(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
2023 年 5 月 25 日 (25.05.2023)

WIPO | PCT

(10) 国际公布号
WO 2023/088236 A1

(51) 国际专利分类号:
C07K 7/08 (2006.01) *A61K 47/64* (2017.01)
A61K 51/08 (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
A61K 51/04 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2022/131909

(22) 国际申请日: 2022 年 11 月 15 日 (15.11.2022)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
202111353316.5 2021年11月16日 (16.11.2021) CN
202210098473.4 2022年1月28日 (28.01.2022) CN

(71) 申请人: 海思科医药集团股份有限公司 (HAISCO PHARMACEUTICAL GROUP CO., LTD.) [CN/CN]; 中国西藏自治区山南地区泽当镇三湘大道17号, Tibet 856000 (CN)。

(72) 发明人: 李瑶 (LI, Yao); 中国西藏自治区山南地区泽当镇三湘大道17号, Tibet 856000 (CN)。 陈雷 (CHEN, Lei); 中国西藏自治区山南地区泽当镇三湘大道17号, Tibet 856000 (CN)。 黄海涛 (HUANG, Haitao); 中国西藏自治区山南地区泽当镇三湘大道17号, Tibet 856000 (CN)。 王浩东 (WANG, Haodong); 中国西藏自治区山南地区泽当镇三湘大道17号, Tibet 856000 (CN)。 唐平明 (TANG, Pingming); 中国西藏自治区山南地区泽当镇三湘大道17号, Tibet 856000 (CN)。 余彦 (YU, Yan); 中国西藏自治区山南地区泽当镇三湘大道17号, Tibet 856000 (CN)。 张晨 (ZHANG, Chen); 中国西藏自治区山南地区泽当镇三湘大道17号, Tibet 856000 (CN)。 严庞科 (YAN, Pangke); 中国西藏自治区山南地区泽当镇三湘大道17号, Tibet 856000 (CN)。

(74) 代理人: 北京坤瑞律师事务所 (WU, FENG & ZHANG); 中国北京市海淀区林风二路38号绿地中央广场4号楼3层, Beijing 100089 (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, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, 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, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, 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, CV, 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, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, 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))。

WO 2023/088236 A1

(54) **Title:** BICYCLIC PEPTIDE LIGAND OF MT1-MMP AND CONJUGATE THEREOF

(54) 发明名称: MT1-MMP的双环肽配体及其缀合物

(57) **Abstract:** Provided are a peptide having high affinity to membrane-type matrix metalloproteinase 1 (MT1-MMP), a drug conjugate, stereoisomer, pharmaceutically acceptable salt, solvate, co-crystal or deuterated product thereof, or a pharmaceutical composition containing same, and a use of the peptide ligand and drug conjugates in the prevention and treatment of diseases or disorders in which MT1-MMP is overexpressed in diseased tissue of individuals suffering from tumors.

(57) 摘要: 提供一种具有对膜型基质金属蛋白酶1(MT1-MMP)高亲和力的肽，其药物缀合物、立体异构体、药学上可接受的盐、溶剂化物、共晶或氘代物，或含它们的药物组合物，及其所述肽配体和药物缀合物在预防和治疗肿瘤个体患病组织中过度表达MT1-MMP的疾病或病症中的用途。

MT1-MMP 的双环肽配体及其缀合物

技术领域

本发明涉及一种具有膜型基质金属蛋白酶 1（MT1-MMP）高亲和力的包含多肽结构的化合物及其缀合至一个或多个毒素分子的多肽药物缀合物，及所述化合物和药物缀合物的相关用途，包括制备药物组合物的用途及在预防和/或治疗过度表达 MT1-MMP 的疾病的药物中的用途。

背景技术

基质金属蛋白酶（matrix metalloproteinase，MMP）是一类锌离子依赖的内切蛋白酶家族，它们可降解细胞外基质（extracelluar matrix，ECM）中的绝大多数成分。目前发现的基质金属蛋白酶家族成员共有 25 个，哺乳动物体内存在 24 种，与多种生理及病理状况相关。1994 年，Sato 等鉴别出第一个膜型基质金属蛋白酶，现在称为 MT1-MMP，并发现它是细胞表面 MMP-2 酶原的激动剂，也是目前研究较多的一种膜型基质金属蛋白酶。

膜型基质金属蛋白酶-1（MT1-MMP）是基质金属蛋白酶家族的一个重要成员，其编码的蛋白质相对分子质量为 66kDa，其在细胞外基质的降解过程中扮演了一个重要的角色，并且高度参与到细胞向组织侵袭、上皮细胞极性的形成的过程中，被认为是 MMP 家族中与肿瘤侵袭关系最密切的酶。MT1-MMP 主要在成纤维细胞、平滑肌细胞和内皮细胞表达，但在胃癌，结肠癌，肝癌等大多数人类恶性肿瘤的肿瘤细胞和邻近基质细胞中均有高表达。临床研究发现，MT1-MMP 的表达与神经母细胞瘤，小细胞肺癌，膀胱癌等个体的不良预后密切相关。而 MT1-MMP 的低表达在晚期结直肠癌患者中则被认为是良好的生存指标。

近年来随着研究的深入科学家们逐渐认识到，过度表达的蛋白酶类（包括 MMPs 在内），可以作为诊断肿瘤细胞侵润和迁移的标志性分子信号。以 MMPs 为靶点治疗疾病已成为新的研究热点。MT1-MMP 在酶学分子水平上功能的研究较为透彻，同时有证据表明其可促进肿瘤等疾病的发生、发展。MT1-MMP 定位于细胞表面，且在多种肿瘤细胞中表达量较高，使得 MT1-MMP 成为了一种肿瘤治疗的理想靶点。目前应用人工合成的不同类型的的 MMP 抑制剂治疗肿瘤，临床使用效果并不理想，其中的一个重要原因是，因为这些抑制剂具有广谱的特异性，不仅抑制了靶酶，也抑制了一些有益酶。因此筛选能够与 MT1-MMP 特异性结合的配体，并作为靶向给药载体具有重要意义。

发明内容

本发明首先提供了特异于 MT1-MMP 的化合物，其包含多肽结构，还提供了所述化合物缀合至一个或多个毒素分子的多肽药物缀合物，还提供了药物组合物，及在它们在预防和/或治疗过度表达 MT1-MMP 的疾病的药物中的用途。本发明所述化合物、药物缀合物、药物组合物，对靶标具有高亲和力，而且选择性好、稳定性高。

本发明涉及一种化合物，其包含多肽结构和芳香族分子支架，所述多肽结构包含至少三个独立选自 Cys 和 Hcys 的残基，且三个残基中至少一个是 Hcys 残基，所述三个残基被两段氨基酸序列隔开，所述多肽结构的 Cys 或 Hcys 残基经硫醚键与所述分子支架连接，从而在所述分子支架上形成两个多肽环。

在一些具体实施方案中，所述化合物，其包含多肽结构和芳香族分子支架，所述多肽结构包含至少三个独立选自 Cys 和 Hcys 的残基，且三个残基中一个是 Hcys 残基，所述三个残基被两段氨基酸序列隔开，所述多肽结构的 Cys 或 Hcys 残基经硫醚键与所述分子支架连接，从而在所述分子支架上形成两个多肽环。

在一些具体实施方案中，所述化合物，其包含多肽结构和芳香族分子支架，所述多肽结构包含至少三个独立选自 Cys 和 Hcys 的残基，且三个残基中两个是 Hcys 残基，所述三个残基被两段氨基酸序列隔开，所述多肽结构的 Cys 或 Hcys 残基经硫醚键与所述分子支架连接，从而在所述分子支架上形成两个多肽环。

在一些具体实施方案中，所述的芳香族分子支架选自 TBMB。

在一些具体实施方案中，所述化合物，其包含多肽结构和芳香族分子支架，所述多肽结构包含至少三个独立选自 Cys 和 Hcys 的残基，且三个残基中一个是 Hcys 残基，所述三个残基被两段氨基酸序列隔开，所述多肽结构的 Cys 或 Hcys 残基经硫醚键与所述分子支架连接，从而在所述分子支架上形成两个多肽环，所述的分子支架选自 TBMB。

在一些具体实施方案中，所述化合物，其包含多肽结构和芳香族分子支架，所述多肽结构包含至少三个独立选自 Cys 和 Hcys 的残基，且三个残基中两个是 Hcys 残基，所述三个残基被两段氨基酸序列隔开，所述多肽结构的 Cys 或 Hcys 残基经硫醚键与所述分子支架连接，从而在所述分子支架上形成两个多肽环，所述的分子支架选自 TBMB。

在一些具体实施方案中，所述化合物的多肽结构包含选自以下的氨基酸序列：

Xa_1-A_1-Xa_2-A_2- Xa_3，

其中，A_1、A_2 表示 Xa_1、Xa_2、Xa_3 之间的氨基酸残基，并且 A_1 和 A_2 各自独立地包含 5 或 6 个氨基酸残基；在一些具体实施方案中，A_1、A_2 包含的氨基酸残基任选地选自 Hyp、

D-Ala、Glu、Leu、1-Nal、Val、Asn、Pro、Leu、His、D-Asp、Asp、tBu-Gly、Trp、hArg、Ser、Thr、Tyr、Val、Ile 和 Gly 等；

Xa_1、Xa_2、Xa_3 独立地为 Cys 或 Hcys 残基，且至少有一个是 Hcys 残基，所述芳香族分子支架与所述多肽的 Xa_1、Xa_2、Xa_3 分别形成硫醚键从而在所述分子支架上形成两个多肽环。

在一些具体实施方案中，所述多肽结构包含以下所示的氨基酸序列：

Xa_1-(D-Ala)-Asn-Glu-(1-Nal)-(D-Ala)-Xa_2-Glu-Asp-Phe-Tyr-Asp-(tBu-Gly)-Xa_3。

在一些具体实施方案中，其中所述多肽结构包含 SEQ ID NO:1~ SEQ ID NO:7 任一所示的氨基酸序列：

Hcys-(D-Ala)-Asn-Glu-(1-Nal)-(D-Ala)-Hcys-Glu-Asp-Phe-Tyr-Asp-(tBu-Gly)-Hcys (SEQ ID NO:1);

Cys-(D-Ala)-Asn-Glu-(1-Nal)-(D-Ala)-Hcys-Glu-Asp-Phe-Tyr-Asp-(tBu-Gly)-Hcys (SEQ ID NO:2);

Hcys-(D-Ala)-Asn-Glu-(1-Nal)-(D-Ala)-Cys-Glu-Asp-Phe-Tyr-Asp-(tBu-Gly)-Hcys (SEQ ID NO:3);

Hcys-(D-Ala)-Asn-Glu-(1-Nal)-(D-Ala)-Hcys-Glu-Asp-Phe-Tyr-Asp-(tBu-Gly)-Cys (SEQ ID NO:4);

Cys-(D-Ala)-Asn-Glu-(1-Nal)-(D-Ala)-Cys-Glu-Asp-Phe-Tyr-Asp-(tBu-Gly)-Hcys (SEQ ID NO:5);

Cys-(D-Ala)-Asn-Glu-(1-Nal)-(D-Ala)-Hcys-Glu-Asp-Phe-Tyr-Asp-(tBu-Gly)-Cys (SEQ ID NO:6);

Hcys-(D-Ala)-Asn-Glu-(1-Nal)-(D-Ala)-Cys-Glu-Asp-Phe-Tyr-Asp-(tBu-Gly)-Cys (SEQ ID NO:7)。

在一些具体实施方案中，所述多肽结构包含 SEQ ID NO:8~ SEQ ID NO:14 任一所示的氨基酸序列：

(β-Ala)-Sar_{10}-Ala-Hcys-(D-Ala)-Asn-Glu-(1-Nal)-(D-Ala)-Hcys-Glu-Asp-Phe-Tyr-Asp-(tBu-Gly)-Hcys (SEQ ID NO:8);

(β-Ala)-Sar_{10}-Ala-Cys-(D-Ala)-Asn-Glu-(1-Nal)-(D-Ala)-Hcys-Glu-Asp-Phe-Tyr-Asp-(tBu-Gly)-Hcys (SEQ ID NO:9);

(β-Ala)-Sar_{10}-Ala-Hcys-(D-Ala)-Asn-Glu-(1-Nal)-(D-Ala)-Cys-Glu-Asp-Phe-Tyr-Asp-(tBu-Gly)-Hcys (SEQ ID NO:10);

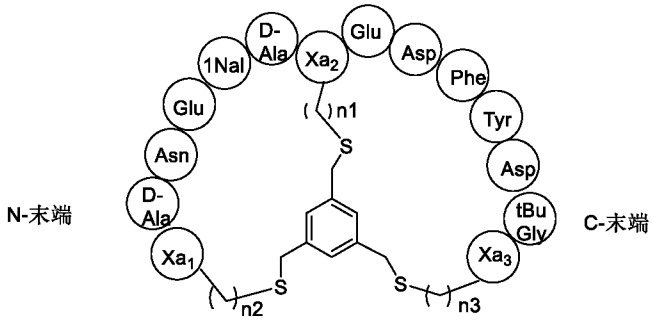
(β-Ala)-Sar_{10}-Ala-Hcys-(D-Ala)-Asn-Glu-(1-Nal)-(D-Ala)-Hcys-Glu-Asp-Phe-Tyr-Asp-(tBu-Gly)-Cys (SEQ ID NO:11);

(β-Ala)-Sar$_{10}$-Ala-Cys-(D-Ala)-Asn-Glu-(1-Nal)-(D-Ala)-Cys-Glu-Asp-Phe-Tyr-Asp-(tBu-Gly)-Hcys (SEQ ID NO:12);

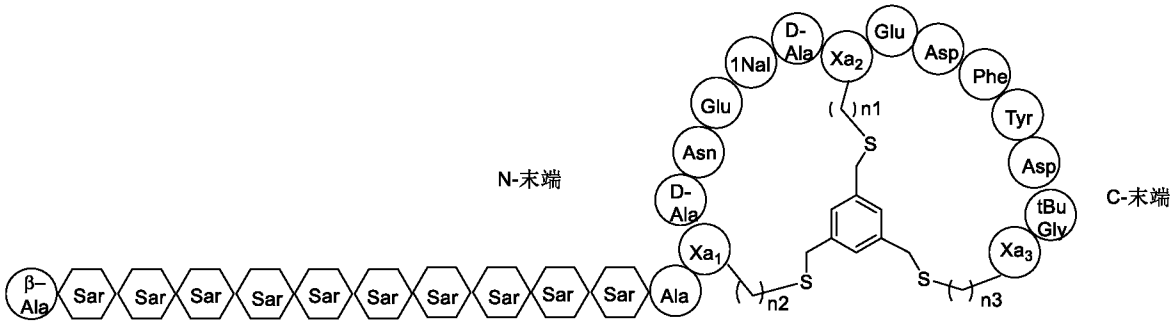
(β-Ala)-Sar$_{10}$-Ala-Cys-(D-Ala)-Asn-Glu-(1-Nal)-(D-Ala)-Hcys-Glu-Asp-Phe-Tyr-Asp-(tBu-Gly)-Cys (SEQ ID NO:13);

(β-Ala)-Sar$_{10}$-Ala-Hcys-(D-Ala)-Asn-Glu-(1-Nal)-(D-Ala)-Cys-Glu-Asp-Phe-Tyr-Asp-(tBu-Gly)-Cys (SEQ ID NO:14)。

在一些具体实施方案中，所述化合物是具有以下结构之一的双环肽，在以下结构的N末端和/或C末端可选地含有其他氨基酸序列：



I-1



I

其中，Xa$_1$、Xa$_2$或Xa$_3$残基上的-SH基团与分子支架共价结合形成硫醚键，因此，当Xa$_1$、Xa$_2$或Xa$_3$为Cys时，对应地，n$_1$、n$_2$或n$_3$为1；

当Xa$_1$、Xa$_2$或Xa$_3$为Hcys，对应地，n$_1$、n$_2$或n$_3$为2。

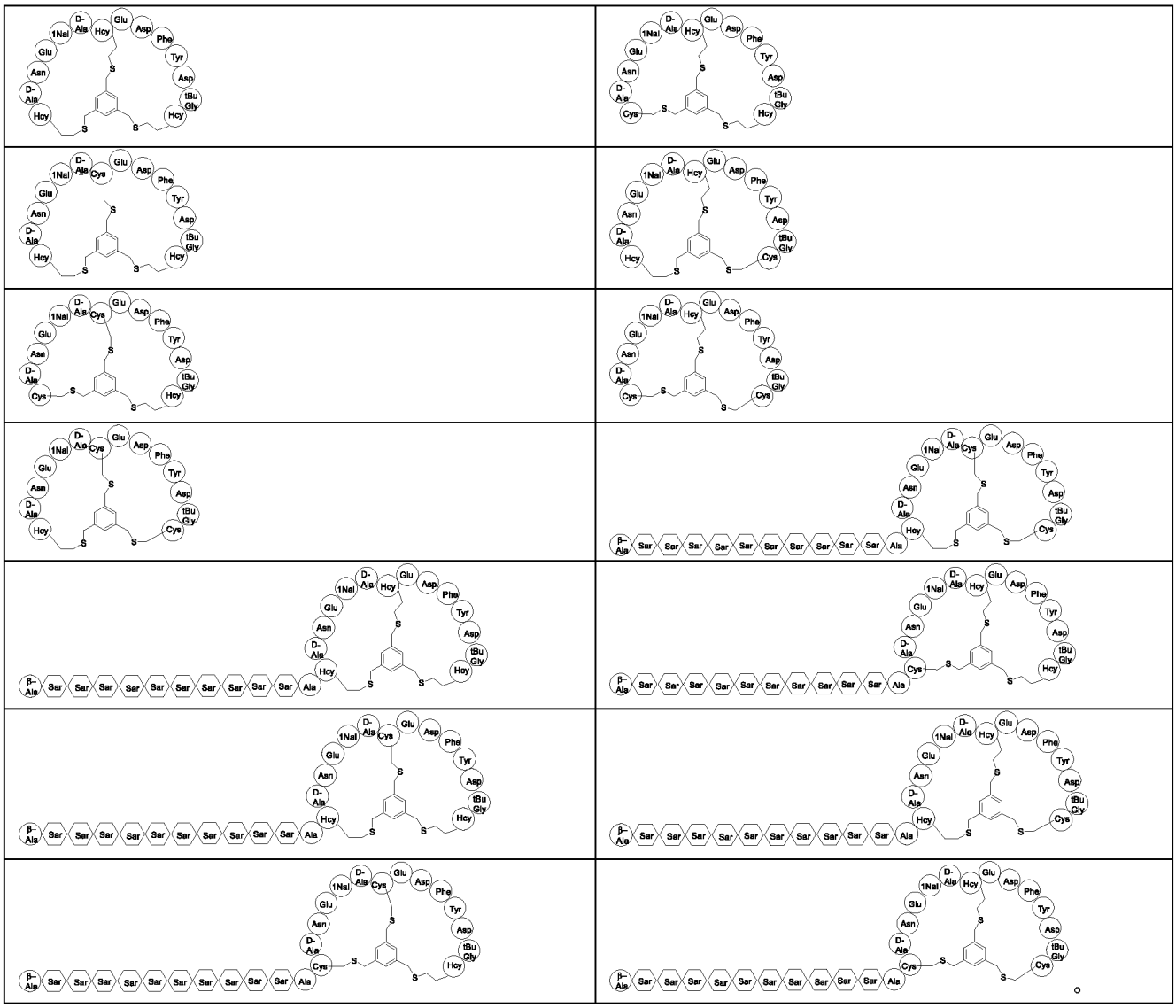
在一些具体实施方案中，式I-1或I的双环肽，其中：

Xa$_1$、Xa$_2$、Xa$_3$为Hcys，n$_1$、n$_2$、n$_3$为2；或

Xa$_1$、Xa$_3$为Hcys，Xa$_2$为Cys，n$_1$、n$_3$为2，n$_2$为1；或

Xa$_1$、Xa$_2$为Cys，Xa$_3$为Hcys，n$_1$、n$_2$为1，n$_3$为2。

在一些具体实施方案中，所述化合物选自以下结构之一：



本发明的包含两个多肽环结构的化合物，具有蛋白稳定性，对血浆蛋白酶、上皮蛋白酶、胃和肠蛋白酶、肺表面蛋白酶、细胞内蛋白酶等稳定；对 MT1-MMP 具有特异靶向性，是特异于 MT1-MMP 的肽配体；具有较长的血浆半衰期，具有好的药代动力学和药效动力学特性。

本发明还提供了所述的化合物作为 MT1-MMP 的配体在筛选和/或制备药物中的应用。

本发明还提供了一种药物缀合物或其药学上可接受的盐，所述缀合物包含通过连接子缀合至一个或多个效应物和/或官能团的如前所述的化合物。

在一些具体实施方案中，其中所述效应物为细胞毒性剂。

在一些具体实施方案中，所述细胞毒性剂选自如下组中的一种或多种：烷化剂类、抗代谢物类、植物生物碱类、萜类化合物类、鬼臼毒素类及其衍生物、紫杉烷类及其衍生物、拓扑异构酶抑制剂、抗肿瘤抗生素类。

在一些具体实施方案中，所述细胞毒性剂选自如下组中的一种或多种：顺铂、卡铂、奥沙利铂、氮芥、环磷酰胺、苯丁酸氮芥、异环磷酰胺、硫唑嘌呤、巯嘌呤、嘧啶类似物、长

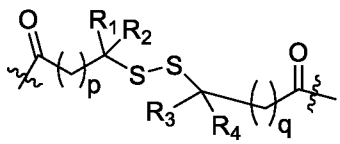
春新碱、长春花碱、长春瑞滨、长春地辛、依托泊苷、替尼泊苷、紫杉醇、喜树碱、伊立替康、拓扑替康、安丫啶、依托泊苷、磷酸依托泊苷、替尼泊苷、放线菌素 D、多柔比星、表柔比星、埃博霉素及其衍生物、博来霉素及其衍生物、更生霉素及其衍生物、普卡霉素及其衍生物、丝裂霉素 C、刺胞霉素、美登素及其衍生物、奥瑞他汀及其衍生物。

在一些具体实施方案中，所述细胞毒性剂选自美登木素生物碱、单甲基奥瑞他汀、喜树碱衍生物中的至少一种。

在一些具体实施方案中，所述细胞毒性剂选自美登素 DM1（DM1）、美登素 DM4（DM4）、一甲基奥瑞他汀 E（MMAE）、7-乙基-10-羟基喜树碱（SN38）中的至少一种。

在一些具体实施方案中，所述连接子为肽类连接子、二硫化物连接子或 pH 依赖型连接子；这些连接子在一定条件下可裂解以释放出效应物分子。

在一些具体实施方案中，所述二硫化物连接子选自 DMDS、MDS、DSDM、NDMDS 或式 II 结构：



II

其中，R_1、R_2、R_3 和 R_4 独立地选自 H、甲基、乙基、丙基和异丙基；

p 和 q 独立地为 1、2、3、4 或 5；

所述肽类连接子选自：-Cit-Val-、-Phe-Lys-和-Val-Lys-；

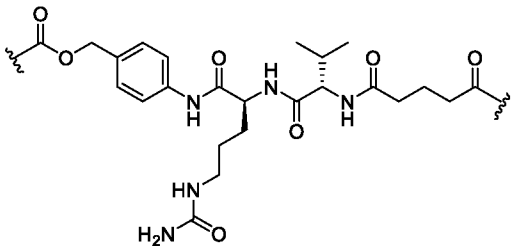
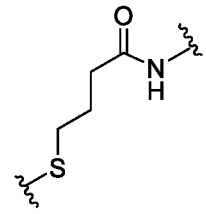
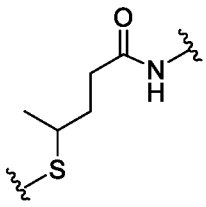
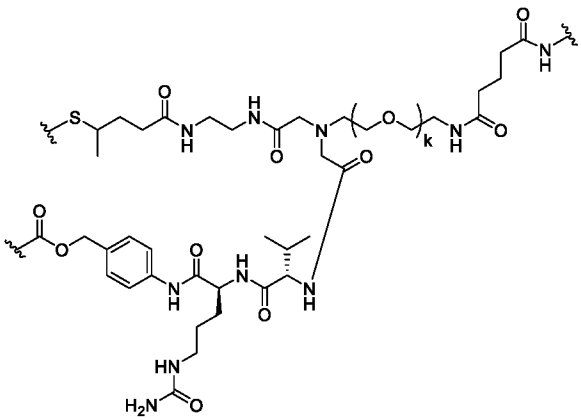
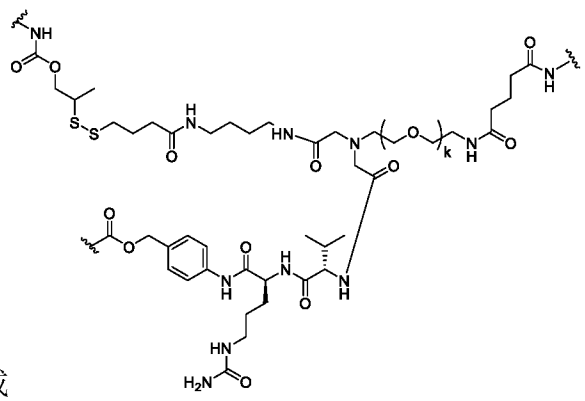
所述 pH 依赖型连接子选自顺乌头酸酐。

上述连接子主要起连接毒性剂和肽配体，以及在特定条件下裂解释放毒性物的作用，为控制裂解的速率和伴随的效应物分子的释放，连接子可做适当修饰，如在其与肽配体或效应物连接处连接一些基团增加链长度，以及在裂解键周围增加基团修饰控制裂解键的阻碍，本发明的连接子包括基于上述加以修饰的连接子衍生物。

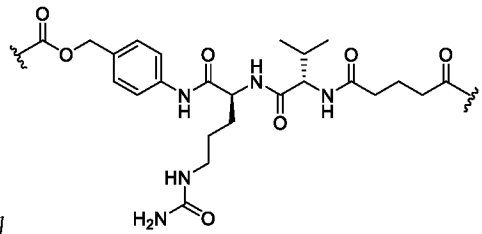
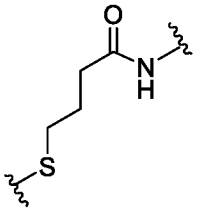
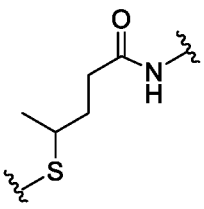
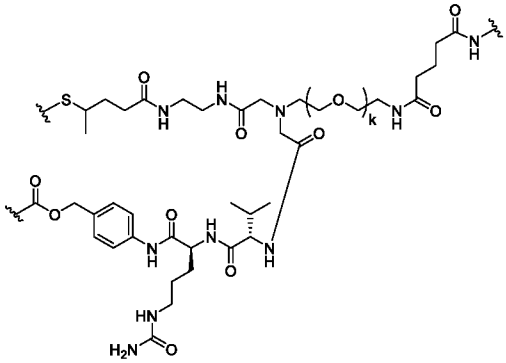
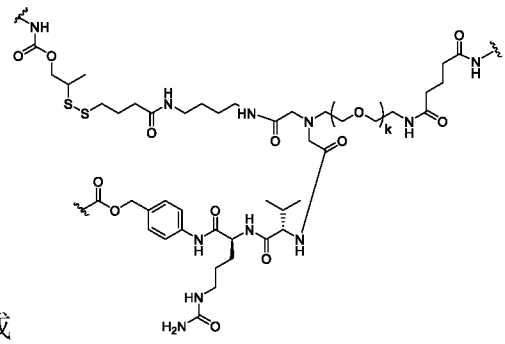
本发明中，连接子理论上可以与肽配体的 N 末端、C 末端和/或分子支架相连。当与 C 末端或分子支架相连时，可在 C 末端或分子支架上修饰出一个与其链接的官能团。

在一些具体实施方案中，所述连接子为-PABC-Cit-Val-戊二酰-或-PABC-环丁基-Ala-Cit-βAla-，其中 PABC 代表 p-氨基苄基氨基甲酸酯。

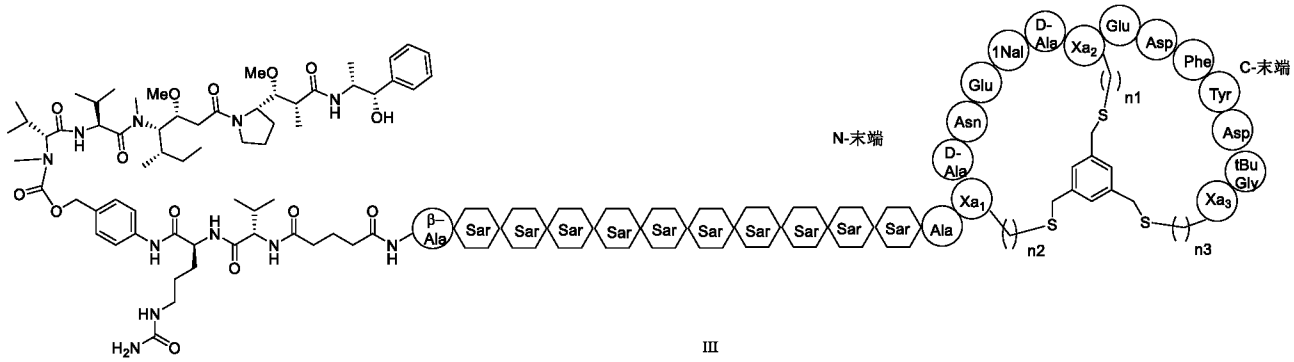
在一些具体实施方案中，所述连接子为


、

、

、

或

；

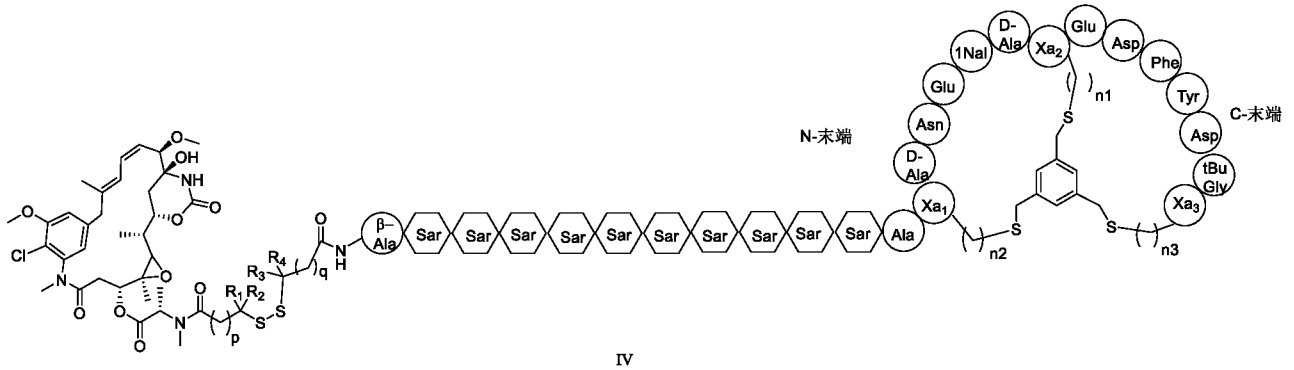
其中 k 选自 1-20 的任一整数。

在一些具体实施方案中，所述连接子为

；在一些具体实施方案中，所述连接子为

或

；在一些具体实施方案中，所述连接子为

或

；在各自的实施方案中，k 选自 1-20 的任一整数；在一些具体实施方案中，k 选自 1-10 的任一整数；在一些具体实施方案中，k 选自 1、2、3、4 或 5；在一些具体实施方案中，k 选自 2。

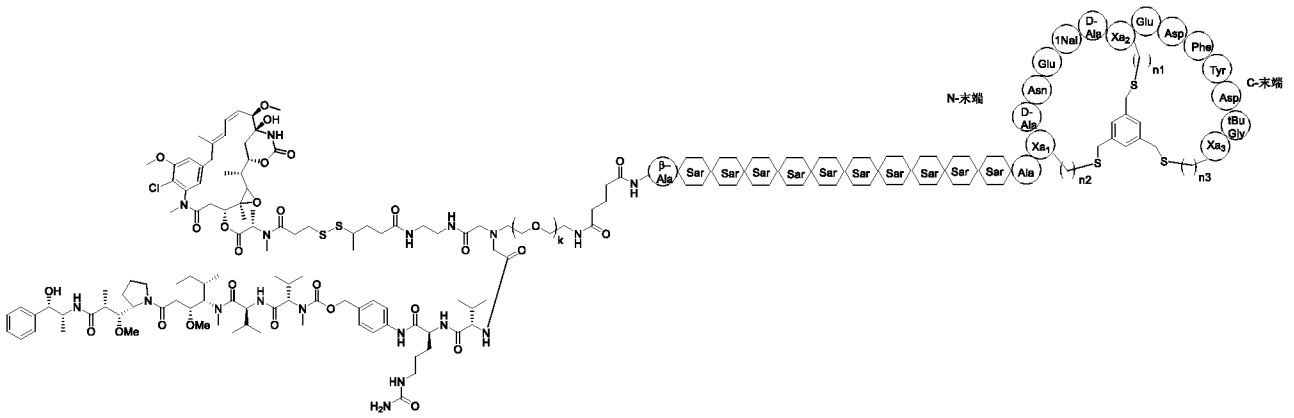
在一些具体实施方案中，所述药物缀合物具有式 III、式 IV、式 V 或式 VI 的结构：



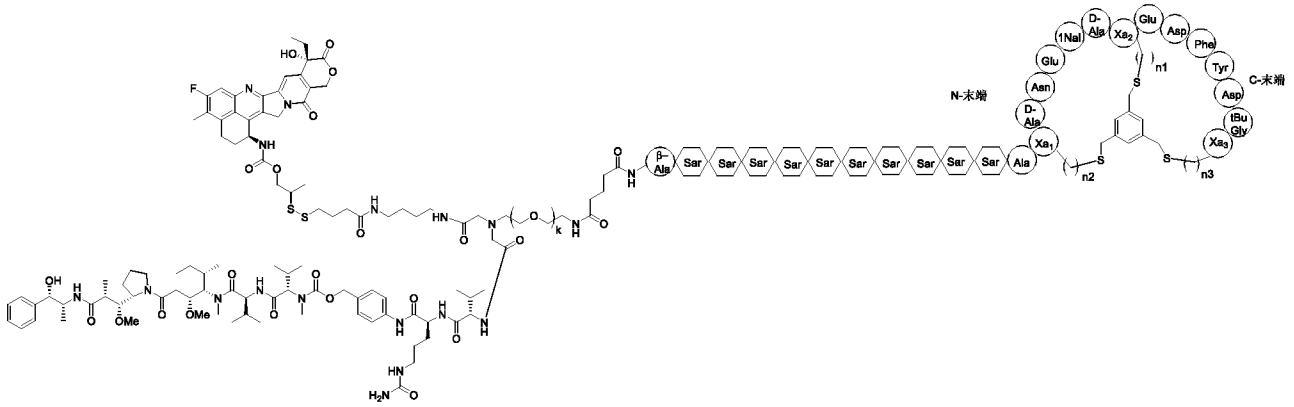
III



IV



V



VI

其中，R_1、R_2、R_3和R_4独立地选自H、甲基、乙基、丙基和异丙基；

p和q独立地为1、2、3、4或5；

k 独立地为 1-10 的任一整数；

Xa_1、Xa_2、Xa_3 独立地为 Cys 或 Hcys 残基，且至少有一个是 Hcys 残基；

当 Xa_1、Xa_2 或 Xa_3 为 Cys 时，对应地，n_1、n_2 或 n_3 为 1；

当 Xa_1、Xa_2 或 Xa_3 为 Hcys，对应地，n_1、n_2 或 n_3 为 2。

在一些具体实施方案中，所述药物缀合物或其药学上可接受的盐，其中：

R_1、R_2、R_3 和 R_4 独立地选自 H 或甲基；

p 和 q 独立地为 1 或 2；

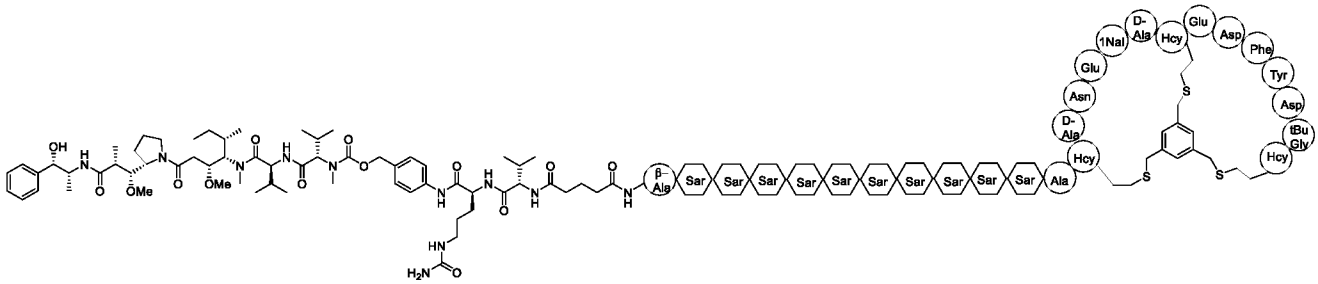
k 独立地为 1-5 的任一整数；且

Xa_1、Xa_2、Xa_3 为 Hcys，n_1、n_2、n_3 为 2；或

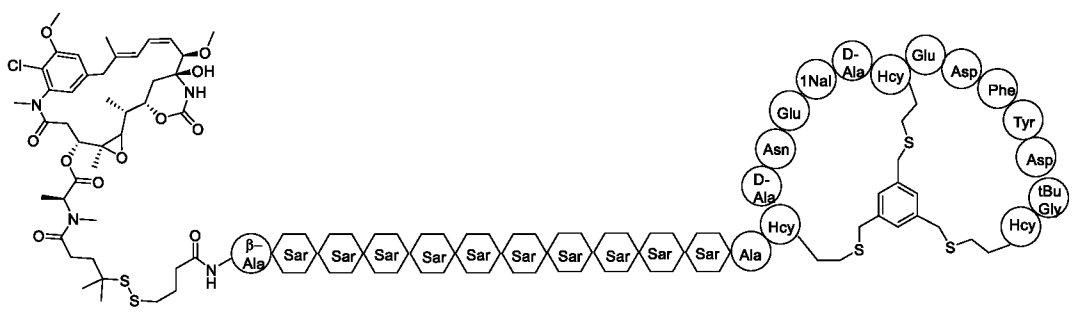
Xa_1、Xa_3 为 Hcys，Xa_2 为 Cys，n_1、n_3 为 2，n_2 为 1；或

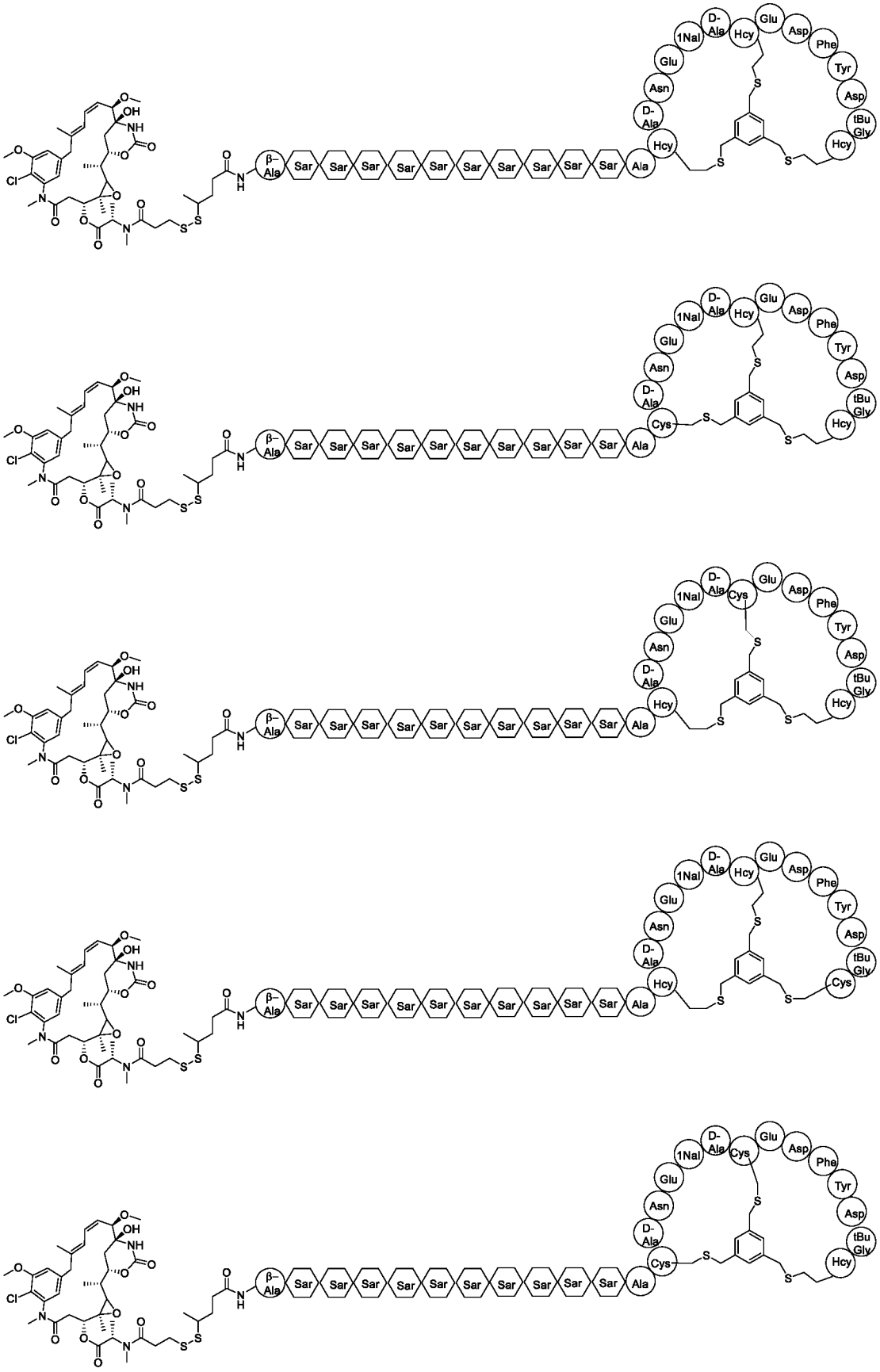
Xa_1、Xa_2 为 Cys，Xa_3 为 Hcys，n_1、n_2 为 1，n_3 为 2。

作为本发明的更具体的技术方案，一种药物缀合物或其药学上可接受的盐，所述药物缀合物选自以下结构之一：



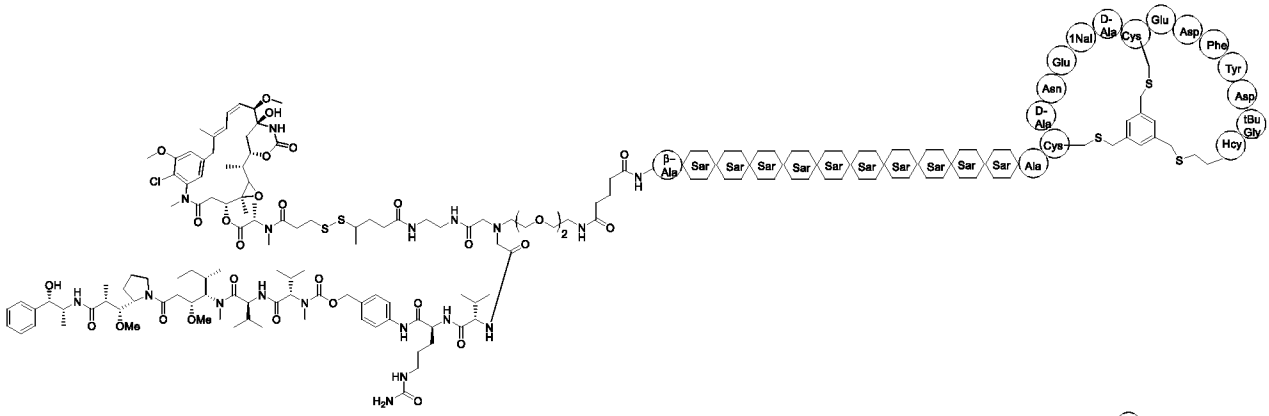


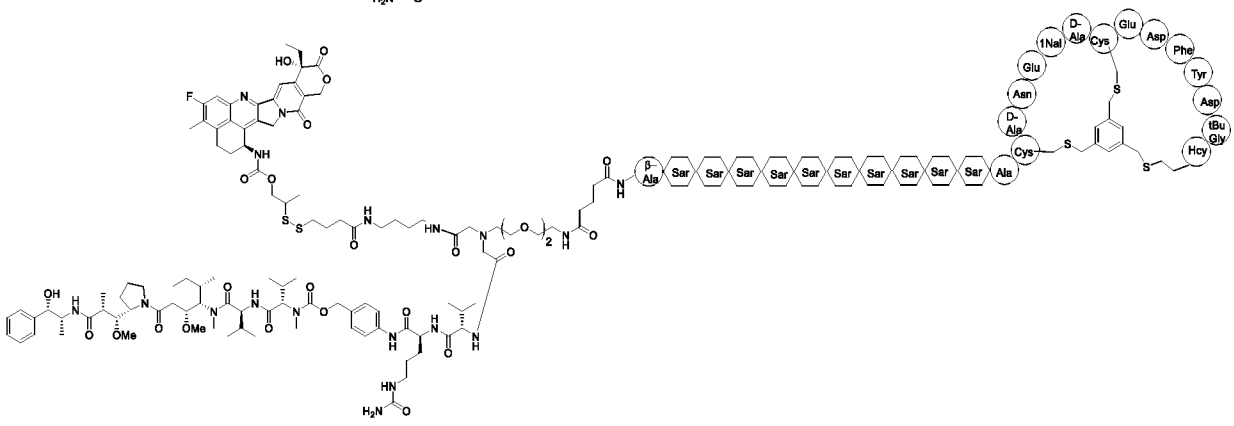



β-Ala
Sar
Ala
D-Ala
1Nal
Glu
Asn
Hcy
Asp
Phe
Tyr
tBu Gly
Cys









本发明还涉及一种药物组合物，其含前述本发明所述的化合物（即肽配体，或称肽化合物）和/或前述本发明所述的药物缀合物或其药学上可接受的盐，以及药学上可接受的载体和/或赋形剂。

本发明还涉及一种用途，前述本发明所述的化合物，或者前述本发明所述的药物缀合物或其药学上可接受的盐，或者其组合物在制备预防和/或治疗过度表达 MT1-MMP 的疾病的药物中的用途。

所述过度表达 MT1-MMP 的疾病选自以下疾病中的至少一种：神经母细胞瘤、小细胞肺癌、膀胱癌、胃癌、结肠癌、肝癌。

本发明还涉及一种药物组合物或药物制剂，所述的药物组合物或药物制剂包含选 1-1500mg 的权利要求前述本发明所述的肽化合物或前述本发明所述的缀合物或其药学上可接受的盐，以及药学上可接受的载体和/或赋形剂。

本发明还涉及一种用于治疗哺乳动物或人的疾病的方法，所述方法包括给予受试者治疗有效量的前述本发明所述的肽化合物或前述本发明所述的缀合物或其药学上可接受的盐，治疗有效量优选为 1-1500mg，所述的疾病优选为神经母细胞瘤、小细胞肺癌、膀胱癌、胃癌、结肠癌、肝癌中的至少一种。

本发明还提供一种组合物或药物制剂，其中含有前述本发明所述的肽化合物、缀合物或其药学上可接受的盐，以及药学上可接受的载体和/或辅料。该药物组合物可以为单位制剂形式(单位制剂也被称为“制剂规格”)。

进一步地，本发明的组合物或药物制剂，其中含有 1-1500 mg 的前述本发明所述的肽化合物、缀合物或其药学上可接受的盐，以及药学上可接受的载体和/或辅料。

本发明还提供了前述本发明所述的肽化合物、缀合物或其药学上可接受的盐在制备预防和治疗肿瘤个体患病组织中过度表达 MT1-MMP 的疾病或病症的药物中的用途。进一步地，所述过度表达 MT1-MMP 的疾病或病症优选为神经母细胞瘤、小细胞肺癌、膀胱癌、胃癌、结肠癌、肝癌中的至少一种。优选地，所述个体为哺乳动物或人。

本发明还提供了一种用于治疗哺乳动物或人的疾病的方法，所述方法包括给予受试者治疗有效量的前述本发明所示的肽化合物、缀合物或其药学上可接受的盐，所述疾病优选为神经母细胞瘤、小细胞肺癌、膀胱癌、胃癌、结肠癌、肝癌中的至少一种，优选所述治疗有效量为 1-1500 mg。

本申请中所述“有效量”或“治疗有效量”是指给予足够量的本申请公开的化合物，其将在某种程度上缓解所治疗的疾病或病症的一种或多种症状。在一些实施方案中，结果是减少和/或缓和疾病的体征、症状或原因，或生物系统的任何其它希望改变。例如，针对治疗用途的“有效量”是提供临床上显著的疾病症状降低所需的包含本申请公开的肽化合物、缀合物或其药学上可接受的盐的组合物的量。治疗有效量的实例包括但不限于 1-1500mg、1-1400mg、1-1300mg、1-1200mg、1-1000mg、1-900mg、1-800mg、1-700mg、1-600mg、1-500mg、1-400mg、1-300mg、1-250mg、1-200mg、1-150mg、1-125mg、1-100mg、1-80mg、1-60mg、1-50mg、1-40mg、1-25mg、1-20mg、5-1500mg、5-1000mg、5-900mg、5-

800mg、5-700mg、5-600mg、5-500mg、5-400mg、5-300mg、5-250mg、5-200mg、5-150mg、5-125mg、5-100mg、5-90mg、5-70mg、5-80mg、5-60mg、5-50mg、5-40mg、5-30mg、5-25mg、5-20mg、10-1500mg、10-1000mg、10-900mg、10-800mg、10-700mg、10-600mg、10-500mg、10-450mg、10-400mg、10-300mg、10-250mg、10-200mg、10-150mg、10-125mg、10-100mg、10-90mg、10-80mg、10-70mg、10-60mg、10-50mg、10-40mg、10-30mg、10-20mg；20-1500mg、20-1000mg、20-900mg、20-800mg、20-700mg、20-600mg、20-500mg、20-400mg、20-350mg、20-300mg、20-250mg、20-200mg、20-150mg、20-125mg、20-100mg、20-90mg、20-80mg、20-70mg、20-60mg、20-50mg、20-40mg、20-30mg；50-1500mg、50-1000mg、50-900mg、50-800mg、50-700mg、50-600mg、50-500mg、50-400mg、50-300mg、50-250mg、50-200mg、50-150mg、50-125mg、50-100mg；100-1500mg、100-1000mg、100-900mg、100-800mg、100-700mg、100-600mg、100-500mg、100-400mg、100-300mg、100-250mg、100-200mg。

在一些实施方案中，本发明的药物组合物或制剂含有上述治疗有效量的本发明所述肽化合物、缀合物或其药学上可接受的盐。

本发明涉及一种药物组合物或药物制剂，所述的药物组合物或药物制剂包含治疗有效量的本发明所述的肽化合物、缀合物或其药学上可接受的盐以及载体和/或赋形剂。该药物组合物可以为单位制剂形式(单位制剂中主药的量也被称为“制剂规格”)。在一些实施方案中，该药物组合物包括但不限于 1mg、1.25mg、2.5mg、5mg、10mg、12.5mg、15mg、20mg、25mg、30mg、35mg、40mg、45mg、50mg、55mg、60mg、65mg、70mg、75mg、80mg、85mg、90mg、95mg、100mg、110mg、120mg、125mg、130mg、140mg、150mg、160mg、170mg、180mg、190mg、200mg、210mg、220mg、230mg、240mg、250mg、275mg、300mg、325mg、350mg、375mg、400mg、425mg、450mg、475mg、500mg、525mg、550mg、575mg、600mg、625mg、650mg、675mg、700mg、725mg、750mg、775mg、800mg、850mg、900mg、950mg、1000mg、1100mg、1200mg、1300mg、1400mg、1500mg 的本发明的肽化合物、缀合物或其药学上可接受的盐。

在一些实施方案中，本发明提供一种用于治疗哺乳动物或人的疾病的方法，所述方法包括给予受试者治疗有效量的本发明肽化合物、缀合物或其药学上可接受的盐，以及药学上可接受的载体和/或赋形剂，治疗有效量优选 1-1500mg，所述的疾病优选为神经母细胞瘤、小细胞肺癌、膀胱癌、胃癌、结肠癌、肝癌中的至少一种。

在一些实施方案中，本发明提供一种用于治疗哺乳动物或人的疾病的方法所述方法包括，将药物本发明的肽化合物、缀合物或其药学上可接受的盐，以及药学上可接受的载体和/或赋形剂，以 1-1500mg/天的日剂量给予受试者，所述日剂量可以为单剂量或分剂量，在一些实施方案中，日剂量包括但不限于 10-1500mg/天、20-1500mg/天、25-1500mg/天、50-1500mg/天、75-1500mg/天、100-1500mg/天、200-1500mg/天、10-1000mg/天、20-1000mg/天、25-1000mg/天、50-1000mg/天、75-1000mg/天、100-1000mg/天、200-1000mg/天、25-800mg/天、50-800mg/天、100-800mg/天、200-800mg/天、25-400mg/天、50-400mg/天、100-400mg/天、200-400mg/天，在一些实施方案中，日剂量包括但不限于 1mg/天、5mg/天、10mg/天、20mg/天、25mg/天、50mg/天、75mg/天、100mg/天、125mg/天、150mg/天、200mg/天、300mg/天、400mg/天、600mg/天、800mg/天、1000mg/天、1200mg/天、1400mg/天、1500mg/天。

本发明还提供一种试剂盒，该试剂盒可以包括单剂量或多剂量形式的组合物，该试剂盒包含本发明的化合物、缀合物或其药学上可接受的盐，本发明的化合物、缀合物或者其立体异构体或药学上可接受的盐量与上述药物组合物中其量相同。

本发明中所述化合物、缀合物或者其立体异构体或药学上可接受的盐的量在每种情况下以游离碱的形式换算。

“制剂规格”是指每一支、片或其他每一个单位制剂中含有主药的重量。

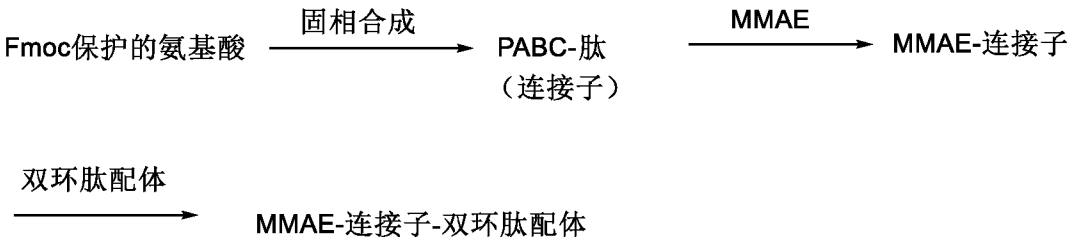
合成

本领域技术人员可以结合已知的有机合成技术制备本发明的化合物，其起始原料为市售化学品和（或）化学文献中所述的化合物。“市售化学品”是从正规商业来源获得的，供应商包括：泰坦科技、安耐吉化学、上海德默、成都科龙化工、韶远化学科技、南京药石、药明康德和百灵威科技等公司。

本发明的肽可以通过标准技术合成制备，然后在体外与分子支架反应。当进行此操作时，可以使用标准化学方法。这使得能够快速大规模制备可溶性材料用于进一步的下游实验或验证。这样的方法可以使用例如 Timmerman 等人(2005，ChemBioChem)中公开的常规化学方法来实现。

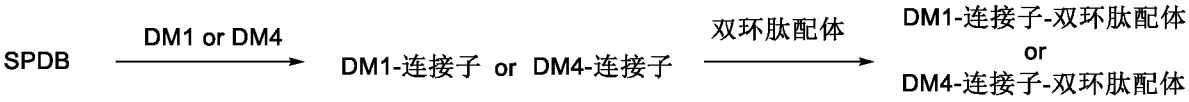
一些实施方式中，本发明的药物缀合物按以下路线合成：

路线 1：



。

路线 2：



更具体的合成步骤参见实施例。

术语

肽配体是指肽共价结合至分子支架所形成的含有氨基酸序列（肽结构）的化合物。本发明中可作为膜型基质金属蛋白酶-1（MT1-MMP）的配体。通常，形成此类化合物的肽包含能够与支架形成共价键（如硫醚键）的两个或更多个反应性基团(即半胱氨酸残基或高半胱氨酸残基)、以及在所述反应性基团之间相对的序列(称为环序列)，之所以称为环序列，是因为当肽与支架结合时，其形成环。在本申请的情况下中，肽包含至少三个半胱氨酸残基或高半胱氨酸残基(Cys 残基或 Hcys 残基)，其在支架上形成两个环。

分子支架包括芳香族分子支架。芳香族分子支架是指本文定义的任何包含芳香族碳环或芳香族杂环环体系的分子支架。适当的芳香族分子支架的示例描述于 Heinis 等人(2014) Angewandte Chemie, International Edition 53(6) 1602-1606 中。分子支架可以是小分子，例如有机小分子。

多肽是指三个及以上氨基酸分子以肽键连接在一起而形成的化合物。多肽中的氨基酸单位称为氨基酸残基。

效应物和/或官能团是可以（通过连接子）连接于例如多肽的 N 和/或 C 末端、多肽内的氨基酸、或分子骨架的、具有药理作用或特定功能的分子或片段。合适的效应物和/或官能团包括抗体及其部分或片段、细胞毒分子或片段、酶抑制剂分子或片段、金属螯合剂等。在一些情形中，效应物和/或官能团是药物。特别地是细胞毒性剂，包括烷化剂类、抗代谢物类、植物生物碱类、萜类化合物类、鬼臼毒素类及其衍生物、紫杉烷类及其衍生物、拓扑异构酶抑制剂、抗肿瘤抗生素类等。更具体地是顺铂、卡铂、奥沙利铂、氮芥、环磷酰胺、苯丁酸氮芥、异环磷酰胺、硫唑嘌呤、巯嘌呤、嘧啶类似物、长春新碱、长春花碱、长春瑞滨、长春地辛、依托泊苷、替尼泊苷、紫杉醇、喜树碱、伊立替康、拓扑替康、安丫啶、依托泊苷、磷酸依托泊苷、替尼泊苷、放线菌素 D、多柔比星、表柔比星、埃博霉素及其衍生

物、博来霉素及其衍生物、更生霉素及其衍生物、普卡霉素及其衍生物、丝裂霉素 C、刺胞霉素、美登素及其衍生物、奥瑞他汀及其衍生物。

衍生物是指一种化合物中的氢原子或原子团被其他原子或原子团取代而衍生的产物。

除非特别说明，所有氨基酸均以 L-构型使用。

Glu：谷氨酸

1-Nal：1-萘基丙氨酸

tBu-Gly：叔丁基甘氨酸

β-Ala：β-丙氨酸

Sar：肌氨酸

Cys：半胱氨酸

Hcys：高半胱氨酸

Hyp：羟脯氨酸

Asn：天冬酰胺

Pro：脯氨酸

Leu：亮氨酸

His：组氨酸

D-Asp：D-天冬氨酸

Asp：天冬氨酸

Trp：色氨酸

hArg：高精氨酸

Ser：丝氨酸

Thr：苏氨酸

Phe：苯丙氨酸

Tyr：酪氨酸

Val：缬氨酸

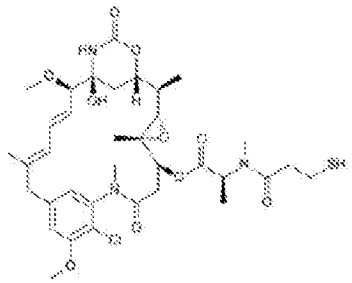
Ile：异亮氨酸

Lys：赖氨酸

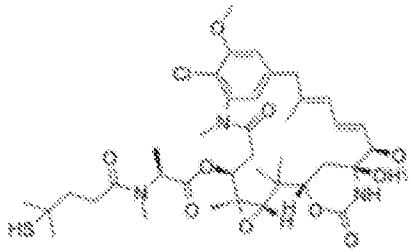
Gly：甘氨酸

Cit：瓜氨酸

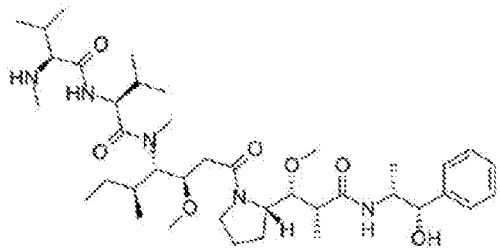
美登木素生物碱类，如 DM1、DM4，是一种细胞毒性剂，其是美登素的含巯基衍生物，DM1 具有以下结构：



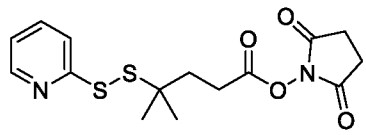
DM4 具有以下结构：

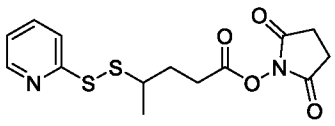


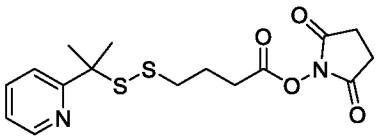
单甲基奥瑞他汀 E(MMAE，又称为一甲基奥瑞他汀 E)是合成的抗肿瘤剂，并具有以下结构：

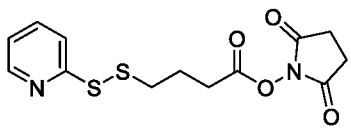


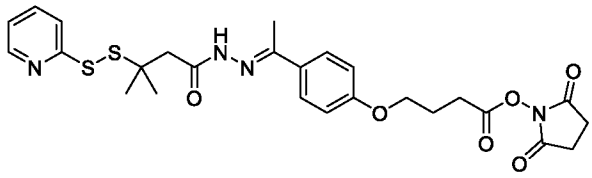
SN38：7-乙基-10-羟基喜树碱

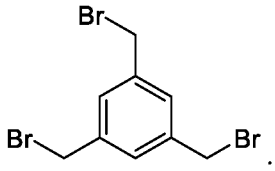
DMDS：

MDS：

DSDM：

SPDB：

NDMDS：

TBMB：.

本发明所述基团和化合物中所涉及的碳、氢、氧、硫、氮或卤素均包括它们的同位素，及本发明所述基团和化合物中所涉及的碳、氢、氧、硫、氮或卤素任选进一步被一个或多个它们对应的同位素所替代，其中碳的同位素包括 ^{12}C、^{13}C 和 ^{14}C，氢的同位素包括氕(H)、氘(氘，又称为重氢)、氚(T，又称为超重氢)，氧的同位素包括 ^{16}O、^{17}O 和 ^{18}O，硫的同位素包括 ^{32}S、^{33}S、^{34}S 和 ^{36}S，氮的同位素包括 ^{14}N 和 ^{15}N，氟的同位素 ^{19}F，氯的同位素包括 ^{35}Cl 和 ^{37}Cl，溴的同位素包括 ^{79}Br 和 ^{81}Br。

“药学上可接受的盐”是指本发明化合物保持游离酸或者游离碱的生物有效性和特性，且所述的游离酸通过与无毒的无机碱或者有机碱，所述的游离碱通过与无毒的无机酸或者有机酸反应获得的盐。

“药物组合物”表示一种或多种本文所述化合物或其立体异构体、溶剂化物、药学上可接受的盐或共晶，与其他组成成分的混合物，其中其他组分包含生理学/药学上可接受的载体和/赋形剂。

“载体”指的是：不会对生物体产生明显刺激且不会消除所给予化合物的生物活性和特性，并能改变药物进入人体的方式和在体内的分布、控制药物的释放速度并将药物输送到靶向器官的体系，非限制性的实例包括微囊与微球、纳米粒、脂质体等。

“赋形剂”指的是：其本身并非治疗剂，用作稀释剂、辅料、粘合剂和/或媒介物，用于添加至药物组合物中以改善其处置或储存性质或允许或促进化合物或药物组合物形成用于给药的单位剂型。如本领域技术人员所已知的，药用赋形剂可提供各种功能且可描述为润湿剂、缓冲剂、助悬剂、润滑剂、乳化剂、崩解剂、吸收剂、防腐剂、表面活性剂、着色剂、矫味剂及甜味剂。药用赋形剂的实例包括但不限于：(1)糖，例如乳糖、葡萄糖及蔗糖；(2)淀粉，例如玉米淀粉及马铃薯淀粉；(3)纤维素及其衍生物，例如羧甲基纤维素钠、乙基纤维素、乙酸纤维素、羟丙基甲基纤维素、羟丙基纤维素、微晶纤维素及交联羧甲基纤维素(例如交联羧甲基纤维素钠)；(4)黄蓍胶粉；(5)麦芽；(6)明胶；(7)滑石；(8)赋形剂，例如可可脂及栓剂蜡；(9)油，例如花生油、棉籽油、红花油、芝麻油、橄榄油、玉米油及大豆

油；(10)二醇，例如丙二醇；(11)多元醇，例如甘油、山梨醇、甘露醇及聚乙二醇；(12)酯，例如油酸乙酯及月桂酸乙酯；(13)琼脂；(14)缓冲剂，例如氢氧化镁及氢氧化铝；(15)海藻酸；(16)无热原水；(17)等渗盐水；(18)林格溶液(Ringer'ssolution)；(19)乙醇；(20)pH 缓冲溶液；(21)聚酯、聚碳酸酯和/或聚酐；及(22)其他用于药物制剂中的无毒相容物质。

具体实施方式

以下将通过实施例对本发明的内容进行详细描述。实施例中未注明具体条件的，按照常规条件的实验方法进行。所举实施例是为了更好地对本发明的内容进行说明，但并不能理解为本发明的内容仅限于所举实例。本领域常规技术人员根据上述发明内容对实施方案进行非本质的改进和调整，仍属于本发明的保护范围。

缩写

Fmoc：9-芴基甲氧基羰基

Boc：叔丁氧羰基

HBTU：苯并三氮唑-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸盐

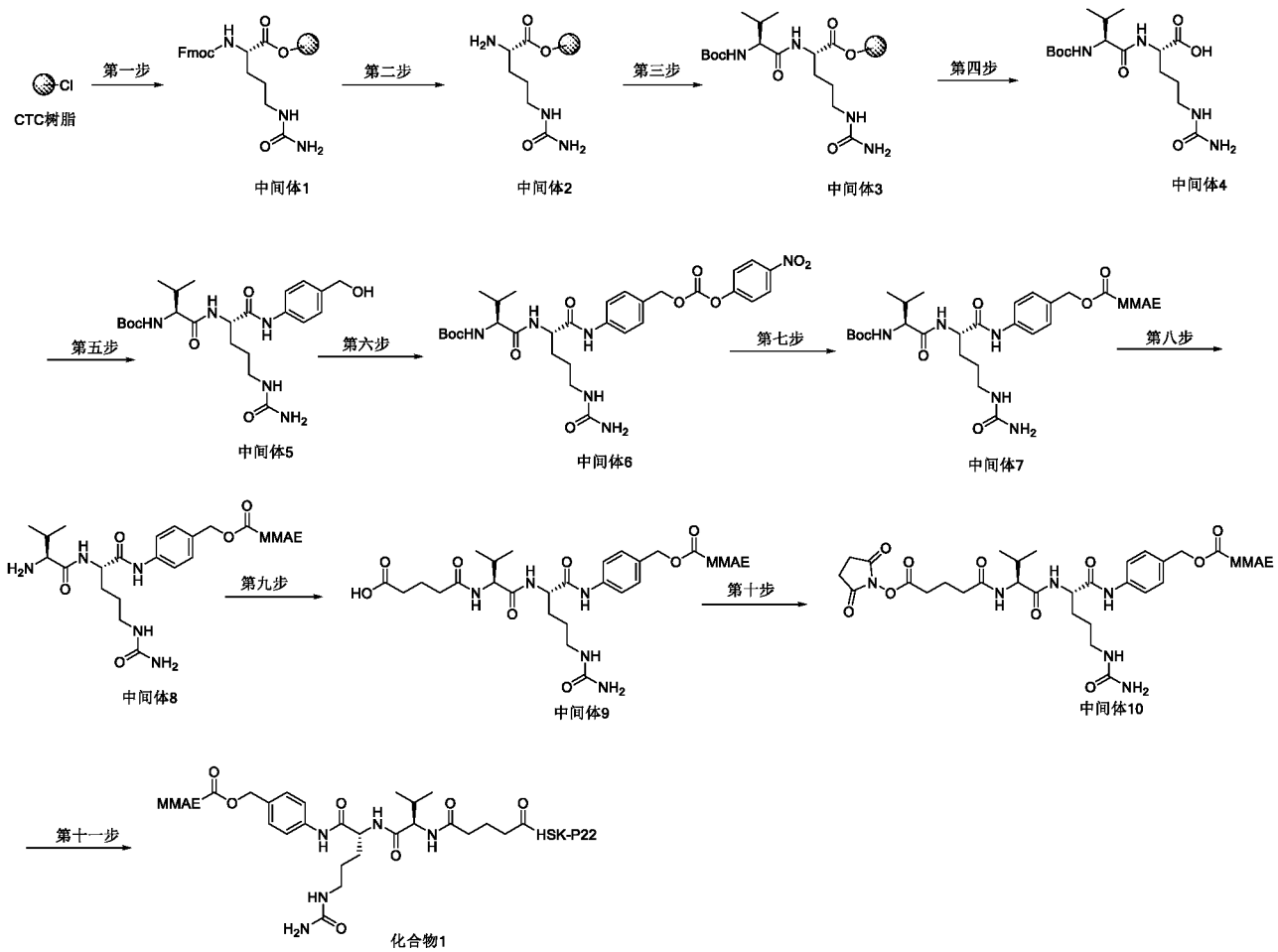
EEDQ：2-乙氧基-1-乙氧碳酰基-1,2-二氢喹啉

HOBT：1-羟基苯并三唑

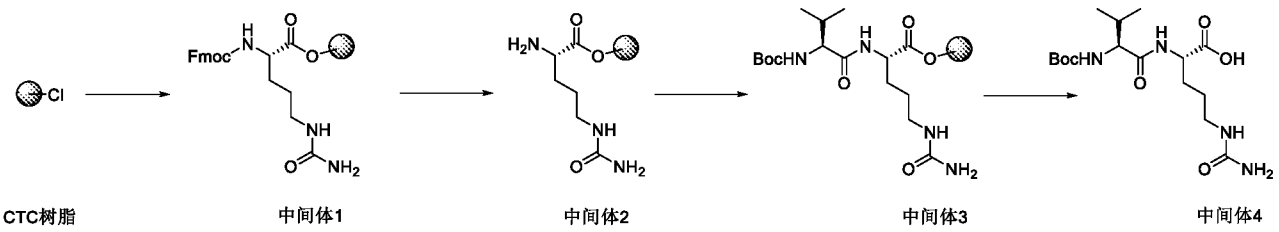
EDCI：1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐

化合物的制备

实施例 1



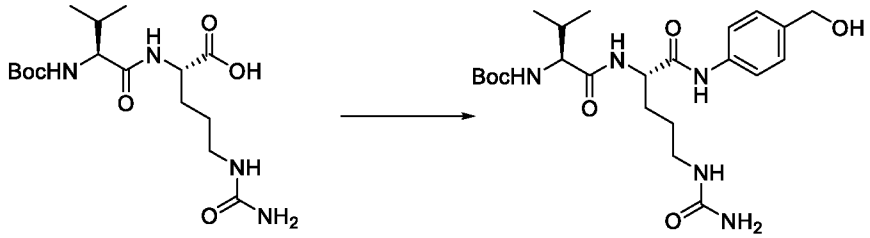
第一至第四步：



将 CTC 树脂(75 g，1.0 mmol/g)和 Fmoc-L-瓜氨酸(30.0 g，75.4 mmol，1.0 eq)加入到二氯甲烷(600 mL)中，再加入 N,N-二异丙基乙胺(58.4 g，453 mmol，6.0 eq)，反应 3 小时。抽滤，树脂用 DMF 洗两次，向树脂混合物中加入配好的 20% 哌啶/DMF 的溶液，体系反应 2 小时，抽滤，树脂用 DMF 洗两次。向树脂混合物中依次加入 DMF(600 mL)，Boc-L-缬氨酸(48.0 g，0.22 mmol，3.0 eq)和 HBTU(85.0 g，0.21 mmol 2.85 eq)和 N,N-二异丙基乙胺(58.4 g，453 mmol，6.0 eq)，体系反应 3 小时，抽滤，树脂用 DMF 洗三次，甲醇洗三次，二氯甲烷洗两次。向树脂混合物中加入配好的 20% 六氟异丙醇/二氯甲烷溶液，体系反应 30 分钟，抽滤，再重复一次前面操作。合并母液，浓缩至干，得到 25.0 g 中间体 4 (四步收率=88%)。

LCMS m/z =374.9 $[M+1]^+$

第五步：

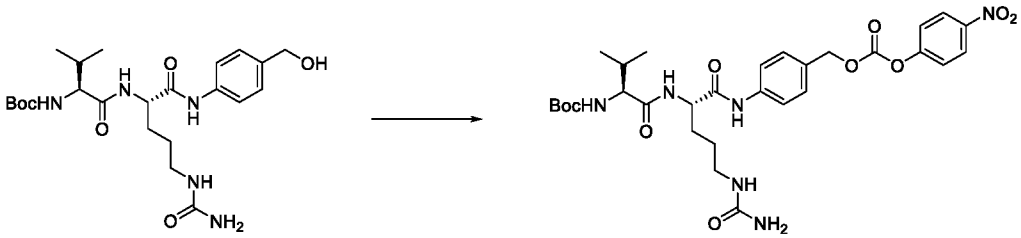


中间体4 中间体5

将中间体 4 (25 g，66.7 mmol)加入到二氯甲烷(250 mL)和甲醇(250 mL)中，再加入对氨基苯甲醇(9.84 g，80.0 mmol)和 EEDQ(39.5 g，80.0 mmol)，室温搅拌 16 h，浓缩至干，柱层析纯化(DCM:MeOH=10:1)，得到 10 g 中间体 5(收率=31%)。

LCMS m/z =480.1 $[M+1]^+$

第六步：

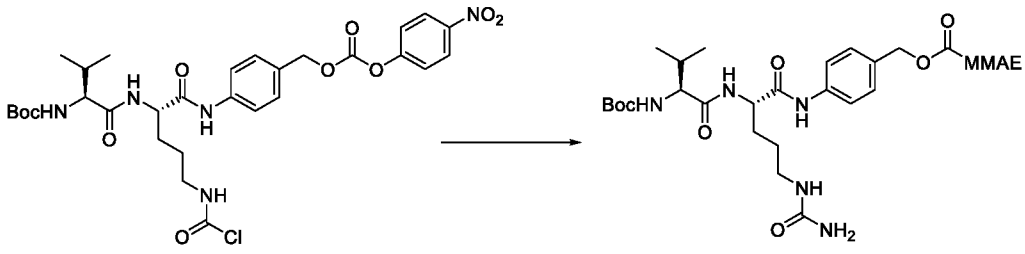


中间体5 中间体6

将中间体 5 (10.0 g，20.8 mmol)加入到干燥的二氯甲烷(120 mL)和干燥的四氢呋喃(60 mL)中，氮气保护，再加入对硝基苯基氯甲酸酯(6.2 g，31.2 mmol)和吡啶(3.3 g，41.6 mmol)，室温搅拌 5 h，过滤，母液浓缩至干，柱层析纯化(DCM:MeOH=10:1)得到 2.3 g 中间体 6(收率=16.6%)。

LCMS m/z =664.3 $[M+1]^+$

第七步：



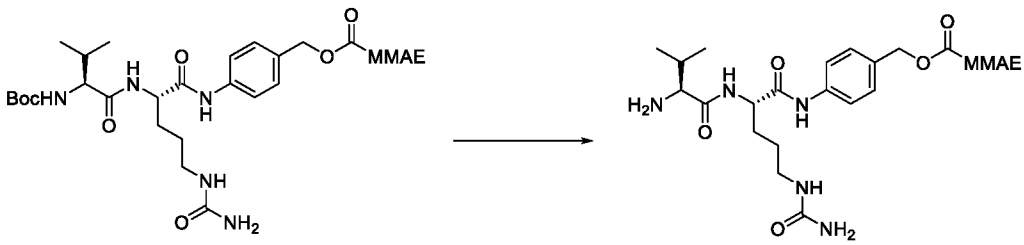
中间体6 中间体7

将中间体 6 (2.1 g, 3.1 mmol)和 N,N-二异丙基乙胺(3.6 g, 31 mmol)加入到 DMF(40 mL)中，氮气保护，室温搅拌 10 分钟，降温至 0℃，再加入 MMAE（购自成都华捷明生物科技

有限公司，2.0 g，3.1 mmol)和 HOBT(0.38 g，3.1 mmol)，保温搅拌 30 分钟，移至室温搅拌 18 h，直接 C18 反相柱纯化(0.1% TFA)(H_2O:ACN=50:50)，得到 2.7 g 中间体 7(收率=70%)。

LCMS m/z =1223.4 $[M+1]^+$

第八步：

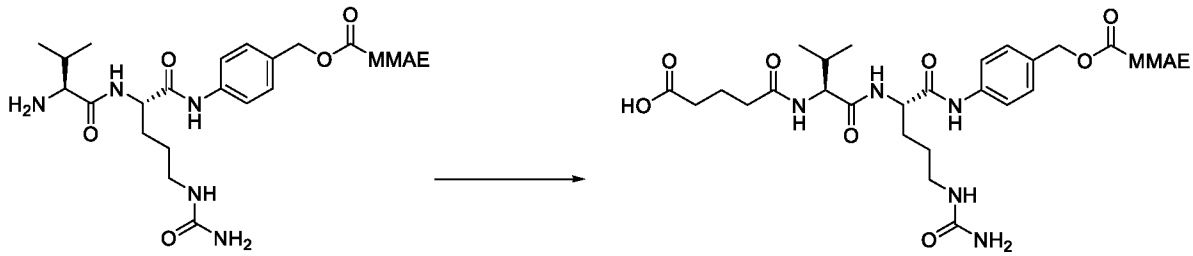


中间体7 中间体8

向中间体 7 (2.0 g，1.6 mmol)中加入混合均匀的 TFA/DCM=1:10 的混合液(34 mL)，室温搅拌 2 h，25℃浓缩干溶剂，加入 THF(110 mL)和碳酸钾(2.26 g，16 mmol)，室温搅拌 3 h。浓缩至干，直接 C_{18} 反相柱纯化(0.1% TFA)(H_2O:ACN=60:40)，得到 1.4 g 中间体 8 (收率=76.5%)。

LCMS m/z =1123.4 $[M+1]^+$

第九步：

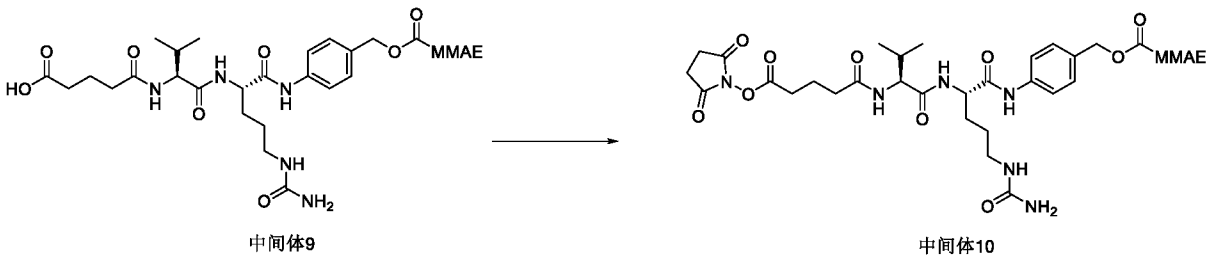


中间体8 中间体9

将中间体 8 (1.4 g，1.25 mmol)，戊二酸酐(0.29 g，2.5 mmol)和 N,N-二异丙基乙胺(0.33 g，2.5 mmol)加入到 DMA(14 mL)中，室温搅拌 18 h，C_{18} 反相制备柱纯化(0.1% TFA)(H_2O:ACN=50:50)，得到 1.3 g 中间体 9(收率=84.4%)。

LCMS m/z =1237.4 $[M+1]^+$

第十步：



中间体9 中间体10

将中间体 9 (1.3 g，1.05 mmol)，加入到 DMA (58 mL)和二氯甲烷(20 mL)中，氮气保护，降温至 0℃，加入 N-羟基丁二酰亚胺(0.37 g，3.15 mmol)和 EDCI (0.61 g，3.15 mmol)，室温搅拌 18 h，C_{18} 反相制备柱纯化(0.1% TFA)(H_2O:ACN=50:50)，得到 1.0 g 中间体 10 (收率=71.4%)。

LCMS m/z =1334.5 $[M+1]^+$

第十一步：

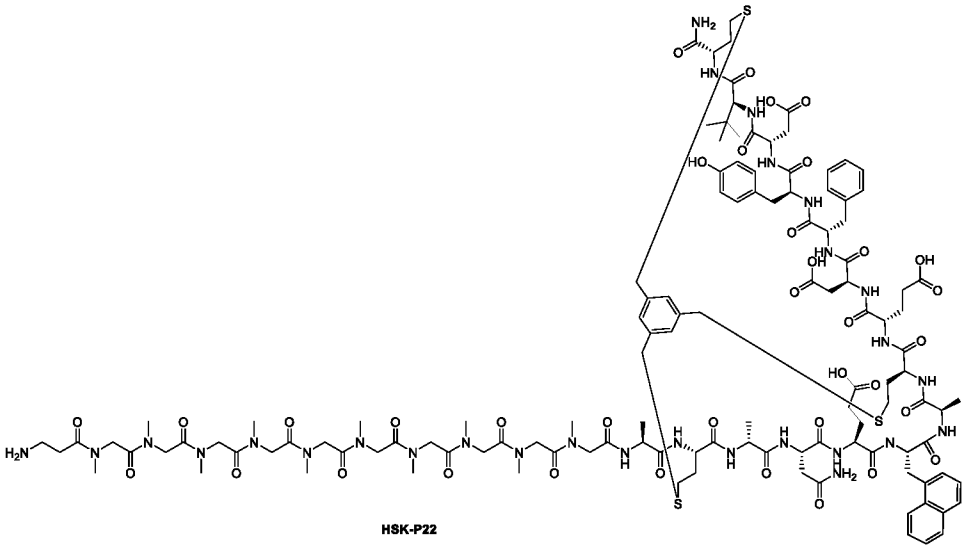


中间体10 化合物1

将中间体 10 (10 mg，7.5 umol)和 HSK-P22 (20 mg，6.2 umol)加入到 DMA (1 mL)中，再加入 N,N-二异丙基乙胺(2.4 mg，18.6 umol)，室温搅拌 18 h。用液相制备柱分离提纯得到 10 mg 化合物 1。

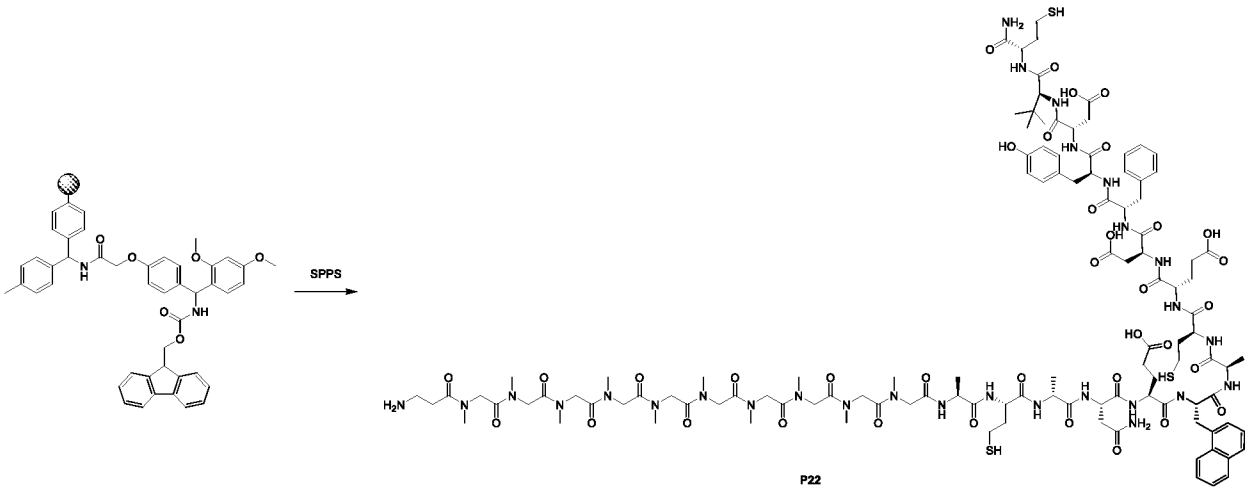
LCMS m/z =981.0 $[M/4+1]^+$, 1307.2$[M/3+1]^+$.

双环肽 HSK-P22 的合成



HSK-P22

P22 合成方法：



多肽的合成采用标准的 Fmoc 化学方法：

1. 向反应器中加入 MBHA 树脂 (0.5 mmol，1.85 g，sub: 0.27 mmol/g)和 DMF 溶剂，震摇 2 小时。
2. 抽干并以 DMF 淋洗三次。
3. 加入 20%的哌啶/DMF，混合 30 分钟。
4. 抽干并以 DMF 淋洗五次。
5. 加入 Fmoc 保护的氨基酸溶液，混合 30 秒后加入偶联试剂，氮气鼓泡 1 小时。
6. 下一个氨基酸偶联重复步骤 2-5.

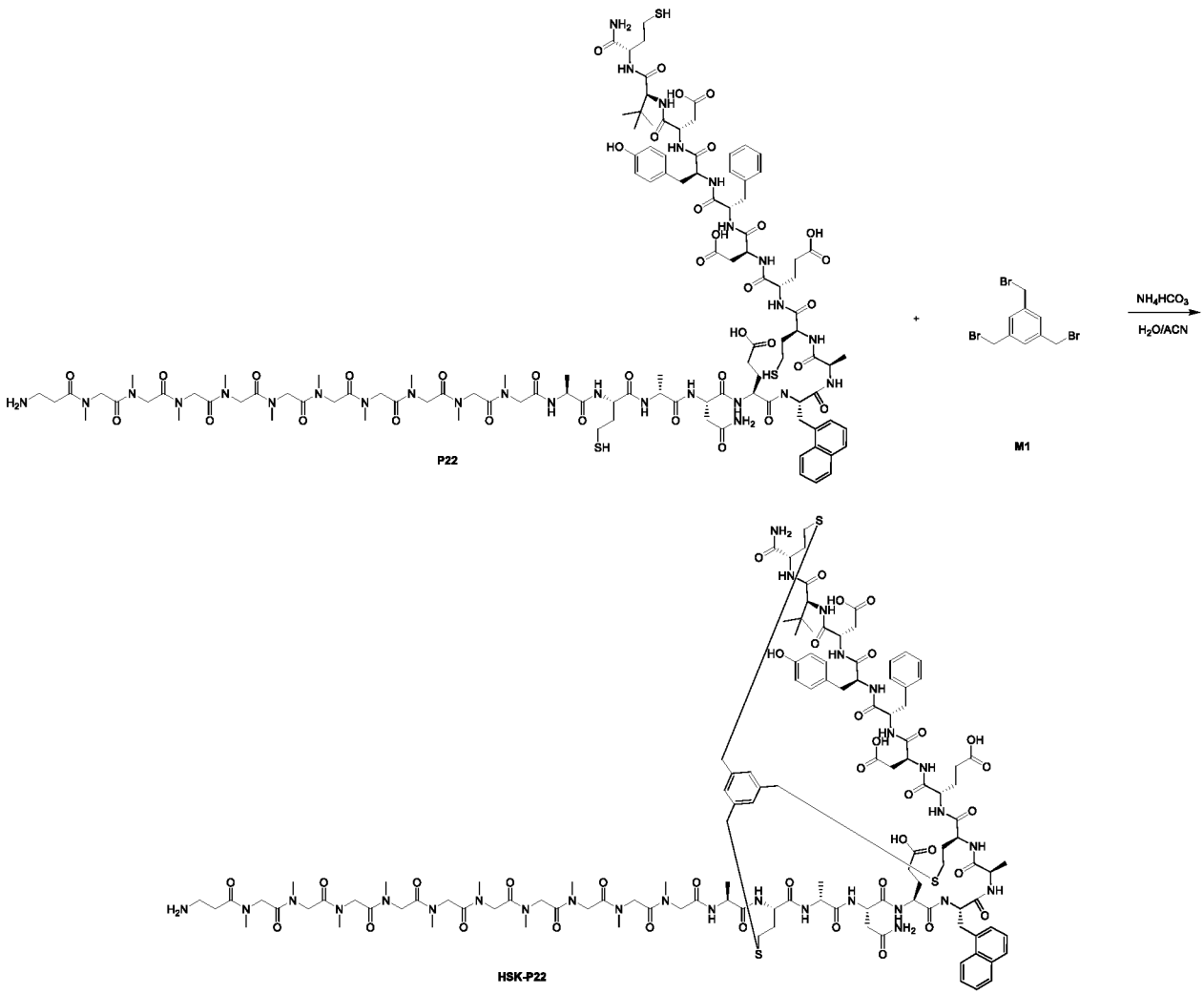
#	原料	偶联试剂
1	Fmoc-HCys(Trt)-OH (2.0 eq.)	HATU (1.90 eq.) and DIEA (4.0 eq.)
2	Fmoc-tBuGly-OH (2.0 eq.)	HATU (1.90 eq.) and DIEA (4.0 eq.)
3	Fmoc-Asp(OtBu)-OH (3.0 eq.)	HATU (2.85 eq.) and DIEA (6.0 eq.)
4	Fmoc-Tyr(tBu)-OH (3.0 eq.)	HATU (2.85 eq.) and DIEA (6.0 eq.)
5	Fmoc-Phe-OH (3.0 eq.)	HATU (2.85 eq.) and DIEA (6.0 eq.)
6	Fmoc-Asp(OtBu)-OH (3.0 eq.)	HATU (2.85 eq.) and DIEA (6.0 eq.)
7	Fmoc-Glu(OtBu)-OH (3.0 eq.)	HATU (2.85 eq.) and DIEA (6.0 eq.)
8	Fmoc-HCys(Trt)-OH (2.0 eq.)	HATU (1.90 eq.) and DIEA (4.0 eq.)
9	Fmoc-D-Ala-OH (3.0 eq.)	HATU (2.85 eq.) and DIEA (6.0 eq.)
10	Fmoc-1Nal-OH (3.0 eq.)	HATU (2.85 eq.) and DIEA (6.0 eq.)
11	Fmoc-Glu(OtBu)-OH (3.0 eq.)	HATU (2.85 eq.) and DIEA (6.0 eq.)
12	Fmoc-Asn(Trt)-OH (3.0 eq.)	HATU (2.85 eq.) and DIEA (6.0 eq.)
13	Fmoc-D-Ala-OH (3.0 eq.)	HATU (2.85 eq.) and DIEA (6.0 eq.)
14	Fmoc-HCys(Trt)-OH (2.0 eq.)	HATU (1.90 eq.) and DIEA (4.0 eq.)

15	Fmoc-Ala-OH (3.0 eq.)	HATU (2.85 eq.) and DIEA (6.0 eq.)
16	Fmoc-Sar-OH (3.0 eq.)	HATU (2.85 eq.) and DIEA (6.0 eq.)
17	Fmoc-Sar-OH (3.0 eq.)	HATU (2.85 eq.) and DIEA (6.0 eq.)
18	Fmoc-Sar-OH (3.0 eq.)	HATU (2.85 eq.) and DIEA (6.0 eq.)
19	Fmoc-Sar-OH (3.0 eq.)	HATU (2.85 eq.) and DIEA (6.0 eq.)
20	Fmoc-Sar-OH (3.0 eq.)	HATU (2.85 eq.) and DIEA (6.0 eq.)
21	Fmoc-Sar-OH (3.0 eq.)	HATU (2.85 eq.) and DIEA (6.0 eq.)
22	Fmoc-Sar-OH (3.0 eq.)	HATU (2.85 eq.) and DIEA (6.0 eq.)
23	Fmoc-Sar-OH (3.0 eq.)	HATU (2.85 eq.) and DIEA (6.0 eq.)
24	Fmoc-Sar-OH (3.0 eq.)	HATU (2.85 eq.) and DIEA (6.0 eq.)
25	Fmoc-Sar-OH (3.0 eq.)	HATU (2.85 eq.) and DIEA (6.0 eq.)
26	Fmoc-β-Ala-OH (3.0 eq.)	HATU (2.85 eq.) and DIEA (6.0 eq.)

20%哌啶 DMF 溶液，30 分钟用于 Fmoc 保护剂的脱除。使用茚三酮监测偶联反应，树脂以 DMF 洗涤 5 次。

肽的断裂和纯化：

1. 将多肽侧链保护的多肽加入反应瓶中，加入断裂缓冲液(90% TFA /2.5% TIS /2.5% H_2O /5.0% DTT)，室温搅拌 2 小时。
2. 加入冰的异丙醚，多肽析出，离心(3 min at 3000 rpm)。
3. 用异丙醚洗涤两次。
4. 真空干燥得到白色固体粗品肽化合物 P22 (1.20 g，粗品)。



HSK-P22 的合成方法：

将粗品肽 P22 溶于 50% MeCN/H_2O (500 mL)，室温搅拌下缓慢加入 TBMB (购自药明康德，270 mg, 0.60 mmol)，加料时间 30 分钟以上，加完，室温搅拌 30 分钟，加入碳酸氢铵调节 PH 值至 8，反应液室温搅拌 12 小时，LC-MS 显示反应完毕，制备 HPLC 纯化(流动相，A: 0.075% TFA in H_2O, B: CH_3CN) 得到白色固体 HSK-P22 (42.1 mg，纯度 97.3%)。

按照上述方法，分别合成了 HSK-P46，HSK-P47，HSK-P48，HSK-P49，HSK-P50，HSK-P51。

HSK-P22:氨基酸序列为(β-Ala)-Sar10-Ala-SEQ ID NO:1 (Hcys-(D-Ala)-Asn-Glu-(1-Nal)-(D-Ala)-Hcys-Glu-Asp-Phe-Tyr-Asp-(tBu-Gly)-Hcys)(即 SEQ ID NO:8)，分子支架选自 TBMB。

HSK-P46:氨基酸序列为(β-Ala)-Sar10-Ala-SEQ ID NO:4 (Hcys-(D-Ala)-Asn-Glu-(1-Nal)-(D-Ala)-Hcys-Glu-Asp-Phe-Tyr-Asp-(tBu-Gly)-cys) (即 SEQ ID NO:11)，分子支架选自 TBMB。

HSK-P47:氨基酸序列为(β-Ala)-Sar10-Ala-SEQ ID NO:3 (Hcys-(D-Ala)-Asn-Glu-(1-Nal)-(D-Ala)-Cys-Glu-Asp-Phe-Tyr-Asp-(tBu-Gly)-Hcys) (即 SEQ ID NO:10)，分子支架选自TBMB。

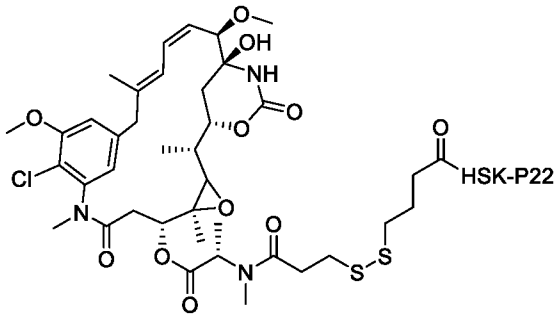
HSK-P48:氨基酸序列为(β-Ala)-Sar10-Ala-SEQ ID NO:2 (Cys-(D-Ala)-Asn-Glu-(1-Nal)-(D-Ala)-Hcys-Glu-Asp-Phe-Tyr-Asp-(tBu-Gly)-Hcys) (即 SEQ ID NO:9)，分子支架选自TBMB。

HSK-P49:氨基酸序列为(β-Ala)-Sar10-Ala-SEQ ID NO:7 (Hcys-(D-Ala)-Asn-Glu-(1-Nal)-(D-Ala)-Cys-Glu-Asp-Phe-Tyr-Asp-(tBu-Gly)-Cys) (即 SEQ ID NO:14)，分子支架选自TBMB。

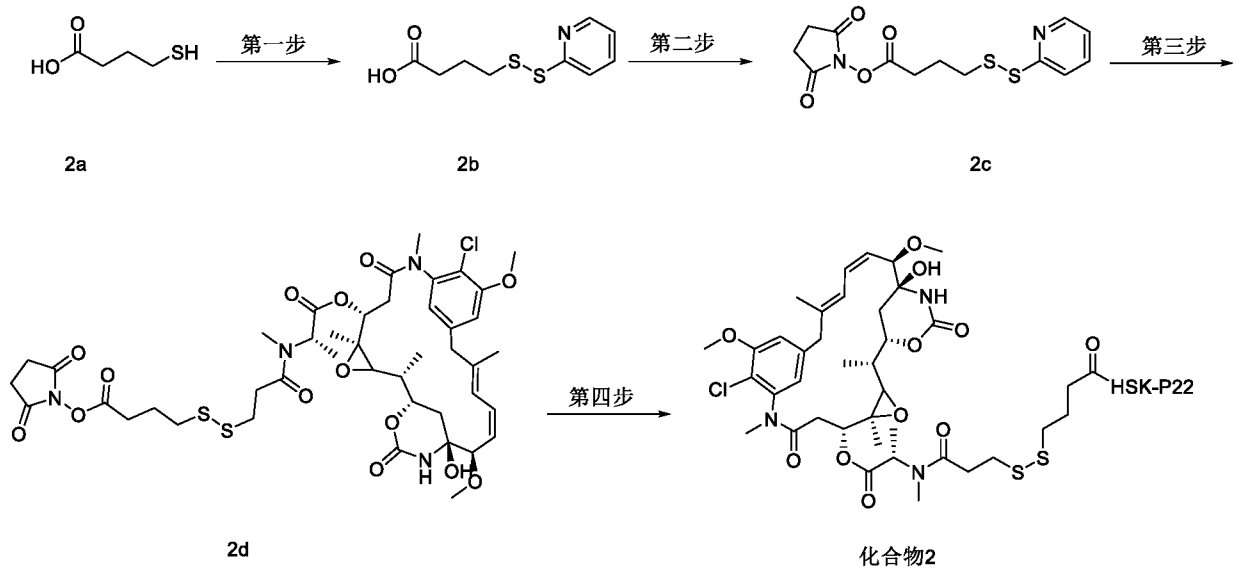
HSK-P50:氨基酸序列为(β-Ala)-Sar10-Ala-SEQ ID NO:6 (Cys-(D-Ala)-Asn-Glu-(1-Nal)-(D-Ala)-Hcys-Glu-Asp-Phe-Tyr-Asp-(tBu-Gly)-Cys) (即 SEQ ID NO:13)，分子支架选自TBMB。

HSK-P51:氨基酸序列为(β-Ala)-Sar10-Ala-SEQ ID NO:5 (Cys-(D-Ala)-Asn-Glu-(1-Nal)-(D-Ala)-Cys-Glu-Asp-Phe-Tyr-Asp-(tBu-Gly)-Hcys) (即 SEQ ID NO:12)，分子支架选自TBMB。

实施例 2



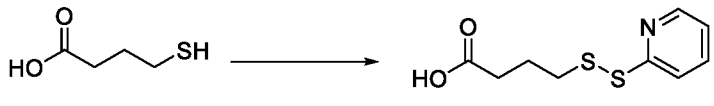
化合物2



2a 2b 2c

2d 化合物2

第一步：

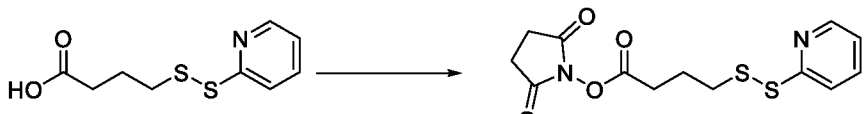


2a 2b

将已知化合物 2a (6 g，50 mmol)和 2,2'-二硫二吡啶(25.0 g，125 mmol)加入到甲醇(60 mL)中，室温反应 3 小时。直接 C_{18} 反相柱纯化(0.1% TFA)(H_2O:ACN=50:50)，得到 10 g 化合物 2b (收率=87%)。

LCMS m/z =230.1 $[M+1]^+$

第二步：

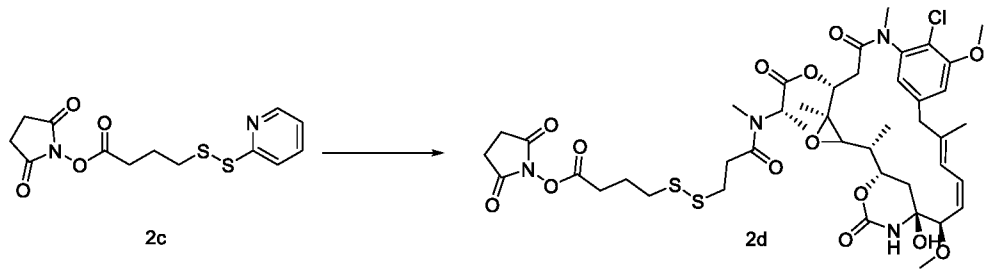


2b 2c

将化合物 2b (10.0 g，43.6 mmol)加入到 N，N-二甲基乙酰胺(75 mL)和二氯甲烷(25 mL)中，再加入 N-羟基丁二酰亚胺(6.0 g，52.4 mmol)和 EDCI(25.0 g， 130.8 mmol)，室温搅拌 1 小时，20℃浓缩除去二氯甲烷，直接 C_{18} 反相柱纯化(0.1% TFA) (H_2O:ACN=40:60)，得到 10 g 化合物 2c (收率=70%)。

LCMS m/z =327.0 $[M+1]^+$

第三步：

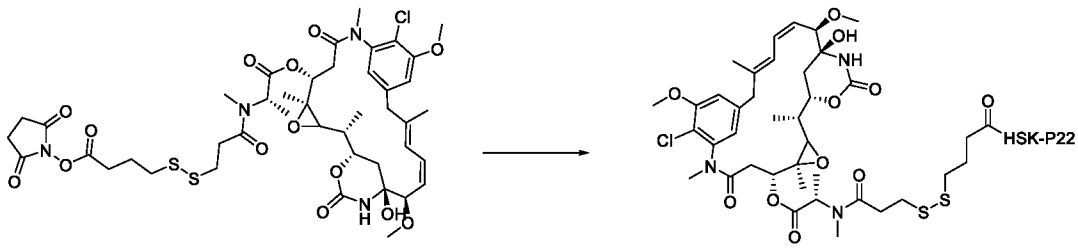


2c 2d

将化合物 2c (45 mg，0.138 mmol)加入到 N，N-二甲基乙酰胺(3 mL)和二氯甲烷(1 mL)中，氮气保护，再加入 DM1 (70 mg，0.094 mmol)，室温搅拌 18 小时，20℃浓缩除去二氯甲烷，直接 C_{18} 反相柱纯化(0.1% TFA)(H_2O:ACN=40:60)，得到 50 mg 化合物 2d (收率=55%)。

LCMS m/z =935.3 $[M+1-H_2O]^+$

第四步：

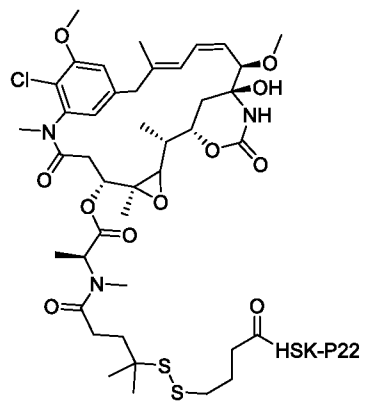


2d 化合物2

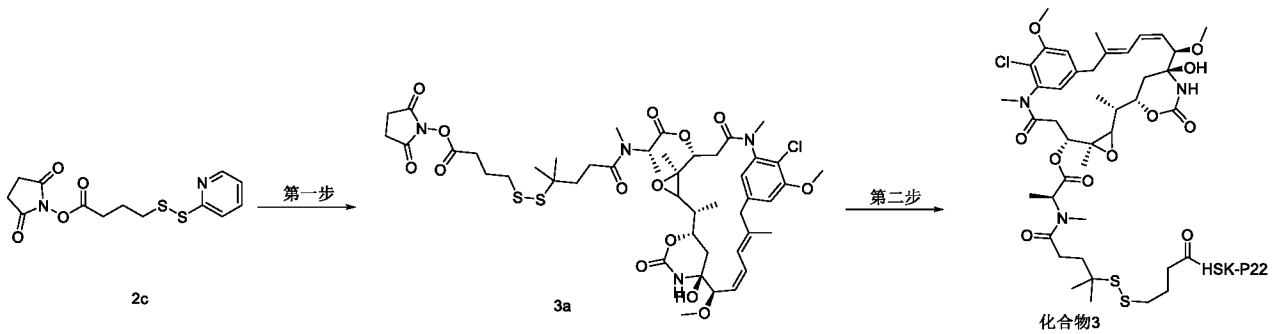
将化合物 2d (10 mg，10 umol)和 HSK-P22 (20 mg，7.4 umol)加入到 DMA(1 mL)中，再加入 N,N-二异丙基乙胺(2.4 mg，18.6 umol)，室温搅拌 18 h。用液相制备柱分离提纯(液相制备条件：C_{18} 反相制备柱，流动相为含 0.1%三氟乙酸的去离子水(A)，含 0.1%三氟乙酸的乙腈 (B)，梯度洗脱，B 含量=5%~70%，洗脱时间 15 min，流速 12 mL/min，柱温：30℃，保留时间：5.64 min)得到 15 mg 化合物 2(收率=57%)。

LCMS m/z =1174.8 $[(M-H_2O)/3+1]^+$

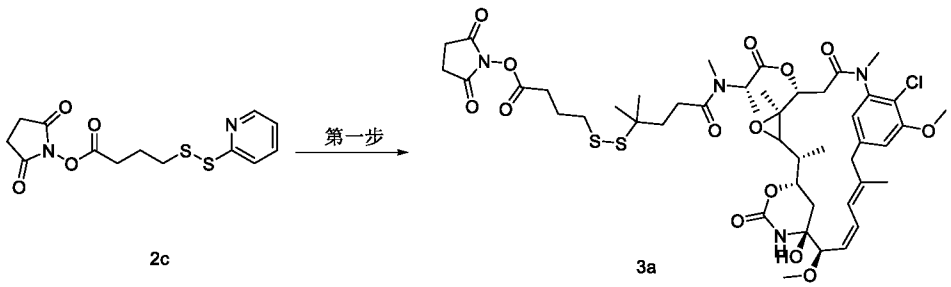
实施例 3



化合物3

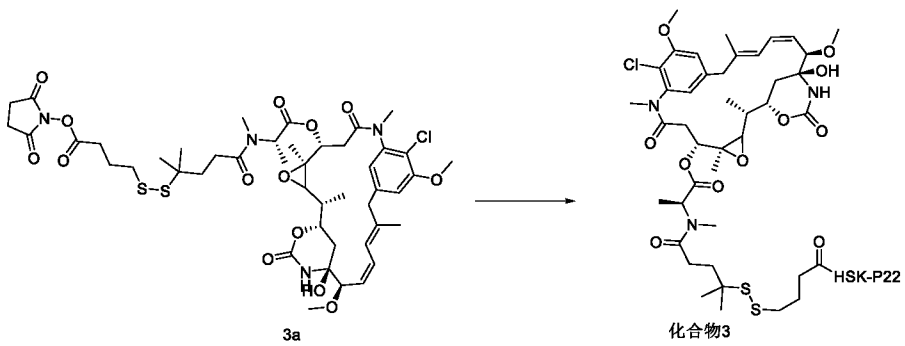


第一步：



将化合物 2c (376 mg，1.15 mmol)加入到 N，N-二甲基乙酰胺(8 mL)和饱和碳酸氢钠水溶液(0.9 mL)中，氮气保护，再加入 DM4 (180 mg，0.23 mmol)，室温搅拌 18 小时，20°C浓缩除去二氯甲烷，直接 C_{18} 反相柱纯化(0.1% TFA)(H_2O:ACN=40:60)，得到 20 mg 化合物 3a (收率=8.7%)。

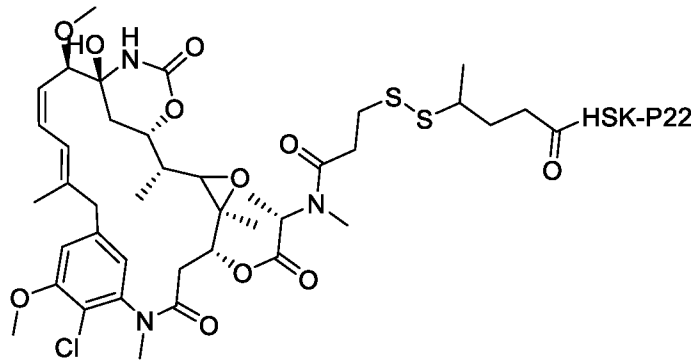
第二步：



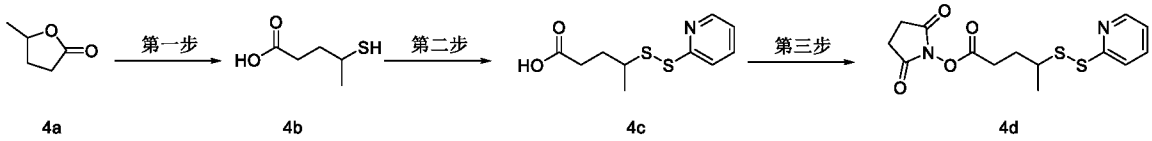
将化合物 3a (14 mg，14 umol)和 HSK-P22 (23 mg，8.5 umol)加入到 DMA(1 mL)中，再加入 N,N-二异丙基乙胺(2.4 mg，18.6 umol)，室温搅拌 18 h。用液相制备柱分离提纯(液相制备条件：C_{18} 反相制备柱，流动相为含 0.1%三氟乙酸的去离子水(A)，含 0.1%三氟乙酸的乙腈 (B)，梯度洗脱，B 含量=5%~70%，洗脱时间 15min，流速 12 mL/min，柱温：30°C，保留时间：5.53 min)得到 15 mg 化合物 3(收率=50%)。

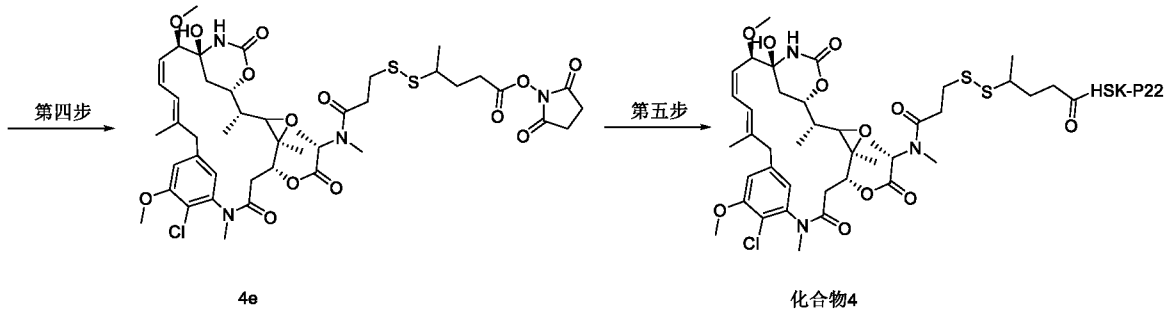
LCMS m/z =1188.3 $[(M-H_2O)/3+1]^+$.

实施例 4

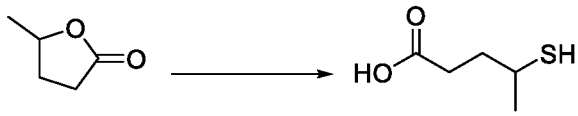


化合物4





第一步：

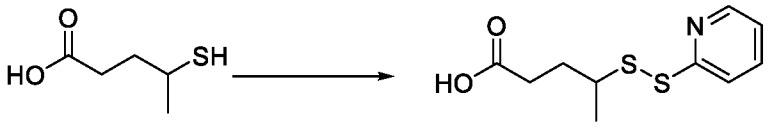


4a 4b

将已知化合物 4a (70 g，0.7 mol)加入到 40%的氢溴酸水溶液(400 mL)中，加热至100℃，再加入硫脲(280g，3.68mol)，回流反应 24 小时。用 40℃温水(200 mL)稀释反应液，二氯甲烷萃取三次(300 mL×3)，再用乙醚(300 mL)萃取一次，水相用 10N NaOH 溶液调 PH 至 12，继续回流反应 24 小时，冷却至室温，用 6N HCl 调 PH 至 1，二氯甲烷萃取(300 mL×2)，饱和食盐水洗(300 mL)，无水硫酸钠干燥，过滤，浓缩得到 12 g 化合物 4b(收率=12.8%)。

LCMS m/z =133.1 $[M-1]^-$

第二步：

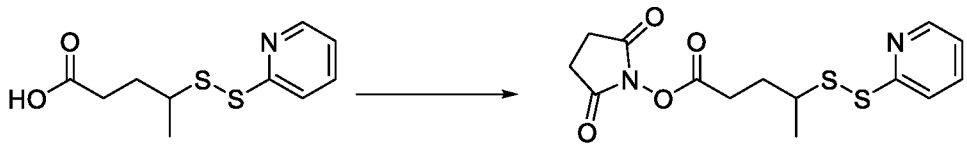


4b 4c

将化合物 4b (12.0 g，89.5 mmol)和 2,2'-二硫二吡啶(49.2 g，223.7 mmol)加入到甲醇(130 mL)中，室温反应 3 小时。柱层析纯化(DCM:MeOH=10:1)得到 18g 化合物 4c (收率=83%)。

LCMS m/z =244.1 $[M+1]^+$

第三步：

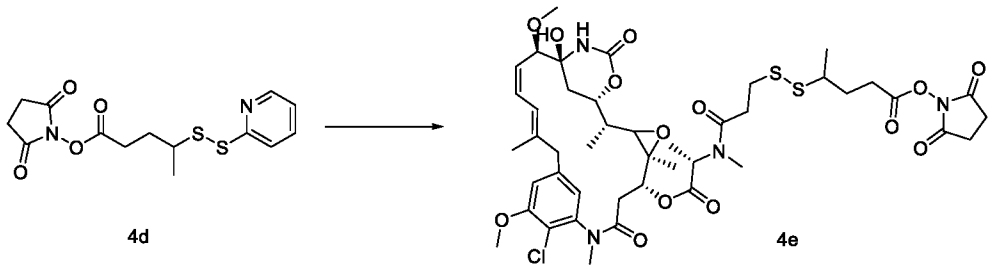


4c 4d

将化合物 4c (5.3 g，21.8 mmol)加入到 N，N-二甲基乙酰胺(40 mL)和二氯甲烷(14 mL)中，再加入 N-羟基丁二酰亚胺(3.0 g，26.2 mmol)和 EDCI(12.5 g，65.4 mmol)，室温搅拌 1 小时，20℃浓缩除去二氯甲烷，加水(80 mL)和乙酸乙酯(80 mL×2）萃取，乙酸乙酯相用无水硫酸钠干燥，浓缩后柱层析纯化(DCM:MeOH=10:1)得到 7.1 g 化合物 4d(收率=96%)。

LCMS m/z =341.0 $[M+1]^+$

第四步：

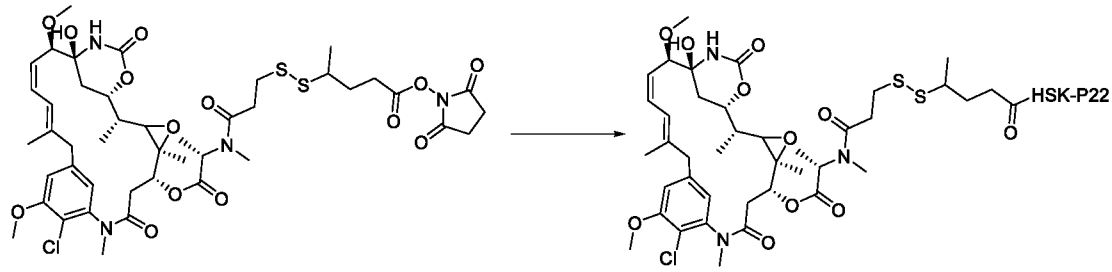


4d 4e

将化合物 4d (126 mg，0.37 mmol)加入到 N，N-二甲基乙酰胺(3 mL)和二氯甲烷(1 mL)中，氮气保护，再加入 DM1 (182 mg，0.25 mmol)，室温搅拌 18 小时，20℃浓缩除去二氯甲烷，C18 反相柱纯化(0.1% TFA)(H_2O:ACN=40:60)，得到 180 mg 化合物 4e (收率=50%)。

LCMS m/z =949.3 $[M+1-H_2O]^+$

第五步：

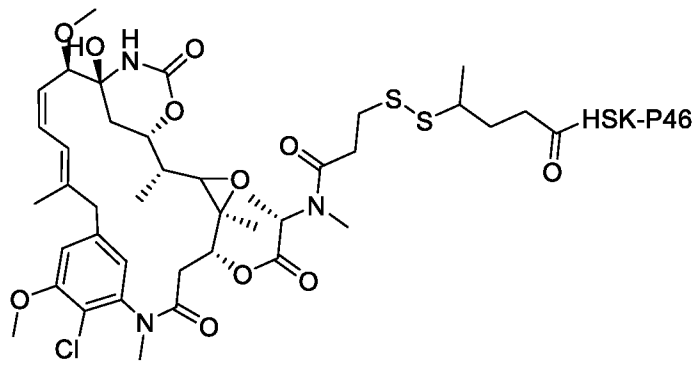


4e 化合物4

将化合物 4e (13 mg，13.3 mmol)和 HSK-P22 (30 mg，11.1 umol)加入到 DMA(1 mL)中，再加入 N,N-二异丙基乙胺(4.3 mg，33.3umol)，室温搅拌 18 h。用液相制备柱分离提纯(液相制备条件：C18 反相制备柱，流动相为含 0.1%三氟乙酸的去离子水(A)，含 0.1%三氟乙酸的乙腈 (B)，梯度洗脱，B 含量=5%~70%，洗脱时间 15min，流速 12 mL/min，柱温：30℃，保留时间：5.34 min)得到 20 mg 化合物 4 (收率=51%)。

LCMS m/z =1179.4 $[(M-H_2O)/3+1]^+$

实施例 5



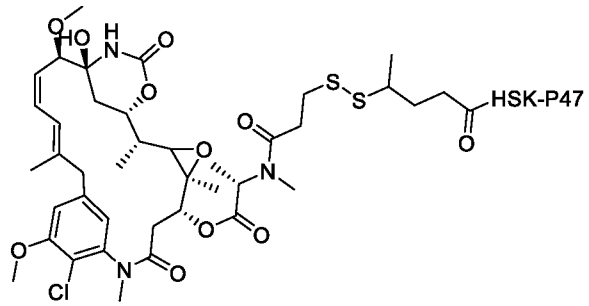
化合物5

合成方法参照实施例 4：

将化合物 4e (9 mg，8.9 umol)和 HSK-P46 (20 mg，7.4 umol)加入到 DMA(1 mL)中，再加入 N,N-二异丙基乙胺(2.8 mg，22.2 umol)，室温搅拌 18 h。用液相制备柱分离提纯得到 10 mg 化合物 5。

LCMS m/z =1174.6 $[(M-H_2O)/3+1]$.

实施例 6



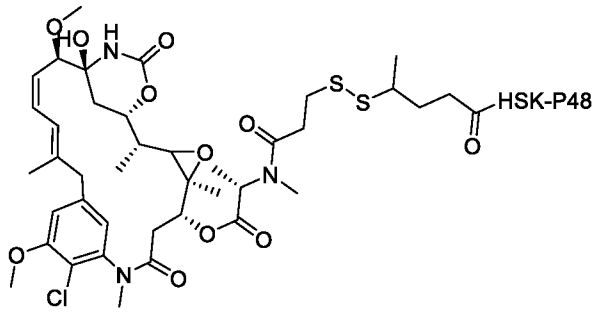
化合物6

合成方法参照实施例 4：

将化合物 4e (9 mg，8.9 umol)和 HSK-P47 (20 mg，7.4 umol)加入到 DMA(1 mL)中，再加入 N,N-二异丙基乙胺(2.8 mg，22.2 umol)，室温搅拌 18 h。用液相制备柱分离提纯(液相制备条件：C18 反相制备柱，流动相为含 0.1％三氟乙酸的去离子水(A)，含 0.1％三氟乙酸的乙腈 (B)，梯度洗脱，B 含量=5%~70%，洗脱时间 15 min，流速 12 mL/min，柱温：30℃，保留时间：5.58 min)得到 11mg 化合物 6。

LCMS m/z =1174.2 $[(M-H_2O)/3+1]^+$.

实施例 7



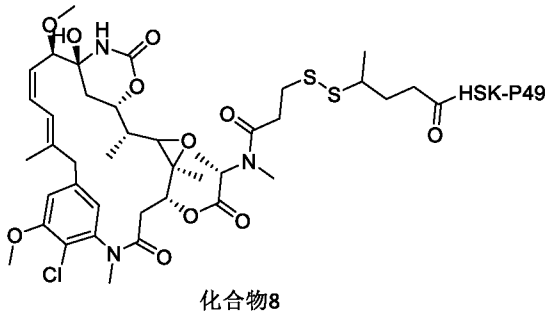
化合物7

合成方法参照实施例 4：

将化合物 4e (9 mg，8.9 umol)和 HSK-P48 (20 mg，7.4 umol)加入到 DMA(1 mL)中，再加入 N,N-二异丙基乙胺(2.8 mg，22.2 umol)，室温搅拌 18 h。用液相制备柱分离提纯得到 10 mg 化合物 7。

LCMS m/z =1174.3 $[(M-H_2O)/3+1]^+$.

实施例 8



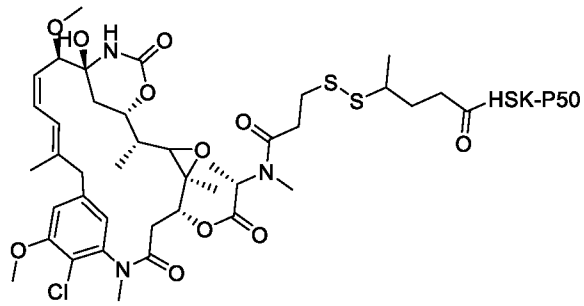
化合物8

合成方法参照实施例 4：

将化合物 4e (9 mg，8.9 umol)和 HSK-P49 (20 mg，7.4 umol)加入到 DMA(1 mL)中，再加入 N,N-二异丙基乙胺(2.8 mg，22.2 umol)，室温搅拌 18 h。用液相制备柱分离提纯得到 12 mg 化合物 8。

LCMS m/z =1169.8 $[(M-H_2O)/3+1]^+$.

实施例 9



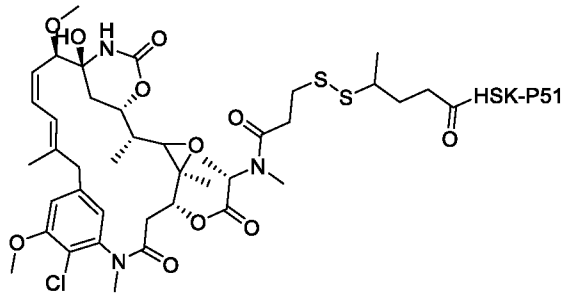
化合物9

合成方法参照实施例 4：

将化合物 4e (9 mg，8.9 umol)和 HSK-P50 (20 mg，7.4 umol)加入到 DMA(1 mL)中，再加入 N,N-二异丙基乙胺(2.8 mg, 22.2 umol)，室温搅拌 18 h。用液相制备柱分离提纯得到 11 mg 化合物 9。

LCMS m/z =1170.1 $[(M-H_2O)/3+1]^+$.

实施例 10



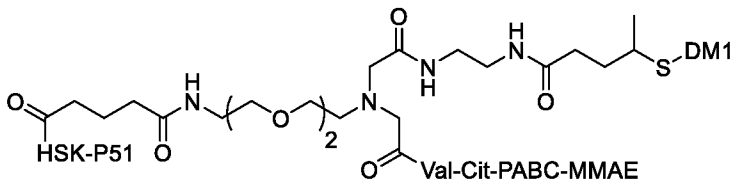
化合物10

合成方法参照实施例 4：

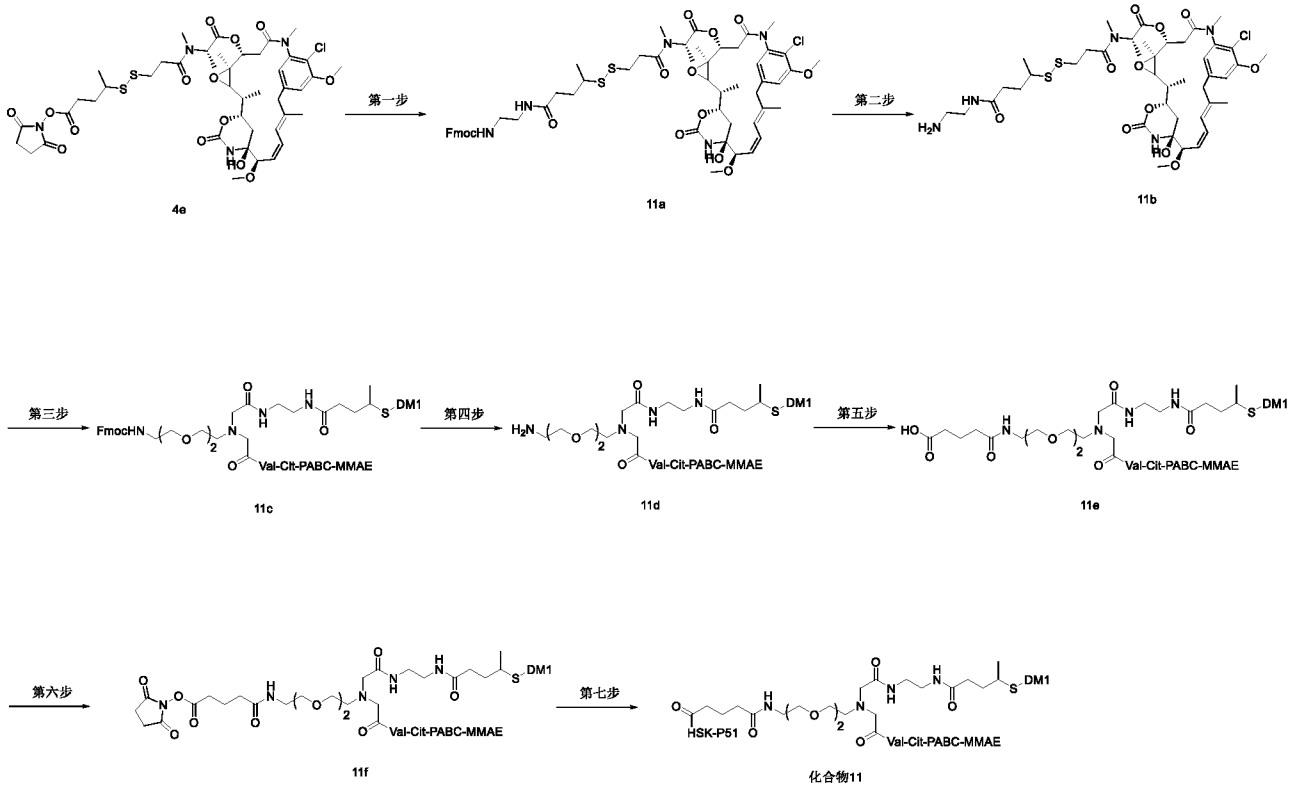
将化合物 4e (9 mg，8.9 umol)和 HSK-P51(20 mg，7.4 umol)加入到 DMA(1 mL)中，再加入 N,N-二异丙基乙胺(2.8 mg，22.2 umol)，室温搅拌 18 h。用液相制备柱分离提纯(液相制备条件：C18 反相制备柱，流动相为含 0.1%三氟乙酸的去离子水(A)，含 0.1%三氟乙酸的乙腈 (B)，梯度洗脱，B 含量=5%~70%，洗脱时间 15min，流速 12 mL/min，柱温：30℃，保留时间：5.48 min)得到 10 mg 化合物 10。

LCMS m/z =1169.9 $[(M-H_2O)/3+1]^+$.

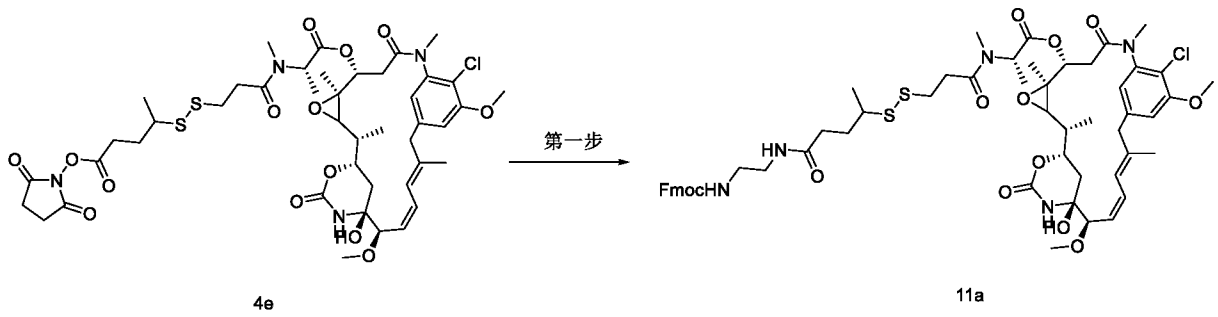
实施例 11



化合物11



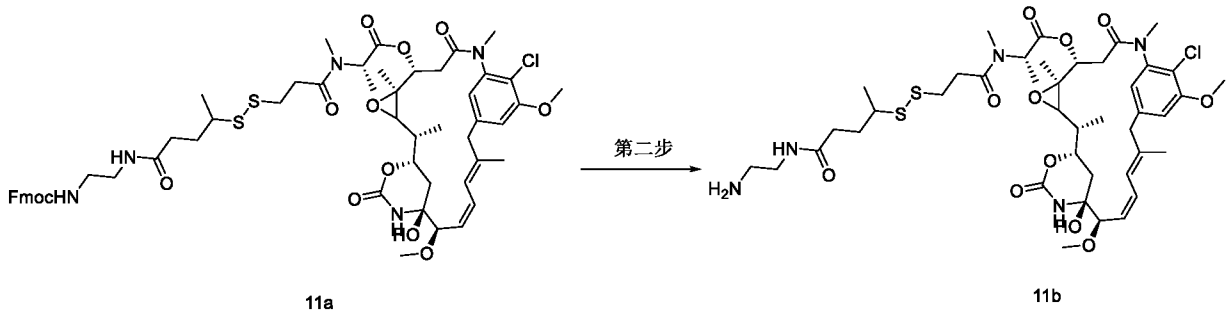
第一步：



将化合物 4e (1.2 g，1.2 mmol)和 N-芴甲氧羰基-1,2-二氨基乙烷盐酸盐(475 mg，1.44 mmol)加入到 DMA(10 mL)中，再加入 N,N-二异丙基乙胺(480 mg，3.6 mmol)，室温搅拌 18 h。C18 反相制备柱纯化(0.1% TFA)(H_2O:ACN=50:50)，得到 1g 化合物 11a (收率=71.4%)。

LCMS m/z = 1116.4 $[(M-H_2O)+1]^+$.

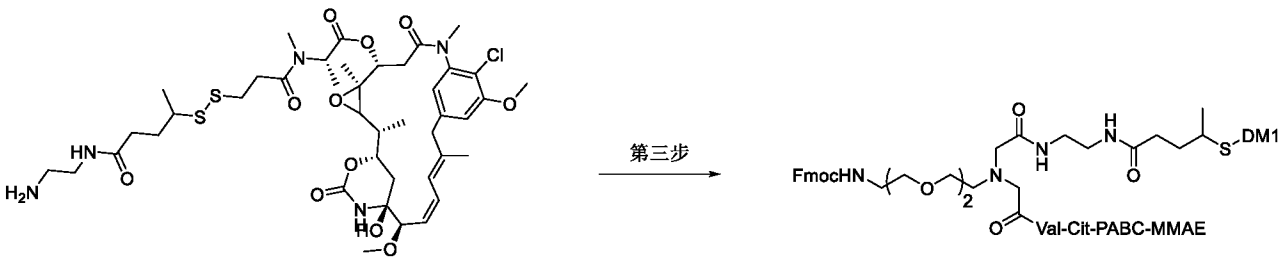
第二步：



将化合物 11a(1.0 g，0.88 mmol)加入到 20%的哌啶/DMF 溶液中(10 mL)，室温搅拌 5 分钟。C18 反相制备柱纯化(0.1% TFA)(H_2O:ACN=55:45)，得到 500mg 化合物 11b (收率=60.0%)。

LCMS m/z =912.3 $[M+1]^+$.

第三步：

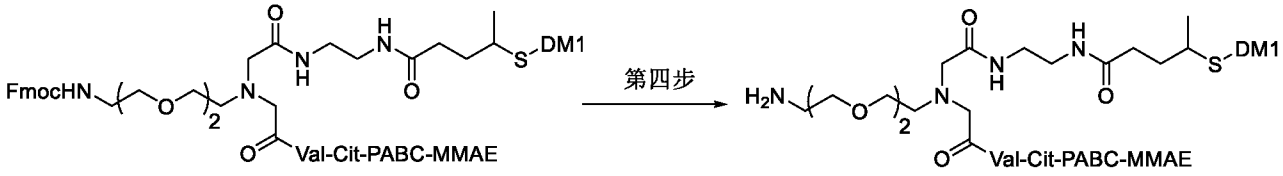


11b 11c

将 17f(394 mg，0.48 mmol)加入到 N,N-二甲基甲酰胺(4 mL)中，再加入 N,N-二异丙基乙胺(186 mg，1.44 mmol)，滴加 Val-Cit-PABC-MMAE 三氟乙酸盐(537 mg，0.43 mmol)的 N,N-二甲基甲酰胺溶液(2 mL)，室温搅拌 30 分钟，再加入 N,N-二异丙基乙胺(186 mg，1.44 mmol)，滴加 11b(440 mg，0.48 mmol)的 N,N-二甲基甲酰胺溶液(2 mL)，室温搅拌 1 h，C18 反相制备柱纯化(0.1% TFA)(H_2O:ACN=35:65)，得到 700 mg 11c(收率=68.3%)。

LCMS m/z = 830.2 $[M/3+1]^+$, 1234.8 $[(M-H_2O)/2+1]^+$.

第四步：

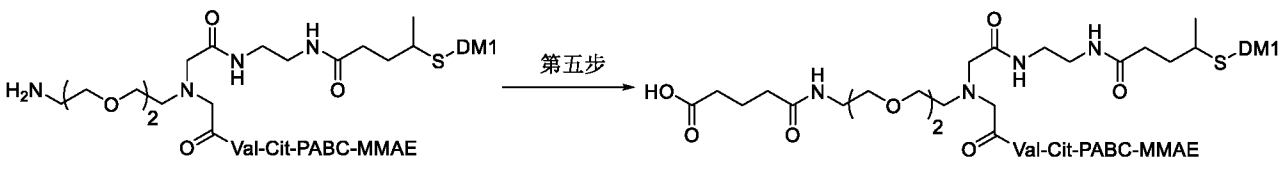


11c 11d

将化合物 11c (0.7 g，0.28 mmol)加入到 20%的哌啶/DMF 溶液中(10 mL)，室温搅拌 5 分钟。C18 反相制备柱纯化(0.1% TFA)(H_2O:ACN=55:45)，得到 600 mg 化合物 11d(收率=94.1%)。

LCMS m/z = 755.5 $[M/3+1]^+$, 1132.2 $[M/2+1]^+$.

第五步：

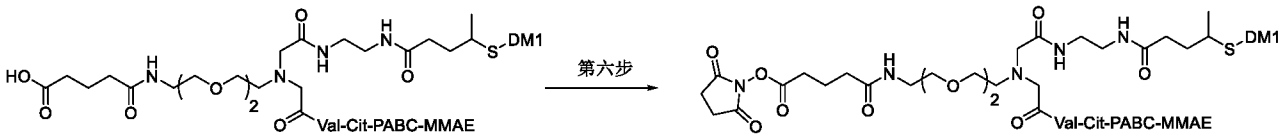


11d 11e

将 11d(600 mg，0.265 mmol)，戊二酸酐(60.4 mg，0.53 mmol)和 N,N-二异丙基乙胺(102 mg，0.795 mmol)加入到 DMA(6 mL)中，室温搅拌 18 h，C18 反相制备柱纯化(0.1% TFA)(H_2O:ACN=50:50)，得到 600 mg 11e(收率=95.2%)。

LCMS m/z =787.3 $[(M-H2O)/3+1]^+$，1181.2$[(M-H2O)/2+1]^+$

第六步：

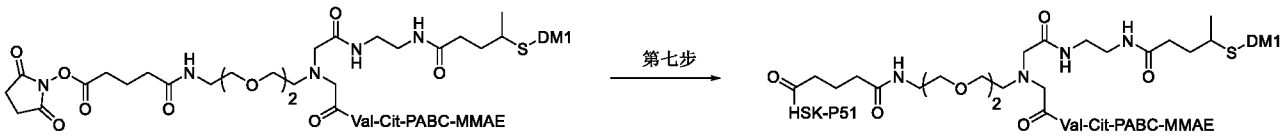


11e 11f

将 11e(440 mg，0.185 mmol)加入到 DMA(4.5 mL)和二氯甲烷(1.5 mL)中，氮气保护，降温至 0℃，加入 N-羟基丁二酰亚胺(128 mg，1.11 mmol)和 EDCI(215 mg，1.11 mmol)，室温搅拌 18 h，20℃浓缩除去二氯甲烷，C18 反相制备柱纯化(0.1% TFA)(H_2O:ACN=55:45)，得到 440 mg 11f(收率=96.0%)。

LCMS m/z =819.8 $[(M-H2O)/3+1]^+$，1229.3 $[(M-H2O)/2+1]^+$

第七步：

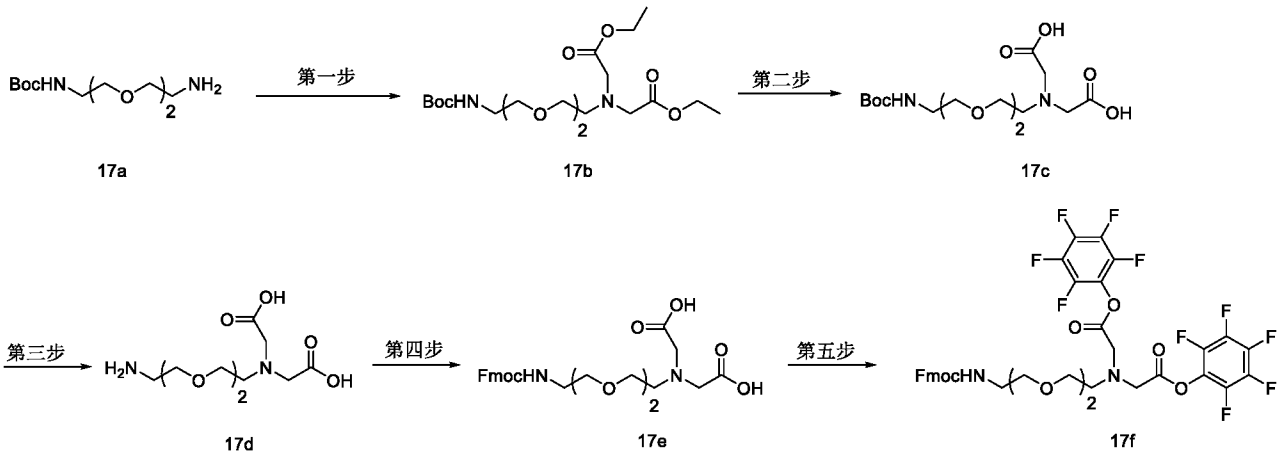


11f 化合物11

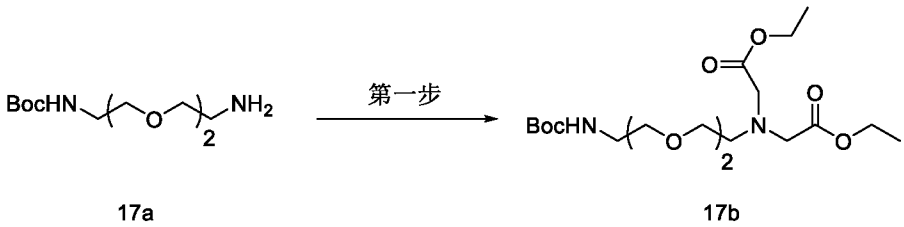
将 11f(40 mg，16.1 umol)和 HSK-P51(50 mg，18.7 umol)加入到 DMA(1 mL)中，再加入 N,N-二异丙基乙胺(6 mg，48 umol)，室温搅拌 18 h。用液相制备柱分离提纯(液相制备条件：C18 反相制备柱，流动相为含 0.1%三氟乙酸的去离子水(A)，含 0.1%三氟乙酸的乙腈(B)，梯度洗脱，B 含量=5%~70%，洗脱时间 15 min，流速 12 mL/min，柱温：30℃，保留时间：5.87 min)得到 40 mg 化合物 11(收率=49.2%)。

LCMS m/z =1003.7 $[(M-H2O)/5+1]^+$, 1254.4 $[(M-H2O)/4+1]^+$.

17f 的制备：



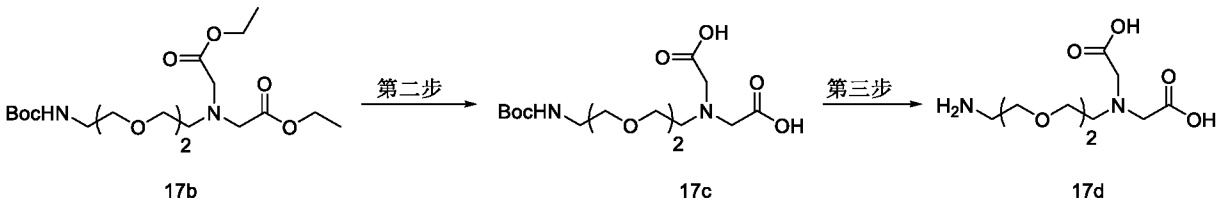
第一步：



依次将已知化合物 2-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)乙基氨基甲酸叔丁酯(25.0 g，0.1 mol)，溴乙酸乙酯(43.2 g，0.22 mol)，碳酸钠(40.5 g，0.25 mol)加入到乙腈(1.2 L)中，升温至 50℃搅拌 18 h，冷却至室温，过滤，母液浓缩至干，得到 42 g 粗品 17b。(收率=99%)。

LCMS m/z =421.3 $[M+1]^+$

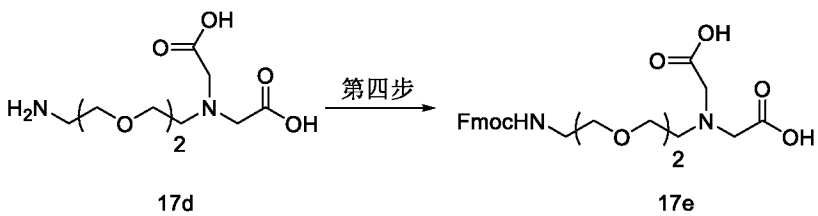
第二、三步：



将化合物 17b(42.0 g，0.1 mol)加入到甲醇(500 mL)和水(500 mL)中，再加入氢氧化钠(40.3 g，1.0 mol)，室温搅拌 4 h，用 6N 的盐酸调 pH 至 1~2，搅拌 0.5 h。反应液直接用于下一步反应。

LCMS m/z =265.2 $[M+1]^+$

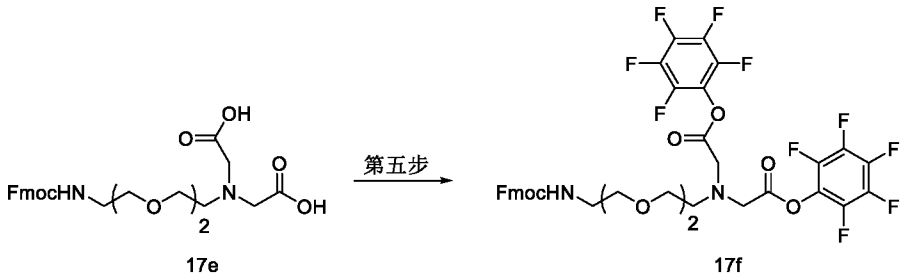
第四步：



向 17d 的反应液中依次加入 9-芴甲基-N-琥珀酰亚胺基碳酸酯(34.0 g，0.1 mol)，碳酸氢钠(42.0 g，0.5 mol)，室温搅拌 4 h，C18 反相柱纯化(0.1% TFA)(H_2O:ACN=60:40)，得到 22 g 17e(两步收率=45.2%)。

LCMS m/z =487.2 $[M+1]^+$

第五步：

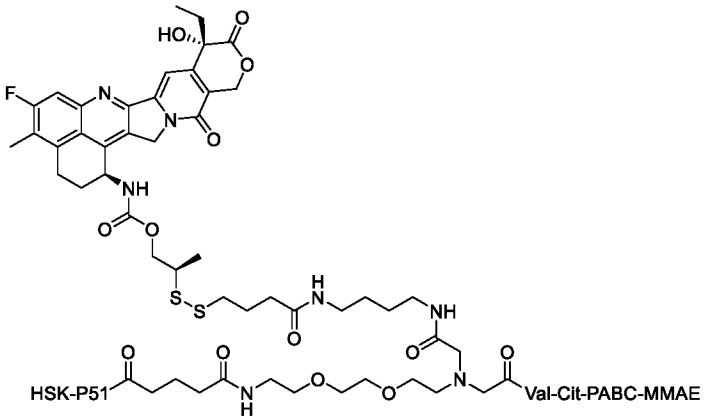


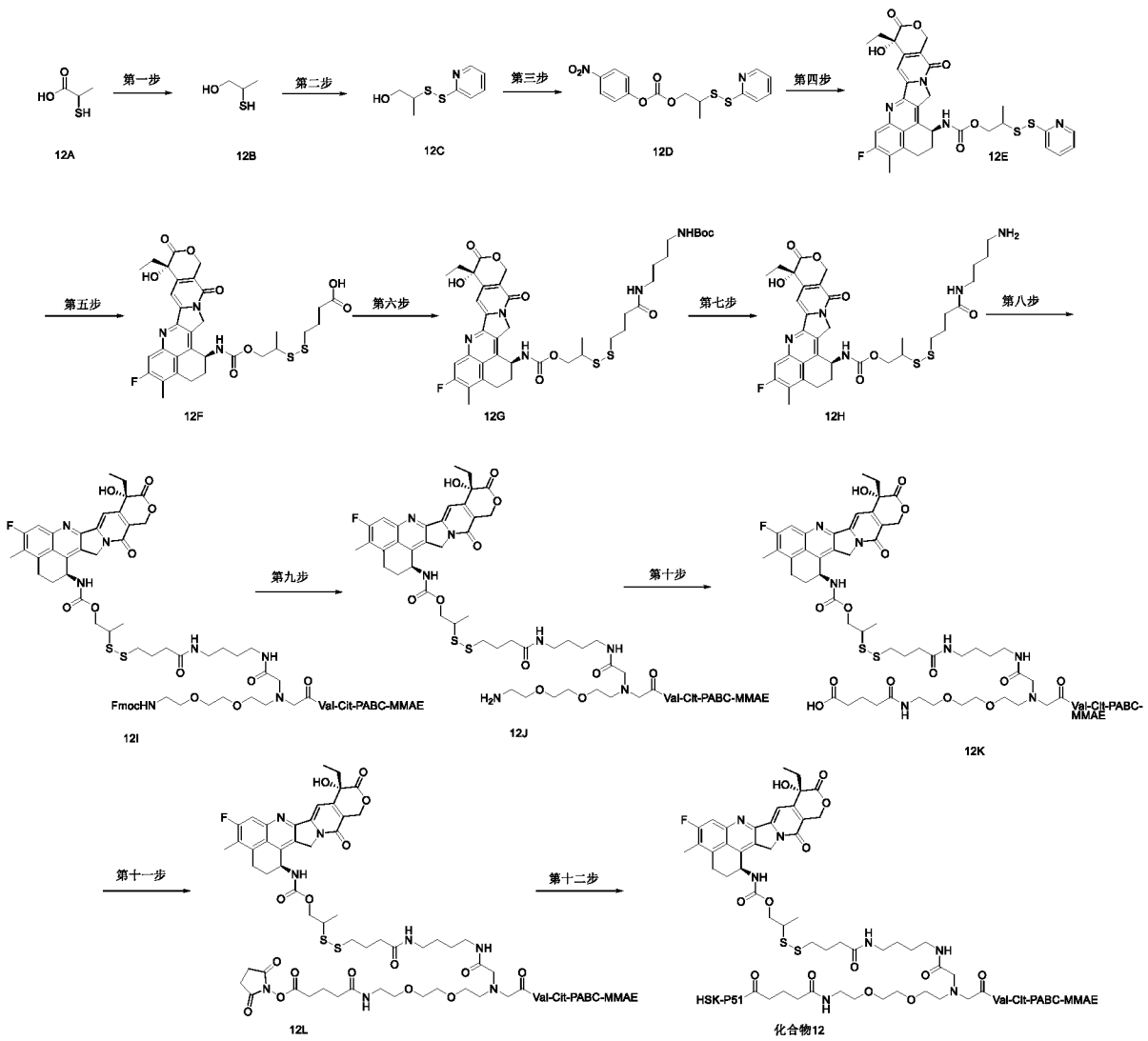
17e 17f

依次将 17e(5.0 g，0.01 mol)，五氟苯酚(3.86 g，0.02 mol)和 N,N-二异丙基碳二亚胺(2.65 g，0.02 mol)，室温搅拌 2 h，柱层析纯化(PE:EA=2:1)得到 4.0g 17f (收率=47.6%)。

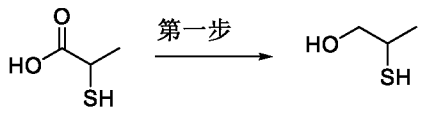
LCMS m/z =819.1 $[M+1]^+$

实施例 12





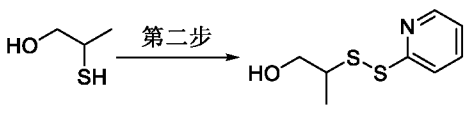
第一步：



12A 12B

将 12A (20 g，188.47 mmol)加入无水四氢呋喃(200 ml)中，在 0℃下缓慢入氢化铝锂(8.58 g，226.16 mmol)，保持 0℃反应 2 h。TLC 监测反应完全。保持在 0℃下加入水(8.6 ml)，再加入氢氧化钠(1.3 g，8.6 ml 水)。继续加入水(25 ml)，搅拌 15 min。加入无水硫酸钠搅拌干燥多余的水，过滤，滤液减压浓缩掉大部分四氢呋喃后直接用于下一部反应。

第二步：

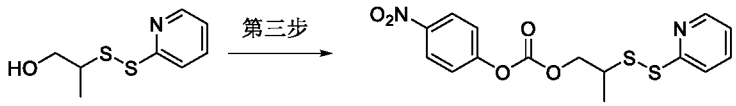


12B 12C

将上一步粗品 12B，2,2'-二硫二吡啶(37.68 g，171.03 mmol)加入甲醇(200 mL)中，室温反应 16h。直接将反应液减压浓缩后硅胶柱色谱分离纯化(洗脱剂：DCM/EA=3/1)得到 12C(16 g, 41.82%)。

LCMS m/z =202.1 $[M+1]^+$

第三步：

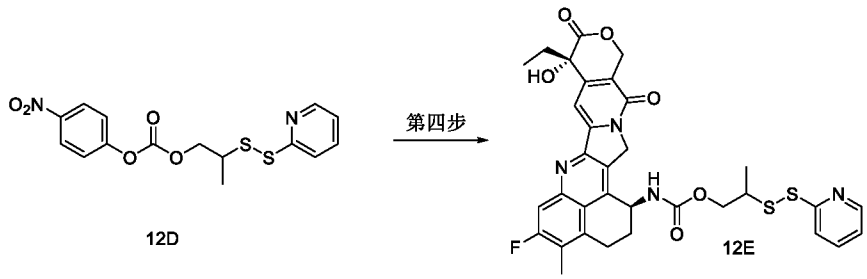


12C 12D

将 12C(8 g，39.74 mmol)，吡啶 (9.43 g，119.22 mmol)加入四氢呋喃(70 mL) 中，再缓慢加入对硝基苯基氯甲酸酯(10.41 g，51.66 mmol)，室温反应 16 h。直接将反应液减压浓缩后硅胶柱色谱分离纯化(洗脱剂：EA/PE=0-25%)得到 12D (8 g，54.94%) 。

LCMS m/z =367.1 $[M+1]^+$

第四步：

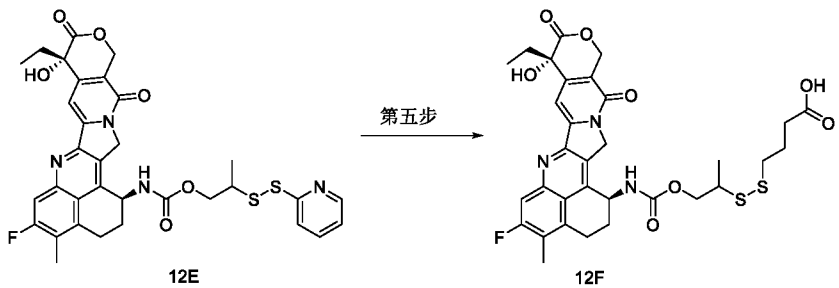


12D 12E

将依喜替康 (1.8 g，4.15 mmol)， 12D (1.67 g，4.57 mmol)，1-羟基苯并三唑(0.67 g，4.96 mmol)，吡啶(1.64 g，20.75 mmol)加入 DMF(20 mL)中，室温反应 16 h。LC-MS 监测反应。加入水(100 ml)，搅拌后过滤，固体用水洗涤后再用(EA/PE=1:5)(20 ml)洗涤，干燥，得到 12E(2.2 g，79.99%) 。

LCMS m/z =663.2 $[M+1]^+$

第五步：

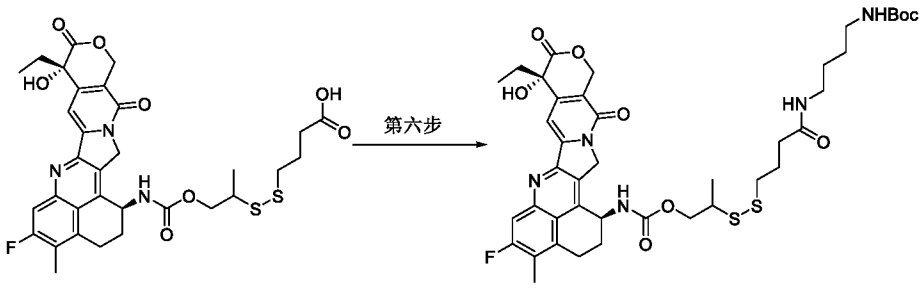


12E 12F

将 12E(2 g，3.02 mmol)加入甲醇(20 ml)中，再加入 4-巯基丁酸(2.18 g，18.15 mmol)，室温反应 16 h。TLC 监测反应。直接将反应液减压浓缩后硅胶柱色谱分离纯化(洗脱剂：MeOH/DCM=0-10%)，得到 12F(1.8 g，88.7%)。

LCMS m/z =672.2 $[M+1]^+$

第六步：

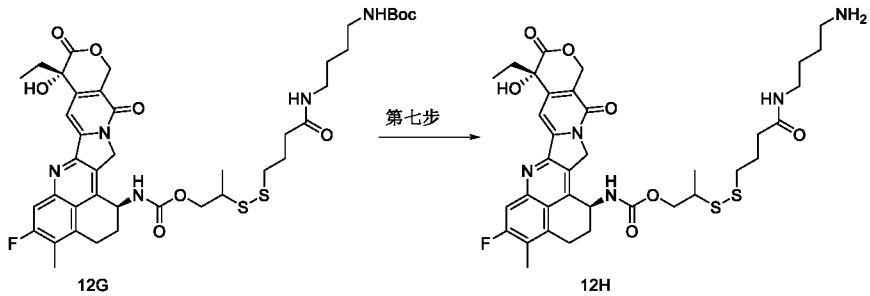


12F 12G

将 12F (1.8 g，2.68 mmol)，N-叔丁氧羰基-1,4-丁二胺(0.76 g，4.05 mmol)，2-(7-偶氮苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯(1.53 g，4.02 mmol)，N,N-二异丙基乙胺(1.73 g，13.37 mmol)加入 DMF(20 ml)中，室温反应 4 h。LC-MS 监测反应完全。加入水(100 ml)，搅拌后过滤，固体用水洗涤，干燥，得到粗品 12G(2.3 g)。

LCMS m/z =842.3 $[M+1]^+$

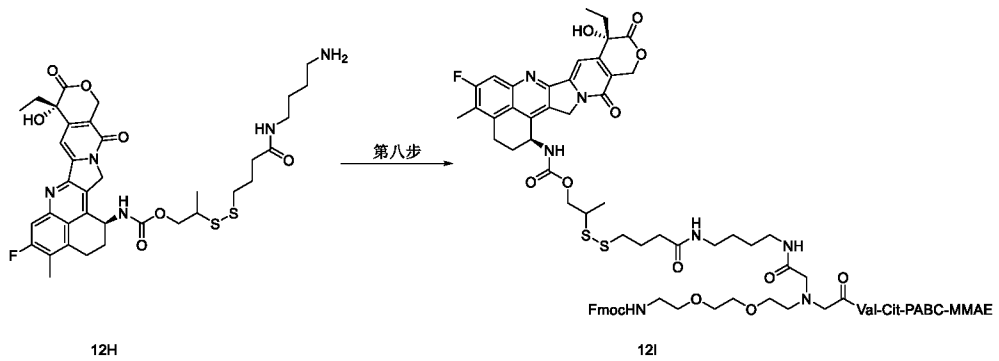
第七步：



12G 12H

将 12G(2.3 g，2.73 mmol)加入二氯甲烷(20 mL)中，再加入 TFA(6 ml)，室温反应 2 h。LC-MS 监测反应完全。直接减压浓缩后 C18 反相柱纯化，流动相 A，B 组成：流动相 A：乙腈；流动相 B：水(含 0.1%TFA)，(A/B=50%/50%)分离提纯得到 12H 的三氟乙酸盐(1.8 g，77%)。

第八步：

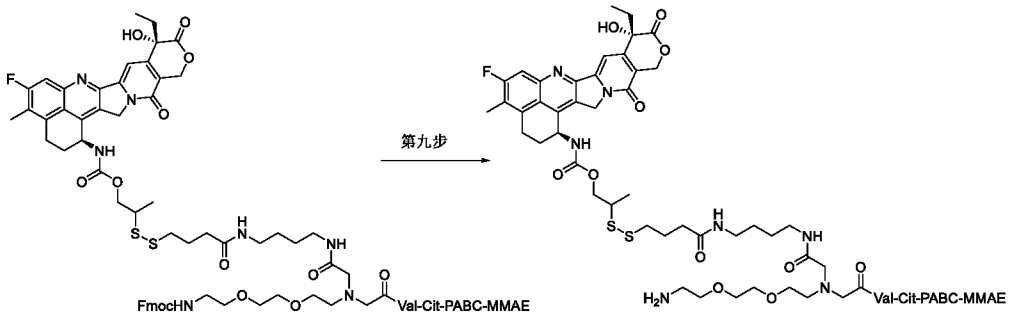


12H 12I

将 17f (800 mg，0.98 mmol)加入到 N,N-二甲基甲酰胺(10 mL)中，再加入 N,N-二异丙基乙胺(380 mg，2.94 mmol)，滴加 Val-Cit-PABC-MMAE(1.09 g，0.88 mmol)的 N,N-二甲基甲酰胺溶液(4 mL)，室温搅拌 30 分钟，再加入 N,N-二异丙基乙胺(380 mg，2.94 mmol)，滴加 12H (1.01g，1.18 mmol)的 N,N-二甲基甲酰胺溶液(4 mL)，室温搅拌 2 h，C18 反相制备柱纯化，流动相 A, B 组成：流动相 A：乙腈；流动相 B：水(含 0.1%TFA)，(A/B=35%/65%)分离提纯得到 12I(1.8g，79%)。

LCMS m/z = 1158.80 $[M/2+1]^+$.

第九步：

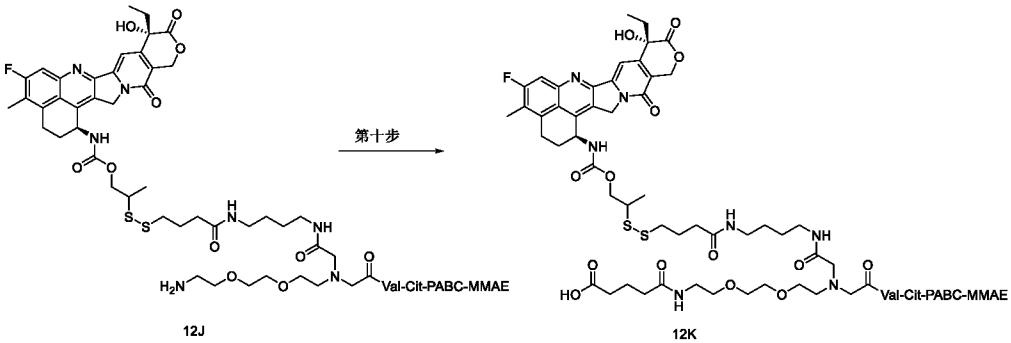


12I 12J

将 12I(1 g，0.43 mmol)加入到 10% 哌啶的 N,N-二甲基甲酰胺(10 mL)溶液中，室温搅拌 20 分钟，C18 反相制备柱纯化,流动相 A, B 组成：流动相 A：乙腈；流动相 B：水(含 0.1%TFA)，(A/B=50%/50%)分离提纯得到 12J (500 mg，55.5%)。

LCMS m/z = 1047.5 $[M/2+1]^+$.

第十步：

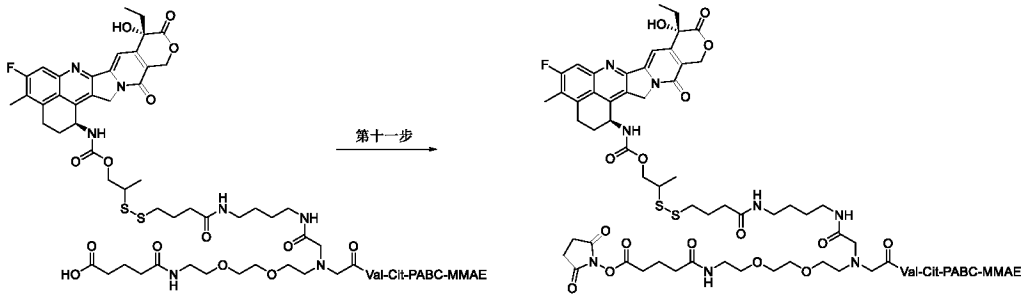


12J 12K

将 12J(500 mg，0.24 mmol)和戊二酸酐(55 mg，0.48 mmol)加入到 N,N-二甲基乙酰胺(5 mL)溶液中，再加入 N,N-二异丙基乙胺(93 mg，0.72 mmol)，室温搅拌 2 小时，C18 反相制备柱纯化,流动相 A, B 组成：流动相 A：乙腈；流动相 B：水(含 0.1%TFA)，(A/B=50%/50%)分离提纯得到 12K(430 mg，81%)。

LCMS m/z = 1104.4 $[M/2+1]^+$.

第十一步：

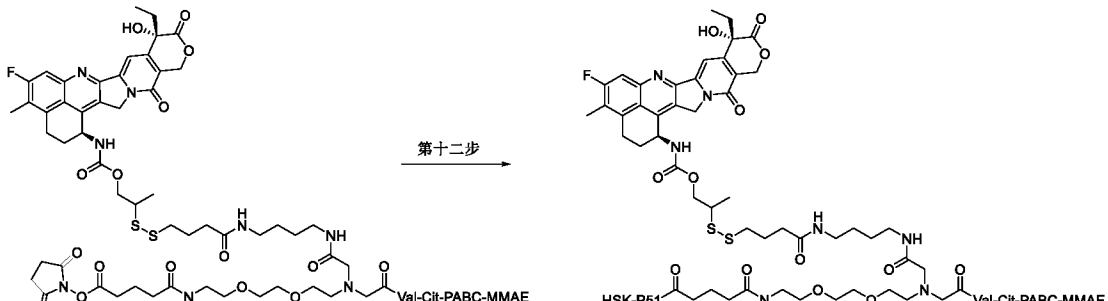


12K 12L

将 12K(430 mg，0.19 mmol)加入到 DMA(5 mL)中，氮气保护，降温至 0℃，加入 N-羟基丁二酰亚胺(220 mg，1.91 mmol)和 EDCI(365 mg，1.91 mmol)，室温搅拌 24 h，C18 反相制备柱纯化(0.1% TFA)(H_2O:ACN=55:45)，得到 12L(350mg，收率=79.9%)。

LCMS m/z =1153.1$[M/2+1]^+$

第十二步：



12L 化合物12

将 12L(45 mg，19 umol)和 HSK-P51(40 mg，15 umol)加入到 DMA(2 mL)中，再加入 N,N-二异丙基乙胺(6 mg，45 umol)，室温搅拌 18 h。用液相制备柱分离提纯(液相制备条件：C18 反相制备柱，流动相为含 0.1%三氟乙酸的去离子水(A)，含 0.1%三氟乙酸的乙腈 (B)，梯度洗脱，B 含量=5%~70%，洗脱时间 15 min，流速 12 mL/min，柱温：30℃，保留时间：5.76 min)得到 15 mg 化合物 12(收率=20%)。

LCMS m/z = 1217.7 $[M/4+1]^+$.

生物测试例

1. HT-1080 细胞增殖抑制实验

HT-1080 细胞培养条件：EMEM + 10% FBS + 1%双抗，培养于 37℃，5% CO_2 孵箱中。第一天收集指数生长期的 HT-1080 细胞铺板 96 孔培养板，每孔 90 μL，铺板密度为 500 个/孔，于 37℃，5% CO_2 孵箱中培养过夜。第二天每孔加入 10 μL 不同浓度化合物，使每孔 DMSO 终浓度均为 0.1%，于 37℃，5% CO_2 孵箱中培养 3 天。培养结束后，每孔加入 50 μL 检测液（Cell Viability Assay，Promega，G7573），混匀 2 分钟，室温孵育 10 分钟，酶标仪检测化学发光读数。结果按照式（1）处理，计算出化合物各个浓度的增殖抑制率，并使用 origin9.2 软件，计算抑制率为 50%时化合物的浓度 IC_{50} 值。其中 RLU compound 为药物处理组的读数，RLU control 为溶剂对照组的平均值。

Inhibition % =(1-(RLU compound /RLU control)×100%　　式（1）

表 1

化合物	IC_{50}(nM)	Max inh.% 10 μM
化合物 2	9	99.1
化合物 3	1	99.1
化合物 4	29	97.4
化合物 6	21	97.7
化合物 7	33	97.0
化合物 8	25	97.4
化合物 9	29	98.2
化合物 10	14	97.8
化合物 11	7.2	-
化合物 12	8.1	-

结论：本发明的化合物具有较高的抑制活性。

2. MOLP8 细胞增殖抑制实验

购自 DSMZ 的人多发性骨髓瘤 MOLP8 细胞置于 RPMI-1640 完全培养基（添加 20%胎牛血清）中，在 37 ℃、5% CO_2 条件下培养。收集处于指数生长期的细胞，用培养基将细胞悬液调整到 8000 个/135 μL。每孔加 135 μL 细胞悬液于 96 孔细胞培养板，孵育过夜。第二天，加入不同浓度的化合物，置于孵箱中培养孵育 5 天。培养结束后，按照 CellTiter-Glo 试剂盒（Promega，Cat# G7573）操作说明，每孔加入 75 μL 预先融化并平衡至室温的 CTG 溶液，用微孔板震荡器混匀 2 分钟，于室温放置 10 分钟后用 Envision 2104 读板仪（PerkinElmer）测定萤光信号值。按公式 [(1− ($RLU_{compound}$ − RLU_{blank}) / ($RLU_{control}$ − RLU_{blank}))×100%] 计算细胞增殖抑制率。使用 GraphPad Prism 软件通过四参数非线性拟合获得 IC_{50} 值。

结论：本发明的化合物在体外对阴性细胞 MOLP8 活性远弱于对阳性细胞 PC3 活性，表明其具有良好的细胞选择性。

3.大鼠药代动力学测试

3.1 试验动物：雄性 SD 大鼠，220 g 左右，6~8 周龄，3 只/化合物。购于成都达硕实验动物有限公司。

3.2 试验设计：试验当天，6 只 SD 大鼠按体重随机分组。给药前 1 天禁食不禁水 12~14h，给药后 4h 给食。

表 2. 给药信息

组别	数量	给药信息					
	雄性	测试化合物	给药剂量 (mg/kg)	给药浓度 (mg/mL)	给药体积 (mL/kg)	采集样本	给药方式
G1	3	化合物 4	1	0.5	2	血浆	静脉
G2	3	对照化合物	1	0.5	2	血浆	静脉

注：50 mM Acetate,10% sucrose PH 5

于给药前及给药后异氟烷麻醉经眼眶取血 0.15 ml，置于 EDTAK2 离心管中，5000rpm，4 ℃离心 10min，收集血浆。静脉组和灌胃组采血时间点均为：0, 5, 15, 30 min, 1, 2, 4, 6, 8, 24 h。分析检测前，所有样品存于-80℃，用 LC-MS/MS 对样品进行定量分析。

表 3. 测试化合物在大鼠血浆中的药代动力学参数

测试化合物	给药方式	化合物	Cmax (ng/mL)	CL (mL/min/kg)	Vd_{ss} (L/kg)	AUC_{0-t} (hr*ng/mL)	$T_{1/2}$ (h)	AUC_{DM1}/ $AUC_{化合物}$
化合物 4	i.v. (1 mg/kg)	PDC	15161±2864	3.43±0.36	0.119±0.016	4867±534	0.610±0.034	0.000322
		DM1	3.08±0.50	NC	NC	1.57±0.51	2.54±1.3	
对照化合物	i.v. (1 mg/kg)	PDC	5155±118	8.83±0.45	0.264±0.022	1824±96	0.443±0.057	0.00128
		DM1	2.92±0.65	NC	NC	2.34±1.7	1.97±1.4	

-：不适用。NC：无法计算

对照化合物为 WO2016067035A1 的 BT17BDC-18，结构式为



结论：化合物 4 具有良好的大鼠体内药代动力特征。

4.小鼠药代动力学测试

4.1 试验动物：雄性 balb/c 小鼠，20~25 g，9 只/化合物。购于成都达硕实验动物有限公司。

4.2 试验设计：试验当天，9 只 balb/c 小鼠按体重随机分组。给药前 1 天禁食不禁水 12~14h，给药后 4h 给食。

表 4. 给药信息

组别	数量	给药信息					
	雄性	测试化合物	给药剂量 (mg/kg)	给药浓度 (mg/mL)	给药体积 (mL/kg)	采集样本	给药方式
G1	9	化合物 4	1	0.2	5	血浆	静脉

注：50 mM Acetate,10% sucrose PH 5

于给药前及给药后异氟烷麻醉经眼眶取血 0.06 mL，置于 EDTAK2 离心管中，5000rpm，4℃离心 10min，收集血浆。静脉组和灌胃组采血时间点均为: 0, 5, 15, 30min, 1, 2, 4, 6, 8, 24 h。分析检测前，所有样品存于-80℃，用 LC-MS/MS 对样品进行定量分析。

表 5. 测试化合物在小鼠血浆中的药代动力学参数

测试化合物	给药方式	化合物	Cmax (ng/mL)	CL (mL/min/kg)	Vd_{ss} (L/kg)	AUC_{0-t} (hr*ng/mL)	$T_{1/2}$ (h)	AUC_{DM1}/ $AUC_{化合物}$
化合物 4	i.v. (1 mg/kg)	PDC	7013	5.82	0.162	2764	0.471	0.00388
		DM1	2.43	NC	NC	10.7	8.75	

结论：化合物 4 具有良好的小鼠体内药代动力特征。

5. 猴药代动力学测试

5. 1 试验动物：雄性食蟹猴，3~5 kg，3~6 年龄，3 只/化合物。购于苏州西山生物技术有限公司。

5. 2 试验方法：试验当天，3 只猴按体重随机分组。给药前 1 天禁食不禁水 14~18 h，给药后 4 h 给食。

于给药前及给药后通过四肢静脉取血 1.0 mL，置于 EDTAK2 离心管中。5000 rpm，4 ℃离心 10 min，收集血浆。静脉组采血时间点均为：0, 2, 5, 15, 30 min, 1, 2, 4, 6, 8, 24h。分析检测前，所有样品存于-80℃，用 LC-MS/MS 对样品进行定量分析。

结论：本发明化合物具有良好的猴体内药代动力特征。

6.比格犬药代动力学测试

6.1 试验动物：雄性比格犬，8~11 kg 左右，3 只/化合物，购于北京玛斯生物技术有限公司。

6.2 试验方法：试验当天，3 只比格犬按体重随机分组。给药前 1 天禁食不禁水 12~14h，给药后 4h 给食。

于给药前及给药后通过颈静脉或四肢静脉取血 1 ml，置于 EDTAK2 离心管中。5000rpm，4 ℃离心 10min，收集血浆。静脉组和灌胃组采血时间点均为:0, 5, 15, 30min, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24 h。分析检测前，所有样品存于-80℃，用 LC-MS/MS 对样品进行定量分析。

结论：本发明化合物具有良好的犬体内药代动力特征。

序列表

<110> 海思科医药集团股份有限公司

<120> MT1-MMP 的双环肽配体及其缀合物

<130> 379

<160> 14

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> Xaa
<222> (1)..(1)
<223> Xaa 为 Hcys

<220>
<221> Xaa
<222> (2)..(2)
<223> Xaa 为 D-Ala

<220>
<221> Xaa

<222> (5)..(5)

<223> Xaa 为 1-Nal

<220>

<221> Xaa

<222> (6)..(6)

<223> Xaa 为 D-Ala

<220>

<221> Xaa

<222> (7)..(7)

<223> Xaa 为 Hcys

<220>

<221> Xaa

<222> (13)..(13)

<223> Xaa 为 tBu-Gly

<220>

<221> Xaa

<222> (14)..(14)

<223> Xaa 为 Hcys

<400> 1

Xaa Xaa Asn Glu Xaa Xaa Xaa Glu Asp Phe Tyr Asp Xaa Xaa
1 5 10

<210> 2

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> Xaa

<222> (2)..(2)

<223> Xaa 为 D-Ala

<220>

<221> Xaa

<222> (5)..(5)

<223> Xaa 为 1-Nal

<220>

<221> Xaa

<222> (6)..(6)

<223> Xaa 为 D-Ala

<220>

<221> Xaa

<222> (7)..(7)

<223> Xaa 为 Hcys

<220>

<221> Xaa

<222> (13)..(13)

<223> Xaa 为 tBu-Gly

<220>

<221> Xaa

<222> (14)..(14)

<223> Xaa 为 Hcys

<400> 2

Cys Xaa Asn Glu Xaa Xaa Xaa Glu Asp Phe Tyr Asp Xaa Xaa

1 5 10

<210> 3

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> Xaa

<222> (1)..(1)

<223> Xaa 为 Hcys

<220>

<221> Xaa

<222> (2)..(2)

<223> Xaa 为 D-Ala

<220>

<221> Xaa

<222> (5)..(5)

<223> Xaa 为 1-Nal

<220>

<221> Xaa

<222> (6)..(6)

<223> Xaa 为 D-Ala

<220>

<221> Xaa

<222> (13)..(13)

<223> Xaa 为 tBu-Gly

<220>

<221> Xaa

<222> (14)..(14)

<223> Xaa 为 Hcys

<400> 3

Xaa Xaa Asn Glu Xaa Xaa Cys Glu Asp Phe Tyr Asp Xaa Xaa
1 5 10

<210> 4

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> Xaa

<222> (1)..(1)

<223> Xaa 为 Hcys

<220>

<221> Xaa

<222> (2)..(2)

<223> Xaa 为 D-Ala

<220>

<221> Xaa

<222> (5)..(5)

<223> Xaa 为 1-Nal

<220>

<221> Xaa

<222> (6)..(6)

<223> Xaa 为 D-Ala

<220>

<221> Xaa

<222> (7)..(7)

<223> Xaa 为 Hcys

<220>

<221> Xaa

<222> (13)..(13)

<223> Xaa 为 tBu-Gly

<400> 4

Xaa Xaa Asn Glu Xaa Xaa Xaa Glu Asp Phe Tyr Asp Xaa Cys
1 5 10

<210> 5
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<221> Xaa
<222> (2)..(2)
<223> Xaa 为 D-Ala

<220>
<221> Xaa
<222> (5)..(5)
<223> Xaa 为 1-Nal

<220>
<221> Xaa
<222> (6)..(6)
<223> Xaa 为 D-Ala

<220>
<221> Xaa
<222> (13)..(13)
<223> Xaa 为 tBu-Gly

<220>

<221> Xaa

<222> (14)..(14)

<223> Xaa 为 Hcys

<400> 5

Cys Xaa Asn Glu Xaa Xaa Cys Glu Asp Phe Tyr Asp Xaa Xaa

1 5 10

<210> 6

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> Xaa

<222> (2)..(2)

<223> Xaa 为 D-Ala

<220>

<221> Xaa

<222> (5)..(5)

<223> Xaa 为 1-Nal

<220>

<221> Xaa

<222> (6)..(6)

<223> Xaa 为 D-Ala

<220>

<221> Xaa

<222> (7)..(7)

<223> Xaa 为 Hcys

<220>

<221> Xaa

<222> (13)..(13)

<223> Xaa 为 tBu-Gly

<400> 6

Cys Xaa Asn Glu Xaa Xaa Xaa Glu Asp Phe Tyr Asp Xaa Cys
1 5 10

<210> 7

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> Xaa

<222> (1)..(1)

<223> Xaa 为 Hcys

<220>

<221> Xaa

<222> (2)..(2)

<223> Xaa 为 D-Ala

<220>

<221> Xaa

<222> (5)..(5)

<223> Xaa 为 1-Nal

<220>

<221> Xaa

<222> (6)..(6)

<223> Xaa 为 D-Ala

<220>

<221> Xaa

<222> (13)..(13)

<223> Xaa 为 tBu-Gly

<400> 7

Xaa Xaa Asn Glu Xaa Xaa Cys Glu Asp Phe Tyr Asp Xaa Cys

1 5 10

<210> 8

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> Xaa

<222> (1)..(1)

<223> Xaa 为 β-Ala

<220>

<221> Xaa

<222> (2)..(2)

<223> Xaa 为 Sar10

<220>

<221> Xaa

<222> (4)..(4)

<223> Xaa 为 Hcys

<220>

<221> Xaa

<222> (5)..(5)

<223> Xaa 为(D-Ala

<220>

<221> Xaa

<222> (8)..(8)

<223> Xaa 为 1-Nal

<220>

<221> Xaa

<222> (9)..(9)

<223> Xaa 为 D-Ala

<220>

<221> Xaa

<222> (10)..(10)

<223> Xaa 为 Hcys

<220>

<221> Xaa

<222> (16)..(16)

<223> Xaa 为 tBu-Gly

<220>

<221> Xaa

<222> (17)..(17)

<223> Xaa 为 Hcys

<400> 8

Xaa Xaa Ala Xaa Xaa Asn Glu Xaa Xaa Xaa Glu Asp Phe Tyr Asp Xaa
1 5 10 15

Xaa

<210> 9

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> Xaa

<222> (1)..(1)

<223> Xaa 为 β-Ala

<220>

<221> Xaa

<222> (2)..(2)

<223> Xaa 为 Sar10

<220>

<221> Xaa

<222> (5)..(5)

<223> Xaa 为 D-Ala

<220>

<221> Xaa

<222> (8)..(8)

<223> Xaa 为 1-Nal

<220>

<221> Xaa

<222> (9)..(9)

<223> Xaa 为 D-Ala

<220>

<221> Xaa

<222> (10)..(10)

<223> Xaa 为 Hcys

<220>

<221> Xaa

<222> (16)..(16)

<223> Xaa 为 tBu-Gly

<220>

<221> Xaa

<222> (17)..(17)

<223> Xaa 为 Hcys

<400> 9

Xaa Xaa Ala Cys Xaa Asn Glu Xaa Xaa Xaa Glu Asp Phe Tyr Asp Xaa
1 5 10 15

Xaa

<210> 10

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> Xaa

<222> (1)..(1)

<223> Xaa 为 β-Ala

<220>

<221> Xaa

<222> (2)..(2)

<223> Xaa 为 Sar10

<220>

<221> Xaa

<222> (4)..(4)

<223> Xaa 为 Hcys

<220>

<221> Xaa

<222> (5)..(5)

<223> Xaa 为 D-Ala

<220>

<221> Xaa

<222> (8)..(8)

<223> Xaa 为 1-Nal

<220>

<221> Xaa

<222> (9)..(9)

<223> Xaa 为 D-Ala

<220>

<221> Xaa

<222> (16)..(16)

<223> Xaa 为 tBu-Gly

<220>

<221> Xaa

<222> (17)..(17)

<223> Xaa 为 Hcys

<400> 10

Xaa Xaa Ala Xaa Xaa Asn Glu Xaa Xaa Cys Glu Asp Phe Tyr Asp Xaa
1 5 10 15

Xaa

<210> 11

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> Xaa

<222> (1)..(1)

<223> Xaa 为 β-Ala

<220>

<221> Xaa

<222> (2)..(2)

<223> Xaa 为 Sar10

<220>

<221> Xaa

<222> (4)..(4)

<223> Xaa 为 Hcys

<220>

<221> Xaa

<222> (5)..(5)

<223> Xaa 为 D-Ala

<220>

<221> Xaa

<222> (8)..(8)

<223> Xaa 为 1-Nal

<220>

<221> Xaa

<222> (9)..(9)

<223> Xaa 为 D-Ala

<220>

<221> Xaa

<222> (10)..(10)

<223> aa 为 Hcys

<220>

<221> Xaa

<222> (16)..(16)

<223> Xaa 为 tBu-Gly

<400> 11

Xaa Xaa Ala Xaa Xaa Asn Glu Xaa Xaa Xaa Glu Asp Phe Tyr Asp Xaa
1 5 10 15

Cys

<210> 12

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> Xaa

<222> (1)..(1)

<223> Xaa 为 β-Ala

<220>

<221> Xaa

<222> (2)..(2)

<223> Xaa 为 Sar10

<220>

<221> Xaa

<222> (5)..(5)

<223> Xaa 为 D-Ala

<220>

<221> Xaa

<222> (8)..(8)

<223> Xaa 为 1-Nal

<220>

<221> Xaa

<222> (9)..(9)

<223> Xaa 为 D-Ala

<220>

<221> Xaa

<222> (16)..(16)

<223> Xaa 为 tBu-Gly

<220>

<221> Xaa

<222> (17)..(17)

<223> Xaa 为 Hcys

<400> 12

Xaa Xaa Ala Cys Xaa Asn Glu Xaa Xaa Cys Glu Asp Phe Tyr Asp Xaa

1 5 10 15

Xaa

<210> 13

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> Xaa

<222> (1)..(1)

<223> Xaa 为 β-Ala

<220>

<221> Xaa

<222> (2)..(2)

<223> Xaa 为 Sar10

<220>

<221> Xaa

<222> (5)..(5)

<223> Xaa 为 D-Ala

<220>

<221> Xaa

<222> (8)..(8)

<223> Xaa 为 1-Nal

<220>

<221> Xaa

<222> (9)..(9)

<223> Xaa 为 D-Ala

<220>

<221> Xaa

<222> (10)..(10)

<223> Xaa 为 Hcys

<220>

<221> Xaa

<222> (16)..(16)

<223> Xaa 为 tBu-Gly

<400> 13

Xaa Xaa Ala Cys Xaa Asn Glu Xaa Xaa Xaa Glu Asp Phe Tyr Asp Xaa
1 5 10 15

Cys

<210> 14

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<221> Xaa

<222> (1)..(1)

<223> Xaa 为 β-Ala

<220>

<221> Xaa

<222> (2)..(2)

<223> Xaa 为 Sar10

<220>

<221> Xaa

<222> (4)..(4)

<223> Xaa 为 Hcys

<220>

<221> Xaa

<222> (5)..(5)

<223> Xaa 为 D-Ala

<220>

<221> Xaa

<222> (8)..(8)

<223> Xaa 为 1-Nal

<220>

<221> Xaa

<222> (9)..(9)

<223> Xaa 为 D-Ala

<220>

<221> Xaa

<222> (16)..(16)

<223> Xaa 为 tBu-Gly

<400> 14

Xaa Xaa Ala Xaa Xaa Asn Glu Xaa Xaa Cys Glu Asp Phe Tyr Asp Xaa
1 5 10 15

Cys

1. 一种化合物，其包含多肽结构和芳香族分子支架，所述多肽结构包含三个独立选自 Cys 和 Hcys 的残基，且三个残基中至少一个是 Hcys 残基，所述三个残基被两段氨基酸序列隔开，所述多肽结构的 Cys 或 Hcys 残基经硫醚键与所述分子支架连接，从而在所述分子支架上形成两个多肽环。

2. 根据权利要求 1 所述的化合物，其中所述多肽结构包含以下的氨基酸序列：

Xa_1-A_1- Xa_2-A_2- Xa_3

其中，A_1、A_2 表示 Xa_1、Xa_2、Xa_3 之间的氨基酸残基序列，并且 A_1 和 A_2 各自独立地包含 5 或 6 个氨基酸残基；

Xa_1、Xa_2、Xa_3 独立地为 Cys 或 Hcys 残基，且至少有一个是 Hcys 残基，所述芳香族分子支架与所述多肽的 Xa_1、Xa_2、Xa_3 分别形成硫醚键从而在所述分子支架上形成两个多肽环。

3. 根据权利要求 2 所述的化合物，其中所述多肽结构包含以下所示的氨基酸序列：

Xa_1-(D-Ala)-Asn-Glu-(1-Nal)-(D-Ala)-Xa_2-Glu-Asp-Phe-Tyr-Asp-(tBu-Gly)-Xa_3；

具体的，其中所述多肽结构包含 SEQ ID NO:1~ SEQ ID NO:7 任一所示的氨基酸序列：

Hcys-(D-Ala)-Asn-Glu-(1-Nal)-(D-Ala)-Hcys-Glu-Asp-Phe-Tyr-Asp-(tBu-Gly)-Hcys (SEQ ID NO:1);

Cys-(D-Ala)-Asn-Glu-(1-Nal)-(D-Ala)-Hcys-Glu-Asp-Phe-Tyr-Asp-(tBu-Gly)-Hcys (SEQ ID NO:2);

Hcys-(D-Ala)-Asn-Glu-(1-Nal)-(D-Ala)-Cys-Glu-Asp-Phe-Tyr-Asp-(tBu-Gly)-Hcys (SEQ ID NO:3);

Hcys-(D-Ala)-Asn-Glu-(1-Nal)-(D-Ala)-Hcys-Glu-Asp-Phe-Tyr-Asp-(tBu-Gly)-Cys (SEQ ID NO:4);

Cys-(D-Ala)-Asn-Glu-(1-Nal)-(D-Ala)-Cys-Glu-Asp-Phe-Tyr-Asp-(tBu-Gly)-Hcys (SEQ ID NO:5);

Cys-(D-Ala)-Asn-Glu-(1-Nal)-(D-Ala)-Hcys-Glu-Asp-Phe-Tyr-Asp-(tBu-Gly)-Cys (SEQ ID NO:6);

Hcys-(D-Ala)-Asn-Glu-(1-Nal)-(D-Ala)-Cys-Glu-Asp-Phe-Tyr-Asp-(tBu-Gly)-Cys (SEQ ID NO:7)。

4. 根据权利要求 3 所述的化合物，其中所述多肽结构包含 SEQ ID NO:8~ SEQ ID NO:14 任一所示的氨基酸序列：

(β-Ala)-Sar_{10}-Ala-Hcys-(D-Ala)-Asn-Glu-(1-Nal)-(D-Ala)-Hcys-Glu-Asp-Phe-Tyr-Asp-(tBu-Gly)-Hcys (SEQ ID NO:8);

(β-Ala)-Sar$_{10}$-Ala-Cys-(D-Ala)-Asn-Glu-(1-Nal)-(D-Ala)-Hcys-Glu-Asp-Phe-Tyr-Asp-(tBu-Gly)-Hcys (SEQ ID NO:9);

(β-Ala)-Sar$_{10}$-Ala-Hcys-(D-Ala)-Asn-Glu-(1-Nal)-(D-Ala)-Cys-Glu-Asp-Phe-Tyr-Asp-(tBu-Gly)-Hcys (SEQ ID NO:10);

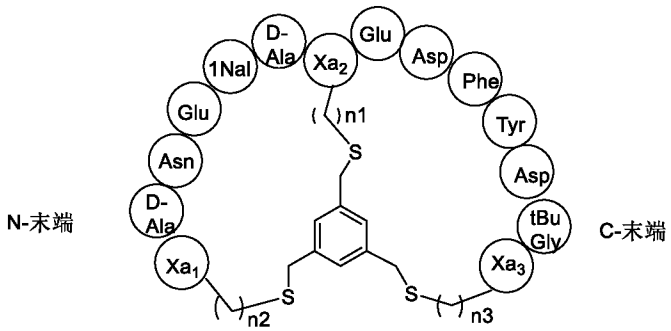
(β-Ala)-Sar$_{10}$-Ala-Hcys-(D-Ala)-Asn-Glu-(1-Nal)-(D-Ala)-Hcys-Glu-Asp-Phe-Tyr-Asp-(tBu-Gly)-Cys (SEQ ID NO:11);

(β-Ala)-Sar$_{10}$-Ala-Cys-(D-Ala)-Asn-Glu-(1-Nal)-(D-Ala)-Cys-Glu-Asp-Phe-Tyr-Asp-(tBu-Gly)-Hcys (SEQ ID NO:12);

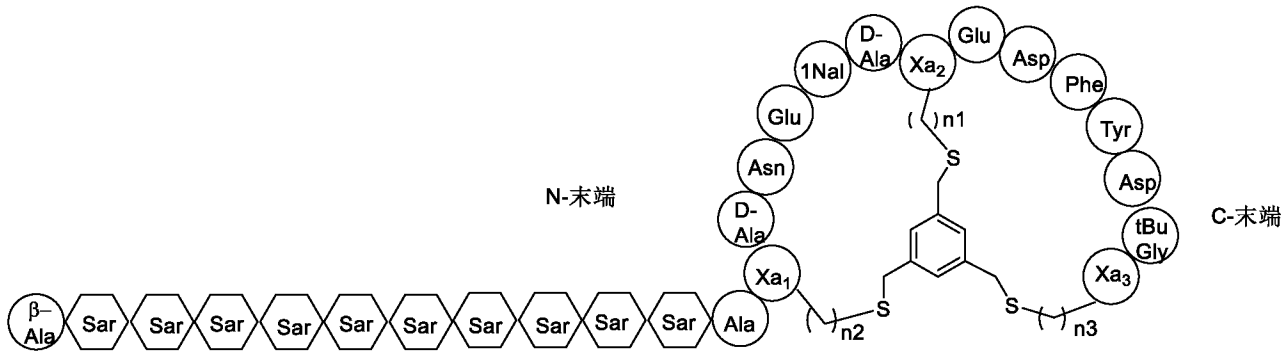
(β-Ala)-Sar$_{10}$-Ala-Cys-(D-Ala)-Asn-Glu-(1-Nal)-(D-Ala)-Hcys-Glu-Asp-Phe-Tyr-Asp-(tBu-Gly)-Cys (SEQ ID NO:13);

(β-Ala)-Sar$_{10}$-Ala-Hcys-(D-Ala)-Asn-Glu-(1-Nal)-(D-Ala)-Cys-Glu-Asp-Phe-Tyr-Asp-(tBu-Gly)-Cys (SEQ ID NO:14)。

5. 根据权利要求 3 所述的化合物，其是具有以下结构之一的双环肽：



I-1



I

其中，当 Xa$_1$、Xa$_2$ 或 Xa$_3$ 为 Cys 时，对应地，n$_1$、n$_2$ 或 n$_3$ 为 1；

当 Xa$_1$、Xa$_2$ 或 Xa$_3$ 为 Hcys，对应地，n$_1$、n$_2$ 或 n$_3$ 为 2。

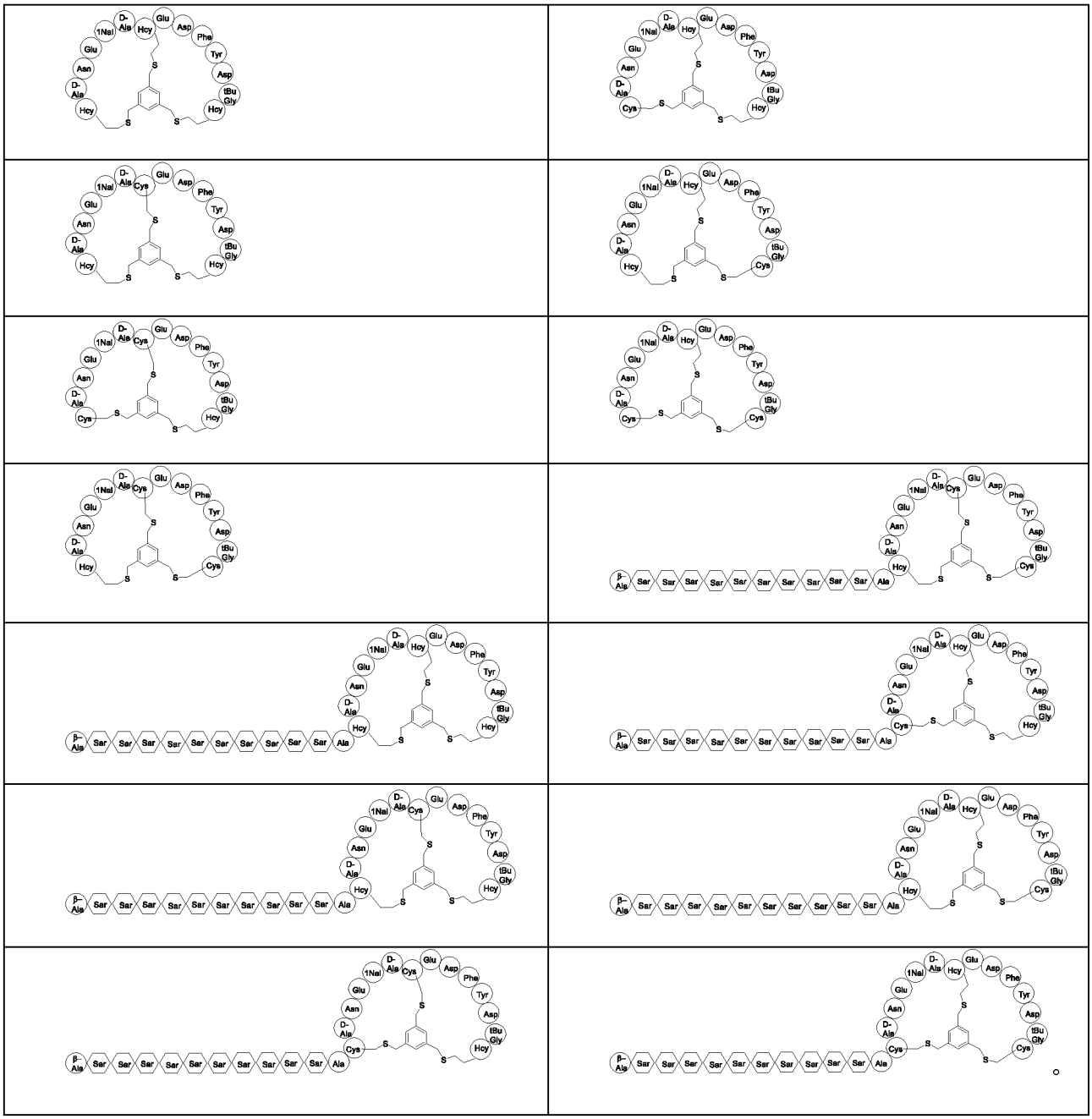
6. 根据权利要求 5 所述的化合物，其中：

Xa$_1$、Xa$_2$、Xa$_3$ 为 Hcys，n$_1$、n$_2$、n$_3$ 为 2；或

Xa$_1$、Xa$_3$ 为 Hcys，Xa$_2$ 为 Cys，n$_1$、n$_3$ 为 2，n$_2$ 为 1；或

Xa_1、Xa_2 为 Cys，Xa_3 为 Hcys，n_1、n_2 为 1，n_3 为 2。

7. 根据权利要求 5 所述的化合物，其选自以下结构之一：



8. 权利要求 1 至 7 中任一项所述的化合物作为 MT1-MMP 的配体在筛选和/或制备药物中的应用。

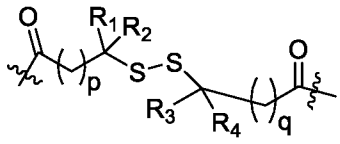
9. 一种药物缀合物或其药学上可接受的盐，所述缀合物包含通过连接子缀合至一个或多个效应物和/或官能团的权利要求 1-7 中任意一项所述的化合物。

10. 根据权利要求 9 所述的药物缀合物或其药学上可接受的盐，其中所述效应物为细胞毒性剂，所述细胞毒性剂选自美登木素生物碱、单甲基奥瑞他汀、喜树碱衍生物中的至少一种；或

者，所述细胞毒性剂选自美登素 DM1、美登素 DM4、一甲基奥瑞他汀 E、7-乙基-10-羟基喜树碱中的至少一种。

11. 根据权利要求 9 所述的药物缀合物或其药学上可接受的盐，其中所述连接子为肽类连接子、二硫化物连接子或 pH 依赖型连接子。

12. 根据权利要求 11 所述的药物缀合物或其药学上可接受的盐，所述二硫化物连接子选自 DMDS、MDS、DSDM、NDMDS 或式 II 结构：



II

其中，R_1、R_2、R_3 和 R_4 独立地选自 H、甲基、乙基、丙基和异丙基；

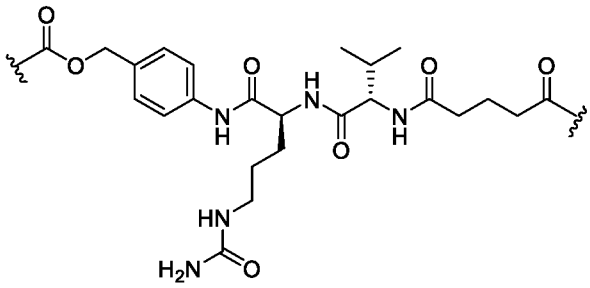
p 和 q 独立地为 1、2、3、4 或 5；

所述肽类连接子选自：-Cit-Val-、-Phe-Lys-和-Val-Lys-；

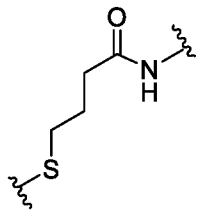
所述 pH 依赖型连接子选自顺乌头酸酐。

13. 根据权利要求 11 所述的药物缀合物或其药学上可接受的盐，其中所述连接子为-PABC-Cit-Val-戊二酰-或-PABC-环丁基-Ala-Cit-βAla-，其中 PABC 代表 p-氨基苄基氨基甲酸酯。

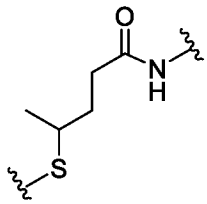
14. 根据权利要求 11 所述的药物缀合物或其药学上可接受的盐，其中所述连接子为



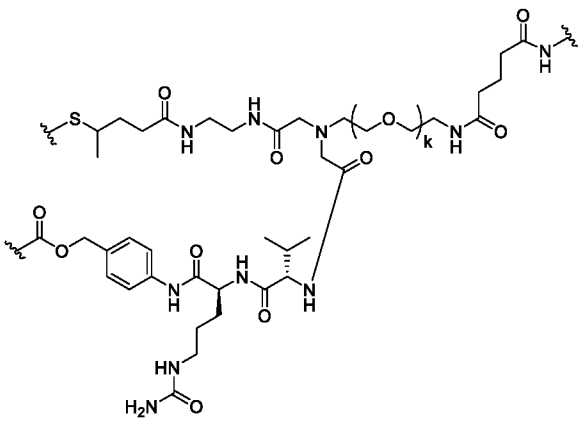
、



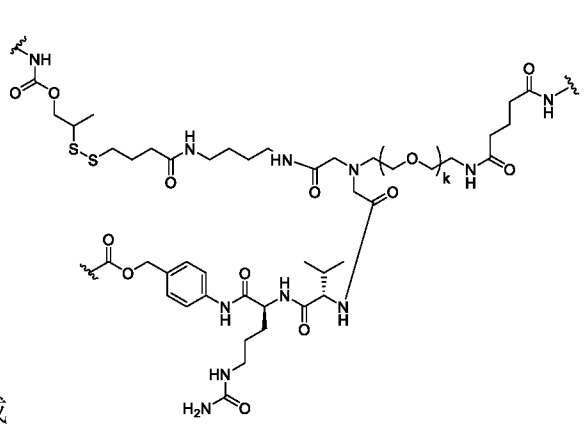
、



、



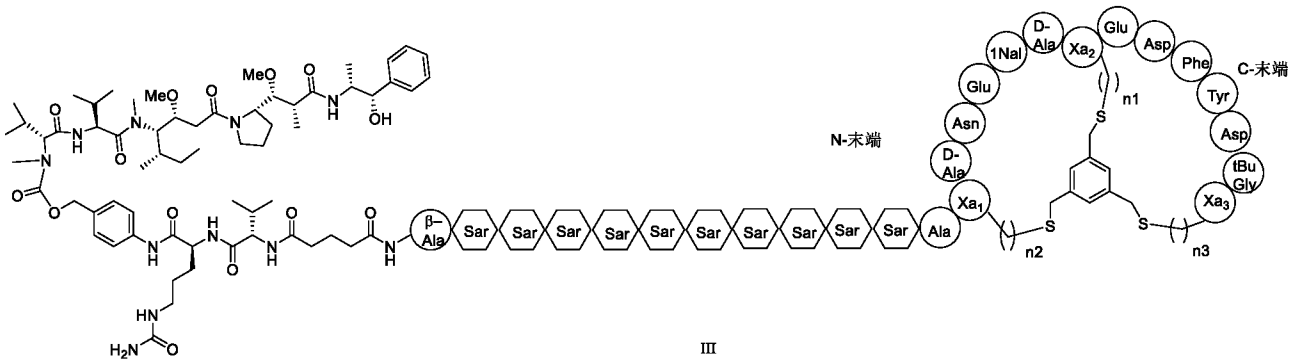
或



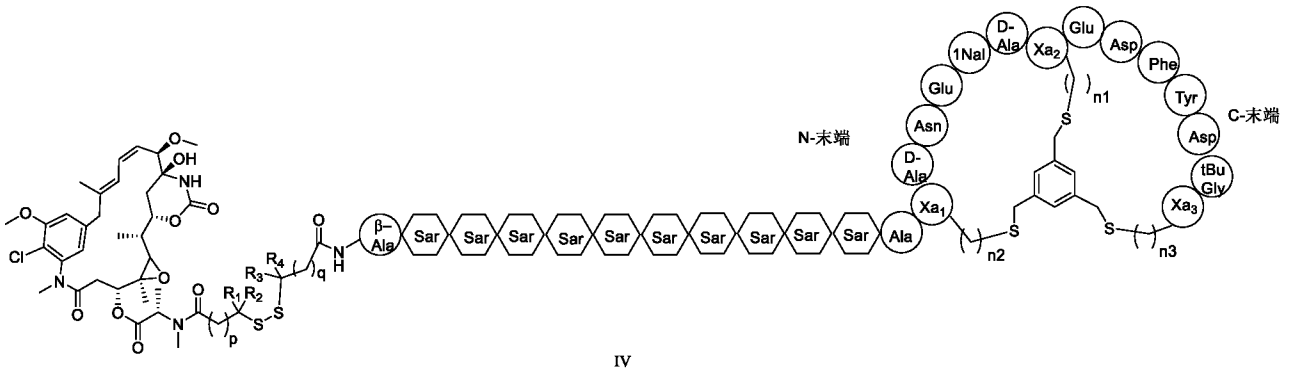
；

其中 k 选自 1-20 的任一整数。

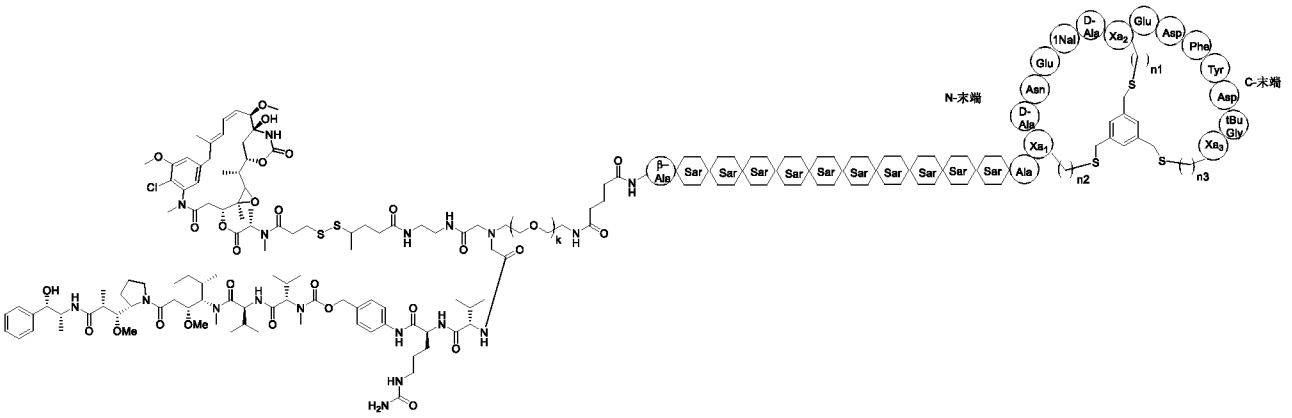
15. 根据权利要求 9 所述的药物缀合物或其药学上可接受的盐，其中所述药物缀合物具有式 III、式 IV、式 V 或式 VI 的结构：



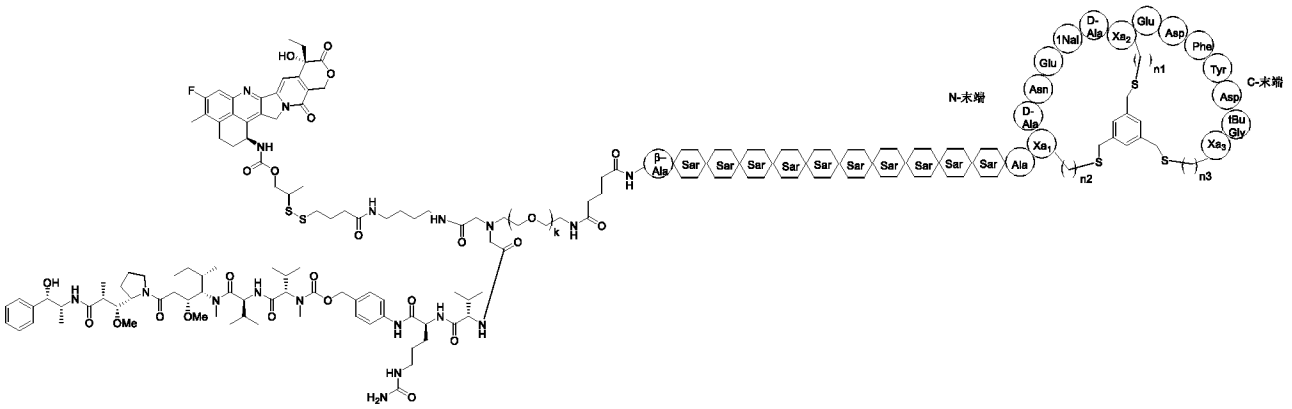
III



IV



V



VI

其中，R_1、R_2、R_3 和 R_4 独立地选自 H、甲基、乙基、丙基和异丙基；

p 和 q 独立地为 1、2、3、4 或 5；

k 独立地为 1-10 的任一整数；

Xa_1、Xa_2、Xa_3 独立地为 Cys 或 Hcys 残基，且至少有一个是 Hcys 残基；

当 Xa_1、Xa_2 或 Xa_3 为 Cys 时，对应地，n_1、n_2 或 n_3 为 1；

当 Xa_1、Xa_2 或 Xa_3 为 Hcys，对应地，n_1、n_2 或 n_3 为 2。

16. 根据权利要求 15 所述的药物缀合物或其药学上可接受的盐，其中：

R_1、R_2、R_3 和 R_4 独立地选自 H 或甲基；

p 和 q 独立地为 1 或 2；

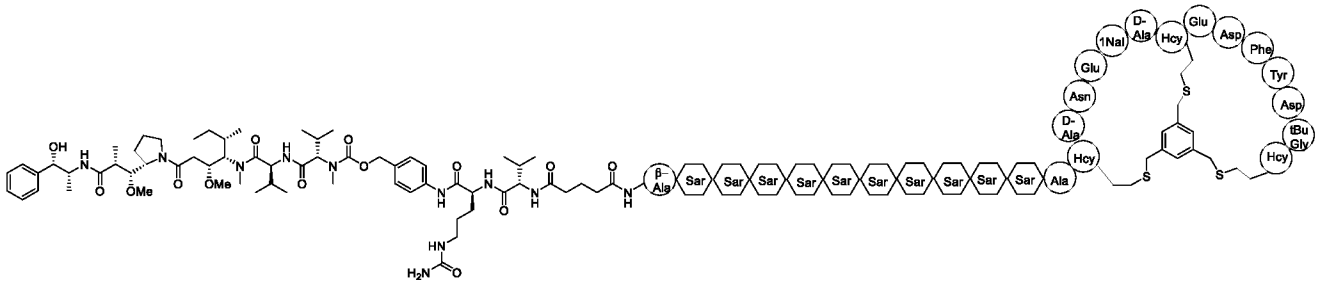
k 独立地为 1-5 的任一整数；且

Xa_1、Xa_2、Xa_3 为 Hcys，n_1、n_2、n_3 为 2；或

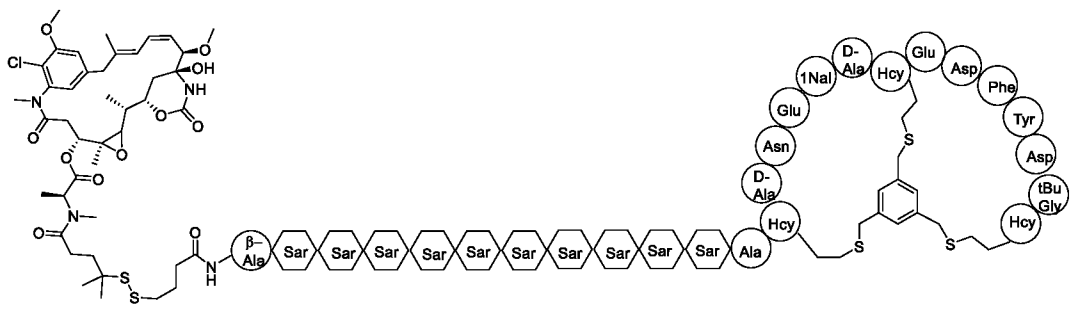
Xa_1、Xa_3 为 Hcys，Xa_2 为 Cys，n_1、n_3 为 2，n_2 为 1；或

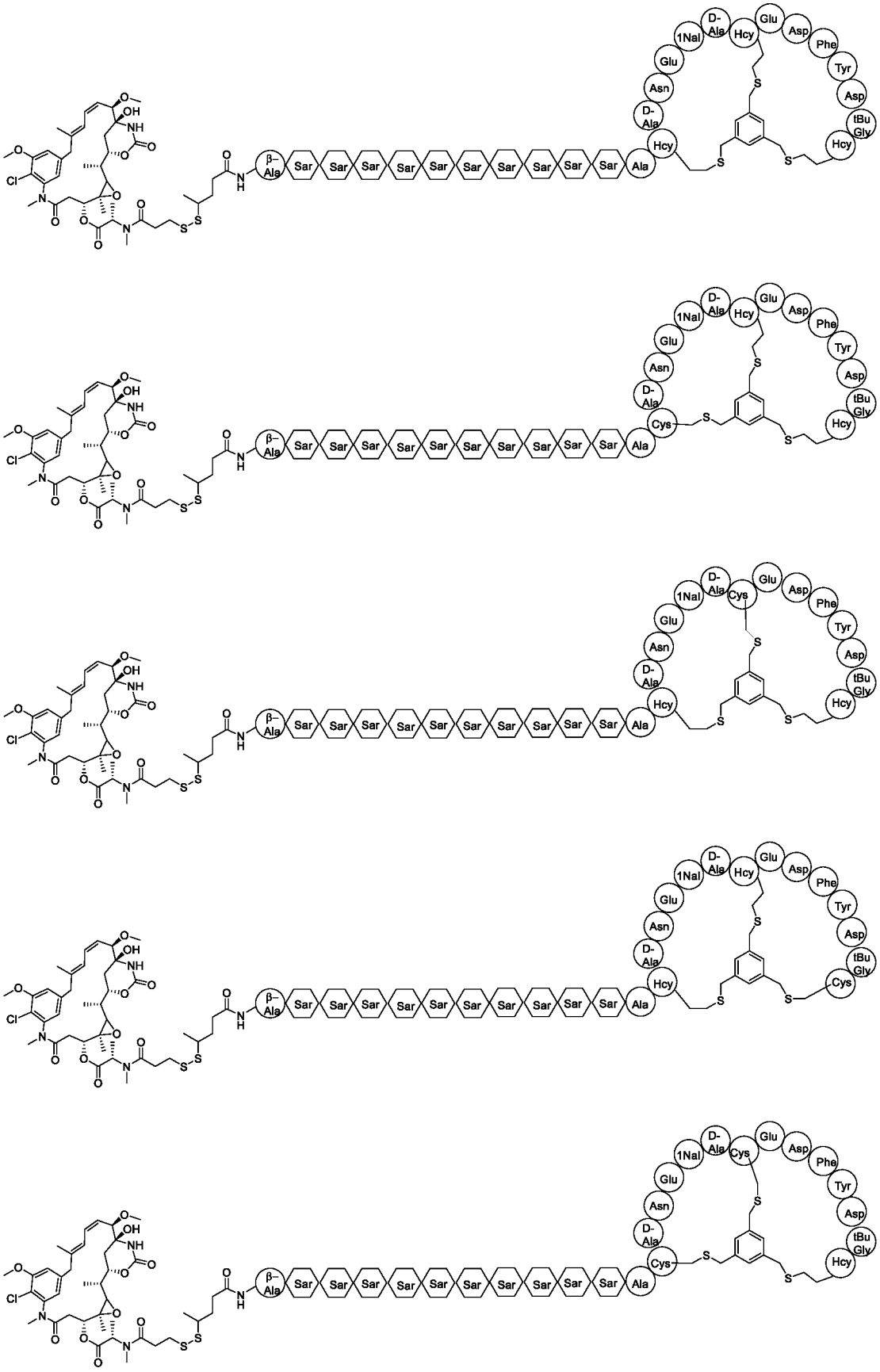
Xa_1、Xa_2 为 Cys，Xa_3 为 Hcys，n_1、n_2 为 1，n_3 为 2。

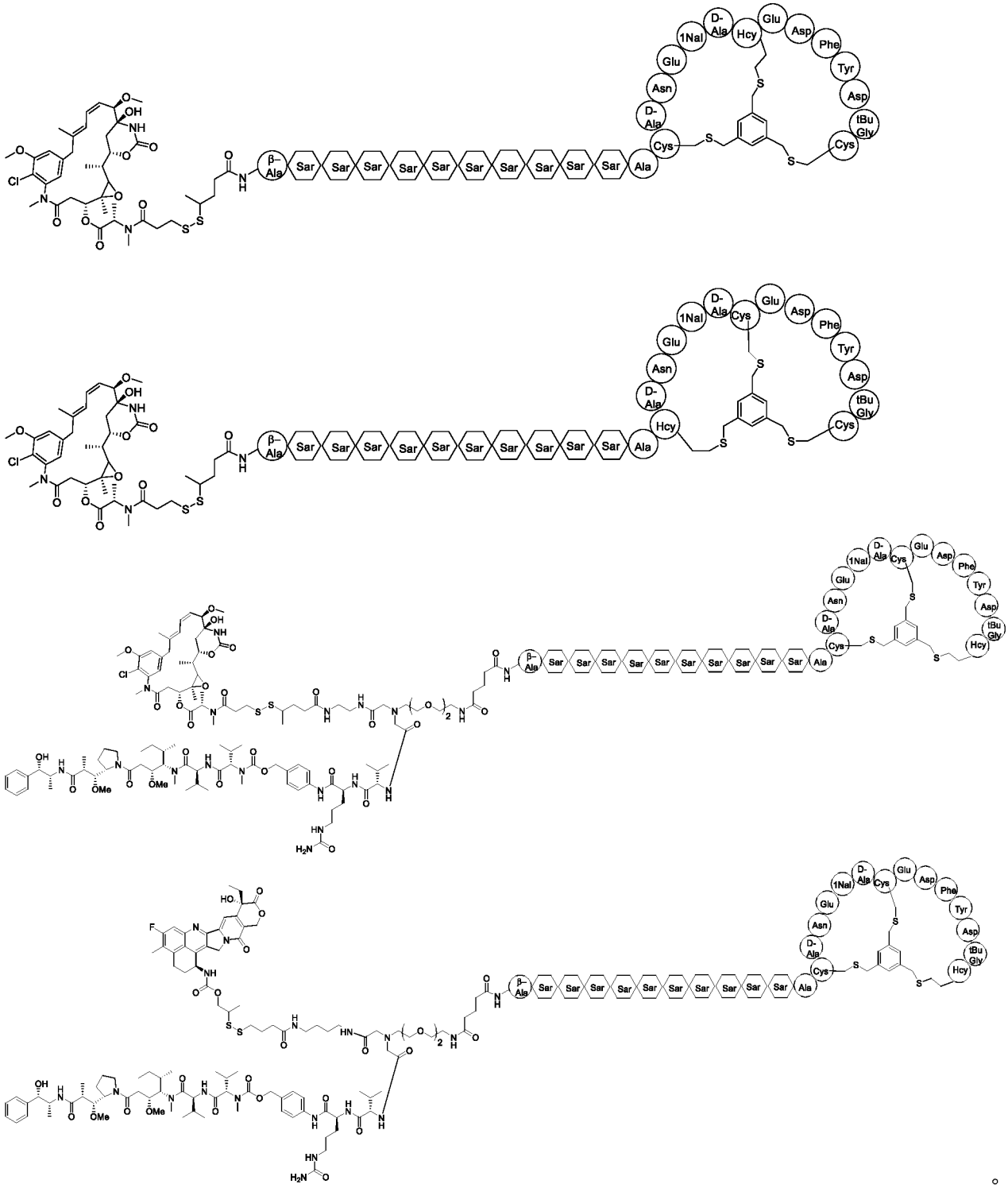
17. 一种药物缀合物或其药学上可接受的盐，所述药物缀合物选自以下结构之一：








Glu
D-Ala
1Nal
Hcy
Asp
Phe
Tyr
Asp
tBu Gly
Hcy
Glu
Asn
D-Ala
Hcy
S
S
S
β-Ala
Sar
Sar
Sar
Sar
Sar
Sar
Sar
Sar
Sar
Sar
Ala
O
OH
NH
Cl
N
O
S
S
Glu
D-Ala
1Nal
Hcy
Asp
Phe
Tyr
Asp
tBu Gly
Hcy
Glu
Asn
D-Ala
Cys
S
S
S
β-Ala
Sar
Sar
Sar
Sar
Sar
Sar
Sar
Sar
Sar
Sar
Ala
O
OH
NH
Cl
N
O
S
S
Glu
D-Ala
1Nal
Cys
Asp
Phe
Tyr
Asp
tBu Gly
Hcy
Glu
Asn
D-Ala
Hcy
S
S
S
β-Ala
Sar
Sar
Sar
Sar
Sar
Sar
Sar
Sar
Sar
Sar
Ala
O
OH
NH
Cl
N
O
S
S
Glu
D-Ala
1Nal
Hcy
Asp
Phe
Tyr
Asp
tBu Gly
Cys
Glu
Asn
D-Ala
Hcy
S
S
S
β-Ala
Sar
Sar
Sar
Sar
Sar
Sar
Sar
Sar
Sar
Sar
Ala
O
OH
NH
Cl
N
O
S
S
Glu
D-Ala
1Nal
Cys
Asp
Phe
Tyr
Asp
tBu Gly
Hcy
Glu
Asn
D-Ala
Cys
S
S
S
β-Ala
Sar
Sar
Sar
Sar
Sar
Sar
Sar
Sar
Sar
Sar
Ala
O
OH
NH
Cl
N
O
S
S



18. 一种药物组合物，其包含权利要求 1 至 7 中任一项所述的化合物和/或权利要求 9-17 任意一项所述的药物缀合物或其药学上可接受的盐，以及药学上可接受的载体和/或赋形剂。

19. 权利要求 1 至 7 中任一项所述的化合物，权利要求 9-17 任意一项所述的药物缀合物或其药学上可接受的盐，或者权利要求 18 所述的组合物，在制备预防和/或治疗过度表达 MT1-MMP 的疾病的药物中的用途，优选过度表达 MT1-MMP 的疾病选自以下疾病中的至少一种：神经母细胞瘤、小细胞肺癌、膀胱癌、胃癌、结肠癌、肝癌。

20. 一种药物组合物或药物制剂，所述的药物组合物或药物制剂包含选 1-1500mg 的权利要求 1 至 7 中任一项所述的化合物或权利要求 9 至 17 中任一项所述的药物缀合物或其药学上可接受的盐，以及药学上可接受的载体和/或赋形剂。

21. 一种用于治疗哺乳动物或人的疾病的方法，所述方法包括给予受试者治疗有效量的权利要求 1 至 7 中任一项所述的化合物或权利要求 9 至 17 中任一项所述的药物缀合物或其药学上可接受的盐，治疗有效量优选为 1-1500mg，所述的疾病优选为神经母细胞瘤、小细胞肺癌、膀胱癌、胃癌、结肠癌、肝癌中的至少一种。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2022/131909

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07K 7/08(2006.01)i; A61K 51/08(2006.01)i; A61K 51/04(2006.01)i; A61K 47/64(2017.01)i; A61P 35/00(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)

C07K; A61K; A61P

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)

CNTXT, WPABSC, WPABS, ENTXTC, ENTXT, DPWI, VEN, CNKI, Web of Science, 百度学术, BAIDU SCHOLAR, HimmPat, incoPat, 中国生物序列检索系统, Chinese Biological Sequence Retrieval System: 申请人, 发明人, 膜型基质金属蛋白酶-1, MT1-MMP, membrane type 1 matrix metalloproteinase, 双环肽, 双肽环, bicyclic peptide, 高半胱氨酸, homocysteine, 配体, ligand, 序列1-14

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN 107148425 A (BICYCLE THERAPEUTICS LTD.) 08 September 2017 (2017-09-08) claims 1-41, and description, paragraphs 6-18, 34-100, and 179-233	1-21
X	CN 113518648 A (BICYCLERD LTD.) 19 October 2021 (2021-10-19) claims 1-16	1-21
X	CN 113507962 A (BICYCLETX LIMITED) 15 October 2021 (2021-10-15) claims 1-23	1-21
X	CN 113474047 A (BICYCLETX LIMITED) 01 October 2021 (2021-10-01) claims 1-15	1-21
X	CN 109414510 A (BICYCLERD LTD.) 01 March 2019 (2019-03-01) claims 1-35	1-21
X	CN 110506049 A (BICYCLETX LIMITED) 26 November 2019 (2019-11-26) claims 1-37	1-21

☑ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☑ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"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)
"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
"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
"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
"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
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
12 January 2023	**19 January 2023**
Name and mailing address of the ISA/CN **China National Intellectual Property Administration (ISA/CN)** **No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088, China** Facsimile No. **(86-10)62019451**	Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2022/131909

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EDER, M. et al. "Bicyclic Peptides as a New Modality for Imaging and Targeting of Proteins Overexpressed by Tumors." *CANCER RESEARCH.*, Vol. 79, No. 4, 15 February 2019 (2019-02-15), pp. 841-852	1-21

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2022/131909

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
   a. ☑ forming part of the international application as filed:
      ☑ in the form of an Annex C/ST.25 text file.
      ☑ on paper or in the form of an image file.
   b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13*ter*.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
   c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
      ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13*ter*.1(a)).
      ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13*ter*.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).

2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2022/131909

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☑ Claims Nos.: **21**
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

[1] Claim 21 relates to a method for treating diseases, belonging to the subject matter as defined in PCT Rule 39.1(iv) that does not warrant a search conducted by the international searching authority. However, a search was conducted on the basis that the described subject matter is amended to be a corresponding pharmaceutical use.

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2022/131909

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	107148425	A	08 September 2017	HR	P20210809	T1	23 July 2021
				PT	3215518	T	25 May 2021
				US	2020171161	A1	04 June 2020
				HK	1243438	A1	13 July 2018
				RU	2019138346	A	13 December 2019
				CA	2965754	A1	06 May 2016
				JP	2021130672	A	09 September 2021
				KR	20170073611	A	28 June 2017
				JP	2018502825	A	01 February 2018
				US	2018280525	A1	04 October 2018
				ES	2870449	T3	27 October 2021
				PL	3215518	T3	23 August 2021
				DK	3215518	T3	25 May 2021
				WO	2016067035	A1	06 May 2016
				EP	3215518	A1	13 September 2017
				EP	3882258	A1	22 September 2021
				BR	112017008575	A2	26 December 2017
				SG	11201702845 Q	A	30 May 2017
				HU	E054526	T2	28 September 2021
				SI	3215518	T1	31 August 2021
				AU	2015340300	A1	11 May 2017
				RS	61853	B1	30 June 2021
				RU	2017118326	A	29 November 2018
				LT	3215518	T	10 June 2021
				US	2020289657	A1	17 September 2020
				US	2022023432	A1	27 January 2022
CN	113518648	A	19 October 2021	JP	2022513223	A	07 February 2022
				GB	201820295	D0	30 January 2019
				EP	3894006	A1	20 October 2021
				WO	2020120983	A1	18 June 2020
				US	2022072140	A1	10 March 2022
CN	113507962	A	15 October 2021	SG	11202106081 Y	A	29 July 2021
				AU	2019398516	A1	05 August 2021
				CA	3122669	A1	18 June 2020
				US	2022024982	A1	27 January 2022
				BR	112021011340	A2	08 September 2021
				KR	20210123295	A	13 October 2021
				WO	2020120984	A1	18 June 2020
				IL	283873	A	29 July 2021
				JP	2022513806	A	09 February 2022
				EP	3894010	A1	20 October 2021
CN	113474047	A	01 October 2021	US	2022362390	A1	17 November 2022
				BR	112021011217	A2	31 August 2021
				EA	202191651	A1	13 September 2021
				CA	3122659	A1	18 June 2020
				AU	2019398722	A1	05 August 2021
				EP	3894009	A1	20 October 2021
				JP	2022512478	A	04 February 2022
				GB	201820288	D0	30 January 2019
				SG	11202106082 T	A	29 July 2021

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2022/131909

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
				WO	2020120981	A1	18 June 2020
				IL	283874	A	29 July 2021
				KR	20210123296	A	13 October 2021
CN	109414510	A	01 March 2019	WO	2017191460	A1	09 November 2017
				JP	2019523214	A	22 August 2019
				EP	3452096	A1	13 March 2019
				GB	201607827	D0	15 June 2016
				US	2019134213	A1	09 May 2019
CN	110506049	A	26 November 2019	EP	3559019	A1	30 October 2019
				WO	2018115204	A1	28 June 2018
				CA	3046156	A1	28 June 2018
				ZA	201903811	B	23 December 2020
				MX	2019007367	A	27 January 2020
				AU	2017383008	A1	27 June 2019
				IL	267499	A	29 August 2019
				KR	20190126294	A	11 November 2019
				JP	2020514403	A	21 May 2020
				BR	112019012623	A2	19 November 2019
				US	2019389907	A1	26 December 2019
				PH	12019501667	A1	24 February 2020

国际检索报告

国际申请号
PCT/CN2022/131909

A. 主题的分类

C07K 7/08(2006.01)i; A61K 51/08(2006.01)i; A61K 51/04(2006.01)i; A61K 47/64(2017.01)i; A61P 35/00(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; A61K; A61P

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）)

CNTXT, WPABSC, WPABS, ENTXTC, ENTXT, DPWI, VEN, CNKI, Web of Science, 百度学术, HimmPat, incoPat, 中国生物序列检索系统：申请人，发明人，膜型基质金属蛋白酶-1，MT1-MMP，membrane type 1 matrix metalloproteinase，双环肽，双肽环，bicyclic peptide，高半胱氨酸，homocysteine，配体，ligand，序列1-14

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
X	CN 107148425 A (拜斯科医疗有限公司) 2017年9月8日 (2017-09-08) 权利要求1-41，说明书第6-18、34-100、179-233段	1-21
X	CN 113518648 A (拜斯科阿迪有限公司) 2021年10月19日 (2021-10-19) 权利要求1-16	1-21
X	CN 113507962 A (拜斯科技术开发有限公司) 2021年10月15日 (2021-10-15) 权利要求1-23	1-21
X	CN 113474047 A (拜斯科技术开发有限公司) 2021年10月1日 (2021-10-01) 权利要求1-15	1-21
X	CN 109414510 A (拜斯科阿迪有限公司) 2019年3月1日 (2019-03-01) 权利要求1-35	1-21
X	CN 110506049 A (拜斯科技术开发有限公司) 2019年11月26日 (2019-11-26) 权利要求1-37	1-21

☑ 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	国际检索报告邮寄日期
2023年1月12日	2023年1月19日
ISA/CN的名称和邮寄地址 中国国家知识产权局(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	受权官员 冯晓亮 电话号码 86-(10)-53961927

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
X	EDER, M.等. "Bicyclic Peptides as a New Modality for Imaging and Targeting of Proteins Overexpressed by Tumors." CANCER RESEARCH., 第79卷，第4期，2019年2月15日 (2019-02-15)，第841-852页	1-21

国际检索报告

国际申请号
PCT/CN2022/131909

第I栏　核苷酸和/或氨基酸序列(续第1页第1.c项)

1. 关于国际申请中所公开的任何核苷酸和/或氨基酸序列,国际检索是基于下列序列表进行的：

a. ☑ 作为国际申请的一部分提交的：
   - ☑ 附件C/ST.25文本文件形式
   - ☑ 纸件或图形文件形式

b. ☐ 根据细则13之三.1(a)仅为国际检索目的以附件C/ST.25文本文件形式与国际申请同时提交的：

c. ☐ 仅为国际检索目的在国际申请日之后提交的：
   - ☐ 附件C/ST.25文本文件形式（细则13之三.1(a)）
   - ☐ 纸件或图形文件形式（细则13之三.1(b)和行政规程第713段）

2. ☐ 另外，在提交/提供了多个版本或副本的序列表的情况下，提供了关于随后提交的或附加的副本中的信息与申请时提交的作为申请一部分的序列表的信息相同或未超出申请时提交的申请中的信息范围（如适用）的所需声明。

3. 补充意见：

国际检索报告

国际申请号
PCT/CN2022/131909

第II栏　某些权利要求被认为是不能检索的意见(续第1页第2项)

根据条约第17条(2)(a)，对某些权利要求未做国际检索报告的理由如下:

1. ☑ 权利要求： 21
因为它们涉及不要求本单位进行检索的主题，即：

[1] 权利要求21涉及疾病的治疗方法，属于PCT实施细则39.1(iv)规定的不要求国际检索单位检索的主题。但是，基于上述主题修改为相应的制药用途进行检索。

2. ☐ 权利要求：
因为它们涉及国际申请中不符合规定的要求的部分，以致不能进行任何有意义的国际检索， 具体地说：

3. ☐ 权利要求：
因为它们是从属权利要求，并且没有按照细则6.4(a)第2句和第3句的要求撰写。

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2022/131909

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	107148425	A	2017年9月8日	HR	P20210809	T1	2021年7月23日
				PT	3215518	T	2021年5月25日
				US	2020171161	A1	2020年6月4日
				HK	1243438	A1	2018年7月13日
				RU	2019138346	A	2019年12月13日
				CA	2965754	A1	2016年5月6日
				JP	2021130672	A	2021年9月9日
				KR	20170073611	A	2017年6月28日
				JP	2018502825	A	2018年2月1日
				US	2018280525	A1	2018年10月4日
				ES	2870449	T3	2021年10月27日
				PL	3215518	T3	2021年8月23日
				DK	3215518	T3	2021年5月25日
				WO	2016067035	A1	2016年5月6日
				EP	3215518	A1	2017年9月13日
				EP	3882258	A1	2021年9月22日
				BR	112017008575	A2	2017年12月26日
				SG	112017028450	A	2017年5月30日
				HU	E054526	T2	2021年9月28日
				SI	3215518	T1	2021年8月31日
				AU	2015340300	A1	2017年5月11日
				RS	61853	B1	2021年6月30日
				RU	2017118326	A	2018年11月29日
				LT	3215518	T	2021年6月10日
				US	2020289657	A1	2020年9月17日
				US	2022023432	A1	2022年1月27日
CN	113518648	A	2021年10月19日	JP	2022513223	A	2022年2月7日
				GB	201820295	D0	2019年1月30日
				EP	3894006	A1	2021年10月20日
				WO	2020120983	A1	2020年6月18日
				US	2022072140	A1	2022年3月10日
CN	113507962	A	2021年10月15日	SG	11202106081Y	A	2021年7月29日
				AU	2019398516	A1	2021年8月5日
				CA	3122669	A1	2020年6月18日
				US	2022024982	A1	2022年1月27日
				BR	112021011340	A2	2021年9月8日
				KR	20210123295	A	2021年10月13日
				WO	2020120984	A1	2020年6月18日
				IL	283873	A	2021年7月29日
				JP	2022513806	A	2022年2月9日
				EP	3894010	A1	2021年10月20日
CN	113474047	A	2021年10月1日	US	2022362390	A1	2022年11月17日
				BR	112021011217	A2	2021年8月31日
				EA	202191651	A1	2021年9月13日
				CA	3122659	A1	2020年6月18日
				AU	2019398722	A1	2021年8月5日
				EP	3894009	A1	2021年10月20日
				JP	2022512478	A	2022年2月4日
				GB	201820288	D0	2019年1月30日
				SG	11202106082T	A	2021年7月29日

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2022/131909

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)
				WO	2020120981	A1	2020年6月18日
				IL	283874	A	2021年7月29日
				KR	20210123296	A	2021年10月13日
CN	109414510	A	2019年3月1日	WO	2017191460	A1	2017年11月9日
				JP	2019523214	A	2019年8月22日
				EP	3452096	A1	2019年3月13日
				GB	201607827	D0	2016年6月15日
				US	2019134213	A1	2019年5月9日
CN	110506049	A	2019年11月26日	EP	3559019	A1	2019年10月30日
				WO	2018115204	A1	2018年6月28日
				CA	3046156	A1	2018年6月28日
				ZA	201903811	B	2020年12月23日
				MX	2019007367	A	2020年1月27日
				AU	2017383008	A1	2019年6月27日
				IL	267499	A	2019年8月29日
				KR	20190126294	A	2019年11月11日
				JP	2020514403	A	2020年5月21日
				BR	112019012623	A2	2019年11月19日
				US	2019389907	A1	2019年12月26日
				PH	12019501667	A1	2020年2月24日