

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织  
国际局

(43) 国际公布日  
2024年3月7日 (07.03.2024)



(10) 国际公布号  
WO 2024/046469 A1

(51) 国际专利分类号:  
C07K 7/64 (2006.01) A61K 51/08 (2006.01)  
C07K 7/06 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)  
C07K 1/13 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2023/116515

(22) 国际申请日: 2023年9月1日 (01.09.2023)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:  
202211073370.9 2022年9月2日 (02.09.2022) CN

(71) 申请人: 核欣 (苏州) 医药科技有限公司 (HEXIN (SUZHOU) PHARMACEUTICAL TECHNOLOGY CO., LTD.) [CN/CN]; 中国江苏省苏州市太仓市沙溪镇昭溪路90号5幢4层, Jiangsu 215400 (CN)。

(72) 发明人: 单长宇 (SHAN, Changyu); 中国江苏省苏州市太仓市沙溪镇昭溪路90号5幢4层, Jiangsu

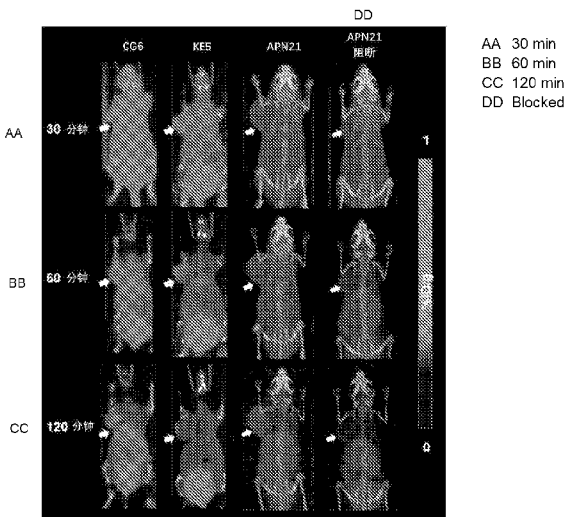
215400 (CN)。曾德兴 (ZENG, Dexing); 中国江苏省苏州市太仓市沙溪镇昭溪路90号5幢4层, Jiangsu 215400 (CN)。陈银飞 (CHEN, Yinfei); 中国江苏省苏州市太仓市沙溪镇昭溪路90号5幢4层, Jiangsu 215400 (CN)。李文杰 (LI, Wenjie); 中国江苏省苏州市太仓市沙溪镇昭溪路90号5幢4层, Jiangsu 215400 (CN)。

(74) 代理人: 北京市万慧达律师事务所 (BEIJING WANHUIDA LAW FIRM); 中国北京市海淀区中关村南大街1号友谊宾馆颐园写字楼2楼, Beijing 100873 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA,

(54) Title: CYCLIC PEPTIDE AND PREPARATION METHOD THEREFOR, AND COMPLEX COMPRISING SAME AND USE THEREOF

(54) 发明名称: 环肽及其制备方法、包括其的复合物、及其用途



[图 3A]

(57) Abstract: Provided is a cyclic peptide, which has a sequence of  $\text{cyclo}(X^1X^2X^3X^4X^5X^6)$ , wherein  $X^1$  is asparagine;  $X^2$  is glycine or sarcosine;  $X^3$  is arginine;  $X^4$  is selected from a group consisting of threonine, tyrosine, and phenylalanine;  $X^5$  is lysine; and  $X^6$  is selected from a group consisting of tyrosine, valine, and glutamic acid. Provided is a preparation method for the cyclic peptide. Provided is a complex, comprising the cyclic peptide, a linker, and a chelating agent. Provided is a use of the complex as a radionuclide-labeled targeting molecule. Provided is a radionuclide labeling method, comprising bringing a complex that chelates a radionuclide into contact with an object to be labeled by the radionuclide.

(57) 摘要: 提供了一种环肽, 其序列为  $\text{cyclo}(X^1X^2X^3X^4X^5X^6)$ , 其中, 所述  $X^1$  是天冬酰胺; 所述  $X^2$  是甘氨酸或肌氨酸; 所述  $X^3$  是精氨酸; 所述  $X^4$  选自自由苏氨酸、酪氨酸、和苯丙氨酸所组成的组; 所述  $X^5$  是赖氨酸; 且所述  $X^6$  选自自由酪氨酸、缬氨酸、和谷氨酸所组成的组。提供了一种环肽的制备方法。提供了一种复合物, 包括所述环肽、连接子以及螯合剂。提供了一种复合物作为放射性核素标记的靶向分子的用途。提供了一种放射性核素标记的方法, 包括使螯合放射性核素的复合物接触放射性核素所要标记的对象。

PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

- (84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

- 包括国际检索报告(条约第21条(3))。
- 包括说明书序列表部分(细则5.2(a))。

# 说明书

## 发明名称: 环肽及其制备方法、包括其的复合物、及其用途 技术领域

[0001] 本申请涉及药物领域，更具体涉及一种环肽及其制备方法、包括其的复合物、及其用途。

### 背景技术

[0002] 长期以来，治疗诊断学一直是核医学领域的主要发展方向，同时放射治疗诊断也是治疗诊断学领域最成熟和广泛的临床应用。放射治疗诊断学的一个显著优势是治疗部位即为患者病灶的诊断图像，影像学和治疗干预密切相关，因此开发具有高亲和力和特异性、低非特异性摄取、足够的滞留和有效渗透性的特异性成像示踪剂成为了核医学领域的重点研究方向。

[0003] 氨肽酶N

[0004] 氨肽酶N(APN，也被称为CD13)是一种 $Zn^{2+}$ 依赖的膜结合金属蛋白水解酶，能够切割蛋白或多肽N末端的中性氨基酸。CD13于1963年首次纯化，后来发现在肿瘤、肿瘤血管新生和心脏血管新生中过表达。

[0005] CD13在一系列不同的人类细胞中表达，如巨噬细胞、基质细胞、平滑肌细胞和成纤维细胞。由于参与肽切割、病毒感染、内吞作用和细胞信号转导。异常高水平的CD13表达发生于各种癌症中，包括乳腺癌、卵巢癌、甲状腺癌、胰腺癌、结直肠癌和非小细胞肺癌。在胃癌中，CD13和TGF- $\beta$ 1表达水平与肿瘤大小、淋巴结转移、肿瘤分化相关。同样，在胰腺癌中，血清CD13水平与肿瘤大小、淋巴结转移和转移分期相关。它是早期胰腺癌诊断和预后的生物标志物，能够预测胰腺癌患者的死亡率和总生存期。在结直肠癌中，患者血浆中CD13活性越高，总生存率越低。此外，有研究表明CD13的表达与骨肉瘤具有相关关系，其中免疫组化显示77%的骨肉瘤患者CD13表达阳性，且较高的CD13表达与较差的总生存率相关。综上所述，CD13能够作为癌症的生物标志物，用于肿瘤的临床检测和评估。

[0006] NGR配体

- [0007] 研究表明，CD13不表达于正常血管的表面，但通常在肿瘤血管等发生血管新生的血管中高表达，而且某些肽结构可以与CD13活性位点结合，但不被其切割降解。而其中最著名的肽序列为含天冬酰胺 - 甘氨酸 - 精氨酸(NGR)的多肽，其能够通过CD13的相互作用靶向肿瘤血管组织。NGR多肽于1998年通过噬菌体呈现肽库筛选得到，实验表明，含NGR结构的多肽可以结合至肿瘤组织中CD13受体阳性的血管，但不能结合其他富含CD13受体的组织。这些结果进一步表明了利用含NGR的多肽作为一种潜在的肿瘤靶向诊断和治疗药物的可行性。
- [0008] 目前，已有很多研究将包含NGR片段序列的多肽作为向肿瘤传递化疗药物、纳米颗粒和放射性同位素的载体，临床前实验和临床试验均显示放射性标记的NGR肽在肿瘤血管诊断成像和靶向放射性核素或离子治疗方面具有巨大的潜力。
- [0009] 环肽
- [0010] 环肽类化合物是一类结构特殊、生物活性广泛、作用机理独特的环状化合物，是肽类分子中构象稳定和均一的一类，对受体具有高的选择性亲和能力、代谢稳定性强。环肽类化合物作为药物分子，具有抗癌、抗病毒、抗菌、抗真菌、酶抑制剂等广泛的生物活性。因此，针对环肽类药物的研究正在受到人们越来越多的关注。
- [0011] 由于环状结构导致的构象变化限制，环肽类化合物一般具有较大的表面积，从而使其与靶点蛋白间具有高度亲和力及识别特异性。大环结构构象灵活性的限制也降低了药物与靶点结合的熵值，提高了结合的稳定性。其次，氨基酸组成特点决定了环肽类化合物往往具有极低的、甚至没有细胞毒性。并且，环肽类化合物很容易通过自动化的化学合成流程实现生产，并且便于进行各项修饰、处理及监控，这些特点都非常有利于药物开发过程。
- [0012] 目前，在靶向NGR的肿瘤放射显影示踪剂研究当中，使用最多的环肽是cyclo(CNGRC)环肽，前期研究已利用该环肽进行<sup>99m</sup>Tc、<sup>68</sup>Ga、<sup>64</sup>Cu等放射性核素的标记，用于肿瘤新生血管的分子显像。但值得注意的是，cyclo(CNGRC)环肽结构中的二硫键易受生物降解或化学修饰的影响，其生物稳定性和体内滞留时间仍需要进一步优化，这在一定程度上限制了其使用。

[0013] 发明内容

[0014] 在一些实施方式中，提供了一种环肽，其序列为cyclo(X<sup>1</sup>X<sup>2</sup>X<sup>3</sup>X<sup>4</sup>X<sup>5</sup>X<sup>6</sup>)，其中，

[0015] 所述X<sup>1</sup>是天冬酰胺，特别是L - 天冬酰胺或D - 天冬酰胺，特别是L - 天冬酰胺；

[0016] 所述X<sup>2</sup>是甘氨酸或肌氨酸；

[0017] 所述X<sup>3</sup>是精氨酸，特别是L - 精氨酸或D - 精氨酸，特别是L - 精氨酸；

[0018] 所述X<sup>4</sup>选自由苏氨酸、酪氨酸、和苯丙氨酸所组成的组，特别是选自由L - 苏氨酸、D - 苏氨酸、L - 酪氨酸、D - 酪氨酸、L - 苯丙氨酸、和D - 苯丙氨酸所组成的组，特别是苏氨酸，更特别是L - 苏氨酸或D - 苏氨酸，更特别是L - 苏氨酸；

[0019] 所述X<sup>5</sup>是赖氨酸，特别是L - 赖氨酸或D - 赖氨酸，特别是L - 赖氨酸；且

[0020] 所述X<sup>6</sup>选自由酪氨酸、缬氨酸、和谷氨酸所组成的组，特别是选自自由L - 酪氨酸、D - 酪氨酸、L - 缬氨酸、D - 缬氨酸、L - 谷氨酸、和D - 谷氨酸所组成的组，特别是酪氨酸，更特别是L - 酪氨酸或D - 酪氨酸，更特别是L - 酪氨酸。

[0021] 在一些实施方式中，提供了一种环肽的制备方法，包括：所述X<sup>5</sup>的C端与所述X<sup>6</sup>的N端偶合；所述X<sup>4</sup>的C端与所述X<sup>5</sup>的N端偶合；所述X<sup>3</sup>的C端与所述X<sup>4</sup>的N端偶合；所述X<sup>2</sup>的C端与所述X<sup>3</sup>的N端偶合；所述X<sup>1</sup>的C端与所述X<sup>2</sup>的N端偶合；以及所述X<sup>6</sup>的C端与所述X<sup>1</sup>的N端偶合。

[0022] 在一些实施方式中，所述方法包括N端保护的所述X<sup>5</sup>的C端、与C端保护或偶联固相材质的所述X<sup>6</sup>的N端，进行缩合反应。在一些实施方式中，所述方法包括N端保护的所述X<sup>4</sup>的C端、与C端保护或偶联固相材质的所述X<sup>5</sup>的N端，进行缩合反应。在一些实施方式中，所述方法包括N端保护的所述X<sup>3</sup>的C端、与C端保护或偶联固相材质的所述X<sup>4</sup>的N端，进行缩合反应。在一些实施方式中，所述方法包括N端保护的所述X<sup>2</sup>的C端、与C端保护或偶联固相材质的所述X<sup>3</sup>的N端，进行缩合反应。在一些实施方式中，所述方法包括N端保护的所述X<sup>1</sup>的C端、与C端保护或偶联固相材质的所述X<sup>2</sup>的N端，进行缩合反应。在一些实施方式中，

所述方法包括N端保护的所述X<sup>6</sup>的C端、与C端保护或偶联固相材质的所述X<sup>1</sup>的N端，进行缩合反应。

[0023] 在一些实施方式中，提供了一种复合物，包括所述环肽、连接子、以及螯合剂。在一些实施方式中，提供了一种放射性核素制剂，包括所述复合物以及与所述复合物的螯合剂螯合的放射性核素。

[0024] 在一些实施方式中，提供了本申请的环肽或复合物在放射性核素标记中的用途。在一些实施方式中，提供了本申请的环肽或复合物在制备放射性核素标记的靶向分子的用途。在一些实施方式中，提供了本申请的环肽或复合物在制备放射性核素标记试剂中的用途。在一些实施方式中，提供了本申请的环肽或复合物在制备药物载体中的用途。在一些实施方式中，提供了本申请的环肽或复合物作为药物载体的用途。在一些实施方式中，提供了本申请的环肽、复合物或放射性核素制剂在制备检测癌症、诊断癌症、监控癌症进展、监控癌症治疗或治疗癌症的药物中的用途。在一些实施方式中，提供了本申请的环肽、复合物或放射性核素制剂在检测癌症、诊断癌症、监控癌症进展、监控癌症治疗或治疗癌症的用途。

[0025] 在一些实施方式中，提供了用于放射性核素标记的本申请的环肽或复合物。在一些实施方式中，提供了放射性核素标记的靶向分子，包括本申请的环肽或复合物，或由其组成。在一些实施方式中，提供了放射性核素标记试剂，包括本申请的环肽或复合物，或由其组成。在一些实施方式中，提供了药物载体，包括本申请的环肽或复合物，或由其组成。在一些实施方式中，提供了检测癌症、诊断癌症、监控癌症进展、监控癌症治疗或治疗癌症的制剂，包括本申请的环肽、复合物或放射性核素制剂，或由其组成。在一些实施方式中，提供了用于检测癌症、诊断癌症、监控癌症进展、监控癌症治疗或治疗癌症的，本申请的环肽、复合物或放射性核素制剂。

[0026] 在一些实施方式中，提供了一种放射性核素标记的方法，包括使螯合放射性核素的所述复合物，或所述放射性核素制剂，接触放射性核素所要标记的对象。在一些实施方式中，提供了一种检测癌症、诊断癌症、监控癌症进展、监控癌症治疗的方法，包括：施用螯合放射性核素的所述复合物、或所述放射性核素

制剂，到检测癌症、诊断癌症、监控癌症进展或监控癌症治疗的受试者；检测放射性核素和确定放射性核素在所述受试受治疗者体内的水平和位置；以及将所述水平和位置与来自未受影响的受治疗者的其他方面相同的位置或所述受试受治疗者的未受影响的区域的所述放射性核素的水平和位置进行对比，其中与所述放射性核素在来自未受影响的受治疗者或来自所述受试受治疗者的未受影响的区域的所述样品中的水平和位置相比，所述放射性核素在所述受试受治疗者体内的更高水平或不同位置表明所述受试受治疗者患有癌症，从而检测癌症、诊断癌症、监控癌症进展或监控癌症治疗。

## 附图说明

- [0027] 图1为本申请的一些实施例中APN21 - Bn - SCN - NOTA的电喷雾质谱图。
- [0028] 图2为本申请的一些实施例中<sup>68</sup>Ga - APN21 - Bn - SCN - NOTA的放射HPLC图。
- [0029] 图3A为仅注射比较例<sup>68</sup>Ga - CG6 - Bn - SCN - NOTA(CG6组)、仅注射比较例<sup>68</sup>Ga - KE5 - Bn - SCN - NOTA(KE5组)、仅注射实施例<sup>68</sup>Ga - APN21 - Bn - SCN - NOTA(APN21组)、以及共注射实施例<sup>68</sup>Ga - APN21 - Bn - SCN - NOTA和未标记的NGR肽(APN21阻断组)的HT1080荷瘤小鼠，在注射0.5、1和2小时后的静态PET/CT图像。
- [0030] 图3B为仅注射比较例<sup>68</sup>Ga - CG6 - Bn - SCN - NOTA(CG6组)、仅注射比较例<sup>68</sup>Ga - KE5 - Bn - SCN - NOTA(KE5组)、仅注射实施例<sup>68</sup>Ga - APN21 - Bn - SCN - NOTA(APN21组)以及共注射实施例<sup>68</sup>Ga - APN21 - Bn - SCN - NOTA和未标记的NGR肽(APN21阻断组)的HT1080荷瘤小鼠，在注射0.5、1和2小时后的，根据<sup>68</sup>Ga - APN21 - Bn - SCN - NOTA信号强度计算的肿瘤摄取量。

## 具体实施方式

- [0031] 本文使用单数术语指一个或多于一个。举例来说，“元件”或“一个元件”皆指一个元件或多于一个的元件。
- [0032] 如本文所述，术语“约”指近似，在大约或附近的范围。当结合数值范围使用术语“约”时，其通过扩大界限高于或低于所提供数值来修改该范围。一般

来讲, 本文使用术语“约”来使数值与所提供值上下变化10%。一方面, 术语“约”指加上或减去其所修饰的数的数值的20%。举例来说, “约50%”指在45% - 55%的范围内。本文通过端点提及的数值范围包括包含在该范围内的所有整数和分数(例如“1至5”包括1、1.5、2、2.75、3、3.90、4和5)。还应当理解其所有整数和分数视为被术语“约”修饰。

[0033] “包含”或“包括”旨在表示组合(例如装置、组合物、或方法等)包括所列举的要素(例如装置的各单元、组合物的各组分、或方法的实质性步骤等), 但不排除其他要素。当用于定义组合物和方法时, “基本上由……组成”意味着排除对于所述目的的组合具有任何重要意义的其他要素。因此, 基本上由本文定义的要素组成的组合不排除不会实质上影响要求保护的本发明的基本和新颖特征的其他要素。“由……组成”是指排除其他要素的组合(单元组分和实质性的方法步骤。由这些过渡术语中的每一个定义的实施方案都在本发明的范围内。

[0034] 术语“氨基酸”可与“氨基酸残基”互换地使用, 且可指游离氨基酸和肽的氨基酸残基。从术语使用的上下文将清楚, 其是指游离氨基酸还是肽的残基。如本文所述, “氨基酸”意在包括天然的和合成的氨基酸, 并包括D - 型和L - 型氨基酸。“标准氨基酸”指通常发现于天然形成的肽中的二十个标准L - 氨基酸(包括甘氨酸)的任何一个。如本文所述的“D - 型”和“L - 型”氨基酸, 除非另有说明, 均非意图排除不具有手性的氨基酸, 如甘氨酸。“非标准氨基酸残基”指除了标准氨基酸以外的任何氨基酸, 无论其是否经合成制备或源自天然来源。如本文所用的, “合成氨基酸”还包括化学修饰的氨基酸, 包括但不限于盐、氨基酸衍生物(例如酰胺)和取代物。可通过甲基化、酰胺化、乙酰化或用可改变肽的循环半衰期而不有害地影响其活性的其他化学基团取代来修饰包含在本发明的肽中的氨基酸, 且特别是位于C端或N端的氨基酸。另外, 本发明的肽中可存在或不存在二硫键。

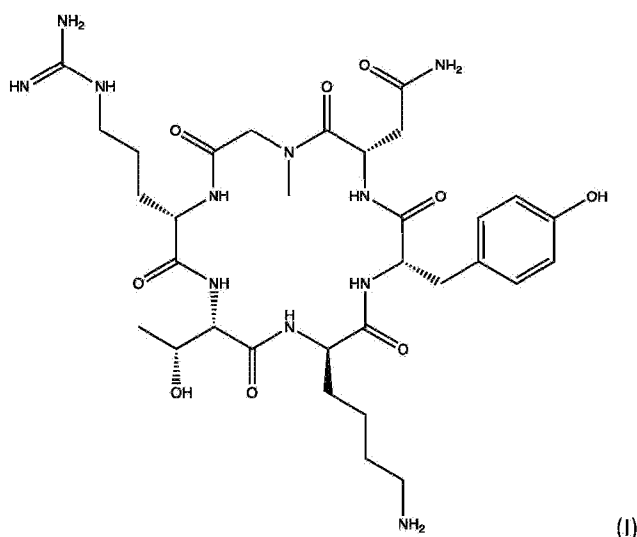
[0035] 如本文所述, 术语“药物组合物”是指包含至少一种活性成分的组合, 其中对于在哺乳动物(例如但不限于人)中研究特定的、有效的结果, 该组合物是可接受的。基于技术人员的需要, 本领域普通技术人员将理解和了解适合确定活性成分是否具有期望的有效效果的技术。



- [0036] 如本文所述，术语“药学可接受的载体”指一种化学组合物，其可与合适的化合物或衍生物组合且组合后其可用于对受治疗者施用合适的化合物。
- [0037] 如本文所用的，术语“生理可接受的”酯或盐是指可与药物组合物的任何其他成分相容的活性成分的酯或盐形式，这种形式对待施用该组合物的受治疗者是无害的。
- [0038] 如本文所述，“药学可接受的”是指对于人或兽医应用是生理可耐受的。
- [0039] 如本文所述，“药物组合物”包括用于人和兽医用途的制剂。
- [0040] 如本文所述，“多个”是指至少两个。
- [0041] 如本文所述，“多核苷酸”是指核酸的单链或平行和反向平行链。因此，多核苷酸可以是单链或双链核酸。
- [0042] 如本文所述，“多肽”是指由通过肽键、其相关的天然形成的结构变体和其合成的非天然形成的类似物连接的氨基酸残基、其相关的天然形成的结构变体和合成的非天然形成的类似物组成的聚合物。
- [0043] 如本文所述，“合成肽或多肽”是指非天然形成的肽或多肽。例如，可以使用自动多肽合成仪合成合成肽或多肽。
- [0044] 如本文所述的“N端保护”指肽的末端氨基，与肽合成中常规采用的各种N端保护基中的任何一种偶联。如本文所述的“C端保护”指肽的末端氨基，与肽合成中常规采用的各种C端保护基中的任何一种偶联。
- [0045] 如本文所用，术语“高表达”分别表示受试者的表达水平高于正常个体的表达水平；特别是，受试者的生物样品中特定物质，例如特定的生物标记物或蛋白的值或水平，其高于从健康或野生型(正常)个体获得的生物样品中检测到的该特定物质的值或水平。如本文所用，术语“低表达”分别表示受试者的表达水平低于正常个体的表达水平；特别是，受试者的生物样品中特定物质，例如特定的生物标记物或蛋白的值或水平，其低于从健康或野生型(正常)个体获得的生物样品中检测到的该特定物质的值或水平。与生物标记物的“正常”表达水平或值相比，术语“高表达”和“低表达”可以指示“差异水平”或“差异值”或“不同表达”，并且可以包括表达水平中的定量差异和定性差异。

[0046] 在一些实施方式中, 所述X<sup>1</sup>是L - 天冬酰胺。在一些实施方式中, 所述X<sup>1</sup>是D - 天冬酰胺。在一些实施方式中, 所述X<sup>3</sup>是L - 精氨酸。在一些实施方式中, 所述X<sup>3</sup>是D - 精氨酸。在一些实施方式中, 所述X<sup>5</sup>是L - 赖氨酸。在一些实施方式中, 所述X<sup>5</sup>是D - 赖氨酸。在一些实施方式中, 所述X<sup>4</sup>是L - 苏氨酸。在一些实施方式中, 所述X<sup>6</sup>是L - 酪氨酸。在一些实施方式中, 所述X<sup>4</sup>是L - 苏氨酸, 且所述X<sup>6</sup>是L - 酪氨酸。

[0047] 在一些实施方式中, 所述环肽为式(I)化合物或其衍生物。在一些实施方式中, 所述环肽为式(I)化合物。



[0048] 在一些实施方式中, 所述环肽的制备方法还包括: 将N端保护的所述X<sup>1</sup>的N端脱保护, 得到所述X<sup>1</sup>; 将N端保护的所述X<sup>2</sup>的N端脱保护, 得到所述X<sup>2</sup>; 将N端保护的所述X<sup>3</sup>的N端脱保护, 得到所述X<sup>3</sup>; 将N端保护的所述X<sup>4</sup>的N端脱保护, 得到所述X<sup>4</sup>; 将N端保护的所述X<sup>5</sup>的N端脱保护, 得到所述X<sup>5</sup>; 和/或将N端保护的所述X<sup>6</sup>的N端脱保护, 得到所述X<sup>6</sup>。

[0049] 在一些实施方式中, 所述环肽的制备方法还包括: 将N端保护且C端保护的所述X<sup>1</sup>的N端脱保护, 得到C端保护的所述X<sup>1</sup>; 将N端保护且C端保护的所述X<sup>2</sup>的N端脱保护, 得到C端保护的所述X<sup>2</sup>; 将N端保护且C端保护的所述X<sup>3</sup>的N端脱保护, 得到C端保护的所述X<sup>3</sup>; 将N端保护且C端保护的所述X<sup>4</sup>的N端脱保护, 得到C端保护的所述X<sup>4</sup>; 将N端保护且C端保护的所述X<sup>5</sup>的N端脱保护, 得到C端保

护的所述X<sup>5</sup>；和/或将N端保护且C端保护的所述X<sup>6</sup>的N端脱保护，得到C端保护的所述X<sup>6</sup>。

[0050] 在一些实施方式中，所述环肽的制备方法还包括：将N端保护且C端保护的所述X<sup>1</sup>的C端脱保护，得到N端保护的所述X<sup>1</sup>；将N端保护且C端保护的所述X<sup>2</sup>的C端脱保护，得到N端保护的所述X<sup>2</sup>；将N端保护且C端保护的所述X<sup>3</sup>的C端脱保护，得到N端保护的所述X<sup>3</sup>；将N端保护且C端保护的所述X<sup>4</sup>的C端脱保护，得到N端保护的所述X<sup>4</sup>；将N端保护且C端保护的所述X<sup>5</sup>的C端脱保护，得到N端保护的所述X<sup>5</sup>；和/或将N端保护且C端保护的所述X<sup>6</sup>的C端脱保护，得到N端保护的所述X<sup>6</sup>。

[0051] 在一些实施方式中，所述环肽的制备方法还包括：将C端保护的所述X<sup>1</sup>的C端脱保护，得到所述X<sup>1</sup>；将C端保护的所述X<sup>2</sup>的C端脱保护，得到所述X<sup>2</sup>；将C端保护的所述X<sup>3</sup>的C端脱保护，得到所述X<sup>3</sup>；将C端保护的所述X<sup>4</sup>的C端脱保护，得到所述X<sup>4</sup>；将C端保护的所述X<sup>5</sup>的C端脱保护，得到所述X<sup>5</sup>；和/或将C端保护的所述X<sup>6</sup>的C端脱保护，得到所述X<sup>6</sup>。

[0052] 在一些实施方式中，所述环肽的制备方法还包括：将C端偶联固相材质的所述X<sup>1</sup>的C端与固相物质分离，得到所述X<sup>1</sup>；将C端偶联固相材质的所述X<sup>2</sup>的C端与固相物质分离，得到所述X<sup>2</sup>；将C端偶联固相材质的所述X<sup>3</sup>的C端与固相物质分离，得到所述X<sup>3</sup>；将C端偶联固相材质的所述X<sup>4</sup>的C端与固相物质分离，得到所述X<sup>4</sup>；将C端偶联固相材质的所述X<sup>5</sup>的C端与固相物质分离，得到所述X<sup>5</sup>；或将C端偶联固相材质的所述X<sup>6</sup>的C端与固相物质分离，得到所述X<sup>6</sup>。

[0053] 在一些实施方式中，所述X<sup>1</sup>的C端与所述X<sup>2</sup>的N端进行缩合反应，包括使N端保护的所述X<sup>1</sup>、所述X<sup>2</sup>、HBTU和DIEA接触。在一些实施方式中，所述X<sup>2</sup>的C端与所述X<sup>3</sup>的N端进行缩合反应，包括使N端保护的所述X<sup>2</sup>、所述X<sup>3</sup>、HBTU和DIEA接触。在一些实施方式中，所述X<sup>3</sup>的C端与所述X<sup>4</sup>的N端进行缩合反应，包括使N端保护的所述X<sup>3</sup>、所述X<sup>4</sup>、HBTU和DIEA接触。在一些实施方式中，所述X<sup>4</sup>的C端与所述X<sup>5</sup>的N端进行缩合反应，包括使N端保护的所述X<sup>4</sup>、所述X<sup>5</sup>、HBTU和DIEA接触。在一些实施方式中，所述X<sup>5</sup>的C端与所述X<sup>6</sup>的N端进行缩合反应，包括使N端保护的所述X<sup>5</sup>、所述X<sup>6</sup>、HBTU和DIEA接触。在一些实施

方式中, 所述X<sup>6</sup>的C端与所述X<sup>1</sup>的N端进行缩合反应, 包括使N端保护的所述X<sup>6</sup>、所述X<sup>1</sup>、HBTU和DIEA接触。

[0054] 在一些实施方式中, N端保护是Fmoc保护。在一些实施方式中, 固相材质为树脂。

[0055] 在一些实施方式中, 所述复合物螯合放射性核素。在一些实施方式中, 所述放射性核素包括选自由<sup>44</sup>Sc、<sup>47</sup>Sc、<sup>62</sup>Cu、<sup>64</sup>Cu、<sup>67</sup>Cu、<sup>66</sup>Ga、<sup>67</sup>Ga、<sup>68</sup>Ga、<sup>86</sup>Y、<sup>90</sup>Y、<sup>89</sup>Zr、<sup>99m</sup>Tc、<sup>110m</sup>In、<sup>111</sup>In、<sup>113m</sup>In、<sup>114m</sup>In、<sup>177</sup>Lu、<sup>203</sup>Pb、<sup>212</sup>Pb、<sup>212</sup>Bi、<sup>213</sup>Bi、和<sup>225</sup>Ac所组成的组中的至少一个或由其组成。在一些实施方式中, 所述放射性核素包括选自由<sup>44</sup>Sc、<sup>47</sup>Sc、<sup>64</sup>Cu、<sup>67</sup>Cu、<sup>67</sup>Ga、<sup>68</sup>Ga、<sup>90</sup>Y、<sup>99m</sup>Tc、<sup>111</sup>In、<sup>177</sup>Lu、<sup>212</sup>Pb、<sup>213</sup>Bi、和<sup>225</sup>Ac所组成的组中的至少一个或由其组成。在一些实施方式中, 所述放射性核素包括选自由<sup>99m</sup>Tc、<sup>68</sup>Ga、和<sup>64</sup>Cu所组成的组中的至少一个或由其组成。在一些实施方式中, 所述连接子包括聚乙二醇(PEG)或由其组成。在一些实施方式中, 所述放射性核素包括<sup>68</sup>Ga。在一些实施方式中, 所述螯合剂包括选自由: 1,4,7,10 - 四氮杂环十二烷 - N,N',N'',N''' - 四乙酸(1,4,7,10 - tetraazacyclododecane - N,N',N'',N''' - tetraacetic acid, DOTA)、1,4,7 - 三氮杂环壬烷 - N,N',N'' - 三乙酸(1,4,7 - triazacyclononane - N,N',N'' - triacetic acid, NOTA)、二亚乙基三胺 - N,N,N',N'',N''' - 五乙酸(diethylenetriamine - N,N,N',N'',N''' - pentaacetic acid, DTPA)、1,4,8,11 - 四氮杂环十四烷 - 1,4,8,11 - 四乙酸(1,4,8,11 - tetraazacyclotetradecane - 1,4,8,11 - tetraacetic acid, TETA)、2,2' - ((6 - 氨基 - 1 - (4,7 - 双(羧甲基) - 1,4,7 - 三氮烷 - 1 - 基)己烷 - 2 - 基)氮杂二酰基)二乙酸(2,2' - ((6 - amino - 1 - (4,7 - bis(carboxymethyl) - 1,4,7 - triazonan - 1 - yl)hexan - 2 - yl)azanediyl)diacetic acid, NETA)、1,4,7,10 - 四氮杂环十二烷 - 1,4,7 - 三乙酸(1,4,7,10 - tetraazacyclododecane - 1,4,7 - triacetic acid, DO3A)、亚乙基双(邻羟基苯基)甘氨酸(ethylenebis(o - hydroxyphenyl)glycine, EHPG)、N,N' - 双(2 - 羟基苄基)乙二胺 - N,N' - 二乙酸(N,N' - bis(2 - hydroxybenzyl)ethylenediamine - N,N' - diacetic acid, HBED)、1,4,7,10 - 四氮杂环十二烷 -  $\alpha, \alpha', \alpha'', \alpha'''$  - 四甲基 - N,N',N'',N''' - 四乙酸(1,4,7,10 - tetra

azacyclododecane -  $\alpha, \alpha', \alpha'', \alpha'''$  - tetramethyl - N,N',N'',N''' - tetraacetic acid, DOTMA)、1,4,8,11 - 四氮杂环十四烷 - 1,4,8,11 - (甲基四乙酸) (1,4,8,11 - tetraazacyclotetradecane - 1,4,8,11 - (methyl tetraacetic acid), TETMA)、乙二胺四乙酸(ethylenediamine tetraacetic acid, EDTA)、1,3 - 丙二胺四乙酸(1,3 - propylenediaminetetraacetic acid, PDTA)、三乙烯四胺六乙酸(triethylenetetraaminehexaacetic acid, TTTHA)、1,5,10 - N,N',N'' - 三(2,3 - 二羟基苯甲酰基) - 三邻苯二酚(1,5,10 - N,N',N'' - tris(2,3 - dihydroxybenzoyl) - tricatechol, LICAM)、1,3,5 - N,N',N'' - 三(2,3 - 二羟基苯甲酰基)氨基甲基苯(1,3,5 - N,N',N'' - tris(2,3 - dihydroxybenzoyl)aminomethylbenzene, MECAM)、及6 - 胍烟酸(6 - hydrazinonicotinic acid, HYNIC), 以及其减少一个或更多个氢离子所形成的离子所组成的组中的至少一个或由其组成。

[0056] 在一些实施方式中, 环肽与连接子偶联。在一些实施方式中, 环肽中的X<sup>5</sup>与连接子偶联。在一些实施方式中, 环肽中的赖氨酸, 特别是X<sup>5</sup>的赖氨酸, 特别是X<sup>5</sup>的赖氨酸的 $\epsilon$  - 氨基, 与连接子偶联。在一些实施方式中, 连接子与螯合剂偶联。在一些实施方式中, 连接子与环肽和螯合剂偶联, 特别是连接子的第一端与环肽偶联, 连接子的不同于第一端的第二端与螯合剂偶联。

[0057] 在一些实施方式中, 所述癌症是CD13高表达的肿瘤。在一些实施方式中, 所述癌症选自由头颈癌、肝癌、胰腺癌、食道癌、胃癌、肺癌、乳腺癌、卵巢癌、子宫癌、子宫内膜癌、宫颈癌、前列腺癌、肾上腺癌、淋巴瘤、唾液腺癌、骨癌、脑癌、小脑癌、结肠癌、直肠癌、结肠直肠癌、口鼻咽癌、肾癌、膀胱癌、皮肤癌、黑色素瘤、基底细胞癌、硬腭癌、舌鳞状细胞癌、脑膜瘤、多形性腺瘤、星形细胞瘤、软组织肉瘤、软骨肉瘤、皮质腺瘤、间皮瘤、鳞状细胞癌和腺癌所组成的组。在一些实施方式中, 所述癌症选自由乳腺癌、卵巢癌、甲状腺癌、胰腺癌、结直肠癌、非小细胞肺癌和骨肉瘤所组成的组。在一些实施方式中, 所述癌症选自由食道癌、胰腺癌和胃癌所组成的组。

[0058] 开发全新结构的NGR环肽, 使其具备更高的体内稳定性、对CD13受体具有更强的亲和力, 具有更强的靶向性, 并且通过放射性核素标记后能够在体内准确定位CD13受体, 通过PET显像实现肿瘤分子影响诊断目的,

- [0059] 通过标记治疗性放射性核素，实现肿瘤靶向治疗目标。
- [0060] 提供一种新型结构的NGR环肽，及利用该多肽进行放射性药物的制备与应用。在一些实施方式中，本申请的放射性药物及其标记技术，能够用于靶向新生血管中CD13受体的恶性肿瘤的分子显像和治疗。在一些实施方式中，本申请的受体靶向性好、稳定性强、标记简单，具有较高的应用价值。
- [0061] 为更进一步阐述本申请为了达成预定目的所采取的技术手段及功效，以下结合附图及较佳实施例，对依据本申请的具体实施方式、结构、特征及其功效，详细说明如下。
- [0062] 环肽的合成
- [0063] 使用固相连续流多肽全自动合成仪，从序列C端到N端合成多肽。
- [0064] 称取1n当量带9-苄氧羰基(Fmoc)保护基的第一个氨基酸(C端氨基酸)CTC树脂放入反应器，加入二氯甲烷(DCM)溶胀半小时。抽掉DCM，加入2%哌啶N,N'-二甲基甲酰胺(DMF)溶液去除树脂上第一个氨基酸的N端的Fmoc保护基。在一些实施方式中，序列为cyclo(X<sup>1</sup>X<sup>2</sup>X<sup>3</sup>X<sup>4</sup>X<sup>5</sup>X<sup>6</sup>)的环肽中，X<sup>1</sup>、X<sup>2</sup>、X<sup>3</sup>、X<sup>4</sup>、X<sup>5</sup>、和X<sup>6</sup>的任意一个可为所述的第一个氨基酸。
- [0065] 向反应器泵入3n当量的下一个氨基酸、3n当量HBTU(O-苯并三氮唑-N,N,N',N'-四甲基脒六氟磷酸盐)及10n当量DIEA(N,N-二异丙基乙基胺)，连续回流进行缩合反应5min。然后用DMF洗涤反应器中的树脂4次洗净。加入2%哌啶DMF溶液去除下一个氨基酸的N端的Fmoc保护基，DMF洗涤4次洗净。如此依次完成多肽序列。
- [0066] 将树脂用氮气吹干后从反应柱中取下，倒入烧瓶中，然后往烧瓶中加入一定量(每g树脂约10mL切割液)的切割液(由30%三氟乙醇和70%二氯甲烷组成)，震荡，滤掉树脂。
- [0067] 得到滤液，然后向滤液中加入大量乙醚析出粗产物，离心、清洗，得到带有保护基的线性多肽序列粗产物。
- [0068] 将保护肽段用DCM溶解，加入2n当量的PyBop，10n当量的DIEA，45摄氏度回流反应过夜，旋转蒸发仪旋去溶剂，得到带有保护基的环肽。

- [0069] 配制保护基切割液(由95%三氟乙酸(TFA)、2%乙二硫醇、2%三异丙基硅烷、1%水组成),加入上步环肽容器中,震荡反应120min。
- [0070] 得到滤液,然后向滤液中加入大量乙醚析出粗产物,离心、清洗,得到目标环肽序列粗产物。
- [0071] 使用高效液相色谱(HPLC)纯化多肽序列粗产物,冻干,并使用液相色谱-质谱联用(LC-MS)确认目标产物分子量。
- [0072] 环肽与CD13蛋白间的亲和力评价
- [0073] 通过细胞摄取研究,确定实施例以及比较例多肽在HT-1080细胞系中的结合亲和力。
- [0074] 人纤维肉瘤细胞系HT-1080的培养
- [0075] 人纤维肉瘤细胞系HT-1080在混有10%无菌过滤胎牛血清(FBS)和1%青霉素-链霉素抗生素的Gibco的Dulbecco改良Eagle培养基(DMEM)中培养。细胞培养保持在温度37°C、5%CO<sub>2</sub>的控制环境中,每3-4天进行一次传代培养。在实验前24小时,将细胞接种在96孔板中(每孔5000个细胞),培养过夜至细胞贴壁。实验前,用1mL的PBS平衡盐溶液清洗细胞两次,去除生长培养基。
- [0076] Cy3荧光肽的制备
- [0077] 实施例1-28的环肽(序列分别如SEQ ID NO:1-28所示,以下分别称APN1-APN28,合称APN)或比较例1的环肽(序列如SEQ ID NO:29所示,以下称KE5)在DMF溶液中与Cy3-NHS荧光染料缩合反应,通过HPLC制备纯化得到实施例1-28的APN-Cy3荧光肽或比较例1的KE5-Cy3荧光肽。
- [0078] 荧光肽处理HT-1080细胞
- [0079] 除空白对照组外,按浓度梯度设立6个比较例1的KE5-Cy3荧光肽处理组,分别为:3.125 μmol/L、6.25 μmol/L、12.5 μmol/L、25 μmol/L、50 μmol/L、100 μmol/L组,每个组6个孔。
- [0080] 用比较例-Cy3荧光肽处理HT-1080细胞。
- [0081] 37°C孵育30min后用PBS洗2次,荧光酶标仪(发射波长488nm、激发波长520nm)读数检测细胞内荧光强度变化来评估HT-1080细胞摄取KE5-Cy3荧光肽的情况。
- 。

- [0082] 每组细胞内加入CCK - 8 10  $\mu$  L 孵育细胞4h, 再用酶标仪读数(波长为490nm), 通过CCK - 8校正每组荧光强度因细胞数量差异而导致的误差。
- [0083] 各浓度组重复3次。测定得到HT - 1080细胞摄取KE5 - Cy3荧光肽的最佳浓度。
- [0084] 用每个实施例的APN - Cy3荧光肽处理HT - 1080细胞, 其中每个APN - Cy3荧光肽的浓度是根据HT - 1080细胞摄取比较例的KE5 - Cy3荧光肽的最佳浓度。
- [0085] 37°C孵育30min后用PBS洗2次, 荧光酶标仪(发射波长488nm、激发波长520nm)读数检测细胞内荧光强度变化来评估HT - 1080细胞摄取每个APN - Cy3荧光肽的情况。
- [0086] 每组细胞内加入CCK - 8 10  $\mu$  L 孵育细胞4h, 再用酶标仪读数(波长为490nm), 通过CCK - 8校正每组荧光强度因细胞数量差异而导致的误差。
- [0087] 以如下公式计算每个APN - Cy3荧光肽与KE5 - Cy3荧光肽之间的相对细胞摄取率(Relative cell uptake, RCU)。

$$RCU = \frac{F_{APN-Cy3}}{F_{KE5-Cy3}}$$

- [0088] 请参照表1, 为申请人合成的比较例1的环肽以及实施例1 - 28的环肽的具体序列, 以及计算出的每个实施例的APN - Cy3荧光肽相较于比较例1的KE5 - Cy3荧光肽的相对细胞摄取率(即, 以KE5 - Cy3荧光肽的细胞摄取率为1.00计算出的倍数)。
- [0089] [表1]环肽具体序列以及荧光肽的相对细胞摄取率



	名称	SEQ ID NO:	序列	分子量	相对细胞摄取率	
	比较例 1	KE5	SEQ ID NO: 29	cyclo(NGREK)	557.56	1.00
组 1	实施例 1	APN1	SEQ ID NO: 1	cyclo(NGRDK)	570.61	0.65
	实施例 2	APN2	SEQ ID NO: 2	cyclo(NGRYK)	618.70	2.58
	实施例 3	APN3	SEQ ID NO: 3	cyclo(NGRTK)	556.63	3.14
	实施例 4	APN4	SEQ ID NO: 4	cyclo(NGRFK)	602.70	2.91
组 2	实施例 5	APN5	SEQ ID NO: 5	cyclo(NGRTKE)	685.74	3.29
	实施例 6	APN6	SEQ ID NO: 6	cyclo(NGRTKV)	655.76	2.72
	实施例 7	APN7	SEQ ID NO: 7	cyclo(NGRTKF)	703.80	0.56
	实施例 8	APN8	SEQ ID NO: 8	cyclo(NGRTKG)	613.68	1.14
	实施例 9	APN9	SEQ ID NO: 9	cyclo(NGRTKY)	719.80	5.03
组 3	实施例 10	APN10	SEQ ID NO: 10	cyclo(NGRTCE)	660.70	0.77
	实施例 11	APN11	SEQ ID NO: 11	cyclo(NGRTCv)	630.72	0.92
	实施例 12	APN12	SEQ ID NO: 12	cyclo(NGRTCF)	678.77	0.82
	实施例 13	APN13	SEQ ID NO: 13	cyclo(NGRTCG)	588.64	0.49
	实施例 14	APN14	SEQ ID NO: 14	cyclo(NGRTCy)	694.77	1.05
组 4	实施例 15	APN15	SEQ ID NO: 15	cyclo(NGRTKy)	719.80	4.43
	实施例 16	APN16	SEQ ID NO: 16	cyclo(NGRTKv)	655.76	2.17

	实施例 17	APN17	SEQ ID NO: 17	cyclo(NGRTKf)	703.80	0.49
	实施例 18	APN18	SEQ ID NO: 18	cyclo(NGRTkY)	719.80	2.83
	实施例 19	APN19	SEQ ID NO: 19	cyclo(NGRTkY)	719.80	4.12
组 5	实施例 20	APN20	SEQ ID NO: 20	cyclo(NmeGRTKY)	733.83	0.78
	实施例 21	APN21	SEQ ID NO: 21	cyclo(NSarRTKY)	733.83	5.68
	实施例 22	APN22	SEQ ID NO: 22	cyclo(NSarRTKy)	733.83	4.98
组 6	实施例 23	APN23	SEQ ID NO: 23	cyclo(NSarRTOrMY)	719.80	1.20
	实施例 24	APN24	SEQ ID NO: 24	cyclo(NSarRTDabY)	705.77	0.57
	实施例 25	APN25	SEQ ID NO: 25	cyclo(NSarRTcY)	708.79	0.72
	实施例 26	APN26	SEQ ID NO: 26	cyclo(NmeGRTDabY)	705.77	0.41
	实施例 27	APN27	SEQ ID NO: 27	cyclo(NmeGRTOrMY)	719.80	0.37
	实施例 28	APN28	SEQ ID NO: 28	cyclo(NmeGRTcY)	708.79	0.62

[0090] 在表1中：Orn表示鸟氨酸；Dab表示2,4 - 二氨基丁酸；Sar表示肌氨酸；Nme表示N - 甲基 - 天冬酰胺；各小写字母代表D - 氨基酸。

[0091] 可以看到，实施例2、实施例3、实施例4、实施例5、实施例6、实施例9、实施例15、实施例16、实施例18、实施例19、实施例21、以及实施例22，其APN - Cy3荧光肽的相对细胞摄取率至少为比较例的KE5 - Cy3荧光肽的细胞摄取率的2倍以上，其中实施例9、实施例15、实施例19、实施例21、以及实施例22，其APN - Cy3荧光肽的相对细胞摄取率至少为KE5 - Cy3荧光肽的细胞摄取率的4倍以上。实施例9的APN21 - Cy3荧光肽的相对细胞摄取率为KE5 - Cy3荧光肽的



比较例 1	小鼠血浆	100	94.81	89.37	80.23	39.75	12.42
	PBS	100	99.10	96.62	91.44	73.39	42.73
实施例 21	小鼠血浆	100	99.71	98.70	95.56	88.63	87.46
	PBS	100	99.82	99.07	98.34	93.55	90.63

[0102] 可以看到，相较于比较例1的环肽，实施例21的环肽在小鼠血浆或PBS中体外恒温孵育后的药物剩余百分率明显较高，也就是说其稳定性明显较高。

[0103] 动物实验

[0104] 1.APN21 - Bn - SCN - NOTA的合成

[0105] 1)称取实施例21的环肽(APN21)3.8mg(5.18  $\mu$  mol)，用50  $\mu$  L的DMF溶解，得到APN21的DMF溶液。将6.5mg的N,N - 二异丙基乙胺(DIEA)(52  $\mu$  mol)添加到以上APN21溶液中。

[0106] 2)称取NOTA - Bn - SCN酯三盐酸盐2.9mg(5.18  $\mu$  mol)，用50  $\mu$  L DMF溶解。

[0107] 3)在振荡条件下将NOTA - Bn - SCN溶液缓慢滴加至APN21溶液中，将反应混合物在室温下搅拌4小时。

[0108] 4)使用高效液相色谱层析(HPLC)分离产物，固定相为半制备C18柱，流动相采用梯度洗脱法，流速为4mL/min，并在18分钟内从5%乙腈变为50%乙腈。

[0109] 5)通过高效液相色谱和质谱分析鉴定产物。电喷雾质谱(ESI - MS)测定结果： $m/z[M+H]^+ = 1184.87$ (化学式： $C_{53}H_{82}N_{12}O_{16}$ ，计算分子量1183.54)，质谱图具体如图1；

[0110] 6)将目标产物馏分冻干过夜处理。

[0111] 2.APN21 - PEG<sub>4</sub> - DOTA的<sup>68</sup>Ga标记程序

[0112] 1)用1.5mL的0.25M醋酸钠溶液溶解0.75  $\mu$  mol的APN21 - Bn - SCN - NOTA。

[0113] 2)采用4mL 0.05M盐酸溶液洗脱锗镓发生器，制备淋洗液<sup>68</sup>GaCl<sub>3</sub>。

[0114] 3)取1mCi活度的淋洗液，加入到APN21 - Bn - SCN - NOTA溶液中，置60°C加热器反应10min，获得<sup>68</sup>Ga - APN21 - Bn - SCN - NOTA缀合物。所得到的混合物，通过放射高效液相色谱进行监测和定量标记，纯度>97%，放射性色谱图具体如图2。

- [0115] 此外，另外以上述制备实施例的<sup>68</sup>Ga - APN21 - Bn - SCN - NOTA缀合物的方法对应制备比较例1的<sup>68</sup>Ga - KE5 - Bn - SCN - NOTA缀合物和比较例2的<sup>68</sup>Ga - CG6 - Bn - SCN - NOTA缀合物(此处“CG6”意指序列为cyclo(CNGRC)的环肽，如SEQ ID NO:30所示)。
- [0116] 3.人纤维肉瘤异种移植瘤模型构建
- [0117] 正常NCr裸鼠(18 - 25g, 4 - 6周龄, n=3)取HT - 1080细胞, 于200 μL磷酸盐缓冲液和基质凝胶(v/v, 1/1)混合液中, 植入2 × 10<sup>6</sup>个细胞于小鼠右肩皮下。在平均1.5周之后, 肿瘤直径约10mm, 已经足以进行生物分布和PET成像研究。
- [0118] 4.小型动物的正电子发射型计算机断层显像(PET/CT)
- [0119] PET/CT和图像分析使用小型动物NovelMedcal PET/CT扫描仪(北京永新)进行。其在视野中心的切向和径向半宽最大值为1.5mm, 在视野边缘的切向和径向半宽最大值为1.8mm。
- [0120] 对于CG6组, 在异氟醚麻醉下, 将约3.7MBq(100 μ Ci)的比较例2的<sup>68</sup>Ga - CG6 - Bn - SCN - NOTA化合物通过尾静脉注射至HT1080荷瘤小鼠体内。静脉注射0.5、1和2小时后, 分别获得15分钟的静态PET/CT图像。
- [0121] 对于KE5组, 在异氟醚麻醉下, 将约3.7MBq(100 μ Ci)的比较例1的<sup>68</sup>Ga - KE5 - Bn - SCN - NOTA化合物通过尾静脉注射至HT1080荷瘤小鼠体内。静脉注射0.5、1和2小时后, 分别获得15分钟的静态PET/CT图像。
- [0122] 对于APN21组, 在异氟醚麻醉下, 将约3.7MBq(100 μ Ci)的实施例21的<sup>68</sup>Ga - APN21 - Bn - SCN - NOTA化合物通过尾静脉注射至HT1080荷瘤小鼠体内。静脉注射0.5、1和2小时后, 分别获得15分钟的静态PET/CT图像。
- [0123] 对于APN21阻断组, 将约3.7MBq(100 μ Ci)的实施例21的<sup>68</sup>Ga - APN21 - Bn - SCN - NOTA和未标记的NGR肽(每个肽15mg/kg)共注射至HT1080荷瘤小鼠(每组n=3)0.5、1和2小时后, 分别获得15分钟的静态PET/CT图像。
- [0124] 请参照图3A和图3B, 为仅注射<sup>68</sup>Ga - CG6 - Bn - SCN - NOTA(CG6组)、仅注射<sup>68</sup>Ga - KE5 - Bn - SCN - NOTA(KE5组)、仅注射<sup>68</sup>Ga - APN21 - Bn - SCN - N OTA(APN21组)以及共注射<sup>68</sup>Ga - APN21 - Bn - SCN - NOTA和未标记的NGR肽(APN21阻断组)的HT1080荷瘤小鼠, 在注射0.5、1和2小时后的静态PET/CT图

像，以及根据 $^{68}\text{Ga}$  - APN21 - Bn - SCN - NOTA信号强度计算的肿瘤摄取量。如图3A和3B所示，在APN21阻断组中， $^{68}\text{Ga}$  - APN21 - Bn - SCN - NOTA的信号强度相较于未阻断的APN21组明显较弱，而更接近KE5组的信号强度，因此可以证实在NGR肽阻断CD13受体时 $^{68}\text{Ga}$  - APN21 - Bn - SCN - NOTA的作用靶点被阻断，亦即证明 $^{68}\text{Ga}$  - APN21 - Bn - SCN - NOTA对CD13受体的靶向性。

[0125] PET和CT图像利用NMSoft工作站软件(北京永新)进行采集，数据以每克组织或器官的注射剂量百分比(ID/g)给出，并通过每个样本的衰变校正(标准化到代表注射剂量的已知重量)来确定。

[0126] 上述实施方式仅为本申请的优选实施方式，不能以此来限定本申请保护的范围，本领域的技术人员在本申请的基础上所做的任何非实质性的变化及替换均属于本申请所要求保护的范围。

## 权利要求书

- [权利要求 1] 一种环肽，其特征在于，序列为 $\text{cyclo}(\text{X}^1\text{X}^2\text{X}^3\text{X}^4\text{X}^5\text{X}^6)$ ，其中，  
所述 $\text{X}^1$ 为天冬酰胺；  
所述 $\text{X}^2$ 为甘氨酸或肌氨酸；  
所述 $\text{X}^3$ 为精氨酸；  
所述 $\text{X}^4$ 选自由苏氨酸、酪氨酸、和苯丙氨酸所组成的组；  
所述 $\text{X}^5$ 为赖氨酸；且  
所述 $\text{X}^6$ 选自由酪氨酸、缬氨酸、和谷氨酸所组成的组。
- [权利要求 2] 如权利要求1所述的环肽，其特征在于，  
所述 $\text{X}^4$ 为L - 苏氨酸或D - 苏氨酸；且/或  
所述 $\text{X}^6$ 为L - 酪氨酸或D - 酪氨酸。
- [权利要求 3] 如权利要求1或2所述的环肽，其特征在于，  
所述 $\text{X}^1$ 为L - 天冬酰胺；  
所述 $\text{X}^3$ 为L - 精氨酸；  
所述 $\text{X}^4$ 为L - 苏氨酸；  
所述 $\text{X}^5$ 为L - 赖氨酸；且/或  
所述 $\text{X}^6$ 为L - 酪氨酸；  
可选地，所述 $\text{X}^1$ 为L - 天冬酰胺，所述 $\text{X}^2$ 为肌氨酸，所述 $\text{X}^3$ 为L - 精氨酸，所述 $\text{X}^4$ 为L - 苏氨酸，所述 $\text{X}^5$ 为L - 赖氨酸，且所述 $\text{X}^6$ 为L - 酪氨酸；  
可选地，所述 $\text{X}^1$ 为L - 天冬酰胺，所述 $\text{X}^2$ 为甘氨酸，所述 $\text{X}^3$ 为L - 精氨酸，所述 $\text{X}^4$ 为L - 苏氨酸，所述 $\text{X}^5$ 为L - 赖氨酸，且所述 $\text{X}^6$ 为L - 酪氨酸；或  
可选地，所述 $\text{X}^1$ 为L - 天冬酰胺，所述 $\text{X}^2$ 为肌氨酸，所述 $\text{X}^3$ 为L - 精氨酸，所述 $\text{X}^4$ 为L - 苏氨酸，所述 $\text{X}^5$ 为L - 赖氨酸，且所述 $\text{X}^6$ 为L - 酪氨酸。
- [权利要求 4] 一种复合物，包括：

权利要求1至3任一所述的环肽；  
连接子，偶联所述环肽；以及  
螯合剂，偶联所述连接子。

[权利要求 5]

如权利要求4所述的复合物，其特征在于，  
所述连接子为聚乙二醇；且/或  
所述螯合剂包括选自由：1,4,7,10 - 四氮杂环十二烷 - N,N',N'' ,N''' - 四乙酸、1,4,7 - 三氮杂环壬烷 - N,N',N'' - 三乙酸、二亚乙基三胺 - N,N,N',N'' ,N''' - 五乙酸、1,4,8,11 - 四氮杂环十四烷 - 1,4,8,11 - 四乙酸、2,2' - ((6 - 氨基 - 1 - (4,7 - 双(羧甲基) - 1,4,7 - 三氮烷 - 1 - 基)己烷 - 2 - 基)氮杂二酰基)二乙酸、1,4,7,10 - 四氮杂环十二烷 - 1,4,7 - 三乙酸、亚乙基双(邻羟基苯基)甘氨酸、N,N' - 双(2 - 羟基苄基)乙二胺 - N,N' - 二乙酸、1,4,7,10 - 四氮杂环十二烷 -  $\alpha, \alpha'$  ,  $\alpha''$  ,  $\alpha'''$  - 四甲基 - N,N',N'' ,N''' - 四乙酸、1,4,8,11 - 四氮杂环十四烷 - 1,4,8,11 - (甲基四乙酸)、乙二胺四乙酸、1,3 - 丙二胺四乙酸、三乙烯四胺六乙酸、1,5,10 - N,N',N'' - 三(2,3 - 二羟基苯甲酰基) - 三邻苯二酚、1,3,5 - N,N',N'' - 三(2,3 - 二羟基苯甲酰基)氨基甲基苯、及6 - 胍烟酸，以及其失去一个或更多个氢离子所形成的离子，所组成的组中的至少一个或由其组成，  
可选地，所述螯合剂包括1,4,7,10 - 四氮杂环十二烷 - N,N',N'' ,N''' - 四乙酸。

[权利要求 6]

如权利要求1至3任一所述的环肽、或权利要求4至5任一所述的复合物，在放射性核素标记、制备放射性核素标记试剂、或制备药物载体中的用途。

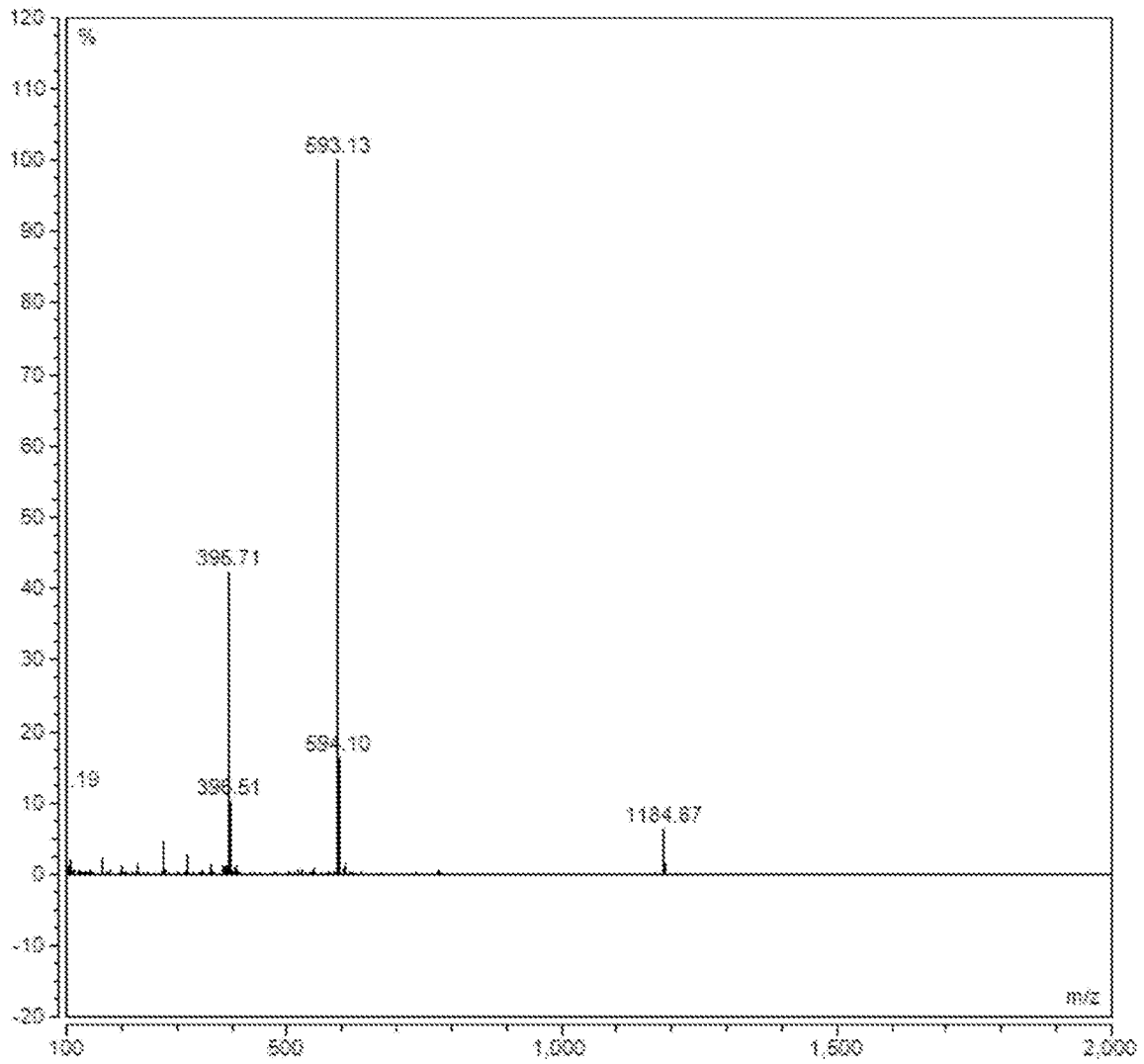
[权利要求 7]

一种放射性核素制剂，其特征在于，包括：  
权利要求4至5任一所述的复合物；以及  
放射性核素，与所述复合物的螯合剂螯合。

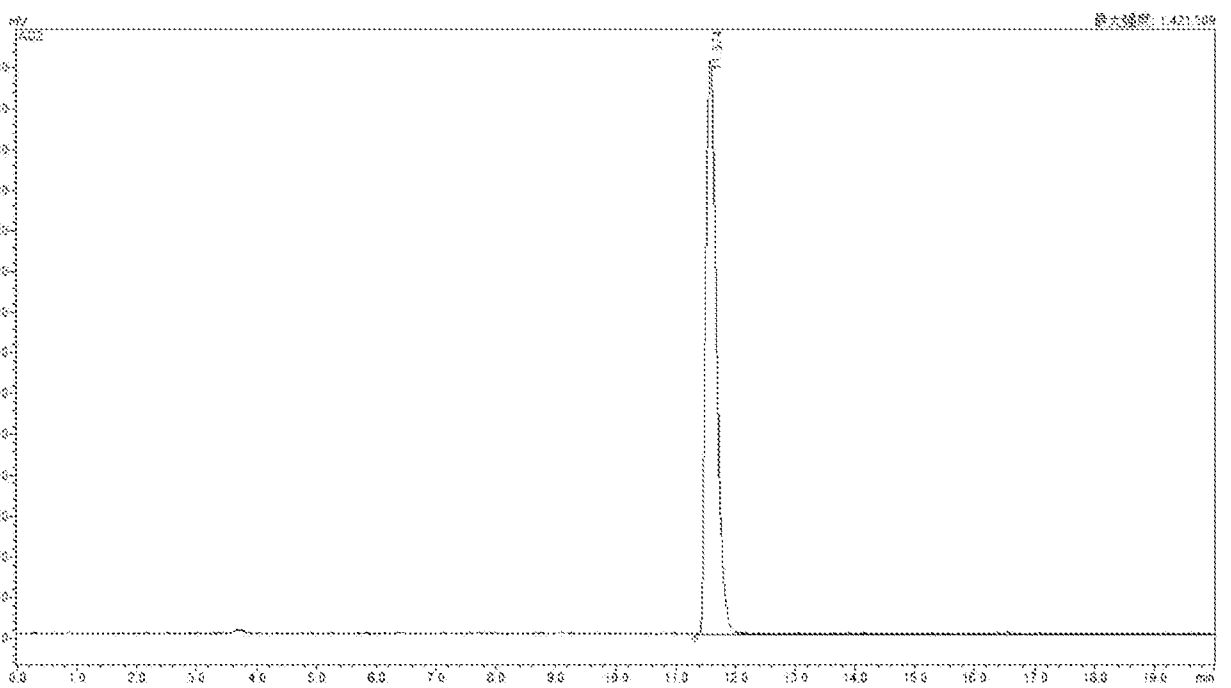
- [权利要求 8] 如权利要求7所述的放射性核素制剂，其特征在于，所述放射性核素选自自由<sup>44</sup>Sc、<sup>47</sup>Sc、<sup>64</sup>Cu、<sup>67</sup>Cu、<sup>67</sup>Ga、<sup>68</sup>Ga、<sup>99m</sup>Tc、<sup>90</sup>Y、<sup>111</sup>In、<sup>177</sup>Lu、<sup>212</sup>Pb、<sup>213</sup>Bi、和<sup>225</sup>Ac所组成的组中的至少一个。
- [权利要求 9] 如权利要求1至4任一所述的环肽、或权利要求5至6任一所述的复合物、或如权利要求7至8任一所述的放射性核素制剂，在制备检测癌症、诊断癌症、监控癌症进展、监控癌症治疗或治疗癌症的药物中的用途；  
可选地，所述癌症选自自由头颈癌、肝癌、胰腺癌、食道癌、胃癌、肺癌、乳腺癌、卵巢癌、子宫癌、子宫内膜癌、宫颈癌、前列腺癌、肾上腺癌、淋巴瘤、唾液腺癌、骨癌、脑癌、小脑癌、结肠癌、直肠癌、结肠直肠癌、口鼻咽癌、肾癌、膀胱癌、皮肤癌、黑色素瘤、基底细胞癌、硬腭癌、舌鳞状细胞癌、脑膜瘤、多形性腺瘤、星形细胞瘤、软组织肉瘤、软骨肉瘤、皮质腺瘤、间皮瘤、鳞状细胞癌和腺癌所组成的组。
- [权利要求 10] 如权利要求9所述的用途，其特征在于，  
所述癌症为CD13高表达；且/或  
所述癌症选自自由乳腺癌、卵巢癌、甲状腺癌、胰腺癌、结直肠癌、非小细胞肺癌和骨肉瘤所组成的组。



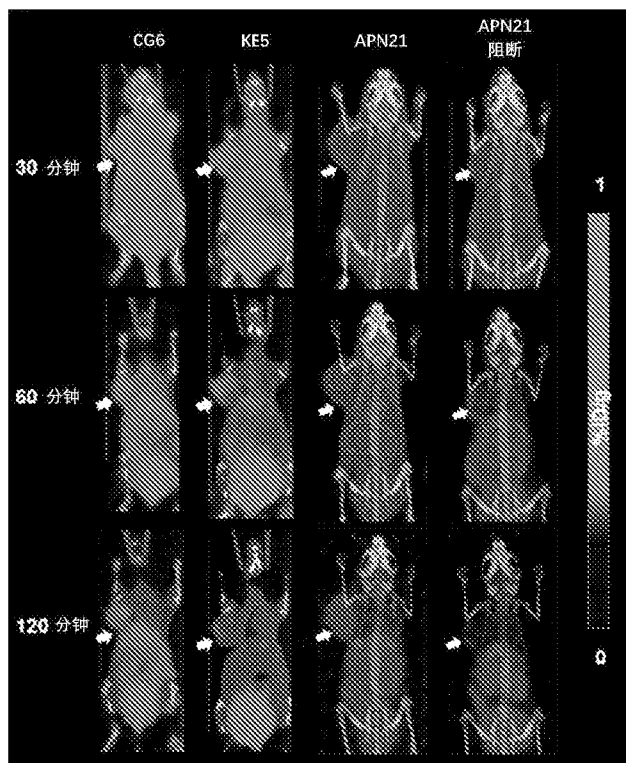
[图 1]



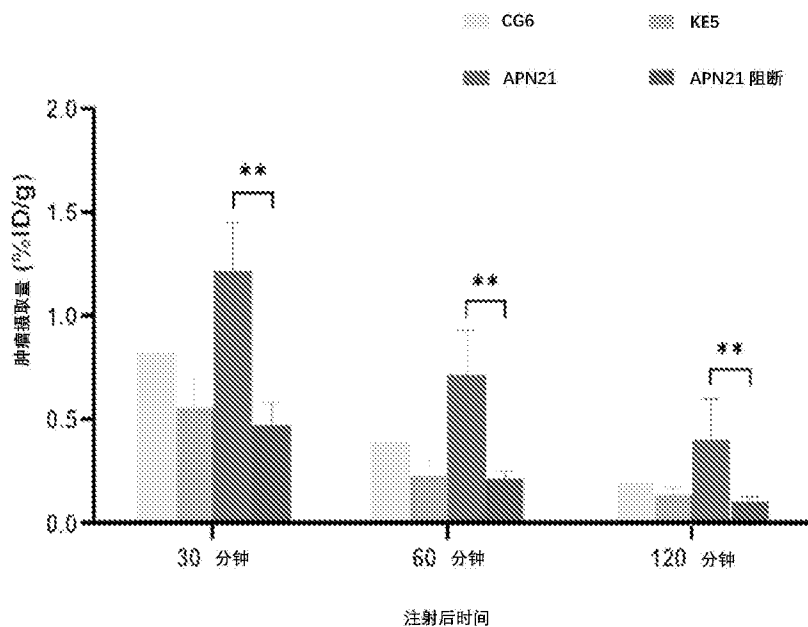
[图 2]



[图 3A]



[图 3B]



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2023/116515

**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**

C07K7/64(2006.01)i; C07K7/06(2006.01)i; C07K1/13(2006.01)i; A61K51/08(2006.01)i; A61P35/00(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

**B. FIELDS SEARCHED**

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC: C07K, A61K, A61P

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

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

CNABS, CNTXT, ENTXT, VEN, WPABS, DWPI, CNKI, 万方, WANFANG, EBI, NCBI, 百度, BAIDU, ISI Web of Knowledge, PUBMED, STN, 中国专利生物序列检索系统, China Patent Biological Sequence Search System: 核欣(苏州)医药科技有限公司, 单长宇, 曾德兴, 陈银飞, 李文杰, 氨基酸N, APN, CD13, 环肽, NGR, cyclo(CNGRC), cyclo(NGRTKY), NGRTKY, NSarRTKY, cyclo(NSarRTKY), 天冬酰胺, 甘氨酸, 肌氨酸, 精氨酸, 苏氨酸, 赖氨酸, 酪氨酸

**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN 112079900 A (INSTITUTE OF NUCLEAR PHYSICS & CHEMISTRY, CHINA ACADEMY OF ENGINEERING PHYSICS) 15 December 2020 (2020-12-15) entire document	1-10 (in part)
A	CN 103483422 A (FOURTH MILITARY MEDICAL UNIVERSITY OF CHINESE PEOPLE'S LIBERATION ARMY) 01 January 2014 (2014-01-01) entire document	1-10 (in part)
A	CN 103948947 A (NANJING FIRST HOSPITAL et al.) 30 July 2014 (2014-07-30) entire document	1-10 (in part)
A	CN 104984371 A (SHANGHAI JIAO TONG UNIVERSITY) 21 October 2015 (2015-10-21) entire document	1-10 (in part)
A	CN 114773433 A (BEIJING CANCER HOSPITAL (PEKING UNIVERSITY CANCER HOSPITAL)) 22 July 2022 (2022-07-22) entire document	1-10 (in part)

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

\* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

“D” document cited by the applicant in the international application

“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date

“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

15 November 2023

Date of mailing of the international search report

21 November 2023

Name and mailing address of the ISA/CN

China National Intellectual Property Administration (ISA/  
CN)  
China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District,  
Beijing 100088

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

**PCT/CN2023/116515**

<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2015045302 A1 (OSPEDALE SAN RAFFAELE SRL) 12 February 2015 (2015-02-12) entire document	1-10 (in part)
A	WO 2012045719 A2 (MOLMED SPA) 12 April 2012 (2012-04-12) entire document	1-10 (in part)

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

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
  - a.  forming part of the international application as filed.
  - b.  furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13ter.1(a)),  
 accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.
2.  With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.
3. Additional comments:

**Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)**

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

Invention 1: the technical solutions of claims 1-10 that relate to the X<sup>2</sup> being glycine, the X<sup>4</sup> being threonine, and X<sup>6</sup> being tyrosine.

Invention 2: the technical solutions of claims 1-10 that relate to the X<sup>2</sup> being sarcosine, the X<sup>4</sup> being threonine, and X<sup>6</sup> being tyrosine.

Invention 3: the technical solutions of claims 1-10 that relate to the X<sup>2</sup> being glycine, the X<sup>4</sup> being tyrosine, and X<sup>6</sup> being tyrosine.

Invention 4: the technical solutions of claims 1-10 that relate to the X<sup>2</sup> being glycine, the X<sup>4</sup> being phenylalanine, and X<sup>6</sup> being tyrosine.

...

Invention 18: the technical solutions of claims 1-10 that relate to the X<sup>2</sup> being sarcosine, the X<sup>4</sup> being phenylalanine, and X<sup>6</sup> being glutamic acid.

The same technical features of inventions 1-18 are: X<sup>1</sup> being asparagine, X<sup>3</sup> being arginine, and X<sup>5</sup> being a cyclic hexapeptide of lysine. First, the preparation of the cyclic hexapeptide is a conventional technique in the art. There is no evidence in the present application to prove that, in the cyclic hexapeptide, X<sup>1</sup> being asparagine, X<sup>3</sup> being arginine, and X<sup>5</sup> being lysine are necessary and sufficient technical features for exerting the technical effect thereof; that is, it can be seen from the application document that not all the features of X<sup>1</sup> being asparagine, X<sup>3</sup> being arginine, and X<sup>5</sup> being a hexapeptide of lysine can solve the technical problem of the present application. Therefore, inventions 1-18 do not have a same or corresponding special technical feature, and thus do not comply with PCT Rule 13(2).

1.  As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2.  As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3.  As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.: **Invention 1: the technical solutions of claims 1-10 that relate to the X<sup>2</sup> being glycine, the X<sup>4</sup> being threonine, and X<sup>6</sup> being tyrosine; and Invention 2: the technical solutions of claims 1-10 that relate to the X<sup>2</sup> being sarcosine, the X<sup>4</sup> being threonine, and X<sup>6</sup> being tyrosine.**
4.  No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

- Remark on Protest**
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
**Information on patent family members**

International application No.

**PCT/CN2023/116515**

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
CN	112079900	A	15 December 2020	None	
CN	103483422	A	01 January 2014	None	
CN	103948947	A	30 July 2014	None	
CN	104984371	A	21 October 2015	None	
CN	114773433	A	22 July 2022	None	
US	2015045302	A1	12 February 2015	EP	2827908 A2 28 January 2015
				US	9561289 B2 07 February 2017
				WO	2013140317 A2 26 September 2013
				WO	2013140317 A3 23 January 2014
				GB	201204868 D0 02 May 2012
WO	2012045719	A2	12 April 2012	WO	2012045719 A3 21 June 2012

第I栏

核苷酸和/或氨基酸序列(续第1页第1.c项)

1. 关于国际申请中所公开的任何核苷酸和/或氨基酸序列,国际检索是基于下列序列列表进行的:
  - a.  作为国际申请的一部分提交的:
  - b.  为国际检索的目的在国际申请日之后提交(细则13之三.1(a)),  
 附有说明序列列表不超出所提交国际申请公开范围的声明。
2.  本报告是在没有收到符合WIPO ST.26标准的序列列表的情况下,考虑了国际申请中披露的任何核苷酸和/或氨基酸序列,在可进行有意义检索的范围内做出的。
3. 补充意见:



第III栏 缺乏发明单一性的意见(续第1页第3项)

本国际检索单位在该国际申请中发现多项发明，即：

- 发明1：权利要求1-10中涉及所述X<sup>2</sup>为甘氨酸、所述X<sup>4</sup>为苏氨酸、X<sup>6</sup>为酪氨酸的技术方案；
- 发明2：权利要求1-10中涉及所述X<sup>2</sup>为肌氨酸、所述X<sup>4</sup>为苏氨酸、X<sup>6</sup>为酪氨酸的技术方案；
- 发明3：权利要求1-10中涉及所述X<sup>2</sup>为甘氨酸、所述X<sup>4</sup>为酪氨酸、X<sup>6</sup>为酪氨酸的技术方案；
- 发明4：权利要求1-10中涉及所述X<sup>2</sup>为甘氨酸、所述X<sup>4</sup>为苯丙氨酸、X<sup>6</sup>为酪氨酸的技术方案；

.....

发明18：权利要求1-10中涉及所述X<sup>2</sup>为肌氨酸、所述X<sup>4</sup>为苯丙氨酸、X<sup>6</sup>为谷氨酸的技术方案。

发明1-18相同的技术特征为：均为X<sup>1</sup>为天冬酰胺、X<sup>3</sup>为精氨酸、X<sup>5</sup>为赖氨酸的环六肽。首先制备环六肽属于本领域的常规技术。本申请并没有证据表明在该环六肽中X<sup>1</sup>为天冬酰胺、X<sup>3</sup>为精氨酸、X<sup>5</sup>为赖氨酸是发挥其技术作用的必要而充分的技术特征，即由申请文件可知X<sup>1</sup>为天冬酰胺、X<sup>3</sup>为精氨酸、X<sup>5</sup>为赖氨酸的六肽并非都能够解决本申请的技术问题。因此，上述发明1-18不具备相同或相应的特定技术特征，不符合PCT细则第13条（2）的要求。

1.  由于申请人按时缴纳了被要求缴纳的全部附加检索费，本国际检索报告涉及全部可作检索的权利要求。
2.  由于无需付出有理由要求附加费的劳动即能对全部可检索的权利要求进行检索，本单位未通知缴纳任何加费。
3.  由于申请人仅按时缴纳了部分被要求缴纳的附加检索费，本国际检索报告仅涉及已缴费的那些权利要求，具体地说，是权利要求：发明1：权利要求1-10中涉及所述X<sup>2</sup>为甘氨酸、所述X<sup>4</sup>为苏氨酸、X<sup>6</sup>为酪氨酸的技术方案；发明2：权利要求1-10中涉及所述X<sup>2</sup>为肌氨酸、所述X<sup>4</sup>为苏氨酸、X<sup>6</sup>为酪氨酸的技术方案。
4.  申请人未按时缴纳被要求缴纳的附加检索费。因此，本国际检索报告仅涉及权利要求书中首先提及的发明；包含该发明的权利要求是：

- 对异议的意见
- 申请人缴纳了附加检索费，同时提交了异议书，适用时，缴纳了异议费。
  - 申请人缴纳了附加检索费，同时提交了异议书，但未在通知书规定的时间期限内缴纳异议费。
  - 缴纳附加检索费时未提交异议书。

<p>A. 主题的分类</p> <p>C07K7/64(2006.01)i; C07K7/06(2006.01)i; C07K1/13(2006.01)i; A61K51/08(2006.01)i; A61P35/00(2006.01)i</p> <p>按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类</p>																							
<p>B. 检索领域</p> <p>检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)</p> <p>IPC: C07K, A61K, A61P</p> <p>包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献</p> <p>在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))</p> <p>CNABS, CNTXT, ENTXT, VEN, WPABS, DWPI, CNKI, 万方, EBI, NCBI, 百度, ISI Web of Knowledge, PUBMED, STN, 中国专利生物序列检索系统: 核欣(苏州)医药科技有限公司, 单长宇, 曾德兴, 陈银飞, 李文杰, 氨肽酶N, APN, CD13, 环肽, NGR, cyclo(CNGRC), cyclo(NGRTKY), NGR TKY, NSarR TKY, cyclo(NSarR TKY), 天冬酰胺, 甘氨酸, 肌氨酸, 精氨酸, 苏氨酸, 赖氨酸, 酪氨酸</p>																							
<p>C. 相关文件</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>类型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>A</td> <td>CN 112079900 A (中国工程物理研究院核物理与化学研究所) 2020年12月15日 (2020 - 12 - 15) 全文</td> <td>1-10 (部分)</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 103483422 A (中国人民解放军第四军医大学) 2014年1月1日 (2014 - 01 - 01) 全文</td> <td>1-10 (部分)</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 103948947 A (南京市第一医院等) 2014年7月30日 (2014 - 07 - 30) 全文</td> <td>1-10 (部分)</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 104984371 A (上海交通大学) 2015年10月21日 (2015 - 10 - 21) 全文</td> <td>1-10 (部分)</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 114773433 A (北京肿瘤医院(北京大学肿瘤医院)) 2022年7月22日 (2022 - 07 - 22) 全文</td> <td>1-10 (部分)</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>US 2015045302 A1 (OSPEDALE SAN RAFFAELE SRL) 2015年2月12日 (2015 - 02 - 12) 全文</td> <td>1-10 (部分)</td> </tr> </tbody> </table> <p><input checked="" type="checkbox"/> 其余文件在C栏的续页中列出。      <input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。</p> <p>* 引用文件的具体类型:          “A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件          “D” 申请人在国际申请中引证的文件          “E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利          “L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的)          “O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件          “P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件          “T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件          “X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性          “Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性          “&amp;” 同族专利的文件</p>			类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	A	CN 112079900 A (中国工程物理研究院核物理与化学研究所) 2020年12月15日 (2020 - 12 - 15) 全文	1-10 (部分)	A	CN 103483422 A (中国人民解放军第四军医大学) 2014年1月1日 (2014 - 01 - 01) 全文	1-10 (部分)	A	CN 103948947 A (南京市第一医院等) 2014年7月30日 (2014 - 07 - 30) 全文	1-10 (部分)	A	CN 104984371 A (上海交通大学) 2015年10月21日 (2015 - 10 - 21) 全文	1-10 (部分)	A	CN 114773433 A (北京肿瘤医院(北京大学肿瘤医院)) 2022年7月22日 (2022 - 07 - 22) 全文	1-10 (部分)	A	US 2015045302 A1 (OSPEDALE SAN RAFFAELE SRL) 2015年2月12日 (2015 - 02 - 12) 全文	1-10 (部分)
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求																					
A	CN 112079900 A (中国工程物理研究院核物理与化学研究所) 2020年12月15日 (2020 - 12 - 15) 全文	1-10 (部分)																					
A	CN 103483422 A (中国人民解放军第四军医大学) 2014年1月1日 (2014 - 01 - 01) 全文	1-10 (部分)																					
A	CN 103948947 A (南京市第一医院等) 2014年7月30日 (2014 - 07 - 30) 全文	1-10 (部分)																					
A	CN 104984371 A (上海交通大学) 2015年10月21日 (2015 - 10 - 21) 全文	1-10 (部分)																					
A	CN 114773433 A (北京肿瘤医院(北京大学肿瘤医院)) 2022年7月22日 (2022 - 07 - 22) 全文	1-10 (部分)																					
A	US 2015045302 A1 (OSPEDALE SAN RAFFAELE SRL) 2015年2月12日 (2015 - 02 - 12) 全文	1-10 (部分)																					
国际检索实际完成的日期	2023年11月15日	国际检索报告邮寄日期	2023年11月21日																				
ISA/CN的名称和邮寄地址	中国国家知识产权局 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088	授权官员	李娟娟 电话号码 (+86) 010-53962095																				

C. 相关文件		
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
A	WO 2012045719 A2 (MOLMED SPA) 2012年4月12日 (2012 - 04 - 12) 全文	1-10 (部分)
-----		

国际检索报告  
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2023/116515

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利	公布日 (年/月/日)	
CN	112079900	A	2020年12月15日	无		
CN	103483422	A	2014年1月1日	无		
CN	103948947	A	2014年7月30日	无		
CN	104984371	A	2015年10月21日	无		
CN	114773433	A	2022年7月22日	无		
US	2015045302	A1	2015年2月12日	EP	2827908 A2	2015年1月28日
				US	9561289 B2	2017年2月7日
				WO	2013140317 A2	2013年9月26日
				WO	2013140317 A3	2014年1月23日
				GB	201204868 D0	2012年5月2日
WO	2012045719	A2	2012年4月12日	WO	2012045719 A3	2012年6月21日