

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2016 年 10 月 27 日 (27.10.2016)



(10) 国际公布号
WO 2016/169239 A1

- (51) 国际专利分类号:
C07K 7/06 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
C12Q 1/04 (2006.01) A61K 47/48 (2006.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2015/092827
- (22) 国际申请日: 2015 年 10 月 26 日 (26.10.2015)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权:
201510190462.9 2015 年 4 月 20 日 (20.04.2015) CN
- (71) 申请人: 中国药科大学 (CHINA PHARMACEUTICAL UNIVERSITY) [CN/CN]; 中国江苏省南京市江宁区龙眠大道 639 号, Jiangsu 211198 (CN)。
- (72) 发明人: 顾月清 (GU, Yueqing); 中国江苏省南京市江宁区龙眠大道 639 号, Jiangsu 211198 (CN)。 张聪颖 (ZHANG, Congying); 中国江苏省南京市江宁区龙眠大道 639 号, Jiangsu 211198 (CN)。 赵梦路 (ZHAO, Menglu); 中国江苏省南京市江宁区龙眠大道 639 号, Jiangsu 211198 (CN)。 王茜 (WANG, Qian); 中国江苏省南京市江宁区龙眠大道 639 号, Jiangsu 211198 (CN)。 田彩平 (TIAN, Caiping); 中

国江苏省南京市江宁区龙眠大道 639 号, Jiangsu 211198 (CN)。 刘雨溪 (LIU, Yuxi); 中国江苏省南京市江宁区龙眠大道 639 号, Jiangsu 211198 (CN)。

(74) 代理人: 南京天华专利代理有限公司 (NANJING TIANHUA PATENT AGENT CO., LTD.); 中国江苏省南京市鼓楼区山西路 67 号世贸中心大厦 A1 座 23 层, Jiangsu 210009 (CN)。

(81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE,

[见续页]

(54) Title: 5 PEPTIDE RELATED WITH INTEGRIN RECEPTOR $\alpha v \beta 3$

(54) 发明名称: 与整合素受体 $\alpha v \beta 3$ 相关的 5 肽

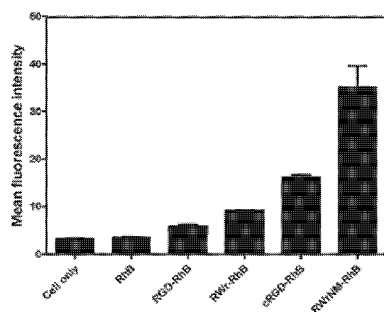
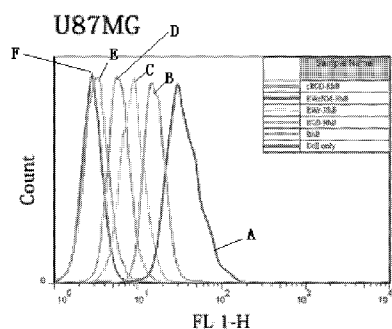


图 1

(57) Abstract: Disclosed is a 5 peptide related to an integrin receptor $\alpha v \beta 3$, and having a sequence of arginine-tryptophan-arginine-asparagine-methionine. The 5 peptide can target tumor cells having a high expression of $\alpha v \beta 3$, while not targeting tumor cells having a low expression of $\alpha v \beta 3$ and normal cells, and consequently, the 5 peptide can be used in a cancer diagnosis and treatment.

(57) 摘要: 本发明公开了与整合素受体 $\alpha v \beta 3$ 相关的 5 肽, 其序列为精氨酸-色氨酸-精氨酸-天冬酰胺-蛋氨酸。所述 5 肽能靶向 $\alpha v \beta 3$ 高表达的肿瘤细胞, 而对 $\alpha v \beta 3$ 低表达的肿瘤细胞和正常细胞基本无靶向作用, 可用于癌症的诊断和治疗。



IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO,
RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI,
CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD,
TG)。

本国际公布:

— 包括国际检索报告(条约第 21 条(3))。

与整合素受体 $\alpha v \beta 3$ 相关的 5 肽

技术领域

本发明属于生物工程制药技术领域和蛋白质多肽类药物及生物医学工程领域，具体涉及与整合素受体 $\alpha v \beta 3$ 相关的 5 肽。

背景技术

目前，癌症已经成为引起人类死亡的主要原因之一，而化疗仍然是治疗癌症的主要方法，但是，由于传统的化药缺少针对肿瘤细胞的特异性，导致了对病人的一些器官毒性。

整合素在体内细胞中都有广泛的表达，大多数细胞表面都可表达一种以上的整合素，这些整合素不仅参与着一些细胞的生长、分化及凋亡等生理功能，而且在多种病理过程中也发挥着极为重要的作用。整合素家族包括 18 种 α 亚型和 8 种 β 亚型，而 $\alpha \beta$ 亚型的配对决定了配体的特异性。整合素超级家族中，整合素受体 $\alpha v \beta 3$ 在成像与靶向治疗中起着主要的作用。由于整合素受体 $\alpha v \beta 3$ 在多种肿瘤如胶质瘤，乳腺癌，黑色素瘤，前列腺癌及卵巢癌中都是高表达的，因此整合素受体 $\alpha v \beta 3$ 成为比较重要的药物靶点。目前序列为精氨酸-色氨酸-精氨酸的 3 肽是证明对整合素 $\alpha v \beta 3$ 具有高亲和力的多肽（详见专利：与整合素 $\alpha v \beta 3$ 受体具有高亲和力的多肽，申请号 201310019870.9）。

发明内容

本发明的目的在于提供能够与整合素受体 $\alpha v \beta 3$ 相关的靶向多肽，使其能够对整合素受体 $\alpha v \beta 3$ 高表达的肿瘤进行诊断。

一种与整合素 $\alpha v \beta 3$ 具有高亲和力的多肽，其序列为：Arg-Trp-Arg-Asn-Met。

本发明所述的多肽在制备肿瘤诊断试剂中的应用。

所述的肿瘤优选高表达整合素受体 $\alpha v \beta 3$ 的肿瘤；进一步优选脑胶质瘤、乳腺癌，黑色素瘤，前列腺癌及卵巢癌。

本发明多肽在制备治疗肿瘤的药物中的应用。

所述的肿瘤优选高表达整合素受体 $\alpha v \beta 3$ 的肿瘤，进一步优选脑胶质瘤、乳腺癌，黑色素瘤，前列腺癌及卵巢癌。

有益效果：

为了检测本发明多肽对整合素受体高表达的肿瘤细胞的亲和力，体外实验通过荧光染料罗丹明 B 对多肽进行标记，以检测其对肿瘤的靶向性。在体外细胞亲和力实验和摄取实验中，

本发明的 5 肽展现出了其良好的对肿瘤细胞整合素受体 $\alpha v \beta 3$ 的靶向能力，且能力显著强于 3 肽。在体外细胞毒性实验中，本发明的 5 肽表现出对细胞的低毒性，特别适合开发识别整合素受体的诊断试剂。

附图说明

图 1 不同多肽（标记罗丹明）对 U87 细胞的亲和力

其中曲线 A 代表 RWrNM-RhB，曲线 B 代表 cRGD-RhB，曲线 C 代表 RWr-RhB，曲线 D 代表 RGD-RhB，曲线 E 代表 RhB，曲线 F 代表 Cell only。

图 2 不同多肽（标记罗丹明）对 MDA-MB-231 细胞的亲和力

其中曲线 A 代表 RWrNM-RhB，曲线 B 代表 cRGD-RhB，曲线 C 代表 RWr-RhB，曲线 D 代表 RGD-RhB，曲线 E 代表 RhB，曲线 F 代表 Cell only。

流式结果亲和力强弱顺序为 $A > B > C > D > E$ 表明新组合的多肽 RWrNM 针对这两种细胞的亲和力强于环状 RGDyk，明显好于三肽 RWr。比线性的 RGD 强很多。

图 3 激光共聚焦细胞摄取实验观察罗丹明 B 标记的探针对不同肿瘤细胞的摄取（A 为 U87MG 细胞，B 为 MDA-MB-231 细胞）

图 4 激光共聚焦细胞摄取实验观察罗丹明 B 标记的探针对不同肿瘤细胞的摄取（A 为 MCF-7 细胞，B 为 L02 细胞）

实验表明：从图中可以看出，U87、231 等高表达整合素受体的细胞摄取五肽的能力很强，而 MCF-7、L02 等低表达整合素受体的细胞与五肽的亲和力不强，同时五肽对细胞的亲和力比 cRGD 和 Rwr 强。

图 5 竞争阻断实验

实验结果：由于 cRGD 与整合素受体 $\alpha v \beta 3$ 的竞争结合，其他小肽没法与细胞结合了，证明这些小肽的结合靶点确实是 $\alpha v \beta 3$ 。

图 6 体外细胞毒性实验考察 5 肽对不同细胞的毒性，实验表明：5 肽对细胞的毒性很小，所以作为诊断试剂更安全。

具体实施方式

实施例 1

5 肽的合成

1: 偶联

先将 Fmoc-Met-Rink amide MBHA resin (苄氧羰基-苯丙氨酸-rink 氨基树脂) 0.33/2 mmol

6.06g 溶胀于二甲基甲酰胺中, 10ml/g 树脂, 接着用 20% 六氢吡啶/二甲基甲酰胺溶液脱去 Fmoc 保护基(以下称之为脱帽), 用二甲基甲酰胺洗涤脱帽子后的树脂, 加入原料 Fmoc-Asn (tBU) -OH 2.3g, 缩合剂用 HBTU 1.44g, 反应时间 30 分钟, kaiser 法检测, 如检测结果为阴性, 说明偶联反应完成, 则接下去进行脱帽, 时间 30 分钟, 如检测结果仍为阳性, 则说明偶联反应未完成或反应不完全, 需要延长偶联时间或重新投料偶联, 直至偶联反应完成。重复上述操作, 依次偶联; Fmoc-D-Arg (Pbf) -OH; Fmoc-Trp-OH; Fmoc-Arg (Pbf) -OH, 完成所有直链肽合成后, 用甲醇洗涤所得到的 peptidyl resin, 真空干燥箱里充分干燥。

2: 树脂与肽的分离裂解

将 120ml 裂解液(10ml/g peptidyl resin)加入树脂中, 25℃条件下, 磁力搅拌 2.5h 后用砂芯漏斗将裂解液与树脂分离, 弃去树脂, 保留滤液。将滤液缓慢滴加到 10eq 体积的冰无水乙醚中, 滴加完毕后, 自然沉降 30min。然后用高速离心机离心 10min (4000rpm), 弃去上清液, 保留沉淀, 将所得沉淀在干燥箱中干燥 8-10h, 得到干粉粗品。

3: 纯化

取上述干粉粗品 1g, 用 0.1% 三氟乙酸/水溶解。经过滤后, 上样到 C18 制备柱, 用高效液相进行梯度洗脱, 收集目标肽的洗脱液体, 检测液体纯度。把合格的样品混合后旋蒸, 最后用冻干机冻干, 得到 Arg-Trp-Arg-Asn-Met, 纯度大于 98%。

序列为: Arg-Trp-Arg-Asn-Met

质谱图中可以看出 Arg-Trp-Arg-Asn-Met 分子量是 $381.7 \times 2 - 2 = 761.4$

紫外光谱图中 273nm 处有肽的吸收峰。

实施例 2

一、标记荧光染料

本发明应用于体外细胞实验的荧光染料为罗丹明 B (Rhodamine B), 简称 RhB, 分别与上述 3 肽, 及本发明 5 肽通过酰胺键连接, 简称分别为 RWr-RhB 与 RWrNM-RhB, 连接方法具体为取 1 mg 罗丹明 B(详见参考文献: Cao, J., et al., *Fast clearing RGD-based near-infrared fluorescent probes for in vivo tumor diagnosis*. Contrast Media Mol Imaging, 2012. 7(4): p. 390-402) 溶于 1 ml PBS (pH 为 7.4) 中, 加入 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基) 碳酰二亚胺盐酸盐, N-羟基琥珀酰亚胺 (EDC/NHS) (摩尔比 Rhodamine B:EDC:NHS = 1:1.5:1.5), 避光反应 4h, 活化。分别称取 1mmol 3 肽及 5 肽溶入含有荧光染料罗丹明 B 的 1ml PBS 缓冲液 (pH7.4) 中, 室温避光搅拌过夜。反应结束后, 反应液浓缩后通过葡聚糖凝胶 G-25 柱, PBS 缓冲液 (pH7.4) 作洗脱液, 得到纯化的 RWr-RhB 及 RWrNM-RhB, -20℃储存备用。环状 RGD

作为对照也使用相同的方法标记简称为 c(RGDyK)-RhB。

二、体外细胞亲和力实验

人恶性胶质瘤细胞 (U87MG) 和人乳腺癌细胞 (MDA-MB-231) 在六孔板中培养 12 小时后, 加入 100 μ L 标记了染料罗丹明 B 的多肽荧光探针 (终浓度为 250 μ M), 37 $^{\circ}$ C 摇床中轻摇共孵育 2 小时后, 用 0.05%胰酶将细胞从六孔板上消化洗脱, 细胞重悬于 1mL PBS 缓冲液 (pH7.2) 中, 离心 (3500r, 5min) 吸弃上清液, 并用 PBS 缓冲液 (pH7.2) 洗涤 2 次。洗涤后细胞重悬于 pH7.2 PBS 缓冲液中, 使用流式细胞仪定量细胞平均荧光强度 (mean fluorescence intensity, MFI)。荧光强度越强证明对细胞的亲和力越强。当探针与细胞上的受体亲和力强时, 流式细胞仪检测出的细胞平均荧光强度值高。如图 1、2 所示, 体外亲和力实验结果显示浓度相同的标记了 RhB 的 3 肽, 5 肽的探针分别与整合素受体高表达的 U87MG 细胞孵育后, 在 U87MG 细胞中 3 肽探针平均荧光强度为 98, 5 肽探针平均荧光强度为 123, 空白染料平均荧光强度为 25, 结果表明这些探针在与 U87MG 细胞亲和力强弱对比中, 本发明 5 肽的强度最大, 且显著高于 3 肽。

三、体外细胞摄取实验

将培养好的人脑胶质瘤细胞 U87MG, 人乳腺癌细胞 MDA-MB-231, 人乳腺癌细胞 MCF-7 和正常肝细胞 L02 转移到共聚焦皿中, 过夜孵育后分别加入相同浓度的罗丹明 B 标记的 5 肽 (500 μ mol/L), 加入罗丹明 B 标记的环状 RGD 作为阳性对照, 37 $^{\circ}$ C 孵育 2 小时后, 加入染核试剂 12 μ g/mL Hoechst33342 染色, 最后用激光共聚焦显微镜观察细胞内探针的摄取情况。在整合素受体 α v β 3 高表达的 U87MG 和 MDA-MB-231 细胞中 (图 3 所示), 环状 RGD 和 5 肽探针显示出了很强的荧光强度, 而在整合素受体 α v β 3 低表达的 MCF-7 和 L02 细胞 (图 4 所示), 这两种探针的荧光强度不强, 这一结果说明 5 肽探针对整合素受体 α v β 3 高表达的细胞有靶向性而对整合素受体 α v β 3 低表达的细胞靶向性不强。

四、体外竞争结合实验

为了进一步证明多肽靶向于整合素受体细胞的特异性, 我们引入了竞争阻断实验即 Block 实验来验证这一点。我们开展了体外受体阻断实验, 具体的将 U87MG 和 MDA-MB-231 细胞系在共聚焦培养皿培育 12h 后, 分别加入 0.1 mmol/L 的环状 RGD, 继续孵育 30 min 后加入 100 nmol/L 各探针溶液并孵育 2h, 去除培养基, 然后用 pH7.2 PBS 溶液清洗三遍, 然后采用共聚焦显微镜观察细胞内探针的摄取情况。结果如图 5 所示, 无论是对整合素高表达的 U87MG 细胞还是 MDA-MB-231 细胞两种多肽探针的结合都能够被未标记染料的环状 RGD 竞争性阻断, 表现在肿瘤细胞的荧光强度显著的降低。这也进一步表明了五肽在体外条件下与细胞膜上的整合素受体结合能力的特异性。

五、体外细胞毒性实验

U87MG 细胞、MCF-7 细胞与正常肝 L02 细胞，待长至 90%以上时，用 0.25%胰蛋白酶液消化后，制备成单细胞悬液（完全生长培养基），以 3000 个细胞/孔铺 96 孔板，于 37℃，含 5% CO₂ 的培养箱中培养，在培养 24h 后换为 1% FBS 的低血清培养液，然后加入不同浓度梯度的 5 肽，使他们的终浓度为 2.5, 5, 10, 20, 40, 80, 100 和 200 μM。结果（图 6 所示）显示 5 肽对这几种细胞的存活率均在 80%以上，说明 5 肽对这些细胞基本无毒。

综上所述，本发明的 5 肽能够靶向到整合素受体 $\alpha v \beta 3$ 高表达的细胞上，而对整合素受体 $\alpha v \beta 3$ 低表达的细胞基本无靶向性，并且 5 肽对细胞基本无毒性。由此可见 5 肽能够成为对整合素受体 $\alpha v \beta 3$ 高表达肿瘤进行体外诊断。

本实施例的 5 肽选用实施例 1 固相合成的方法制备。

权 利 要 求 书

- 1、一种与整合素 $\alpha v\beta 3$ 具有高亲和力的多肽，其序列为：Arg-Trp-Arg-Asn-Met。
- 2、权利要求 1 的多肽在制备肿瘤诊断试剂中的应用。
- 3、根据权利要求 2 所述的应用，其特征在于所述的肿瘤为高表达整合素受体 $\alpha v\beta 3$ 的肿瘤。
- 4、根据权利要求 3 所述的应用，其特征在于所述的肿瘤选自脑胶质瘤、乳腺癌，黑色素瘤，前列腺癌及卵巢癌。
- 5、权利要求 1 的多肽在制备治疗肿瘤的药物中的应用。
- 6、根据权利要求 5 所述的应用，其特征在于所述的肿瘤为高表达整合素受体 $\alpha v\beta 3$ 的肿瘤。
- 7、根据权利要求 5 所述的应用，其特征在于所述的肿瘤选自脑胶质瘤、乳腺癌，黑色素瘤，前列腺癌及卵巢癌。

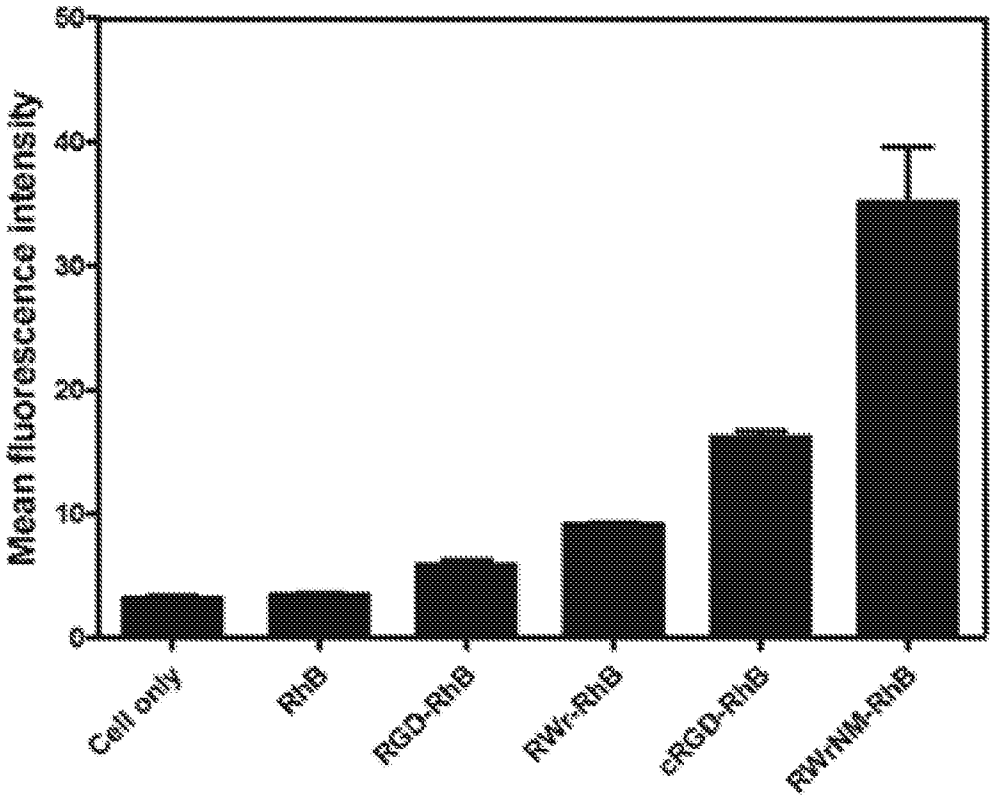
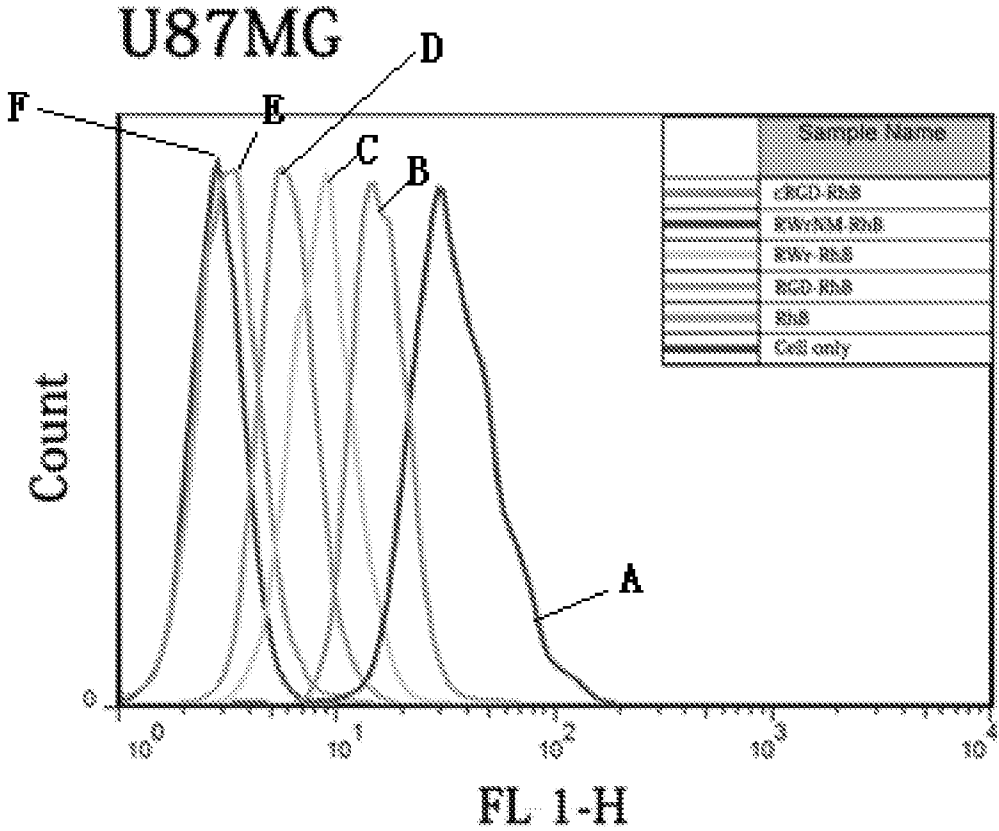


图 1

MDA-MB-231

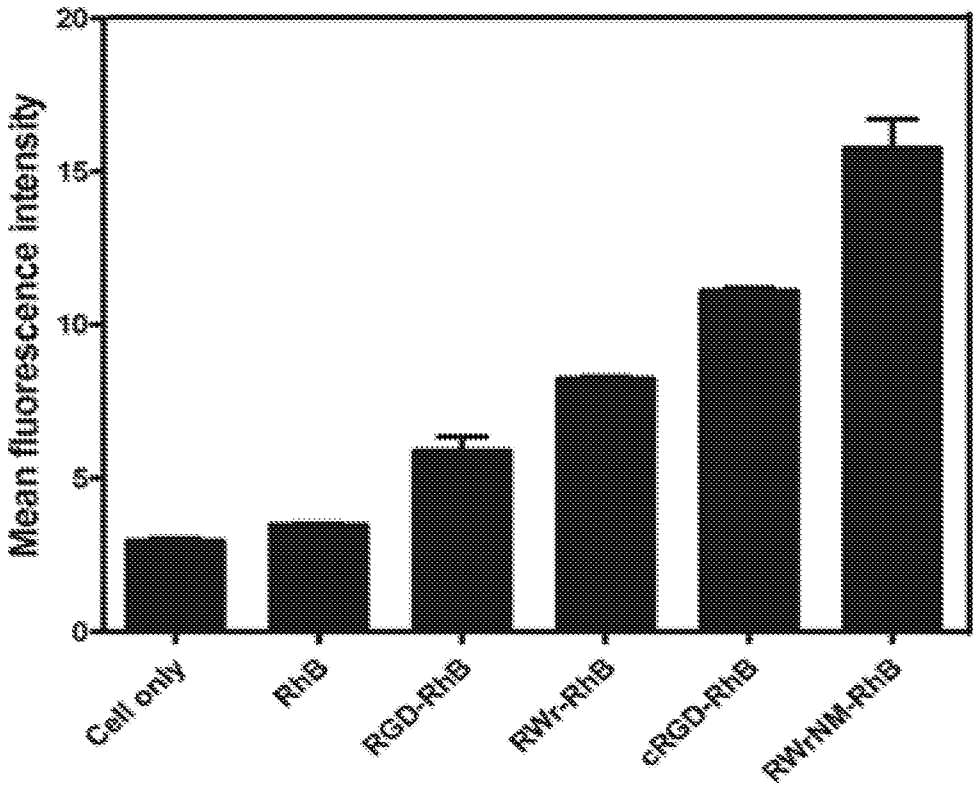
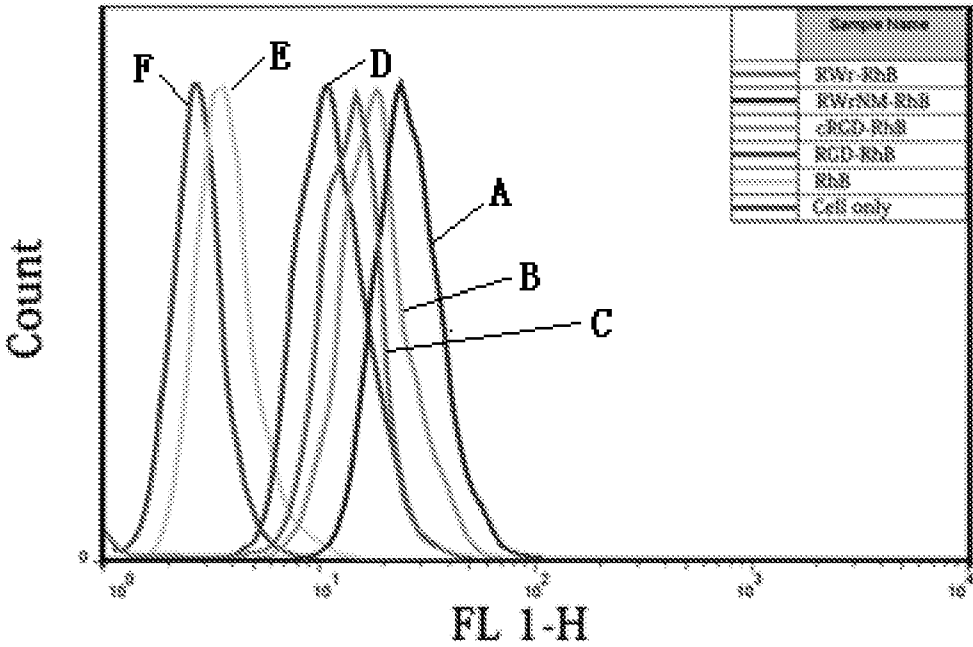


图 2

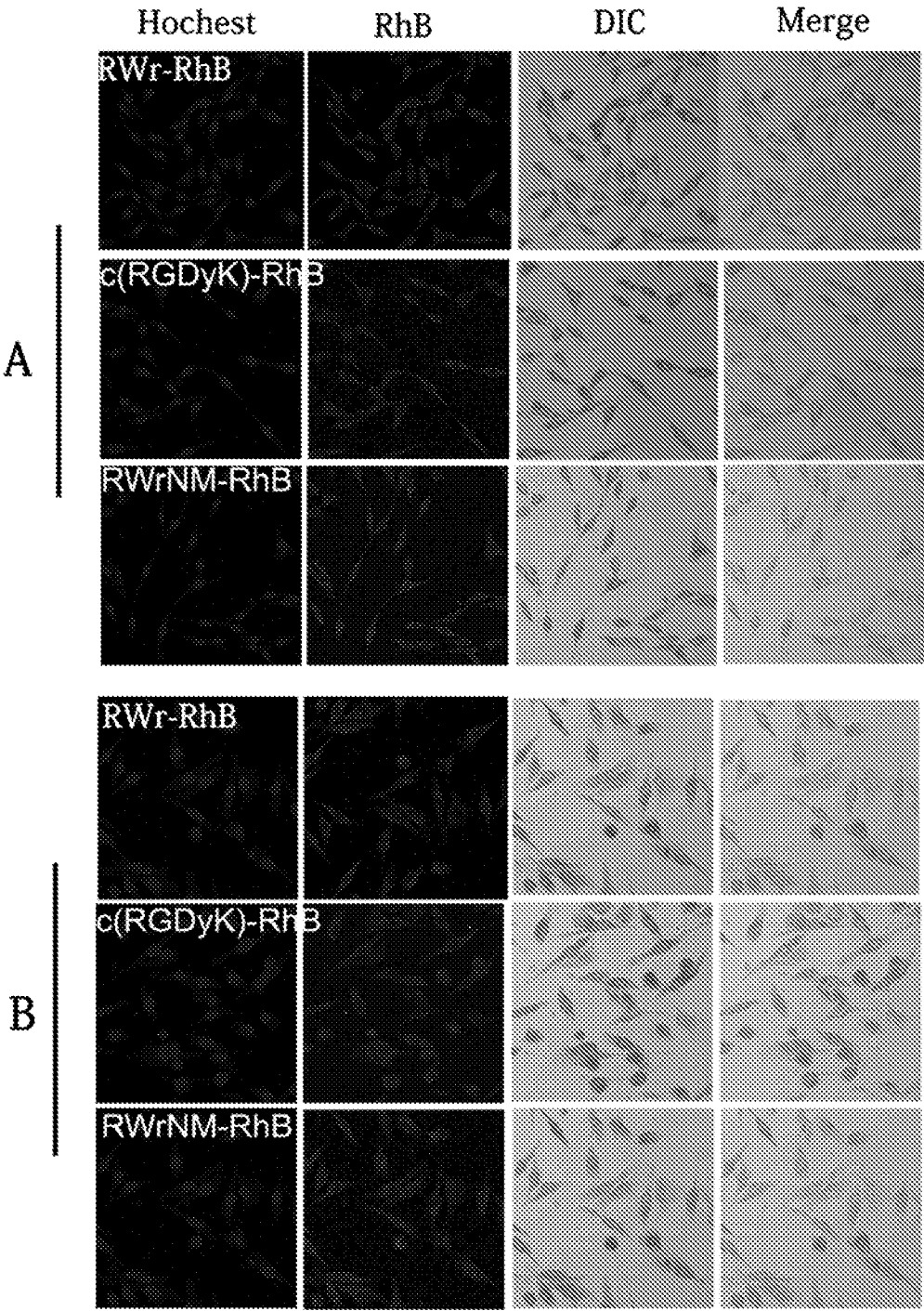


图 3

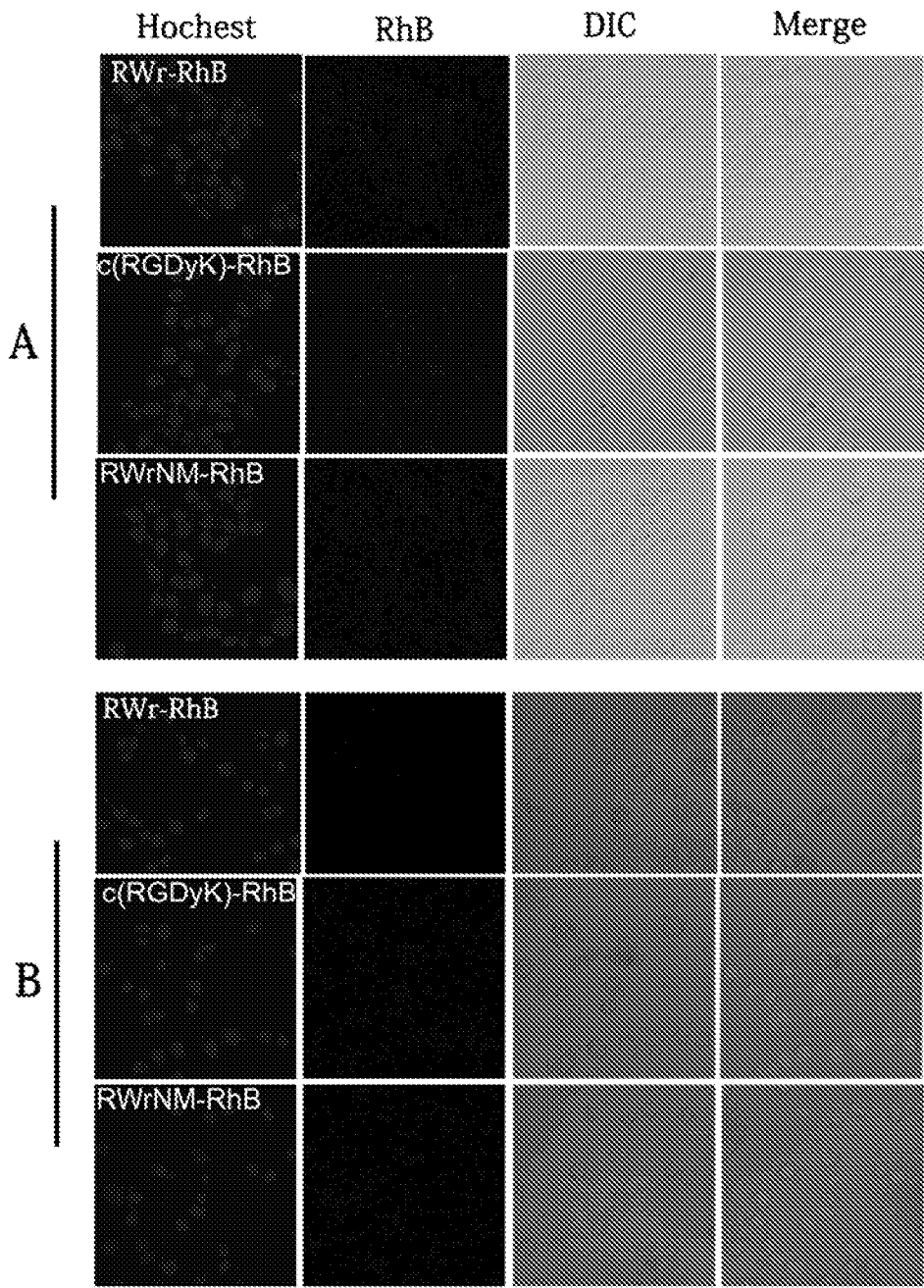


图 4

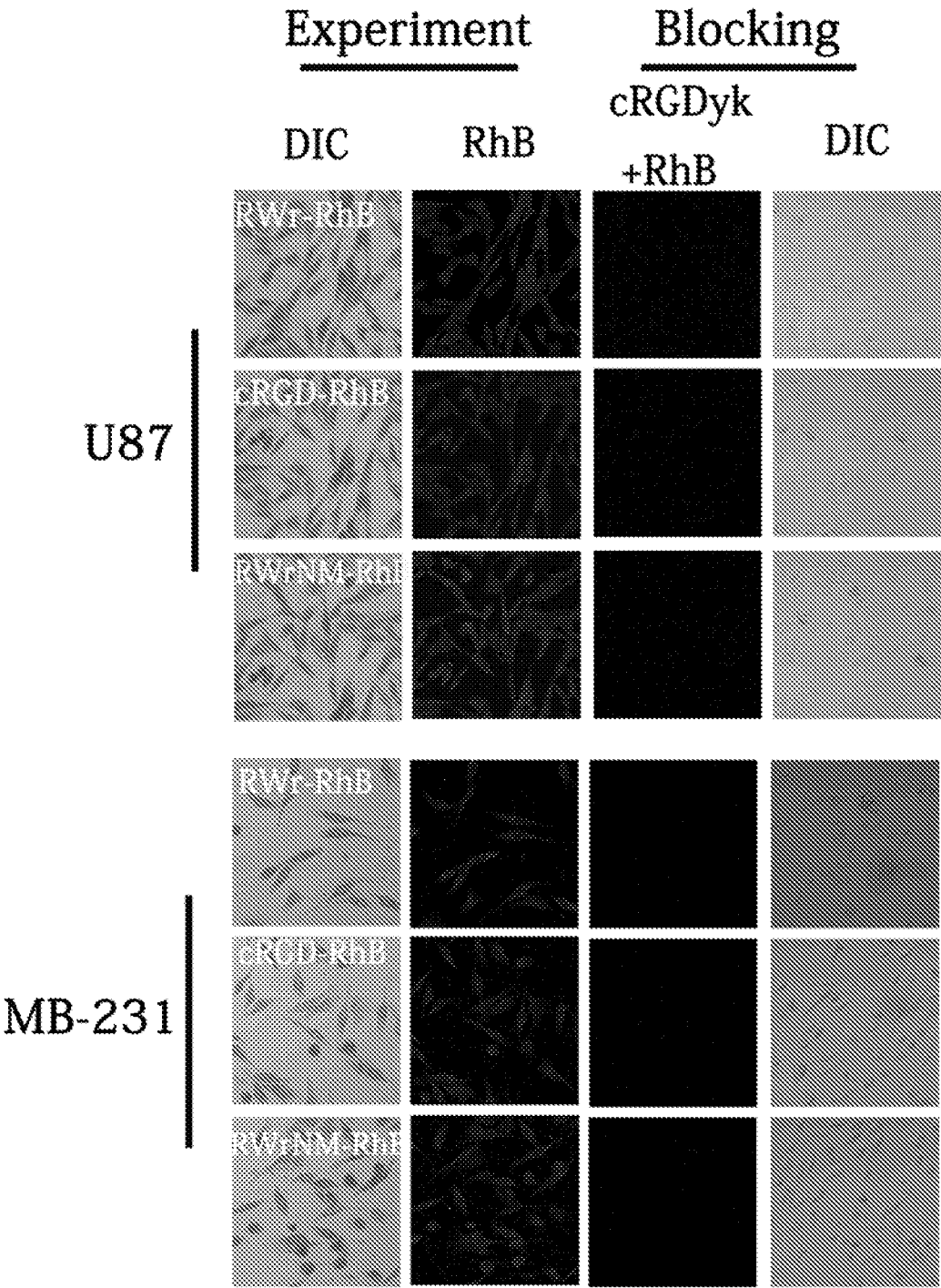


图 5

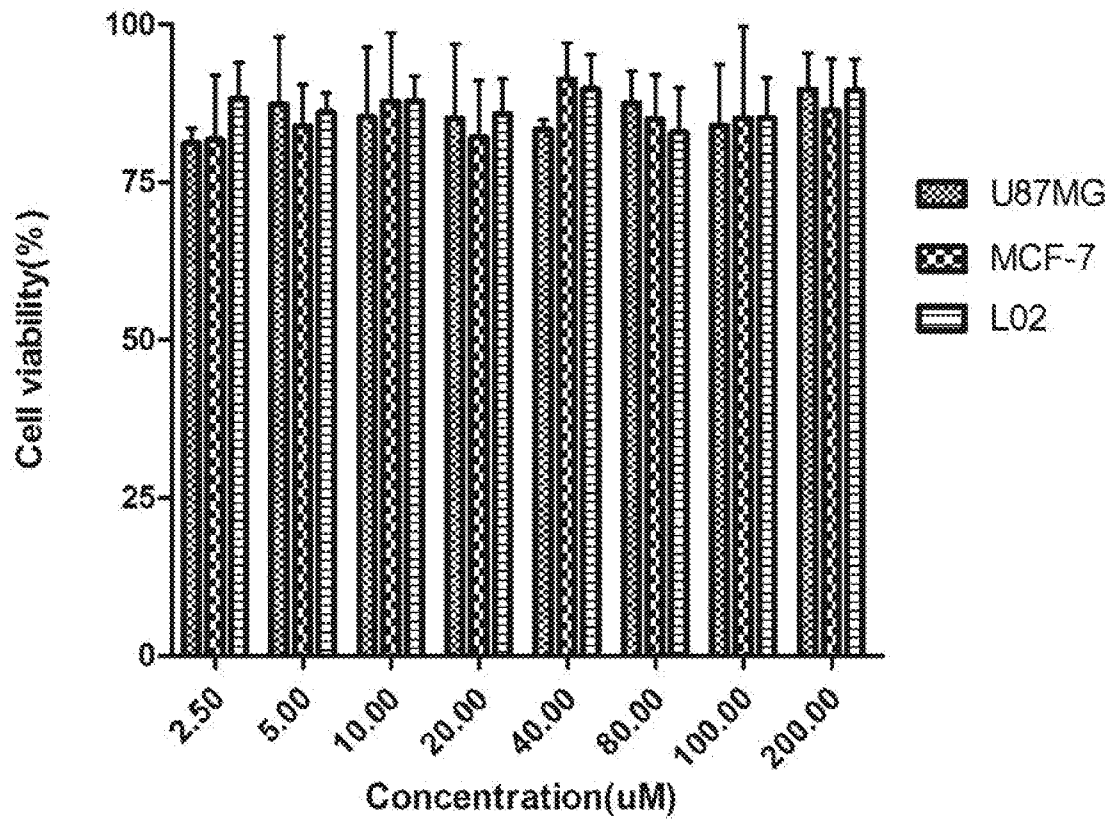


图 6

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2015/092827

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07K 7/06 (2006.01) i; C12Q 1/04 (2006.01) i; A61P 35/00 (2006.01) i; A61K 47/48 (2006.01) i;
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC: C07K; C12Q; A61P; A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNABS, CPRSABS, CNMED, DWPI, SIPOABS, CPEA, ISI WEB OF KNOWLEDGE, CNKI, BAIDU and searched terms: integrin, receptor, α v β 3, α -V- β -3, bind+, target+, antagoni+, inhibit+, tumor, RWRNM et al.; Retrieving System for Biological Sequence of Chinese Patent, Genbank, EMBL, STN and searched sequence: Arg-Trp-Arg-Asn-Met.

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	CN 104774247 A (UNIV CHINA PHARM) 15 July 2015 (15.07.2015) claims 1-3, and embodiment 1	1-7
A	CN 103044522 A (UNIV CHINA PHARM) 17 April 2013 (17.04.2013) the abstract, and description, paragraphs [0004]-[0018]	1-7
A	CN 101497656 A (UNIV SOUTHEAST) 05 August 2009 (05.08.2009) claims 1-5, and embodiments 3-5	1-7
A	WO 2008088548 A2 (UNIV NAT TAIWAN et al.) 24 July 2008 (24.07.2008) the abstract, and claims 1-62	1-7
A	YOONSUK LEE et al., High-Throughput Screening of Novel Peptide Inhibitors of an Integrin Receptor from the Hexapeptide Library by Using a Protein Microarray Chip, Journal of Biomolecular Screening, vol. 8, no. 9, pages 687-694, 31 December 2004 (31.12.2004) the abstract, page 691, the left column to page 692, the left column, and table 1	1-7

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date	“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	“&” document member of the same patent family
“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search 25 December 2015	Date of mailing of the international search report 18 January 2016
Name and mailing address of the ISA State Intellectual Property Office of the P. R. China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing 100088, China Facsimile No. (86-10) 62019451	Authorized officer MA, Zhenlian Telephone No. (86-10) 62412131

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2015/092827

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN 104774247 A	15 July 2015	None	
CN 103044522 A	17 April 2013	CN 103044522 B	22 July 2015
CN 101497656 A	05 August 2009	CN 101497656 B	15 August 2012
WO 2008088548 A2	24 July 2008	TW I392738 B	11 April 2013
		CA 2672091 A1	24 July 2008
		ES 2389697 T3	30 October 2012
		RU 2009128647 A	10 February 2011
		NZ 577998 A	30 March 2012
		US 7943728 B2	17 May 2011
		EP 2124548 A2	02 December 2009
		AU 2007343734 A1	24 July 2008
		JP 2013151502A	08 August 2013
		EP 2124548 A4	05 May 2010
		AU 2007343734 A2	03 September 2009
		BR PI0720636 A2	07 January 2014
		IL 199564 A	31 May 2015
		TW 200848070 A	16 December 2008
		KR 20090108049 A	14 October 2009
		NZ 598176 A	30 August 2013
		RU 2477727 C2	20 March 2013
		JP 2010514444 A	06 May 2010
		CN 101677537 A	24 March 2010
		EP 2522676 A3	27 February 2013
		RU 2012148887 A	27 May 2014
		EP 2124548 B1	13 June 2012
		EP 2522676 A2	14 November 2012
		WO 2008088548 A3	16 October 2008
		MX 2009007065 A	13 October 2009
		HK 1136160 A1	28 March 2013
		AU 2007343734 B2	30 January 2014
		US 2008188413 A1	07 August 2008

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2015/092827

A. 主题的分类

C07K 7/06(2006.01)i; C12Q 1/04(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i; A61K 47/48(2006.01)i

按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

C07K, C12Q, A61P, A61K

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))

CNABS, CPRSABS, CNMED, DWPI, SIPOABS, CPEA, ISI WEB OF KNOWLEDGE, CNKI, BAIDU和检索词: 整合素, 整联蛋白, 受体, $\alpha v \beta 3$, $\alpha V-\beta-3$, 结合, 靶向, 拮抗, 抑制, 肿瘤, Arg-Trp-Arg-Asn-Met, RWRNM, integrin, bind+, target+, antagoni+, inhibit+, tumor等; 中国专利生物序列检索系统, Genbank, EMBL, STN和检索的序列: Arg-Trp-Arg-Asn-Met。

C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
PX	CN 104774247 A (中国药科大学) 2015年 7月 15日 (2015 - 07 - 15) 参见权利要求1-3, 实施例1	1-7
A	CN 103044522 A (中国药科大学) 2013年 4月 17日 (2013 - 04 - 17) 参见摘要, 说明书第[0004]-[0018]段	1-7
A	CN 101497656 A (东南大学) 2009年 8月 5日 (2009 - 08 - 05) 参见权利要求1-5, 实施例3-5	1-7
A	WO 2008088548 A2 (UNIV NAT TAIWAN等) 2008年 7月 24日 (2008 - 07 - 24) 参见摘要, 权利要求1-62	1-7
A	YOONSUK LEE等. "High-Throughput Screening of Novel Peptide Inhibitors of an Integrin Receptor from the Hexapeptide Library by Using a Protein Microarray Chip" Journal of Biomolecular Screening, 第9卷, 第8期, 2004年 12月 31日 (2004 - 12 - 31), 参见摘要, 第691页左栏-第692页左栏, 表1	1-7

☐ 其余文件在C栏的续页中列出。☒ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型:

“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件 (如具体说明的)

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件

“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性

“&” 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期

2015年 12月 25日

国际检索报告邮寄日期

2016年 1月 18日

ISA/CN的名称和邮寄地址

中华人民共和国国家知识产权局(ISA/CN)
中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088

传真号 (86-10)62019451

授权官员

马振莲

电话号码 (86-10)62412131

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2015/092827

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	104774247	A	2015年 7月 15日	无			
CN	103044522	A	2013年 4月 17日	CN	103044522	B	2015年 7月 22日
CN	101497656	A	2009年 8月 5日	CN	101497656	B	2012年 8月 15日
WO	2008088548	A2	2008年 7月 24日	TW	I392738	B	2013年 4月 11日
				CA	2672091	A1	2008年 7月 24日
				ES	2389697	T3	2012年 10月 30日
				RU	2009128647	A	2011年 2月 10日
				NZ	577998	A	2012年 3月 30日
				US	7943728	B2	2011年 5月 17日
				EP	2124548	A2	2009年 12月 2日
				AU	2007343734	A1	2008年 7月 24日
				JP	2013151502	A	2013年 8月 8日
				EP	2124548	A4	2010年 5月 5日
				AU	2007343734	A2	2009年 9月 3日
				BR	PI0720636	A2	2014年 1月 7日
				IL	199564	A	2015年 5月 31日
				TW	200848070	A	2008年 12月 16日
				KR	20090108049	A	2009年 10月 14日
				NZ	598176	A	2013年 8月 30日
				RU	2477727	C2	2013年 3月 20日
				JP	2010514444	A	2010年 5月 6日
				CN	101677537	A	2010年 3月 24日
				EP	2522676	A3	2013年 2月 27日
				RU	2012148887	A	2014年 5月 27日
				EP	2124548	B1	2012年 6月 13日
				EP	2522676	A2	2012年 11月 14日
				WO	2008088548	A3	2008年 10月 16日
				MX	2009007065	A	2009年 10月 13日
				HK	1136160	A1	2013年 3月 28日
				AU	2007343734	B2	2014年 1月 30日
				US	2008188413	A1	2008年 8月 7日

表 PCT/ISA/210 (同族专利附件) (2009年7月)