



## (12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 112500466 B

(45) 授权公告日 2022.05.03

(21) 申请号 202011459929.2

(22) 申请日 2013.02.14

(65) 同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 112500466 A

(43) 申请公布日 2021.03.16

(30) 优先权数据  
61/599,328 2012.02.15 US  
61/656,962 2012.06.07 US  
61/723,770 2012.11.07 US

(62) 分案原申请数据  
201380009782.9 2013.02.14

(73) 专利权人 艾瑞朗医疗公司  
地址 美国马萨诸塞州

(72) 发明人 V·盖尔拉瓦伊斯 C·埃尔金  
H·M·纳什 T·K·萨维尔  
B·J·格拉维斯 E·菲伊凡

(74) 专利代理机构 北京安信方达知识产权代理有限公司 11262  
代理人 于萌萌

(51) Int.Cl.  
C07K 14/47 (2006.01)  
C07K 7/06 (2006.01)  
C07K 7/08 (2006.01)  
A61K 38/17 (2006.01)  
A61K 38/08 (2019.01)  
A61K 38/10 (2006.01)  
A61P 35/00 (2006.01)

(56) 对比文件

CN 102256615 A, 2011.11.23  
CN 101918841 A, 2010.12.15  
CN 101848722 A, 2010.09.29  
WO 2009149214 A2, 2009.12.10  
WO 2009126292 A2, 2009.10.15  
CN 102203245 A, 2011.09.28  
CN 102203126 A, 2011.09.28  
CN 101663044 A, 2010.03.03  
US 7083983 B2, 2006.08.01  
CN 102223891 A, 2011.10.19  
WO 2011047215 A1, 2011.04.21  
WO 2010034034 A1, 2010.03.25  
CN 101636407 A, 2010.01.27

Sushil Prasad Sati等.《Extra terminal residues have a profound effect on the folding and solubility of a Plasmodium falciparum sexual stage-specific protein over-expressed in Escherichia coli》.《Eur. J. Biochem.》.2002,第269卷(第21期),5259-5263.

Joerg Kallen等.《Crystal Structures of Human MdmX (HdmX) in Complex with p53 Peptide Analogues Reveal Surprising Conformational Changes》.《Journal of Biological Chemistry》.2009,第284卷(第13期),8812-8821.

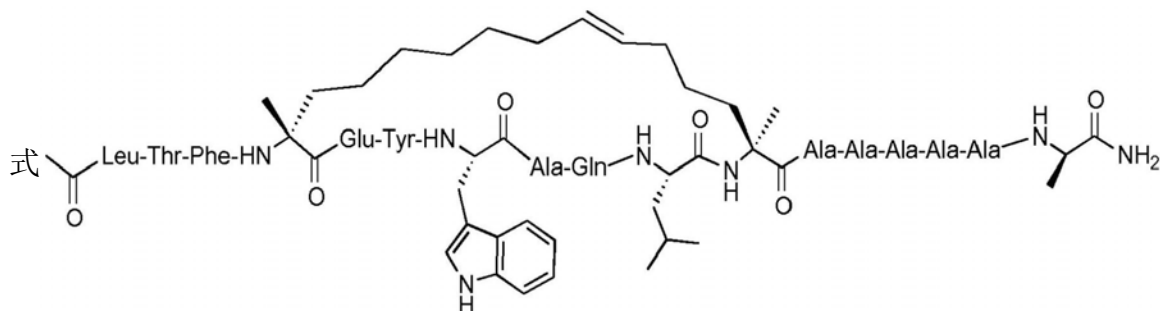
审查员 丁海

权利要求书2页 说明书154页  
序列表(电子公布) 附图6页

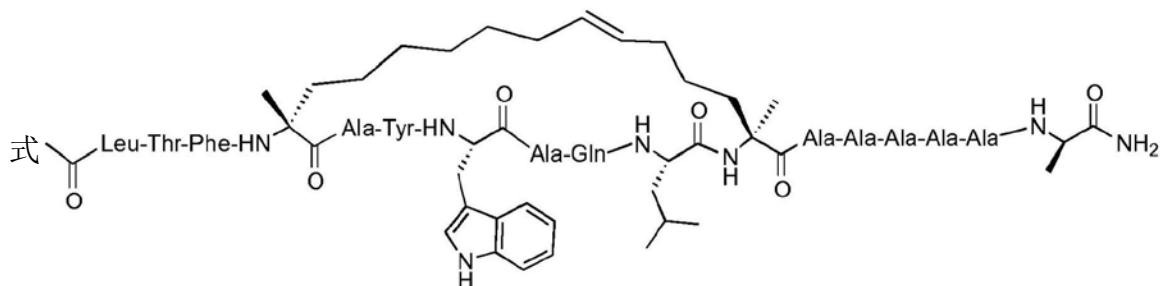
(54) 发明名称  
拟肽大环化合物

(57) 摘要  
本文提供了拟肽大环化合物以及使用此类大环化合物治疗疾病的方法。

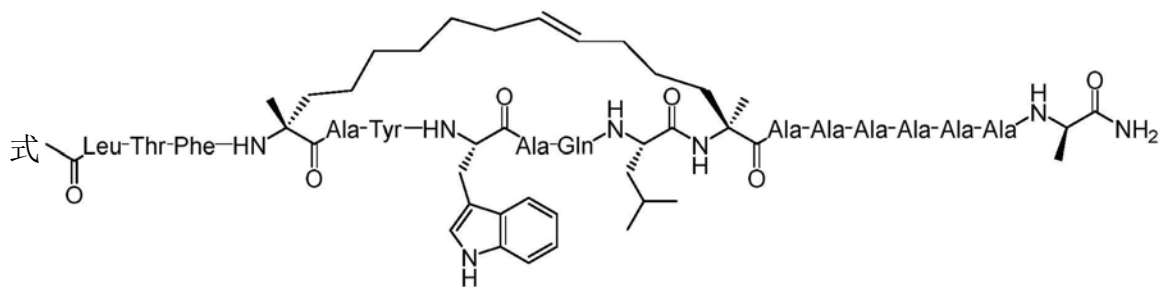
1. 选自以下式的拟肽大环化合物或其药物上可接受的盐：



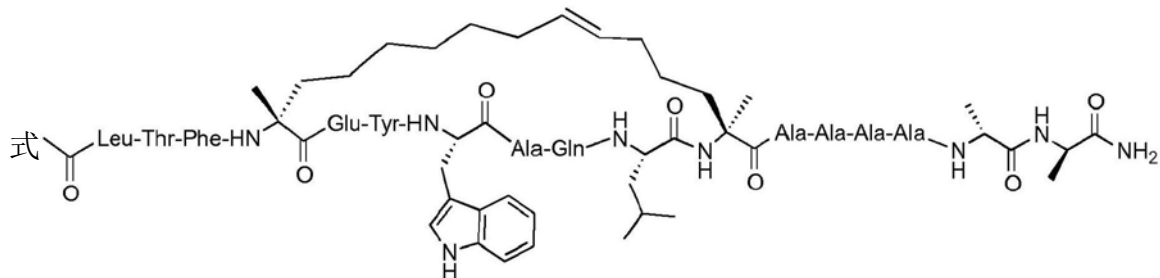
的拟肽大环化合物，与其对应的序列如SEQ ID NO:340所示；



的拟肽大环化合物，与其对应的序列如SEQ ID NO:324所示；

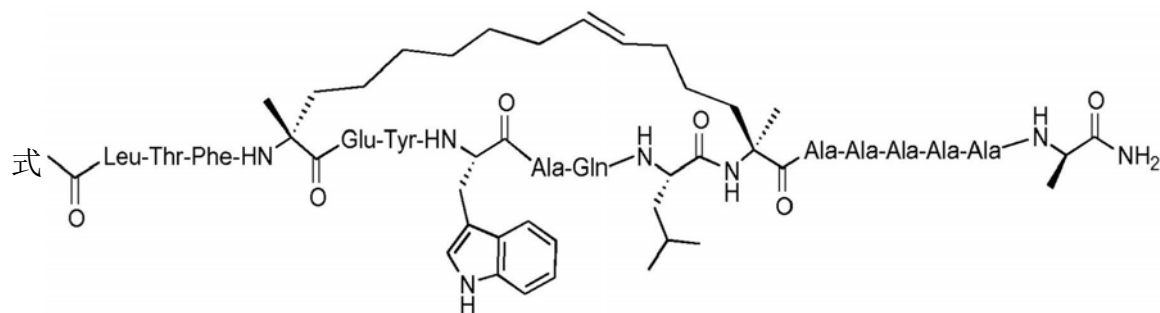


的拟肽大环化合物，与其对应的序列如SEQ ID NO:325所示；



的拟肽大环化合物，与其对应的序列如SEQ ID NO:481所示；以及  
它们药物上可接受的盐。

2. 根据权利要求1所述的拟肽大环化合物或其药物上可接受的盐，其为：



的拟肽大环化合物,与其对应的序列如SEQ ID NO:340所示。

3. 一种药物组合物,其包含权利要求1所述的拟肽大环化合物或其药物上可接受的盐。

## 拟肽大环化合物

[0001] 本申请是申请日为2013年02月14日、申请号为201710260477.7、发明名称为“拟肽大环化合物”的中国专利申请的分案申请。

[0002] 申请日为2013年02月14日、申请号为201710260477.7、发明名称为“拟肽大环化合物”的申请是申请日为2013年02月14日、申请号为201380009782.9、发明名称为“三唑交联的和硫醚交联的拟肽大环化合物”的中国专利申请(其对应PCT申请的申请日为2013年02月14日、申请号为PCT/US2013/026238)的分案申请。

[0003] 序列表

[0004] 本申请包含序列表,该序列表已经由EFS-Web以ASCII格式提交。于2013年3月20日创建的所述ASCII拷贝被命名为35224-766.601\_SL.txt,大小为1,201,625字节。

### 背景技术

[0005] 人转录因子蛋白质p53响应于DNA损伤和细胞应激而诱导细胞周期停滞和凋亡,从而在保护细胞免于恶性转化方面发挥关键作用。E3遍在蛋白连接酶MDM2(也称为HDM2)通过中和p53反式激活活性的直接结合相互作用而负调节p53的功能,导致p53蛋白质从核输出,并经由遍在蛋白化-蛋白酶体途径使p53降解。由缺失、突变或MDM2过表达而引起的p53活性丧失是人类癌症的最常见缺陷。表达野生型p53的肿瘤易受到稳定或提高活性p53浓度的药剂的攻击。在此背景下,已出现了对MDM2活性的抑制,作为经过验证的、用于在体外和体内恢复p53活性并使癌细胞再次对凋亡敏感的方法。MDMX(MDM4)最近已被鉴定为p53的相似的负调节剂,并且研究显示在MDM2和MDMX的p53结合界面之间具有显著的结构同源性。p53-MDM2和p53-MDMX的蛋白质-蛋白质相互作用由p53的同一个15个残基的 $\alpha$ 螺旋反式激活域介导,所述 $\alpha$ 螺旋反式激活域插入MDM2和MDMX的表面上的疏水性裂隙内。p53的这个域内的三个残基(F19、W23和L26)对与MDM2和MDMX的结合至关重要。

[0006] 对于能够与p53、MDM2和/或MDMX结合并调节其活性的化合物存在相当大的需求。本文提供了能调节p53活性的基于p53的拟肽大环化合物。本文还提供了能抑制p53、MDM2和/或MDMX蛋白之间相互作用的基于p53的拟肽大环化合物。此外,本文提供了能够用于治疗包括但不限于癌症和其它高增生性疾病的疾病的基于p53的拟肽大环化合物。

### 发明内容

[0007] 本文描述了与人p53的一部分相关的稳定交联的肽(“p53拟肽大环化合物”)。这些交联的肽含有至少两个经修饰的氨基酸,这些氨基酸一起形成分子内交联,该分子内交联可帮助稳定被认为对于p53与MDM2的结合和p53与MDMX的结合至关重要的p53一部分的 $\alpha$ 螺旋二级结构。因此,本文描述的交联多肽可具有相对于对应的非交联多肽改善的生物活性。据认为,p53拟肽大环化合物干扰p53与MDM2和/或p53与MDMX的结合,从而释放功能性p53并抑制其破坏。本文描述的p53拟肽大环化合物可治疗性地使用,例如用来治疗以不希望的低p53水平或低p53活性为特征的癌症和其它病症,以及/或者用来治疗以不希望的高水平MDM2或MDMX活性为特征的癌症和其它病症。p53拟肽大环化合物也可用于治疗与遭到破坏

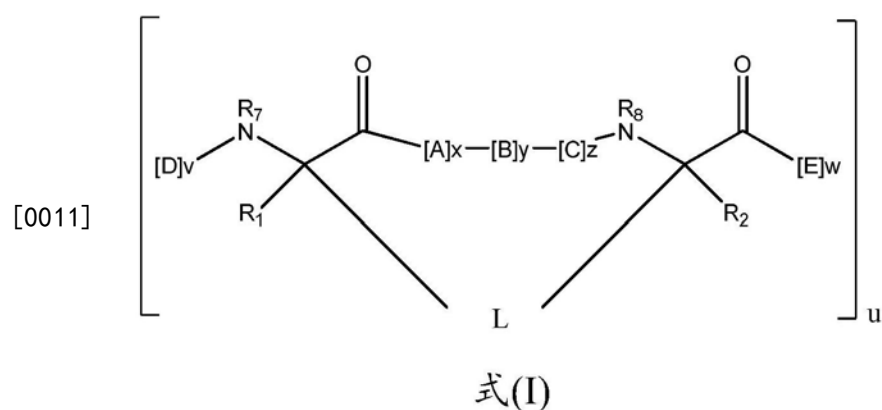


的p53转录途径的调节相关的任何病症(这种遭到破坏的调节导致过量细胞存活和增殖的病状,如癌症和自身免疫病),以及不适当的细胞周期停滞和凋亡的病状,如神经变性和免疫缺陷。在一些实施方案中,p53拟肽大环化合物与MDM2(例如,GenBank®登录号:228952;GI:228952)和/或MDMX(也被称为MDM4;GenBank®登录号:88702791;GI:88702791)结合。

[0008] 在一个方面,本文提供一种拟肽大环化合物,其包含的氨基酸序列与选自表1、表1a、表1b或表1c中氨基酸序列的氨基酸序列至少约60%、80%、90%或95%相同。或者,所述拟肽大环化合物的氨基酸序列选自表4中的氨基酸序列。在一些实施方案中,该拟肽大环化合物不是如表2a或2b所示的肽。在其它情况下,该拟肽大环化合物不包含如表2a或2b所示的结构。在一些实施方案中,该拟肽大环化合物具有选自表1的氨基酸序列。在一些实施方案中,该拟肽大环化合物具有选自表1a的氨基酸序列。在一些实施方案中,该拟肽大环化合物具有选自表1b的氨基酸序列。在一些实施方案中,该拟肽大环化合物具有选自表1c的氨基酸序列。

[0009] 或者,所述拟肽大环化合物的氨基酸序列如上所述进行选择,并且进一步其中该大环化合物不包括硫醚或三唑。在一些实施方案中,拟肽大环化合物包含螺旋,如 $\alpha$ -螺旋。在其它实施方案中,拟肽大环化合物包含 $\alpha,\alpha$ -二取代的氨基酸。拟肽大环化合物可包含连接至少两个氨基酸的 $\alpha$ -位的交联体(crosslinker)。所述两个氨基酸中的至少一个可以是 $\alpha,\alpha$ -二取代的氨基酸。

[0010] 在一些实施方案中,提供了下式的拟肽大环化合物:



[0012] 其中:

[0013] 各个A、C、D和E独立地为氨基酸;

[0014] B为氨基酸、 $\begin{matrix} R_3 \\ | \\ \text{---NH---N---} \\ | \quad \quad | \\ \text{H} \quad \quad \text{O} \end{matrix}$ 、 $[-\text{NH}-\text{L}_3-\text{CO}-]$ 、 $[-\text{NH}-\text{L}_3-\text{SO}_2-]$ 或 $[-\text{NH}-\text{L}_3-]$ ;

[0015]  $R_1$ 和 $R_2$ 独立地为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、环烷基烷基、杂烷基或杂环烷基,它们是未取代的或被卤素-取代的;或者 $R_1$ 和 $R_2$ 中的至少一个形成连接至所述D或E氨基酸之一的 $\alpha$ 位置的大环形成连接体 $L'$ ;

[0016]  $R_3$ 为氢、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、杂烷基、环烷基、杂环烷基、环烷基烷基、环芳基或杂环芳基,它们任选地被 $R_5$ 取代;

[0017] 各个L或 $L'$ 独立地为式 $-\text{L}_1-\text{L}_2-$ 的大环形成连接体;

[0018]  $L_1$ 和 $L_2$ 和 $L_3$ 独立地为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚环芳基、亚杂环芳基或 $[-R_4-K-R_4-]_n$ ,它们各自任选地被 $R_5$ 取代;

[0019] 各个 $R_4$ 为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚芳基或亚杂芳基;

[0020] 各个K为O、S、SO、SO<sub>2</sub>、CO、CO<sub>2</sub>或CONR<sub>3</sub>;

[0021] 各个 $R_5$ 独立地为卤素、烷基、-OR<sub>6</sub>、-N(R<sub>6</sub>)<sub>2</sub>、-SR<sub>6</sub>、-SOR<sub>6</sub>、-SO<sub>2</sub>R<sub>6</sub>、-CO<sub>2</sub>R<sub>6</sub>、荧光部分、放射性同位素或治疗剂;

[0022] 各个 $R_6$ 独立地为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基烷基、杂环烷基、荧光部分、放射性同位素或治疗剂;

[0023]  $R_7$ 为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、杂烷基、环烷基烷基、杂环烷基、环芳基或杂环芳基,它们任选地被 $R_5$ 取代,或是与D残基形成的环状结构的一部分;

[0024]  $R_8$ 为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、杂烷基、环烷基烷基、杂环烷基、环芳基或杂环芳基,它们任选地被 $R_5$ 取代,或是与E残基形成的环状结构的一部分;

[0025] v和w独立地为1-1000的整数,例如1-500、1-200、1-100、1-50、1-30、1-20或1-10;

[0026] u为1-10的整数,例如1-5、1-3或1-2;

[0027] x、y和z独立地为0-10的整数,例如x+y+z之和为2、3或6;且

[0028] n为1-5的整数。

[0029] 在一些实施方案中,w>2并且由E表示的前两个氨基酸中的每一个包含不带电荷的侧链或带负电荷的侧链。

[0030] 在一些实施方案中,由E代表的第一C-末端氨基酸和/或第二C-末端氨基酸包含疏水性侧链。例如,由E代表的第一C-末端氨基酸和/或第二C-末端氨基酸包含疏水性侧链,例如大的疏水性侧链。

[0031] 在一些实施方案中,w为3-1000。例如,由E代表的第三氨基酸包含大的疏水性侧链。

[0032] 在其它实施方案中,请求保护的拟肽大环化合物不包括以下序列:

[0033] Ac-RTQATF\$r8NQWAibANle\$TNAibTR-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:1),

[0034] Ac-RTQATF\$r8NQWAibANle\$TNAibTR-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:2),

[0035] Ac-\$r8SQQTFS\$LWRLAibQN-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:3),

[0036] Ac-QSQ\$r8TFSNLW\$LLAibQN-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:4),

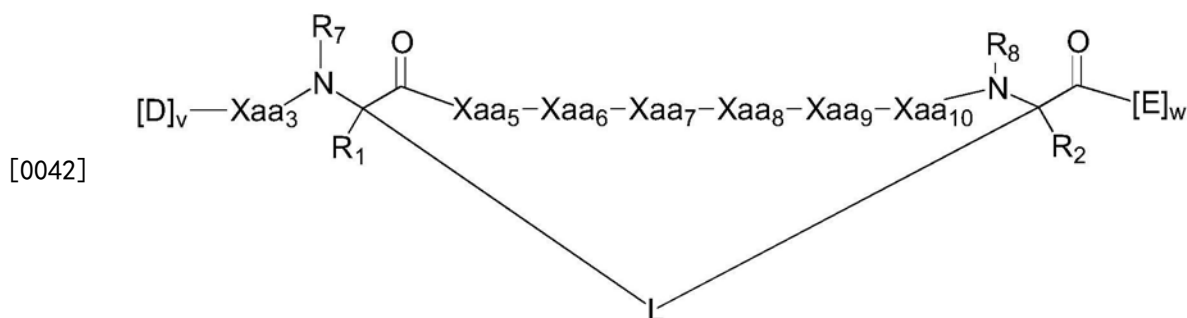
[0037] Ac-QS\$r5QTFS\$NLW\$LLAibQN-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:5),或Ac-

[0038] QSQQ\$r8FNSLWR\$LAibQN-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:6)。

[0039] 在其它实施方案中,请求保护的拟肽大环化合物不包括以下序列:

[0040] Ac-Q\$r8QQTFSN\$WRLAibQN-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:7)。

[0041] 还提供了下式的拟肽大环化合物:



[0043] 其中：

[0044] Xaa<sub>3</sub>、Xaa<sub>5</sub>、Xaa<sub>6</sub>、Xaa<sub>7</sub>、Xaa<sub>8</sub>、Xaa<sub>9</sub>和Xaa<sub>10</sub>中的每一个单独地为氨基酸，其中Xaa<sub>3</sub>、Xaa<sub>5</sub>、Xaa<sub>6</sub>、Xaa<sub>7</sub>、Xaa<sub>8</sub>、Xaa<sub>9</sub>和Xaa<sub>10</sub>中的至少三个是与序列Phe<sub>3</sub>-X<sub>4</sub>-His<sub>5</sub>-Tyr<sub>6</sub>-Trp<sub>7</sub>-Ala<sub>8</sub>-Gln<sub>9</sub>-Leu<sub>10</sub>-X<sub>11</sub>-Ser<sub>12</sub> (SEQ ID NO:8)的相应位置处的氨基酸相同的氨基酸，其中各个X为氨基酸；

[0045] 各个D和E独立地为氨基酸；

[0046] R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>独立地为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、环烷基烷基、杂烷基或杂环烷基，它们是未取代的或被卤素-取代的；或者R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>中的至少一个形成连接至所述D或E氨基酸之一的α位置的大环形成连接体L'；

[0047] 各个L或L'独立地为式-L<sub>1</sub>-L<sub>2</sub>-的大环形成连接体；

[0048] L<sub>1</sub>和L<sub>2</sub>独立地为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚环芳基、亚杂环芳基或[-R<sub>4</sub>-K-R<sub>4</sub>-]<sub>n</sub>，它们各自任选地被R<sub>5</sub>取代；

[0049] R<sub>3</sub>为氢、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、杂烷基、环烷基、杂环烷基、环烷基烷基、环芳基或杂环芳基，它们任选地被R<sub>5</sub>取代；

[0050] 各个R<sub>4</sub>为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚芳基或亚杂芳基；

[0051] 各个K为O、S、SO、SO<sub>2</sub>、CO、CO<sub>2</sub>或CONR<sub>3</sub>；

[0052] 各个R<sub>5</sub>独立地为卤素、烷基、-OR<sub>6</sub>、-N(R<sub>6</sub>)<sub>2</sub>、-SR<sub>6</sub>、-SOR<sub>6</sub>、-SO<sub>2</sub>R<sub>6</sub>、-CO<sub>2</sub>R<sub>6</sub>、荧光部分、放射性同位素或治疗剂；

[0053] 各个R<sub>6</sub>独立地为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基烷基、杂环烷基、荧光部分、放射性同位素或治疗剂；

[0054] R<sub>7</sub>为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、杂烷基、环烷基烷基、杂环烷基、环芳基或杂环芳基，它们任选地被R<sub>5</sub>取代，或是与D残基形成的环状结构的一部分；

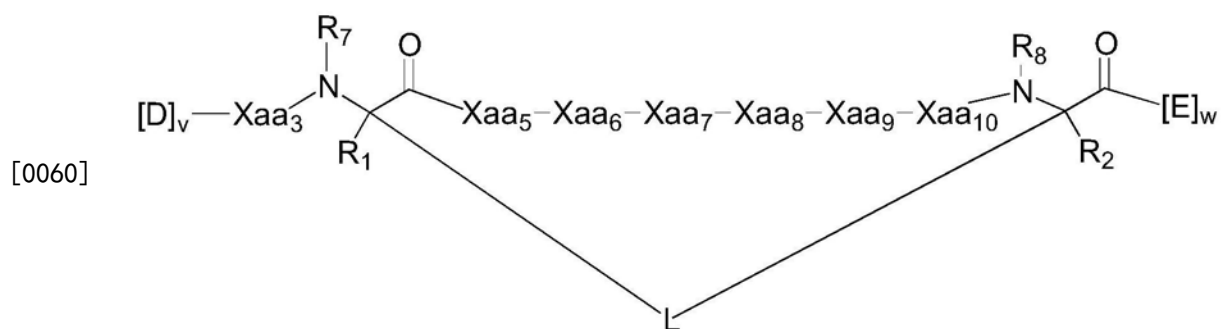
[0055] R<sub>8</sub>为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、杂烷基、环烷基烷基、杂环烷基、环芳基或杂环芳基，它们任选地被R<sub>5</sub>取代，或是与E残基形成的环状结构的一部分；

[0056] v为1-1000的整数，例如1-500、1-200、1-100、1-50、1-30、1-20或1-10；

[0057] w为3-1000的整数，例如3-500、3-200、3-100、3-50、3-30、3-20或3-10；且

[0058] n为1-5的整数。

[0059] 在一些实施方案中，拟肽大环化合物具有下式：



[0061] 其中：

[0062] Xaa<sub>3</sub>、Xaa<sub>5</sub>、Xaa<sub>6</sub>、Xaa<sub>7</sub>、Xaa<sub>8</sub>、Xaa<sub>9</sub>和Xaa<sub>10</sub>中的每一个单独地为氨基酸，其中Xaa<sub>3</sub>、Xaa<sub>5</sub>、Xaa<sub>6</sub>、Xaa<sub>7</sub>、Xaa<sub>8</sub>、Xaa<sub>9</sub>和Xaa<sub>10</sub>中的至少三个是与序列Phe<sub>3</sub>-X<sub>4</sub>-Glu<sub>5</sub>-Tyr<sub>6</sub>-Trp<sub>7</sub>-Ala<sub>8</sub>-Gln<sub>9</sub>-Leu<sub>10</sub>/Cba<sub>10</sub>-X<sub>11</sub>-Ala<sub>12</sub> (SEQ ID NO:9)的相应位置处的氨基酸相同的氨基酸，其中每个X为氨基酸；

[0063] 各个D独立地为氨基酸；

[0064] 各个E独立地为氨基酸，例如选自Ala (丙氨酸)、D-Ala (D-丙氨酸)、Aib (α-氨基异丁酸)、Sar (N-甲基甘氨酸)和Ser (丝氨酸)的氨基酸；

[0065] R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>独立地为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、环烷基烷基、杂烷基或杂环烷基，它们是未取代的或被卤素-取代的；或者R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>中的至少一个形成连接至所述D或E氨基酸之一的α位置的大环形成连接体L'；

[0066] 各个L或L'独立地为式-L<sub>1</sub>-L<sub>2</sub>-的大环形成连接体；

[0067] L<sub>1</sub>和L<sub>2</sub>独立地为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚环芳基、亚杂环芳基或[-R<sub>4</sub>-K-R<sub>4</sub>-]<sub>n</sub>，它们各自任选地被R<sub>5</sub>取代；

[0068] R<sub>3</sub>为氢、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、杂烷基、环烷基、杂环烷基、环烷基烷基、环芳基或杂环芳基，它们任选地被R<sub>5</sub>取代；

[0069] 各个R<sub>4</sub>为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚芳基或亚杂芳基；

[0070] 各个K为O、S、SO、SO<sub>2</sub>、CO、CO<sub>2</sub>或CONR<sub>3</sub>；

[0071] 各个R<sub>5</sub>独立地为卤素、烷基、-OR<sub>6</sub>、-N(R<sub>6</sub>)<sub>2</sub>、-SR<sub>6</sub>、-SOR<sub>6</sub>、-SO<sub>2</sub>R<sub>6</sub>、-CO<sub>2</sub>R<sub>6</sub>、荧光部分、放射性同位素或治疗剂；

[0072] 各个R<sub>6</sub>独立地为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基烷基、杂环烷基、荧光部分、放射性同位素或治疗剂；

[0073] R<sub>7</sub>为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、杂烷基、环烷基烷基、杂环烷基、环芳基或杂环芳基，它们任选地被R<sub>5</sub>取代，或是与D残基形成的环状结构的一部分；

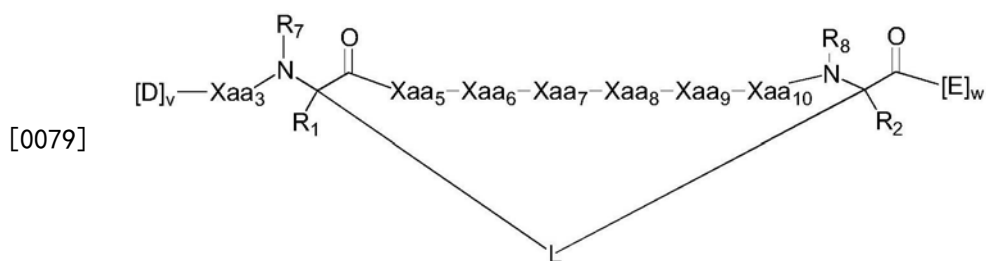
[0074] R<sub>8</sub>为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、杂烷基、环烷基烷基、杂环烷基、环芳基或杂环芳基，它们任选地被R<sub>5</sub>取代，或是与E残基形成的环状结构的一部分；

[0075] v为1-1000的整数，例如1-500、1-200、1-100、1-50、1-30、1-20或1-10；

[0076] w为3-1000的整数，例如3-500、3-200、3-100、3-50、3-30、3-20或3-10；且

[0077] n为1-5的整数。

[0078] 在一些实施方案中，拟肽大环化合物具有下式：



[0080] 其中：

[0081] Xaa<sub>3</sub>、Xaa<sub>5</sub>、Xaa<sub>6</sub>、Xaa<sub>7</sub>、Xaa<sub>8</sub>、Xaa<sub>9</sub>和Xaa<sub>10</sub>中的每一个单独地为氨基酸，其中Xaa<sub>3</sub>、Xaa<sub>5</sub>、Xaa<sub>6</sub>、Xaa<sub>8</sub>、Xaa<sub>9</sub>和Xaa<sub>10</sub>中的至少两个是与序列Phe<sub>3</sub>-X<sub>4</sub>-Glu<sub>5</sub>-Tyr<sub>6</sub>-Trp<sub>7</sub>-Ala<sub>8</sub>-Gln<sub>9</sub>-Leu<sub>10</sub>/Cba<sub>10</sub>-X<sub>11</sub>-Ala<sub>12</sub> (SEQ ID NO:9)的相应位置处的氨基酸相同的氨基酸，其中各个X为氨基酸；

[0082] 各个D和E独立地为氨基酸；

[0083] R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>独立地为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、环烷基烷基、杂烷基或杂环烷基，它们是未取代的或被卤素-取代的；或者R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>中的至少一个形成连接至所述D或E氨基酸之一的α位置的大环形成连接体L'；

[0084] 各个L或L'独立地为式-L<sub>1</sub>-L<sub>2</sub>-的大环形成连接体，其中L在E构型中包含至少一个双键；

[0085] L<sub>1</sub>和L<sub>2</sub>独立地为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚环芳基、亚杂环芳基或[-R<sub>4</sub>-K-R<sub>4</sub>-]<sub>n</sub>，它们各自任选地被R<sub>5</sub>取代；

[0086] R<sub>3</sub>为氢、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、杂烷基、环烷基、杂环烷基、环烷基烷基、环芳基或杂环芳基，它们任选地被R<sub>5</sub>取代；

[0087] 各个R<sub>4</sub>为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚芳基或亚杂芳基；

[0088] 各个K为O、S、SO、SO<sub>2</sub>、CO、CO<sub>2</sub>或CONR<sub>3</sub>；

[0089] 各个R<sub>5</sub>独立地为卤素、烷基、-OR<sub>6</sub>、-N(R<sub>6</sub>)<sub>2</sub>、-SR<sub>6</sub>、-SOR<sub>6</sub>、-SO<sub>2</sub>R<sub>6</sub>、-CO<sub>2</sub>R<sub>6</sub>、荧光部分、放射性同位素或治疗剂；

[0090] 各个R<sub>6</sub>独立地为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基烷基、杂环烷基、荧光部分、放射性同位素或治疗剂；

[0091] R<sub>7</sub>为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、杂烷基、环烷基烷基、杂环烷基、环芳基或杂环芳基，它们任选地被R<sub>5</sub>取代，或是与D残基形成的环状结构的一部分；

[0092] R<sub>8</sub>为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、杂烷基、环烷基烷基、杂环烷基、环芳基或杂环芳基，它们任选地被R<sub>5</sub>取代，或是与E残基形成的环状结构的一部分；

[0093] v为1-1000的整数；

[0094] w为3-1000的整数；

[0095] n为1-5的整数；且

[0096] Xaa<sub>7</sub>为Boc-保护的色氨酸。

[0097] 在本文所述的任何通式的一些实施方案中，[D]<sub>v</sub>为-Leu<sub>1</sub>-Thr<sub>2</sub>。在本文所述的通式的其它实施方案中，除由E表示的第三氨基酸以外的各个E为选自Ala(丙氨酸)、D-Ala(D-丙氨酸)、Aib(α-氨基异丁酸)、Sar(N-甲基甘氨酸)和Ser(丝氨酸)的氨基酸。

[0098] 在一些实施方案中,  $w$  为 3-10 的整数, 例如 3-6、3-8、6-8 或 6-10。在一些实施方案中,  $w$  为 3。在其它实施方案中,  $w$  为 6。在一些实施方案中,  $v$  为 1-10 的整数, 例如 2-5。在一些实施方案中,  $v$  为 2。

[0099] 在一些实施方案中, 本文公开的肽结合至少部分由 MDMX 氨基酸侧链所限定的结合位点 L17、V46、M50、Y96 (形成口袋的边缘) 和 L99。不受理论的束缚, 与这样的结合位点的结合改善了一种或多种性质, 如结合亲和力、凋亡的诱导、体内或体外抗肿瘤效力, 或降低的 MDMX 结合亲和力与 MDM2 结合亲和力之比。

[0100] 在一些实施方案中, 该拟肽大环化合物相对于其中  $w$  为 0、1 或 2 的对应拟肽大环化合物具有改善的对 MDM2 或 MDMX 的结合亲和力。在其它情况下, 该拟肽大环化合物相对于其中  $w$  为 0、1 或 2 的对应拟肽大环化合物具有降低的 MDMX 结合亲和力与 MDM2 结合亲和力之比。在另外其它的情况下, 该拟肽大环化合物相对于其中  $w$  为 0、1 或 2 的对应拟肽大环化合物具有改善的针对 p53 阳性肿瘤细胞系的体外抗肿瘤效力。在一些实施方案中, 该拟肽大环化合物相对于其中  $w$  为 0、1 或 2 的对应拟肽大环化合物在 p53 阳性肿瘤细胞系中显示出改善的体外凋亡诱导。在其它情况下, 权利要求 1 的拟肽大环化合物, 其中该拟肽大环化合物相对于其中  $w$  为 0、1 或 2 的对应拟肽大环化合物具有改善的针对 p53 阳性肿瘤细胞系与针对 p53 阴性或突变肿瘤细胞系的体外抗肿瘤效力比。在一些情况下, 该改善的体外效力比为 1-29、 $\geq 30$ -49 或  $\geq 50$ 。在另外其它的情况下, 该拟肽大环化合物相对于其中  $w$  为 0、1 或 2 的对应拟肽大环化合物具有改善的针对 p53 阳性肿瘤的体内抗肿瘤效力。在一些情况下, 该改善的体内效力比为 -29、 $\geq 30$ -49 或  $\geq 50$ 。在另外其它的情况下, 该拟肽大环化合物相对于其中  $w$  为 0、1 或 2 的对应拟肽大环化合物在 p53 阳性肿瘤中具有改善的体内凋亡诱导。在一些实施方案中, 该拟肽大环化合物相对于其中  $w$  为 0、1 或 2 的对应拟肽大环化合物具有改善的细胞透性。在其它情况下, 该拟肽大环化合物相对于其中  $w$  为 0、1 或 2 的对应拟肽大环化合物具有改善的溶解度。

[0101] 在一些实施方案中,  $Xaa_5$  为 Glu 或其氨基酸类似物。在一些实施方案中,  $Xaa_5$  为 Glu 或其氨基酸类似物, 并且其中该拟肽大环化合物相对于其中  $Xaa_5$  为 Ala 的对应拟肽大环化合物具有改善的性质, 如改善的结合亲和力、改善的溶解度、改善的细胞效力、改善的细胞透性、改善的体内或体外抗肿瘤效力, 或改善的凋亡诱导。

[0102] 在一些实施方案中, 该拟肽大环化合物相对于其中  $Xaa_5$  为 Ala 的对应拟肽大环化合物具有改善的对 MDM2 或 MDMX 的结合亲和力。在其它实施方案中, 该拟肽大环化合物相对于其中  $Xaa_5$  为 Ala 的对应拟肽大环化合物具有降低的 MDMX 结合亲和力与 MDM2 结合亲和力之比。在一些实施方案中, 该拟肽大环化合物相对于其中  $Xaa_5$  为 Ala 的对应拟肽大环化合物具有改善的溶解度, 或者该拟肽大环化合物相对于其中  $Xaa_5$  为 Ala 的对应拟肽大环化合物具有改善的细胞效力。

[0103] 在一些实施方案中,  $Xaa_5$  为 Glu 或其氨基酸类似物, 并且其中该拟肽大环化合物相对于其中  $Xaa_5$  为 Ala 的对应拟肽大环化合物具有改善的生物活性, 如改善的结合亲和力、改善的溶解度、改善的细胞效力、改善的螺旋度、改善的细胞透性、改善的体内或体外抗肿瘤效力, 或改善的凋亡诱导。

[0104] 在一些实施方案中, 该拟肽大环化合物具有针对 p53+/+ 细胞系的活性, 该活性为针对 p53-/- 细胞系的结合亲和力的至少 2 倍、3 倍、5 倍、10 倍、20 倍、30 倍、50 倍、70 倍或 100

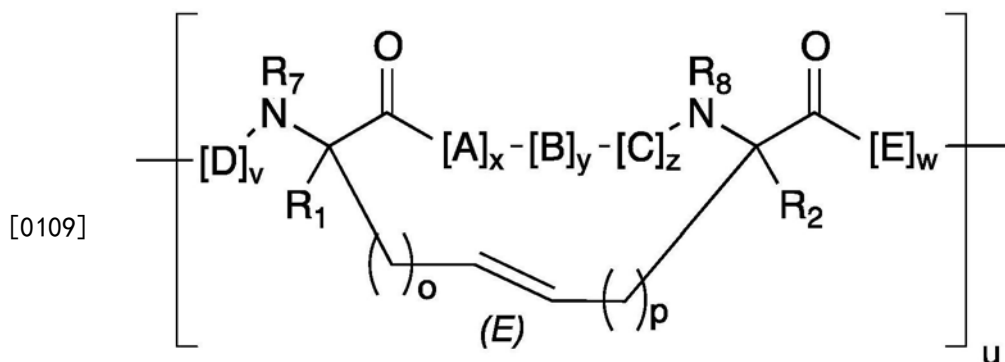
倍。在一些实施方案中,该拟肽大环化合物具有针对p53+/+细胞系的活性,该活性为针对p53-/-细胞系的结合亲和力的1-29倍、30-49倍或 $\geq 50$ 倍。例如,活性可以作为IC50值进行测定。例如,该p53+/+细胞系为SJSA-1、RK0、HCT-116或MCF-7,且该p53-/-细胞系为RK0-E6或SW-480。在一些实施方案中,该肽具有小于1 $\mu$ M的针对p53+/+细胞系的IC50。

[0105] 在一些实施方案中,Xaa<sub>5</sub>为Glu或其氨基酸类似物,并且该拟肽大环化合物具有的针对p53+/+细胞系的活性至少为其针对p53-/-细胞系的结合亲和力的10倍。

[0106] 另外,提供了一种治疗受试者的癌症的方法,包括向该受试者施用拟肽大环化合物。在一些实施方案中,该癌症为头颈癌、黑素瘤、肺癌、乳腺癌或神经胶质瘤。

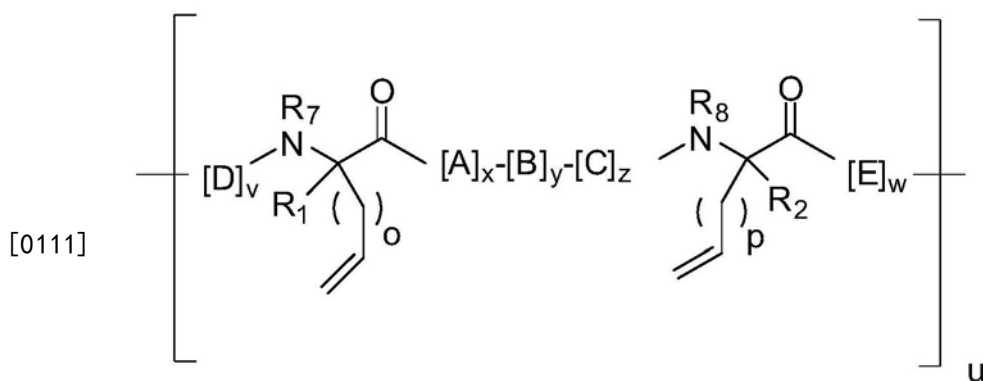
[0107] 还提供了一种调节受试者中的p53或MDM2或MDMX的活性的方法,包括向该受试者施用拟肽大环化合物,或者一种拮抗受试者中的p53与MDM2和/或MDMX蛋白质之间的相互作用的方法,包括向该受试者施用这样的拟肽大环化合物。

[0108] 本文提供了一种制备包含式(I)的拟肽大环化合物的组物的方法:



式(I)

[0110] 该拟肽大环化合物包含与选自表1、表1a、表1b或表1c中的氨基酸序列的氨基酸序列约60%至约100%相同的氨基酸序列,该方法包括用催化剂处理式(II)的化合物:

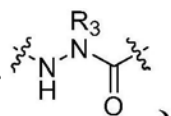


式(II)

[0112] 以产生式I的化合物

[0113] 其中,在式(I)和(II)的化合物中,

[0114] 各个A、C、D和E独立地为氨基酸;

[0115] 各个B独立地为氨基酸、  $[-NH-L_3-CO-]$ 、 $[-NH-L_3-SO_2-]$ 或 $[-NH-L_3-]$ ；

[0116] 各个 $R_1$ 和 $R_2$ 独立地为氢、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、环烷基烷基、杂烷基或杂环烷基，它们是未取代的或被卤素取代的；或者 $R_1$ 和 $R_2$ 中的至少一个形成连接至所述D或E氨基酸之一的 $\alpha$ 位置的大环形成连接体 $L'$ ；

[0117] 各个 $R_3$ 独立地为氢、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、杂烷基、环烷基、杂环烷基、环烷基烷基、环芳基或杂环芳基，它们任选地被 $R_5$ 取代；

[0118] 各个 $L'$ 独立地为式 $-L_1-L_2-$ 的大环形成连接体；

[0119] 各个 $L_1$ 、 $L_2$ 和 $L_3$ 独立地为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚环芳基、亚杂环芳基或 $[-R_4-K-R_4-]_n$ ，它们各自任选地被 $R_5$ 取代；

[0120] 各个 $R_4$ 和 $R_4'$ 独立地为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚芳基或亚杂芳基；

[0121] 各个K独立地为O、S、SO、SO<sub>2</sub>、CO、CO<sub>2</sub>或CONR<sub>3</sub>；

[0122] 各个 $R_5$ 独立地为卤素、烷基、-OR<sub>6</sub>、-N(R<sub>6</sub>)<sub>2</sub>、-SR<sub>6</sub>、-SOR<sub>6</sub>、-SO<sub>2</sub>R<sub>6</sub>、-CO<sub>2</sub>R<sub>6</sub>、荧光部分、放射性同位素或治疗剂；

[0123] 各个 $R_6$ 独立地为氢、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基烷基、杂环烷基、荧光部分、放射性同位素或治疗剂；

[0124] 各个 $R_7$ 独立地为氢、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、杂烷基、环烷基烷基、杂环烷基、环芳基或杂环芳基，它们任选地被 $R_5$ 取代，或是与D残基形成的环状结构的一部分；

[0125] 各个 $R_8$ 独立地为氢、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、杂烷基、环烷基烷基、杂环烷基、环芳基或杂环芳基，它们任选地被 $R_5$ 取代，或是与E残基形成的环状结构的一部分；

[0126] 各个v和w独立地为1-1000的整数；

[0127] u为1-10的整数；

[0128] 各个x、y和z独立地为0-10的整数；

[0129] 各个n独立地为1-5的整数；

[0130] 各个o独立地为1-15的整数；

[0131] 各个p独立地为1-15的整数；

[0132] “(E)”表示反式双键；且

[0133] 式(I)和(II)化合物中存在的氨基酸A、C和/或B(当B为氨基酸时)中的一个或多个具有携带保护基团的侧链。

[0134] 在一些实施方案中，该保护基团是氮原子保护基团。

[0135] 在一些实施方案中，该保护基团为Boc基团。

[0136] 在一些实施方案中，所述携带保护基团的氨基酸的侧链包含受保护的吡啶。

[0137] 在一些实施方案中，在其侧链上携带所述保护基团的氨基酸为在其吡啶氮上被保护基团所保护的色氨酸(W)。例如，该保护基团为Boc基团。

[0138] 在一些实施方案中，在式II的化合物与催化剂接触的步骤后，以等于或高于为Z异构体的对应化合物的量获得式(I)的化合物。例如，在式II的化合物与催化剂接触的步骤后，以2、3、4、5、6、7、8、9或10倍于为Z异构体的对应化合物的量获得式(I)的化合物。



[0139] 在一些实施方案中,所述催化剂为钨催化剂。

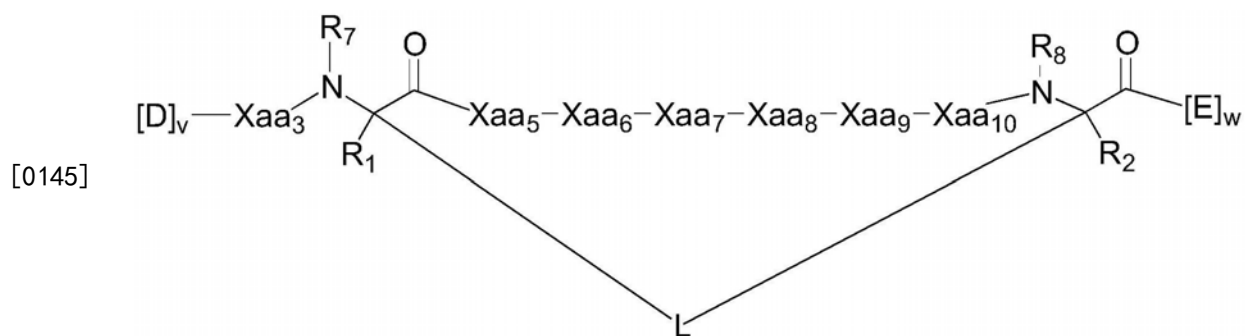
[0140] 在一些实施方案中,所述方法进一步包括用还原剂或氧化剂处理式(I)的化合物的步骤。

[0141] 在一些实施方案中,式(II)的化合物附着到固体载体上。在其它实施方案中,式(II)的化合物不附着到固体载体上。

[0142] 在一些实施方案中,所述方法进一步包括从式(I)的化合物上除去保护基团。

[0143] 在一些实施方案中,在约20℃至约80℃的温度下进行闭环复分解反应。

[0144] 在一些实施方案中,式(I)的拟肽大环化合物具有下式:



[0146] 其中:

[0147] Xaa<sub>3</sub>、Xaa<sub>5</sub>、Xaa<sub>6</sub>、Xaa<sub>7</sub>、Xaa<sub>8</sub>、Xaa<sub>9</sub>和Xaa<sub>10</sub>中的每一个单独地为氨基酸,其中Xaa<sub>3</sub>、Xaa<sub>5</sub>、Xaa<sub>6</sub>、Xaa<sub>8</sub>、Xaa<sub>9</sub>和Xaa<sub>10</sub>中的至少两个是与序列Phe<sub>3</sub>-X<sub>4</sub>-His<sub>5</sub>-Tyr<sub>6</sub>-Trp<sub>7</sub>-Ala<sub>8</sub>-Gln<sub>9</sub>-Leu<sub>10</sub>-X<sub>11</sub>-Ser<sub>12</sub>(SEQ ID NO:8)的相应位置处的氨基酸相同的氨基酸,其中各个X为氨基酸;

[0148] 各个D和E独立地为氨基酸;

[0149] R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>独立地为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、环烷基烷基、杂烷基或杂环烷基,它们是未取代的或被卤素-取代的;或者R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>中的至少一个形成连接至所述D或E氨基酸之一的α位置的大环形成连接体L' ;

[0150] 各个L或L' 独立地为式-L<sub>1</sub>-L<sub>2</sub>-的大环形成连接体,其中L在E构型中包含至少一个双键;

[0151] L<sub>1</sub>和L<sub>2</sub>独立地为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚环芳基、亚杂环芳基或[-R<sub>4</sub>-K-R<sub>4</sub>-]<sub>n</sub>,它们各自任选地被R<sub>5</sub>取代;

[0152] R<sub>3</sub>为氢、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、杂烷基、环烷基、杂环烷基、环烷基烷基、环芳基或杂环芳基,它们任选地被R<sub>5</sub>取代;

[0153] 各个R<sub>4</sub>为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚芳基或亚杂芳基;

[0154] 各个K为O、S、SO、SO<sub>2</sub>、CO、CO<sub>2</sub>或CONR<sub>3</sub>;

[0155] 各个R<sub>5</sub>独立地为卤素、烷基、-OR<sub>6</sub>、-N(R<sub>6</sub>)<sub>2</sub>、-SR<sub>6</sub>、-SOR<sub>6</sub>、-SO<sub>2</sub>R<sub>6</sub>、-CO<sub>2</sub>R<sub>6</sub>、荧光部分、放射性同位素或治疗剂;

[0156] 各个R<sub>6</sub>独立地为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基烷基、杂环烷基、荧光部分、放射性同位素或治疗剂;

[0157] R<sub>7</sub>为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、杂烷基、环烷基烷基、杂环烷基、环芳基或杂环芳基,它们任选地被R<sub>5</sub>取代,或是与D残基形成的环状结构的一部分;

[0158] R<sub>8</sub>为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、杂烷基、环烷基烷基、杂环烷基、环芳

基或杂环芳基,它们任选地被 $R_5$ 取代,或是与E残基形成的环状结构的一部分;

[0159] v为1-1000的整数;

[0160] w为3-1000的整数;

[0161] n为1-5的整数;且

[0162] Xaa<sub>7</sub>为Boc-保护的色氨酸。

[0163] 在一些实施方案中,式(I)的拟肽大环化合物包含 $\alpha$ -螺旋。

## 附图说明

[0164] 在所附的权利要求书中详细地阐述了本发明的新特征。通过参考以下对利用本发明原理的说明性实施方案加以阐述的详细说明和附图,将会获得对本发明的特征和优点的更好的理解,在这些附图中:

[0165] 图1示出了与MDMX (Primary SwissProt数据库登录号Q7ZUW7,条目MDM4\_DANRE) 复合的拟肽大环化合物46 (表2b) (一种p53拟肽大环化合物) 的结构。

[0166] 图2示出了与MDMX (Primary SwissProt数据库登录号Q7ZUW7,条目MDM4\_DANRE) 结合的p53拟肽大环化合物142 (表2b) 和SP43的叠加结构。

[0167] 图3示出了拟肽大环化合物SP154对小鼠MCF-7异种移植模型中肿瘤生长的影响。

[0168] 图4示出了拟肽大环化合物SP249对小鼠MCF-7异种移植模型中肿瘤生长的影响。

[0169] 图5示出了拟肽大环化合物SP315对小鼠MCF-7异种移植模型中肿瘤生长的影响。

[0170] 图6示出了SP154的点突变SP252对小鼠MCF-7异种移植模型中肿瘤生长的影响。

[0171] 图7示出了具有不同C-末端延伸的拟肽大环化合物的溶解度曲线图。

## [0172] 发明详述

[0173] 如本文所用的,术语“大环化合物”是指这样一种分子,该分子具有包括由至少9个共价键合的原子形成的环或环形的化学结构。

[0174] 如本文所用的,术语“拟肽大环化合物”或“交联的多肽”是指包含通过多个肽键连接的多个氨基酸残基和至少一个大环形成连接体的化合物,所述大环形成连接体在第一天然存在的或非天然存在的氨基酸残基(或类似物)与同一分子内的第二天然存在的或非天然存在的氨基酸残基(或类似物)之间形成大环。拟肽大环化合物包括其中大环形成连接体将第一氨基酸残基(或类似物)的 $\alpha$ 碳连接至第二氨基酸残基(或类似物)的 $\alpha$ 碳的实施方案。拟肽大环化合物任选地包含处于一个或多个氨基酸残基和/或氨基酸类似物残基之间的一个或多个非肽键,且除了形成大环化合物的任意残基外,任选地还包含一个或多个非天然存在的氨基酸残基或氨基酸类似物残基。当在拟肽大环化合物的背景下提及时,“相应的非交联多肽”被理解为涉及与该大环化合物长度相同并且包含对应于该大环化合物的野生型序列的等同天然氨基酸的多肽。

[0175] 如本文所用的,术语“稳定性”是指如通过圆二色性、NMR或另一种生物物理测量法测量的,拟肽大环化合物在溶液中维持确定的二级结构,或在体外或体内对蛋白水解降解作用的抗性。本文预期的二级结构的非限制性例子是 $\alpha$ -螺旋、 $3_{10}$ 螺旋、 $\beta$ -转角和 $\beta$ -折叠。

[0176] 如本文所用的,术语“螺旋稳定性”是指如通过圆二色性或NMR测量的,拟肽大环化合物维持 $\alpha$ -螺旋结构。例如,在一些实施方案中,与相应的非交联的大环化合物相比,如通过圆二色性确定的,拟肽大环化合物在 $\alpha$ -螺旋度上表现出至少1.25、1.5、1.75或2倍的增

加。

[0177] 术语“氨基酸”是指同时含有氨基和羧基的分子。合适的氨基酸包括但不限于天然存在的氨基酸的D-和L-异构体,以及通过有机合成或其它代谢途径制备的非天然存在的氨基酸。本文所用的术语氨基酸包括但不限于 $\alpha$ -氨基酸、天然氨基酸、非天然氨基酸和氨基酸类似物。

[0178] 术语“ $\alpha$ -氨基酸”是指含有的氨基和羧基都结合到被指定为 $\alpha$ -碳的碳上的分子。

[0179] 术语“ $\beta$ -氨基酸”是指含有均为 $\beta$ 构型的氨基和羧基的分子。

[0180] 术语“天然存在的氨基酸”是指在自然界合成的肽中通常发现的20种氨基酸中的任一种,已知其单字母缩写为A、R、N、C、D、Q、E、G、H、I、L、K、M、F、P、S、T、W、Y和V。

[0181] 下表示出了天然氨基酸的性质一览:

[0182]

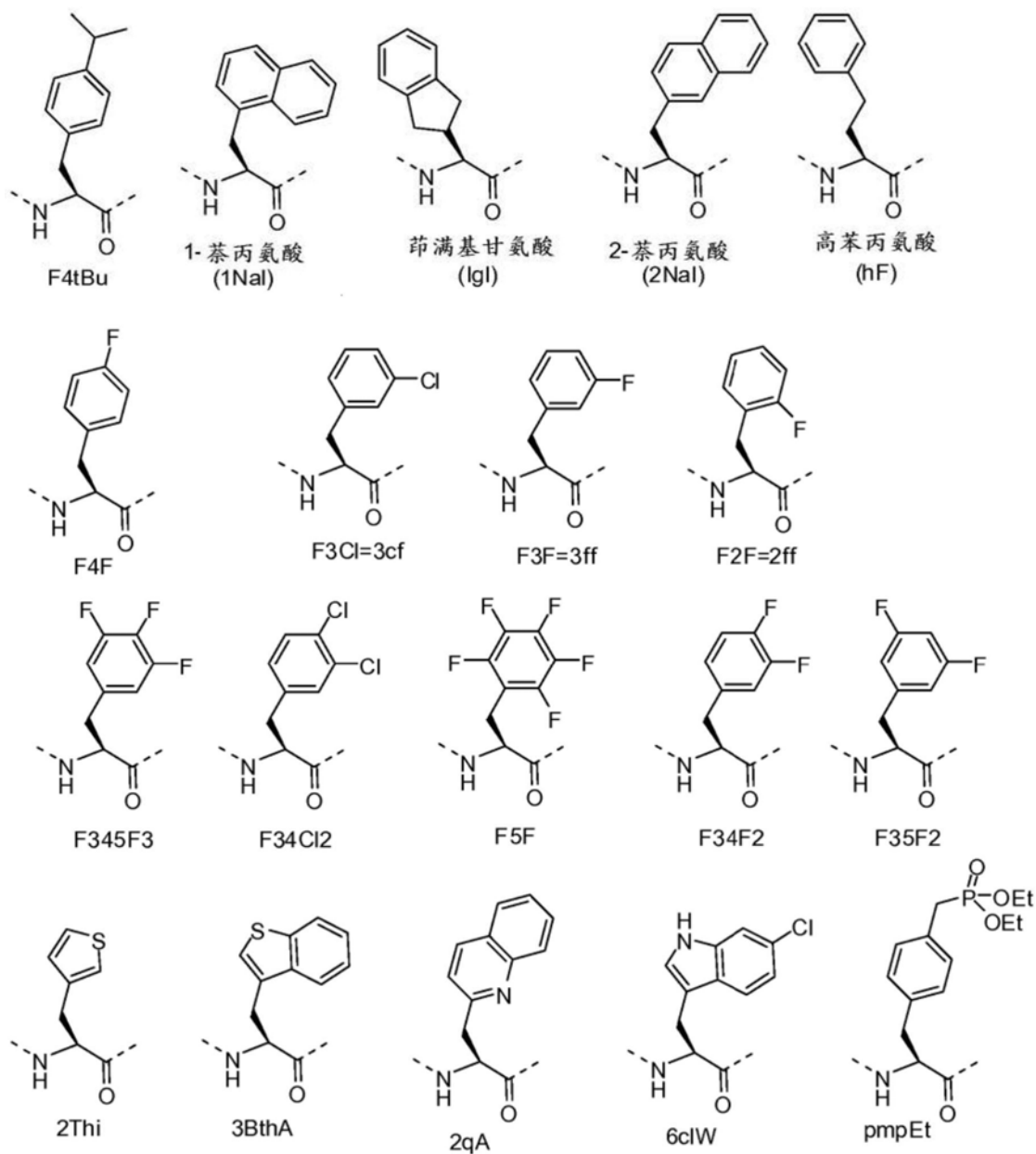
氨基酸	3 字母 代码	1 字母 代码	侧链 极性	侧链电荷 (pH 7.4)	亲水 指数
丙氨酸	Ala	A	非极性	中性	1.8
精氨酸	Arg	R	极性	正	-4.5
天冬酰胺	Asn	N	极性	中性	-3.5
天冬氨酸	Asp	D	极性	负	-3.5
半胱氨酸	Cys	C	极性	中性	2.5
谷氨酸	Glu	E	极性	负	-3.5
谷氨酰胺	Gln	Q	极性	中性	-3.5
甘氨酸	Gly	G	非极性	中性	-0.4
组氨酸	His	H	极性	正(10%) 中性(90%)	-3.2
异亮氨酸	Ile	I	非极性	中性	4.5
亮氨酸	Leu	L	非极性	中性	3.8
赖氨酸	Lys	K	极性	正	-3.9
甲硫氨酸	Met	M	非极性	中性	1.9
苯丙氨酸	Phe	F	非极性	中性	2.8
脯氨酸	Pro	P	非极性	中性	-1.6
丝氨酸	Ser	S	极性	中性	-0.8
苏氨酸	Thr	T	极性	中性	-0.7
色氨酸	Trp	W	非极性	中性	-0.9
酪氨酸	Tyr	Y	极性	中性	-1.3
缬氨酸	Val	V	非极性	中性	4.2

[0183] “疏水性氨基酸”包括小疏水性氨基酸和大疏水性氨基酸。“小疏水性氨基酸”为甘氨酸、丙氨酸、脯氨酸及其类似物。“大疏水性氨基酸”为缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸、色氨酸及其类似物。“极性氨基酸”为丝氨酸、苏氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、半胱氨酸、酪氨酸及其类似物。“带电氨基酸”为赖氨酸、精氨酸、组氨酸、天冬氨酸、谷氨酸及其类似物。

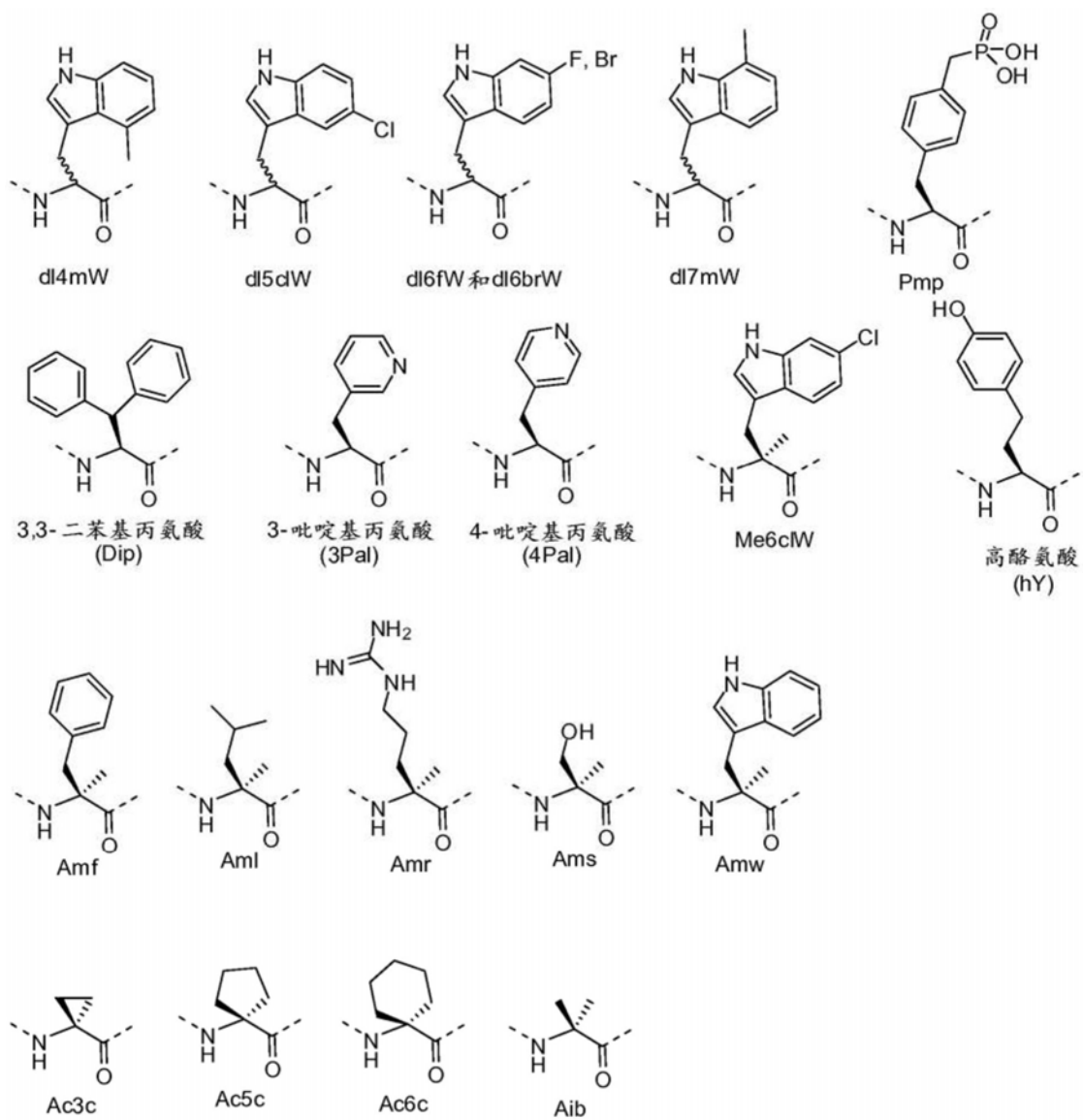
[0184] 术语“氨基酸类似物”是指在结构上类似于氨基酸并且在拟肽大环化合物的形成中可代替氨基酸的分子。氨基酸类似物包括但不限于β-氨基酸和其中氨基或羧基被相似反

应性的基团取代(例如,用仲胺或叔胺取代伯胺,或用酯取代羧基)的氨基酸。

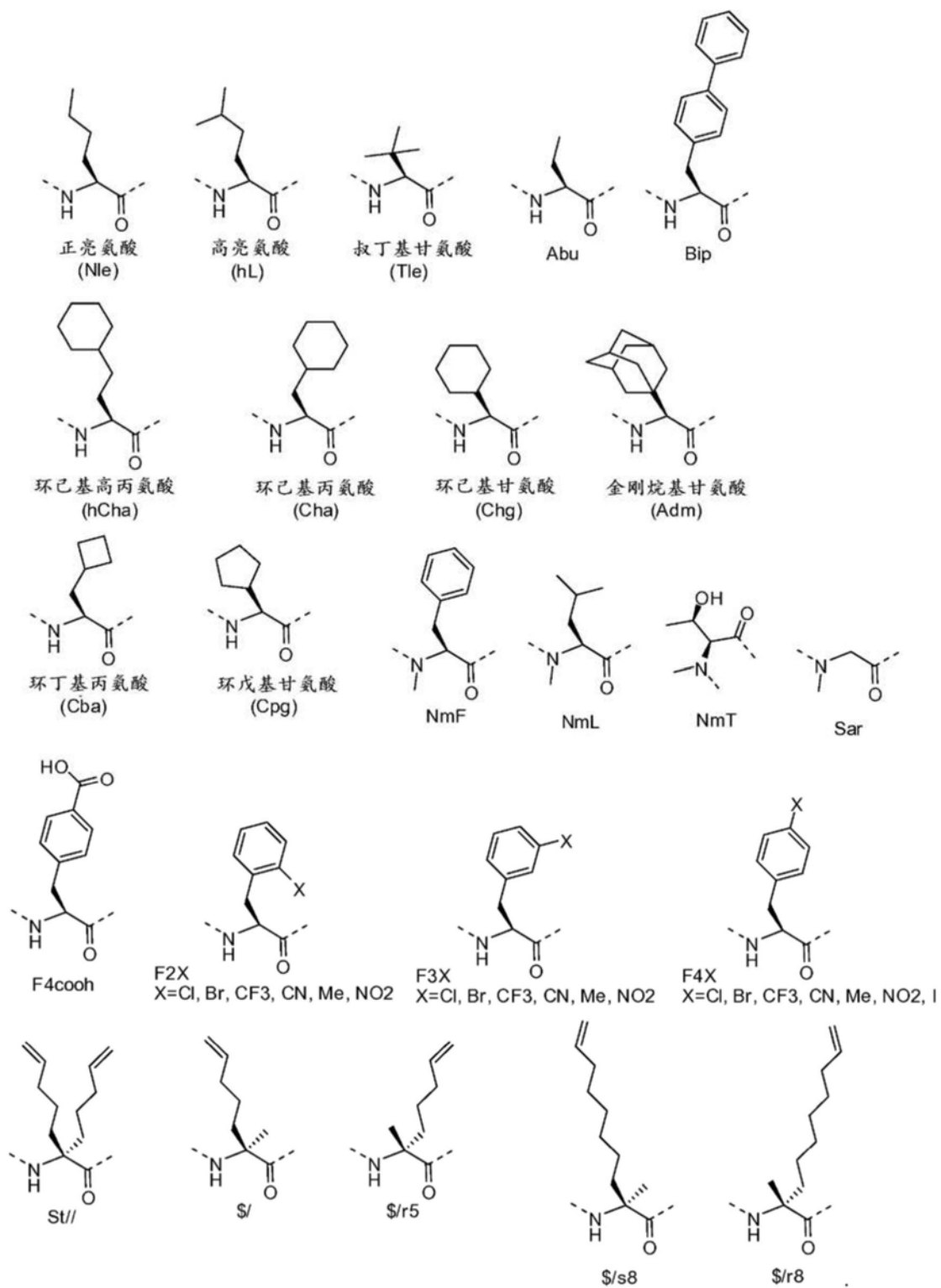
[0185] 术语“非天然氨基酸”是指并非在自然界合成的肽中通常发现的二十种氨基酸(已知其单字母缩写为A、R、N、C、D、Q、E、G、H、I、L、K、M、F、P、S、T、W、Y和V)之一的氨基酸。非天然氨基酸或氨基酸类似物包括但不限于根据以下的结构:

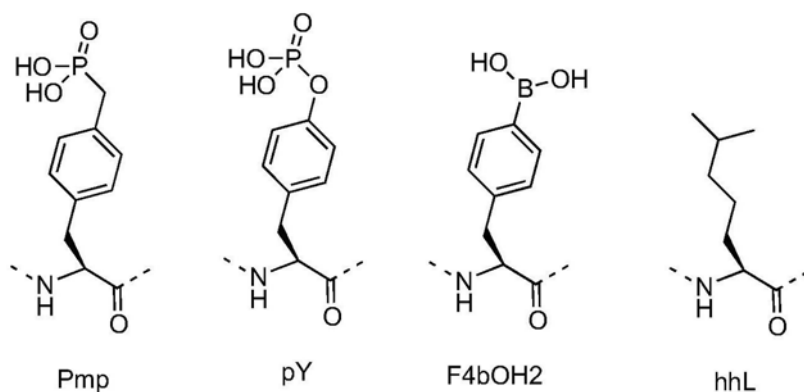


[0187]

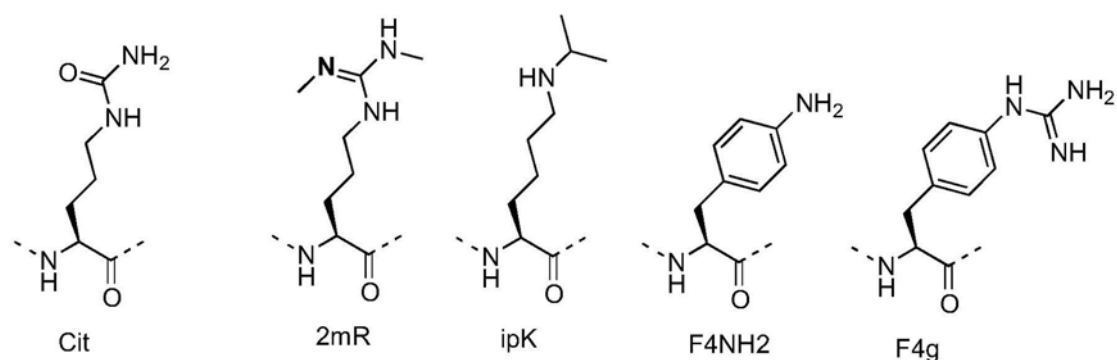


[0188]





[0189]



[0190] 氨基酸类似物包括β-氨基酸类似物。β-氨基酸类似物的实例包括但不限于：环状β-氨基酸类似物；β-丙氨酸；(R)-β-苯丙氨酸；(R)-1,2,3,4-四氢-异喹啉-3-乙酸；(R)-3-氨基-4-(1-萘基)-丁酸；(R)-3-氨基-4-(2,4-二氯苯基)丁酸；(R)-3-氨基-4-(2-氯苯基)-丁酸；(R)-3-氨基-4-(2-氰基苯基)-丁酸；(R)-3-氨基-4-(2-氟苯基)-丁酸；(R)-3-氨基-4-(2-呋喃基)-丁酸；(R)-3-氨基-4-(2-甲苯基)-丁酸；(R)-3-氨基-4-(2-萘基)-丁酸；(R)-3-氨基-4-(2-噻吩基)-丁酸；(R)-3-氨基-4-(2-三氟甲苯基)-丁酸；(R)-3-氨基-4-(3,4-二氯苯基)丁酸；(R)-3-氨基-4-(3,4-二氟苯基)丁酸；(R)-3-氨基-4-(3-苯并噻吩基)-丁酸；(R)-3-氨基-4-(3-氯苯基)-丁酸；(R)-3-氨基-4-(3-氰基苯基)-丁酸；(R)-3-氨基-4-(3-氟苯基)-丁酸；(R)-3-氨基-4-(3-甲苯基)-丁酸；(R)-3-氨基-4-(3-吡啶基)-丁酸；(R)-3-氨基-4-(3-噻吩基)-丁酸；(R)-3-氨基-4-(3-三氟甲苯基)-丁酸；(R)-3-氨基-4-(4-溴苯基)-丁酸；(R)-3-氨基-4-(4-氯苯基)-丁酸；(R)-3-氨基-4-(4-氰基苯基)-丁酸；(R)-3-氨基-4-(4-氟苯基)-丁酸；(R)-3-氨基-4-(4-碘苯基)-丁酸；(R)-3-氨基-4-(4-甲苯基)-丁酸；(R)-3-氨基-4-(4-硝基苯基)-丁酸；(R)-3-氨基-4-(4-吡啶基)-丁酸；(R)-3-氨基-4-(4-三氟甲苯基)-丁酸；(R)-3-氨基-4-五氟-苯基丁酸；(R)-3-氨基-5-己烯酸；(R)-3-氨基-5-己炔酸；(R)-3-氨基-5-苯基戊酸；(R)-3-氨基-6-苯基-5-己烯酸；(S)-1,2,3,4-四氢-异喹啉-3-乙酸；(S)-3-氨基-4-(1-萘基)-丁酸；(S)-3-氨基-4-(2,4-二氯苯基)丁酸；(S)-3-氨基-4-(2-氯苯基)-丁酸；(S)-3-氨基-4-(2-氰基苯基)-丁酸；(S)-3-氨基-4-(2-氟苯基)-丁酸；(S)-3-氨基-4-(2-呋喃基)-丁酸；(S)-3-氨基-4-(2-甲苯基)-丁酸；(S)-3-氨基-4-(2-萘基)-丁酸；(S)-3-氨基-4-(2-噻吩基)-丁酸；(S)-3-氨基-4-(2-三氟甲苯基)-丁酸；

[0191] (S)-3-氨基-4-(3,4-二氯苯基)丁酸；(S)-3-氨基-4-(3,4-二氟苯基)丁酸；(S)-



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

[0192] 氨基酸类似物包括丙氨酸、缬氨酸、甘氨酸或亮氨酸的类似物。丙氨酸、缬氨酸、甘氨酸或亮氨酸的氨基酸类似物的实例包括但不限于以下:α-甲氧基甘氨酸;α-烯丙基-L-丙氨酸;α-氨基异丁酸;α-甲基-亮氨酸;β-(1-萘基)-D-丙氨酸;β-(1-萘基)-L-丙氨酸;β-(2-萘基)-D-丙氨酸;β-(2-萘基)-L-丙氨酸;β-(2-吡啶基)-D-丙氨酸;β-(2-吡啶基)-L-丙氨酸;β-(2-噻吩基)-D-丙氨酸;β-(2-噻吩基)-L-丙氨酸;β-(3-苯并噻吩基)-D-丙氨酸;β-(3-苯并噻吩基)-L-丙氨酸;β-(3-吡啶基)-D-丙氨酸;β-(3-吡啶基)-L-丙氨酸;β-(4-吡啶基)-D-丙氨酸;β-(4-吡啶基)-L-丙氨酸;β-氯-L-丙氨酸;β-氰基-L-丙氨酸;β-环己基-D-丙氨酸;β-环己基-L-丙氨酸;β-环戊烯-1-基-丙氨酸;β-环戊基-丙氨酸;β-环丙基-L-Ala-OH·二环己基铵盐;β-叔丁基-D-丙氨酸;β-叔丁基-L-丙氨酸;γ-氨基丁酸;L-α,β-二氨基丙酸;2,4-二硝基-苯基甘氨酸;2,5-二氢-D-苯基甘氨酸;2-氨基-4,4,4-三氟丁酸;2-氟-苯基甘氨酸;3-氨基-4,4,4-三氟-丁酸;3-氟-缬氨酸;4,4,4-三氟-缬氨酸;4,5-脱氢-L-leu-OH·二环己基铵盐;4-氟-D-苯基甘氨酸;4-氟-L-苯基甘氨酸;4-羟基-D-苯基甘氨酸;5,5,5-三氟-亮氨酸;6-氨基己酸;环戊基-D-Gly-OH·二环己基铵盐;环戊基-Gly-OH·二环己基铵盐;D-α,β-二氨基丙酸;D-α-氨基丁酸;D-α-叔丁基甘氨酸;D-(2-噻吩基)甘氨酸;D-(3-噻吩基)甘氨酸;D-2-氨基己酸;D-2-茛满基甘氨酸;D-烯丙基甘氨酸·二环己基铵盐;D-环己基甘氨酸;D-正缬氨酸;D-苯基甘氨酸;β-氨基丁酸;β-氨基异丁酸;(2-溴苯基)甘氨酸;(2-甲氧基苯基)甘氨酸;(2-甲苯基)甘氨酸;(2-噻唑基)甘氨酸;(2-噻吩基)甘氨酸;2-氨基-3-(二甲氨基)-丙酸;L-α,β-二氨基丙酸;L-α-氨基丁酸;L-α-叔丁基甘氨酸;L-(3-噻吩基)甘氨酸;L-2-氨基-3-(二甲氨基)-丙酸;L-2-氨基己酸二环己基-铵盐;L-2-茛

满基甘氨酸;L-烯丙基甘氨酸·二环己基铵盐;L-环己基甘氨酸;L-苯基甘氨酸;L-炔丙基甘氨酸;L-正缬氨酸;N- $\alpha$ -氨基甲基-L-丙氨酸;D- $\alpha$ ,  $\gamma$ -二氨基丁酸;L- $\alpha$ ,  $\gamma$ -二氨基丁酸; $\beta$ -环丙基-L-丙氨酸;(N- $\beta$ -(2,4-二硝基苯基))-L- $\alpha$ , $\beta$ -二氨基丙酸;(N- $\beta$ -1-(4,4-二甲基-2,6-二氧代亚环己-1-基)乙基)-D- $\alpha$ , $\beta$ -二氨基丙酸;(N- $\beta$ -1-(4,4-二甲基-2,6-二氧代环己-1-亚基)乙基)-L- $\alpha$ , $\beta$ -二氨基丙酸;(N- $\beta$ -4-甲基三苯甲基)-L- $\alpha$ , $\beta$ -二氨基丙酸;(N- $\beta$ -烯丙氧羰基)-L- $\alpha$ , $\beta$ -二氨基丙酸;(N- $\gamma$ -1-(4,4-二甲基-2,6-二氧代环己-1-亚基)乙基)-D- $\alpha$ ,  $\gamma$ -二氨基丁酸;(N- $\gamma$ -1-(4,4-二甲基-2,6-二氧代环己-1-亚基)乙基)-L- $\alpha$ ,  $\gamma$ -二氨基丁酸;(N- $\gamma$ -4-甲基三苯甲基)-D- $\alpha$ ,  $\gamma$ -二氨基丁酸;(N- $\gamma$ -4-甲基三苯甲基)-L- $\alpha$ ,  $\gamma$ -二氨基丁酸;(N- $\gamma$ -烯丙氧羰基)-L- $\alpha$ ,  $\gamma$ -二氨基丁酸;D- $\alpha$ ,  $\gamma$ -二氨基丁酸;4,5-脱氢-L-亮氨酸;环戊基-D-Gly-OH;环戊基-Gly-OH;D-烯丙基甘氨酸;D-环己基高丙氨酸;L-1-苊基丙氨酸;L-2-氨基己酸;L-烯丙基甘氨酸;L-环己基高丙氨酸;和N-(2-羟基-4-甲氧基-Bz1)-Gly-OH。

[0193] 氨基酸类似物包括精氨酸或赖氨酸的类似物。精氨酸和赖氨酸的氨基酸类似物的实例包括但不限于以下:瓜氨酸;L-2-氨基-3-胍基丙酸;L-2-氨基-3-脒基丙酸;L-瓜氨酸;Lys(Me)<sub>2</sub>-OH;Lys(N<sub>3</sub>)-OH;N $\delta$ -苄氧羰基-L-鸟氨酸;N $\omega$ -硝基-D-精氨酸;N $\omega$ -硝基-L-精氨酸; $\alpha$ -甲基-鸟氨酸;2,6-二氨基庚二酸;L-鸟氨酸;(N $\delta$ -1-(4,4-二甲基-2,6-二氧代-环己-1-亚基)乙基)-D-鸟氨酸;(N $\delta$ -1-(4,4-二甲基-2,6-二氧-环己-1-亚基)乙基)-L-鸟氨酸;(N $\delta$ -4-甲基三苯甲基)-D-鸟氨酸;(N $\delta$ -4-甲基三苯甲基)-L-鸟氨酸;D-鸟氨酸;L-鸟氨酸;Arg(Me)(Pbf)-OH;Arg(Me)<sub>2</sub>-OH(不对称的);Arg(Me)<sub>2</sub>-OH(对称的);Lys(ivDde)-OH;Lys(Me)<sub>2</sub>-OH·HCl;Lys(Me)<sub>3</sub>-OH氯化物;N $\omega$ -硝基-D-精氨酸;和N $\omega$ -硝基-L-精氨酸。

[0194] 氨基酸类似物包括天冬氨酸或谷氨酸的类似物。天冬氨酸和谷氨酸的氨基酸类似物的实例包括但不限于以下: $\alpha$ -甲基-D-天冬氨酸; $\alpha$ -甲基-谷氨酸; $\alpha$ -甲基-L-天冬氨酸; $\gamma$ -亚甲基-谷氨酸;(N- $\gamma$ -乙基)-L-谷氨酰胺;[N- $\alpha$ -(4-氨基苯甲酰基)]-L-谷氨酸;2,6-二氨基庚二酸;L- $\alpha$ -氨基辛二酸;D-2-氨基己二酸;D- $\alpha$ -氨基辛二酸; $\alpha$ -氨基庚二酸;亚氨基二乙酸;L-2-氨基己二酸;苏- $\beta$ -甲基-天冬氨酸; $\gamma$ -羧基-D-谷氨酸 $\gamma$ ,  $\gamma$ -二-叔丁酯; $\gamma$ -羧基-L-谷氨酸 $\gamma$ ,  $\gamma$ -二-叔丁酯;Glu(OAll)-OH;L-Asu(OtBu)-OH;和焦谷氨酸。

[0195] 氨基酸类似物包括半胱氨酸和甲硫氨酸的类似物。半胱氨酸和甲硫氨酸的氨基酸类似物的实例包括但不限于Cys(法呢基)-OH、Cys(法呢基)-OMe、 $\alpha$ -甲基-甲硫氨酸、Cys(2-羟乙基)-OH、Cys(3-氨丙基)-OH、2-氨基-4-(乙硫基)丁酸、丁硫氨酸、丁硫氨酸亚砷胺、乙硫氨酸、甲硫氨酸甲基硫氯化物、硒代甲硫氨酸、磺丙氨酸、[2-(4-吡啶基)乙基]-DL-青霉胺、[2-(4-吡啶基)乙基]-L-半胱氨酸、4-甲氧苄基-D-青霉胺、4-甲氧苄基-L-青霉胺、4-甲基苄基-D-青霉胺、4-甲基苄基-L-青霉胺、苄基-D-半胱氨酸、苄基-L-半胱氨酸、苄基-DL-高半胱氨酸、氨甲酰基-L-半胱氨酸、羧乙基-L-半胱氨酸、羧甲基-L-半胱氨酸、二苯基甲基-L-半胱氨酸、乙基-L-半胱氨酸、甲基-L-半胱氨酸、叔丁基-D-半胱氨酸、三苯甲基-L-高半胱氨酸、三苯甲基-D-青霉胺、胱硫醚、高胱氨酸、L-高胱氨酸、(2-氨基乙基)-L-半胱氨酸、硒代-L-胱氨酸、胱硫醚、Cys(StBu)-OH和乙酰氨甲基-D-青霉胺。

[0196] 氨基酸类似物包括苯丙氨酸和酪氨酸的类似物。苯丙氨酸和酪氨酸的氨基酸类似物的实例包括 $\beta$ -甲基-苯丙氨酸、 $\beta$ -羟基苯丙氨酸、 $\alpha$ -甲基-3-甲氧基-DL-苯丙氨酸、 $\alpha$ -甲基-D-苯丙氨酸、 $\alpha$ -甲基-L-苯丙氨酸、1,2,3,4-四氢异喹啉-3-甲酸、2,4-二氯-苯丙氨酸、

2-(三氟甲基)-D-苯丙氨酸、2-(三氟甲基)-L-苯丙氨酸、2-溴-D-苯丙氨酸、2-溴-L-苯丙氨酸、2-氯-D-苯丙氨酸、2-氯-L-苯丙氨酸、2-氰基-D-苯丙氨酸、2-氰基-L-苯丙氨酸、2-氟-D-苯丙氨酸、2-氟-L-苯丙氨酸、2-甲基-D-苯丙氨酸、2-甲基-L-苯丙氨酸、2-硝基-D-苯丙氨酸、2-硝基-L-苯丙氨酸、2,4,5-三羟基-苯丙氨酸、3,4,5-三氟-D-苯丙氨酸、3,4,5-三氟-L-苯丙氨酸、3,4-二氯-D-苯丙氨酸、3,4-二氯-L-苯丙氨酸、3,4-二氟-D-苯丙氨酸、3,4-二氟-L-苯丙氨酸、3,4-二羟基-L-苯丙氨酸、3,4-二甲氧基-L-苯丙氨酸、3,5,3'-三碘-L-甲状腺原氨酸、3,5-二碘-D-酪氨酸、3,5-二碘-L-酪氨酸、3,5-二碘-L-甲状腺原氨酸、3-(三氟甲基)-D-苯丙氨酸、3-(三氟甲基)-L-苯丙氨酸、3-氨基-L-酪氨酸、3-溴-D-苯丙氨酸、3-溴-L-苯丙氨酸、3-氯-D-苯丙氨酸、3-氯-L-苯丙氨酸、3-氯-L-酪氨酸、3-氰基-D-苯丙氨酸、3-氰基-L-苯丙氨酸、3-氟-D-苯丙氨酸、3-氟-L-苯丙氨酸、3-氟-酪氨酸、3-碘-D-苯丙氨酸、3-碘-L-苯丙氨酸、3-碘-L-酪氨酸、3-甲氧基-L-酪氨酸、3-甲基-D-苯丙氨酸、3-甲基-L-苯丙氨酸、3-硝基-D-苯丙氨酸、3-硝基-L-苯丙氨酸、3-硝基-L-酪氨酸、4-(三氟甲基)-D-苯丙氨酸、4-(三氟甲基)-L-苯丙氨酸、4-氨基-D-苯丙氨酸、4-氨基-L-苯丙氨酸、4-苯甲酰基-D-苯丙氨酸、4-苯甲酰基-L-苯丙氨酸、4-双(2-氯乙基)氨基-L-苯丙氨酸、4-溴-D-苯丙氨酸、4-溴-L-苯丙氨酸、4-氯-D-苯丙氨酸、4-氯-L-苯丙氨酸、4-氰基-D-苯丙氨酸、4-氰基-L-苯丙氨酸、4-氟-D-苯丙氨酸、4-氟-L-苯丙氨酸、4-碘-D-苯丙氨酸、4-碘-L-苯丙氨酸、高苯丙氨酸、甲状腺氨酸、3,3'-二苯丙氨酸、甲状腺原氨酸、乙基-酪氨酸和甲基-酪氨酸。

[0197] 氨基酸类似物包括脯氨酸的类似物。脯氨酸的氨基酸类似物的实例包括但不限于3,4-脱氢-脯氨酸、4-氟-脯氨酸、顺-4-羟基-脯氨酸、噻唑烷-2-甲酸和反-4-氟-脯氨酸。

[0198] 氨基酸类似物包括丝氨酸和苏氨酸的类似物。丝氨酸和苏氨酸的氨基酸类似物的实例包括但不限于3-氨基-2-羟基-5-甲基己酸、2-氨基-3-羟基-4-甲基戊酸、2-氨基-3-乙氧丁酸、2-氨基-3-甲氧丁酸、4-氨基-3-羟基-6-甲基庚酸、2-氨基-3-苄氧丙酸、2-氨基-3-苄氧丙酸、2-氨基-3-乙氧丙酸、4-氨基-3-羟基丁酸和 $\alpha$ -甲基丝氨酸。

[0199] 氨基酸类似物包括色氨酸的类似物。色氨酸的氨基酸类似物的实例包括但不限于以下： $\alpha$ -甲基-色氨酸； $\beta$ -(3-苯并噻吩基)-D-丙氨酸； $\beta$ -(3-苯并噻吩基)-L-丙氨酸；1-甲基-色氨酸；4-甲基-色氨酸；5-苄氧基-色氨酸；5-溴-色氨酸；5-氯-色氨酸；5-氟-色氨酸；5-羟基-色氨酸；5-羟基-L-色氨酸；5-甲氧基-色氨酸；5-甲氧基-L-色氨酸；5-甲基-色氨酸；6-溴-色氨酸；6-氯-D-色氨酸；6-氯-色氨酸；6-氟-色氨酸；6-甲基-色氨酸；7-苄氧基-色氨酸；7-溴-色氨酸；7-甲基-色氨酸；D-1,2,3,4-四氢-去甲哈尔满-3-甲酸；6-甲氧基-1,2,3,4-四氢去甲哈尔满-1-甲酸；7-氮杂色氨酸；L-1,2,3,4-四氢-去甲哈尔满-3-甲酸；5-甲氧基-2-甲基-色氨酸；和6-氯-L-色氨酸。

[0200] 在一些实施方案中，氨基酸类似物是外消旋的。在一些实施方案中，使用氨基酸类似物的D型异构体。在一些实施方案中，使用氨基酸类似物的L型异构体。在其它实施方案中，氨基酸类似物包含为R或S构型的手性中心。在又一些其它实施方案中， $\beta$ -氨基酸类似物的氨基基团被诸如叔丁氧羰基(BOC基团)、9-苄氧羰基(FMOC)、甲苯磺酰基等保护基团取代。在一些其它实施方案中， $\beta$ -氨基酸类似物的羧酸官能团例如作为其酯衍生物被保护。在一些实施方案中，使用氨基酸类似物的盐。

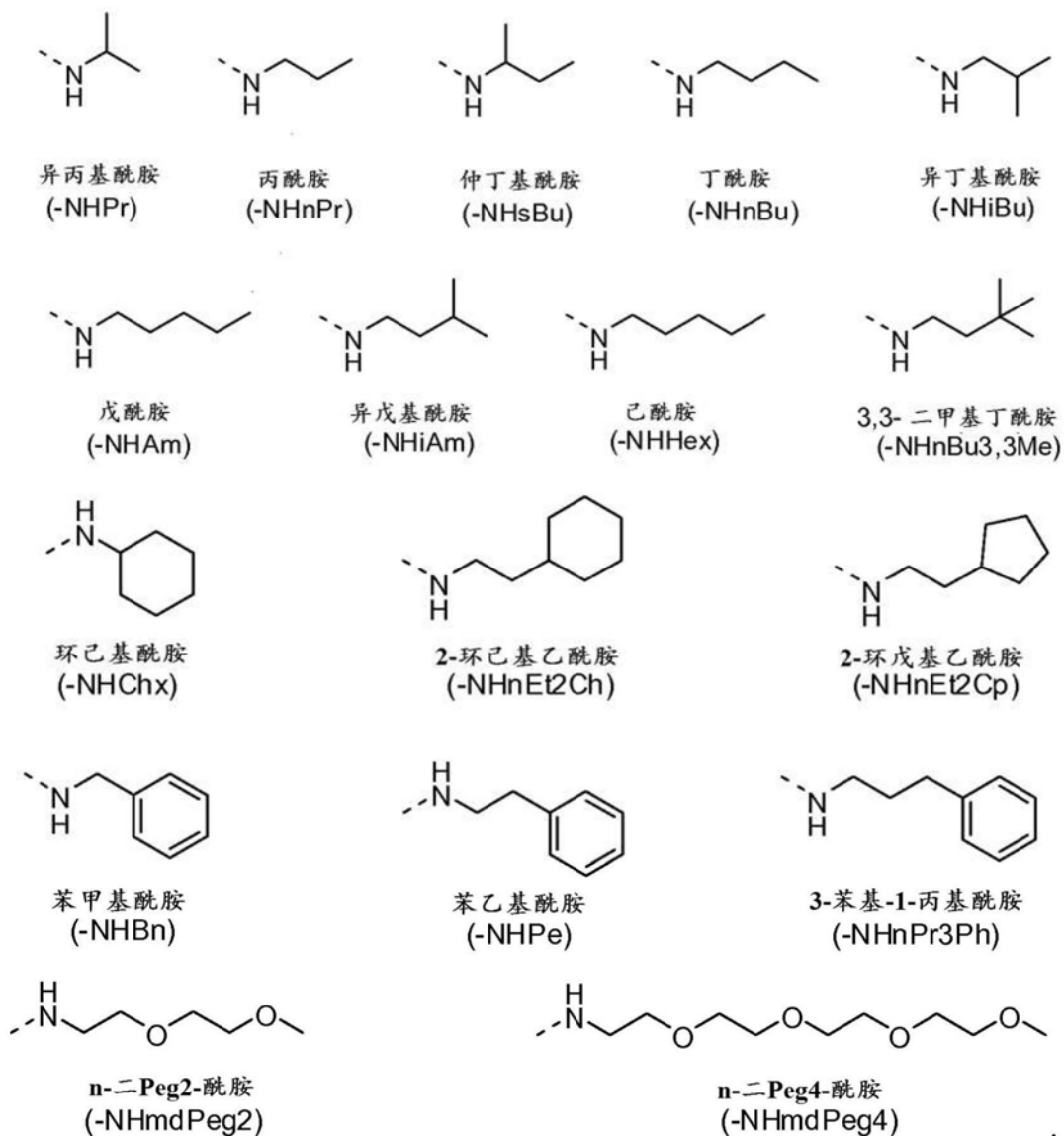
[0201] “非必需”氨基酸残基是相对于多肽的野生型序列可能发生改变而不消除或基本

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

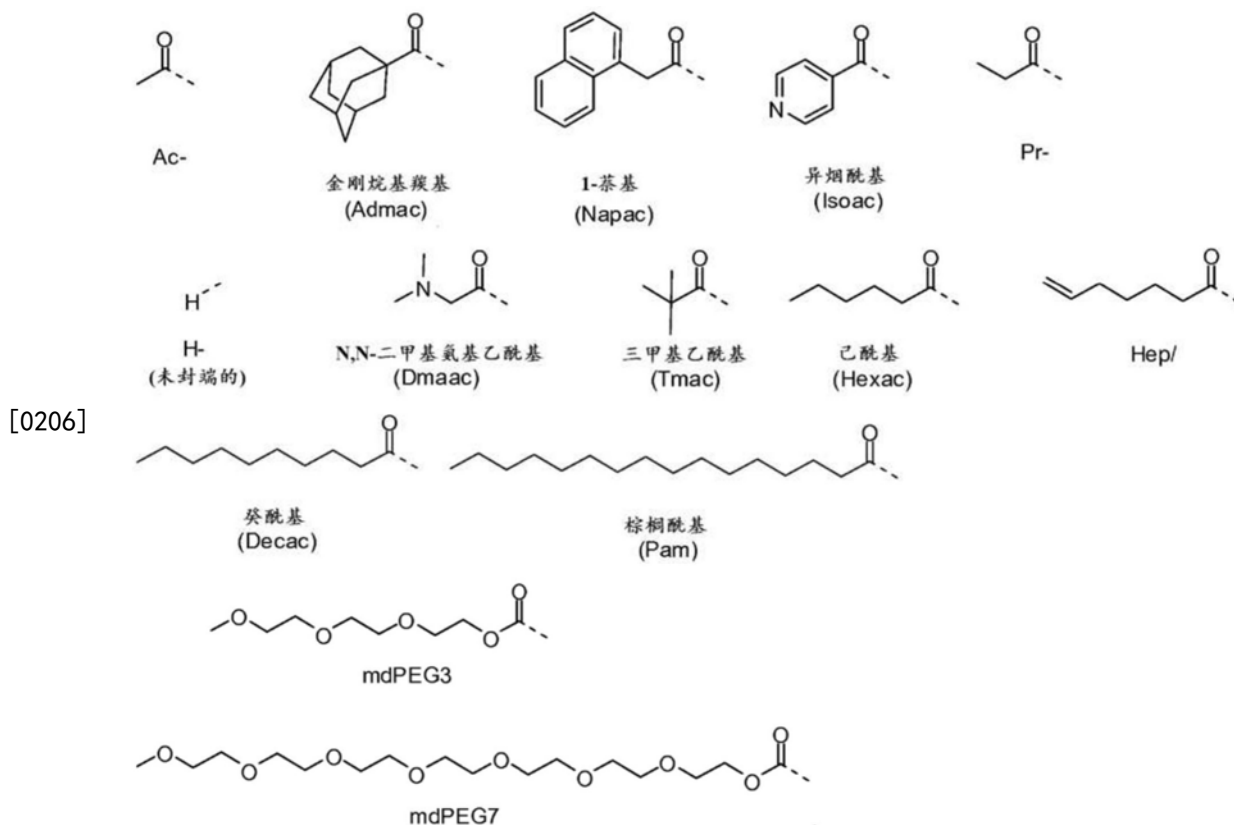
[0202] “保守氨基酸置换”是其中氨基酸残基被具有相似侧链的氨基酸残基所替代的氨基酸置换。本领域中已定义了具有相似侧链的氨基酸残基的家族。这些家族包括具有碱性侧链的氨基酸(例如,K、R、H)、具有酸性侧链的氨基酸(例如,D、E)、具有不带电荷的极性侧链的氨基酸(例如,G、N、Q、S、T、Y、C)、具有非极性侧链的氨基酸(例如,A、V、L、I、P、F、M、W)、具有 $\beta$ 分支的侧链的氨基酸(例如,T、V、I)和具有芳香族侧链的氨基酸(例如,Y、F、W、H)。因此,多肽中预测的非必需氨基酸残基例如被来自同一侧链家族的另一种氨基酸残基所替代。可接受的置换的其它例子是基于电子等排考虑(例如,正亮氨酸取代甲硫氨酸)或其它性质(如2-噻吩丙氨酸取代苯丙氨酸,或6-Cl-色氨酸取代色氨酸)的置换。

[0203] 术语“封端基团”是指出现在本发明拟肽大环化合物的多肽链的羧基末端或氨基末端的化学部分。羧基末端的封端基团包括未修饰的羧酸(即-COOH)或具有取代基的羧酸。例如,羧基末端可被氨基取代,从而在C末端产生羧酰胺。各种取代基包括但不限于伯胺和仲胺,仲胺包括聚乙二醇化的仲胺。用于C末端的代表性的仲胺封端基团包括:

[0204]



[0205] 氨基末端的封端基团包括未修饰的胺(即-NH<sub>2</sub>)或具有取代基的胺。例如,氨基末端可被酰基取代,从而在N-末端生成羧酰胺。各种取代基包括但不限于取代的酰基,包括C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>羧基、C<sub>7</sub>-C<sub>30</sub>羧基和聚乙二醇化的氨基甲酸酯。用于N-末端的代表性封端基团包括但不限于4-FBzl(4-氟-苄基)及以下:



[0207] 在本文中与大环化合物或大环形成连接体一起使用的术语“元”是指形成或可以形成大环的原子，并且不包括取代基或侧链原子。以此类推，环癸烷、1,2-二氟-癸烷和1,3-二甲基环癸烷都被认为是十元大环化合物，因为氢或氟取代基或甲基侧链都没有参与形成大环。

[0208] 当用作分子结构的一部分时，符号“”是指单键或者反式或顺式双键。

[0209] 术语“氨基酸侧链”是指连接到氨基酸中的 $\alpha$ -碳(或另一个骨架原子)上的部分。例如，丙氨酸的氨基酸侧链是甲基，苯丙氨酸的氨基酸侧链是苯甲基，半胱氨酸的氨基酸侧链是硫甲基，天冬氨酸的氨基酸侧链是羧甲基，酪氨酸的氨基酸侧链是4-羟基苯甲基，等等。也包括其它非天然存在的氨基酸侧链，例如，自然产生的氨基酸侧链(例如，氨基酸代谢物)或合成制备的氨基酸侧链(例如， $\alpha,\alpha$ -二取代的氨基酸)。

[0210] 术语“ $\alpha,\alpha$ -二取代的氨基酸”是指包含的氨基和羧基都结合到碳( $\alpha$ -碳)上而该碳( $\alpha$ -碳)连接到两个天然或非天然氨基酸侧链上的分子或部分。

[0211] 术语“多肽”包括通过共价键(例如，酰胺键)连接的两个或更多个天然或非天然存在的氨基酸。本文所述的多肽包括全长蛋白质(例如，完全加工的蛋白质)以及较短的氨基酸序列(例如，天然存在的蛋白质的片段或合成的多肽片段)。

[0212] 术语“第一C-末端氨基酸”是指最靠近C-末端的氨基酸。术语“第二C-末端氨基酸”是指连接在第一C-末端氨基酸的N末端处的氨基酸。

[0213] 本文所用的术语“大环化试剂”或“大环形成试剂”是指任何可以用来通过介导两个反应性基团之间的反应而制备拟肽大环化合物的试剂。该反应性基团可以是，例如，叠氮和炔，在这种情况下，大环化试剂包括但不限于Cu试剂，如提供反应性Cu(I)物质的试剂，如CuBr、CuI或CuOTf，以及通过加入诸如抗坏血酸或抗坏血酸钠的还原剂可以原位转化为活

性Cu(I)试剂的Cu(II)盐,如 $\text{Cu}(\text{CO}_2\text{CH}_3)_2$ 、 $\text{CuSO}_4$ 和 $\text{CuCl}_2$ 。大环化试剂另外还可以包括,例如,本领域已知的Ru试剂,如 $\text{Cp}^*\text{RuCl}(\text{PPh}_3)_2$ 、 $[\text{Cp}^*\text{RuCl}]_4$ ,或其它可以提供反应性Ru(II)物质的Ru试剂。在其它情况下,反应性基团为末端烯烃。在这样的实施方案中,大环化试剂或大环形成试剂为复分解催化剂,包括但不限于稳定的后过渡金属卡宾络合物催化剂,如VIII族过渡金属卡宾催化剂。例如,这样的催化剂为具有+2氧化态、电子计数为16且五配位的Ru和Os金属中心。在其它实例中,催化剂具有W或Mo中心。各种催化剂在Grubbs等人,“Ring Closing Metathesis and Related Processes in Organic Synthesis” Acc.Chem.Res.1995,28,446-452,美国专利号5,811,515;美国专利号7,932,397;美国申请号2011/0065915;美国申请号2011/0245477;Yu等人,“Synthesis of Macrocyclic Natural Products by Catalyst-Controlled Stereoselective Ring-Closing Metathesis,”Nature 2011,479,88;和Peryshkov等人,“Z-Selective Olefin Metathesis Reactions Promoted by Tungsten Oxo Alkylidene Complexes,”J.Am.Chem.Soc.2011,133,20754中公开。在另外其它的情况下,反应性基团为巯基。在这样的实施方案中,大环化试剂为,例如,用两个巯基反应性基团如卤素基团官能化的连接体。

[0214] 术语“卤代”或“卤素”是指氟、氯、溴或碘或其基团。

[0215] 术语“烷基”是指含有指定数目的碳原子的直链或支链烃链。例如, $\text{C}_1\text{-C}_{10}$ 表示该基团中具有1-10(含端值)个碳原子。在没有指定任何数值时,“烷基”是其中具有1-20(含端值)个碳原子的链(直链或支链)。

[0216] 术语“亚烷基”是指二价烷基(即,  $-\text{R}-$ )。

[0217] 术语“烯基”是指具有一个或多个碳-碳双键的直链或支链烃链。烯基部分含有指定数目的碳原子。例如, $\text{C}_2\text{-C}_{10}$ 表示该基团中具有2-10(含端值)个碳原子。术语“低级烯基”是指 $\text{C}_2\text{-C}_6$ 烯基链。在没有指定任何数值时,“烯基”是其中具有2-20(含端值)个碳原子的链(直链或支链)。

[0218] 术语“炔基”是指具有一个或多个碳-碳叁键的直链或支链烃链。炔基部分含有指定数目的碳原子。例如, $\text{C}_2\text{-C}_{10}$ 表示该基团中具有2-10(含端值)个碳原子。术语“低级炔基”是指 $\text{C}_2\text{-C}_6$ 炔基链。在没有指定任何数值时,“炔基”是其中具有2-20(含端值)个碳原子的链(直链或支链)。

[0219] 术语“芳基”是指6碳单环或10碳双环的芳香环系,其中各环的0、1、2、3或4个原子被取代基取代。芳基的例子包括苯基、萘基等。术语“芳基烷氧基”是指被芳基取代的烷氧基。

[0220] “烷基芳基(arylalkyl)”是指其中芳基的氢原子中的一个被如上定义的 $\text{C}_1\text{-C}_5$ 烷基取代的如上定义的芳基。烷基芳基的代表性例子包括但不限于:2-甲基苯基、3-甲基苯基、4-甲基苯基、2-乙基苯基、3-乙基苯基、4-乙基苯基、2-丙基苯基、3-丙基苯基、4-丙基苯基、2-丁基苯基、3-丁基苯基、4-丁基苯基、2-戊基苯基、3-戊基苯基、4-戊基苯基、2-异丙基苯基、3-异丙基苯基、4-异丙基苯基、2-异丁基苯基、3-异丁基苯基、4-异丁基苯基、2-仲丁基苯基、3-仲丁基苯基、4-仲丁基苯基、2-叔丁基苯基、3-叔丁基苯基和4-叔丁基苯基。

[0221] “酰胺基芳基(arylamido)”是指其中芳基的氢原子中的一个被一个或多个 $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ 基团取代的如上定义的芳基。酰胺基芳基的代表性例子包括:2- $\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ -苯基、3- $\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ -苯基、4- $\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ -苯基、2- $\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ -吡啶基、3- $\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ -吡啶基和4- $\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ -吡啶基。

[0222] “杂环基烷基 (alkylheterocycle)”是指其中C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>烷基的氢原子中的一个被杂环取代的如上定义的C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>烷基。杂环基烷基的代表性例子包括但不限于：-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-吗啉、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-哌啶、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-吗啉和-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-咪唑。

[0223] “酰胺基烷基 (alkylamido)”是指其中C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>烷基的氢原子中的一个被-C(O)NH<sub>2</sub>基团取代的如上定义的C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>烷基。酰胺基烷基的代表性例子包括但不限于：-CH<sub>2</sub>-C(O)NH<sub>2</sub>、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-C(O)NH<sub>2</sub>、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-C(O)NH<sub>2</sub>、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-C(O)NH<sub>2</sub>、-CH<sub>2</sub>CH(C(O)NH<sub>2</sub>)CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>CH(C(O)NH<sub>2</sub>)CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-CH(C(O)NH<sub>2</sub>)CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-C(O)NH<sub>2</sub>、-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH-C(O)-CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH-C(O)-CH<sub>3</sub>-CH<sub>3</sub>和-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH-C(O)-CH=CH<sub>2</sub>。

[0224] “羟烷基 (alkanol)”是指其中C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>烷基的氢原子中的一个被羟基取代的如上定义的C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>烷基。羟烷基的代表性例子包括但不限于：-CH<sub>2</sub>OH、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH、-CH<sub>2</sub>CH(OH)CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>CH(OH)CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-CH(OH)CH<sub>3</sub>和-C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH。

[0225] “羧基烷基 (alkylcarboxy)”是指其中C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>烷基的氢原子中的一个被-COOH基团取代的如上定义的C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>烷基。羧基烷基的代表性例子包括但不限于：-CH<sub>2</sub>COOH、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>COOH、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>COOH、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>COOH、-CH<sub>2</sub>CH(COOH)CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>COOH、-CH<sub>2</sub>CH(COOH)CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-CH(COOH)CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>和-C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>COOH。

[0226] 本文使用的术语“环烷基”包括具有3-12个碳、优选3-8个碳、更优选3-6个碳的饱和的和部分不饱和的环烃基团，其中环烷基另外任选地被取代。一些环烷基包括但不限于：环丙基、环丁基、环戊基、环戊烯基、环己基、环己烯基、环庚基和环辛基。

[0227] 术语“杂芳基”是指芳香族的5-8元单环、8-12元双环或11-14元三环的环系，其如果是单环则具有1-3个杂原子，如果是双环则具有1-6个杂原子，或者如果是三环则具有1-9个杂原子，所述杂原子选自O、N或S（例如，如果是单环、双环或三环，分别为碳原子和1-3、1-6或1-9个O、N或S杂原子），其中各个环的0、1、2、3或4个原子被取代基取代。杂芳基的例子包括吡啶基、呋喃基 (furyl或furanyl)、咪唑基、苯并咪唑基、嘧啶基、噻吩基 (thiophenyl或thienyl)、喹啉基 (quinoliny)、吡啶基、噻唑基等。

[0228] 术语“杂芳基烷基”或术语“杂芳烷基”是指被杂芳基取代的烷基。术语“杂芳基烷氧基”是指被杂芳基取代的烷氧基。

[0229] 术语“杂芳基烷基”或术语“杂芳烷基”是指被杂芳基取代的烷基。术语“杂芳基烷氧基”是指被杂芳基取代的烷氧基。

[0230] 术语“杂环基”是指非芳香族的5-8元单环、8-12元双环或11-14元三环的环系，其如果是单环则具有1-3个杂原子，如果是双环则具有1-6个杂原子，或者如果是三环则具有1-9个杂原子，所述杂原子选自O、N或S（例如，如果是单环、双环或三环，分别为碳原子和1-3、1-6或1-9个O、N或S杂原子），其中各个环的0、1、2或3个原子被取代基取代。杂环基的例子包括哌嗪基、吡咯烷基、二氧杂环己基、吗啉基、四氢呋喃基等。

[0231] 术语“取代基”是指取代任何分子、化合物或部分上的第二原子或基团如氢原子的基团。合适的取代基包括但不限于卤素、羟基、巯基、氧代、硝基、卤代烷基、烷基、烷芳基、芳基、芳烷基、烷氧基、硫代烷氧基、芳氧基、氨基、烷氧羰基、酰胺基、羧基、链烷磺酰基、烷基羰基和氰基。

[0232] 在一些实施方案中，本文公开的化合物包含一个或多个不对称中心，因而作为外



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

[0233] 如本文所用的,术语“增加”和“减少”分别意味着导致至少5%的统计学显著的(即, $p < 0.1$ )增加或减少。

[0234] 如本文所用的,提及变量的数值范围旨在表示变量等于该范围内的任意值。因此,对于本身不连续的变量,该变量等于该数值范围内的任意整数值,包括该范围的端点。类似地,对于本身连续的变量,该变量等于该数值范围内的任意实值,包括该范围的端点。作为例子,而不是限制,如果变量本身是不连续的,描述为具有0-2之间的值的变量取0、1或2的值;而如果变量本身是连续的,则取0.0、0.1、0.01、0.001的值或 $\geq 0$ 且 $\leq 2$ 的其它任何实值。

[0235] 如本文所用的,除非另外特别指出,单词“或”以“和/或”的包含性含义使用,而非“任一/或”的排它性的含义。

[0236] 术语“平均”表示对于每个数据点通过进行至少3次独立的重复而获得的平均值。

[0237] 术语“生物活性”包括大环化合物的结构和功能性质。生物活性是,例如,结构稳定性、 $\alpha$ -螺旋性、对靶标的亲和性、对蛋白水解降解的抗性、细胞透性、细胞内稳定性、体内稳定性或其任意组合。

[0238] 术语“结合亲和力”是指结合相互作用的强度,例如拟肽大环化合物与靶标之间的结合相互作用的强度。结合亲和力可以表示为,例如,平衡解离常数( $K_D$ ),其表示单位为浓度的量度(例如M、mM、 $\mu$ M、nM等)。在数字上,结合亲和力和 $K_D$ 值相反地变化,从而使得较低的结合亲和力对应于较高的 $K_D$ 值,而较高的结合亲和力对应于较低的 $K_D$ 值。在需要高结合亲和力的情况下,“改善的”结合亲和力是指较高的结合亲和力,因此指较低的 $K_D$ 值。

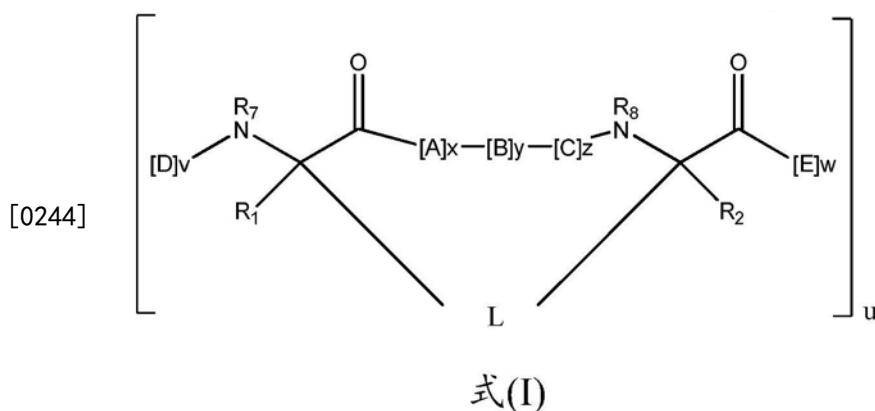
[0239] 术语“体外效力”是指测试化合物如拟肽大环化合物在体外测试系统或试验中产生有益结果的程度。例如,体外效力可以测量为“ $IC_{50}$ ”或“ $EC_{50}$ ”值,其表示测试化合物在测试系统中产生50%的最大效应的浓度。

[0240] 术语“体外效力之比”或“体外效力比”是指来自第一试验(分子)与来自第二试验(分母)的 $IC_{50}$ 或 $EC_{50}$ 值的比值。因此,针对试验1相比于试验2的改善的体外效力比是指较低的表示为 $IC_{50}$ (试验1)/ $IC_{50}$ (试验2)或 $EC_{50}$ (试验1)/ $EC_{50}$ (试验2)的比值。此概念也可表征为在试验1中相比于在试验2中的“改善的选择性”,这可能是由于针对靶标1的 $IC_{50}$ 或 $EC_{50}$ 值的降低,也可能是由于针对靶标2的 $IC_{50}$ 或 $EC_{50}$ 值的升高。

[0241] 在下面的附图和描述中阐述了本发明的一个或多个具体实施方案的细节。从说明书、附图和权利要求书可以明显看出本发明的其它特征、目的和优势。

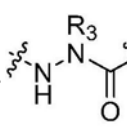
[0242] 拟肽大环化合物

[0243] 在一些实施方案中,拟肽大环化合物具有式(I):



[0245] 其中：

[0246] 各个A、C、D和E独立地为氨基酸(包括天然或非天然氨基酸,和氨基酸类似物),并且末端D和E独立地任选地包括封端基团；

[0247] B为氨基酸(包括天然或非天然氨基酸,和氨基酸类似物)、、 $[-NH-L_3-CO-]$ 、 $[-NH-L_3-SO_2-]$ 或 $[-NH-L_3-]$ ；

[0248]  $R_1$ 和 $R_2$ 独立地为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、环烷基烷基、杂烷基或杂环烷基,它们是未取代的或被卤素-取代的；

[0249]  $R_3$ 为氢、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、杂烷基、环烷基、杂环烷基、环烷基烷基、环芳基或杂环芳基,它们任选地被 $R_5$ 取代；

[0250] L为式 $-L_1-L_2-$ 的大环形成连接体；

[0251]  $L_1$ 和 $L_2$ 独立地为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚环芳基、亚杂环芳基或 $[-R_4-K-R_4-]_n$ ,它们各自任选地被 $R_5$ 取代；

[0252] 各个 $R_4$ 为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚芳基或亚杂芳基；

[0253] 各个K为O、S、SO、SO<sub>2</sub>、CO、CO<sub>2</sub>或CONR<sub>3</sub>；

[0254] 各个 $R_5$ 独立地为卤素、烷基、-OR<sub>6</sub>、-N(R<sub>6</sub>)<sub>2</sub>、-SR<sub>6</sub>、-SOR<sub>6</sub>、-SO<sub>2</sub>R<sub>6</sub>、-CO<sub>2</sub>R<sub>6</sub>、荧光部分、放射性同位素或治疗剂；

[0255] 各个 $R_6$ 独立地为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基烷基、杂环烷基、荧光部分、放射性同位素或治疗剂；

[0256]  $R_7$ 为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、杂烷基、环烷基烷基、杂环烷基、环芳基或杂环芳基,它们任选地被 $R_5$ 取代,或是与D残基形成的环状结构的一部分；

[0257]  $R_8$ 为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、杂烷基、环烷基烷基、杂环烷基、环芳基或杂环芳基,它们任选地被 $R_5$ 取代,或是与E残基形成的环状结构的一部分；

[0258] v和w独立地为1-1000的整数,例如1-500、1-200、1-100、1-50、1-30、1-20或1-10；

[0259] u为1-10的整数,例如1-5、1-3或1-2；

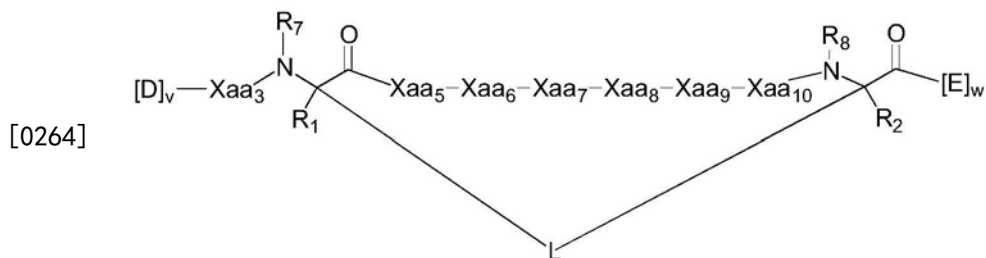
[0260] x、y和z独立地为0-10的整数,例如x+y+z之和为2、3或6；且

[0261] n为1-5的整数。

[0262] 在一些实施方案中,v和w为1-30的整数。在一些实施方案中,w为3-1000的整数,例

如3-500、3-200、3-100、3-50、3-30、3-20或3-10。在一些实施方案中， $x+y+z$ 之和为3或6。在一些实施方案中， $x+y+z$ 之和为3。在其它实施方案中， $x+y+z$ 之和为6。

[0263] 在一些实施方案中，还提供了下式的拟肽大环化合物：



[0265] 其中：

[0266] Xaa<sub>3</sub>、Xaa<sub>5</sub>、Xaa<sub>6</sub>、Xaa<sub>7</sub>、Xaa<sub>8</sub>、Xaa<sub>9</sub>和Xaa<sub>10</sub>中的每一个单独地为氨基酸，其中Xaa<sub>3</sub>、Xaa<sub>5</sub>、Xaa<sub>6</sub>、Xaa<sub>7</sub>、Xaa<sub>8</sub>、Xaa<sub>9</sub>和Xaa<sub>10</sub>中的至少三个是与序列Phe<sub>3</sub>-X<sub>4</sub>-His<sub>5</sub>-Tyr<sub>6</sub>-Trp<sub>7</sub>-Ala<sub>8</sub>-Gln<sub>9</sub>-Leu<sub>10</sub>-X<sub>11</sub>-Ser<sub>12</sub> (SEQ ID NO:8)的相应位置处的氨基酸相同的氨基酸，其中各个X为氨基酸；

[0267] 各个D和E独立地为氨基酸；

[0268] R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>独立地为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、环烷基烷基、杂烷基或杂环烷基，它们是未取代的或被卤素-取代的；或者R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>中的至少一个形成连接至所述D或E氨基酸之一的α位置的大环形成连接体L'；

[0269] 各个L或L'独立地为式-L<sub>1</sub>-L<sub>2</sub>-的大环形成连接体；

[0270] L<sub>1</sub>和L<sub>2</sub>独立地为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚芳基、亚杂芳基或[-R<sub>4</sub>-K-R<sub>4</sub>-]<sub>n</sub>，它们各自任选地被R<sub>5</sub>取代；

[0271] R<sub>3</sub>为氢、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、杂烷基、环烷基、杂环烷基、环烷基烷基、环芳基或杂芳基，它们任选地被R<sub>5</sub>取代；

[0272] 各个R<sub>4</sub>为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚芳基或亚杂芳基；

[0273] 各个K为O、S、SO、SO<sub>2</sub>、CO、CO<sub>2</sub>或CONR<sub>3</sub>；

[0274] 各个R<sub>5</sub>独立地为卤素、烷基、-OR<sub>6</sub>、-N(R<sub>6</sub>)<sub>2</sub>、-SR<sub>6</sub>、-SOR<sub>6</sub>、-SO<sub>2</sub>R<sub>6</sub>、-CO<sub>2</sub>R<sub>6</sub>、荧光部分、放射性同位素或治疗剂；

[0275] 各个R<sub>6</sub>独立地为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基烷基、杂环烷基、荧光部分、放射性同位素或治疗剂；

[0276] R<sub>7</sub>为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、杂烷基、环烷基烷基、杂环烷基、环芳基或杂芳基，它们任选地被R<sub>5</sub>取代，或是与D残基形成的环状结构的一部分；

[0277] R<sub>8</sub>为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、杂烷基、环烷基烷基、杂环烷基、环芳基或杂芳基，它们任选地被R<sub>5</sub>取代，或是与E残基形成的环状结构的一部分；

[0278] v为1-1000的整数，例如1-500、1-200、1-100、1-50、1-30、1-20或1-10；

[0279] w为3-1000的整数，例如3-500、3-200、3-100、3-50、3-30、3-20或3-10；且

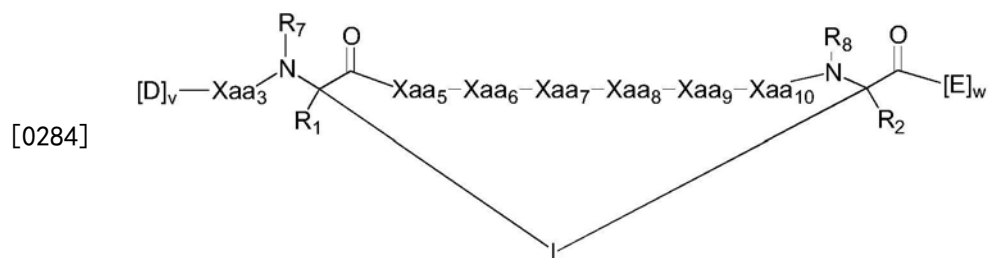
[0280] n为1-5的整数。

[0281] 在一些实施方案中，v和w为1-30的整数。在一些实施方案中，w为3-1000的整数，例如3-500、3-200、3-100、3-50、3-30、3-20或3-10。在一些实施方案中， $x+y+z$ 之和为3或6。在

一些实施方案中,  $x+y+z$  之和为3。在其它实施方案中,  $x+y+z$  之和为6。

[0282] 在本文所述任何通式的一些实施方案中,  $Xaa_3$ 、 $Xaa_5$ 、 $Xaa_6$ 、 $Xaa_7$ 、 $Xaa_8$ 、 $Xaa_9$  和  $Xaa_{10}$  中的至少三个是与序列  $Phe_3-X_4-His_5-Tyr_6-Trp_7-Ala_8-Gln_9-Leu_{10}-X_{11}-Ser_{12}$  (SEQ ID NO:8) 的相应位置处的氨基酸相同的氨基酸。在其它实施方案中,  $Xaa_3$ 、 $Xaa_5$ 、 $Xaa_6$ 、 $Xaa_7$ 、 $Xaa_8$ 、 $Xaa_9$  和  $Xaa_{10}$  中的至少四个是与序列  $Phe_3-X_4-His_5-Tyr_6-Trp_7-Ala_8-Gln_9-Leu_{10}-X_{11}-Ser_{12}$  (SEQ ID NO:8) 的相应位置处的氨基酸相同的氨基酸。在其它实施方案中,  $Xaa_3$ 、 $Xaa_5$ 、 $Xaa_6$ 、 $Xaa_7$ 、 $Xaa_8$ 、 $Xaa_9$  和  $Xaa_{10}$  中的至少五个是与序列  $Phe_3-X_4-His_5-Tyr_6-Trp_7-Ala_8-Gln_9-Leu_{10}-X_{11}-Ser_{12}$  (SEQ ID NO:8) 的相应位置处的氨基酸相同的氨基酸。在其它实施方案中,  $Xaa_3$ 、 $Xaa_5$ 、 $Xaa_6$ 、 $Xaa_7$ 、 $Xaa_8$ 、 $Xaa_9$  和  $Xaa_{10}$  中的至少六个是与序列  $Phe_3-X_4-His_5-Tyr_6-Trp_7-Ala_8-Gln_9-Leu_{10}-X_{11}-Ser_{12}$  (SEQ ID NO:8) 的相应位置处的氨基酸相同的氨基酸。在其它实施方案中,  $Xaa_3$ 、 $Xaa_5$ 、 $Xaa_6$ 、 $Xaa_7$ 、 $Xaa_8$ 、 $Xaa_9$  和  $Xaa_{10}$  中的至少七个是与序列  $Phe_3-X_4-His_5-Tyr_6-Trp_7-Ala_8-Gln_9-Leu_{10}-X_{11}-Ser_{12}$  (SEQ ID NO:8) 的相应位置处的氨基酸相同的氨基酸。

[0283] 在一些实施方案中, 拟肽大环化合物具有下式:



[0285] 其中:

[0286]  $Xaa_3$ 、 $Xaa_5$ 、 $Xaa_6$ 、 $Xaa_7$ 、 $Xaa_8$ 、 $Xaa_9$  和  $Xaa_{10}$  中的每一个单独地为氨基酸, 其中  $Xaa_3$ 、 $Xaa_5$ 、 $Xaa_6$ 、 $Xaa_7$ 、 $Xaa_8$ 、 $Xaa_9$  和  $Xaa_{10}$  中的至少三个是与序列  $Phe_3-X_4-Glu_5-Tyr_6-Trp_7-Ala_8-Gln_9-Leu_{10}/Cba_{10}-X_{11}-Ala_{12}$  (SEQ ID NO:9) 的相应位置处的氨基酸相同的氨基酸, 其中每个 X 为氨基酸;

[0287] 各个 D 独立地为氨基酸;

[0288] 各个 E 独立地为氨基酸, 例如选自 Ala (丙氨酸)、D-Ala (D-丙氨酸)、Aib ( $\alpha$ -氨基异丁酸)、Sar (N-甲基甘氨酸) 和 Ser (丝氨酸) 的氨基酸;

[0289]  $R_1$  和  $R_2$  独立地为 -H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、环烷基烷基、杂烷基或杂环烷基, 它们是未取代的或被卤素取代的; 或者  $R_1$  和  $R_2$  中的至少一个形成连接至所述 D 或 E 氨基酸之一的  $\alpha$  位置的大环形成连接体  $L'$ ;

[0290] 各个 L 或  $L'$  独立地为式  $-L_1-L_2-$  的大环形成连接体;

[0291]  $L_1$  和  $L_2$  独立地为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚环芳基、亚杂环芳基或  $[-R_4-K-R_4-]_n$ , 它们各自任选地被  $R_5$  取代;

[0292]  $R_3$  为氢、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、杂烷基、环烷基、杂环烷基、环烷基烷基、环芳基或杂环芳基, 它们任选地被  $R_5$  取代;

[0293] 各个  $R_4$  为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚芳基或亚杂芳基;

[0294] 各个 K 为 O、S、SO、SO<sub>2</sub>、CO、CO<sub>2</sub> 或 CONR<sub>3</sub>;

[0295] 各个  $R_5$  独立地为卤素、烷基、-OR<sub>6</sub>、-N(R<sub>6</sub>)<sub>2</sub>、-SR<sub>6</sub>、-SOR<sub>6</sub>、-SO<sub>2</sub>R<sub>6</sub>、-CO<sub>2</sub>R<sub>6</sub>、荧光部分、

放射性同位素或治疗剂；

[0296] 各个 $R_6$ 独立地为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基烷基、杂环烷基、荧光部分、放射性同位素或治疗剂；

[0297]  $R_7$ 为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、杂烷基、环烷基烷基、杂环烷基、环芳基或杂环芳基，它们任选地被 $R_5$ 取代，或是与D残基形成的环状结构的一部分；

[0298]  $R_8$ 为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、杂烷基、环烷基烷基、杂环烷基、环芳基或杂环芳基，它们任选地被 $R_5$ 取代，或是与E残基形成的环状结构的一部分；

[0299]  $v$ 为1-1000的整数，例如1-500、1-200、1-100、1-50、1-30、1-20或1-10；

[0300]  $w$ 为3-1000的整数，例如3-500、3-200、3-100、3-50、3-30、3-20或3-10；且

[0301]  $n$ 为1-5的整数。

[0302] 在上述通式的一些实施方案中， $Xaa_3$ 、 $Xaa_5$ 、 $Xaa_6$ 、 $Xaa_7$ 、 $Xaa_8$ 、 $Xaa_9$ 和 $Xaa_{10}$ 中的至少三个是与序列Phe<sub>3</sub>-X<sub>4</sub>-Glu<sub>5</sub>-Tyr<sub>6</sub>-Trp<sub>7</sub>-Ala<sub>8</sub>-Gln<sub>9</sub>-Leu<sub>10</sub>/Cba<sub>10</sub>-X<sub>11</sub>-Ala<sub>12</sub> (SEQ ID NO:9)的相应位置处的氨基酸相同的氨基酸。在上述通式的其它实施方案中， $Xaa_3$ 、 $Xaa_5$ 、 $Xaa_6$ 、 $Xaa_7$ 、 $Xaa_8$ 、 $Xaa_9$ 和 $Xaa_{10}$ 中的至少四个是与序列Phe<sub>3</sub>-X<sub>4</sub>-Glu<sub>5</sub>-Tyr<sub>6</sub>-Trp<sub>7</sub>-Ala<sub>8</sub>-Gln<sub>9</sub>-Leu<sub>10</sub>/Cba<sub>10</sub>-X<sub>11</sub>-Ala<sub>12</sub> (SEQ ID NO:9)的相应位置处的氨基酸相同的氨基酸。在上述通式的其它实施方案中， $Xaa_3$ 、 $Xaa_5$ 、 $Xaa_6$ 、 $Xaa_7$ 、 $Xaa_8$ 、 $Xaa_9$ 和 $Xaa_{10}$ 中的至少五个是与序列Phe<sub>3</sub>-X<sub>4</sub>-Glu<sub>5</sub>-Tyr<sub>6</sub>-Trp<sub>7</sub>-Ala<sub>8</sub>-Gln<sub>9</sub>-Leu<sub>10</sub>/Cba<sub>10</sub>-X<sub>11</sub>-Ala<sub>12</sub> (SEQ ID NO:9)的相应位置处的氨基酸相同的氨基酸。在上述通式的其它实施方案中， $Xaa_3$ 、 $Xaa_5$ 、 $Xaa_6$ 、 $Xaa_7$ 、 $Xaa_8$ 、 $Xaa_9$ 和 $Xaa_{10}$ 中的至少六个是与序列Phe<sub>3</sub>-X<sub>4</sub>-Glu<sub>5</sub>-Tyr<sub>6</sub>-Trp<sub>7</sub>-Ala<sub>8</sub>-Gln<sub>9</sub>-Leu<sub>10</sub>/Cba<sub>10</sub>-X<sub>11</sub>-Ala<sub>12</sub> (SEQ ID NO:9)的相应位置处的氨基酸相同的氨基酸。在上述通式的其它实施方案中， $Xaa_3$ 、 $Xaa_5$ 、 $Xaa_6$ 、 $Xaa_7$ 、 $Xaa_8$ 、 $Xaa_9$ 和 $Xaa_{10}$ 中的至少七个是与序列Phe<sub>3</sub>-X<sub>4</sub>-Glu<sub>5</sub>-Tyr<sub>6</sub>-Trp<sub>7</sub>-Ala<sub>8</sub>-Gln<sub>9</sub>-Leu<sub>10</sub>/Cba<sub>10</sub>-X<sub>11</sub>-Ala<sub>12</sub> (SEQ ID NO:9)的相应位置处的氨基酸相同的氨基酸。

[0303] 在一些实施方案中， $w$ 为3-10的整数，例如3-6、3-8、6-8或6-10。在一些实施方案中， $w$ 为3。在其它实施方案中， $w$ 为6。在一些实施方案中， $v$ 为1-10的整数，例如2-5。在一些实施方案中， $v$ 为2。

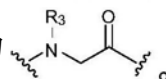
[0304] 在本文所述的任何通式的实施方案中， $L_1$ 和 $L_2$ 单独地或组合地不形成三唑或硫醚。

[0305] 在一个实例中， $R_1$ 和 $R_2$ 中的至少一个是未取代的或被卤素-取代的烷基。在另一个实例中， $R_1$ 和 $R_2$ 二者均独立地为未取代的或被卤素-取代的烷基。在一些实施方案中， $R_1$ 和 $R_2$ 中的至少一个为甲基。在其它实施方案中， $R_1$ 和 $R_2$ 为甲基。

[0306] 在一些实施方案中， $x+y+z$ 至少为3。在其它实施方案中， $x+y+z$ 为1、2、3、4、5、6、7、8、9或10。在一些实施方案中， $x+y+z$ 之和为3或6。在一些实施方案中， $x+y+z$ 之和为3。在其它实施方案中， $x+y+z$ 之和为6。大环化合物或大环化合物前体中每次出现的A、B、C、D或E独立地选择。例如，由式[A] <sub>$x$</sub> 表示的序列，当 $x$ 为3时，包括其中氨基酸不相同的实施方案，例如Gln-Asp-Ala，以及其中氨基酸相同的实施方案，例如Gln-Gln-Gln。这适用于 $x$ 、 $y$ 或 $z$ 在指定范围内的任意值。类似地，当 $u$ 大于1时，各个化合物可包含相同或不同的拟肽大环化合物。例如，化合物可以包含含有不同连接体长度或化学组成的拟肽大环化合物。

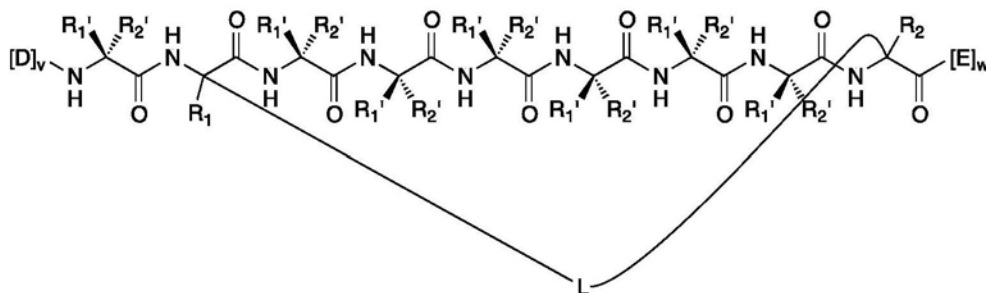
[0307] 在一些实施方案中，拟肽大环化合物包含为 $\alpha$ -螺旋的二级结构且 $R_8$ 为-H，从而允许螺旋内氢键键合。在一些实施方案中，A、B、C、D或E中的至少一个为 $\alpha$ ， $\alpha$ -二取代的氨基酸。在一个实例中，B为 $\alpha$ ， $\alpha$ -二取代的氨基酸。例如，A、B、C、D或E中的至少一个为2-氨基异丁酸。

在其它实施方案中, A、B、C、D或E中的至少一个为



[0308] 在其它实施方案中, 选择从第一C $\alpha$ 到第二C $\alpha$ 测量的大环形成连接体L的长度, 以稳定希望的二级肽结构, 例如由拟肽大环化合物的残基 (包括但不是必须限于第一C $\alpha$ 到第二C $\alpha$ 之间的残基) 形成的 $\alpha$ -螺旋。

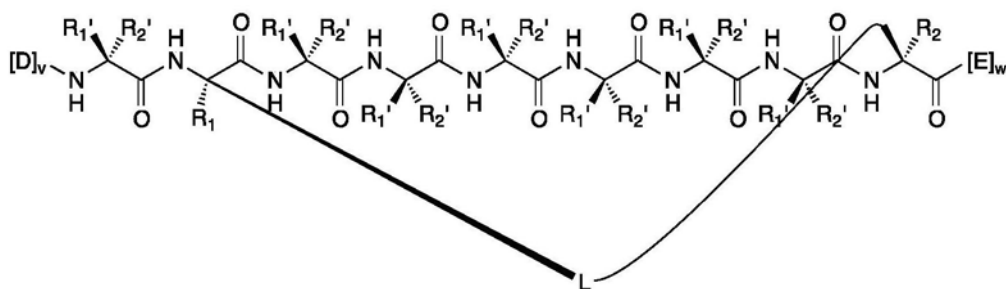
[0309] 在一个实施方案中, 式 (I) 的拟肽大环化合物为:



[0310]

[0311] 其中各个R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>独立地为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、环烷基烷基、杂烷基或杂环烷基, 它们是未取代的或被卤素-取代的。

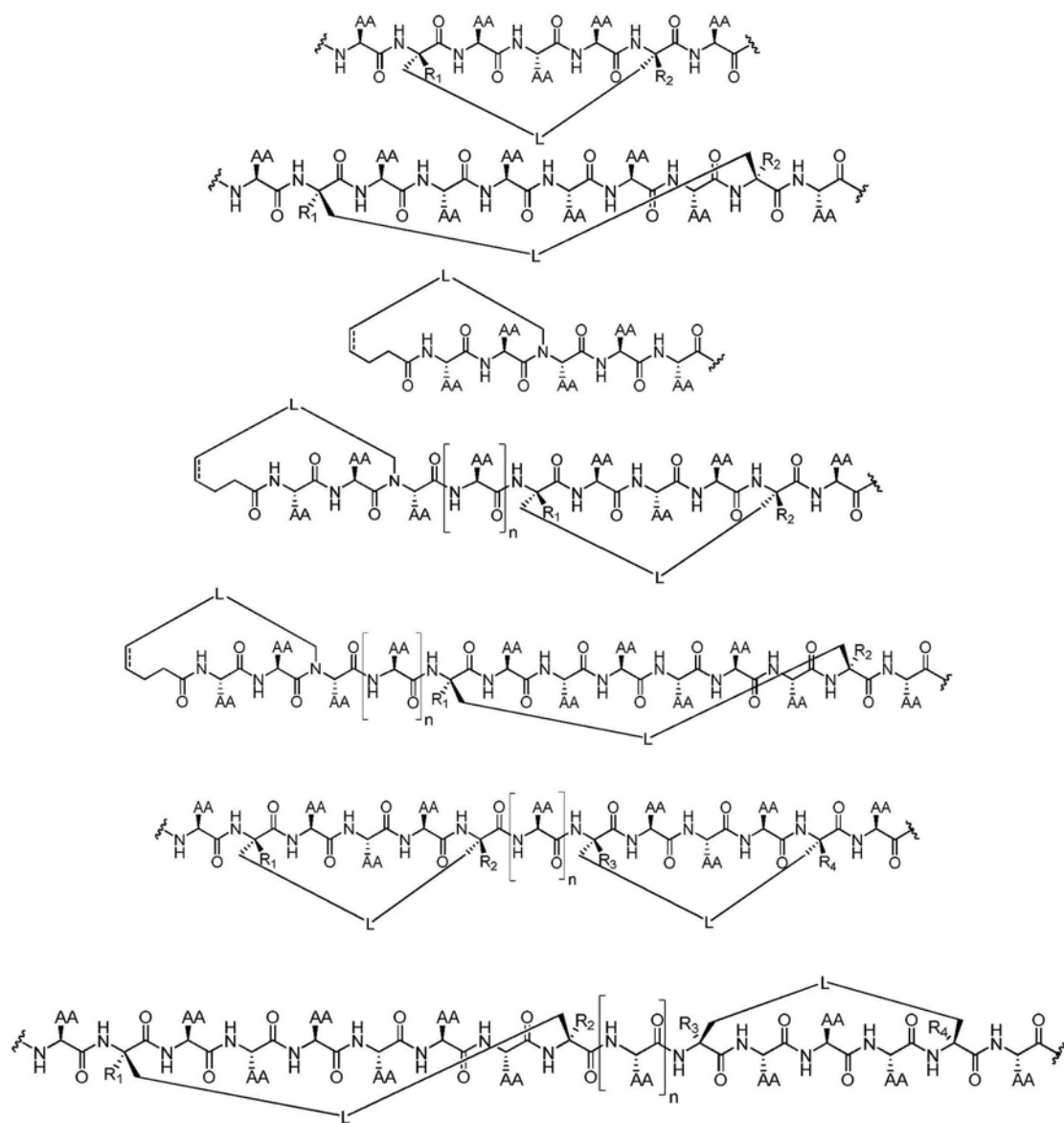
[0312] 在其它实施方案中, 式 (I) 的拟肽大环化合物为:

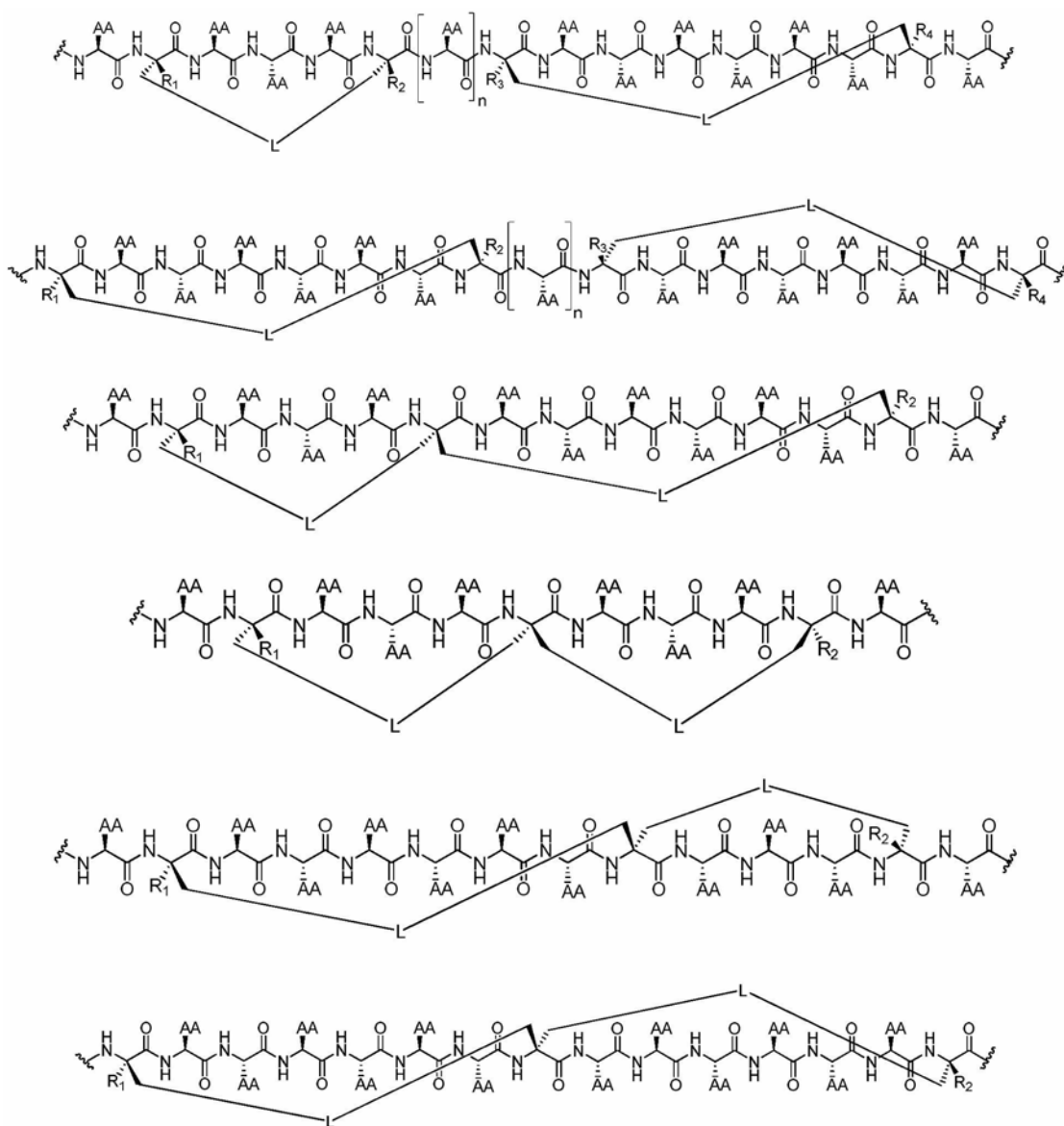


[0313]

[0314] 其中各个R<sub>1</sub>'和R<sub>2</sub>'独立地为氨基酸。

[0315] 在其它实施方案中, 式 (I) 的拟肽大环化合物是以下所示通式中的任一个的化合物:



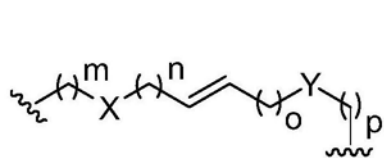


[0317]

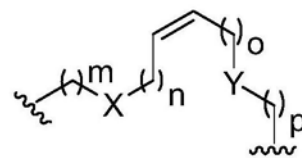
[0318] 其中“AA”表示任何天然或非天然氨基酸侧链,且“ $\text{D}_v$ ”、“ $\text{E}_w$ ”为如上定义的 $[\text{D}]_v$ 、 $[\text{E}]_w$ ,且n为0至20、50、100、200、300、400或500的整数。在一些实施方案中,n为0。在其它实施方案中,n小于50。

[0319] 大环形成连接体L的示例性实施方案如下所示。



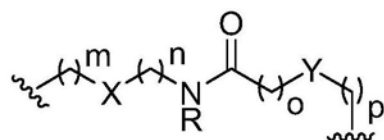


其中X, Y = -CH<sub>2</sub>-, O, S 或 NH  
m, n, o, p = 0-10

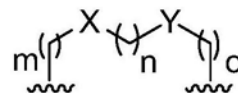


其中X, Y = -CH<sub>2</sub>-, O, S 或 NH  
m, n, o, p = 0-10

[0320]



其中 X, Y = -CH<sub>2</sub>-, O, S 或 NH  
m, n, o, p = 0-10  
R = H, 烷基, 其它取代基



其中 X, Y = -CH<sub>2</sub>-, O, S 或 NH  
m, n, o = 0-10

[0321] 在其它实施方案中,为了促进细胞摄取,进一步修饰式I化合物中的D和/或E。在一些实施方案中,将拟肽大环化合物脂质化(lipidating)或PEG化有利于细胞摄取、提高生物利用度、增强血液循环、改变药代动力学、降低免疫原性和/或降低所需的给药频率。。

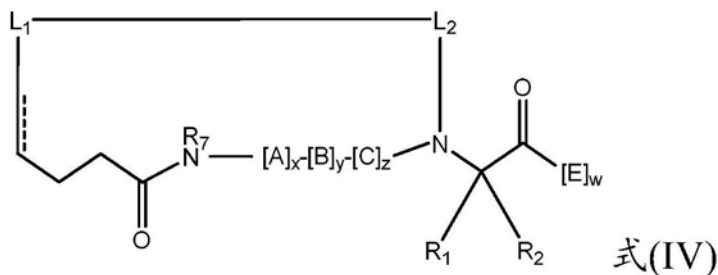
[0322] 在其它实施方案中,式I化合物中的[D]和[E]中的至少一个代表包含另外的大环形成连接体的部分,使得该拟肽大环化合物包含至少两个大环形成连接体。在特定实施方案中,拟肽大环化合物包含两个大环形成连接体。在一个实施方案中,u为2。

[0323] 在一些实施方案中,本文所述的任何大环形成连接体可以与表1、表1a、表1b或表1c中所示的任何序列任意组合使用,也可以与本文所述的任何R-取代基任意组合使用。

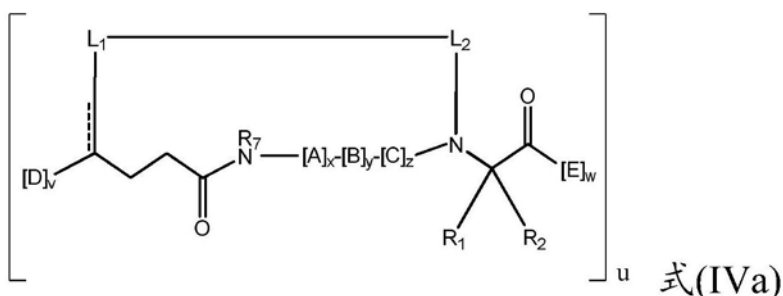
[0324] 在一些实施方案中,拟肽大环化合物包含至少一个 $\alpha$ -螺旋基序。例如,式I化合物中的A、B和/或C包含一个或多个 $\alpha$ -螺旋。一般来说, $\alpha$ -螺旋每圈包含3至4个氨基酸残基。在一些实施方案中,拟肽大环化合物的 $\alpha$ -螺旋包括1至5圈,因此包含3至20个氨基酸残基。在特定实施方案中, $\alpha$ -螺旋包括1圈、2圈、3圈、4圈或5圈。在一些实施方案中,大环形成连接体稳定化在拟肽大环化合物内包含的 $\alpha$ -螺旋基序。因此,在一些实施方案中,选择大环形成连接体L从第一C $\alpha$ 到第二C $\alpha$ 的长度,以提高 $\alpha$ -螺旋的稳定性。在一些实施方案中,大环形成连接体跨越 $\alpha$ -螺旋的1圈至5圈。在一些实施方案中,大环形成连接体跨越 $\alpha$ -螺旋的大约1圈、2圈、3圈、4圈或5圈。在一些实施方案中,大环形成连接体的长度为每圈 $\alpha$ -螺旋大约5 Å至9 Å,或每圈 $\alpha$ -螺旋大约6 Å至8 Å。当大环形成连接体跨越大约1圈 $\alpha$ -螺旋时,长度等于大约5个碳-碳键至13个碳-碳键,大约7个碳-碳键至11个碳-碳键,或大约9个碳-碳键。当大环形成连接体跨越大约2圈 $\alpha$ -螺旋时,长度等于大约8个碳-碳键至16个碳-碳键,大约10个碳-碳键至14个碳-碳键,或大约12个碳-碳键。当大环形成连接体跨越大约3圈 $\alpha$ -螺旋时,长度等于大约14个碳-碳键至22个碳-碳键,大约16个碳-碳键至20个碳-碳键,或大约18个碳-碳键。当大环形成连接体跨越大约4圈 $\alpha$ -螺旋时,长度等于大约20个碳-碳键至28个碳-碳键,大约22个碳-碳键至26个碳-碳键,或大约24个碳-碳键。当大环形成连接体跨越大约5圈 $\alpha$ -螺旋时,长度等于大约26个碳-碳键至34个碳-碳键,大约28个碳-碳键至32个碳-碳键,或

大约30个碳-碳键。当大环形成连接体跨越大约1圈 $\alpha$ -螺旋时,连接含有大约4个原子至12个原子,大约6个原子至10个原子,或大约8个原子。当大环形成连接体跨越大约2圈 $\alpha$ -螺旋时,连接含有大约7个原子至15个原子,大约9个原子至13个原子,或大约11个原子。当大环形成连接体跨越大约3圈 $\alpha$ -螺旋时,连接含有大约13个原子至21个原子,大约15个原子至19个原子,或大约17个原子。当大环形成连接体跨越大约4圈 $\alpha$ -螺旋时,连接含有大约19个原子至27个原子,大约21个原子至25个原子,或大约23个原子。当大环形成连接体跨越大约5圈 $\alpha$ -螺旋时,连接含有大约25个原子至33个原子,大约27个原子至31个原子,或大约29个原子。当大环形成连接体跨越大约1圈 $\alpha$ -螺旋时,得到的大环形成含有大约17元至25元、大约19元至23元或大约21元的环。当大环形成连接体跨越大约2圈 $\alpha$ -螺旋时,得到的大环形成含有大约29元至37元、大约31元至35元或大约33元的环。当大环形成连接体跨越大约3圈 $\alpha$ -螺旋时,得到的大环形成含有大约44元至52元、大约46元至50元或大约48元的环。当大环形成连接体跨越大约4圈 $\alpha$ -螺旋时,得到的大环形成含有大约59元至67元、大约61元至65元或大约63元的环。当大环形成连接体跨越大约5圈 $\alpha$ -螺旋时,得到的大环形成含有大约74元至82元、大约76元至80元或大约78元的环。

[0325] 在其它实施方案中,提供了式(IV)或(IVa)的拟肽大环化合物:




[0326]



[0327] 其中：

[0328] 各个A、C、D和E独立地为天然或非天然氨基酸,并且末端D和E独立地任选地包括封端基团;

[0329] B为天然或非天然氨基酸、氨基酸类似物、  $[-NH-L_3-CO-]$ 、 $[-NH-L_3-$

 $\text{SO}_2-$ 或 $[-\text{NH}-\text{L}_3-]$ ;

[0330]  $R_1$ 和 $R_2$ 独立地为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、环烷基烷基、杂烷基或杂环烷基,它们是未取代的或被卤素-取代的;或者 $R_1$ 和 $R_2$ 中的至少一个形成连接至所述D或E氨基酸之一的 $\alpha$ 位置的大环形成连接体L' ;

[0331] R<sub>3</sub>为氢、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、杂烷基、环烷基、杂环烷基、环烷基烷基、环芳

基或杂环芳基,它们任选地被 $R_5$ 取代;

[0332] L为式 $-L_1-L_2-$ 的大环形成连接体;

[0333]  $L_1$ 和 $L_2$ 独立地为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚环芳基、亚杂环芳基或 $[-R_4-K-R_4-]_n$ ,它们各自任选地被 $R_5$ 取代;

[0334] 各个 $R_4$ 为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚芳基或亚杂芳基;

[0335] 各个K为O、S、SO、SO<sub>2</sub>、CO、CO<sub>2</sub>或CONR<sub>3</sub>;

[0336] 各个 $R_5$ 独立地为卤素、烷基、 $-OR_6$ 、 $-N(R_6)_2$ 、 $-SR_6$ 、 $-SOR_6$ 、 $-SO_2R_6$ 、 $-CO_2R_6$ 、荧光部分、放射性同位素或治疗剂;

[0337] 各个 $R_6$ 独立地为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基烷基、杂环烷基、荧光部分、放射性同位素或治疗剂;

[0338]  $R_7$ 为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、杂烷基、环烷基烷基、杂环烷基、环芳基或杂环芳基,它们任选地被 $R_5$ 取代;

[0339] v和w独立地为1-1000的整数;

[0340] u为1-10的整数;

[0341] x、y和z独立地为0-10的整数;且

[0342] n为1-5的整数。

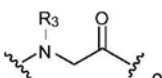
[0343] 在一个实例中, $L_1$ 和 $L_2$ 单独地或组合地不形成三唑或硫醚。

[0344] 在一个实例中, $R_1$ 和 $R_2$ 中的至少一个是未取代的或被卤素-取代的烷基。在另一个实例中, $R_1$ 和 $R_2$ 均独立地为未取代的或被卤素-取代的烷基。在一些实施方案中, $R_1$ 和 $R_2$ 中的至少一个为甲基。在其它实施方案中, $R_1$ 和 $R_2$ 为甲基。

[0345] 在一些实施方案中,x+y+z之和至少为1。在其它实施方案中,x+y+z之和至少为2。在其它实施方案中,x+y+z之和为1、2、3、4、5、6、7、8、9或10。大环化合物或大环化合物前体中每次出现的A、B、C、D或E独立地选择。例如,由式 $[A]_x$ 表示的序列,当x为3时,包括其中氨基酸不相同的实施方案,例如Gln-Asp-Ala,以及其中氨基酸相同的实施方案,例如Gln-Gln-Gln。这适用于x、y或z在指定范围内的任意值。

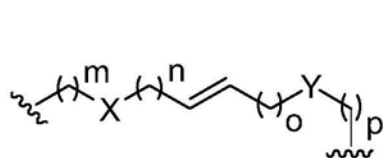
[0346] 在一些实施方案中,拟肽大环化合物包含为 $\alpha$ -螺旋的二级结构且 $R_8$ 为-H,从而允许螺旋内氢键键合。在一些实施方案中,A、B、C、D或E中的至少一个为 $\alpha$ , $\alpha$ -二取代的氨基酸。在一个实例中,B为 $\alpha$ , $\alpha$ -二取代的氨基酸。例如,A、B、C、D或E中的至少一个为2-氨基异丁酸。

在其它实施方案中,A、B、C、D或E中的至少一个为

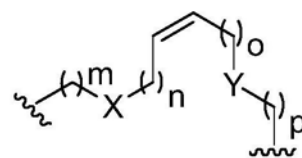


[0347] 在其它实施方案中,选择从第一Ca到第二Ca测量的大环形成连接体L的长度,以稳定希望的二级肽结构,例如由拟肽大环化合物的残基(包括但不是必须限于第一Ca到第二Ca之间的残基)形成的 $\alpha$ -螺旋。

[0348] 大环形成连接体 $-L_1-L_2-$ 的示例性实施方案如下所示。

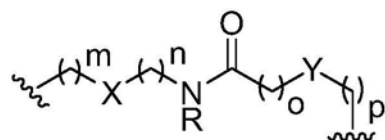


其中X, Y = -CH<sub>2</sub>-, O, S 或 NH  
m, n, o, p = 0-10

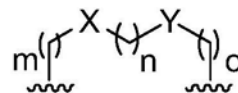


其中X, Y = -CH<sub>2</sub>-, O, S 或 NH  
m, n, o, p = 0-10

[0349]



其中 X, Y = -CH<sub>2</sub>-, O, S 或 NH  
m, n, o, p = 0-10  
R = H, 烷基, 其它取代基



其中 X, Y = -CH<sub>2</sub>-, O, S 或 NH  
m, n, o = 0-10

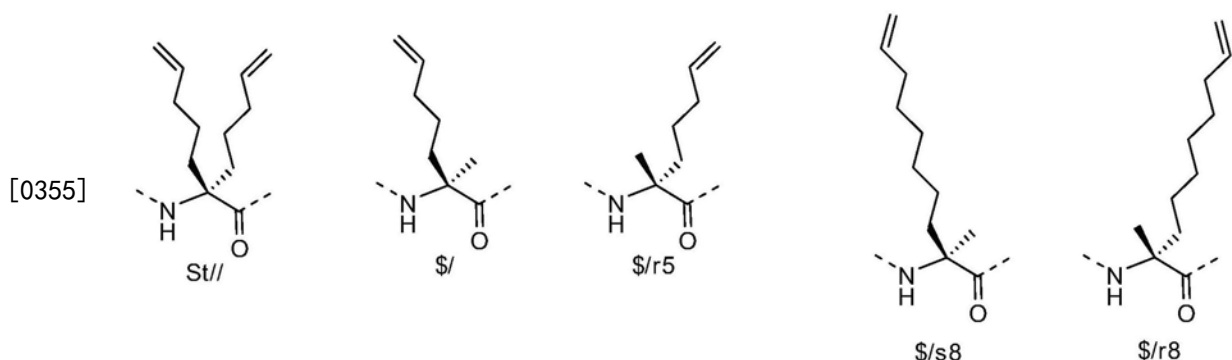
[0350] 除非另外说明,任何化合物(包括拟肽大环化合物、大环化合物前体和其它组合物)也意在包括仅是在是否存在一个或多个同位素富集的原子方面不同的化合物。例如,除了用氘或氚替代氢或者用<sup>13</sup>C-或<sup>14</sup>C-富集的碳替代碳以外具有所述结构的化合物在本发明的范围内。

[0351] 在一些实施方案中,本文公开的化合物可以在构成此类化合物的一个或多个原子处含有非自然比例的原子同位素。例如,该化合物可以用诸如例如氚(<sup>3</sup>H)、碘-125(<sup>125</sup>I)或碳-14(<sup>14</sup>C)的放射性同位素进行放射性标记。在其它实施方案中,一个或多个碳原子被硅原子替代。本文涉及本文公开的化合物的所有同位素变化,无论是放射性的还是非放射性的。

[0352] 拟肽大环化合物的制备

[0353] 拟肽大环化合物可以通过本领域已知的众多方法中的任意方法来制备。例如,具有在表1、表1a、表1b或表1c中由“\$”或“\$r8”表示的任何残基可以被替换为能够与同一分子中的第二残基形成交联体的残基或这样的残基的前体。

[0354] 各种实现拟肽大环化合物的形成的方法是本领域已知的。例如,Schafmeister等人,J. Am. Chem. Soc. 122:5891-5892 (2000); Schafmeister和Verdine, J. Am. Chem. Soc. 122:5891 (2005); Walensky等人, Science 305:1466-1470 (2004); 美国专利号7,192,713和PCT申请W02008/121767中描述了式I的拟肽大环化合物的制备。在所引用的参考文献中公开的α, α-二取代的氨基酸和氨基酸前体可以用于拟肽大环化合物前体多肽的合成。例如,“S5-烯炔氨基酸”是(S)-α-(2'-戊烯基)丙氨酸,且“R8-烯炔氨基酸”是(R)-α-(2'-辛烯基)丙氨酸。在将这样的氨基酸掺入前体多肽中之后,末端烯炔与复分解反应催化剂反应,从而导致拟肽大环化合物的形成。在各种实施方案中,下列氨基酸可用于合成拟肽大环化合物。



[0356] 在其它实施方案中,拟肽大环化合物为式IV或IVa。制备这样的大环化合物的方法例如在美国专利号7,202,332中描述。

[0357] 预计为合适的形成拟肽大环化合物的另外的方法包括以下文献中公开的方法: Mustapa, M. Firouz Mohd等人, J. Org. Chem (2003), 68, 第8193-8198页; Yang, Bin等人 Bioorg Med. Chem. Lett. (2004), 14, 第1403-1406页; 美国专利5,364,851; 美国专利5,446,128; 美国专利5,824,483; 美国专利6,713,280和美国专利7,202,332。在这样的实施方案中,使用在 $\alpha$ -位含有另外的取代基R-的氨基酸前体。这样的氨基酸在希望的位置并入大环化合物前体中,其可以处于交联体被取代的位置,或者,备选地,在大环化合物前体序列中的其它位置。然后根据指定的方法实现前体的环化。

#### [0358] 试验

[0359] 例如,拟肽大环化合物的性质通过使用下面所述的方法进行分析。在一些实施方案中,拟肽大环化合物相对于缺乏本文所述的取代基的相应多肽具有改善的生物学性质。

#### [0360] 用于测定 $\alpha$ -螺旋度的试验

[0361] 在溶液中,具有 $\alpha$ -螺旋结构域的多肽的二级结构在随机卷曲结构和 $\alpha$ -螺旋结构之间达到动态平衡,这通常被称为“百分螺旋度”。因此,例如, $\alpha$ -螺旋结构域在溶液中主要是随机卷曲, $\alpha$ -螺旋含量通常低于25%。另一方面,具有优化的连接体的拟肽大环化合物具有例如至少为相应的非交联多肽的2倍的 $\alpha$ -螺旋度。在一些实施方案中,大环化合物具有高于50%的 $\alpha$ -螺旋度。为了测定拟肽大环化合物的螺旋度,将化合物溶解于水溶液(例如,pH 7的50mM磷酸钾溶液或蒸馏水,达到25-50 $\mu$ M的浓度)。使用标准测量参数(例如,温度,20 $^{\circ}$ C; 波长,190-260nm;步分辨率(step resolution),0.5nm;速度,20nm/sec;累积,10;响应,1秒;带宽,1nm;路径长度,0.1cm)在分光偏振计(例如,Jasco J-710)上获得圆二色性(CD)谱。通过将平均残基椭圆度(例如,[ $\Phi$ ]222obs)除以模型螺旋十肽的报道值(Yang等人(1986),Methods Enzymol.130:208)来计算各个肽的 $\alpha$ -螺旋含量。

#### [0362] 用于测量解链温度( $T_m$ )的试验

[0363] 含有二级结构如 $\alpha$ -螺旋的拟肽大环化合物显示出例如比相应的非交联多肽更高的解链温度。通常,拟肽大环化合物显示出 $>60^{\circ}$ C的 $T_m$ ,表明在水溶液中高度稳定的结构。为了分析大环形成对解链温度的影响,将拟肽大环化合物或未修饰的肽溶于蒸馏水中(例如,以50 $\mu$ M的终浓度),并且通过使用标准参数(例如,波长,222nm;步分辨率,0.5nm;速度,20nm/sec;累积,10;响应,1秒;带宽,1nm;温度上升速度,1 $^{\circ}$ C/分钟;路径长度,0.1cm)在分光偏振计(例如,Jasco J-710)上测量椭圆度在一定温度范围(例如,4-95 $^{\circ}$ C)内的变化来确定 $T_m$ 。

### [0364] 蛋白酶抗性试验

[0365] 肽骨架的酰胺键易受到蛋白酶的水解,从而致使肽化合物在体内易于快速降解。但是,肽螺旋的形成通常包埋酰胺骨架,因此可以保护其免于蛋白水解裂解。拟肽大环化合物可以经历体外胰蛋白酶的蛋白水解,以评价与相应的非交联多肽相比其降解速率的任何变化。例如,拟肽大环化合物和相应的非交联多肽与胰蛋白酶琼脂糖一起温育,并在各个时间点通过离心猝灭反应,随后进行HPLC注入以根据280nm处的紫外吸收对残留的底物进行定量。简单来说,拟肽大环化合物和拟肽前体(5mcg)与胰蛋白酶琼脂糖(Pierce)(S/E~125)温育0、10、20、90和180分钟。通过台式离心机高速离心猝灭反应;通过基于HPLC的在280nm处的峰检测对分离的上清液中残余的底物进行定量。蛋白水解反应显示出一级动力学,且速率常数 $k$ 由 $\ln[S]$ 相对于时间的曲线确定( $k=-1 \times \text{斜率}$ )。

### [0366] 离体稳定性试验

[0367] 具有优化的连接体的拟肽大环化合物具有例如至少为相应的非交联多肽的2倍的离体半衰期,且具有12小时或更长的离体半衰期。对于离体血清稳定性研究,可以使用多种试验。例如,将拟肽大环化合物和相应的非交联多肽(2mcg)与新鲜的小鼠、大鼠和/或人血清(2mL)一起在37°C下温育0、1、2、4、8和24小时。为了测定完整化合物的水平,可以使用下面的程序:通过将100 $\mu$ L的血清转移到2mL离心管中,接着加入10 $\mu$ L的50%甲酸和500 $\mu$ L乙腈并在4 $\pm$ 2°C下以14,000RPM离心10分钟来提取样品。然后将上清液转移到新的2mL管中,并在 $N_2$ <10psi、37°C下在Turbovap上蒸发。样品在100 $\mu$ L的50:50乙腈:水中重建,并进行LC-MS/MS分析。

### [0368] 体外结合试验

[0369] 为了评价拟肽大环化合物和拟肽前体与受体蛋白质的结合和亲和力,例如使用荧光偏振试验(FPA)。FPA技术使用偏振光和荧光示踪剂测量分子取向和分子迁移率。当用偏振光激发时,由于附着在具有高表观分子量的分子(例如,与大蛋白质结合的FITC标记的肽)上的荧光示踪剂(例如,FITC)与附着在较小分子(例如,在溶液中游离的FITC标记的肽)上的荧光示踪剂相比具有较慢的旋转速度,附着在具有高表观分子量的分子上的荧光示踪剂发射较高水平的偏振荧光。

[0370] 例如,荧光标记的(fluoresceinated)拟肽大环化合物(25nM)与受体蛋白质(25-1000nM)在结合缓冲液(140mM NaCl、50mM Tris-HCL,pH 7.4)中在室温下温育30分钟。例如,用发光分光光度计(例如,Perkin-Elmer LS50B)通过荧光偏振测定结合活性。可以使用例如Graphpad Prism软件(GraphPad Software, Inc., San Diego, CA)通过非线性回归分析来确定 $K_d$ 值。在一些实施方案中,拟肽大环化合物显示出与相应的非交联多肽类似的或更低的 $K_d$ 。

### [0371] 用于表征肽-蛋白质相互作用的拮抗剂的体外置换试验

[0372] 为了评价拮抗肽与受体蛋白质之间相互作用的化合物的结合和亲和力,例如,使用利用来源于拟肽前体序列的荧光标记的拟肽大环化合物的荧光偏振试验(FPA)。FPA技术使用偏振光和荧光示踪剂测量分子取向和分子迁移率。当用偏振光激发时,由于附着在具有高表观分子量的分子(例如,与大蛋白质结合的FITC标记的肽)上的荧光示踪剂(例如,FITC)与附着在较小分子(例如,在溶液中游离的FITC标记的肽)上的荧光示踪剂相比具有较低的旋转速度,附着在具有高表观分子量的分子上的荧光示踪剂发射较高水平的偏振荧

光。拮抗荧光标记的拟肽大环化合物与接受体蛋白质之间相互作用的化合物将在竞争性结合FPA实验中进行检测。

[0373] 例如,推定的拮抗剂化合物(1nM至1mM)和荧光标记的拟肽大环化合物(25nM)与接受体蛋白质(50nM)一起在结合缓冲液(140mM NaCl、50mM Tris-HCL,pH 7.4)中在室温下温育30分钟。例如,用发光分光光度计(例如,Perkin-Elmer LS50B)通过荧光偏振测定拮抗剂结合活性。可以使用例如Graphpad Prism软件(GraphPad Software, Inc., San Diego, CA)通过非线性回归分析来确定K<sub>d</sub>值。

[0374] 任一类分子,如有机小分子、肽、寡核苷酸或蛋白质,可以在该试验中作为推定的拮抗剂进行检测。

#### [0375] 通过亲和和选择-质谱法对蛋白质-配体结合的分析

[0376] 为了评估测试化合物对蛋白质的结合和亲和力,例如采用亲和选择-质谱分析试验。按照以下对全系统对照实验概述的代表性程序,使用1μM拟肽大环化合物加5μM hMDM2进行蛋白质-配体结合实验。将40μM拟肽大环化合物储备溶液的1μL DMSO等份溶解在19μL PBS(磷酸盐缓冲盐水:含有150mM NaCl的50mM, pH 7.5磷酸盐缓冲液)中。得到的溶液通过反复吸液进行混合并通过在10 000g下离心10分钟进行澄清。向4μL等份得到的上清液中加入4μL 10μM hMDM2的PBS溶液。每个8.0μL实验样品因此含有在PBS中的浓度为5.0μM的40pmol (1.5μg)蛋白质,加1μM拟肽大环化合物和2.5%DMSO。针对每个浓度点如此制备的双份样品在室温下温育60分钟,然后冷却至4℃,之后进行5.0μL注入液的大小排阻层析-LC-MS分析。将含有靶蛋白、蛋白质-配体复合体和未结合的化合物的样品注入到SEC柱上,通过快速SEC步骤将复合体与未结合的成分在该柱上分离。采用UV检测器监测SEC柱洗脱液,以证实SEC柱的外水体积中洗脱的早期洗脱的蛋白质级分从保留在柱上的未结合的成分中良好地分离出来。在含有蛋白质和蛋白质-配体复合体的峰从主UV检测器洗脱后,它进入样品环路,在其中从SEC阶段的流上截下,并通过阀门机构直接转移到LC-MS。通过ESI-MS以预期的m/z观察拟肽大环化合物的(M+3H)<sup>3+</sup>离子,证实检测到蛋白质-配体复合体。

#### [0377] 用于蛋白质-配体K<sub>d</sub>滴定实验的分析

[0378] 为了评估测试化合物对蛋白质的结合和亲和力,例如,进行蛋白质-配体K<sub>d</sub>滴定实验。蛋白质-配体K<sub>d</sub>滴定实验如下进行:制备连续稀释的滴定剂拟肽大环化合物储备溶液(5, 2.5, ..., 0.098mM)的2μL DMSO等份,然后溶解在38μL PBS中。得到的溶液通过反复吸液进行混合并通过在10 000g下离心10分钟进行澄清。向4.0μL等份得到的上清液中加入4.0μL 10μM hMDM2的PBS溶液。每个8.0μL实验样品因此含有在PBS中的浓度为5.0μM的40pmol (1.5μg)蛋白质,不同浓度(125, 62.5, ..., 0.24μM)的滴定肽和2.5%DMSO。针对每个浓度点如此制备的双份样品在室温下温育30分钟,然后冷却至4℃,之后进行2.0μL注入液的SEC-LC-MS分析。通过ESI-MS观察(M+H)<sup>1+</sup>、(M+2H)<sup>2+</sup>、(M+3H)<sup>3+</sup>和/或(M+Na)<sup>1+</sup>离子;对提取的离子色谱图进行定量,然后与方程拟合,以推导出结合亲和力K<sub>d</sub>,如以下文献所述:“A General Technique to Rank Protein-Ligand Binding Affinities and Determine Allosteric vs. Direct Binding Site Competition in Compound Mixtures.”Annis, D.A.; Nazef, N.; Chuang, C.C.; Scott, M.P.; Nash, H.M. J. Am. Chem. Soc. 2004, 126, 15495-15503, 以及“ALIS: An Affinity Selection-Mass Spectrometry System for the Discovery and Characterization of Protein-Ligand Interactions”D.A. Annis, C.-C. Chuang, and

N.Nazef. In Mass Spectrometry in Medicinal Chemistry. Wanner K, Höfner G: Wiley-VCH编著; 2007:121-184. Mannhold R, Kubinyi H, Folkers G (系列编者): Methods and Principles in Medicinal Chemistry.

[0379] 通过亲和选择-质谱法进行竞争性结合实验的分析

[0380] 为了确定测试化合物竞争性结合蛋白质的能力,例如,进行亲和选择-质谱分析试验。通过将三种化合物中每一种的2 $\mu$ L等份400 $\mu$ M储备液与14 $\mu$ L DMSO混合制备每种成分40 $\mu$ M的配体混合物。然后,将1 $\mu$ L等份的该每种成分40 $\mu$ M的混合物与滴定剂拟肽大环化合物连续稀释储备溶液(10, 5, 2.5, ..., 0.078mM)的1 $\mu$ L DMSO等份混合。将这些2 $\mu$ L样品溶解在38 $\mu$ L PBS中。得到的溶液通过反复吸液进行混合并通过在10 000g下离心10分钟进行澄清。向4.0 $\mu$ L等份得到的上清液中加入4.0 $\mu$ L 10 $\mu$ M hMDM2蛋白的PBS溶液。每个8.0 $\mu$ L实验样品因此含有在PBS中的浓度为5.0 $\mu$ M的40pmol (1.5 $\mu$ g) 蛋白质,加0.5 $\mu$ M配体、2.5%DMSO和不同浓度(125, 62.5, ..., 0.98 $\mu$ M)的滴定剂拟肽大环化合物。针对每个浓度点如此制备的双份样品在室温下温育60分钟,然后冷却至4 $^{\circ}$ C,之后进行2.0 $\mu$ L注入液的SEC-LC-MS分析。这些和其它方法的另外的细节在以下文献中提供:“A General Technique to Rank Protein-Ligand Binding Affinities and Determine Allosteric vs. Direct Binding Site Competition in Compound Mixtures.” Annis, D.A.; Nazef, N.; Chuang, C.C.; Scott, M.P.; Nash, H.M.J. Am. Chem. Soc. 2004, 126, 15495-15503; 以及“ALIS: An Affinity Selection-Mass Spectrometry System for the Discovery and Characterization of Protein-Ligand Interactions” D.A. Annis, C.-C. Chuang, and N. Nazef. In Mass Spectrometry in Medicinal Chemistry. Wanner K, Höfner G: Wiley-VCH编著; 2007:121-184. Mannhold R, Kubinyi H, Folkers G (系列编者): Methods and Principles in Medicinal Chemistry.

[0381] 在完整细胞中的结合分析

[0382] 有可能通过免疫沉淀实验测定肽或拟肽大环化合物与其天然受体在完整细胞中的结合。例如,完整的细胞与荧光标记的(FITC-标记的)化合物在无血清的情况下温育4小时,接着进行血清置换并进一步温育4-18小时。然后使细胞沉淀,并在4 $^{\circ}$ C下在裂解缓冲液(50mM Tris[pH 7.6]、150mM NaCl、1%的CHAPS和蛋白酶抑制剂混合物)中温育10分钟。以14,000rpm离心提取物15分钟,收集上清液,并与10 $\mu$ L山羊抗-FITC抗体一起温育2小时,在4 $^{\circ}$ C下旋转,接着进一步在4 $^{\circ}$ C下与蛋白A/G Sepharose (50 $\mu$ L的50%微珠浆)温育2小时。快速离心之后,将沉淀物在含有渐增的盐浓度(例如,150、300、500mM)的裂解缓冲液中洗涤。随后以150mM NaCl再平衡微珠,之后加入含有SDS的样品缓冲液并煮沸。离心之后,任选地使用4%-12%梯度的Bis-Tris凝胶对上清液进行电泳,接着转移到Immobilon-P膜上。封闭后,任选地将印迹与检测FITC的抗体一起温育,也与一种或多种检测与拟肽大环化合物结合的蛋白质的抗体一起温育。

[0383] 细胞透性分析

[0384] 与相应的非交联大环化合物相比,拟肽大环化合物例如具有更高的细胞透性。具有优化的连接体的拟肽大环化合物具有例如是相应的非交联大环化合物的至少2倍的细胞透性,并且常常观察到20%或更多的应用的拟肽大环化合物在4小时后已渗透入细胞。为了测量拟肽大环化合物和相应的非交联大环化合物的细胞透性,将完整的细胞与荧光标记的(例如荧光化的(fluoresceinated))拟肽大环化合物或相应的非交联大环化合物(10 $\mu$ M)一



起在不含血清的培养基中37℃温育4小时,用培养基洗涤2次,并与胰蛋白酶(0.25%) 在37℃下温育10分钟。再次洗涤细胞并将其重悬浮于PBS中。例如,通过使用FACSCalibur流式细胞仪或Cellomics' **KineticScan**®HCS读数仪分析细胞荧光。.

#### [0385] 细胞效力分析

[0386] 例如,在基于细胞的杀伤试验中,使用多种致瘤和非致瘤的细胞系及源自人类或小鼠细胞群体的原代细胞测定某些拟肽大环化合物的效力。例如,在与拟肽大环化合物(0.5-50μM)一起温育的24-96小时期间监测细胞的活力,以鉴定那些以 $EC_{50} < 10\mu M$ 杀死细胞的化合物。检测细胞活力的几种标准分析是可以通过商业途径得到的,并且任选地用来评价拟肽大环化合物的效力。另外,测定膜联蛋白V和胱天蛋白酶激活的分析任选地用来评价拟肽大环化合物是否通过激活凋亡机制杀死细胞。例如,采用Cell Titer-glo试验,该试验确定随细胞内ATP浓度变化的细胞活力。

#### [0387] 体内稳定性分析

[0388] 为了研究拟肽大环化合物的体内稳定性,例如,向小鼠和/或大鼠通过静脉内、腹膜内、口服或吸入途径以0.1-50mg/kg的浓度施用化合物,并在注射后0'、5'、15'、30'、1小时、4小时、8小时和24小时抽取血样。然后如上所述通过LC-MS/MS测定25μL新鲜血清中的完整化合物的水平。

#### [0389] 在动物模型中的体内效力

[0390] 为了确定拟肽大环化合物在体内的抗致癌活性,例如,化合物单独给予(静脉内、腹膜内、口服、通过吸入或鼻途径)或与亚最佳剂量的相关化疗剂(例如,环磷酰胺、阿霉素、依托泊苷)联合给予。在一个实例中,在NOD-SCID小鼠遭受全身辐射3小时后,通过尾静脉注射稳定表达萤光素酶的 $5 \times 10^6$ RS4;11细胞(从急性淋巴细胞白血病患者的骨髓建立)。如果不予处理,在该模型中这种形式的白血病在3周内是致命的。例如,通过对小鼠注射D-萤光素(60mg/kg)并对麻醉的动物进行成像(例如,Xenogen In Vivo Imaging System,Caliper Life Sciences,Hopkinton,MA)可容易地监测该白血病。通过Living Image Software(Caliper Life Sciences,Hopkinton,MA)进行光子通量(photon flux)(光子/秒)的积分(integration)来对全身生物发光进行定量。例如,拟肽大环化合物单独地或与亚最佳剂量的相关化学治疗剂联合地通过尾静脉或静脉内途径以0.1mg/kg-50mg/kg的剂量向白血病小鼠施用(注射后10天/实验第1天,生物发光范围为14-16)7-21天。任选地,在整个实验过程中每隔一天对小鼠成像,并在实验期间每天监测其存活。在实验结束时任选地对死亡的小鼠进行尸体检查。另一种动物模型是将稳定表达萤光素酶的DoHH2(源自人类滤泡性淋巴瘤的细胞系)植入到NOD-SCID小鼠中。这些体内试验任选地产生初步的药代动力学、药效学和毒理学数据。

#### [0391] 临床试验

[0392] 为了确定拟肽大环化合物对于人类治疗的适用性,进行了临床试验。例如,可选择出被诊断为患有癌症并且需要治疗的患者并将他们分成治疗组和一个或多个对照组,其中,对治疗组施用拟肽大环化合物,而对照组接受安慰剂或已知的抗癌药物。这样,可以通过对患者组就诸如生存率和生活质量的因素进行比较来评价拟肽大环化合物的治疗安全性和有效性。在本实施例中,相比于用安慰剂治疗的患者对照组,用拟肽大环化合物治疗的患者组可以显示出提高的长期生存率。

### [0393] 药物组合物和给药途径

[0394] 本文公开的药物组合物包含拟肽大环化合物及其药学上可接受的衍生物或前药。“药学上可接受的衍生物”意指本文公开的化合物的任何药学上可接受的盐、酯、酯的盐、前药或其它衍生物,其在向接受者施用后能够(直接或间接地)提供本文公开的化合物。尤其有利的药学上可接受的衍生物是当向哺乳动物施用时可以提高该化合物的生物利用度(例如,通过提高口服施用的化合物进入血液的吸收),或相对于母体物质增加活性化合物向生物区室(例如,脑或淋巴系统)的递送的那些衍生物。一些药学上可接受的衍生物包含提高水溶性或跨过胃肠粘膜的主动转运的化学基团。

[0395] 在一些实施方案中,拟肽大环化合物通过共价或非共价地连接的合适的官能团进行修饰,以提高选择性的生物学性质。这样的修饰包括那些提高进入给定生物区室(例如,血液、淋巴系统、中枢神经系统)的生物学渗透性、提高口服利用度、增加溶解度以允许注射施用、改变代谢以及改变排泄率的修饰。

[0396] 本文公开的化合物的药学上可接受的盐包括那些由药学上可接受的无机和有机的酸和碱衍生的盐。合适的酸式盐的例子包括乙酸盐、己二酸盐、苯甲酸盐、苯磺酸盐、丁酸盐、柠檬酸盐、二葡萄糖酸盐、十二烷基硫酸盐、甲酸盐、延胡索酸盐、乙醇酸盐、半硫酸盐、庚酸盐、己酸盐、盐酸盐、氢溴酸盐、氢碘酸盐、乳酸盐、马来酸盐、丙二酸盐、甲磺酸盐、2-萘磺酸盐、烟酸盐、硝酸盐、棕榈酸盐(palmoate)、磷酸盐、苦味酸盐、新戊酸盐、丙酸盐、水杨酸盐、琥珀酸盐、硫酸盐、酒石酸盐、甲苯磺酸盐和十一酸盐(undecanoate)。由合适的碱衍生的盐包括碱金属盐(例如,钠盐)、碱土金属盐(例如,镁盐)、铵盐和N-(烷基)<sub>4</sub><sup>+</sup>盐。

[0397] 为了由本文公开的化合物制备药物组合物,药学上可接受的载体包括固体或液体载体。固体形式的制剂包括粉剂、片剂、丸剂、胶囊剂、扁囊剂、栓剂和分散颗粒剂。固体载体可以是一种或多种物质,其也可以作为稀释剂、调味剂、粘合剂、防腐剂、片剂崩解剂或包封材料发挥作用。在科学文献和专利文献中详细描述了配制和给药技术的细节,参见,例如,最新版本的Remington's Pharmaceutical Sciences, Maack Publishing Co, Easton PA。

[0398] 在粉剂中,载体是细碎的固体,其与细碎的活性成分混合。在片剂中,活性成分与具有必要粘合性质的载体按照适当的比例混合,并压制成需要的形状和大小。

[0399] 合适的固体赋形剂是碳水化合物或蛋白质填料,包括但不限于:糖,包括乳糖、蔗糖、甘露醇或山梨醇;来自玉米、小麦、水稻、马铃薯或其它植物的淀粉;纤维素,如甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素或羧甲基纤维素钠;和树胶,包括阿拉伯树胶和黄蓍胶;以及蛋白质,如明胶和胶原蛋白。如果需要的话,加入崩解剂或增溶剂,如交联的聚乙烯吡咯烷酮、琼脂、海藻酸或其盐如海藻酸钠。

[0400] 液体形式的制剂包括溶液、悬浮液和乳液,例如,水或水/丙二醇溶液。对于肠胃外注射,液体制剂可以在聚乙二醇水溶液中配制成溶液。

[0401] 药物制剂可以为单位剂型。在这样的形式中,制剂细分为含有适量活性成分的单位剂量。单位剂型可以是包装制剂,该包装包含不连续量的制剂,如包装的片剂、胶囊和小瓶或安瓿中的粉末。另外,单位剂型也可以是胶囊、片剂、扁囊剂或锭剂本身,或者可以是包装形式的适当数目的这些剂型中的任一种。

[0402] 当一种或多种本文公开的组合物包含拟肽大环化合物和一种或多种另外的治疗剂或预防剂的组合时,该化合物和另外的药剂都应该以通常在单一治疗方案中施用的剂量

的大约1-100%的剂量水平,更优选大约5-95%的剂量水平存在。在一些实施方案中,另外的药剂作为多剂量方案的一部分与一种或多种本文公开的化合物分开施用。或者,这些药剂是单一剂型的一部分,在单一组合中与本文公开的化合物混合在一起。

#### [0403] 使用方法

[0404] 在一个方面,本文提供了新型拟肽大环化合物,其可在竞争性结合试验中用于鉴别可与拟肽大环化合物所模拟的蛋白质或肽的天然配体相结合的物质。例如,在p53/MDMX系统中,基于p53的标记的拟肽大环化合物可以与竞争性结合MDMX的小分子一起在MDMX结合试验中使用。竞争结合研究允许在体外快速评价及确定对于p53/MDMX系统具有特异性的候选药物。可以使用本文公开的任何拟肽大环化合物及其结合配偶体进行这类结合研究。

[0405] 进一步提供了生成抗拟肽大环化合物的抗体的方法。在一些实施方案中,这些抗体特异性地结合拟肽大环化合物和拟肽大环化合物相关的前体肽,如p53。例如,这样的抗体破坏天然的蛋白质-蛋白质相互作用,例如p53与MDMX之间的结合。

[0406] 在其它方面,本文提供了处理处于患与分子(包括p53、MDM2或MDMX)的异常(例如,不足或过量)表达或活性有关的疾病的危险中(或易患所述疾病)或患有所述疾病的受试者的预防方法和治疗方法。

[0407] 在另一实施方案中,疾病至少部分地是由p53或MDM2或MDMX的异常水平(例如,过度表达或不足表达)引起的,或由显示异常活性的p53或MDM2或MDMX的存在引起的。这样,由源自p53的拟肽大环化合物导致的p53或MDM2或MDMX水平和/或活性的降低或者p53或MDM2或MDMX水平和/或活性的提高用来例如缓解或减轻疾病的负面症状。

[0408] 另一方面,本文提供了通过干扰结合配偶体之间(例如,p53与MDM2或p53与MDMX之间)的相互作用或结合来治疗或预防疾病(包括过度增殖性疾病和炎症病症)的方法。这些方法包括向包括人类的温血动物施用有效量的化合物。在一些实施方案中,一种或多种本文公开的化合物的施用诱导细胞生长停滞或凋亡。

[0409] 如本文所用的,术语“治疗”被定义为向患者应用或施用治疗剂,或者向从患者分离的组织或细胞系应用或施用治疗剂,所述患者患有疾病、疾病症状或具有患病倾向,其目的是治愈、恢复、减轻、解除、改变、矫正、缓解、改善或影响疾病、疾病症状或患病倾向。

[0410] 在一些实施方案中,拟肽大环化合物可以用来治疗、预防和/或诊断癌症和肿瘤性病状。如本文所用的,术语“癌症”、“过度增殖的”和“肿瘤性的”指具有自主生长能力的细胞,即,以快速增殖的细胞生长为特征的异常状态或病状。过度增殖性的和肿瘤性的疾病状态可以分为病理性的,即,表现或构成疾病状态;或者可以分为非病理性的,即,偏离正常但与疾病状态无关。该术语意味着包括所有类型的癌性生长或致癌过程、转移性的组织或恶性转化的细胞、组织或器官,而与组织病理类型或侵入阶段无关。转移性肿瘤可以由许多原发性肿瘤类型产生,包括但不限于:乳腺、肺、肝、结肠和卵巢源的肿瘤类型。“病理性过度增殖”细胞出现于以恶性肿瘤生长为特征的状态中。非病理性过度增殖细胞的例子包括与创伤修复有关的细胞增殖。细胞增殖和/或分化疾病的例子包括癌症,例如,癌瘤、肉瘤或转移性疾病。在一些实施方案中,拟肽大环化合物是用于控制乳腺癌、卵巢癌、结肠癌、肺癌、这些癌症的转移等的新的治疗剂。

[0411] 癌症或肿瘤性疾病的例子包括但不限于:纤维肉瘤、肌肉瘤、脂肪肉瘤、软骨肉瘤、成骨肉瘤、脊索瘤、血管肉瘤、内皮肉瘤、淋巴管肉瘤、淋巴管内皮肉瘤、滑膜瘤、间皮瘤、尤

因氏瘤、平滑肌肉瘤、横纹肌肉瘤、胃癌、食道癌、直肠癌、胰腺癌、卵巢癌、前列腺癌、子宫癌、头颈癌、皮肤癌、脑癌、鳞状细胞癌、皮脂腺癌、乳头状癌、乳头状腺癌、囊腺癌、髓样癌、支气管原癌、肾细胞癌、肝细胞癌、胆管癌、绒毛膜癌、精原细胞瘤、胚胎性癌、维尔姆斯肿瘤、子宫颈癌、睾丸癌、小细胞肺癌、非小细胞肺癌、膀胱癌、上皮癌、神经胶质瘤、星形细胞瘤、髓母细胞瘤、颅咽管瘤、室管膜瘤、松果体瘤、血管母细胞瘤、听神经瘤、少突神经胶质瘤、脑脊膜瘤、黑素瘤、神经母细胞瘤、视网膜母细胞瘤、白血病、淋巴瘤或卡波西肉瘤。

[0412] 在一些实施方案中,所述癌症是头颈癌、黑素瘤、肺癌、乳腺癌或神经胶质瘤。

[0413] 增殖性疾病的例子包括造血系统肿瘤性疾病。如本文所用,术语“造血系统肿瘤性疾病”包括涉及造血系统起源的(例如,源自骨髓、淋巴或红细胞谱系的)增生性/肿瘤性细胞或其前体细胞的疾病。该疾病可起因于分化不良的急性白血病,例如,成红细胞白血病和急性巨核母细胞性白血病。另外的示例性的骨髓疾病包括但不限于:急性早幼粒细胞白血病(APML)、急性髓性白血病(AML)和慢性髓性白血病(CML)(综述见Vaickus(1991), Crit Rev. Oncol./Hematol. 11:267-97);淋巴样恶性肿瘤包括但不限于急性淋巴瘤母细胞性白血病(ALL),包括B-谱系ALL和T-谱系ALL、慢性淋巴细胞性白血病(CLL)、幼淋巴细胞性白血病(PLL)、多毛细胞白血病(HLL)和瓦尔登斯特伦巨球蛋白血症(WM)。其它形式的恶性淋巴瘤包括但不限于:非何杰金淋巴瘤及其变化形式、外周T细胞淋巴瘤、成人T细胞白血病/淋巴瘤(ATL)、皮肤T细胞淋巴瘤(CTCL)、巨粒淋巴细胞白血病(LGF)、何杰金病和里德-斯特恩伯格病。

[0414] 乳腺的细胞增殖和/或分化疾病的例子包括但不限于:增生性乳腺疾病,包括,例如,上皮细胞增生、硬化性腺病和小导管乳头状瘤;肿瘤,例如,诸如纤维腺瘤、叶状瘤和肉瘤的间质肿瘤,和诸如大导管乳头状瘤的上皮肿瘤;乳腺癌,包括原位(非侵袭性)癌(包括原位导管癌(包括佩吉特病)和原位小叶癌)和侵袭性(浸润性)癌(包括但不限于,浸润性导管癌、浸润性小叶癌、髓样癌、胶体(粘液)癌、小管癌和侵袭性乳头状癌);和混杂性的恶性肿瘤。男性乳房疾病包括但不限于男性乳腺发育症和癌。

[0415] 皮肤的细胞增殖性和/或分化性病症的实例包括但不限于增殖性皮肤病,如黑素瘤,包括粘膜黑素瘤、浅表扩散性黑素瘤、结节性黑素瘤、雀斑(例如,恶性雀斑样痣、恶性雀斑样黑素瘤或肢端着色斑性黑素瘤)、无黑色素黑色素瘤、结缔组织增生性黑素瘤、具有斯皮茨痣特征的黑素瘤、具有小痣样细胞的黑素瘤、息肉状黑素瘤和软组织黑素瘤;基底细胞癌,包括小结基底细胞癌、表面基底细胞癌、结节性基底细胞癌(侵蚀性溃疡)、囊性基底细胞癌、疤痕性基底细胞癌、色素性基底细胞癌、异位基底细胞癌、浸润性基底细胞癌、痣样基底细胞癌综合征、息肉状基底细胞癌、孔样基底细胞癌和平库斯纤维上皮瘤;鳞状细胞癌,包括棘皮瘤(巨细胞棘皮瘤)、腺样鳞状细胞癌、基底细胞样鳞状细胞癌、透明细胞鳞状细胞癌、印戒细胞鳞状细胞癌、梭形细胞鳞状细胞癌、马乔林溃疡、凯拉增生性红斑和Bowen病;或其它皮肤或皮下肿瘤。

[0416] 肺的细胞增殖和/或分化疾病的例子包括但不限于:支气管原癌,包括类肿瘤综合征、细支气管肺泡癌、神经内分泌肿瘤,例如,支气管类癌瘤、混杂性肿瘤和转移性肿瘤;胸膜的病状,包括炎性胸腔积液、非炎性胸腔积液、气胸和胸膜肿瘤,包括孤立性纤维瘤(胸膜纤维瘤)和恶性间皮瘤。

[0417] 结肠的细胞增殖和/或分化疾病的例子包括但不限于:非肿瘤性息肉、腺瘤、家族

性综合征、结直肠癌形成、结直肠癌和类癌瘤。

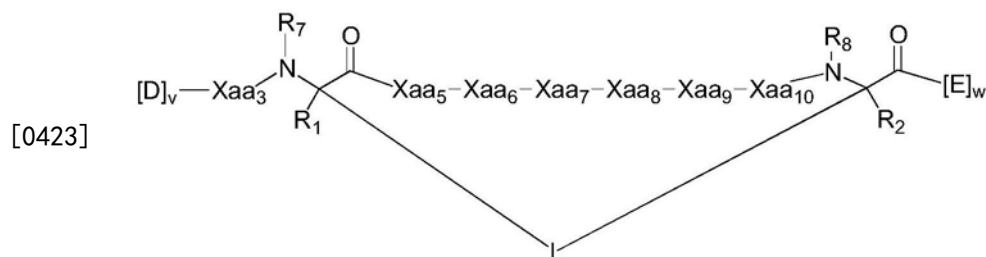
[0418] 肝的细胞增殖和/或分化疾病的例子包括但不限于：结节性增生、腺瘤和恶性肿瘤，包括原发性肝癌和转移性肿瘤。

[0419] 卵巢的细胞增殖和/或分化疾病的例子包括但不限于：卵巢肿瘤，例如，体腔上皮肿瘤、浆液性肿瘤、粘液瘤、子宫内膜样瘤、透明细胞腺癌、囊腺纤维瘤、布伦纳瘤、表面上皮肿瘤；生殖细胞瘤，例如，成熟（良性）畸胎瘤、单胚层畸胎瘤、不成熟的恶性畸胎瘤、无性细胞瘤、内胚层窦瘤、绒毛膜癌；性索-间质肿瘤 (sex cord-stromal tumors)，例如，粒层-卵泡膜细胞瘤、泡膜细胞瘤纤维瘤 (thecoma fibromas)、男性母细胞瘤、希尔细胞瘤 (hill cell tumors) 和性腺母细胞瘤；和诸如克鲁肯贝格瘤的转移性肿瘤。

[0420] 虽然本文已显示和描述了本发明的优选实施方案，但是对于本领域的技术人员显而易见的是，这些实施方案只是以举例的方式提供的。在不背离本发明的情况下，本领域技术人员将会想到许多变化、改变和替换。应当理解，在实施本发明时，可以采用本文所述的本发明的实施方案的各种替代方案。旨在用下列权利要求限定范围，并且这些权利要求范围内的方法和结构及其等效物也涵盖在本发明内。

[0421] 本发明提供了包括但不限于以下实施方案：

[0422] 1. 下式的拟肽大环化合物：



[0424] 其中：

[0425] Xaa<sub>3</sub>、Xaa<sub>5</sub>、Xaa<sub>6</sub>、Xaa<sub>7</sub>、Xaa<sub>8</sub>、Xaa<sub>9</sub>和Xaa<sub>10</sub>中的每一个单独地为氨基酸，其中Xaa<sub>3</sub>、Xaa<sub>5</sub>、Xaa<sub>6</sub>、Xaa<sub>7</sub>、Xaa<sub>8</sub>、Xaa<sub>9</sub>和Xaa<sub>10</sub>中的至少三个是与序列Phe<sub>3</sub>-X<sub>4</sub>-His<sub>5</sub>-Tyr<sub>6</sub>-Trp<sub>7</sub>-Ala<sub>8</sub>-Gln<sub>9</sub>-Leu<sub>10</sub>-X<sub>11</sub>-Ser<sub>12</sub> (SEQ ID NO:8)的相应位置处的氨基酸相同的氨基酸，其中各个X为氨基酸；

[0426] 各个D和E独立地为氨基酸；

[0427] R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>独立地为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、环烷基烷基、杂烷基或杂环烷基，它们是未取代的或被卤素-取代的；或者R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>中的至少一个形成连接至所述D或E氨基酸之一的α位置的大环形成连接体L'；

[0428] 各个L或L'独立地为式-L<sub>1</sub>-L<sub>2</sub>-的大环形成连接体；

[0429] L<sub>1</sub>和L<sub>2</sub>独立地为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚环芳基、亚杂环芳基或[-R<sub>4</sub>-K-R<sub>4</sub>-]<sub>n</sub>，它们各自任选地被R<sub>5</sub>取代；

[0430] R<sub>3</sub>为氢、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、杂烷基、环烷基、杂环烷基、环烷基烷基、环芳基或杂环芳基，它们任选地被R<sub>5</sub>取代；

[0431] 各个R<sub>4</sub>为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚芳基或亚杂芳基；

[0432] 各个K为O、S、SO、SO<sub>2</sub>、CO、CO<sub>2</sub>或CONR<sub>3</sub>；

[0433] 各个 $R_5$ 独立地为卤素、烷基、 $-OR_6$ 、 $-N(R_6)_2$ 、 $-SR_6$ 、 $-SOR_6$ 、 $-SO_2R_6$ 、 $-CO_2R_6$ 、荧光部分、放射性同位素或治疗剂；

[0434] 各个 $R_6$ 独立地为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基烷基、杂环烷基、荧光部分、放射性同位素或治疗剂；

[0435]  $R_7$ 为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、杂烷基、环烷基烷基、杂环烷基、环芳基或杂环芳基，它们任选地被 $R_5$ 取代，或是与D残基形成的环状结构的一部分；

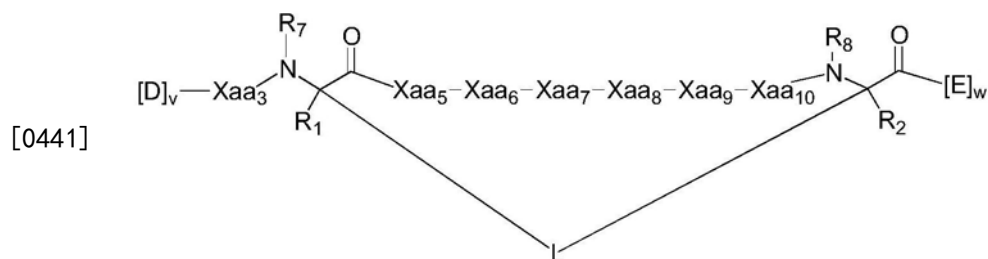
[0436]  $R_8$ 为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、杂烷基、环烷基烷基、杂环烷基、环芳基或杂环芳基，它们任选地被 $R_5$ 取代，或是与E残基形成的环状结构的一部分；

[0437]  $v$ 为1-1000的整数，例如1-500、1-200、1-100、1-50、1-30、1-20或1-10；

[0438]  $w$ 为3-1000的整数，例如3-500、3-200、3-100、3-50、3-30、3-20或3-10；且

[0439]  $n$ 为1-5的整数。

[0440] 2. 下式的拟肽大环化合物：



[0442] 其中：

[0443]  $Xaa_3$ 、 $Xaa_5$ 、 $Xaa_6$ 、 $Xaa_7$ 、 $Xaa_8$ 、 $Xaa_9$ 和 $Xaa_{10}$ 中的每一个单独地为氨基酸，其中 $Xaa_3$ 、 $Xaa_5$ 、 $Xaa_6$ 、 $Xaa_7$ 、 $Xaa_8$ 、 $Xaa_9$ 和 $Xaa_{10}$ 中的至少三个是与序列Phe<sub>3</sub>-X<sub>4</sub>-Glu<sub>5</sub>-Tyr<sub>6</sub>-Trp<sub>7</sub>-Ala<sub>8</sub>-Gln<sub>9</sub>-Leu<sub>10</sub>/Cba<sub>10</sub>-X<sub>11</sub>-Ala<sub>12</sub> (SEQ ID NO:9)的相应位置处的氨基酸相同的氨基酸，其中各个X为氨基酸；

[0444] 各个D和E独立地为氨基酸；

[0445]  $R_1$ 和 $R_2$ 独立地为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、环烷基烷基、杂烷基或杂环烷基，它们是未取代的或被卤素-取代的；或者 $R_1$ 和 $R_2$ 中的至少一个形成连接至所述D或E氨基酸之一的 $\alpha$ 位置的大环形成连接体 $L'$ ；

[0446] 各个L或 $L'$ 独立地为式 $-L_1-L_2-$ 的大环形成连接体；

[0447]  $L_1$ 和 $L_2$ 独立地为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚环芳基、亚杂环芳基或 $[-R_4-K-R_4-]_n$ ，它们各自任选地被 $R_5$ 取代；

[0448]  $R_3$ 为氢、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、杂烷基、环烷基、杂环烷基、环烷基烷基、环芳基或杂环芳基，它们任选地被 $R_5$ 取代；

[0449] 各个 $R_4$ 为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚芳基或亚杂芳基；

[0450] 各个K为O、S、SO、SO<sub>2</sub>、CO、CO<sub>2</sub>或CONR<sub>3</sub>；

[0451] 各个 $R_5$ 独立地为卤素、烷基、 $-OR_6$ 、 $-N(R_6)_2$ 、 $-SR_6$ 、 $-SOR_6$ 、 $-SO_2R_6$ 、 $-CO_2R_6$ 、荧光部分、放射性同位素或治疗剂；

[0452] 各个 $R_6$ 独立地为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基烷基、杂环烷基、荧光部分、放射性同位素或治疗剂；

[0453]  $R_7$ 为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、杂烷基、环烷基烷基、杂环烷基、环芳基或杂环芳基,它们任选地被 $R_5$ 取代,或是与D残基形成的环状结构的一部分;

[0454]  $R_8$ 为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、杂烷基、环烷基烷基、杂环烷基、环芳基或杂环芳基,它们任选地被 $R_5$ 取代,或是与E残基形成的环状结构的一部分;

[0455]  $v$ 为1-1000的整数,例如1-500、1-200、1-100、1-50、1-30、1-20或1-10;

[0456]  $w$ 为3-1000的整数,例如3-500、3-200、3-100、3-50、3-30、3-20或3-10;且

[0457]  $n$ 为1-5的整数。

[0458] 3.如实施方案1或2所述的拟肽大环化合物,其中该拟肽大环化合物相对于其中 $w$ 为0、1或2的对应拟肽大环化合物具有改善的对MDM2或MDMX的结合亲和力。

[0459] 4.如实施方案1或2所述的拟肽大环化合物,其中该拟肽大环化合物相对于其中 $w$ 为0、1或2的对应拟肽大环化合物具有降低的MDMX结合亲和力与MDM2结合亲和力之比。

[0460] 5.如实施方案1或2所述的拟肽大环化合物,其中该拟肽大环化合物相对于其中 $w$ 为0、1或2的对应拟肽大环化合物具有改善的针对p53阳性肿瘤细胞系的体外抗肿瘤效力。

[0461] 6.如实施方案1或2所述的拟肽大环化合物,其中该拟肽大环化合物相对于其中 $w$ 为0、1或2的对应拟肽大环化合物在p53阳性肿瘤细胞系中显示出改善的体外凋亡诱导。

[0462] 7.如实施方案1或2所述的拟肽大环化合物,其中该拟肽大环化合物相对于其中 $w$ 为0、1或2的对应拟肽大环化合物具有改善的针对p53阳性肿瘤细胞系与针对p53阴性或突变肿瘤细胞系的体外抗肿瘤效力比。

[0463] 8.如实施方案1或2所述的拟肽大环化合物,其中该拟肽大环化合物相对于其中 $w$ 为0、1或2的对应拟肽大环化合物具有改善的针对p53阳性肿瘤的体内抗肿瘤效力。

[0464] 9.如实施方案1或2所述的拟肽大环化合物,其中该拟肽大环化合物相对于其中 $w$ 为0、1或2的对应拟肽大环化合物在p53阳性肿瘤中具有改善的体内凋亡诱导。

[0465] 10.如实施方案1或2所述的拟肽大环化合物,其中该拟肽大环化合物相对于其中 $w$ 为0、1或2的对应拟肽大环化合物具有改善的细胞透性。

[0466] 11.如实施方案1或2所述的拟肽大环化合物,其中该拟肽大环化合物相对于其中 $w$ 为0、1或2的对应拟肽大环化合物具有改善的溶解度。

[0467] 12.如实施方案1-11中任一项所述的拟肽大环化合物,其中 $Xaa_5$ 为Glu或其氨基酸类似物。

[0468] 13.如实施方案12所述的拟肽大环化合物,其中 $Xaa_5$ 为Glu或其氨基酸类似物,并且其中该拟肽大环化合物相对于其中 $Xaa_5$ 为Ala的对应拟肽大环化合物具有改善的性质,如改善的结合亲和力、改善的溶解度、改善的细胞效力、改善的螺旋度、改善的细胞透性、改善的体内或体外抗肿瘤效力,或改善的凋亡诱导。

[0469] 14.如实施方案1或2所述的拟肽大环化合物,其中各个E独立地为选自Ala(丙氨酸)、D-Ala(D-丙氨酸)、Aib( $\alpha$ -氨基异丁酸)、Sar(N-甲基甘氨酸)和Ser(丝氨酸)的氨基酸。

[0470] 15.如实施方案1或2所述的拟肽大环化合物,其中 $[D]_v$ 为-Leu<sub>1</sub>-Thr<sub>2</sub>。

[0471] 16.如前述实施方案中任一项所述的拟肽大环化合物,其中 $w$ 为3-10。

[0472] 17.如实施方案16所述的拟肽大环化合物,其中 $w$ 为3-6。

[0473] 18.如实施方案16所述的拟肽大环化合物,其中 $w$ 为6-10。

[0474] 19.如实施方案16所述的拟肽大环化合物,其中 $w$ 为6。

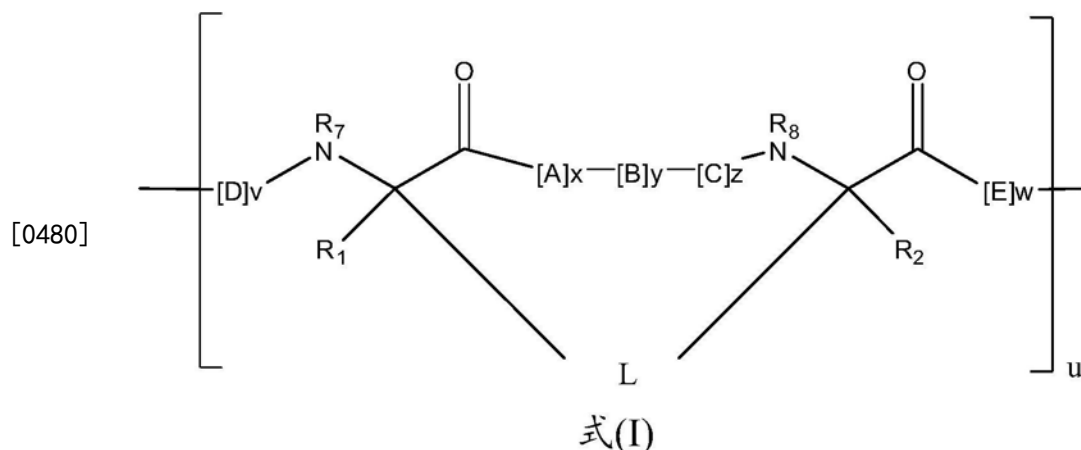
[0475] 20. 如前述实施方案中任一项所述的拟肽大环化合物, 其中v为1-10。

[0476] 21. 如实施方案20所述的拟肽大环化合物, 其中v为2-10。

[0477] 22. 如实施方案20所述的拟肽大环化合物, 其中v为2-5。

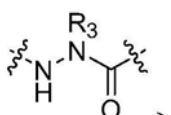
[0478] 23. 如实施方案20所述的拟肽大环化合物, 其中v为2。

[0479] 24. 一种拟肽大环化合物, 其包含与选自表1、表1a、表1b或表1c中的氨基酸序列的氨基酸序列至少约60%相同的氨基酸序列, 其中该拟肽大环化合物具有下式:



[0481] 其中:

[0482] 各个A、C、D和E独立地为氨基酸;

[0483] B为氨基酸、、 $[-NH-L_3-CO-]$ 、 $[-NH-L_3-SO_2-]$ 或 $[-NH-L_3-]$ ;

[0484]  $R_1$ 和 $R_2$ 独立地为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、环烷基烷基、杂烷基或杂环烷基, 它们是未取代的或被卤素-取代的; 或者 $R_1$ 和 $R_2$ 中的至少一个形成连接至所述D或E氨基酸之一的 $\alpha$ 位置的大环形成连接体 $L'$ ;

[0485]  $R_3$ 为氢、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、杂烷基、环烷基、杂环烷基、环烷基烷基、环芳基或杂环芳基, 它们任选地被 $R_5$ 取代;

[0486] 各个L或 $L'$ 独立地为式 $-L_1-L_2-$ 的大环形成连接体;

[0487]  $L_1$ 和 $L_2$ 和 $L_3$ 独立地为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚环芳基、亚杂环芳基或 $[-R_4-K-R_4-]_n$ , 它们各自任选地被 $R_5$ 取代;

[0488] 各个 $R_4$ 为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚芳基或亚杂芳基;

[0489] 各个K为O、S、SO、SO<sub>2</sub>、CO、CO<sub>2</sub>或CONR<sub>3</sub>;

[0490] 各个 $R_5$ 独立地为卤素、烷基、-OR<sub>6</sub>、-N(R<sub>6</sub>)<sub>2</sub>、-SR<sub>6</sub>、-SOR<sub>6</sub>、-SO<sub>2</sub>R<sub>6</sub>、-CO<sub>2</sub>R<sub>6</sub>、荧光部分、放射性同位素或治疗剂;

[0491] 各个 $R_6$ 独立地为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基烷基、杂环烷基、荧光部分、放射性同位素或治疗剂;

[0492]  $R_7$ 为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、杂烷基、环烷基烷基、杂环烷基、环芳基或杂环芳基, 它们任选地被 $R_5$ 取代, 或是与D残基形成的环状结构的一部分;

[0493]  $R_8$ 为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、杂烷基、环烷基烷基、杂环烷基、环芳



基或杂环芳基,它们任选地被 $R_5$ 取代,或是与E残基形成的环状结构的一部分;

[0494] v和w独立地为1-1000的整数,例如1-500、1-200、1-100、1-50、1-30、1-20或1-10;

[0495] u为1-10的整数,例如1-5、1-3或1-2;

[0496] x、y和z独立地为0-10的整数,例如x+y+z之和为2、3或6;

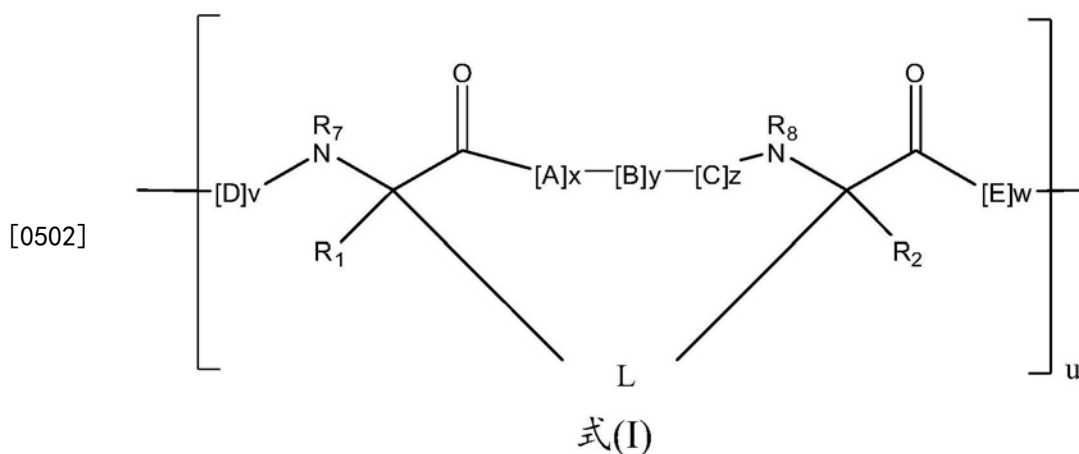
[0497] n为1-5的整数;并且

[0498] 其中该拟肽大环化合物不是表2a或2b的拟肽大环化合物。

[0499] 25.如实施方案24所述的拟肽大环化合物,其中各个E独立地为选自Ala(丙氨酸)、D-Ala(D-丙氨酸)、Aib( $\alpha$ -氨基异丁酸)、Sar(N-甲基甘氨酸)和Ser(丝氨酸)的氨基酸。

[0500] 26.如实施方案24所述的拟肽大环化合物,其中 $[D]_v$ 为-Leu<sub>1</sub>-Thr<sub>2</sub>。

[0501] 27.一种拟肽大环化合物,其包含与选自表1、表1a、表1b或表1c中的氨基酸序列的氨基酸序列至少约60%相同的氨基酸序列,其中该拟肽大环化合物具有下式:



[0503] 其中:

[0504] 各个A、C、D和E独立地为氨基酸;

[0505] B为氨基酸、 $\begin{matrix} R_3 \\ | \\ \text{---} \text{N} \text{---} \\ | \\ \text{H} \end{matrix}$ 、 $[-\text{NH}-\text{L}_3-\text{CO}-]$ 、 $[-\text{NH}-\text{L}_3-\text{SO}_2-]$ 或 $[-\text{NH}-\text{L}_3-]$ ;

[0506]  $R_1$ 和 $R_2$ 独立地为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、环烷基烷基、杂烷基或杂环烷基,它们是未取代的或被卤素-取代的;或者 $R_1$ 和 $R_2$ 中的至少一个形成连接至所述D或E氨基酸之一的 $\alpha$ 位置的大环形成连接体 $L'$ ;

[0507]  $R_3$ 为氢、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、杂烷基、环烷基、杂环烷基、环烷基烷基、环芳基或杂环芳基,它们任选地被 $R_5$ 取代;

[0508] 各个L或 $L'$ 独立地为式 $-\text{L}_1-\text{L}_2-$ 的大环形成连接体;

[0509]  $L_1$ 和 $L_2$ 和 $L_3$ 独立地为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚环芳基、亚杂环芳基或 $[-\text{R}_4-\text{K}-\text{R}_4-]_n$ ,它们各自任选地被 $R_5$ 取代;

[0510] 各个 $R_4$ 为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚芳基或亚杂芳基;

[0511] 各个K为O、S、SO、SO<sub>2</sub>、CO、CO<sub>2</sub>或CONR<sub>3</sub>;

[0512] 各个 $R_5$ 独立地为卤素、烷基、-OR<sub>6</sub>、-N(R<sub>6</sub>)<sub>2</sub>、-SR<sub>6</sub>、-SOR<sub>6</sub>、-SO<sub>2</sub>R<sub>6</sub>、-CO<sub>2</sub>R<sub>6</sub>、荧光部分、放射性同位素或治疗剂;

[0513] 各个 $R_6$ 独立地为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基烷基、杂环烷基、荧光部分、放射性同位素或治疗剂；

[0514]  $R_7$ 为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、杂烷基、环烷基烷基、杂环烷基、环芳基或杂环芳基，它们任选地被 $R_5$ 取代，或是与D残基形成的环状结构的一部分；

[0515]  $R_8$ 为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、杂烷基、环烷基烷基、杂环烷基、环芳基或杂环芳基，它们任选地被 $R_5$ 取代，或是与E残基形成的环状结构的一部分；

[0516]  $v$ 和 $w$ 独立地为1-1000的整数，例如1-500、1-200、1-100、1-50、1-30、1-20或1-10；

[0517]  $u$ 为1-10的整数，例如1-5、1-3或1-2；

[0518]  $x$ 、 $y$ 和 $z$ 独立地为0-10的整数，例如 $x+y+z$ 之和为6；

[0519]  $n$ 为1-5的整数；

[0520] 其中 $w>2$ 并且由E表示的前两个氨基酸中的每一个包含不带电荷的侧链或带负电荷的侧链，

[0521] 条件是该拟肽大环化合物不是表2a的拟肽大环化合物并且不具有以下序列：

[0522] Ac-RTQATF\$ $r_8$ NQWAibANle\$TNAibTR-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:1)，

[0523] Ac-\$ $r_8$ SQQTFS\$ $LW$ LLAibQN-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:3)，

[0524] Ac-QSQ\$ $r_8$ TFSNLW\$LLAibQN-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:4)，

[0525] Ac-QS\$ $r_5$ QTFStNLW\$LLAibQN-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:5)，或

[0526] Ac-QSQQ\$ $r_8$ FSNLWR\$LAibQN-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:6)，

[0527] 其中Aib表示2-氨基异丁酸，\$表示通过包含一个双键的全碳交联体连接的 $\alpha$ -Me S5-戊烯基-丙氨酸烯炔氨基酸，\$ $r_5$ 表示通过包含一个双键的全碳交联体连接的 $\alpha$ -Me R5-戊烯基-丙氨酸烯炔氨基酸，且\$ $r_8$ 表示通过包含一个双键的全碳交联体连接的 $\alpha$ -Me R88-辛烯基-丙氨酸烯炔氨基酸。

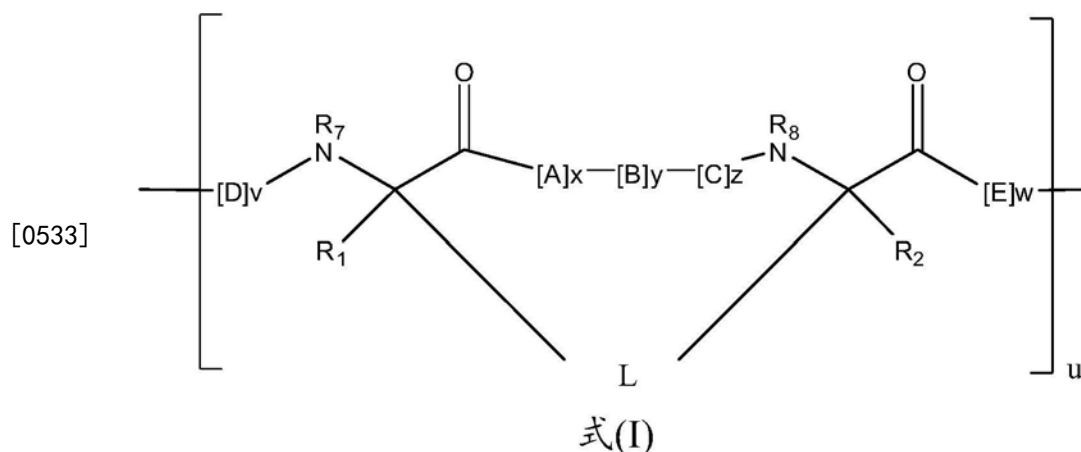
[0528] 28.如实施方案27所述的拟肽大环化合物，其中各个E独立地为选自Ala(丙氨酸)、D-Ala(D-丙氨酸)、Aib( $\alpha$ -氨基异丁酸)、Sar(N-甲基甘氨酸)和Ser(丝氨酸)的氨基酸。

[0529] 29.如实施方案27所述的拟肽大环化合物，其中 $[D]_v$ 为-Leu<sub>1</sub>-Thr<sub>2</sub>。

[0530] 30.如实施方案27所述的拟肽大环化合物，其中由E表示的第一C-末端氨基酸和/或第二C-末端氨基酸包含疏水性侧链。

[0531] 31.如实施方案30所述的拟肽大环化合物，其中所述疏水性链为大的疏水性侧链。

[0532] 32.一种拟肽大环化合物，其包含与选自表1、表1a、表1b或表1c中的氨基酸序列的氨基酸序列至少约60%相同的氨基酸序列，其中该拟肽大环化合物具有下式：



[0534] 其中：

[0535] 各个A、C、D和E独立地为氨基酸；

[0536] B为氨基酸、 $\begin{matrix} R_3 \\ | \\ \text{N} \\ | \\ \text{H} \end{matrix}$ 、 $\begin{matrix} \text{O} \\ || \\ \text{C} \end{matrix}$ 、 $[-\text{NH}-\text{L}_3-\text{CO}-]$ 、 $[-\text{NH}-\text{L}_3-\text{SO}_2-]$ 或 $[-\text{NH}-\text{L}_3-]$ ；

[0537]  $R_1$ 和 $R_2$ 独立地为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、环烷基烷基、杂烷基或杂环烷基，它们是未取代的或被卤素-取代的；或者 $R_1$ 和 $R_2$ 中的至少一个形成连接至所述D或E氨基酸之一的 $\alpha$ 位置的大环形成连接体 $L'$ ；

[0538]  $R_3$ 为氢、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、杂烷基、环烷基、杂环烷基、环烷基烷基、环芳基或杂环芳基，它们任选地被 $R_5$ 取代；

[0539] 各个L或 $L'$ 独立地为式 $-\text{L}_1-\text{L}_2-$ 的大环形成连接体；

[0540]  $\text{L}_1$ 和 $\text{L}_2$ 和 $\text{L}_3$ 独立地为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚环芳基、亚杂环芳基或 $[-\text{R}_4-\text{K}-\text{R}_4-]_n$ ，它们各自任选地被 $R_5$ 取代；

[0541] 各个 $R_4$ 为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚芳基或亚杂芳基；

[0542] 各个K为O、S、SO、SO<sub>2</sub>、CO、CO<sub>2</sub>或CONR<sub>3</sub>；

[0543] 各个 $R_5$ 独立地为卤素、烷基、-OR<sub>6</sub>、-N(R<sub>6</sub>)<sub>2</sub>、-SR<sub>6</sub>、-SOR<sub>6</sub>、-SO<sub>2</sub>R<sub>6</sub>、-CO<sub>2</sub>R<sub>6</sub>、荧光部分、放射性同位素或治疗剂；

[0544] 各个 $R_6$ 独立地为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基烷基、杂环烷基、荧光部分、放射性同位素或治疗剂；

[0545]  $R_7$ 为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、杂烷基、环烷基烷基、杂环烷基、环芳基或杂环芳基，它们任选地被 $R_5$ 取代，或是与D残基形成的环状结构的一部分；

[0546]  $R_8$ 为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、杂烷基、环烷基烷基、杂环烷基、环芳基或杂环芳基，它们任选地被 $R_5$ 取代，或是与E残基形成的环状结构的一部分；

[0547] v和w独立地为1-1000的整数，例如1-500、1-200、1-100、1-50、1-30、1-20或1-10；

[0548] u为1-10的整数，例如1-5、1-3或1-2；

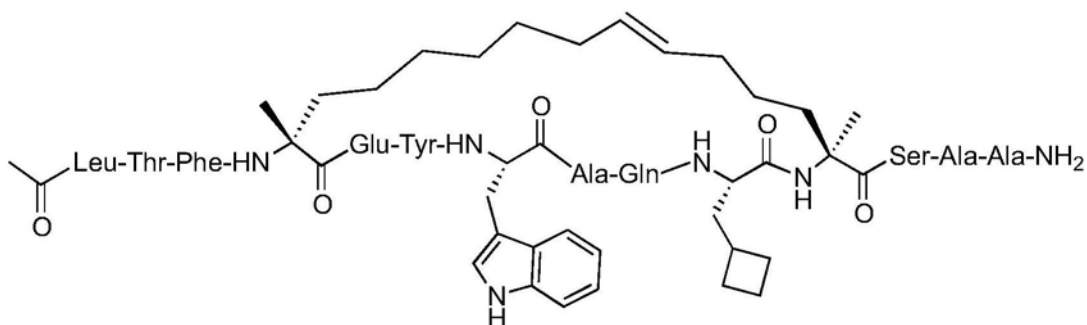
[0549] x、y和z独立地为0-10的整数，例如x+y+z之和为6；

[0550] n为1-5的整数；并且

[0551] w>2，其中由E表示的第三氨基酸中的每一个包含大的疏水性侧链，

- [0552] 条件是该拟肽大环化合物不是表2a的拟肽大环化合物并且不具有以下序列：
- [0553]  $\text{Ac-Q\$r8QQTF\$N\$WRLLAibQN-NH}_2$  (SEQ ID NO:7)。
- [0554] 33. 如实施方案32所述的拟肽大环化合物, 其中除由E表示的第三氨基酸之外的各个E为选自Ala (丙氨酸)、D-Ala (D-丙氨酸)、Aib ( $\alpha$ -氨基异丁酸)、Sar (N-甲基甘氨酸) 和Ser (丝氨酸) 的氨基酸。
- [0555] 34. 如实施方案32所述的拟肽大环化合物, 其中 $[\text{D}]_v$ 为-Leu<sub>1</sub>-Thr<sub>2</sub>。
- [0556] 35. 如实施方案32-34中任一项所述的拟肽大环化合物, 其中由E表示的前两个氨基酸中的每一个包含不带电荷的侧链或带负电荷的侧链。
- [0557] 36. 如实施方案32-34中任一项所述的拟肽大环化合物, 其中由E表示的第三氨基酸为选自异亮氨酸(I)、亮氨酸(L)、甲硫氨酸(M)、苯丙氨酸(F)、色氨酸(W) 和酪氨酸(Y) 的氨基酸。
- [0558] 37. 如实施方案1至36中任一项所述的拟肽大环化合物, 其中L<sub>1</sub>和L<sub>2</sub>独立地为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚环芳基或亚杂环芳基, 它们各自任选地被R<sub>5</sub>取代。
- [0559] 38. 如实施方案1至36中任一项所述的拟肽大环化合物, 其中L<sub>1</sub>和L<sub>2</sub>独立地为亚烷基或亚烯基。
- [0560] 39. 如实施方案1至36中任一项所述的拟肽大环化合物, 其中L为亚烷基、亚烯基或亚炔基。
- [0561] 40. 如实施方案39所述的拟肽大环化合物, 其中L为亚烷基。
- [0562] 41. 如实施方案40所述的拟肽大环化合物, 其中L为C<sub>3</sub>-C<sub>16</sub>亚烷基。
- [0563] 42. 如实施方案41所述的拟肽大环化合物, 其中L为C<sub>10</sub>-C<sub>14</sub>亚烷基。
- [0564] 43. 如任一前述实施方案所述的拟肽大环化合物, 其中R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>独立地为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、环烷基烷基、杂烷基或杂环烷基, 它们是未取代的或被卤素-取代。
- [0565] 44. 如任一前述实施方案所述的拟肽大环化合物, 其中R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>为H。
- [0566] 45. 如任一前述实施方案所述的拟肽大环化合物, 其中R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>独立地为烷基。
- [0567] 46. 如实施方案45所述的拟肽大环化合物, 其中R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>为甲基。
- [0568] 47. 如任一前述实施方案所述的拟肽大环化合物, 其中 $x+y+z=6$ 。
- [0569] 48. 如任一前述实施方案所述的拟肽大环化合物, 其中u为1。
- [0570] 49. 如任一前述实施方案所述的拟肽大环化合物, 其中该拟肽大环化合物不是表2a或表2b的拟肽大环化合物。
- [0571] 50. 如任一前述实施方案所述的拟肽大环化合物, 其中各个E为Ser或Ala或其类似物。
- [0572] 51. 如任一前述实施方案所述的拟肽大环化合物, 其包含至少一种为氨基酸类似物的氨基酸。
- [0573] 52. 下式的拟肽大环化合物：

[0574]

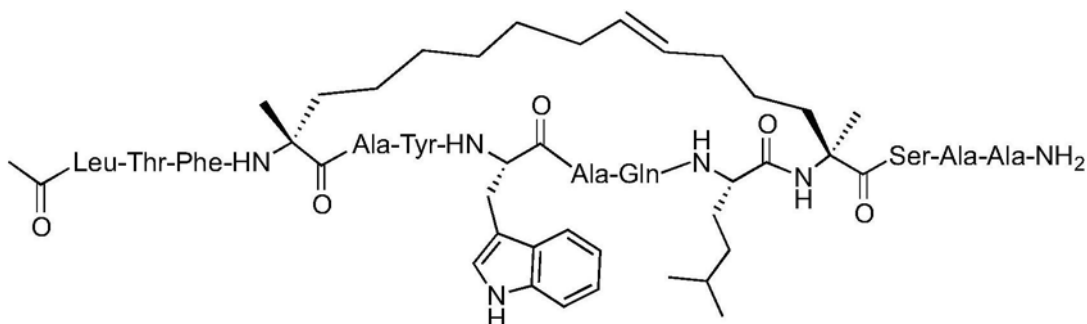


[0575] (SEQ ID NO:163)

[0576] 或其药学上可接受的盐。

[0577] 53. 下式的拟肽大环化合物：

[0578]

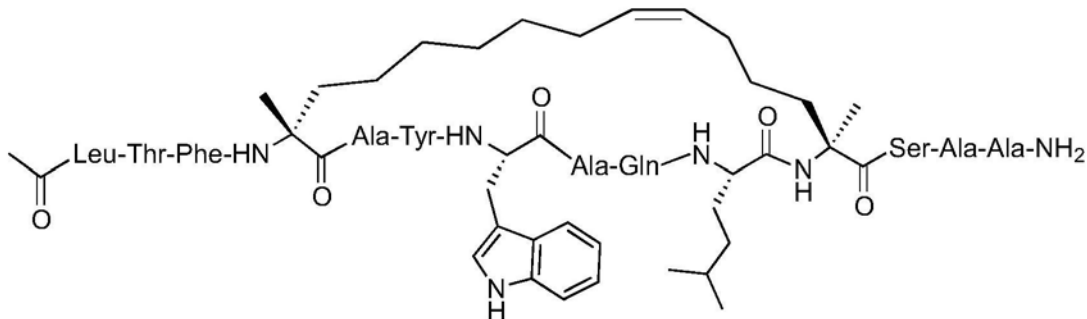


[0579] (SEQ ID NO:124)

[0580] 或其药学上可接受的盐。

[0581] 54. 下式的拟肽大环化合物：

[0582]

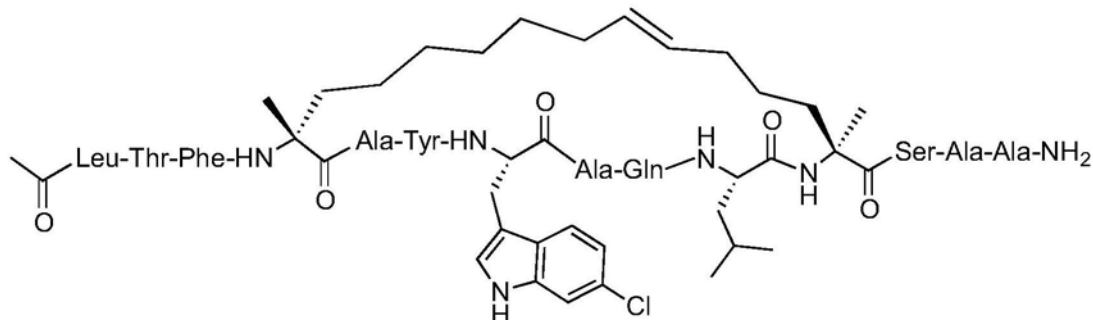


[0583] (SEQ ID NO:123)

[0584] 或其药学上可接受的盐。

[0585] 55. 下式的拟肽大环化合物：

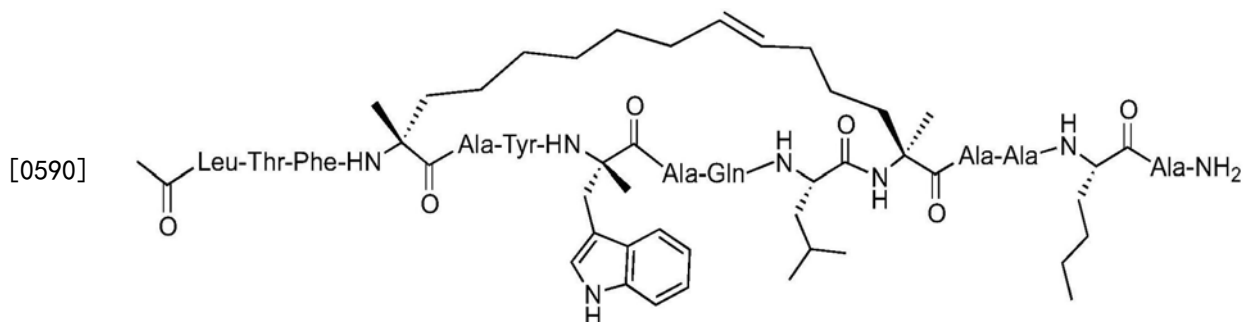
[0586]



[0587] (SEQ ID NO:108)

[0588] 或其药学上可接受的盐。

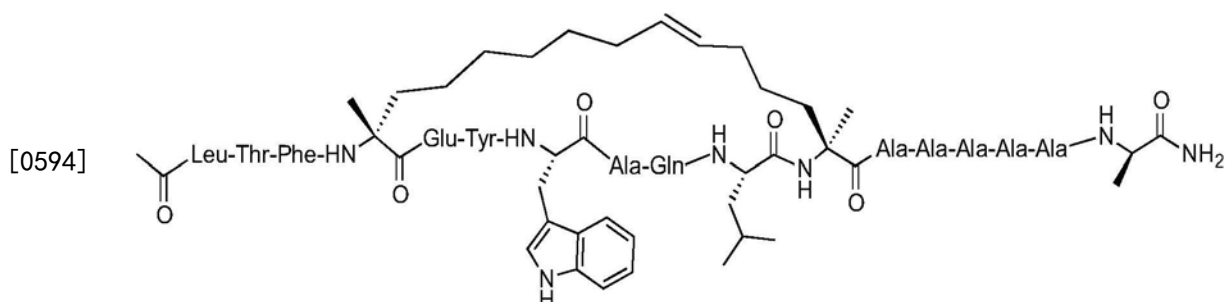
[0589] 56. 下式的拟肽大环化合物:



[0591] (SEQ ID NO:397)

[0592] 或其药学上可接受的盐。

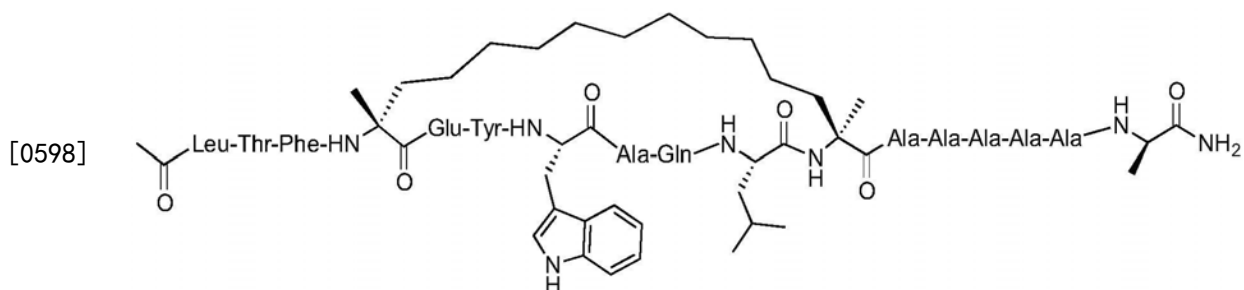
[0593] 57. 下式的拟肽大环化合物:



[0595] (SEQ ID NO:340)

[0596] 或其药学上可接受的盐。

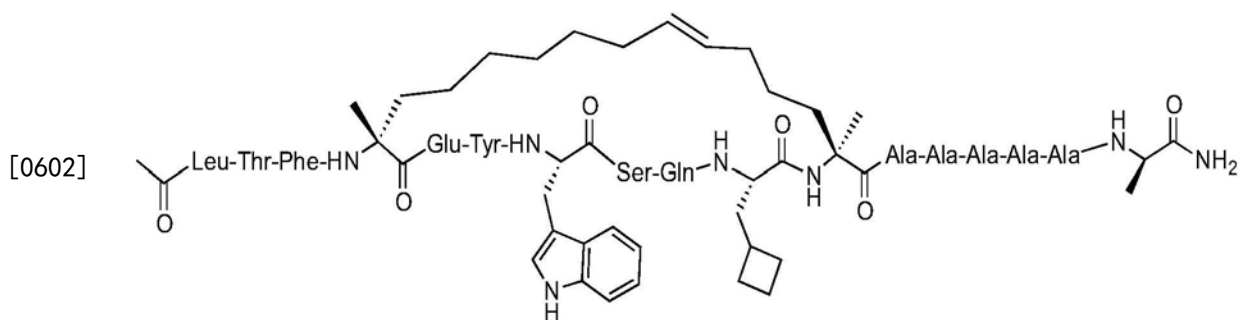
[0597] 58. 下式的拟肽大环化合物:



[0599] (SEQ ID NO:454)

[0600] 或其药学上可接受的盐。

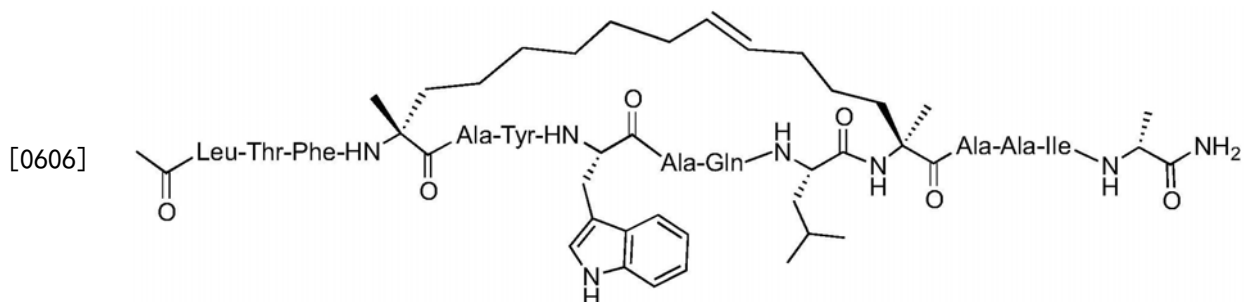
[0601] 59. 下式的拟肽大环化合物:



[0603] (SEQ ID NO:360)

[0604] 或其药学上可接受的盐。

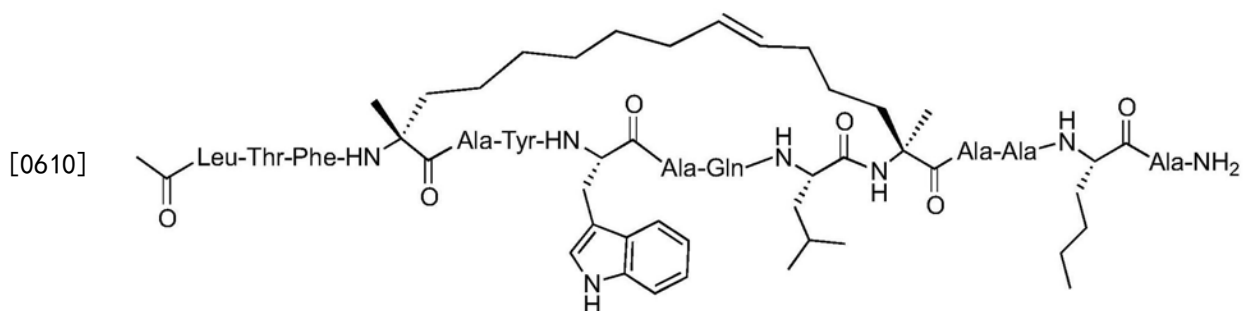
[0605] 60. 下式的拟肽大环化合物:



[0607] (SEQ ID NO:80)

[0608] 或其药学上可接受的盐。

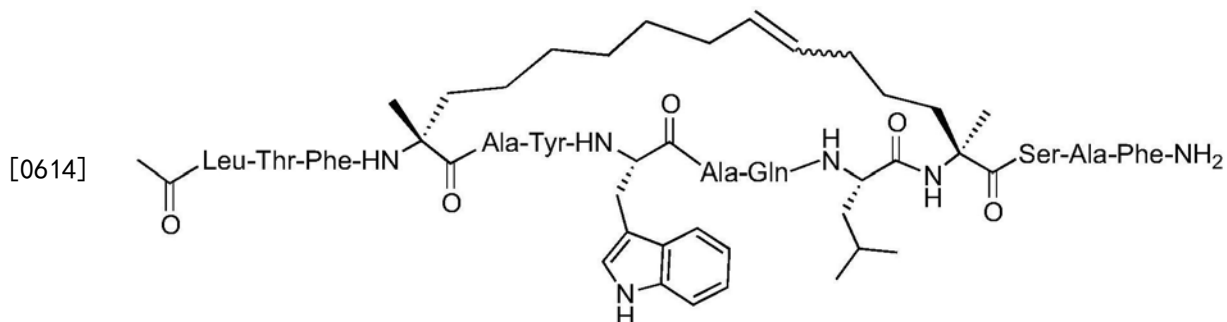
[0609] 61. 下式的拟肽大环化合物:



[0611] (SEQ ID NO:78)

[0612] 或其药学上可接受的盐。

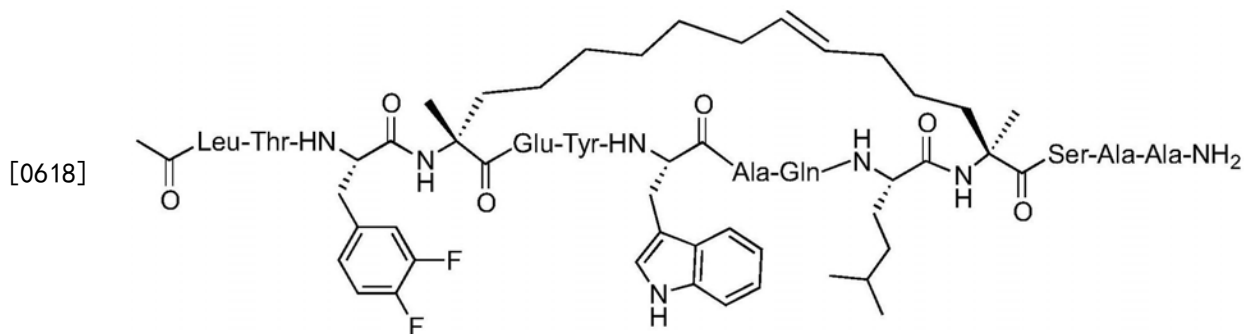
[0613] 62. 下式的拟肽大环化合物:



[0615] (SEQ ID NO:16)

[0616] 或其药学上可接受的盐。

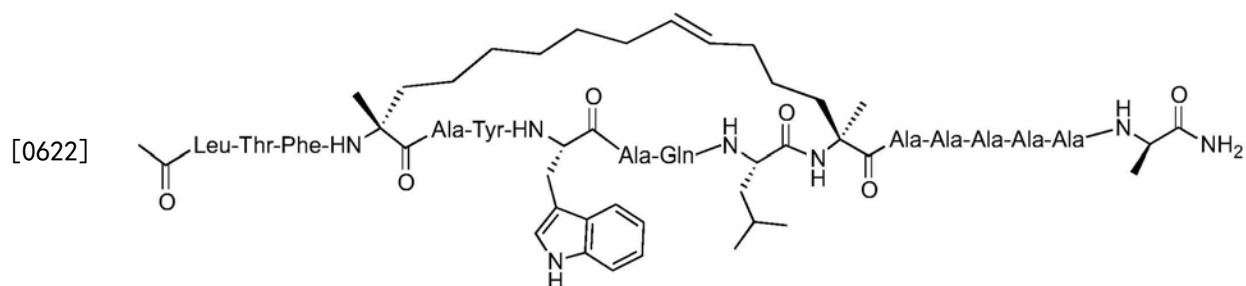
[0617] 63. 下式的拟肽大环化合物:



[0619] (SEQ ID NO:169)

[0620] 或其药学上可接受的盐。

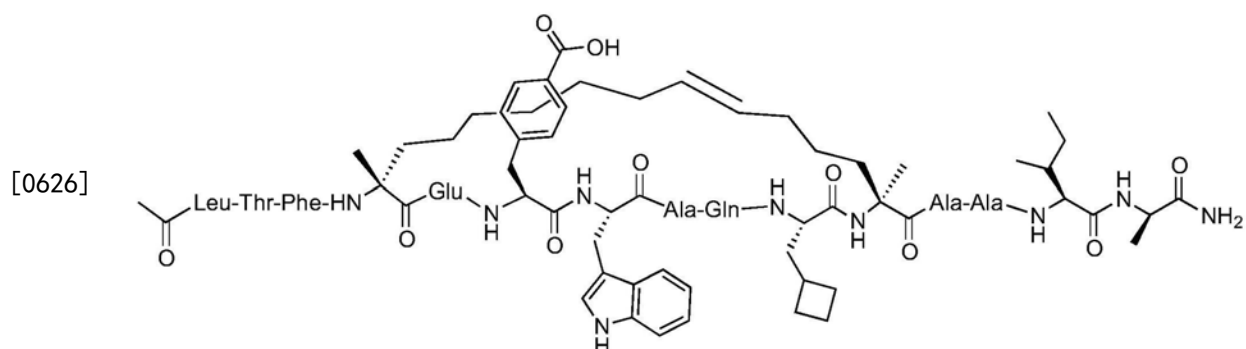
[0621] 64. 下式的拟肽大环化合物：



[0623] (SEQ ID NO:324)

[0624] 或其药学上可接受的盐。

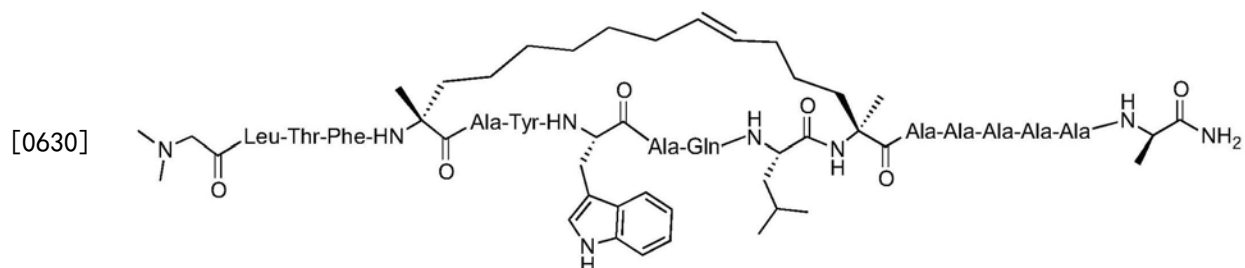
[0625] 65. 下式的拟肽大环化合物：



[0627] (SEQ ID NO:258)

[0628] 或其药学上可接受的盐。

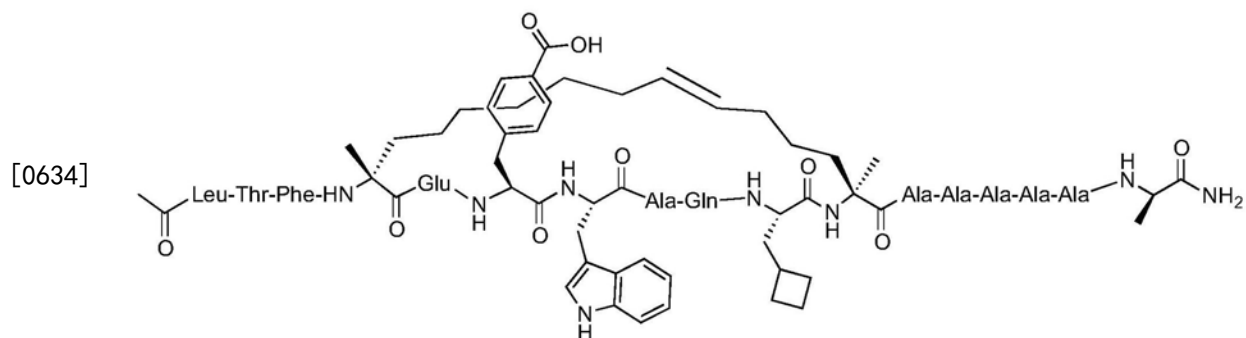
[0629] 66. 下式的拟肽大环化合物：



[0631] (SEQ ID NO:446)

[0632] 或其药学上可接受的盐。

[0633] 67. 下式的拟肽大环化合物：

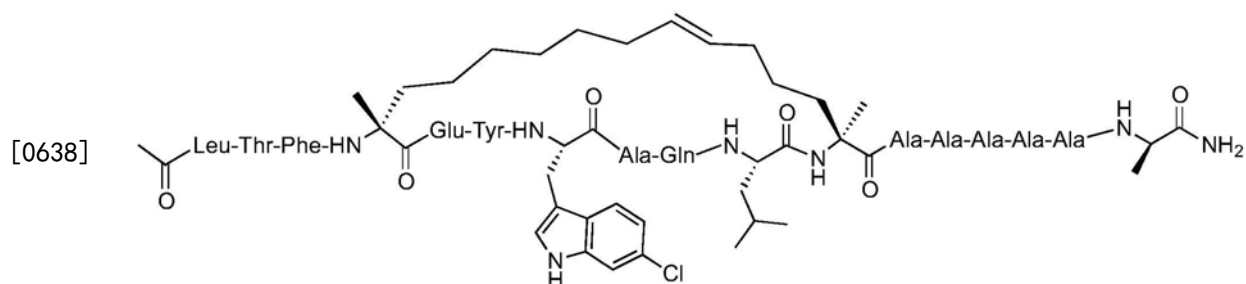


[0635] (SEQ ID NO:358)



[0636] 或其药学上可接受的盐。

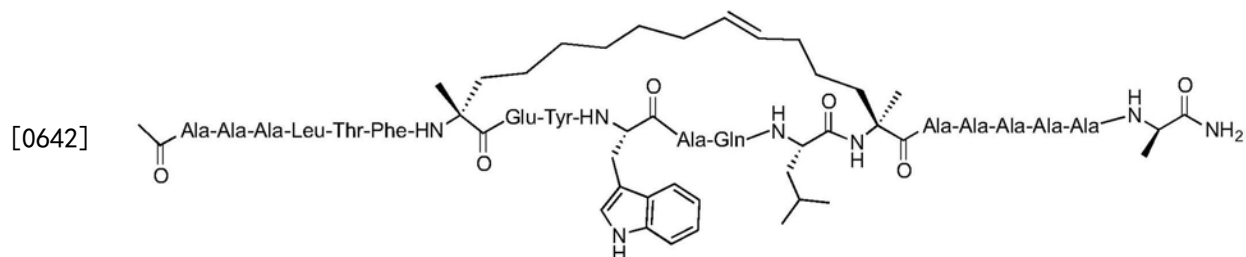
[0637] 68. 下式的拟肽大环化合物：



[0639] (SEQ ID NO:464)

[0640] 或其药学上可接受的盐。

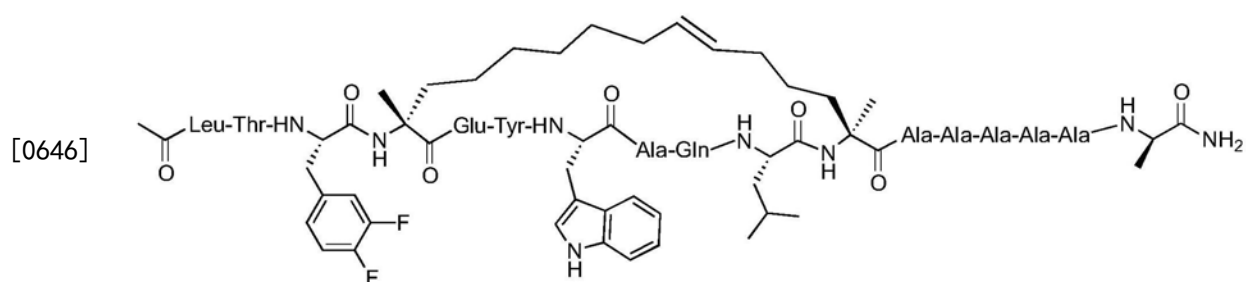
[0641] 69. 下式的拟肽大环化合物：



[0643] (SEQ ID NO:466)

[0644] 或其药学上可接受的盐。

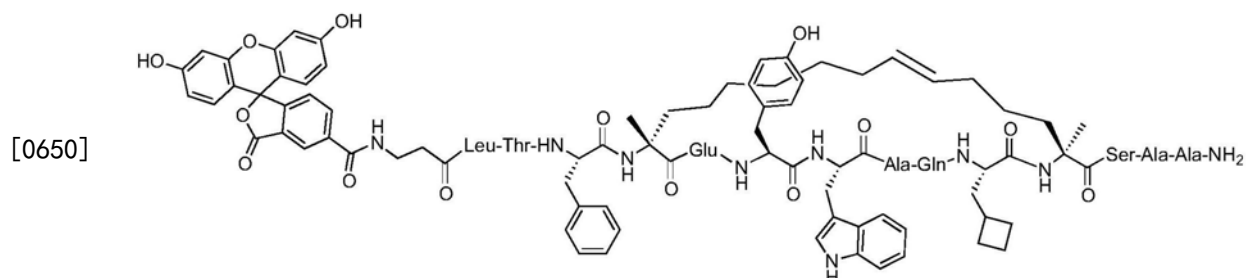
[0645] 70. 下式的拟肽大环化合物：



[0647] (SEQ ID NO:467)

[0648] 或其药学上可接受的盐。

[0649] 71. 下式的拟肽大环化合物：

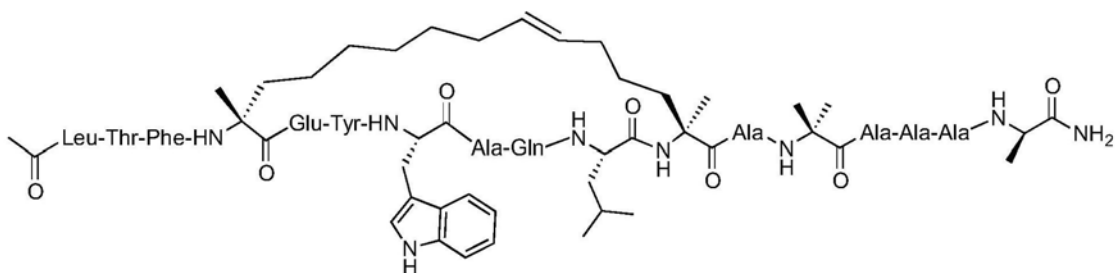


[0651] (SEQ ID NO:376)

[0652] 或其药学上可接受的盐。

[0653] 72. 下式的拟肽大环化合物：

[0654]

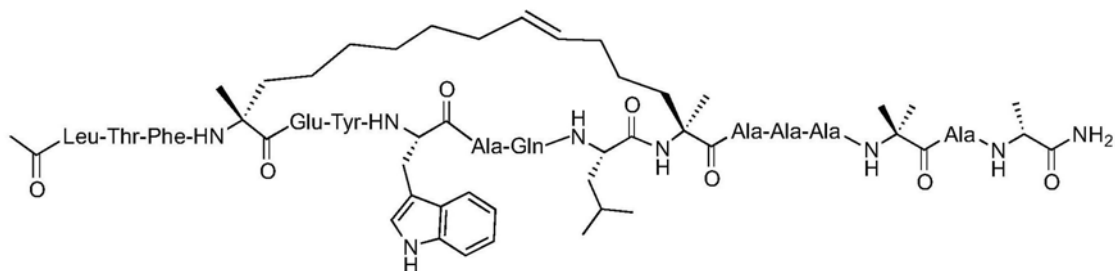


[0655] (SEQ ID NO:471)

[0656] 或其药学上可接受的盐。

[0657] 73. 下式的拟肽大环化合物：

[0658]

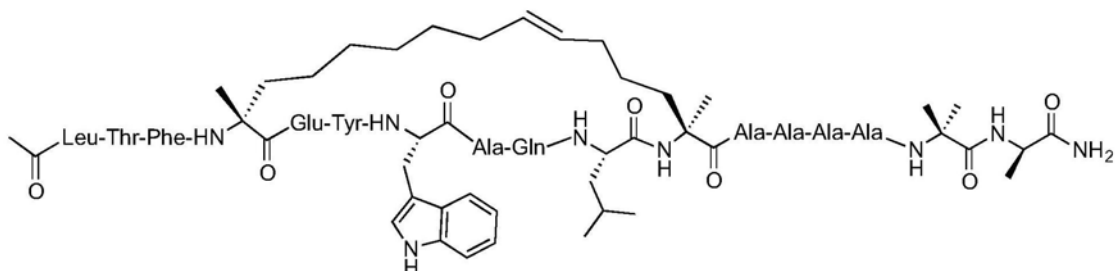


[0659] (SEQ ID NO:473)

[0660] 或其药学上可接受的盐。

[0661] 74. 下式的拟肽大环化合物：

[0662]

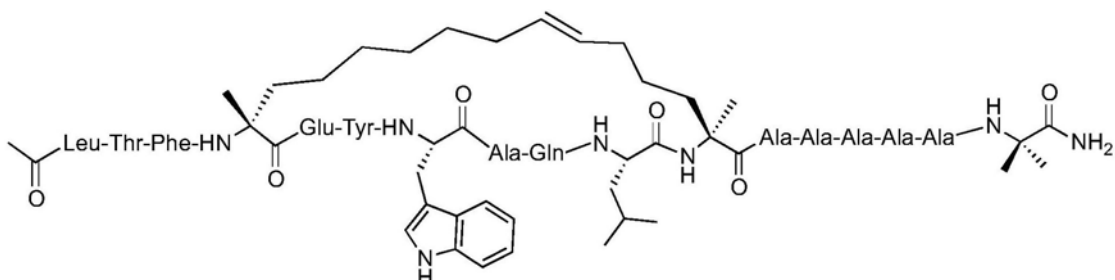


[0663] (SEQ ID NO:475)

[0664] 或其药学上可接受的盐。

[0665] 75. 下式的拟肽大环化合物：

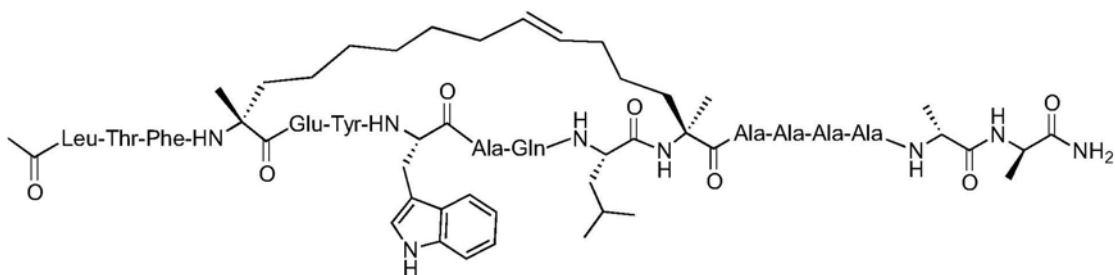
[0666]



[0667] (SEQ ID NO:476)

[0668] 或其药学上可接受的盐。

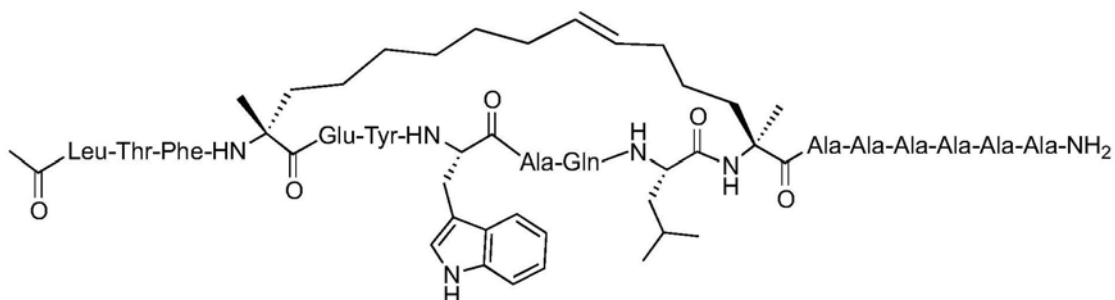
[0669] 76. 下式的拟肽大环化合物：



[0671] (SEQ ID NO:481)

[0672] 或其药学上可接受的盐。

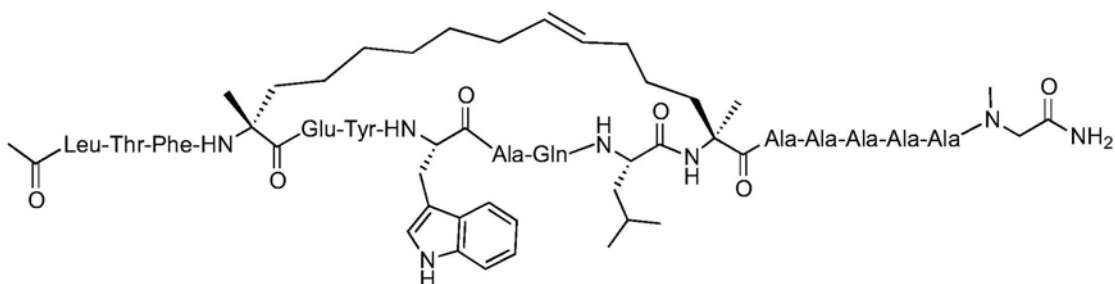
[0673] 77. 下式的拟肽大环化合物:



[0675] (SEQ ID NO:482)

[0676] 或其药学上可接受的盐。

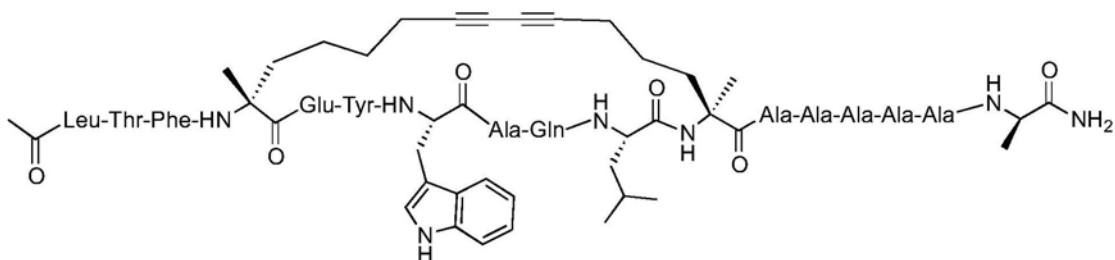
[0677] 78. 下式的拟肽大环化合物:



[0679] (SEQ ID NO:487)

[0680] 或其药学上可接受的盐。

[0681] 79. 下式的拟肽大环化合物:

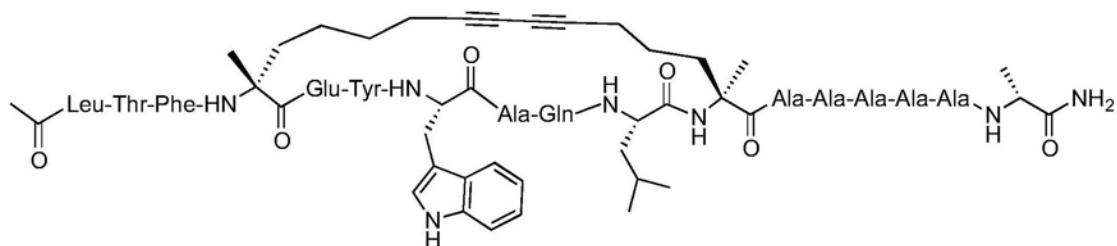


[0683] (SEQ ID NO:572)

[0684] 或其药学上可接受的盐。

[0685] 80. 下式的拟肽大环化合物:

[0686]

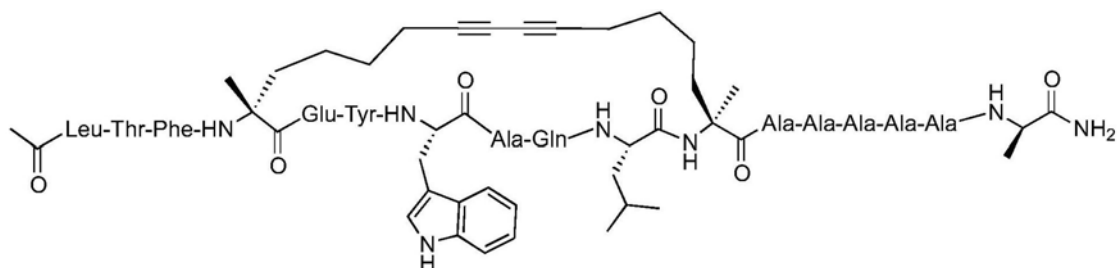


[0687] (SEQ ID NO:572)

[0688] 或其药学上可接受的盐。

[0689] 81. 下式的拟肽大环化合物：

[0690]



[0691] (SEQ ID NO:1500)

[0692] 或其药学上可接受的盐。

[0693] 82. 一种治疗受试者的癌症的方法，其包括向该受试者施用如任一前述实施方案所述的拟肽大环化合物。

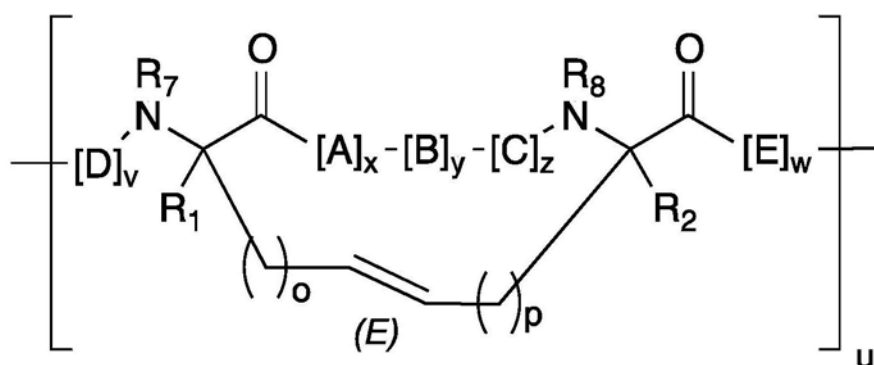
[0694] 83. 如实施方案84所述的方法，其中所述癌症选自头颈癌、黑素瘤、肺癌、乳腺癌和神经胶质瘤。

[0695] 84. 一种调节受试者中的p53和/或MDM2和/或MDMX活性的方法，其包括向该受试者施用如任一前述实施方案所述的拟肽大环化合物。

[0696] 85. 一种拮抗受试者中的p53与MDM2之间和/或p53与MDMX蛋白之间的相互作用的方法，其包括向该受试者施用如任一前述实施方案所述的拟肽大环化合物。

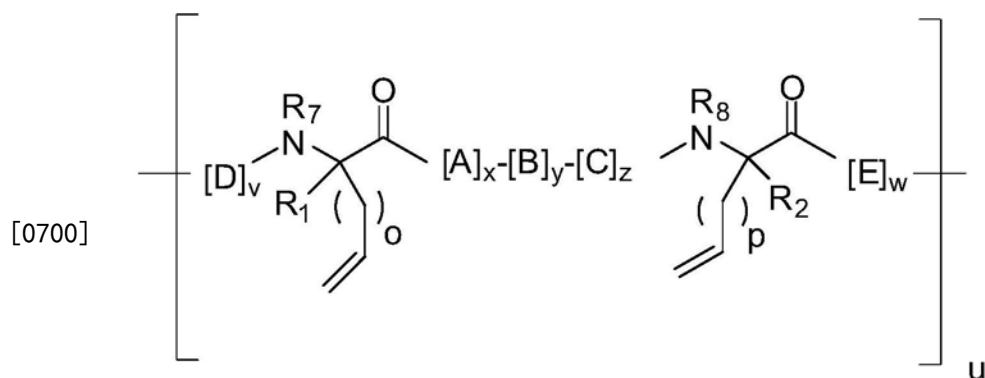
[0697] 86. 一种制备包含式(I)的拟肽大环化合物的组合物的方法：

[0698]



式(I)

[0699] 该拟肽大环化合物包含与选自表1、表1a、表1b或表1c中的氨基酸序列的氨基酸序列约60%至约100%相同的氨基酸序列，该方法包括用催化剂处理式(II)的化合物：



式(II)

[0701] 以产生式I的化合物

[0702] 其中,在式(I)和(II)的化合物中

[0703] 各个A、C、D和E独立地为氨基酸;

[0704] 各个B独立地为氨基酸、 $\begin{array}{c} \text{R}_3 \\ | \\ \text{H}-\text{N}-\text{N}-\text{C}(=\text{O}) \\ | \\ \text{O} \end{array}$ 、 $[-\text{NH}-\text{L}_3-\text{CO}-]$ 、 $[-\text{NH}-\text{L}_3-\text{SO}_2-]$ 或 $[-\text{NH}-\text{L}_3-]$ ;

[0705] 各个R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>独立地为氢、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、环烷基烷基、杂烷基或杂环烷基,它们是未取代的或被卤素取代的;或者R<sub>1</sub>和R<sub>2</sub>中的至少一个形成连接至所述D或E氨基酸之一的α位置的大环形成连接体L' ;

[0706] 各个R<sub>3</sub>独立地为氢、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、杂烷基、环烷基、杂环烷基、环烷基烷基、环芳基或杂环芳基,它们任选地被R<sub>5</sub>取代;

[0707] 各个L' 独立地为式-L<sub>1</sub>-L<sub>2</sub>-的大环形成连接体;

[0708] 各个L<sub>1</sub>、L<sub>2</sub>和L<sub>3</sub>独立地为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚环芳基、亚杂环芳基或 $[-\text{R}_4-\text{K}-\text{R}_4-]_n$ ,它们各自任选地被R<sub>5</sub>取代;

[0709] 各个R<sub>4</sub>和R<sub>4</sub>'独立地为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚芳基或亚杂芳基;

[0710] 各个K独立地为O、S、SO、SO<sub>2</sub>、CO、CO<sub>2</sub>或CONR<sub>3</sub>;

[0711] 各个R<sub>5</sub>独立地为卤素、烷基、-OR<sub>6</sub>、-N(R<sub>6</sub>)<sub>2</sub>、-SR<sub>6</sub>、-SOR<sub>6</sub>、-SO<sub>2</sub>R<sub>6</sub>、-CO<sub>2</sub>R<sub>6</sub>、荧光部分、放射性同位素或治疗剂;

[0712] 各个R<sub>6</sub>独立地为氢、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基烷基、杂环烷基、荧光部分、放射性同位素或治疗剂;

[0713] 各个R<sub>7</sub>独立地为氢、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、杂烷基、环烷基烷基、杂环烷基、环芳基或杂环芳基,它们任选地被R<sub>5</sub>取代,或是与D残基形成的环状结构的一部分;

[0714] 各个R<sub>8</sub>独立地为氢、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、杂烷基、环烷基烷基、杂环烷基、环芳基或杂环芳基,它们任选地被R<sub>5</sub>取代,或是与E残基形成的环状结构的一部分;

[0715] 各个v和w独立地为1-1000的整数;

[0716] u为1-10的整数;

[0717] 各个x、y和z独立地为0-10的整数;

[0718] 各个n独立地为1-5的整数;

[0719] 各个o独立地为1-15的整数;

[0720] 各个p独立地为1-15的整数；

[0721] “(E)”表示反式双键；且

[0722] 式(I)和(II)化合物中存在的氨基酸A、C和/或当B为氨基酸时的B中的一个或多个具有携带保护基团的侧链。

[0723] 87.如实施方案86所述的方法，其中所述保护基团为氮原子保护基团。

[0724] 88.如实施方案86-87中任一项所述的方法，其中所述保护基团为Boc基团。

[0725] 89.如实施方案87-88中任一项所述的方法，其中所述携带保护基团的氨基酸的侧链包含受保护的吡啶。

[0726] 90.如实施方案89所述的方法，其中所述在其侧链上携带所述保护基团的氨基酸为在其吡啶氮上被保护基团所保护的色氨酸(W)。

[0727] 91.如实施方案90所述的方法，其中所述在其侧链上携带所述保护基团的氨基酸为在其吡啶氮上被Boc基团所保护的色氨酸(W)。

[0728] 92.如实施方案86-91中任一项所述的方法，其中在式II的化合物与催化剂接触的步骤后，以等于或高于为Z异构体的对应化合物的量获得式(I)的化合物。

[0729] 93.如实施方案92所述的方法，其中在式II的化合物与催化剂接触的步骤后，以2、3、4、5、6、7、8、9或10倍于为Z异构体的对应化合物的量获得式(I)的化合物。

[0730] 94.如实施方案86-93中任一项所述的方法，其中所述催化剂为钨催化剂。

[0731] 95.如实施方案86-94中任一项所述的方法，进一步包括用还原剂或氧化剂处理式(I)的化合物的步骤。

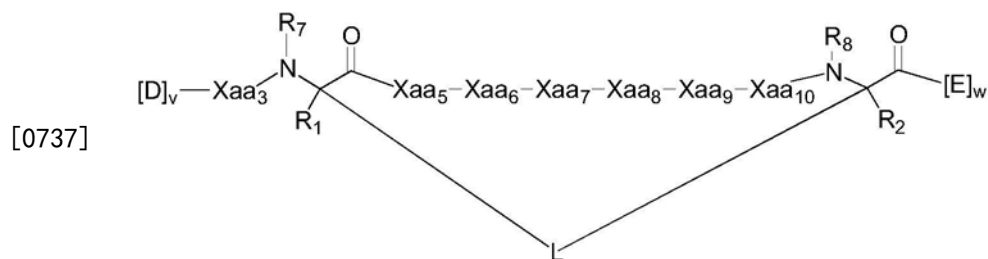
[0732] 96.如实施方案86-95中任一项所述的方法，其中所述式(II)的化合物附着到固体载体上。

[0733] 97.如实施方案86-95中任一项所述的方法，其中所述式(II)的化合物不附着到固体载体上。

[0734] 98.如实施方案86-97中任一项所述的方法，进一步包括从所述式(I)的化合物上除去保护基团。

[0735] 99.如实施方案86-98中任一项所述的方法，其中在约20℃至约80℃的温度下进行闭环复分解反应。

[0736] 100.如实施方案86-100中任一项所述的方法，其中所述式(I)的拟肽大环化合物具有下式：



[0738] 其中：

[0739] Xaa<sub>3</sub>、Xaa<sub>5</sub>、Xaa<sub>6</sub>、Xaa<sub>7</sub>、Xaa<sub>8</sub>、Xaa<sub>9</sub>和Xaa<sub>10</sub>中的每一个单独地为氨基酸，其中Xaa<sub>3</sub>、Xaa<sub>5</sub>、Xaa<sub>6</sub>、Xaa<sub>8</sub>、Xaa<sub>9</sub>和Xaa<sub>10</sub>中的至少两个是与序列Phe<sub>3</sub>-X<sub>4</sub>-His<sub>5</sub>-Tyr<sub>6</sub>-Trp<sub>7</sub>-Ala<sub>8</sub>-Gln<sub>9</sub>-Leu<sub>10</sub>-X<sub>11</sub>-Ser<sub>12</sub>(SEQ ID NO:8)的相应位置处的氨基酸相同的氨基酸，其中各个X为氨基酸；

[0740] 各个D和E独立地为氨基酸；

[0741]  $R_1$ 和 $R_2$ 独立地为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、环烷基烷基、杂烷基或杂环烷基，它们是未取代的或被卤素-取代的；或者 $R_1$ 和 $R_2$ 中的至少一个形成连接至所述D或E氨基酸之一的 $\alpha$ 位置的大环形成连接体 $L'$ ；

[0742] 各个L或 $L'$ 独立地为式 $-L_1-L_2-$ 的大环形成连接体，其中L在E构型中包含至少一个双键；

[0743]  $L_1$ 和 $L_2$ 独立地为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚环芳基、亚杂环芳基或 $[-R_4-K-R_4-]_n$ ，它们各自任选地被 $R_5$ 取代；

[0744]  $R_3$ 为氢、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、杂烷基、环烷基、杂环烷基、环烷基烷基、环芳基或杂环芳基，它们任选地被 $R_5$ 取代；

[0745] 各个 $R_4$ 为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚芳基或亚杂芳基；

[0746] 各个K为O、S、SO、SO<sub>2</sub>、CO、CO<sub>2</sub>或CONR<sub>3</sub>；

[0747] 各个 $R_5$ 独立地为卤素、烷基、-OR<sub>6</sub>、-N(R<sub>6</sub>)<sub>2</sub>、-SR<sub>6</sub>、-SOR<sub>6</sub>、-SO<sub>2</sub>R<sub>6</sub>、-CO<sub>2</sub>R<sub>6</sub>、荧光部分、放射性同位素或治疗剂；

[0748] 各个 $R_6$ 独立地为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基烷基、杂环烷基、荧光部分、放射性同位素或治疗剂；

[0749]  $R_7$ 为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、杂烷基、环烷基烷基、杂环烷基、环芳基或杂环芳基，它们任选地被 $R_5$ 取代，或是与D残基形成的环状结构的一部分；

[0750]  $R_8$ 为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、杂烷基、环烷基烷基、杂环烷基、环芳基或杂环芳基，它们任选地被 $R_5$ 取代，或是与E残基形成的环状结构的一部分；

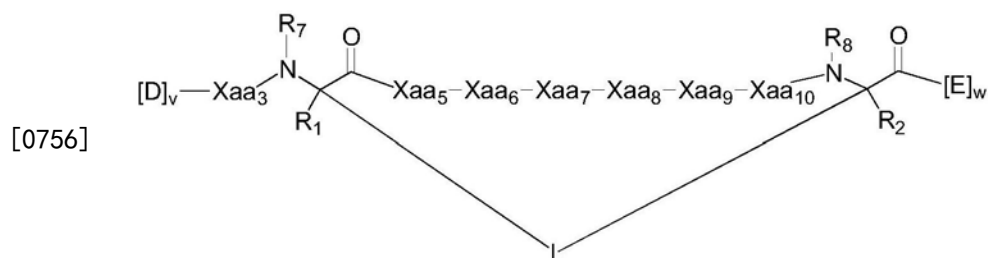
[0751] v为1-1000的整数；

[0752] w为3-1000的整数；

[0753] n为1-5的整数；且

[0754] Xaa<sub>7</sub>为Boc-保护的色氨酸。

[0755] 101. 如实施方案86-99中任一项所述的方法，其中所述式(I)的拟肽大环化合物具有下式：



[0757] 其中：

[0758] Xaa<sub>3</sub>、Xaa<sub>5</sub>、Xaa<sub>6</sub>、Xaa<sub>7</sub>、Xaa<sub>8</sub>、Xaa<sub>9</sub>和Xaa<sub>10</sub>中的每一个单独地为氨基酸，其中Xaa<sub>3</sub>、Xaa<sub>5</sub>、Xaa<sub>6</sub>、Xaa<sub>8</sub>、Xaa<sub>9</sub>和Xaa<sub>10</sub>中的至少两个是与序列Phe<sub>3</sub>-X<sub>4</sub>-Glu<sub>5</sub>-Tyr<sub>6</sub>-Trp<sub>7</sub>-Ala<sub>8</sub>-Gln<sub>9</sub>-Leu<sub>10</sub>/Cba<sub>10</sub>-X<sub>11</sub>-Ala<sub>12</sub> (SEQ ID NO:9)的相应位置处的氨基酸相同的氨基酸，其中各个X为氨基酸；

[0759] 各个D和E独立地为氨基酸；

[0760]  $R_1$ 和 $R_2$ 独立地为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、环烷基烷基、杂烷基或杂环烷基,它们是未取代的或被卤素-取代的;或者 $R_1$ 和 $R_2$ 中的至少一个形成连接至所述D或E氨基酸之一的 $\alpha$ 位置的大环形成连接体 $L'$ ;

[0761] 各个 $L$ 或 $L'$ 独立地为式 $-L_1-L_2-$ 的大环形成连接体,其中 $L$ 在E构型中包含至少一个双键;

[0762]  $L_1$ 和 $L_2$ 独立地为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚环芳基、亚杂环芳基或 $[-R_4-K-R_4-]_n$ ,它们各自任选地被 $R_5$ 取代;

[0763]  $R_3$ 为氢、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、杂烷基、环烷基、杂环烷基、环烷基烷基、环芳基或杂环芳基,它们任选地被 $R_5$ 取代;

[0764] 各个 $R_4$ 为亚烷基、亚烯基、亚炔基、亚杂烷基、亚环烷基、亚杂环烷基、亚芳基或亚杂芳基;

[0765] 各个 $K$ 为O、S、SO、SO<sub>2</sub>、CO、CO<sub>2</sub>或CONR<sub>3</sub>;

[0766] 各个 $R_5$ 独立地为卤素、烷基、-OR<sub>6</sub>、-N(R<sub>6</sub>)<sub>2</sub>、-SR<sub>6</sub>、-SOR<sub>6</sub>、-SO<sub>2</sub>R<sub>6</sub>、-CO<sub>2</sub>R<sub>6</sub>、荧光部分、放射性同位素或治疗剂;

[0767] 各个 $R_6$ 独立地为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基烷基、杂环烷基、荧光部分、放射性同位素或治疗剂;

[0768]  $R_7$ 为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、杂烷基、环烷基烷基、杂环烷基、环芳基或杂环芳基,它们任选地被 $R_5$ 取代,或是与D残基形成的环状结构的一部分;

[0769]  $R_8$ 为-H、烷基、烯基、炔基、芳基烷基、环烷基、杂烷基、环烷基烷基、杂环烷基、环芳基或杂环芳基,它们任选地被 $R_5$ 取代,或是与E残基形成的环状结构的一部分;

[0770]  $v$ 为1-1000的整数;

[0771]  $w$ 为3-1000的整数;

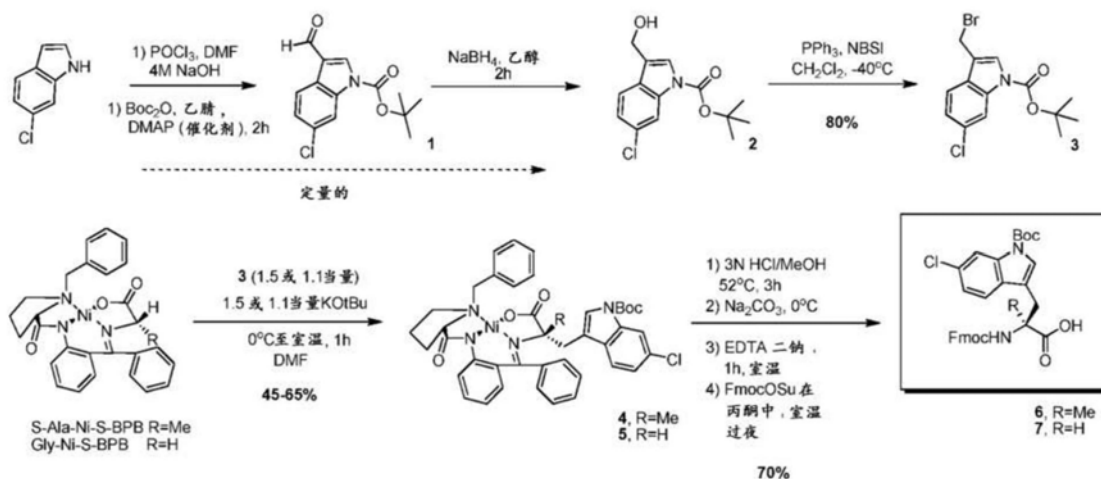
[0772]  $n$ 为1-5的整数;且

[0773] Xaa<sub>7</sub>为Boc-保护的色氨酸。

[0774] 102.如实施方案86-101中任一项所述的方法,其中所述式(I)的拟肽大环化合物包含 $\alpha$ -螺旋。

## 实施例

### [0775] 实施例1:6-氯色氨酸Fmoc氨基酸的合成





[0777] 6-氯-3-甲酰基-1H-吡啶-1-甲酸叔丁酯, 1。在氩气下于0℃向搅拌中的干DMF (12mL) 的溶液中逐滴加入POCl<sub>3</sub> (3.92mL, 43mmol, 1.3当量)。在同一温度下搅拌该溶液20分钟, 然后逐滴加入6-氯吡啶 (5.0g, 33mmol, 1当量) 的干DMF (30mL) 溶液。使所得到的混合物升温至室温, 并再搅拌2.5h。加水 (50mL), 并用4M NaOH水溶液 (pH~8) 中和该溶液。滤出所得到的固体, 用水洗涤, 并在真空下干燥。这种材料无需额外的纯化而直接用于下一步骤。在N<sub>2</sub>下于室温向搅拌中的粗甲酰吡啶 (33mmol, 1当量) 的THF (150mL) 溶液中相继添加Boc<sub>2</sub>O (7.91g, 36.3mmol, 1.1当量) 和DMAP (0.4g, 3.3mmol, 0.1当量)。在室温下搅拌所得到的混合物1.5h, 减压蒸发溶剂。将残留物用EtOAc吸收, 并用1N HCl洗涤, 干燥并浓缩, 从而得到白色固体甲酰吡啶1 (经2步, 9g, 98%)。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 1.70 (s, Boc, 9H); 7.35 (dd, 1H); 8.21 (m, 3H); 10.07 (s, 1H)。

[0778] 6-氯-3-(羟甲基)-1H-吡啶-1-甲酸叔丁酯, 2。向化合物1 (8.86g, 32mmol, 1当量) 的乙醇 (150mL) 溶液中加入NaBH<sub>4</sub> (2.4g, 63mmol, 2当量)。在室温下搅拌反应液3h。浓缩反应混合物, 并将残留物倒入乙醚和水中。分离有机层, 用硫酸镁干燥并浓缩, 从而得到白色固体 (8.7g, 98%)。这种材料无需额外的纯化而直接用于下一步骤。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 1.65 (s, Boc, 9H); 4.80 (s, 2H, CH<sub>2</sub>); 7.21 (dd, 1H); 7.53 (m, 2H); 8.16 (bs, 1H)。

[0779] 3-(溴甲基)-6-氯-1H-吡啶-1-甲酸叔丁酯, 3。于-40℃向氩气下的化合物2 (4.1g, 14.6mmol, 1当量) 的二氯甲烷 (50mL) 溶液中加入三苯基膦 (4.59g, 17.5mmol, 1.2当量) 的二氯甲烷 (50mL) 溶液。在40℃下再搅拌反应溶液30分钟。然后加入NBS (3.38g, 19mmol, 1.3当量)。使所得到的混合物升温至室温并搅拌过夜。蒸发二氯甲烷, 加入四氯化碳 (100mL), 搅拌混合物1h并过滤。将滤液浓缩, 将其装入二氧化硅柱塞, 并用25% EtOAc的己烷溶液快速洗脱。浓缩溶液, 得到白色泡沫 (3.84g, 77%)。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 1.66 (s, Boc, 9H); 4.63 (s, 2H, CH<sub>2</sub>); 7.28 (dd, 1H); 7.57 (d, 1H); 7.64 (bs, 1H); 8.18 (bs, 1H)。

[0780] αMe-6Cl-Trp (Boc)-Ni-S-BPB, 4。在氩气下向S-Ala-Ni-S-BPB (2.66g, 5.2mmol, 1当量) 和KO-tBu (0.87g, 7.8mmol, 1.5当量) 中加入50mL DMF。通过注射器加入溴化物衍生物化合物3 (2.68g, 7.8mmol, 1.5当量) 在DMF (5.0mL) 中的溶液。在环境温度下搅拌反应混合物1h。然后用5%的醋酸水溶液猝灭溶液, 并用水稀释。在二氯甲烷中萃取所需产物, 干燥并浓缩。在使用EtOAc和己烷作为洗脱液的正相上通过快速色谱法 (固体加载) 纯化油状产物4, 得到红色固体 (1.78g, 45%产率)。αMe-6Cl-Trp (Boc)-Ni-S-BPB, 4: M+H计算775.21, M+H观测775.26; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 1.23 (s, 3H, αMe); 1.56 (m, 11H, Boc+CH<sub>2</sub>); 1.82-2.20 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>); 3.03 (m, 1H, CH<sub>α</sub>); 3.24 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 3.57和4.29 (AB系统, 2H, CH<sub>2</sub> (苯甲基), J=12.8Hz); 6.62 (d, 2H); 6.98 (d, 1H); 7.14 (m, 2H); 7.23 (m, 1H); 7.32-7.36 (m, 5H); 7.50 (m, 2H); 7.67 (bs, 1H); 7.98 (d, 2H); 8.27 (m, 2H)。

[0781] Fmoc-αMe-6Cl-Trp (Boc)-OH, 6。向50℃的3N HCl/MeOH (1/3, 15mL) 溶液中逐滴加入化合物4 (1.75g, 2.3mmol, 1当量) 的MeOH (5mL) 溶液。原始材料在3-4h内消失。然后用冰浴使酸性溶液冷却至0℃, 并用Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1.21g, 11.5mmol, 5当量) 水溶液将其猝灭。除去甲醇, 并向悬浮液中添加另外8当量的Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1.95g, 18.4mmol)。然后添加清除镍的EDTA二钠盐二水合物 (1.68g, 4.5mmol, 2当量), 并搅拌该悬浮液2h。添加Fmoc-OSu (0.84g, 2.5mmol, 1.1当量) 的丙酮 (50mL) 溶液并搅拌该反应液过夜。之后, 用乙醚和1N HCl稀释该反应液。然后用硫酸镁干燥有机层, 并在真空中浓缩。在正相上使用丙酮和二氯甲烷作为洗脱液纯化所需

产物6,得到白色泡沫(0.9g,70%产率)。Fmoc- $\alpha$ Me-6Cl-Trp(Boc)-OH,6:M+H计算575.19,M+H观测575.37;<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>) 1.59(s,9H,Boc);1.68(s,3H,Me);3.48(bs,2H,CH<sub>2</sub>);4.22(m,1H,CH);4.39(bs,2H,CH<sub>2</sub>);5.47(s,1H,NH);7.10(m,1H);7.18(m,2H);7.27(m,2H);7.39(m,2H);7.50(m,2H);7.75(d,2H);8.12(bs,1H)。

[0782] 6Cl-Trp(Boc)-Ni-S-BPB,5。在氩气下向Gly-Ni-S-BPB(4.6g,9.2mmol,1当量)和KO-tBu(1.14g,10.1mmol,1.1当量)中加入95mL DMF。通过注射器添加溴化物衍生化合物3(3.5g,4.6mmol,1.1当量)在DMF(10mL)中的溶液。在环境温度下搅拌反应混合物1h。然后用5%的醋酸水溶液猝灭溶液,并用水稀释。在二氯甲烷中萃取所需产物,干燥并浓缩。在正相上使用EtOAc和己烷作为洗脱液通过快速色谱法(固体加载)纯化油状产物5,得到红色固体(5g,71%产率)。6Cl-Trp(Boc)-Ni-S-BPB,5:M+H计算761.20,M+H观测761.34;<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ :1.58(m,11H,Boc+CH<sub>2</sub>);1.84(m,1H);1.96(m,1H);2.24(m,2H,CH<sub>2</sub>);3.00(m,1H,CH<sub>a</sub>);3.22(m,2H,CH<sub>2</sub>);3.45和4.25(AB系统,2H,CH<sub>2</sub>(苯甲基),J=12.8Hz);4.27(m,1H,CH<sub>a</sub>);6.65(d,2H);6.88(d,1H);7.07(m,2H);7.14(m,2H);7.28(m,3H);7.35-7.39(m,2H);7.52(m,2H);7.96(d,2H);8.28(m,2H)。

[0783] Fmoc-6Cl-Trp(Boc)-OH,7。向50℃下的3N HCl/MeOH(1/3,44mL)溶液中逐滴加入化合物5(5g,6.6mmol,1当量)在MeOH(10mL)中的溶液。原始材料在3-4h内消失。然后用冰浴使酸性溶液冷却至0℃,并用Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(3.48g,33mmol,5当量)水溶液将其猝灭。除去甲醇,并向悬浮液中添加另外8当量的Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(5.57g,52mmol)。然后添加清除镍的EDTA二钠盐二水合物(4.89g,13.1mmol,2当量),并搅拌悬浮液2h。添加Fmoc-OSu(2.21g,6.55mmol,1.1当量)在丙酮(100mL)中的溶液,并搅拌反应液过夜。之后,用乙醚和1N HCl稀释该反应液。然后用硫酸镁干燥有机层,并在真空中浓缩。在正相上使用丙酮和二氯甲烷作为洗脱液纯化所需产物7,得到白色泡沫(2.6g,69%产率)。Fmoc-6Cl-Trp(Boc)-OH,7:M+H计算561.17,M+H观测561.37;<sup>1</sup>H NMR(CDCl<sub>3</sub>) 1.63(s,9H,Boc);3.26(m,2H,CH<sub>2</sub>);4.19(m,1H,CH);4.39(m,2H,CH<sub>2</sub>);4.76(m,1H);5.35(d,1H,NH);7.18(m,2H);7.28(m,2H);7.39(m,3H);7.50(m,2H);7.75(d,2H);8.14(bs,1H)。

#### [0784] 实施例2:拟肽大环化合物

[0785] 如以前所述以及如下所述合成、纯化和分析拟肽大环化合物(Schafmeister等人,J.Am.Chem.Soc.122:5891-5892(2000);Schafmeister和Verdine,J.Am.Chem.Soc.122:5891(2005);Walensky等人,Science305:1466-1470(2004);和美国专利号7,192,713)。通过用相对应的合成氨基酸替代两个或多个天然存在的氨基酸来设计拟肽大环化合物。替代发生在i和i+4以及i和i+7位。使用固相条件、rink amide AM树脂(Novabiochem)和Fmoc主链保护基团化学方法人工地或在自动化肽合成仪(Applied Biosystems,433A型)上进行肽合成。对于天然Fmoc保护的氨基酸(Novabiochem)的偶联,使用10当量的氨基酸和1:1:2摩尔比的偶联试剂HBTU/HOBt(Novabiochem)/DIEA。非天然氨基酸(4当量)与1:1:2摩尔比的HATU(Applied Biosystems)/HOBt/DIEA偶联。合成肽的N末端被乙酰化,而C末端被酰胺化。

[0786] 通过在反相C18柱(Varian)上的高效液相色谱法(HPLC)(Varian ProStar)来实现交联化合物的纯化,以产生纯的化合物。通过LC/MS质谱法(与Agilent 1100HPLC系统接口连接的Micromass LCT)和氨基酸分析(Applied Biosystems,型号420A)确认该纯产物的化学组成。

[0787] 在包括SP662、SP663和SP664在内的二炔烃交联的拟肽大环化合物的合成中使用下列方案。以0.2mmol规模在PEG-PS树脂(加载0.45mmol/g)上合成完全保护的结合树脂的肽。通过采用在DMF中的20% (v/v) 的哌啶对结合树脂的肽进行3×10min的处理来实现临时Fmoc基团的脱保护。用NMP (3×)、二氯甲烷 (3×) 和NMP (3x) 洗涤后,通过与适当的预活化的Fmoc-氨基酸衍生物进行1×60min的温育来实现每个连续氨基酸的偶联。在将偶联溶液转移至脱保护的结合树脂的肽之前,将所有被保护的氨基酸 (0.4mmol) 溶解在NMP中,并用HCTU (0.4mmol) 和DIEA (0.8mmol) 进行活化。偶联反应完成后,洗涤树脂,准备下一个脱保护/偶联循环。在存在于NMP中的乙酸酐/DIEA的存在下进行氨基末端的乙酰化。对从完全组装的结合树脂的肽的等分试样所获得的已切割和脱保护的样品进行LC-MS分析以验证每个偶联的完成。在典型的实例中,将四氢呋喃 (4ml) 和三乙胺 (2ml) 加入到在40ml玻璃小瓶中的肽树脂 (0.2mmol) 中并摇动10分钟。然后加入Pd (PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (0.014g, 0.02mmol) 和碘化亚铜 (0.008g, 0.04mmol), 并将所得反应混合物在大气开放的同时机械摇动16小时。在室温下通过用TFA/H<sub>2</sub>O/TIS (95/5/5v/v) 处理2.5h来将二炔环化的结合树脂的肽脱保护并从固体载体上切下。将树脂过滤后,使TFA溶液在冷乙醚中沉淀并进行离心,以生产呈固体的所需产物。通过制备型HPLC对粗产物进行纯化。

[0788] 在包括SP665在内的单炔交联的拟肽大环化合物的合成中使用下列方案。以0.1mmol规模在Rink amide MBHA树脂(加载0.62mmol/g)上合成完全保护的结合树脂的肽。通过采用在NMP中的25% (v/v) 的哌啶对结合树脂的肽进行2×20min的处理来实现临时Fmoc基团的脱保护。采用NMP和二氯甲烷进行充分的流动洗涤后,通过与适当的预活化的Fmoc-氨基酸衍生物进行1×60min的温育来实现每个连续氨基酸的偶联。在将偶联溶液转移至脱保护的结合树脂的肽之前,将所有被保护的氨基酸 (1mmol) 溶解在NMP中,并用HCTU (1mmol) 和DIEA (1mmol) 进行活化。偶联反应完成后,对树脂进行充分的流动洗涤,准备下一个脱保护/偶联循环。在存在于NMP/NMM中的乙酸酐/DIEA的存在下进行氨基末端的乙酰化。对从完全组装的结合树脂的肽的等分试样所获得的已切割和脱保护的样品进行LC-MS分析以验证每个偶联反应的完成。在一个典型的实例中,用DCM洗涤肽树脂 (0.1mmol)。将树脂装入微波小瓶中。对容器进行抽真空并用氮气进行吹扫。加入六羰基钼 (0.01当量, Sigma Aldrich 199959)。将无水氯苯加入到反应容器中。然后加入2-氟苯酚 (1当量, Sigma Aldrich F12804)。将反应物装入微波炉,并在130℃保持10分钟。可能需要在随后的时间推动反应以完成反应。在室温下通过用TFA/H<sub>2</sub>O/TIS (94/3/3v/v) 处理3h来对炔烃复分解的树脂结合肽进行脱保护并将其从固体载体上切下。将树脂过滤后,使TFA溶液在冷乙醚中沉淀并进行离心,以得到呈固体的所需产物。通过制备型HPLC对粗产物进行纯化。

[0789] 表1示出了所制备的拟肽大环化合物的列表。

[0790] 表1

[0791]

SP	序列	SEQ ID NO :	异构体	准确质量	实测质量	计算 (M+1)/1	计算 (M+2)/2	计算 (M+3)/3
SP1	Ac-F\$Sr8AYWEAc3cL\$AAA-NH2	10		1456.78	729.44	1457.79	729.4	486.6
SP2	Ac-F\$Sr8AYWEAc3cL\$AAibA-NH2	11		1470.79	736.4	1471.8	736.4	491.27
SP3	Ac-LTF\$Sr8AYWAQL\$SANle-NH2	12		1715.97	859.02	1716.98	858.99	573
SP4	Ac-LTF\$Sr8AYWAQL\$SAL-NH2	13		1715.97	859.02	1716.98	858.99	573
SP5	Ac-LTF\$Sr8AYWAQL\$SAM-NH2	14		1733.92	868.48	1734.93	867.97	578.98
SP6	Ac-LTF\$Sr8AYWAQL\$SAhL-NH2	15		1729.98	865.98	1730.99	866	577.67
SP7	Ac-LTF\$Sr8AYWAQL\$SAF-NH2	16		1749.95	876.36	1750.96	875.98	584.32
SP8	Ac-LTF\$Sr8AYWAQL\$SAI-NH2	17		1715.97	859.02	1716.98	858.99	573
SP9	Ac-LTF\$Sr8AYWAQL\$SACHg-NH2	18		1741.98	871.98	1742.99	872	581.67
SP10	Ac-LTF\$Sr8AYWAQL\$SAAib-NH2	19		1687.93	845.36	1688.94	844.97	563.65
SP11	Ac-LTF\$Sr8AYWAQL\$SAA-NH2	20		1673.92	838.01	1674.93	837.97	558.98
SP12	Ac-LTF\$Sr8AYWASL\$SSNle-NH2	21		1767.04	884.77	1768.05	884.53	590.02
SP13	Ac-LTF\$Sr8AYWASL\$SSA-NH2	22		1724.9	864.23	1726	863.5	576

[0792]

SP	序列	SEQ ID NO	异构体	准确质量	实测质量	计算 (M+1)/1	计算 (M+2)/2	计算 (M+3)/3
				9				
SP14	Ac-F\$Sr8AYWEAc3cL\$AANle-NH2	23		1498.82	750.46	1499.83	750.42	500.61
SP15	Ac-F\$Sr8AYWEAc3cL\$AAL-NH2	24		1498.82	750.46	1499.83	750.42	500.61
SP16	Ac-F\$Sr8AYWEAc3cL\$AAM-NH2	25		1516.78	759.41	1517.79	759.4	506.6
SP17	Ac-F\$Sr8AYWEAc3cL\$AAhL-NH2	26		1512.84	757.49	1513.85	757.43	505.29
SP18	Ac-F\$Sr8AYWEAc3cL\$AAF-NH2	27		1532.81	767.48	1533.82	767.41	511.94
SP19	Ac-F\$Sr8AYWEAc3cL\$AAI-NH2	28		1498.82	750.39	1499.83	750.42	500.61
SP20	Ac-F\$Sr8AYWEAc3cL\$AACHg-NH2	29		1524.84	763.48	1525.85	763.43	509.29
SP21	Ac-F\$Sr8AYWEAc3cL\$AACHa-NH2	30		1538.85	770.44	1539.86	770.43	513.96
SP22	Ac-F\$Sr8AYWEAc3cL\$AAAib-NH2	31		1470.79	736.84	1471.8	736.4	491.27
SP23	Ac-LTF\$Sr8AYWAQL\$AAAibV-NH2	32		1771.01	885.81	1772.02	886.51	591.34
SP24	Ac-LTF\$Sr8AYWAQL\$AAAibV-NH2	33	iso2	1771.01	886.26	1772.02	886.51	591.34
SP25	Ac-LTF\$Sr8AYWAQL\$SAibAA-NH2	34		1758.97	879.89	1759.98	880.49	587.33
SP26	Ac-LTF\$Sr8AYWAQL\$SAibAA-NH2	35	iso2	1758.97	880.34	1759.98	880.49	587.33
SP27	Ac-HLTF\$Sr8HHWHQL\$AANleNle-NH2	36		2056.15	1028.86	2057.16	1029.08	686.39
SP28	Ac-DLTF\$Sr8HHWHQL\$RRLV-NH2	37		2190.23	731.15	2191.24	1096.12	731.08
SP29	Ac-HHTF\$Sr8HHWHQL\$SAAML-NH2	38		2098.08	700.43	2099.09	1050.05	700.37
SP30	Ac-F\$Sr8HHWHQL\$SRRDCha-NH2	39		1917.06	959.96	1918.07	959.54	640.03
SP31	Ac-F\$Sr8HHWHQL\$SHRFV-NH2	40		1876.02	938.65	1877.03	939.02	626.35
SP32	Ac-HLTF\$Sr8HHWHQL\$AAhLA-NH2	41		2028.12	677.2	2029.13	1015.07	677.05
SP33	Ac-DLTF\$Sr8HHWHQL\$SRChgl-NH2	42		2230.26	1115.89	2231.27	1116.14	744.43
SP34	Ac-DLTF\$Sr8HHWHQL\$SRChgl-NH2	43	iso2	2230.26	1115.96	2231.27	1116.14	744.43
SP35	Ac-HHTF\$Sr8HHWHQL\$SAACHav-NH2	44		2106.14	1053.95	2107.15	1054.08	703.05
SP36	Ac-F\$Sr8HHWHQL\$SRRDa-NH2	45		1834.99	918.3	1836	918.5	612.67
SP37	Ac-F\$Sr8HHWHQL\$SHRAibG-NH2	46		1771.95	886.77	1772.96	886.98	591.66
SP38	Ac-F\$Sr8AYWAQL\$SHHNleL-NH2	47		1730.97	866.57	1731.98	866.49	578

[0793]

SP	序列	SEQ ID NO:	异构体	准确质量	实测质量	计算 (M+1)/1	计算 (M+2)/2	计算 (M+3)/3
SP39	Ac-FSr8AYWSALSHQANle-NH2	48		1638.89	820.54	1639.9	820.45	547.3
SP40	Ac-FSr8AYWVQL\$QHChgl-NH2	49		1776.01	889.44	1777.02	889.01	593.01
SP41	Ac-FSr8AYWTAL\$QQNlev-NH2	50		1671.94	836.97	1672.95	836.98	558.32
SP42	Ac-FSr8AYWYQL\$SHAibAa-NH2	51		1686.89	844.52	1687.9	844.45	563.3
SP43	Ac-LTFsr8AYWAQL\$HHLA-NH2	52		1903.05	952.27	1904.06	952.53	635.36
SP44	Ac-LTFsr8AYWAQL\$HHLA-NH2	53	iso2	1903.05	952.27	1904.06	952.53	635.36
SP45	Ac-LTFsr8AYWAQL\$SHQNlev-NH2	54		1922.08	962.48	1923.09	962.05	641.7
SP46	Ac-LTFsr8AYWAQL\$SHQNlev-NH2	55	iso2	1922.08	962.4	1923.09	962.05	641.7
SP47	Ac-LTFsr8AYWAQL\$SQMI-NH2	56		1945.05	973.95	1946.06	973.53	649.36
SP48	Ac-LTFsr8AYWAQL\$SQMI-NH2	57	iso2	1945.05	973.88	1946.06	973.53	649.36
SP49	Ac-LTFsr8AYWAQL\$SHAibhLV-NH2	58		1893.09	948.31	1894.1	947.55	632.04
SP50	Ac-LTFsr8AYWAQL\$AHFA-NH2	59		1871.01	937.4	1872.02	936.51	624.68
SP51	Ac-HLTFsr8HHWHQL\$AANlel-NH2	60		2056.15	1028.79	2057.16	1029.08	686.39
SP52	Ac-DLTFsr8HHWHQL\$RRLA-NH2	61		2162.2	721.82	2163.21	1082.11	721.74
SP53	Ac-HHTFsr8HHWHQL\$AAMv-NH2	62		2084.07	1042.92	2085.08	1043.04	695.7
SP54	Ac-FSr8HHWHQL\$RRDA-NH2	63		1834.99	612.74	1836	918.5	612.67
SP55	Ac-FSr8HHWHQL\$SHRFCha-NH2	64		1930.06	966.47	1931.07	966.04	644.36
SP56	Ac-FSr8AYWEAL\$AA-NHAm	65		1443.82	1445.71	1444.83	722.92	482.28
SP57	Ac-FSr8AYWEAL\$AA-NHiAm	66		1443.82	723.13	1444.83	722.92	482.28
SP58	Ac-FSr8AYWEAL\$AA-NHnPr3Ph	67		1491.82	747.3	1492.83	746.92	498.28
SP59	Ac-FSr8AYWEAL\$AA-NHnBu33Me	68		1457.83	1458.94	1458.84	729.92	486.95
SP60	Ac-FSr8AYWEAL\$AA-NHnPr	69		1415.79	709.28	1416.8	708.9	472.94
SP61	Ac-FSr8AYWEAL\$AA-NHnEt2Ch	70		1483.85	1485.77	1484.86	742.93	495.62
SP62	Ac-FSr8AYWEAL\$AA-NHnEt2Cp	71		1469.83	1470.78	1470.84	735.92	490.95
SP63	Ac-FSr8AYWEAL\$AA-NHHex	72		1457.83	730.19	1458.84	729.92	486.95
SP64	Ac-LTFsr8AYWAQL\$AAIA-NH2	73		1771.01	885.81	1772.02	886.51	591.34

[0794]

SP	序列	SEQ ID NO	异构体	准确质量	实测质量	计算 (M+1)/1	计算 (M+2)/2	计算 (M+3)/3
SP65	Ac-LTFSr8AYWAQLSAAIA-NH2	74	iso2	1771.01	866.8	1772.02	886.51	591.34
SP66	Ac-LTFSr8AYWAALSAAMA-NH2	75		1731.94	867.08	1732.95	866.98	578.32
SP67	Ac-LTFSr8AYWAALSAAMA-NH2	76	iso2	1731.94	867.28	1732.95	866.98	578.32
SP68	Ac-LTFSr8AYWAQLSAANleA-NH2	77		1771.01	867.1	1772.02	886.51	591.34
SP69	Ac-LTFSr8AYWAQLSAANleA-NH2	78	iso2	1771.01	886.89	1772.02	886.51	591.34
SP70	Ac-LTFSr8AYWAQLSAAIa-NH2	79		1771.01	886.8	1772.02	886.51	591.34
SP71	Ac-LTFSr8AYWAQLSAAIa-NH2	80	iso2	1771.01	887.09	1772.02	886.51	591.34
SP72	Ac-LTFSr8AYWAALSAAMa-NH2	81		1731.94	867.17	1732.95	866.98	578.32
SP73	Ac-LTFSr8AYWAALSAAMa-NH2	82	iso2	1731.94	867.37	1732.95	866.98	578.32
SP74	Ac-LTFSr8AYWAQLSAANlea-NH2	83		1771.01	887.08	1772.02	886.51	591.34
SP75	Ac-LTFSr8AYWAQLSAANlea-NH2	84	iso2	1771.01	887.08	1772.02	886.51	591.34
SP76	Ac-LTFSr8AYWAALSAAIv-NH2	85		1742.02	872.37	1743.03	872.02	581.68
SP77	Ac-LTFSr8AYWAALSAAIv-NH2	86	iso2	1742.02	872.74	1743.03	872.02	581.68
SP78	Ac-LTFSr8AYWAQLSAAMv-NH2	87		1817	910.02	1818.01	909.51	606.67
SP79	Ac-LTFSr8AYWAALSAANlev-NH2	88		1742.02	872.37	1743.03	872.02	581.68
SP80	Ac-LTFSr8AYWAALSAANlev-NH2	89	iso2	1742.02	872.28	1743.03	872.02	581.68
SP81	Ac-LTFSr8AYWAQLSAAII-NH2	90		1813.05	907.81	1814.06	907.53	605.36
SP82	Ac-LTFSr8AYWAQLSAAII-NH2	91	iso2	1813.05	907.81	1814.06	907.53	605.36
SP83	Ac-LTFSr8AYWAALSAAMI-NH2	92		1773.99	887.37	1775	888	592.34
SP84	Ac-LTFSr8AYWAQLSAANlel-NH2	93		1813.05	907.61	1814.06	907.53	605.36
SP85	Ac-LTFSr8AYWAQLSAANlel-NH2	94	iso2	1813.05	907.71	1814.06	907.53	605.36
SP86	Ac-FSr8AYWEALSAAMA-NH2	95		1575.82	789.02	1576.83	788.92	526.28
SP87	Ac-FSr8AYWEALSAANleA-NH2	96		1557.86	780.14	1558.87	779.94	520.29
SP88	Ac-FSr8AYWEALSAAIa-NH2	97		1557.86	780.33	1558.87	779.94	520.29
SP89	Ac-FSr8AYWEALSAAMa-NH2	98		1575.82	789.3	1576.83	788.92	526.28
SP90	Ac-FSr8AYWEALSAANlea-NH2	99		1557.86	779.4	1558.87	779.94	520.29

[0795]

SP	序列	SEQ ID NO :	异构体	准确质量	实测质量	计算 (M+1)/1	计算 (M+2)/2	计算 (M+3)/3
SP91	Ac-F\$Sr8AYWEAL\$AAIv-NH2	100		1585.89	794.29	1586.9	793.95	529.64
SP92	Ac-F\$Sr8AYWEAL\$AAMv-NH2	101		1603.85	803.08	1604.86	802.93	535.62
SP93	Ac-F\$Sr8AYWEAL\$AANlev-NH2	102		1585.89	793.46	1586.9	793.95	529.64
SP94	Ac-F\$Sr8AYWEAL\$AAII-NH2	103		1599.91	800.49	1600.92	800.96	534.31
SP95	Ac-F\$Sr8AYWEAL\$AAMI-NH2	104		1617.86	809.44	1618.87	809.94	540.29
SP96	Ac-F\$Sr8AYWEAL\$AANlel-NH2	105		1599.91	801.7	1600.92	800.96	534.31
SP97	Ac-F\$Sr8AYWEAL\$AANlel-NH2	106	iso2	1599.91	801.42	1600.92	800.96	534.31
SP98	Ac-LTF\$Sr8AY6clWAQL\$SAA-NH2	107		1707.88	855.72	1708.89	854.95	570.3
SP99	Ac-LTF\$Sr8AY6clWAQL\$SAA-NH2	108	iso2	1707.88	855.35	1708.89	854.95	570.3
SP100	Ac-WTF\$Sr8FYWSQL\$AVAA-NH2	109		1922.01	962.21	1923.02	962.01	641.68
SP101	Ac-WTF\$Sr8FYWSQL\$AVAA-NH2	110	iso2	1922.01	962.49	1923.02	962.01	641.68
SP102	Ac-WTF\$Sr8VYWSQL\$AVA-NH2	111		1802.98	902.72	1803.99	902.5	602
SP103	Ac-WTF\$Sr8VYWSQL\$AVA-NH2	112	iso2	1802.98	903	1803.99	902.5	602
SP104	Ac-WTF\$Sr8FYWSQL\$SAAa-NH2	113		1909.98	956.47	1910.99	956	637.67
SP105	Ac-WTF\$Sr8FYWSQL\$SAAa-NH2	114	iso2	1909.98	956.47	1910.99	956	637.67
SP106	Ac-WTF\$Sr8VYWSQL\$AVAAa-NH2	115		1945.05	974.15	1946.06	973.53	649.36
SP107	Ac-WTF\$Sr8VYWSQL\$AVAAa-NH2	116	iso2	1945.05	973.78	1946.06	973.53	649.36
SP108	Ac-LTF\$Sr8AYWAQL\$AVG-NH2	117		1671.94	837.52	1672.95	836.98	558.32
SP109	Ac-LTF\$Sr8AYWAQL\$AVG-NH2	118	iso2	1671.94	837.21	1672.95	836.98	558.32
SP110	Ac-LTF\$Sr8AYWAQL\$AVQ-NH2	119		1742.98	872.74	1743.99	872.5	582
SP111	Ac-LTF\$Sr8AYWAQL\$AVQ-NH2	120	iso2	1742.98	872.74	1743.99	872.5	582
SP112	Ac-LTF\$Sr8AYWAQL\$SAA-NH2	121		1673.92	838.23	1674.93	837.97	558.98
SP113	Ac-LTF\$Sr8AYWAQL\$SAA-NH2	122	iso2	1673.92	838.32	1674.93	837.97	558.98
SP114	Ac-LTF\$Sr8AYWAQhL\$SAA-NH2	123		1687.93	844.37	1688.94	844.97	563.65
SP115	Ac-LTF\$Sr8AYWAQhL\$SAA-NH2	124	iso2	1687.93	844.81	1688.94	844.97	563.65
SP116	Ac-LTF\$Sr8AYWEQL\$StSAS-NH2	125		1826	905.27	1827.01	914.01	609.67



[0796]

SP	序列	SEQ ID NO :	异构体	准确质量	实测质量	计算 (M+1)/1	计算 (M+2)/2	计算 (M+3)/3
SP117	Ac-LTFSr8AYWAQLSSLA-NH2	126		1715.97	858.48	1716.98	858.99	573
SP118	Ac-LTFSr8AYWAQLSSLA-NH2	127	iso2	1715.97	858.87	1716.98	858.99	573
SP119	Ac-LTFSr8AYWAQLSSWA-NH2	128		1788.96	895.21	1789.97	895.49	597.33
SP120	Ac-LTFSr8AYWAQLSSWA-NH2	129	iso2	1788.96	895.28	1789.97	895.49	597.33
SP121	Ac-LTFSr8AYWAQLSSVS-NH2	130		1717.94	859.84	1718.95	859.98	573.65
SP122	Ac-LTFSr8AYWAQLSSAS-NH2	131		1689.91	845.85	1690.92	845.96	564.31
SP123	Ac-LTFSr8AYWAQLSSVG-NH2	132		1687.93	844.81	1688.94	844.97	563.65
SP124	Ac-ETFSr8VYWAQLSSAa-NH2	133		1717.91	859.76	1718.92	859.96	573.64
SP125	Ac-ETFSr8VYWAQLSSAA-NH2	134		1717.91	859.84	1718.92	859.96	573.64
SP126	Ac-ETFSr8VYWAQLSSVA-NH2	135		1745.94	873.82	1746.95	873.98	582.99
SP127	Ac-ETFSr8VYWAQLSSLA-NH2	136		1759.96	880.85	1760.97	880.99	587.66
SP128	Ac-ETFSr8VYWAQLSSWA-NH2	137		1832.95	917.34	1833.96	917.48	611.99
SP129	Ac-ETFSr8KYWAQLSSWA-NH2	138		1861.98	931.92	1862.99	932	621.67
SP130	Ac-ETFSr8VYWAQLSSVS-NH2	139		1761.93	881.89	1762.94	881.97	588.32
SP131	Ac-ETFSr8VYWAQLSSAS-NH2	140		1733.9	867.83	1734.91	867.96	578.97
SP132	Ac-ETFSr8VYWAQLSSVG-NH2	141		1731.92	866.87	1732.93	866.97	578.31
SP133	Ac-LTFSr8VYWAQLSSSa-NH2	142		1717.94	859.47	1718.95	859.98	573.65
SP134	Ac-ETFSr8VYWAQLSSSa-NH2	143		1733.9	867.83	1734.91	867.96	578.97
SP135	Ac-LTFSr8VYWAQLSSNa-NH2	144		1744.96	873.38	1745.97	873.49	582.66
SP136	Ac-ETFSr8VYWAQLSSNa-NH2	145		1760.91	881.3	1761.92	881.46	587.98
SP137	Ac-LTFSr8VYWAQLSSAa-NH2	146		1701.95	851.84	1702.96	851.98	568.32
SP138	Ac-LTFSr8VYWAQLSSVA-NH2	147		1729.98	865.53	1730.99	866	577.67
SP139	Ac-LTFSr8VYWAQLSSVA-NH2	148	iso2	1729.98	865.9	1730.99	866	577.67
SP140	Ac-LTFSr8VYWAQLSSWA-NH2	149		1816.99	909.42	1818	909.5	606.67
SP141	Ac-LTFSr8VYWAQLSSVS-NH2	150		1745.98	873.9	1746.99	874	583
SP142	Ac-LTFSr8VYWAQLSSVS-NH2	151	iso2	1745.98	873.9	1746.99	874	583
SP143	Ac-LTFSr8VYWAQLSSAS-NH2	152		1717.9	859.84	1718.95	859.98	573.65

[0797]

SP	序列	SEQ ID NO	异构体	准确质量	实测质量	计算 (M+1)/1	计算 (M+2)/2	计算 (M+3)/3
				4				
SP144	Ac-LTF\$8VYWAQL\$SAS-NH2	153	iso2	1717.94	859.91	1718.95	859.98	573.65
SP145	Ac-LTF\$8VYWAQL\$SVG-NH2	154		1715.97	858.87	1716.98	858.99	573
SP146	Ac-LTF\$8VYWAQL\$SVG-NH2	155	iso2	1715.97	858.87	1716.98	858.99	573
SP147	Ac-LTF\$8EYWAQCha\$SAA-NH2	156		1771.96	886.85	1772.97	886.99	591.66
SP148	Ac-LTF\$8EYWAQCha\$SAA-NH2	157	iso2	1771.96	886.85	1772.97	886.99	591.66
SP149	Ac-LTF\$8EYWAQCpg\$SAA-NH2	158		1743.92	872.86	1744.93	872.97	582.31
SP150	Ac-LTF\$8EYWAQCpg\$SAA-NH2	159	iso2	1743.92	872.86	1744.93	872.97	582.31
SP151	Ac-LTF\$8EYWAQF\$SAA-NH2	160		1765.91	883.44	1766.92	883.96	589.64
SP152	Ac-LTF\$8EYWAQF\$SAA-NH2	161	iso2	1765.91	883.89	1766.92	883.96	589.64
SP153	Ac-LTF\$8EYWAQCba\$SAA-NH2	162		1743.92	872.42	1744.93	872.97	582.31
SP154	Ac-LTF\$8EYWAQCba\$SAA-NH2	163	iso2	1743.92	873.39	1744.93	872.97	582.31
SP155	Ac-LTF3Cl\$8EYWAQL\$SAA-NH2	164		1765.89	883.89	1766.9	883.95	589.64
SP156	Ac-LTF3Cl\$8EYWAQL\$SAA-NH2	165	iso2	1765.89	883.96	1766.9	883.95	589.64
SP157	Ac-LTF34F2\$8EYWAQL\$SAA-NH2	166		1767.91	884.48	1768.92	884.96	590.31
SP158	Ac-LTF34F2\$8EYWAQL\$SAA-NH2	167	iso2	1767.91	884.48	1768.92	884.96	590.31
SP159	Ac-LTF34F2\$8EYWAQhL\$SAA-NH2	168		1781.92	891.44	1782.93	891.97	594.98
SP160	Ac-LTF34F2\$8EYWAQhL\$SAA-NH2	169	iso2	1781.92	891.88	1782.93	891.97	594.98
SP161	Ac-ETF\$8EYWAQL\$SAA-NH2	170		1747.88	874.34	1748.89	874.95	583.63
SP162	Ac-LTF\$8AYWVQL\$SAA-NH2	171		1701.95	851.4	1702.96	851.98	568.32
SP163	Ac-LTF\$8AHWAQL\$SAA-NH2	172		1647.91	824.83	1648.92	824.96	550.31
SP164	Ac-LTF\$8AEWAQL\$SAA-NH2	173		1639.9	820.39	1640.91	820.96	547.64
SP165	Ac-LTF\$8ASWAQL\$SAA-NH2	174		1597.89	799.38	1598.9	799.95	533.64
SP166	Ac-LTF\$8AEWAQL\$SAA-NH2	175	iso2	1639.9	820.39	1640.91	820.96	547.64
SP167	Ac-LTF\$8ASWAQL\$SAA-NH2	176	iso2	1597.89	800.31	1598.9	799.95	533.64
SP168	Ac-LTF\$8AF4coohWAQL\$SAA-NH2	177		1701.91	851.4	1702.92	851.96	568.31
SP169	Ac-LTF\$8AF4coohWAQL\$SAA-NH2	178	iso2	1701.91	851.4	1702.92	851.96	568.31

[0798]

SP	序列	SEQ ID NO	异构体	准确质量	实测质量	计算 (M+1)/1	计算 (M+2)/2	计算 (M+3)/3
SP170	Ac-LTFSr8AHWAQLSAAIa-NH2	179		1745	874.13	1746.01	873.51	582.67
SP171	Ac-ITFSr8FYWAQLSAAIa-NH2	180		1847.04	923.92	1848.05	924.53	616.69
SP172	Ac-ITFSr8EHWAQLSAAIa-NH2	181		1803.01	903.17	1804.02	902.51	602.01
SP173	Ac-ITFSr8EHWAQLSAAIa-NH2	182	iso2	1803.01	903.17	1804.02	902.51	602.01
SP174	Ac-ETFSr8EHWAQLSAAIa-NH2	183		1818.97	910.76	1819.98	910.49	607.33
SP175	Ac-ETFSr8EHWAQLSAAIa-NH2	184	iso2	1818.97	910.85	1819.98	910.49	607.33
SP176	Ac-LTFSr8AHWVQLSAAIa-NH2	185		1773.03	888.09	1774.04	887.52	592.02
SP177	Ac-ITFSr8FYWVQLSAAIa-NH2	186		1875.07	939.16	1876.08	938.54	626.03
SP178	Ac-ITFSr8EYWVQLSAAIa-NH2	187		1857.04	929.83	1858.05	929.53	620.02
SP179	Ac-ITFSr8EHWVQLSAAIa-NH2	188		1831.04	916.86	1832.05	916.53	611.35
SP180	Ac-LTFSr8AEWAQLSAAIa-NH2	189		1736.99	869.87	1738	869.5	580
SP181	Ac-LTFSr8AF4coohWAQLSAAIa-NH2	190		1799	900.17	1800.01	900.51	600.67
SP182	Ac-LTFSr8AF4coohWAQLSAAIa-NH2	191	iso2	1799	900.24	1800.01	900.51	600.67
SP183	Ac-LTFSr8AHWAQLSAHFA-NH2	192		1845.01	923.89	1846.02	923.51	616.01
SP184	Ac-ITFSr8FYWAQLSAHFA-NH2	193		1947.05	975.05	1948.06	974.53	650.02
SP185	Ac-ITFSr8FYWAQLSAHFA-NH2	194	iso2	1947.05	976.07	1948.06	974.53	650.02
SP186	Ac-ITFSr8FHWAQLSAEFA-NH2	195		1913.02	958.12	1914.03	957.52	638.68
SP187	Ac-ITFSr8FHWAQLSAEFA-NH2	196	iso2	1913.02	957.86	1914.03	957.52	638.68
SP188	Ac-ITFSr8EHWAQLSAHFA-NH2	197		1903.01	952.94	1904.02	952.51	635.34
SP189	Ac-ITFSr8EHWAQLSAHFA-NH2	198	iso2	1903.01	953.87	1904.02	952.51	635.34
SP190	Ac-LTFSr8AHWVQLSAHFA-NH2	199		1873.04	937.86	1874.05	937.53	625.35
SP191	Ac-ITFSr8FYWVQLSAHFA-NH2	200		1975.08	988.83	1976.09	988.55	659.37
SP192	Ac-ITFSr8EYWVQLSAHFA-NH2	201		1957.05	979.35	1958.06	979.53	653.36
SP193	Ac-ITFSr8EHWVQLSAHFA-NH2	202		1931.05	967	1932.06	966.53	644.69
SP194	Ac-ITFSr8EHWVQLSAHFA-NH2	203	iso2	1931.05	967.93	1932.06	966.53	644.69
SP195	Ac-ETFSr8EYWAALSSAA-NH2	204		1690.86	845.85	1691.87	846.44	564.63
SP196	Ac-LTFSr8AYWVALSSAA-NH2	205		1644.93	824.08	1645.94	823.47	549.32

[0799]

SP	序列	SEQ ID NO	异构体	准确质量	实测质量	计算(M+1)/1	计算(M+2)/2	计算(M+3)/3
SP197	Ac-LTFSr8AHWAALSSAA-NH2	206		1590.89	796.88	1591.9	796.45	531.3
SP198	Ac-LTFSr8AEWAALSSAA-NH2	207		1582.88	791.9	1583.89	792.45	528.63
SP199	Ac-LTFSr8AEWAALSSAA-NH2	208	iso2	1582.88	791.9	1583.89	792.45	528.63
SP200	Ac-LTFSr8ASWAALSSAA-NH2	209		1540.87	770.74	1541.88	771.44	514.63
SP201	Ac-LTFSr8ASWAALSSAA-NH2	210	iso2	1540.87	770.88	1541.88	771.44	514.63
SP202	Ac-LTFSr8AYWAALSAAIa-NH2	211		1713.99	857.39	1715	858	572.34
SP203	Ac-LTFSr8AYWAALSAAIa-NH2	212	iso2	1713.99	857.84	1715	858	572.34
SP204	Ac-LTFSr8AYWAALSAHFA-NH2	213		1813.99	907.86	1815	908	605.67
SP205	Ac-LTFSr8EHWAQLSAHIa-NH2	214		1869.03	936.1	1870.04	935.52	624.02
SP206	Ac-LTFSr8EHWAQLSAHIa-NH2	215	iso2	1869.03	937.03	1870.04	935.52	624.02
SP207	Ac-LTFSr8AHWAQLSAHIa-NH2	216		1811.03	906.87	1812.04	906.52	604.68
SP208	Ac-LTFSr8EYWAQLSAHIa-NH2	217		1895.04	949.15	1896.05	948.53	632.69
SP209	Ac-LTFSr8AYWAQLSAAFa-NH2	218		1804.99	903.2	1806	903.5	602.67
SP210	Ac-LTFSr8AYWAQLSAAFa-NH2	219	iso2	1804.99	903.28	1806	903.5	602.67
SP211	Ac-LTFSr8AYWAQLSAAWa-NH2	220		1844	922.81	1845.01	923.01	615.67
SP212	Ac-LTFSr8AYWAQLSAAVa-NH2	221		1756.99	878.86	1758	879.5	586.67
SP213	Ac-LTFSr8AYWAQLSAAVa-NH2	222	iso2	1756.99	879.3	1758	879.5	586.67
SP214	Ac-LTFSr8AYWAQLSAALa-NH2	223		1771.01	886.26	1772.02	886.51	591.34
SP215	Ac-LTFSr8AYWAQLSAALa-NH2	224	iso2	1771.01	886.33	1772.02	886.51	591.34
SP216	Ac-LTFSr8EYWAQLSAAIa-NH2	225		1829.01	914.89	1830.02	915.51	610.68
SP217	Ac-LTFSr8EYWAQLSAAIa-NH2	226	iso2	1829.01	915.34	1830.02	915.51	610.68
SP218	Ac-LTFSr8EYWAQLSAAFa-NH2	227		1863	932.87	1864.01	932.51	622.01
SP219	Ac-LTFSr8EYWAQLSAAFa-NH2	228	iso2	1863	932.87	1864.01	932.51	622.01
SP220	Ac-LTFSr8EYWAQLSAAVa-NH2	229		1815	908.23	1816.01	908.51	606.01
SP221	Ac-LTFSr8EYWAQLSAAVa-NH2	230	iso2	1815	908.31	1816.01	908.51	606.01
SP222	Ac-LTFSr8EHWAQLSAAIa-NH2	231		1803.01	903.17	1804.02	902.51	602.01
SP223	Ac-LTFSr8EHWAQLSAAIa-NH2	232	iso2	1803.01	902.8	1804.02	902.51	602.01
SP224	Ac-LTFSr8EHWAQLSAAWa-NH2	233		1876	939.34	1877.01	939.01	626.34

[0800]

SP	序列	SEQ ID NO	异构体	准确质量	实测质量	计算 (M+1)/1	计算 (M+2)/2	计算 (M+3)/3
SP225	Ac-LTFSr8EHWAQLSAAWa-NH2	234	iso2	1876	939.62	1877.01	939.01	626.34
SP226	Ac-LTFSr8EHWAQLSAALa-NH2	235		1803.01	902.8	1804.02	902.51	602.01
SP227	Ac-LTFSr8EHWAQLSAALa-NH2	236	iso2	1803.01	902.9	1804.02	902.51	602.01
SP228	Ac-ETFSr8EHVWLAALa-NH2	237		1847	924.82	1848.01	924.51	616.67
SP229	Ac-LTFSr8AYWAQLSAAAa-NH2	238		1728.96	865.89	1729.97	865.49	577.33
SP230	Ac-LTFSr8AYWAQLSAAAa-NH2	239	iso2	1728.96	865.89	1729.97	865.49	577.33
SP231	Ac-LTFSr8AYWAQLSAAAibA-NH2	240		1742.98	872.83	1743.99	872.5	582
SP232	Ac-LTFSr8AYWAQLSAAAibA-NH2	241	iso2	1742.98	872.92	1743.99	872.5	582
SP233	Ac-LTFSr8AYWAQLSAAAAa-NH2	242		1800	901.42	1801.01	901.01	601.01
SP234	Ac-LTFSr5AYWAQLSs8AAIa-NH2	243		1771.01	887.17	1772.02	886.51	591.34
SP235	Ac-LTFSr5AYWAQLSs8SAA-NH2	244		1673.92	838.33	1674.93	837.97	558.98
SP236	Ac-LTFSr8AYWAQCba\$AANleA-NH2	245		1783.01	892.64	1784.02	892.51	595.34
SP237	Ac-ETFSr8AYWAQCba\$AANleA-NH2	246		1798.97	900.59	1799.98	900.49	600.66
SP238	Ac-LTFSr8EYWAQCba\$AANleA-NH2	247		1841.01	922.05	1842.02	921.51	614.68
SP239	Ac-LTFSr8AYWAQCba\$AWNleA-NH2	248		1898.05	950.46	1899.06	950.03	633.69
SP240	Ac-ETFSr8AYWAQCba\$AWNleA-NH2	249		1914.01	958.11	1915.02	958.01	639.01
SP241	Ac-LTFSr8EYWAQCba\$AWNleA-NH2	250		1956.06	950.62	1957.07	979.04	653.03
SP242	Ac-LTFSr8EYWAQCba\$SAFA-NH2	251		1890.99	946.55	1892	946.5	631.34
SP243	Ac-LTF34F2Sr8EYWAQCba\$SANleA-NH2	252		1892.99	947.57	1894	947.5	632
SP244	Ac-LTFSr8EF4coohWAQCba\$SANleA-NH2	253		1885	943.59	1886.01	943.51	629.34
SP245	Ac-LTFSr8EYWSQCba\$SANleA-NH2	254		1873	937.58	1874.01	937.51	625.34
SP246	Ac-LTFSr8EYWWQCba\$SANleA-NH2	255		1972.05	987.61	1973.06	987.03	658.36
SP247	Ac-LTFSr8EYWAQCba\$AAIa-NH2	256		1841.01	922.05	1842.02	921.51	614.68
SP248	Ac-LTF34F2Sr8EYWAQCba\$AAIa-NH2	257		1876.99	939.99	1878	939.5	626.67
SP249	Ac-LTFSr8EF4coohWAQCba\$AAIa-NH2	258		1869.01	935.64	1870.02	935.51	624.01
SP250	Pam-ETFSr8EYWAQCba\$SAA-NH2	259		1956.1	979.57	1957.11	979.06	653.04
SP251	Ac-LThFSr8EFWAQCba\$SAA-NH2	260		1741.94	872.11	1742.95	871.98	581.65
SP252	Ac-LTA\$Sr8EYWAQCba\$SAA-NH2	261		1667.89	835.4	1668.9	834.95	556.97

[0801]

SP	序列	SEQ ID NO :	异构体	准确质量	实测质量	计算 (M+1)/1	计算 (M+2)/2	计算 (M+3)/3
SP253	Ac-LTFSr8EYAAQCbaSSAA-NH2	262		1628.88	815.61	1629.89	815.45	543.97
SP254	Ac-LTFSr8EY2NaAQCbSSAA-NH2	263		1754.93	879.04	1755.94	878.47	585.98
SP255	Ac-LTFSr8AYWAQCbaSSAA-NH2	264		1685.92	844.71	1686.93	843.97	562.98
SP256	Ac-LTFSr8EYWAQCbaSSAF-NH2	265		1819.96	911.41	1820.97	910.99	607.66
SP257	Ac-LTFSr8EYWAQCbaSSAFa-NH2	266		1890.99	947.41	1892	946.5	631.34
SP258	Ac-LTFSr8AYWAQCbaSSAF-NH2	267		1761.95	882.73	1762.96	881.98	588.32
SP259	Ac-LTF34F2Sr8AYWAQCbaSSAF-NH2	268		1797.93	900.87	1798.94	899.97	600.32
SP260	Ac-LTFSr8AF4coohWAQCbaSSAF-NH2	269		1789.94	896.43	1790.95	895.98	597.65
SP261	Ac-LTFSr8EY6clWAQCbaSSAF-NH2	270		1853.92	929.27	1854.93	927.97	618.98
SP262	Ac-LTFSr8AYWSQCbaSSAF-NH2	271		1777.94	890.87	1778.95	889.98	593.65
SP263	Ac-LTFSr8AYWWQCbaSSAF-NH2	272		1876.99	939.91	1878	939.5	626.67
SP264	Ac-LTFSr8AYWAQCbaSAAIa-NH2	273		1783.01	893.19	1784.02	892.51	595.34
SP265	Ac-LTF34F2Sr8AYWAQCbaSAAIa-NH2	274		1818.99	911.23	1820	910.5	607.34
SP266	Ac-LTFSr8AY6clWAQCbaSAAIa-NH2	275		1816.97	909.84	1817.98	909.49	606.66
SP267	Ac-LTFSr8AF4coohWAQCbaSAAIa-NH2	276		1811	906.88	1812.01	906.51	604.67
SP268	Ac-LTFSr8EYWAQCbaSAAFa-NH2	277		1875	938.6	1876.01	938.51	626.01
SP269	Ac-LTFSr8EYWAQCbaSAAFa-NH2	278	iso2	1875	938.6	1876.01	938.51	626.01
SP270	Ac-ETFSr8AYWAQCbaSAWNlea-NH2	279		1914.01	958.42	1915.02	958.01	639.01
SP271	Ac-LTFSr8EYWAQCbaSAWNlea-NH2	280		1956.06	979.42	1957.07	979.04	653.03
SP272	Ac-ETFSr8EYWAQCbaSAWNlea-NH2	281		1972.01	987.06	1973.02	987.01	658.34
SP273	Ac-ETFSr8EYWAQCbaSAWNlea-NH2	282	iso2	1972.01	987.06	1973.02	987.01	658.34
SP274	Ac-LTFSr8AYWAQCbaSSAFa-NH2	283		1832.99	917.89	1834	917.5	612
SP275	Ac-LTFSr8AYWAQCbaSSAFa-NH2	284	iso2	1832.99	918.07	1834	917.5	612
SP276	Ac-ETFSr8AYWAQLSAWNlea-NH2	285		1902.01	952.22	1903.02	952.01	635.01
SP277	Ac-LTFSr8EYWAQLSAWNlea-NH2	286		1944.06	973.5	1945.07	973.04	649.03
SP278	Ac-ETFSr8EYWAQLSAWNlea-NH2	287		1960.01	981.46	1961.02	981.01	654.34
SP279	Dmaac-LTFSr8EYWAQhLSSAA-NH2	288		1788.98	896.06	1789.99	895.5	597.33

[0802]

SP	序列	SEQ ID NO :	异构体	准确质量	实测质量	计算 (M+1)/1	计算 (M+2)/2	计算 (M+3)/3
SP280	Hexac-LTF\$8EYWAQhLSSAA-NH2	289		1802	902.9	1803.01	902.01	601.67
SP281	Napac-LTF\$8EYWAQhLSSAA-NH2	290		1871.99	937.58	1873	937	625
SP282	Decac-LTF\$8EYWAQhLSSAA-NH2	291		1858.06	930.55	1859.07	930.04	620.36
SP283	Admac-LTF\$8EYWAQhLSSAA-NH2	292		1866.03	934.07	1867.04	934.02	623.02
SP284	Tmac-LTF\$8EYWAQhLSSAA-NH2	293		1787.99	895.41	1789	895	597
SP285	Pam-LTF\$8EYWAQhLSSAA-NH2	294		1942.16	972.08	1943.17	972.09	648.39
SP286	Ac-LTF\$8AYWAQCba\$AANleA-NH2	295	iso2	1783.01	892.64	1784.02	892.51	595.34
SP287	Ac-LTF34F2\$8EYWAQCba\$AAIa-NH2	296	iso2	1876.99	939.62	1878	939.5	626.67
SP288	Ac-LTF34F2\$8EYWAQCba\$SAA-NH2	297		1779.91	892.07	1780.92	890.96	594.31
SP289	Ac-LTF34F2\$8EYWAQCba\$SAA-NH2	298	iso2	1779.91	891.61	1780.92	890.96	594.31
SP290	Ac-LTF\$8EF4coohWAQCba\$SAA-NH2	299		1771.92	887.54	1772.93	886.97	591.65
SP291	Ac-LTF\$8EF4coohWAQCba\$SAA-NH2	300	iso2	1771.92	887.63	1772.93	886.97	591.65
SP292	Ac-LTF\$8EYWSQCba\$SAA-NH2	301		1759.92	881.9	1760.93	880.97	587.65
SP293	Ac-LTF\$8EYWSQCba\$SAA-NH2	302	iso2	1759.92	881.9	1760.93	880.97	587.65
SP294	Ac-LTF\$8EYWAQhLSSAA-NH2	303		1745.94	875.05	1746.95	873.98	582.99
SP295	Ac-LTF\$8AYWAQhLSSAF-NH2	304		1763.97	884.02	1764.98	882.99	589
SP296	Ac-LTF\$8AYWAQhLSSAF-NH2	305	iso2	1763.97	883.56	1764.98	882.99	589
SP297	Ac-LTF34F2\$8AYWAQhLSSAA-NH2	306		1723.92	863.67	1724.93	862.97	575.65
SP298	Ac-LTF34F2\$8AYWAQhLSSAA-NH2	307	iso2	1723.92	864.04	1724.93	862.97	575.65
SP299	Ac-LTF\$8AF4coohWAQhLSSAA-NH2	308		1715.93	859.44	1716.94	858.97	572.98
SP300	Ac-LTF\$8AF4coohWAQhLSSAA-NH2	309	iso2	1715.93	859.6	1716.94	858.97	572.98
SP301	Ac-LTF\$8AYWSQhLSSAA-NH2	310		1703.93	853.96	1704.94	852.97	568.98
SP302	Ac-LTF\$8AYWSQhLSSAA-NH2	311	iso2	1703.93	853.59	1704.94	852.97	568.98
SP303	Ac-LTF\$8EYWAQL\$AANleA-NH2	312		1829.01	915.45	1830.02	915.51	610.68
SP304	Ac-LTF34F2\$8AYWAQL\$AANleA-NH2	313		1806.99	904.58	1808	904.5	603.34
SP305	Ac-LTF\$8AF4coohWAQL\$AANleA-NH2	314		1799	901.6	1800.01	900.51	600.67
SP306	Ac-LTF\$8AYWSQL\$AANleA-NH2	315		1787	894.75	1788.01	894.51	596.67

[0803]

SP	序列	SEQ ID NO :	异构体	准确质量	实测质量	计算 (M+1)/1	计算 (M+2)/2	计算 (M+3)/3
SP307	Ac-LTF34F2Sr8AYWAQhLSAANleA-NH2	316		1821	911.79	1822.01	911.51	608.01
SP308	Ac-LTF34F2Sr8AYWAQhLSAANleA-NH2	317	iso2	1821	912.61	1822.01	911.51	608.01
SP309	Ac-LTFsr8AF4coohWAQhLSAANleA-NH2	318		1813.02	907.95	1814.03	907.52	605.35
SP310	Ac-LTFsr8AF4coohWAQhLSAANleA-NH2	319	iso2	1813.02	908.54	1814.03	907.52	605.35
SP311	Ac-LTFsr8AYWSQhLSAANleA-NH2	320		1801.02	901.84	1802.03	901.52	601.35
SP312	Ac-LTFsr8AYWSQhLSAANleA-NH2	321	iso2	1801.02	902.62	1802.03	901.52	601.35
SP313	Ac-LTFsr8AYWAQhLSAAAAa-NH2	322		1814.01	908.63	1815.02	908.01	605.68
SP314	Ac-LTFsr8AYWAQhLSAAAAa-NH2	323	iso2	1814.01	908.34	1815.02	908.01	605.68
SP315	Ac-LTFsr8AYWAQLSAAAAa-NH2	324		1871.04	936.94	1872.05	936.53	624.69
SP316	Ac-LTFsr8AYWAQLSAAAAa-NH2	325	iso2	1942.07	972.5	1943.08	972.04	648.37
SP317	Ac-LTFsr8AYWAQLSAAAAa-NH2	326	iso1	1942.07	972.5	1943.08	972.04	648.37
SP318	Ac-LTFsr8EYWAQhLSAANleA-NH2	327		1843.03	922.54	1844.04	922.52	615.35
SP319	Ac-AATFsr8AYWAQLSAANleA-NH2	328		1800	901.39	1801.01	901.01	601.01
SP320	Ac-LTFsr8AYWAQLSAANleAA-NH2	329		1842.04	922.45	1843.05	922.03	615.02
SP321	Ac-ALTFsr8AYWAQLSAANleAA-NH2	330		1913.08	957.94	1914.09	957.55	638.7
SP322	Ac-LTFsr8AYWAQCbaSAANleAA-NH2	331		1854.04	928.43	1855.05	928.03	619.02
SP323	Ac-LTFsr8AYWAQhLSAANleAA-NH2	332		1856.06	929.4	1857.07	929.04	619.69
SP324	Ac-LTFsr8EYWAQCbaSSAAA-NH2	333		1814.96	909.37	1815.97	908.49	605.99
SP325	Ac-LTFsr8EYWAQCbaSSAAA-NH2	334	iso2	1814.96	909.37	1815.97	908.49	605.99
SP326	Ac-LTFsr8EYWAQCbaSSAAAA-NH2	335		1886	944.61	1887.01	944.01	629.67
SP327	Ac-LTFsr8EYWAQCbaSSAAAA-NH2	336	iso2	1886	944.61	1887.01	944.01	629.67
SP328	Ac-ALTFsr8EYWAQCbaSSAA-NH2	337		1814.96	909.09	1815.97	908.49	605.99
SP329	Ac-ALTFsr8EYWAQCbaSSAAA-NH2	338		1886	944.61	1887.01	944.01	629.67
SP330	Ac-ALTFsr8EYWAQCbaSSAA-NH2	339	iso2	1814.96	909.09	1815.97	908.49	605.99
SP331	Ac-LTFsr8EYWAQLSAAAAa-NH2	340	iso2	1929.04	966.08	1930.05	965.53	644.02
SP332	Ac-LTFsr8EY6clWAQCbaSSAA-NH2	341		1777.89	890.78	1778.9	889.95	593.64
SP333	Ac-LTFsr8EF4cooh6clWAQCbaSSANleA-NH2	342		1918.96	961.27	1919.97	960.49	640.66
SP334	Ac-LTFsr8EF4cooh6clWAQCbaSSANleA-NH2	343	iso2	1918.96	961.27	1919.97	960.49	640.66



[0804]

SP	序列	SEQ ID NO :	异构体	准确质量	实测质量	计算 (M+1)/1	计算 (M+2)/2	计算 (M+3)/3
SP335	Ac-LTF\$8EF4cooh6clWAQCba\$AAIa-NH2	344		1902.97	953.03	1903.98	952.49	635.33
SP336	Ac-LTF\$8EF4cooh6clWAQCba\$AAIa-NH2	345	iso2	1902.97	953.13	1903.98	952.49	635.33
SP337	Ac-LTF\$8AY6clWAQL\$AAAAAa-NH2	346		1905	954.61	1906.01	953.51	636.01
SP338	Ac-LTF\$8AY6clWAQL\$AAAAAa-NH2	347	iso2	1905	954.9	1906.01	953.51	636.01
SP339	Ac-F\$8AY6clWEAL\$AAAAAa-NH2	348		1762.89	883.01	1763.9	882.45	588.64
SP340	Ac-ETF\$8EYWAQL\$AAAAAa-NH2	349		1945	974.31	1946.01	973.51	649.34
SP341	Ac-ETF\$8EYWAQL\$AAAAAa-NH2	350	iso2	1945	974.49	1946.01	973.51	649.34
SP342	Ac-LTF\$8EYWAQL\$AAAAAa-NH2	351		2000.08	1001.6	2001.09	1001.05	667.7
SP343	Ac-LTF\$8EYWAQL\$AAAAAa-NH2	352	iso2	2000.08	1001.6	2001.09	1001.05	667.7
SP344	Ac-LTF\$8AYWAQL\$AANleAAa-NH2	353		1913.08	958.58	1914.09	957.55	638.7
SP345	Ac-LTF\$8AYWAQL\$AANleAAa-NH2	354	iso2	1913.08	958.58	1914.09	957.55	638.7
SP346	Ac-LTF\$8EYWAQCba\$AAAAAa-NH2	355		1941.04	972.55	1942.05	971.53	648.02
SP347	Ac-LTF\$8EYWAQCba\$AAAAAa-NH2	356	iso2	1941.04	972.55	1942.05	971.53	648.02
SP348	Ac-LTF\$8EF4coohWAQCba\$AAAAAa-NH2	357		1969.04	986.33	1970.05	985.53	657.35
SP349	Ac-LTF\$8EF4coohWAQCba\$AAAAAa-NH2	358	iso2	1969.04	986.06	1970.05	985.53	657.35
SP350	Ac-LTF\$8EYWSQCba\$AAAAAa-NH2	359		1957.04	980.04	1958.05	979.53	653.35
SP351	Ac-LTF\$8EYWSQCba\$AAAAAa-NH2	360	iso2	1957.04	980.04	1958.05	979.53	653.35
SP352	Ac-LTF\$8EYWAQCba\$SAAAa-NH2	361		1814.96	909	1815.97	908.49	605.99
SP353	Ac-LTF\$8EYWAQCba\$SAAAa-NH2	362	iso2	1814.96	909	1815.97	908.49	605.99
SP354	Ac-ALTF\$8EYWAQCba\$SAAAa-NH2	363		1886	944.52	1887.01	944.01	629.67
SP355	Ac-ALTF\$8EYWAQCba\$SAAAa-NH2	364	iso2	1886	944.98	1887.01	944.01	629.67
SP356	Ac-ALTF\$8EYWAQCba\$SAAAa-NH2	365		1957.04	980.04	1958.05	979.53	653.35
SP357	Ac-ALTF\$8EYWAQCba\$SAAAa-NH2	366	iso2	1957.04	980.04	1958.05	979.53	653.35
SP358	Ac-AALTF\$8EYWAQCba\$SAAAa-NH2	367		2028.07	1016.1	2029.08	1015.04	677.03
SP359	Ac-AALTF\$8EYWAQCba\$SAAAa-NH2	368	iso2	2028.07	1015.57	2029.08	1015.04	677.03
SP360	Ac-RTF\$8EYWAQCba\$SAA-NH2	369		1786.94	895.03	1787.95	894.48	596.65
SP361	Ac-LRF\$8EYWAQCba\$SAA-NH2	370		1798.98	901.51	1799.99	900.5	600.67
SP362	Ac-LTF\$8EYWRQCba\$SAA-NH2	371		1828.99	916.4	1830	915.5	610.67

[0805]

SP	序列	SEQ ID NO	异构体	准确质量	实测质量	计算 (M+1)/1	计算 (M+2)/2	计算 (M+3)/3
SP363	Ac-LTFSr8EYWARCbaSSAA-NH2	372		1771.97	887.63	1772.98	886.99	591.66
SP364	Ac-LTFSr8EYWAQCba\$RAA-NH2	373		1812.99	908.08	1814	907.5	605.34
SP365	Ac-LTFSr8EYWAQCba\$SRA-NH2	374		1828.99	916.12	1830	915.5	610.67
SP366	Ac-LTFSr8EYWAQCba\$SAR-NH2	375		1828.99	916.12	1830	915.5	610.67
SP367	5-FAM-BaLTFSr8EYWAQCbaSSAA-NH2	376		2131	1067.09	2132.01	1066.51	711.34
SP368	5-FAM-BaLTFSr8AYWAQLSAANleA-NH2	377		2158.08	1080.6	2159.09	1080.05	720.37
SP369	Ac-LAFSr8EYWAQLSAANleA-NH2	378		1799	901.05	1800.01	900.51	600.67
SP370	Ac-ATFSr8EYWAQLSAANleA-NH2	379		1786.97	895.03	1787.98	894.49	596.66
SP371	Ac-AAFSr8EYWAQLSAANleA-NH2	380		1756.96	880.05	1757.97	879.49	586.66
SP372	Ac-AAAFSr8EYWAQLSAANleA-NH2	381		1827.99	915.57	1829	915	610.34
SP373	Ac-AAAAFSr8EYWAQLSAANleA-NH2	382		1899.03	951.09	1900.04	950.52	634.02
SP374	Ac-AATFSr8EYWAQLSAANleA-NH2	383		1858	930.92	1859.01	930.01	620.34
SP375	Ac-AALTFsr8EYWAQLSAANleA-NH2	384		1971.09	987.17	1972.1	986.55	658.04
SP376	Ac-AAALTFsr8EYWAQLSAANleA-NH2	385		2042.12	1023.15	2043.13	1022.07	681.71
SP377	Ac-LTFSr8EYWAQLSAANleAA-NH2	386		1900.05	952.02	1901.06	951.03	634.36
SP378	Ac-ALTFsr8EYWAQLSAANleAA-NH2	387		1971.09	987.63	1972.1	986.55	658.04
SP379	Ac-AALTFsr8EYWAQLSAANleAA-NH2	388		2042.12	1022.69	2043.13	1022.07	681.71
SP380	Ac-LTFSr8EYWAQCbaSAANleAA-NH2	389		1912.05	958.03	1913.06	957.03	638.36
SP381	Ac-LTFSr8EYWAQhLSAANleAA-NH2	390		1914.07	958.68	1915.08	958.04	639.03
SP382	Ac-ALTFsr8EYWAQhLSAANleAA-NH2	391		1985.1	994.1	1986.11	993.56	662.71
SP383	Ac-LTFSr8ANmYWAQLSAANleA-NH2	392		1785.02	894.11	1786.03	893.52	596.01
SP384	Ac-LTFSr8ANmYWAQLSAANleA-NH2	393	iso2	1785.02	894.11	1786.03	893.52	596.01
SP385	Ac-LTFSr8AYNmWAQLSAANleA-NH2	394		1785.02	894.11	1786.03	893.52	596.01
SP386	Ac-LTFSr8AYNmWAQLSAANleA-NH2	395	iso2	1785.02	894.11	1786.03	893.52	596.01
SP387	Ac-LTFSr8AYAmwAQLSAANleA-NH2	396		1785.02	894.01	1786.03	893.52	596.01
SP388	Ac-LTFSr8AYAmwAQLSAANleA-NH2	397	iso2	1785.02	894.01	1786.03	893.52	596.01
SP389	Ac-LTFSr8AYWAibQLSAANleA-NH2	398		1785.02	894.01	1786.03	893.52	596.01

[0806]

SP	序列	SEQ ID NO	异构体	准确质量	实测质量	计算 (M+1)/1	计算 (M+2)/2	计算 (M+3)/3
SP390	Ac-LTFSr8AYWAibQLSAANleA-NH2	399	iso2	1785.02	894.01	1786.03	893.52	596.01
SP391	Ac-LTFSr8AYWAQLSAAibNleA-NH2	400		1785.02	894.38	1786.03	893.52	596.01
SP392	Ac-LTFSr8AYWAQLSAAibNleA-NH2	401	iso2	1785.02	894.38	1786.03	893.52	596.01
SP393	Ac-LTFSr8AYWAQLSAANleA-NH2	402		1771.01	887.54	1772.02	886.51	591.34
SP394	Ac-LTFSr8AYWAQLSAANleA-NH2	403	iso2	1771.01	887.54	1772.02	886.51	591.34
SP395	Ac-LTFSr8AYWAQLSASarNleA-NH2	404		1771.01	887.35	1772.02	886.51	591.34
SP396	Ac-LTFSr8AYWAQLSASarNleA-NH2	405	iso2	1771.01	887.35	1772.02	886.51	591.34
SP397	Ac-LTFSr8AYWAQLSAANleAib-NH2	406		1785.02	894.75	1786.03	893.52	596.01
SP398	Ac-LTFSr8AYWAQLSAANleAib-NH2	407	iso2	1785.02	894.75	1786.03	893.52	596.01
SP399	Ac-LTFSr8AYWAQLSAANleNmA-NH2	408		1785.02	894.6	1786.03	893.52	596.01
SP400	Ac-LTFSr8AYWAQLSAANleNmA-NH2	409	iso2	1785.02	894.6	1786.03	893.52	596.01
SP401	Ac-LTFSr8AYWAQLSAANleSar-NH2	410		1771.01	886.98	1772.02	886.51	591.34
SP402	Ac-LTFSr8AYWAQLSAANleSar-NH2	411	iso2	1771.01	886.98	1772.02	886.51	591.34
SP403	Ac-LTFSr8AYWAQLSAANleAAib-NH2	412		1856.06		1857.07	929.04	619.69
SP404	Ac-LTFSr8AYWAQLSAANleAAib-NH2	413	iso2	1856.06		1857.07	929.04	619.69
SP405	Ac-LTFSr8AYWAQLSAANleANmA-NH2	414		1856.06	930.37	1857.07	929.04	619.69
SP406	Ac-LTFSr8AYWAQLSAANleANmA-NH2	415	iso2	1856.06	930.37	1857.07	929.04	619.69
SP407	Ac-LTFSr8AYWAQLSAANleAa-NH2	416		1842.04	922.69	1843.05	922.03	615.02
SP408	Ac-LTFSr8AYWAQLSAANleAa-NH2	417	iso2	1842.04	922.69	1843.05	922.03	615.02
SP409	Ac-LTFSr8AYWAQLSAANleASar-NH2	418		1842.04	922.6	1843.05	922.03	615.02
SP410	Ac-LTFSr8AYWAQLSAANleASar-NH2	419	iso2	1842.04	922.6	1843.05	922.03	615.02
SP411	Ac-LTFSr8AYWAQLS/AANleA-NH2	420		1799.04	901.14	1800.05	900.53	600.69
SP412	Ac-LTFAibAYWAQLAibAANleA-NH2	421		1648.9	826.02	1649.91	825.46	550.64
SP413	Ac-LTFSr8Cou4YWAQLSAANleA-NH2	422		1975.05	989.11	1976.06	988.53	659.36
SP414	Ac-LTFSr8Cou4YWAQLSAANleA-NH2	423	iso2	1975.05	989.11	1976.06	988.53	659.36
SP415	Ac-LTFSr8AYWCou4QLSAANleA-NH2	424		1975.05	989.11	1976.06	988.53	659.36

[0807]

SP	序列	SEQ ID NO	异构体	准确质量	实测质量	计算 (M+1)/1	计算 (M+2)/2	计算 (M+3)/3
SP416	Ac-LTFSr8AYWAQLSCou4ANleA-NH2	425		1975.05	989.57	1976.06	988.53	659.36
SP417	Ac-LTFSr8AYWAQLSCou4ANleA-NH2	426	iso2	1975.05	989.57	1976.06	988.53	659.36
SP418	Ac-LTFSr8AYWAQLSACou4NleA-NH2	427		1975.05	989.57	1976.06	988.53	659.36
SP419	Ac-LTFSr8AYWAQLSACou4NleA-NH2	428	iso2	1975.05	989.57	1976.06	988.53	659.36
SP420	Ac-LTFSr8AYWAQLSAANleA-OH	429		1771.99	887.63	1773	887	591.67
SP421	Ac-LTFSr8AYWAQLSAANleA-OH	430	iso2	1771.99	887.63	1773	887	591.67
SP422	Ac-LTFSr8AYWAQLSAANleA-NHnPr	431		1813.05	908.08	1814.06	907.53	605.36
SP423	Ac-LTFSr8AYWAQLSAANleA-NHnPr	432	iso2	1813.05	908.08	1814.06	907.53	605.36
SP424	Ac-LTFSr8AYWAQLSAANleA-NHnBu33Me	433		1855.1	929.17	1856.11	928.56	619.37
SP425	Ac-LTFSr8AYWAQLSAANleA-NHnBu33Me	434	iso2	1855.1	929.17	1856.11	928.56	619.37
SP426	Ac-LTFSr8AYWAQLSAANleA-NHHex	435		1855.1	929.17	1856.11	928.56	619.37
SP427	Ac-LTFSr8AYWAQLSAANleA-NHHex	436	iso2	1855.1	929.17	1856.11	928.56	619.37
SP428	Ac-LTASr8AYWAQLSAANleA-NH2	437		1694.98	849.33	1695.99	848.5	566
SP429	Ac-LThLSr8AYWAQLSAANleA-NH2	438		1751.04	877.09	1752.05	876.53	584.69
SP430	Ac-LTFSr8AYAAQLSAANleA-NH2	439		1655.97	829.54	1656.98	828.99	553
SP431	Ac-LTFSr8AY2NaIAQLSAANleA-NH2	440		1782.01	892.63	1783.02	892.01	595.01
SP432	Ac-LTFSr8EYWCou4QCba\$SAA-NH2	441		1947.97	975.8	1948.98	974.99	650.33
SP433	Ac-LTFSr8EYWCou7QCba\$SAA-NH2	442		16.03	974.9	17.04	9.02	6.35
SP434	Ac-LTF%r8EYWAQCba%SAA-NH2	443		1745.94	874.8	1746.95	873.98	582.99
SP435	Dmaac-LTFSr8EYWAQCba\$SAA-NH2	444		1786.97	894.8	1787.98	894.49	596.66
SP436	Dmaac-LTFSr8AYWAQLSAAAAAa-NH2	445		1914.08	958.2	1915.09	958.05	639.03
SP437	Dmaac-LTFSr8AYWAQLSAAAAAa-NH2	446	iso2	1914.08	958.2	1915.09	958.05	639.03
SP438	Dmaac-LTFSr8EYWAQLSAAAAAa-NH2	447		1972.08	987.3	1973.09	987.05	658.37
SP439	Dmaac-LTFSr8EYWAQLSAAAAAa-NH2	448	iso2	1972.08	987.3	1973.09	987.05	658.37
SP440	Dmaac-LTFSr8EF4coohWAQCba\$AAIa-NH2	449		1912.05	957.4	1913.06	957.03	638.36
SP441	Dmaac-LTFSr8EF4coohWAQCba\$AAIa-NH2	450	iso2	1912.05	957.4	1913.06	957.03	638.36
SP442	Dmaac-LTFSr8AYWAQLSAANleA-NH2	451		1814.05	908.3	1815.06	908.03	605.69

[0808]

SP	序列	SEQ ID NO:	异构体	准确质量	实测质量	计算 (M+1)/1	计算 (M+2)/2	计算 (M+3)/3
SP443	Dmaac-LTF\$8AYWAQL\$AANleA-NH2	452	iso2	1814.05	908.3	1815.06	908.03	605.69
SP444	Ac-LTF%8AYWAQL%AANleA-NH2	453		1773.02	888.37	1774.03	887.52	592.01
SP445	Ac-LTF%8EYWAQL%AAAAAa-NH2	454		1931.06	966.4	1932.07	966.54	644.69
SP446	Cou6BaLTF\$8EYWAQhL\$SAA-NH2	455		2018.05	1009.9	2019.06	1010.03	673.69
SP447	Cou8BaLTF\$8EYWAQhL\$SAA-NH2	456		1962.96	982.34	1963.97	982.49	655.32
SP448	Ac-LTF4ISr8EYWAQL\$AAAAAa-NH2	457		2054.93	1028.68	2055.94	1028.47	685.98
SP449	Ac-LTF\$8EYWAQL\$AAAAAa-NH2	458		1929.04	966.17	1930.05	965.53	644.02
SP550	Ac-LTF\$8EYWAQL\$AAAAAa-OH	459		1930.02	966.54	1931.03	966.02	644.35
SP551	Ac-LTF\$8EYWAQL\$AAAAAa-OH	460	iso2	1930.02	965.89	1931.03	966.02	644.35
SP552	Ac-LTF\$8EYWAEL\$AAAAAa-NH2	461		1930.02	966.82	1931.03	966.02	644.35
SP553	Ac-LTF\$8EYWAEL\$AAAAAa-NH2	462	iso2	1930.02	966.91	1931.03	966.02	644.35
SP554	Ac-LTF\$8EYWAEL\$AAAAAa-OH	463		1931.01	967.28	1932.02	966.51	644.68
SP555	Ac-LTF\$8EY6clWAQL\$AAAAAa-NH2	464		1963	983.28	1964.01	982.51	655.34
SP556	Ac-LTF\$8EF4bOH2WAQL\$AAAAAa-NH2	465		1957.05	980.04	1958.06	979.53	653.36
SP557	Ac-AAALTF\$8EYWAQL\$AAAAAa-NH2	466		2142.15	1072.83	2143.16	1072.08	715.06
SP558	Ac-LTF34F2\$8EYWAQL\$AAAAAa-NH2	467		1965.02	984.3	1966.03	983.52	656.01
SP559	Ac-RTF\$8EYWAQL\$AAAAAa-NH2	468		1972.06	987.81	1973.07	987.04	658.36
SP560	Ac-LTA\$8EYWAQL\$AAAAAa-NH2	469		1853.01	928.33	1854.02	927.51	618.68
SP561	Ac-LTF\$8EYWAibQL\$AAAAAa-NH2	470		1943.06	973.48	1944.07	972.54	648.69
SP562	Ac-LTF\$8EYWAQL\$AAibAAAA-NH2	471		1943.06	973.11	1944.07	972.54	648.69
SP563	Ac-LTF\$8EYWAQL\$AAibAAA-NH2	472		1943.06	973.48	1944.07	972.54	648.69
SP564	Ac-LTF\$8EYWAQL\$AAAAibAa-NH2	473		1943.06	973.48	1944.07	972.54	648.69
SP565	Ac-LTF\$8EYWAQL\$AAAAiba-NH2	474		1943.06	973.38	1944.07	972.54	648.69
SP566	Ac-LTF\$8EYWAQL\$AAAAiba-NH2	475	iso2	1943.06	973.38	1944.07	972.54	648.69
SP567	Ac-LTF\$8EYWAQL\$AAAAAib-NH2	476		1943.06	973.01	1944.07	972.54	648.69
SP568	Ac-LTF\$8EYWAQL\$AaAAAa-NH2	477		1929.04	966.54	1930.05	965.53	644.02

[0809]

SP	序列	SEQ ID NO :	异构体	准确质量	实测质量	计算 (M+1)/1	计算 (M+2)/2	计算 (M+3)/3
SP569	Ac-LTFSr8EYWAQL\$AAaAAa-NH2	478		1929.04	966.35	1930.05	965.53	644.02
SP570	Ac-LTFSr8EYWAQL\$AAaAa-NH2	479		1929.04	966.54	1930.05	965.53	644.02
SP571	Ac-LTFSr8EYWAQL\$AAaAa-NH2	480	iso2	1929.04	966.35	1930.05	965.53	644.02
SP572	Ac-LTFSr8EYWAQL\$AAAAa-NH2	481		1929.04	966.35	1930.05	965.53	644.02
SP573	Ac-LTFSr8EYWAQL\$AAAAa-NH2	482		1929.04	966.35	1930.05	965.53	644.02
SP574	Ac-LTFSr8EYWAQL\$ASarAAa-NH2	483		1929.04	966.54	1930.05	965.53	644.02
SP575	Ac-LTFSr8EYWAQL\$AASarAAa-NH2	484		1929.04	966.35	1930.05	965.53	644.02
SP576	Ac-LTFSr8EYWAQL\$AAASarAa-NH2	485		1929.04	966.35	1930.05	965.53	644.02
SP577	Ac-LTFSr8EYWAQL\$AAASara-NH2	486		1929.04	966.35	1930.05	965.53	644.02
SP578	Ac-LTFSr8EYWAQL\$AAAAASar-NH2	487		1929.04	966.08	1930.05	965.53	644.02
SP579	Ac-7LTFSr8EYWAQL\$AAAAAa-NH2	488		1918.07	951.99	1919.08	960.04	640.37
SP581	Ac-TFSr8EYWAQL\$AAAAAa-NH2	489		1815.96	929.85	1816.97	908.99	606.33
SP582	Ac-FSr8EYWAQL\$AAAAAa-NH2	490		1714.91	930.92	1715.92	858.46	572.64
SP583	Ac-LVFSr8EYWAQL\$AAAAAa-NH2	491		1927.06	895.12	1928.07	964.54	643.36
SP584	Ac-AAFSr8EYWAQL\$AAAAAa-NH2	492		1856.98	859.51	1857.99	929.5	620
SP585	Ac-LTFSr8EYWAQL\$AAAAa-NH2	493		1858	824.08	1859.01	930.01	620.34
SP586	Ac-LTFSr8EYWAQL\$AAa-NH2	494		1786.97	788.56	1787.98	894.49	596.66
SP587	Ac-LTFSr8EYWAQL\$AAa-NH2	495		1715.93	1138.57	1716.94	858.97	572.98
SP588	Ac-LTFSr8EYWAQL\$Aa-NH2	496		1644.89	1144.98	1645.9	823.45	549.3
SP589	Ac-LTFSr8EYWAQL\$a-NH2	497		1573.85	1113.71	1574.86	787.93	525.62
SP590	Ac-LTFSr8EYWAQL\$AAA-OH	498		1716.91	859.55	1717.92	859.46	573.31
SP591	Ac-LTFSr8EYWAQL\$A-OH	499		1574.84	975.14	1575.85	788.43	525.95
SP592	Ac-LTFSr8EYWAQL\$AAA-NH2	500		1715.93	904.75	1716.94	858.97	572.98
SP593	Ac-LTFSr8EYWAQCba\$SAA-OH	501		1744.91	802.49	1745.92	873.46	582.64
SP594	Ac-LTFSr8EYWAQCba\$S-OH	502		1602.83	913.53	1603.84	802.42	535.28
SP595	Ac-LTFSr8EYWAQCba\$S-NH2	503		1601.85	979.58	1602.86	801.93	534.96

[0810]

SP	序列	SEQ ID NO :	异构体	准确质量	实测质量	计算 (M+1)/1	计算 (M+2)/2	计算 (M+3)/3
SP596	4-FBzl-LTF\$8EYWAQL\$AAAAAa-NH2	504		2009.05	970.52	2010.06	1005.53	670.69
SP597	4-FBzl-LTF\$8EYWAQCba\$SAA-NH2	505		1823.93	965.8	1824.94	912.97	608.98
SP598	Ac-LTF\$8RYWAQL\$AAAAAa-NH2	506		1956.1	988.28	1957.11	979.06	653.04
SP599	Ac-LTF\$8HYWAQL\$AAAAAa-NH2	507		1937.06	1003.54	1938.07	969.54	646.69
SP600	Ac-LTF\$8QYWAQL\$AAAAAa-NH2	508		1928.06	993.92	1929.07	965.04	643.69
SP601	Ac-LTF\$8CitYWAQL\$AAAAAa-NH2	509		1957.08	987	1958.09	979.55	653.37
SP602	Ac-LTF\$8GlaYWAQL\$AAAAAa-NH2	510		1973.03	983	1974.04	987.52	658.68
SP603	Ac-LTF\$8F4gYWAQL\$AAAAAa-NH2	511		2004.1	937.86	2005.11	1003.06	669.04
SP604	Ac-LTF\$82mRYWAQL\$AAAAAa-NH2	512		1984.13	958.58	1985.14	993.07	662.38
SP605	Ac-LTF\$8ipKYWAQL\$AAAAAa-NH2	513		1970.14	944.52	1971.15	986.08	657.72
SP606	Ac-LTF\$8F4NH2YWAQL\$AAAAAa-NH2	514		1962.08	946	1963.09	982.05	655.03
SP607	Ac-LTF\$8EYWAAL\$AAAAAa-NH2	515		1872.02	959.32	1873.03	937.02	625.01
SP608	Ac-LTF\$8EYWALL\$AAAAAa-NH2	516		1914.07	980.88	1915.08	958.04	639.03
SP609	Ac-LTF\$8EYWAAibL\$AAAAAa-NH2	517		1886.03	970.61	1887.04	944.02	629.68
SP610	Ac-LTF\$8EYWASL\$AAAAAa-NH2	518		1888.01	980.51	1889.02	945.01	630.34
SP611	Ac-LTF\$8EYWANL\$AAAAAa-NH2	519		1915.02	1006.41	1916.03	958.52	639.35
SP612	Ac-LTF\$8EYWACitL\$AAAAAa-NH2	520		1958.07		1959.08	980.04	653.7
SP613	Ac-LTF\$8EYWAHL\$AAAAAa-NH2	521		1938.04	966.24	1939.05	970.03	647.02
SP614	Ac-LTF\$8EYWARL\$AAAAAa-NH2	522		1957.08		1958.09	979.55	653.37
SP615	Ac-LTF\$8EpYWAQL\$AAAAAa-NH2	523		2009.01		2010.02	1005.51	670.68
SP616	Cbm-LTF\$8EYWAQCba\$SAA-NH2	524		1590.85		1591.86	796.43	531.29
SP617	Cbm-LTF\$8EYWAQL\$AAAAAa-NH2	525		1930.04		1931.05	966.03	644.35
SP618	Ac-LTF\$8EYWAQL\$SAAAAa-NH2	526		1945.04	1005.11	1946.05	973.53	649.35
SP619	Ac-LTF\$8EYWAQL\$AAAASa-NH2	527		1945.04	986.52	1946.05	973.53	649.35
SP620	Ac-LTF\$8EYWAQL\$SAAAASa-NH2	528		1961.03	993.27	1962.04	981.52	654.68
SP621	Ac-LTF\$8EYWAQTba\$AAAAAa-NH2	529		1943.06	983.1	1944.07	972.54	648.69
SP622	Ac-LTF\$8EYWAQAdm\$AAAAAa-NH2	530		2007.0	990.31	2008.1	1004.55	670.04

[0811]

SP	序列	SEQ ID NO :	异构体	准确质量	实测质量	计算 (M+1)/1	计算 (M+2)/2	计算 (M+3)/3
				9				
SP623	Ac-LTF\$8EYWAQCha\$AAAAAa-NH2	531		1969.07	987.17	1970.08	985.54	657.36
SP624	Ac-LTF\$8EYWAQhCha\$AAAAAa-NH2	532		1983.09	1026.11	1984.1	992.55	662.04
SP625	Ac-LTF\$8EYWAQF\$AAAAAa-NH2	533		1963.02	957.01	1964.03	982.52	655.35
SP626	Ac-LTF\$8EYWAQhF\$AAAAAa-NH2	534		1977.04	1087.81	1978.05	989.53	660.02
SP627	Ac-LTF\$8EYWAQL\$AANleAAa-NH2	535		1971.09	933.45	1972.1	986.55	658.04
SP628	Ac-LTF\$8EYWAQAdm\$AANleAAa-NH2	536		2049.13	1017.97	2050.14	1025.57	684.05
SP629	4-FBz-BaLTF\$8EYWAQL\$AAAAAa-NH2	537		2080.08		2081.09	1041.05	694.37
SP630	4-FBz-BaLTF\$8EYWAQCba\$SAA-NH2	538		1894.97		1895.98	948.49	632.66
SP631	Ac-LTF\$8EYWAQL\$8AAAAAa-NH2	539		1929.04	1072.68	1930.05	965.53	644.02
SP632	Ac-LTF\$8EYWAQCba\$8SAA-NH2	540		1743.92	1107.79	1744.93	872.97	582.31
SP633	Ac-LTF\$8EYWAQL\$AAhhLAAa-NH2	541		1999.12		2000.13	1000.57	667.38
SP634	Ac-LTF\$8EYWAQL\$AAAAAAAa-NH2	542		2071.11		2072.12	1036.56	691.38
SP635	Ac-LTF\$8EYWAQL\$AAAAAAAa-NH2	543		2142.15	778.1	2143.16	1072.08	715.06
SP636	Ac-LTF\$8EYWAQL\$AAAAAAAa-NH2	544		2213.19	870.53	2214.2	1107.6	738.74
SP637	Ac-LTA\$8EYAAQCba\$SAA-NH2	545		1552.85		1553.86	777.43	518.62
SP638	Ac-LTA\$8EYAAQL\$AAAAAa-NH2	546		1737.97	779.45	1738.98	869.99	580.33
SP639	Ac-LTF\$8EPmpWAQL\$AAAAAa-NH2	547		2007.03	779.54	2008.04	1004.52	670.02
SP640	Ac-LTF\$8EPmpWAQCba\$SAA-NH2	548		1821.91	838.04	1822.92	911.96	608.31
SP641	Ac-ATF\$8HYWAQLSS-NH2	549		1555.82	867.83	1556.83	778.92	519.61
SP642	Ac-LTF\$8HAWAQLSS-NH2	550		1505.84	877.91	1506.85	753.93	502.95
SP643	Ac-LTF\$8HYWAQASS-NH2	551		1555.82	852.52	1556.83	778.92	519.61
SP644	Ac-LTF\$8EYWAQCba\$SA-NH2	552		1672.89	887.18	1673.9	837.45	558.64
SP645	Ac-LTF\$8EYWAQLSSAA-NH2	553		1731.92	873.32	1732.93	866.97	578.31
SP646	Ac-LTF\$8HYWAQCba\$SAA-NH2	554		1751.94	873.05	1752.95	876.98	584.99
SP647	Ac-LTF\$8SYWAQCba\$SAA-NH2	555		1701.91	844.88	1702.92	851.96	568.31



[0812]

SP	序列	SEQ ID NO :	异构体	准确质量	实测质量	计算 (M+1)/1	计算 (M+2)/2	计算 (M+3)/3
SP648	Ac-LTF\$8RYWAQCba\$SAA-NH2	556		1770.98	865.58	1771.99	886.5	591.33
SP649	Ac-LTF\$8KYWAQCba\$SAA-NH2	557		1742.98	936.57	1743.99	872.5	582
SP650	Ac-LTF\$8QYWAQCba\$SAA-NH2	558		1742.94	930.93	1743.95	872.48	581.99
SP651	Ac-LTF\$8EYWAACba\$SAA-NH2	559		1686.9	1032.45	1687.91	844.46	563.31
SP652	Ac-LTF\$8EYWAQCba\$AAA-NH2	560		1727.93	895.46	1728.94	864.97	576.98
SP653	Ac-LTF\$8EYWAQL\$AAAAA-OH	561		1858.99	824.54	1860	930.5	620.67
SP654	Ac-LTF\$8EYWAQL\$AAAAA-OH	562		1787.95	894.48	1788.96	894.98	596.99
SP655	Ac-LTF\$8EYWAQL\$AA-OH	563		1645.88	856	1646.89	823.95	549.63
SP656	Ac-LTF\$8AF4bOH2WAQL\$AAAAAa-NH2	564						
SP657	Ac-LTF\$8AF4bOH2WAAL\$AAAAAa-NH2	565						
SP658	Ac-LTF\$8EF4bOH2WAQCba\$SAA-NH2	566						
SP659	Ac-LTF\$8ApYWAQL\$AAAAAa-NH2	567						
SP660	Ac-LTF\$8ApYWAAL\$AAAAAa-NH2	568						
SP661	Ac-LTF\$8EpYWAQCba\$SAA-NH2	569						
SP662	Ac-LTF\$8da6AYWAQL\$da5AAAAAa-NH2	570		1974.06	934.44			
SP663	Ac-LTF\$8da6EYWAQCba\$da5SAA-NH2	571		1846.95	870.52		869.94	
SP664	Ac-LTF\$8da6EYWAQL\$da5AAAAAa-NH2	572						
SP665	Ac-LTF\$8a9EYWAQL\$8a6AAAAAa-NH2	573			936.57		935.51	
SP666	Ac-LTF\$8a9EYWAQL\$8a6AAAAAa-NH2	574						
SP667	Ac-LTF\$8a9EYWAQCba\$8a6SAA-NH2	575						
SP668	Ac-LTA\$8a9EYWAQCba\$8a6SAA-NH2	576						
SP669	5-FAM-BaLTF\$8a9EYWAQCba\$8a6SAA-NH2	577						
SP670	5-FAM-BaLTF\$8EYWAQL\$AAAAAa-NH2	578		2316.11				
SP671	5-FAM-BaLTF\$/8EYWAQL\$/AAAAAa-NH2	579		2344.15				
SP672	5-FAM-BaLTA\$8EYWAQL\$AAAAAa-NH2	580		2240.08				
SP673	5-FAM-BaLTF\$8AYWAQL\$AAAAAa-NH2	581		2258.11				
SP674	5-FAM-BaATF\$8EYWAQL\$AAAAAa-NH2	582		2274.07				
SP675	5-FAM-BaLAF\$8EYWAQL\$AAAAAa-NH2	583		2286.1				
SP676	5-FAM-BaLTF\$8EAWAQL\$AAAAAa-NH2	584		2224.09				
SP677	5-FAM-BaLTF\$8EYAAQL\$AAAAAa-	585		2201.0				

[0813]

SP	序列	SEQ ID NO	异构体	准确质量	实测质量	计算 (M+1)/1	计算 (M+2)/2	计算 (M+3)/3
	NH2			7				
SP678	5-FAM-BaLTASr8EYAAQLSAAAAAa-NH2	586		2125.04				
SP679	5-FAM-BaLTFsr8EYWAAALSAAAAAa-NH2	587		2259.09				
SP680	5-FAM-BaLTFsr8EYWAQASAAAAAa-NH2	588		2274.07				
SP681	5-FAM-BaLTF\$/r8EYWAQCba\$/SAA-NH2	589		2159.03				
SP682	5-FAM-BaLTASr8EYWAQCba\$SAA-NH2	590		2054.97				
SP683	5-FAM-BaLTFsr8EYAAQCba\$SAA-NH2	591		2015.96				
SP684	5-FAM-BaLTASr8EYAAQCba\$SAA-NH2	592		1939.92				
SP685	5-FAM-BaQSQQTFsr8NLWRLLSQN-NH2	593		2495.23				
SP686	5-TAMRA-BaLTFsr8EYWAQCba\$SAA-NH2	594		2186.1				
SP687	5-TAMRA-BaLTASr8EYWAQCba\$SAA-NH2	595		2110.07				
SP688	5-TAMRA-BaLTFsr8EYAAQCba\$SAA-NH2	596		2071.06				
SP689	5-TAMRA-BaLTASr8EYAAQCba\$SAA-NH2	597		1995.03				
SP690	5-TAMRA-BaLTF\$/r8EYWAQCba\$/SAA-NH2	598		2214.13				
SP691	5-TAMRA-BaLTFsr8EYWAQLSAAAAAa-NH2	599		2371.22				
SP692	5-TAMRA-BaLTASr8EYWAQLSAAAAAa-NH2	600		2295.19				
SP693	5-TAMRA-BaLTF\$/r8EYWAQL\$/AAAAAa-NH2	601		2399.25				
SP694	Ac-LTFsr8EYWCou7QCba\$SAA-OH	602		1947.93				
SP695	Ac-LTFsr8EYWCou7QCba\$S-OH	603		1805.86				
SP696	Ac-LTASr8EYWCou7QCba\$SAA-NH2	604		1870.91				
SP697	Ac-LTFsr8EYACou7QCba\$SAA-NH2	605		1831.9				
SP698	Ac-LTASr8EYACou7QCba\$SAA-NH2	606		1755.87				
SP699	Ac-LTF\$/r8EYWCou7QCba\$/SAA-NH2	607		1974.98				
SP700	Ac-LTFsr8EYWCou7QLSAAAAAa-NH2	608		2132.06				
SP701	Ac-LTF\$/r8EYWCou7QL\$/AAAAAa-NH2	609		2160.09				
SP702	Ac-LTFsr8EYWCou7QLSAAAAA-OH	610		2062.01				
SP703	Ac-LTFsr8EYWCou7QLSAAAAA-OH	611		1990.9				

[0814]

SP	序列	SEQ ID NO :	异构体	准确质量	实测质量	计算 (M+1)/1	计算 (M+2)/2	计算 (M+3)/3
				7				
SP704	Ac-LTFSr8EYWCou7QLSAAA-OH	612		1919.94				
SP705	Ac-LTFSr8EYWCou7QLSAA-OH	613		1848.9				
SP706	Ac-LTFSr8EYWCou7QLSA-OH	614		1777.86				
SP707	Ac-LTFSr8EYWAQLSAAAAa-NH2	615	iso2		974.4		973.53	
	Ac-LTFSr8AYWAALSAAAAa-NH2		iso2	1814.01	908.82		908.01	605.68
SP708		616				1815.02		
	Biotin-BaLTFSr8EYWAQLSAAAAa-NH2			2184.14	1093.64		1093.08	729.05
SP709		617				2185.15		
	Ac-LTFSr8HAWAQLSS-NH2		iso2	1505.84	754.43		753.93	502.95
SP710		618				1506.85		
	Ac-LTFSr8EYWAQCbaSSA-NH2		iso2	1672.89	838.05		837.45	558.64
SP711		619				1673.9		
	Ac-LTFSr8HYWAQCbaSSAA-NH2		iso2	1751.94	877.55		876.98	584.99
SP712		620				1752.95		
	Ac-LTFSr8SYWAQCbaSSAA-NH2		iso2	1701.91	852.48		851.96	568.31
SP713		621				1702.92		
	Ac-LTFSr8RYWAQCbaSSAA-NH2		iso2	1770.98	887.45		886.5	591.33
SP714		622				1771.99		
	Ac-LTFSr8KYWAQCbaSSAA-NH2		iso2	1742.98	872.92		872.5	582
SP715		623				1743.99		
	Ac-LTFSr8EYWAQCbaSAAA-NH2		iso2	1727.93	865.71		864.97	576.98
SP716		624				1728.94		
	Ac-LTFSr8EYWAQLSAAAAaBaC-NH2			2103.09	1053.12		1052.55	702.04
SP717		625				2104.1		
	Ac-LTFSr8EYWAQLSAAAAadPeg4C-NH2			2279.19	1141.46		1140.6	760.74
SP718		626				2280.2		
	Ac-LTASr8AYWAALSAAAAa-NH2			1737.98	870.43		870	580.33
SP719		627				1738.99		
	Ac-LTFSr8AYAAALSAAAAa-NH2			1698.97	851		850.49	567.33
SP720		628				1699.98		
	5-FAM-BaLTFSr8AYWAALSAAAAa-NH2			2201.09	1101.87		1101.55	734.7
SP721		629				2202.1		
	Ac-LTASr8AYWAQLSAAAAa-NH2			1795	898.92		898.51	599.34
SP722		630				1796.01		
	Ac-LTFSr8AYAAQLSAAAAa-NH2			1755.99	879.49		879	586.34
SP723		631				1757		
	Ac-LTFSrda6AYWAALSda5AAAAa-NH2			1807.97			904.99	603.66
SP724		632				1808.98		
	FITC-BaLTFSr8EYWAQLSAAAAa-NH2				1174.49		1174.56	783.37
SP725		633		2347.19		2348.11		
	FITC-BaLTFSr8EYWAQCbaSSAA-NH2			2161.99	1082.35		1082	721.67
SP726		634				2163		
	Ac-LTFSr8EYWAQLSEAAAAa-NH2			1987.05	995.03		994.53	663.36
SP733		635				1988.06		
	Ac-LTFSr8AYWAQLSEAAAAa-NH2			1929.04	966.35		965.53	644.02
SP734		636				1930.05		
	Ac-LTFSr8EYWAQLSAAAAaBaKbio-NH2			2354.25	1178.47		1178.13	785.76
SP735		637				2355.26		
SP736	Ac-LTFSr8AYWAALSAAAAa-NH2	638		1814.0	908.45	1815.02	908.01	605.68

[0815]

SP	序列	SEQ ID NO	异构体	准确质量	实测质量	计算 (M+1)/1	计算 (M+2)/2	计算 (M+3)/3
				1				
SP737	Ac-LTF\$Sr8AYAAAALSAAAAAa-NH2	639	iso2	1698.97	850.91	1699.98	850.49	567.33
SP738	Ac-LTF\$Sr8AYAAQLSAAAAAa-NH2	640	iso2	1755.99	879.4	1757	879	586.34
SP739	Ac-LTF\$Sr8EYWAQLSEAAAAAa-NH2	641	iso2	1987.05	995.21	1988.06	994.53	663.36
SP740	Ac-LTF\$Sr8AYWAQLSEAAAAAa-NH2	642	iso2	1929.04	966.08	1930.05	965.53	644.02
SP741	Ac-LTF\$Sr8EYWAQCba\$SAAAAAa-NH2	643		1957.04	980.04	1958.05	979.53	653.35
SP742	Ac-LTF\$Sr8EYWAQLStAAASr5AA-NH2	644		2023.12	1012.83	2024.13	1012.57	675.38
SP743	Ac-LTF\$Sr8EYWAQLSASAAA\$A-NH2	645		2108.17	1055.44	2109.18	1055.09	703.73
SP744	Ac-LTF\$Sr8EYWAQLSAA\$AAA\$A-NH2	646		2179.21	1090.77	2180.22	1090.61	727.41
SP745	Ac-LTF\$Sr8EYWAQLSAAA\$AAA\$A-NH2	647		2250.25	1126.69	2251.26	1126.13	751.09
SP746	Ac-AAALTF\$Sr8EYWAQLSAAA-OH	648		1930.02		1931.03	966.02	644.35
SP747	Ac-AAALTF\$Sr8EYWAQLSAAA-NH2	649		1929.04	965.85	1930.05	965.53	644.02
SP748	Ac-AAAALTF\$Sr8EYWAQLSAAA-NH2	650		2000.08	1001.4	2001.09	1001.05	667.7
SP749	Ac-AAAAALTF\$Sr8EYWAQLSAAA-NH2	651		2071.11	1037.13	2072.12	1036.56	691.38
SP750	Ac-AAAAAALTF\$Sr8EYWAQLSAAA-NH2	652		2142.15		2143.16	1072.08	715.06
SP751	Ac-LTF\$Srda6EYWAQCba\$da6SAA-NH2	653	iso2	1751.89	877.36	1752.9	876.95	584.97
SP752	Ac-t\$Sr5wya\$Sr5f4CF3ekllr-NH2	654			844.25			
SP753	Ac-tawy\$Sr5nf4CF3e\$Sr5llr-NH2	655			837.03			
SP754	Ac-tawya\$Sr5f4CF3ek\$Sr5lr-NH2	656			822.97			
SP755	Ac-tawyanf4CF3e\$Sr5llr\$Sr5a-NH2	657			908.35			
SP756	Ac-t\$S8wyanf4CF3e\$Sr5llr-NH2	658			858.03			
SP757	Ac-tawy\$S8nf4CF3ekll\$Sr5a-NH2	659			879.86			
SP758	Ac-tawya\$S8f4CF3ekllr\$Sr5a-NH2	660			936.38			
SP759	Ac-tawy\$S8naekll\$Sr5a-NH2	661			844.25			
SP760	5-FAM-Batawy\$S8nf4CF3ekll\$Sr5a-NH2	662						
SP761	5-FAM-Batawy\$S8naekll\$Sr5a-NH2	663						
SP762	Ac-tawy\$S8nf4CF3eall\$Sr5a-NH2	664						
SP763	Ac-tawy\$S8nf4CF3ekll\$Sr5aaaaa-NH2	665						
SP764	Ac-tawy\$S8nf4CF3eall\$Sr5aaaaa-NH2	666						

[0816] 表1a示出了拟肽大环化合物的选择。

[0817] 表1a

[0818]

SP	序列	SEQ ID NO :	异构体	准确质量	实测质量	计算 (M+1)/1	计算 (M+2)/2	计算 (M+3)/3
SP244	Ac-LTF\$8EF4coohWAQCba\$SANleA-NH2	667		1885	943.59	1886.01	943.51	629.34
SP331	Ac-LTF\$8EYWAQL\$AAAAAa-NH2	668	iso2	1929.04	966.08	1930.05	965.53	644.02
SP555	Ac-LTF\$8EY6clWAQL\$AAAAAa-NH2	669		1963	983.28	1964.01	982.51	655.34
SP557	Ac-AAALTF\$8EYWAQL\$AAAAAa-NH2	670		2142.15	1072.83	2143.16	1072.08	715.06
SP558	Ac-LTF34F2\$8EYWAQL\$AAAAAa-NH2	671		1965.02	984.3	1966.03	983.52	656.01
SP562	Ac-LTF\$8EYWAQL\$AAibAAAAa-NH2	672		1943.06	973.11	1944.07	972.54	648.69
SP564	Ac-LTF\$8EYWAQL\$AAAAibAa-NH2	673		1943.06	973.48	1944.07	972.54	648.69
SP566	Ac-LTF\$8EYWAQL\$AAAAibA-NH2	674	iso2	1943.06	973.38	1944.07	972.54	648.69
SP567	Ac-LTF\$8EYWAQL\$AAAAAib-NH2	675		1943.06	973.01	1944.07	972.54	648.69
SP572	Ac-LTF\$8EYWAQL\$AAAAaa-NH2	676		1929.04	966.35	1930.05	965.53	644.02
SP573	Ac-LTF\$8EYWAQL\$AAAAAA-NH2	677		1929.04	966.35	1930.05	965.53	644.02
SP578	Ac-LTF\$8EYWAQL\$AAAAASar-NH2	678		1929.04	966.08	1930.05	965.53	644.02
SP551	Ac-LTF\$8EYWAQL\$AAAAAa-OH	679	iso2	1930.02	965.89	1931.03	966.02	644.35
SP662	Ac-LTF\$8da6AYWAQL\$da5AAAAAa-NH2	680		1974.06	934.44		933.49	
SP367	5-FAM-BaLTF\$8EYWAQCba\$SAA-NH2	681		2131	1067.09	2132.01	1066.51	711.34
SP349	Ac-LTF\$8EF4coohWAQCba\$AAAAAa-NH2	682	iso2	1969.04	986.06	1970.05	985.53	657.35
SP347	Ac-LTF\$8EYWAQCba\$AAAAAa-NH2	683	iso2	1941.04	972.55	1942.05	971.53	648.02

[0819] 表1b示出了拟肽大环化合物的进一步选择。

[0820] 表1b

[0821]

SP	序列	SEQ ID NO :	异构体	准确质量	实测质量	计算 (M+1)/1	计算 (M+2)/2	计算 (M+3)/3
SP581	Ac-TF\$8EYWAQL\$AAAAAa-NH2	684		1815.96	929.85	1816.97	908.99	606.33
SP582	Ac-F\$8EYWAQL\$AAAAAa-NH2	685		1714.91	930.92	1715.92	858.46	572.64
SP583	Ac-LVF\$8EYWAQL\$AAAAAa-NH2	686		1927.06	895.12	1928.07	964.54	643.36

[0822]

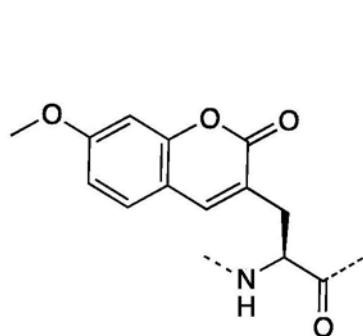
SP584	Ac-AAFSr8EYWAQL\$AAAAa-NH2	687		1856.9 8	859.51	1857.99	929.5	620
SP585	Ac-LTFSr8EYWAQL\$AAAAa-NH2	688		1858	824.08	1859.01	930.01	620.34
SP586	Ac-LTFSr8EYWAQL\$AAa-NH2	689		1786.9 7	788.56	1787.98	894.49	596.66
SP587	Ac-LTFSr8EYWAQL\$AAa-NH2	690		1715.9 3	1138.5 7	1716.94	858.97	572.98
SP588	Ac-LTFSr8EYWAQL\$Aa-NH2	691		1644.8 9	1144.9 8	1645.9	823.45	549.3
SP589	Ac-LTFSr8EYWAQL\$A-NH2	692		1573.8 5	1113.7 1	1574.86	787.93	525.62

[0823] 在上文和别处显示的序列中,使用了以下缩写:“Nle”表示正亮氨酸,“Aib”表示2-氨基异丁酸,“Ac”表示乙酰基,并且“Pr”表示丙酰基。由“\$”表示的氨基酸是由全碳交联体连接的 $\alpha$ -Me S5-戊烯基-丙氨酸烯炔氨基酸,其包含一个双键。由“\$r5”表示的氨基酸是由全碳交联体连接的 $\alpha$ -Me R5-戊烯基-丙氨酸烯炔氨基酸,其包含一个双键。由“\$s8”表示的氨基酸是由全碳交联体连接的 $\alpha$ -Me S8-辛烯基-丙氨酸烯炔氨基酸,其包含一个双键。由“\$r8”表示的氨基酸是由全碳交联体连接的 $\alpha$ -Me R8-辛烯基-丙氨酸烯炔氨基酸,其包含一个双键。“Ahx”表示氨基环己基连接体。该交联体是直链全碳交联体,其在每个氨基酸的 $\alpha$ 碳之间包含8个或11个碳原子。由“\$/”表示的氨基酸是并非由任何交联体连接的 $\alpha$ -Me S5-戊烯基-丙氨酸烯炔氨基酸。由“\$/r5”表示的氨基酸是未由任何交联体连接的 $\alpha$ -Me R5-戊烯基-丙氨酸烯炔氨基酸。由“\$/s8”表示的氨基酸是未由任何交联体连接的 $\alpha$ -Me S8-辛烯基-丙氨酸烯炔氨基酸。由“\$/r8”表示的氨基酸是未由任何交联体连接的 $\alpha$ -Me R8-辛烯基-丙氨酸烯炔氨基酸。由“Amw”表示的氨基酸是氨基酸 $\alpha$ -Me色氨酸。由“Aml”表示的氨基酸是氨基酸 $\alpha$ -Me亮氨酸。由“Amf”表示的氨基酸是氨基酸 $\alpha$ -Me苯丙氨酸。由“2ff”表示的氨基酸是氨基酸2-氟-苯丙氨酸。由“3ff”表示的氨基酸是氨基酸3-氟-苯丙氨酸。由“St”表示的氨基酸是包含两条戊烯基丙氨酸烯炔侧链且如所示每条侧链与另一氨基酸交联的氨基酸。由“St//”表示的氨基酸是包含两条不交联的戊烯基丙氨酸烯炔侧链的氨基酸。由“%St”表示的氨基酸是包含两条戊烯基丙氨酸烯炔侧链且如所示每条侧链通过完全饱和的炔交联与另一氨基酸交联的氨基酸。由“Ba”表示的氨基酸是 $\beta$ -丙氨酸。交联氨基酸的名称内的小写字母“e”或“z”(例如“\$er8”或“\$zr8”)表示双键构型(分别为E或Z)。在其它情况下,诸如“a”或“f”的小写字母表示D氨基酸(例如,分别为D-丙氨酸或D-苯丙氨酸)。指定为“NmW”的氨基酸表示N-甲基色氨酸。指定为“NmY”的氨基酸表示N-甲基酪氨酸。指定为“NmA”的氨基酸表示N-甲基丙氨酸。“Kbio”表示连接至赖氨酸残基的侧链氨基的生物素基团。指定为“Sar”的氨基酸表示肌氨酸。指定为“Cha”的氨基酸表示环己基丙氨酸。指定为“Cpg”的氨基酸表示环戊基甘氨酸。指定为“Cba”的氨基酸表示环丁基丙氨酸。指定为“F4I”的氨基酸表示4-碘代苯丙氨酸。“7L”表示N15同位素亮氨酸。指定为“F3C1”的氨基酸表示3-氯苯丙氨酸。指定为“F4cooh”的氨基酸表示4-羧基苯丙氨酸。指定为“F34F2”的氨基酸表示3,4-二氟苯丙氨酸。指定为“6clW”的氨基酸表示6-氯色氨酸。指定为“\$rda6”的氨基酸表示经由二炔键交联至第二炔基氨基酸的 $\alpha$ -Me R6-己炔基-丙氨酸炔基氨基酸。指定为“\$da5”的氨基酸表示 $\alpha$ -Me S5-戊炔基-丙氨酸炔基氨基酸,其中该炔基与第二炔基氨基酸形成二炔键的一半。指定为“\$ra9”的氨基酸表示经由炔基复分解反应与第二炔基氨基酸交联的 $\alpha$ -Me R9-壬炔基-丙氨酸炔基氨基酸。指定为“\$a6”的氨基酸表示经由炔基复分解反应与第二炔基氨基酸交联的 $\alpha$ -Me S6-己炔基-丙氨酸炔基氨基酸。指定“iso1”或“iso2”指示该拟肽大环化合物是单

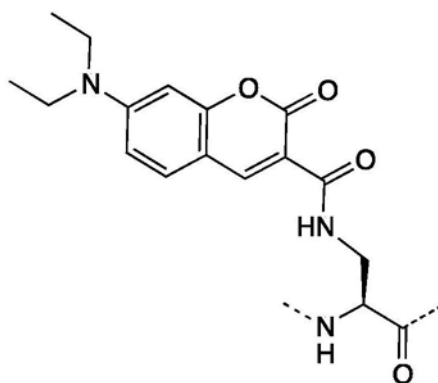
一异构体。

[0824] 指定为“Cit”的氨基酸表示瓜氨酸。分别指定为“Cou4”、“Cou6”、“Cou7”和“Cou8”的氨基酸表示下列结构：

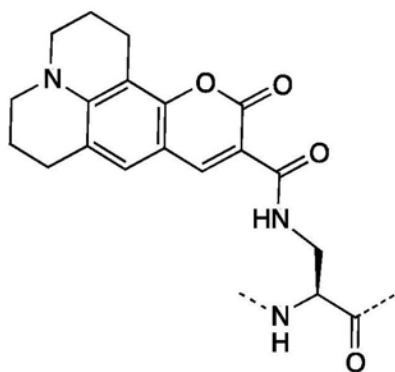
[0825]



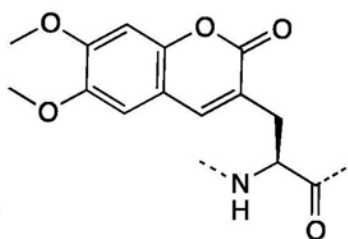
Cou



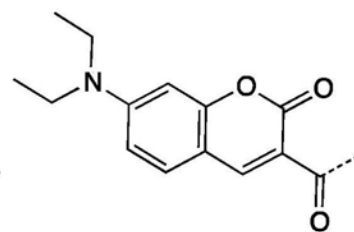
Cou2



Cou3

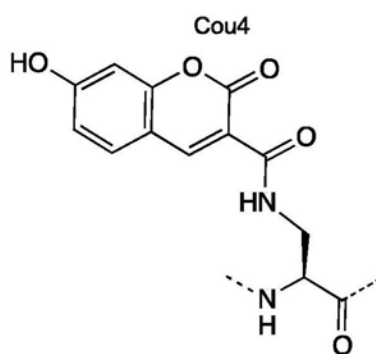


Cou4

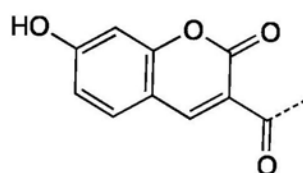


Cou6

[0826]



Cou7



Cou8

[0827] 在一些实施方案中，拟肽大环化合物以超过一种异构体获得，例如这是由于交联

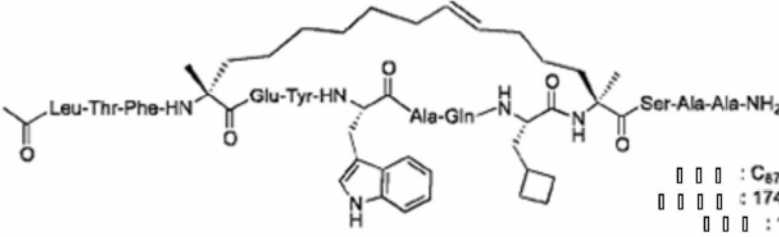
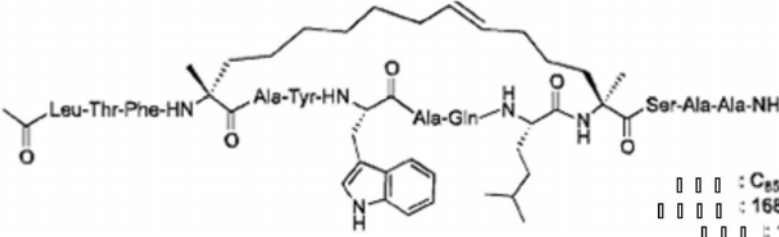
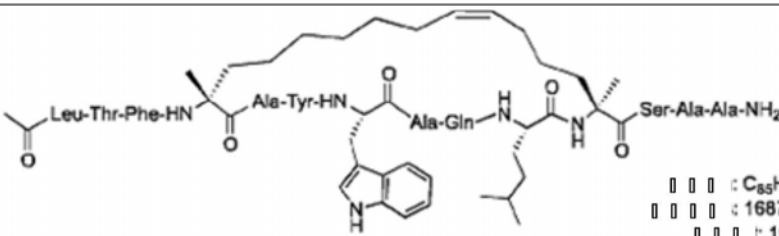
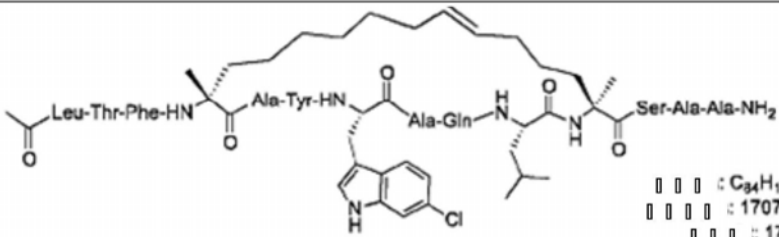
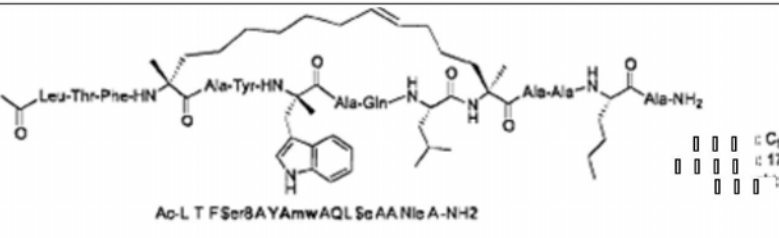
体结构中双键的构型(E与Z)。此类异构体能够或不能通过常规的色谱法分离。在一些实施方案中,一种异构体相对于其它异构体具有改善的生物学性质。在一个实施方案中,拟肽大环化合物的E交联体烯烃异构体相对于其Z对应物具有更好的溶解度、更好的靶标亲和性、更好的体内或体外效力、更高的螺旋度或提高的细胞透性。在一个实施方案中,拟肽大环化合物的Z交联体烯烃异构体相对于其E对应物具有更好的溶解度、更好的靶标亲和性、更好的体内或体外效力、更高的螺旋度或提高的细胞透性。

[0828] 表1c显示了示例性的拟肽大环化合物:

[0829] 表1c

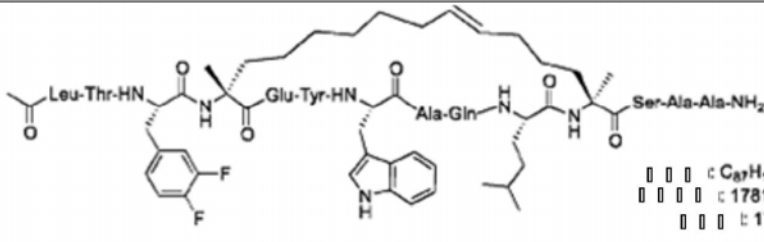
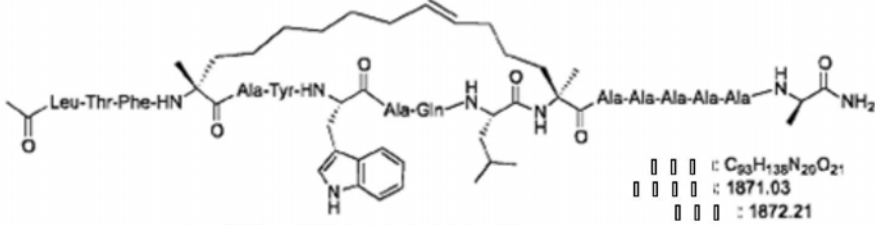
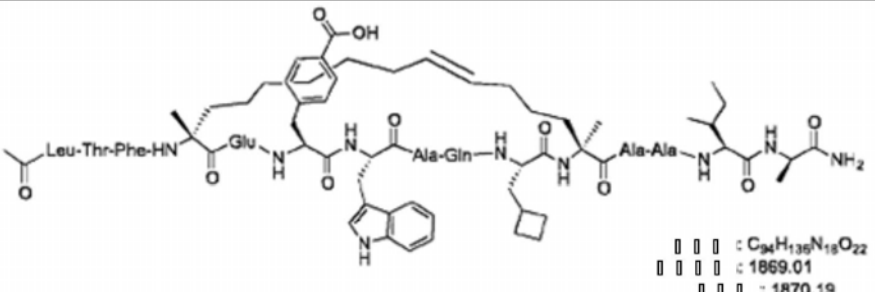
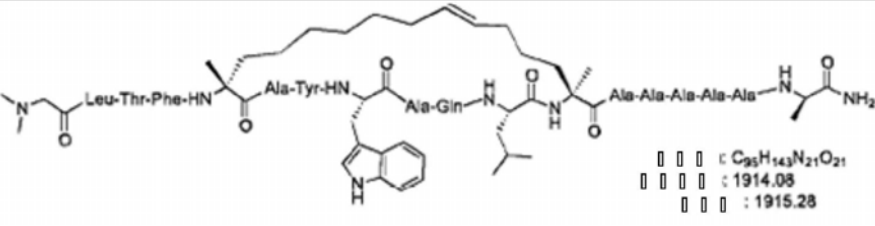
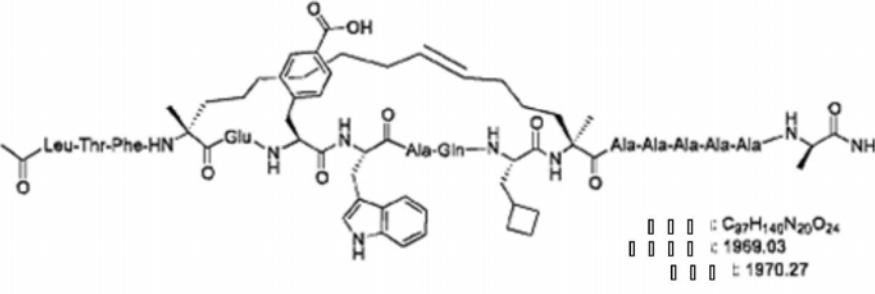


[0830]

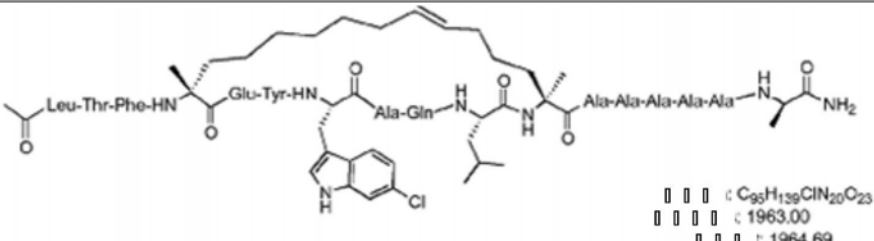
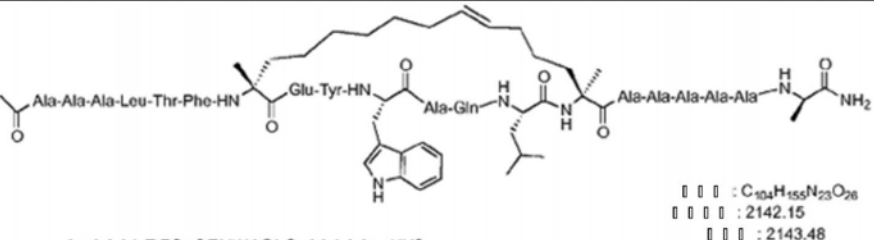
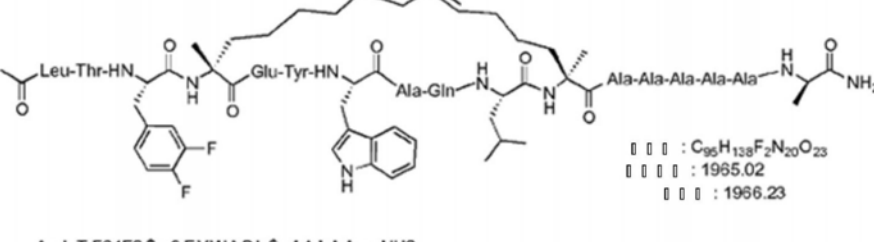
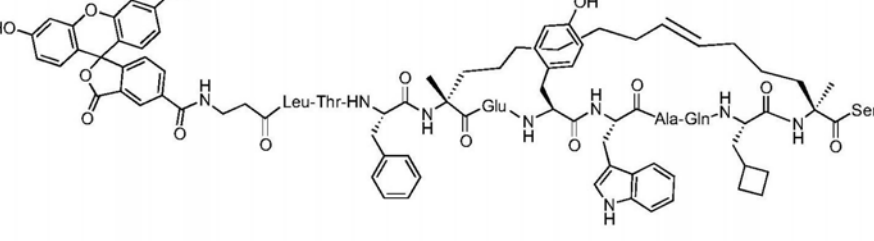
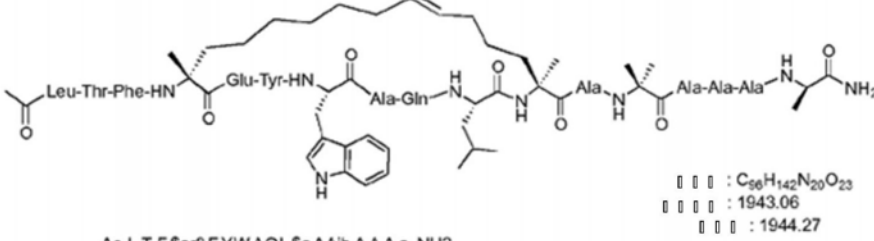
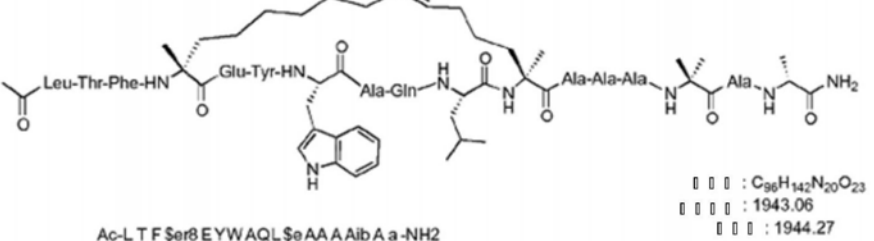
	结构
SP154 (SEQ ID NO: 163)	<div><div><div>： C<sub>87</sub>H<sub>125</sub>N<sub>17</sub>O<sub>21</sub></div><div>： 1743.92</div><div>： 1745.02</div></div></div> <p>Ac-L T F \$er8 EYWAQCba \$e SAA -NH2</p>
SP115 (SEQ ID NO: 124)	<div><div><div>： C<sub>85</sub>H<sub>125</sub>N<sub>17</sub>O<sub>19</sub></div><div>： 1687.93</div><div>： 1689.00</div></div></div> <p>Ac-L T F \$er8 AYWAQhL \$e SAA -NH2</p>
SP114 (SEQ ID NO: 123)	<div><div><div>： C<sub>85</sub>H<sub>125</sub>N<sub>17</sub>O<sub>19</sub></div><div>： 1687.93</div><div>： 1689.00</div></div></div> <p>Ac-L T F \$er8 AYWAQhL \$z SAA -NH2</p>
SP99 (SEQ ID NO: 108)	<div><div><div>： C<sub>94</sub>H<sub>122</sub>ClN<sub>17</sub>O<sub>19</sub></div><div>： 1707.88</div><div>： 1709.42</div></div></div> <p>Ac-L T F \$er8 AY6clWAQL \$e SAA -NH2</p>
SP388 (SEQ ID NO: 397)	<div><div><div>： C<sub>91</sub>H<sub>139</sub>N<sub>15</sub>O<sub>18</sub></div><div>： 1785.02</div><div>： 1786.16</div></div></div> <p>Ac-L T F \$er8 AYAmwAQL \$e AA Nla A -NH2</p>

SP331 (SEQ ID NO: 340)	<p> <math>C_{95}H_{140}N_{20}O_{23}</math>  <math>1929.04</math>  <math>1930.25</math> </p> <p>Ac-L T F Ser8 EYWAQL Se AAAAA a-NH2</p>
SP445 (SEQ ID NO: 454)	<p> <math>C_{95}H_{142}N_{20}O_{23}</math>  <math>1931.06</math>  <math>1932.26</math> </p> <p>Ac-L T F %r8 EYWAQL % AAAAA a-NH2</p>
SP351 (SEQ ID NO: 360)	<p> <math>C_{98}H_{143}N_{25}O_{24}</math>  <math>1957.03</math>  <math>1958.26</math> </p> <p>Ac-L T F Ser8 EYWSQCba Se AAAAA a-NH2</p>
SP71 (SEQ ID NO: 80)	<p> <math>C_{90}H_{134}N_{18}O_{19}</math>  <math>1771.01</math>  <math>1772.14</math> </p> <p>Ac-L T F Ser8 AYWAQL Se AA I a-NH2</p>
SP69 (SEQ ID NO: 78)	<p> <math>C_{90}H_{134}N_{18}O_{19}</math>  <math>1771.01</math>  <math>1772.14</math> </p> <p>Ac-L T F Ser8 AYWAQL Se AA Nie A-NH2</p>
SP7 (SEQ ID NO: 16)	<p> <math>C_{90}H_{127}N_{17}O_{19}</math>  <math>1749.95</math>  <math>1751.07</math> </p> <p>Ac-L T F Sr8 AYWAQL \$SA F-NH2</p>

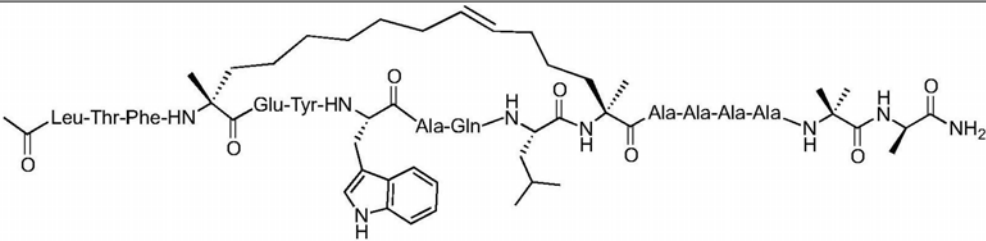
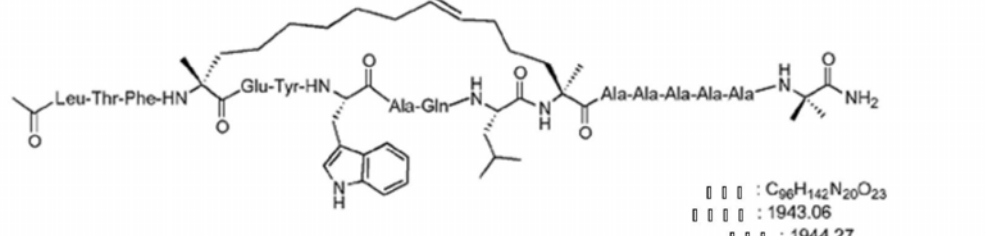
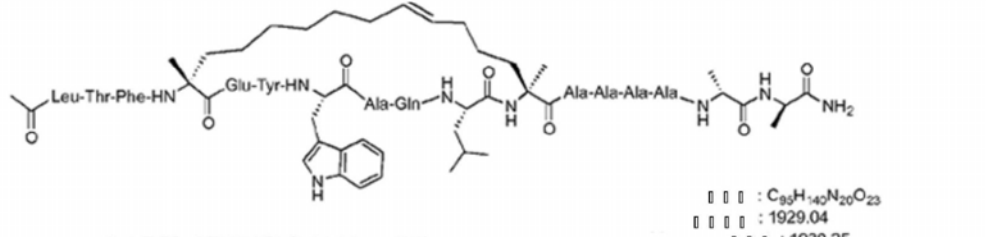
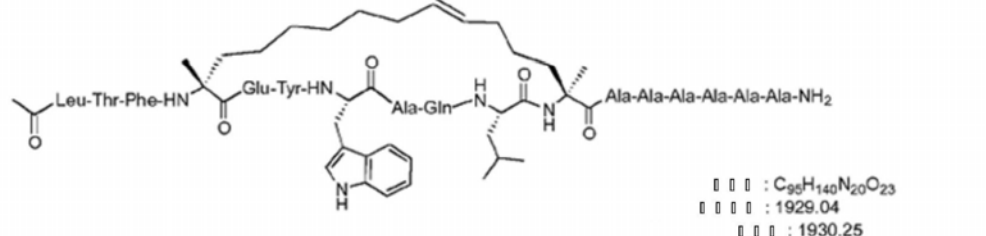
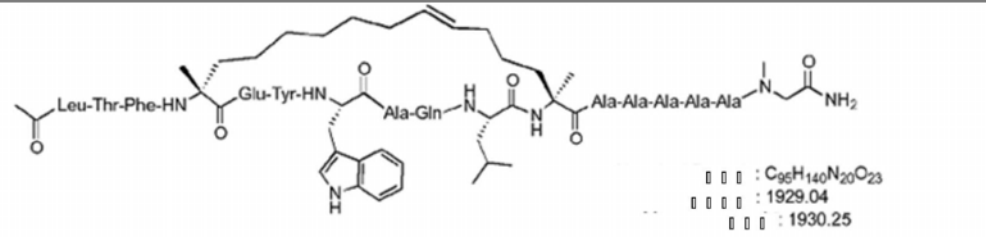
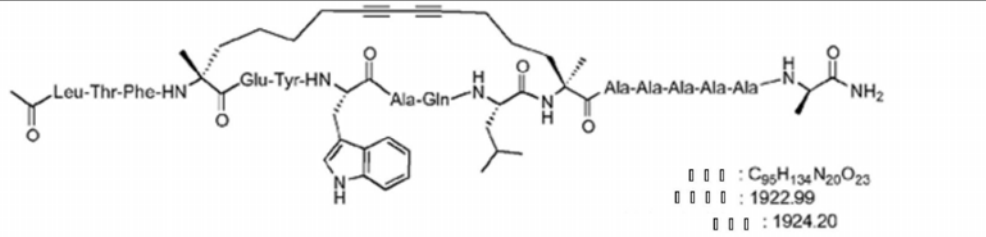
[0832]

SP160 (SEQ ID NO: 169)	 <p> <math>C_{37}H_{123}F_2N_{17}O_{21}</math>  <math>1781.92</math>  <math>1783.02</math> </p> <p>Ac-L T F34F2 \$er8 E YWAQhL Se SAA -NH2</p>
SP315 (SEQ ID NO: 324)	 <p> <math>C_{93}H_{138}N_{20}O_{21}</math>  <math>1871.03</math>  <math>1872.21</math> </p> <p>Ac-L T F \$er8 A YWAQL Se AAAAA a -NH2</p>
SP249 (SEQ ID NO: 258)	 <p> <math>C_{94}H_{135}N_{18}O_{22}</math>  <math>1869.01</math>  <math>1870.19</math> </p> <p>Ac-L T F \$er8 E F4cooh WAQCba Se AA-l-a -NH2</p>
SP437 (SEQ ID NO: 446)	 <p> <math>C_{95}H_{143}N_{21}O_{21}</math>  <math>1914.08</math>  <math>1915.28</math> </p> <p>Dmaso- L T F \$er8 A YWAQL Se AAAAA a -NH2</p>
SP349 (SEQ ID NO: 358)	 <p> <math>C_{97}H_{140}N_{20}O_{24}</math>  <math>1969.03</math>  <math>1970.27</math> </p> <p>Ac-L T F \$er8 E F4cooh WAQCba Se AAAAA a -NH2</p>

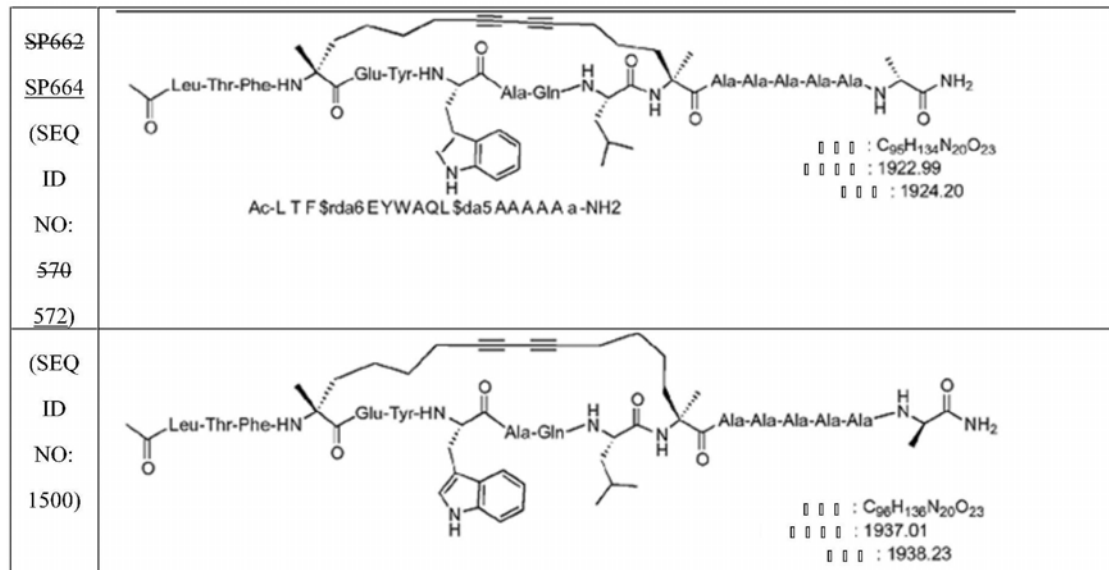
[0833]

SP555 (SEQ ID NO: 464)	 <p> <math>C_{95}H_{139}ClN_{20}O_{23}</math>  <math>1963.00</math>  <math>1964.69</math> </p> <p>Ac-L T F Ser8 EY6clWAQL Se AAAAA a-NH2</p>
SP557 (SEQ ID NO: 466)	 <p> <math>C_{104}H_{155}N_{23}O_{28}</math>  <math>2142.15</math>  <math>2143.48</math> </p> <p>Ac-AAALTF Ser8 EYWAQL Se AAAAA a-NH2</p>
SP558 (SEQ ID NO: 467)	 <p> <math>C_{95}H_{138}F_2N_{20}O_{23}</math>  <math>1965.02</math>  <math>1966.23</math> </p> <p>Ac-L T F34F2 Ser8 EYWAQL Se AAAAA a-NH2</p>
SP367 (SEQ ID NO: 376)	 <p>5-FAM- Ba L T F Ser8 EYWAQCba Se SAA -NH2</p>
SP562 (SEQ ID NO: 471)	 <p> <math>C_{96}H_{142}N_{20}O_{23}</math>  <math>1943.06</math>  <math>1944.27</math> </p> <p>Ac-L T F Ser8 EYWAQL Se AAib AAA a-NH2</p>
SP564 (SEQ ID NO: 473)	 <p> <math>C_{96}H_{142}N_{20}O_{23}</math>  <math>1943.06</math>  <math>1944.27</math> </p> <p>Ac-L T F Ser8 EYWAQL Se AAA Aib A a-NH2</p>

[0834]

SP566 (SEQ ID NO: 475)	
SP567 (SEQ ID NO: 476)	 <p> <math>C_{90}H_{142}N_{20}O_{23}</math>  1943.06  1944.27 </p> <p>Ac-LTTF\$er8EYWAQL\$eAAAAaib-NH2</p>
SP572 (SEQ ID NO: 480 481)	 <p> <math>C_{95}H_{140}N_{20}O_{23}</math>  1929.04  1930.25 </p> <p>Ac-LTTF\$er8EYWAQL\$eAAAAa-NH2</p>
SP573 (SEQ ID NO: 482)	 <p> <math>C_{95}H_{140}N_{20}O_{23}</math>  1929.04  1930.25 </p> <p>Ac-LTTF\$er8EYWAQL\$eAAAAAA-NH2</p>
SP578 (SEQ ID NO: 487)	 <p> <math>C_{95}H_{140}N_{20}O_{23}</math>  1929.04  1930.25 </p> <p>Ac-LTTF\$er8EYWAQL\$eAAAAASar-NH2</p>
SP664 (SEQ ID NO: 572)	 <p> <math>C_{95}H_{134}N_{20}O_{23}</math>  1922.99  1924.20 </p> <p>Ac-LTF\$rd6EYWAQL\$da5AAAAAa-NH2</p> <p>Ac-LTF\$rd6EYWAQL\$da5AAAAAa-NH2</p>

[0835]



[0836] 在一些实施方案中,拟肽大环化合物不包括表2a所示的拟肽大环化合物:

[0837] 表2a

[0838]

编号	序列	SEQ ID NO:
1	L\$r5QETFSD\$s8WKLLPEN	693
2	LSQ\$r5TFSDLW\$s8LLPEN	694
3	LSQE\$r5FSDLWK\$s8LPEN	695
4	LSQET\$r5SSDLWKL\$s8PEN	696
5	LSQETF\$r5DLWKLL\$s8EN	697
6	LXQETFS\$r5LWKLLP\$s8N	698
7	LSQETFSD\$r5WKLLPE\$s8	699
8	LSQQTF\$r5DLWKLL\$s8EN	700
9	LSQETF\$r5DLWKLL\$s8QN	701
10	LSQQTF\$r5DLWKLL\$s8QN	702
11	LSQETF\$r5NLWKLL\$s8QN	703
12	LSQQTF\$r5NLWKLL\$s8QN	704
13	LSQQTF\$r5NLWRLL\$s8QN	705
14	QSQQTF\$r5NLWKLL\$s8QN	706
15	QSQQTF\$r5NLWRLL\$s8QN	707
16	QSQQTA\$r5NLWRLL\$s8QN	708
17	L\$r8QETFSD\$WKLLPEN	709
18	LSQ\$r8TFSDLW\$LLPEN	710

[0839]

19	LSQE\$r8FSDLWK\$LPEN	711
20	LSQET\$r8SDLWKL\$PEN	712
21	LSQETF\$r8DLWKLL\$EN	713
22	LXQETF\$r8LWKLLP\$N	714
23	LSQETFSD\$r8WKLLPE\$	715
24	LSQQTF\$r8DLWKLL\$EN	716
25	LSQETF\$r8DLWKLL\$QN	717
26	LSQQTF\$r8DLWKLL\$QN	718
27	LSQETF\$r8NLWKLL\$QN	719
28	LSQQTF\$r8NLWKLL\$QN	720
29	LSQQTF\$r8NLWRLL\$QN	721
30	QSQQTF\$r8NLWKLL\$QN	722
31	QSQQTF\$r8NLWRLL\$QN	723
32	QSQQTAr8NLWRLL\$QN	724
33	QSQQTF\$r8NLWRKK\$QN	725
34	QQTF\$r8DLWRLL\$EN	726
35	QQTF\$r8DLWRLL\$	727
36	LSQQTF\$DLW\$LL	728
37	QQTF\$DLW\$LL	729
38	QQTAr8DLWRLL\$EN	730
39	QSQQTF\$r5NLWRLL\$s8QN (二羧化烯烃)	731
40	QSQQTAr5NLWRLL\$s8QN (二羧化烯烃)	732
41	QSQQTF\$r8DLWRLL\$QN	733
42	QTF\$r8NLWRLL\$	734
43	QSQQTF\$NLW\$LLPQN	735
44	QS\$QTF\$NLWRLLPQN	736
45	\$TF\$DLWKLL	737
46	ETF\$DLW\$LL	738
47	QTF\$NLW\$LL	739
48	\$SQE\$F\$NLWKLL	740

[0840] 在表2中,X表示S或任意氨基酸。所示的肽可包含N-末端封端基团如乙酰基或另外的连接体,如在封端基团与肽序列的起点之间的 $\beta$ -丙氨酸。

[0841] 在一些实施方案中,拟肽大环化合物不包含如表2a所示的拟肽大环化合物结构。

[0842] 在其它实施方案中,拟肽大环化合物不包括表2b所示的拟肽大环化合物。

[0843] 表2b

[0844]

编号	序列	SEQ ID NO:	准确质量	M+2	实测质量 (m/e)
1	Ac-LSQETF\$r8DLWKLL\$EN-NH2	741	2068.13	1035.07	1035.36
2	Ac-LSQETF\$r8NLWKLL\$QN-NH2	742	2066.16	1034.08	1034.31
3	Ac-LSQQTf\$r8NLWRLl\$QN-NH2	743	2093.18	1047.59	1047.73
4	Ac-QSQQTf\$r8NLWKLL\$QN-NH2	744	2080.15	1041.08	1041.31
5	Ac-QSQQTf\$r8NLWRLl\$QN-NH2	745	2108.15	1055.08	1055.32
6	Ac-QSQQTa\$r8NLWRLl\$QN-NH2	746	2032.12	1017.06	1017.24
7	Ac-QAibQQTf\$r8NLWRLl\$QN-NH2	747	2106.17	1054.09	1054.34
8	Ac-QSQQTf\$NLWRLlPQN-NH2	748	2000.02	1001.01	1001.26
9	Ac-QSQQTf\$/r8NLWRLl\$/QN-NH2	749	2136.18	1069.09	1069.37
10	Ac-QSQAibTF\$r8NLWRLl\$QN-NH2	750	2065.15	1033.58	1033.71
11	Ac-QSQQTf\$r8NLWRLl\$AN-NH2	751	2051.13	1026.57	1026.70
12	Ac-ASQQTf\$r8NLWRLl\$QN-NH2	752	2051.13	1026.57	1026.90
13	Ac-QSQQTf\$r8ALWRLl\$QN-NH2	753	2065.15	1033.58	1033.41
14	Ac-QSQETf\$r8NLWRLl\$QN-NH2	754	2109.14	1055.57	1055.70
15	Ac-RSQQTf\$r8NLWRLl\$QN-NH2	755	2136.20	1069.10	1069.17
16	Ac-RSQQTf\$r8NLWRLl\$EN-NH2	756	2137.18	1069.59	1069.75
17	Ac-LSQETf\$DLWKLLPEN-NH2	757	1959.99	981.00	981.24
18	Ac-QSQ\$Tf\$NLWRLlPQN-NH2	758	2008.09	1005.05	1004.97
19	Ac-QSQQ\$F\$NLWRLlPQN-NH2	759	2036.06	1019.03	1018.86
20	Ac-QSQQTf\$NLWRLlPQN-NH2	760	1917.04	959.52	959.32
21	Ac-QSQQTf\$NLWRLlPQN-NH2	761	2007.06	1004.53	1004.97
22	Ac-RTQATf\$r8NQWAibANle\$TNAibTR-NH2	762	2310.26	1156.13	1156.52
23	Ac-QSQQTf\$r8NLWRLl\$RN-NH2	763	2136.20	1069.10	1068.94
24	Ac-QSQRTf\$r8NLWRLl\$QN-NH2	764	2136.20	1069.10	1068.94
25	Ac-QSQQTf\$r8NNleWRLl\$QN-NH2	765	2108.15	1055.08	1055.44
26	Ac-QSQQTf\$r8NLWRNleL\$QN-NH2	766	2108.15	1055.08	1055.84
27	Ac-QSQQTf\$r8NLWRLNle\$QN-NH2	767	2108.15	1055.08	1055.12
28	Ac-QSQQTY\$r8NLWRLl\$QN-NH2	768	2124.15	1063.08	1062.92
29	Ac-RAibQQTf\$r8NLWRLl\$QN-NH2	769	2134.22	1068.11	1068.65
30	Ac-MPRFMDYWEGLN-NH2	770	1598.70	800.35	800.45
31	Ac-RSQQRF\$r8NLWRLl\$QN-NH2	771	2191.25	1096.63	1096.83
32	Ac-QSQQRF\$r8NLWRLl\$QN-NH2	772	2163.21	1082.61	1082.87
33	Ac-RAibQQRF\$r8NLWRLl\$QN-NH2	773	2189.27	1095.64	1096.37
34	Ac-RSQQRF\$r8NFWRLl\$QN-NH2	774	2225.23	1113.62	1114.37
35	Ac-RSQQRF\$r8NYWRLl\$QN-NH2	775	2241.23	1121.62	1122.37
36	Ac-RSQQTf\$r8NLWQLl\$QN-NH2	776	2108.15	1055.08	1055.29
37	Ac-QSQQTf\$r8NLWQAmLl\$QN-NH2	777	2094.13	1048.07	1048.32



[0845]

38	Ac-QSQQTF\$r8NAmlWRLl\$QN-NH2	778	2122.17	1062.09	1062.35
39	Ac-NlcPRF\$r8DYWEGL\$QN-NH2	779	1869.98	935.99	936.20
40	Ac-NlcPRF\$r8NYWRLl\$QN-NH2	780	1952.12	977.06	977.35
41	Ac-RF\$r8NLWRLl\$Q-NH2	781	1577.96	789.98	790.18
42	Ac-QSQQTF\$r8N2ffWRLl\$QN-NH2	782	2160.13	1081.07	1081.40
43	Ac-QSQQTF\$r8N3ffWRLl\$QN-NH2	783	2160.13	1081.07	1081.34
44	Ac-QSQQTF#r8NLWRLl#QN-NH2	784	2080.12	1041.06	1041.34
45	Ac-RSQQTAr8NLWRLl\$QN-NH2	785	2060.16	1031.08	1031.38
46	Ac-QSQQTF\$r8NLWRLl%QN-NH2	786	2110.17	1056.09	1056.55
47	HepQSQ\$TFSNLWRLlPQN-NH2	787	2051.10	1026.55	1026.82
48	HepQSQ\$TF\$r8NLWRLl\$QN-NH2	788	2159.23	1080.62	1080.89
49	Ac-QSQQTF\$r8NL6clWRLl\$QN-NH2	789	2142.11	1072.06	1072.35
50	Ac-QSQQTF\$r8NLMe6clwRLl\$QN-NH2	790	2156.13	1079.07	1079.27
51	Ac-LTFEHYWAQLTS-NH2	791	1535.74	768.87	768.91
52	Ac-LTF\$HYW\$QLTS-NH2	792	1585.83	793.92	794.17
53	Ac-LTF\$YWA\$LTS-NH2	793	1520.79	761.40	761.67
54	Ac-LTF\$zr8HYWAQL\$zS-NH2	794	1597.87	799.94	800.06
55	Ac-LTF\$r8HYWRQL\$S-NH2	795	1682.93	842.47	842.72
56	Ac-QS\$QTFStNLWRLl\$s8QN-NH2	796	2145.21	1073.61	1073.90
57	Ac-QSQQTASNLWRLlPQN-NH2	797	1923.99	963.00	963.26
58	Ac-QSQQTAr8NLWRLl\$/QN-NH2	798	2060.15	1031.08	1031.24
59	Ac-ASQQTF\$/r8NLWRLl\$/QN-NH2	799	2079.16	1040.58	1040.89
60	Ac-\$SQQ\$FSNLWRLlAibQN-NH2	800	2009.09	1005.55	1005.86
61	Ac-QS\$QTF\$NLWRLlAibQN-NH2	801	2023.10	1012.55	1012.79
62	Ac-QSQQ\$FSN\$WRLlAibQN-NH2	802	2024.06	1013.03	1013.31
63	Ac-QSQQTF\$NLW\$LLAibQN-NH2	803	1995.06	998.53	998.87
64	Ac-QSQQTF\$SLWR\$LAibQN-NH2	804	2011.06	1006.53	1006.83
65	Ac-QSQQTF\$NLW\$LLA\$N-NH2	805	1940.02	971.01	971.29
66	Ac-\$/SQQ\$/FSNLWRLlAibQN-NH2	806	2037.12	1019.56	1019.78
67	Ac-QS\$/QTF\$/NLWRLlAibQN-NH2	807	2051.13	1026.57	1026.90
68	Ac-QSQQ\$/FSN\$/WRLlAibQN-NH2	808	2052.09	1027.05	1027.36
69	Ac-QSQQTF\$/NLW\$/LLAibQN-NH2	809	2023.09	1012.55	1013.82
70	Ac-QSQ\$TF\$SLWRLlAibQN-NH2	810	1996.09	999.05	999.39
71	Ac-QSQ\$/TF\$SLWRLlAibQN-NH2	811	2024.12	1013.06	1013.37
72	Ac-QS\$/QTFSt/NLWRLl\$/s8QN-NH2	812	2201.27	1101.64	1102.00
73	Ac-\$r8SQQTF\$SLWRLlAibQN-NH2	813	2038.14	1020.07	1020.23
74	Ac-QSQ\$r8TFSNLW\$LLAibQN-NH2	814	1996.08	999.04	999.32
75	Ac-QSQQTF\$r8LWRLlA\$N-NH2	815	2024.12	1013.06	1013.37
76	Ac-QS\$r5QTFStNLW\$LLAibQN-NH2	816	2032.12	1017.06	1017.39
77	Ac-\$/r8SQQTF\$SLWRLlAibQN-NH2	817	2066.17	1034.09	1034.80
78	Ac-QSQ\$/r8TFSNLW\$/LLAibQN-NH2	818	2024.11	1013.06	1014.34
79	Ac-QSQQTF\$SLWRLlA\$/N-NH2	819	2052.15	1027.08	1027.16
80	Ac-QS\$/r5QTFSt/NLW\$/LLAibQN-NH2	820	2088.18	1045.09	1047.10
81	Ac-QSQQTF\$NLWRLlAibQN-NH2	821	1988.02	995.01	995.31
82	Hep/QSQ\$/TF\$/r8NLWRLl\$/QN-NH2	822	2215.29	1108.65	1108.93
83	Ac-ASQQTF\$r8NLRWLL\$QN-NH2	823	2051.13	1026.57	1026.90
84	Ac-QSQQTF\$/r8NLWRLl\$/Q-NH2	824	2022.14	1012.07	1012.66
85	Ac-QSQQTF\$r8NLWRLl\$Q-NH2	825	1994.11	998.06	998.42
86	Ac-AAARAA\$r8AAARAA\$AA-NH2	826	1515.90	758.95	759.21
87	Ac-LTFEHYWAQLTSA-NH2	827	1606.78	804.39	804.59
88	Ac-LTF\$r8HYWAQL\$SA-NH2	828	1668.90	835.45	835.67
89	Ac-ASQQTF\$NLWRLlPQN-NH2	829	1943.00	972.50	973.27

[0846]

90	Ac-QS\$QTFStNLW\$r5LLAibQN-NH2	830	2032.12	1017.06	1017.30
91	Ac-QSQQTFAibNLWRLLAibQN-NH2	831	1986.04	994.02	994.19
92	Ac-QSQQTFNleNLWRLNleQN-NH2	832	2042.11	1022.06	1022.23
93	Ac-QSQQTF\$r8NLWRLLAibQN-NH2	833	2082.14	1042.07	1042.23
94	Ac-QSQQTF\$r8NLWRLNleQN-NH2	834	2110.17	1056.09	1056.29
95	Ac-QSQQTFAibNLWRL\$/QN-NH2	835	2040.09	1021.05	1021.25
96	Ac-QSQQTFNleNLWRL\$/QN-NH2	836	2068.12	1035.06	1035.31
97	Ac-QSQQTF\$r8NL6clWRNleL%QN-NH2	837	2144.13	1073.07	1073.32
98	Ac-QSQQTF\$r8NLMe6clWRL%QN-NH2	838	2158.15	1080.08	1080.31
101	Ac-FNle\$YWE\$L-NH2	839	1160.63	-	1161.70
102	Ac-F\$r8AYWELL\$A-NH2	840	1344.75	-	1345.90
103	Ac-F\$r8AYWQLL\$A-NH2	841	1343.76	-	1344.83
104	Ac-NlePRF\$r8NYWELL\$QN-NH2	842	1925.06	963.53	963.69
105	Ac-NlePRF\$r8DYWRL\$QN-NH2	843	1953.10	977.55	977.68
106	Ac-NlePRF\$r8NYWRL\$Q-NH2	844	1838.07	920.04	920.18
107	Ac-NlePRF\$r8NYWRL\$-NH2	845	1710.01	856.01	856.13
108	Ac-QSQQTF\$r8DLWRL\$QN-NH2	846	2109.14	1055.57	1055.64
109	Ac-QSQQTF\$r8NLWRL\$EN-NH2	847	2109.14	1055.57	1055.70
110	Ac-QSQQTF\$r8NLWRL\$QD-NH2	848	2109.14	1055.57	1055.64
111	Ac-QSQQTF\$r8NLWRL\$S-NH2	849	1953.08	977.54	977.60
112	Ac-ESQQTF\$r8NLWRL\$QN-NH2	850	2109.14	1055.57	1055.70
113	Ac-LTF\$r8NLWRNleL\$Q-NH2	851	1635.99	819.00	819.10
114	Ac-LRF\$r8NLWRNleL\$Q-NH2	852	1691.04	846.52	846.68
115	Ac-QSQQTF\$r8NWWRNleL\$QN-NH2	853	2181.15	1091.58	1091.64
116	Ac-QSQQTF\$r8NLWRNleL\$Q-NH2	854	1994.11	998.06	998.07
117	Ac-QTF\$r8NLWRNleL\$QN-NH2	855	1765.00	883.50	883.59
118	Ac-NlePRF\$r8NWWRL\$QN-NH2	856	1975.13	988.57	988.75
119	Ac-NlePRF\$r8NWWRL\$A-NH2	857	1804.07	903.04	903.08
120	Ac-TSFAEYWNLNH2	858	1467.70	734.85	734.90
121	Ac-QTF\$r8HWWSQL\$S-NH2	859	1651.85	826.93	827.12
122	Ac-FM\$YWE\$L-NH2	860	1178.58	-	1179.64
123	Ac-QTFEHWWSQLS-NH2	861	1601.76	801.88	801.94
124	Ac-QSQQTF\$r8NLAmwRLNle\$QN-NH2	862	2122.17	1062.09	1062.24
125	Ac-FMAibY6clWEAc3cL-NH2	863	1130.47	-	1131.53
126	Ac-FNle\$Y6clWE\$L-NH2	864	1194.59	-	1195.64
127	Ac-F\$zr8AY6clWEAc3cL\$z-NH2	865	1277.63	639.82	1278.71
128	Ac-F\$r8AY6clWEAc3cL\$A-NH2	866	1348.66	-	1350.72
129	Ac-NlePRF\$r8NY6clWRL\$QN-NH2	867	1986.08	994.04	994.64
130	Ac-AF\$r8AAWALA\$A-NH2	868	1223.71	-	1224.71
131	Ac-TF\$r8AAWRLA\$Q-NH2	869	1395.80	698.90	399.04
132	Pr-TF\$r8AAWRLA\$Q-NH2	870	1409.82	705.91	706.04
133	Ac-QSQQTF\$r8NLWRNleL%QN-NH2	871	2110.17	1056.09	1056.22
134	Ac-LTF\$r8HYWAQL%SA-NH2	872	1670.92	836.46	836.58
135	Ac-NlePRF\$r8NYWRL%QN-NH2	873	1954.13	978.07	978.19
136	Ac-NlePRF\$r8NY6clWRL%QN-NH2	874	1988.09	995.05	995.68
137	Ac-LTF\$r8HY6clWAQL%S-NH2	875	1633.84	817.92	817.93
138	Ac-QS%QTF%StNLWRL%\$s8QN-NH2	876	2149.24	1075.62	1075.65
139	Ac-LTF\$r8HY6clWRQL%S-NH2	877	1718.91	860.46	860.54
140	Ac-QSQQTF\$r8NL6clWRL%QN-NH2	878	2144.13	1073.07	1073.64
141	Ac-%r8SQQTFS%LWRLAibQN-NH2	879	2040.15	1021.08	1021.13
142	Ac-LTF\$r8HYWAQL%S-NH2	880	1599.88	800.94	801.09
143	Ac-TSF\$r8QYWNLL%P-NH2	881	1602.88	802.44	802.58

[0847]

147	Ac-LTFEHYWAQLTS-NH2	882	1535.74	768.87	769.5
152	Ac-F\$er8AY6clWEAc3cL\$e-NH2	883	1277.63	639.82	1278.71
153	Ac-AF\$r8AAWALAS\$A-NH2	884	1277.63	639.82	1277.84
154	Ac-TF\$r8AAWRLA\$Q-NH2	885	1395.80	698.90	699.04
155	Pr-TF\$r8AAWRLA\$Q-NH2	886	1409.82	705.91	706.04
156	Ac-LTF\$er8HYWAQL\$eS-NH2	887	1597.87	799.94	800.44
159	Ac-CCPGCCBaQSQQTF\$r8NLWRL\$QN-NH2	888	2745.30	1373.65	1372.99
160	Ac-CCPGCCBaQSQQTA\$r8NLWRL\$QN-NH2	889	2669.27	1335.64	1336.09
161	Ac-CCPGCCBaNlePRF\$r8NYWRL\$QN-NH2	890	2589.26	1295.63	1296.2
162	Ac-LTF\$/r8HYWAQL\$/S-NH2	891	1625.90	813.95	814.18
163	Ac-F%r8HY6clWRAc3cL%-NH2	892	1372.72	687.36	687.59
164	Ac-QTF%r8HWWSQL%S-NH2	893	1653.87	827.94	827.94
165	Ac-LTA\$r8HYWRQL\$S-NH2	894	1606.90	804.45	804.66
166	Ac-Q\$r8QQTF\$N\$WRLAibQN-NH2	895	2080.12	1041.06	1041.61
167	Ac-QSQQ\$r8FSNLWR\$LAibQN-NH2	896	2066.11	1034.06	1034.58
168	Ac-F\$r8AYWEAc3cL\$A-NH2	897	1314.70	658.35	1315.88
169	Ac-F\$r8AYWEAc3cL\$S-NH2	898	1330.70	666.35	1331.87
170	Ac-F\$r8AYWEAc3cL\$Q-NH2	899	1371.72	686.86	1372.72
171	Ac-F\$r8AYWEAibL\$S-NH2	900	1332.71	667.36	1334.83
172	Ac-F\$r8AYWEAL\$S-NH2	901	1318.70	660.35	1319.73
173	Ac-F\$r8AYWEQL\$S-NH2	902	1375.72	688.86	1377.53
174	Ac-F\$r8HYWEQL\$S-NH2	903	1441.74	721.87	1443.48
175	Ac-F\$r8HYWAQL\$S-NH2	904	1383.73	692.87	1385.38
176	Ac-F\$r8HYWAAc3cL\$S-NH2	905	1338.71	670.36	1340.82
177	Ac-F\$r8HYWRAc3cL\$S-NH2	906	1423.78	712.89	713.04
178	Ac-F\$r8AYWEAc3cL#A-NH2	907	1300.69	651.35	1302.78
179	Ac-NlePTF%r8NYWRL\$QN-NH2	908	1899.08	950.54	950.56
180	Ac-TF\$r8AAWRAL\$Q-NH2	909	1395.80	698.90	699.13
181	Ac-TSF%r8HYWAQL%S-NH2	910	1573.83	787.92	787.98
184	Ac-F%r8AY6clWEAc3cL%A-NH2	911	1350.68	676.34	676.91
185	Ac-LTF\$r8HYWAQI\$S-NH2	912	1597.87	799.94	800.07
186	Ac-LTF\$r8HYWAQNle\$S-NH2	913	1597.87	799.94	800.07
187	Ac-LTF\$r8HYWAQL\$A-NH2	914	1581.87	791.94	792.45
188	Ac-LTF\$r8HYWAQL\$Abu-NH2	915	1595.89	798.95	799.03
189	Ac-LTF\$r8HYWAbuQL\$S-NH2	916	1611.88	806.94	807.47
190	Ac-LTF\$er8AYWAQL\$eS-NH2	917	1531.84	766.92	766.96
191	Ac-LAF\$r8HYWAQL\$S-NH2	918	1567.86	784.93	785.49
192	Ac-LAF\$r8AYWAQL\$S-NH2	919	1501.83	751.92	752.01
193	Ac-LTF\$er8AYWAQL\$eA-NH2	920	1515.85	758.93	758.97
194	Ac-LAF\$r8AYWAQL\$A-NH2	921	1485.84	743.92	744.05
195	Ac-LTF\$r8NLWANleL\$Q-NH2	922	1550.92	776.46	776.61
196	Ac-LTF\$r8NLWANleL\$A-NH2	923	1493.90	747.95	1495.6
197	Ac-LTF\$r8ALWANleL\$Q-NH2	924	1507.92	754.96	755
198	Ac-LAF\$r8NLWANleL\$Q-NH2	925	1520.91	761.46	761.96
199	Ac-LAF\$r8ALWANleL\$A-NH2	926	1420.89	711.45	1421.74
200	Ac-A\$r8AYWEAc3cL\$A-NH2	927	1238.67	620.34	1239.65
201	Ac-F\$r8AYWEAc3cL\$AA-NH2	928	1385.74	693.87	1386.64
202	Ac-F\$r8AYWEAc3cL\$Abu-NH2	929	1328.72	665.36	1330.17
203	Ac-F\$r8AYWEAc3cL\$Nle-NH2	930	1356.75	679.38	1358.22
204	Ac-F\$r5AYWEAc3cL\$8A-NH2	931	1314.70	658.35	1315.51
205	Ac-F\$AYWEAc3cL\$r8A-NH2	932	1314.70	658.35	1315.66
206	Ac-F\$r8AYWEAc3cL\$A-NH2	933	1314.70	658.35	1316.18

[0848]

207	Ac-F\$8AYWEAc3cNle\$A-NH2	934	1314.70	658.35	1315.66
208	Ac-F\$8AYWEAmlL\$A-NH2	935	1358.76	680.38	1360.21
209	Ac-F\$8AYWENleL\$A-NH2	936	1344.75	673.38	1345.71
210	Ac-F\$8AYWQAc3cL\$A-NH2	937	1313.72	657.86	1314.7
211	Ac-F\$8AYWAAc3cL\$A-NH2	938	1256.70	629.35	1257.56
212	Ac-F\$8AYWAbuAc3cL\$A-NH2	939	1270.71	636.36	1272.14
213	Ac-F\$8AYWNleAc3cL\$A-NH2	940	1298.74	650.37	1299.67
214	Ac-F\$8AbuYWEAc3cL\$A-NH2	941	1328.72	665.36	1329.65
215	Ac-F\$8NleYWEAc3cL\$A-NH2	942	1356.75	679.38	1358.66
216	5-FAM-BaLTFEHYWAQLTS-NH2	943	1922.82	962.41	962.87
217	5-FAM-BaLTF%r8HYWAQL%S-NH2	944	1986.96	994.48	994.97
218	Ac-LTF\$8HYWAQhL\$S-NH2	945	1611.88	806.94	807
219	Ac-LTF\$8HYWAQTle\$S-NH2	946	1597.87	799.94	799.97
220	Ac-LTF\$8HYWAQAdm\$S-NH2	947	1675.91	838.96	839.09
221	Ac-LTF\$8HYWAQhCha\$S-NH2	948	1651.91	826.96	826.98
222	Ac-LTF\$8HYWAQCha\$S-NH2	949	1637.90	819.95	820.02
223	Ac-LTF\$8HYWAc6cQL\$S-NH2	950	1651.91	826.96	826.98
224	Ac-LTF\$8HYWAc5cQL\$S-NH2	951	1637.90	819.95	820.02
225	Ac-LThF\$8HYWAQL\$S-NH2	952	1611.88	806.94	807
226	Ac-LTIgl\$8HYWAQL\$S-NH2	953	1625.90	813.95	812.99
227	Ac-LTF\$8HYWAQChg\$S-NH2	954	1623.88	812.94	812.99
228	Ac-LTF\$8HYWAQF\$S-NH2	955	1631.85	816.93	816.99
229	Ac-LTF\$8HYWAQIgl\$S-NH2	956	1659.88	830.94	829.94
230	Ac-LTF\$8HYWAQCba\$S-NH2	957	1609.87	805.94	805.96
231	Ac-LTF\$8HYWAQCpg\$S-NH2	958	1609.87	805.94	805.96
232	Ac-LTF\$8HhYWAQL\$S-NH2	959	1611.88	806.94	807
233	Ac-F\$8AYWEAc3chL\$A-NH2	960	1328.72	665.36	665.43
234	Ac-F\$8AYWEAc3cTle\$A-NH2	961	1314.70	658.35	1315.62
235	Ac-F\$8AYWEAc3cAdm\$A-NH2	962	1392.75	697.38	697.47
236	Ac-F\$8AYWEAc3chCha\$A-NH2	963	1368.75	685.38	685.34
237	Ac-F\$8AYWEAc3cCha\$A-NH2	964	1354.73	678.37	678.38
238	Ac-F\$8AYWEAc6cL\$A-NH2	965	1356.75	679.38	679.42
239	Ac-F\$8AYWEAc5cL\$A-NH2	966	1342.73	672.37	672.46
240	Ac-hF\$8AYWEAc3cL\$A-NH2	967	1328.72	665.36	665.43
241	Ac-Igl\$8AYWEAc3cL\$A-NH2	968	1342.73	672.37	671.5
243	Ac-F\$8AYWEAc3cF\$A-NH2	969	1348.69	675.35	675.35
244	Ac-F\$8AYWEAc3cIgl\$A-NH2	970	1376.72	689.36	688.37
245	Ac-F\$8AYWEAc3cCba\$A-NH2	971	1326.70	664.35	664.47
246	Ac-F\$8AYWEAc3cCpg\$A-NH2	972	1326.70	664.35	664.39
247	Ac-F\$8AhYWEAc3cL\$A-NH2	973	1328.72	665.36	665.43
248	Ac-F\$8AYWEAc3cL\$Q-NH2	974	1371.72	686.86	1372.87
249	Ac-F\$8AYWEAibL\$A-NH2	975	1316.72	659.36	1318.18
250	Ac-F\$8AYWEAL\$A-NH2	976	1302.70	652.35	1303.75
251	Ac-LAF\$8AYWAAL\$A-NH2	977	1428.82	715.41	715.49
252	Ac-LTF\$8HYWAAc3cL\$S-NH2	978	1552.84	777.42	777.5
253	Ac-NleTF\$8HYWAQL\$S-NH2	979	1597.87	799.94	800.04
254	Ac-VTF\$8HYWAQL\$S-NH2	980	1583.85	792.93	793.04
255	Ac-FTF\$8HYWAQL\$S-NH2	981	1631.85	816.93	817.02
256	Ac-WTF\$8HYWAQL\$S-NH2	982	1670.86	836.43	836.85
257	Ac-RTF\$8HYWAQL\$S-NH2	983	1640.88	821.44	821.9
258	Ac-KTF\$8HYWAQL\$S-NH2	984	1612.88	807.44	807.91
259	Ac-LNleF\$8HYWAQL\$S-NH2	985	1609.90	805.95	806.43

[0849]

260	Ac-LVF\$r8HYWAQL\$S-NH2	986	1595.89	798.95	798.93
261	Ac-LFF\$r8HYWAQL\$S-NH2	987	1643.89	822.95	823.38
262	Ac-LWF\$r8HYWAQL\$S-NH2	988	1682.90	842.45	842.55
263	Ac-LRF\$r8HYWAQL\$S-NH2	989	1652.92	827.46	827.52
264	Ac-LKF\$r8HYWAQL\$S-NH2	990	1624.91	813.46	813.51
265	Ac-LTF\$r8NleYWAQL\$S-NH2	991	1573.89	787.95	788.05
266	Ac-LTF\$r8VYWAQL\$S-NH2	992	1559.88	780.94	780.98
267	Ac-LTF\$r8FYWAQL\$S-NH2	993	1607.88	804.94	805.32
268	Ac-LTF\$r8WYWAQL\$S-NH2	994	1646.89	824.45	824.86
269	Ac-LTF\$r8RYWAQL\$S-NH2	995	1616.91	809.46	809.51
270	Ac-LTF\$r8KYWAQL\$S-NH2	996	1588.90	795.45	795.48
271	Ac-LTF\$r8HNleWAQL\$S-NH2	997	1547.89	774.95	774.98
272	Ac-LTF\$r8HVWAQL\$S-NH2	998	1533.87	767.94	767.95
273	Ac-LTF\$r8HFWAQL\$S-NH2	999	1581.87	791.94	792.3
274	Ac-LTF\$r8HWWAQL\$S-NH2	1000	1620.88	811.44	811.54
275	Ac-LTF\$r8HRWAQL\$S-NH2	1001	1590.90	796.45	796.52
276	Ac-LTF\$r8HKWAQL\$S-NH2	1002	1562.90	782.45	782.53
277	Ac-LTF\$r8HYWNleQL\$S-NH2	1003	1639.91	820.96	820.98
278	Ac-LTF\$r8HYWVQL\$S-NH2	1004	1625.90	813.95	814.03
279	Ac-LTF\$r8HYWFQL\$S-NH2	1005	1673.90	837.95	838.03
280	Ac-LTF\$r8HYWWQL\$S-NH2	1006	1712.91	857.46	857.5
281	Ac-LTF\$r8HYWKQL\$S-NH2	1007	1654.92	828.46	828.49
282	Ac-LTF\$r8HYWANleL\$S-NH2	1008	1582.89	792.45	792.52
283	Ac-LTF\$r8HYWAVL\$S-NH2	1009	1568.88	785.44	785.49
284	Ac-LTF\$r8HYWAFLL\$S-NH2	1010	1616.88	809.44	809.47
285	Ac-LTF\$r8HYWAWL\$S-NH2	1011	1655.89	828.95	829
286	Ac-LTF\$r8HYWARL\$S-NH2	1012	1625.91	813.96	813.98
287	Ac-LTF\$r8HYWAQL\$Nle-NH2	1013	1623.92	812.96	813.39
288	Ac-LTF\$r8HYWAQL\$V-NH2	1014	1609.90	805.95	805.99
289	Ac-LTF\$r8HYWAQL\$F-NH2	1015	1657.90	829.95	830.26
290	Ac-LTF\$r8HYWAQL\$W-NH2	1016	1696.91	849.46	849.5
291	Ac-LTF\$r8HYWAQL\$R-NH2	1017	1666.94	834.47	834.56
292	Ac-LTF\$r8HYWAQL\$K-NH2	1018	1638.93	820.47	820.49
293	Ac-Q\$r8QQTFSN\$WRLLAibQN-NH2	1019	2080.12	1041.06	1041.54
294	Ac-QSQQ\$r8FSNLWR\$LAibQN-NH2	1020	2066.11	1034.06	1034.58
295	Ac-LT2Pal\$r8HYWAQL\$S-NH2	1021	1598.86	800.43	800.49
296	Ac-LT3Pal\$r8HYWAQL\$S-NH2	1022	1598.86	800.43	800.49
297	Ac-LT4Pal\$r8HYWAQL\$S-NH2	1023	1598.86	800.43	800.49
298	Ac-LTF2CF3\$r8HYWAQL\$S-NH2	1024	1665.85	833.93	834.01
299	Ac-LTF2CN\$r8HYWAQL\$S-NH2	1025	1622.86	812.43	812.47
300	Ac-LTF2Me\$r8HYWAQL\$S-NH2	1026	1611.88	806.94	807
301	Ac-LTF3CI\$r8HYWAQL\$S-NH2	1027	1631.83	816.92	816.99
302	Ac-LTF4CF3\$r8HYWAQL\$S-NH2	1028	1665.85	833.93	833.94
303	Ac-LTF4tBu\$r8HYWAQL\$S-NH2	1029	1653.93	827.97	828.02
304	Ac-LTF5F\$r8HYWAQL\$S-NH2	1030	1687.82	844.91	844.96
305	Ac-LTF\$r8HY3BthAAQL\$S-NH2	1031	1614.83	808.42	808.48
306	Ac-LTF2Br\$r8HYWAQL\$S-NH2	1032	1675.78	838.89	838.97
307	Ac-LTF4Br\$r8HYWAQL\$S-NH2	1033	1675.78	838.89	839.86
308	Ac-LTF2CI\$r8HYWAQL\$S-NH2	1034	1631.83	816.92	816.99
309	Ac-LTF4CI\$r8HYWAQL\$S-NH2	1035	1631.83	816.92	817.36
310	Ac-LTF3CN\$r8HYWAQL\$S-NH2	1036	1622.86	812.43	812.47
311	Ac-LTF4CN\$r8HYWAQL\$S-NH2	1037	1622.86	812.43	812.47

[0850]

312	Ac-LTF34C12\$r8HYWAQL\$S-NH2	1038	1665.79	833.90	833.94
313	Ac-LTF34F2\$r8HYWAQL\$S-NH2	1039	1633.85	817.93	817.95
314	Ac-LTF35F2\$r8HYWAQL\$S-NH2	1040	1633.85	817.93	817.95
315	Ac-LTDip\$r8HYWAQL\$S-NH2	1041	1673.90	837.95	838.01
316	Ac-LTF2F\$r8HYWAQL\$S-NH2	1042	1615.86	808.93	809
317	Ac-LTF3F\$r8HYWAQL\$S-NH2	1043	1615.86	808.93	809
318	Ac-LTF4F\$r8HYWAQL\$S-NH2	1044	1615.86	808.93	809
319	Ac-LTF4I\$r8HYWAQL\$S-NH2	1045	1723.76	862.88	862.94
320	Ac-LTF3Me\$r8HYWAQL\$S-NH2	1046	1611.88	806.94	807.07
321	Ac-LTF4Me\$r8HYWAQL\$S-NH2	1047	1611.88	806.94	807
322	Ac-LT1NaI\$r8HYWAQL\$S-NH2	1048	1647.88	824.94	824.98
323	Ac-LT2NaI\$r8HYWAQL\$S-NH2	1049	1647.88	824.94	825.06
324	Ac-LTF3CF3\$r8HYWAQL\$S-NH2	1050	1665.85	833.93	834.01
325	Ac-LTF4NO2\$r8HYWAQL\$S-NH2	1051	1642.85	822.43	822.46
326	Ac-LTF3NO2\$r8HYWAQL\$S-NH2	1052	1642.85	822.43	822.46
327	Ac-LTF\$r82ThiYWAQL\$S-NH2	1053	1613.83	807.92	807.96
328	Ac-LTF\$r8HBipWAQL\$S-NH2	1054	1657.90	829.95	830.01
329	Ac-LTF\$r8HF4tBuWAQL\$S-NH2	1055	1637.93	819.97	820.02
330	Ac-LTF\$r8HF4CF3WAQL\$S-NH2	1056	1649.86	825.93	826.02
331	Ac-LTF\$r8HF4CIWAQL\$S-NH2	1057	1615.83	808.92	809.37
332	Ac-LTF\$r8HF4MeWAQL\$S-NH2	1058	1595.89	798.95	799.01
333	Ac-LTF\$r8HF4BrWAQL\$S-NH2	1059	1659.78	830.89	830.98
334	Ac-LTF\$r8HF4CNWAQL\$S-NH2	1060	1606.87	804.44	804.56
335	Ac-LTF\$r8HF4NO2WAQL\$S-NH2	1061	1626.86	814.43	814.55
336	Ac-LTF\$r8H1NaIWAQL\$S-NH2	1062	1631.89	816.95	817.06
337	Ac-LTF\$r8H2NaIWAQL\$S-NH2	1063	1631.89	816.95	816.99
338	Ac-LTF\$r8HWAQL\$S-NH2	1064	1434.80	718.40	718.49
339	Ac-LTF\$r8HY1NaIWAQL\$S-NH2	1065	1608.87	805.44	805.52
340	Ac-LTF\$r8HY2NaIWAQL\$S-NH2	1066	1608.87	805.44	805.52
341	Ac-LTF\$r8HYWAQI\$S-NH2	1067	1597.87	799.94	800.07
342	Ac-LTF\$r8HYWAQNI\$S-NH2	1068	1597.87	799.94	800.44
343	Ac-LTF\$er8HYWAQL\$eA-NH2	1069	1581.87	791.94	791.98
344	Ac-LTF\$r8HYWAQL\$Abu-NH2	1070	1595.89	798.95	799.03
345	Ac-LTF\$r8HYWAbuQL\$S-NH2	1071	1611.88	806.94	804.47
346	Ac-LAF\$r8HYWAQL\$S-NH2	1072	1567.86	784.93	785.49
347	Ac-LTF\$r8NLWANleL\$Q-NH2	1073	1550.92	776.46	777.5
348	Ac-LTF\$r8ALWANleL\$Q-NH2	1074	1507.92	754.96	755.52
349	Ac-LAF\$r8NLWANleL\$Q-NH2	1075	1520.91	761.46	762.48
350	Ac-F\$r8AYWAAc3cL\$A-NH2	1076	1256.70	629.35	1257.56
351	Ac-LTF\$r8AYWAAL\$S-NH2	1077	1474.82	738.41	738.55
352	Ac-LVF\$r8AYWAQL\$S-NH2	1078	1529.87	765.94	766
353	Ac-LTF\$r8AYWAbuQL\$S-NH2	1079	1545.86	773.93	773.92
354	Ac-LTF\$r8AYWNleQL\$S-NH2	1080	1573.89	787.95	788.17
355	Ac-LTF\$r8AbuYWAQL\$S-NH2	1081	1545.86	773.93	773.99
356	Ac-LTF\$r8AYWHQL\$S-NH2	1082	1597.87	799.94	799.97
357	Ac-LTF\$r8AYWKQL\$S-NH2	1083	1588.90	795.45	795.53
358	Ac-LTF\$r8AYWOQL\$S-NH2	1084	1574.89	788.45	788.5
359	Ac-LTF\$r8AYWRQL\$S-NH2	1085	1616.91	809.46	809.51
360	Ac-LTF\$r8AYWSQL\$S-NH2	1086	1547.84	774.92	774.96
361	Ac-LTF\$r8AYWRAL\$S-NH2	1087	1559.89	780.95	780.95
362	Ac-LTF\$r8AYWRQL\$A-NH2	1088	1600.91	801.46	801.52
363	Ac-LTF\$r8AYWRAL\$A-NH2	1089	1543.89	772.95	773.03



[0851]

364	Ac-LTF\$r5HYWAQL\$s8S-NH2	1090	1597.87	799.94	799.97
365	Ac-LTF\$HYWAQL\$r8S-NH2	1091	1597.87	799.94	799.97
366	Ac-LTF\$r8HYWAAL\$S-NH2	1092	1540.84	771.42	771.48
367	Ac-LTF\$r8HYWAAbuL\$S-NH2	1093	1554.86	778.43	778.51
368	Ac-LTF\$r8HYWALL\$S-NH2	1094	1582.89	792.45	792.49
369	Ac-F\$r8AYWHAL\$A-NH2	1095	1310.72	656.36	656.4
370	Ac-F\$r8AYWAAL\$A-NH2	1096	1244.70	623.35	1245.61
371	Ac-F\$r8AYWSAL\$A-NH2	1097	1260.69	631.35	1261.6
372	Ac-F\$r8AYWRAL\$A-NH2	1098	1329.76	665.88	1330.72
373	Ac-F\$r8AYWKAL\$A-NH2	1099	1301.75	651.88	1302.67
374	Ac-F\$r8AYWOAL\$A-NH2	1100	1287.74	644.87	1289.13
375	Ac-F\$r8VYWEAc3cL\$A-NH2	1101	1342.73	672.37	1343.67
376	Ac-F\$r8FYWEAc3cL\$A-NH2	1102	1390.73	696.37	1392.14
377	Ac-F\$r8WYWEAc3cL\$A-NH2	1103	1429.74	715.87	1431.44
378	Ac-F\$r8RYWEAc3cL\$A-NH2	1104	1399.77	700.89	700.95
379	Ac-F\$r8KYWEAc3cL\$A-NH2	1105	1371.76	686.88	686.97
380	Ac-F\$r8ANleWEAc3cL\$A-NH2	1106	1264.72	633.36	1265.59
381	Ac-F\$r8AVWEAc3cL\$A-NH2	1107	1250.71	626.36	1252.2
382	Ac-F\$r8AFWEAc3cL\$A-NH2	1108	1298.71	650.36	1299.64
383	Ac-F\$r8AWWEAc3cL\$A-NH2	1109	1337.72	669.86	1338.64
384	Ac-F\$r8ARWEAc3cL\$A-NH2	1110	1307.74	654.87	655
385	Ac-F\$r8AKWEAc3cL\$A-NH2	1111	1279.73	640.87	641.01
386	Ac-F\$r8AYWVAc3cL\$A-NH2	1112	1284.73	643.37	643.38
387	Ac-F\$r8AYWFAc3cL\$A-NH2	1113	1332.73	667.37	667.43
388	Ac-F\$r8AYWWAc3cL\$A-NH2	1114	1371.74	686.87	686.97
389	Ac-F\$r8AYWRAc3cL\$A-NH2	1115	1341.76	671.88	671.94
390	Ac-F\$r8AYWKAc3cL\$A-NH2	1116	1313.75	657.88	657.88
391	Ac-F\$r8AYWEVL\$A-NH2	1117	1330.73	666.37	666.47
392	Ac-F\$r8AYWEFL\$A-NH2	1118	1378.73	690.37	690.44
393	Ac-F\$r8AYWEWL\$A-NH2	1119	1417.74	709.87	709.91
394	Ac-F\$r8AYWERL\$A-NH2	1120	1387.77	694.89	1388.66
395	Ac-F\$r8AYWEKL\$A-NH2	1121	1359.76	680.88	1361.21
396	Ac-F\$r8AYWEAc3cL\$V-NH2	1122	1342.73	672.37	1343.59
397	Ac-F\$r8AYWEAc3cL\$F-NH2	1123	1390.73	696.37	1392.58
398	Ac-F\$r8AYWEAc3cL\$W-NH2	1124	1429.74	715.87	1431.29
399	Ac-F\$r8AYWEAc3cL\$R-NH2	1125	1399.77	700.89	700.95
400	Ac-F\$r8AYWEAc3cL\$K-NH2	1126	1371.76	686.88	686.97
401	Ac-F\$r8AYWEAc3cL\$AV-NH2	1127	1413.77	707.89	707.91
402	Ac-F\$r8AYWEAc3cL\$AF-NH2	1128	1461.77	731.89	731.96
403	Ac-F\$r8AYWEAc3cL\$AW-NH2	1129	1500.78	751.39	751.5
404	Ac-F\$r8AYWEAc3cL\$AR-NH2	1130	1470.80	736.40	736.47
405	Ac-F\$r8AYWEAc3cL\$AK-NH2	1131	1442.80	722.40	722.41
406	Ac-F\$r8AYWEAc3cL\$AH-NH2	1132	1451.76	726.88	726.93
407	Ac-LTF2NO2\$r8HYWAQL\$S-NH2	1133	1642.85	822.43	822.54
408	Ac-LTA\$r8HYAAQL\$S-NH2	1134	1406.79	704.40	704.5
409	Ac-LTF\$r8HYAAQL\$S-NH2	1135	1482.82	742.41	742.47
410	Ac-QSQQTF\$r8NLWALL\$AN-NH2	1136	1966.07	984.04	984.38
411	Ac-QAibQQTF\$r8NLWALL\$AN-NH2	1137	1964.09	983.05	983.42
412	Ac-QAibQQTF\$r8ALWALL\$AN-NH2	1138	1921.08	961.54	961.59
413	Ac-AAAATF\$r8AAWAAL\$AA-NH2	1139	1608.90	805.45	805.52
414	Ac-F\$r8AAWRAL\$Q-NH2	1140	1294.76	648.38	648.48
415	Ac-TF\$r8AAWAAL\$Q-NH2	1141	1310.74	656.37	1311.62

[0852]

416	Ac-TF\$r8AAWRAL\$A-NH2	1142	1338.78	670.39	670.46
417	Ac-VF\$r8AAWRAL\$Q-NH2	1143	1393.82	697.91	697.99
418	Ac-AF\$r8AAWAAL\$A-NH2	1144	1223.71	612.86	1224.67
420	Ac-TF\$r8AAWKAL\$Q-NH2	1145	1367.80	684.90	684.97
421	Ac-TF\$r8AAWOAL\$Q-NH2	1146	1353.78	677.89	678.01
422	Ac-TF\$r8AAWSAL\$Q-NH2	1147	1326.73	664.37	664.47
423	Ac-LTF\$r8AAWRAL\$Q-NH2	1148	1508.89	755.45	755.49
424	Ac-F\$r8AYWAQL\$A-NH2	1149	1301.72	651.86	651.96
425	Ac-F\$r8AWWAAL\$A-NH2	1150	1267.71	634.86	634.87
426	Ac-F\$r8AWWAQL\$A-NH2	1151	1324.73	663.37	663.43
427	Ac-F\$r8AYWEAL\$-NH2	1152	1231.66	616.83	1232.93
428	Ac-F\$r8AYWAAL\$-NH2	1153	1173.66	587.83	1175.09
429	Ac-F\$r8AYWKAL\$-NH2	1154	1230.72	616.36	616.44
430	Ac-F\$r8AYWOAL\$-NH2	1155	1216.70	609.35	609.48
431	Ac-F\$r8AYWQAL\$-NH2	1156	1230.68	616.34	616.44
432	Ac-F\$r8AYWAQL\$-NH2	1157	1230.68	616.34	616.37
433	Ac-F\$r8HYWDQL\$S-NH2	1158	1427.72	714.86	714.86
434	Ac-F\$r8HFWEQL\$S-NH2	1159	1425.74	713.87	713.98
435	Ac-F\$r8AYWHQL\$S-NH2	1160	1383.73	692.87	692.96
436	Ac-F\$r8AYWKQL\$S-NH2	1161	1374.77	688.39	688.45
437	Ac-F\$r8AYWOQL\$S-NH2	1162	1360.75	681.38	681.49
438	Ac-F\$r8HYWSQL\$S-NH2	1163	1399.73	700.87	700.95
439	Ac-F\$r8HWWEQL\$S-NH2	1164	1464.76	733.38	733.44
440	Ac-F\$r8HWWAQL\$S-NH2	1165	1406.75	704.38	704.43
441	Ac-F\$r8AWWHQL\$S-NH2	1166	1406.75	704.38	704.43
442	Ac-F\$r8AWWKQL\$S-NH2	1167	1397.79	699.90	699.92
443	Ac-F\$r8AWWOQL\$S-NH2	1168	1383.77	692.89	692.96
444	Ac-F\$r8HWWSQL\$S-NH2	1169	1422.75	712.38	712.42
445	Ac-LTF\$r8NYWANleL\$Q-NH2	1170	1600.90	801.45	801.52
446	Ac-LTF\$r8NLWAQL\$Q-NH2	1171	1565.90	783.95	784.06
447	Ac-LTF\$r8NYWANleL\$A-NH2	1172	1543.88	772.94	773.03
448	Ac-LTF\$r8NLWAQL\$A-NH2	1173	1508.88	755.44	755.49
449	Ac-LTF\$r8AYWANleL\$Q-NH2	1174	1557.90	779.95	780.06
450	Ac-LTF\$r8ALWAQL\$Q-NH2	1175	1522.89	762.45	762.45
451	Ac-LAF\$r8NYWANleL\$Q-NH2	1176	1570.89	786.45	786.5
452	Ac-LAF\$r8NLWAQL\$Q-NH2	1177	1535.89	768.95	769.03
453	Ac-LAF\$r8AYWANleL\$A-NH2	1178	1470.86	736.43	736.47
454	Ac-LAF\$r8ALWAQL\$A-NH2	1179	1435.86	718.93	719.01
455	Ac-LAF\$r8AYWAAL\$A-NH2	1180	1428.82	715.41	715.41
456	Ac-F\$r8AYWEAc3cL\$AAib-NH2	1181	1399.75	700.88	700.95
457	Ac-F\$r8AYWAQL\$AA-NH2	1182	1372.75	687.38	687.78
458	Ac-F\$r8AYWAAc3cL\$AA-NH2	1183	1327.73	664.87	664.84
459	Ac-F\$r8AYWSAc3cL\$AA-NH2	1184	1343.73	672.87	672.9
460	Ac-F\$r8AYWEAc3cL\$AS-NH2	1185	1401.73	701.87	701.84
461	Ac-F\$r8AYWEAc3cL\$AT-NH2	1186	1415.75	708.88	708.87
462	Ac-F\$r8AYWEAc3cL\$AL-NH2	1187	1427.79	714.90	714.94
463	Ac-F\$r8AYWEAc3cL\$AQ-NH2	1188	1442.76	722.38	722.41
464	Ac-F\$r8AFWEAc3cL\$AA-NH2	1189	1369.74	685.87	685.93
465	Ac-F\$r8AWWEAc3cL\$AA-NH2	1190	1408.75	705.38	705.39
466	Ac-F\$r8AYWEAc3cL\$SA-NH2	1191	1401.73	701.87	701.99
467	Ac-F\$r8AYWEAL\$AA-NH2	1192	1373.74	687.87	687.93
468	Ac-F\$r8AYWENleL\$AA-NH2	1193	1415.79	708.90	708.94



[0853]

469	Ac-F\$8AYWEAc3cL\$AbuA-NH2	1194	1399.75	700.88	700.95
470	Ac-F\$8AYWEAc3cL\$NleA-NH2	1195	1427.79	714.90	714.86
471	Ac-F\$8AYWEAibL\$NleA-NH2	1196	1429.80	715.90	715.97
472	Ac-F\$8AYWEAL\$NleA-NH2	1197	1415.79	708.90	708.94
473	Ac-F\$8AYWENleL\$NleA-NH2	1198	1457.83	729.92	729.96
474	Ac-F\$8AYWEAibL\$Abu-NH2	1199	1330.73	666.37	666.39
475	Ac-F\$8AYWENleL\$Abu-NH2	1200	1358.76	680.38	680.39
476	Ac-F\$8AYWEAL\$Abu-NH2	1201	1316.72	659.36	659.36
477	Ac-LTF\$8AFWAQL\$S-NH2	1202	1515.85	758.93	759.12
478	Ac-LTF\$8AWWAQL\$S-NH2	1203	1554.86	778.43	778.51
479	Ac-LTF\$8AYWAQI\$S-NH2	1204	1531.84	766.92	766.96
480	Ac-LTF\$8AYWAQNle\$S-NH2	1205	1531.84	766.92	766.96
481	Ac-LTF\$8AYWAQL\$SA-NH2	1206	1602.88	802.44	802.48
482	Ac-LTF\$8AWWAQL\$A-NH2	1207	1538.87	770.44	770.89
483	Ac-LTF\$8AYWAQI\$A-NH2	1208	1515.85	758.93	759.42
484	Ac-LTF\$8AYWAQNle\$A-NH2	1209	1515.85	758.93	759.42
485	Ac-LTF\$8AYWAQL\$AA-NH2	1210	1586.89	794.45	794.94
486	Ac-LTF\$8HWWAQL\$S-NH2	1211	1620.88	811.44	811.47
487	Ac-LTF\$8HRWAQL\$S-NH2	1212	1590.90	796.45	796.52
488	Ac-LTF\$8HKWAQL\$S-NH2	1213	1562.90	782.45	782.53
489	Ac-LTF\$8HYWAQL\$W-NH2	1214	1696.91	849.46	849.5
491	Ac-F\$8AYWAbuAL\$A-NH2	1215	1258.71	630.36	630.5
492	Ac-F\$8AbuYWEAL\$A-NH2	1216	1316.72	659.36	659.51
493	Ac-NlePRF%r8NYWRLL%QN-NH2	1217	1954.13	978.07	978.54
494	Ac-TSF%r8HYWAQL%S-NH2	1218	1573.83	787.92	787.98
495	Ac-LTF%r8AYWAQL%S-NH2	1219	1533.86	767.93	768
496	Ac-HTF\$8HYWAQL\$S-NH2	1220	1621.84	811.92	811.96
497	Ac-LHF\$8HHWAQL\$S-NH2	1221	1633.88	817.94	818.02
498	Ac-LTF\$8HHWAQL\$S-NH2	1222	1571.86	786.93	786.94
499	Ac-LTF\$8HYWHQL\$S-NH2	1223	1663.89	832.95	832.38
500	Ac-LTF\$8HYWAHL\$S-NH2	1224	1606.87	804.44	804.48
501	Ac-LTF\$8HYWAQL\$H-NH2	1225	1647.89	824.95	824.98
502	Ac-LTF\$8HYWAQL\$S-NHPr	1226	1639.91	820.96	820.98
503	Ac-LTF\$8HYWAQL\$S-NHsBu	1227	1653.93	827.97	828.02
504	Ac-LTF\$8HYWAQL\$S-NHiBu	1228	1653.93	827.97	828.02
505	Ac-LTF\$8HYWAQL\$S-NHBn	1229	1687.91	844.96	844.44
506	Ac-LTF\$8HYWAQL\$S-NHPe	1230	1700.92	851.46	851.99
507	Ac-LTF\$8HYWAQL\$S-NHChx	1231	1679.94	840.97	841.04
508	Ac-ETF\$8AYWAQL\$S-NH2	1232	1547.80	774.90	774.96
509	Ac-STF\$8AYWAQL\$S-NH2	1233	1505.79	753.90	753.94
510	Ac-LEF\$8AYWAQL\$S-NH2	1234	1559.84	780.92	781.25
511	Ac-LSF\$8AYWAQL\$S-NH2	1235	1517.83	759.92	759.93
512	Ac-LTF\$8EYWAQL\$S-NH2	1236	1589.85	795.93	795.97
513	Ac-LTF\$8SYWAQL\$S-NH2	1237	1547.84	774.92	774.96
514	Ac-LTF\$8AYWEQL\$S-NH2	1238	1589.85	795.93	795.9
515	Ac-LTF\$8AYWAEL\$S-NH2	1239	1532.83	767.42	766.96
516	Ac-LTF\$8AYWASL\$S-NH2	1240	1490.82	746.41	746.46
517	Ac-LTF\$8AYWAQL\$E-NH2	1241	1573.85	787.93	787.98
518	Ac-LTF2CN\$8HYWAQL\$S-NH2	1242	1622.86	812.43	812.47
519	Ac-LTF3CI\$8HYWAQL\$S-NH2	1243	1631.83	816.92	816.99
520	Ac-LTDip\$8HYWAQL\$S-NH2	1244	1673.90	837.95	838.01
521	Ac-LTF\$8HYWAQTle\$S-NH2	1245	1597.87	799.94	800.04

[0854]

522	Ac-F\$8AY6clWEAL\$A-NH2	1246	1336.66	669.33	1338.56
523	Ac-F\$8AYdl6brWEAL\$A-NH2	1247	1380.61	691.31	692.2
524	Ac-F\$8AYdl6fWEAL\$A-NH2	1248	1320.69	661.35	1321.61
525	Ac-F\$8AYdl4mWEAL\$A-NH2	1249	1316.72	659.36	659.36
526	Ac-F\$8AYdl5clWEAL\$A-NH2	1250	1336.66	669.33	669.35
527	Ac-F\$8AYdl7mWEAL\$A-NH2	1251	1316.72	659.36	659.36
528	Ac-LTF%r8HYWAQL%A-NH2	1252	1583.89	792.95	793.01
529	Ac-LTF\$r8HCouWAQL\$S-NH2	1253	1679.87	840.94	841.38
530	Ac-LTFEHCouWAQL\$S-NH2	1254	1617.75	809.88	809.96
531	Ac-LTA\$r8HCouWAQL\$S-NH2	1255	1603.84	802.92	803.36
532	Ac-F\$8AYWEAL\$AbuA-NH2	1256	1387.75	694.88	694.88
533	Ac-F\$8AYWEAI\$AA-NH2	1257	1373.74	687.87	687.93
534	Ac-F\$8AYWEANle\$AA-NH2	1258	1373.74	687.87	687.93
535	Ac-F\$8AYWEAmL\$AA-NH2	1259	1429.80	715.90	715.97
536	Ac-F\$8AYWQAL\$AA-NH2	1260	1372.75	687.38	687.48
537	Ac-F\$8AYWAAL\$AA-NH2	1261	1315.73	658.87	658.92
538	Ac-F\$8AYWAbuAL\$AA-NH2	1262	1329.75	665.88	665.95
539	Ac-F\$8AYWNleAL\$AA-NH2	1263	1357.78	679.89	679.94
540	Ac-F\$8AbuYWEAL\$AA-NH2	1264	1387.75	694.88	694.96
541	Ac-F\$8NleYWEAL\$AA-NH2	1265	1415.79	708.90	708.94
542	Ac-F\$8FYWEAL\$AA-NH2	1266	1449.77	725.89	725.97
543	Ac-LTF\$r8HYWAQhL\$S-NH2	1267	1611.88	806.94	807
544	Ac-LTF\$r8HYWAQAdm\$S-NH2	1268	1675.91	838.96	839.04
545	Ac-LTF\$r8HYWAQIgL\$S-NH2	1269	1659.88	830.94	829.94
546	Ac-F\$8AYWAQL\$AA-NH2	1270	1372.75	687.38	687.48
547	Ac-LTF\$r8ALWAQL\$Q-NH2	1271	1522.89	762.45	762.52
548	Ac-F\$8AYWEAL\$AA-NH2	1272	1373.74	687.87	687.93
549	Ac-F\$8AYWENleL\$AA-NH2	1273	1415.79	708.90	708.94
550	Ac-F\$8AYWEAibL\$Abu-NH2	1274	1330.73	666.37	666.39
551	Ac-F\$8AYWENleL\$Abu-NH2	1275	1358.76	680.38	680.38
552	Ac-F\$8AYWEAL\$Abu-NH2	1276	1316.72	659.36	659.36
553	Ac-F\$8AYWEAc3cL\$AbuA-NH2	1277	1399.75	700.88	700.95
554	Ac-F\$8AYWEAc3cL\$NleA-NH2	1278	1427.79	714.90	715.01
555	H-LTF\$r8AYWAQL\$S-NH2	1279	1489.83	745.92	745.95
556	mdPEG3-LTF\$r8AYWAQL\$S-NH2	1280	1679.92	840.96	840.97
557	mdPEG7-LTF\$r8AYWAQL\$S-NH2	1281	1856.02	929.01	929.03
558	Ac-F\$8Apmpt6clWEAL\$A-NH2	1282	1470.71	736.36	788.17
559	Ac-LTF3Cl\$r8AYWAQL\$S-NH2	1283	1565.81	783.91	809.18
560	Ac-LTF3Cl\$r8HYWAQL\$A-NH2	1284	1615.83	808.92	875.24
561	Ac-LTF3Cl\$r8HYWWQL\$S-NH2	1285	1746.87	874.44	841.65
562	Ac-LTF3Cl\$r8AYWWQL\$S-NH2	1286	1680.85	841.43	824.63
563	Ac-LTF\$r8AYWWQL\$S-NH2	1287	1646.89	824.45	849.98
564	Ac-LTF\$r8HYWWQL\$A-NH2	1288	1696.91	849.46	816.67
565	Ac-LTF\$r8AYWWQL\$A-NH2	1289	1630.89	816.45	776.15
566	Ac-LTF4F\$r8AYWAQL\$S-NH2	1290	1549.83	775.92	776.15
567	Ac-LTF2F\$r8AYWAQL\$S-NH2	1291	1549.83	775.92	776.15
568	Ac-LTF3F\$r8AYWAQL\$S-NH2	1292	1549.83	775.92	785.12
569	Ac-LTF34F2\$r8AYWAQL\$S-NH2	1293	1567.83	784.92	785.12
570	Ac-LTF35F2\$r8AYWAQL\$S-NH2	1294	1567.83	784.92	1338.74
571	Ac-F3Cl\$r8AYWEAL\$A-NH2	1295	1336.66	669.33	705.28
572	Ac-F3Cl\$r8AYWEAL\$AA-NH2	1296	1407.70	704.85	680.11
573	Ac-F\$8AY6clWEAL\$AA-NH2	1297	1407.70	704.85	736.83

[0855]

574	Ac-F\$8AY6clWEAL\$-NH2	1298	1265.63	633.82	784.1
575	Ac-LTF\$8HYWAQLSt/S-NH2	1299	16.03	9.02	826.98
576	Ac-LTF\$8HYWAQL\$S-NHsBu	1300	1653.93	827.97	828.02
577	Ac-STF\$8AYWAQL\$S-NH2	1301	1505.79	753.90	753.94
578	Ac-LTF\$8AYWAEL\$S-NH2	1302	1532.83	767.42	767.41
579	Ac-LTF\$8AYWAQL\$E-NH2	1303	1573.85	787.93	787.98
580	mdPEG3-LTF\$8AYWAQL\$S-NH2	1304	1679.92	840.96	840.97
581	Ac-LTF\$8AYWAQhL\$S-NH2	1305	1545.86	773.93	774.31
583	Ac-LTF\$8AYWAQCha\$S-NH2	1306	1571.88	786.94	787.3
584	Ac-LTF\$8AYWAQChg\$S-NH2	1307	1557.86	779.93	780.4
585	Ac-LTF\$8AYWAQCba\$S-NH2	1308	1543.84	772.92	780.13
586	Ac-LTF\$8AYWAQF\$S-NH2	1309	1565.83	783.92	784.2
587	Ac-LTF4F\$8HYWAQhL\$S-NH2	1310	1629.87	815.94	815.36
588	Ac-LTF4F\$8HYWAQCha\$S-NH2	1311	1655.89	828.95	828.39
589	Ac-LTF4F\$8HYWAQChg\$S-NH2	1312	1641.87	821.94	821.35
590	Ac-LTF4F\$8HYWAQCba\$S-NH2	1313	1627.86	814.93	814.32
591	Ac-LTF4F\$8AYWAQhL\$S-NH2	1314	1563.85	782.93	782.36
592	Ac-LTF4F\$8AYWAQCha\$S-NH2	1315	1589.87	795.94	795.38
593	Ac-LTF4F\$8AYWAQChg\$S-NH2	1316	1575.85	788.93	788.35
594	Ac-LTF4F\$8AYWAQCba\$S-NH2	1317	1561.83	781.92	781.39
595	Ac-LTF3Cl\$8AYWAQhL\$S-NH2	1318	1579.82	790.91	790.35
596	Ac-LTF3Cl\$8AYWAQCha\$S-NH2	1319	1605.84	803.92	803.67
597	Ac-LTF3Cl\$8AYWAQChg\$S-NH2	1320	1591.82	796.91	796.34
598	Ac-LTF3Cl\$8AYWAQCba\$S-NH2	1321	1577.81	789.91	789.39
599	Ac-LTF\$8AYWAQhF\$S-NH2	1322	1579.84	790.92	791.14
600	Ac-LTF\$8AYWAQF3CF3\$S-NH2	1323	1633.82	817.91	818.15
601	Ac-LTF\$8AYWAQF3Me\$S-NH2	1324	1581.86	791.93	791.32
602	Ac-LTF\$8AYWAQ1NaL\$S-NH2	1325	1615.84	808.92	809.18
603	Ac-LTF\$8AYWAQBip\$S-NH2	1326	1641.86	821.93	822.13
604	Ac-LTF\$8FYWAQL\$A-NH2	1327	1591.88	796.94	797.33
605	Ac-LTF\$8HYWAQL\$S-NHAm	1328	1667.94	834.97	835.92
606	Ac-LTF\$8HYWAQL\$S-NHiAm	1329	1667.94	834.97	835.55
607	Ac-LTF\$8HYWAQL\$S-NHnPr3Ph	1330	1715.94	858.97	859.79
608	Ac-LTF\$8HYWAQL\$S-NHnBu3,3Me	1331	1681.96	841.98	842.49
610	Ac-LTF\$8HYWAQL\$S-NHnPr	1332	1639.91	820.96	821.58
611	Ac-LTF\$8HYWAQL\$S-NHnEt2Ch	1333	1707.98	854.99	855.35
612	Ac-LTF\$8HYWAQL\$S-NHHex	1334	1681.96	841.98	842.4
613	Ac-LTF\$8AYWAQL\$S-NHmdPeg2	1335	1633.91	817.96	818.35
614	Ac-LTF\$8AYWAQL\$A-NHmdPeg2	1336	1617.92	809.96	810.3
615	Ac-LTF\$8AYWAQL\$A-NHmdPeg4	1337	1705.97	853.99	854.33
616	Ac-F\$8AYdl4mWEAL\$A-NH2	1338	1316.72	659.36	659.44
617	Ac-F\$8AYdl5clWEAL\$A-NH2	1339	1336.66	669.33	669.43
618	Ac-LThF\$8AYWAQL\$S-NH2	1340	1545.86	773.93	774.11
619	Ac-LT2NaL\$8AYWAQL\$S-NH2	1341	1581.86	791.93	792.43
620	Ac-LTA\$8AYWAQL\$S-NH2	1342	1455.81	728.91	729.15
621	Ac-LTF\$8AYWVQL\$S-NH2	1343	1559.88	780.94	781.24
622	Ac-LTF\$8HYWAAL\$A-NH2	1344	1524.85	763.43	763.86
623	Ac-LTF\$8VYWAQL\$A-NH2	1345	1543.88	772.94	773.37
624	Ac-LTF\$8IYWAQL\$S-NH2	1346	1573.89	787.95	788.17
625	Ac-FTF\$8VYWSQL\$S-NH2	1347	1609.85	805.93	806.22
626	Ac-ITF\$8FYWAQL\$S-NH2	1348	1607.88	804.94	805.2
627	Ac-2NaLTF\$8VYWSQL\$S-NH2	1349	1659.87	830.94	831.2

[0856]

628	Ac-ITF\$r8LYWSQL\$\$-NH2	1350	1589.89	795.95	796.13
629	Ac-FTF\$r8FYWAQL\$\$-NH2	1351	1641.86	821.93	822.13
630	Ac-WTF\$r8VYWAQL\$\$-NH2	1352	1632.87	817.44	817.69
631	Ac-WTF\$r8WYWAQL\$\$-NH2	1353	1719.88	860.94	861.36
632	Ac-VTF\$r8AYWSQL\$\$-NH2	1354	1533.82	767.91	768.19
633	Ac-WTF\$r8FYWSQL\$\$-NH2	1355	1696.87	849.44	849.7
634	Ac-FTF\$r8IYWAQL\$\$-NH2	1356	1607.88	804.94	805.2
635	Ac-WTF\$r8VYWSQL\$\$-NH2	1357	1648.87	825.44	824.8
636	Ac-FTF\$r8LYWSQL\$\$-NH2	1358	1623.87	812.94	812.8
637	Ac-YTF\$r8FYWSQL\$\$-NH2	1359	1673.85	837.93	837.8
638	Ac-LTF\$r8AY6clWEAL\$A-NH2	1360	1550.79	776.40	776.14
639	Ac-LTF\$r8AY6clWSQL\$\$-NH2	1361	1581.80	791.90	791.68
640	Ac-F\$r8AY6clWSAL\$A-NH2	1362	1294.65	648.33	647.67
641	Ac-F\$r8AY6clWQAL\$AA-NH2	1363	1406.72	704.36	703.84
642	Ac-LHF\$r8AYWAQL\$\$-NH2	1364	1567.86	784.93	785.21
643	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$\$-NH2	1365	1531.84	766.92	767.17
644	Ac-LTF\$r8AHWAQL\$\$-NH2	1366	1505.84	753.92	754.13
645	Ac-LTF\$r8AYWAHL\$\$-NH2	1367	1540.84	771.42	771.61
646	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$H-NH2	1368	1581.87	791.94	792.15
647	H-LTF\$r8AYWAQL\$A-NH2	1369	1473.84	737.92	737.29
648	Ac-HHF\$r8AYWAQL\$\$-NH2	1370	1591.83	796.92	797.35
649	Ac-aAibWTF\$r8VYWSQL\$\$-NH2	1371	1804.96	903.48	903.64
650	Ac-AibWTF\$r8HYWAQL\$\$-NH2	1372	1755.91	878.96	879.4
651	Ac-AibAWTF\$r8HYWAQL\$\$-NH2	1373	1826.95	914.48	914.7
652	Ac-fWTF\$r8HYWAQL\$\$-NH2	1374	1817.93	909.97	910.1
653	Ac-AibWWTF\$r8HYWAQL\$\$-NH2	1375	1941.99	972.00	972.2
654	Ac-WTF\$r8LYWSQL\$\$-NH2	1376	1662.88	832.44	832.8
655	Ac-WTF\$r8NleYWSQL\$\$-NH2	1377	1662.88	832.44	832.6
656	Ac-LTF\$r8AYWSQL\$a-NH2	1378	1531.84	766.92	767.2
657	Ac-LTF\$r8EYWARL\$A-NH2	1379	1601.90	801.95	802.1
658	Ac-LTF\$r8EYWAHL\$A-NH2	1380	1582.86	792.43	792.6
659	Ac-aTF\$r8AYWAQL\$\$-NH2	1381	1489.80	745.90	746.08
660	Ac-AibTF\$r8AYWAQL\$\$-NH2	1382	1503.81	752.91	753.11
661	Ac-AmfTF\$r8AYWAQL\$\$-NH2	1383	1579.84	790.92	791.14
662	Ac-AmwTF\$r8AYWAQL\$\$-NH2	1384	1618.86	810.43	810.66
663	Ac-NmLTF\$r8AYWAQL\$\$-NH2	1385	1545.86	773.93	774.11
664	Ac-LNmTF\$r8AYWAQL\$\$-NH2	1386	1545.86	773.93	774.11
665	Ac-LSarF\$r8AYWAQL\$\$-NH2	1387	1501.83	751.92	752.18
667	Ac-LGF\$r8AYWAQL\$\$-NH2	1388	1487.82	744.91	745.15
668	Ac-LTNmF\$r8AYWAQL\$\$-NH2	1389	1545.86	773.93	774.2
669	Ac-TF\$r8AYWAQL\$\$-NH2	1390	1418.76	710.38	710.64
670	Ac-ETF\$r8AYWAQL\$A-NH2	1391	1531.81	766.91	767.2
671	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$A-NH2	1392	1573.85	787.93	788.1
672	Ac-LT2Nal\$r8AYWSQL\$\$-NH2	1393	1597.85	799.93	800.4
673	Ac-LTF\$r8AYWAAL\$\$-NH2	1394	1474.82	738.41	738.68
674	Ac-LTF\$r8AYWAQhCha\$\$-NH2	1395	1585.89	793.95	794.19
675	Ac-LTF\$r8AYWAQChg\$\$-NH2	1396	1557.86	779.93	780.97
676	Ac-LTF\$r8AYWAQCba\$\$-NH2	1397	1543.84	772.92	773.19
677	Ac-LTF\$r8AYWAQF3CF3\$\$-NH2	1398	1633.82	817.91	818.15
678	Ac-LTF\$r8AYWAQINal\$\$-NH2	1399	1615.84	808.92	809.18
679	Ac-LTF\$r8AYWAQBip\$\$-NH2	1400	1641.86	821.93	822.32
680	Ac-LT2Nal\$r8AYWAQL\$\$-NH2	1401	1581.86	791.93	792.15

[0857]

681	Ac-LTF\$r8AYWVQL\$S-NH2	1402	1559.88	780.94	781.62
682	Ac-LTF\$r8AWWAQL\$S-NH2	1403	1554.86	778.43	778.65
683	Ac-FTF\$r8VYWSQL\$S-NH2	1404	1609.85	805.93	806.12
684	Ac-ITF\$r8FYWAQL\$S-NH2	1405	1607.88	804.94	805.2
685	Ac-ITF\$r8LYWSQL\$S-NH2	1406	1589.89	795.95	796.22
686	Ac-FTF\$r8FYWAQL\$S-NH2	1407	1641.86	821.93	822.41
687	Ac-VTF\$r8AYWSQL\$S-NH2	1408	1533.82	767.91	768.19
688	Ac-LTF\$r8AHWAQL\$S-NH2	1409	1505.84	753.92	754.31
689	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$H-NH2	1410	1581.87	791.94	791.94
690	Ac-LTF\$r8AYWAHL\$S-NH2	1411	1540.84	771.42	771.61
691	Ac-aAibWTF\$r8VYWSQL\$S-NH2	1412	1804.96	903.48	903.9
692	Ac-AibWTF\$r8HYWAQL\$S-NH2	1413	1755.91	878.96	879.5
693	Ac-AibAWTF\$r8HYWAQL\$S-NH2	1414	1826.95	914.48	914.7
694	Ac-fWTF\$r8HYWAQL\$S-NH2	1415	1817.93	909.97	910.2
695	Ac-AibWWTF\$r8HYWAQL\$S-NH2	1416	1941.99	972.00	972.7
696	Ac-WTF\$r8LYWSQL\$S-NH2	1417	1662.88	832.44	832.7
697	Ac-WTF\$r8NleYWSQL\$S-NH2	1418	1662.88	832.44	832.7
698	Ac-LTF\$r8AYWSQL\$a-NH2	1419	1531.84	766.92	767.2
699	Ac-LTF\$r8EYWARL\$a-NH2	1420	1601.90	801.95	802.2
700	Ac-LTF\$r8EYWAHL\$a-NH2	1421	1582.86	792.43	792.6
701	Ac-aTF\$r8AYWAQL\$S-NH2	1422	1489.80	745.90	746.1
702	Ac-AibTF\$r8AYWAQL\$S-NH2	1423	1503.81	752.91	753.2
703	Ac-AmfTF\$r8AYWAQL\$S-NH2	1424	1579.84	790.92	791.2
704	Ac-AmwTF\$r8AYWAQL\$S-NH2	1425	1618.86	810.43	810.7
705	Ac-NmLTF\$r8AYWAQL\$S-NH2	1426	1545.86	773.93	774.1
706	Ac-LNmTF\$r8AYWAQL\$S-NH2	1427	1545.86	773.93	774.4
707	Ac-LSarF\$r8AYWAQL\$S-NH2	1428	1501.83	751.92	752.1
708	Ac-TF\$r8AYWAQL\$S-NH2	1429	1418.76	710.38	710.8
709	Ac-ETF\$r8AYWAQL\$a-NH2	1430	1531.81	766.91	767.4
710	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$a-NH2	1431	1573.85	787.93	788.2
711	Ac-WTF\$r8VYWSQL\$S-NH2	1432	1648.87	825.44	825.2
713	Ac-YTF\$r8FYWSQL\$S-NH2	1433	1673.85	837.93	837.3
714	Ac-F\$r8AY6clWSAL\$a-NH2	1434	1294.65	648.33	647.74
715	Ac-ETF\$r8EYWVQL\$S-NH2	1435	1633.84	817.92	817.36
716	Ac-ETF\$r8EHWAQL\$a-NH2	1436	1563.81	782.91	782.36
717	Ac-ITF\$r8EYWAQL\$S-NH2	1437	1589.85	795.93	795.38
718	Ac-ITF\$r8EHWVQL\$a-NH2	1438	1575.88	788.94	788.42
719	Ac-ITF\$r8EHWAQL\$S-NH2	1439	1563.85	782.93	782.43
720	Ac-LTF4F\$r8AYWAQCba\$S-NH2	1440	1561.83	781.92	781.32
721	Ac-LTF3CI\$r8AYWAQhL\$S-NH2	1441	1579.82	790.91	790.64
722	Ac-LTF3CI\$r8AYWAQCha\$S-NH2	1442	1605.84	803.92	803.37
723	Ac-LTF3CI\$r8AYWAQChg\$S-NH2	1443	1591.82	796.91	796.27
724	Ac-LTF3CI\$r8AYWAQCba\$S-NH2	1444	1577.81	789.91	789.83
725	Ac-LTF\$r8AY6clWSQL\$S-NH2	1445	1581.80	791.90	791.75
726	Ac-LTF4F\$r8HYWAQhL\$S-NH2	1446	1629.87	815.94	815.36
727	Ac-LTF4F\$r8HYWAQCba\$S-NH2	1447	1627.86	814.93	814.32
728	Ac-LTF4F\$r8AYWAQhL\$S-NH2	1448	1563.85	782.93	782.36
729	Ac-LTF4F\$r8AYWAQChg\$S-NH2	1449	1575.85	788.93	788.35
730	Ac-ETF\$r8EYWVAL\$S-NH2	1450	1576.82	789.41	788.79
731	Ac-ETF\$r8EHWAAL\$a-NH2	1451	1506.79	754.40	754.8
732	Ac-ITF\$r8EYWVAL\$S-NH2	1452	1532.83	767.42	767.75
733	Ac-ITF\$r8EHWVAL\$a-NH2	1453	1518.86	760.43	760.81

[0858]

734	Ac-ITF\$r8EHWAAL\$S-NH2	1454	1506.82	754.41	754.8
735	Pam-LTF\$r8EYWAQL\$S-NH2	1455	1786.07	894.04	894.48
736	Pam-ETF\$r8EYWAQL\$S-NH2	1456	1802.03	902.02	902.34
737	Ac-LTF\$r8AYWLQL\$S-NH2	1457	1573.89	787.95	787.39
738	Ac-LTF\$r8EYWLQL\$S-NH2	1458	1631.90	816.95	817.33
739	Ac-LTF\$r8EHWLQL\$S-NH2	1459	1605.89	803.95	804.29
740	Ac-LTF\$r8VYWAQL\$S-NH2	1460	1559.88	780.94	781.34
741	Ac-LTF\$r8AYWSQL\$S-NH2	1461	1547.84	774.92	775.33
742	Ac-ETF\$r8AYWAQL\$S-NH2	1462	1547.80	774.90	775.7
743	Ac-LTF\$r8EYWAQL\$S-NH2	1463	1589.85	795.93	796.33
744	Ac-LTF\$r8HYWAQL\$S-NHAm	1464	1667.94	834.97	835.37
745	Ac-LTF\$r8HYWAQL\$S-NHiAm	1465	1667.94	834.97	835.27
746	Ac-LTF\$r8HYWAQL\$S-NHnPr3Ph	1466	1715.94	858.97	859.42
747	Ac-LTF\$r8HYWAQL\$S-NHnBu3,3Me	1467	1681.96	841.98	842.67
748	Ac-LTF\$r8HYWAQL\$S-NHnBu	1468	1653.93	827.97	828.24
749	Ac-LTF\$r8HYWAQL\$S-NHnPr	1469	1639.91	820.96	821.31
750	Ac-LTF\$r8HYWAQL\$S-NHnEt2Ch	1470	1707.98	854.99	855.35
751	Ac-LTF\$r8HYWAQL\$S-NHHex	1471	1681.96	841.98	842.4
752	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$S-NHmdPeg2	1472	1633.91	817.96	855.35
753	Ac-LTF\$r8AYWAQL\$A-NHmdPeg2	1473	1617.92	809.96	810.58
754	Ac-LTF\$r5AYWAAL\$S8S-NH2	1474	1474.82	738.41	738.79
755	Ac-LTF\$r8AYWCouQL\$S-NH2	1475	1705.88	853.94	854.61
756	Ac-LTF\$r8CouYWAQL\$S-NH2	1476	1705.88	853.94	854.7
757	Ac-CouTF\$r8AYWAQL\$S-NH2	1477	1663.83	832.92	833.33
758	H-LTF\$r8AYWAQL\$A-NH2	1478	1473.84	737.92	737.29
759	Ac-HHF\$r8AYWAQL\$S-NH2	1479	1591.83	796.92	797.72
760	Ac-LT2Nal\$r8AYWSQL\$S-NH2	1480	1597.85	799.93	800.68
761	Ac-LTF\$r8HCouWAQL\$S-NH2	1481	1679.87	840.94	841.38
762	Ac-LTF\$r8AYWCou2QL\$S-NH2	1482	1789.94	895.97	896.51
763	Ac-LTF\$r8Cou2YWAQL\$S-NH2	1483	1789.94	895.97	896.5
764	Ac-Cou2TF\$r8AYWAQL\$S-NH2	1484	1747.90	874.95	875.42
765	Ac-LTF\$r8ACou2WAQL\$S-NH2	1485	1697.92	849.96	850.82
766	Dmaac-LTF\$r8AYWAQL\$S-NH2	1486	1574.89	788.45	788.82
767	Hexac-LTF\$r8AYWAQL\$S-NH2	1487	1587.91	794.96	795.11
768	Napac-LTF\$r8AYWAQL\$S-NH2	1488	1657.89	829.95	830.36
769	Pam-LTF\$r8AYWAQL\$S-NH2	1489	1728.06	865.03	865.45
770	Ac-LT2Nal\$r8HYAAQL\$S-NH2	1490	1532.84	767.42	767.61
771	Ac-LT2Nal\$/r8HYWAQL\$/S-NH2	1491	1675.91	838.96	839.1
772	Ac-LT2Nal\$r8HYFAQL\$S-NH2	1492	1608.87	805.44	805.9
773	Ac-LT2Nal\$r8HWAAQL\$S-NH2	1493	1555.86	778.93	779.08
774	Ac-LT2Nal\$r8HYAWQL\$S-NH2	1494	1647.88	824.94	825.04
775	Ac-LT2Nal\$r8HYAAQW\$S-NH2	1495	1605.83	803.92	804.05
776	Ac-LTW\$r8HYWAQL\$S-NH2	1496	1636.88	819.44	819.95
777	Ac-LT1Nal\$r8HYWAQL\$S-NH2	1497	1647.88	824.94	825.41

[0859] 在一些实施方案中,本文公开的拟肽大环化合物不包含如表2b所示的拟肽大环化合物结构。

[0860] 表2c示出了包含D-氨基酸的非交联多肽的实例。

[0861]

SP	序列	SEQ ID NO:	异构体	准确质量	实测质量	计算 (M+1)/1	计算 (M+2)/2	计算 (M+3)/3
SP765	Ac-tawyanfekllr-NH2	1498			777.46			
SP766	Ac-tawyanf4CF3ekllr-NH2	1499			811.41			

[0862] 实施例3:与MDMX复合的拟肽大环化合物的X射线共晶学



[0863] 对于与肽46(表2b)的共结晶,在开始进行结晶实验前,将来自在DMSO中的100mM储备溶液的化学计算量的化合物加入到斑马鱼MDMX蛋白质溶液中,并在4℃下静置过夜。该程序与Popowicz等人描述的过程相似,有一些变化,如下文所述。使用pET15b载体从大肠杆菌BL21(DE3)表达系统中获得蛋白质(残基15-129,L46V/V95L)。使细胞在37℃下生长并用1mM IPTG以0.7细胞的OD<sub>600</sub>进行诱导以使细胞在23℃下再生长18小时。使用Ni-NT琼脂糖随后使用Superdex 75缓冲液(采用50mM NaPO<sub>4</sub>、pH 8.0、150mM NaCl、2mM TCEP进行)纯化蛋白质,然后浓缩至24mg/ml。将缓冲液更换为20mM的Tris(pH 8.0,50mM NaCl,2mM DTT)用于结晶实验。采用Nextal(Qiagen)AMS筛#94得到初始晶体,且最终优化的储液为2.6M AMS,75mM的Hepes,pH 7.5。晶体在4℃下按常规作为薄片生长,并通过含有浓缩的(3.4M)丙二酸酯牵引它们进行冷沉淀保护,然后就骤冷,储存,并在液氮中装运。

[0864] 在APS,在100°K且波长0.97929Å的光束线31-ID(SGX-CAT)下进行数据的收集。光束线配备有Rayonix 225-HE探测器。对于数据收集,采用0.8秒的曝光时间使晶体以1°的增量在整个180°进行旋转。使用Mosflm/scala(CCP4;参见The CCP4 Suite:Programs for Protein Crystallography.Acta Crystallogr.D50,760-763(1994);P.R.Evans.Joint CCP4以及ESF-EACBM Newsletter 33,22-24(1997))以空间群C2(晶胞:a=109.2786,b=81.0836,C=30.9058Å,α=90,β=89.8577,γ=90°)对数据进行处理并缩减。采用程序Molrep(CCP4;参见A.Vagin&A.Teplyakov.J.Appl.Cryst.30,1022-1025(1997))的分子置换通过采用由Popowicz等(2Z5S;参见G.M.Popowicz,A.Czarna,U.Rothweiler,A.Szwagierczak,M.Krajewski,L.Weber&T.A.Holak.Cell Cycle 6,2386-2392(2007))确定的结构的MDMX分量进行,并识别了在非对称单元中的两个分子。采用程序Refmac仅对斑马鱼MDMX的两个分子进行初始精炼(CCP4;参见G.N.Murshudov,A.A.Vagin&E.J.Dodson.Acta Crystallogr.D53,240-255(1997))产生0.3424的R-因子(R<sub>free</sub>=0.3712)和键的rmsd值(0.018 Å)和角度(1.698°)。对于从Gln<sup>19</sup>开始且包括所有的脂肪族钉(staple)的钉肽成分的电子密度是非常明确的。使用CNX(Accelrys)及数据进一步细化为2.3Å的分辨率产生了被很好地精炼(R<sub>f</sub>=0.2601,R<sub>free</sub>=0.3162,rmsd键=0.007 Å及rmsd角=0.916°)的模型(由来自MDMX的1448个原子、来自钉肽的272个原子和46个水分子组成)。

[0865] 本实施例的结果示于图1和图2中。

[0866] 实施例4:α-螺旋度的圆二色性(CD)分析

[0867] 使用带有第2版Jasco Spectra Manager系统软件的Jasco J-815分光偏振计(Jasco Inc.,Easton,MD)通过CD光谱法分析肽溶液。使用珀尔帖(Peltier)温度控制器保持对光单元的温度控制。结果表示为从公式 $[\theta] = \theta_{\text{obs}} \cdot \text{MRW} / 10 \cdot l \cdot c$ 计算得到的平均摩尔椭圆度 $[\theta]$ (deg cm<sup>2</sup> dmol<sup>-1</sup>),在该公式中,θ<sub>obs</sub>为观察到的以毫度为单位的椭圆度,MRW为肽的平均残基重量(肽的分子量/残基数),l为以厘米为单位的单元的光程长度,c为以mg/ml为单位的肽浓度。通过氨基酸分析确定肽浓度。在温和CD缓冲液(20mM磷酸,pH 2)中制备肽的储备溶液。使用该储备溶液在温和CD缓冲液或含有50%三氟乙醇(TFE)的CD缓冲液中制备0.05mg/ml的肽溶液,以用于在10mm光程单元中的分析。在4℃下,从195至250nm,以0.2nm的增量以及每分钟50nm的扫描速度扫描肽溶液的可变波长测量值。报告了六次扫描

的平均值。

[0868] 表3示出针对选定的拟肽大环化合物的圆二色性数据：

[0869] 表3

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

[0871] 实施例5:利用荧光偏振 (FP) 对MDM2的直接结合测定

[0872] 该测定按照以下一般方案进行：

[0873] 1. 将MDM2 (内部, 41kD) 稀释到FP缓冲液 (高盐缓冲液-200mM NaCl, 5mM CHAPS, pH 7.5) 中, 从而制备10 $\mu$ M工作储备溶液。

[0874] 2. 将30 $\mu$ l 10 $\mu$ M蛋白质储备溶液添加到96孔黑色HE微孔板 (Molecular Devices) 的A1和B1孔中。

[0875] 3. 将30 $\mu$ l FP缓冲液填充到第A2至A12、B2至B12、C1至C12和D1至D12列中。

[0876] 4. 蛋白质储备液从A1、B1经2或3倍系列稀释至A2、B2; A2、B2稀释至A3、B3; ... 在最后一个稀释点达到个位数的nM浓度。

[0877] 5. 用DMSO将1mM (在100% DMSO中) FAM标记的线性肽稀释到100 $\mu$ M (1:10稀释)。然后, 用水从100 $\mu$ M稀释到10 $\mu$ M (1:10稀释), 然后用FP缓冲液从10 $\mu$ M稀释到40nM (1:250稀释)。这就是工作溶液, 其在孔中将是10nM浓度 (1:4稀释)。将稀释的FAM标记的肽保持在暗处, 直至使用。

[0878] 6. 将10 $\mu$ l 10nM FAM标记的肽添加到各孔中并温育, 在不同时间点读数。5-FAM-BaLTFEHYWAQLTS-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO: 943) 的K<sub>d</sub>为约13.38nM。

[0879] 实施例6:对MDM2的竞争性荧光偏振测定

[0880] 该测定按照以下一般方案进行：

[0881] 1. 将MDM2 (内部, 41kD) 稀释到FP缓冲液 (高盐缓冲液-200mM NaCl, 5mM CHAPS, pH 7.5) 中, 从而制备84nM (2X) 工作储备溶液。

[0882] 2. 将20 $\mu$ l 84nM (2X) 蛋白质储备溶液添加到96孔黑色HE微孔板 (Molecular Devices) 的各孔中。

[0883] 3. 用DMSO将1mM (在100% DMSO中) FAM标记的线性肽稀释到100 $\mu$ M (1:10稀释)。然后, 用水从100 $\mu$ M稀释到10 $\mu$ M (1:10稀释), 然后用FP缓冲液从10 $\mu$ M稀释到40nM (1:250稀释)。这就是工作溶液, 其在孔中将是10nM浓度 (1:4稀释)。将稀释的FAM标记的肽保持在暗处, 直至使用。



[0884] 4. 用FP缓冲液制备未标记的肽剂量板,从1 $\mu$ M (终浓度)肽开始,并使用以下稀释方案为6个点制备5倍系列稀释。

[0885] 用DMSO将10mM (在100%DMSO中) 稀释到5mM (1:2稀释)。然后,用H<sub>2</sub>O从5mM稀释到500 $\mu$ M (1:10稀释),然后用FP缓冲液从500 $\mu$ M稀释到20 $\mu$ M (1:25稀释)。从20 $\mu$ M (4X) 为6个点制备5倍系列稀释。

[0886] 5. 将10 $\mu$ l 系列稀释的未标记的肽转移到充填有20 $\mu$ l 84nM蛋白质的各孔中。

[0887] 6. 将10 $\mu$ l 10nM (4X) FAM标记的肽添加到各孔中并温育3小时以读数。

[0888] 实施例7:利用荧光偏振 (FP) 对MDMX的直接结合测定

[0889] 该测定按照以下一般方案进行:

[0890] 1. 将MDMX (内部,40kD) 稀释到FP缓冲液 (高盐缓冲液-200mM NaCl,5mM CHAPS,pH 7.5) 中,从而制备10 $\mu$ M工作储备溶液。

[0891] 2. 将30 $\mu$ l 10 $\mu$ M蛋白质储备溶液添加到96孔黑色HE微孔板 (Molecular Devices) 的A1和B1孔中。

[0892] 3. 将30 $\mu$ l FP缓冲液填充到第A2至A12、B2至B12、C1至C12和D1至D12列中。

[0893] 4. 蛋白质储备液从A1、B1经2或3倍系列稀释到A2、B2;A2、B2稀释到A3、B3;...在最后一个稀释点达到个位数的nM浓度。

[0894] 5. 用DMSO将1mM (在100%DMSO中) FAM标记的线性肽稀释到100 $\mu$ M (1:10稀释)。然后,用水从100 $\mu$ M稀释到10 $\mu$ M (1:10稀释),然后用FP缓冲液从10 $\mu$ M稀释到40nM (1:250稀释)。这就是工作溶液,其在孔中将是10nM浓度 (1:4稀释)。将稀释的FAM标记的肽保持在暗处,直至使用。

[0895] 6. 将10 $\mu$ l 10nM FAM标记的肽添加到各孔中并温育,在不同时间点读数。

[0896] 5-FAM-BaLTFEHWQLTS-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:943) 的K<sub>d</sub>为约51nM。

[0897] 实施例8:对MDMX的竞争性荧光偏振测定

[0898] 该测定按照以下一般方案进行:

[0899] 1. 将MDMX (内部,40kD) 稀释到FP缓冲液 (高盐缓冲液-200mM NaCl,5mM CHAPS,pH 7.5) 中,从而制备300nM (2X) 工作储备溶液。

[0900] 2. 将20 $\mu$ l 300nM (2X) 蛋白质储备溶液添加到96孔黑色HE微孔板 (Molecular Devices) 的各孔中。

[0901] 3. 用DMSO将1mM (在100%DMSO中) FAM标记的线性肽稀释到100 $\mu$ M (1:10稀释)。然后,用水从100 $\mu$ M稀释到10 $\mu$ M (1:10稀释),然后用FP缓冲液从10 $\mu$ M稀释到40nM (1:250稀释)。这就是工作溶液,其在孔中将是10nM浓度 (1:4稀释)。将稀释的FAM标记的肽保持在暗处,直至使用。

[0902] 4. 用FP缓冲液准备未标记的肽剂量板,从5 $\mu$ M (终浓度)肽开始,并使用以下稀释方案为6个点制备5倍系列稀释。

[0903] 5. 用DMSO将10mM (在100%DMSO中) 稀释到5mM (1:2稀释)。然后,用H<sub>2</sub>O从5mM稀释到500 $\mu$ M (1:10稀释),然后用FP缓冲液从500 $\mu$ M稀释到20 $\mu$ M (1:25稀释)。从4 $\mu$ M (4X) 为6个点制备5倍系列稀释。

[0904] 6. 将10 $\mu$ l 系列稀释的未标记的肽转移到填充有20 $\mu$ l 300nM蛋白质的各孔中。

[0905] 7. 将10 $\mu$ l 10nM (4X) FAM标记的肽添加到各孔中并温育3小时以读数。

[0906] 实施例5-8的结果在表4中示出。使用下列标度：“+”表示大于1000nM的值，“++”表示大于100nM且小于或等于1000nM的值，“+++”表示大于10nM且小于或等于100nM的值，而“++++”表示小于或等于10nM的值。

[0907] 表4

SP#	IC50 (MDM2)	IC50 (MDMX)	Ki (MDM2)	Ki (MDMX)
3	++	++	+++	+++
4	+++	++	++++	+++
5	+++	++	++++	+++
6	++	++	+++	+++
7	+++	+++	++++	+++
8	++	++	+++	+++
9	++	++	+++	+++
10	++	++	+++	+++
11	+++	++	++++	+++
12	+	+	+++	++
13	++	++	+++	++
14	+++	+++	++++	++++
15	+++	++	+++	+++
16	+++	+++	++++	+++
17	+++	+++	++++	+++
18	+++	+++	++++	++++
19	++	+++	+++	+++
20	++	++	+++	+++
21	++	+++	+++	+++
22	+++	+++	++++	+++
23	++	++	+++	+++
24	+++	++	++++	+++
26	+++	++	++++	+++
28	+++	+++	++++	+++
30	++	++	+++	+++
32	+++	++	++++	+++
38	+	++	++	+++
39	+	++	++	++
40	++	++	++	+++
41	++	+++	+++	+++
42	++	++	+++	++
43	+++	+++	++++	+++
45	+++	+++	++++	++++

[0908]

[0909]

46	+++	+++	++++	+++
47	++	++	+++	+++
48	++	++	+++	+++
49	++	++	+++	+++
50	+++	++	++++	+++
52	+++	+++	++++	++++
54	++	++	+++	+++
55	+	+	++	++
65	+++	++	++++	+++
68	++	++	+++	+++
69	+++	++	++++	+++
70	++	++	++++	+++
71	+++	++	++++	+++
75	+++	++	++++	+++
77	+++	++	++++	+++
80	+++	++	++++	+++
81	++	++	+++	+++
82	++	++	+++	+++
85	+++	++	++++	+++
99	++++	++	++++	+++
100	++	++	++++	+++
101	+++	++	++++	+++
102	++	++	++++	+++
103	++	++	++++	+++
104	+++	++	++++	+++
105	+++	++	++++	+++
106	++	++	+++	+++
107	++	++	+++	+++
108	+++	++	++++	+++
109	+++	++	++++	+++
110	++	++	++++	+++
111	++	++	++++	+++
112	++	++	+++	+++
113	++	++	+++	+++
114	+++	++	++++	+++
115	++++	++	++++	+++
116	+	+	++	++
118	++++	++	++++	+++
120	+++	++	++++	+++
121	++++	++	++++	+++
122	++++	++	++++	+++
123	++++	++	++++	+++
124	++++	++	++++	+++
125	++++	++	++++	+++
126	++++	++	++++	+++
127	++++	++	++++	+++
128	++++	++	++++	+++
129	++++	++	++++	+++
130	++++	++	++++	+++
133	++++	++	++++	+++
134	++++	++	++++	+++
135	++++	++	++++	+++
136	++++	++	++++	+++
137	++++	++	++++	+++

[0910]

139	++++	++	++++	+++
142	++++	+++	++++	+++
144	++++	++	++++	+++
146	++++	++	++++	+++
148	++++	++	++++	+++
150	++++	++	++++	+++
153	++++	+++	++++	+++
154	++++	+++	++++	++++
156	++++	++	++++	+++
158	++++	++	++++	+++
160	++++	++	++++	+++
161	++++	++	++++	+++
166	++++	++	++++	+++
167	+++	++	++++	++
169	++++	+++	++++	+++
170	++++	++	++++	+++
173	++++	++	++++	+++
175	++++	++	++++	+++
177	+++	++	++++	+++
180	+++	++	++++	+++
182	++++	++	++++	+++
185	+++	+	++++	++
186	+++	++	++++	+++
189	+++	++	++++	+++
192	+++	++	++++	+++
194	+++	++	++++	++
196	+++	++	++++	+++
197	++++	++	++++	+++
199	+++	++	++++	++
201	+++	++	++++	++
203	+++	++	++++	+++
204	+++	++	++++	+++
206	+++	++	++++	+++
207	++++	++	++++	+++
210	++++	++	++++	+++
211	++++	++	++++	+++
213	++++	++	++++	+++
215	+++	++	++++	+++
217	++++	++	++++	+++
218	++++	++	++++	+++
221	++++	+++	++++	+++
227	++++	++	++++	+++
230	++++	+++	++++	++++
232	++++	++	++++	+++
233	++++	+++	++++	+++
236	+++	++	++++	+++
237	+++	++	++++	+++
238	+++	+++	++++	+++
239	+++	++	+++	+++
240	+++	++	++++	+++
241	+++	++	++++	+++
242	+++	++	++++	+++
243	+++	+++	++++	+++
244	+++	+++	++++	++++

[0911]

245	+++	+++	++++	+++
246	+++	++	++++	+++
247	+++	+++	++++	+++
248	+++	+++	++++	+++
249	+++	+++	++++	++++
250	++	+	++	+
252	++	+	++	+
254	+++	++	++++	+++
255	+++	+++	++++	+++
256	+++	+++	++++	+++
257	+++	+++	++++	+++
258	+++	++	++++	+++
259	+++	+++	++++	+++
260	+++	+++	++++	+++
261	+++	++	++++	+++
262	+++	++	++++	+++
263	+++	++	++++	+++
264	+++	+++	++++	+++
266	+++	++	++++	+++
267	+++	+++	++++	++++
270	++++	+++	++++	+++
271	++++	+++	++++	++++
272	++++	+++	++++	++++
276	+++	+++	++++	++++
277	+++	+++	++++	++++
278	+++	+++	++++	++++
279	++++	+++	++++	+++
280	+++	++	++++	+++
281	+++	+	+++	++
282	++	+	+++	+
283	+++	++	+++	++
284	+++	++	++++	+++
289	+++	+++	++++	+++
291	+++	+++	++++	++++
293	++++	+++	++++	+++
306	++++	++	++++	+++
308	++	++	+++	+++
310	+++	+++	++++	+++
312	+++	++	+++	+++
313	++++	++	++++	+++
314	++++	+++	++++	++++
315	+++	+++	++++	+++
316	++++	++	++++	+++
317	+++	++	+++	+++
318	+++	++	+++	+++
319	+++	++	+++	++
320	+++	++	+++	++
321	+++	++	++++	+++
322	+++	++	+++	++
323	+++	+	+++	++
328	+++	+++	++++	+++
329	+++	+++	++++	+++
331	++++	+++	++++	++++
332	++++	+++	++++	++++

[0912]

334	++++	+++	++++	++++
336	++++	+++	++++	++++
339	++++	++	++++	+++
341	+++	+++	++++	++++
343	+++	+++	++++	++++
347	+++	+++	++++	+++
349	++++	+++	++++	++++
351	++++	+++	++++	++++
353	++++	+++	++++	++++
355	++++	+++	++++	++++
357	++++	+++	++++	++++
359	++++	+++	++++	+++
360	++++	++++	++++	++++
363	+++	+++	++++	++++
364	+++	+++	++++	++++
365	+++	+++	++++	++++
366	+++	+++	++++	+++
369	++	++	+++	+++
370	+++	+++	++++	+++
371	++	++	+++	+++
372	++	++	+++	+++
373	+++	+++	+++	+++
374	+++	+++	++++	++++
375	+++	+++	++++	++++
376	+++	+++	++++	++++
377	+++	+++	++++	+++
378	+++	+++	++++	+++
379	+++	+++	++++	+++
380	+++	+++	++++	+++
381	+++	+++	++++	+++
382	+++	+++	++++	++++
384	++	+	++	+
386	++	+	++	+
388	++	+++	+++	++++
390	+++	+++	++++	+++
392	+++	+++	++++	++++
394	++++	+++	++++	++++
396	++++	++++	++++	++++
398	+++	+++	++++	+++
402	++++	++++	++++	++++
404	+++	+++	++++	++++
408	+++	+++	++++	+++
410	++++	++++	++++	++++
411	++	+	++	+
412	++++	+++	++++	++++
415	++++	++++	++++	++++
416	+++	+++	++++	+++
417	+++	+++	++++	+++
418	++++	+++	++++	++++
419	+++	+++	+++	++++
421	++++	++++	++++	++++
423	+++	+++	++++	+++
425	+++	+++	+++	+++
427	++	++	+++	+++

[0913]

432	++++	+++	++++	++++
434	+++	+++	++++	+++
435	++++	+++	++++	++++
437	+++	+++	++++	+++
439	++++	+++	++++	++++
441	++++	++++	++++	++++
443	+++	+++	++++	+++
445	+++	++	++++	+++
446	+++	+	++++	+
447	++	+	++	+
551	N/A	N/A	++++	+++
555	N/A	N/A	++++	+++
556	N/A	N/A	++++	+++
557	N/A	N/A	+++	+++
558	N/A	N/A	+++	+++
559	N/A	N/A	+++	+++
560	N/A	N/A	+	+
561	N/A	N/A	++++	+++
562	N/A	N/A	+++	+++
563	N/A	N/A	+++	+++
564	N/A	N/A	++++	+++
565	N/A	N/A	+++	+++
566	N/A	N/A	++++	+++
567	N/A	N/A	++++	+++
568	N/A	N/A	++++	++++
569	N/A	N/A	++++	+++
570	N/A	N/A	++++	+++
571	N/A	N/A	++++	+++
572	N/A	N/A	+++	+++
573	N/A	N/A	+++	+++
574	N/A	N/A	++++	+++
575	N/A	N/A	++++	+++
576	N/A	N/A	++++	+++
577	N/A	N/A	++++	+++
578	N/A	N/A	++++	+++
585	N/A	N/A	+++	+++
586	N/A	N/A	++++	+++
587	N/A	N/A	++++	++++
589	N/A	N/A	++++	
594	N/A	N/A	++++	++++
596	N/A	N/A	++++	+++
597	N/A	N/A	++++	+++
598	N/A	N/A	++++	+++
600	N/A	N/A	++++	++++
602	N/A	N/A	++++	++++
603	N/A	N/A	++++	++++
604	N/A	N/A	+++	+++
608	N/A	N/A	++++	+++
609	N/A	N/A	++++	+++
610	N/A	N/A	++++	+++
611	N/A	N/A	++++	+++
612	N/A	N/A	++++	+++
613	N/A	N/A	++++	+++
615	N/A	N/A	++++	++++

[0914]

433	N/A	N/A	++++	+++
686	N/A	N/A	++++	+++
687	N/A	N/A	++	++
595	N/A	N/A	+	N/A
665	N/A	N/A	+++	N/A
708	N/A	N/A	+++	+++
710	N/A	N/A	+++	+++
711	N/A	N/A	+++	++
712	N/A	N/A	++++	++++
713	N/A	N/A	++++	++++
716	N/A	N/A	++++	++++
765	+	+		
766	+++	+		
752	++	+		
753	+++	+		
754	++	+		
755	++++	+		
756	+++	+		
757	++++	+		
758	+++	+		

[0915] 实施例9:竞争性结合ELISA (MDM2和MDMX)

[0916] 在室温下将p53-His6蛋白质(“His6”公开为SEQ ID NO:1501) (30nM/孔) 在96孔 Immulon板的孔中包被过夜。在实验当天,使用自动ELISA洗板器用1X PBS-吐温20 (0.05%) 洗板,在室温下采用ELISA微孔封闭将板封闭30分钟;通过用1X PBS-吐温20 (0.05%) 洗板以洗掉过量的封闭剂。在无菌水中将肽从10mM DMSO储备液稀释至500 $\mu$ M工作储备液,在0.5%DMSO中进行进一步稀释,以在样品中保持DMSO浓度恒定。向孔中加入50 $\mu$ l体积的2X期望浓度的肽,随后添加稀释的GST-MDM2或GST-HMDX蛋白质(最终浓度:10nM)。在室温下温育样品2h,用PBS-吐温20 (0.05%) 洗板,之后添加100 $\mu$ l的在HRP稳定缓冲液中稀释至0.5 $\mu$ g/ml的HRP偶联抗GST抗体[Hypromatrix, INC]。在与检测抗体温育30min后,洗板,并与100 $\mu$ l/孔的TMB-E底物溶液温育高达30分钟;用1M HCL停止反应,并在微孔板阅读器上在450nm下测量吸光度。使用Graph Pad PRISM软件分析数据。

[0917] 实施例10:细胞活力分析

[0918] 该分析按照以下一般方案进行:

[0919] 细胞接种:在测定前一天对细胞进行胰蛋白酶化,计数,并以预定密度接种在96孔板中。对使用中的各个细胞系,使用以下细胞密度:

[0920] • SJSA-1:7500个细胞/孔

[0921] • RK0:5000个细胞/孔

[0922] • RK0-E6:5000个细胞/孔

[0923] • HCT-116:5000个细胞/孔

[0924] • SW-480:2000个细胞/孔

[0925] • MCF-7:5000个细胞/孔

[0926] 在研究当天,在室温下将培养基替换为含有11%FBS的新鲜培养基(测定培养基)。每孔添加180 $\mu$ l测定培养基。不含细胞的对照孔接收200 $\mu$ l培养基。

[0927] 肽稀释:所有稀释均在室温下进行并在室温下添加至细胞。



[0928] • 在DMSO中制备肽的10mM储备液。使用DMSO作为稀释剂,利用1:3稀释方案连续稀释储备液,以得到10、3.3、1.1、0.33、0.11、0.03、0.01mM的溶液。使用无菌水将连续DMSO稀释的肽稀释33.3倍。这产生了10X工作储备液的范围。也为对照孔准备了DMSO/无菌水(3%DMSO)混合物。

[0929] • 因此工作储备浓度范围 $\mu\text{M}$ 将是300、100、30、10、3、1、0.3和0 $\mu\text{M}$ 。使用多通道在各稀释步骤充分混合。

[0930] • H行含有对照。H1-H3将接收20 $\mu\text{l}$ 测定培养基。H4-H9将接收20 $\mu\text{l}$  3%DMSO-水载体。H10-H12将含有不含细胞的单独培养基对照。

[0931] • 阳性对照:MDM2小分子抑制剂Nutlin-3a (10mM) 用作阳性对照。使用与肽相同的稀释方案稀释Nutlin。

[0932] 向细胞添加工作储备液:

[0933] • 向适当的孔中添加20 $\mu\text{l}$  10X期望浓度,以在孔中在200 $\mu\text{l}$ 总体积中达到终浓度。(20 $\mu\text{l}$  300 $\mu\text{M}$ 肽+180 $\mu\text{l}$ 培养基中的细胞=在孔中在200 $\mu\text{l}$ 体积中的30 $\mu\text{M}$ 终浓度)。使用移液管轻柔混合数次。因此,使用的终浓度范围将是30、10、3、1、0.3、0.1、0.03和0 $\mu\text{M}$  (对于强的肽,包括进一步的稀释)。

[0934] • 对照包括未获得肽但与包含肽的孔包含相同浓度的DMSO的孔,和不含细胞的孔。

[0935] • 在37 $^{\circ}\text{C}$ 在潮湿的5% $\text{CO}_2$ 气氛下温育72小时。

[0936] • 使用来自Promega的MTT试剂测定细胞的活力。SJSA-1、RKO、RKO-E6、HCT-116细胞的活力在第3天测定,MCF-7细胞在第5天测定,而SW-480细胞在第6天测定。在指定的温育时间结束时,使板回到室温。从各孔中移除80 $\mu\text{l}$ 测定培养基。向各孔添加15 $\mu\text{l}$ 解冻的MTT试剂。

[0937] • 将板在37 $^{\circ}\text{C}$ 在潮湿的5% $\text{CO}_2$ 气氛下温育2h,并按照生产商的方案添加100 $\mu\text{l}$ 增溶剂。于室温在搅拌下温育1h,并在Synergy Biotek多板阅读器上读取570nm处的吸光度。

[0938] • 使用GraphPad PRISM分析工具分析相对于DMSO对照的细胞活力。

[0939] 试剂:

[0940] • Invitrogen细胞培养基

[0941] i.Falcon 96孔透明细胞培养处理板(Nunc 353072)

[0942] • DMSO(Sigma D 2650)

[0943] • RPMI 1640(Invitrogen 72400)

[0944] • MTT(Promega G4000)

[0945] 仪器:用于吸光度读出的多板阅读器(Synergy 2)。

[0946] 来自细胞活力试验的结果在表5和6中示出。使用下列标度:“+”表示大于30 $\mu\text{M}$ 的值,“++”表示大于15 $\mu\text{M}$ 且小于或等于30 $\mu\text{M}$ 的值,“+++”表示大于5 $\mu\text{M}$ 且小于或等于15 $\mu\text{M}$ 的值,而“++++”表示小于或等于5 $\mu\text{M}$ 的值。“IC50比”表示p53+/+细胞中的平均IC50相对于p53-/-细胞中的平均IC50的比值。

[0947] 表5

[0948]

SP#	SJSA-1 EC50 (72h)
3	++++
4	++++
5	+++++
6	++
7	+++++
8	++++
9	++++
10	++++
11	+++++
12	++
13	++++
14	+
15	++
16	+
17	+
18	+
19	++
20	+
21	+
22	+
24	++++
26	+++++
28	+
29	+
30	+
32	++
38	+
39	+
40	+
41	+
42	+
43	++
45	+
46	+
47	+
48	+

[0949]

SP#	SJSA-1 EC50 (72h)
49	+++
50	++++
52	+
54	+
55	+
65	++++
68	++++
69	++++
70	++++
71	++++
72	++++
74	++++
75	++++
77	++++
78	++
80	++++
81	+++
82	+++
83	+++
84	+
85	+++
99	++++
102	+++
103	+++
104	+++
105	+++
108	+++
109	+++
110	+++
111	++
114	++++
115	++++
118	++++
120	++++
121	++++
122	++++
123	++++

[0950]

SP#	SJSA-1 EC50 (72h)
124	+++
125	++++
126	++++
127	++++
128	+++
129	++
130	++++
131	+++
132	++++
133	+++
134	+++
135	+++
136	++
137	+++
139	++++
142	+++
144	++++
147	++++
148	++++
149	++++
150	++++
152	+++
153	++++
154	++++
155	++
156	+++
157	+++
158	+++
160	++++
161	++++
162	+++
163	+++
166	++
167	+++
168	++
169	++++
170	++++

[0951]

SP#	SJSA-1 EC50 (72h)
171	++
173	+++
174	++++
175	+++
176	+++
177	++++
179	+++
180	+++
181	+++
182	++++
183	++++
184	+++
185	+++
186	++
188	++
190	++++
192	+++
193	++
194	+
195	++++
196	++++
197	++++
198	++
199	+++
200	+++
201	++++
202	+++
203	++++
204	++++
205	++
206	++
207	+++
208	+++
209	++++
210	+++
211	++++
213	++++

[0952]

SP#	SJSA-1 EC50 (72h)
214	++++
215	++++
216	++++
217	++++
218	++++
219	++++
220	+++
221	++++
222	+++
223	++++
224	++
225	+++
226	++
227	+++
228	++++
229	++++
230	++++
231	++++
232	++++
233	++++
234	++++
235	++++
236	++++
237	++++
238	++++
239	+++
240	++
241	+++
242	++++
243	++++
244	++++
245	++++
246	+++
247	++++
248	++++
249	++++
250	++

[0953]

SP#	SJSA-1 EC50 (72h)
251	+
252	+
253	+
254	+++
255	+++
256	++
257	+++
258	+++
259	++
260	++
261	++
262	+++
263	++
264	++++
266	+++
267	++++
270	++
271	++
272	++
276	++
277	++
278	++
279	++++
280	+++
281	++
282	++
283	++
284	++++
289	++++
290	+++
291	++++
292	++++
293	++++
294	++++
295	+++
296	++++
297	+++

[0954]

SP#	SJSA-1 EC50 (72h)
298	++++
300	++++
301	++++
302	++++
303	++++
304	++++
305	++++
306	++++
307	+++
308	++++
309	+++
310	++++
312	++++
313	++++
314	++++
315	++++
316	++++
317	++++
318	++++
319	++++
320	++++
321	++++
322	++++
323	++++
324	++++
326	++++
327	++++
328	++++
329	++++
330	++++
331	++++
332	++++
333	++
334	+++
335	++++
336	++++
337	++++



[0955]

SP#	SJSA-1 EC50 (72h)
338	++++
339	++++
340	++++
341	++++
342	++++
343	++++
344	++++
345	++++
346	++++
347	++++
348	++++
349	++++
350	++++
351	++++
352	++++
353	++++
355	++++
357	++++
358	++++
359	++++
360	++++
361	+++
362	++++
363	++++
364	++++
365	+++
366	++++
367	++++
368	+
369	++++
370	++++
371	++++
372	+++
373	+++
374	++++
375	++++
376	++++

[0956]

SP#	SJSA-1 EC50 (72h)
377	++++
378	++++
379	++++
380	++++
381	++++
382	++++
386	+++
388	++
390	++++
392	+++
394	+++
396	+++
398	+++
402	+++
404	+++
408	++++
410	+++
411	+++
412	+
421	+++
423	++++
425	++++
427	++++
434	+++
435	++++
436	++++
437	++++
438	++++
439	++++
440	++++
441	++++
442	++++
443	++++
444	+++
445	++++
449	++++
551	++++

[0957]

SP#	SJSA-1 EC50 (72h)
552	++++
554	+
555	++++
557	++++
558	++++
560	+
561	++++
562	++++
563	++++
564	++++
566	++++
567	++++
568	+++
569	++++
571	++++
572	++++
573	++++
574	++++
575	++++
576	++++
577	++++
578	++++
585	++++
586	++++
587	++++
588	++++
589	+++
432	++++
672	+
673	++
682	+
686	+
687	+
662	++++
663	++++
553	+++
559	++++

[0958]

SP#	SJSA-1 EC50 (72h)
579	++++
581	++++
582	++
582	++++
584	+++
675	++++
676	++++
677	+
679	++++
700	+++
704	+++
591	+
706	++
695	++
595	++++
596	++++
597	+++
598	+++
599	++++
600	++++
601	+++
602	+++
603	+++
604	+++
606	++++
607	++++
608	++++
610	++++
611	++++
612	++++
613	+++
614	+++
615	++++
618	++++
619	++++
707	++++
620	++++

[0959]

SP#	SJSA-1 EC50 (72h)
621	++++
622	++++
623	++++
624	++++
625	++++
626	+++
631	++++
633	++++
634	++++
635	+++
636	+++
638	+
641	+++
665	++++
708	++++
709	+++
710	+
711	++++
712	++++
713	++++
714	+++
715	+++
716	++++
765	+
753	+
754	+
755	+
756	+
757	++++
758	+++

[0960] 表6

[0961]

SP#	HCT-116 EC50 (72h)	RKO EC50 (72h)	RKO-E6 EC50 (72h)	SW480 EC50 (6days)	IC50 比
4	++++	++++	+++	++++	
5	++++	++++	+++	++++	
7	++++	++++	+++	++++	
10	++++	+++	+++	+++	

[0962]

SP#	HCT-116 EC50 (72h)	RKO EC50 (72h)	RKO-E6 EC50 (72h)	SW480 EC50 (6days)	IC50 比
11	++++	++++	++	+++	
50	++++	++++	++	+++	
65	+++	+++	+++	+++	
69	++++	++++	+	++++	
70	++++	++++	++	+++	
71	++++	++++	+++	+++	
81	+++	+++	+++	+++	
99	++++	++++	+++	++++	
109	++++	++++	++	+++	
114		+++	+	+++	
115		+++	+	+++	1-29
118	+++	++++	+	++++	
120	++++	++++	+	++++	
121	++++	++++	+	++++	
122		+++	+	+++	1-29
125	+++	+++	+	+	
126	+	+	+	+	
148		++	+	+	
150		++	+	+	
153	+++		+		
154	+++	+++	+	+	30-49
158	+	+	+	+	
160	+++	+	+	+	1-29
161	+++	+	+	+	
175	+	+	+	+	
196	++++	++++	+++	++++	
219	++++	+++	+	+	1-29
233	++++				
237	++++		+	+	
238	++++		+	+	
243	++++		+	+	
244	++++		+	+	≥50
245	++++		+	+	
247	++++		+	+	
249	++++	++++	+	+	≥50
255	++++		+		
291			+		
293	+++		+		
303	+++		+		1-29
305			+		
306	++++		+		
310	++++		+		
312	++++				
313	++++		++		
314			+		
315	++++	++++	++	++++	≥50
316	++++	++++	+	+++	≥50
317	+++		+	++	
321	++++		+		
324	+++		+		
325	+++				

[0963]

SP#	HCT-116 EC50 (72h)	RKO EC50 (72h)	RKO-E6 EC50 (72h)	SW480 EC50 (6days)	IC50 比
326	+++		+		
327	+++		+		
328	+++		++		
329	++++		+		
330			+		
331	++++	++++	+	+	≥50
338	++++	++++	++	+++	
341	+++	++	+	+	
343	+++		+	+	
346	++++		+	+	
347	+++		+	+	
349	++++	+++	+	+	30-49
350	++++		+	+	
351	++++	+++	+	+	30-49
353	++	++	+	+	
355	++++	++	+	+	1-29
357	++++	++++	+	+	
358	++++	++	+	+	
359	++++	++	+	+	
367	++++		+	+	30-49
386	++++	++++	++++	++++	
388	++	++	+	+++	1-29
390	++++	++++	+++	++++	
435	+++	++	+		
436	++++	++++	++		
437	++++	++++	++	++++	30-49
440	++	++	+		
442	++++	++++	++		
444	++++	++++	+++		
445	++++	+++	+	+	≥50
555					≥50
557					≥50
558					30-49
562					30-49
564					30-49
566					30-49
567					≥50
572					≥50
573					30-49
578					30-49
662					≥50
379					1-29
375					1-29
559					≥50
561					1-29
563					1-29
568					1-29
569					1-29
571					1-29
574					1-29
575					1-29

SP#	HCT-116 EC50 (72h)	RKO EC50 (72h)	RKO-E6 EC50 (72h)	SW480 EC50 (6days)	IC50 比
576					1-29
577					30-49
433					1-29
551					30-49
553					1-29
710				+	
711				+	
712				++	
713				++	
714				+++	
715				+++	
716				+	

[0964] 实施例11:P21 ELISA测定

[0966] 该测定按照以下一般方案进行：

[0967] 细胞接种：

[0968] • 在测定前一天对SJSA1细胞进行胰蛋白酶化，计数，并以7500个细胞/100 $\mu$ l/孔的密度接种在96孔板中。

[0969] • 在研究当天，将培养基替换为新鲜的RPMI-11%FBS (测定培养基)。每孔添加90 $\mu$ l测定培养基。不含细胞的对照孔接收100 $\mu$ l培养基。

[0970] 肽稀释：

[0971] • 在DMSO中制备肽的10mM储备液。使用DMSO作为稀释剂，利用1:3稀释方案连续稀释储备液，以得到10、3.3、1.1、0.33、0.11、0.03、0.01mM的溶液。使用无菌水将连续DMSO稀释的肽稀释33.3倍。这产生了10X工作储备液范围。也为对照孔准备了DMSO/无菌水 (3% DMSO) 混合物。

[0972] • 因此工作储备液浓度范围 $\mu$ M将是300、100、30、10、3、1、0.3和0 $\mu$ M。使用多通道在各稀释步骤充分混合。

[0973] • H行含有对照。H1-H3将接收10 $\mu$ l测定培养基。H4-H9将接收10 $\mu$ l 3%DMSO-水载体。H10-H12将含有不含细胞的单独培养基对照。

[0974] • 阳性对照：HDM2小分子抑制剂Nutlin-3a (10mM) 用作阳性对照。使用与肽相同的稀释方案稀释Nutlin。

[0975] 向细胞添加工作储备液：

[0976] • 向适当的孔中添加10 $\mu$ l 10X期望浓度，以在孔中在100 $\mu$ l总体积中达到终浓度。(10 $\mu$ l 300 $\mu$ M肽+90 $\mu$ l培养基中的细胞=在孔中在100 $\mu$ l体积中的30 $\mu$ M终浓度)。因此，使用的终浓度范围将是30、10、3、1、0.3和0 $\mu$ M。

[0977] • 对照将包括未获得肽但与包含肽的孔包含相同浓度的DMSO的孔，和不含细胞的孔。

[0978] • 温育后20h，吸出培养基；用1X PBS (不含Ca<sup>++</sup>/Mg<sup>++</sup>) 洗涤细胞，并在冰上在60 $\mu$ l 1X细胞裂解缓冲液 (稀释到1X并补充有蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂的Cell Signaling technologies 10X缓冲液) 中裂解30min。

[0979] • 将板在4℃下以5000rpm的速度离心8min；收集澄清的上清液并于-80℃冷冻直



至进一步使用。

[0980] 蛋白质估计:

[0981] • 使用来自Thermofisher的BCA蛋白质检测试剂盒和BSA标准来测定裂解物的总蛋白质含量。通常预期每孔约6-7 $\mu$ g蛋白质。

[0982] • 每孔使用50 $\mu$ l裂解物来建立p21 ELISA。

[0983] 人类总p21 ELISA:ELISA测定方案按照生产商的说明书进行。各孔使用50 $\mu$ l裂解物,并且各孔一式三份建立。

[0984] 试剂:

[0985] • -Cell-Based Assay (-)-Nutlin-3 (10mM):Cayman Chemicals,目录号600034

[0986] • -OptiMEM,Invitrogen目录号51985

[0987] • -Cell Signaling裂解缓冲液(10X),Cell signaling technology,目录号9803

[0988] • -蛋白酶抑制剂混合片(迷你),Roche Chemicals,目录号04693124001

[0989] • -磷酸酶抑制剂混合片,Roche Chemicals,目录号04906837001

[0990] • -人类总p21 ELISA试剂盒,R&D Systems,DYC 1047-5

[0991] • -终止溶液(1M HCL),Cell Signaling Technologies,目录号7002

[0992] 仪器:微型离心机-Eppendorf 5415D和用于吸光度读出的多板阅读器(Synergy 2)。

[0993] 实施例12:胱天蛋白酶3检测试验:

[0994] 该试验按照以下一般方案进行:

[0995] 细胞接种:在测定前一天对SJSA1细胞进行胰蛋白酶化,计数,并以7500个细胞/100 $\mu$ l/孔的密度接种在96孔板中。在研究当天,将培养基替换为新鲜的RPMI-11%FBS(测定培养基)。每孔添加180 $\mu$ L测定培养基。不含细胞的对照孔接收200 $\mu$ l培养基。

[0996] 肽稀释:

[0997] • 在DMSO中制备肽的10mM储备液。使用DMSO作为稀释剂,利用1:3稀释方案连续稀释储备液,以得到10、3.3、1.1、0.33、0.11、0.03、0.01mM的溶液。使用无菌水将连续DMSO稀释的肽稀释33.3倍。这产生了10X工作储备液范围。也为对照孔准备了DMSO/无菌水(3%DMSO)混合物。

[0998] • 因此工作储备液浓度范围 $\mu$ M将是300、100、30、10、3、1、0.3和0 $\mu$ M。使用多通道在各稀释步骤充分混合。向适当的孔中添加20 $\mu$ l10X工作储备液。

[0999] • H行含有对照。H1-H3将接收20 $\mu$ l测定培养基。H4-H9将接收20 $\mu$ l 3%DMSO-水载体。H10-H12将含有不含细胞的单独培养基对照。

[1000] • 阳性对照:MDM2小分子抑制剂Nutlin-3a (10mM) 用作阳性对照。使用与肽相同的稀释方案稀释Nutlin。

[1001] 向细胞添加工作储备液:

[1002] • 向适当的孔中添加10 $\mu$ l 10X期望浓度,以在孔中在100 $\mu$ l总体积中达到终浓度。(10 $\mu$ l 300 $\mu$ M肽+90 $\mu$ l培养基中的细胞=在孔中在100 $\mu$ l体积中的30 $\mu$ M终浓度)。因此,使用的终浓度范围将是30、10、3、1、0.3和0 $\mu$ M。

[1003] • 对照将包括未获得肽但与包含肽的孔包含相同浓度的DMSO的孔,和不含细胞的孔。

[1004] • 温育后48h,从各孔中吸出80μl培养基;每孔添加100μl胰天蛋白酶3/7Glo测定试剂(Promega胰天蛋白酶3/7glo测定系统,G8092),于室温在轻柔振荡下温育1h。

[1005] • 在Synergy Biotek多板阅读器上对读取发光。

[1006] • 数据作为胰天蛋白酶3对经DMSO处理的细胞的激活而进行分析。

[1007] 自来实施例11和12的结果示于表7中:

[1008] 表7

[1009]

SP#	胰天蛋白酶 0.3uM	胰天蛋白酶 1 uM	胰天蛋白酶 3uM	胰天蛋白酶 10uM	胰天蛋白酶 30uM	p21 0.3uM	p21 1uM	p21 3uM	p21 10uM	p21 30uM
4			9	37	35			317	3049	3257
7	0.93	1.4	5.08	21.7	23.96		18	368	1687	2306
8			1	19	25			34	972	2857
10	1		1	17	32		10	89	970	2250
11	1		5	23	33.5		140	350	2075.5	3154
26	1		1	3	14					
50			8	29	29		44	646	1923	1818
65	1		6	28	34	-69	-24	122	843	1472
69	4.34	9.51	16.39	26.59	26.11	272	458.72	1281.39	2138.88	1447.22
70			1	9	26		-19	68	828	1871
71	0.95	1.02	3.68	14.72	23.52		95	101	1204	2075
72	1		1	4	10	-19	57	282	772	1045
77	1		2	19	23					
80	1		2	13	20					
81	1		1	6	21		0	0	417	1649
99	1		7	31	33	-19	117	370	996	1398
109			4	16	25		161	445	1221	1680
114	1		6	28	34	-21	11	116	742	910
115	1		10	26	32	-10	36	315	832	1020
118	1		2	18	27	-76	-62	-11	581	1270
120	2		11	20	30	-4	30	164	756	1349
121	1		5	19	30	9	33	81	626	1251
122	1		2	15	30	-39	-18	59	554	1289
123	1		1	6	14					
125	1		3	9	29	50	104	196	353	1222
126	1		1	6	30	-47	-10	90	397	1443
127	1		1	4	13					
130	1		2	6	17					
139	1		2	9	18					
142	1		2	15	20					
144	1		4	10	16					
148	1		11	23	31	-23	55	295	666	820
149	1		2	4	10	35	331	601	1164	1540
150	2		11	19	35	-37	24	294	895	906
153	2		10	15	20					

[1010]

SP#	胰天蛋白酶 0.3uM	胰天蛋白酶 1 uM	胰天蛋白酶 3uM	胰天蛋白酶 10uM	胰天蛋白酶 30uM	p21 0.3uM	p21 1uM	p21 3uM	p21 10uM	p21 30uM
154	2.68	4	13.93	19.86	30.14	414.04	837.45	1622.42	2149.51	2156.98
158	1		1.67	5	16.33	-1.5	95	209.5	654	1665.5
160	2		10	16	31	-43	46	373	814	1334
161	2		8	14	22	13	128	331	619	1078
170	1		1	16	20					
175	1		5	12	21	-65	1	149	543	1107
177	1		1	8	20					
183	1		1	4	8	-132	-119	-14	1002	818
196	1		4	33	26	-49	-1	214	1715	687
197	1		1	10	20					
203	1		3	12	10	77	329	534	1805	380
204	1		4	10	10	3	337	928	1435	269
218	1		2	8	18					
219	1		5	17	34	28	53	289	884	1435
221	1		3	6	12	127	339	923	1694	1701
223	1		1	5	18					
230	1		2	3	11	245.5	392	882	1549	2086
233	6	8	17	22	23	2000	2489	3528	3689	2481
237	1		5	9	15	0	0	2	284	421
238	1		2	4	21	0	149	128	825	2066
242	1		4	5	18	0	0	35	577	595
243	1		2	5	23	0	0	0	456	615
244	1		2	7	17	0	178	190	708	1112
245	1		3	9	16	0	0	0	368	536
247	1		3	11	24	0	0	49	492	699
248						0	50	22	174	1919
249	2		5	11	23	0	0	100	907	1076
251						0	0	0	0	0
252						0	0	0	0	0
253						0	0	0	0	0
254	1	3	7	14	22	118	896	1774	3042	3035
286	1	4	11	20	22	481	1351	2882	3383	2479
287	1	1	3	11	23	97	398	986	2828	3410
315	11	14.5	25.5	32	34	2110	2209	2626	2965	2635
316	6.5	10.5	21	32	32.5	1319	1718	2848	2918	2540
317	3	4	9	26	35	551	624	776	1367	1076
331	4.5	8	11	14.5	30.5	1510	1649	2027	2319	2509
338	1	5	23	20	29	660.37	1625.38	3365.87	2897.62	2727
341	3	8	11	14	21	1325.62	1873	2039.75	2360.75	2574
343	1	1	2	5	29	262	281	450	570	1199
346						235.86	339.82	620.36	829.32	1695.78
347	2	3	5	8	29	374	622	659	905	1567
349	1	8	11	16	24	1039.5	1598.88	1983.75	2191.25	2576.38
351	3	9	13	15	24	1350.67	1710.67	2030.92	2190.67	2668.54
353	1	2	5	7	30	390	490	709	931	1483
355	1	4	11	13	30	191	688	1122	1223	1519
357	2	7	11	15	23	539	777	1080	1362	1177
358	1	2	3	6	24	252	321	434	609	1192
359	3	9	11	13	23	1163.29	1508.79	1780.29	2067.67	2479.29
416						33.74	39.82	56.57	86.78	1275.28

[1011]

SP#	胱天蛋白酶 0.3uM	胱天蛋白酶 1 uM	胱天蛋白酶 3uM	胱天蛋白酶 10uM	胱天蛋白酶 30uM	p21 0.3uM	p21 1uM	p21 3uM	p21 10uM	p21 30uM
417						0	0	101.13	639.04	2016.58
419						58.28	97.36	221.65	1520.69	2187.94
432						54.86	68.86	105.11	440.28	1594.4

[1012] 实施例13:由拟肽大环化合物引起的细胞裂解

[1013] 提前一天以7500个细胞/孔并使用100u1/孔的生长培养基将SJSA-1细胞铺设在透明平底板(Costar, 目录号353072)中, 保留H行10-12列为空用于单独放置培养基。在试验当天, 将培养基更换为RPMI 1%FBS培养基, 每孔90uL培养基。

[1014] 在100%的DMSO中制备拟肽大环化合物的10mM储备溶液。然后将拟肽大环化合物在100%的DMSO中进行连续稀释, 然后进一步在无菌水中稀释20倍, 以制备各拟肽大环化合物在5%DMSO/水中浓度为500uM至62.5uM的工作储备溶液。

[1015] 将10uL的各化合物加入到90uL的SJSA-1细胞中, 以在含0.5%DMSO的培养基中得到50uM至6.25uM的终浓度。阴性对照(非裂解)样品为单独的0.5%DMSO, 而阳性对照(裂解)样品包括10uM蜂毒肽和1%Triton X-100。

[1016] 将细胞板在37℃下温育1小时。在温育1小时后, 通过显微镜检查细胞的形态, 然后在室温下将该板在1200rpm下离心5分钟。对于每个拟肽大环化合物和对照样品, 将40uL上清液转移到透明的分析板上。使用来自Caymen的目录号#1000882的LDH细胞毒性分析试剂盒测定LDH的释放。

[1017] 结果示于表8中:

[1018] 表8

[1019]

SP#	6.25 uM % 裂解的细胞 (1h LDH)	12.5 uM % 裂解的细胞 (1h LDH)	25 uM % 裂解的细胞 (1h LDH)	50 uM % 裂解的细胞 (1h LDH)
3	1	0	1	3
4	-2	1	1	2
6	1	1	1	1
7	0	0	0	0

[1020]

SP#	6.25 uM % 裂解的细胞 (1h LDH)	12.5 uM % 裂解的细胞 (1h LDH)	25 uM %裂 解的细胞(1h LDH)	50 uM % 裂 解的细胞(1h LDH)
8	-1	0	1	1
9	-3	0	0	2
11	-2	1	2	3
15	1	2	2	5
18	0	1	2	4
19	2	2	3	21
22	0	-1	0	0
26	2	5	-1	0
32	0	0	2	0
39	0	-1	0	3
43	0	0	-1	-1
55	1	5	9	13
65	0	0	0	2
69	1	0.5	-0.5	5
71	0	0	0	0
72	2	1	0	3
75	-1	3	1	1
77	-2	-2	1	-1
80	0	1	1	5
81	1	1	0	0
82	0	0	0	1
99	1.5	3	2	3.5
108	0	0	0	1
114	3	-1	4	9
115	0	1	-1	6
118	4	2	2	4
120	0	-1	0	6
121	1	0	1	7
122	1	3	0	6
123	-2	2	5	3
125	0	1	0	2
126	1	2	1	1
130	1	3	0	-1
139	-2	-3	-1	-1
142	1	0	1	3
144	1	2	-1	2
147	8	9	16	55
148	0	1	-1	0
149	6	7	7	21
150	-1	-2	0	2
153	4	3	2	3
154	-1	-1.5	-1	-1
158	0	-6	-2	
160	-1	0	-1	1
161	1	1	-1	0
169	2	3	3	7
170	2	2	1	-1
174	5	3	2	5
175	3	2	1	0
177	-1	-1	0	1

[1021]

SP#	6.25 uM % 裂解的细胞 (1h LDH)	12.5 uM % 裂解的细胞 (1h LDH)	25 uM %裂 解的细胞(1h LDH)	50 uM % 裂 解的细胞(1h LDH)
182	0	2	3	6
183	2	1	0	3
190	-1	-1	0	1
196	0	-2	0	3
197	1	-4	-1	-2
203	0	-1	2	2
204	4	3	2	0
211	5	4	3	1
217	2	1	1	2
218	0	-3	-4	1
219	0	0	-1	2
221	3	3	3	11
223	-2	-2	-4	-1
230	0.5	-0.5	0	3
232	6	6	5	5
233	2.5	4.5	3.5	6
237	0	3	7	55
243	4	23	39	64
244	0	1	0	4
245	1	14	11	56
247	0	0	0	4
249	0	0	0	0
254	11	34	60	75
279	6	4	5	6
280	5	4	6	18
284	5	4	5	6
286	0	0	0	0
287	0	6	11	56
316	0	1	0	1
317	0	1	0	0
331	0	0	0	0
335	0	0	0	1
336	0	0	0	0
338	0	0	0	1
340	0	2	0	0
341	0	0	0	0
343	0	1	0	0
347	0	0	0	0
349	0	0	0	0
351	0	0	0	0
353	0	0	0	0
355	0	0	0	0
357	0	0	0	0
359	0	0	0	0
413	5	3	3	3
414	3	3	2	2
415	4	4	2	2

[1022] 实施例14:p53 GRIP试验

[1023] Thermo Scientific\*BioImage p53-Hdm2 Redistribute Assay监测响应于药物化合物或其它刺激物,蛋白质与MDM2的相互作用以及GFP-标记的p53的细胞转位。重组CHO-hIR细胞稳定地表达与增强绿色荧光蛋白(EGFP)的C末端融合的人p53(1-312)和PDE4A4-

Hdm2 (1-124), 后者是PDE4A4和Hdm2 (1-124) 之间的融合蛋白。它们提供了用于检测实验条件对p53和MDM2的相互作用的影响的即用型测定系统。使用HCS平台进行成像和分析。

[1024] 将CHO-hIR细胞常规维持在补充有1%青霉素-链霉素、0.5mg/ml遗传霉素、1mg/ml Zeocin和10%FBS的Ham F12培养基中。在进行测定之前18-24h, 使用培养基以7000个细胞/100 $\mu$ l/孔的密度将细胞接种至96孔板中。第二天, 更新培养基, 并向细胞添加PD177至3 $\mu$ M的最终浓度以激活灶形成。对照孔保持为不含PD-177溶液。用PD177刺激后24h, 用Opti-MEM培养基洗涤细胞一次, 并向细胞添加50 $\mu$ L补充有PD-177 (6 $\mu$ M) 的Opti-MEM培养基。在无菌水中将肽从10mM DMSO储备液稀释至500 $\mu$ M工作储备液, 在0.5%DMSO中进行进一步稀释, 以保持样品中的DMSO浓度恒定。最终的最高DMSO浓度是0.5%, 并将其用作阴性对照。使用Cayman Chemicals Cell-Based Assay (-) -Nutlin-3 (10mM) 作为阳性对照。使用与将50 $\mu$ l 2X期望浓度的肽添加至适当的孔中相同的稀释方案稀释Nutlin以达到最终期望浓度。然后在湿润的5%CO<sub>2</sub>气氛和37℃下, 细胞与肽温育6h。在温育期之后, 在室温下通过轻轻地吸出培养基并每孔添加150 $\mu$ l固定溶液来固定细胞20分钟。每次用200 $\mu$ l PBS/孔洗涤固定的细胞4次。在最后一次洗涤结束时, 添加100 $\mu$ l 1 $\mu$ MHoechst染色液。将密封的板在黑暗中温育至少30分钟, 用PBS洗涤, 以除去过量的染色剂, 并向每孔中添加PBS。培养板可在4℃下于黑暗中储存长达3天。利用位于使用针对Hoechst和GFP的10x物镜、XF-100滤光器组的Cellomics Arrayscan仪器上的分子转位模块对p53/MDM2的转位进行成像。输出参数是Mean-CircRINGAveIntenRatio (核和细胞质的平均荧光强度的比例 (孔平均值))。将用于图像分析的每孔最小可接受细胞数设置成500个细胞。

[1025] 实施例15: 使用SP315、SP249和SP154进行MCF-7乳腺癌研究

[1026] 进行异种移植研究以测试SP315、SP249和SP154在MCF-7乳腺癌异种移植模型中抑制裸鼠的肿瘤生长的效力。在一组中还测试了阴性对照的钉肽、SP252、SP154的点突变 (第19位F到A); 该肽在SJSA-1体外活力试验中已经显示无活性。在肿瘤细胞移植前一天 (-1天), 将缓释90天的0.72mg的17 $\beta$ -雌二醇丸 (Innovative Research, Sarasota, FL) 皮下 (sc) 植入至颈部上的后颈上。在第0天将MCF-7肿瘤细胞皮下植入至雌性裸 (Cr1:NU-Foxn1nu) 鼠的侧腹。在第18天, 使用卡尺测量所得到的sc肿瘤, 以确定它们的长度和宽度, 并对小鼠进行称重。使用公式 (长 $\times$ 宽<sup>2</sup>)/2计算出肿瘤的尺寸, 并表示为立方毫米 (mm<sup>3</sup>)。将肿瘤小于85.3mm<sup>3</sup>或大于417.4mm<sup>3</sup>的小鼠从随后的组形成中排除。随机形成13组小鼠, 每组10只, 以使组平均肿瘤尺寸基本等同 (组的平均值 $\pm$ 组的标准偏差=180.7 $\pm$ 17.5mm<sup>3</sup>)。

[1027] SP315、SP249、SP154和SP252的给药溶液从在媒质中配制的肽制备, 该媒质含有在pH 7的10mM组氨酸缓冲盐水中的浓度为50mg/mL的MPEG (2K) -DSPE。该制剂在研究期间制备一次。该媒质用作随后的研究中的媒质对照物。

[1028] 针对各组指定不同的治疗方案。第1组, 作为媒质阴性对照组, 在第18-39天接收到以每周三次8mL/kg体重静脉内 (iv) 施用的媒质。第2和3组分别接收到以每周三次30mg/kg或一周两次40mg/kg静脉注射的SP154。第4组接收到以每周三次静脉注射的6.7mg/kg的SP249。第5、6、7和8组分别接收到每周三次26.7mg/kg、每周两次20mg/kg、每周两次30mg/kg静脉注射的SP315。第9组接收到以每周三次静脉注射的30mg/kg的SP252。

[1029] 在给药期间, 对小鼠进行称重并每周1-2次测量肿瘤。关于肿瘤体积的结果示于图3-6中, 且与媒质组相比的肿瘤生长抑制率、体重变化和体重减轻值 $\geq$ 20%的小鼠的数目或

死亡的小鼠的数目示于表9中。根据 $\%TGI = 100 - [(TuVol_{\text{已治疗的天数-第x天}} - TuVol_{\text{已治疗的天数-第18天}}) / (TuVol_{\text{媒质阴性对照-第x天}} - TuVol_{\text{媒质阴性对照-第18天}})] * 100$ 计算肿瘤生长抑制率(TGI),其中x为正在进行治疗效果评定的那一天。对于该肿瘤模型,第1组、媒质阴性对照组显示了良好的肿瘤生长速率。

[1030] 对于SP154,在以每周两次40mg/kg给药的组中,2只小鼠在治疗期间死亡,表明这种给药方案是不可耐受的。每周三次30mg/kg的SP154的给药方案耐受性良好,并取得了84%的TGI。

[1031] 对于SP249,在以每周三次6.7mg/kg给药的组中,4只小鼠在治疗期间死亡,表明这种给药方案是不可耐受的。

[1032] 用于SP315的所有给药方案均显示出良好的耐受性,无显著的体重减轻或死亡。采用每周两次40mg/kg的SP315的给药产生了最高的TGI(92%)。每周三次26.7mg/kg、每周两次20mg/kg、每周两次30mg/kg的SP315的给药方案分别产生86%、82%和85%的TGI。

[1033] 对于SP252,在体外试验中没有显示出明显的活性的SP154的点突变,采用每周三次30mg/kg的给药具有较好的耐受性,无明显的体重减轻或死亡。而在第32天前观察到88%的TGI,该TGI在第39天前减少至41%。

[1034] 本实施例的结果示于图3-6中并总结于表9中。

[1035] 表9

组号	治疗组	%体重变化	≥ 10%体重减轻的数目	≥ 20%体重减轻或死亡的数目	% TGI
1	Vehicle	+8.6	0/10	0/10	-
2	SP154 30 mg/kg 3x/wk iv	+5.7	0/10	0/10	*84
3	SP154 40 mg/kg 2x/wk iv	N/A	0/10	2/10 (2 deaths)	方案不耐受
4	SP249 6.7 mg/kg 3x/wk iv	N/A	6/10	4/10	方案不耐受
5	SP315 26.7 mg/kg 3x/wk iv	+3.7	0/10	0/10	*86
6	SP315 20 mg/kg 2x/wk iv	+3.9	0/10	0/10	*82
7	SP315 30 mg/kg 2x/wk iv	+8.0	0/10	0/10	*85
8	SP315 40 mg/kg 2x/wk iv	+2.1	0/10	0/10	*92
9	SP252 30 mg/kg 3x/wk iv	+3.3	0/10	0/10	*41

[1038] \*p≤0.05相比于载体对照

[1039] 实施例21:拟肽大环化合物的溶解度测定

[1040] 首先将拟肽大环化合物溶解于纯的N,N-二甲基乙酰胺(DMA,Sigma-Aldrich, 38840-1L-F)中以制备在20-140mg/mL的浓度范围的20X储备溶液。将DMA储备溶液在含有2%Solutol-HS-15、25mM组氨酸、45mg/mL甘露醇的水性载体中稀释20倍,以获得拟肽大环

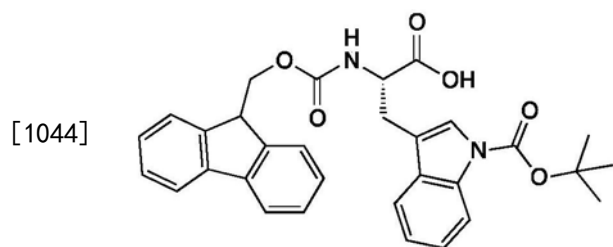


化合物在5%DMA、2%Solutol-HS-15、25mM组氨酸、45mg/mL甘露醇中的1-7mg/ml的终浓度。通过反复移液或轻轻涡旋将终溶液轻轻地混合,然后在室温下将终溶液在超声波水浴中超声处理10分钟。然后,使用7x目视放大器在通风橱中进行仔细的目视观察,以确定沉淀物是否在底部上或作为悬浮物存在。根据需要检测另外的浓度范围,以确定每种拟肽大环化合物的最大溶解度极限。

[1041] 来自实施例的结果示于图7中。

[1042] 实施例22:使用Boc保护的氨基酸制备拟肽大环化合物

[1043] 如实施例2所述制备包含在第“i”位的R8氨基酸和在第“i+7”位的S5氨基酸的拟肽大环化合物的前体。在第“i+3”位的氨基酸为在固相合成中被合并的Boc保护的色氨酸。具体而言,在固相合成中使用如下所示的Boc保护的色氨酸(市售的,例如,购自Novabiochem):



[1045] 在进行切割和脱保护步骤之前,使用钨催化剂进行复分解反应。通过HPLC分析确定环化后得到的组合物主要含有具有包含反式烯烃(“iso2”,包含在E构型中的双键)的交联体的初级拟肽大环化合物。出乎意料的是,分别观察到比例为90:10的反式和顺式产物。

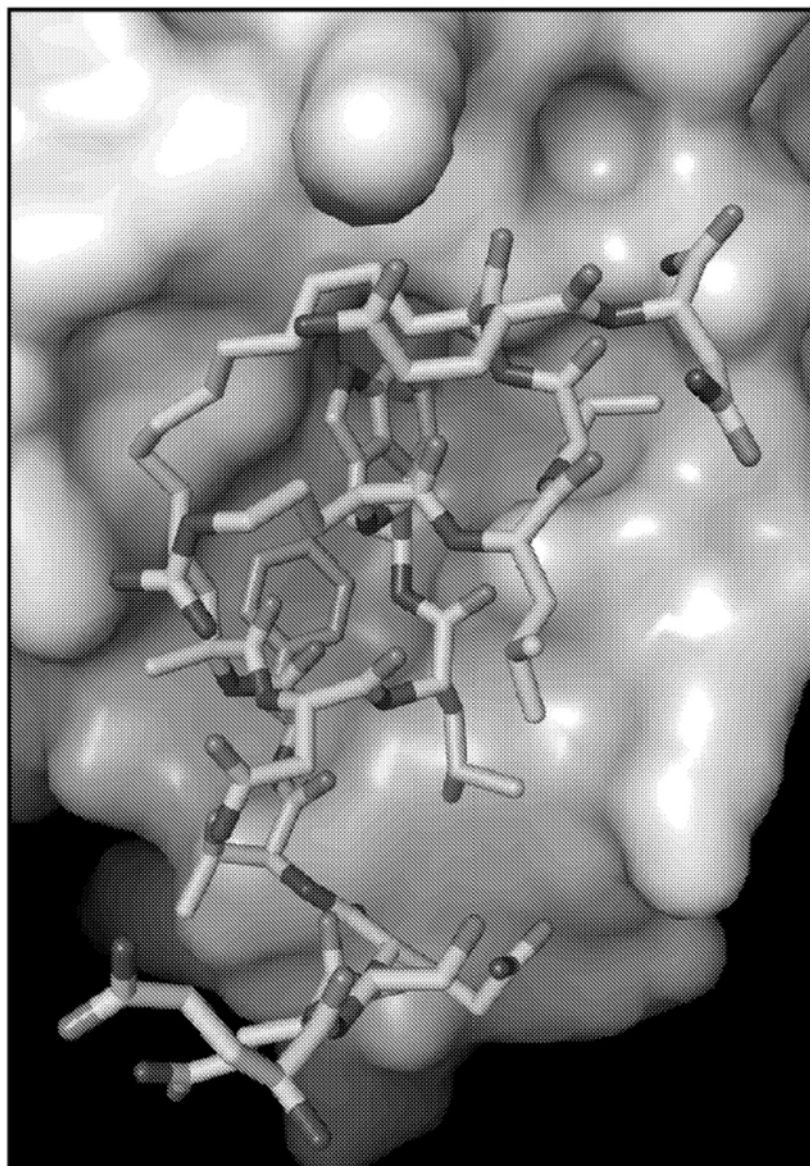


图1

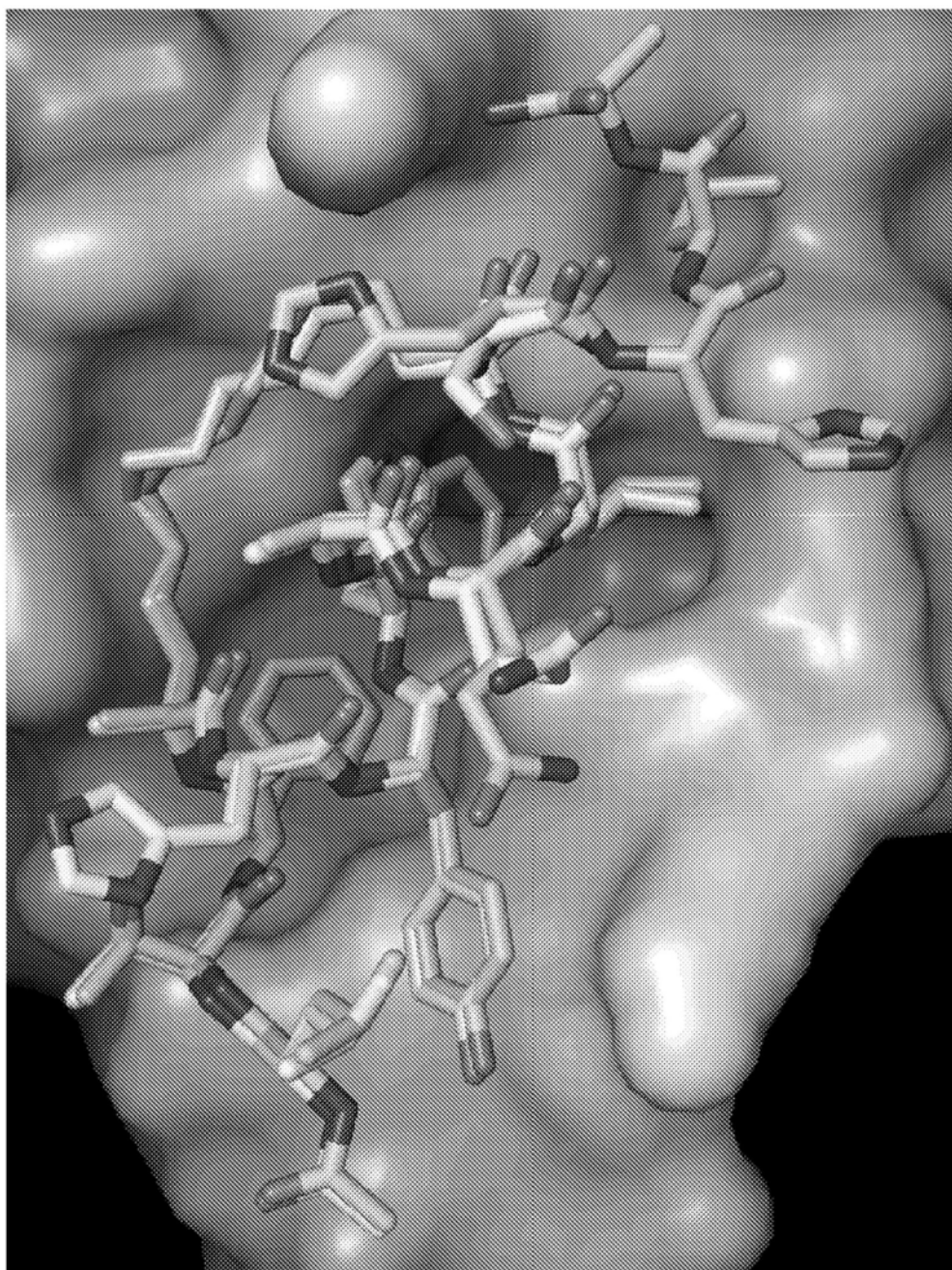


图2

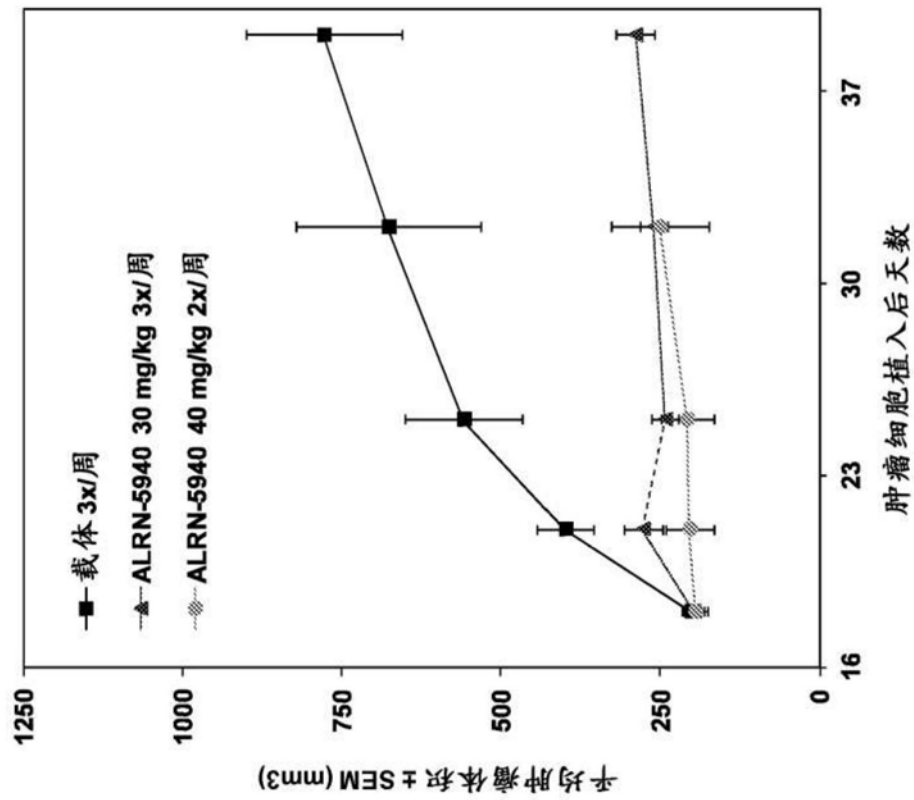


图3

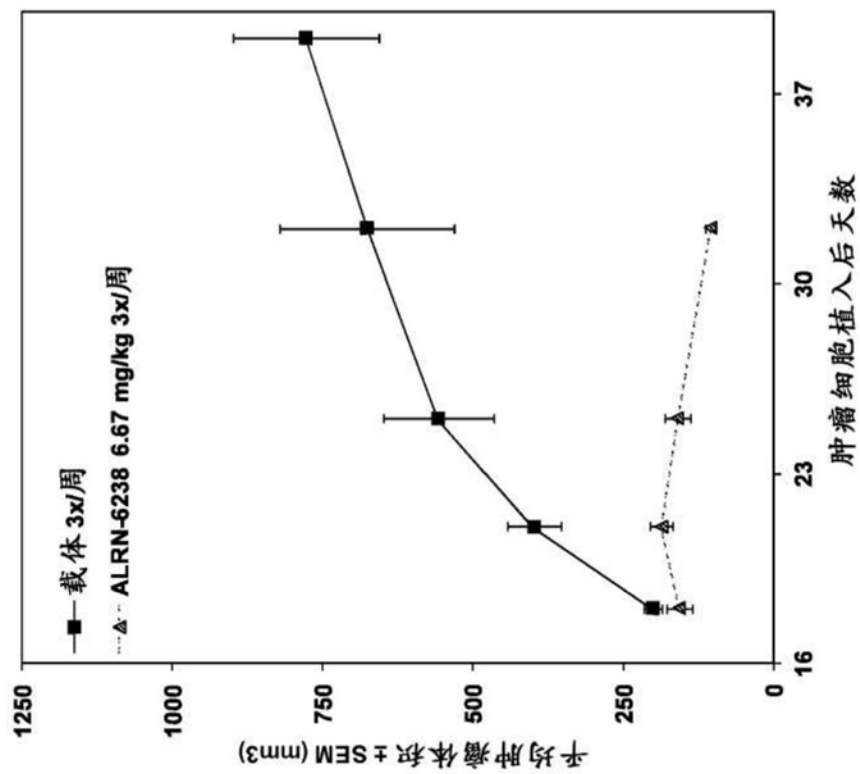


图4

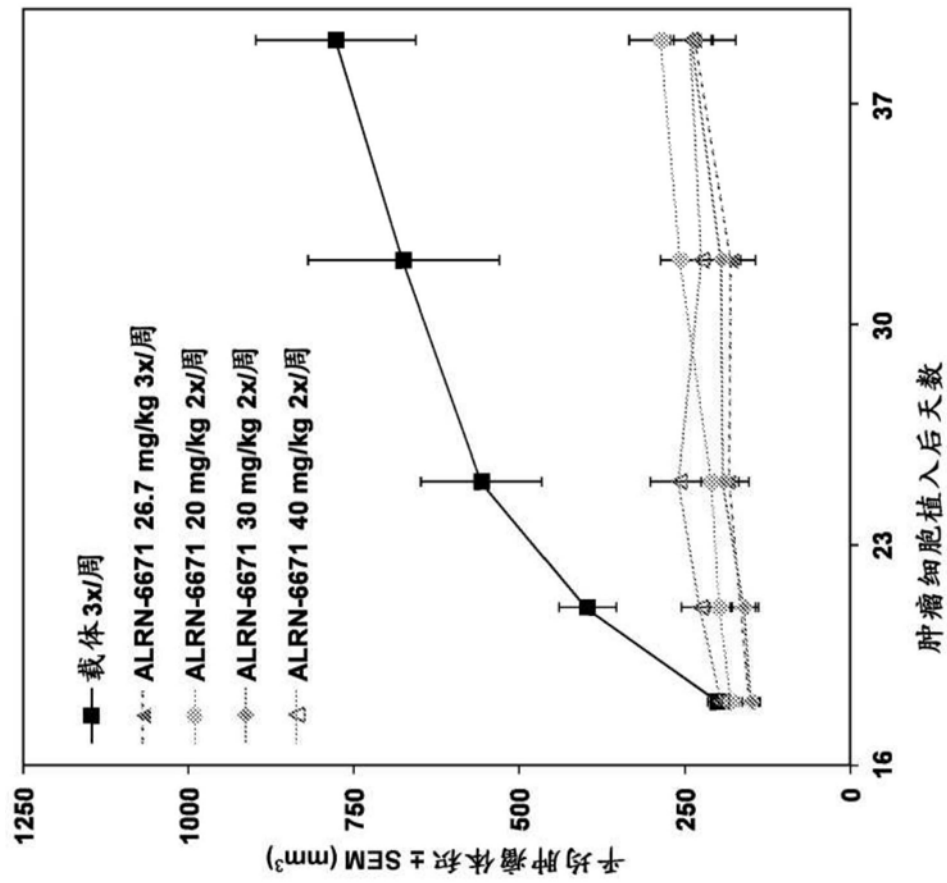


图5

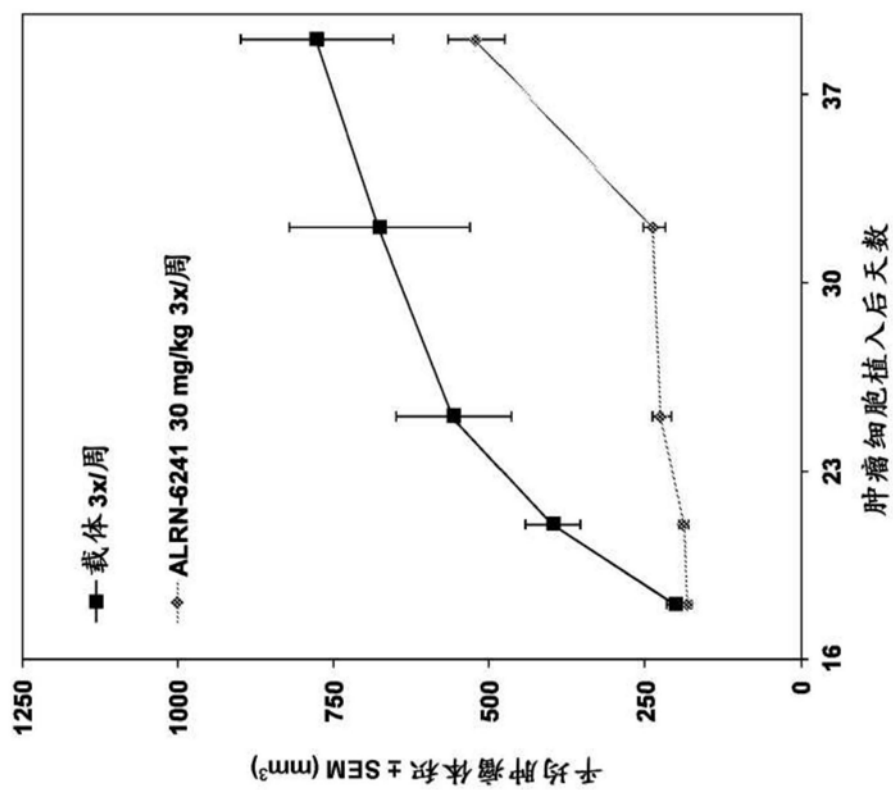


图6

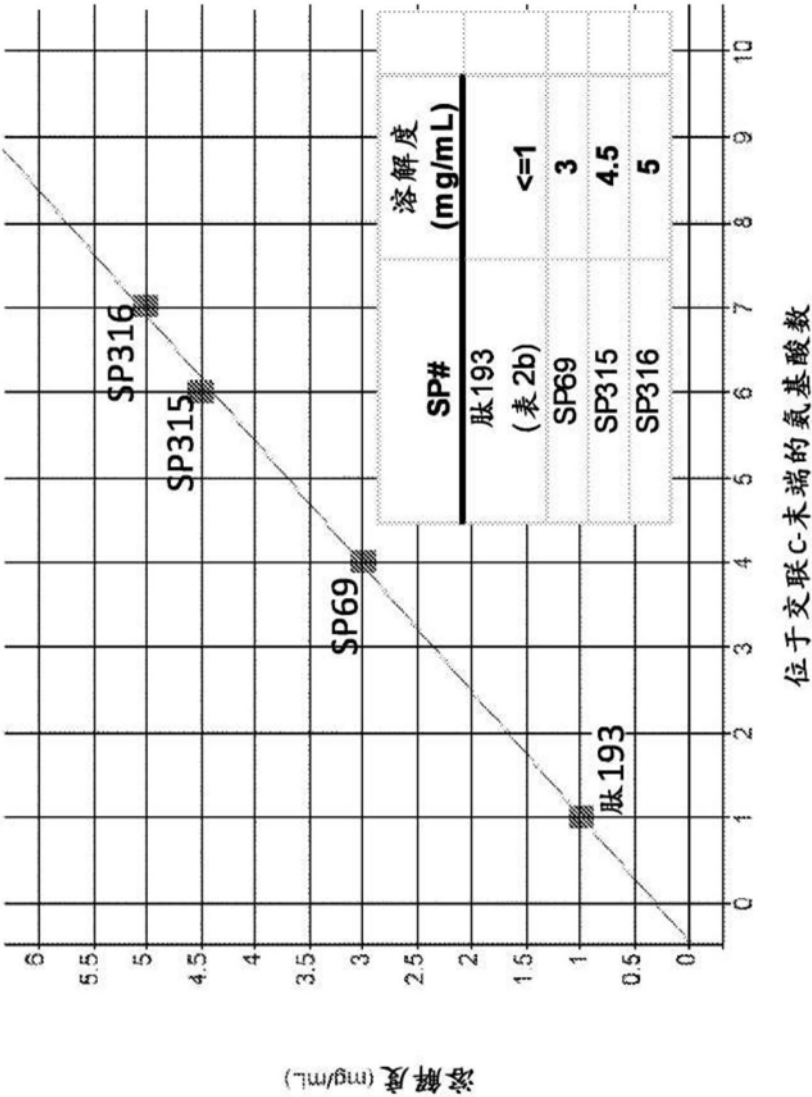


图7