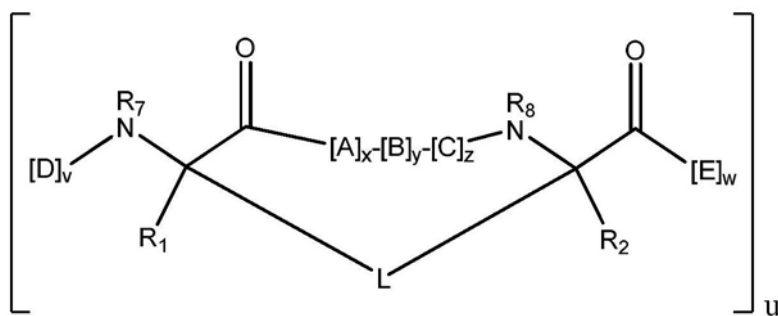
每个R₇独立地为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、杂烷基、环烷基烷基、杂环烷基、芳基或杂芳基，它们任选地被R₅取代，或是与D残基形成的环状结构的一部分；

每个R₈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R₅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；且

每个u、x、y和z独立地为0-10的整数。

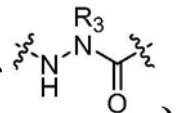
[0197] 在一些实施方案中，所述拟肽大环化合物具有式(I)：



式(I)

其中：

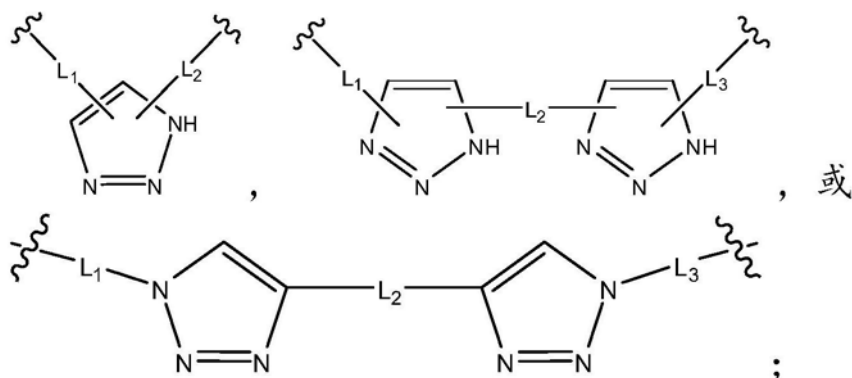
每个A、C、D和E独立地为天然或非天然氨基酸；

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R₁和R₂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，它们为未取代的或被卤素-取代；

每个R₃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R₅取代；

每个L独立地为下式的大环形成连接体



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 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、SO₂、CO、CO₂或CONR₃；

每个 R_5 独立地为卤素、烷基、-OR₆、-N(R₆)₂、-SR₆、-SOR₆、-SO₂R₆、-CO₂R₆、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 u 、 x 、 y 和 z 独立地为0-10的整数；且

n 为1-5的整数。

[0198]

[0199] 在本文所述任何通式的实施方案中，所述大环形成连接体(L)具有式-L₁-L₂-，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、亚杂环芳基或 $[-R_4-K-R_4-]_n$ ，它们各自任选地被 R_5 取代；

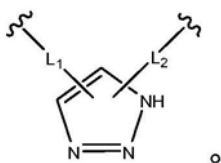
每个 R_4 独立地为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚芳基或亚杂芳基；

每个 K 独立地为O、S、SO、SO₂、CO、CO₂或CONR₃；

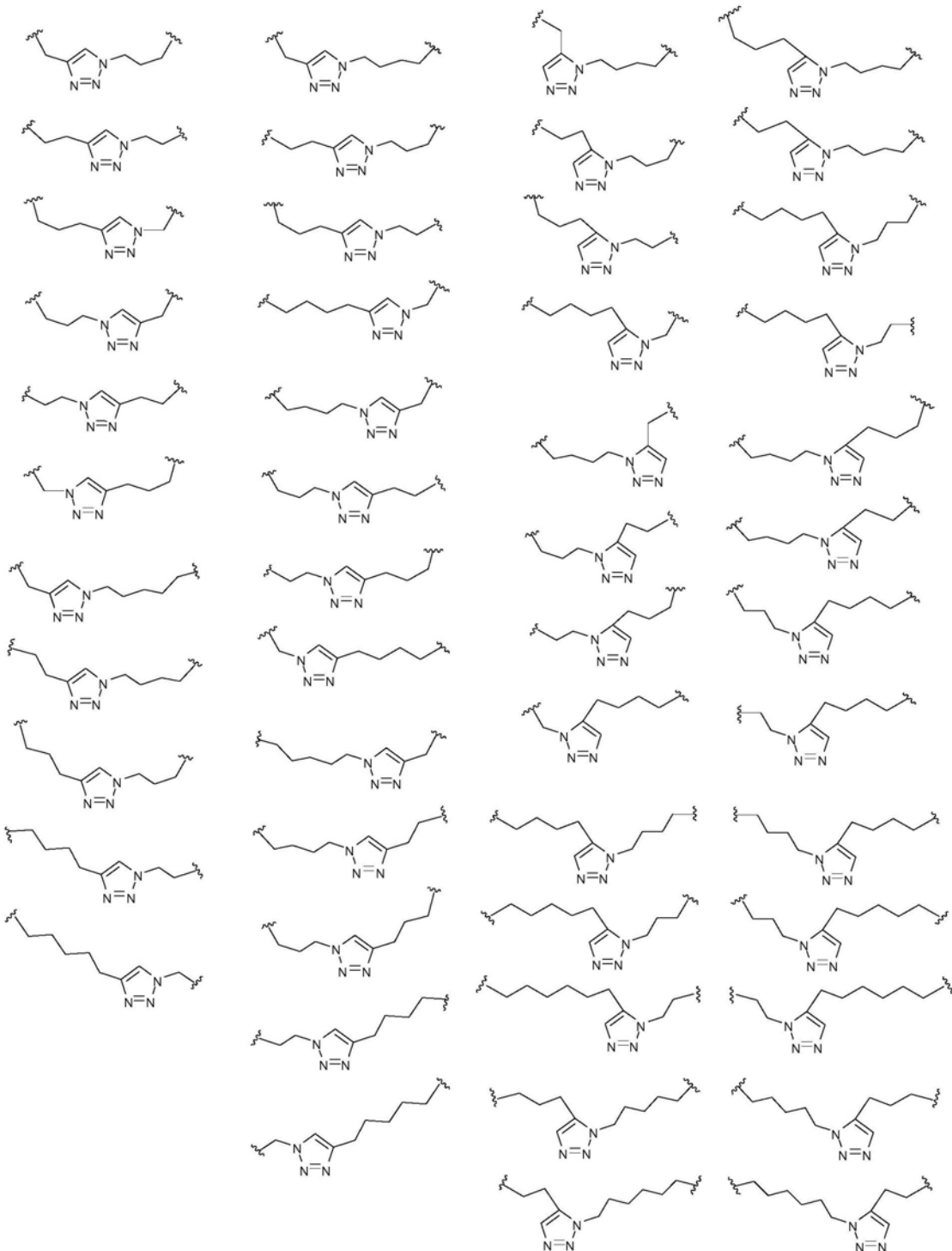
每个 R_3 独立地为氢、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、杂烷基、环烷基、杂环烷基、环烷基烷基、环芳基或杂环芳基，它们任选地被 R_5 取代；且

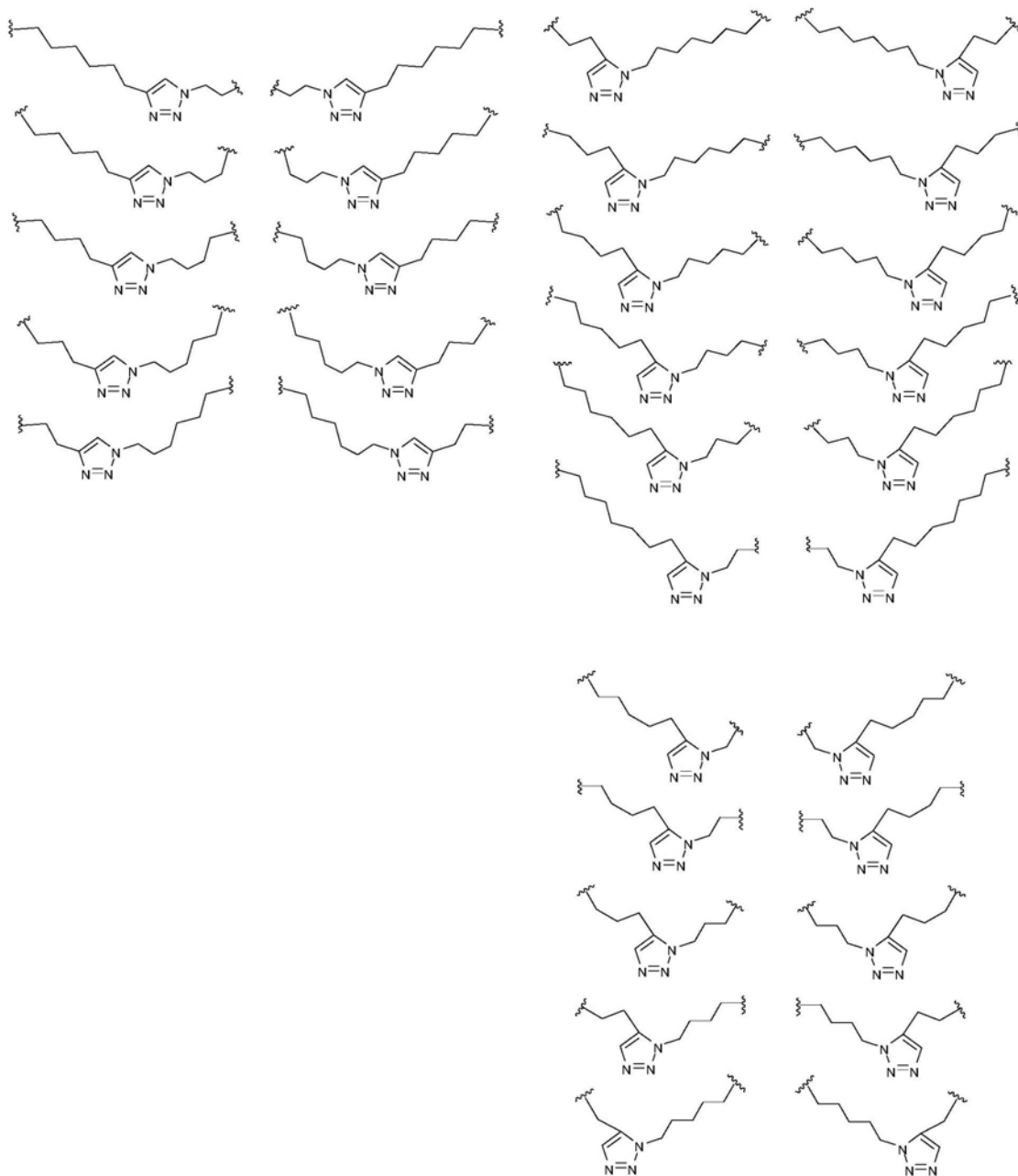
n 为1-5的整数。

[0200] 在本文所述任何通式的一些实施方案中，L(或L')为下式的大环形成连接体



[0201] 以下示出这类大环形成连接体L的示例性实施方案。





[0202] 在本文所述任何通式的实施方案中, L_1 和 L_2 单独地或组合地形成 三唑或硫醚。

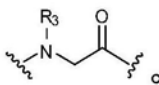
[0203] 在本文所述任何通式的实施方案中, L_1 和 L_2 单独地或组合地不形成三唑或硫醚。

[0204] 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, 每个 R_1 和 R_2 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。

[0205] 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, 各个化合物可包含相同或不同的拟肽大环 化合物。例如, 化合物可以包含含有不同连接体长度或化学组成的拟肽大环 化合物。

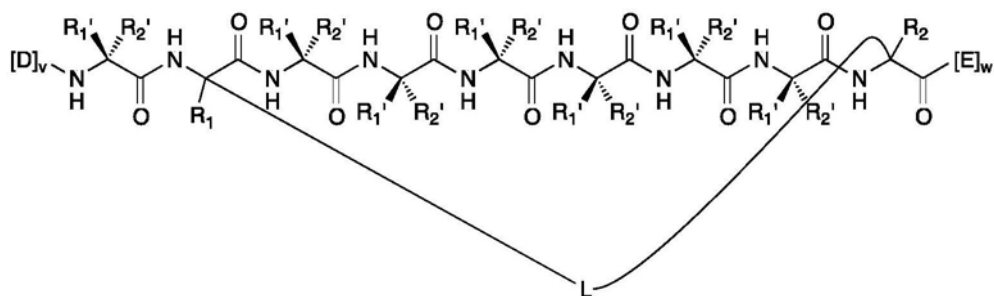
[0206] 在一些实施方案中,拟肽大环化合物包含为 α -螺旋的二级结构且 R_8 为-H,从而允许螺旋内氢键键合。在一些实施方案中,A、B、C、D 或E中的至少一个为 α , α -二取代的氨基酸。在一个实例中,B为 α , α -二取代的氨基酸。例如,A、B、C、D或E中的至少一个为2-氨基异丁酸。

在其他实施方案中,A、B、C、D或E中的至少一个为



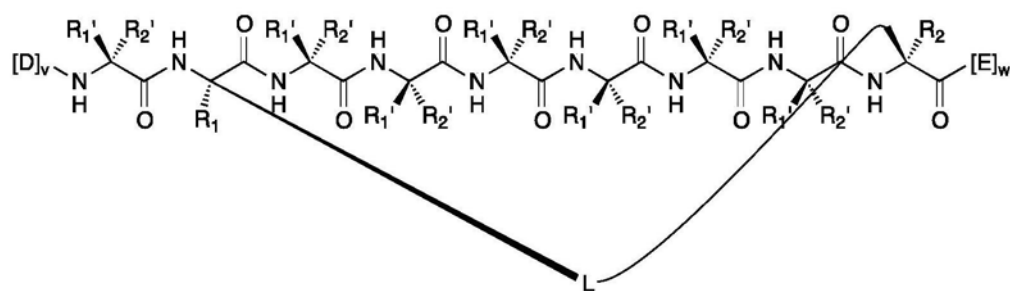
[0207] 在其他实施方案中,选择从第一C α 到第二C α 测量的大环形成连接体L的长度,以稳定希望的二级肽结构,例如由拟肽大环化合物的残基(包括但不限于第一C α 到第二C α 之间的残基)形成的 α -螺旋。

[0208] 在一个实施方案中,式(I)拟肽大环化合物为:



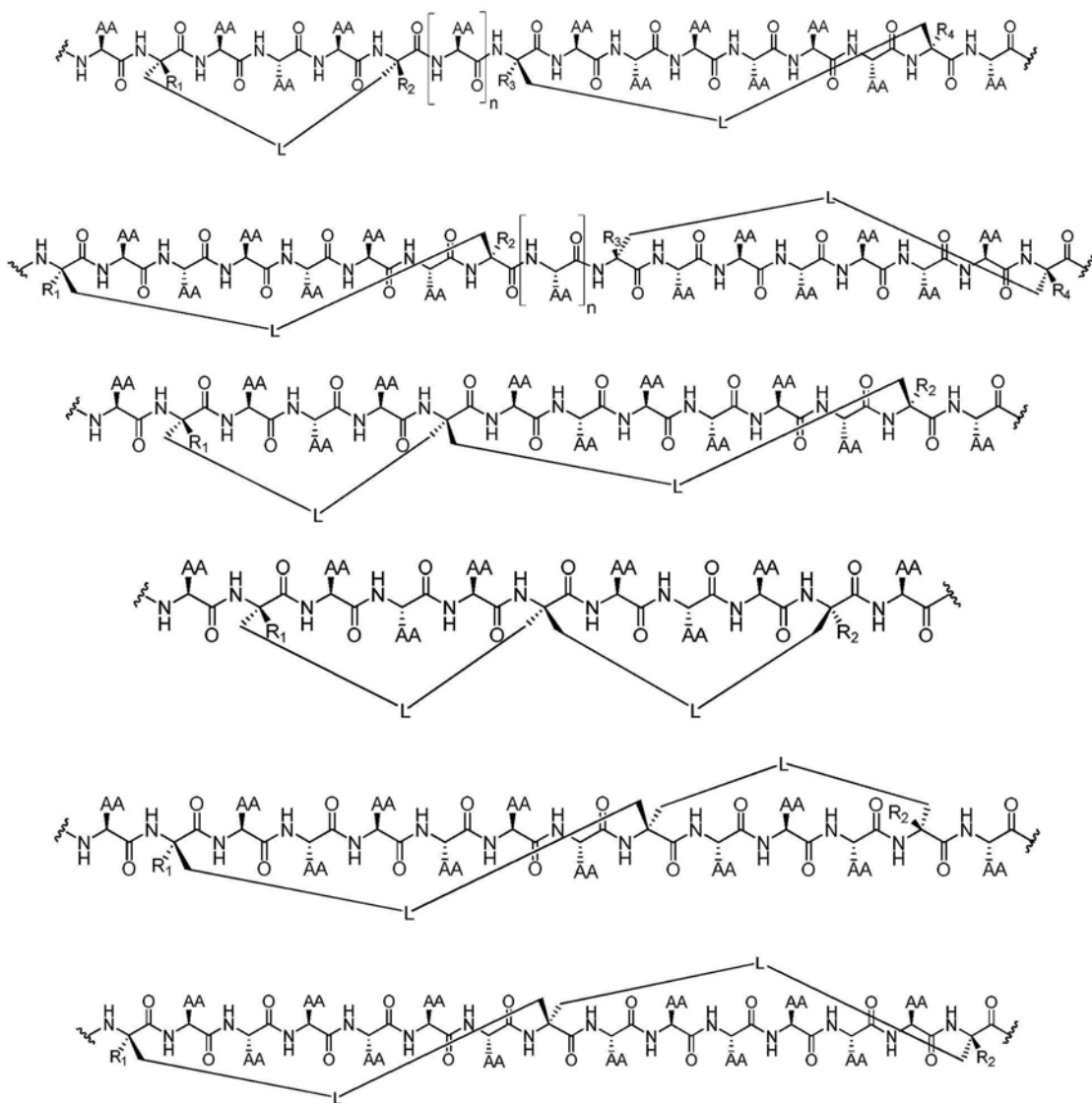
其中每个 R_1 和 R_2 独立地为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、环烷基烷基、杂烷基或杂环烷基,它们为未取代的或被卤素-取代。

[0209] 在相关实施方案中,式(I)拟肽大环化合物为:



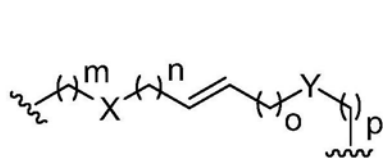
其中每个 R_1' 和 R_2' 独立地为氨基酸。

[0210] 在其他实施方案中,式(I)拟肽大环化合物为以下所示的任何通式的化合物:

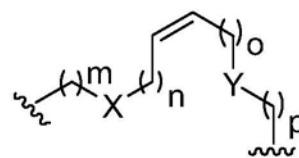


其中“AA”表示任何天然或非天然氨基酸侧链,且“ AA_v ”为如上定义的 $[D]_v$ 、 $[E]_w$,且n为0至20、50、100、200、300、400或500的整数。在一些实施方案中,n为0。在其他实施方案中,n小于50。

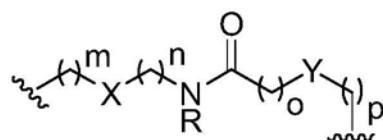
[0211] 以下示出了大环形成连接体L的示例性实施方案。



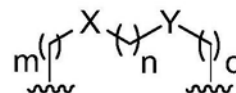
其中X, Y = -CH₂-, O, S 或 NH
m, n, o, p = 0-10



其中X, Y = -CH₂-, O, S 或 NH
m, n, o, p = 0-10



其中 X, Y = -CH₂-, O, S 或 NH
m, n, o, p = 0-10
R = H, 烷基, 其它取代基



其中 X, Y = -CH₂-, O, S 或 NH
m, n, o = 0-10

[0212] 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。。

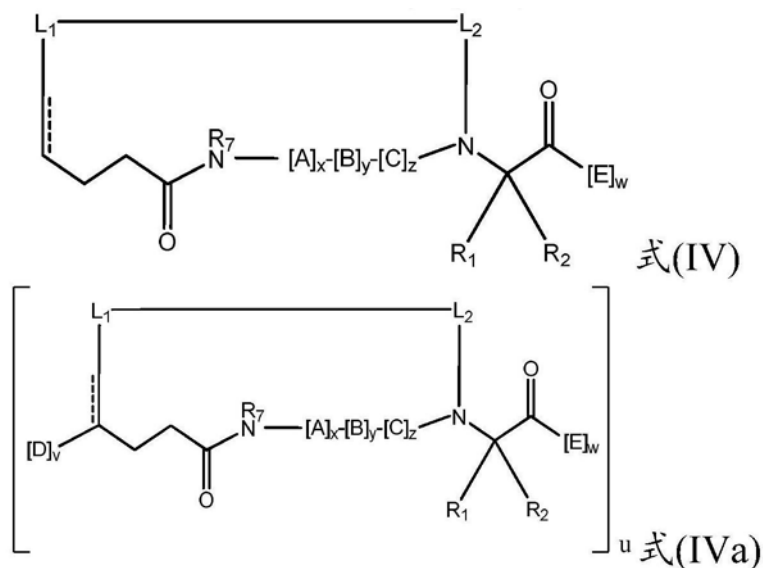
[0213] 在其他实施方案中,式I化合物中的[D]和[E]中的至少一个代表包含另外的大环形成连接体的部分,使得该拟肽大环化合物包含至少两个大环形成连接体。在特定实施方案中,拟肽大环化合物包含两个大环形成连接体。在一个实施方案中,u为2。

[0214] 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3、表3a、表3b或表3c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。

[0215] 在一些实施方案中,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C_α到第二C_α的长度,以提高α-螺旋的稳定性。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。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-

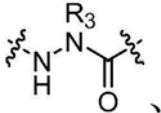
碳键至32个碳-碳键,或大约30个碳-碳键。当大环形成连接体跨越大约1圈 α -螺旋时,连接含有大约4个原子至12个原子,大约6个原子至10个原子,或大约8个原子。当大环形成连接体跨越大约2圈 α -螺旋时,连接含有大约7个原子至15个原子,大约9个原子至13个原子,或大约11个原子。当大环形成连接体跨越大约3圈 α -螺旋时,连接含有大约13个原子至21个原子,大约15个原子至19个原子,或大约17个原子。当大环形成连接体跨越大约4圈 α -螺旋时,连接含有大约19个原子至27个原子,大约21个原子至25个原子,或大约23个原子。当大环形成连接体跨越大约5圈 α -螺旋时,连接含有大约25个原子至33个原子,大约27个原子至31个原子,或大约29个原子。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。

[0216] 在其他实施方案中,提供了式(IV)或(IVa)的拟肽大环化合物:



其中:

A、C、D和E独立地为天然或非天然氨基酸,并且末端D和E独立地任选地包括封端基团;

每个B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,它们为未取代的或被卤素-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 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、环芳基或杂环芳基,它们任选地被 R_5 取代;

每个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、亚环芳基、亚杂环芳基或 $[-R_4-K-R_4-]_n$ ，它们各自任选地被 R_5 取代；

每个 R_4 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 为O、S、SO、SO₂、CO、CO₂或CONR₃；

每个 R_5 独立地为卤素、烷基、-OR₆、-N(R₆)₂、-SR₆、-SOR₆、-SO₂R₆、-CO₂R₆、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 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、环芳基或杂环芳基，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

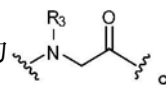
每个 n 为1-5的整数。

[0217] 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。

[0218] 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。

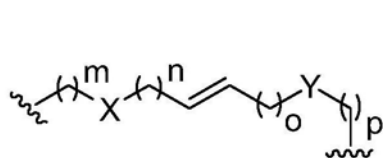
[0219] 在一些实施方案中， $x+y+z$ 之和至少为1。在其他实施方案中， $x+y+z$ 之和至少为2。在其他实施方案中， $x+y+z$ 之和为1、2、3、4、5、6、7、8、9或10。大环化合物或大环化合物前体中每次出现的A、B、C、D或E独立地选择。例如，由式 $[A]_x$ 表示的序列，当 x 为3时，包括其中氨基酸不相同的实施方案，例如Gln-Asp-Ala，以及其中氨基酸相同的实施方案，例如Gln-Gln-Gln。这适用于 x 、 y 或 z 在指定范围内的任意值。

[0220] 在一些实施方案中，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

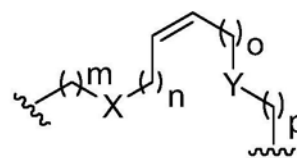


[0221] 在其他实施方案中，选择从第一Ca到第二Ca测量的大环形成连接体L的长度，以稳定希望的二级肽结构，例如由拟肽大环化合物的残基(包括但不是必须限于第一Ca到第二Ca之间的残基)形成的 α -螺旋。

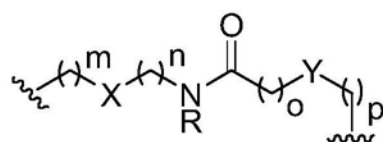
[0222] 以下示出了大环形成连接体-L₁-L₂-的示例性实施方案。



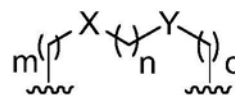
其中X, Y = -CH₂-, O, S 或 NH
m, n, o, p = 0-10



其中X, Y = -CH₂-, O, S 或 NH
m, n, o, p = 0-10



其中 X, Y = -CH₂-, O, S 或 NH
m, n, o, p = 0-10
R = H, 烷基, 其它取代基



其中 X, Y = -CH₂-, O, S 或 NH
m, n, o = 0-10

[0223] 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)也意在包括仅是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,除了用氘或氚替代氢或者用¹³C-或¹⁴C-富集的碳替代碳以外具有所述结构的化合物在本发明的范围内。

[0224] 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(³H)、碘-125 (¹²⁵I) 或碳-14 (¹⁴C) 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。

[0225] 所述拟肽大环化合物在人血液中的循环半衰期可为约1-24h。例如, 该拟肽大环化合物在人血液中的循环半衰期可为约2-24h、4-24h、6-24h、8-24h、10-24h、12-24h、14-24h、16-24h、18-24h、20-24h、22-24h、1-20h、4-20h、6-20h、8-20h、10-20h、12-20h、14-20h、16-20h、18-20h、1-16h、4-16h、6-16h、8-16h、10-16h、12-16h、14-16h、1-12h、4-12h、6-12h、8-12h、10-12h、1-8h、4-8h、6-8h 或1-4h。在一些实例中, 该拟肽大环化合物在人血液中的循环半衰期可为约1-12h, 例如约1h、2h、3h、4h、5h、6h、7h、8h、9h、10h、11h或12h。在一些实例中, 该拟肽大环化合物在人血液中的循环半衰期为约2h。在一些实例中, 该拟肽大环化合物在人血液中的循环半衰期为约4h。在一些实例中, 该拟肽大环化合物在人血液中的循环半衰期为约6h。在一些实例中, 该拟肽大环化合物在人血液中的循环半衰期为约8h。在一些实例中, 该拟肽大环化合物在人血液中的循环半衰期为约10 h。

[0226] 该拟肽大环化合物在生物组织中的半衰期可为约1-24h。例如, 该拟肽大环化合物在人血液中的循环半衰期可为约1-24h、5-24h、10-24 h、15-24h、20-24h、1-22h、5-22h、10-22h、15-22h、20-22h、1-20 h、5-20h、15-20h、1-18h、5-18h、10-18h、15-18h、1-16h、5-16h、10-16h、15-16h、1-14h、5-14h、10-14h、1-12h、5-12h、10-12h、1-10h、5-10h、1-8h、5-8h、1-6h、5-6h或1-4h。在一些实例中, 该拟肽大环化合物在人血液中的循环半衰期可为约

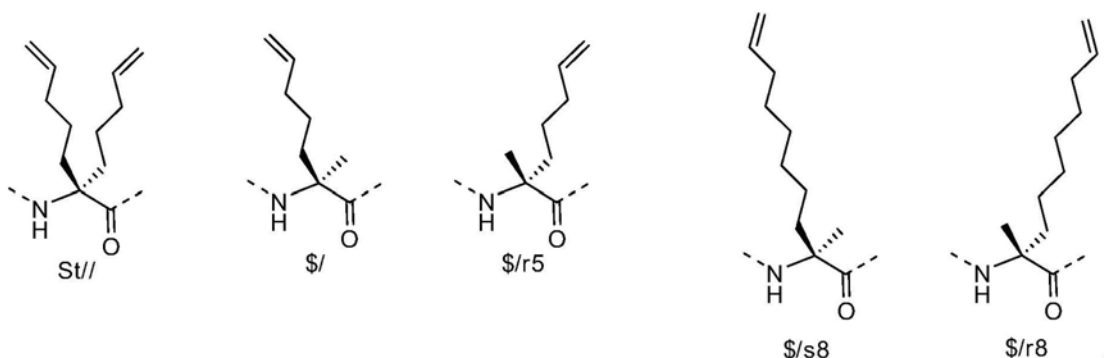
5-20h,例如约5h、6h、7h、8h、9h、10h、11h、12h、13h、14h、15h、16h、17h、18h、19h或20h。在一些实例中,该拟肽大环化合物在人血液中的循环半衰期为约2h。在一些实例中,该拟肽大环化合物在人血液中的循环半衰期为约4h。在一些实例中,该拟肽大环化合物在人血液中的循环半衰期为约6h。在一些实例中,该拟肽大环化合物在人血液中的循环半衰期为约8h。在一些实例中,该拟肽大环化合物在人血液中的循环半衰期为约10 h。

[0227] 该拟肽大环化合物在人血液中的循环半衰期可大于、等于或小于该拟肽大环化合物在生物组织中的半衰期。在一些实例中,该拟肽大环化合物在人血液中的循环半衰期可大于该拟肽大环化合物在生物组织中的半衰期。在一些实例中,该拟肽大环化合物在人血液中的循环半衰期可等于该拟肽大环化合物在生物组织中的半衰期。在一些实例中,该拟肽大环化合物在生物组织中的半衰期大于该拟肽大环化合物在人血液中的循环半衰期。这可以促进该拟肽大环化合物以较低的剂量和/或较低的频率给药。在一些实施方案中,该拟肽大环化合物在生物组织中的半衰期比该拟肽大环化合物在人血液中的循环半衰期长至少1h、2h、3h、4 h、5h、6h、7h、8h、9h、10h、11h或12h。在一些实例中,该拟肽大环化合物在人血液中的循环半衰期为约4h,且在生物组织中的半衰期为约10h。在一些实例中,该拟肽大环化合物在人血液中的循环半衰期为约6h,且在生物组织中的半衰期为约10h。

拟肽大环化合物的制备

[0228] 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3、表3a、表3b或表3c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。

[0229] 各种实现拟肽大环化合物的形成的方法是本领域已知的。例如, Schafmeister等人, J. Am. Chem. Soc. 122: 5891-5892 (2000); Schafmeister 和 Verdine, J. Am. Chem. Soc. 122: 5891 (2005); Walensky等人, Science 305: 1466-1470 (2004); 美国专利号7,192,713和PCT申请W0 2008/121767中描述了式I的拟肽大环化合物的制备。在所引用的参考文献中公开的 α, α -二取代的氨基酸和氨基酸前体可以用于拟肽大环化合物前体多肽的合成。例如,“S5-烯炔氨基酸”是(S)- α -(2'-戊烯基)丙氨酸,且“R8-烯炔氨基酸”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,末端烯炔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。



[0230] 在其他实施方案中,所述拟肽大环化合物为式IV或IVa。制备这类大环化合物的方法例如在美国专利号7,202,332中描述。

[0231] 预计为合适的形成拟肽大环化合物的另外的方法包括以下文献中公开的方法:

Mustapa, M. Firouz Mohd等人, J. Org. Chem (2003), 68, 第 8193-8198页; Yang, Bin等人 Bioorg Med. Chem. Lett. (2004), 14, 第 1403-1406页; 美国专利5,364,851; 美国专利5,446,128; 美国专利 5,824,483; 美国专利6,713,280和美国专利7,202,332。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。

[0232] 在化学、光学、异构体、对映体或非对映体基础上, 本文所述的 拟肽大环化合物可以为至少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。可通过例如HPLC、MS、LC/MS、熔点或NMR来评估纯度。

[0233] 两种或更多种肽/拟肽大环化合物可共享一定程度的同源性。一对 肽/拟肽大环化合物可具有例如高达约20%的成对同源性、高达约25% 的成对同源性、高达约30%的成对同源性、高达约35%的成对同源性、高达约40%的成对同源性、高达约45%的成对同源性、高达约50%的成对同源性、高达约55%的成对同源性、高达约60%的成对同源性、高达约65%的成对同源性、高达约70%的成对同源性、高达约75%的成对同源性、高达约80%的成对同源性、高达约85%的成对同源性、高达约90% 的成对同源性、高达约95%的成对同源性、高达约96%的成对同源性、高达约97%的成对同源性、高达约98%的成对同源性、高达约99%的成对同源性、高达约99.5%的成对同源性或高达约99.9%的成对同源性。一对肽可具有例如至少约20%的成对同源性、至少约25%的成对同源性、至少约30%的成对同源性、至少约35%的成对同源性、至少约40%的成对同源性、至少约45%的成对同源性、至少约50%的成对同源性、至少 约55%的成对同源性、至少约60%的成对同源性、至少约65%的成对同源性、至少约70%的成对同源性、至少约75%的成对同源性、至少约80%的成对同源性、至少约85%的成对同源性、至少约90%的成对同源性、至少约95%的成对同源性、至少约96%的成对同源性、至少约97%的成对同源性、至少约98%的成对同源性、至少约99%的成对同源性、至少 约99.5%的成对同源性、至少约99.9%的成对同源性。

[0234] 可使用多种方法和软件程序测定两种或更多种肽之间的同源性, 如NCBI BLAST、Clustal W、MAFFT、Clustal Omega、AlignMe、Praline 或另一种合适的方法或算法。

试验

[0235] 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, 拟肽大环化合物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。

用于测定 α -螺旋度的试验

[0236] 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25–50 μ M的浓度)。使用标准测量参数(例如, 温度, 20 $^{\circ}$ C; 波长, 190–260nm; 步分辨率(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(例如, Jasco J-710)上获得圆二色性(CD)谱。通过将平均残基椭圆度(例如, $[\Phi]_{222\text{obs}}$)除以模型螺旋十肽的报道值(Yang等人(1986), Methods Enzymol. 130:208)来计算各个肽的 α -螺旋含量。

用于测量解链温度(T_m)的试验

[0237] 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。通常, 拟肽大环化合物显示出 $>60^{\circ}$ C的 T_m , 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50 μ M的终浓度), 并且通过使用标准参数(例如, 波长, 222nm; 步分辨率, 0.5nm; 速度, 20nm/sec; 累积, 10; 响应, 1秒; 带宽, 1nm; 温度上升速度, 1 $^{\circ}$ C/分钟; 路径长度, 0.1cm)在分光偏振计(例如, Jasco J-710)上测量椭圆度在一定温度范围(例如, 4–95 $^{\circ}$ C)内的变化来确定 T_m 。

蛋白酶抗性试验

[0238] 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, 肽螺旋的形成通常包埋酰胺骨架, 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温育, 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(Pierce)(S/E \sim 125)温育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($k=-1 \times \text{斜率}$)。

离体稳定性试验

[0239] 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 $^{\circ}$ C下温育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100 μ l的血清转移到2ml离心管中,接着加入10 μ L的50%甲酸和500 μ L乙腈并在 $4\pm 2^{\circ}\text{C}$ 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 $\text{N}_2<10\text{ psi}$ 、 37°C 下在Turbovap上蒸发。样品在100 μ L的50:50乙腈:水中重建,并进行LC-MS/MS分析。

体外结合试验

[0240] 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。

[0241] 例如,荧光标记的(fluoresceinated)拟肽大环化合物(25nM)与受体蛋白质(25-1000nM)在结合缓冲液(140mM NaCl、50mM Tris-HCL, pH 7.4)中在室温下温育30分钟。例如,用发光分光光度计(例如,Perkin-Elmer LS50B)通过荧光偏振测定结合活性。可以使用例如Graphpad Prism软件(GraphPad Software, Inc., San Diego, CA)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。

用于表征肽-蛋白质相互作用的拮抗剂的体外置换试验

[0242] 为了评估拮抗肽与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受体蛋白质之间相互作用的化合物将在竞争性结合FPA实验中进行检测。

[0243] 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)中在室温下温育30分钟。例如,用发光分光光度计(例如,Perkin-Elmer LS50B)通过荧光偏振测定拮抗剂结合活性。可以使用例如Graphpad Prism软件(GraphPad Software, Inc., San Diego, CA)通过非线性回归分析来确定Kd值。

[0244] 任一类分子,如有机小分子、肽、寡核苷酸或蛋白质,可以在该试验中作为推定的拮抗剂进行检测。

通过亲和选择-质谱法对蛋白质-配体结合的分析

[0245] 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1 μ M拟肽大环化合物加5 μ M hMDM2进行蛋白质-配体结合实验。将40 μ M拟肽大环化合物储备溶液的1 μ L DMSO等份溶解在19 μ L PBS(磷酸盐缓冲盐水: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在10 000g下离心10分钟进行澄清。向4 μ L等份得到的上清液

中加入4 μ L 10 μ M hMDM2的PBS 溶液。每个8.0 μ L实验样品因此含有在PBS中的浓度为5.0 μ M的40 pmol (1.5 μ g) 蛋白质,加1 μ M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温育60分钟,然后冷却至4 $^{\circ}$ C, 之后进行5.0 μ L注入液的大小排阻层析-LC-MS分析。将含有靶蛋白、蛋白质-配体复合体和未结合的化合物的样品注入到SEC柱上,通过快速SEC步骤将复合体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-配体复合体的峰从主UV检测器洗脱后,它进入样品环路,在其中从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-配体复合体。

用于蛋白质-配体K_d滴定实验的分析

[0246] 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K_d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2 μ L DMSO 等份,然后溶解在38 μ L PBS中。得到的溶液通过反复吸液进行混合并 通过在10 000g下离心10分钟进行澄清。向4.0 μ L等份得到的上清液中 加入4.0 μ L 10 μ M hMDM2的PBS溶液。每个8.0 μ L实验样品因此含有 在PBS中的浓度为5.0 μ M的40pmol (1.5 μ g) 蛋白质,不同浓度(125, 62.5,...,0.24 μ M)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温育30分钟,然后冷却至4 $^{\circ}$ C,之后进行2.0 μ L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,如以下文献所述:“A General Technique to Rank Protein-Ligand Binding Affinities and Determine Allosteric vs. Direct Binding Site Competition in Compound Mixtures.”Annis, D.A.; Nazef, N.; Chuang, C.C.; Scott, M.P.; Nash, H.M.J. Am. Chem. Soc. 2004, 126, 15495-15503, 以及“ALIS: An Affinity Selection-Mass Spectrometry System for the Discovery and Characterization of Protein-Ligand Interactions”D.A. Annis, C.-C. Chuang, and N. Nazef. In Mass Spectrometry in Medicinal Chemistry. Wanner K, Höfner G: Wiley-VCH编 著; 2007: 121-184. Mannhold R, Kubinyi H, Folkers G (系列编者): Methods and Principles in Medicinal Chemistry。

通过亲和选择-质谱法进行竞争性结合实验的分析

[0247] 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2 μ L等份400 μ M储备液与14 μ L DMSO混合制备每种成分40 μ M的配体混合物。然后,将 1 μ L等份的该每种成分40 μ M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1 μ L DMSO等份混合。将这些 2 μ L样品溶解在38 μ L PBS中。得到的溶液通过反复吸液进行混合并通 过在10 000g下离心10分钟进行澄清。向4.0 μ L等份得到的上清液中加 入4.0 μ L 10 μ M hMDM2蛋白的PBS溶液。每个8.0 μ L实验样品因此含 有在PBS中的浓度为5.0 μ M的40pmol (1.5 μ g) 蛋白质,加0.5 μ M配 体、2.5%DMSO和不同浓度(125,62.5,...,0.98 μ M)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温育60分钟,然后 冷却至4 $^{\circ}$ C,之后进行2.0 μ L注入液的SEC-LC-MS分析。这些和其他 方法的另外的细节在以下文献中提供:“A General Technique to

Rank Protein-Ligand Binding Affinities and Determine Allosteric vs. Direct Binding Site Competition in Compound Mixtures.”Annis, D.A.; Nazef, N.; Chuang, C.C.; Scott, M.P.; Nash, H.M. J. Am. Chem. Soc. 2004, 126, 15495-15503; 以及“ALIS: An Affinity Selection-Mass Spectrometry System for the Discovery and Characterization of Protein-Ligand Interactions”D.A. Annis, C.-C. Chuang, and N. Nazef. In Mass Spectrometry in Medicinal Chemistry. Wanner K, Höfner G: Wiley-VCH 编著; 2007: 121-184. Mannhold R, Kubinyi H, Folkers G (系列编者): Methods and Principles in Medicinal Chemistry.

在完整细胞中的结合分析

[0248] 有可能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温育4小时,接着进行血清置换并进一步温育4-18小时。然后使细胞沉淀,并在4℃下在裂解缓冲液(50mM Tris[pH 7.6]、150mM NaCl、1%的CHAPS和蛋白酶抑制剂混合物)中温育10分钟。以14,000rpm离心提取物15分钟,收集上清液,并与10μl山羊抗-FITC抗体一起温育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)温育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的抗体一起温育,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温育。

细胞透性分析

[0249] 与相应的非交联大环化合物相比,拟肽大环化合物例如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,并且常常观察到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℃温育4小时,用培养基洗涤2次,并与胰蛋白酶(0.25%)在37℃下温育10分钟。再次洗涤细胞并将其重悬浮于PBS中。例如,通过使用FACSCalibur流式细胞仪或 Cellomics' KineticScan® HCS读数仪分析细胞荧光。

细胞效力分析

[0250] 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)一起温育的24-96小时期间监测细胞的活力,以鉴定那些以EC₅₀<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。另外,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。

体内稳定性分析

[0251] 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。

在动物模型中的体内效力

[0252] 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 5×10^6 RS4;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(例 如,Xenogen In Vivo Imaging System,Caliper Life Sciences,Hopkinton, MA)可容易地监测该白血病。通过Living Image Software(Caliper Life Sciences,Hopkinton,MA)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学治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。

临床试验

[0253] 为了确定拟肽大环化合物对于人类治疗的适用性,进行了临床试 验。例如,可选择出被诊断为患有实体瘤并且需要治疗的患者并将他们 分成治疗组和一个或多个对照组,其中,对治疗组施用拟肽大环化合物, 而对照组接受安慰剂或已知的抗癌药物。这样,可以通过对患者组就诸 如生存率和生活质量的因素进行比较来评价拟肽大环化合物的治 疗安全 性和有效性。在本实例中,相比于用安慰剂治疗的患者对照组,用拟肽 大环化合物治疗的患者组可以显示出提高的长期生存率。

制剂和给药

给药模式

[0254] 有效量的本发明的拟肽大环化合物或其药学上可接受的盐可以以 药物组合物的方式作为单剂量或多剂量通过接受的给药模式施用。在一 些实施方案中,肠胃外施用本发明的包含治疗有效量的拟肽大环化合物 或治疗等效量的其药学上可接受的盐的药物组合物,例如通过皮下注射、肌肉内注射、鞘内注射、静脉内注射或硬膜外注射。例如,静脉内、动 脉内、皮下或通过输注施用包含治疗有效量的拟肽大环化合物或治疗等 效量的其药学上可接受的盐的药物组合物。在一些实例中,静脉内施用 包含治疗有效量的拟肽大环化合物或治疗等效量的其药学上可接受的盐 的药物组合物。在一些实例中,动脉内施用包含治 疗有效量的拟肽大环 化合物或治疗等效量的其药学上可接受的盐的药物组合物。

[0255] 无论所选择的给药途径如何,本发明的拟肽大环化合物和/或本发 明的药物组合物均通过本领域技术人员已知的常规方法配制成药学上可 接受的剂型。通过与其他药物类似的方法,可根据本发明的拟肽大环 化合物配制用于以任何方便的方式施用用于人

类或兽医学中。

[0256] 在一个方面,本发明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组合物。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。这样的药物组合物可包含糖、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张的溶质,或悬浮剂或增稠剂。药物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。还可期望药物组合物中包含等张剂,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,导致可注射药物组合物的延长吸收。若需要,可在使用前,用例如等张盐水溶液或右旋糖溶液稀释药物组合物。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。

给药量和频率

[0257] 可采用本领域技术人员已知的技术确定剂量。所选择的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,给药时间,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其他药物、化合物和/或物质,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,以及医学领域公知的其他因素。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。

[0258] 具有本领域普通技能的医师或兽医可容易确定和开具所需的药物组合物的有效量。例如,该医师或兽医可以以低于所需水平的水平开始在所述药物组合物中采用的本发明化合物的给药,以便实现所需的治疗效果并逐渐增加剂量直到实现所需的效果。

[0259] 在一些实施方案中,本发明的拟肽大环化合物的合适的每日剂量可以是有效产生治疗效果的最低剂量的拟肽大环化合物的量。这样的有效剂量通常将取决于上述因素。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的准确给药时间和量将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。

[0260] 剂量可基于每kg患者体重的拟肽大环化合物的量。其他的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(C_{max})和从时间0至无穷的血浆浓度-时间曲线下面积(AUC)。

[0261] 在一些实施方案中,所述受试者为人类受试者,并且所施用的拟肽大环化合物的量为每千克人类受试者体重0.01-100mg。例如,在多个实例中,所施用的拟肽大环化合物的量为约0.01-50mg/kg、约0.01-20 mg/kg、约0.01-10mg/kg、约0.1-100mg/kg、约0.1-50mg/kg、约0.1-20 mg/kg、约0.1-10mg/kg、约0.5-100mg/kg、约0.5-50mg/kg、约0.5-20 mg/kg、约0.5-10mg/kg、约1-100mg/kg、约1-50mg/kg、约1-20mg/kg、约1-10mg/kg人类受试

者体重。在一个实施方案中,施用每千克人类受试者体重约0.5mg-10mg拟肽大环化合物。在一些实例中,所施用的拟肽大环化合物的量为每千克人类受试者体重约0.16mg、0.32mg、0.64mg、1.28mg、3.56mg、7.12mg、14.24mg或20mg。在一些实例中,所施用的拟肽大环化合物的量为每千克人类受试者体重约0.16mg、0.32mg、0.64mg、1.28mg、3.56mg、7.12mg或14.24mg。在一些实例中,所施用的拟肽大环化合物的量为每千克人类受试者体重0.16mg。在一些实例中,所施用的拟肽大环化合物的量为每千克人类受试者体重0.32mg。在一些实例中,所施用的拟肽大环化合物的量为每千克人类受试者体重0.64mg。在一些实例中,所施用的拟肽大环化合物的量为每千克人类受试者体重1.28mg。在一些实例中,所施用的拟肽大环化合物的量为每千克人类受试者体重3.56mg。在一些实例中,所施用的拟肽大环化合物的量为每千克人类受试者体重7.12mg。在一些实例中,所施用的拟肽大环化合物的量为每千克人类受试者体重14.24mg。

[0262] 在一些实施方案中,每周施用两次每千克人类受试者体重约0.5-20mg或0.5-10mg的拟肽大环化合物。例如,每周施用两次每千克人类受试者体重约0.5-1.0mg、0.5-5.0mg、0.5-10.0mg、0.5-15mg或1-5mg、1-10mg、1-15mg、1-20mg、5-10mg、1-15mg、5-20mg、10-15mg、10-20mg、15-20mg的拟肽大环化合物。在一些实例中,每周施用两次每千克人类受试者体重约1.0mg、1.25mg、1.5mg、1.75mg、2.0mg、2.25mg、2.5mg、2.75mg、3.0mg、3.25mg、3.5mg、3.75mg、4.0mg、4.25mg、4.5mg、4.75mg、5.0mg、5.25mg、5.5mg、5.75mg、6.0mg、6.25mg、6.5mg、6.75mg、7.0mg、7.25mg、7.5mg、7.75mg、8.0mg、8.25mg、8.5mg、8.75mg、9.0mg、9.25mg、9.5mg、9.75mg、10.0mg、10.25mg、10.5mg、10.75mg、11.0mg、11.25mg、11.5mg、11.75mg、12.0mg、12.25mg、12.5mg、12.75mg、13.0mg、13.25mg、13.5mg、13.75mg、14.0mg、14.25mg、14.5mg、14.75mg、15.0mg、15.25mg、15.5mg、15.75mg、16.0mg、16.5mg、17.0mg、17.5mg、18.0mg、18.5mg、19.0mg、19.5mg或20.0mg的拟肽大环化合物。在一些实例中,所施用的拟肽大环化合物的量为每千克人类受试者体重约1.25mg、2.5mg、5.0mg、10.0mg或20mg,并且所述拟肽大环化合物每周施用两次。在一些实例中,所施用的拟肽大环化合物的量为每千克人类受试者体重约1.25mg、2.5mg、5.0mg或10.0mg,并且所述拟肽大环化合物每周施用两次。

[0263] 在一些实施方案中,每周施用一次每千克人类受试者体重约0.5-20mg或0.5-10mg的拟肽大环化合物。例如,每周施用一次每千克人类受试者体重约0.5-1.0mg、0.5-5.0mg、0.5-10.0mg、0.5-15mg或1-5mg、1-10mg、1-15mg、1-20mg、5-10mg、1-15mg、5-20mg、10-15mg、10-20mg、15-20mg的拟肽大环化合物。在一些实例中,每周施用一次每千克人类受试者体重约1.0mg、1.25mg、1.5mg、1.75mg、2.0mg、2.25mg、2.5mg、2.75mg、3.0mg、3.25mg、3.5mg、3.75mg、4.0mg、4.25mg、4.5mg、4.75mg、5.0mg、5.25mg、5.5mg、5.75mg、6.0mg、6.25mg、6.5mg、6.75mg、7.0mg、7.25mg、7.5mg、7.75mg、8.0mg、8.25mg、8.5mg、8.75mg、9.0mg、9.25mg、9.5mg、9.75mg、10.0mg、10.25mg、10.5mg、10.75mg、11.0mg、11.25mg、11.5mg、11.75mg、12.0mg、12.25mg、12.5mg、12.75mg、13.0mg、13.25mg、13.5mg、13.75mg、14.0mg、14.25mg、14.5mg、14.75mg、15.0mg、15.25mg、15.5mg、15.75mg、16.0mg、16.5mg、17.0mg、17.5mg、18.0mg、18.5mg、19.0mg、19.5mg或20.0mg的拟肽大环化合物。在一些实例中,所施用的拟肽大环化合物的量为每千克人类受试者体重约1.25mg、2.5mg、5.0mg、10.0mg或20.0mg,并且所述拟肽大环化合物每周施用一次。在一些实例中,所施用

的拟肽大环化合物的量为每千克人类受试者 体重约1.25mg、2.5mg、5.0mg或10.0mg,并且所述拟肽大环化合物 每周施用一次。

[0264] 在一些实施方案中,每周施用3次、4次、5次、6次或7次每千 克人类受试者体重约0.5-20mg或0.5-10mg的拟肽大环化合物。例如, 每周施用3次、4次、5次、6次或7次每千克人类受试者体重约0.5-1.0 mg、0.5-5.0mg、0.5-10.0mg、0.5-15mg或1-5mg、1-10mg、1-15mg、1-20mg、5-10mg、1-15mg、5-20mg、10-15mg、10-20mg、15-20mg 的拟肽大环化合物。在一些实例中,每周施用3次、4次、5次、6次或7次每千克人类受试者体重约1.0mg、1.25mg、1.5mg、1.75mg、2.0mg、2.25mg、2.5mg、2.75mg、3.0mg、3.25mg、3.5mg、3.75mg、4.0mg、4.25mg、4.5mg、4.75mg、5.0mg、5.25mg、5.5mg、5.75mg、6.0mg、6.25mg、6.5mg、6.75mg、7.0mg、7.25mg、7.5mg、7.75mg、8.0mg、8.25mg、8.5mg、8.75mg、9.0mg、9.25mg、9.5mg、9.75mg、10.0mg、10.25mg、10.5mg、10.75mg、11.0mg、11.25mg、11.5mg、11.75mg、12.0mg、12.25mg、12.5mg、12.75mg、13.0mg、13.25mg、13.5mg、13.75mg、14.0mg、14.25mg、14.5mg、14.75mg、15.0mg、15.25mg、15.5mg、15.75mg、16.0mg、16.5mg、17.0mg、17.5mg、18.0mg、18.5 mg、19.0mg、19.5mg或20.0mg的拟肽大环化合物。在一些实例中,所施用的拟肽大环化合物的量为每千克人类受试者体重约1.25mg、2.5 mg、5.0mg、10.0mg或20.0mg,并且所述拟肽大环化合物每周施用3 次、4次、5次、6次或7次。在一些实例中,所施用的拟肽大环化合物 的量为每千克人类受试者体重约1.25mg、2.5mg、5.0mg或10.0mg, 并且所述拟肽大环化合物每周施用3次、4次、5次、6次或7次。

[0265] 在一些实施方案中,每2周、3周或4周施用一次每千克人类受 试者体重约0.5-20mg或0.5-10mg的拟肽大环化合物。例如,每2周或 3周施用3次、4次、5次、6次或7次每千克人类受试者体重约0.5-1.0 mg、0.5-5.0mg、0.5-10.0mg、0.5-15mg或1-5mg、1-10mg、1-15mg、1-20mg、5-10mg、1-15mg、5-20mg、10-15mg、10-20mg、15-20mg 的拟肽大环化合物。在一些实例中,每2周或3周施用一次每千克人类 受试者体重约1.0mg、1.25mg、1.5mg、1.75mg、2.0mg、2.25mg、2.5 mg、2.75mg、3.0mg、3.25mg、3.5mg、3.75mg、4.0mg、4.25mg、4.5mg、4.75mg、5.0mg、5.25mg、5.5mg、5.75mg、6.0mg、6.25mg、6.5mg、6.75mg、7.0mg、7.25mg、7.5mg、7.75mg、8.0mg、8.25mg、8.5mg、8.75mg、9.0mg、9.25mg、9.5mg、9.75mg、10.0mg、10.25mg、10.5mg、10.75mg、11.0mg、11.25mg、11.5mg、11.75mg、12.0mg、12.25mg、12.5mg、12.75mg、13.0mg、13.25mg、13.5mg、13.75mg、14.0mg、14.25mg、14.5mg、14.75mg、15.0mg、15.25mg、15.5mg、15.75mg、16.0mg、16.5mg、17.0mg、17.5mg、18.0mg、18.5mg、19.0 mg、19.5mg或20.0mg的拟肽大环化合物。在一些实例中,所施用的 拟肽大环化合物的量为每千克人类受试者体重约1.25mg、2.5mg、5.0mg、10.0mg或20.0mg,并且所述拟肽大环化合物每2周施用一次。在一些 实例中,所施用的拟肽大环化合物的量为每千克人类受试者体 重约1.25 mg、2.5mg、5.0mg或10.0mg,并且所述拟肽大环化合物每2周施用 一次。在一些实例中,所施用的拟肽大环化合物的量为每千克人类受试 者体重约1.25mg、2.5mg、5.0mg、10.0mg或20.0mg,并且所述拟肽 大环化合物每3周施用一次。在一些实例中,所施用的拟肽 大环化合物 的量为每千克人类受试者体重约1.25mg、2.5mg、5.0mg或10.0mg, 并且所述拟肽大环化合物每3周施用一次。

[0266] 在一些实施方案中,所述拟肽大环化合物在一个时间段内逐渐施 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。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。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、0.25-10 h的时间段内逐渐施用所需量的拟肽大环化合物。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。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。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。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。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。

[0267] 只要需要可以继续施用所述拟肽大环化合物,以治疗有需要的受试者的实体瘤。在一些实施方案中,本发明的一种或多种拟肽大环化合物施用持续超过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,本发明的一种或多种拟肽大环化合物施用持续少于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。

[0268] 在一些实施方案中,所述拟肽大环化合物在28天周期的第1天、第8天、第15天和第28天施用。在一些实施方案中,所述拟肽大环化合物在28天周期的第1天、第8天、第15天和第28天施用,并且施用持续两个周期。在一些实施方案中,所述拟肽大环化合物在28天周期的第1天、第8天、第15天和第28天施用,并且施用持续三个周期。在一些实施方案中,所述拟肽大环化合物在28天周期的第1天、第8天、第15天和第28天施用,并且施用持续4、5、6、7、8、9、10个或更多个周期。

[0269] 在一些实施方案中,本发明的一种或多种拟肽大环化合物持续地长期施用。在一些实施方案中,本发明的一种或多种拟肽大环化合物的施用持续直到记录到疾病进展、不可接受的毒性,或者患者或医师决定中止施用。

方法及用途

[0270] 在一个方面,本发明提供了治疗受试者的实体瘤的方法,该方法包括向该受试者施用包含治疗有效量的拟肽大环化合物或治疗等效量的其药学上可接受的盐的药物组合物,其中该拟肽大环化合物与MDM2和/或MDMX蛋白结合。在一些实施方案中,该拟肽大环化合物可破坏p53与MDM2和MDMX之间的相互作用。在一些实施方案中,根据本文公开的方法的治疗可导致人类受试者中p53途径的重新激活、肿瘤细胞增殖减少、p53蛋白增加、p21增加和/或凋亡增加。

[0271] 在一个方面,本发明提供了治疗受试者中缺乏p53灭活突变的实体瘤的方法,该方法包括向该受试者施用包含治疗有效量的拟肽大环化合物或治疗等效量的其药学上可接受的盐的药物组合物,其中该拟肽大环化合物与MDM2和/或MDMX蛋白结合。在一些实施方案中,在治疗前,该实体瘤被确定为缺乏p53灭活突变。在一些实施方案中,该拟肽大环化合物可破坏p53与MDM2和MDMX之间的相互作用。所述方法可进一步包括在施用所述拟肽

大环化合物之前确认所述受试者中缺乏 p53 灭活突变。在一些实施方案中,根据本文公开的方法的治疗可导致 人类受试者中 p53 途径的重新激活、肿瘤细胞增殖减少、p53 蛋白增加、p21 增加和/或凋亡增加。

[0272] 在一个方面,本发明提供了治疗表达野生型 p53 的受试者的实体 瘤的方法,该方法包括向该受试者施用包含治疗有效量的拟肽大环化合物或治疗等效量的其药学上可接受的盐的药物组合物,其中该拟肽大环 化合物与MDM2和/或MDMX蛋白结合。在一些实施方案中,该拟肽大 环化合物可破坏p53与MDM2和MDMX之间的相互作用。所述方法可 进一步包括在施用所述拟肽大环化合物之前确认所述受试者的野生型 p53 状态。在一些实施方案中,根据本文公开的方法的治疗可导致人类 受试者中 p53 途径的重新激活、肿瘤细胞增殖减少、p53 蛋白增加、p21 增加和/或凋亡增加。

[0273] 在一些实施方案中,本文提供的用于治疗实体瘤的方法抑制、减小、缩小、阻止或稳定与该实体瘤相关的肿瘤。在其他实施方案中,本 文提供的用于治疗实体瘤的方法抑制、减小、缩小、阻止或稳定与该实 体瘤或其一种或多种症状相关的肿瘤中的血液流动、代谢或水肿。在一 些实例中,本文提供的用于治疗实体瘤的方法导致肿瘤、肿瘤血流、肿 瘤代谢或肿瘤周围水肿以及/或者与该实体瘤相关的一种或多种症状的 消退。在其他实例中,如通过本领域技术人员可用的常规方法如超声、CT扫描、MRI、动态造影增强MRI或PET 扫描所测量的,本文提供的 用于治疗实体瘤的方法保持该肿瘤的大小,使其不增加,或使其增加得 比施用标准疗法后的肿瘤增加少。在一些实例中,本文提供的用于治疗 实体瘤的方法使肿瘤大小减小。在一些实例中,本文提供的用于治疗实 体瘤的方法使肿瘤形成减少。在一些实例中,本文提供的用于治疗实体 瘤的方法根除、去除或控制与该实体瘤相关的原发性肿瘤、区域性肿瘤 和/或转移性肿瘤。在一些实例中,本文提供的用于治疗实体瘤的方法减 少与该实体瘤相关的转移的次数或大小。在一些实例中,如通过本领域 公知的方法例如CT扫描、MRI、DCE-MRI或PET扫描所评估的,本文 提供的用于治疗实体瘤的方法使受试者中的肿瘤体积或肿瘤大小(例如, 直径)相对于在施用所述拟肽大环化合物前受试者中的肿瘤大小(例如, 体积或直径)减小一定量,该量在约5-10%、5-20%、10-20%、15-20%、10-30%、20-30%、20-40%、30-40%、10-50%、20-50%、30-50%、40-50%、10-60%、20-60%、30-60%、40-60%、50-60%、10-70%、20-70%、30-70%、40-70%、50-70%、60-70%、10-80%、20-80%、30-80%、40-80%、50-80%、60-80%、70-80%、10-90%、20-90%、30-90%、40-90%、50-90%、60-90%、70-90%、80-90%、10-100%、20%-100%、30-100%、40-100%、50-100%、60-100%、70-100%、80-100%、90-100%、95-100%的范围内,或其间的 任意范围内。在某些实施方案中,如通过本领域公知的方法例如CT扫 描、MRI、DCE-MRI或PET扫描所评估的,本文的方法使受试者中的 肿瘤大小(例如,体积或直径)相对于施用所述拟肽大环化合物前受试者 中的肿瘤体积或肿瘤大小(例如,直径)减小至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、80%、85%、90%、95%、99%或100%。

[0274] 在一些实施方案中,如通过本领域公知的方法例如MRI、DCE-MRI或PET扫描所评估的,本文提供的方法使受试者中的肿瘤灌 注相对于施用所述拟肽大环化合物前的肿瘤 灌注减少一定量,该量在约 5-10%、5-20%、10-20%、15-20%、10-30%、20-30%、20-40%、30-40%、10-50%、20-50%、30-50%、40-50%、10-60%、20-60%、30-60%、40-

60%、50-60%、10-70%、20-70%、30-70%、40-70%、50-70%、60-70%、10-80%、20-80%、30-80%、40-80%、50-80%、60-80%、70-80%、10-90%、20-90%、30-90%、40-90%、50-90%、60-90%、70-90%、80-90%、10-100%、20-100%、30-100%、40-100%、50-100%、60-100%、70-100%、80-100%、90-100%、95-100%的范围内,或其间的任意范围内。在某些实施方案中,如通过本领域公知的方法例如MRI、DCE-MRI或PET扫描所评估的,本文提供的方法使受试者中的肿瘤灌注相对于施用所述拟肽大环化合物前的肿瘤灌注减少至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、80%、85%、90%、95%、99%或100%。

[0275] 在一些实施方案中,如通过本领域公知的方法所评估的,本文提供的方法使受试者中的肿瘤代谢相对于施用所述拟肽大环化合物前的肿瘤代谢抑制或减少约5-10%、5-20%、10-20%、15-20%、10-30%、20-30%、20-40%、30-40%、10-50%、20-50%、30-50%、40-50%、10-60%、20-60%、30-60%、40-60%、50-60%、10-70%、20-70%、30-70%、40-70%、50-70%、60-70%、10-80%、20-80%、30-80%、40-80%、50-80%、60-80%、70-80%、10-90%、20-90%、30-90%、40-90%、50-90%、60-90%、70-90%、80-90%、10-100%、20-100%、30-100%、40-100%、50-100%、60-100%、70-100%、80-100%、90-100%、95-100%,或其间的任意范围。在某些实施方案中,如通过本领域公知的方法例如PET扫描所评估的,本文提供的方法抑制或减少受试者中的肿瘤代谢。在特定实施方案中,如通过本领域公知的方法所评估的,本文提供的方法使受试者中的肿瘤代谢相对于施用所述拟肽大环化合物前的肿瘤代谢抑制或减少至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、80%、85%、90%、95%或100%。

[0276] 在其他方面,本发明提供了用于增加患有被确定为缺乏p53灭活突变的实体瘤并且/或者患有表达野生型p53的实体瘤的受试者的存活时间的方法,该方法包括向该受试者施用包含治疗有效量的拟肽大环化合物或治疗等效量的其药学上可接受的盐的药物组合物,其中该拟肽大环化合物与MDM2和/或MDMX蛋白结合。在一些实例中,所述受试者的存活时间比如果所述受试者没有根据本文提供的方法进行治疗而预期的受试者存活时间至少长30天。在一些实例中,所述受试者的存活时间比如果所述受试者没有根据本文提供的方法进行治疗而预期的受试者存活时间长1个月至约5年。例如,所述受试者的存活时间比如果所述受试者没有根据本文提供的方法进行治疗而预期的受试者存活时间长至少3个月、至少6个月、至少9个月、至少12个月、至少15个月、至少18个月、至少21个月或至少24个月。

[0277] 在一个方面,本发明提供了用于评估罹患实体瘤的受试者中生物标记的存在、不存在或量的方法,该方法包括。在一些实例中,所述生物标记包括患者生物标记,例如,受试者的p53状态以及受试者的MDM2和MDMX表达水平。

[0278] 本发明的方法还可任选地包括研究和/或评价本文公开的拟肽大环化合物在所述受试者中的安全性和/或耐受性。

[0279] 本文还提供了用于重新激活患有缺乏p53灭活突变并且/或者表达野生型p53的实体瘤的受试者中的p53途径的方法,该方法包括向该受试者施用包含治疗有效量的拟肽大环化合物或治疗等效量的其药学上可接受的盐的药物组合物,其中该拟肽大环化合物与MDM2和/或MDMX蛋白结合。

[0280] 本文还提供了用于减少患有缺乏p53灭活突变并且/或者表达野生型p53的实体瘤的人类受试者中的肿瘤细胞增殖的方法,该方法包括向该受试者施用包含治疗有效量的拟肽大环化合物或治疗等效量的其药学上可接受的盐的药物组合物,其中该拟肽大环化合物与MDM2和/或MDMX蛋白结合。

[0281] 本文还提供了用于增加患有缺乏p53灭活突变并且/或者表达野生型p53的实体瘤的受试者中的p53蛋白的方法,该方法包括向该受试者施用包含治疗有效量的拟肽大环化合物或治疗等效量的其药学上可接受的盐的药物组合物,其中该拟肽大环化合物与MDM2和/或MDMX蛋白结合。

[0282] 本文还提供了用于增加患有缺乏p53灭活突变并且/或者表达野生型p53的实体瘤的受试者中的p21的方法,该方法包括向该受试者施用包含治疗有效量的拟肽大环化合物或治疗等效量的其药学上可接受的盐的药物组合物,其中该拟肽大环化合物与MDM2和/或MDMX蛋白结合。

[0283] 本文还提供了用于增加患有缺乏p53灭活突变并且/或者表达野生型p53的实体瘤的受试者中的凋亡的方法,该方法包括向该受试者施用包含治疗有效量的拟肽大环化合物或治疗等效量的其药学上可接受的盐的药物组合物,其中该拟肽大环化合物与MDM2和/或MDMX蛋白结合。

[0284] 在一些实施方案中,本发明还提供了用于确定本文公开的拟肽大环化合物在患有缺乏p53灭活突变并且/或者表达野生型p53的实体瘤的受试者中的剂量限制毒性(DLT)和/或最大耐受剂量(MTD)的方法。

[0285] 本发明的方法可任选地包括本文公开的拟肽大环化合物的药代动力学分析。相应地,所述方法可进一步包括在一个或多个特定时间点从所述受试者收集一个或多个生物样品,并对该一个或多个生物样品的拟肽大环化合物和/或其代谢物的水平进行分析。所述生物样品可为来自所述受试者的血液样品,例如,来自人类受试者的血液样品。所述一个或多个特定时间点可包括在向受试者施用拟肽大环化合物之前、之后和/或期间的时间点。在一些实施方案中,一个或多个生物样品包括在每次向受试者施用拟肽大环化合物之前和之后收集的生物样品。在一些实施方案中,用于药代动力学分析的生物样品在第一次向受试者施用拟肽大环化合物之前,以及每次向受试者施用拟肽大环化合物之后的一个或多个时间点收集。在向受试者施用拟肽大环化合物之前收集的生物样品可在开始向受试者施用拟肽大环化合物前0-24小时内完成。例如,所述生物样品可在向受试者施用拟肽大环化合物前24h、23h、22h、21h、20h、19h、18h、17h、16h、15h、14h、13h、12h、11h、10h、9h、8h、7h、6h、5h、4h、3h、2h、1h、30min、15min内收集,或临在施用前收集。在向受试者施用拟肽大环化合物之后收集的一个或多个生物样品可在向受试者施用拟肽大环化合物后0-约72h内收集,例如,在0min、5min、10min、20min、30min、45min、60min、1.25h、1.5h、1.75h、2.0h、2.25h、2.5h、2.75h、3.0h、3.25h、3.5h、3.75h、4.0h、4.25h、4.5h、4.75h、5.0h、5.25h、5.5h、5.75h、6.0h、6.25h、6.5h、6.75h、7.0h、7.25h、7.5h、7.75h、8.0h、8.25h、8.5h、8.75h、9.0h、9.25h、9.5h、9.75h、10.0h、10.25h、10.5h、10.75h、11.0h、11.25h、11.5h、11.75h、12.0h、20h、24h、28h、32h、36h、40h、44h、48h、52h、56h、60h、64h、68h或72h之后收集。在一些实施方案中,所述拟肽大环化合物在28天周期的第1天、第8天、第15天施用,并且在第1天施用前、第1天施用后(可以例如在施用后约0min、约30min、约1h、

约2h、约4h、约8h、约24h和48小时收集多个生物样品)、第8天施用前、第8天施用后(可以例如在施用后约0min、约30min、约1h、约2h和约4h收集多个生物样品)、第15天施用前和第15天施用后(可以例如在施用后约0min、约30min、约1h、约2h、约4、约8h和约24h收集多个生物样品)收集生物样品。

[0286] 本发明的方法可任选地包括本文公开的拟肽大环化合物的药效学分析。相应地,所述方法可包括在一个或多个特定时间点从受试者收集一个或多个生物样品以供药效学分析。药效学分析可包括分析生物样品中包括MIC-1、p53、MDM2、MDMX、p21和/或病例在内的生物标记的水平。生物样品中生物标记的检测可通过用于检测生物标记类型的任何常规方法进行,例如,直接测量、免疫组织化学、免疫印迹、免疫荧光、免疫吸附、免疫沉淀、蛋白质阵列、荧光原位杂交、FACS分析、杂交、原位杂交、Northern印迹法、Southern印迹法、Western印迹法、ELISA、放射免疫测定、基因阵列/芯片、PCR、RT-PCR或细胞遗传学分析。用于药效学分析的生物样品可为来自受试者的血液样品或肿瘤样本,例如,用于药效学分析的生物样品可为来自人类受试者的血液样品或肿瘤样本。用于拟肽大环化合物的药效学分析的生物样品可以在向受试者施用该拟肽大环化合物之前、期间或之后的任意时间收集。在一些实施方案中,用于药代动力学分析的血液样品在第一次向受试者施用拟肽大环化合物之前,以及每次向受试者施用拟肽大环化合物之后的一个或多个时间点收集。在向受试者施用拟肽大环化合物之前收集的血液样品可在开始向受试者施用拟肽大环化合物前0-24小时内完成。例如,所述生物样品可在向受试者施用拟肽大环化合物前24h、23h、22h、21h、20h、19h、18h、17h、16h、15h、14h、13h、12h、11h、10h、9h、8h、7h、6h、5h、4h、3h、2h、1h、30min、15min内收集,或临在施用前收集。在向受试者施用拟肽大环化合物之后收集的用于药效学分析的一个或多个血液样品可在向受试者施用拟肽大环化合物后0-约72h,例如之后约12h、24h、36h或48h收集。在一些实施方案中,所述拟肽大环化合物在28天周期的第1天、第8天、第15天施用,并且在第1天施用前、第1天施用后(可以例如在施用后约24h和48小时收集多个样品)、第8天施用前、第8天施用后(可以例如在施用后约1h收集多个样品)、第15天施用前和第15天施用后(可以例如在施用后约1h和约48h收集多个样品)以及第22天收集用于药效学分析的血液样品。可以在向受试者施用拟肽大环化合物之前、之后或期间的任意时间收集用于药效学分析的肿瘤样本。例如,所述拟肽大环化合物可在28天周期的第1天、第8天、第15天施用,并且可在第1天施用前以及第14-18天之间,例如第16天,收集用于药效学分析的肿瘤样品。

[0287] 本发明的方法可任选地包括本文公开的拟肽大环化合物的临床活性分析。相应地,所述方法可包括对在一个或多个特定时间点从受试者收集的一个或多个生物样品进行分析。可将任何合适的分析程序用于生物样品的分析。例如,可采用成像技术,如放射照片、超声、CT扫描、PET扫描、MRI扫描、胸部X射线、腹腔镜检查、全血细胞计数(CBC)检验、骨扫描和粪便隐血试验。可使用的其他分析程序包括血液化学分析、染色体易位分析、针吸活检、组织活检、荧光原位杂交、实验室生物标记分析、免疫组织化学染色法、流式细胞术,或它们的组合。所述方法可进一步包括将所述分析程序的结果制表和/或作图。

生物样品

[0288] 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、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。生物样品还包括肿瘤样品或样本。肿瘤样品可为肿瘤组织样品。获得肿瘤组织样品的方法是本领域公知的,并且可根据肿瘤的类型和位置以及医师的偏好而改变。在一些实施方案中,肿瘤组织样品可从手术切除的组织获得。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。

[0289] 根据样品的性质、所采用的测定和实施者的方便性,所获得的生物样品可以以新鲜、冷冻或固定(例如,石蜡包埋)的形式使用。虽然新鲜、冷冻和固定的物质适用于各种RNA和蛋白质测定,但通常新鲜组织对离体活性测量可能是优选的。

[0290] 还可采用固定的组织样品。常通过福尔马林、甲醛或戊二醛,或例如通过醇浸泡来固定通过活检获得的组织。如本领域已知的,固定的生物样品通常被脱水并包埋在石蜡或其他固体支持体中。参见文献 Plenat等人,2001,Ann.Pathol.21:29-47。未包埋、固定的组织,以及固定且包埋的组织均可在本方法中使用。可用有机溶剂去除用于包埋固定组织的固体支持体,以使得保存的组织随后能够再水合。

[0291] 在一些情况下,所述测定包括细胞或组织培养步骤。培养方法是本领域公知的。例如,可采用酶(如胶原酶和透明质酸酶)和/或物理破坏(例如,反复穿过25号针)使来自活检的细胞散开从而分离细胞,通过离心收集细胞,并将其重悬在所需的缓冲液或培养基中以供培养,立即分析,或进一步处理。

受试者/患者群体

[0292] 在一些实施方案中,根据本文提供的方法对实体瘤进行治疗的受试者是已被诊断或被诊断为患有实体瘤的人。在其他实施方案中,根据本文提供的方法对实体瘤进行治疗的受试者是易发或易患实体瘤的人。在一些实施方案中,根据本文提供的方法对实体瘤进行治疗的受试者是处于发展出实体瘤的风险中的人。

[0293] 在一些实施方案中,根据本文提供的方法对实体瘤进行治疗的受试者是已被诊断或被诊断为患有被确定为缺乏p53灭活突变并且/或者表达野生型p53的实体瘤的人。在其他实施方案中,根据本文提供的方法对实体瘤进行治疗的受试者是易发或易患被确定为缺乏p53灭活突变并且/或者表达野生型p53的实体瘤的人。在一些实施方案中,根据本文提供的方法对实体瘤进行治疗的受试者是处于发展出被确定为缺乏p53灭活突变并且/或者表达野生型p53的实体瘤的风险中的人。如本文所用的,p53灭活突变为导致p53的体外凋亡活性丧失(或降低)的任何突变。p53灭活突变的非限制性实例被包括在表1a中。相应地,在一些实施方案中,根据如本文提供的组合物治疗的患有实体瘤的受试者是已被诊断或被诊断为患有被确定为缺乏p53灭活突变(如表1a中所示的那些)的实体瘤的人。

[0294] 在一些实施方案中,根据本文提供的方法对实体瘤进行治疗的受试者是已被诊断或被诊断为患有被确定为具有p53功能获得突变的实体瘤的人。在其他实施方案中,根据本文提供的方法对实体瘤进行治疗的受试者是易发或易患被确定为具有p53功能获得突变的实体瘤的人。在一些实施方案中,根据本文提供的方法对实体瘤进行治疗的受试者是处于发展出被确定为具有p53功能获得突变的实体瘤的风险中的人。如本文所用的,p53功能获得突变是使得突变p53发挥出的致癌功能超出其相对于野生型p53肿瘤抑制功能的负主导的任何突变。p53功能获得突变体蛋白质可表现出新的活性,该新活性可对肿

瘤进展的各个阶段和抗癌治疗的抗性增加有积极贡献。p53功能获得突变的非限制性实例被包括在表1b中。相应地,在一些实施方案中,根据如本文提供的组合物治疗的患有实体瘤的受试者是已被诊断或被诊断为患有被确定为具有p53功能获得突变(如表1b中所示的那些)的实体瘤的人。

[0295] 在一些实施方案中,根据本文提供的方法对实体瘤进行治疗的受试者是已被诊断或被诊断为患有非p53阴性的实体瘤的人。在其他实施方案中,根据本文提供的方法对实体瘤进行治疗的受试者是易发或易患非p53阴性的实体瘤的人。在一些实施方案中,根据本文提供的方法对实体瘤进行治疗的受试者是处于发展出非p53阴性的实体瘤的风险中的人。

[0296] 在一些实施方案中,根据本文提供的方法对实体瘤进行治疗的受试者是已被诊断或被诊断为患有表达具有功能部分丧失突变的p53的实体瘤的人。在其他实施方案中,根据本文提供的方法对实体瘤进行治疗的受试者是易发或易患表达具有功能部分丧失突变的p53的实体瘤的人。在一些实施方案中,根据本文提供的方法对实体瘤进行治疗的受试者是处于发展出表达具有功能部分丧失突变的p53的实体瘤的风险中的人。如本文所用的,“p53功能部分丧失”突变是指该突变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。

[0297] 在一些实施方案中,根据本文提供的方法对实体瘤进行治疗的受试者是已被诊断或被诊断为患有表达具有拷贝丢失突变和灭活突变的p53的实体瘤的人。在其他实施方案中,根据本文提供的方法对实体瘤进行治疗的受试者是易发或易患表达具有拷贝丢失突变和灭活突变的p53的实体瘤的人。在一些实施方案中,根据本文提供的方法对实体瘤进行治疗的受试者是处于发展出表达具有拷贝丢失突变和灭活突变的p53的实体瘤的风险中的人。

[0298] 在一些实施方案中,根据本文提供的方法对实体瘤进行治疗的受试者是已被诊断或被诊断为患有表达具有拷贝丢失突变的p53的实体瘤的人。在其他实施方案中,根据本文提供的方法对实体瘤进行治疗的受试者是易发或易患表达具有拷贝丢失突变的p53的实体瘤的人。在一些实施方案中,根据本文提供的方法对实体瘤进行治疗的受试者是处于发展出表达具有拷贝丢失突变的p53的实体瘤的风险中的人。

[0299] 在一些实施方案中,根据本文提供的方法对实体瘤进行治疗的受试者是已被诊断或被诊断为患有表达具有一个或多个沉默突变的p53的实体瘤的人。在其他实施方案中,根据本文提供的方法对实体瘤进行治疗的受试者是易发或易患表达具有一个或多个沉默突变的p53的实体瘤的人。在一些实施方案中,根据本文提供的方法对实体瘤进行治疗的受试者是处于发展出表达具有一个或多个沉默突变的p53的实体瘤的风险中的人。如本文所用的沉默突变是不导致编码的p53氨基酸序列改变的突变。

[0300] 在一些实施方案中,根据本文提供的方法对实体瘤进行治疗的受试者是已被诊断或被诊断为患有被确定为缺乏显性p53灭活突变的实体瘤的人。如本文所用的,显性p53灭活突变或显性失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。

表1a:示例性p53灭活突变

突变位置	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

表1b. 示例性p53激活突变

氨基酸位置	氨基酸改变
46	S46F
121	S121F
123	T123A
288	N288K

表1a和表1b是指图1中所示的野生型人TP53肿瘤蛋白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表明在野生型序列的344位置处的赖氨酸(K)被脯氨酸(P)替代。

[0301] 在一些实施方案中，根据本文提供的方法对实体瘤进行治疗的受试者是难治性的患者。在某些实施方案中，难治性患者是对标准疗法(例如，手术、放疗、抗雄激素疗法和/或药物疗法如化疗)而言难治性的患者。在某些实施方案中，当实体瘤未被显著根除和/或一种或多种症状未得到显著缓解时，患有该实体瘤的患者对疗法而言是难治性的。患者是否难治的确定可通过本领域已知的用于测定实体瘤治疗的有效性的任何方法在体内或体外进行。在多个实施方案中，当与实体瘤相关的一个或多个肿瘤未被缩小或已经增大时，患有该实体瘤的患者是难治性的。在多个实施方案中，当一个或多个肿瘤转移和/或扩散至另一器官时，患有该实体瘤的患者是难治性的。

[0302] 在一些实施方案中，根据本文提供的方法对实体瘤进行治疗的受试者是已被证实对除了用本发明拟肽大环化合物治疗之外的疗法而言是难治性的，但不再进行这些疗法的人。在某些实施方案中，根据本文提供的方法对实体瘤进行治疗的受试者是已接受一种或多种常规抗癌疗法如手术、药物疗法如化疗、抗雄激素疗法或放疗的人。这些患者中有难治性患者，对常规疗法而言太年轻的患者，以及尽管用现有疗法治疗但仍有肿瘤复发的患者。

[0303] 在一些实施方案中，所述受试者是已经历至少一次不成功的既往实体瘤治疗和/或疗法的人。

检测野生型p53和/或p53突变的方法

[0304] 可测定来自受试者的肿瘤样品,以便确定p53灭活突变的缺乏和/或野生型p53的表达。

[0305] 为了检测组织中的p53野生型基因和/或p53灭活突变的缺乏,分离没有周围正常组织的组织可能是有帮助的。用于富集肿瘤细胞的组织制品的手段是本领域已知的。例如,可从石蜡或恒冷切片机切片分离组织。还可通过流式细胞术将癌细胞与正常细胞分离。这些以及其他用于将肿瘤与正常细胞分离的技术是本领域公知的。如果肿瘤组织被正常细胞高度污染,则突变的检测可能更加困难。

[0306] 可通过对存在于肿瘤组织中的p53等位基因(或多个p53等位基因)进行分子克隆并使用本领域公知的技术对该等位基因进行测序来完成点突变的检测。或者,可使用聚合酶链反应直接来自肿瘤组织的基因组DNA制品扩增p53基因序列。然后可确定经扩增序列的DNA序列。聚合酶链反应本身是本领域公知的。参见,例如,Saiki等人,Science,Vol. 239,p.487,1988;美国专利号4,683,202;以及美国专利号4,683,195。

[0307] 也可检测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)探针可用于对p53等位基因的丧失进行评分。可使用如本领域已知的用于检测缺失的其他技术。

[0308] 还可基于p53基因的野生型表达产物的丧失来检测野生型p53基因的丧失。这样的表达产物包括mRNA以及p53蛋白质产物本身。可通过直接对mRNA进行测序或经由从mRNA制备的cDNA的分子克隆来检测点突变。可使用本领域公知的DNA测序技术来确定所克隆的cDNA的序列。还可经由聚合酶链反应(PCR)对cDNA进行测序。

[0309] 或者,可使用错配检测来检测p53基因或其mRNA产物中的点突变。该方法可涉及使用与人野生型p53基因互补的标记的核糖核酸探针。将核糖核酸探针与从肿瘤组织中分离的mRNA或DNA退火(杂交)在一起,并随后用能够检测双链体RNA结构中的一些错配的RNA酶A进行消化。如果RNA酶A检测到错配,则其在错配位点切割。因此,当退火的RNA制品在电泳凝胶基质上得到分离时,如果错配已被检测到并被RNA酶A切割,则可看到比核糖核酸探针与p53 mRNA或DNA的全长双链体RNA更小的RNA产物。核糖核酸探针不需要是p53 mRNA或基因的全长,而可为p53 mRNA或基因的区段。如果该核糖核酸探针仅包含p53 mRNA或基因的区段,则将期望使用多个这些探针来筛选整个mRNA序列的错配。

[0310] 以类似的方式,可通过酶或化学切割,使用DNA探针来检测错配。参见,例如,Cotton等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,vol.85,4397,1988;和Shenk等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,vol.72,p.989,1975。或者,可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。参见,例如,Cariello,Human Genetics,vol.42,p.726,1988。采用核糖核酸探针或DNA探针,可在杂交前使用PCR(参见下文)来扩增可能含有突变的细胞mRNA或DNA。

[0311] 还可使用等位基因特异性探针筛选已通过使用聚合酶链反应扩增的来自肿瘤组织的p53基因的DNA序列。这些探针为核酸寡聚物,其各自含有携带已知突变的p53基因序列的区域。例如,一个寡聚物可为约30个核苷酸的长度,对应于p53基因序列的一部分。在编码p53基因的第175个密码子的位置,该寡聚物编码丙氨酸,而不是野生型密码子缬氨酸。通过使用一连串这样的等位基因特异性探针,可筛选PCR扩增产物以鉴别p53基因中先前鉴别的突变的存在。等位基因特异性探针与扩增的p53序列的杂交可在例如尼龙过滤器

上进行。与特定探针的杂交表明,该肿瘤组织中存在与该等位基因特异性探针相同的突变。

[0312] 通过多样化的一系列高分辨率、高通量微阵列平台的开发和应用,促进了肿瘤细胞中p53基因结构改变的鉴别。基本上有两种类型的阵列:携带来自克隆核酸的PCR产物的阵列(例如,cDNA、BAC、粘粒)和使用寡核苷酸的阵列。每种都有优点和缺点,但现在可以调查全基因组DNA拷贝数异常和表达水平,从而允许将肿瘤细胞的损失、增加和扩增与在相同样品中过表达和低表达的基因相互关联。提供肿瘤中mRNA水平估计值的基因表达阵列已经产生了可鉴定基因表达水平、可变剪接事件和mRNA加工改变的外显子特异性阵列。还使用寡核苷酸阵列来探询整个基因组中的单核苷酸多态性(SNP)以供联系和关联研究,并且这些寡核苷酸阵列已经适应于量化拷贝数异常和杂合性丢失事件。最终DNA测序阵列将允许染色体区域和整个基因组的重新测序。

[0313] 还考虑使用基于SNP的阵列或其他基因阵列或芯片来确定野生型p53等位基因的存在以及突变的结构。单核苷酸多态性(SNP)——DNA中单个位点的变异——是基因组中最常见的变异类型。例如,在人类基因组中估计有500-1000万个SNP。由于SNP在整个进化中及群体内高度保守,因此将SNP的图谱作为研究的优秀基因型标记物。SNP阵列是用于研究整个基因组的有用工具。

[0314] 此外,SNP阵列可用于研究杂合性丢失(LOH)。LOH是一种等位基因不平衡的形式,其可由等位基因完全丧失或一个等位基因相对于另一个等位基因的拷贝数增加而导致。虽然存在其他基于芯片的方法(例如,比较基因组杂交仅可检测基因组增加或缺失),但SNP阵列具有检测由于单亲二体性(UPD)而导致的拷贝数中性LOH的额外优点。在UPD中,来自一个亲本的一个等位基因或整个染色体丢失,导致另一亲本等位基因的重复复制(单亲=来自一个亲本,二体性=复制的)。在疾病情况下,当野生型等位基因(例如,来自母本)丢失而存在两个拷贝的杂合等位基因(例如,来自父本)时,这种情况可能是病态的。SNP阵列的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显著特征。基于SNP阵列技术的最近研究已经表明,不仅实体瘤(例如,胃癌,肝癌等),而且血液恶性肿瘤(ALL、MDS、CML等)由于基因组缺失或UPD以及基因组获得而具有较高的LOH率。在本公开内容中,使用高密度SNP阵列检测LOH允许鉴别等位基因不平衡的模式,以确定野生型p53等位基因的存在(Lips等人,2005;Lai等人,2007)。

[0315] 当前p53基因序列和单核苷酸多态性阵列的实例包括p53基因芯片(Affymetrix, Santa Clara, CA)、Roche p53 Ampli-Chip(Roche Molecular Systems, Pleasanton, CA)、Ampli-Chip阵列(Affymetrix, Santa Clara, CA)、SNP阵列6.0(Affymetrix, Santa Clara, CA)、BeadArrays(Illumina, San Diego, CA)等。

[0316] 还可基于p53基因的野生型表达产物的突变来检测野生型p53基因的突变。这样的表达产物包括mRNA以及p53蛋白质产物本身。可通过直接对mRNA进行测序或经由从mRNA制备的cDNA的分子克隆来检测点突变。可使用本领域公知的DNA测序技术来确定所克隆的cDNA的序列。还可经由聚合酶链反应(PCR)对cDNA进行测序。可使用一组单克隆抗体,其中每个与p53功能有关的表位均由单克隆抗体表示。该组中单克隆抗体的结合的损失或干扰将指示p53蛋白的突变改变,并因此指示p53基因本身的突变改变。还可在身体样品如血清、粪便或其他体液如尿液和痰液中检测到突变p53基因或基因产物。上述用于检测组织

中突变p53基因或基因产物的相同技术可应用于其他身体样品。2. p53 蛋白水平的评估

[0317] 还可通过筛选野生型p53蛋白功能的丧失来检测野生型p53基因的丧失。尽管p53蛋白确定具有的所有功能尚未得到阐明,但至少两种 具体功能是已知的。蛋白质p53与SV40大T抗原以及腺病毒E1B抗原 结合。p53蛋白与这些抗原中的任一个或两者结合的能力的丧失表明蛋白质的突变改变,该突变改变反映出基因本身的突变改变。或者,可使用一组单克隆抗体,其中每个与p53功能有关的表位均由单克隆抗体表示。该组中单克隆抗体的结合的损失或干扰将指示p53蛋白的突变改变,并因此指示p53基因本身的突变改变。用于检测改变的p53蛋白的任何 手段均可用于检测野生型p53基因的丧失。

[0318] 还可在身体样品如血清、粪便或其他体液如尿液和痰液中检测到 突变p53基因或基因产物。上述用于检测组织中突变p53基因或基因产物的相同技术可应用于其他身体样品。

[0319] 可在施用拟肽大环化合物之前、期间或之后的任何时间进行患有 实体瘤的患者中p53灭活突变的缺乏和/或野生型p53表达的确定。在一些实施方案中,在向受试者第一次施用拟肽大环化合物之前,例如,在 向受试者第一次施用拟肽大环化合物之前约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天进行患有实体瘤的患者 中p53灭活突变的缺乏和/或野生型p53表达的确定。在一些实例中,在 向受试者第一次施用拟肽大环化合物之前至多6年、5年、4年、3年、24个月、23个月、22个月、21个月、20个月、19个月、18个月、17个月、16个月、15个月、14个月、13个月、12个月、11个月、10个月、9个月、8个月、7个月、6个月、5个月、4个月、3个月、2个月、1个月、4周(28天)、3周(21天)、2周(14天)、1周(7天)、6天、5天、4天、3天、2天或1天进行p53灭活突变的缺乏和/或野生型p53表达的确认。在一些实例中,在向受试者第一次施用拟肽大环化合物的1个月内进行p53灭活突变的缺乏的确认。在一些实例中,在向受试者第一次施用拟肽大环化合物的21天内进行p53灭活突变的缺乏的确认。

实体瘤

[0320] 可通过本方法治疗的实体瘤包括除淋巴瘤之外的肿瘤和/或转移(无论位于何处),例如,大脑及其他中枢神经系统肿瘤(包括但不限于脑膜、大脑、脊髓、颅神经及中枢神经系统的其他部位的肿瘤,例如,胶质母细胞瘤或髓母细胞瘤);头部和/或颈部癌症;乳腺肿瘤;循环系统肿瘤(包括但不限于心脏、纵隔和胸膜及其他胸腔内器官的肿瘤、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、其他及未指定的泌尿器官的肿瘤);胃肠道肿瘤(包括但不限于食道、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,累及肝脏和肝内胆管、胆囊、胆道的其他部位及未指定部位、胰腺、其他以及消化器官的肿瘤);口腔肿瘤(包括但不限于唇、舌、牙龈、口底部、腭及口腔的其他部位、腮腺及唾液腺的其他部位、扁桃体、口咽、鼻咽、梨状隐窝、下咽以及唇部、口腔和咽部中的其他部位的肿瘤);生殖系统肿瘤(包括但不限于外阴、阴道、子宫颈、子宫体、子宫、卵巢及与女性生殖器官相关的其他部位、胎盘、阴茎、前列腺、睾丸及与男性生殖器官相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、喉部、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的 关节软骨、骨关节软骨及其他部位的肿瘤);皮肤肿瘤(包括但不限于皮肤恶性黑色素瘤、非黑色素瘤皮肤癌、皮肤基底细胞癌、皮肤鳞状细胞 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、眼及附件、甲状腺、肾上腺及其他 内分泌腺和相关结构在内的其他组织的肿瘤,淋巴结的继发和未指定的 恶性肿瘤,呼吸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。

[0321] 在一些实例中,通过本发明的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 色素瘤、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。

[0322] 在一些实例中,通过本发明的方法治疗的实体瘤是膀胱癌、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。

[0323] 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 通过本发明的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。

[0324] 在一些实例中,通过本发明的方法治疗的实体瘤是骨癌。可以通 过本发明的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)。

[0325] 在一些实例中,通过本发明的方法治疗的实体瘤是皮肤癌。可以 通过本发明的方法治疗的皮肤癌的非限制性实例包括黑色素瘤、基底细 胞皮肤癌和鳞状细胞皮肤癌。

[0326] 在一些实例中,通过本发明的方法治疗的实体瘤是眼肿瘤。可以 通过本发明的方法治疗的眼肿瘤的非限制性实例包括眼肿瘤是脉络膜痣、脉络膜黑色素瘤、脉络膜转移、脉络膜血管瘤、脉络膜骨瘤、虹膜黑色 素瘤、葡萄膜黑色素瘤、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。

[0327] 在一些实施方案中,通过本文公开的方法治疗的实体瘤不包括已 知与HPV(人乳头瘤病毒)相关的癌症。所排除的组包括HPV阳性宫颈 癌、HPV阳性肛门癌和HPV头颈癌,如口咽癌。

[0328] 通过本文公开的方法进行的癌症治疗的有效性和/或响应可通过 本领域已知的任何方法来确定。该响应可以是完全响应,其可以是客观 响应、临床响应或对治疗的病理响应。例如,可根据如Therese等人,New Guidelines to Evaluate the Response to Treatment in Solid Tumors,J.of the National Cancer Institute 92(3):205-207 (2000)所述的用于评价对实体瘤治 疗的响应的技术来确定该响应,该文献通过引用以全文并入于此。该响 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。这类事件的计时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(如拟肽大环化合物的最后施用)来确定。或者,该响应可基于肿瘤大小、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)。

[0329] 个体患者的响应可被描述为完全响应、部分响应、稳定的疾病和 进行性疾病,这些术语是本领域中所理解的。在一些实施方案中,该响应是完全响应(CR)。在一些实例中,完全响应可被定义为所有目标病变的消失,即任何病态淋巴结(无论是目标或是非目标的)的短轴均必须缩小至 $<10\text{mm}$ 。在某些实施方案中,该响应是部分响应(PR)。部分响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,该响应为进行性疾病(PD)。进行性疾病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20%的增加,以及目标病变的直径总和至少5 mm的绝对增加。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,该疾病可为稳定的疾病(SD)。稳定的疾病可被定义为以研究中的最小直径总和为参考,没有出现符合PR的充分缩小也没有出现符合PD的充分增加的情况。在某些实施方案中,该响应是病理学完全响应。例如通过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响应通常是指手术样本中没有侵袭性肿瘤细胞的组织学证据。

联合治疗

[0330] 本文还提供了用于治疗实体瘤的联合疗法,其包括将本文公开的 拟肽大环化合物与一种或多种其他疗法联合施用至患有被确定为缺乏 p53灭活突变并且/或者表达野生型p53的实体瘤的受试者。在特定实施方案中,本文呈现了用于治疗实体瘤的联合疗法,其包括将有效量的拟肽大环化合物与有效量的另一疗法联合施用至患有被确定为缺乏p53灭活突变的实体瘤并且/或者患有表达野生型p53的实体瘤的受试者。

[0331] 如本文所用的,在拟肽大环化合物施用的上下文中,术语“联合”是指在施用用于治疗实体瘤的一种或多种其他疗法(例如,药剂、手术或 放疗)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其他疗法的顺序。在特定实施方案中,拟肽大环化合物的施用与一种或多种其他疗法的施用之间的时间间隔可为约1-5分钟、1-30分钟、30分钟至60分钟、1小时、1-2 小时、2-6小时、2-12小时、12-24小时、1-2天、2天、3天、4天、5 天、6天、7天、1周、2周、3周、4周、5周、6周、7周、8周、9周、10周、15周、20周、26周、52周、11-15周、15-20周、20-30周、30-40 周、40-50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、1年、2年,或其间的任 意时间段。在某些实施方案中,拟肽大环化合物与一种或多种其他疗法的施用相隔少于1天、1天、2周、3周、4周、1个月、2个月、3个月、6个月、1年、2年或5年。

[0332] 在一些实施方案中,本文提供的联合疗法包括每周1-2次、每周 一次、每2周一次、每3周一次、每4周一次、每5周一次、每6周一 次、每7周一次或每8周一次的拟肽大环化合物施用,以及每周一次、每2周一次、每3周一次、每4周一次、每月一次、每2个月(例如,约 8周)一次、每3个月(例如,约12周)一次或每4个月(例如,约16周) 一次地施用一种或多种其他疗法。在某些实施方案中,拟肽大环化合物 以及一种或多种其他疗法周期地施用至受试者。周期疗法包括持续一段 时间施用拟肽大环化合物,紧接着持续一段时间施用一种或多种其他疗 法,并且重复这种顺序施用。在某些实施方案中,周期疗法还可包括一 段时间内不施用拟肽大环化合物或其他疗法的休息期(例如,2天、3天、4天、5天、6天、7天、1周、2周、3周、4周、5周、10周、20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、2年或3年)。在一个实施方案中,所施用的周期的数目为1至12

个周期、2至10个周期或2至8个周期。

[0333] 在一些实施方案中,本文提供的用于治疗实体瘤的方法包括在联合施用拟肽大环化合物与其他疗法之前,将拟肽大环化合物作为单一药剂施用一段时间。在某些实施方案中,本文提供的用于治疗癌症的方法包括在联合施用拟肽大环化合物与其他疗法之前,将其他疗法单独施用一段时间。

[0334] 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其他疗法,根据本文呈现的方法的拟肽大环化合物以及所述一种或多种其他疗法的施用具有叠加效应。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其他疗法,根据本文呈现的方法的拟肽大环化合物以及所述一种或多种其他疗法的施用具有协同效应。

[0335] 如本文所用的,“协同”是指拟肽大环化合物与一种或多种其他疗法(例如,药剂)联合施用的效果,该组合比任两种或更多种单一疗法(例如,药剂)的叠加效应更加有效。在特定实施方案中,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其他疗法,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其他疗法。在某些实施方案中,使用更低剂量的拟肽大环化合物或其他疗法和/或更低频率地施用该拟肽大环化合物或所述其他疗法的能力使得分别与该拟肽大环化合物或所述其他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其他疗法分别用于治疗实体瘤中的效力。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其他疗法在治疗癌症中的效力提高。在一些实施方案中,拟肽大环化合物与一种或多种其他疗法的组合的协同效应避免或减少了与使用任一种疗法相关的不良作用或不想要的副作用。

[0336] 拟肽大环化合物与一种或多种其他疗法的组合可在同一药物组合中施用至受试者。或者,拟肽大环化合物以及一种或多种其他疗法可在单独的药物组合中同时施用至受试者。拟肽大环化合物以及一种或多种其他疗法可在单独的药物组合中顺序地施用至受试者。还可通过相同或不同的给药途径将拟肽大环化合物以及一种或多种其他疗法施用至受试者。

[0337] 本文提供的联合疗法包括将拟肽大环化合物与常规或已知的用于治疗癌症的疗法联合施用至有需要的受试者。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该癌症相关的状况的其他疗法。

[0338] 可与拟肽大环化合物联合使用的抗癌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)、抗-抗原剂(例如,VEGF拮抗剂、受体拮抗剂、整合蛋白拮抗剂、血管靶向剂(VTA)/血管破坏剂(VDA))、放射疗法以及常规手术。

[0339] 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。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。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。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。

[0340] 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。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、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))。

[0341] 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);以及脱氧核糖核苷酸抗代谢物(例如,羟基脲)。

[0342] 为拓扑异构酶抑制剂的化疗剂包括但不限于I类(喜树属)拓扑异构酶抑制剂(例如,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(鬼臼属)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)。

[0343] 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'-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、丝裂霉素和普利霉素)。

[0344] 可与拟肽大环化合物联合施用至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 $\alpha 5 \beta 1$ -拮抗剂(例如,JSM6427);(25) 核因 子 κB (NF- κB) 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 **AC CUTANE®**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 抗癌 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) F1k-1/KDR/VEGFR2、FGFR1和 PDGFR β 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。

[0345] 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。具体地,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)不能在施 用这类拟肽大环化合物的48h、36h、24h或12h内(例如,24h内)给 药。可能受共施用这类拟 肽大环化合物影响的示例性药物在下面列出。在多个实施方案中,一种或多种选自表2的 药物不能在施用这类拟肽大 环化合物的48h、36h、24h或12h内(例如,24h内)给药。

[0346] 表2:可能受共施用本文公开的拟肽大环化合物影响的示例性药 物。

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

本发明提供了包括但不限于以下实施方案：

- 1.一种治疗有需要的人类受试者中被确定为缺乏p53灭活突变的 实体瘤的方法,其中该方法包括向该人类受试者施用包含治疗有效量的 拟肽大环化合物或治疗等效量的其药 学上可接受的盐的药物组合物,其 中该拟肽大环化合物与MDM2和/或MDMX蛋白结合。
- 2.一种治疗有需要的人类受试者中缺乏p53灭活突变的实体瘤的 方法,其中该方法包 括向该人类受试者施用包含治疗有效量的拟肽大环 化合物或治疗等效量的其药 学上可接 受的盐的药物组合物,其中该拟肽 大环化合物与MDM2和/或MDMX蛋白结合。
- 3.一种治疗有需要的人类受试者中的在p53基因中具有p53灭活 突变的实体瘤的方 法,其中该方法包括向该人类受试者施用包含治疗有 效量的拟肽大环化合物或治疗等效 量的其药 学上可接受的盐的药物组合 物,其中该拟肽大环化合物与MDM2和/或MDMX蛋白结 合。
- 4.一种治疗有需要的人类受试者的实体瘤的方法,其中该方法包 括向该人类受试者 施用包含治疗有效量的拟肽大环化合物或治疗等效量 的其药 学上可接受的盐的药物组合 物,其中该拟肽大环化合物与MDM2 和/或MDMX蛋白结合,并且其中所述实体瘤不是p53蛋白 表达阴性的 (如表达野生型p53蛋白或具有部分功能性的突变p53蛋白的实体瘤)。
- 5.一种治疗有需要的人类受试者的实体瘤的方法,其中该方法包 括向该人类受试者 施用包含治疗有效量的拟肽大环化合物或治疗等效量 的其药 学上可接受的盐的药物组合 物,其中该拟肽大环化合物与MDM2 和/或MDMX蛋白结合,并且其中所述实体瘤表达具有功 能获得突变的 p53蛋白(如超级凋亡p53)。
- 6.一种治疗有需要的人类受试者的实体瘤的方法,其中该方法包 括向该人类受试者 施用包含治疗有效量的拟肽大环化合物或治疗等效量 的其药 学上可接受的盐的药物组合 物,其中该拟肽大环化合物与MDM2 和/或MDMX蛋白结合,并且其中所述实体瘤表达具有导 致功能部分丧 失的突变的p53蛋白。
- 7.一种治疗有需要的人类受试者的实体瘤的方法,其中该方法包 括向该人类受试者 施用包含治疗有效量的拟肽大环化合物或治疗等效量 的其药 学上可接受的盐的药物组合 物,其中该拟肽大环化合物与MDM2 和/或MDMX蛋白结合,并且其中所述实体瘤中的细胞仅 从p53基因的 单一基因组拷贝表达p53(例如,在细胞具有拷贝丢失突变,例如为单倍 功能 不全时)。
- 8.一种治疗有需要的人类受试者的实体瘤的方法,其中该方法包 括向该人类受试者 施用包含治疗有效量的拟肽大环化合物或治疗等效量 的其药 学上可接受的盐的药物组合 物,其中该拟肽大环化合物与MDM2 和/或MDMX蛋白结合,并且其中所述实体瘤表达具有 一个或多个沉默 突变的p53蛋白。
- 9.一种治疗有需要的人类受试者的实体瘤的方法,其中该方法包括 向该人类受试者 施用包含治疗有效量的拟肽大环化合物或治疗等效量的 其药 学上可接受的盐的药物组合 物,其中该拟肽大环化合物与MDM2 和/或MDMX蛋白结合,并且其中所述实体瘤中的细胞是 p53表达阴性 的。

10. 如实施方案3所述的方法,其中所述实体瘤中的细胞在p53基因的一个拷贝中具有p53灭活突变。

11. 如实施方案10所述的方法,其中所述实体瘤中的细胞在p53基因的第二拷贝中具有第二p53灭活突变。

12. 如实施方案11所述的方法,其中所述p53基因的一个拷贝中的p53灭活突变与p53基因的第二拷贝中的第二p53灭活突变相同。

13. 如实施方案11所述的方法,其中所述p53基因的一个拷贝中的p53灭活突变与p53基因的第二拷贝中的第二p53灭活突变不同。

14. 如实施方案3或10-13所述的方法,其中所述p53基因中的p53灭活突变导致缺乏从所述p53基因表达p53蛋白,或导致功能部分丧失的部分p53蛋白的表达。

15. 如实施方案3或10-13所述的方法,其中p53基因的第二拷贝中的第二p53灭活突变导致缺乏从所述p53基因表达p53蛋白,或导致功能部分丧失的部分p53蛋白的表达。

16. 如实施方案2-15中任一项所述的方法,其中所述实体瘤的细胞在p53基因的拷贝中具有至少一个突变,其中与从非突变p53基因的拷贝表达的野生型p53相比,所述突变消除或降低从所述p53基因的拷贝表达的p53蛋白的活性。

17. 一种治疗有需要的人类受试者的实体瘤的方法,其中该方法包括向该人类受试者施用包含治疗有效量的拟肽大环化合物或治疗等效量的其药学上可接受的盐的药物组合,其中该拟肽大环化合物与MDM2和/或MDMX蛋白结合。

18. 如实施方案1-17中任一项所述的方法,其中所述拟肽大环化合物破坏p53与MDM2和MDMX之间的相互作用。

19. 如实施方案1-18中任一项所述的方法,其包括在施用所述药物组合之前确定所述实体瘤中缺乏所述p53灭活突变。

20. 如实施方案19所述的方法,其中所述确定缺乏p53灭活突变包括确认所述实体瘤中存在野生型p53。

21. 如实施方案1-18中任一项所述的方法,其包括确定所述实体瘤中存在p53功能获得突变。

22. 如实施方案2-18中任一项所述的方法,其包括确定所述实体瘤中存在p53的灭活突变。

23. 如实施方案2-18中任一项所述的方法,其包括确定所述实体瘤中存在p53的拷贝丢失突变。

24. 如实施方案2-18中任一项所述的方法,其包括确定所述实体瘤中存在P53的功能部分丧失突变。

25. 如实施方案1-24中任一项所述的方法,其进一步包括在施用所述拟肽大环化合物之前确认所述实体瘤中缺乏p53灭活突变。

26. 如实施方案25所述的方法,其中所述确认缺乏p53灭活突变包括确认所述实体瘤中存在野生型p53。

27. 如实施方案1-18中任一项所述的方法,其包括确认所述实体瘤中存在p53功能获得突变。

28. 如实施方案2-18中任一项所述的方法,其包括确认所述实体瘤中存在p53的灭活

突变。

29. 如实施方案2-18中任一项所述的方法,其包括确认所述实体瘤 中存在p53的拷贝丢失突变。

30. 如实施方案2-18中任一项所述的方法,其包括确认所述实体瘤 中存在P53的功能部分丧失突变。

31. 如实施方案19-30中任一项所述的方法,其中所述确定或确认 在施用所述药物组合物之前1-15个月内进行。

32. 如实施方案19-30中任一项所述的方法,其中所述确定或确认 在施用所述药物组合物之前1-12个月内进行。

33. 如实施方案19-30中任一项所述的方法,其中所述确定或确认 在施用所述药物组合物之前1-3个月内进行。

34. 如实施方案19-30中任一项所述的方法,其中所述确定或确认 在施用所述药物组合物之前1个月内进行。

35. 如实施方案19-30中任一项所述的方法,其中所述确定或确认 在施用所述药物组合物之前21天内进行。

36. 如实施方案19-30中任一项所述的方法,其中所述确定或确认 在施用所述药物组合物之前最多约1年内进行。

37. 如实施方案19-30中任一项所述的方法,其中所述确定或确认 在施用所述药物组合物之前最多约2年内进行。

38. 如实施方案19-30中任一项所述的方法,其中所述确定或确认 在施用所述药物组合物之前最多约3年内进行。

39. 如前述实施方案中任一项所述的方法,其中所述治疗导致所述 人类受试者中p53途径的重新激活、肿瘤细胞增殖减少、p53蛋白增加、p21增加和/或凋亡增加。

40. 如前述实施方案中任一项所述的方法,其中所述药物组合物的 剂量每周施用两次或三次。

41. 如实施方案1-39中任一项所述的方法,其中所述药物组合物的 剂量每周施用两次或更多次。

42. 如实施方案1-39中任一项所述的方法,其中所述药物组合物的 剂量每2或3周施用一次。

43. 如实施方案1-39中任一项所述的方法,其中所述药物组合物的 剂量每1或2周施用一次。

44. 如实施方案1-39中任一项所述的方法,其中所述药物组合物的 剂量在28天周期的第1天、第8天和第15天施用。

45. 如实施方案1-39中任一项所述的方法,其中所述药物组合物的 剂量在21天周期的第1天、第4天、第8天和第11天施用。

46. 如前述实施方案中任一项所述的方法,其中所施用的拟肽大环 化合物或其药学上可接受的盐的量为每千克人类受试者体重约0.5-20 mg。

47. 如前述实施方案中任一项所述的方法,其中所施用的拟肽大环 化合物或其药学上可接受的盐的量为每千克人类受试者体重约0.5-10 mg。

48. 如实施方案1-45中任一项所述的方法,其中所施用的拟肽大环 化合物或其药学上可接受的盐的量为每千克人类受试者体重约0.04mg、0.08mg、0.16mg、0.32mg、0.64mg、1.28mg、3.56mg、7.12mg或14.24 mg。

49. 如实施方案1-45中任一项所述的方法,其中所施用的拟肽大环 化合物或其药学上可接受的盐的量为每千克人类受试者体重约1.25mg、2.5mg、5.0mg 10.0mg或20.0mg,并且所述药物组合物每周施用两次。

50. 如实施方案1-45中任一项所述的方法,其中所施用的拟肽大环 化合物或其药学上可接受的盐的量为每千克人类受试者体重约1.25mg、2.5mg、5.0mg或10.0mg,并且所述药物组合物每周施用两次。

51. 如实施方案1-45中任一项所述的方法,其中所施用的拟肽大环 化合物或其药学上可接受的盐的量为每千克人类受试者体重约0.32mg、0.64mg、1.25mg、2.5或5.0mg,并且所述药物组合物每周施用两次。

52. 如实施方案1-39中任一项所述的方法,其中所施用的拟肽大环 化合物或其药学上可接受的盐为每千克人类受试者体重约0.32mg、0.64 mg、1.25mg 2.5或5.0mg,并且所述药物组合物在21天周期的第1天、第4天、第8天和第11天施用。

53. 如实施方案1-39中任一项所述的方法,其中所施用的拟肽大环 化合物或其药学上可接受的盐为每千克人类受试者体重约0.16mg、0.32 mg、0.64mg、1.25mg、2.5、5.0mg或10mg,并且所述药物组合物在 28天周期的第1天、第8天和第15天施用。

54. 如实施方案1-39中任一项所述的方法,其中所施用的拟肽大环 化合物或其药学上可接受的盐的量为每千克人类受试者体重约1.25mg、2.5mg、5.0mg 10.0mg或20.0mg,并且所述药物组合物每周施用一次。

55. 如实施方案1-39中任一项所述的方法,其中所施用的拟肽大环 化合物或其药学上可接受的盐的量为每千克人类受试者体重约1.25mg、2.5mg、5.0mg或10.0mg,并且所述药物组合物每周施用两次。

56. 如实施方案1-39中任一项所述的方法,其中所施用的拟肽大环 化合物或其药学上可接受的盐的量为每千克人类受试者体重约1.25mg、2.5mg、5.0mg 10.0mg或20.0mg,并且所述药物组合物每天施用一次,在七天期间施用三次、五次或七次。

57. 如实施方案39所述的方法,其中所述药物组合物每天静脉内施用一次,在七天期间施用七次。

58. 如实施方案1-45中任一项所述的方法,其中所施用的拟肽大环 化合物或其药学上可接受的盐的量为每千克人类受试者体重约1.25mg、2.5mg、5.0mg或10.0mg,并且所述药物组合物每天施用一次,在七天 期间施用三次、五次或七次。

59. 如实施方案1-812中任一项所述的方法,其中所述药物组合物 每天静脉内施用一次,七天期间施用七次。

60. 如前述实施方案中任一项所述的方法,其中所述药物组合物在 0.25h、0.5h、1h、2h、3h、4h、5h、6h、7h、8h、9h、10h、11h 或12h的时间内施用。

61. 如前述实施方案中任一项所述的方法,其中所述药物组合物在 0.25-2.0h的时间内施用。

62. 如前述实施方案中任一项所述的方法,其中所述药物组合物在 1h的时间内逐渐施

用。

63. 如前述实施方案中任一项所述的方法,其中所述药物组合物在 2h 的时间内逐渐施用。

64. 如前述实施方案中任一项所述的方法,其中所述治疗导致肿瘤 体积在治疗开始后 1 个月的时间内减小约 95%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10% 或 5%。

65. 如实施方案 1-63 中任一项所述的方法,其中所述治疗导致肿瘤 体积在治疗开始后 1 个月的时间内减小至少 60%、65%、70%、75%、80%、85%、90% 或 95%。

66. 如前述实施方案中任一项所述的方法,其中所述治疗导致肿瘤 体积在治疗开始后 1 年的时间内减小约 95%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10% 或 5%。

67. 如前述实施方案中任一项所述的方法,其中所述治疗导致肿瘤 体积在治疗开始后 1 年的时间内减小至少 60%、65%、70%、75%、80%、85%、90% 或 95%。

68. 如前述实施方案中任一项所述的方法,其中所述治疗导致肿瘤 体积在治疗开始后 6 个月的时间内减小约 95%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10% 或 5%。

69. 如前述实施方案中任一项所述的方法,其中所述治疗导致肿瘤 体积在治疗开始后 6 个月的时间内减小至少 60%、65%、70%、75%、80%、85%、90% 或 95%。

70. 如前述实施方案中任一项所述的方法,其中所述治疗导致肿瘤 体积在治疗开始后 3 个月的时间段内减小约 95%、90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10% 或 5%。

71. 如前述实施方案中任一项所述的方法,其中所述治疗导致肿瘤 体积在治疗开始后 3 个月的时间段内减小至少 60%、65%、70%、75%、80%、85%、90% 或 95%。

72. 如前述实施方案中任一项所述的方法,其中所述实体瘤是稳定的疾病。

73. 如前述实施方案中任一项所述的方法,其中所述治疗导致所述 人类受试者的存活时间与如果所述人类受试者未用所述拟肽大环化合物 进行治疗而预期的人类受试者存活时间相比增加。

74. 如实施方案 73 所述的方法,其中所述人类受试者的存活时间的 增加为至少 30 天。

75. 如实施方案 73 所述的方法,其中所述人类受试者的存活时间的 增加为至少 3 个月。

76. 如实施方案 73 所述的方法,其中所述人类受试者的存活时间的 增加为至少 6 个月。

77. 如实施方案 73 所述的方法,其中所述人类受试者的存活时间的 增加为至少 1 年。

78. 如前述实施方案中任一项所述的方法,其中所述拟肽大环化合物的体内循环半衰期为约 1h、2h、3h、4h、5h、6h、7h、8h、9h、10h 或 12h。

79. 如前述实施方案中任一项所述的方法,其中所述拟肽大环化合物的体内循环半衰期为约 4h。

80. 如实施方案 1-78 中任一项所述的方法,其中所述拟肽大环化合物的体内循环半衰期为约 6h。

81. 如前述实施方案中任一项所述的方法,其中所述拟肽大环化合物的生物组织半衰期为约 1h、2h、3h、4h、5h、6h、7h、8h、9h、10h 或 12h。

82. 如前述实施方案中任一项所述的方法, 其中所述拟肽大环化合物的生物组织半衰期为约10h。

83. 如前述实施方案中任一项所述的方法, 其中所述人类受试者对所述实体瘤的一种或多种其他治疗而言是难治性的和/或无法忍受的。

84. 如前述实施方案中任一项所述的方法, 其中所述人类受试者已 经历至少一种不成功的既往实体瘤治疗和/或疗法。

85. 如实施方案1、4和18-84中任一项所述的方法, 其中所述实体瘤表达野生型p53蛋白。

86. 如前述实施方案中任一项所述的方法, 其中所述实体瘤选自胰腺癌、膀胱癌、结肠癌、肝癌、结直肠癌、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、黑色素瘤、神经内分泌癌、CNS癌、脑肿瘤、骨癌、皮肤癌、眼肿瘤、直肠癌、绒膜癌(胎盘的肿瘤)、肉瘤和软组织癌、睾丸癌、胆囊癌、涎腺癌、脂肪肉瘤、下颌下腺癌、GIST(肉瘤)、子宫内膜癌、平滑肌肉瘤、淋巴瘤、胸腺瘤和胆管癌。

87. 如前述实施方案中任一项所述的方法, 其中所述实体瘤选自膀胱癌、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、胃癌、胆囊癌、胆管癌、肾癌、神经母细胞瘤或神经内分泌癌。

88. 如实施方案86或87所述的方法, 其中所述眼肿瘤为脉络膜痣、脉络膜黑色素瘤、脉络膜转移、脉络膜血管瘤、脉络膜骨瘤、虹膜黑色素瘤、葡萄膜黑色素瘤、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。

89. 如实施方案1-88中任一项所述的方法, 其中所述实体瘤选自非小细胞肺癌、小细胞肺癌、结肠癌、CNS癌、黑色素瘤、卵巢癌、肾癌、前列腺癌和乳腺癌。

90. 如实施方案1-85中任一项所述的方法, 其中所述实体瘤为乳腺癌。

91. 如实施方案1-88中任一项所述的方法, 其中所述实体瘤为胆囊癌。

92. 如实施方案1-88中任一项所述的方法, 其中所述实体瘤为胆管癌。

93. 如实施方案1-85中任一项所述的方法, 其中所述实体瘤为神经内分泌癌。

94. 如实施方案1-85中任一项所述的方法, 其中所述实体瘤为骨癌。

95. 如实施方案94所述的方法, 其中所述胃癌为骨肉瘤。

96. 如前述实施方案中任一项所述的方法, 其中所述实体瘤为皮肤癌。

97. 如实施方案96所述的方法, 其中所述皮肤癌为黑色素瘤。

98. 如前述实施方案中任一项所述的方法, 其中所述实体瘤不是 HPV阳性的癌症。

99. 如实施方案98所述的方法, 其中所述实体瘤不是HPV阳性的宫颈癌、HPV阳性的肛门癌或HPV阳性的头颈癌, 如口咽癌。

100. 如前述实施方案中任一项所述的方法, 其中静脉内施用所述药物组合物。

101. 如前述实施方案中任一项所述的方法, 其进一步包括除所述药物组合物之外还向所述人类受试者施用治疗有效量的至少一种额外的治疗剂和/或提供治疗程序。

102. 如前述实施方案中任一项所述的方法, 其中所述人类受试者对所述治疗表现出完全响应。

103. 如前述实施方案中任一项所述的方法, 其中所述人类受试者对所述治疗表现出

部分响应。

104. 如前述实施方案中任一项所述的方法, 其中所述实体瘤是进行性疾病。

105. 如前述实施方案中任一项所述的方法, 其中所述实体瘤是稳定的疾病。

106. 如前述实施方案中任一项所述的方法, 其进一步包括确定所施用的药物组合物的临床活性。

107. 如实施方案106所述的方法, 其中所述临床活性通过选自计算机断层扫描(CT)、磁共振成像(MRI)和骨扫描的成像方法来确定。

108. 如前述实施方案中任一项所述的方法, 其进一步包括在一个或多个特定时间点从所述人类受试者获得生物样品, 并用分析程序分析该生物样品。

109. 如实施方案108所述的方法, 其中所述分析程序可选自血液化学分析、染色体易位分析、针吸活检、组织活检、荧光原位杂交、实验室生物标记分析、免疫组织化学染色法、流式细胞术, 或它们的组合。

110. 如实施方案108所述的方法, 其进一步包括将所述分析程序的结果制表和/或作图。

111. 如实施方案108所述的方法, 其中所述一个或多个特定时间点包括在向所述人类受试者施用所述药物组合物之前的时间点。

112. 如实施方案108所述的方法, 其中所述一个或多个特定时间点包括在向所述人类受试者施用所述药物组合物之后的时间点。

113. 如实施方案108所述的方法, 其中所述一个或多个特定时间点可包括在向所述人类受试者施用所述药物组合物之前的时间点和之后的时间点。

114. 如实施方案113所述的方法, 其进一步包括比较在向所述人类受试者施用所述药物组合物之前和之后收集的生物样品。

115. 如实施方案108所述的方法, 其中所述一个或多个特定时间点包括在向所述人类受试者施用所述药物组合物之前和之后的多个时间点。

116. 如实施方案115所述的方法, 其进一步包括比较在所述多个时间点收集的生物样品。

117. 如实施方案108所述的方法, 其中所述生物样品用于生物标记评估。

118. 如实施方案108所述的方法, 其中所述生物样品用于药代动力学评价。

119. 如实施方案118所述的方法, 其中所述药代动力学评价包括研究所述生物样品中的拟肽大环化合物、其药学上可接受的盐和/或代谢物在特定时间点的水平。

120. 如实施方案119所述的方法, 其中所述生物样品是血液样品。

121. 如实施方案108所述的方法, 其中所述生物样品用于药效学评价。

122. 如实施方案121所述的方法, 其中所述药效学评价包括研究所述生物样品中的p53、MDM2、MDMX、p21和/或胱天蛋白酶在特定时间点的水平。

123. 如实施方案122所述的方法, 其中所述生物样品是肿瘤样本。

124. 如实施方案108所述的方法, 其中所述生物样品用于免疫原性测定。

125. 如前述实施方案中任一项所述的方法, 其进一步包括在向所述人类受试者施用所述药物组合物之前在所述人类受试者中选择并且/或者鉴别至少一处目标病变。

126. 如实施方案125所述的方法, 其进一步包括测量在一个或多个特定时间点的累积

直径,其中该累积直径是所述至少一处目标病变在所述特定时间点的直径之和。

127.如实施方案126所述的方法,其进一步包括测量基线直径总和,其中该基线直径总和是在向所述人类受试者施用所述药物组合物之前,所述至少一处目标病变的直径之和。

128.如实施方案125所述的方法,其中所述治疗导致所述至少一处目标病变消失。

129.如前述实施方案中任一项所述的方法,其中在所述治疗后,所述人类受试者的所有病态淋巴结都表现出短轴缩短至小于10mm。

130.如实施方案127所述的方法,其中所述一个或多个特定时间点包括所述治疗之后的时间点。

131.如实施方案130所述的方法,其中在所述治疗后的时间点的累积直径比所述基线直径总和至少小30%。

132.如实施方案127所述的方法,其中以所述基线直径总和为参考,所述治疗既不导致所述一个或多个特定时间点的累积直径充分增加,也不导致其充分降低。

133.如前述实施方案中任一项所述的方法,其中所述拟肽大环化合物或其药学上可接受的盐不是细胞色素p450同种型的抑制剂。

134.如前述实施方案中任一项所述的方法,其中所述治疗基本不导致剂量限制的血小板减少症。

135.如前述实施方案中任一项所述的方法,其中所述治疗基本不在正常造血器官和/或组织中产生不良反应。

136.如前述实施方案中任一项所述的方法,其中所述治疗基本不在所述人类受试者中产生与所述药物组合物施用有关的不良事件。

137.如前述实施方案中任一项所述的方法,其中所述治疗基本不在所述人类受试者中产生与所述拟肽大环化合物施用有关的严重不良事件。

138.如前述实施方案中任一项所述的方法,其中通过对编码p53蛋白的核酸进行DNA测序来确定所述实体瘤中缺乏p53灭活突变。

139.如前述实施方案中任一项所述的方法,其中通过基于RNA阵列的检测来确定所述实体瘤中缺乏p53灭活突变。

140.如前述实施方案中任一项所述的方法,其中通过RNA分析来确定所述实体瘤中缺乏p53灭活突变。

141.如前述实施方案中任一项所述的方法,其中通过聚合酶链反应(PCR)来确定所述实体瘤中缺乏p53灭活突变。

142.如前述实施方案中任一项所述的方法,其中所述p53灭活突变包括在所述蛋白质的DNA结合域中的突变。

143.如前述实施方案中任一项所述的方法,其中所述p53灭活突变包括错义突变。

144.如前述实施方案中任一项所述的方法,其中所述p53灭活突变为显性灭活突变。

145.如前述实施方案中任一项所述的方法,其中所述p53灭活突变包括表1a中所示的一个或多个突变。

146.如前述实施方案中任一项所述的方法,其中所述p53灭活突变包括选自V173L、R175H、G245C、R248W、R249S和R273H的一个或多个突变。

147. 如实施方案5所述的方法, 其中所述p53功能获得突变包括表 1b中所示的一个或多个突变。

148. 一种治疗人类受试者的实体瘤的方法, 其中该方法包括在28 天周期的第1天、第8天和第15天向所述人类受试者施用每千克人类受 试者体重0.5-20mg的拟肽大环化合物或其药学上可接受的盐。

149. 如实施方案148所述的方法, 其中所述实体瘤被确定为缺乏 p53灭活突变。

150. 如实施方案148或149所述的方法, 其中向所述人类受试者施 用每千克人类受试者体重0.5-10mg的所述拟肽大环化合物或其药学上 可接受的盐。

151. 如实施方案148-150中任一项所述的方法, 其中在第8天和/ 或第15天输入的所述拟肽大环化合物的量大于在第1天输入的所述拟肽 大环化合物的量。

152. 如实施方案148-150中任一项所述的方法, 其中在第8天和/ 或第15天输入的所述拟肽大环化合物的量等于在第1天输入的所述拟肽 大环化合物的量。

153. 如实施方案148-150中任一项所述的方法, 其中在第1天和/ 或第8天输入的所述拟肽大环化合物的量大于在第15天输入的所述拟肽 大环化合物的量。

154. 如实施方案148-150中任一项所述的方法, 其中在第1天、第 8天和第15天施用等量的所述拟肽大环化合物。

155. 如实施方案148-154中任一项所述的方法, 其中所述28天周 期重复2次或3次。

156. 一种治疗人类受试者的实体瘤的方法, 其中该方法包括在21 天周期的第1天、第4天、第8天和第11天向所述人类受试者施用每千 克人类受试者体重0.32-10mg的拟肽大环化合物或其药学上可接受的盐。

157. 如实施方案156所述的方法, 其中所述实体瘤被确定为缺乏 p53灭活突变。

158. 如实施方案156或157中任一项所述的方法, 其中在21天周 期的第1天、第4天、第8天和第11天施用每千克人类受试者体重0.32 mg的所述拟肽大环化合物或药学上可接受的盐。

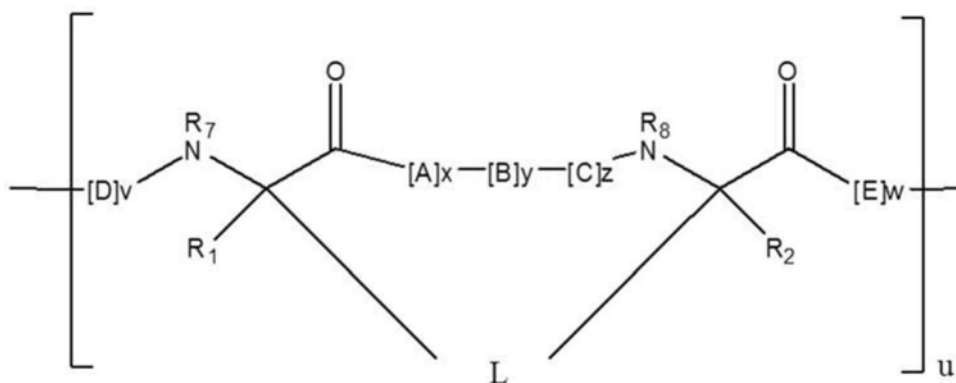
159. 如实施方案156或157所述的方法, 其中在21天周期的第1 天、第4天、第8天和第11天施用每千克人类受试者体重0.64mg的所 述拟肽大环化合物或药学上可接受的盐。

160. 如实施方案156或157所述的方法, 其中在21天周期的第1 天、第4天、第8天和第11天施用每千克人类受试者体重1.25mg的所 述拟肽大环化合物或药学上可接受的盐。

161. 如实施方案156或157中任一项所述的方法, 其中在21天周 期的第1天、第4天、第8天和第11天施用每千克人类受试者体重2.5mg 的所述拟肽大环化合物或药学上可接受的盐。

162. 如实施方案156或157所述的方法, 其中在21天周期的第1 天、第4天、第8天和第11天施用每千克人类受试者体重5.0mg的所 述拟肽大环化合物或药学上可接受的盐。

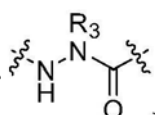
163. 如前述实施方案中任一项所述的方法, 其中所述拟肽大环化 合物包含与表3、表3a、表3b和表3c任一个中的氨基酸序列具有至少约 60%、70%、80%、90%或95%同一性的氨基酸序列, 其中该拟肽大环化 合物具有下式:



式(I)

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R₁和R₂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，它们为未取代的或被卤素-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R₃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、环芳基或杂环芳基，它们任选地被R₅取代；

每个L和L' 独立地为式-L₁-L₂-的大环形成连接体；

每个L₁、L₂和L₃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 $[-R_4-K-R_4-]_n$ ，它们各自任选地被R₅取代；

每个R₄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、SO₂、CO、CO₂或CONR₃；

每个R₅独立地为卤素、烷基、-OR₆、-N(R₆)₂、-SR₆、-SOR₆、-SO₂R₆、-CO₂R₆、荧光部分、放射性同位素或治疗剂；

每个R₆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R₇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、环芳基或杂环芳基，它们任选地被R₅取代，或是与D残基形成的环状结构的一部分；

每个R₈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、环芳基或杂环芳基，它们任选地被R₅取代，或是与E残基形成的环状结构的一部分；

每个v独立地为整数；

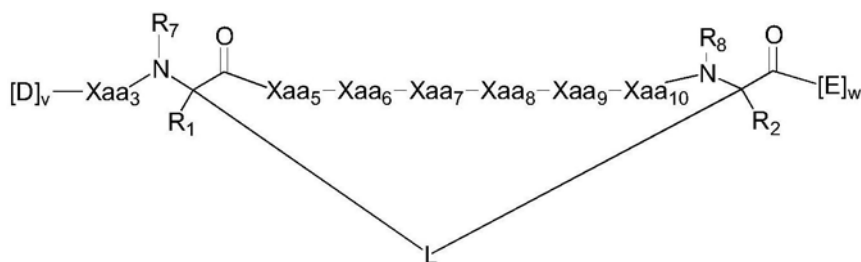
每个w独立地为3-1000的整数；

u为1-10的整数；

每个x、y和z独立地为0-10的整数；且

每个n独立地为1-5的整数。

164. 如前述实施方案中任一项所述的方法, 其中所述拟肽大环化合物具有下式:



其中:

Xaa3、Xaa5、Xaa6、Xaa7、Xaa8、Xaa9和Xaa10中的每一个单独地为氨基酸, 其中Xaa3、Xaa5、Xaa6、Xaa7、Xaa8、Xaa9和Xaa10中的至少三个是与序列Phe₃-X₄-His₅-Tyr₆-Trp₇-Ala₈-Gln₉-Leu₁₀-X₁₁-Ser₁₂ (SEQ ID NO:8) 或Phe₃-X₄-Glu₅-Tyr₆-Trp₇-Ala₈-Gln₉-Leu₁₀/Cba₁₀-X₁₁-Ala₁₂ (SEQ ID NO:9) 的相应位置处的氨基酸相同的氨基酸, 其中每个X₄和X₁₁独立地为氨基酸;

每个D和E独立地为氨基酸;

每个R₁和R₂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, 它们为未取代的或被卤素-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L或L' 独立地为大环形成连接体

每个R₅独立地为卤素、烷基、-OR₆、-N(R₆)₂、-SR₆、-SOR₆、-SO₂R₆、-CO₂R₆、荧光部分、放射性同位素或治疗剂;

每个R₆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R₇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、环芳基或杂环芳基, 它们任选地被R₅取代, 或是与D残基形成的环状结构的一部分;

每个R₈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、环芳基或杂环芳基, 它们任选地被R₅取代, 或是与E残基形成的环状结构的一部分;

v为1-1000的整数;

w为0-1000的整数。

165. 如实施方案163或163所述的方法, 其中所述大环形成连接体中的至少一个具有式-L₁-L₂-, 其中

每个L₁和L₂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[-R₄-K-R₄-]_n, 它们各自任选地被R₅取代;

每个R₄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、SO₂、CO、CO₂或CONR₃;

每个R₃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、环芳基或杂环芳基, 它们任选地被R₅取代; 且

每个n独立地为1-5的整数。

166. 如实施方案163所述的方法, 其中w为3-1000, 例如3-500、3-200、3-100、3-50、3-

30、3-20或3-10的整数。

167. 如实施方案163所述的方法, 其中Xaa₅为Glu或其氨基酸类似物。

168. 如实施方案163-167中任一项所述的方法, 其中每个E独立地为选自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。

169. 如实施方案163-167中任一项所述的方法, 其中每个E独立地为Ala (丙氨酸)、Ser (丝氨酸) 或其类似物。

170. 如实施方案163-169中任一项所述的方法, 其中[D]_v为-Leu₁-Thr₂。

171. 如实施方案163-170中任一项所述的方法, 其中w为1、2、3、4、5、6、7、8、9或10。

172. 如实施方案163-170中任一项所述的方法, 其中w为3-10。

173. 如实施方案163-170中任一项所述的方法, 其中w为3-6。

174. 如实施方案163-170中任一项所述的方法, 其中w为6-10。

175. 如实施方案163-170中任一项所述的方法, 其中w为6。

176. 如实施方案163-175中任一项所述的方法, 其中v为1-10。

177. 如实施方案163-175中任一项所述的方法, 其中v为2-10。

178. 如实施方案163-175中任一项所述的方法, 其中v为2-5。

179. 如实施方案163-175中任一项所述的方法, 其中v为2。

180. 如实施方案163或164所述的方法, 其中每个L₁和L₂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、亚芳基或亚杂环芳基, 它们各自任选地被R₅取代。

181. 如实施方案163或164所述的方法, 其中L₁和L₂独立地为亚烷基或亚烯基。

182. 如实施方案163或164所述的方法, 其中L为亚烷基、亚烯基或亚炔基。

183. 如实施方案163或164所述的方法, 其中L为亚烷基。

184. 如实施方案163或164所述的方法, 其中L为C₃-C₁₆亚烷基。

185. 如实施方案163或164所述的方法, 其中L为C₁₀-C₁₄亚烷基。

186. 如实施方案163中任一项所述的方法, 其中每个R₁和R₂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, 它们为未取代的或被卤素取代。

187. 如实施方案163中任一项所述的方法, 其中R₁和R₂为H。

188. 如实施方案163中任一项所述的方法, 其中每个R₁和R₂独立地为烷基。

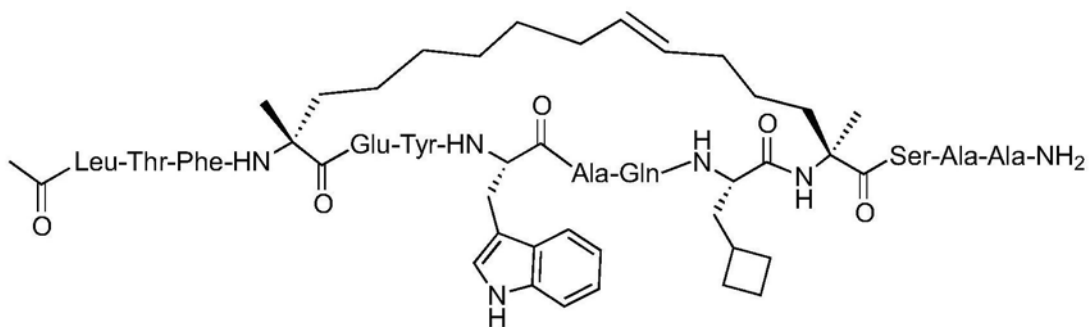
189. 如实施方案163中任一项所述的方法, 其中R₁和R₂为甲基。

190. 如实施方案163所述的方法, 其中x+y+z=6。

191. 如实施方案163所述的方法, 其中u为1。

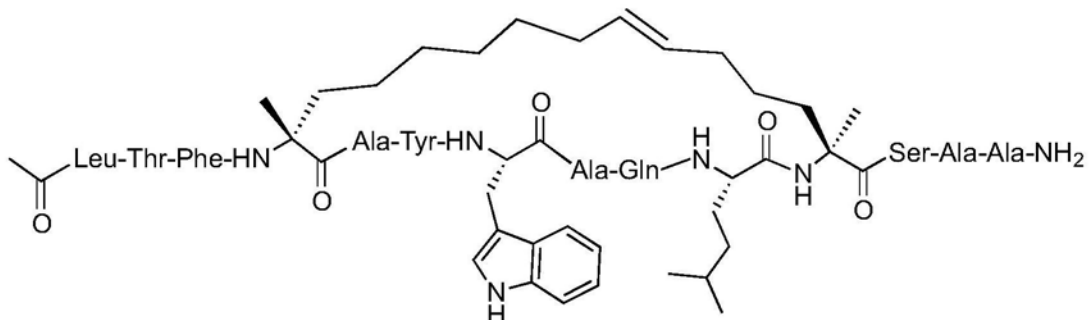
192. 如实施方案163-191中任一项所述的方法, 所述拟肽大环化合物包含至少一个为氨基酸类似物的氨基酸。

193. 如实施方案163或164所述的方法, 其中所述拟肽大环化合物具有下式:



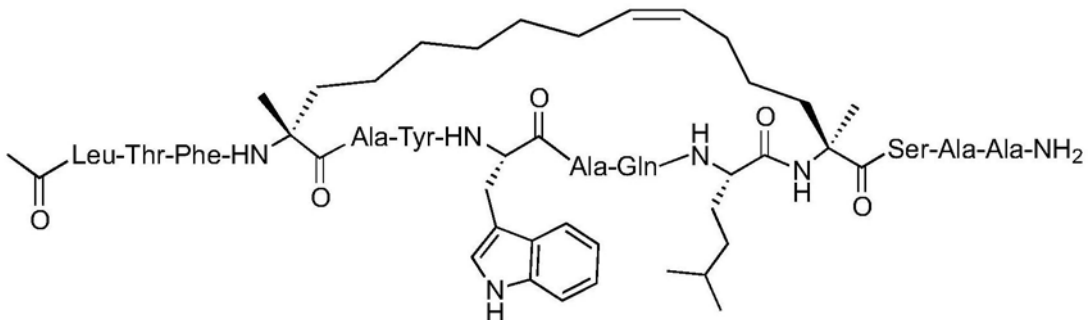
(SEQ ID NO:163) 或其药学上可接受的盐。

194. 如实施方案163或164所述的方法, 其中所述拟肽大环化合物 具有下式:



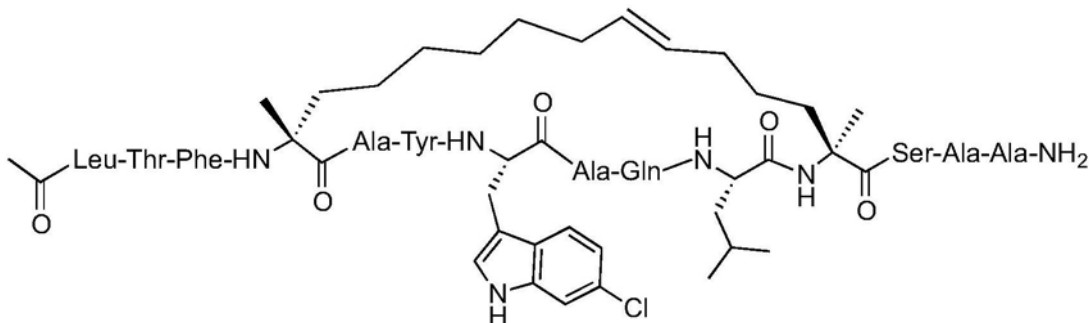
(SEQ ID NO:124) 或其药学上可接受的盐。

195. 如实施方案163或164所述的方法, 其中所述拟肽大环化合物 具有下式:



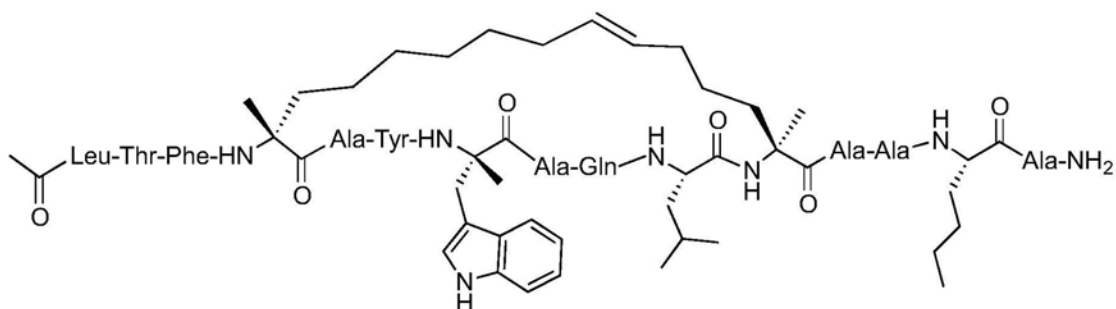
(SEQ ID NO:123) 或其药学上可接受的盐。

196. 如实施方案163或164所述的方法, 其中所述拟肽大环化合物 具有下式:



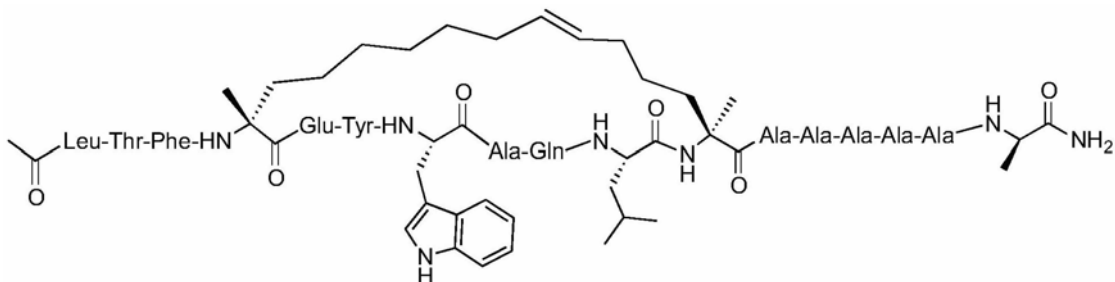
(SEQ ID NO:108) 或其药学上可接受的盐。

197. 如实施方案163或164所述的方法, 其中所述拟肽大环化合物 具有下式:



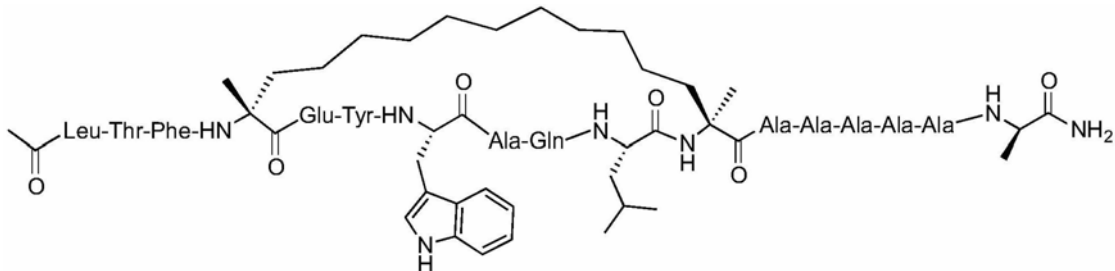
(SEQ ID NO:397) 或其药学上可接受的盐。

198. 如实施方案163或164所述的方法, 其中所述拟肽大环化合物 具有下式:



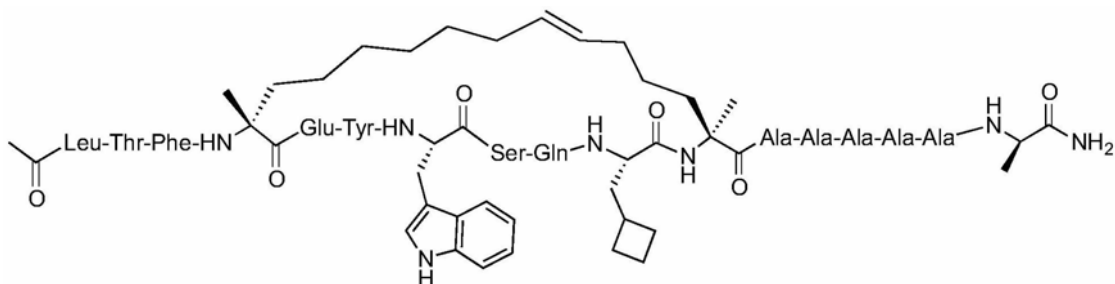
(SEQ ID NO:340) 或其药学上可接受的盐。

199. 如实施方案163或164所述的方法, 其中所述拟肽大环化合物 具有下式:



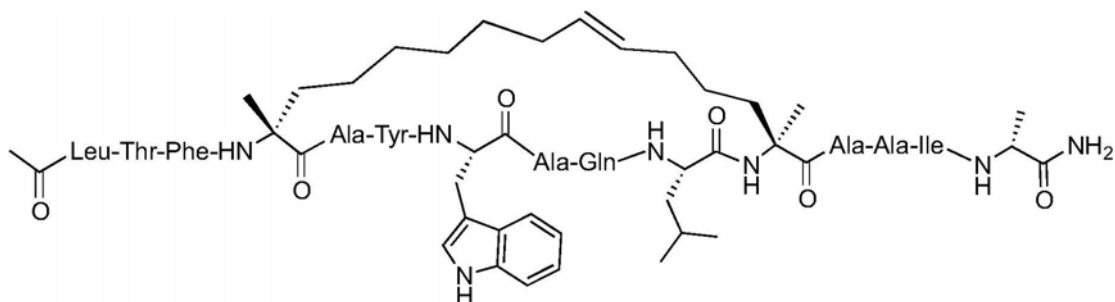
(SEQ ID NO:454) 或其药学上可接受的盐。

200. 如实施方案163或164所述的方法, 其中所述拟肽大环化合物 具有下式:



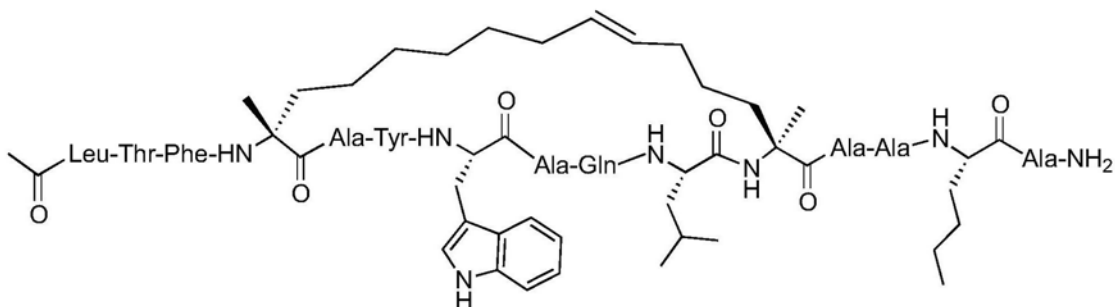
(SEQ ID NO:360) 或其药学上可接受的盐。

201. 如实施方案163或164所述的方法, 其中所述拟肽大环化合物 具有下式:



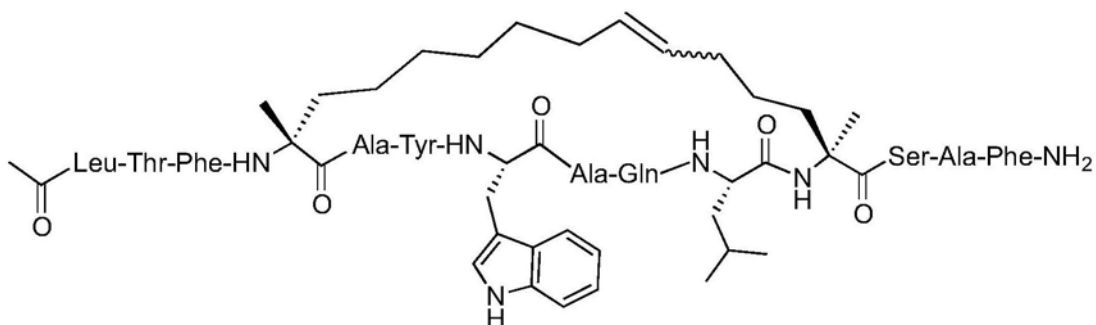
(SEQ ID NO:80) 或其药学上可接受的盐。

202. 如实施方案163或164所述的方法, 其中所述拟肽大环化合物 具有下式:



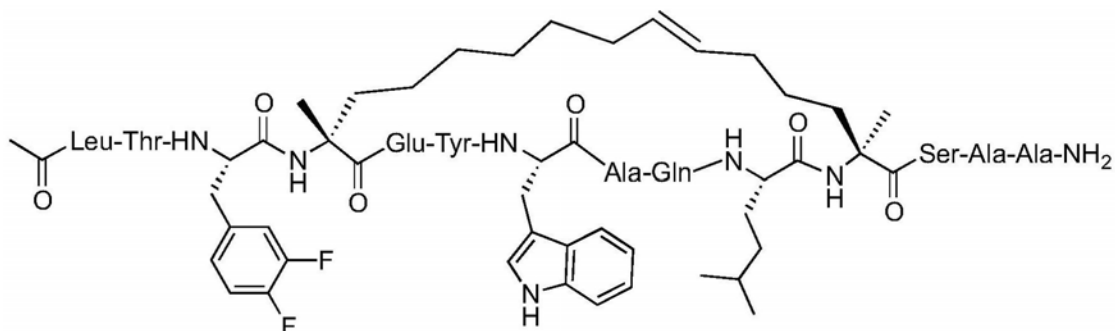
(SEQ ID NO:78) 或其药学上可接受的盐。

203. 如实施方案163或164所述的方法, 其中所述拟肽大环化合物 具有下式:



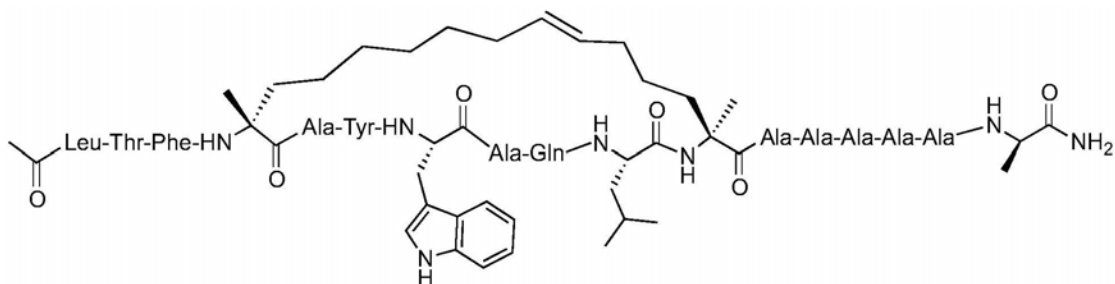
(SEQ ID NO:16) 或其药学上可接受的盐。

204. 如实施方案163或164所述的方法, 其中所述拟肽大环化合物 具有下式:



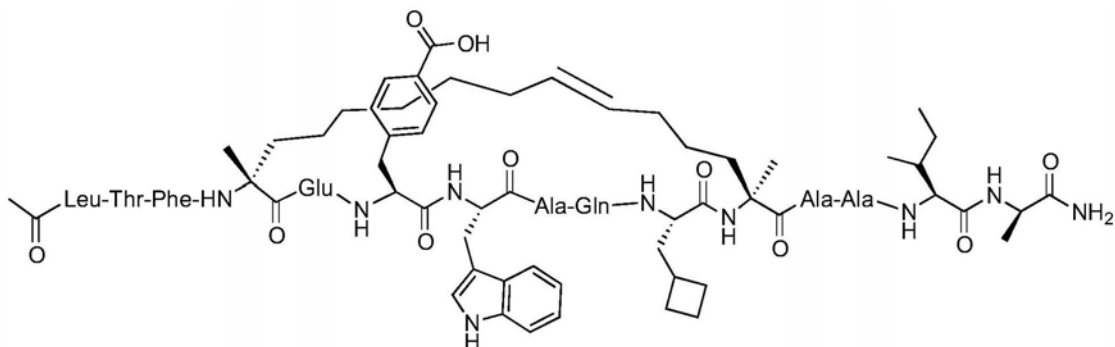
(SEQ ID NO:169) 或其药学上可接受的盐。

205. 如实施方案163或164所述的方法, 其中所述拟肽大环化合物 具有下式:



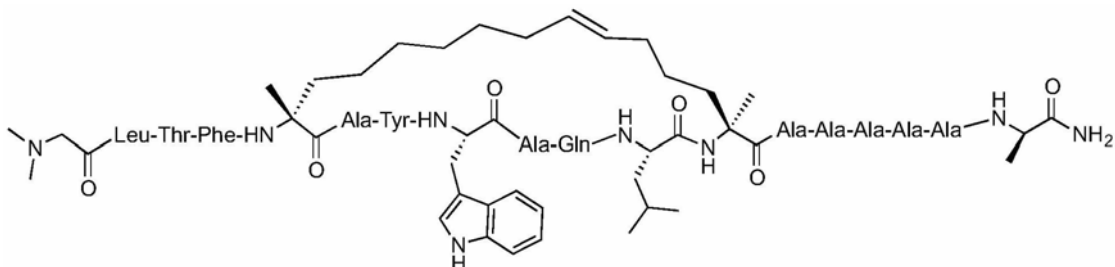
(SEQ ID NO: 324) 或其药学上可接受的盐。

206. 如实施方案163或164所述的方法, 其中所述拟肽大环化合物 具有下式:



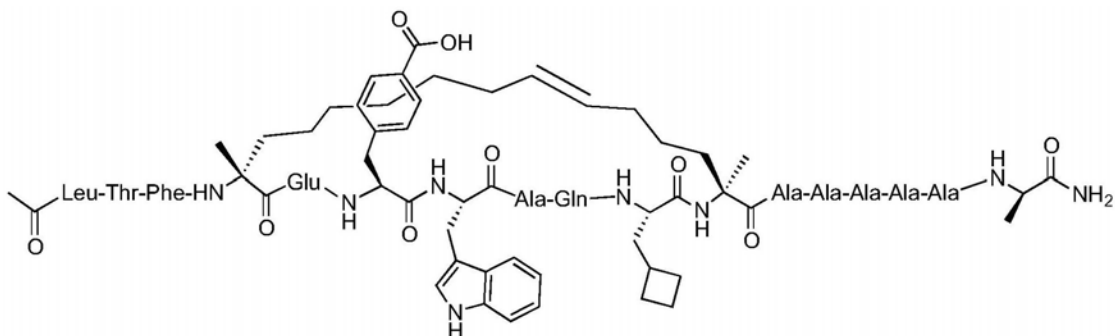
(SEQ ID NO: 258) 或其药学上可接受的盐。

207. 如实施方案163或164所述的方法, 其中所述拟肽大环化合物 具有下式:



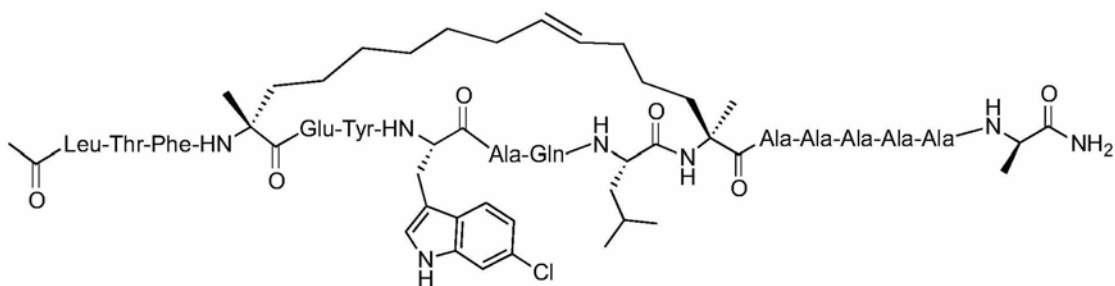
(SEQ ID NO: 446) 或其药学上可接受的盐。

208. 如实施方案163或164所述的方法, 其中所述拟肽大环化合物 具有下式:



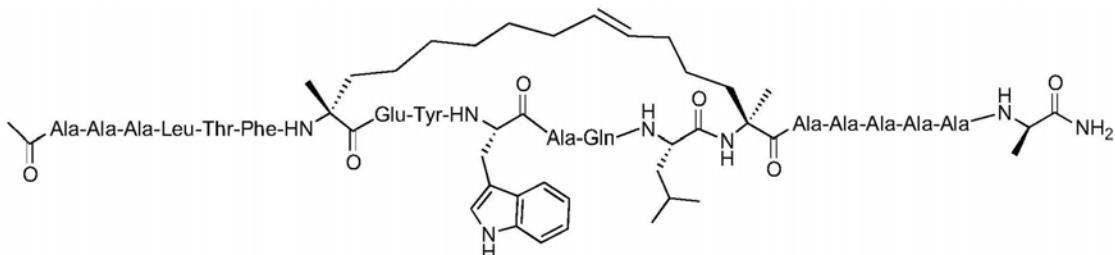
(SEQ ID NO: 358) 或其药学上可接受的盐。

209. 如实施方案163或164所述的方法, 其中所述拟肽大环化合物 具有下式:



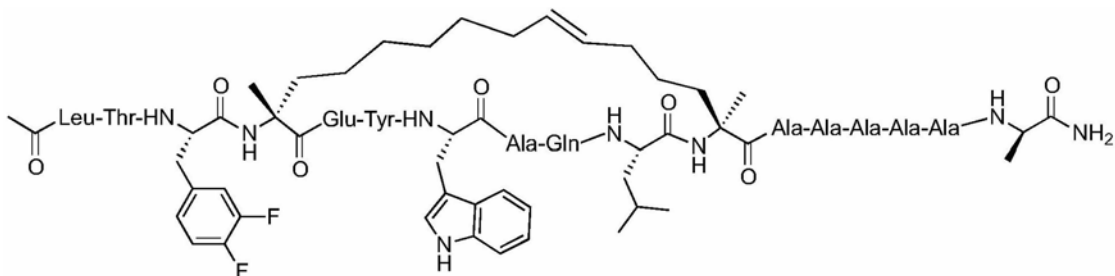
(SEQ ID NO: 464) 或其药学上可接受的盐。

210. 如实施方案163或164所述的方法, 其中所述拟肽大环化合物 具有下式:



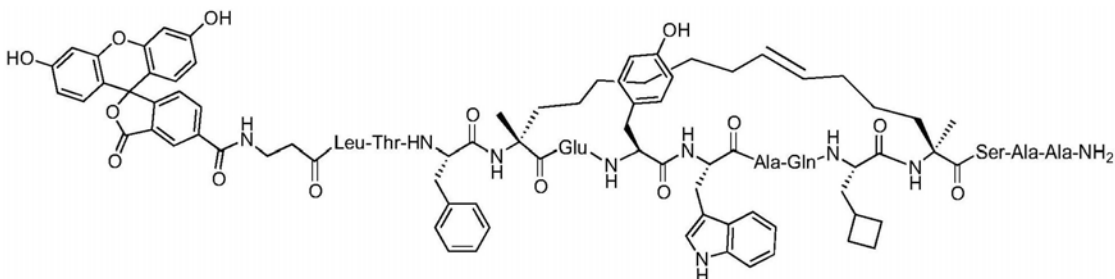
(SEQ ID NO: 466) 或其药学上可接受的盐。

211. 如实施方案163或164所述的方法, 其中所述拟肽大环化合物 具有下式:



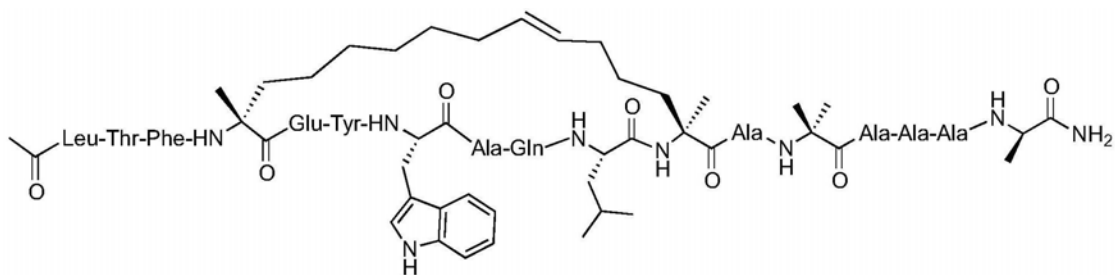
(SEQ ID NO: 467) 或其药学上可接受的盐。

212. 如实施方案163或164所述的方法, 其中所述拟肽大环化合物 具有下式:



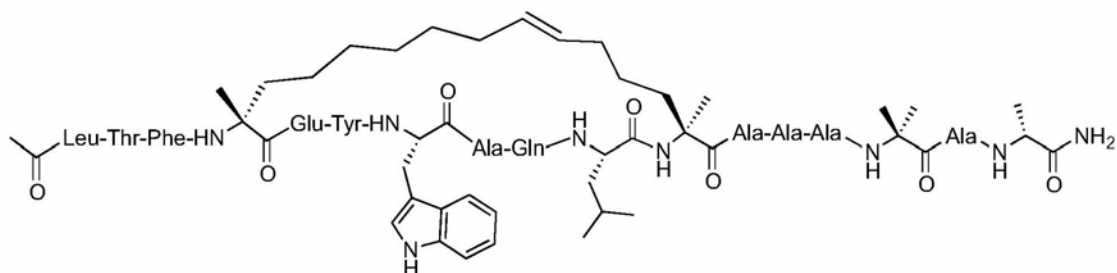
(SEQ ID NO: 376) 或其药学上可接受的盐。

213. 如实施方案163或164所述的方法, 其中所述拟肽大环化合物 具有下式:



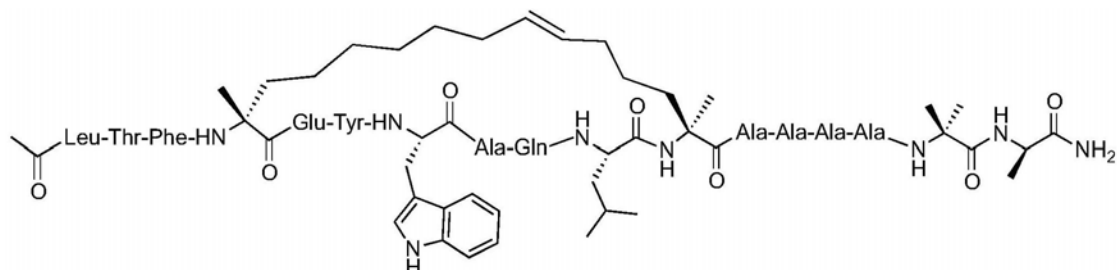
(SEQ ID NO:471) 或其药学上可接受的盐。

214. 如实施方案163或164所述的方法, 其中所述拟肽大环化合物 具有下式:



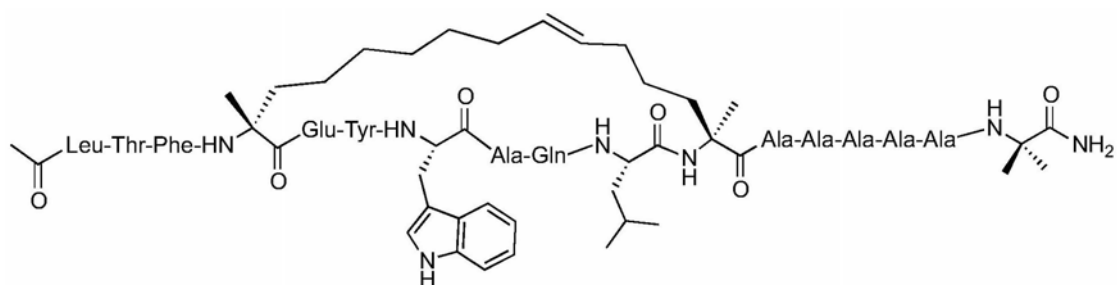
(SEQ ID NO:473) 或其药学上可接受的盐。

215. 如实施方案163或164所述的方法, 其中所述拟肽大环化合物 具有下式:



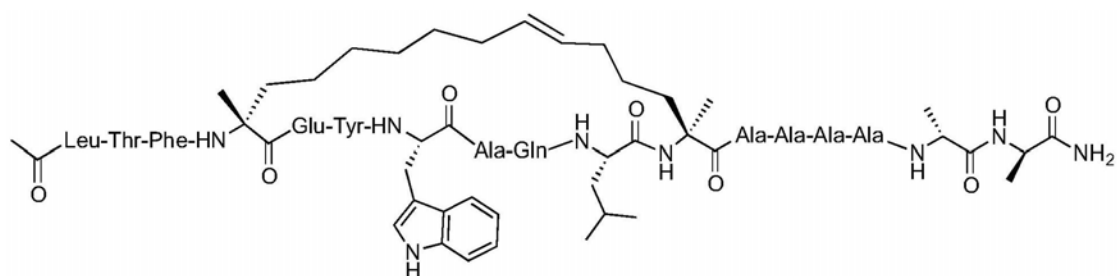
(SEQ ID NO:475) 或其药学上可接受的盐。

216. 如实施方案163或164所述的方法, 其中所述拟肽大环化合物 具有下式:



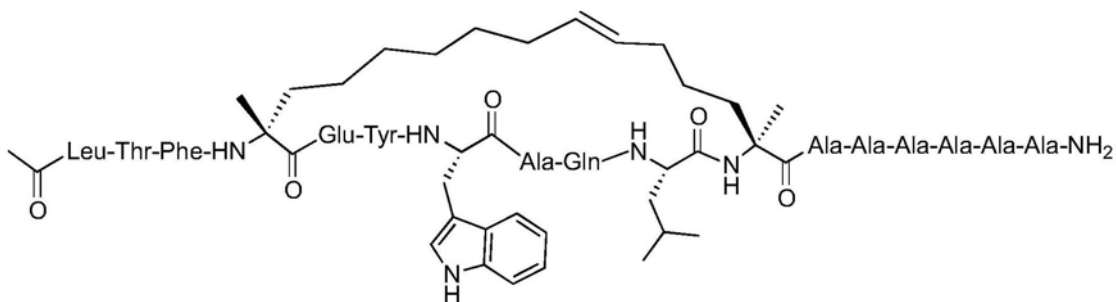
(SEQ ID NO:476) 或其药学上可接受的盐。

217. 如实施方案163或164所述的方法, 其中所述拟肽大环化合物 具有下式:



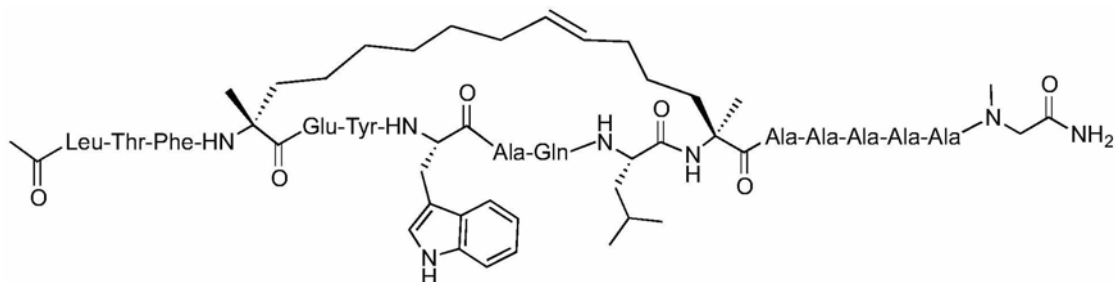
(SEQ ID NO:481) 或其药学上可接受的盐。

218. 如实施方案163或164所述的方法, 其中所述拟肽大环化合物 具有下式:



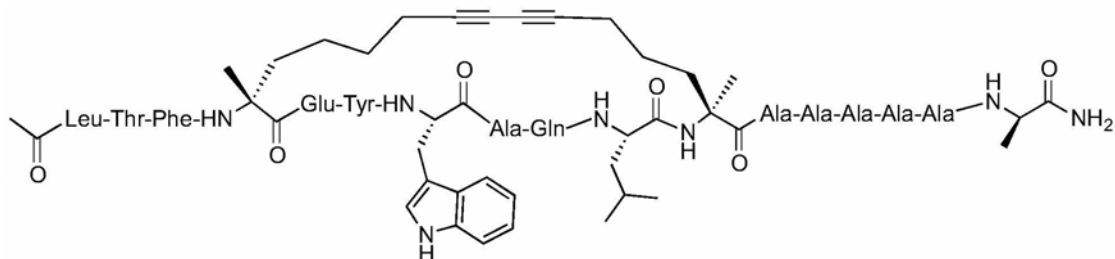
(SEQ ID NO: 482) 或其药学上可接受的盐。

219. 如实施方案163或164所述的方法, 其中所述拟肽大环化合物 具有下式:



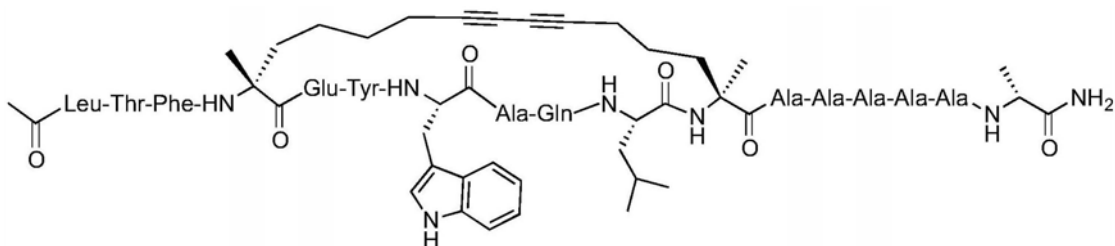
(SEQ ID NO: 487) 或其药学上可接受的盐。

220. 如实施方案163或164所述的方法, 其中所述拟肽大环化合物 具有下式:



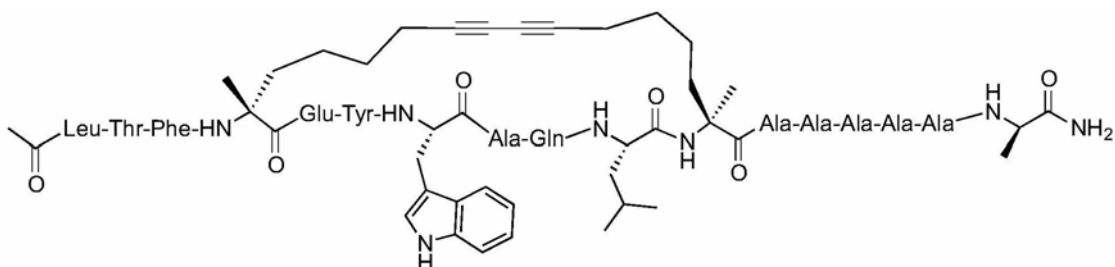
(SEQ ID NO: 572) 或其药学上可接受的盐。

221. 如实施方案163或164所述的方法, 其中所述拟肽大环化合物 具有下式:



(SEQ ID NO: 572) 或其药学上可接受的盐。

222. 如实施方案163或164所述的方法, 其中所述拟肽大环化合物 具有下式:



(SEQ ID NO: 1500) 或其药学上可接受的盐。

223. 一种鉴别缺乏p53灭活突变的人类受试者中的一种或多种实体瘤生物标记的方法,其包括向所述人类受试者施用包含治疗有效量的拟肽大环化合物的药物组合物。

224. 如实施方案223所述的方法,其中所述生物标记选自p53状态、MDM2表达水平和MDMX表达水平。

225. 如前述实施方案中任一项所述的方法,其中所述药物组合物包含所述拟肽大环化合物的药学上可接受的盐。

226. 如实施方案223所述的方法,其中所述药学上可接受的盐为钠盐、钾盐或钙盐。

227. 如实施方案224所述的方法,其中所述药学上可接受的盐为钠盐。

实施例

实施例1:拟肽大环化合物

[0347] 如以前所述以及如下所述合成、纯化和分析拟肽大环化合物 (Schafmeister等人, J. Am. Chem. Soc. 122:5891-5892 (2000); Schafmeister 和 Verdine, J. Am. Chem. Soc. 122:5891 (2005); Walensky等人, Science 305:1466-1470 (2004); 和美国专利号7,192,713)。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。使用固相条件、rink amide AM树脂 (Novabiochem) 和Fmoc主链保护基团化学方法人工地或在自动化肽合成仪 (Applied Biosystems, 433A型) 上进行肽合成。对于天然Fmoc保护的氨基酸 (Novabiochem) 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 (Novabiochem) /DIEA。非天然氨基酸(4当量)与1:1:2摩尔比的HATU (Applied Biosystems) /HOBt/DIEA偶联。合成肽的N末端被乙酰化,而C末端被酰胺化。

[0348] 通过在反相C18柱 (Varian) 上的高效液相色谱法 (HPLC) (Varian ProStar) 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 (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。

[0349] 在包括SP662、SP663和SP664在内的二炔交联的拟肽大环化合物的合成中使用下列方案。以0.2mmol规模在PEG-PS树脂 (加载0.45 mmol/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 (3x) 洗涤后,通过与适当的预活化的Fmoc-氨基酸衍生物进行1×60min的温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。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 (PPh₃)₂Cl₂ (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/H₂O/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载体上切下。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。

[0350] 在包括SP665在内的单炔交联的拟肽大环化合物的合成中使用下列方案。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的温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。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, Sigma Aldrich 199959)。将无水氯苯加入到反应容器中。然后加入2-氟苯酚(1当量, Sigma Aldrich F12804)。将反应物装入微波炉,并在130℃保持10分钟。可能需要在随后的时间推动反应以完成反应。在室温下通过用TFA/H₂O/TIS (94/3/3v/v)处理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载体上切下。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。

[0351] 表3示出了所制备的拟肽大环化合物的列表。

表3

	序列	SEQ ID NO:	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\$8AYWEAc3cL\$AAA-NH ₂	10		1456.78	729.44	1457.79	729.4	486.6
2	Ac-F\$8AYWEAc3cL\$AAibA-NH ₂	11		1470.79	736.4	1471.8	736.4	491.27
3	Ac-LTF\$8AYWAQL\$SANle-NH ₂	12		1715.97	859.02	1716.98	858.99	573

	序列	SEQ ID NO:	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
4	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$SAL-NH ₂	13		1715.97	859.02	1716.98	858.99	573
5	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$SAM-NH ₂	14		1733.92	868.48	1734.93	867.97	578.98
6	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$SAhL-NH ₂	15		1729.98	865.98	1730.99	866	577.67
7	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$SAF-NH ₂	16		1749.95	876.36	1750.96	875.98	584.32
8	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$SAI-NH ₂	17		1715.97	859.02	1716.98	858.99	573
9	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$SAChg-NH ₂	18		1741.98	871.98	1742.99	872	581.67
10	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$SAAib-NH ₂	19		1687.93	845.36	1688.94	844.97	563.65
11	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$SAA-NH ₂	20		1673.92	838.01	1674.93	837.97	558.98
12	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$SSNle-NH ₂	21		1767.04	884.77	1768.05	884.53	590.02
13	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$SSA-NH ₂	22		1724.99	864.23	1726	863.5	576
14	Ac-F\$r8AYWEAc3cL\$AANle-NH ₂	23		1498.82	750.46	1499.83	750.42	500.61
15	Ac-F\$r8AYWEAc3cL\$AAL-NH ₂	24		1498.82	750.46	1499.83	750.42	500.61
16	Ac-F\$r8AYWEAc3cL\$AAM-NH ₂	25		1516.78	759.41	1517.79	759.4	506.6
17	Ac-F\$r8AYWEAc3cL\$AAhL-NH ₂	26		1512.84	757.49	1513.85	757.43	505.29
18	Ac-F\$r8AYWEAc3cL\$AAF-NH ₂	27		1532.81	767.48	1533.82	767.41	511.94
19	Ac-F\$r8AYWEAc3cL\$AAI-NH ₂	28		1498.82	750.39	1499.83	750.42	500.61
20	Ac-F\$r8AYWEAc3cL\$AAChg-NH ₂	29		1524.84	763.48	1525.85	763.43	509.29
21	Ac-F\$r8AYWEAc3cL\$AACha-NH ₂	30		1538.85	770.44	1539.86	770.43	513.96
22	Ac-F\$r8AYWEAc3cL\$AAAib-NH ₂	31		1470.79	736.84	1471.8	736.4	491.27
23	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AAAibV-NH ₂	32		1771.01	885.81	1772.02	886.51	591.34
24	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AAAibV-NH ₂	33	iso2	1771.01	886.26	1772.02	886.51	591.34
25	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$SAibAA-NH ₂	34		1758.97	879.89	1759.98	880.49	587.33
26	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$SAibAA-NH ₂	35	iso2	1758.97	880.34	1759.98	880.49	587.33
27	Ac-HLTF\$r8HHWHQL\$AANleNle-NH ₂	36		2056.15	1028.86	2057.16	1029.08	686.39
28	Ac-DLTF\$r8HHWHQL\$RRLV-NH ₂	37		2190.23	731.15	2191.24	1096.12	731.08
29	Ac-HHTF\$r8HHWHQL\$AAML-NH ₂	38		2098.08	700.43	2099.09	1050.05	700.37
30	Ac-F\$r8HHWHQL\$RRDCha-NH ₂	39		1917.06	959.96	1918.07	959.54	640.03
31	Ac-F\$r8HHWHQL\$SHRFV-NH ₂	40		1876.02	938.65	1877.03	939.02	626.35
32	Ac-HLTF\$r8HHWHQL\$AAhLA-NH ₂	41		2028.12	677.2	2029.13	1015.07	677.05
33	Ac-DLTF\$r8HHWHQL\$RRChgl-NH ₂	42		2230.26	1115.89	2231.27	1116.14	744.43
34	Ac-DLTF\$r8HHWHQL\$RRChgl-NH ₂	43	iso2	2230.26	1115.96	2231.27	1116.14	744.43
35	Ac-HHTF\$r8HHWHQL\$AACHav-NH ₂	44		2106.14	1053.95	2107.15	1054.08	703.05
36	Ac-F\$r8HHWHQL\$RRDa-NH ₂	45		1834.99	918.3	1836	918.5	612.67
37	Ac-F\$r8HHWHQL\$HRAibG-NH ₂	46		1771.95	886.77	1772.96	886.98	591.66
38	Ac-F\$r8AYWAQL\$HHNleL-NH ₂	47		1730.97	866.57	1731.98	866.49	578
39	Ac-F\$r8AYWSAL\$HQAle-NH ₂	48		1638.89	820.54	1639.9	820.45	547.3
40	Ac-F\$r8AYWVQL\$QHChgl-NH ₂	49		1776.01	889.44	1777.02	889.01	593.01
41	Ac-F\$r8AYWTAL\$QQNlev-NH ₂	50		1671.94	836.97	1672.95	836.98	558.32
42	Ac-F\$r8AYWYQL\$HAibAa-NH ₂	51		1686.89	844.52	1687.9	844.45	563.3
43	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$HHLa-NH ₂	52		1903.05	952.27	1904.06	952.53	635.36
44	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$HHLa-NH ₂	53	iso2	1903.05	952.27	1904.06	952.53	635.36
45	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$HQNlev-NH ₂	54		1922.08	962.48	1923.09	962.05	641.7
46	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$HQNlev-NH ₂	55	iso2	1922.08	962.4	1923.09	962.05	641.7
47	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$QQMI-NH ₂	56		1945.05	973.95	1946.06	973.53	649.36
48	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$QQMI-NH ₂	57	iso2	1945.05	973.88	1946.06	973.53	649.36
49	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$HAibhLV-NH ₂	58		1893.09	948.31	1894.1	947.55	632.04
50	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AHFA-NH ₂	59		1871.01	937.4	1872.02	936.51	624.68
51	Ac-HLTF\$r8HHWHQL\$AANlel-NH ₂	60		2056.15	1028.79	2057.16	1029.08	686.39
52	Ac-DLTF\$r8HHWHQL\$RRLa-NH ₂	61		2162.2	721.82	2163.21	1082.11	721.74
53	Ac-HHTF\$r8HHWHQL\$AAMv-NH ₂	62		2084.07	1042.92	2085.08	1043.04	695.7
54	Ac-F\$r8HHWHQL\$RRDA-NH ₂	63		1834.99	612.74	1836	918.5	612.67
55	Ac-F\$r8HHWHQL\$SHRFCha-NH ₂	64		1930.06	966.47	1931.07	966.04	644.36
56	Ac-F\$r8AYWEAL\$AA-NHAm	65		1443.82	1445.71	1444.83	722.92	482.28
57	Ac-F\$r8AYWEAL\$AA-NHiAm	66		1443.82	723.13	1444.83	722.92	482.28
58	Ac-F\$r8AYWEAL\$AA-NHnPr3Ph	67		1491.82	747.3	1492.83	746.92	498.28
59	Ac-F\$r8AYWEAL\$AA-NHnBu33Me	68		1457.83	1458.94	1458.84	729.92	486.95
60	Ac-F\$r8AYWEAL\$AA-NHnPr	69		1415.79	709.28	1416.8	708.9	472.94
61	Ac-F\$r8AYWEAL\$AA-NHnEt2Ch	70		1483.85	1485.77	1484.86	742.93	495.62
62	Ac-F\$r8AYWEAL\$AA-NHnEt2Cp	71		1469.83	1470.78	1470.84	735.92	490.95
63	Ac-F\$r8AYWEAL\$AA-NHHex	72		1457.83	730.19	1458.84	729.92	486.95
64	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AAIA-NH ₂	73		1771.01	885.81	1772.02	886.51	591.34
65	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AAIA-NH ₂	74	iso2	1771.01	866.8	1772.02	886.51	591.34

	序列	SEQ ID NO:	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
66	Ac-LTF\$r8AYWAAL\$AAMA-NH ₂	75		1731.94	867.08	1732.95	866.98	578.32
67	Ac-LTF\$r8AYWAAL\$AAMA-NH ₂	76	iso2	1731.94	867.28	1732.95	866.98	578.32
68	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AANleA-NH ₂	77		1771.01	867.1	1772.02	886.51	591.34
69	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AANleA-NH ₂	78	iso2	1771.01	886.89	1772.02	886.51	591.34
70	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AAIa-NH ₂	79		1771.01	886.8	1772.02	886.51	591.34
71	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AAIa-NH ₂	80	iso2	1771.01	887.09	1772.02	886.51	591.34
72	Ac-LTF\$r8AYWAAL\$AAMa-NH ₂	81		1731.94	867.17	1732.95	866.98	578.32
73	Ac-LTF\$r8AYWAAL\$AAMa-NH ₂	82	iso2	1731.94	867.37	1732.95	866.98	578.32
74	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AANlea-NH ₂	83		1771.01	887.08	1772.02	886.51	591.34
75	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AANlea-NH ₂	84	iso2	1771.01	887.08	1772.02	886.51	591.34
76	Ac-LTF\$r8AYWAAL\$AAIv-NH ₂	85		1742.02	872.37	1743.03	872.02	581.68
77	Ac-LTF\$r8AYWAAL\$AAIv-NH ₂	86	iso2	1742.02	872.74	1743.03	872.02	581.68
78	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AAMv-NH ₂	87		1817	910.02	1818.01	909.51	606.67
79	Ac-LTF\$r8AYWAAL\$AANlev-NH ₂	88		1742.02	872.37	1743.03	872.02	581.68
80	Ac-LTF\$r8AYWAAL\$AANlev-NH ₂	89	iso2	1742.02	872.28	1743.03	872.02	581.68
81	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AAII-NH ₂	90		1813.05	907.81	1814.06	907.53	605.36
82	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AAII-NH ₂	91	iso2	1813.05	907.81	1814.06	907.53	605.36
83	Ac-LTF\$r8AYWAAL\$AAMI-NH ₂	92		1773.99	887.37	1775	888	592.34
84	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AANlel-NH ₂	93		1813.05	907.61	1814.06	907.53	605.36
85	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AANlel-NH ₂	94	iso2	1813.05	907.71	1814.06	907.53	605.36
86	Ac-F\$r8AYWEAL\$AAMA-NH ₂	95		1575.82	789.02	1576.83	788.92	526.28
87	Ac-F\$r8AYWEAL\$AANleA-NH ₂	96		1557.86	780.14	1558.87	779.94	520.29
88	Ac-F\$r8AYWEAL\$AAIa-NH ₂	97		1557.86	780.33	1558.87	779.94	520.29
89	Ac-F\$r8AYWEAL\$AAMa-NH ₂	98		1575.82	789.3	1576.83	788.92	526.28
90	Ac-F\$r8AYWEAL\$AANlea-NH ₂	99		1557.86	779.4	1558.87	779.94	520.29
91	Ac-F\$r8AYWEAL\$AAIv-NH ₂	100		1585.89	794.29	1586.9	793.95	529.64
92	Ac-F\$r8AYWEAL\$AAMv-NH ₂	101		1603.85	803.08	1604.86	802.93	535.62
93	Ac-F\$r8AYWEAL\$AANlev-NH ₂	102		1585.89	793.46	1586.9	793.95	529.64
94	Ac-F\$r8AYWEAL\$AAII-NH ₂	103		1599.91	800.49	1600.92	800.96	534.31
95	Ac-F\$r8AYWEAL\$AAMI-NH ₂	104		1617.86	809.44	1618.87	809.94	540.29
96	Ac-F\$r8AYWEAL\$AANlel-NH ₂	105		1599.91	801.7	1600.92	800.96	534.31
97	Ac-F\$r8AYWEAL\$AANlel-NH ₂	106	iso2	1599.91	801.42	1600.92	800.96	534.31
98	Ac-LTF\$r8AY6clWAQL\$SAA-NH ₂	107		1707.88	855.72	1708.89	854.95	570.3
99	Ac-LTF\$r8AY6clWAQL\$SAA-NH ₂	108	iso2	1707.88	855.35	1708.89	854.95	570.3
100	Ac-WTF\$r8FYWSQL\$AVAA-NH ₂	109		1922.01	962.21	1923.02	962.01	641.68
101	Ac-WTF\$r8FYWSQL\$AVAA-NH ₂	110	iso2	1922.01	962.49	1923.02	962.01	641.68
102	Ac-WTF\$r8VYWSQL\$AVA-NH ₂	111		1802.98	902.72	1803.99	902.5	602
103	Ac-WTF\$r8VYWSQL\$AVA-NH ₂	112	iso2	1802.98	903	1803.99	902.5	602
104	Ac-WTF\$r8FYWSQL\$SAAa-NH ₂	113		1909.98	956.47	1910.99	956	637.67
105	Ac-WTF\$r8FYWSQL\$SAAa-NH ₂	114	iso2	1909.98	956.47	1910.99	956	637.67
106	Ac-WTF\$r8VYWSQL\$AVAAA-NH ₂	115		1945.05	974.15	1946.06	973.53	649.36
107	Ac-WTF\$r8VYWSQL\$AVAAA-NH ₂	116	iso2	1945.05	973.78	1946.06	973.53	649.36
108	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AVG-NH ₂	117		1671.94	837.52	1672.95	836.98	558.32
109	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AVG-NH ₂	118	iso2	1671.94	837.21	1672.95	836.98	558.32
110	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AVQ-NH ₂	119		1742.98	872.74	1743.99	872.5	582
111	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AVQ-NH ₂	120	iso2	1742.98	872.74	1743.99	872.5	582
112	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$SAA-NH ₂	121		1673.92	838.23	1674.93	837.97	558.98
113	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$SAA-NH ₂	122	iso2	1673.92	838.32	1674.93	837.97	558.98
114	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$SAA-NH ₂	123		1687.93	844.37	1688.94	844.97	563.65
115	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$SAA-NH ₂	124	iso2	1687.93	844.81	1688.94	844.97	563.65
116	Ac-LTF\$r8AYWEQL\$StSA\$-NH ₂	125		1826	905.27	1827.01	914.01	609.67
117	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$SLA-NH ₂	126		1715.97	858.48	1716.98	858.99	573
118	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$SLA-NH ₂	127	iso2	1715.97	858.87	1716.98	858.99	573
119	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$SSWA-NH ₂	128		1788.96	895.21	1789.97	895.49	597.33
120	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$SSWA-NH ₂	129	iso2	1788.96	895.28	1789.97	895.49	597.33
121	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$SVS-NH ₂	130		1717.94	859.84	1718.95	859.98	573.65
122	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$SAS-NH ₂	131		1689.91	845.85	1690.92	845.96	564.31
123	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$SVG-NH ₂	132		1687.93	844.81	1688.94	844.97	563.65
124	Ac-ETF\$r8VYWAQL\$SAA-NH ₂	133		1717.91	859.76	1718.92	859.96	573.64
125	Ac-ETF\$r8VYWAQL\$SAA-NH ₂	134		1717.91	859.84	1718.92	859.96	573.64
126	Ac-ETF\$r8VYWAQL\$SVA-NH ₂	135		1745.94	873.82	1746.95	873.98	582.99
127	Ac-ETF\$r8VYWAQL\$SLA-NH ₂	136		1759.96	880.85	1760.97	880.99	587.66

	序列	SEQ ID NO:	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
128	Ac-ETF\$r8VYWAQL\$SWA-NH ₂	137		1832.95	917.34	1833.96	917.48	611.99
129	Ac-ETF\$r8KYWAQL\$SWA-NH ₂	138		1861.98	931.92	1862.99	932	621.67
130	Ac-ETF\$r8VYWAQL\$SVS-NH ₂	139		1761.93	881.89	1762.94	881.97	588.32
131	Ac-ETF\$r8VYWAQL\$SAS-NH ₂	140		1733.9	867.83	1734.91	867.96	578.97
132	Ac-ETF\$r8VYWAQL\$SVG-NH ₂	141		1731.92	866.87	1732.93	866.97	578.31
133	Ac-LTF\$r8VYWAQL\$SSa-NH ₂	142		1717.94	859.47	1718.95	859.98	573.65
134	Ac-ETF\$r8VYWAQL\$SSa-NH ₂	143		1733.9	867.83	1734.91	867.96	578.97
135	Ac-LTF\$r8VYWAQL\$SNa-NH ₂	144		1744.96	873.38	1745.97	873.49	582.66
136	Ac-ETF\$r8VYWAQL\$SNa-NH ₂	145		1760.91	881.3	1761.92	881.46	587.98
137	Ac-LTF\$r8VYWAQL\$SAa-NH ₂	146		1701.95	851.84	1702.96	851.98	568.32
138	Ac-LTF\$r8VYWAQL\$SVA-NH ₂	147		1729.98	865.53	1730.99	866	577.67
139	Ac-LTF\$r8VYWAQL\$SVA-NH ₂	148	iso2	1729.98	865.9	1730.99	866	577.67
140	Ac-LTF\$r8VYWAQL\$SWA-NH ₂	149		1816.99	909.42	1818	909.5	606.67
141	Ac-LTF\$r8VYWAQL\$SVS-NH ₂	150		1745.98	873.9	1746.99	874	583
142	Ac-LTF\$r8VYWAQL\$SVS-NH ₂	151	iso2	1745.98	873.9	1746.99	874	583
143	Ac-LTF\$r8VYWAQL\$SAS-NH ₂	152		1717.94	859.84	1718.95	859.98	573.65
144	Ac-LTF\$r8VYWAQL\$SAS-NH ₂	153	iso2	1717.94	859.91	1718.95	859.98	573.65
145	Ac-LTF\$r8VYWAQL\$SVG-NH ₂	154		1715.97	858.87	1716.98	858.99	573
146	Ac-LTF\$r8VYWAQL\$SVG-NH ₂	155	iso2	1715.97	858.87	1716.98	858.99	573
147	Ac-LTF\$r8EYWAQCh\$a\$SAA-NH ₂	156		1771.96	886.85	1772.97	886.99	591.66
148	Ac-LTF\$r8EYWAQCh\$a\$SAA-NH ₂	157	iso2	1771.96	886.85	1772.97	886.99	591.66
149	Ac-LTF\$r8EYWAQCpg\$SAA-NH ₂	158		1743.92	872.86	1744.93	872.97	582.31
150	Ac-LTF\$r8EYWAQCpg\$SAA-NH ₂	159	iso2	1743.92	872.86	1744.93	872.97	582.31
151	Ac-LTF\$r8EYWAQF\$SAA-NH ₂	160		1765.91	883.44	1766.92	883.96	589.64
152	Ac-LTF\$r8EYWAQF\$SAA-NH ₂	161	iso2	1765.91	883.89	1766.92	883.96	589.64
153	Ac-LTF\$r8EYWAQCb\$a\$SAA-NH ₂	162		1743.92	872.42	1744.93	872.97	582.31
154	Ac-LTF\$r8EYWAQCb\$a\$SAA-NH ₂	163	iso2	1743.92	873.39	1744.93	872.97	582.31
155	Ac-LTF3Cl\$r8EYWAQL\$SAA-NH ₂	164		1765.89	883.89	1766.9	883.95	589.64
156	Ac-LTF3Cl\$r8EYWAQL\$SAA-NH ₂	165	iso2	1765.89	883.96	1766.9	883.95	589.64
157	Ac-LTF34F2\$r8EYWAQL\$SAA-NH ₂	166		1767.91	884.48	1768.92	884.96	590.31
158	Ac-LTF34F2\$r8EYWAQL\$SAA-NH ₂	167	iso2	1767.91	884.48	1768.92	884.96	590.31
159	Ac-LTF34F2\$r8EYWAQhL\$SAA-NH ₂	168		1781.92	891.44	1782.93	891.97	594.98
160	Ac-LTF34F2\$r8EYWAQhL\$SAA-NH ₂	169	iso2	1781.92	891.88	1782.93	891.97	594.98
161	Ac-ETF\$r8EYWAQL\$SAA-NH ₂	170		1747.88	874.34	1748.89	874.95	583.63
162	Ac-LTF\$r8AYWVQL\$SAA-NH ₂	171		1701.95	851.4	1702.96	851.98	568.32
163	Ac-LTF\$r8AHWAQL\$SAA-NH ₂	172		1647.91	824.83	1648.92	824.96	550.31
164	Ac-LTF\$r8AEWAQL\$SAA-NH ₂	173		1639.9	820.39	1640.91	820.96	547.64
165	Ac-LTF\$r8ASWAQL\$SAA-NH ₂	174		1597.89	799.38	1598.9	799.95	533.64
166	Ac-LTF\$r8AEWAQL\$SAA-NH ₂	175	iso2	1639.9	820.39	1640.91	820.96	547.64
167	Ac-LTF\$r8ASWAQL\$SAA-NH ₂	176	iso2	1597.89	800.31	1598.9	799.95	533.64
168	Ac-LTF\$r8AF4coohWAQL\$SAA-NH ₂	177		1701.91	851.4	1702.92	851.96	568.31
169	Ac-LTF\$r8AF4coohWAQL\$SAA-NH ₂	178	iso2	1701.91	851.4	1702.92	851.96	568.31
170	Ac-LTF\$r8AHWAQL\$AAIa-NH ₂	179		1745	874.13	1746.01	873.51	582.67
171	Ac-ITF\$r8FYWAQL\$AAIa-NH ₂	180		1847.04	923.92	1848.05	924.53	616.69
172	Ac-ITF\$r8EHWAQL\$AAIa-NH ₂	181		1803.01	903.17	1804.02	902.51	602.01
173	Ac-ITF\$r8EHWAQL\$AAIa-NH ₂	182	iso2	1803.01	903.17	1804.02	902.51	602.01
174	Ac-ETF\$r8EHWAQL\$AAIa-NH ₂	183		1818.97	910.76	1819.98	910.49	607.33
175	Ac-ETF\$r8EHWAQL\$AAIa-NH ₂	184	iso2	1818.97	910.85	1819.98	910.49	607.33
176	Ac-LTF\$r8AHWVQL\$AAIa-NH ₂	185		1773.03	888.09	1774.04	887.52	592.02
177	Ac-ITF\$r8FYWVQL\$AAIa-NH ₂	186		1875.07	939.16	1876.08	938.54	626.03
178	Ac-ITF\$r8FYWVQL\$AAIa-NH ₂	187		1857.04	929.83	1858.05	929.53	620.02
179	Ac-ITF\$r8EHWVQL\$AAIa-NH ₂	188		1831.04	916.86	1832.05	916.53	611.35
180	Ac-LTF\$r8AEWAQL\$AAIa-NH ₂	189		1736.99	869.87	1738	869.5	580
181	Ac-LTF\$r8AF4coohWAQL\$AAIa-NH ₂	190		1799	900.17	1800.01	900.51	600.67
182	Ac-LTF\$r8AF4coohWAQL\$AAIa-NH ₂	191	iso2	1799	900.24	1800.01	900.51	600.67
183	Ac-LTF\$r8AHWAQL\$AHFA-NH ₂	192		1845.01	923.89	1846.02	923.51	616.01
184	Ac-ITF\$r8FYWAQL\$AHFA-NH ₂	193		1947.05	975.05	1948.06	974.53	650.02
185	Ac-ITF\$r8FYWAQL\$AHFA-NH ₂	194	iso2	1947.05	976.07	1948.06	974.53	650.02
186	Ac-ITF\$r8FHWAQL\$AEFA-NH ₂	195		1913.02	958.12	1914.03	957.52	638.68
187	Ac-ITF\$r8FHWAQL\$AEFA-NH ₂	196	iso2	1913.02	957.86	1914.03	957.52	638.68
188	Ac-ITF\$r8EHWAQL\$AHFA-NH ₂	197		1903.01	952.94	1904.02	952.51	635.34
189	Ac-ITF\$r8EHWAQL\$AHFA-NH ₂	198	iso2	1903.01	953.87	1904.02	952.51	635.34

	序列	SEQ ID NO:	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
190	Ac-LTF\$r8AHWVQL\$AHFA-NH ₂	199		1873.04	937.86	1874.05	937.53	625.35
191	Ac-ITF\$r8FYWVQL\$AHFA-NH ₂	200		1975.08	988.83	1976.09	988.55	659.37
192	Ac-ITF\$r8EYWVQL\$AHFA-NH ₂	201		1957.05	979.35	1958.06	979.53	653.36
193	Ac-ITF\$r8EHWVQL\$AHFA-NH ₂	202		1931.05	967	1932.06	966.53	644.69
194	Ac-ITF\$r8EHWVQL\$AHFA-NH ₂	203	iso2	1931.05	967.93	1932.06	966.53	644.69
195	Ac-ETF\$r8EYWAAL\$SAA-NH ₂	204		1690.86	845.85	1691.87	846.44	564.63
196	Ac-LTF\$r8AYWVAL\$SAA-NH ₂	205		1644.93	824.08	1645.94	823.47	549.32
197	Ac-LTF\$r8AHWAAL\$SAA-NH ₂	206		1590.89	796.88	1591.9	796.45	531.3
198	Ac-LTF\$r8AEWAAL\$SAA-NH ₂	207		1582.88	791.9	1583.89	792.45	528.63
199	Ac-LTF\$r8AEWAAL\$SAA-NH ₂	208	iso2	1582.88	791.9	1583.89	792.45	528.63
200	Ac-LTF\$r8ASWAAL\$SAA-NH ₂	209		1540.87	770.74	1541.88	771.44	514.63
201	Ac-LTF\$r8ASWAAL\$SAA-NH ₂	210	iso2	1540.87	770.88	1541.88	771.44	514.63
202	Ac-LTF\$r8AYWAAL\$AAIa-NH ₂	211		1713.99	857.39	1715	858	572.34
203	Ac-LTF\$r8AYWAAL\$AAIa-NH ₂	212	iso2	1713.99	857.84	1715	858	572.34
204	Ac-LTF\$r8AYWAAL\$AHFA-NH ₂	213		1813.99	907.86	1815	908	605.67
205	Ac-LTF\$r8EHWAQL\$AHla-NH ₂	214		1869.03	936.1	1870.04	935.52	624.02
206	Ac-LTF\$r8EHWAQL\$AHla-NH ₂	215	iso2	1869.03	937.03	1870.04	935.52	624.02
207	Ac-LTF\$r8AHWAQL\$AHla-NH ₂	216		1811.03	906.87	1812.04	906.52	604.68
208	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$AHla-NH ₂	217		1895.04	949.15	1896.05	948.53	632.69
209	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AAFa-NH ₂	218		1804.99	903.2	1806	903.5	602.67
210	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AAFa-NH ₂	219	iso2	1804.99	903.28	1806	903.5	602.67
211	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AAWa-NH ₂	220		1844	922.81	1845.01	923.01	615.67
212	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AAVa-NH ₂	221		1756.99	878.86	1758	879.5	586.67
213	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AAVa-NH ₂	222	iso2	1756.99	879.3	1758	879.5	586.67
214	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AALa-NH ₂	223		1771.01	886.26	1772.02	886.51	591.34
215	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AALa-NH ₂	224	iso2	1771.01	886.33	1772.02	886.51	591.34
216	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$AAIa-NH ₂	225		1829.01	914.89	1830.02	915.51	610.68
217	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$AAIa-NH ₂	226	iso2	1829.01	915.34	1830.02	915.51	610.68
218	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$AAFa-NH ₂	227		1863	932.87	1864.01	932.51	622.01
219	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$AAFa-NH ₂	228	iso2	1863	932.87	1864.01	932.51	622.01
220	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$AAVa-NH ₂	229		1815	908.23	1816.01	908.51	606.01
221	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$AAVa-NH ₂	230	iso2	1815	908.31	1816.01	908.51	606.01
222	Ac-LTF\$r8EHWAQL\$AAIa-NH ₂	231		1803.01	903.17	1804.02	902.51	602.01
223	Ac-LTF\$r8EHWAQL\$AAIa-NH ₂	232	iso2	1803.01	902.8	1804.02	902.51	602.01
224	Ac-LTF\$r8EHWAQL\$AAWa-NH ₂	233		1876	939.34	1877.01	939.01	626.34
225	Ac-LTF\$r8EHWAQL\$AAWa-NH ₂	234	iso2	1876	939.62	1877.01	939.01	626.34
226	Ac-LTF\$r8EHWAQL\$AALa-NH ₂	235		1803.01	902.8	1804.02	902.51	602.01
227	Ac-LTF\$r8EHWAQL\$AALa-NH ₂	236	iso2	1803.01	902.9	1804.02	902.51	602.01
228	Ac-ETF\$r8EHWVQL\$AALa-NH ₂	237		1847	924.82	1848.01	924.51	616.67
229	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AAAa-NH ₂	238		1728.96	865.89	1729.97	865.49	577.33
230	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AAAa-NH ₂	239	iso2	1728.96	865.89	1729.97	865.49	577.33
231	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AAIa-NH ₂	240		1742.98	872.83	1743.99	872.5	582
232	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AAIa-NH ₂	241	iso2	1742.98	872.92	1743.99	872.5	582
233	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AAAa-NH ₂	242		1800	901.42	1801.01	901.01	601.01
234	Ac-LTF\$r5AYWAQL\$s8AAIa-NH ₂	243		1771.01	887.17	1772.02	886.51	591.34
235	Ac-LTF\$r5AYWAQL\$s8SAA-NH ₂	244		1673.92	838.33	1674.93	837.97	558.98
236	Ac-LTF\$r8AYWAQCba\$AANleA-NH ₂	245		1783.01	892.64	1784.02	892.51	595.34
237	Ac-ETF\$r8AYWAQCba\$AANleA-NH ₂	246		1798.97	900.59	1799.98	900.49	600.66
238	Ac-LTF\$r8EYWAQCba\$AANleA-NH ₂	247		1841.01	922.05	1842.02	921.51	614.68
239	Ac-LTF\$r8AYWAQCba\$AWNleA-NH ₂	248		1898.05	950.46	1899.06	950.03	633.69
240	Ac-ETF\$r8AYWAQCba\$AWNleA-NH ₂	249		1914.01	958.11	1915.02	958.01	639.01
241	Ac-LTF\$r8EYWAQCba\$AWNleA-NH ₂	250		1956.06	950.62	1957.07	979.04	653.03
242	Ac-LTF\$r8EYWAQCba\$SAFA-NH ₂	251		1890.99	946.55	1892	946.5	631.34
243	Ac-LTF34F2\$r8EYWAQCba\$SANleA-NH ₂	252		1892.99	947.57	1894	947.5	632
244	Ac-LTF\$r8EF4coohWAQCba\$SANleA-NH ₂	253		1885	943.59	1886.01	943.51	629.34
245	Ac-LTF\$r8EYWSQCba\$SANleA-NH ₂	254		1873	937.58	1874.01	937.51	625.34
246	Ac-LTF\$r8EYWWQCba\$SANleA-NH ₂	255		1972.05	987.61	1973.06	987.03	658.36
247	Ac-LTF\$r8EYWAQCba\$AAIa-NH ₂	256		1841.01	922.05	1842.02	921.51	614.68
248	Ac-LTF34F2\$r8EYWAQCba\$AAIa-NH ₂	257		1876.99	939.99	1878	939.5	626.67
249	Ac-LTF\$r8EF4coohWAQCba\$AAIa-NH ₂	258		1869.01	935.64	1870.02	935.51	624.01
250	Pam-ETF\$r8EYWAQCba\$SAA-NH ₂	259		1956.1	979.57	1957.11	979.06	653.04
251	Ac-LThF\$r8EFWAQCba\$SAA-NH ₂	260		1741.94	872.11	1742.95	871.98	581.65

	序列	SEQ ID NO:	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-LTf8r8EYWAQCba\$SAA-NH ₂	261		1667.89	835.4	1668.9	834.95	556.97
253	Ac-LTF8r8EYAAQCba\$SAA-NH ₂	262		1628.88	815.61	1629.89	815.45	543.97
254	Ac-LTF8r8EY2NaIAQCba\$SAA-NH ₂	263		1754.93	879.04	1755.94	878.47	585.98
255	Ac-LTF8r8AYWAQCba\$SAA-NH ₂	264		1685.92	844.71	1686.93	843.97	562.98
256	Ac-LTF8r8EYWAQCba\$SAF-NH ₂	265		1819.96	911.41	1820.97	910.99	607.66
257	Ac-LTF8r8EYWAQCba\$SAFa-NH ₂	266		1890.99	947.41	1892	946.5	631.34
258	Ac-LTF8r8AYWAQCba\$SAF-NH ₂	267		1761.95	882.73	1762.96	881.98	588.32
259	Ac-LTF34F2r8AYWAQCba\$SAF-NH ₂	268		1797.93	900.87	1798.94	899.97	600.32
260	Ac-LTF8r8AF4coohWAQCba\$SAF-NH ₂	269		1789.94	896.43	1790.95	895.98	597.65
261	Ac-LTF8r8EY6clWAQCba\$SAF-NH ₂	270		1853.92	929.27	1854.93	927.97	618.98
262	Ac-LTF8r8AYWSQCba\$SAF-NH ₂	271		1777.94	890.87	1778.95	889.98	593.65
263	Ac-LTF8r8AYWWQCba\$SAF-NH ₂	272		1876.99	939.91	1878	939.5	626.67
264	Ac-LTF8r8AYWAQCba\$AAIa-NH ₂	273		1783.01	893.19	1784.02	892.51	595.34
265	Ac-LTF34F2r8AYWAQCba\$AAIa-NH ₂	274		1818.99	911.23	1820	910.5	607.34
266	Ac-LTF8r8AY6clWAQCba\$AAIa-NH ₂	275		1816.97	909.84	1817.98	909.49	606.66
267	Ac-LTF8r8AF4coohWAQCba\$AAIa-NH ₂	276		1811	906.88	1812.01	906.51	604.67
268	Ac-LTF8r8EYWAQCba\$AAFa-NH ₂	277		1875	938.6	1876.01	938.51	626.01
269	Ac-LTF8r8EYWAQCba\$AAFa-NH ₂	278	iso2	1875	938.6	1876.01	938.51	626.01
270	Ac-ETF8r8AYWAQCba\$AWNlea-NH ₂	279		1914.01	958.42	1915.02	958.01	639.01
271	Ac-LTF8r8EYWAQCba\$AWNlea-NH ₂	280		1956.06	979.42	1957.07	979.04	653.03
272	Ac-ETF8r8EYWAQCba\$AWNlea-NH ₂	281		1972.01	987.06	1973.02	987.01	658.34
273	Ac-ETF8r8EYWAQCba\$AWNlea-NH ₂	282	iso2	1972.01	987.06	1973.02	987.01	658.34
274	Ac-LTF8r8AYWAQCba\$SAFa-NH ₂	283		1832.99	917.89	1834	917.5	612
275	Ac-LTF8r8AYWAQCba\$SAFa-NH ₂	284	iso2	1832.99	918.07	1834	917.5	612
276	Ac-ETF8r8AYWAQL\$AWNlea-NH ₂	285		1902.01	952.22	1903.02	952.01	635.01
277	Ac-LTF8r8EYWAQL\$AWNlea-NH ₂	286		1944.06	973.5	1945.07	973.04	649.03
278	Ac-ETF8r8EYWAQL\$AWNlea-NH ₂	287		1960.01	981.46	1961.02	981.01	654.34
279	Dmaac-LTF8r8EYWAQhL\$SAA-NH ₂	288		1788.98	896.06	1789.99	895.5	597.33
280	Hexac-LTF8r8EYWAQhL\$SAA-NH ₂	289		1802	902.9	1803.01	902.01	601.67
281	Napac-LTF8r8EYWAQhL\$SAA-NH ₂	290		1871.99	937.58	1873	937	625
282	Decac-LTF8r8EYWAQhL\$SAA-NH ₂	291		1858.06	930.55	1859.07	930.04	620.36
283	Admac-LTF8r8EYWAQhL\$SAA-NH ₂	292		1866.03	934.07	1867.04	934.02	623.02
284	Tmac-LTF8r8EYWAQhL\$SAA-NH ₂	293		1787.99	895.41	1789	895	597
285	Pam-LTF8r8EYWAQhL\$SAA-NH ₂	294		1942.16	972.08	1943.17	972.09	648.39
286	Ac-LTF8r8AYWAQCba\$AANleA-NH ₂	295	iso2	1783.01	892.64	1784.02	892.51	595.34
287	Ac-LTF34F2r8EYWAQCba\$AAIa-NH ₂	296	iso2	1876.99	939.62	1878	939.5	626.67
288	Ac-LTF34F2r8EYWAQCba\$SAA-NH ₂	297		1779.91	892.07	1780.92	890.96	594.31
289	Ac-LTF34F2r8EYWAQCba\$SAA-NH ₂	298	iso2	1779.91	891.61	1780.92	890.96	594.31
290	Ac-LTF8r8EF4coohWAQCba\$SAA-NH ₂	299		1771.92	887.54	1772.93	886.97	591.65
291	Ac-LTF8r8EF4coohWAQCba\$SAA-NH ₂	300	iso2	1771.92	887.63	1772.93	886.97	591.65
292	Ac-LTF8r8EYWSQCba\$SAA-NH ₂	301		1759.92	881.9	1760.93	880.97	587.65
293	Ac-LTF8r8EYWSQCba\$SAA-NH ₂	302	iso2	1759.92	881.9	1760.93	880.97	587.65
294	Ac-LTF8r8EYWAQhL\$SAA-NH ₂	303		1745.94	875.05	1746.95	873.98	582.99
295	Ac-LTF8r8AYWAQhL\$SAF-NH ₂	304		1763.97	884.02	1764.98	882.99	589
296	Ac-LTF8r8AYWAQhL\$SAF-NH ₂	305	iso2	1763.97	883.56	1764.98	882.99	589
297	Ac-LTF34F2r8AYWAQhL\$SAA-NH ₂	306		1723.92	863.67	1724.93	862.97	575.65
298	Ac-LTF34F2r8AYWAQhL\$SAA-NH ₂	307	iso2	1723.92	864.04	1724.93	862.97	575.65
299	Ac-LTF8r8AF4coohWAQhL\$SAA-NH ₂	308		1715.93	859.44	1716.94	858.97	572.98
300	Ac-LTF8r8AF4coohWAQhL\$SAA-NH ₂	309	iso2	1715.93	859.6	1716.94	858.97	572.98
301	Ac-LTF8r8AYWSQhL\$SAA-NH ₂	310		1703.93	853.96	1704.94	852.97	568.98
302	Ac-LTF8r8AYWSQhL\$SAA-NH ₂	311	iso2	1703.93	853.59	1704.94	852.97	568.98
303	Ac-LTF8r8EYWAQL\$AANleA-NH ₂	312		1829.01	915.45	1830.02	915.51	610.68
304	Ac-LTF34F2r8AYWAQL\$AANleA-NH ₂	313		1806.99	904.58	1808	904.5	603.34
305	Ac-LTF8r8AF4coohWAQL\$AANleA-NH ₂	314		1799	901.6	1800.01	900.51	600.67
306	Ac-LTF8r8AYWSQL\$AANleA-NH ₂	315		1787	894.75	1788.01	894.51	596.67
307	Ac-LTF34F2r8AYWAQhL\$AANleA-NH ₂	316		1821	911.79	1822.01	911.51	608.01
308	Ac-LTF34F2r8AYWAQhL\$AANleA-NH ₂	317	iso2	1821	912.61	1822.01	911.51	608.01
309	Ac-LTF8r8AF4coohWAQhL\$AANleA-NH ₂	318		1813.02	907.95	1814.03	907.52	605.35
310	Ac-LTF8r8AF4coohWAQhL\$AANleA-NH ₂	319	iso2	1813.02	908.54	1814.03	907.52	605.35
311	Ac-LTF8r8AYWSQhL\$AANleA-NH ₂	320		1801.02	901.84	1802.03	901.52	601.35
312	Ac-LTF8r8AYWSQhL\$AANleA-NH ₂	321	iso2	1801.02	902.62	1802.03	901.52	601.35
313	Ac-LTF8r8AYWAQhL\$AAAAa-NH ₂	322		1814.01	908.63	1815.02	908.01	605.68

	序列	SEQ ID NO:	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
314	Ac-LTF\$r8AYWAQhL\$AAAAa-NH ₂	323	iso2	1814.01	908.34	1815.02	908.01	605.68
315	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AAAAa-NH ₂	324		1871.04	936.94	1872.05	936.53	624.69
316	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AAAAa-NH ₂	325	iso2	1942.07	972.5	1943.08	972.04	648.37
317	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AAAAa-NH ₂	326	iso1	1942.07	972.5	1943.08	972.04	648.37
318	Ac-LTF\$r8EYWAQhL\$AANleA-NH ₂	327		1843.03	922.54	1844.04	922.52	615.35
319	Ac-AATF\$r8AYWAQL\$AANleA-NH ₂	328		1800	901.39	1801.01	901.01	601.01
320	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AANleA-NH ₂	329		1842.04	922.45	1843.05	922.03	615.02
321	Ac-ALTF\$r8AYWAQL\$AANleA-NH ₂	330		1913.08	957.94	1914.09	957.55	638.7
322	Ac-LTF\$r8AYWAQCba\$AANleA-NH ₂	331		1854.04	928.43	1855.05	928.03	619.02
323	Ac-LTF\$r8AYWAQhL\$AANleA-NH ₂	332		1856.06	929.4	1857.07	929.04	619.69
324	Ac-LTF\$r8EYWAQCba\$SAAA-NH ₂	333		1814.96	909.37	1815.97	908.49	605.99
325	Ac-LTF\$r8EYWAQCba\$SAAA-NH ₂	334	iso2	1814.96	909.37	1815.97	908.49	605.99
326	Ac-LTF\$r8EYWAQCba\$SAAA-NH ₂	335		1886	944.61	1887.01	944.01	629.67
327	Ac-LTF\$r8EYWAQCba\$SAAA-NH ₂	336	iso2	1886	944.61	1887.01	944.01	629.67
328	Ac-ALTF\$r8EYWAQCba\$SAAA-NH ₂	337		1814.96	909.09	1815.97	908.49	605.99
329	Ac-ALTF\$r8EYWAQCba\$SAAA-NH ₂	338		1886	944.61	1887.01	944.01	629.67
330	Ac-ALTF\$r8EYWAQCba\$SAAA-NH ₂	339	iso2	1814.96	909.09	1815.97	908.49	605.99
331	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$AAAAa-NH ₂	340	iso2	1929.04	966.08	1930.05	965.53	644.02
332	Ac-LTF\$r8EY6clWAQCba\$SAA-NH ₂	341		1777.89	890.78	1778.9	889.95	593.64
333	Ac-LTF\$r8EF4cooh6clWAQCba\$SANleA-NH ₂	342		1918.96	961.27	1919.97	960.49	640.66
334	Ac-LTF\$r8EF4cooh6clWAQCba\$SANleA-NH ₂	343	iso2	1918.96	961.27	1919.97	960.49	640.66
335	Ac-LTF\$r8EF4cooh6clWAQCba\$AAIa-NH ₂	344		1902.97	953.03	1903.98	952.49	635.33
336	Ac-LTF\$r8EF4cooh6clWAQCba\$AAIa-NH ₂	345	iso2	1902.97	953.13	1903.98	952.49	635.33
337	Ac-LTF\$r8AY6clWAQL\$AAAAa-NH ₂	346		1905	954.61	1906.01	953.51	636.01
338	Ac-LTF\$r8AY6clWAQL\$AAAAa-NH ₂	347	iso2	1905	954.9	1906.01	953.51	636.01
339	Ac-F\$r8AY6clWEAL\$AAAAa-NH ₂	348		1762.89	883.01	1763.9	882.45	588.64
340	Ac-ETF\$r8EYWAQL\$AAAAa-NH ₂	349		1945	974.31	1946.01	973.51	649.34
341	Ac-ETF\$r8EYWAQL\$AAAAa-NH ₂	350	iso2	1945	974.49	1946.01	973.51	649.34
342	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$AAAAa-NH ₂	351		2000.08	1001.6	2001.09	1001.05	667.7
343	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$AAAAa-NH ₂	352	iso2	2000.08	1001.6	2001.09	1001.05	667.7
344	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AANleAa-NH ₂	353		1913.08	958.58	1914.09	957.55	638.7
345	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AANleAa-NH ₂	354	iso2	1913.08	958.58	1914.09	957.55	638.7
346	Ac-LTF\$r8EYWAQCba\$AAAAa-NH ₂	355		1941.04	972.55	1942.05	971.53	648.02
347	Ac-LTF\$r8EYWAQCba\$AAAAa-NH ₂	356	iso2	1941.04	972.55	1942.05	971.53	648.02
348	Ac-LTF\$r8EF4coohWAQCba\$AAAAa-NH ₂	357		1969.04	986.33	1970.05	985.53	657.35
349	Ac-LTF\$r8EF4coohWAQCba\$AAAAa-NH ₂	358	iso2	1969.04	986.06	1970.05	985.53	657.35
350	Ac-LTF\$r8EYWSQCba\$AAAAa-NH ₂	359		1957.04	980.04	1958.05	979.53	653.35
351	Ac-LTF\$r8EYWSQCba\$AAAAa-NH ₂	360	iso2	1957.04	980.04	1958.05	979.53	653.35
352	Ac-LTF\$r8EYWAQCba\$SAAa-NH ₂	361		1814.96	909	1815.97	908.49	605.99
353	Ac-LTF\$r8EYWAQCba\$SAAa-NH ₂	362	iso2	1814.96	909	1815.97	908.49	605.99
354	Ac-ALTF\$r8EYWAQCba\$SAAa-NH ₂	363		1886	944.52	1887.01	944.01	629.67
355	Ac-ALTF\$r8EYWAQCba\$SAAa-NH ₂	364	iso2	1886	944.98	1887.01	944.01	629.67
356	Ac-ALTF\$r8EYWAQCba\$SAAa-NH ₂	365		1957.04	980.04	1958.05	979.53	653.35
357	Ac-ALTF\$r8EYWAQCba\$SAAa-NH ₂	366	iso2	1957.04	980.04	1958.05	979.53	653.35
358	Ac-AALTF\$r8EYWAQCba\$SAAa-NH ₂	367		2028.07	1016.1	2029.08	1015.04	677.03
359	Ac-AALTF\$r8EYWAQCba\$SAAa-NH ₂	368	iso2	2028.07	1015.57	2029.08	1015.04	677.03
360	Ac-RTF\$r8EYWAQCba\$SAA-NH ₂	369		1786.94	895.03	1787.95	894.48	596.65
361	Ac-LRF\$r8EYWAQCba\$SAA-NH ₂	370		1798.98	901.51	1799.99	900.5	600.67
362	Ac-LTF\$r8EYWRQCba\$SAA-NH ₂	371		1828.99	916.4	1830	915.5	610.67
363	Ac-LTF\$r8EYWARCba\$SAA-NH ₂	372		1771.97	887.63	1772.98	886.99	591.66
364	Ac-LTF\$r8EYWAQCba\$RAA-NH ₂	373		1812.99	908.08	1814	907.5	605.34
365	Ac-LTF\$r8EYWAQCba\$SRA-NH ₂	374		1828.99	916.12	1830	915.5	610.67
366	Ac-LTF\$r8EYWAQCba\$SAR-NH ₂	375		1828.99	916.12	1830	915.5	610.67
367	5-FAM-BaLTF\$r8EYWAQCba\$SAA-NH ₂	376		2131	1067.09	2132.01	1066.51	711.34
368	5-FAM-BaLTF\$r8AYWAQL\$AANleA-NH ₂	377		2158.08	1080.6	2159.09	1080.05	720.37
369	Ac-LAF\$r8EYWAQL\$AANleA-NH ₂	378		1799	901.05	1800.01	900.51	600.67
370	Ac-ATF\$r8EYWAQL\$AANleA-NH ₂	379		1786.97	895.03	1787.98	894.49	596.66
371	Ac-AAF\$r8EYWAQL\$AANleA-NH ₂	380		1756.96	880.05	1757.97	879.49	586.66
372	Ac-AAAF\$r8EYWAQL\$AANleA-NH ₂	381		1827.99	915.57	1829	915	610.34
373	Ac-AAAF\$r8EYWAQL\$AANleA-NH ₂	382		1899.03	951.09	1900.04	950.52	634.02
374	Ac-AATF\$r8EYWAQL\$AANleA-NH ₂	383		1858	930.92	1859.01	930.01	620.34
375	Ac-AALTF\$r8EYWAQL\$AANleA-NH ₂	384		1971.09	987.17	1972.1	986.55	658.04

	序列	SEQ ID NO:	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
376	Ac-AAALTF\$r8EYWAQL\$AANleA-NH ₂	385		2042.12	1023.15	2043.13	1022.07	681.71
377	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$AANleAA-NH ₂	386		1900.05	952.02	1901.06	951.03	634.36
378	Ac-ALTF\$r8EYWAQL\$AANleAA-NH ₂	387		1971.09	987.63	1972.1	986.55	658.04
379	Ac-AALTF\$r8EYWAQL\$AANleAA-NH ₂	388		2042.12	1022.69	2043.13	1022.07	681.71
380	Ac-LTF\$r8EYWAQCba\$AANleAA-NH ₂	389		1912.05	958.03	1913.06	957.03	638.36
381	Ac-LTF\$r8EYWAQhL\$AANleAA-NH ₂	390		1914.07	958.68	1915.08	958.04	639.03
382	Ac-ALTF\$r8EYWAQhL\$AANleAA-NH ₂	391		1985.1	994.1	1986.11	993.56	662.71
383	Ac-LTF\$r8ANmYWAQL\$AANleA-NH ₂	392		1785.02	894.11	1786.03	893.52	596.01
384	Ac-LTF\$r8ANmYWAQL\$AANleA-NH ₂	393	iso2	1785.02	894.11	1786.03	893.52	596.01
385	Ac-LTF\$r8AYNmWAQL\$AANleA-NH ₂	394		1785.02	894.11	1786.03	893.52	596.01
386	Ac-LTF\$r8AYNmWAQL\$AANleA-NH ₂	395	iso2	1785.02	894.11	1786.03	893.52	596.01
387	Ac-LTF\$r8AYAmwAQL\$AANleA-NH ₂	396		1785.02	894.01	1786.03	893.52	596.01
388	Ac-LTF\$r8AYAmwAQL\$AANleA-NH ₂	397	iso2	1785.02	894.01	1786.03	893.52	596.01
389	Ac-LTF\$r8AYWAibQL\$AANleA-NH ₂	398		1785.02	894.01	1786.03	893.52	596.01
390	Ac-LTF\$r8AYWAibQL\$AANleA-NH ₂	399	iso2	1785.02	894.01	1786.03	893.52	596.01
391	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AAibNleA-NH ₂	400		1785.02	894.38	1786.03	893.52	596.01
392	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AAibNleA-NH ₂	401	iso2	1785.02	894.38	1786.03	893.52	596.01
393	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AaAibNleA-NH ₂	402		1771.01	887.54	1772.02	886.51	591.34
394	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AaAibNleA-NH ₂	403	iso2	1771.01	887.54	1772.02	886.51	591.34
395	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$ASarNleA-NH ₂	404		1771.01	887.35	1772.02	886.51	591.34
396	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$ASarNleA-NH ₂	405	iso2	1771.01	887.35	1772.02	886.51	591.34
397	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AANleAib-NH ₂	406		1785.02	894.75	1786.03	893.52	596.01
398	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AANleAib-NH ₂	407	iso2	1785.02	894.75	1786.03	893.52	596.01
399	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AANleNmA-NH ₂	408		1785.02	894.6	1786.03	893.52	596.01
400	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AANleNmA-NH ₂	409	iso2	1785.02	894.6	1786.03	893.52	596.01
401	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AANleSar-NH ₂	410		1771.01	886.98	1772.02	886.51	591.34
402	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AANleSar-NH ₂	411	iso2	1771.01	886.98	1772.02	886.51	591.34
403	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AANleAAib-NH ₂	412		1856.06		1857.07	929.04	619.69
404	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AANleAAib-NH ₂	413	iso2	1856.06		1857.07	929.04	619.69
405	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AANleANmA-NH ₂	414		1856.06	930.37	1857.07	929.04	619.69
406	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AANleANmA-NH ₂	415	iso2	1856.06	930.37	1857.07	929.04	619.69
407	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AANleAa-NH ₂	416		1842.04	922.69	1843.05	922.03	615.02
408	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AANleAa-NH ₂	417	iso2	1842.04	922.69	1843.05	922.03	615.02
409	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AANleASar-NH ₂	418		1842.04	922.6	1843.05	922.03	615.02
410	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AANleASar-NH ₂	419	iso2	1842.04	922.6	1843.05	922.03	615.02
411	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AANleA-NH ₂	420		1799.04	901.14	1800.05	900.53	600.69
412	Ac-LTF\$AibAYWAQL\$AANleA-NH ₂	421		1648.9	826.02	1649.91	825.46	550.64
413	Ac-LTF\$r8Cou4YWAQL\$AANleA-NH ₂	422		1975.05	989.11	1976.06	988.53	659.36
414	Ac-LTF\$r8Cou4YWAQL\$AANleA-NH ₂	423	iso2	1975.05	989.11	1976.06	988.53	659.36
415	Ac-LTF\$r8AYWCou4QL\$AANleA-NH ₂	424		1975.05	989.11	1976.06	988.53	659.36
416	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$Cou4ANleA-NH ₂	425		1975.05	989.57	1976.06	988.53	659.36
417	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$Cou4ANleA-NH ₂	426	iso2	1975.05	989.57	1976.06	988.53	659.36
418	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$ACou4NleA-NH ₂	427		1975.05	989.57	1976.06	988.53	659.36
419	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$ACou4NleA-NH ₂	428	iso2	1975.05	989.57	1976.06	988.53	659.36
420	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AANleA-OH	429		1771.99	887.63	1773	887	591.67
421	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AANleA-OH	430	iso2	1771.99	887.63	1773	887	591.67
422	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AANleA-NHnPr	431		1813.05	908.08	1814.06	907.53	605.36
423	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AANleA-NHnPr	432	iso2	1813.05	908.08	1814.06	907.53	605.36
424	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AANleA-NHnBu33Me	433		1855.1	929.17	1856.11	928.56	619.37
425	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AANleA-NHnBu33Me	434	iso2	1855.1	929.17	1856.11	928.56	619.37
426	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AANleA-NHHex	435		1855.1	929.17	1856.11	928.56	619.37
427	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AANleA-NHHex	436	iso2	1855.1	929.17	1856.11	928.56	619.37
428	Ac-LTA\$r8AYWAQL\$AANleA-NH ₂	437		1694.98	849.33	1695.99	848.5	566
429	Ac-LThL\$r8AYWAQL\$AANleA-NH ₂	438		1751.04	877.09	1752.05	876.53	584.69
430	Ac-LTF\$r8AYAAQL\$AANleA-NH ₂	439		1655.97	829.54	1656.98	828.99	553
431	Ac-LTF\$r8AY2NaAQL\$AANleA-NH ₂	440		1782.01	892.63	1783.02	892.01	595.01
432	Ac-LTF\$r8EYWCou4QCba\$SAA-NH ₂	441		1947.97	975.8	1948.98	974.99	650.33
433	Ac-LTF\$r8EYWCou7QCba\$SAA-NH ₂	442		16.03	974.9	17.04	9.02	6.35
434	Ac-LTF\$r8EYWAQCba\$SAA-NH ₂	443		1745.94	874.8	1746.95	873.98	582.99
435	Dmaac-LTF\$r8EYWAQCba\$SAA-NH ₂	444		1786.97	894.8	1787.98	894.49	596.66
436	Dmaac-LTF\$r8AYWAQL\$AAAAAa-NH ₂	445		1914.08	958.2	1915.09	958.05	639.03
437	Dmaac-LTF\$r8AYWAQL\$AAAAAa-NH ₂	446	iso2	1914.08	958.2	1915.09	958.05	639.03

	序列	SEQ ID NO:	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
438	Dmaac-LTF\$r8EYWAQL\$AAAAAa-NH ₂	447		1972.08	987.3	1973.09	987.05	658.37
439	Dmaac-LTF\$r8EYWAQL\$AAAAAa-NH ₂	448	iso2	1972.08	987.3	1973.09	987.05	658.37
440	Dmaac-LTF\$r8EF4coohWAQCba\$AAIa-NH ₂	449		1912.05	957.4	1913.06	957.03	638.36
441	Dmaac-LTF\$r8EF4coohWAQCba\$AAIa-NH ₂	450	iso2	1912.05	957.4	1913.06	957.03	638.36
442	Dmaac-LTF\$r8AYWAQL\$AANleA-NH ₂	451		1814.05	908.3	1815.06	908.03	605.69
443	Dmaac-LTF\$r8AYWAQL\$AANleA-NH ₂	452	iso2	1814.05	908.3	1815.06	908.03	605.69
444	Ac-LTF\$r8AYWAQL%AANleA-NH ₂	453		1773.02	888.37	1774.03	887.52	592.01
445	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$AAAAAa-NH ₂	454		1931.06	966.4	1932.07	966.54	644.69
446	Cou6BaLTF\$r8EYWAQhL\$SAA-NH ₂	455		2018.05	1009.9	2019.06	1010.03	673.69
447	Cou8BaLTF\$r8EYWAQhL\$SAA-NH ₂	456		1962.96	982.34	1963.97	982.49	655.32
448	Ac-LTF4I\$r8EYWAQL\$AAAAAa-NH ₂	457		2054.93	1028.68	2055.94	1028.47	685.98
449	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$AAAAAa-NH ₂	458		1929.04	966.17	1930.05	966.53	644.02
550	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$AAAAAa-OH	459		1930.02	966.54	1931.03	966.02	644.35
551	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$AAAAAa-OH	460	iso2	1930.02	965.89	1931.03	966.02	644.35
552	Ac-LTF\$r8EYWAEL\$AAAAAa-NH ₂	461		1930.02	966.82	1931.03	966.02	644.35
553	Ac-LTF\$r8EYWAEL\$AAAAAa-NH ₂	462	iso2	1930.02	966.91	1931.03	966.02	644.35
554	Ac-LTF\$r8EYWAEL\$AAAAAa-OH	463		1931.01	967.28	1932.02	966.51	644.68
555	Ac-LTF\$r8EY6cIWAQL\$AAAAAa-NH ₂	464		1963	983.28	1964.01	982.51	655.34
556	Ac-LTF\$r8EF4bOH2WAQL\$AAAAAa-NH ₂	465		1957.05	980.04	1958.06	979.53	653.36
557	Ac-AAALTF\$r8EYWAQL\$AAAAAa-NH ₂	466		2142.15	1072.83	2143.16	1072.08	715.06
558	Ac-LTF34F2\$r8EYWAQL\$AAAAAa-NH ₂	467		1965.02	984.3	1966.03	983.52	656.01
559	Ac-RTF\$r8EYWAQL\$AAAAAa-NH ₂	468		1972.06	987.81	1973.07	987.04	658.36
560	Ac-LTA\$r8EYWAQL\$AAAAAa-NH ₂	469		1853.01	928.33	1854.02	927.51	618.68
561	Ac-LTF\$r8EYWAibQL\$AAAAAa-NH ₂	470		1943.06	973.48	1944.07	972.54	648.69
562	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$AAIbAAAA-NH ₂	471		1943.06	973.11	1944.07	972.54	648.69
563	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$AAAIbAAAA-NH ₂	472		1943.06	973.48	1944.07	972.54	648.69
564	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$AAAIbAa-NH ₂	473		1943.06	973.48	1944.07	972.54	648.69
565	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$AAAAIba-NH ₂	474		1943.06	973.38	1944.07	972.54	648.69
566	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$AAAAIba-NH ₂	475	iso2	1943.06	973.38	1944.07	972.54	648.69
567	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$AAAAAib-NH ₂	476		1943.06	973.01	1944.07	972.54	648.69
568	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$AaAAAA-NH ₂	477		1929.04	966.54	1930.05	965.53	644.02
569	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$AaAaAa-NH ₂	478		1929.04	966.35	1930.05	965.53	644.02
570	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$AaAaAa-NH ₂	479		1929.04	966.54	1930.05	965.53	644.02
571	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$AaAaAa-NH ₂	480	iso2	1929.04	966.35	1930.05	965.53	644.02
572	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$AAAAAa-NH ₂	481		1929.04	966.35	1930.05	965.53	644.02
573	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$AAAAAa-NH ₂	482		1929.04	966.35	1930.05	965.53	644.02
574	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$ASarAAaAa-NH ₂	483		1929.04	966.54	1930.05	965.53	644.02
575	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$ASarAAaAa-NH ₂	484		1929.04	966.35	1930.05	965.53	644.02
576	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$ASarAAaAa-NH ₂	485		1929.04	966.35	1930.05	965.53	644.02
577	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$AAAAAa-NH ₂	486		1929.04	966.35	1930.05	965.53	644.02
578	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$AAAAAa-NH ₂	487		1929.04	966.08	1930.05	965.53	644.02
579	Ac-7LTF\$r8EYWAQL\$AAAAAa-NH ₂	488		1918.07	951.99	1919.08	960.04	640.37
581	Ac-TF\$r8EYWAQL\$AAAAAa-NH ₂	489		1815.96	929.85	1816.97	908.99	606.33
582	Ac-F\$r8EYWAQL\$AAAAAa-NH ₂	490		1714.91	930.92	1715.92	858.46	572.64
583	Ac-LVF\$r8EYWAQL\$AAAAAa-NH ₂	491		1927.06	895.12	1928.07	964.54	643.36
584	Ac-AAF\$r8EYWAQL\$AAAAAa-NH ₂	492		1856.98	859.51	1857.99	929.5	620
585	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$AAAAAa-NH ₂	493		1858	824.08	1859.01	930.01	620.34
586	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$AAAAAa-NH ₂	494		1786.97	788.56	1787.98	894.49	596.66
587	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$AAAAAa-NH ₂	495		1715.93	1138.57	1716.94	858.97	572.98
588	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$Aa-NH ₂	496		1644.89	1144.98	1645.9	823.45	549.3
589	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$Aa-NH ₂	497		1573.85	1113.71	1574.86	787.93	525.62
590	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$AAA-OH	498		1716.91	859.55	1717.92	859.46	573.31
591	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$A-OH	499		1574.84	975.14	1575.85	788.43	525.95
592	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$AAA-NH ₂	500		1715.93	904.75	1716.94	858.97	572.98
593	Ac-LTF\$r8EYWAQCba\$SAA-OH	501		1744.91	802.49	1745.92	873.46	582.64
594	Ac-LTF\$r8EYWAQCba\$S-OH	502		1602.83	913.53	1603.84	802.42	535.28
595	Ac-LTF\$r8EYWAQCba\$S-NH ₂	503		1601.85	979.58	1602.86	801.93	534.96
596	4-FBzl-LTF\$r8EYWAQL\$AAAAAa-NH ₂	504		2009.05	970.52	2010.06	1005.53	670.69
597	4-FBzl-LTF\$r8EYWAQCba\$SAA-NH ₂	505		1823.93	965.8	1824.94	912.97	608.98
598	Ac-LTF\$r8RYWAQL\$AAAAAa-NH ₂	506		1956.1	988.28	1957.11	979.06	653.04
599	Ac-LTF\$r8HYWAQL\$AAAAAa-NH ₂	507		1937.06	1003.54	1938.07	969.54	646.69
600	Ac-LTF\$r8QYWAQL\$AAAAAa-NH ₂	508		1928.06	993.92	1929.07	965.04	643.69

	序列	SEQ ID NO:	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
601	Ac-LTF\$r8CitYWAQL\$AAAAAa-NH ₂	509		1957.08	987	1958.09	979.55	653.37
602	Ac-LTF\$r8GlaYWAQL\$AAAAAa-NH ₂	510		1973.03	983	1974.04	987.52	658.68
603	Ac-LTF\$r8F4gYWAQL\$AAAAAa-NH ₂	511		2004.1	937.86	2005.11	1003.06	669.04
604	Ac-LTF\$r82mRYWAQL\$AAAAAa-NH ₂	512		1984.13	958.58	1985.14	993.07	662.38
605	Ac-LTF\$r8ipKYWAQL\$AAAAAa-NH ₂	513		1970.14	944.52	1971.15	986.08	657.72
606	Ac-LTF\$r8F4NH ₂ YWAQL\$AAAAAa-NH ₂	514		1962.08	946	1963.09	982.05	655.03
607	Ac-LTF\$r8EYWAAL\$AAAAAa-NH ₂	515		1872.02	959.32	1873.03	937.02	625.01
608	Ac-LTF\$r8EYWALL\$AAAAAa-NH ₂	516		1914.07	980.88	1915.08	958.04	639.03
609	Ac-LTF\$r8EYWAAibL\$AAAAAa-NH ₂	517		1886.03	970.61	1887.04	944.02	629.68
610	Ac-LTF\$r8EYWASL\$AAAAAa-NH ₂	518		1888.01	980.51	1889.02	945.01	630.34
611	Ac-LTF\$r8EYWANL\$AAAAAa-NH ₂	519		1915.02	1006.41	1916.03	958.52	639.35
612	Ac-LTF\$r8EYWACitL\$AAAAAa-NH ₂	520		1958.07		1959.08	980.04	653.7
613	Ac-LTF\$r8EYWAHL\$AAAAAa-NH ₂	521		1938.04	966.24	1939.05	970.03	647.02
614	Ac-LTF\$r8EYWARL\$AAAAAa-NH ₂	522		1957.08		1958.09	979.55	653.37
615	Ac-LTF\$r8EpYWAQL\$AAAAAa-NH ₂	523		2009.01		2010.02	1005.51	670.68
616	Cbm-LTF\$r8EYWAQCba\$SAA-NH ₂	524		1590.85		1591.86	796.43	531.29
617	Cbm-LTF\$r8EYWAQL\$AAAAAa-NH ₂	525		1930.04		1931.05	966.03	644.35
618	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$SAAAAa-NH ₂	526		1945.04	1005.11	1946.05	973.53	649.35
619	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$AAAASa-NH ₂	527		1945.04	986.52	1946.05	973.53	649.35
620	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$SAAAASa-NH ₂	528		1961.03	993.27	1962.04	981.52	654.68
621	Ac-LTF\$r8EYWAQTba\$AAAAAa-NH ₂	529		1943.06	983.1	1944.07	972.54	648.69
622	Ac-LTF\$r8EYWAQAdm\$AAAAAa-NH ₂	530		2007.09	990.31	2008.1	1004.55	670.04
623	Ac-LTF\$r8EYWAQCha\$AAAAAa-NH ₂	531		1969.07	987.17	1970.08	985.54	657.36
624	Ac-LTF\$r8EYWAQhCha\$AAAAAa-NH ₂	532		1983.09	1026.11	1984.1	992.55	662.04
625	Ac-LTF\$r8EYWAQF\$AAAAAa-NH ₂	533		1963.02	957.01	1964.03	982.52	655.35
626	Ac-LTF\$r8EYWAQhF\$AAAAAa-NH ₂	534		1977.04	1087.81	1978.05	989.53	660.02
627	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$AANleAAa-NH ₂	535		1971.09	933.45	1972.1	986.55	658.04
628	Ac-LTF\$r8EYWAQAdm\$AANleAAa-NH ₂	536		2049.13	1017.97	2050.14	1025.57	684.05
629	4-FBz-BaLTF\$r8EYWAQL\$AAAAAa-NH ₂	537		2080.08		2081.09	1041.05	694.37
630	4-FBz-BaLTF\$r8EYWAQCba\$SAA-NH ₂	538		1894.97		1895.98	948.49	632.66
631	Ac-LTF\$r5EYWAQL\$S8AAAAAa-NH ₂	539		1929.04	1072.68	1930.05	965.53	644.02
632	Ac-LTF\$r5EYWAQCba\$S8SAA-NH ₂	540		1743.92	1107.79	1744.93	872.97	582.31
633	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$AAhhLAAa-NH ₂	541		1999.12		2000.13	1000.57	667.38
634	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$AAAAAAAa-NH ₂	542		2071.11		2072.12	1036.56	691.38
635	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$AAAAAAAa-NH ₂	543		2142.15	778.1	2143.16	1072.08	715.06
636	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$AAAAAAAa-NH ₂	544		2213.19	870.53	2214.2	1107.6	738.74
637	Ac-LTA\$r8EYAAQCb\$SAA-NH ₂	545		1552.85		1553.86	777.43	518.62
638	Ac-LTA\$r8EYAAQL\$AAAAAa-NH ₂	546		1737.97	779.45	1738.98	869.99	580.33
639	Ac-LTF\$r8EPmpWAQL\$AAAAAa-NH ₂	547		2007.03	779.54	2008.04	1004.52	670.02
640	Ac-LTF\$r8EPmpWAQCba\$SAA-NH ₂	548		1821.91	838.04	1822.92	911.96	608.31
641	Ac-ATF\$r8HYWAQL\$S-NH ₂	549		1555.82	867.83	1556.83	778.92	519.61
642	Ac-LTF\$r8HAWAQL\$S-NH ₂	550		1505.84	877.91	1506.85	753.93	502.95
643	Ac-LTF\$r8HYWAQAS\$S-NH ₂	551		1555.82	852.52	1556.83	778.92	519.61
644	Ac-LTF\$r8EYWAQCba\$SA-NH ₂	552		1672.89	887.18	1673.9	837.45	558.64
645	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$SAA-NH ₂	553		1731.92	873.32	1732.93	866.97	578.31
646	Ac-LTF\$r8HYWAQCba\$SAA-NH ₂	554		1751.94	873.05	1752.95	876.98	584.99
647	Ac-LTF\$r8SYWAQCba\$SAA-NH ₂	555		1701.91	844.88	1702.92	851.96	568.31
648	Ac-LTF\$r8RYWAQCba\$SAA-NH ₂	556		1770.98	865.58	1771.99	886.5	591.33
649	Ac-LTF\$r8KYWAQCba\$SAA-NH ₂	557		1742.98	936.57	1743.99	872.5	582
650	Ac-LTF\$r8QYWAQCba\$SAA-NH ₂	558		1742.94	930.93	1743.95	872.48	581.99
651	Ac-LTF\$r8EYWAACba\$SAA-NH ₂	559		1686.9	1032.45	1687.91	844.46	563.31
652	Ac-LTF\$r8EYWAQCba\$AAA-NH ₂	560		1727.93	895.46	1728.94	864.97	576.98
653	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$AAAAA-OH	561		1858.99	824.54	1860	930.5	620.67
654	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$AAAAA-OH	562		1787.95	894.48	1788.96	894.98	596.99
655	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$AA-OH	563		1645.88	856	1646.89	823.95	549.63
656	Ac-LTF\$r8AF4bOH2WAQL\$AAAAAa-NH ₂	564						
657	Ac-LTF\$r8AF4bOH2WAAL\$AAAAAa-NH ₂	565						
658	Ac-LTF\$r8EF4bOH2WAQCba\$SAA-NH ₂	566						
659	Ac-LTF\$r8ApYWAQL\$AAAAAa-NH ₂	567						
660	Ac-LTF\$r8ApYWAAL\$AAAAAa-NH ₂	568						
661	Ac-LTF\$r8EpYWAQCba\$SAA-NH ₂	569						
662	Ac-LTF\$rdA6AYWAQL\$da5AAAAAa-NH ₂	570		1974.06	934.44			

	序列	SEQ ID NO:	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\$rd6EYWAQCba\$da5SAA-NH ₂	571		1846.95	870.52		869.94	
664	Ac-LTF\$rd6EYWAQL\$da5AAAAAa-NH ₂	572						
665	Ac-LTF\$ra9EYWAQL\$a6AAAAAa-NH ₂	573			936.57		935.51	
666	Ac-LTF\$ra9EYWAQL\$a6AAAAAa-NH ₂	574						
667	Ac-LTF\$ra9EYWAQCba\$a6SAA-NH ₂	575						
668	Ac-LTA\$ra9EYWAQCba\$a6SAA-NH ₂	576						
669	5-FAM-BaLTF\$ra9EYWAQCba\$a6SAA-NH ₂	577						
670	5-FAM-BaLTF\$r8EYWAQL\$AAAAAa-NH ₂	578		2316.11				
671	5-FAM-BaLTF\$r8EYWAQL\$/AAAAAa-NH ₂	579		2344.15				
672	5-FAM-BaLTA\$r8EYWAQL\$AAAAAa-NH ₂	580		2240.08				
673	5-FAM-BaLTF\$r8AYWAQL\$AAAAAa-NH ₂	581		2258.11				
674	5-FAM-BaLTF\$r8EYWAQL\$AAAAAa-NH ₂	582		2274.07				
675	5-FAM-BaLAF\$r8EYWAQL\$AAAAAa-NH ₂	583		2286.1				
676	5-FAM-BaLTF\$r8EAWAQL\$AAAAAa-NH ₂	584		2224.09				
677	5-FAM-BaLTF\$r8EYAAQL\$AAAAAa-NH ₂	585		2201.07				
678	5-FAM-BaLTA\$r8EYAAQL\$AAAAAa-NH ₂	586		2125.04				
679	5-FAM-BaLTF\$r8EYWAAL\$AAAAAa-NH ₂	587		2259.09				
680	5-FAM-BaLTF\$r8EYWAQA\$AAAAAa-NH ₂	588		2274.07				
681	5-FAM-BaLTF\$r8EYWAQCba\$/SAA-NH ₂	589		2159.03				
682	5-FAM-BaLTA\$r8EYWAQCba\$/SAA-NH ₂	590		2054.97				
683	5-FAM-BaLTF\$r8EYAAQCba\$/SAA-NH ₂	591		2015.96				
684	5-FAM-BaLTA\$r8EYAAQCba\$/SAA-NH ₂	592		1939.92				
685	5-FAM-BaSQQTF\$r8NLWRL\$QN-NH ₂	593		2495.23				
686	5-TAMRA-BaLTF\$r8EYWAQCba\$/SAA-NH ₂	594		2186.1				
687	5-TAMRA-BaLTA\$r8EYWAQCba\$/SAA-NH ₂	595		2110.07				
688	5-TAMRA-BaLTF\$r8EYAAQCba\$/SAA-NH ₂	596		2071.06				
689	5-TAMRA-BaLTA\$r8EYAAQCba\$/SAA-NH ₂	597		1995.03				
690	5-TAMRA-BaLTF\$r8EYWAQCba\$/SAA-NH ₂	598		2214.13				
691	5-TAMRA-BaLTF\$r8EYWAQL\$AAAAAa-NH ₂	599		2371.22				
692	5-TAMRA-BaLTA\$r8EYWAQL\$AAAAAa-NH ₂	600		2295.19				
693	5-TAMRA-BaLTF\$r8EYWAQL\$/AAAAAa-NH ₂	601		2399.25				
694	Ac-LTF\$r8EYWCou7QCba\$/SAA-OH	602		1947.93				
695	Ac-LTF\$r8EYWCou7QCba\$/S-OH	603		1805.86				
696	Ac-LTA\$r8EYWCou7QCba\$/SAA-NH ₂	604		1870.91				
697	Ac-LTF\$r8EYACou7QCba\$/SAA-NH ₂	605		1831.9				
698	Ac-LTA\$r8EYACou7QCba\$/SAA-NH ₂	606		1755.87				
699	Ac-LTF\$r8EYWCou7QCba\$/SAA-NH ₂	607		1974.98				
700	Ac-LTF\$r8EYWCou7QL\$AAAAAa-NH ₂	608		2132.06				
701	Ac-LTF\$r8EYWCou7QL\$/AAAAAa-NH ₂	609		2160.09				
702	Ac-LTF\$r8EYWCou7QL\$AAAAA-OH	610		2062.01				
703	Ac-LTF\$r8EYWCou7QL\$AAAA-OH	611		1990.97				
704	Ac-LTF\$r8EYWCou7QL\$AAA-OH	612		1919.94				
705	Ac-LTF\$r8EYWCou7QL\$AA-OH	613		1848.9				
706	Ac-LTF\$r8EYWCou7QL\$A-OH	614		1777.86				
707	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$AAAAAa-NH ₂	615	iso2		974.4		973.53	
708	Ac-LTF\$r8AYWAAL\$AAAAAa-NH ₂	616	iso2	1814.01	908.82	1815.02	908.01	605.68
709	Biotin-BaLTF\$r8EYWAQL\$AAAAAa-NH ₂	617		2184.14	1093.64	2185.15	1093.08	729.05
710	Ac-LTF\$r8HAWAQL\$/S-NH ₂	618	iso2	1505.84	754.43	1506.85	753.93	502.95
711	Ac-LTF\$r8EYWAQCba\$/SA-NH ₂	619	iso2	1672.89	838.05	1673.9	837.45	558.64
712	Ac-LTF\$r8HYWAQCba\$/SAA-NH ₂	620	iso2	1751.94	877.55	1752.95	876.98	584.99
713	Ac-LTF\$r8SYWAQCba\$/SAA-NH ₂	621	iso2	1701.91	852.48	1702.92	851.96	568.31
714	Ac-LTF\$r8RYWAQCba\$/SAA-NH ₂	622	iso2	1770.98	887.45	1771.99	886.5	591.33
715	Ac-LTF\$r8KYWAQCba\$/SAA-NH ₂	623	iso2	1742.98	872.92	1743.99	872.5	582
716	Ac-LTF\$r8EYWAQCba\$/AAA-NH ₂	624	iso2	1727.93	865.71	1728.94	864.97	576.98
717	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$AAAAAaBaC-NH ₂	625		2103.09	1053.12	2104.1	1052.55	702.04
718	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$AAAAAadPeg4C-NH ₂	626		2279.19	1141.46	2280.2	1140.6	760.74
719	Ac-LTA\$r8AYWAAL\$AAAAAa-NH ₂	627		1737.98	870.43	1738.99	870	580.33
720	Ac-LTF\$r8AYAAAL\$AAAAAa-NH ₂	628		1698.97	851	1699.98	850.49	567.33
721	5-FAM-BaLTF\$r8AYWAAL\$AAAAAa-NH ₂	629		2201.09	1101.87	2202.1	1101.55	734.7
722	Ac-LTA\$r8AYWAQL\$AAAAAa-NH ₂	630		1795	898.92	1796.01	898.51	599.34
723	Ac-LTF\$r8AYAAQL\$AAAAAa-NH ₂	631		1755.99	879.49	1757	879	586.34
724	Ac-LTF\$rd6AYWAAL\$da5AAAAAa-NH ₂	632		1807.97		1808.98	904.99	603.66

	序列	SEQ ID NO:	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
725	FITC-BaLTF\$r8EYWAQL\$AAAAAa-NH ₂	633		2347.1	1174.49	2348.11	1174.56	783.37
726	FITC-BaLTF\$r8EYWAQCba\$SAA-NH ₂	634		2161.99	1082.35	2163	1082	721.67
733	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$EAAAAa-NH ₂	635		1987.05	995.03	1988.06	994.53	663.36
734	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$EAAAAa-NH ₂	636		1929.04	966.35	1930.05	965.53	644.02
735	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$AAAAAaBaKbio-NH ₂	637		2354.25	1178.47	2355.26	1178.13	785.76
736	Ac-LTF\$r8AYWAAL\$AAAAAa-NH ₂	638		1814.01	908.45	1815.02	908.01	605.68
737	Ac-LTF\$r8AYAAAL\$AAAAAa-NH ₂	639	iso2	1698.97	850.91	1699.98	850.49	567.33
738	Ac-LTF\$r8AYAAQL\$AAAAAa-NH ₂	640	iso2	1755.99	879.4	1757	879	586.34
739	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$EAAAAa-NH ₂	641	iso2	1987.05	995.21	1988.06	994.53	663.36
740	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$EAAAAa-NH ₂	642	iso2	1929.04	966.08	1930.05	965.53	644.02
741	Ac-LTF\$r8EYWAQCba\$SAAAAa-NH ₂	643		1957.04	980.04	1958.05	979.53	653.35
742	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$AAAA\$r5AA-NH ₂	644		2023.12	1012.83	2024.13	1012.57	675.38
743	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$AAAA\$A-NH ₂	645		2108.17	1055.44	2109.18	1055.09	703.73
744	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$AAAA\$A\$A-NH ₂	646		2179.21	1090.77	2180.22	1090.61	727.41
745	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$AAAA\$A\$A\$A-NH ₂	647		2250.25	1126.69	2251.26	1126.13	751.09
746	Ac-AAALTF\$r8EYWAQL\$AAA-OH	648		1930.02		1931.03	966.02	644.35
747	Ac-AAALTF\$r8EYWAQL\$AAA-NH ₂	649		1929.04	965.85	1930.05	965.53	644.02
748	Ac-AAALTF\$r8EYWAQL\$AAA-NH ₂	650		2000.08	1001.4	2001.09	1001.05	667.7
749	Ac-AAALTF\$r8EYWAQL\$AAA-NH ₂	651		2071.11	1037.13	2072.12	1036.56	691.38
750	Ac-AAALTF\$r8EYWAQL\$AAA-NH ₂	652		2142.15		2143.16	1072.08	715.06
751	Ac-LTF\$rda6EYWAQCba\$da6SAA-NH ₂	653	iso2	1751.89	877.36	1752.9	876.95	584.97
752	Ac-t\$r5wya\$r5f4CF3ekllr-NH ₂	654			844.25			
753	Ac-tawyr5nf4CF3e\$r5llr-NH ₂	655			837.03			
754	Ac-tawyr5f4CF3ek\$r5lr-NH ₂	656			822.97			
755	Ac-tawyanf4CF3e\$r5llr\$r5a-NH ₂	657			908.35			
756	Ac-tss8wyanf4CF3e\$r5llr-NH ₂	658			858.03			
757	Ac-tawyr5nf4CF3ekllr5a-NH ₂	659			879.86			
758	Ac-tawyr5f4CF3ekllr5a-NH ₂	660			936.38			
759	Ac-tawyr5naekllr5a-NH ₂	661			844.25			
760	5-FAM-Batawyr5nf4CF3ekllr5a-NH ₂	662						
761	5-FAM-Batawyr5naekllr5a-NH ₂	663						
762	Ac-tawyr5nf4CF3eallr5a-NH ₂	664						
763	Ac-tawyr5nf4CF3ekllr5aaaa-NH ₂	665						
764	Ac-tawyr5nf4CF3eallr5aaaa-NH ₂	666						

[0352] 表3a显示拟肽大环化合物的选择。

表3a

	序列	SEQ ID NO:	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	667		1885	943.59	1886.01	943.51	629.34
331	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$AAAAAa-NH ₂	668	iso2	1929.04	966.08	1930.05	965.53	644.02
555	Ac-LTF\$r8EY6clWAQL\$AAAAAa-NH ₂	669		1963	983.28	1964.01	982.51	655.34
557	Ac-AAALTF\$r8EYWAQL\$AAAAAa-NH ₂	670		2142.15	1072.83	2143.16	1072.08	715.06
558	Ac-LTF34F2\$r8EYWAQL\$AAAAAa-NH ₂	671		1965.02	984.3	1966.03	983.52	656.01
562	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$AAIbAAAa-NH ₂	672		1943.06	973.11	1944.07	972.54	648.69
564	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$AAAAIbAa-NH ₂	673		1943.06	973.48	1944.07	972.54	648.69
566	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$AAAAAIbA-NH ₂	674	iso2	1943.06	973.38	1944.07	972.54	648.69
567	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$AAAAAIb-NH ₂	675		1943.06	973.01	1944.07	972.54	648.69
572	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$AAAAaa-NH ₂	676		1929.04	966.35	1930.05	965.53	644.02
573	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$AAAAAA-NH ₂	677		1929.04	966.35	1930.05	965.53	644.02
578	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$AAAAASar-NH ₂	678		1929.04	966.08	1930.05	965.53	644.02
551	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$AAAAAa-OH	679	iso2	1930.02	965.89	1931.03	966.02	644.35
662	Ac-LTF\$rda6AYWAQL\$da5AAAAAa-NH ₂	680		1974.06	934.44		933.49	
367	5-FAM-BaLTF\$r8EYWAQCba\$SAA-NH ₂	681		2131	1067.09	2132.01	1066.51	711.34
349	Ac-LTF\$r8EF4coohWAQCba\$AAAAAa-N	682	iso2	1969.04	986.06	1970.05	985.53	657.35
	H ₂							
347	Ac-LTF\$r8EYWAQCba\$AAAAAa-NH ₂	683	iso2	1941.04	972.55	1942.05	971.53	648.02

[0353] 表3b显示拟肽大环化合物的进一步选择。

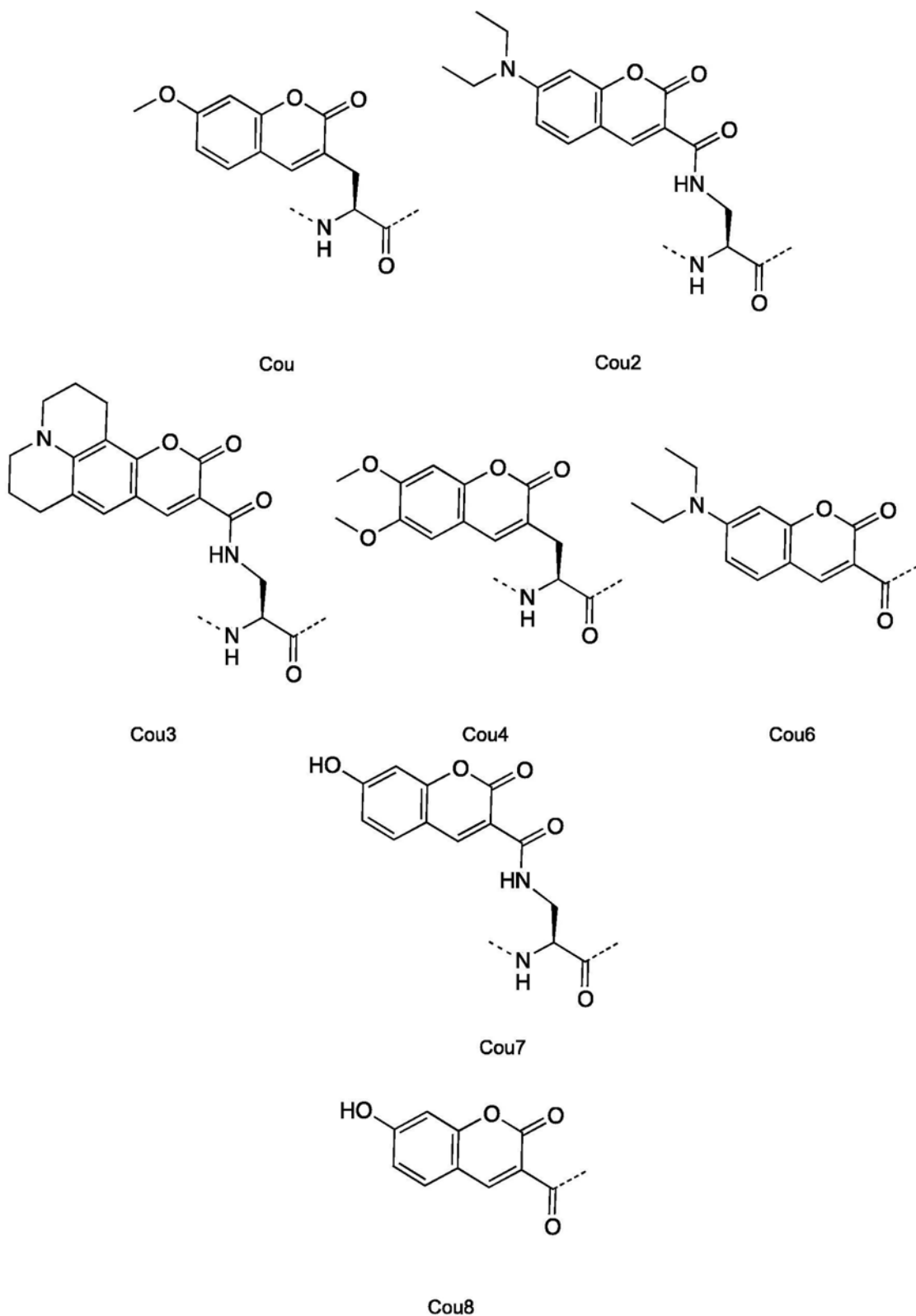
表3b

SP	序列	SEQ ID NO:	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-TFSr8EYWAQLSAAAAAa-NH ₂	684		1815.96	929.85	1816.97	908.99	606.33
582	Ac-FSr8EYWAQLSAAAAAa-NH ₂	685		1714.91	930.92	1715.92	858.46	572.64
583	Ac-LVFSr8EYWAQLSAAAAAa-NH ₂	686		1927.06	895.12	1928.07	964.54	643.36
584	Ac-AAFSr8EYWAQLSAAAAAa-NH ₂	687		1856.98	859.51	1857.99	929.5	620
585	Ac-LTFSr8EYWAQLSAAAAa-NH ₂	688		1858	824.08	1859.01	930.01	620.34
586	Ac-LTFSr8EYWAQLSAAAa-NH ₂	689		1786.97	788.56	1787.98	894.49	596.66
587	Ac-LTFSr8EYWAQLSAAa-NH ₂	690		1715.93	1138.57	1716.94	858.97	572.98
588	Ac-LTFSr8EYWAQLSAa-NH ₂	691		1644.89	1144.98	1645.9	823.45	549.3
589	Ac-LTFSr8EYWAQLSa-NH ₂	692		1573.85	1113.71	1574.86	787.93	525.62

[0354] 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-丙氨酸烯炔氨基酸,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-丙氨酸烯炔氨基酸,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-丙氨酸烯炔氨基酸,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-丙氨酸烯炔氨基酸,其包含一个双键。“Ahx”表示氨基环己基连接体。该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-丙氨酸烯炔氨基酸。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-丙氨酸烯炔氨基酸。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-丙氨酸烯炔氨基酸。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-丙氨酸烯炔氨基酸。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炔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炔侧链的氨基酸。由“%St”表示的氨基酸是包含两条戊烯基丙氨酸烯炔侧链且如所示每条侧链通过完全饱和的炔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)。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“Chg”的氨基酸表示环己基甘氨酸。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“F3C1”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。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炔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炔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“isol”或“iso2”指示该拟肽大环化合物是单一异构体。

[0355] 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：

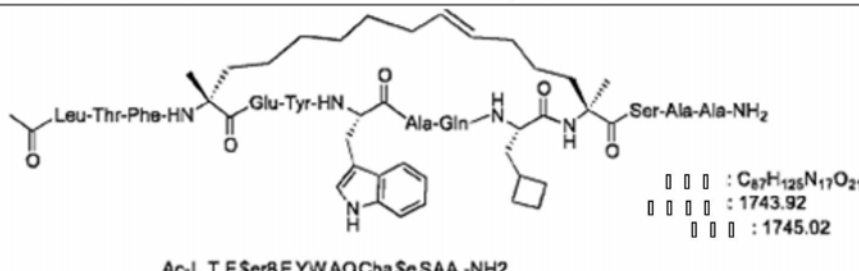
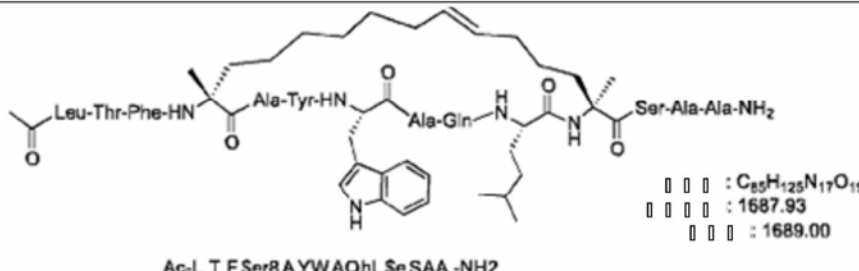
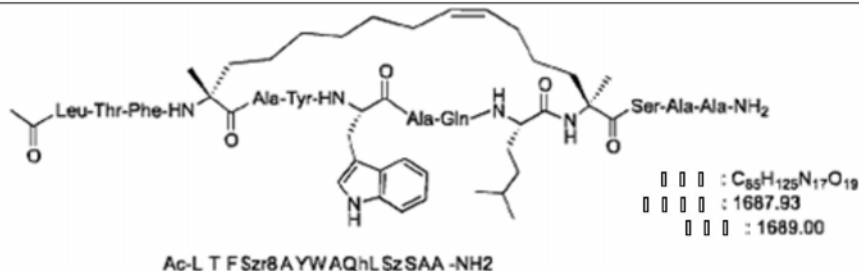
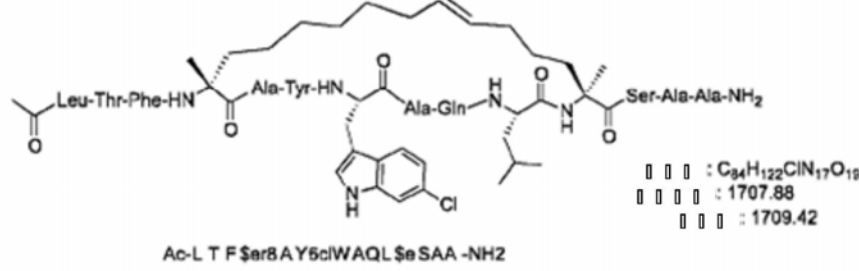


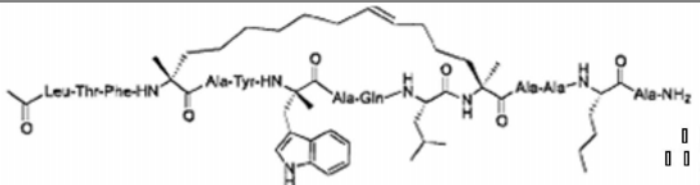
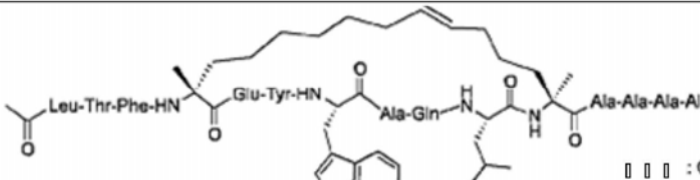
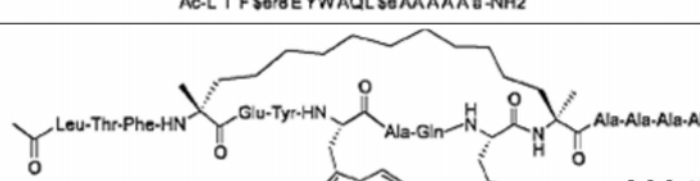
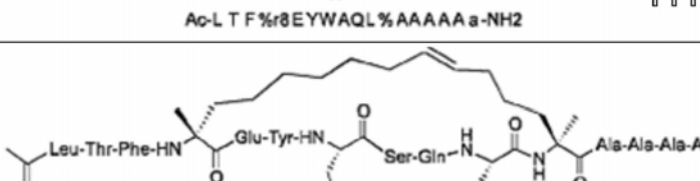
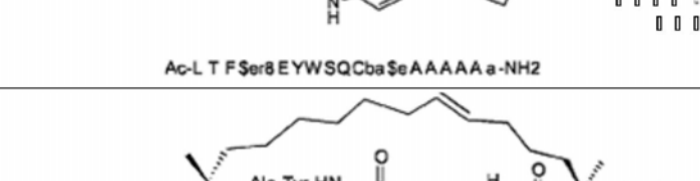
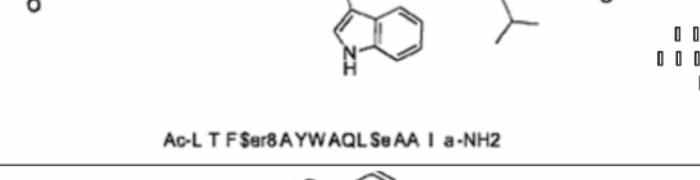
[0356] 在一些实施方案中,拟肽大环化合物以多于一种异构体获得,例如这是由于交联体结构中双键的构型(E与Z)造成的。此类异构体能够或不能通过常规的色谱法分离。在一些实施方案中,一种异构体相对于其他异构体具有改善的生物学性质。在一个实施方案中,拟肽大环化合物的E交联体烯烃异构体相对于其Z对应物具有更好的溶解度、更好的靶标亲和性、更好的体内或体外效力、更高的螺旋度或提高的细胞透性。在一个实施方案中,

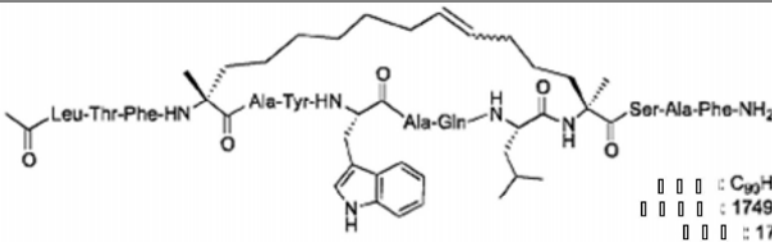
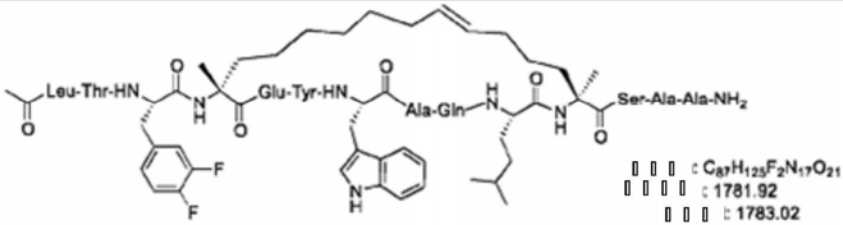
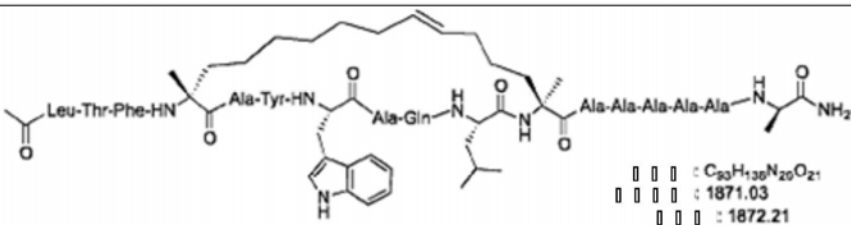
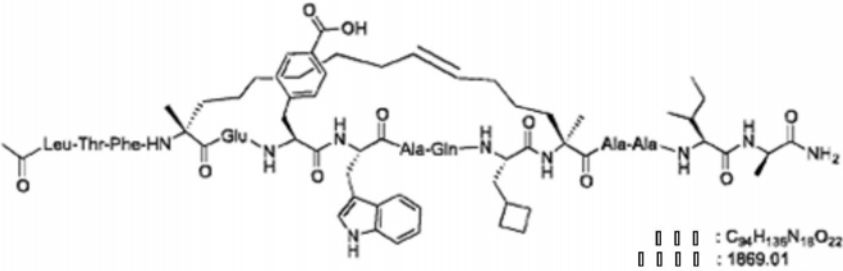
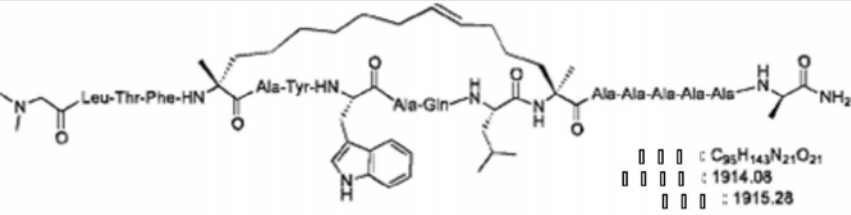
拟肽大环化合物的Z交联体烯烃异构体相对于其E 对应物具有更好的溶解度、更好的靶标亲和性、更好的体内或体外效力、更高的螺旋度或提高的细胞透性。

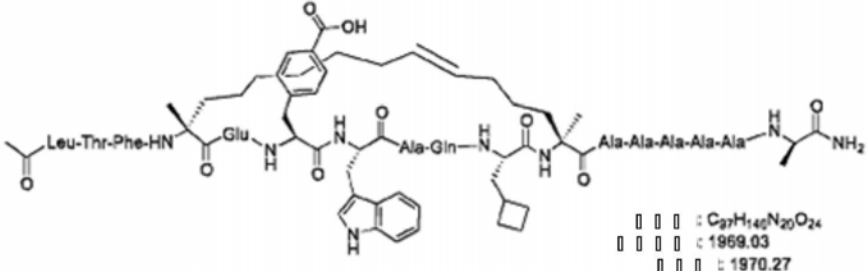
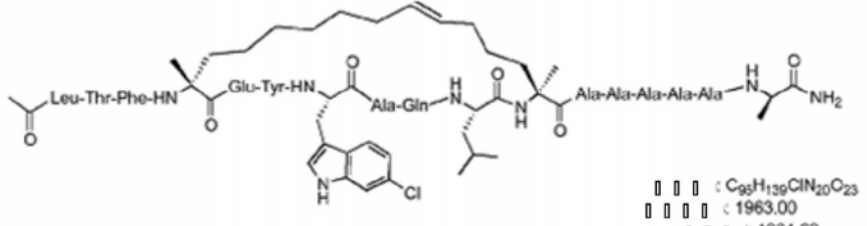
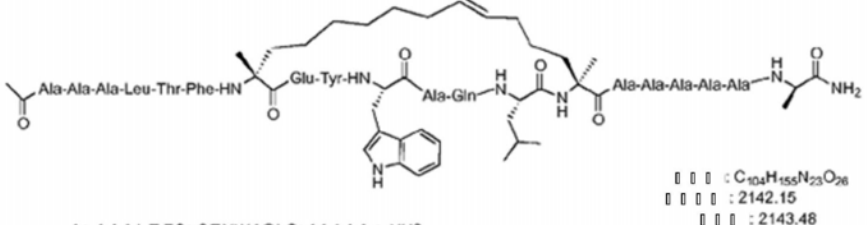
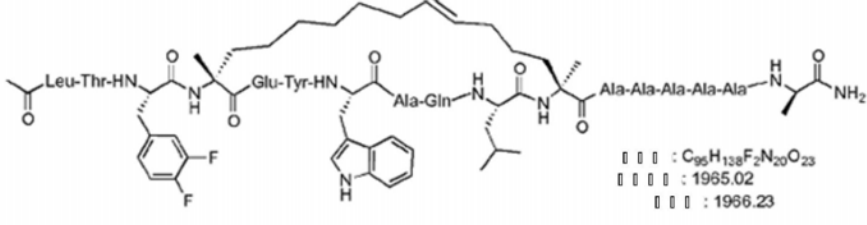
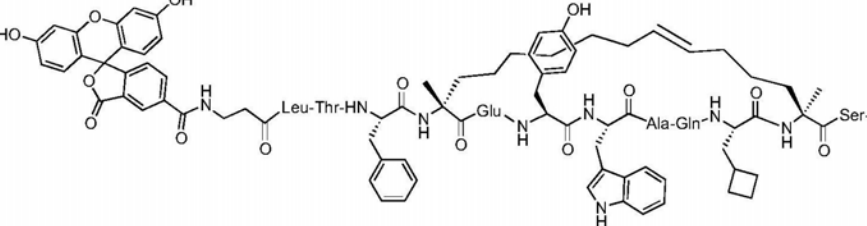
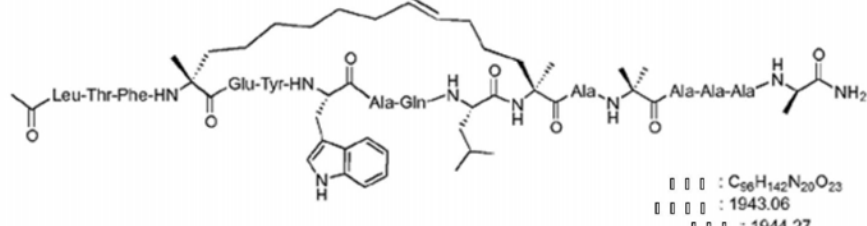
[0357] 表3c显示了示例性的拟肽大环化合物：

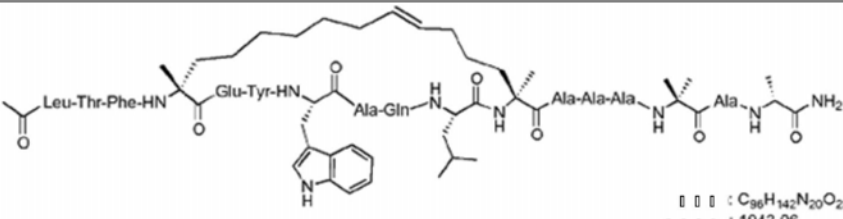
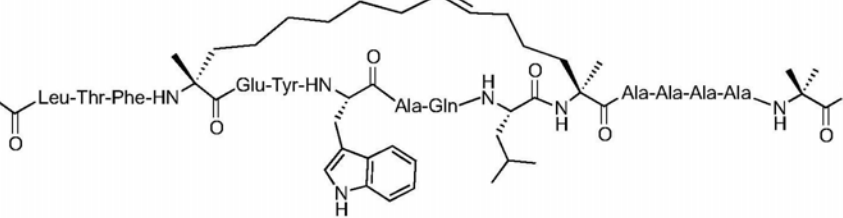
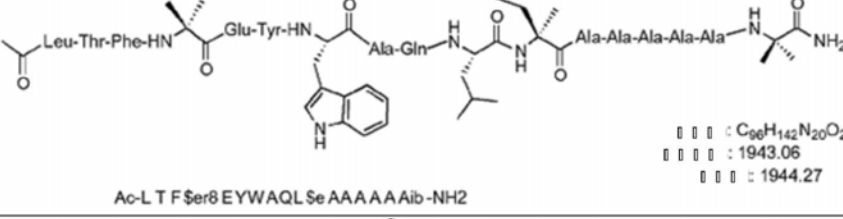
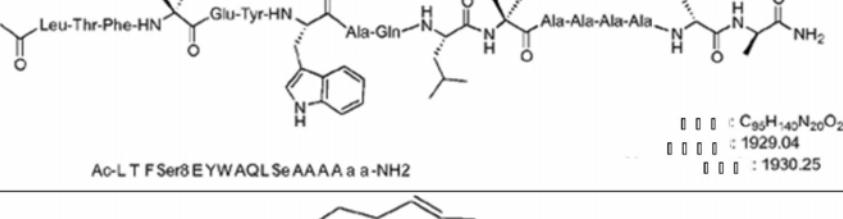
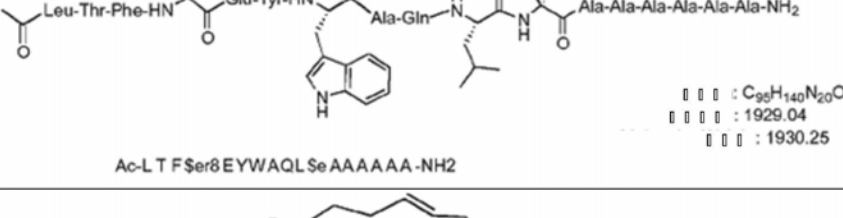
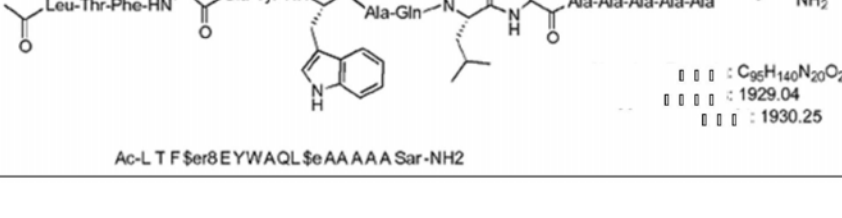
表3c

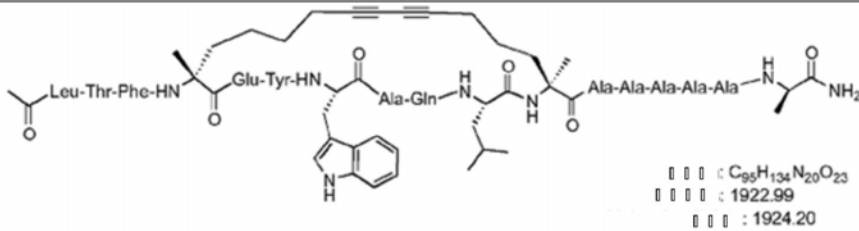
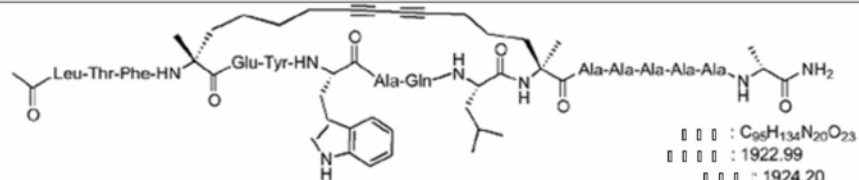
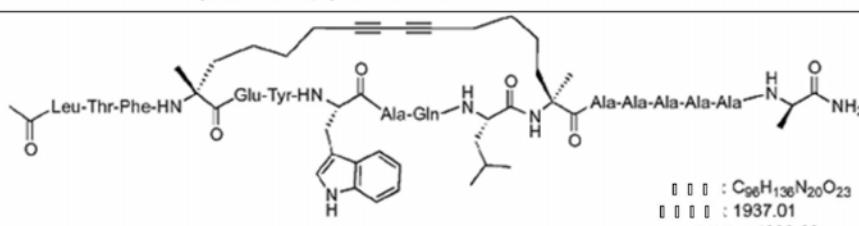
	结构
SP1 54 (SEQ ID NO: 163)	 <p>Ac-L T F Ser8 EYWAQCba\$e SAA -NH2</p> <p> $C_{87}H_{125}N_{17}O_{21}$ 1743.92 1745.02 </p>
SP1 15 (SEQ ID NO: 124)	 <p>Ac-L T F Ser8 AYWAQhL\$e SAA -NH2</p> <p> $C_{85}H_{125}N_{17}O_{19}$ 1687.93 1689.00 </p>
SP1 14 (SEQ ID NO: 123)	 <p>Ac-L T F Szr8 AYWAQhL Sz SAA -NH2</p> <p> $C_{85}H_{125}N_{17}O_{19}$ 1687.93 1689.00 </p>
SP9 9 (SEQ ID NO: 108)	 <p>Ac-L T F Ser8 AY5clWAQL\$e SAA -NH2</p> <p> $C_{94}H_{122}ClN_{17}O_{19}$ 1707.88 1709.42 </p>

SP3 88 (SE Q ID NO: 397)	 <p>Ac-L T F Ser8 AYAmwAQL SeAA Nle A-NH2</p> <p> $C_{91}H_{159}N_{19}O_{19}$ 1785.02 1786.16 </p>
SP3 31 (SE Q ID NO: 340)	 <p>Ac-L T F Ser8 EYWAQL SeAAAAA a-NH2</p> <p> $C_{95}H_{140}N_{20}O_{23}$ 1929.04 1930.25 </p>
SP4 45 (SE Q ID NO: 454)	 <p>Ac-L T F r8 EYWAQL %AAAAA a-NH2</p> <p> $C_{95}H_{142}N_{20}O_{23}$ 1931.06 1932.26 </p>
SP3 51 (SE Q ID NO: 360)	 <p>Ac-L T F Ser8 EYWSQCba SeAAAAA a-NH2</p> <p> $C_{95}H_{140}N_{20}O_{24}$ 1957.03 1958.26 </p>
SP7 1 (SE Q ID NO: 80)	 <p>Ac-L T F Ser8 AYWAQL SeAA I a-NH2</p> <p> $C_{93}H_{134}N_{18}O_{19}$ 1771.01 1772.14 </p>
SP6 9 (SE Q ID NO: 78)	 <p>Ac-L T F Ser8 AYWAQL SeAA Nle A-NH2</p> <p> $C_{93}H_{134}N_{18}O_{19}$ 1771.01 1772.14 </p>

SP7 (SE Q ID NO: 16)	 <p> $C_{99}H_{127}N_{17}O_{19}$ 1749.95 1751.07 </p> <p>Ac-L T F\$er8AYWAQL\$SA F-NH2</p>
SP1 60 (SE Q ID NO: 169)	 <p> $C_{87}H_{123}F_2N_{17}O_{21}$ 1781.92 1783.02 </p> <p>Ac-L T F34F2\$er8EYWAQhL\$eSAA -NH2</p>
SP3 15 (SE Q ID NO: 324)	 <p> $C_{93}H_{130}N_{20}O_{21}$ 1871.03 1872.21 </p> <p>Ac-L T F\$er8AYWAQL\$eAAAAAa -NH2</p>
SP2 49 (SE Q ID NO: 258)	 <p> $C_{94}H_{135}N_{19}O_{22}$ 1869.01 1870.19 </p> <p>Ac-L T F\$er8EF4coohWAQCba\$eAA-l-a -NH2</p>
SP4 37 (SE Q ID NO: 446)	 <p> $C_{95}H_{143}N_{21}O_{21}$ 1914.08 1915.28 </p> <p>Dmaac- L T F\$er8AYWAQL\$eAAAAAa -NH2</p>

SP3 49 (SE Q ID NO: 358)	 <p> $C_{97}H_{145}N_{20}O_{24}$ 1969.03 1970.27 </p> <p>Ac-L T F Ser8 EF4cooh WAQCba Se AAAAA a-NH2</p>
SP5 55 (SE Q ID NO: 464)	 <p> $C_{95}H_{139}ClN_{20}O_{23}$ 1963.00 1964.69 </p> <p>Ac-L T F Ser8 EY6clWAQL Se AAAAA a-NH2</p>
SP5 57 (SE Q ID NO: 466)	 <p> $C_{104}H_{155}N_{23}O_{26}$ 2142.15 2143.48 </p> <p>Ac-AAAL T F Ser8 EYWAQL Se AAAAA a-NH2</p>
SP5 58 (SE Q ID NO: 467)	 <p> $C_{95}H_{128}F_2N_{20}O_{23}$ 1965.02 1966.23 </p> <p>Ac-L T F34F2 Ser8 EYWAQL Se AAAAA a-NH2</p>
SP3 67 (SE Q ID NO: 376)	 <p> $C_{96}H_{142}N_{20}O_{23}$ 1943.06 1944.27 </p> <p>5-FAM- Ba L T F Ser8 EYWAQCba Se SAA -NH2</p>
SP5 62 (SE Q ID NO: 471)	 <p> $C_{96}H_{142}N_{20}O_{23}$ 1943.06 1944.27 </p> <p>Ac-L T F Ser8 EYWAQL Se AAib AAA a-NH2</p>

SP5 64 (SEQ ID NO: 473)	 <p> $C_{96}H_{142}N_{20}O_{23}$ 1943.06 1944.27 </p> <p>Ac-L T F Ser8 EYWAQL Se AAA Aib A a -NH2</p>
SP5 66 (SEQ ID NO: 475)	 <p> $C_{96}H_{142}N_{20}O_{23}$ 1943.06 1944.27 </p> <p>Ac-L T F Ser8 EYWAQL Se AAA Aib A a -NH2</p>
SP5 67 (SEQ ID NO: 476)	 <p> $C_{96}H_{142}N_{20}O_{23}$ 1943.06 1944.27 </p> <p>Ac-L T F Ser8 EYWAQL Se AAA Aib A a -NH2</p>
SP5 72 (SEQ ID NO: 481)	 <p> $C_{95}H_{140}N_{20}O_{23}$ 1929.04 1930.25 </p> <p>Ac-L T F Ser8 EYWAQL Se AAA Aib A a -NH2</p>
SP5 73 (SEQ ID NO: 482)	 <p> $C_{95}H_{140}N_{20}O_{23}$ 1929.04 1930.25 </p> <p>Ac-L T F Ser8 EYWAQL Se AAA Aib A a -NH2</p>
SP5 78 (SEQ ID NO: 487)	 <p> $C_{95}H_{140}N_{20}O_{23}$ 1929.04 1930.25 </p> <p>Ac-L T F Ser8 EYWAQL Se AAA Aib A a -NH2</p>

SP6 64 (SEQ ID NO: 572)	 <p>Ac-LTF\$rd6EYWAQL\$da5AAAAa-NH2</p> <p> $C_{95}H_{134}N_{20}O_{23}$ 1922.99 1924.20 </p>
SP6 64 (SEQ ID NO: 572)	 <p>Ac-L T F \$rd6 EYWAQL \$da5 AAAAA a -NH2</p> <p> $C_{95}H_{134}N_{20}O_{23}$ 1922.99 1924.20 </p>
(SEQ ID NO: 1500)	 <p>Ac-L T F \$rd6 EYWAQL \$da5 AAAAA a -NH2</p> <p> $C_{96}H_{136}N_{20}O_{23}$ 1937.01 1938.23 </p>

[0358] 在一些实施方案中,拟肽大环化合物不包括表4a中所示的拟肽大 环化合物:
表4a

编号	序列	SEQ ID NO:
765	L\$r5QETFSd\$s8WKLLPEN	693
766	LSQ\$r5TFSDLW\$s8LLPEN	694
767	LSQE\$r5FSDLWK\$s8LPEN	695
768	LSQET\$r5SDLWKL\$s8PEN	696
769	LSQETF\$r5DLWKLL\$s8EN	697
770	LXQETFS\$r5LWKLLP\$s8N	698
771	LSQETFSd\$r5WKLLPE\$s8	699
772	LSQQTF\$r5DLWKLL\$s8EN	700
773	LSQETF\$r5DLWKLL\$s8QN	701
774	LSQQTF\$r5DLWKLL\$s8QN	702
775	LSQETF\$r5NLWKLL\$s8QN	703
776	LSQQTF\$r5NLWKLL\$s8QN	704
777	LSQQTF\$r5NLWRLl\$s8QN	705
778	QSQQTF\$r5NLWKLL\$s8QN	706
779	QSQQTF\$r5NLWRLl\$s8QN	707
780	QSQQTAr5NLWRLl\$s8QN	708
781	L\$r8QETFSd\$WKLLPEN	709
782	LSQ\$r8TFSDLW\$LLPEN	710
783	LSQE\$r8FSDLWK\$LPEN	711
784	LSQET\$r8SDLWKL\$PEN	712
785	LSQETF\$r8DLWKLL\$EN	713
786	LXQETFS\$r8LWKLLP\$N	714

787	LSQETFSDr8WKLLPE\$	715
788	LSQQTF\$r8DLWKLL\$EN	716
789	LSQETF\$r8DLWKLL\$QN	717
790	LSQQTF\$r8DLWKLL\$QN	718
791	LSQETF\$r8NLWKLL\$QN	719
792	LSQQTF\$r8NLWKLL\$QN	720
793	LSQQTF\$r8NLWRLL\$QN	721
794	QSQQTF\$r8NLWKLL\$QN	722
795	QSQQTF\$r8NLWRLL\$QN	723
796	QSQQTAr8NLWRLL\$QN	724
797	QSQQTF\$r8NLWRKK\$QN	725
798	QQTF\$r8DLWRLL\$EN	726
799	QQTF\$r8DLWRLL\$	727
800	LSQQTF\$DLW\$LL	728
801	QQTF\$DLW\$LL	729
802	QQTAr8DLWRLL\$EN	730
803	QSQQTF\$r5NLWRLL\$s8QN (二羟基化烯烃)	731
804	QSQQTAr5NLWRLL\$s8QN (二羟基化烯烃)	732
805	QSQQTF\$r8DLWRLL\$QN	733
806	QTF\$r8NLWRLL\$	734
807	QSQQTF\$NLW\$LLPQN	735
808	QS\$QTF\$NLWRLLPQN	736
809	\$TF\$DLWKLL	737
810	ETF\$DLW\$LL	738
811	QTF\$NLW\$LL	739
812	\$SQE\$FSNLWKLL	740

在表4a中,X表示S或任意氨基酸。所示的肽可包含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。

[0359] 在一些实施方案中,拟肽大环化合物不包含如表4a所示的拟肽大 环化合物结构。

[0360] 在其他实施方案中,拟肽大环化合物不包括表4b所示的拟肽大环 化合物。

表4b

SP#	序列	SEQ ID NO:	准确质量	M+2	实测质量 (m/e)
813	Ac-LSQETFSr8DLWKLL\$EN-NH ₂	741	2068.13	1035.07	1035.36
814	Ac-LSQETFSr8NLWKLL\$QN-NH ₂	742	2066.16	1034.08	1034.31
815	Ac-LSQQTF\$r8NLWRLL\$QN-NH ₂	743	2093.18	1047.59	1047.73
816	Ac-QSQQTF\$r8NLWKLL\$QN-NH ₂	744	2080.15	1041.08	1041.31

817	Ac-QSQQTF\$r8NLWRL\$QN-NH ₂	745	2108.15	1055.08	1055.32
818	Ac-QSQQTAr8NLWRL\$QN-NH ₂	746	2032.12	1017.06	1017.24
819	Ac-QAibQQTF\$r8NLWRL\$QN-NH ₂	747	2106.17	1054.09	1054.34
820	Ac-QSQQTF\$NLWRLLPQN-NH ₂	748	2000.02	1001.01	1001.26
821	Ac-QSQQTF\$/r8NLWRL\$/QN-NH ₂	749	2136.18	1069.09	1069.37
822	Ac-QSQAibTF\$r8NLWRL\$QN-NH ₂	750	2065.15	1033.58	1033.71
823	Ac-QSQQTF\$r8NLWRL\$AN-NH ₂	751	2051.13	1026.57	1026.70
824	Ac-ASQQTF\$r8NLWRL\$QN-NH ₂	752	2051.13	1026.57	1026.90
825	Ac-QSQQTF\$r8ALWRL\$QN-NH ₂	753	2065.15	1033.58	1033.41
826	Ac-QSQETF\$r8NLWRL\$QN-NH ₂	754	2109.14	1055.57	1055.70
827	Ac-RSQQTF\$r8NLWRL\$QN-NH ₂	755	2136.20	1069.10	1069.17
828	Ac-RSQQTF\$r8NLWRL\$EN-NH ₂	756	2137.18	1069.59	1069.75
829	Ac-LSQETFSDLWKLLPEN-NH ₂	757	1959.99	981.00	981.24
830	Ac-QSQ\$TFS\$WRLLPQN-NH ₂	758	2008.09	1005.05	1004.97
831	Ac-QSQQ\$FSN\$WRLLPQN-NH ₂	759	2036.06	1019.03	1018.86
832	Ac-QSQQT\$SNL\$RLLPQN-NH ₂	760	1917.04	959.52	959.32
833	Ac-QSQQTF\$NLW\$LLPQN-NH ₂	761	2007.06	1004.53	1004.97
834	Ac-RTQATF\$r8NQWAibANle\$TNAibTR-NH ₂	762	2310.26	1156.13	1156.52
835	Ac-QSQQTF\$r8NLWRL\$RN-NH ₂	763	2136.20	1069.10	1068.94
836	Ac-QSQRTF\$r8NLWRL\$QN-NH ₂	764	2136.20	1069.10	1068.94
837	Ac-QSQQTF\$r8NNleWRL\$QN-NH ₂	765	2108.15	1055.08	1055.44
838	Ac-QSQQTF\$r8NLWRNleL\$QN-NH ₂	766	2108.15	1055.08	1055.84
839	Ac-QSQQTF\$r8NLWRLNle\$QN-NH ₂	767	2108.15	1055.08	1055.12
840	Ac-QSQQTY\$r8NLWRL\$QN-NH ₂	768	2124.15	1063.08	1062.92
841	Ac-RAibQQTF\$r8NLWRL\$QN-NH ₂	769	2134.22	1068.11	1068.65
842	Ac-MPRFMDYWEGLN-NH ₂	770	1598.70	800.35	800.45
843	Ac-RSQQRF\$r8NLWRL\$QN-NH ₂	771	2191.25	1096.63	1096.83
844	Ac-QSQQRF\$r8NLWRL\$QN-NH ₂	772	2163.21	1082.61	1082.87
845	Ac-RAibQQRf\$r8NLWRL\$QN-NH ₂	773	2189.27	1095.64	1096.37
846	Ac-RSQQRF\$r8NFWRL\$QN-NH ₂	774	2225.23	1113.62	1114.37
847	Ac-RSQQRF\$r8NYWRL\$QN-NH ₂	775	2241.23	1121.62	1122.37
848	Ac-RSQQTF\$r8NLWQL\$QN-NH ₂	776	2108.15	1055.08	1055.29
849	Ac-QSQQTF\$r8NLWQAmlL\$QN-NH ₂	777	2094.13	1048.07	1048.32
850	Ac-QSQQTF\$r8NAmlWRL\$QN-NH ₂	778	2122.17	1062.09	1062.35
851	Ac-NlePRF\$r8DYWEGL\$QN-NH ₂	779	1869.98	935.99	936.20
852	Ac-NlePRF\$r8NYWRL\$QN-NH ₂	780	1952.12	977.06	977.35
853	Ac-RF\$r8NLWRL\$Q-NH ₂	781	1577.96	789.98	790.18
854	Ac-QSQQTF\$r8N2fWRL\$QN-NH ₂	782	2160.13	1081.07	1081.40
855	Ac-QSQQTF\$r8N3fWRL\$QN-NH ₂	783	2160.13	1081.07	1081.34
856	Ac-QSQQTF#r8NLWRL#QN-NH ₂	784	2080.12	1041.06	1041.34
857	Ac-RSQQTAr8NLWRL\$QN-NH ₂	785	2060.16	1031.08	1031.38
858	Ac-QSQQTF%r8NLWRL%QN-NH ₂	786	2110.17	1056.09	1056.55
859	HepQSQTFSNLWRLLPQN-NH ₂	787	2051.10	1026.55	1026.82
860	HepQSQTf\$r8NLWRL\$QN-NH ₂	788	2159.23	1080.62	1080.89
861	Ac-QSQQTF\$r8NL6clWRL\$QN-NH ₂	789	2142.11	1072.06	1072.35
862	Ac-QSQQTF\$r8NLMe6clwRL\$QN-NH ₂	790	2156.13	1079.07	1079.27
863	Ac-LTFEHYWAQLTS-NH ₂	791	1535.74	768.87	768.91
864	Ac-LTF\$HYW\$QLTS-NH ₂	792	1585.83	793.92	794.17

865	Ac-LTFE\$YWA\$LTS-NH ₂	793	1520.79	761.40	761.67
866	Ac-LTF\$Zr8HYWAQL\$zS-NH ₂	794	1597.87	799.94	800.06
867	Ac-LTF\$r8HYWRQL\$S-NH ₂	795	1682.93	842.47	842.72
868	Ac-QS\$QTFS\$NLWRL\$S8QN-NH ₂	796	2145.21	1073.61	1073.90
869	Ac-QSQQTASNLWRLLPQN-NH ₂	797	1923.99	963.00	963.26
870	Ac-QSQQTAS\$/r8NLWRL\$/QN-NH ₂	798	2060.15	1031.08	1031.24
871	Ac-ASQQTFS\$/r8NLWRL\$/QN-NH ₂	799	2079.16	1040.58	1040.89
872	Ac-\$SQQ\$FSNLWRLAibQN-NH ₂	800	2009.09	1005.55	1005.86
873	Ac-QS\$QTF\$NLWRLAibQN-NH ₂	801	2023.10	1012.55	1012.79
874	Ac-QSQQ\$FSN\$WRLAibQN-NH ₂	802	2024.06	1013.03	1013.31
875	Ac-QSQQTFS\$NLW\$LLAibQN-NH ₂	803	1995.06	998.53	998.87
876	Ac-QSQQTFS\$LWR\$AibQN-NH ₂	804	2011.06	1006.53	1006.83
877	Ac-QSQQTFSNLW\$LLA\$N-NH ₂	805	1940.02	971.01	971.29
878	Ac-\$/SQQ\$/FSNLWRLAibQN-NH ₂	806	2037.12	1019.56	1019.78
879	Ac-QS\$/QTF\$/NLWRLAibQN-NH ₂	807	2051.13	1026.57	1026.90
880	Ac-QSQQ\$/FSN\$/WRLAibQN-NH ₂	808	2052.09	1027.05	1027.36
881	Ac-QSQQTFS\$/NLW\$/LLAibQN-NH ₂	809	2023.09	1012.55	1013.82
882	Ac-QSQ\$TFS\$WRLAibQN-NH ₂	810	1996.09	999.05	999.39
883	Ac-QSQ\$/TF\$/LWRLAibQN-NH ₂	811	2024.12	1013.06	1013.37
884	Ac-QS\$/QTF\$/NLWRL\$/s8QN-NH ₂	812	2201.27	1101.64	1102.00
885	Ac-\$r8SQQTFS\$WRLAibQN-NH ₂	813	2038.14	1020.07	1020.23
886	Ac-QSQ\$r8TFSNLW\$LLAibQN-NH ₂	814	1996.08	999.04	999.32
887	Ac-QSQQTFS\$r8LWRLA\$N-NH ₂	815	2024.12	1013.06	1013.37
888	Ac-QS\$r5QTFS\$NLW\$LLAibQN-NH ₂	816	2032.12	1017.06	1017.39
889	Ac-\$/r8SQQTFS\$/LWRLAibQN-NH ₂	817	2066.17	1034.09	1034.80
890	Ac-QSQ\$/r8TFSNLW\$/LLAibQN-NH ₂	818	2024.11	1013.06	1014.34
891	Ac-QSQQTFS\$/r8LWRLA\$/N-NH ₂	819	2052.15	1027.08	1027.16
892	Ac-QS\$/r5QTFS\$/NLW\$/LLAibQN-NH ₂	820	2088.18	1045.09	1047.10
893	Ac-QSQQTFSNLWRLAibQN-NH ₂	821	1988.02	995.01	995.31
894	Hep/QSQ\$/TF\$/r8NLWRL\$/QN-NH ₂	822	2215.29	1108.65	1108.93
895	Ac-ASQQTFS\$r8NLRWLL\$QN-NH ₂	823	2051.13	1026.57	1026.90
896	Ac-QSQQTFS\$/r8NLWRL\$/Q-NH ₂	824	2022.14	1012.07	1012.66
897	Ac-QSQQTFS\$r8NLWRL\$Q-NH ₂	825	1994.11	998.06	998.42
898	Ac-AAARAA\$r8AAARAA\$AA-NH ₂	826	1515.90	758.95	759.21
899	Ac-LTFEHYWAQLTSA-NH ₂	827	1606.78	804.39	804.59
900	Ac-LTF\$r8HYWAQL\$SA-NH ₂	828	1668.90	835.45	835.67
901	Ac-ASQQTFSNLWRLLPQN-NH ₂	829	1943.00	972.50	973.27
902	Ac-QS\$QTFS\$NLW\$r5LLAibQN-NH ₂	830	2032.12	1017.06	1017.30
903	Ac-QSQQTFAibNLWRLAibQN-NH ₂	831	1986.04	994.02	994.19
904	Ac-QSQQTFNleNLWRLNleQN-NH ₂	832	2042.11	1022.06	1022.23
905	Ac-QSQQTFS\$/r8NLWRLAibQN-NH ₂	833	2082.14	1042.07	1042.23
906	Ac-QSQQTFS\$/r8NLWRLNleQN-NH ₂	834	2110.17	1056.09	1056.29
907	Ac-QSQQTFAibNLWRL\$/QN-NH ₂	835	2040.09	1021.05	1021.25
908	Ac-QSQQTFNleNLWRL\$/QN-NH ₂	836	2068.12	1035.06	1035.31
909	Ac-QSQQTFR8NL6clWRNleL%QN-NH ₂	837	2144.13	1073.07	1073.32
910	Ac-QSQQTFR8NLMe6clWRL%QN-NH ₂	838	2158.15	1080.08	1080.31
911	Ac-FNle\$YWE\$L-NH ₂	839	1160.63	-	1161.70
912	Ac-F\$r8AYWELL\$A-NH ₂	840	1344.75	-	1345.90

913	Ac-F\$8AYWQLL\$A-NH ₂	841	1343.76	-	1344.83
914	Ac-NlePRF\$8NYWELL\$QN-NH ₂	842	1925.06	963.53	963.69
915	Ac-NlePRF\$8DYWRLL\$QN-NH ₂	843	1953.10	977.55	977.68
916	Ac-NlePRF\$8NYWRLL\$Q-NH ₂	844	1838.07	920.04	920.18
917	Ac-NlePRF\$8NYWRLL\$-NH ₂	845	1710.01	856.01	856.13
918	Ac-QSQQTF\$8DLWRLL\$QN-NH ₂	846	2109.14	1055.57	1055.64
919	Ac-QSQQTF\$8NLWRLL\$EN-NH ₂	847	2109.14	1055.57	1055.70
920	Ac-QSQQTF\$8NLWRLL\$QD-NH ₂	848	2109.14	1055.57	1055.64
921	Ac-QSQQTF\$8NLWRLL\$S-NH ₂	849	1953.08	977.54	977.60
922	Ac-ESQQTF\$8NLWRLL\$QN-NH ₂	850	2109.14	1055.57	1055.70
923	Ac-LTF\$8NLWRNleL\$Q-NH ₂	851	1635.99	819.00	819.10
924	Ac-LRF\$8NLWRNleL\$Q-NH ₂	852	1691.04	846.52	846.68
925	Ac-QSQQTF\$8NWWRNleL\$QN-NH ₂	853	2181.15	1091.58	1091.64
926	Ac-QSQQTF\$8NLWRNleL\$Q-NH ₂	854	1994.11	998.06	998.07
927	Ac-QTF\$8NLWRNleL\$QN-NH ₂	855	1765.00	883.50	883.59
928	Ac-NlePRF\$8NWWRLL\$QN-NH ₂	856	1975.13	988.57	988.75
929	Ac-NlePRF\$8NWWRLL\$A-NH ₂	857	1804.07	903.04	903.08
930	Ac-TSFAEYWNLLNH ₂	858	1467.70	734.85	734.90
931	Ac-QTF\$8HWWSQL\$S-NH ₂	859	1651.85	826.93	827.12
932	Ac-FM\$YWE\$-NH ₂	860	1178.58	-	1179.64
933	Ac-QTFEHWWSQLL\$S-NH ₂	861	1601.76	801.88	801.94
934	Ac-QSQQTF\$8NLAmwRLNleL\$QN-NH ₂	862	2122.17	1062.09	1062.24
935	Ac-FMAibY6clWEAc3cL-NH ₂	863	1130.47	-	1131.53
936	Ac-FNle\$Y6clWE\$-NH ₂	864	1194.59	-	1195.64
937	Ac-F\$8AY6clWEAc3cL\$z-NH ₂	865	1277.63	639.82	1278.71
938	Ac-F\$8AY6clWEAc3cL\$A-NH ₂	866	1348.66	-	1350.72
939	Ac-NlePRF\$8NY6clWRLL\$QN-NH ₂	867	1986.08	994.04	994.64
940	Ac-AF\$8AAWALA\$A-NH ₂	868	1223.71	-	1224.71
941	Ac-TF\$8AAWRLA\$Q-NH ₂	869	1395.80	698.90	399.04
942	Pr-TF\$8AAWRLA\$Q-NH ₂	870	1409.82	705.91	706.04
943	Ac-QSQQTF%8NLWRNleL%QN-NH ₂	871	2110.17	1056.09	1056.22
944	Ac-LTF%8HYWAQL%SA-NH ₂	872	1670.92	836.46	836.58
945	Ac-NlePRF%8NYWRLL%QN-NH ₂	873	1954.13	978.07	978.19
946	Ac-NlePRF%8NY6clWRLL%QN-NH ₂	874	1988.09	995.05	995.68
947	Ac-LTF%8HY6clWAQL%S-NH ₂	875	1633.84	817.92	817.93
948	Ac-QS%QTF%StNLWRLL%8QN-NH ₂	876	2149.24	1075.62	1075.65
949	Ac-LTF%8HY6clWRQL%S-NH ₂	877	1718.91	860.46	860.54
950	Ac-QSQQTF%8NL6clWRLL%QN-NH ₂	878	2144.13	1073.07	1073.64
951	Ac-%8SQQTFS%LWRLAibQN-NH ₂	879	2040.15	1021.08	1021.13
952	Ac-LTF%8HYWAQL%S-NH ₂	880	1599.88	800.94	801.09
953	Ac-TSF%8QYWNLL%P-NH ₂	881	1602.88	802.44	802.58
954	Ac-LTFEHYWAQLTS-NH ₂	882	1535.74	768.87	769.5
955	Ac-F\$8AY6clWEAc3cL\$e-NH ₂	883	1277.63	639.82	1278.71
956	Ac-AF\$8AAWALA\$A-NH ₂	884	1277.63	639.82	1277.84
957	Ac-TF\$8AAWRLA\$Q-NH ₂	885	1395.80	698.90	699.04
958	Pr-TF\$8AAWRLA\$Q-NH ₂	886	1409.82	705.91	706.04
959	Ac-LTF\$8HYWAQL\$eS-NH ₂	887	1597.87	799.94	800.44
960	Ac-CCPGCCBaSQQTF\$8NLWRLL\$QN-NH ₂	888	2745.30	1373.65	1372.99

961	Ac-CCPGCCBaQSQQTAr8NLWRLl\$QN-NH ₂	889	2669.27	1335.64	1336.09
962	Ac-CCPGCCBaNlePRF\$r8NYWRLl\$QN-NH ₂	890	2589.26	1295.63	1296.2
963	Ac-LTF\$/r8HYWAQL\$/S-NH ₂	891	1625.90	813.95	814.18
964	Ac-F%r8HY6clWRAc3cL%-NH ₂	892	1372.72	687.36	687.59
965	Ac-QTF%r8HWWSQL%\$S-NH ₂	893	1653.87	827.94	827.94
966	Ac-LTA\$r8HYWRQL\$S-NH ₂	894	1606.90	804.45	804.66
967	Ac-Q\$r8QQTF\$N\$WRLlAibQN-NH ₂	895	2080.12	1041.06	1041.61
968	Ac-QSQQ\$r8F\$NLWR\$LAibQN-NH ₂	896	2066.11	1034.06	1034.58
969	Ac-F\$r8AYWEAc3cL\$A-NH ₂	897	1314.70	658.35	1315.88
970	Ac-F\$r8AYWEAc3cL\$S-NH ₂	898	1330.70	666.35	1331.87
971	Ac-F\$r8AYWEAc3cL\$Q-NH ₂	899	1371.72	686.86	1372.72
972	Ac-F\$r8AYWEAibL\$S-NH ₂	900	1332.71	667.36	1334.83
973	Ac-F\$r8AYWEAL\$S-NH ₂	901	1318.70	660.35	1319.73
974	Ac-F\$r8AYWEQL\$S-NH ₂	902	1375.72	688.86	1377.53
975	Ac-F\$r8HYWEQL\$S-NH ₂	903	1441.74	721.87	1443.48
976	Ac-F\$r8HYWAQL\$S-NH ₂	904	1383.73	692.87	1385.38
977	Ac-F\$r8HYWAAc3cL\$S-NH ₂	905	1338.71	670.36	1340.82
978	Ac-F\$r8HYWRAc3cL\$S-NH ₂	906	1423.78	712.89	713.04
979	Ac-F\$r8AYWEAc3cL#A-NH ₂	907	1300.69	651.35	1302.78
980	Ac-NlePTF%r8NYWRLl%QN-NH ₂	908	1899.08	950.54	950.56
981	Ac-TF\$r8AAWRAL\$Q-NH ₂	909	1395.80	698.90	699.13
982	Ac-TSF%r8HYWAQL%\$S-NH ₂	910	1573.83	787.92	787.98
983	Ac-F%r8AY6clWEAc3cL%A-NH ₂	911	1350.68	676.34	676.91
984	Ac-LTF\$r8HYWAQl\$S-NH ₂	912	1597.87	799.94	800.07
985	Ac-LTF\$r8HYWAQNle\$S-NH ₂	913	1597.87	799.94	800.07
986	Ac-LTF\$r8HYWAQL\$A-NH ₂	914	1581.87	791.94	792.45
987	Ac-LTF\$r8HYWAQL\$Abu-NH ₂	915	1595.89	798.95	799.03
988	Ac-LTF\$r8HYWAbuQL\$S-NH ₂	916	1611.88	806.94	807.47
989	Ac-LTF\$er8AYWAQL\$eS-NH ₂	917	1531.84	766.92	766.96
990	Ac-LAF\$r8HYWAQL\$S-NH ₂	918	1567.86	784.93	785.49
991	Ac-LAF\$r8AYWAQL\$S-NH ₂	919	1501.83	751.92	752.01
992	Ac-LTF\$er8AYWAQL\$eA-NH ₂	920	1515.85	758.93	758.97
993	Ac-LAF\$r8AYWAQL\$A-NH ₂	921	1485.84	743.92	744.05
994	Ac-LTF\$r8NLWANleL\$Q-NH ₂	922	1550.92	776.46	776.61
995	Ac-LTF\$r8NLWANleL\$A-NH ₂	923	1493.90	747.95	1495.6
996	Ac-LTF\$r8ALWANleL\$Q-NH ₂	924	1507.92	754.96	755
997	Ac-LAF\$r8NLWANleL\$Q-NH ₂	925	1520.91	761.46	761.96
998	Ac-LAF\$r8ALWANleL\$A-NH ₂	926	1420.89	711.45	1421.74
999	Ac-A\$r8AYWEAc3cL\$A-NH ₂	927	1238.67	620.34	1239.65
1000	Ac-F\$r8AYWEAc3cL\$AA-NH ₂	928	1385.74	693.87	1386.64
1001	Ac-F\$r8AYWEAc3cL\$Abu-NH ₂	929	1328.72	665.36	1330.17
1013	Ac-F\$r8AYWEAc3cL\$Nle-NH ₂	930	1356.75	679.38	1358.22
1014	Ac-F\$r5AYWEAc3cL\$8A-NH ₂	931	1314.70	658.35	1315.51
1015	Ac-F\$AYWEAc3cL\$r8A-NH ₂	932	1314.70	658.35	1315.66
1016	Ac-F\$r8AYWEAc3cL\$A-NH ₂	933	1314.70	658.35	1316.18
1017	Ac-F\$r8AYWEAc3cNle\$A-NH ₂	934	1314.70	658.35	1315.66
1018	Ac-F\$r8AYWEAmll\$A-NH ₂	935	1358.76	680.38	1360.21
1019	Ac-F\$r8AYWENleL\$A-NH ₂	936	1344.75	673.38	1345.71

1020	Ac-F\$r8AYWQAc3cL\$A-NH ₂	937	1313.72	657.86	1314.7
1021	Ac-F\$r8AYWAAc3cL\$A-NH ₂	938	1256.70	629.35	1257.56
1022	Ac-F\$r8AYWAbuAc3cL\$A-NH ₂	939	1270.71	636.36	1272.14
1023	Ac-F\$r8AYWNlcAc3cL\$A-NH ₂	940	1298.74	650.37	1299.67
1024	Ac-F\$r8AbuYWEAc3cL\$A-NH ₂	941	1328.72	665.36	1329.65
1025	Ac-F\$r8NleYWEAc3cL\$A-NH ₂	942	1356.75	679.38	1358.66
1026	5-FAM-BaLTFEHYWAQLTS-NH ₂	943	1922.82	962.41	962.87
1027	5-FAM-BaLTF\$r8HYWAQL%S-NH ₂	944	1986.96	994.48	994.97
1028	Ac-LTF\$r8HYWAQhL\$S-NH ₂	945	1611.88	806.94	807
1029	Ac-LTF\$r8HYWAQTle\$S-NH ₂	946	1597.87	799.94	799.97
1030	Ac-LTF\$r8HYWAQAdm\$S-NH ₂	947	1675.91	838.96	839.09
1031	Ac-LTF\$r8HYWAQhCha\$S-NH ₂	948	1651.91	826.96	826.98
1032	Ac-LTF\$r8HYWAQCha\$S-NH ₂	949	1637.90	819.95	820.02
1033	Ac-LTF\$r8HYWAQc6cQL\$S-NH ₂	950	1651.91	826.96	826.98
1034	Ac-LTF\$r8HYWAQc5cQL\$S-NH ₂	951	1637.90	819.95	820.02
1035	Ac-LThF\$r8HYWAQL\$S-NH ₂	952	1611.88	806.94	807
1036	Ac-LTIgl\$r8HYWAQL\$S-NH ₂	953	1625.90	813.95	812.99
1037	Ac-LTF\$r8HYWAQChg\$S-NH ₂	954	1623.88	812.94	812.99
1038	Ac-LTF\$r8HYWAQF\$S-NH ₂	955	1631.85	816.93	816.99
1039	Ac-LTF\$r8HYWAQIgl\$S-NH ₂	956	1659.88	830.94	829.94
1040	Ac-LTF\$r8HYWAQCba\$S-NH ₂	957	1609.87	805.94	805.96
1041	Ac-LTF\$r8HYWAQCpg\$S-NH ₂	958	1609.87	805.94	805.96
1042	Ac-LTF\$r8HhYWAQL\$S-NH ₂	959	1611.88	806.94	807
1043	Ac-F\$r8AYWEAc3chL\$A-NH ₂	960	1328.72	665.36	665.43
1044	Ac-F\$r8AYWEAc3cTle\$A-NH ₂	961	1314.70	658.35	1315.62
1045	Ac-F\$r8AYWEAc3cAdm\$A-NH ₂	962	1392.75	697.38	697.47
1046	Ac-F\$r8AYWEAc3chCha\$A-NH ₂	963	1368.75	685.38	685.34
1047	Ac-F\$r8AYWEAc3cCha\$A-NH ₂	964	1354.73	678.37	678.38
1048	Ac-F\$r8AYWEAc6cL\$A-NH ₂	965	1356.75	679.38	679.42
1049	Ac-F\$r8AYWEAc5cL\$A-NH ₂	966	1342.73	672.37	672.46
1050	Ac-hF\$r8AYWEAc3cL\$A-NH ₂	967	1328.72	665.36	665.43
1051	Ac-Igl\$r8AYWEAc3cL\$A-NH ₂	968	1342.73	672.37	671.5
1052	Ac-F\$r8AYWEAc3cF\$A-NH ₂	969	1348.69	675.35	675.35
1053	Ac-F\$r8AYWEAc3cIgl\$A-NH ₂	970	1376.72	689.36	688.37
1054	Ac-F\$r8AYWEAc3cCba\$A-NH ₂	971	1326.70	664.35	664.47
1055	Ac-F\$r8AYWEAc3cCpg\$A-NH ₂	972	1326.70	664.35	664.39
1056	Ac-F\$r8AhYWEAc3cL\$A-NH ₂	973	1328.72	665.36	665.43
1057	Ac-F\$r8AYWEAc3cL\$Q-NH ₂	974	1371.72	686.86	1372.87
1058	Ac-F\$r8AYWEAibL\$A-NH ₂	975	1316.72	659.36	1318.18
1059	Ac-F\$r8AYWEAL\$A-NH ₂	976	1302.70	652.35	1303.75
1060	Ac-LAF\$r8AYWAAL\$A-NH ₂	977	1428.82	715.41	715.49
1061	Ac-LTF\$r8HYWAAc3cL\$S-NH ₂	978	1552.84	777.42	777.5
1062	Ac-NleTF\$r8HYWAQL\$S-NH ₂	979	1597.87	799.94	800.04
1063	Ac-VTF\$r8HYWAQL\$S-NH ₂	980	1583.85	792.93	793.04
1064	Ac-FTF\$r8HYWAQL\$S-NH ₂	981	1631.85	816.93	817.02
1065	Ac-WTF\$r8HYWAQL\$S-NH ₂	982	1670.86	836.43	836.85
1066	Ac-RTF\$r8HYWAQL\$S-NH ₂	983	1640.88	821.44	821.9
1067	Ac-KTF\$r8HYWAQL\$S-NH ₂	984	1612.88	807.44	807.91

1068	Ac-LNleF\$r8HYWAQL\$S-NH ₂	985	1609.90	805.95	806.43
1069	Ac-LVF\$r8HYWAQL\$S-NH ₂	986	1595.89	798.95	798.93
1070	Ac-LFF\$r8HYWAQL\$S-NH ₂	987	1643.89	822.95	823.38
1071	Ac-LWF\$r8HYWAQL\$S-NH ₂	988	1682.90	842.45	842.55
1072	Ac-LRF\$r8HYWAQL\$S-NH ₂	989	1652.92	827.46	827.52
1073	Ac-LKF\$r8HYWAQL\$S-NH ₂	990	1624.91	813.46	813.51
1074	Ac-LTF\$r8NleYWAQL\$S-NH ₂	991	1573.89	787.95	788.05
1075	Ac-LTF\$r8VYWAQL\$S-NH ₂	992	1559.88	780.94	780.98
1076	Ac-LTF\$r8FYWAQL\$S-NH ₂	993	1607.88	804.94	805.32
1077	Ac-LTF\$r8WYWAQL\$S-NH ₂	994	1646.89	824.45	824.86
1078	Ac-LTF\$r8RYWAQL\$S-NH ₂	995	1616.91	809.46	809.51
1079	Ac-LTF\$r8KYWAQL\$S-NH ₂	996	1588.90	795.45	795.48
1080	Ac-LTF\$r8HNleWAQL\$S-NH ₂	997	1547.89	774.95	774.98
1081	Ac-LTF\$r8HVWAQL\$S-NH ₂	998	1533.87	767.94	767.95
1082	Ac-LTF\$r8HFWAQL\$S-NH ₂	999	1581.87	791.94	792.3
1083	Ac-LTF\$r8HWWAQL\$S-NH ₂	1000	1620.88	811.44	811.54
1084	Ac-LTF\$r8HRWAQL\$S-NH ₂	1001	1590.90	796.45	796.52
1085	Ac-LTF\$r8HKWAQL\$S-NH ₂	1002	1562.90	782.45	782.53
1086	Ac-LTF\$r8HYWNleQL\$S-NH ₂	1003	1639.91	820.96	820.98
1087	Ac-LTF\$r8HYWVQL\$S-NH ₂	1004	1625.90	813.95	814.03
1088	Ac-LTF\$r8HYWFQL\$S-NH ₂	1005	1673.90	837.95	838.03
1089	Ac-LTF\$r8HYWWQL\$S-NH ₂	1006	1712.91	857.46	857.5
1090	Ac-LTF\$r8HYWKQL\$S-NH ₂	1007	1654.92	828.46	828.49
1091	Ac-LTF\$r8HYWANleL\$S-NH ₂	1008	1582.89	792.45	792.52
1092	Ac-LTF\$r8HYWAVL\$S-NH ₂	1009	1568.88	785.44	785.49
1093	Ac-LTF\$r8HYWAFL\$S-NH ₂	1010	1616.88	809.44	809.47
1094	Ac-LTF\$r8HYWAWL\$S-NH ₂	1011	1655.89	828.95	829
1095	Ac-LTF\$r8HYWARL\$S-NH ₂	1012	1625.91	813.96	813.98
1096	Ac-LTF\$r8HYWAQL\$Nle-NH ₂	1013	1623.92	812.96	813.39
1097	Ac-LTF\$r8HYWAQL\$V-NH ₂	1014	1609.90	805.95	805.99
1098	Ac-LTF\$r8HYWAQL\$F-NH ₂	1015	1657.90	829.95	830.26
1099	Ac-LTF\$r8HYWAQL\$W-NH ₂	1016	1696.91	849.46	849.5
1100	Ac-LTF\$r8HYWAQL\$R-NH ₂	1017	1666.94	834.47	834.56
1101	Ac-LTF\$r8HYWAQL\$K-NH ₂	1018	1638.93	820.47	820.49
1102	Ac-Q\$r8QQTF\$SN\$WRLLAibQN-NH ₂	1019	2080.12	1041.06	1041.54
1103	Ac-QSQQ\$r8FSNLWR\$LAibQN-NH ₂	1020	2066.11	1034.06	1034.58
1104	Ac-LT2Pal\$r8HYWAQL\$S-NH ₂	1021	1598.86	800.43	800.49
1105	Ac-LT3Pal\$r8HYWAQL\$S-NH ₂	1022	1598.86	800.43	800.49
1106	Ac-LT4Pal\$r8HYWAQL\$S-NH ₂	1023	1598.86	800.43	800.49
1107	Ac-LTF2CF3\$r8HYWAQL\$S-NH ₂	1024	1665.85	833.93	834.01
1108	Ac-LTF2CN\$r8HYWAQL\$S-NH ₂	1025	1622.86	812.43	812.47
1109	Ac-LTF2Me\$r8HYWAQL\$S-NH ₂	1026	1611.88	806.94	807
1110	Ac-LTF3Cl\$r8HYWAQL\$S-NH ₂	1027	1631.83	816.92	816.99
1111	Ac-LTF4CF3\$r8HYWAQL\$S-NH ₂	1028	1665.85	833.93	833.94
1113	Ac-LTF4tBu\$r8HYWAQL\$S-NH ₂	1029	1653.93	827.97	828.02
1114	Ac-LTF5F\$r8HYWAQL\$S-NH ₂	1030	1687.82	844.91	844.96
1115	Ac-LTF\$r8HY3BthAAQL\$S-NH ₂	1031	1614.83	808.42	808.48
1116	Ac-LTF2Br\$r8HYWAQL\$S-NH ₂	1032	1675.78	838.89	838.97

1117	Ac-LTF4Br\$8HYWAQL\$S-NH ₂	1033	1675.78	838.89	839.86
1118	Ac-LTF2Cl\$8HYWAQL\$S-NH ₂	1034	1631.83	816.92	816.99
1119	Ac-LTF4Cl\$8HYWAQL\$S-NH ₂	1035	1631.83	816.92	817.36
1120	Ac-LTF3CN\$8HYWAQL\$S-NH ₂	1036	1622.86	812.43	812.47
1121	Ac-LTF4CN\$8HYWAQL\$S-NH ₂	1037	1622.86	812.43	812.47
1122	Ac-LTF34Cl2\$8HYWAQL\$S-NH ₂	1038	1665.79	833.90	833.94
1123	Ac-LTF34F2\$8HYWAQL\$S-NH ₂	1039	1633.85	817.93	817.95
1124	Ac-LTF35F2\$8HYWAQL\$S-NH ₂	1040	1633.85	817.93	817.95
1125	Ac-LTDip\$8HYWAQL\$S-NH ₂	1041	1673.90	837.95	838.01
1126	Ac-LTF2F\$8HYWAQL\$S-NH ₂	1042	1615.86	808.93	809
1127	Ac-LTF3F\$8HYWAQL\$S-NH ₂	1043	1615.86	808.93	809
1128	Ac-LTF4F\$8HYWAQL\$S-NH ₂	1044	1615.86	808.93	809
1129	Ac-LTF4I\$8HYWAQL\$S-NH ₂	1045	1723.76	862.88	862.94
1130	Ac-LTF3Me\$8HYWAQL\$S-NH ₂	1046	1611.88	806.94	807.07
1131	Ac-LTF4Me\$8HYWAQL\$S-NH ₂	1047	1611.88	806.94	807
1132	Ac-LT1NaI\$8HYWAQL\$S-NH ₂	1048	1647.88	824.94	824.98
1133	Ac-LT2NaI\$8HYWAQL\$S-NH ₂	1049	1647.88	824.94	825.06
1134	Ac-LTF3CF3\$8HYWAQL\$S-NH ₂	1050	1665.85	833.93	834.01
1135	Ac-LTF4NO2\$8HYWAQL\$S-NH ₂	1051	1642.85	822.43	822.46
1136	Ac-LTF3NO2\$8HYWAQL\$S-NH ₂	1052	1642.85	822.43	822.46
1137	Ac-LTF\$82ThiYWAQL\$S-NH ₂	1053	1613.83	807.92	807.96
1138	Ac-LTF\$8HBipWAQL\$S-NH ₂	1054	1657.90	829.95	830.01
1139	Ac-LTF\$8HF4tBuWAQL\$S-NH ₂	1055	1637.93	819.97	820.02
1140	Ac-LTF\$8HF4CF3WAQL\$S-NH ₂	1056	1649.86	825.93	826.02
1141	Ac-LTF\$8HF4CIWAQL\$S-NH ₂	1057	1615.83	808.92	809.37
1142	Ac-LTF\$8HF4MeWAQL\$S-NH ₂	1058	1595.89	798.95	799.01
1143	Ac-LTF\$8HF4BrWAQL\$S-NH ₂	1059	1659.78	830.89	830.98
1144	Ac-LTF\$8HF4CNWAQL\$S-NH ₂	1060	1606.87	804.44	804.56
1145	Ac-LTF\$8HF4NO2WAQL\$S-NH ₂	1061	1626.86	814.43	814.55
1146	Ac-LTF\$8H1NaIWAQL\$S-NH ₂	1062	1631.89	816.95	817.06
1147	Ac-LTF\$8H2NaIWAQL\$S-NH ₂	1063	1631.89	816.95	816.99
1148	Ac-LTF\$8HWAQL\$S-NH ₂	1064	1434.80	718.40	718.49
1149	Ac-LTF\$8HY1NaIWAQL\$S-NH ₂	1065	1608.87	805.44	805.52
1150	Ac-LTF\$8HY2NaIWAQL\$S-NH ₂	1066	1608.87	805.44	805.52
1151	Ac-LTF\$8HYWAQI\$S-NH ₂	1067	1597.87	799.94	800.07
1152	Ac-LTF\$8HYWAQNle\$S-NH ₂	1068	1597.87	799.94	800.44
1153	Ac-LTF\$8HYWAQL\$eA-NH ₂	1069	1581.87	791.94	791.98
1154	Ac-LTF\$8HYWAQL\$Abu-NH ₂	1070	1595.89	798.95	799.03
1155	Ac-LTF\$8HYWAbuQL\$S-NH ₂	1071	1611.88	806.94	804.47
1156	Ac-LAF\$8HYWAQL\$S-NH ₂	1072	1567.86	784.93	785.49
1157	Ac-LTF\$8NLWANleL\$Q-NH ₂	1073	1550.92	776.46	777.5
1158	Ac-LTF\$8ALWANleL\$Q-NH ₂	1074	1507.92	754.96	755.52
1159	Ac-LAF\$8NLWANleL\$Q-NH ₂	1075	1520.91	761.46	762.48
1160	Ac-F\$8AYWAAc3cL\$A-NH ₂	1076	1256.70	629.35	1257.56
1161	Ac-LTF\$8AYWAAL\$S-NH ₂	1077	1474.82	738.41	738.55
1162	Ac-LVF\$8AYWAQL\$S-NH ₂	1078	1529.87	765.94	766
1163	Ac-LTF\$8AYWAbuQL\$S-NH ₂	1079	1545.86	773.93	773.92
1164	Ac-LTF\$8AYWNleQL\$S-NH ₂	1080	1573.89	787.95	788.17

1165	Ac-LTF\$r8AbuYWAQL\$S-NH ₂	1081	1545.86	773.93	773.99
1166	Ac-LTF\$r8AYWHQL\$S-NH ₂	1082	1597.87	799.94	799.97
1167	Ac-LTF\$r8AYWKQL\$S-NH ₂	1083	1588.90	795.45	795.53
1168	Ac-LTF\$r8AYWOQL\$S-NH ₂	1084	1574.89	788.45	788.5
1169	Ac-LTF\$r8AYWRQL\$S-NH ₂	1085	1616.91	809.46	809.51
1170	Ac-LTF\$r8AYWSQL\$S-NH ₂	1086	1547.84	774.92	774.96
1171	Ac-LTF\$r8AYWRAL\$S-NH ₂	1087	1559.89	780.95	780.95
1172	Ac-LTF\$r8AYWRQL\$A-NH ₂	1088	1600.91	801.46	801.52
1173	Ac-LTF\$r8AYWRAL\$A-NH ₂	1089	1543.89	772.95	773.03
1174	Ac-LTF\$r5HYWAQL\$s8S-NH ₂	1090	1597.87	799.94	799.97
1175	Ac-LTF\$HYWAQL\$r8S-NH ₂	1091	1597.87	799.94	799.97
1176	Ac-LTF\$r8HYWAAL\$S-NH ₂	1092	1540.84	771.42	771.48
1177	Ac-LTF\$r8HYWAAbuL\$S-NH ₂	1093	1554.86	778.43	778.51
1178	Ac-LTF\$r8HYWALL\$S-NH ₂	1094	1582.89	792.45	792.49
1179	Ac-F\$r8AYWHAL\$A-NH ₂	1095	1310.72	656.36	656.4
1180	Ac-F\$r8AYWAAL\$A-NH ₂	1096	1244.70	623.35	1245.61
1181	Ac-F\$r8AYWSAL\$A-NH ₂	1097	1260.69	631.35	1261.6
1182	Ac-F\$r8AYWRAL\$A-NH ₂	1098	1329.76	665.88	1330.72
1183	Ac-F\$r8AYWKAL\$A-NH ₂	1099	1301.75	651.88	1302.67
1184	Ac-F\$r8AYWOAL\$A-NH ₂	1100	1287.74	644.87	1289.13
1185	Ac-F\$r8VYWEAc3cL\$A-NH ₂	1101	1342.73	672.37	1343.67
1186	Ac-F\$r8FYWEAc3cL\$A-NH ₂	1102	1390.73	696.37	1392.14
1187	Ac-F\$r8WYWEAc3cL\$A-NH ₂	1103	1429.74	715.87	1431.44
1188	Ac-F\$r8RYWEAc3cL\$A-NH ₂	1104	1399.77	700.89	700.95
1189	Ac-F\$r8KYWEAc3cL\$A-NH ₂	1105	1371.76	686.88	686.97
1190	Ac-F\$r8ANleWEAc3cL\$A-NH ₂	1106	1264.72	633.36	1265.59
1191	Ac-F\$r8AVWEAc3cL\$A-NH ₂	1107	1250.71	626.36	1252.2
1192	Ac-F\$r8AFWEAc3cL\$A-NH ₂	1108	1298.71	650.36	1299.64
1193	Ac-F\$r8AWWEAc3cL\$A-NH ₂	1109	1337.72	669.86	1338.64
1194	Ac-F\$r8ARWEAc3cL\$A-NH ₂	1110	1307.74	654.87	655
1195	Ac-F\$r8AKWEAc3cL\$A-NH ₂	1111	1279.73	640.87	641.01
1196	Ac-F\$r8AYWVAc3cL\$A-NH ₂	1112	1284.73	643.37	643.38
1197	Ac-F\$r8AYWFAc3cL\$A-NH ₂	1113	1332.73	667.37	667.43
1198	Ac-F\$r8AYWWAc3cL\$A-NH ₂	1114	1371.74	686.87	686.97
1199	Ac-F\$r8AYWRAc3cL\$A-NH ₂	1115	1341.76	671.88	671.94
1200	Ac-F\$r8AYWKA3cL\$A-NH ₂	1116	1313.75	657.88	657.88
1201	Ac-F\$r8AYWEVL\$A-NH ₂	1117	1330.73	666.37	666.47
1202	Ac-F\$r8AYWEFL\$A-NH ₂	1118	1378.73	690.37	690.44
1203	Ac-F\$r8AYWEWL\$A-NH ₂	1119	1417.74	709.87	709.91
1204	Ac-F\$r8AYWERL\$A-NH ₂	1120	1387.77	694.89	1388.66
1205	Ac-F\$r8AYWEKL\$A-NH ₂	1121	1359.76	680.88	1361.21
1206	Ac-F\$r8AYWEAc3cL\$V-NH ₂	1122	1342.73	672.37	1343.59
1207	Ac-F\$r8AYWEAc3cL\$F-NH ₂	1123	1390.73	696.37	1392.58
1208	Ac-F\$r8AYWEAc3cL\$W-NH ₂	1124	1429.74	715.87	1431.29
1209	Ac-F\$r8AYWEAc3cL\$R-NH ₂	1125	1399.77	700.89	700.95
1210	Ac-F\$r8AYWEAc3cL\$K-NH ₂	1126	1371.76	686.88	686.97
1211	Ac-F\$r8AYWEAc3cL\$AV-NH ₂	1127	1413.77	707.89	707.91
1212	Ac-F\$r8AYWEAc3cL\$AF-NH ₂	1128	1461.77	731.89	731.96

1213	Ac-F\$r8AYWEAc3cL\$AW-NH ₂	1129	1500.78	751.39	751.5
1214	Ac-F\$r8AYWEAc3cL\$AR-NH ₂	1130	1470.80	736.40	736.47
1215	Ac-F\$r8AYWEAc3cL\$AK-NH ₂	1131	1442.80	722.40	722.41
1216	Ac-F\$r8AYWEAc3cL\$AH-NH ₂	1132	1451.76	726.88	726.93
1217	Ac-LTF2NO2\$r8HYWAQL\$S-NH ₂	1133	1642.85	822.43	822.54
1218	Ac-LTA\$r8HYAAQL\$S-NH ₂	1134	1406.79	704.40	704.5
1219	Ac-LTF\$r8HYAAQL\$S-NH ₂	1135	1482.82	742.41	742.47
1220	Ac-QSQQTf\$r8NLWALL\$AN-NH ₂	1136	1966.07	984.04	984.38
1221	Ac-QAibQQTf\$r8NLWALL\$AN-NH ₂	1137	1964.09	983.05	983.42
1222	Ac-QAibQQTf\$r8ALWALL\$AN-NH ₂	1138	1921.08	961.54	961.59
1223	Ac-AAATF\$r8AAWAAL\$AA-NH ₂	1139	1608.90	805.45	805.52
1224	Ac-F\$r8AAWRAL\$Q-NH ₂	1140	1294.76	648.38	648.48
1225	Ac-TF\$r8AAWAAL\$Q-NH ₂	1141	1310.74	656.37	1311.62
1226	Ac-TF\$r8AAWRAL\$A-NH ₂	1142	1338.78	670.39	670.46
1227	Ac-VF\$r8AAWRAL\$Q-NH ₂	1143	1393.82	697.91	697.99
1228	Ac-AF\$r8AAWAAL\$A-NH ₂	1144	1223.71	612.86	1224.67
1229	Ac-TF\$r8AAWKAL\$Q-NH ₂	1145	1367.80	684.90	684.97
1230	Ac-TF\$r8AAWOAL\$Q-NH ₂	1146	1353.78	677.89	678.01
1231	Ac-TF\$r8AAWSAL\$Q-NH ₂	1147	1326.73	664.37	664.47
1232	Ac-LTF\$r8AAWRAL\$Q-NH ₂	1148	1508.89	755.45	755.49
1233	Ac-F\$r8AYWAQL\$A-NH ₂	1149	1301.72	651.86	651.96
1234	Ac-F\$r8AWWAAL\$A-NH ₂	1150	1267.71	634.86	634.87
1235	Ac-F\$r8AWWAQL\$A-NH ₂	1151	1324.73	663.37	663.43
1236	Ac-F\$r8AYWEAL\$-NH ₂	1152	1231.66	616.83	1232.93
1237	Ac-F\$r8AYWAAL\$-NH ₂	1153	1173.66	587.83	1175.09
1238	Ac-F\$r8AYWKAL\$-NH ₂	1154	1230.72	616.36	616.44
1239	Ac-F\$r8AYWOAL\$-NH ₂	1155	1216.70	609.35	609.48
1240	Ac-F\$r8AYWQAL\$-NH ₂	1156	1230.68	616.34	616.44
1241	Ac-F\$r8AYWAQL\$-NH ₂	1157	1230.68	616.34	616.37
1242	Ac-F\$r8HYWDQL\$S-NH ₂	1158	1427.72	714.86	714.86
1243	Ac-F\$r8HFWEQL\$S-NH ₂	1159	1425.74	713.87	713.98
1244	Ac-F\$r8AYWHQL\$S-NH ₂	1160	1383.73	692.87	692.96
1245	Ac-F\$r8AYWKQL\$S-NH ₂	1161	1374.77	688.39	688.45
1246	Ac-F\$r8AYWOQL\$S-NH ₂	1162	1360.75	681.38	681.49
1247	Ac-F\$r8HYWSQL\$S-NH ₂	1163	1399.73	700.87	700.95
1248	Ac-F\$r8HWWEQL\$S-NH ₂	1164	1464.76	733.38	733.44
1249	Ac-F\$r8HWWAQL\$S-NH ₂	1165	1406.75	704.38	704.43
1250	Ac-F\$r8AWWHQL\$S-NH ₂	1166	1406.75	704.38	704.43
1251	Ac-F\$r8AWWKQL\$S-NH ₂	1167	1397.79	699.90	699.92
1252	Ac-F\$r8AWWOQL\$S-NH ₂	1168	1383.77	692.89	692.96
1253	Ac-F\$r8HWWSQL\$S-NH ₂	1169	1422.75	712.38	712.42
1254	Ac-LTF\$r8NYWANleL\$Q-NH ₂	1170	1600.90	801.45	801.52
1255	Ac-LTF\$r8NLWAQL\$Q-NH ₂	1171	1565.90	783.95	784.06
1256	Ac-LTF\$r8NYWANleL\$A-NH ₂	1172	1543.88	772.94	773.03
1257	Ac-LTF\$r8NLWAQL\$A-NH ₂	1173	1508.88	755.44	755.49
1258	Ac-LTF\$r8AYWANleL\$Q-NH ₂	1174	1557.90	779.95	780.06
1259	Ac-LTF\$r8ALWAQL\$Q-NH ₂	1175	1522.89	762.45	762.45
1260	Ac-LAF\$r8NYWANleL\$Q-NH ₂	1176	1570.89	786.45	786.5

1261	Ac-LAF\$r8NLWAQL\$Q-NH ₂	1177	1535.89	768.95	769.03
1262	Ac-LAF\$r8AYWANleL\$A-NH ₂	1178	1470.86	736.43	736.47
1263	Ac-LAF\$r8ALWAQL\$A-NH ₂	1179	1435.86	718.93	719.01
1264	Ac-LAF\$r8AYWAAL\$A-NH ₂	1180	1428.82	715.41	715.41
1265	Ac-F\$r8AYWEAc3cL\$AAib-NH ₂	1181	1399.75	700.88	700.95
1266	Ac-F\$r8AYWAQL\$AA-NH ₂	1182	1372.75	687.38	687.78
1267	Ac-F\$r8AYWAAc3cL\$AA-NH ₂	1183	1327.73	664.87	664.84
1268	Ac-F\$r8AYWSAc3cL\$AA-NH ₂	1184	1343.73	672.87	672.9
1269	Ac-F\$r8AYWEAc3cL\$AS-NH ₂	1185	1401.73	701.87	701.84
1270	Ac-F\$r8AYWEAc3cL\$AT-NH ₂	1186	1415.75	708.88	708.87
1271	Ac-F\$r8AYWEAc3cL\$AL-NH ₂	1187	1427.79	714.90	714.94
1272	Ac-F\$r8AYWEAc3cL\$AQ-NH ₂	1188	1442.76	722.38	722.41
1273	Ac-F\$r8AFWEAc3cL\$AA-NH ₂	1189	1369.74	685.87	685.93
1274	Ac-F\$r8AWWEAc3cL\$AA-NH ₂	1190	1408.75	705.38	705.39
1275	Ac-F\$r8AYWEAc3cL\$SA-NH ₂	1191	1401.73	701.87	701.99
1276	Ac-F\$r8AYWEAL\$AA-NH ₂	1192	1373.74	687.87	687.93
1277	Ac-F\$r8AYWENleL\$AA-NH ₂	1193	1415.79	708.90	708.94
1278	Ac-F\$r8AYWEAc3cL\$AbuA-NH ₂	1194	1399.75	700.88	700.95
1279	Ac-F\$r8AYWEAc3cL\$NleA-NH ₂	1195	1427.79	714.90	714.86
1280	Ac-F\$r8AYWEAibL\$NleA-NH ₂	1196	1429.80	715.90	715.97
1281	Ac-F\$r8AYWEAL\$NleA-NH ₂	1197	1415.79	708.90	708.94
1282	Ac-F\$r8AYWENleL\$NleA-NH ₂	1198	1457.83	729.92	729.96
1283	Ac-F\$r8AYWEAibL\$Abu-NH ₂	1199	1330.73	666.37	666.39
1284	Ac-F\$r8AYWENleL\$Abu-NH ₂	1200	1358.76	680.38	680.39
1285	Ac-F\$r8AYWEAL\$Abu-NH ₂	1201	1316.72	659.36	659.36
1286	Ac-LTF\$r8AFWAQL\$S-NH ₂	1202	1515.85	758.93	759.12
1287	Ac-LTF\$r8AWWAQL\$S-NH ₂	1203	1554.86	778.43	778.51
1288	Ac-LTF\$r8AYWAQI\$S-NH ₂	1204	1531.84	766.92	766.96
1289	Ac-LTF\$r8AYWAQNle\$S-NH ₂	1205	1531.84	766.92	766.96
1290	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$SA-NH ₂	1206	1602.88	802.44	802.48
1291	Ac-LTF\$r8AWWAQL\$A-NH ₂	1207	1538.87	770.44	770.89
1292	Ac-LTF\$r8AYWAQI\$A-NH ₂	1208	1515.85	758.93	759.42
1293	Ac-LTF\$r8AYWAQNle\$A-NH ₂	1209	1515.85	758.93	759.42
1294	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$AA-NH ₂	1210	1586.89	794.45	794.94
1295	Ac-LTF\$r8HWWAQL\$S-NH ₂	1211	1620.88	811.44	811.47
1296	Ac-LTF\$r8HRWAQL\$S-NH ₂	1212	1590.90	796.45	796.52
1297	Ac-LTF\$r8HKWAQL\$S-NH ₂	1213	1562.90	782.45	782.53
1298	Ac-LTF\$r8HYWAQL\$W-NH ₂	1214	1696.91	849.46	849.5
1299	Ac-F\$r8AYWAbuAL\$A-NH ₂	1215	1258.71	630.36	630.5
1300	Ac-F\$r8AbuYWEAL\$A-NH ₂	1216	1316.72	659.36	659.51
1301	Ac-NlePRF%r8NYWRLl%QN-NH ₂	1217	1954.13	978.07	978.54
1302	Ac-TSF%r8HYWAQL%S-NH ₂	1218	1573.83	787.92	787.98
1303	Ac-LTF%r8AYWAQL%S-NH ₂	1219	1533.86	767.93	768
1304	Ac-HTF\$r8HYWAQL\$S-NH ₂	1220	1621.84	811.92	811.96
1305	Ac-LHF\$r8HYWAQL\$S-NH ₂	1221	1633.88	817.94	818.02
1306	Ac-LTF\$r8HHWAQL\$S-NH ₂	1222	1571.86	786.93	786.94
1307	Ac-LTF\$r8HYWHQL\$S-NH ₂	1223	1663.89	832.95	832.38
1308	Ac-LTF\$r8HYWAHL\$S-NH ₂	1224	1606.87	804.44	804.48

1309	Ac-LTF\$r8HYWAQL\$H-NH ₂	1225	1647.89	824.95	824.98
1310	Ac-LTF\$r8HYWAQL\$S-NHPr	1226	1639.91	820.96	820.98
1311	Ac-LTF\$r8HYWAQL\$S-NHsBu	1227	1653.93	827.97	828.02
1312	Ac-LTF\$r8HYWAQL\$S-NHiBu	1228	1653.93	827.97	828.02
1313	Ac-LTF\$r8HYWAQL\$S-NHBn	1229	1687.91	844.96	844.44
1314	Ac-LTF\$r8HYWAQL\$S-NHPe	1230	1700.92	851.46	851.99
1315	Ac-LTF\$r8HYWAQL\$S-NHChx	1231	1679.94	840.97	841.04
1316	Ac-ETF\$r8AYWAQL\$S-NH ₂	1232	1547.80	774.90	774.96
1317	Ac-STF\$r8AYWAQL\$S-NH ₂	1233	1505.79	753.90	753.94
1318	Ac-LEF\$r8AYWAQL\$S-NH ₂	1234	1559.84	780.92	781.25
1319	Ac-LSF\$r8AYWAQL\$S-NH ₂	1235	1517.83	759.92	759.93
1320	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$S-NH ₂	1236	1589.85	795.93	795.97
1321	Ac-LTF\$r8SYWAQL\$S-NH ₂	1237	1547.84	774.92	774.96
1322	Ac-LTF\$r8AYWEQL\$S-NH ₂	1238	1589.85	795.93	795.9
1323	Ac-LTF\$r8AYWAEL\$S-NH ₂	1239	1532.83	767.42	766.96
1324	Ac-LTF\$r8AYWASL\$S-NH ₂	1240	1490.82	746.41	746.46
1325	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$E-NH ₂	1241	1573.85	787.93	787.98
1326	Ac-LTF2CN\$r8HYWAQL\$S-NH ₂	1242	1622.86	812.43	812.47
1327	Ac-LTF3Cl\$r8HYWAQL\$S-NH ₂	1243	1631.83	816.92	816.99
1328	Ac-LTDip\$r8HYWAQL\$S-NH ₂	1244	1673.90	837.95	838.01
1329	Ac-LTF\$r8HYWAQTle\$S-NH ₂	1245	1597.87	799.94	800.04
1330	Ac-F\$r8AY6clWEAL\$A-NH ₂	1246	1336.66	669.33	1338.56
1331	Ac-F\$r8AYdl6brWEAL\$A-NH ₂	1247	1380.61	691.31	692.2
1332	Ac-F\$r8AYdl6fWEAL\$A-NH ₂	1248	1320.69	661.35	1321.61
1333	Ac-F\$r8AYdl4mWEAL\$A-NH ₂	1249	1316.72	659.36	659.36
1334	Ac-F\$r8AYdl5clWEAL\$A-NH ₂	1250	1336.66	669.33	669.35
1335	Ac-F\$r8AYdl7mWEAL\$A-NH ₂	1251	1316.72	659.36	659.36
1336	Ac-LTF%r8HYWAQL%A-NH ₂	1252	1583.89	792.95	793.01
1337	Ac-LTF\$r8HCouWAQL\$S-NH ₂	1253	1679.87	840.94	841.38
1338	Ac-LTFEHCouWAQLTS-NH ₂	1254	1617.75	809.88	809.96
1339	Ac-LTA\$r8HCouWAQL\$S-NH ₂	1255	1603.84	802.92	803.36
1340	Ac-F\$r8AYWEAL\$AbuA-NH ₂	1256	1387.75	694.88	694.88
1341	Ac-F\$r8AYWEAI\$AA-NH ₂	1257	1373.74	687.87	687.93
1342	Ac-F\$r8AYWEANle\$AA-NH ₂	1258	1373.74	687.87	687.93
1343	Ac-F\$r8AYWEAmIL\$AA-NH ₂	1259	1429.80	715.90	715.97
1344	Ac-F\$r8AYWQAL\$AA-NH ₂	1260	1372.75	687.38	687.48
1345	Ac-F\$r8AYWAAL\$AA-NH ₂	1261	1315.73	658.87	658.92
1346	Ac-F\$r8AYWAbuAL\$AA-NH ₂	1262	1329.75	665.88	665.95
1347	Ac-F\$r8AYWNleAL\$AA-NH ₂	1263	1357.78	679.89	679.94
1348	Ac-F\$r8AbuYWEAL\$AA-NH ₂	1264	1387.75	694.88	694.96
1349	Ac-F\$r8NleYWEAL\$AA-NH ₂	1265	1415.79	708.90	708.94
1350	Ac-F\$r8FYWEAL\$AA-NH ₂	1266	1449.77	725.89	725.97
1351	Ac-LTF\$r8HYWAQhL\$S-NH ₂	1267	1611.88	806.94	807
1352	Ac-LTF\$r8HYWAQAdm\$S-NH ₂	1268	1675.91	838.96	839.04
1353	Ac-LTF\$r8HYWAQIgl\$S-NH ₂	1269	1659.88	830.94	829.94
1354	Ac-F\$r8AYWAQL\$AA-NH ₂	1270	1372.75	687.38	687.48
1355	Ac-LTF\$r8ALWAQL\$Q-NH ₂	1271	1522.89	762.45	762.52
1356	Ac-F\$r8AYWEAL\$AA-NH ₂	1272	1373.74	687.87	687.93

1357	Ac-F\$r8AYWENleL\$AA-NH ₂	1273	1415.79	708.90	708.94
1358	Ac-F\$r8AYWEAibL\$Abu-NH ₂	1274	1330.73	666.37	666.39
1359	Ac-F\$r8AYWENleL\$Abu-NH ₂	1275	1358.76	680.38	680.38
1360	Ac-F\$r8AYWEAL\$Abu-NH ₂	1276	1316.72	659.36	659.36
1361	Ac-F\$r8AYWEAc3cL\$AbuA-NH ₂	1277	1399.75	700.88	700.95
1362	Ac-F\$r8AYWEAc3cL\$NleA-NH ₂	1278	1427.79	714.90	715.01
1363	H-LTF\$r8AYWAQL\$S-NH ₂	1279	1489.83	745.92	745.95
1364	mdPEG3-LTF\$r8AYWAQL\$S-NH ₂	1280	1679.92	840.96	840.97
1365	mdPEG7-LTF\$r8AYWAQL\$S-NH ₂	1281	1856.02	929.01	929.03
1366	Ac-F\$r8ApmptEt6clWEAL\$A-NH ₂	1282	1470.71	736.36	788.17
1367	Ac-LTF3Cl\$r8AYWAQL\$S-NH ₂	1283	1565.81	783.91	809.18
1368	Ac-LTF3Cl\$r8HYWAQL\$A-NH ₂	1284	1615.83	808.92	875.24
1369	Ac-LTF3Cl\$r8HYWWQL\$S-NH ₂	1285	1746.87	874.44	841.65
1370	Ac-LTF3Cl\$r8AYWWQL\$S-NH ₂	1286	1680.85	841.43	824.63
1371	Ac-LTF\$r8AYWWQL\$S-NH ₂	1287	1646.89	824.45	849.98
1372	Ac-LTF\$r8HYWWQL\$A-NH ₂	1288	1696.91	849.46	816.67
1373	Ac-LTF\$r8AYWWQL\$A-NH ₂	1289	1630.89	816.45	776.15
1374	Ac-LTF4F\$r8AYWAQL\$S-NH ₂	1290	1549.83	775.92	776.15
1375	Ac-LTF2F\$r8AYWAQL\$S-NH ₂	1291	1549.83	775.92	776.15
1376	Ac-LTF3F\$r8AYWAQL\$S-NH ₂	1292	1549.83	775.92	785.12
1377	Ac-LTF34F2\$r8AYWAQL\$S-NH ₂	1293	1567.83	784.92	785.12
1378	Ac-LTF35F2\$r8AYWAQL\$S-NH ₂	1294	1567.83	784.92	1338.74
1379	Ac-F3Cl\$r8AYWEAL\$A-NH ₂	1295	1336.66	669.33	705.28
1380	Ac-F3Cl\$r8AYWEAL\$AA-NH ₂	1296	1407.70	704.85	680.11
1381	Ac-F\$r8AY6clWEAL\$AA-NH ₂	1297	1407.70	704.85	736.83
1382	Ac-F\$r8AY6clWEAL\$-NH ₂	1298	1265.63	633.82	784.1
1383	Ac-LTF\$r8HYWAQL\$S/S-NH ₂	1299	16.03	9.02	826.98
1384	Ac-LTF\$r8HYWAQL\$S-NHsBu	1300	1653.93	827.97	828.02
1385	Ac-STF\$r8AYWAQL\$S-NH ₂	1301	1505.79	753.90	753.94
1386	Ac-LTF\$r8AYWAEL\$S-NH ₂	1302	1532.83	767.42	767.41
1387	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$E-NH ₂	1303	1573.85	787.93	787.98
1388	mdPEG3-LTF\$r8AYWAQL\$S-NH ₂	1304	1679.92	840.96	840.97
1389	Ac-LTF\$r8AYWAQhL\$S-NH ₂	1305	1545.86	773.93	774.31
1390	Ac-LTF\$r8AYWAQCha\$S-NH ₂	1306	1571.88	786.94	787.3
1391	Ac-LTF\$r8AYWAQChg\$S-NH ₂	1307	1557.86	779.93	780.4
1392	Ac-LTF\$r8AYWAQCba\$S-NH ₂	1308	1543.84	772.92	780.13
1393	Ac-LTF\$r8AYWAQF\$S-NH ₂	1309	1565.83	783.92	784.2
1394	Ac-LTF4F\$r8HYWAQhL\$S-NH ₂	1310	1629.87	815.94	815.36
1395	Ac-LTF4F\$r8HYWAQCha\$S-NH ₂	1311	1655.89	828.95	828.39
1396	Ac-LTF4F\$r8HYWAQChg\$S-NH ₂	1312	1641.87	821.94	821.35
1397	Ac-LTF4F\$r8HYWAQCba\$S-NH ₂	1313	1627.86	814.93	814.32
1398	Ac-LTF4F\$r8AYWAQhL\$S-NH ₂	1314	1563.85	782.93	782.36
1399	Ac-LTF4F\$r8AYWAQCha\$S-NH ₂	1315	1589.87	795.94	795.38
1400	Ac-LTF4F\$r8AYWAQChg\$S-NH ₂	1316	1575.85	788.93	788.35
1401	Ac-LTF4F\$r8AYWAQCba\$S-NH ₂	1317	1561.83	781.92	781.39
1402	Ac-LTF3Cl\$r8AYWAQhL\$S-NH ₂	1318	1579.82	790.91	790.35
1403	Ac-LTF3Cl\$r8AYWAQCha\$S-NH ₂	1319	1605.84	803.92	803.67
1404	Ac-LTF3Cl\$r8AYWAQChg\$S-NH ₂	1320	1591.82	796.91	796.34

1405	Ac-LTF3Cl\$8AYWAQCba\$S-NH ₂	1321	1577.81	789.91	789.39
1406	Ac-LTF\$8AYWAQhF\$S-NH ₂	1322	1579.84	790.92	791.14
1407	Ac-LTF\$8AYWAQF3CF3\$S-NH ₂	1323	1633.82	817.91	818.15
1408	Ac-LTF\$8AYWAQF3Me\$S-NH ₂	1324	1581.86	791.93	791.32
1409	Ac-LTF\$8AYWAQ1NaI\$S-NH ₂	1325	1615.84	808.92	809.18
1413	Ac-LTF\$8AYWAQBip\$S-NH ₂	1326	1641.86	821.93	822.13
1414	Ac-LTF\$8FYWAQL\$A-NH ₂	1327	1591.88	796.94	797.33
1415	Ac-LTF\$8HYWAQL\$S-NHAm	1328	1667.94	834.97	835.92
1416	Ac-LTF\$8HYWAQL\$S-NHiAm	1329	1667.94	834.97	835.55
1417	Ac-LTF\$8HYWAQL\$S-NHnPr3Ph	1330	1715.94	858.97	859.79
1418	Ac-LTF\$8HYWAQL\$S-NHnBu3,3Me	1331	1681.96	841.98	842.49
1419	Ac-LTF\$8HYWAQL\$S-NHnPr	1332	1639.91	820.96	821.58
1420	Ac-LTF\$8HYWAQL\$S-NHnEt2Ch	1333	1707.98	854.99	855.35
1421	Ac-LTF\$8HYWAQL\$S-NHHex	1334	1681.96	841.98	842.4
1422	Ac-LTF\$8AYWAQL\$S-NHmdPeg2	1335	1633.91	817.96	818.35
1423	Ac-LTF\$8AYWAQL\$A-NHmdPeg2	1336	1617.92	809.96	810.3
1424	Ac-LTF\$8AYWAQL\$A-NHmdPeg4	1337	1705.97	853.99	854.33
1425	Ac-F\$8AYdl4mWEAL\$A-NH ₂	1338	1316.72	659.36	659.44
1426	Ac-F\$8AYdl5clWEAL\$A-NH ₂	1339	1336.66	669.33	669.43
1427	Ac-LThF\$8AYWAQL\$S-NH ₂	1340	1545.86	773.93	774.11
1428	Ac-LT2NaI\$8AYWAQL\$S-NH ₂	1341	1581.86	791.93	792.43
1429	Ac-LTA\$8AYWAQL\$S-NH ₂	1342	1455.81	728.91	729.15
1430	Ac-LTF\$8AYWVQL\$S-NH ₂	1343	1559.88	780.94	781.24
1431	Ac-LTF\$8HYWAAL\$A-NH ₂	1344	1524.85	763.43	763.86
1432	Ac-LTF\$8VYWAQL\$A-NH ₂	1345	1543.88	772.94	773.37
1433	Ac-LTF\$8IYWAQL\$S-NH ₂	1346	1573.89	787.95	788.17
1434	Ac-FTF\$8VYWSQL\$S-NH ₂	1347	1609.85	805.93	806.22
1435	Ac-ITF\$8FYWAQL\$S-NH ₂	1348	1607.88	804.94	805.2
1436	Ac-2NaITF\$8VYWSQL\$S-NH ₂	1349	1659.87	830.94	831.2
1437	Ac-ITF\$8LYWSQL\$S-NH ₂	1350	1589.89	795.95	796.13
1438	Ac-FTF\$8FYWAQL\$S-NH ₂	1351	1641.86	821.93	822.13
1439	Ac-WTF\$8VYWAQL\$S-NH ₂	1352	1632.87	817.44	817.69
1440	Ac-WTF\$8WYWAQL\$S-NH ₂	1353	1719.88	860.94	861.36
1441	Ac-VTF\$8AYWSQL\$S-NH ₂	1354	1533.82	767.91	768.19
1442	Ac-WTF\$8FYWSQL\$S-NH ₂	1355	1696.87	849.44	849.7
1443	Ac-FTF\$8IYWAQL\$S-NH ₂	1356	1607.88	804.94	805.2
1444	Ac-WTF\$8VYWSQL\$S-NH ₂	1357	1648.87	825.44	824.8
1445	Ac-FTF\$8LYWSQL\$S-NH ₂	1358	1623.87	812.94	812.8
1446	Ac-YTF\$8FYWSQL\$S-NH ₂	1359	1673.85	837.93	837.8
1447	Ac-LTF\$8AY6clWEAL\$A-NH ₂	1360	1550.79	776.40	776.14
1448	Ac-LTF\$8AY6clWSQL\$S-NH ₂	1361	1581.80	791.90	791.68
1449	Ac-F\$8AY6clWSAL\$A-NH ₂	1362	1294.65	648.33	647.67
1450	Ac-F\$8AY6clWQAL\$AA-NH ₂	1363	1406.72	704.36	703.84
1451	Ac-LHF\$8AYWAQL\$S-NH ₂	1364	1567.86	784.93	785.21
1452	Ac-LTF\$8AYWAQL\$S-NH ₂	1365	1531.84	766.92	767.17
1453	Ac-LTF\$8AHWAQL\$S-NH ₂	1366	1505.84	753.92	754.13
1454	Ac-LTF\$8AYWAHL\$S-NH ₂	1367	1540.84	771.42	771.61
1455	Ac-LTF\$8AYWAQL\$H-NH ₂	1368	1581.87	791.94	792.15

1456	H-LTF\$r8AYWAQL\$A-NH ₂	1369	1473.84	737.92	737.29
1457	Ac-HHF\$r8AYWAQL\$S-NH ₂	1370	1591.83	796.92	797.35
1458	Ac-aAibWTF\$r8VYWSQL\$S-NH ₂	1371	1804.96	903.48	903.64
1459	Ac-AibWTF\$r8HYWAQL\$S-NH ₂	1372	1755.91	878.96	879.4
1460	Ac-AibAWTF\$r8HYWAQL\$S-NH ₂	1373	1826.95	914.48	914.7
1461	Ac-fWTF\$r8HYWAQL\$S-NH ₂	1374	1817.93	909.97	910.1
1462	Ac-AibWWTF\$r8HYWAQL\$S-NH ₂	1375	1941.99	972.00	972.2
1463	Ac-WTF\$r8LYWSQL\$S-NH ₂	1376	1662.88	832.44	832.8
1464	Ac-WTF\$r8NleYWSQL\$S-NH ₂	1377	1662.88	832.44	832.6
1465	Ac-LTF\$r8AYWSQL\$a-NH ₂	1378	1531.84	766.92	767.2
1466	Ac-LTF\$r8EYWARL\$A-NH ₂	1379	1601.90	801.95	802.1
1467	Ac-LTF\$r8EYWAHL\$A-NH ₂	1380	1582.86	792.43	792.6
1468	Ac-aTF\$r8AYWAQL\$S-NH ₂	1381	1489.80	745.90	746.08
1469	Ac-AibTF\$r8AYWAQL\$S-NH ₂	1382	1503.81	752.91	753.11
1470	Ac-AmfTF\$r8AYWAQL\$S-NH ₂	1383	1579.84	790.92	791.14
1471	Ac-AmwTF\$r8AYWAQL\$S-NH ₂	1384	1618.86	810.43	810.66
1472	Ac-NmLTF\$r8AYWAQL\$S-NH ₂	1385	1545.86	773.93	774.11
1473	Ac-LNmTF\$r8AYWAQL\$S-NH ₂	1386	1545.86	773.93	774.11
1474	Ac-LSarF\$r8AYWAQL\$S-NH ₂	1387	1501.83	751.92	752.18
1475	Ac-LGF\$r8AYWAQL\$S-NH ₂	1388	1487.82	744.91	745.15
1476	Ac-LTNmF\$r8AYWAQL\$S-NH ₂	1389	1545.86	773.93	774.2
1477	Ac-TF\$r8AYWAQL\$S-NH ₂	1390	1418.76	710.38	710.64
1478	Ac-ETF\$r8AYWAQL\$A-NH ₂	1391	1531.81	766.91	767.2
1479	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$A-NH ₂	1392	1573.85	787.93	788.1
1480	Ac-LT2Nal\$r8AYWSQL\$S-NH ₂	1393	1597.85	799.93	800.4
1481	Ac-LTF\$r8AYWAAL\$S-NH ₂	1394	1474.82	738.41	738.68
1482	Ac-LTF\$r8AYWAQhCha\$S-NH ₂	1395	1585.89	793.95	794.19
1483	Ac-LTF\$r8AYWAQChg\$S-NH ₂	1396	1557.86	779.93	780.97
1484	Ac-LTF\$r8AYWAQCba\$S-NH ₂	1397	1543.84	772.92	773.19
1485	Ac-LTF\$r8AYWAQF3CF3\$S-NH ₂	1398	1633.82	817.91	818.15
1486	Ac-LTF\$r8AYWAQ1Nal\$S-NH ₂	1399	1615.84	808.92	809.18
1487	Ac-LTF\$r8AYWAQBip\$S-NH ₂	1400	1641.86	821.93	822.32
1488	Ac-LT2Nal\$r8AYWAQL\$S-NH ₂	1401	1581.86	791.93	792.15
1489	Ac-LTF\$r8AYWVQL\$S-NH ₂	1402	1559.88	780.94	781.62
1490	Ac-LTF\$r8AWWAQL\$S-NH ₂	1403	1554.86	778.43	778.65
1491	Ac-FTF\$r8VYWSQL\$S-NH ₂	1404	1609.85	805.93	806.12
1492	Ac-ITF\$r8FYWAQL\$S-NH ₂	1405	1607.88	804.94	805.2
1493	Ac-ITF\$r8LYWSQL\$S-NH ₂	1406	1589.89	795.95	796.22
1494	Ac-FTF\$r8FYWAQL\$S-NH ₂	1407	1641.86	821.93	822.41
1495	Ac-VTF\$r8AYWSQL\$S-NH ₂	1408	1533.82	767.91	768.19
1496	Ac-LTF\$r8AHWAQL\$S-NH ₂	1409	1505.84	753.92	754.31
1497	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$H-NH ₂	1410	1581.87	791.94	791.94
1498	Ac-LTF\$r8AYWAHL\$S-NH ₂	1411	1540.84	771.42	771.61
1499	Ac-aAibWTF\$r8VYWSQL\$S-NH ₂	1412	1804.96	903.48	903.9
1500	Ac-AibWTF\$r8HYWAQL\$S-NH ₂	1413	1755.91	878.96	879.5
1501	Ac-AibAWTF\$r8HYWAQL\$S-NH ₂	1414	1826.95	914.48	914.7
1502	Ac-fWTF\$r8HYWAQL\$S-NH ₂	1415	1817.93	909.97	910.2
1503	Ac-AibWWTF\$r8HYWAQL\$S-NH ₂	1416	1941.99	972.00	972.7

1504	Ac-WTF\$r8LYWSQL\$S-NH ₂	1417	1662.88	832.44	832.7
1505	Ac-WTF\$r8NleYWSQL\$S-NH ₂	1418	1662.88	832.44	832.7
1506	Ac-LTF\$r8AYWSQL\$a-NH ₂	1419	1531.84	766.92	767.2
1507	Ac-LTF\$r8EYWARL\$a-NH ₂	1420	1601.90	801.95	802.2
1508	Ac-LTF\$r8EYWAHL\$a-NH ₂	1421	1582.86	792.43	792.6
1509	Ac-aTF\$r8AYWAQL\$S-NH ₂	1422	1489.80	745.90	746.1
1510	Ac-AibTF\$r8AYWAQL\$S-NH ₂	1423	1503.81	752.91	753.2
1513	Ac-AmfTF\$r8AYWAQL\$S-NH ₂	1424	1579.84	790.92	791.2
1514	Ac-AmwTF\$r8AYWAQL\$S-NH ₂	1425	1618.86	810.43	810.7
1515	Ac-NmLTF\$r8AYWAQL\$S-NH ₂	1426	1545.86	773.93	774.1
1516	Ac-LNmTF\$r8AYWAQL\$S-NH ₂	1427	1545.86	773.93	774.4
1517	Ac-LSarF\$r8AYWAQL\$S-NH ₂	1428	1501.83	751.92	752.1
1518	Ac-TF\$r8AYWAQL\$S-NH ₂	1429	1418.76	710.38	710.8
1519	Ac-ETF\$r8AYWAQL\$a-NH ₂	1430	1531.81	766.91	767.4
1520	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$a-NH ₂	1431	1573.85	787.93	788.2
1521	Ac-WTF\$r8VYWSQL\$S-NH ₂	1432	1648.87	825.44	825.2
1522	Ac-YTF\$r8FYWSQL\$S-NH ₂	1433	1673.85	837.93	837.3
1523	Ac-F\$r8AY6clWSAL\$a-NH ₂	1434	1294.65	648.33	647.74
1524	Ac-ETF\$r8EYWVQL\$S-NH ₂	1435	1633.84	817.92	817.36
1525	Ac-ETF\$r8EHWAQL\$a-NH ₂	1436	1563.81	782.91	782.36
1526	Ac-ITF\$r8EYWAQL\$S-NH ₂	1437	1589.85	795.93	795.38
1527	Ac-ITF\$r8EHWVQL\$a-NH ₂	1438	1575.88	788.94	788.42
1528	Ac-ITF\$r8EHWAQL\$S-NH ₂	1439	1563.85	782.93	782.43
1529	Ac-LTF4F\$r8AYWAQCba\$S-NH ₂	1440	1561.83	781.92	781.32
1530	Ac-LTF3Cl\$r8AYWAQhL\$S-NH ₂	1441	1579.82	790.91	790.64
1531	Ac-LTF3Cl\$r8AYWAQCha\$S-NH ₂	1442	1605.84	803.92	803.37
1532	Ac-LTF3Cl\$r8AYWAQChg\$S-NH ₂	1443	1591.82	796.91	796.27
1533	Ac-LTF3Cl\$r8AYWAQCba\$S-NH ₂	1444	1577.81	789.91	789.83
1534	Ac-LTF\$r8AY6clWSQL\$S-NH ₂	1445	1581.80	791.90	791.75
1535	Ac-LTF4F\$r8HYWAQhL\$S-NH ₂	1446	1629.87	815.94	815.36
1536	Ac-LTF4F\$r8HYWAQCba\$S-NH ₂	1447	1627.86	814.93	814.32
1537	Ac-LTF4F\$r8AYWAQhL\$S-NH ₂	1448	1563.85	782.93	782.36
1538	Ac-LTF4F\$r8AYWAQChg\$S-NH ₂	1449	1575.85	788.93	788.35
1539	Ac-ETF\$r8EYWVAL\$S-NH ₂	1450	1576.82	789.41	788.79
1540	Ac-ETF\$r8EHWAAL\$a-NH ₂	1451	1506.79	754.40	754.8
1541	Ac-ITF\$r8EYWAAL\$S-NH ₂	1452	1532.83	767.42	767.75
1542	Ac-ITF\$r8EHWVAL\$a-NH ₂	1453	1518.86	760.43	760.81
1543	Ac-ITF\$r8EHWAAL\$S-NH ₂	1454	1506.82	754.41	754.8
1544	Pam-LTF\$r8EYWAQL\$S-NH ₂	1455	1786.07	894.04	894.48
1545	Pam-ETF\$r8EYWAQL\$S-NH ₂	1456	1802.03	902.02	902.34
1546	Ac-LTF\$r8AYWLQL\$S-NH ₂	1457	1573.89	787.95	787.39
1547	Ac-LTF\$r8EYWLQL\$S-NH ₂	1458	1631.90	816.95	817.33
1548	Ac-LTF\$r8EHWLQL\$S-NH ₂	1459	1605.89	803.95	804.29
1549	Ac-LTF\$r8VYWAQL\$S-NH ₂	1460	1559.88	780.94	781.34
1550	Ac-LTF\$r8AYWSQL\$S-NH ₂	1461	1547.84	774.92	775.33
1551	Ac-ETF\$r8AYWAQL\$S-NH ₂	1462	1547.80	774.90	775.7
1552	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$S-NH ₂	1463	1589.85	795.93	796.33
1553	Ac-LTF\$r8HYWAQL\$S-NHAm	1464	1667.94	834.97	835.37

1554	Ac-LTF\$r8HYWAQL\$S-NHiAm	1465	1667.94	834.97	835.27
1555	Ac-LTF\$r8HYWAQL\$S-NHnPr3Ph	1466	1715.94	858.97	859.42
1556	Ac-LTF\$r8HYWAQL\$S-NHnBu3,3Me	1467	1681.96	841.98	842.67
1557	Ac-LTF\$r8HYWAQL\$S-NHnBu	1468	1653.93	827.97	828.24
1558	Ac-LTF\$r8HYWAQL\$S-NHnPr	1469	1639.91	820.96	821.31
1559	Ac-LTF\$r8HYWAQL\$S-NHnEt2Ch	1470	1707.98	854.99	855.35
1560	Ac-LTF\$r8HYWAQL\$S-NHHex	1471	1681.96	841.98	842.4
1561	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$S-NHmdPeg2	1472	1633.91	817.96	855.35
1562	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$A-NHmdPeg2	1473	1617.92	809.96	810.58
1563	Ac-LTF\$r5AYWAAL\$S8S-NH ₂	1474	1474.82	738.41	738.79
1564	Ac-LTF\$r8AYWCouQL\$S-NH ₂	1475	1705.88	853.94	854.61
1565	Ac-LTF\$r8CouYWAQL\$S-NH ₂	1476	1705.88	853.94	854.7
1566	Ac-CouTF\$r8AYWAQL\$S-NH ₂	1477	1663.83	832.92	833.33
1567	H-LTF\$r8AYWAQL\$A-NH ₂	1478	1473.84	737.92	737.29
1568	Ac-HHF\$r8AYWAQL\$S-NH ₂	1479	1591.83	796.92	797.72
1569	Ac-LT2Nal\$r8AYWSQL\$S-NH ₂	1480	1597.85	799.93	800.68
1570	Ac-LTF\$r8HCouWAQL\$S-NH ₂	1481	1679.87	840.94	841.38
1571	Ac-LTF\$r8AYWCou2QL\$S-NH ₂	1482	1789.94	895.97	896.51
1572	Ac-LTF\$r8Cou2YWAQL\$S-NH ₂	1483	1789.94	895.97	896.5
1573	Ac-Cou2TF\$r8AYWAQL\$S-NH ₂	1484	1747.90	874.95	875.42
1574	Ac-LTF\$r8ACou2WAQL\$S-NH ₂	1485	1697.92	849.96	850.82
1575	Dmaac-LTF\$r8AYWAQL\$S-NH ₂	1486	1574.89	788.45	788.82
1576	Hexac-LTF\$r8AYWAQL\$S-NH ₂	1487	1587.91	794.96	795.11
1577	Napac-LTF\$r8AYWAQL\$S-NH ₂	1488	1657.89	829.95	830.36
1578	Pam-LTF\$r8AYWAQL\$S-NH ₂	1489	1728.06	865.03	865.45
1579	Ac-LT2Nal\$r8HYAAQL\$S-NH ₂	1490	1532.84	767.42	767.61
1580	Ac-LT2Nal\$/r8HYWAQL\$/S-NH ₂	1491	1675.91	838.96	839.1
1581	Ac-LT2Nal\$r8HYFAQL\$S-NH ₂	1492	1608.87	805.44	805.9
1582	Ac-LT2Nal\$r8HWAAQL\$S-NH ₂	1493	1555.86	778.93	779.08
1583	Ac-LT2Nal\$r8HYAWQL\$S-NH ₂	1494	1647.88	824.94	825.04
1584	Ac-LT2Nal\$r8HYAAQW\$S-NH ₂	1495	1605.83	803.92	804.05
1585	Ac-LTW\$r8HYWAQL\$S-NH ₂	1496	1636.88	819.44	819.95
1586	Ac-LT1Nal\$r8HYWAQL\$S-NH ₂	1497	1647.88	824.94	825.41

[0361] 观测质量通过电喷雾离子化质谱法测得。

[0362] 在一些实施方案中,本文公开的拟肽大环化合物不包含如表4b所示的拟肽大环化合物结构。

[0363] 表4c显示包含D-氨基酸的非交联多肽的实例。

表4c

SP	序列	SEQ ID NO:	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
1587	Ac-tawyanfekllr-NH ₂	1498			777.46			
1588	Ac-tawyanf4CF3ekllr-NH ₂	1499			811.41			

实施例2:细胞活力试验

[0364] 从液氮保存状态解冻细胞。一旦细胞扩充并且在预期的倍增时间 将其分开后,开始筛选。将细胞以500个细胞/孔接种在黑色384孔组织 培养处理的板中的生长培养基中。经由离心将细胞在测定平板中平衡,并在处理之前放置在附接于给药模块的37℃培养箱中24小时,产生细胞密度约为500个细胞/平板。在处理时,收集一组测定平板(未接受处理),并通过添加ATPLite (Perkin Elmer) 测量ATP水平。在Envision Plate Readers上使用超灵敏发光读取这些T-零 (T₀) 平板。使用自动声学分配系统,用来自1000x DMSO储备液的

化合物或肽处理测定平板,从而达到 1:1000的工作稀释度。板中的最终处理浓度为0 (媒介物)、0.001、0.003、0.01、0.03、0.1、0.3、1、3、10和30 μ M。将测定平板(每次处理4次 重复)与化合物或肽温育72小时。72小时后,采用ATPLite对平板进行 显色以供终点分析。所有数据点均经由自动化程序进行收集;质量控制;并使用Zaliscus专有软件进行分析。如果测试平板通过以下质量控制标准,则接受该测试平板:相对萤光素酶值在整个实验中是一致的,Z因子得分大于0.6,并且未处理/媒介物对照在平板上表现一致。

[0365] 在给药(T_0)和72小时(T_{72})后的时间测量被用作细胞活力量度的生长抑制(GI)。0%的GI读数表示没有生长抑制;GI 100%表示完全生长抑制,具有细胞抑制作用。GI 200%表示培养孔中的所有细胞完全死亡。达到GI 200%活性平台的化合物被视为是细胞毒性的。通过以下检验和 方程计算GI:

$$\text{若 } T < V_0: 100 * \left(1 - \frac{T - V_0}{V_0}\right)$$

$$\text{若 } T \geq V_0: 100 * \left(1 - \frac{T - V_0}{V - V_0}\right)$$

[0366] 其中T是检验物品的信号测量值,V是媒介物处理的控制测量值,而 V_0 是零时刻的媒介物控制测量值。该公式来源于国家癌症研究所(National Cancer Institute)NCI-60高通量筛选中使用的生长抑制计算。

[0367] 根据可从癌细胞系百科全书获得的信息将细胞系分配为p53野生型、突变体或空。示例性的p53拟肽大环化合物的结果示于以下表5中。

表5:p53^{WT}/p53^{MUT}癌细胞系中的细胞活力

细胞系	癌症类型	p53 ^{WT} /p53 ^{MUT}	SP-154	SP-763
			EC ₅₀ (μ M)	EC ₅₀ (μ M)
A2058	皮肤	p53 ^{MUT}	18.6	30
AsPC-1	胰腺	p53 ^{MUT}	30	30
Caov-3	卵巢	p53 ^{MUT}	12.9	30
Caov-4	卵巢	p53 ^{MUT}	30	30
COLO-679	皮肤	p53 ^{MUT}	13.5	30
COLO-684	子宫内膜	p53 ^{MUT}	10.1	30
COLO-741	皮肤	p53 ^{MUT}	18.5	30
EBC-1	肺-NSCLC	p53 ^{MUT}	30	30
ECC10	胃	p53 ^{MUT}	15.2	30
KM12	结直肠	p53 ^{MUT}	30	30
LS-123	结直肠	p53 ^{MUT}	30	30
MIA PaCa-2	胰腺	p53 ^{MUT}	30	30
NCI-H508	结直肠	p53 ^{MUT}	30	30
OVCAR-3	卵巢	p53 ^{MUT}	30	30
RPMI-7951	皮肤	p53 ^{MUT}	10.8	30
SF126	脑	p53 ^{MUT}	11	30
SK-OV-3	卵巢	p53 ^{MUT}	14.3	30

SW480	结直肠	p53 ^{MUT}	30	30
HCT-116	结直肠	p53 ^{WT}	0.464	1.02
HEC-151	子宫内膜	p53 ^{WT}	1.19	30
HEC-265	子宫内膜	p53 ^{WT}	1.78	30
HUH-6-clone5	肝	p53 ^{WT}	0.865	0.791
IST-MES1	肺	p53 ^{WT}	1.43	30
KP-N-RT-BM-1	nerve	p53 ^{WT}	0.285	0.255
KP-N-S19s	nerve	p53 ^{WT}	0.176	0.0168
LoVo	结直肠	p53 ^{WT}	0.431	0.134
LS-174T	结直肠	p53 ^{WT}	0.402	0.205
MST0-211H	肺	p53 ^{WT}	0.288	0.209
MV-4-11	AML	p53 ^{WT}	0.159	0.307
NCI-H929	多发性骨髓瘤	p53 ^{WT}	0.858	0.24
PA-1	卵巢	p53 ^{WT}	0.339	0.592
WM-115	皮肤	p53 ^{WT}	0.425	0.429
COLO-205	结直肠	p53 ^{WT}	0.646	0.429
COLO-849	皮肤	p53 ^{WT}	1.66	0.501
NCI-H28	肺	p53 ^{WT}	3.42	30

实施例3:安全性和/或耐受性研究-I

研究目标

[0368] 本研究旨在(i)评估Aileron肽-1的安全性和/或耐受性,以及(ii)确定晚期实体瘤患者(包括具有表达WT p53蛋白的肿瘤的患者)中Aileron肽1的DLT和MTD。Aileron肽1是 α 螺旋烃交联的多肽大环化合物,其氨基酸序列小于20个氨基酸的长度,衍生自野生型人P53蛋白的反式激活域,并与相对于彼此在野生型人P53蛋白的反式激活域中相同的位置含有苯丙氨酸、色氨酸和亮氨酸氨基酸。Aileron肽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。Aileron肽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。

研究计划

研究设计

[0369] 该研究由剂量递增阶段(DEP)和扩充阶段(EXP)组成。DEP是用于确立Aileron肽-1的MTD的“3+3”剂量递增设计。EXP选择在MTD下具有特定实体瘤的患者,以进一步研究剂量水平的临床安全性概况和潜在效力。根据DEP的结果以及来自其他非临床药理学研究的数据,完成了EXP的患者选择。后者包括有助于将肿瘤类型之间和之内对Aileron肽-1的细胞系敏感性进行比较的多种实体瘤细胞系(例如,乳腺癌、膀胱癌、头/颈癌、胃肠癌、肝癌、肺癌、胰腺癌、前列腺癌、肉瘤)的研究。

[0370] 在完成筛选后,合格的患者在第1天、第8天和第15天接受Aileron肽-1的单次IV给药,并在给药完成后约8小时停留在诊所以供临床评价、实验室检验和药代动力学评价。此外,除非活检对患者构成重大风险,否则在第1周期或第2周期的第3次给药(最后的给

药)的48小时内 进行肿瘤活检,以供药效学评价。第1周期或第2周期的选择根据研究 者的判定来进行。患者在第22天返回诊所进行其他观察和实验室评估,并在第29天返回进行周期结束评估。

[0371] 在研究的剂量递增阶段和剂量扩充阶段中的患者的治疗持续直到 确定疾病进展、不可接受的毒性,或患者或医师决定中止疗法。

入选前p53状态确定和肿瘤采样要求

[0372] 中心实验室采用新一代测序(NGS),对来入选本研究的所有患者的 存档组织样品或新鲜活检样品的p53状态进行检测。

[0373] 关于第1阶段的前3个剂量水平:

[0374] 患者在不考虑p53状态的情况下入选。尽管如此,仍在中心实验 室然测试了患者的p53状态。为此,使用存档组织(样品不超过3年), 或者替代地,除非活检对患者构成重大风险,考虑使用新鲜活检。

[0375] 在第1阶段的剂量水平4开始(以及对于入选DEP的第2阶段的 患者):

[0376] 仅纳入了患有表达WT p53蛋白的肿瘤的患者。这个关键的纳入 标准基于所提出的Aileron肽-1的作用机制,其需要WT p53蛋白是药理 活性的。该纳入标准也得到体外肿瘤生长试验的结果的支持,其中 Aileron肽-1在表达WT p53蛋白的肿瘤细胞中表现出活性,但未在具有 p53无效突变的细胞中表现出活性。患者通过以下情况之一满足p53要 求:

- 根据在当地实验室完成的先前p53基因测试结果,患者符合资格。仍在中心实验室采用SNG对这些患者的p53状态进行检测。为此,使用 存档组织(样品不超过3年),或者替代地,除非活检对患者构成重大风 险,考虑使用新鲜活检。不选择没有存档组织的患者和活检构成重大风 险的患者。

- 根据测试了p53的存档组织(样品不超过3年),或者替代地,除 非活检对患者构成重大风险,考虑根据测试了p53的新鲜活检,患者符 合资格。选择没有存档组织的患者和活检构成重大风险的患者。

[0377] 对于选入EXP的患者:

- 只选择患有表达p53 WT的肿瘤的患者,并且在入选前在中心实验 室采用NGS对所有患者的p53状态进行测试。使用存档组织(样品不超 过1年),或者替代地,除非活检对患者构成重大风险,考虑使用新鲜活 检。不选择没有存档组织的患者和活检构成重大风险的患者。

[0378] 只选择患有表达p53 WT的肿瘤的患者。在筛选期间获得的肿瘤 样品上进行p53状态的确定。该测定由具有所需能力的研究点进行;否 则在中央实验室进行。来自存档组织样品(若可用)的结果还可用于确定 DEP中的患者资格。选入本研究的患者的总数目取决于剂量水平的数目 和在MTD建立前每个队列中患者的数目。DEP中选入了约27名成年患 者,不包括出于非安全性原因中止的患者的替代者,而EXP中选入了约 30名另外的患者。本研究计划选入合计多达60名患者。计划使用在US 的多达6个临床点。预计应计阶段约为24个月。预期的随访阶段是在最 后一名患者入选后的约9个月,持续约33个月的总研究期限。

[0379] 将满足所有纳入标准和排除标准的患者(包括确定WT p53状态) 的患者选入3至6名患者的队列中,以接受Aileron肽1。在每个28天 周期的第1天、第8天和第15天经1小时(±15min)通过IV输注施用 Aileron肽1。治疗持续直到疾病进展、不可接受的毒性,或患者

或医师 撤回同意书。在MTD建立后,将约30名另外的患者选入扩充队列中,以获得在此剂量水平下和在特定患者或肿瘤类型中的进一步的经验。

[0380] 基于发病率、严重程度、持续时间、致死率、严重性和AE类型,以及患者体检、生命体征和临床实验室结果中的变化,对安全性进行评估。研究者采用NCI CTCAE 4.0版评估AE的严重程度。

[0381] 因为此研究的主要目标是基于安全性和药代动力学,所以统计学分析本质上是描述性的,并且考虑了研究的所有剂量和所有观察到的反应,包括实现完全响应(CR)或部分响应(PR)的患者,或基于RECIST 1.1 保持稳定的疾病(SD)的患者。接受至少一个剂量的Aileron肽1的患者组成安全性群体,并被包括在所有安全性分析中。完成至少一个周期的Aileron肽1并且经历治疗后客观疾病评估的患者组成可评估效力的患者群体。

[0382] 患者群体

[0383] 纳入标准

[0384] 所有患者都需要满足以下纳入标准:(i) 知情同意时年龄大于等于 18岁(包含)的男性或女性;(ii) 组织学或细胞学确认为转移或不可切除的恶性肿瘤,以及没有进行标准治疗措施或标准治疗措施不再有效的;(iii) 对于在DEP的第1阶段的剂量水平4及更高剂量水平下选入的患者,以及在DEP或EXP的第2阶段选入的所有患者,复发或治疗难治性实体肿瘤的WT p53状态是强制的;(iv) 可通过RECIST 1.1衡量的至少一处目标损伤;(v) ECOG体能状态0-1;(vi) ≥ 3 个月的预期寿命;(vii) 在Aileron 肽1的第一次给药之前7天内测量的充分的血液学功能(定义为:ANC $\geq 1.5 \times 10^9/L$,血红蛋白 $\geq 9.0g/d$ 并且血小板 $\geq 100 \times 10^9/L$);(viii) 在Aileron 肽1的第一次给药之前7天内测量的充分的肝功能(定义为:没有累及肝脏的疾病时:胆红素 ≤ 1.5 倍机构ULN:AST和ALT ≤ 2.5 倍ULN;存在累及肝脏的疾病时:胆红素 ≤ 2 倍ULN:AST和ALT ≤ 5 倍ULN);(ix) 在 Aileron肽1的第一次给药之前7天内测量的充分的肾功能(定义为:尿分析证明无+2以上蛋白尿,血清肌酐 ≤ 1.5 倍机构ULN或计算肌酐清除率 $\geq 50mL/min$ (Cockcroft-Gault公式));(x) 在Aileron肽1的第一次给药之前7天内测量的可接受的凝血概况(定义为:PT或INR ≤ 1.5 倍 ULN;aPTT ≤ 1.5 倍ULN);(xi) 自先前化疗或生物疗法、放疗或手术(胸内、腹内或骨盆内)起至少4周并恢复至1级或基线显著毒性,不包括由先前疗法引起的脱发。如果急性毒性已经解决,则在Aileron肽1第一次给药之前 ≤ 2 周的骨损伤的姑息性放疗是可以接受的;(xii) 对于有生育能力的女性,在Aileron肽1第一次给药之前14天内血清妊娠试验阴性,有生育能力的女性被定义为未经历子宫切除或没有自然绝经持续 ≥ 24 个连续月(即,在过去24个月中的任一个月都有月经)的性成熟的女性;(xiii) 从Aileron肽1第一次给药之前两周开始至Aileron肽1最后给药后的30天,同意采用有效避孕措施(即、乳胶避孕套、隔膜、宫颈帽、宫内节育器、避孕药等)的有生育能力的所有患者(男性和女性);(xiv) 具有理解并愿意签署书面知情同意书的能力;并且前列腺癌患者必须继续雄激素剥夺疗法,除非该疗法在Aileron肽1的第一次给药前中止了6个月。

[0385] 排除标准

[0386] 在筛选或第1天满足任意以下标准的患者被排除:(i) 先前采用影响MDM2或MDMX活性的研究药剂进行治疗;已知对任何研究药物组分均有超敏反应;(iii) 已知且未治疗的脑转移。已经治疗并且表现为临床稳定持续 ≥ 30 天的脑转移患者可选入本研究的剂量

递增部分中；(iv)凝血病、血小板病或非药物诱导的血小板减少症史；(v)在Aileron肽1的第一次给药前6个月内的肺栓塞史，或未治疗的DVT；(vi)需要同时使用抗凝血剂或抗血小板药物，阿司匹林剂量 $\leq 81\text{mg/天}$ 、用于DVT预防的低剂量SC肝素或SC低分子量肝素，或肝素冲洗以维持IV导管通畅的情况除外；(vii)具有预先存在的或已知的心血管风险史（例如：急性冠状动脉综合征史，包括心肌梗死、不稳定心绞痛、冠状动脉旁路移植术、血管成形术，或在Aileron肽1的第一次给药前6个月内的支架术；不受控制的高血压，其被定义为收缩BP $\geq 160\text{mmHg}$ 并且/或者舒张BP $\geq 100\text{mmHg}$ ；预先存在的心力衰竭（纽约心脏协会III-IV级）；抗凝血剂引起房颤；临床显著的不受控制的心率失常，或需要治疗的心律失常，房颤和阵发性室上性心动过速除外；严重瓣膜病；筛选时校正的QTc间隔，男性ECG $\geq 450\text{msec}$ ，女性ECG $\geq 470\text{msec}$ ）；(viii)在Aileron肽1的第一次给药前6个月内的有临床意义的胃肠道出血；(ix)有临床意义的第三空间流体积聚（例如，尽管使用了利尿剂，腹水仍需要开口，或需要开口或与呼吸短促相关的胸膜积液）；(x)妊娠或哺乳期女性；(xi)证明存在可能干扰患者安全性或参与此研究的知情同意书的条款的严重和/或不稳定预先存在的医学状况、精神病学状况或其他状况；(xii)活动性的不受控制的感染，HIV/AIDS史，或不存在肝细胞癌的乙型肝炎或丙型肝炎史。肝炎血清学阳性但未表现出活动性病毒性肝炎的原发性肝癌患者可被考虑入选，如果其满足所有其他纳入标准并且不满足其他排除标准；(xiii)在DEP的第1阶段中的剂量水平4或更高剂量水平下开始（以及对于在DEP或EXP的第2阶段入选的所有患者）：具有已知人乳头瘤病毒（HPV）相关性如HPV阳性宫颈癌、HPV阳性口咽癌和HPV阳性肛门癌的癌症；(xiv)持续 ≥ 2 年尚未缓解的另一种原发性恶性肿瘤的已知病史。非黑色素瘤皮肤癌和原位宫颈癌或鳞状上皮内病变（例如，CIN或PIN）是允许的；(xv)可能干扰遵守研究方案和后续进度的任何心理学、社会学或地理状况；(xvi)在Aileron肽1输注24小时内需要使用主要由肝胆转运蛋白（例如，OATP成员，OATP1B1和OATP1B3）清除的任何伴随药物；(xvii)在Aileron肽1的第一次给药前的4周或5个循环半衰期内使用任何研究药剂。

患者从研究疗法的移除/替换

[0387] 患者因多种原因从本研究中移除，包括：(i)疾病进展；(ii)不可接受的不良事件；(iii)阻止进一步参与的并发症；(iv)2周给药延缓或在两次剂量降低后仍有临床显著的毒性；(v)患者拒绝继续通过本研究进行治疗，和/或同意取消研究参与；(vi)患者不能或不愿遵守研究要求；(vii)妊娠或未能使用充分的避孕措施；(viii)据研究者判断，患者状况总体或特定地改变，使得患者不能接受此研究的进一步治疗。

[0388] 任何完成入选但未接受Aileron肽1的给药的患者均被替换。出于除安全性之外的原因，在本研究的剂量递增部分中于第一周期完成前中止本研究的患者被替换。出于任何原因，在本研究的剂量扩充部分中于治疗第一周期完成前中止本研究的患者被替换。

治疗计划

药物施用研究-1

[0389] 研究药物为研究药剂Aileron肽1。将此研究药剂分配至临床点。在筛选开始后的12天内开始用Aileron肽1对患者进行治疗。Aileron肽1药物为提供于一次性玻璃小瓶中的冷冻液体产品。用于注射的拟肽大环化合物储存在 $\leq -15^{\circ}\text{C}$ 下。将Aileron肽1引入至含有D5W（被称为Aileron肽1给药溶液）的IV输注袋中，并通过定点药房提供以施用至患者。

Aileron肽1给药溶液标有患者标识编号。研究人员确认此信息以及其与预期患者的相关性。

[0390] 在每个28天治疗周期的第1天、第8天和第15天通过在D5W中 IV输注经1小时 ($\pm 15\text{min}$) 施用Aileron肽1。基于患者在每个周期开始时的体重计算每名患者的预定剂量。在计划的时间表之外不施用Aileron 肽1(即,在28天周期的第1天、第8天和第15天输注)。若存在偏差, 将其记录在eCRF上。在本研究的剂量递增和剂量扩充阶段中的患者的治疗持续直到确定疾病进展、不可接受的毒性,或患者或医师决定中止 疗法。

[0391] 在存在与输注相关的反应的情况下,暂时中止Aileron肽1输注。按照机构准则施用药理学药剂和其他治疗干预。在仔细评估患者后作出 重新开始Aileron肽1输注的决定。

起始剂量、剂量递增和剂量降低

研究的剂量递增部分的剂量水平

[0392] 在本研究的剂量递增部分中,在3-6名患者的队列中评价Aileron 肽1的剂量水平增加。在每个28天周期的第1天、第8天和第15天通 过IV输注经1小时 ($\pm 15\text{min}$) 施用Aileron肽1。入选队列1中的患者接 受剂量水平1的Aileron肽1 (0.16mg/kg)。根据类比, 0.16mg/kg ($50\text{ }\mu\text{g} \cdot \text{hr/mL}$) 下人的预计AUC为在 STD_{10} 下大鼠AUC的约9%,并且为猴 HNSTD下AUC的约6%。

[0393] 在不存DLT时,后续3至6名患者的队列接受递增的剂量,直到 确立MTD。

[0394] 采用2-阶段剂量递增设计。在初始第1阶段递增期(表6)期间,采 用100%剂量增量,直到队列中 $\geq 1/3$ 的患者经历至少可能与研究药物有 关的任何 ≥ 2 级的AE。使用3-患者队列和改良斐波纳契序列(即,第2阶 段递增期;表7)继续后续剂量递增,直到确立MTD。

表6:第1阶段剂量递增时间表

剂量水平	Aileron 肽 1 剂量(mg/kg)
水平-2	0.04
水平-1	0.08
水平 1	0.16
水平 2	0.32
水平 3	0.64
水平 4	1.25
水平 5	2.5
水平 6	5
在后续队列中继续 100%剂量增加,直到确立 MTD 或第 2 阶段递增时间表开始	

表7:第2阶段剂量递增时间表

剂量水平	Aileron 肽 1 剂量(mg/kg)
水平 1	第 1 阶段最后一次剂量 x 1.67
水平 2	前一剂量 x 1.5

水平 3	前一剂量 x 1.4
水平 4	前一剂量 x 1.33
在不存在 DLT 的情况下, 在第 2 阶段水平 4 之后以 33% 的增量继续剂量递增, 直到确立 MTD	

[0395] 在研究者、赞助商的医疗监护人和安全医师代表同意更保守的进展的时间点, 将递增方案切换至第2阶段递增方案。

[0396] 将DLT的观察用于在整个试验时间表中作出关于剂量降低、中断或中止的个体患者决定, 但将在第1周期期间出现的DLT用于告知安全性和耐受性评估, 以用于剂量递增决定。

[0397] 如果在第一队列中观察到DLT, 则将剂量递减至剂量水平1。如果在剂量水平1下观察到DLT, 则将剂量递减至剂量水平2。如果在剂量水平2下观察到DLT, 则考虑其他剂量水平, 并且该剂量水平在研究者、赞助商的医疗监护人和安全医师代表之间讨论后实施。

[0398] 在每个剂量水平下对至少三名患者进行治疗。如果没有患者经历 DLT, 则在下一计划的剂量水平下对后续3名患者进行治疗。

[0399] 如果在队列中 $\geq 2/3$ 的患者中观察到DLT, 则不进行进一步的剂量递增, 并将当前剂量定义为MAD。

[0400] 如果在3名患者的一名中观察到DLT, 则然后在相同剂量水平下选入至多3名另外的患者。如果在扩充队列中的 ≥ 2 名患者中观察到 DLT, 则然后将不进行进一步的剂量递增, 并且将当前剂量定义为MAD。

[0401] 在确定MAD后, 要么将先前施用的降低剂量扩充至合计6名患者, 要么将中间值(在MAD与下一较低剂量水平之间的)于至多6名患者中进行研究。在队列的至少5/6的患者耐受且无DLT的最高剂量被定义为MTD。

用于研究的扩充部分的剂量水平

[0402] 在确定MTD之后, 将约30名另外的患者入扩充研究中以在该剂量水平下获得进一步的经验, 并研究Aileron肽1在特定患者或肿瘤类型中的作用。选择两种疾病类型进行评估, 每种疾病类型15位患者选入扩充研究中的两个队列中的每一个中。施用于扩充队列中的患者的Aileron肽1的剂量来源于本研究的剂量递增部分中可获得的安全性和其他信息的评估。

患者内剂量递增

[0403] 不允许患者内剂量递增。

针对毒性的剂量和时间表调整

[0404] 在周期中发生的毒性需要如下所述进行恢复以继续治疗。

[0405] 血红蛋白 ≥ 8.5 g/dL; ANC $\geq 1.0 \times 10^9$ /L; 血小板计数 $\geq 75 \times 10^9$ /L; 肝功能检验回到先前周期之前的等级(包括PT/INR); 其他的毒性必须回复至等级 ≤ 1 , 或在等级 >1 是对纳入该试验而言可接受的情况下回复至基线水平。

[0406] 如果在治疗周期期间在患者中观察到临床上有意义的AE, 则延迟进一步给药直到毒性已经解决到可接受的水平。治疗可以延迟长达2周, 以便允许解决AE, 并且可以由研究者与赞助商的医疗监护人和安全医师代表协商自行决定将剂量减少至先前的水平。如果患者经历多次AE, 对剂量延迟或剂量减少的决定基于最严重的AE。在一次剂量之后经历

复发性、临床上有意义的AE的任何患者经受一次附加的剂量减少。在 2周延迟或两次剂量减少后继续经历临床上有意义的毒性的患者从该研究中停止。

[0407] 被考虑剂量减少的不良事件不包括由仅与潜在疾病或其他医疗病 况或伴随治疗相关的事件。在该患者接受临床益处和/或该 研究者感觉继续参与对该患者具有最佳益处的情况下,经历被认为与 Aileron肽1相关的AE的患者继续研究。在这样的情况下,在该研究者 自行决定并与赞助商的医疗监护人和安全医师代表达成一致的情况下,将针对患者的剂量减少至先前的较低水平。

[0408] 允许针对患者进行多达两次剂量减少,在此之后患者从该研究中 停止。

[0409] 在该研究者自行决定并与赞助商的医疗监护人和安全医师代表 达成一致的情况下,经历DLT的患者继续以先前的较低水平治疗,直到疾 病进展或不可接受的毒性。一旦患者的剂量已减少,就不再增加。

[0410] 毒性分级基于NCI CTCAE v4.0。

统计方法

[0411] DEP和EXP的安全性和效力的统计分析本质上主要是描述性的, 因为该研究的目的是确定DLT和MTD。这些目的通过确定性算法的结 果来实现;因此,在这种情况下统计假设检验不能预期,也不适用。使 用描述性统计学总结连续变量[n,平均值,标准差,中位数,最小值和 最大值]。分类变量=总结的e,其显示每个分类中患者的数目和百分比 (n, %)。

研究程序

研究事件的时间表

[0412] 将进行的以筛选开始,并在整个第1周期[28天周期的第1天、第 8天和第15天]中持续的研究活动(包括评估、测试、检查、疾病评估、组织样品的提交和研究药物施用)的时间表概括在表8中。将会以第2周 期[第1周期的第29天=第2周期的第1天]开始进行的研究列于表9中。

表8:整个第1周期中的研究活动的时间表

	分子筛选	临床筛选 -21 天	第-1 天	第 1 天		第 2 天 ±4 h	第 3 天 ±4 h	第 8 天 ±1 d		第 15 天 ±1 d		第 16 天 ±2 d	第 22 天 ±1 d	第 29 天 / 第 1 天, 第 2 周期 ±3 d
				给药前	给药后			给药前	给药后	给药前	给药后			参见表 9
书面知情同意书	X	X												
医疗史		X												
人口统计数据		X												
用于 p53 WT 确认和生物标记评估的肿瘤活检或归档组织样品	X	X												
确认资格		X	X											
HIV、乙型和丙型肝炎的血液检验		X												
血清或尿妊娠试验		X												

生命体征: 血压、脉搏、呼吸率、体温	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
身体检查	X		X				X		X					
12-导联 ECG	X		X	X										
实验室评估: 临床化学指标(葡萄糖、钙、白蛋白、总蛋白、钠、钾、CO ₂ 、氯化物、磷酸盐、BUN [血尿素氮]、血清肌酐、ALP、ALT、AST、总胆红素和直接胆红素)、血液学(全血计数、血小板和分类计数)、尿液分析(采用显微镜分析的试纸测量[pH、比重、蛋白质、葡萄糖、酮、亚硝酸盐、白细胞酯酶], 如果来自试纸的结果指示需要附加测试)、血凝(PT、INR、aPTT)	X	X			X	X	X		X		X	X		
收集血液以供免疫原性分析			X											
收集血液以供生物标记评估			X		X	X	X	X	X	X	X	X	X	
收集血液以供药代动力学评价			X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		
ECOG 体能状态	X	X					X		X					
用于生物标记评估的针吸活检	X											X		
肿瘤评估	X													
Aileron 肽 1 给药			X				X		X					
伴随用药	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
AE 评估				X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	

表9: 整个第2周期中的研究活动的时间表

	前一周期第 29 天/下一周期第 1 天, 对于继续治疗的患者 ±3 d		第 8 天 ±1 d		第 15 天 ±1 d		第 16 天 ±2 d	偶数周期后	研究结束 最后一次给药后 30 ±3 d 或研究退出
	给药前	给药后	给药前	给药后	给药前	给药后			
血清妊娠									X
生命体征: 血压、脉搏、呼吸率、体温	X	X	X	X	X	X	X		X
身体检查	X		X		X				X
12-导联 ECG	X 给药和 EOI (+10 min)	X At 给药和 EOI (+10 min)							X
实验室评估: 临床化学指标、血液学、尿液分析、血凝(PT、INR、aPTT)	X		X (仅血液学)		X		X		X
收集血液以供免疫原性分析	X							X	X
收集血液以供生物标记评估(每个周期)	X	X			X		X		X
收集血液以供药代动力学评价(第 2 周期和仅研究结束)	X	X			X	X	X		X
ECOG 体能状态	X		X		X				X
用于生物标记评估的针吸活检							X		
肿瘤评估								X 偶数周期结束时。开始下一治疗周期之前	X
Aileron 肽 1 给药	X		X		X				
伴随用药	X	X	X	X	X	X	X		X
AE 评估(始于第一肽 1 输注时间点并继续直到最后输注后 30 天)	X	X	X	X	X	X	X		X

药代动力学分析

[0413] 将测量在以下所述的指定时间点收集的血液样品中Aileron肽1 及其代谢物的水平。药代动力学数据将按照剂量水平根据个体患者和全体患者制表并总结。在对于解释结果有用时将提供图形显示。

[0414] 将在以下时间点收集用于药代动力学评估的血液样品。

表10:收集用于药代动力学评估的血液样品的时间点

第 1 周期	
第 1 天	SOI 前 1 小时内
	EOI (+5 min)
	EOI 后 30 min (± 5 min)
	EOI 后 1 hr (± 5 min)
	EOI 后 2 hr (± 10 min)
	EOI 后 4 hr (± 10 min)
	EOI 后 8 hr (± 10 min)
第 2 天	第 1 天输注开始后 24 小时(± 4 hr)
第 3 天	第 1 天输注开始后 48 小时(± 4 hr)
第 8 天	SOI 前 1 小时内
	EOI (+5 min)
	EOI 后 30 min (± 5 min)
	EOI 后 1 hr (± 5 min)
	EOI 后 2 hr (± 10 min)
	EOI 后 4 hr (± 10 min)
第 15 天	SOI 前 1 小时内
	EOI (+5 min)
	EOI 后 30 min (± 5 min)
	EOI 后 1 hr (± 5 min)
	EOI 后 2 hr (± 10 min)
	EOI 后 4 hr (± 10 min)
	EOI 后 8 hr (± 10 min)
第 16 天	第 15 天输注开始后 24 小时(± 4 hr)
第 2 周期	
第 1 周期第 29 天/第 2 周期第 1 天	在 SOI 前 1 小时内
	EOI (+5 min)
	EOI 后 30 min (± 5 min)
	EOI 后 1 hr (± 5 min)
	EOI 后 2 hr (± 10 min)
	EOI 后 4 hr (± 10 min)
第 15 天	在 SOI 前 1 小时内
	EOI (± 5 min)
	EOI 后 30 min (± 5 min)
第 15 天 (继续)	EOI 后 1 hr (± 5 min)
	EOI 后 2 hr (± 10 min)
	EOI 后 4 hr (± 10 min)
第 16 天	第 15 天输注开始后 24 小时(± 4 hrs)
研究结束访视	研究结束访视期间

[0415] SOI代表开始Aileron肽1输注;EOI代表Aileron肽1输注结束。

药效学分析

[0416] 测量在开始治疗之前和第1周期和第2周期结束时收集的肿瘤样品中的p53、MDM2、MDMX、p21的水平。测量血液样品中的MIC-1。以下描述了收集血液和组织用于药效动力学评估的指定时间点。药效动力学数据将被制成表并通过单独患者并联合剂量水平进行总结。在对于解释结果有用时将提供图形显示。

[0417] 可针对与患者结果的可能的相关性,研究从先前遗传和生物标记 测试以及针对与Aileron肽-1的安全性和效力相关的生物标记的血液和 肿瘤样品的其他测试中可获得的结果。

[0418] 将在以下时间点收集用于药效学评估的血液样品。

表11:收集用于药效学评估的血液样品的时间点

第 1 周期	
第 1 天	开始输注(SOI)前 1 小时内
第 2 天	第 1 天输注开始后 24 小时(±4 hr)
第 3 天	第 1 天输注开始后 48 小时(±4 hr)
第 8 天	SOI 前 1 小时内 输注结束(EOI)后 1 小时内
第 15 天	SOI 前 1 小时内 EOI 后 1 小时内
第 16 天	第 15 天输注开始后 24 小时(±4 hr)
第 22 天	第 22 天访视期间
在第 2 周期中开始的每个后续周期	
第 1 周期第 29 天 / 第 2 周期第 1 天	SOI 前 1 小时内 EOI 后 1 小时内
第 15 天	SOI 前 1 小时内
第 16 天	第 15 天输注开始后 24 小时(±4 hr)
研究结束访视	研究结束访视期间

拟肽大环化合物的临床活性的评估

[0419] 为评估临床活性,将以表现出CR、PR或SD的所有患者的逐个 案例的方式,提供基于RECIST 1.1或其他适当标准的响应率和响应持续 时间。基于效力或临床抗肿瘤活性的临床、X光线照相术或其他合适的 评估,提供抗肿瘤活性或其他临床益处的其他证据的描述性分析。临床 活性的分析将在两种患者群体上进行:(i) 接受至少一个疗法周期并且具有至少一个基线后疾病评估的患者亚组(可评估效力的群体),以及(2)较 大的一组患者,其包括可评估效力的群体,以及在第1周期结束前表现 出目标疾病进展或经历DLT和/或不可接受的毒性的患者。

[0420] 将在基线(在第1周期第1天的21天内)处获得具有相关疾病指征 的患者的成像扫描、身体检查和/或基于实验室的测定(例如,前列腺特 异性抗原),以及第二治疗周期后和之后的每两个治疗周期(例如,第4 周期,第6周期等)后获得上述各项以供客观肿瘤评估。同类型的成像、身体检查或基于实验室的测定程序将用于每次患者评估。RECIST 1.1将用于评估肿瘤响应和响应持续时间。将在下一治疗周期开始前解释安排 的扫描(和/或其他基于实验室的测定)。如果满足CR或PR的标准,则然 后在不早于4周后重复该扫描,以确认该响应。响应的患者(CR、PR或 SD)将继续进行研究,每两个周期后进行疾病评估,直到疾病进展、撤 回知情同意书或不可接受的毒性。

[0421] 来自成像程序(包括在主要机构外的区域性或其他设施进行的那 些程序)的胶片或其他记录由患者的相应主要研究机构的放射学人员进 行读取和审阅。

药物施用研究-II

[0422] 研究目的

[0423] 该I期开放标签、多中心、剂量递增、2-臂研究被设计为在患有表达WT p53蛋白的晚期实体瘤或淋巴瘤(参见以下p53状态确定)的患者中使用28天或21天周期的2种不同剂量方案评价通过IV输注施用的Aileron肽-1的安全性、耐受性、药代动力学、药效学和抗肿瘤效果。对于28天周期,患者每周一次接受Aileron肽-1连续三周,对于21天周期为每周两次连续两周。许多患有实体瘤或淋巴瘤的患者在外周血中呈现循环肿瘤细胞(CTC),这可以使用流式细胞术检测和分析。这使得能够检测这些细胞中研究药物特异性靶标的参与。

[0424] 该研究由DEP和EXP组成。DEP为设计用于确定Aileron肽-1的MTD或OBD的“3+3”剂量递增。EXP选择多达2个不同的患有特定实体瘤的患者组,以进一步研究MTD或OBD下Aileron肽-1的临床安全性概况和潜在效力。

起始剂量、剂量递增和剂量减少

[0425] 所有受试者根据体重以预先确定的水平给药。以剂量水平(DL)3开始,将患者依次分配到两个治疗组之一:剂量方案(DR)A测试Aileron肽-1的每周一次施用,或剂量方案(DR)B测试Aileron肽-1的每周两次施用。对于剂量水平3,首先选择DR-A,其次选择DR-B。根据来自非临床毒理学评价的结果,DEP中的起始剂量(DL-1)为0.16mg/kg。

[0426] 在前2个剂量水平期间,患者在28天周期的第1天、第8天和第15天接受Aileron肽-1。以DL3开始,DR-A中的患者在28天周期的第1天、第8天和第15天持续每周治疗一次,而DR-B在21天周期的第1天和第4天,第8天和第11天每周治疗两次。该给药时间表总结于图2中。

[0427] 在随后的剂量水平中剂量加倍,直到队列中 $\geq 1/3$ 的患者经历任何药物相关的等级 ≥ 2 的不良事件(AE)。药物相关的AE是可能、或许或必定归因于Aileron肽-1的事件。AE的分级由NCI不良事件常用术语标准(CTCAE)4.03版来确定。使用修饰的斐波那契序列(Fibonacci sequence)持续随后的剂量递增(即,67%、50%、40%和33%;图3和图4)。

[0428] 在第1周期(治疗周期=DR-A为28天,DR-B为21天)结束时不存在DLT的情况下,继续递增至每个DR内的下一剂量水平。向每个DR内的下一剂量水平的递增通过由主要研究者、赞助商的医疗监督者和安全医师代表组成的安全审查委员会(SRC)决定,该安全审查委员会审查来自所有患者的所有可获得的安全性信息。

[0429] 在每个剂量方案队列中,如果在队列中没有观察到DLT,则随后的患者组在该剂量方案的下一计划剂量水平下加入。如果在任何剂量水平下在 $\geq 2/3$ 患者中观察到DLT,则在该DR中不进行进一步的剂量递增,并且当前剂量被确定为最大施用剂量(MAD)。如果在任何剂量水平下在队列中的1/3患者中观察到DLT,则最多3位另外的患者在该剂量水平下加入同一DR中。如果在扩充队列中的2位或更多位患者中观察到DLT,则不进行进一步的剂量递增,并且当前剂量被确定为MAD。在确定MAD后,将先前施用的较低剂量扩充至总计6位患者,或者在总计6位患者中研究中间剂量(在MAD与先前剂量水平之间)。在6位患者中的至少5位患者中耐受的剂量被确定为MTD或OBD。

[0430] 对于多达2个EXP队列的剂量方案和剂量水平的选择基于第1周期中的MTD确定,以及Aileron肽-1在DEP中随后的治疗周期中的累积安全性、效力和药代动力学/药效学特

性。

[0431] 剂量水平在每个队列中的周期之间没有增加,并且患者仅被指定一个剂量水平(即,没有患者内的剂量递增)。

统计方法

[0432] 比较所有剂量水平和患者组的DR-A和DR-B的结果。

在第1周期的第1天之前的筛选评估和其他要求

[0433] 在第1周期的第1天之前的分子筛选:分子筛选包括在第一次施用Aileron肽-1(第1周期的第1天)之前的以下各项:(i)收集签署的分子筛选知情同意书;(ii)收集归档的肿瘤样品或新鲜的肿瘤活检样品(除非活检造成重大的临床风险)以供p53测试;(i)如果被确认为p53 WT,则使用来自入选患者的组织样品的其余部分测试药效学生物标记。在施用第一剂Aileron肽-1之前确认p53 WT状态对于以剂量水平4及以上水平开始的患者加入DEP的第1阶段以及所有患者加入DEP和EXP的第2阶段(必要时)是强制性的。

[0434] 在DEP的第1阶段中以剂量水平4及以上水平之前(以及对于加入DEP的第2阶段中的所有患者)的分子筛选,在开始临床筛选之前在具有未知p53状态的患者中进行分子筛选。如果已知p53状态为WT,则继续对这些患者进行临床筛选,并在由中心实验室确认p53 WT之前加入并接受Aileron肽-1。

[0435] 在EXP中,患者在加入之前在中心实验室已完成分子筛选。这些患者仅在由中心实验室确认p53 WT之后加入并接受Aileron肽-1。

在第1周期的第1天之前的21个日历日内针对DR-A和DR-B所有剂量水平的临床筛选

[0436] 在首次施用Aileron肽-1(第1周期的第1天)之前的21个日历日(或根据所述)内进行的筛选评估和程序包括收集签署的知情同意书、医疗史(基线体征和症状的评价)、人口统计数据、资格评估、HIV、乙型和丙型肝炎的血液检验、生命体征(包括血压、脉搏、呼吸率、体温)、身体检查、ECG、实验室评估,包括临床化学指标(葡萄糖、钙、白蛋白、总蛋白、钠、钾、CO₂、氯化物、磷酸盐、BUN[血尿素氮]、血清肌酸酐、尿酸、ALP、ALT、AST、总胆红素和直接胆红素)、血液学(全血计数、血小板和分类计数)、尿液分析(采用显微镜分析的试纸测量[pH、比重、蛋白质、葡萄糖、酮、亚硝酸盐、白细胞酯酶],如果来自试纸的结果指示需要附加测试)、血凝(PT、INR、aPTT)、ECOG体能状态、对于疾病评估和肿瘤测量的RECIST-(对于实体瘤患者)或IWG-(对于淋巴瘤患者)依从性成像,以及对于具有相关疾病指征的患者的基于实验室的测定(例如,前列腺特异性抗原),包括基线PET-FDG和可能的FLT-PET扫描,伴随用药(当前用药以及在第1周期的第1天的28天内施用的药物)。

[0437] 在第1周期的第1天之前的7个日历日内,针对DR-A和DR-B,所有剂量水平

[0438] 在首次施用Aileron肽-1(第1周期的第1天)之前的7个日历日内完成的筛选评估包括针对具有生育潜能的女性进行的血清或尿妊娠试验(β -hCG):在第一剂Aileron肽-1之前的2天内进行,确认资格,生命体征,实验室评估(如果筛选测试在之前7天内进行,则可以省略),ECOG 体能状态,和伴随用药。

[0439] 在第1周期中的要求

[0440] 在第1周期的第1天,针对DR-A和DR-B,所有剂量水平

[0441] 在施用Aileron肽-1之前进行的研究程序包括生命体征:在SOI之前的30分钟内,身体检查,ECG:在SOI之前30分钟内(重复三次进行(读数之间间隔5-10min)),在SOI之前

1hr内收集血液以检测免疫原性,在S0I之前1hr内收集血液以供所有生物标记的评估,收集血液以供药代动力学评价:在S0I之前1hr内,以及伴随用药。

[0442] 在施用Aileon肽-1后进行的程序包括生命体征:(输注期间) 30min(\pm 3min);(输注后)在E0I(+5min)时,以及E0I后1(\pm 5min)和2hr(\pm 10min);ECG:在E0I(+5min)时以及E0I后1hr(\pm 5min)和2hr(\pm 10min)。只有当患者的QTc为a) >500 msec;b) 比给药前增加60msec;或c) 比给药前记录减少50msec时,才重复进行三次(读数之间间隔5-10min);收集血液以供药代动力学评价:在E0I(+5min)时,E0I后30min(\pm 5min)以及1hr(\pm 5min)、2(\pm 10min)、4(\pm 10min)和8hr(\pm 10min);收集血液以供所有生物标记的评估,E0I(+5min)以及E0I后1hr(\pm 5min)和2、4和8hr(\pm 10min);伴随用药;以及不良事件(AE)评估。

[0443] 在第1周期的第2天,针对DR-A和DR-B,所有剂量水平

[0444] 进行的程序包括生命体征、实验室评估、在第1天S0I后24 hr(\pm 4hr)收集血液以供所有生物标记的评估、第1天S0I后24hr(\pm 4hr)收集血液以供药代动力学评价、伴随用药、AE评估以及TLS监测(通过常规实验室评估样品)。

[0445] 在第1周期的第3天,针对DR-A和DR-B,所有剂量水平

[0446] 进行的程序包括生命体征、实验室评估(在第1天S0I后48hr(\pm 4hr)收集血液以供所有生物标记的评估)、第1天S0I后48hr(\pm 4hr)收集血液以供药代动力学评价、伴随用药以及AE评估。

[0447] 在第1周期的第4天,仅针对DR-B,所有剂量水平

[0448] 在施用Aileron肽-1之前进行的程序包括生命体征:在S0I之前30分钟内,身体检查,ECG:在S0I之前30分钟内。重复进行三次(读数之间间隔5-10min),实验室评估、在S0I之前1hr内收集血液以供免疫原性分析、在S0I之前1hr内收集血液以供所有生物标记的评估、在S0I之前1hr内收集血液以供药代动力学评价、伴随用药以及不良事件(AE)评估

[0449] 在施用Aileon肽-1后进行的程序包括生命体征:(输注期间) 30min(\pm 3min);(输注后)在E0I(+5min)时,以及E0I后1和2hr(\pm 10min);ECG:在E0I(+5min)时以及E0I后1hr(\pm 5min)和2hr(\pm 10min)。只有当患者的QTc为a) >500 msec;b) 比给药前增加60msec;或c) 比给药前记录减少50msec时,才重复三次(读数之间间隔5-10min)进行;在E0I后1hr内收集血液以供所有生物标记的评估;在E0I(+5min)时,E0I后30min(\pm 5min)以及1hr(\pm 5min)、2(\pm 10min)、4(\pm 10min)收集血液以供药代动力学评价;伴随用药以及不良事件(AE)评估

[0450] 在第1周期的第8天,针对DR-A和DR-B,所有剂量水平

[0451] 在施用Aileron肽-1之前进行的程序包括生命体征:在S0I前30分钟内;身体检查;实验室评估,在S0I前1hr内收集血液以供所有生物标记的评估,在S0I前1hr内收集血液以供药代动力学评价,ECOG体能状态,伴随用药以及AE评估。

[0452] 在施用Aileon肽-1后进行的程序包括生命体征:(输注期间) 30min(\pm 3min);(输注后)在E0I(+5min)时以及E0I后1hr(\pm 5min)和2 hr(\pm 10min);在E0I后1hr内收集血液以供所有生物标记的评估;在E0I(+5min)时以及在E0I后30min(\pm 5min)、1hr(\pm 5min)、2和4hr(\pm 10min)收集血液以供药代动力学评价;伴随用药以及AE评估。

[0453] 在第1周期的第15天针对DR-A以及第11天针对DR-B

[0454] 在施用Aileron肽-1之前进行的研究程序包括生命体征：在SOI 前30分钟内；身体检查；实验室评估；在SOI前1hr内收集血液以供 所有生物标记的评估；在SOI前1hr内收集血液以供药代动力学评价；ECOG体能状态；伴随用药以及AE评估。

[0455] 在施用Aileon肽-1后进行的研究程序包括生命体征：(输注期间) 30min(±3min)；(输注后) 在EOI(+5min) 时以及EOI后1hr(±5min) 和2 hr(±10min)；在EOI(+5min) 时以及在EOI后30min(±5min)、1hr(±5 min)、2、4和8hr(±10min) 收集血液以供药代动力学评价；在EOI(+5 min) 的1hr内、EOI加1hr(±5min)、在EOI后4和8hr(±10min) 收集 血液以供所有生物标记的评估；伴随用药；以及AE评估。

[0456] 在第1周期的第16天针对DR-A以及第12天针对DR-B

[0457] 进行的研究程序包括生命体征；实验室评估；收集血液以供生物 标记评估：在前一天的SOI后24hr(±4hr)；仅针对在开始研究药物之前 进行了成功的研究活检的患者：用于生物标记评估的针吸活检——在第 1周期的第15天 (DR-A) 或第11天 (DR-B) 输注或在第2周期的第15天 (DR-A) 或第11天 (DR-B) 输注的48小时内进行，由研究者自行决定(除非 活检对患者构成重大风险)；在第15天 (DR-A) 或第11天 (DR-B) SOI后 24hr(±4hr) 收集血液以供药代动力学评价；在前一天SOI后24hr(±4hr) 收集血液以供所有药效学评估；伴随用药；cAE评估；以及针对在筛选 时接受FLT-PET且SUV≥5的患者进行FLT-PET。

[0458] 在第1周期的第22天针对DR-A以及第18天针对DR-B

[0459] 进行的研究程序包括生命体征；实验室评估——仅血液学；收集 血液以供所有生物标记的评估；伴随用药；以及AE评估。

[0460] 在第1周期(-1天直到+3天) 的第29天针对DR-A以及第22天针对DR-B/第2周期第1天

[0461] 进行从第2周期开始的在后续周期中的要求下列出的程序。注意：“第22天或第29天”=患者继续治疗的下一周期的第1天。在下一周期 药物施用前3天内进行第1周期第22天或第29天/第2周期第1天的给 药前评估。

[0462] 如果患者在第1周期以后不继续治疗，则进行在研究结束访视部 分下列出的程序。

[0463] 从第2周期开始的后续周期中的要求

[0464] 在前一周期的第29天针对DR-A以及第22天针对DR-B/第2周期 和后续周期的第1天

[0465] 注意：“第22天或第29天”=患者继续治疗的下一周期的第1天。在药物施用前3天内进行前一周期的第22天或第29天/当前周期的第1 天的给药前评估。

[0466] 注意：在第2周期或后续周期中没有收集用来评估CTC的血液样 品。

[0467] 在施用Aileron肽-1之前进行的研究程序包括生命体征：在SOI 之前的30分钟内；身体检查；ECG：在SOI之前的30分钟内。重复进 行三次(读数之间间隔5-10min)；实验室评估；收集血液以供免疫原性 分析：在SOI之前1hr内；收集血液以供生物标记的评估(仅MIC-1)：在SOI之前1hr内；收集血液以供药代动力学评价(仅第2周期)：在SOI 之前1hr内；ECOG 体能状态；伴随用药；以及AE评估。

[0468] 在施用Aileon肽-1后进行的研究程序包括生命体征：(在输注期间) 30min(±

3min);(输注后)在EOI(+5min)时以及在EOI后根据临床指示;ECG:在EOI(+5min)时。只有当患者的QTc为a)>500msec;b)比给药前增加60msec;或c)比给药前记录减少50msec时,才重复进行三次(读数之间间隔5-10min);收集血液以供生物标记评估(仅MIC-1):在EOI之后1hr内;收集血液以供药代动力学评价(仅第2周期):在EOI(+5min)时以及在EOI之后30min(\pm 5min)、1hr(\pm 5min)、2和4hr(\pm 10min);伴随用药;以及AE评估。

[0469] 在第2周期及以后周期的第8天针对DR-A以及第4天和第8天针对DR-B

[0470] 在施用Aileron肽-1之前进行的研究程序包括生命体征:在SOI之前的30分钟内;身体检查;实验室评估——仅血液学;ECOG体能状态;伴随用药;以及AE评估。

[0471] 在施用Aileon肽-1后进行的研究程序包括生命体征:(在输注期间)30min(\pm 3min);(输注后)在EOI(+5min)以及在EOI后根据临床指示;伴随用药;以及AE评估。

[0472] 在第2周期及以后周期的第15天针对DR-A以及第11天针对DR-B

[0473] 在施用Aileron肽-1之前进行的研究程序包括生命体征:在SOI前30min内;身体检查;实验室评估;收集血液以供生物标记评估(仅MIC-1):在SOI前1hr内;收集血液以供药代动力学评价(仅第2周期):在SOI前1hr内;ECOG体能状态;伴随用药;以及AE评估。

[0474] 在施用Aileon肽-1后进行的研究程序包括生命体征:(输注期间)30min(\pm 3min);(输注后)在EOI(+5min)以及在EOI后根据临床指示;收集血液以供生物标记评估(仅MIC-1):在EOI之后1hr内;在EOI(+5min)时以及在EOI后30min(\pm 5min)、1hr(\pm 5min)、2和4hr(\pm 10min)收集血液以供药代动力学评价(仅第2周期);伴随用药,以及AE评估。

[0475] 在第2周期及以后周期的第16天针对DR-A以及第12天针对DR-B

[0476] 进行的研究程序包括生命体征,实验室评估,收集血液以供生物标记评估:在第15天或第11天SOI后24hr(\pm 4hr),收集血液以供药代动力学评价(仅第2周期):在第15天或第11天SOI后24hr(\pm 4hr),伴随用药,以及AE评估。

[0477] 在偶数编号周期之后

[0478] 收集血液以供免疫原性分析。按照用于基线测量的相同程序进行肿瘤评估,例如对具有相关疾病指征的患者的成像、身体检查以及基于实验室的测定(例如,前列腺特异性抗原)。

[0479] 对于达到如RECIST或IWG标准所定义的“稳定的疾病”的患者,指示FDG-PET扫描,条件是在开始用研究药物治疗之前进行可评估的FDG-PET扫描。

[0480] CT成像

[0481] 所有患者在首次剂量之前接受CT成像。在以给药方案-A(DR-A)开始给药之后,将在DR-A中第2周期和此后每隔一个周期例如第4、6和8周期结束时获得CT图像。在给药方案-B(DR-B)中,将在DR-B中第3周期和此后每三个周期例如第6、9和12周期中最后一次输注后获得CT图像。在那些周期中施用最后一次剂量之后但在第18天访视之前获得图像。

[0482] 研究结束访视

[0483] 在最后一次施用Aileron肽-1或从研究中退出之后30(\pm 2)个日历日进行研究结束访视。进行的研究程序包括血清或尿妊娠试验,生命体征,身体检查,ECG,实验室评估,血液收集以供免疫原性分析,收集血液以供生物标记评估,收集血液以供药代动力学评价,ECOG体能状态,按照用于基线测量的相同程序进行的肿瘤评估,例如成像、身体检查以及对具有相关疾病指征的患者的基于实验室的测定(例如前列腺特异性抗原),伴随用

药和AE评估。

[0484] 药效学评价

[0485] 在以下时间点处收集用于药效学评价的血液样品：

表12: 第1周期和第2周期给药方案药效学评价

第 1 周期 DR-A、DR-B 或两者：		
给药方案	评价	血液样品收集程序
第 1 天- 两者(前)	MIC-1 和 CTC 样品	开始输注(SOI)前 1 小时内
第 1 天- 两者(后)		EOI (+ 5 min)和 EOI + 1hr (± 5 min)、2、4 和 8 hr (± 10 min)
第 2 天- 两者		第 1 天 SOI 后 24 小时(±4 hr)
第 3 天- 两者		第 1 天 SOI 后 48 小时(±4 hr)
第 8 天 DR-A 第 4 和 8 天 DR-B		SOI 前 1 小时内以及 输注结束(EOI)后 1 小时内
第 15 天 DR-A 第 11 天 DR-B		SOI 前 1 小时内以及 EOI 后 1 小时内
第 15 天 DR-A 第 11 天 DR-B		SOI 前 1 小时内以及 EOI (+ 5 min)和 EOI + 1hr (± 5 min)、2、4 和 8 hr (± 10 min)
第 16 天 DR-A 第 12 天 DR-B		前一天 SOI 后 24 小时(±4 hr)
第 22 天 DR-A 第 18 天 DR-B		访视日期间
在周期(Cy) 2 中开始的每个后续周期		
给药方案	评价	血液样品收集程序
第 1 周期第 29 天 DR-A 第 1 周期第 23 天 DR-B = 第 2 周期第 1 天	仅 MIC-1	SOI 前 1 小时内以及 EOI 后 1 小时内
第 15 天 DR-A 第 11 天 DR-B		SOI 前 1 小时内以及 EOI 后 1 小时内
第 16 天 DR-A 第 12 天 DR-B		前一天 SOI 后 24 小时(±4 hr)
研究结束访视		研究结束访视期间
注意：没有对第 8 天 DR-A 或第 4 天和第 8 天 DR-B 进行实体瘤或淋巴瘤的药效学评价		

[0486] 药代动力学 (PK) 评价

[0487] 在以下时间点收集用于药代动力学评价的血液样品：

表13: 第1周期和第2周期给药方案药代动力学评价

第 1 周期	
第 1 天 DR-A 和 DR-B	SOI 前 1 小时内
	EOI (+5 min)
	EOI 后 30 min (± 5 min)
	EOI 后 1 hr (± 5 min)
	EOI 后 2 hr (± 10 min)
	EOI 后 4 hr (± 10 min)
	EOI 后 8 hr (± 10 min)
第 2 天 DR-A 和 DR-B	前一天 SOI 后 24 小时(± 4 hr)
第 3 天 DR-A 和 DR-B	第 1 天 SOI 后 48 小时(± 4 hr)
第 8 天, DR-A 第 4 天和第 8 天, DR-B	SOI 前 1 小时内
	EOI (+5 min)
	EOI 后 30 min (± 5 min)
	EOI 后 1 hr (± 5 min)
	EOI 后 2 hr (± 10 min)
第 15 天, DR-A 第 11 天, DR-B	EOI 后 4 hr (± 10 min)
	SOI 前 1 小时内
	EOI (+5 min)
	EOI 后 30 min (± 5 min)
	EOI 后 1 hr (± 5 min)
	EOI 后 2 hr (± 10 min)
第 16 天, DR-A 第 12 天, DR-B	EOI 后 4 hr (± 10 min)
	EOI 后 8 hr (± 10 min)
	前一天 SOI 后 24 小时(± 4 hrs)
第 2 周期	
第 1 周期第 29 天/第 2 周期第 1 天, DR-A 第 1 周期第 23 天/第 2 周期第 1 天, DR-B	SOI 前 1 小时内
	EOI (+5 min)
	EOI 后 30 min (± 5 min)
	EOI 后 1 hr (± 5 min)
	EOI 后 2 hr (± 10 min)
	EOI 后 4 hr (± 10 min)

第 2 周期	
第 15 天, DR-A 第 11 天, DR-B	在 SOI 前 1 小时内
	EOI (+5 min)
	EOI 后 30 min (±5 min)
	EOI 后 1 hr (±5 min)
	EOI 后 2 hr (±10 min)
	EOI 后 4 hr (±10 min)
第 16 天, DR-A } 第 12 天, DR-B } 仅第 2 周期	前一天 SOI 后 24 小时(±4 hrs)
注意: 在 DR-A 中的第 8 天或 DR-B 中的第 4 天和第 8 天没有进行 PK 评价	
研究结束访视	研究结束访视期间

实施例4:进一步的研究

[0488] 在患有表达WT p53的晚期实体瘤或淋巴瘤的、对标准治疗难治 性或无法忍受的或者不存在标准治疗的成年患者中,针对安全性、耐受 性、药代动力学和药效学评价 Aileron肽-1。图6显示了将Aileron肽-1 设计为抑制MDMX和/或MDM2的一种方式,其导致WT p53的重新激 活。

[0489] Aileron肽-1能够穿透细胞膜并定位在细胞核内。此外,Aileron 肽-1可以破坏细胞内蛋白质-蛋白质相互作用,如p53与MDM2和 MDMX之间的相互作用。

[0490] 进行Aileron肽-1的若干体内和体外研究。在这些研究中,Aileron 肽-1以纳摩尔亲和力与MDM2和MDMX结合,并通过基因表达谱分析 显示了体外特异性中靶机制的证据。此外,Aileron肽-1显示出在过表达 MDM2/MDMX的异种移植癌模型中的肿瘤生长抑制、p53依赖性细胞周 期停滞、凋亡和抗肿瘤活性,与中靶药代动力学和药效学或药代动力学/ 药效学活性具有明显的相关性。

[0491] 剂量递增阶段被设计为评价在患有实体瘤或淋巴瘤的患者中的 Aileron肽-1。该剂量递增阶段不受肿瘤或淋巴瘤类型的限制。将Aileron 肽-1施用于患有肉瘤、胃癌、非小细胞肺癌、卵巢癌和胸腺瘤的患者。在一些情况下,使用Aileron肽-1治疗肿瘤和淋巴瘤,其中WT p53在超 过50%的患者中普遍存在。p53野生型状态在超过50%的患有至少19 种不同肿瘤类型的患者中普遍存在。因此,适应潜力可以在罕见适应证 或巨大市场机会中有所不同。参见例如图7。

[0492] 进行p53信号激活研究以确定相比于WT p53,Aileron肽-1是否 对具有突变p53的癌细胞系具有不同的作用。在研究中,我们测量了 Aileron肽-1在跨越各种不同癌症的312种细胞系中的作用,以比较 Aileron肽-1在具有突变p53的细胞系与在具有WT p53的细胞系中的作 用。参见图8。在207种突变p53细胞系中,Aileron肽-1没有明显的作 用,但是在105种WT p53细胞系中,几乎全部显示肿瘤细胞死亡。参 见图8。没有显示肿瘤细胞死亡的WT p53细胞系包括与人乳头瘤病毒 或HPV、有关癌症如宫颈癌和头颈癌相关的WT p53细胞系。通过关注 WT p53和响应性肿瘤,我们能够预测对于我们的候选产品可能有更好 的响应机会的患者群体。

[0493] 在另一研究中,相对于对WT p53的MDM2和MDMX的结合亲 和力,以及对MDM2小分子抑制剂的结合亲和力,测量Aileron肽-1对 MDM2或MDMX的结合亲和力。药物对受体的亲和

力是药物与其靶标结合的有效性大小的量度,并且可以提供对中靶效应和脱靶毒性的潜力的深入了解。Aileron肽-1被设计为以高于WT p53的亲合力与MDM2和/或MDMX结合,使得Aileron肽-1通过代替p53与MDM2和/或MDMX结合而破坏MDM2和/或MDMX与WT p53的结合。这样的结合可使得p53能够被释放和激活。在本研究中,我们还测量了小分子MDM2抑制剂对MDMX的结合亲合力,它显示不与该靶标结合。以下表14显示了Aileron肽-1相对于WT p53和小分子MDM2抑制剂与MDM2和MDMX结合的能力。

[0494] 表14:Aileron肽-1相对于WT p53和小分子MDM2抑制剂与MDM2和MDMX结合的能力

Kd, nM	WT p53	Aileron肽-1	MDM2抑制剂
MDM2	770	13.7	9.8
MDMX	480	8.9	>3000

体内

[0495] 我们研究了Aileron肽-1在两种实体瘤中的作用。在图9描述的 研究中,我们评估了通过静脉内或IV注射施用的Aileron肽-1在MDMX 驱动的MCF-7乳腺癌异种移植模型中的作用。在该研究中,我们评估了 用Aileron肽-1和媒介物治疗的不同剂量、时间表和持续时间,以测定 对肿瘤体积生长的影响。在范围为2.5mg/kg至5mg/kg至10mg/kg和 20mg/kg的剂量下,当这些剂量在28天的时间内每周施用两次时,Aileron 肽-1显示了统计学显著的肿瘤生长抑制。参见图11a和图11b。

[0496] 毒理学和非临床安全性实验

[0497] 大鼠和猴子中的关键性4周多剂量GLP研究利用被计划为最初临床方案的每周两次IV给药,而非每周一次IV给药。该研究提供在给药 和恢复时间期间的剂量和暴露相关的评估,并且使用结果确定最大耐受 剂量(MTD)以及估算大鼠的10%严重中毒剂量(STD₁₀)和猴子的最高非 严重中毒剂量(HNSTD)。在两个物种中,所有可见的和微小的不耐受体征(例如,器官重量减少,偶见多组织出血和肝坏死)和血清化学参数的 变化被认为继发于红细胞(RBC)、血小板和/或白细胞(WBC)消耗或食欲 减退和脱水。恢复评估揭示了与所有相关的血液学和继发性毒性的髓细 胞存活和可逆性一致的再生和代偿性变化。

[0498] 两个动物物种中的DLT似乎都与骨髓中造血细胞(特别是巨核细 胞谱系的细胞)的抑制有关,这导致外周血血小板的显著减少,这显示在 停止给药时恢复。参见图7。

[0499] 基于恢复期间供血液学取样的伴随组中一只动物的死亡,大鼠中 的STD₁₀被确定为10mg/kg。根据在该最低剂量水平下完全缺乏显著的 血小板减少,猴子的HNSTD被确定为5mg/kg。然而,中等和高剂量水 平下几乎所有猴子都良好地耐受Aileron肽-1施用;在这些剂量水平中 的每一个剂量水平下,只有一只动物发生显著的血小板减少(<100,000x 10⁶/ml)。

[0500] 基于最大耐受剂量下的暴露,大鼠比猴子对Aileron肽-1的骨髓和 血液学作用更敏感。大鼠STD₁₀(在10mg/kg下,AUC_{0-∞}=562μg·hr/mL) 时的暴露低于猴子的HNSTD(在5mg/kg下,AUC_{0-∞}=813μg·hr/mL)的 暴露。这些体内结果与经由发光输出的体外血液毒性测试(HALO)获得的 那些结果相关。在这些研究中,与来自猴子或人的那些骨髓前体细胞相比,Aileron肽-1通常在更大程度上抑制来自大鼠的骨髓前体细胞的诱导 增殖。大鼠细胞的IC₅₀值为约2至8倍于猴子或人细胞,其中记录的最 大的差异为巨核细胞菌落形成细胞(血小板前体)。这些结果与体内发现 有关,该发现表明基于剂量和最大耐受剂量下的暴

露,大鼠比猴子对 Aileron肽-1的骨髓和血液学作用更敏感。这些结果还表明,在预测人类中的潜在骨髓和血液学毒性水平方面,与大鼠数据相比,猴子的药代动力学-药效学数据可能是更加临床相关的。

[0501] Aileron肽-1在遗传毒理学研究中是阴性的,该研究包括细菌诱变性(Ames)、染色体畸变(人外周血淋巴细胞)和体内小核(大鼠骨髓)测定。进行安全性药理学研究以评估Aileron肽-1对体外hERG钾通道和食蟹猴的心脏功能的影响。在这些研究中没有显著的不良发现。

[0502] 与4周GLP毒性研究中利用的每周两次IV给药时间表相比, Aileron肽-1的首次人类临床试验将首先评估每周一次IV给药达三周。此外,证明的Aileron测试肽-1诱导的血液学作用的可逆性,采用常规实验室测量检测此类发现的能力,以及有效的支持疗法的可用性,其均在诊所中提供额外的安全性裕度。

[0503] 药代动力学以及吸收、分布、代谢和排泄

[0504] 在大鼠中,Aileron肽-1通常显示 C_{max} 和AUC的线性、剂量成比例的增加。在4周大鼠GLP毒性研究中,Aileron肽-1的 C_{max} 的范围为49.9至186 $\mu\text{g/mL}$, $AUC_{0-\infty}$ 的范围为90.5至562 $\mu\text{g} \cdot \text{hr/mL}$,并且清除率的范围为19.2至28.3 mL/hr/kg 。由于可变的确定系数($r^2 < 0.9$),无法计算半衰期($t_{1/2}$)值。

[0505] 在非人灵长类中,Aileron肽-1通常显示与剂量成比例增加的暴露,尽管在4周猴子GLP毒性研究中的高剂量组(20 mg/kg)观察到暴露的明显平台期。在该研究中,Aileron肽-1的 C_{max} 的范围为133至562 $\mu\text{g/mL}$, $t_{1/2}$ 的范围为3.7至6.0 hr , $AUC_{0-\infty}$ 的范围为813至1,600 $\mu\text{g} \cdot \text{hr/mL}$,且清除率的范围为6.5至13.8 mL/hr/kg 。

[0506] 在大鼠或猴子中没有观察到药代动力学参数的显著的基于性别的差异,并且在GLP毒性研究中关于每周两次时间表重复的剂量后没有观察到积累。

[0507] 蛋白水解是预期的Aileron肽-1的主要生物转化途径。主要代谢物Aileron肽代谢物-1是具有完整环肽部分的3-氨基酸截短,并且在用猴子、大鼠、小鼠和人类冷藏保存的肝细胞的体外稳定性研究中记录了相同的代谢物谱。在单剂量大鼠研究中,肝胆代谢和消除代表了Aileron肽-1的主要清除途径,其中Aileron肽代谢物-1作为在胆汁中观察到的主要排泄产物。

[0508] 体外研究揭示,Aileron肽-1不是任何所测的细胞色素P450(CYP)同种型的抑制剂。CYP诱导的体外测定也没有表明采用Aileron肽-1的任何显著的治疗相关的作用。基于这些发现,通过CYP介导的机制清除的针对伴随用药的临床相关的药物-药物相互作用的潜力被认为是低的。

[0509] Aileron肽-1在体外针对常见转运蛋白进行测试,并观察到在可能临床相关的浓度下(例如,在高剂量水平的 C_{max} 下)的有机阴离子转运多肽(OATP)成员OATP1B1和OATP1B3以及胆汁盐输出泵(BSEP)的90%抑制。基于这些发现,应当考虑Aileron肽-1与药物(例如,甲氨蝶呤、他汀类药物)的临床相关的药物-药物相互作用的潜力,该潜力被肝胆转运蛋白显著清除。

体内

[0510] 使用开放标签、多中心、剂量递增的双臂研究来设计,以在患有对标准疗法而言难治或无法忍受或不存在标准疗法的、表达WT p53的晚期实体瘤或淋巴瘤的患者中,评估

通过静脉内 (IV) 输注施用的Aileron 肽-1的安全性、耐受性、药代动力学、药效学和抗肿瘤作用。该研究包括用于确立Aileron肽-1的最大耐受剂量或MTD,或最佳生物剂量或 OBD的剂量递增期,以及用于研究MTD或OBD下Aileron肽-1的临床 安全性概况和潜在效力的剂量扩充期。在该研究的扩充期中,在患有特 定实体瘤或淋巴瘤的患者的不同组中对Aileron肽-1进行研究。基于剂 量递增期的结果,以及来自其他非临床药理学研究的数据,完成实体瘤 或淋巴瘤的选择。后者包括有助于将肿瘤类型之间和之内对Aileron肽-1 的细胞系敏感性进行比较的多种实体瘤细胞系(例如,乳腺癌、膀胱癌、头/颈癌、胃肠癌、肝癌、肺癌、胰腺癌、前列腺癌和肉瘤)的研究。在 该试验的剂量递增期和剂量扩充期中对患者的治疗持续直到确定疾病进 展、不可接受的毒性,或患者或医师决定中止疗法。

[0511] 剂量递增期基于“3+3”剂量递增设计。在剂量递增期中,前两个 剂量水平的患者每28天中每周接受一次Aileron肽-1,持续3周。对于 28天周期,更高剂量水平的患者每周接受一次Aileron肽-1,持续连续 三周,而对于21天周期,每周接受两次持续连续二周。参见图10。

[0512] 将用尽标准疗法或对其而言标准疗法不可用的患有实体瘤或淋巴 癌的患者选入剂量递增期中,直到剂量组4b完成入选,并且所述患者是 入选剂量组5a中的患者。将罹患已知HPV相关癌症的患者从入选中排 除,因为已知HPV使WT p53失活。到该日期时包括的肿瘤类型有非小 细胞肺癌、各种类型的肉瘤、胆管癌、囊性腺样癌、滤泡性非霍奇金淋 巴瘤、胸腺瘤、前列腺癌、子宫内膜癌以及卵巢癌。由于我们的试验主 要集中在安全性和耐受性,因此我们在相对较低的剂量水平下开始给药, 并且该方案不需要前三个剂量水平的患者是p53野生型或HPV阴性的。

[0513] 为了鉴别我们试验的特定p53患者,我们利用中心实验室,使用 新一代测序对来自入选p53状态试验中的患者的归档肿瘤组织样品和新 鲜活检样品进行了测试。入选那些剂量水平的13名患者中的12名被证 实具有WT状态。从剂量水平4开始,WT p53状态是强制性合格标准。

[0514] 在该试验中,通过使用药效学生物标记和成像评估二者评估了临 床活性或对Aileron肽-1的响应。药效学生物标记为我们提供了关于中 靶活性、特定患者类型响应以及关于对肿瘤效果的早期认知的信息。作 为实验的一部分,我们还评估了Aileron肽-1对各种不同来源的生物样 品(如肿瘤活检、可检测的循环肿瘤细胞、单核血细胞和血液样品) 中的 潜在药效学生物标记的影响。根据样品类型,那些药效学生物标记包括 MDMX、MDM2、p21、p53、凋亡以及巨噬细胞抑制细胞因子-1或MIC-1 的测量。此外,根据施用的循环次数,我们接受了标准的成像评估,如 来自患者的计算机断层扫描或CT、磁共振成像、骨扫描和PET扫描。CT-成像在28天周期组中于第2周期以及之后每两个循环的结束时进行,而在21天周期组中于第3周期以及之后每三个周期的结束时进行。我们 采用RECIST对实体瘤患者的抗肿瘤活性进行测量,并采用2014国际工 作组(或IWG)标准对淋巴瘤患者的抗肿瘤活性进行测量,使得我们能够 客观评价肿瘤是否已经进展、稳定或萎缩。此外,可通过身体检查或临 床验证的血清肿瘤标志物来确定抗肿瘤效果。

药代动力学谱

[0515] 通过IV施用全身递送Aileron肽-1,这给予了避免来自肝酶和胃 肠酶的代谢影响的潜在优势,以及随剂量递增可重现的全身生物利用度 的能力。如图11a所示,在队列1的

剂量水平 (0.16mg/kg)、队列2的剂量水平 (0.32mg/kg)、队列3a的剂量水平 (0.64mg/kg)、队列3b的剂量水平 (0.32mg/kg)、队列4a的剂量水平 (1.25mg/kg) 下测量了药物浓度。患者中,Aileron肽-1一致地产生了所观察到的最大药物血清浓度或C_{max} 的剂量依赖性增加,以及在8至10小时之间的更长的相应半衰期。该半衰期足够将WT p53重新激活并开始启动基因转录调控的过程。

[0516] Aileron肽-1示出了在患者间和剂量间可重现的谱,使得能够进行更高剂量水平的暴露推测,以预测效率和安全性。图11b示出了在剂量水平1 (0.16mg/kg)、剂量水平2 (0.32mg/kg) 和剂量水平3 (0.64mg/kg) 下的测得的药物浓度;并且推测了剂量水平4 (1.25mg/kg)、剂量水平5 (2.5mg/kg) 和剂量水平6 (5.0mg/kg) 的药物浓度。

[0517] 图12示出了Aileron肽-1的药代动力学模型。该肽显示出非线性 Michaelis-Menten清除和线性清除。

安全性结果

[0518] 研究中认为Aileron肽-1在所有剂量水平下都是良好耐受的。没有报告剂量限制毒性,也没有报告研究相关的严重不良事件。从非血液学安全性看,最常见的相关不良事件是恶心和疲劳。从血液安全性看,前两个剂量水平1和2在第1周期和第2周期期间没有显示血细胞减少,而在剂量水平3A、3B和4A下,患者显示轻度至中度贫血、轻度血小板减少症和轻度中性粒细胞减少的药物相关事件。一名患者在剂量水平3B下经历4级中性粒细胞减少,对此研究人员报告称可能与研究药物有关。患者的完整血细胞计数显示2级白细胞减少症、1级贫血和1级血小板减少的谷值。大约在开始用Aileron肽-1治疗的同时开始两种伴随药物,这两种药物都被怀疑与中性粒细胞减少的发生有关。患者的中性粒细胞减少与药物暴露之间无关联,患者的最后一次完全血细胞计数显示3级中性粒细胞减少改善,没有施用对中性粒细胞减少的治疗,并且没有报告感染性并发症。

[0519] 与研究者的4次正式安全审查会议确认没有DLT。对于DL1、2和3A,一致决定递增两倍剂量。对于DL3B,一致决定经由DL4B中的斐波纳契递增。新剂量可为0.53mg/Kg,而非0.64mg/Kg。

[0520] 血液学和非血液学不良事件与我们的临床前毒理学概况大体一致:

- • 无遗传毒性
- • 无免疫原性
- • 没有心血管安全性的相关发现
- • 没有暗示GI毒性的相关发现
- • 没有因剂量限制性毒性的骨髓抑制

生物标记评估

[0521] 在剂量递增期,我们使用了几种探索性生物标记来确认Aileron肽-1的药理学活性或中靶生物活性、辅助患者招募以及帮助告知剂量选择。

[0522] 接收关于MDMX、MDM2、p21、p53、凋亡和MIC-1的药效学生物标记。我们接收数据的第一生物标记为MIC-1。MIC-1是分泌的p53调节的细胞因子,如果p53被激活,其在血液中容易测量,并且其可用作p53激活的生物标记。在正常条件下,p53表达保持较低,导致相应MIC-1水平可忽略。然而,当WT p53激活响应于肿瘤时,这也导致MIC-1水平增加。我们在初次输注前1小时测量MIC-1,并在初次输注后24小时再次对其进行测量。在剂量水平1至剂

量水平4A范围内的剂量水平下的患者中,我们观察到MIC-1增加的统计学显著的剂量依赖性反应。见图13。

[0523] 此外,来自4名患者的单核血细胞确认Aileron肽-1渗透细胞膜并激活p53信号传导。我们在以下时间点测量了来自4名患者的单核血细胞中的细胞内p53和p21的量:(a) Aileron肽-1输注结束,(b) Aileron肽-1输注结束后1小时,以及(c) Aileron肽-1输注结束后4小时。如图14所示,观察到细胞内p53水平增加1.8倍,细胞内p21水平增加约3倍。

[0524] 因此,我们得出结论,Aileron肽-1穿透细胞膜,定位在细胞核内,并释放WT p53。MIC-1水平相对于基线至少8倍的增加作为p53重新激活所需最小剂量的指导。

[0525] 总的来说,至少两个独立的生物标记研究支持细胞内p53信号传导的Aileron肽-1介导的激活:(i) MIC-1血清蛋白(如通过ELISA测量的):剂量-响应关系,以及(ii) 血细胞中的p53和p21增加(如通过流式细胞术测量的)。

[0526] 效力

[0527] 客观肿瘤响应是试验中效力的终点。28天周期组中的患者在基线时测量并在两个治疗周期后或大约在初始给药后56天内再次测量。21天周期组中的患者在基线时测量并在三个治疗周期后或大约在初始给药后63天内再次测量。RECIST标准定义如下:

- 稳定的疾病或SD:以研究中的最小直径总和为参考,没有出现符合部分响应的充分肿瘤缩小也没有出现符合进展的充分增加的情况。

- 部分响应或PR:以基线直径总和为参考,目标病变的直径总和至少减少30%。

- 完全响应或CR:所有目标病变消失。任何病变淋巴结(无论是目标的还是非目标的)的短轴必须缩短至小于10毫米。

[0528] 试验表明,已完成至少两个治疗周期的患者,一些患者具有稳定的疾病。Aileron肽-1已显示稳定疾病率。参见图15。

[0529] 以下表15显示用Aileron肽-1治疗的示例性患者。这些患者包含具有野生型或突变p53的一系列实体瘤。如表16所见,在2/3周期治疗后,患者4、5、7、8、10、11和15中的每一名具有稳定的疾病,而仅患者2、6和12显示进行性疾病。完成3/4治疗周期后,患者11继续显示稳定的疾病。如此处所用的,稳定的疾病是指以研究中的最小直径总和为参考,没有出现符合部分响应的充分肿瘤缩小也没有出现符合进展的充分增加的情况。

[0530] 表15. 患者信息

患者 编号	1° 癌症	组织病理学	2° 癌症	P53 WT	测试的 NGS 组 织	器官	肿瘤大小 mm	肿瘤负荷 mm
1	唾液腺	鳞状细胞		UNK	肝	淋巴结	30	55
						右后肝 叶	25	
2	脂肪肉瘤	脂肪肉瘤		是	腹膜后:	软组织 肿块	48	48
3	胆囊	腺癌		是	胆囊	内衬	16	36
						腹膜内	20	
4	下颌下腺 癌	腺样囊性癌		是	腺样体	口咽	43	65
						肺	22	
5	脂肪肉瘤	脂肪肉瘤		是	脂肪肉瘤	腹膜后	175	301
						腹膜后	126	
6	GIST (肉 瘤)	胃肠道间质肿瘤		UNK	N/A	肠系膜 肿块	25	135
						肺	20	
						肺	16	
						肝	84	
7	NSCLC	侵袭性腺癌	脑/头	UNK	N/A	肺	10	71
						淋巴结	20	
						肺	20	
						淋巴结	21	
8	脂肪肉瘤	基底细胞		是	肿瘤切除- 腹膜 后 淋巴结	胃	147	443
						胃	127	
						骨	155	
						肝	14	
9	前列腺	腺癌		UNK	N/A	淋巴结	48	86
						肝	15	
						淋巴结	23	
10	NSCLS	IV 期左肺腺癌		是	右肺结节	淋巴结	15	99
						淋巴结	21	
						淋巴结	21	
						肺	25	
						肺	17	

11	卵巢	转移性卵巢癌, iv 期 癌症伴肝转移		否	肿瘤切除- 子宫	肝	17	64
						肝	30	
						其他	17	
12	子宫内膜	子宫内膜浆液性癌		否		肝	13	78
						肝	17	
						淋巴结	18	
						淋巴结	20	
13	乳腺	癌	骨肉瘤	是	肿瘤切除- 骨肉瘤	肺	64	181
						肺	117	
14	平滑肌肉瘤	未知		UNK		肺	54	195
						肝	12	
						肝	99	
						肝	30	
15	平滑肌肉瘤	子宫		是		淋巴结	44	76
						淋巴结	32	
16	淋巴瘤	b-细胞淋巴瘤- 滤泡				淋巴结	300 (CT 和 PET)	
17	胸腺瘤							

表16: 用Aileron肽-1治疗2/3个周期后的患者响应

患者编号	器官	肿瘤大小 mm	肿瘤负荷 mm	其对于 基线的 变化%	新病变?	目标	非目标	总体
1	淋巴结							离开研究: 不依从
	右后肝叶							
2	软组织肿块	62	62	29%	否	进展	未完成	进行性疾病
3	内衬							离开研究: CDP
	腹膜内							
4	口咽	45	69	6%	是	稳定的疾病	进行性疾病	稳定的疾病
	肺	24						
5	腹膜后	186	336	11.2%	否	稳定的疾病	未完成	稳定的疾病
	腹膜后	150						
6	肠系膜肿块	29	159	17.8%	是(上肝叶可达 1.5 CM)	稳定的疾病	非完全响应/非进展	进行性疾病
	肺	11						
	肺	19						
	肝	100						
7	肺	13	77	8%	否	稳定的疾病	非完全响应/非进展	稳定的疾病
	淋巴结	20						
	肺	20						
	淋巴结	24						
8	胃	157	518	16.9%	否	稳定的	进行性疾病	稳定的

	胃	145				疾病		疾病
	骨	180						
	肝	36						
9	淋巴结	53	122	41.86%	否	进行性 疾病	非完全响应 /非进展	离开研 究：客观 疾病进 展
	肝	35						
	淋巴结	34						
10	淋巴结	21	116	17.20%	否	稳定的 疾病	未完成	稳定的 疾病
	淋巴结	24						
	淋巴结	24						
	肺	28						
	肺	19						
11	肝	17	71	10.90%	否	稳定的 疾病	未完成	稳定的 疾病
	肝	24						
	其他	30						
12	肝	15	100	28.21%	是(肝病 变)	进展	并非所有均 评价或不可 评估	进行性 疾病
	肝	19						
	淋巴结	32						
	淋巴结	32						
13	肺	--	--	--				
	肺	--						
14	肺	69	233	19.48%	是(左肝 下肿块)	尚未输 入	尚未输入	尚未输 入
	肝	19						
	肝	105						
	肝	40						
15	淋巴结	44	77	1.30%	否	稳定的 疾病	非完全响应 /非进展	稳定的 疾病
	淋巴结	33						

MEEPQSDPSVEPPLSQETFSDLWKLLPENNVLSPLPSQAMDDLMLSPDDIEQWFTEDPGP
DEAPRMEAAPVAPAPAAPAPAPAPSWPLSSVPSQKTYQGSYGFRLLGFLHSGTAK
SVTCTYSPALNKMFCQLAKTCPVQLWVDSTPPGTRVRAMAIYKQSQHMTVEVRRCPHHE
RCSDSDGLAPPQHLIRVEGNLRVEYLDNRNTFRHSVWPYEPPEVGSDCTTIHYNMYMCNS
SCMGGMNRRPILTIITLEDSSGNLLGRNSFEVRVCACPGRRRTEENLRKKGEPHHELP
PGSTKRALPNNTSSSPQPKKKPLDGEYFTLQIRGRERFEMFRELNEALELKDAQAGKEPG
GSAHSHLKSCKGQSTSRHKKLMFKTEGPDSD

人野生型p53蛋白质序列

图1

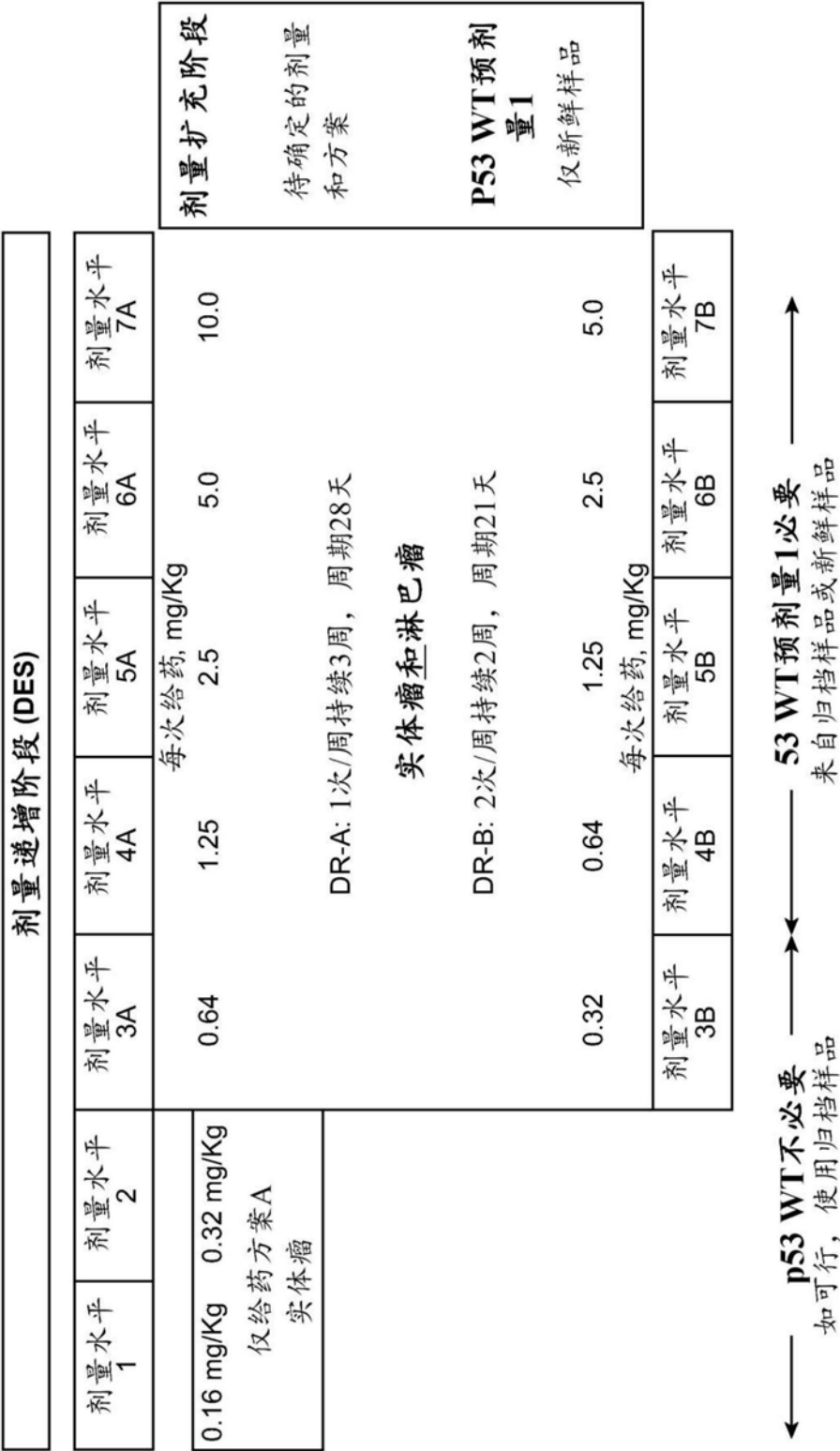


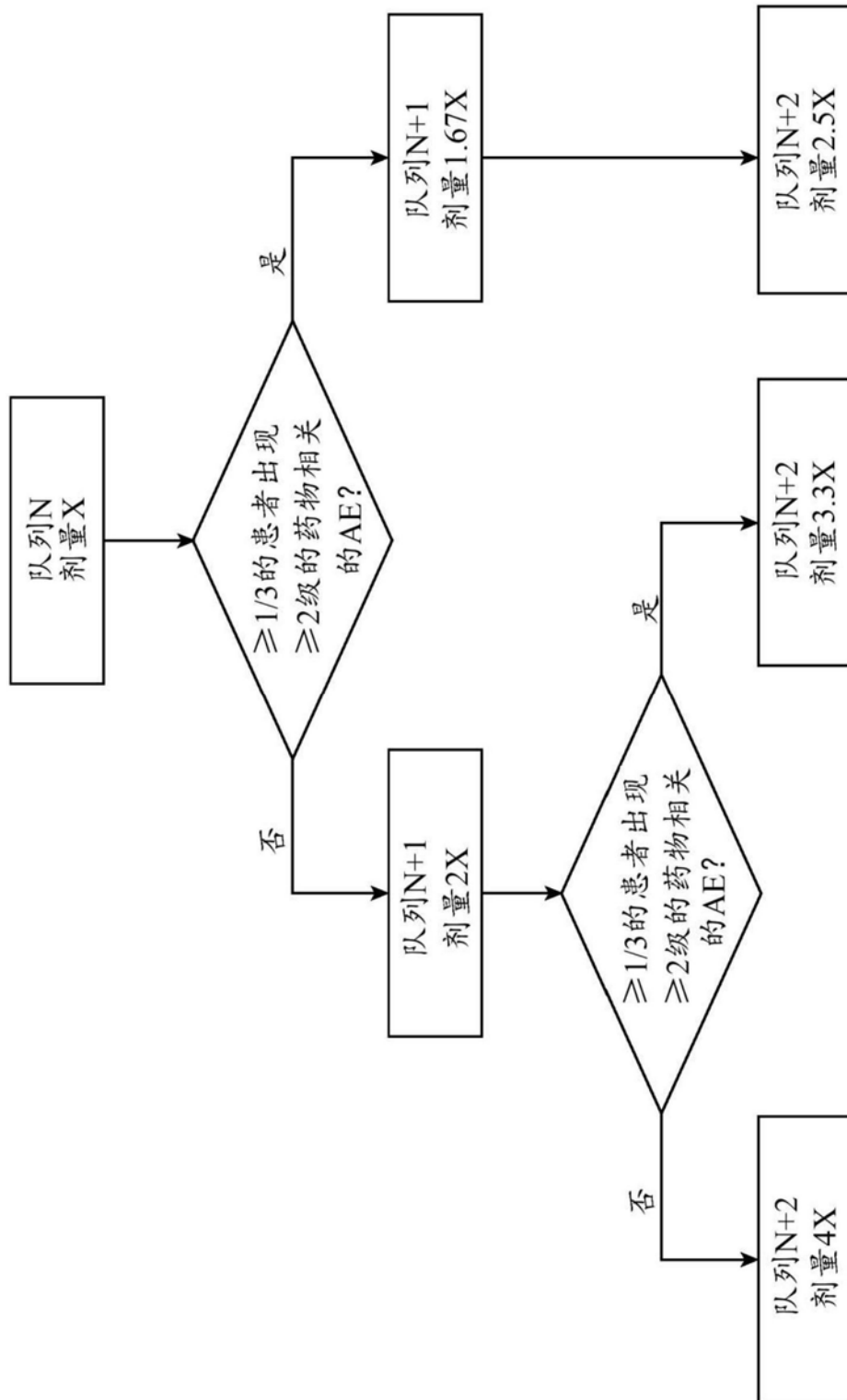
图2

第-21天 至第-1天 临床筛选	给药方案A临床访视- 28天周期								开始下一周期	
	给药: 第1天	第2天	第3天	给药: 第8天		给药: 第15天	第16天	第22天	第29天	
	给药方案B临床访视- 21天周期									开始下一周期
	给药: 第1天	第2天	第3天	给药: 第4天	给药: 第8天	给药: 第11天	第12天	第18天	第22天	

图3

给药方案A	剂量-第1天 mg/Kg	剂量-第8天 mg/Kg	剂量-第15天 mg/Kg	28天周期	每个周期 的总剂量 mg/Kg	每个周期 的总剂量 mg/Kg
	剂量水平 3 DL 4 DL 5 DL 6 DL 7	0.64 1.25 2.5 5.0 10.0	0.64 1.25 2.5 5.0 10.0		DL 3- 1.92 DL 4- 3.75 DL 5- 7.5 DL 6- 15.0 DL 7- 30.0	
给药方案B	剂量-第1天 mg/Kg	剂量-第4天 mg/Kg	剂量-第8天 mg/Kg	剂量-第11天 mg/Kg	21天周期	DL 3- 1.28 DL 4- 2.56 DL 5- 5.0 DL 6- 10.0 DL 7- 20.0
	剂量水平 3 DL 4 DL 5 DL 6 DL 7	0.32 0.64 1.25 2.5 5.0	0.32 0.64 1.25 2.5 5.0	0.32 0.64 1.25 2.5 5.0		

图4



本公开的示例性剂量递增策略略

图5

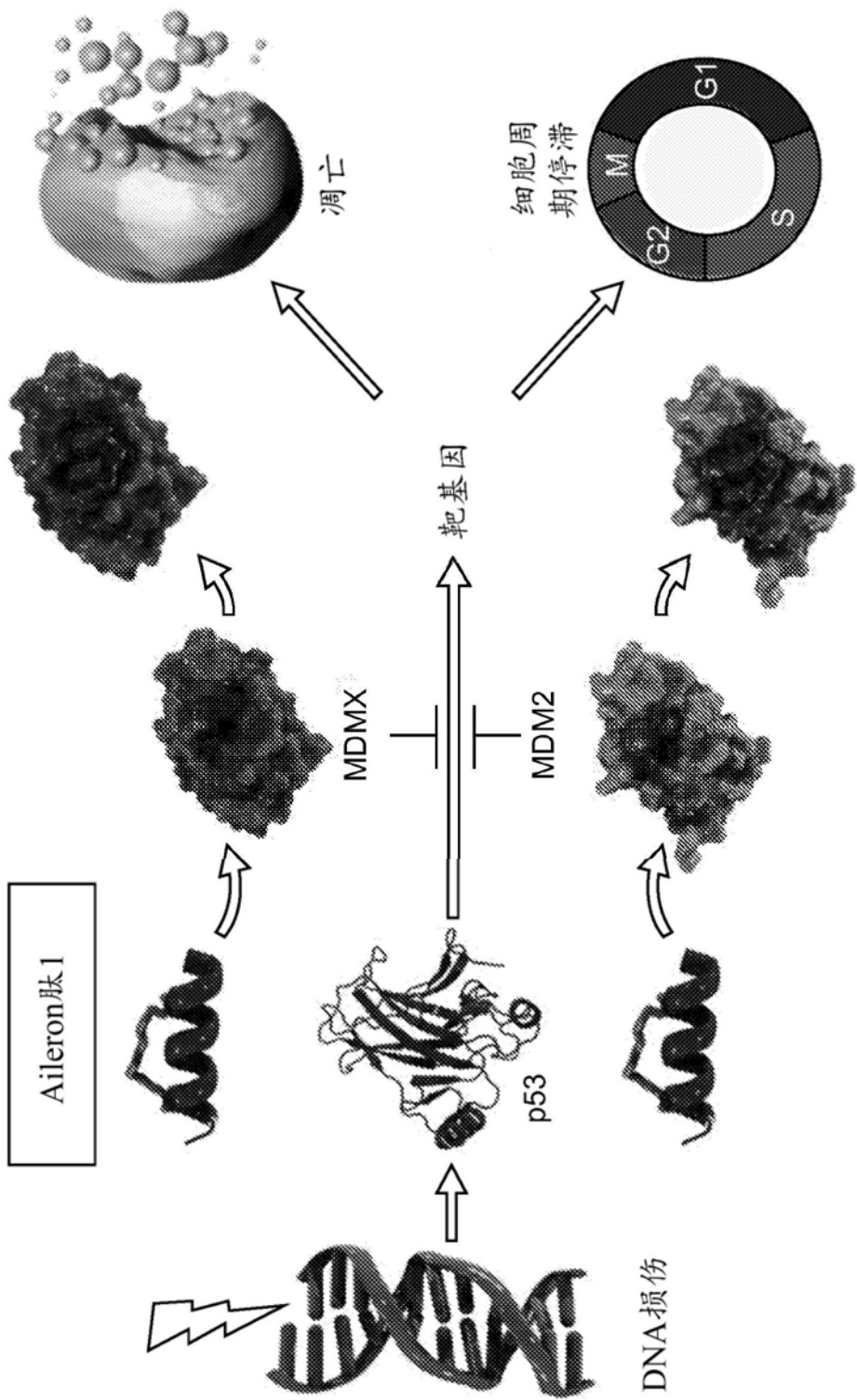
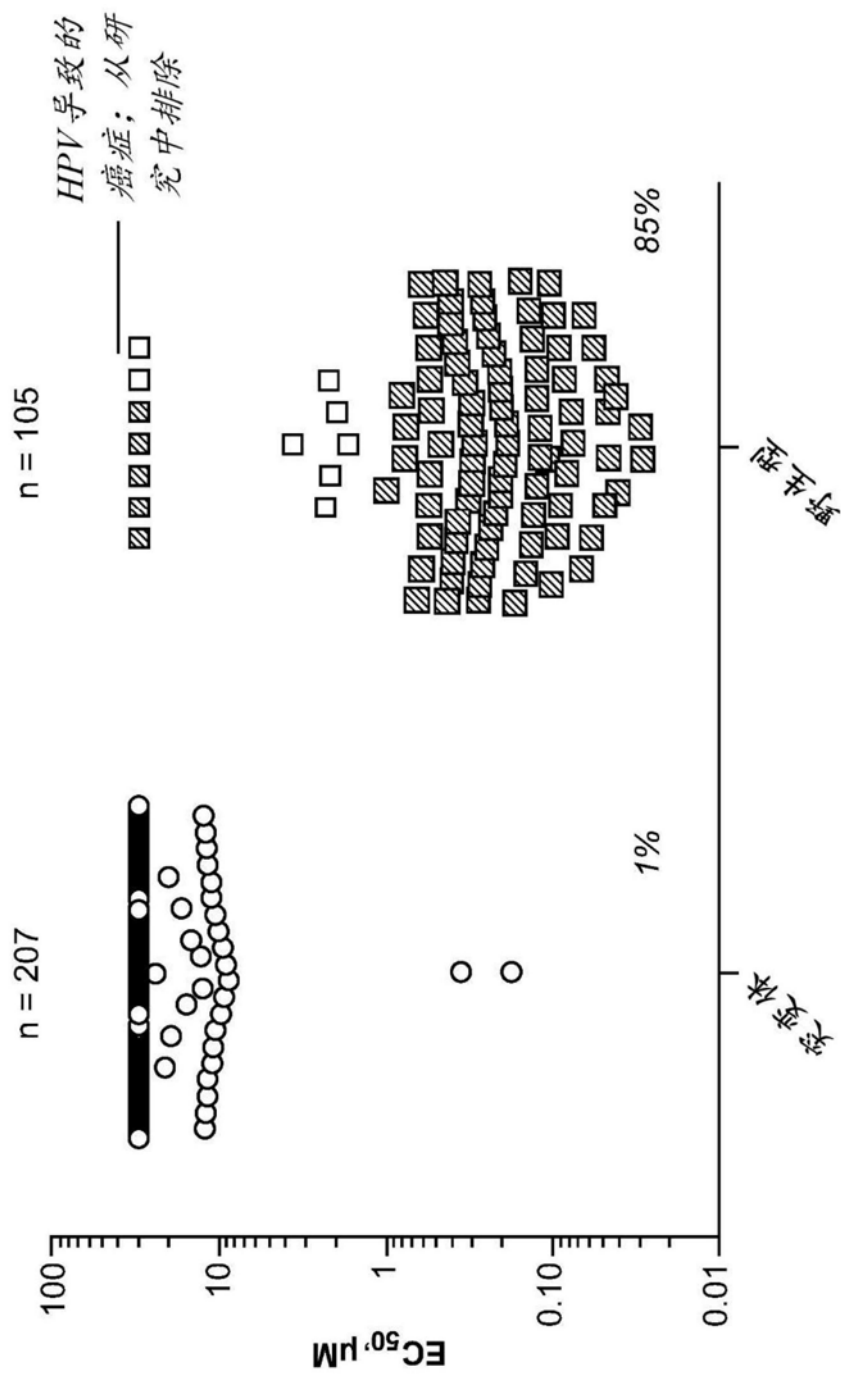


图6

肿瘤类型	P53野生型 (%)	美国每年发病率	市场
NHL/ CLL	85%	15,700	孤儿药
黑色素瘤	70%	76,100	孤儿药
肉瘤	80%	12,000	孤儿药
ER+, HER2阴性乳腺癌	85%	226,900	非孤儿药
急性髓样白血病	85%	19,000	孤儿药
胃癌	70%	22,200	孤儿药

图7



EC_{50} = 杀死50%肿瘤细胞时的药物浓度
 $EC_{50} \geq 30 \mu M$ 的值以30 μM 示出

图8

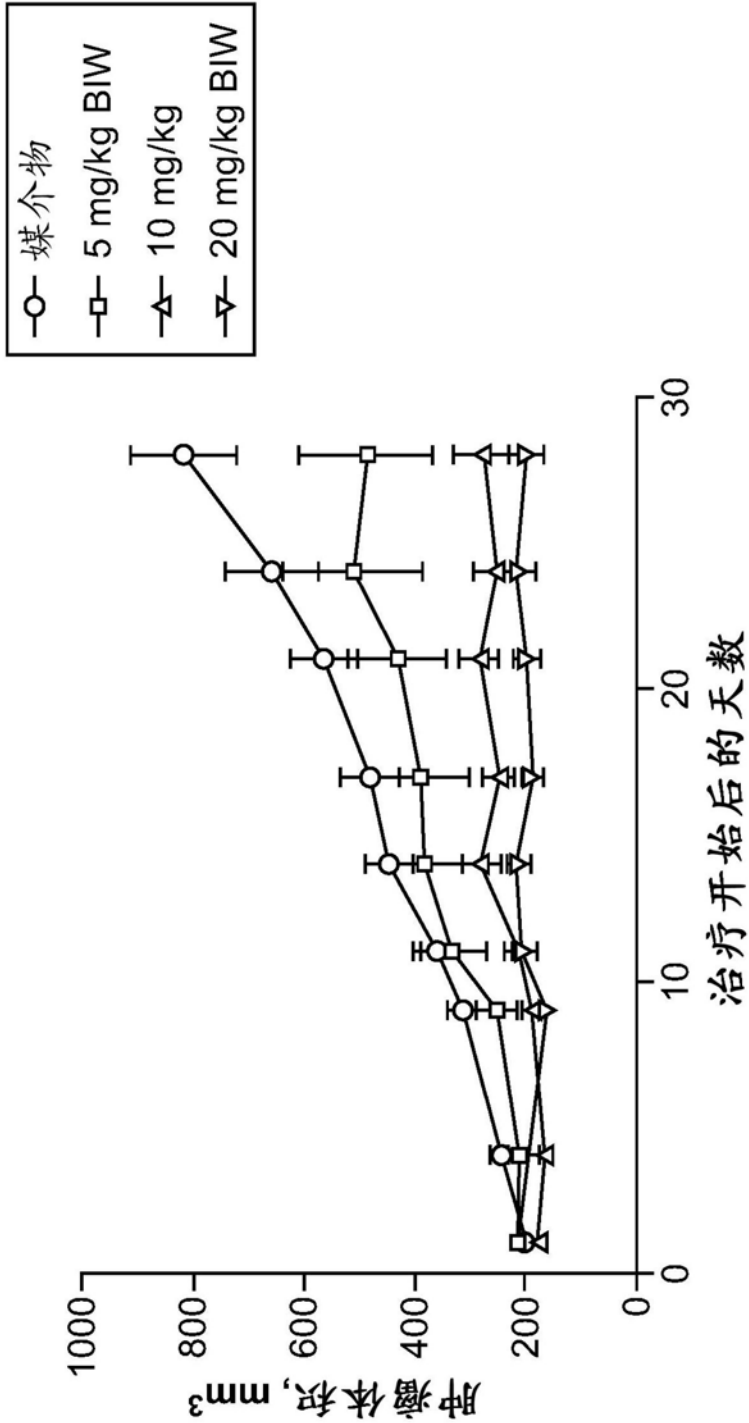


图9

相对于媒介物组的p值	
5 mg/kg	0.0486
10 mg/kg	0.001
20 mg/kg	<0.001

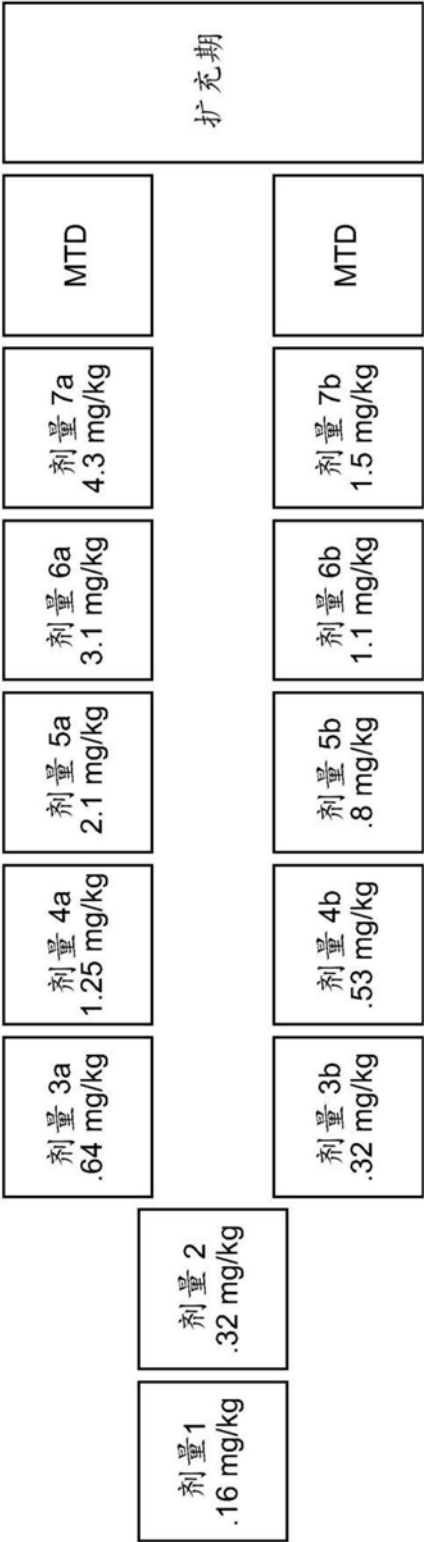


图10

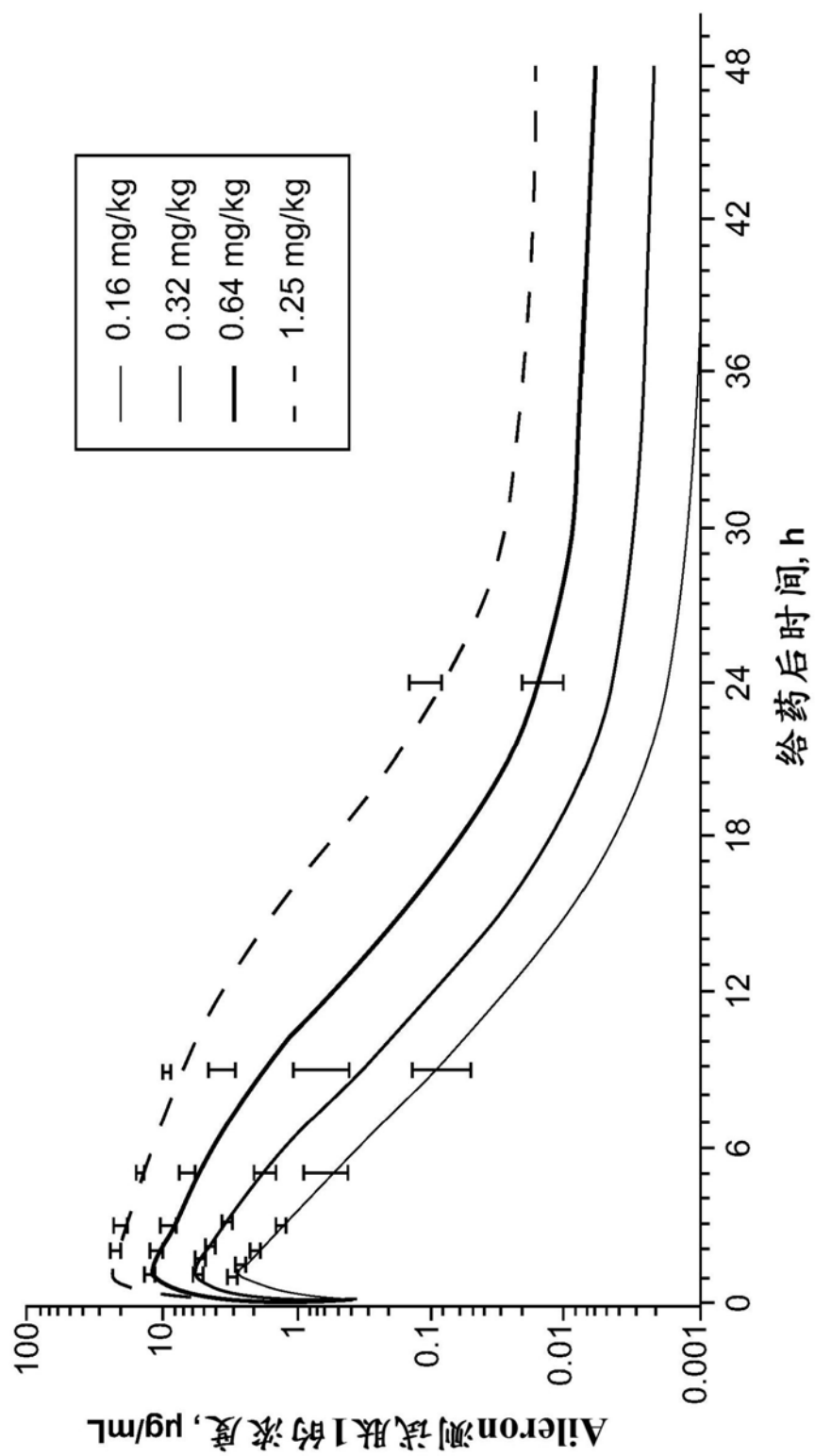
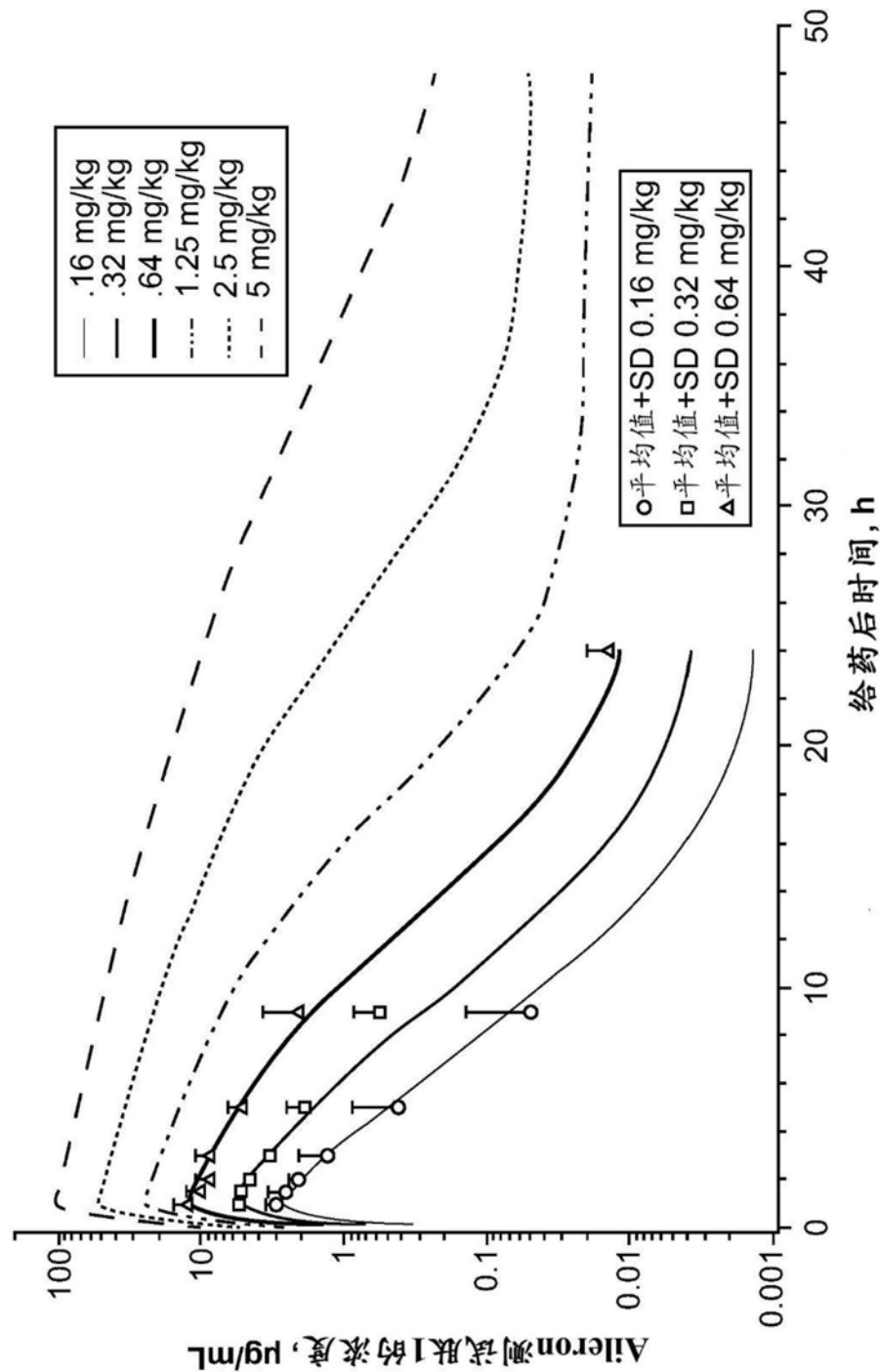


图11A



† 针对完成剂量水平1、2和3-A的患者中的测量值进行拟合；分别是14、15和9种给药情况的平均值

‡ 从n=12名患者的群体模型的PK结果预测

图11B

Aileron肽1-PK模型：2房室平行非线性Michaelis-Menten清除和线性消除

剂量水平, mg/kg	几何平均值, AUC _{inf} , µg·h/mL	平均值 ± SD, C _{max} µg/mL
0.16	8.38	2.83 ± 0.48
0.32	21.5	5.92 ± 1.03
0.64	58.7	12.3 ± 2.18
1.25	155	24.7 ± 4.42
2.5	412	50.2 ± 9.04
5.0	1021	101 ± 18.3

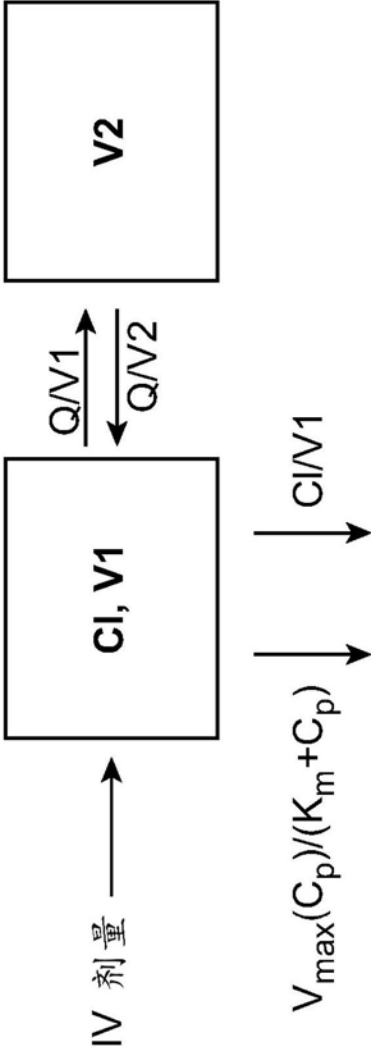


图12

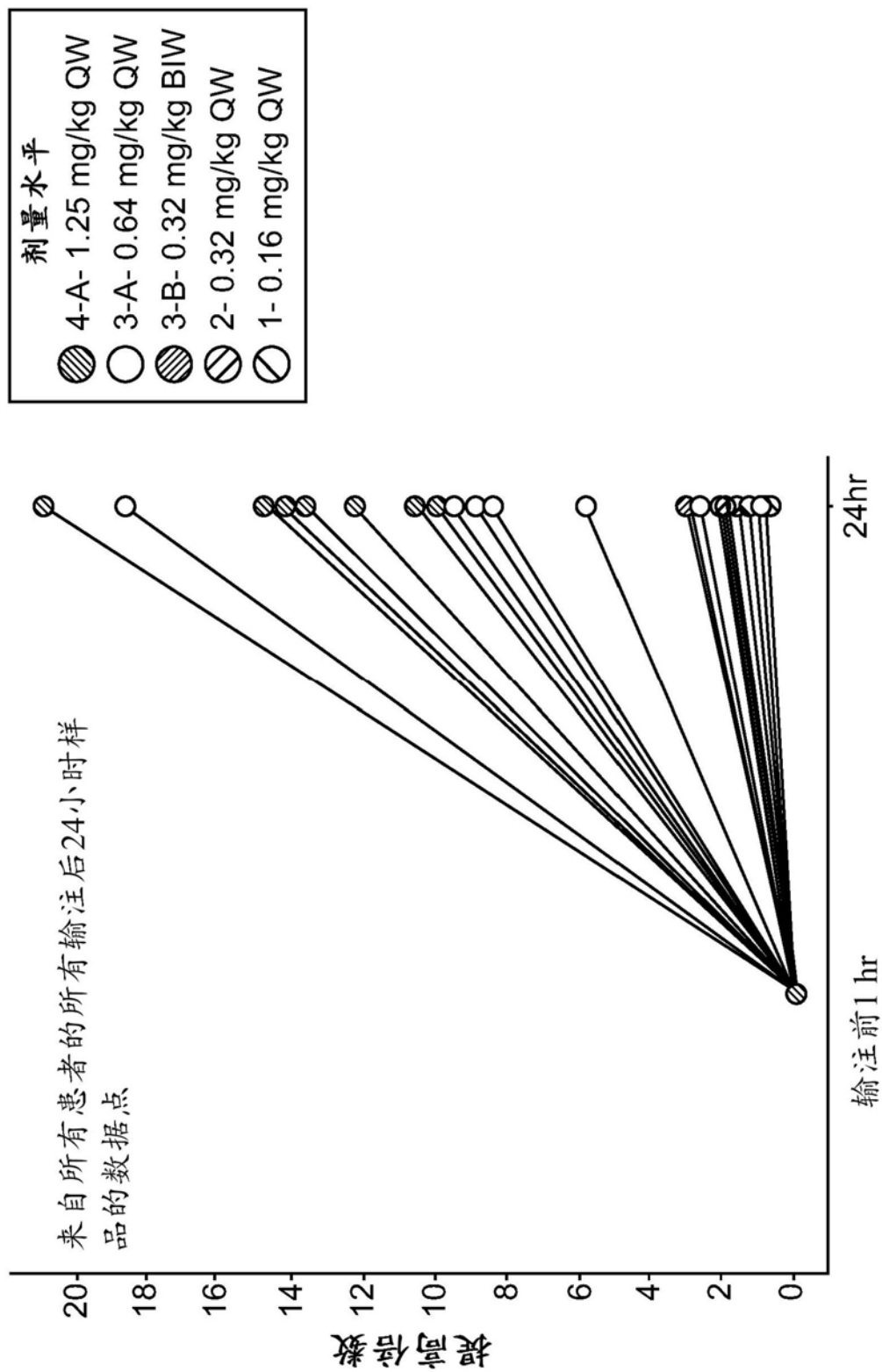


图13

患者 癌症	先前疗 法数目	TP前最近的 疗法及结果	TP剂 量水平	RECIST 最佳响应	治疗状态及结果
001- 脂肪肉瘤 005	3	吉西他滨, 多西他赛	1	SD (11%↑)	2个月 ^后 停止 2个月 ^后 SD
003- NSCLC 007	4	培美曲塞	2	SD (8%↑)	4个月 ^后 PD
003- NSCLC 010	2	培美曲塞	3A	SD (17%↑)	4个月 ^后 PD
003- 卵巢癌 011	7	托泊替坎, 贝伐珠单抗	3A	SD (11%↑)	4个月 ^后 PD
001- 平滑肌 015 肉瘤	4	吉西他滨	3B	SD (1%↑)	3个多月 ^后 继续, 2个月 ^后 SD*
002- 胸腺瘤 025			4A	SD (-8%↓)	2个多月 ^后 继续, 2个月 ^后 SD*

患者目前处于用TP治疗的第5周期
* 肿瘤从78 mm缩小至72 mm
TP = Aileron肽-1

(每个周期3周)

图14

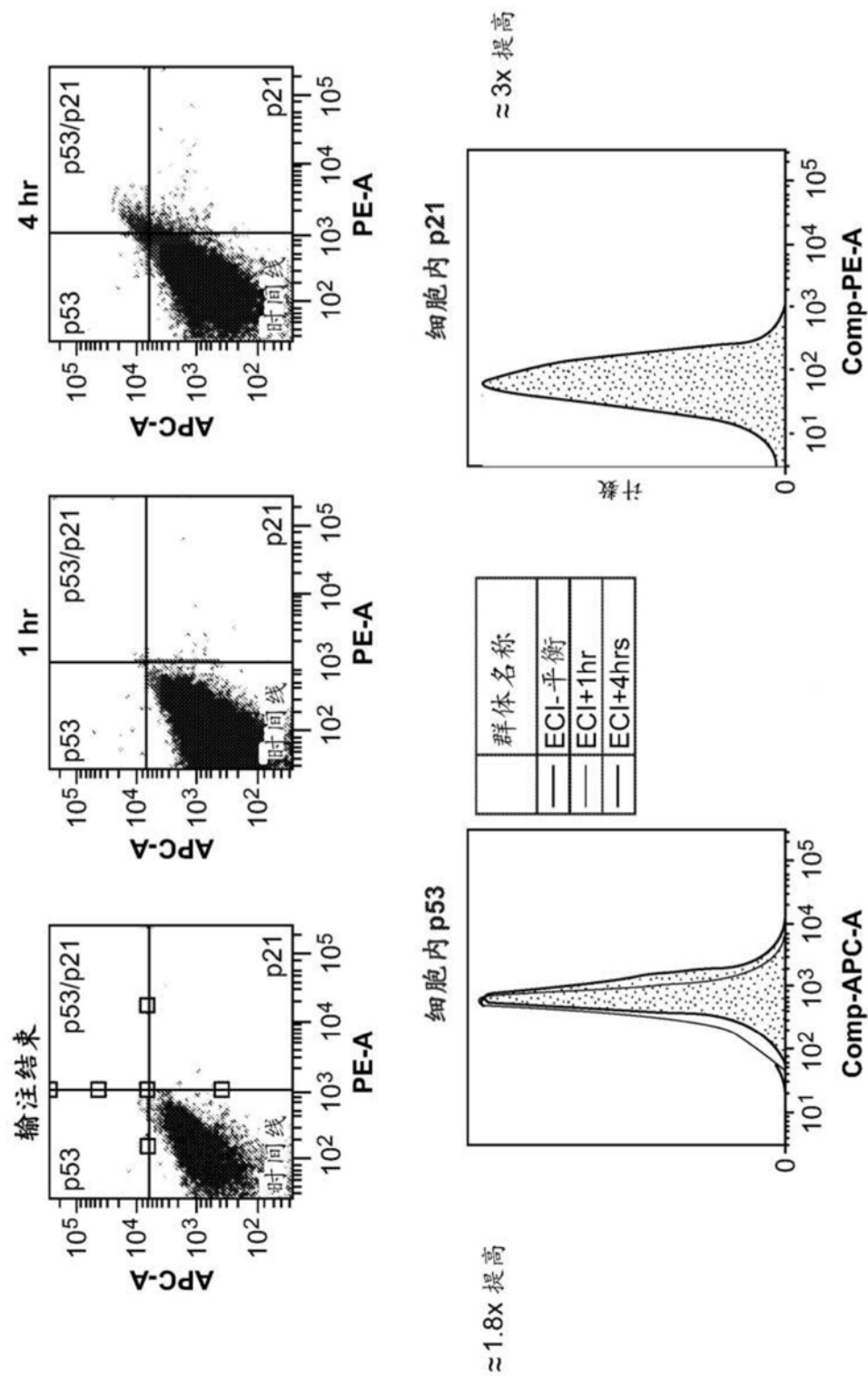


图15