

靶向 c-Met 的肽、包含所述肽的药物组合物及其用途

相关申请的交叉引用

本申请要求对 2023 年 6 月 25 日提交的申请 PCT/CN2023/102222 享有优先权。在先申请视为本申请公开的一部分，并整体纳入本申请。

技术领域

本公开涉及医药领域，具体涉及靶向 c-Met 的肽、包含所述肽的缀合物、药物组合物及用途。

背景技术

癌症作为全球头号杀手，侵害着越来越多人的生命。据我国卫生部所公布的数据显示，无论城市还是农村，癌症已超过心血管疾病成为我国居民死亡的第一大原因。

近几十年来随着医药卫生事业的发展，在治疗和控制癌症等各个方面都取得了显著进展，各种药物和治疗手段不断涌现。然而，目前手术治疗、化学疗法以及放射治疗依然是最主要的三种治疗手段，并且这些治疗手段难以产生令人满意的治疗效果。普通的药物治疗虽然有重要作用，但是这种治疗手段对正常的组织和细胞常常有巨大伤害。抗癌药物市场增长迅速，其中增长最快的是靶向抗癌药物。靶向药物包括普通的小分子靶向药物、单克隆抗体等，它们以癌症细胞或者组织作为靶点，将药物递送至癌症部位，从而减小对正常组织以及正常细胞的伤害，进而达到特异性治疗的目的。

c-Met，也称为肝细胞生长因子受体(HGFR)，是受体酪氨酸激酶家族成员之一。c-Met 在乳腺、结肠、胃、肾、肝、肺、胰腺等原发性上皮癌中过度表达，且其表达增加的范围为乳腺癌 35-65%，胃癌 30-70%，胰腺癌 25-60%，肝细胞癌 25-60%，肾细胞癌 15-80%，非小细胞肺癌 35-70%(Biochim Biophys Acta Rev Cancer. 2020, 1874, 188425.)。在多种癌症中 c-Met 与配体肝细胞生长因子(HGF)结合后会激活下游信号通路，促进癌症细胞的增殖、迁移，还会促进癌症的侵袭、转移和血管的生成，因此，以 c-Met 为靶点的癌症治疗及成像是研究的热点方向。

目前，阻断 c-Met-HGF 的信号传导是癌症治疗的有效手段之一。该手段可使用小分子激酶抑制剂、抗体以及肽来抑制 c-Met 与 HGF 的特异性结合。

与小分子或抗体类药物相比，肽具有高亲和力、几乎无免疫源性、生产成本低、易于修饰等特点。现有技术(例如，CN112979753B)中已公开了靶向 c-Met 的肽，但由于其在水中的溶解性较差，且与 c-Met 的亲和力有待提高，其在临床治疗和诊断上的应用受到限制。因此，对于开发改善的靶向 c-Met 的肽，比如水溶性更好和/或与 c-Met 亲和力更高的靶向 c-Met 的肽迫在眉睫。

发明内容

基于上述，本公开提供了结构简单，容易合成、分离和纯化的靶向 c-Met 的肽，其显示出在受试者体内和体外与 c-Met 蛋白的特异性结合。本公开还提供了在受试者体内具有良好靶向 c-Met 蛋白能力的肽，该肽在高表达 c-Met 的癌组织中富集。本公开进一步提供了上述靶向 c-Met 的肽，其具有改善的与 c-Met 的亲和力和/或水溶性。本公开的肽与药物缀合后还表现出了改善的药物溶解度。

在本公开的第一方面，提供了包含下式 I 或式 II 的靶向 c-Met 的肽或其衍生物，

(R)-(X1)-(X2)-(X3)-(X4)-(X5)-(X6) 式 I

(Y1)-(Y2)-(Y3)-(Y4)-(A)-(N)-(Y5) 式 II

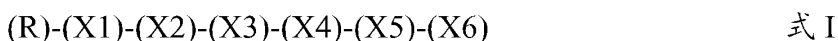
其中，X1-X6 彼此独立地代表任意一种氨基酸或其衍生物；Y1-Y5 彼此独立地代表任意一种氨基酸或其衍生物，且式 II 不包括 CM7-1 的序列(D)-(Q)-(I)-(I)-(A)-(N)-(N)；且所述肽或其衍生物相对于 CM7-1 具有相似或者更好的与 c-Met 的结合亲和力。

在本公开的一个实施例中，所述式 I 中的 X1 代表 S、H 或 E，X2 代表 P、I 或 D，X3 代表任意一种氨基酸或其衍生物，X4 代表 A、M 或 C，X5 代表 N、C 或 P，X6 代表任意一种氨基酸或其衍生物；所述式 II 中的 Y1 代表任意一种氨基酸或其衍生物，Y2 代表 Q 或 A，Y3 代表 I 或 A、Y4 代表 I 或 A、Y5 代表 N 或 A，且式 II 不包括(D)-(Q)-(I)-(I)-(A)-(N)-(N)。

在本公开的一个实施例中，该靶向 c-Met 的肽或其衍生物包含选自以下的任意一个序列：SEQ ID NO:1， SEQ ID NO:3-6，SEQ ID NO:8， SEQ ID NO:9-144， SEQ ID NO: 148-150。

在本公开的一个实施例中，该靶向 c-Met 的肽或其衍生物包含选自以下的任意一个序列：SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:3-6, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:9-20, SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:35, SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:48, SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:66, SEQ ID NO:70, SEQ ID NO:72, SEQ ID NO:79-81, SEQ ID NO:83-85, SEQ ID NO:90, SEQ ID NO:96, SEQ ID NO:105, SEQ ID NO:111, SEQ ID NO:123, SEQ ID NO:125, SEQ ID NO:135, SEQ ID NO:144, SEQ ID NO: 148-150。

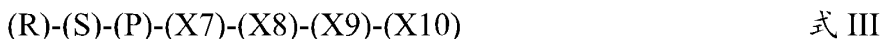
在本公开的一个实施例中，该靶向 c-Met 的肽或其衍生物包含式 I，



其中 X1 为 S, X2 为 P, X3-6 相互独立地代表任意一种氨基酸或其衍生物，且所述肽或其衍生物相对于 P1-AI (SEQ ID NO:1, RSPYANS) 具有相似或者更好的与 c-Met 的结合亲和力。

在本公开的一个实施例中，该靶向 c-Met 的肽或其衍生物包含选自以下的任意一个序列：SEQ ID NO: 148-150。

在本公开的第二方面，提供了一种包含下式 III 的靶向 c-Met 的肽或其衍生物，



其中，X7-10 相互独立地代表任意一种氨基酸或其衍生物，且所述肽或其衍生物相对于 P1-AI 具有相似或者更好的与 c-Met 的结合亲和力。

在本公开的一个实施例中，该靶向 c-Met 的肽或其衍生物包含选自以下的任意一个序列：SEQ ID NO: 148-150。

在本公开的第三方面，提供了一种分离的多核苷酸，其编码根据本公开所述的肽或其衍生物。

在本公开的第四方面，提供了一种表达载体，其表达根据本公开所述的多核苷酸。

在本公开的第五方面，提供了一种宿主细胞，其包含根据本公开所述的多核苷酸或根据本公开所述的表达载体。

在本公开的第六方面，提供了一种药物-肽缀合物，其包含本公开的肽或其衍生物，以及药物。在一些实施方式中，本公开的肽或其衍生物直接(例如通过共价键)或者间接(例如通过连接子)与药物缀合。在一些优选的实施方式

中，药物选自化合物，例如细胞毒性剂，包括但不限于喜树碱、多西他赛、紫杉醇中的至少一种。

在本公开的第七方面，提供了一种药物组合物，其包含根据本公开所述的肽或其衍生物、多核苷酸、表达载体、宿主细胞或药物-肽缀合物，以及其药学上可接受的载体或盐。

在本公开的第八方面，提供了本公开的肽或其衍生物用于增加药物水溶性的用途。在一个实施方式中，本公开的肽或其衍生物与药物直接(例如通过共价键)或者间接(例如通过连接子)缀合。在一些优选的实施方式中，药物选自化合物，例如细胞毒性剂，包括但不限于喜树碱、多西他赛、紫杉醇中的至少一种。

在本公开的第九方面，提供了增加药物水溶性的方法，包括将本公开的肽或其衍生物与药物直接(例如通过共价键)或者间接(例如通过连接子)缀合。在一些优选的实施方式中，药物选自化合物，例如细胞毒性剂，包括但不限于喜树碱、多西他赛、紫杉醇中的至少一种。

在本公开的第十方面，提供了根据本公开所述的肽或其衍生物、多核苷酸、表达载体、宿主细胞、药物-肽缀合物或药物组合物在制造用于检测、预防或治疗疾病的试剂或药物中的用途。

在本公开的第十一方面，提供了一种用于检测、预防或治疗疾病的方法，所述方法包括向有此需要的受试者施用检测、预防或治疗有效量的根据本公开所述的肽或其衍生物、多核苷酸、表达载体、宿主细胞、药物-肽缀合物或药物组合物。

附图说明

以下提供附图的简要说明，其用于说明本文所公开的示例性实施方式，而不是为了限制这些实施方式。

图1示出了多肽P1-AI的结构。

图2A示出了实施例1中合成的P1-AI、FITC-P1-AI、CM7-1、FITC-CM7-1、FITC-CM7-1.1、FITC-CM7-1.2的HPLC检测结果。

图2B示出了实施例1中合成的FITC-CM7-1.3、FITC-CM7-1.4、FITC-CM7-1.5、FITC-CM7-1.6、Cy5-P1-AI的HPLC检测结果。

图3示出了实施例1中合成的P1-AI、FITC-P1-AI、Cy5-P1-AI、CM7-1、FITC-CM7-1、FITC-CM7-1.1、FITC-CM7-1.2、FITC-CM7-1.3、FITC-CM7-1.4、FITC-CM7-1.5、FITC-CM7-1.6的质谱分析结果。

图4示出了实施例2中不同细胞中c-Met表达情况的流式细胞术检测结果，其中横轴代表荧光信号，纵轴为细胞数量。图中浅色峰代表c-Met，深色峰代表FITC-c-Met同型对照IgG。

图5示出了实施例3中本公开的肽与c-Met阳性细胞MKN-45的结合曲线，其中横轴代表 $\log(\text{多肽浓度})$ ，浓度单位为 μM ；纵轴代表结合率(%)。

图6示出了实施例3中本公开的肽与c-Met阳性细胞MKN-45的结合曲线，其中横轴代表荧光信号；纵轴代表细胞数量。图中最左侧的曲线代表没有加肽的空白对照组，中间的曲线为FITC-CM7-1，最右侧曲线为FITC-P1-A。

图7示出了实施例4中多肽CM7与多肽P1-AI分子对接示意图，它们的对接分数和疏水性平均值。

图8示出了实施例5中本公开的肽与几乎不表达c-Met的人肝星状细胞LX-2的结合曲线，其中横轴代表荧光信号；纵轴代表细胞数量。

图9示出了实施例6中本公开的肽的水溶性检测结果。

图10示出了实施例7中使用MST检测本公开的肽与c-Met蛋白的相互作用的结果，其中横轴代表c-Met蛋白的浓度，单位为 μM ；纵轴代表荧光强度。

图11示出了实施例8中Cy5-P1-AI在荷瘤小鼠中活体成像的结果。

图12示出了实施例9中本公开的肽P1-AI、P1-AI-1、P1-AI-2、P1-AI-3、P1-AI-4、P1-AI-6、P1-AI-7与c-Met阳性细胞MKN-45的结合情况，其中横轴代表荧光信号；纵轴代表细胞数量，深色为加入多肽后的荧光化学位移，浅色为未加肽的空白对照。

图13示出了实施例10中CPT、CPT-P1-AI、DOC、DOC-P1-AI、PTX、PTX-P1-AI系列标准溶液的浓度-峰面积标准曲线，其中横坐标代表浓度，纵坐标代表峰面积。

具体实施方式

除非另有说明,否则在本说明书和权利要求书中使用的表示含量、浓度、比例、重量、粒径、百分比、技术效果等的所有数字在任何情况下均应理解为由术语“约”或“大致”修饰。因此,除非有相反的指示,否则以下说明书和所附权利要求书中列出的数字参数是近似值。

除非另有说明,本文使用的术语对所属技术领域的技术人员具有通常的理解含义。对于本领域技术人员来说,其可以根据通过本申请寻求得到的期望性质和效果而变化,应根据有效数字位数和常规舍入方法或者本领域技术人员理解的方式来解释每个数值参数。一般而言,本文使用的命名和本文所描述的有机化学、药物化学、生物学的实验操作是本领域公知的,而且在本领域中普遍采用。除非另有定义,本文使用的所有技术和科学术语一般具有本申请所属领域的普通技术人员通常理解的含义。在本文使用的术语存在多个定义的情况下,除非另有说明,以本部分的定义为准。

在本文中使用时,表述“A和/或B”包括三种情况:(1)A;(2)B;以及(3)A和B。表述“A、B和/或C”包括七种情况:(1)A;(2)B;(3)C;(4)A和B;(5)A和C;(6)B和C;以及(7)A、B和C。类似表述的含义可以此类推。

在本文中使用时,术语“彼此独立地”表示多个事件之间彼此没有影响。例如,“X和Y彼此独立地选自a、b、c、d、e、f、g之任一”表示X可以是a、b、c、d、e、f、g之任一,Y也可以是a、b、c、d、e、f、g之任一,X的选择和Y的选择可以相同,也可以不同,二者互不干扰。

在本文中使用时,丙氨酸扫描(Cunningham和Wells,Science244,1081-1085,1989)用于鉴定对于本发明的肽的活性(例如与乙酰胆碱受体的结合亲和力和力)起关键作用的氨基酸,以便不对这些氨基酸进行取代。丙氨酸扫描将突变引入该分子的每一个残基,并检验所得到的分子的生物活性以确定对该分子的活性起关键作用的氨基酸残基。

如本文所用,术语“包括”,“包含”表示除了具有所列出的元素外,其他元素也不排除。

肽或其衍生物

本申请提供了一种包含下式I或式II的靶向c-Met的肽或其衍生物,

(R)-(X1)-(X2)-(X3)-(X4)-(X5)-(X6) 式I

(Y1)-(Y2)-(Y3)-(Y4)-(A)-(N)-(Y5) 式II

其中, X1-X6 彼此独立地代表任意一种氨基酸或其衍生物; Y1-Y5 彼此独立地代表任意一种氨基酸或其衍生物, 且式 II 不包括 CM7-1 的序列(D)-(Q)-(I)-(I)-(A)-(N)-(N); 且所述肽或其衍生物相对于 CM7-1 具有相似或者更好的与 c-Met 的结合亲和力。

在一些实施方式中, 所述式 I 中的 X1 代表 S、H 或 E。在一些实施方式中, 所述式 I 中的 X2 代表 P、I 或 D。在一些实施方式中, 所述式 I 中的 X3 代表任意一种氨基酸或其衍生物。在一些实施方式中, 所述式 I 中的 X4 代表 A、M 或 C。在一些实施方式中, 所述式 I 中的 X5 代表 N、C 或 P。在一些实施方式中, 所述式 I 中的 X6 代表任意一种氨基酸或其衍生物。

在一些实施方式中, 所述式 II 中的 Y1 代表任意一种氨基酸或其衍生物。在一些实施方式中, 所述式 II 中的 Y2 代表 Q 或 A。在一些实施方式中, 所述式 II 中的 Y3 代表 I 或 A。在一些实施方式中, 所述式 II 中的 Y4 代表 I 或 A。在一些实施方式中, 所述式 II 中的 Y5 代表 N 或 A。在一些实施方式中, 所述式 II 不包括(D)-(Q)-(I)-(I)-(A)-(N)-(N)。

在一些实施方式中, 所述靶向 c-Met 的肽或其衍生物包含选自以下的任意一个序列: SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:3-6, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:9-144, SEQ ID NO: 148-150。

在一些实施方式中, 所述靶向 c-Met 的肽或其衍生物包含选自以下的任意一个序列: SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:3-6, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:9-20, SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:35, SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:48, SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:66, SEQ ID NO:70, SEQ ID NO:72, SEQ ID NO:79-81, SEQ ID NO:83-85, SEQ ID NO:90, SEQ ID NO:96, SEQ ID NO:105, SEQ ID NO:111, SEQ ID NO:123, SEQ ID NO:125, SEQ ID NO:135, SEQ ID NO:144, SEQ ID NO: 148-150。

在一些实施方式中, 所述靶向 c-Met 的肽或其衍生物的序列包含 SEQ ID NO:1。在一些实施方式中, 所述靶向 c-Met 的肽或其衍生物的序列包含 SEQ ID NO: 10。在一些实施方式中, 所述靶向 c-Met 的肽或其衍生物的序列包含 SEQ ID NO: 90。在一些实施方式中, 所述靶向 c-Met 的肽或其衍生物的序列包含 SEQ ID NO: 144。

在一些实施方式中, 所述靶向 c-Met 的肽或其衍生物包含下式 I,

(R)-(X1)-(X2)-(X3)-(X4)-(X5)-(X6)

式 I

其中 X1 为 S, X2 为 P, X3-6 相互独立地代表任意一种氨基酸或其衍生物, 且所述肽或其衍生物相对于 P1-AI (SEQ ID NO:1, RSPYANS) 具有相似或者更好的与 c-Met 的结合亲和力。在一些实施方式中, 所述肽或其衍生物包含选自以下的任意一个序列: SEQ ID NO: 148-150。

在一些实施方式中, 所述衍生物与所述肽相比包含选自以下的任意一种或多种修饰: 氨基酸修饰、保守氨基酸取代、氨基酸残基中的氢被取代。

在本文中使用时, 术语“肽”是指氨基酸以肽键链接在一起而形成的化合物。由三个或者三个以上氨基酸分子组成的肽为多肽。在本文中使用时, 除非另有说明或与上下文相矛盾, 否则术语“肽”涵盖所提及的肽本身及其药学上可接受的盐、前体药和代谢物。本申请的肽以本领域常用技术手段生成, 包括但不限于固相合成法(如 Fmoc 肽合成法)和液相合成法。

在本文中使用时, 术语“前体药”指的是通过在生理条件下在活体内例如通过在酶、胃酸等作用下进行的氧化、还原、水解等反应而转化为本公开的肽或其衍生物的所有分子。

在本文中使用时, 术语“代谢物”指的是在细胞或有机体(优选人)中的源自本公开的肽或其衍生物的所有分子。

在本文中关于肽使用时, “氨基酸”与“氨基酸残基”具有相同含义, 指的是: 当氨基酸之间通过化学键而连接时, 其部分基团由于参与了连接键的形成而损失, 剩余的氨基酸部分即为氨基酸残基。

在本文中使用时, 除非另有指示或者相互矛盾, 否则“氨基酸”涵盖 L 型氨基酸和 D 型氨基酸。

在本文中使用时, “极性氨基酸”是指甘氨酸(G)、酪氨酸(Y)、丝氨酸(S)、半胱氨酸(C)、天冬酰胺(N)、谷氨酰胺(Q)、苏氨酸(T)、天冬氨酸(D)、谷氨酸(E)、赖氨酸(K)、精氨酸(R)和组氨酸(H)。

在本文中使用时, 肽的“衍生物”指的是: 在所提及肽的基础上进行氨基酸修饰、保守氨基酸取代和/或氨基酸残基中的氢被取代而得到的产物。

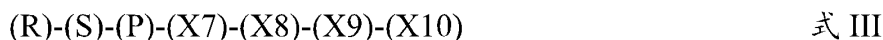
在本文中使用时, 术语“氨基酸修饰”的种类包括但不限于 N-末端修饰、C-末端修饰和侧链修饰。“氨基酸修饰”的方式包括但不限于羟基化、羧基化、

烷基化、酰化、磷酸化、磺酸化、酰胺化、醛基化、醇基化、巯基乙胺化、酯基化、糖基化等修饰。

在本文中使用时，术语“保守氨基酸取代”指的是将一种氨基酸用具有相似的结构和/或化学特性的另一种氨基酸取代，诸如用异亮氨酸或缬氨酸取代亮氨酸、用谷氨酸取代天冬氨酸、或用丝氨酸取代苏氨酸。因此，“保守氨基酸取代”意味着取代对于肽的活性不重要的氨基酸，或用将一种氨基酸用具有相似特性(例如，酸性、碱性、带正电或带负电、极性或非极性等)的其它氨基酸取代，使得即使取代重要氨基酸也不会降低所述肽的活性。提供功能相似的氨基酸的保守氨基酸取代是本领域众所周知的。例如，以下六组各自含有彼此是保守取代的氨基酸：1) 丙氨酸(A)、丝氨酸(S)、苏氨酸(T)；2) 天冬氨酸(D)、谷氨酸(E)；3) 天冬酰胺(N)、谷氨酰胺(Q)；4) 精氨酸(R)、赖氨酸(K)；5) 异亮氨酸(I)、亮氨酸(L)、甲硫氨酸(M)、缬氨酸(V)；和6) 苯丙氨酸(F)、酪氨酸(Y)、色氨酸(W)。

在本文中使用时，氨基酸残基中的氢被取代可以是氨基酸残基中的氢被本领域已知的任何常规取代基取代，包括但不限于氘代、烷基、烯基、炔基、芳香基、烷氧基、羧基、醛基、羰基、羟基、卤素、氰基、酰基、磺酸基、氨基、巯基或硝基等。

本申请提供了一种包含下式 III 的靶向 c-Met 的肽或其衍生物，



其中，X7-10 相互独立地代表任意一种氨基酸或其衍生物，且所述肽或其衍生物相对于 P1-AI 具有相似或者更好的与 c-Met 的结合亲和力。

在一些实施方式中，所述靶向 c-Met 的肽或其衍生物包含选自以下的任意一个序列：SEQ ID NO: 148-150。在一些实施方式中，所述靶向 c-Met 的肽或其衍生物包含 SEQ ID NO: 148。

在一些实施方式中，所述衍生物与所述肽相比包含选自以下的任何一种或多种修饰：氨基酸修饰、保守氨基酸取代、氨基酸残基中的氢被取代。

多核苷酸、表达载体、宿主细胞

本申请提供了一种分离的多核苷酸，该多核苷酸编码本申请所述的肽或其衍生物。

在本文中使用时,“多核苷酸”指任何长度的核苷酸(核苷酸或脱氧核苷酸)的多聚体。该名词指分子的初级结构。由此它既包括双链和单链的 RNA,又包括双链和单链的 DNA。它也包括如用甲基化作用和/或封端修饰的多核苷酸,以及未修饰形式的多肽核苷酸。本文所述的多核苷酸不一定是通过物理方法获得,也可以任何方式产生,包括诸如化学合成或者 DNA 复制,反转录或转录。

本申请提供了一种表达载体,该表达载体能够表达本申请所述的多核苷酸。

本申请提供了一种宿主细胞,该宿主细胞包含本申请所述的多核苷酸或本申请所述的表达载体。在一些实施方式中,宿主细胞选自大肠杆菌细胞、酿酒酵母细胞、枯草芽孢杆菌细胞、动物细胞,例如 CHO 细胞、HEK 细胞中的至少一种。

在本文中使用时,“宿主细胞”用作表达载体或其他转化遗传片段的受体的细胞。它们包括已被转染的原始细胞和其后代。宿主细胞包括原核、酵母或其他真核细胞。

药物-肽缀合物

本申请提供了药物-肽缀合物,其包含本公开的肽或其衍生物以及药物。在一些实施方式中,本公开的肽或其衍生物直接(例如通过共价键)或者间接(例如通过连接子)与药物缀合。在一些实施方式中,连接子选自可裂解连接子和不可裂解连接子中的至少一种。在一些实施方式中,连接子包含 $((G)_n(S))_m$, n 可为 1-8 的整数, m 可为 1-8 的整数。在一些实施方式中,连接子包含 1-8 个氨基酸,例如 Val-Cit、Glu-Val-Cit。在一些实施方式中,连接子包含 $CO(O)C(CH_2)_nC(O)OH$, n 可为 2-8 的整数。在一些实施方式中,连接子包含琥珀酸、富马酸、戊二酸、己二酸、庚二酸、辛二酸、中的至少一种。

在一些实施方式中,药物选自小分子药物、抗体、多肽、蛋白质、化学药物、化疗药物、荧光标记物、中的至少一种。在一些实施方式中,药物包括但不限于细胞毒性剂,细胞毒性剂可以是导致细胞死亡、或诱导细胞死亡、或以某种方式降低细胞活力的任何化合物。示例性的细胞毒性剂包括,例如,美登素和美登素类似物、紫杉烷,如紫杉醇和多西他赛、CC-1065 和 CC-1065

类似物，海兔毒素和海兔毒素类似物，甲氨基蝶呤，柔红霉素，阿霉素，长春新碱，长春碱，美伐兰，丝裂霉素 C，氯霉素，卡利奇霉素(calicheamicin)，微管霉素和微管霉素类似物，多红霉素和多红霉素类似物。在一些优选的实施方式中，药物选自细胞毒性剂，如喜树碱、多西他赛、紫杉醇中的至少一种。

药物组合物

本申请提供了一种药物组合物，其包含根据本公开所述的肽或其衍生物、药物-肽缀合物，以及其药学上可接受的载体或盐。本申请提供了一种药物组合物，其包含根据本公开所述的肽或其衍生物、多核苷酸、表达载体、宿主细胞或药物-肽缀合物，以及其药学上可接受的载体或盐。

如本文所用，术语“药物组合物”是指本公开的肽与其它化学组分例如载体、稳定剂、稀释剂、分散剂、悬浮剂、增稠剂和/或赋形剂的混合物。药物组合物有助于将该肽施用至生物体。本领域中存在施用肽的多种技术，包括但不限于：皮下注射、肌肉注射、静脉注射、腹腔注射、鞘内注射、口服、经皮、经肺、眼部和局部施用。

在本申请中，所述药物组合物可以配置为适用于通过所需要的给药途径施用至受试者的剂型。所述剂型包括但不限于片剂、胶囊、囊片、药丸、锭剂、粉末、糖浆、酏剂、混悬液、溶液、乳剂、透皮贴片、栓剂、吸入剂、霜剂、膏剂、洗液、糊剂、喷雾剂、冻干、注射剂和凝胶等。

在本文中使用时，术语“药学上可接受的盐”包括酸加成盐和碱加成盐。适当的酸加成盐是由形成无毒性盐的酸所形成的。其实例包括但不限于：乙酸盐、己二酸盐、天冬氨酸盐、苯甲酸盐、苯磺酸盐、碳酸氢盐/碳酸盐、硫酸氢盐/硫酸盐、硼酸盐、樟脑磺酸盐、柠檬酸盐、环己胺磺酸盐、乙二磺酸盐、甲酸盐、反丁烯二酸盐、葡萄糖庚糖酸盐、葡萄糖酸盐、葡萄糖醛酸盐、六氟磷酸盐、2-(4-羟苄基)苯甲酸盐、氯化物/氯化物、氢溴化物/溴化物、氢碘化物/碘化物、2-羟乙磺酸盐、乳酸盐、苹果酸盐、顺丁烯二酸盐、丙二酸盐、甲磺酸盐、甲基硫酸盐、茶酸盐、2-茶磺酸盐、烟碱酸盐、硝酸盐、乳清酸盐、草酸盐、十六酸盐、磷酸盐/磷酸氢盐/磷酸二氢盐、焦谷氨酸盐、葡萄糖二酸盐、硬脂酸盐、水杨酸盐、单宁酸盐、酒石酸盐、甲苯磺酸盐和三氟乙酸盐。适当的碱加成盐是由形成无毒性盐的碱所形成的。其实例包括

但不限于：铝、精氨酸、钙、胆碱、二乙胺、二乙醇胺、甘氨酸、赖氨酸、镁、葡甲胺、乙醇胺、钾、钠、氨丁三醇和锌盐。还可形成酸和碱的半盐，例如半硫酸盐和半钙盐。关于合适的盐的综述，参见 Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use by Stahl and Wermuth (Wiley-VCH, 2002)。

术语“药学上可接受的载体”包括药学上可接受的材料、组合物或载体，例如液体或固体填充剂、稀释剂、赋形剂、溶剂或封装材料，其涉及在受试者内携带或输送本公开的肽或携带或输送本公开的肽至受试者，使得其可以执行其预期功能。每种盐或载体在与制剂的其它成分相容的意义上必须是“可接受的”，并且不对受试者有害。可以用作药学上可接受的载体的材料的一些实例包括：糖，例如乳糖、葡萄糖和蔗糖；淀粉，例如玉米淀粉和马铃薯淀粉；纤维素及其衍生物，例如羧甲基纤维素钠、乙基纤维素和乙酸纤维素；粉末黄蓍胶；麦芽；明胶；滑石；赋形剂，例如可可脂和栓剂蜡类；油，例如花生油、棉籽油、红花油、芝麻油、橄榄油、玉米油和大豆油；二醇类，例如丙二醇；多元醇，例如甘油、山梨醇、甘露醇和聚乙二醇；酯类，例如油酸乙酯和月桂酸乙酯；琼脂；缓冲剂，例如氢氧化镁和氢氧化铝；藻酸；无热原水；等渗盐水；林格氏溶液；乙醇；磷酸盐缓冲溶液；稀释剂；造粒剂；润滑剂；粘合剂；崩解剂；润湿剂；乳化剂；着色剂；脱模剂；涂层剂；甜味剂；调味剂；加香剂；防腐剂；抗氧化剂；增塑剂；胶凝剂；增稠剂；硬化剂；定型剂；悬浮剂；表面活性剂；保湿剂；载体；稳定剂；和在药物制剂中使用的其它无毒的相容性物质，或其任何组合。

用途、方法

本申请提供了本公开的肽或其衍生物用于增加药物水溶性的用途。在一个实施方式中，本公开的肽或其衍生物与药物直接(例如通过共价键)或者间接(例如通过连接子)缀合。

本申请提供了增加药物水溶性的方法，包括将本公开的肽或其衍生物与药物直接(例如通过共价键)或者间接(例如通过连接子)缀合。

在一些实施方式中，连接子选自可裂解连接子和不可裂解连接子中的至少一种。在一些实施方式中，连接子包含 $((G)_n(S))_m$ ， n 可为1-8的整数， m 可为1-8的整数。在一些实施方式中，连接子包含1-8个氨基酸，例如 Val-

Cit、Glu-Val-Cit。在一些实施方式中，连接子包含 $\text{CO}(\text{O})\text{C}(\text{CH}_2)_n\text{C}(\text{O})\text{OH}$ ， n 可为 2-8 的整数。在一些实施方式中，连接子包含琥珀酸、富马酸、戊二酸、己二酸、庚二酸、辛二酸、中的至少一种。

在一些实施方式中，药物选自小分子药物、抗体、多肽、蛋白质、化学药物、化疗药物、荧光标记物、中的至少一种。在一些实施方式中，药物包括但不限于细胞毒性剂，细胞毒性剂可以是导致细胞死亡、或诱导细胞死亡、或以某种方式降低细胞活力的任何化合物。示例性的细胞毒性剂包括，例如，美登素和美登素类似物、紫杉烷，如紫杉醇和多西他赛、CC-1065 和 CC-1065 类似物，海兔毒素和海兔毒素类似物，甲氨蝶呤，柔红霉素，阿霉素，长春新碱，长春碱，美伐兰，丝裂霉素 C，氯霉素，卡利奇霉素(calicheamicin)，微管霉素和微管霉素类似物，多红霉素和多红霉素类似物。在一些优选的实施方式中，药物选自细胞毒性剂，如喜树碱、多西他赛、紫杉醇中的至少一种。本申请提供了本公开的肽或其衍生物、药物-肽缀合物或药物组合物在制造用于检测、预防或治疗疾病的试剂或药物中的用途。本申请提供了本公开的肽或其衍生物、多核苷酸、表达载体、宿主细胞、药物-肽缀合物或药物组合物在制造用于检测、预防或治疗疾病的试剂或药物中的用途。

在一些实施方式中，所述疾病包括癌症。在一些实施方式中，所述疾病包括实体瘤和/或血液瘤。在一些优选的实施方式中，所述疾病包括甲状腺癌、食管癌、肺癌、胃癌、肝癌(例如高转移肝癌)、胆管癌、肾癌(如肾细胞腺癌、人肾透明细胞腺癌)、胰腺癌、肠癌、结直肠癌、膀胱癌、前列腺癌、乳腺癌、子宫癌、子宫内膜癌、卵巢癌、宫颈癌、输卵管癌、皮肤癌、脑瘤、脑胶质瘤、黑色素瘤、骨肉瘤、肉瘤、淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、多发性骨髓瘤、或白血病中的一种或多种。在一些实施方式中，所述肿瘤包括非小细胞肺癌、肺巨细胞癌、胃癌、肝癌、卵巢癌、食管癌、结肠癌、乳腺癌、胆管癌、骨肉瘤、宫颈癌、黑色素瘤、膀胱移行细胞癌、胰腺癌、星形胶质母细胞瘤、慢性髓原白血病细胞或淋巴瘤中的一种或多种。

在本文中使用时，术语“疾病”是指机体或一些器官的状态的任何改变，其中断或干扰功能的执行和/或引起患病的人或与其接触的人的症状(如不适、功能障碍、不良应激乃至死亡)。

在本文中使用时，术语“治疗”是指缓解或改善疾病或障碍(即，减慢或阻止疾病或至少一种临床症状的发展)；或缓解或改善与该疾病或障碍相关的至少一种物理参数或生物标记。

本申请提供了用于检测、预防或治疗疾病的方法，所述方法包括向有此需要的受试者施用检测、预防或治疗有效量的本公开的肽或其衍生物、药物-肽缀合物或药物组合物。本申请还提供了用于检测、预防或治疗疾病的方法，所述方法包括向有此需要的受试者施用检测、预防或治疗有效量的本公开的肽或其衍生物、多核苷酸、表达载体、宿主细胞、药物-肽缀合物或药物组合物。

在一些实施方式中，所述疾病包括癌症。在一些实施方式中，所述疾病包括实体瘤和/或血液瘤。在一些优选的实施方式中，所述疾病包括甲状腺癌、食管癌、肺癌、胃癌、肝癌(例如高转移肝癌)、胆管癌、肾癌(如肾细胞腺癌、人肾透明细胞腺癌)、胰腺癌、肠癌、结直肠癌、膀胱癌、前列腺癌、乳腺癌、子宫癌、子宫内膜癌、卵巢癌、宫颈癌、输卵管癌、皮肤癌、脑瘤、脑胶质瘤、黑色素瘤、骨肉瘤、肉瘤、淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、多发性骨髓瘤、或白血病中的一种或多种。在一些实施方式中，所述肿瘤包括非小细胞肺癌、肺巨细胞癌、胃癌、肝癌、卵巢癌、食管癌、结肠癌、乳腺癌、胆管癌、骨肉瘤、宫颈癌、黑色素瘤、膀胱移行细胞癌、胰腺癌、星形胶质母细胞瘤、急性淋巴细胞白血病、慢性淋巴细胞白血病、急性髓细胞性白血病、慢性髓细胞白血病或淋巴瘤中的一种或多种。

在本文中使用时，术语“受试者”包括动物，如脊椎动物，优选哺乳动物，如狗、猫、猪、牛、羊、马、啮齿动物(例如小鼠、大鼠或豚鼠)或灵长类动物(例如大猩猩、黑猩猩和人)。

在本文中使用时，术语“检测、预防或治疗有效剂量”是指相比于未接受该量的相应受试者，导致从中获益检测、预防或治疗疾病的量，但该量在合理医学判断的范围内足够低以避免严重副作用。本文所述的肽或其衍生物、多核苷酸、表达载体、宿主细胞、药物-肽缀合物或药物组合物的检测、预防或治疗有效剂量将随着选择的肽或其衍生物、多核苷酸、表达载体、宿主细胞、药物-肽缀合物或药物组合物；给药途径；疾病的严重性；患者的年龄、体型、体重和身体状况；患者的医疗史；治疗持续时间；并行治疗的性质；

所需检测、预防或治疗效果等因素而改变，但仍可通过本领域技术人员以常规方式确定。

上文针对本公开的肽或其衍生物、多核苷酸、表达载体和宿主细胞所述的各种实施方式也适用于本公开的药物-肽缀合物、药物组合物、用途和方法(只要它们彼此之间不是内在矛盾的)，由此组合而形成的各种实施方式都视为本公开的一部分。

实施例

以下结合附图对本申请的示范性实施例做出说明，其中包括本申请实施例的各种细节以助于理解。应该理解的是，它们认为仅仅是示范性的，绝不在限制本申请的保护范围。本申请的保护范围仅通过权利要求来限定。因此，本领域普通技术人员应当认识到，可以对这里描述的实施例做出各种改变和修改，而不会背离本申请的范围。同样，为了清楚和简明，以下的描述中省略了对公知功能和结构的描述。

除非另有说明，否则以下实施例中所采用的试剂和仪器均为可以通过市购获得的常规产品。除非另有说明，否则按照常规条件或制造商建议的条件进行实验。

实施例 1：肽的制备

1. P1-AI 肽的制备

称取 1g 的 Wang 树脂(CAS: 1365700-43-1)，取代度为 1.1mmol/g，加入至多肽固相反应器(玻璃仪器，上好积坤化工科技有限公司)中，加入 DCM(安耐吉)并使用氮气持续鼓泡溶胀 10-20 min，抽干，精确称量 0.345g 的 Fmoc-S(tBu)-OH(四川郑源生物科技有限公司)、130mg 的 DMAP、0.405g 的 HOBT，使用 5-10 ml 的 DMF 作溶剂并加入 2 ml 的 DIC(以上除另有说明，均购自安耐吉)，在室温条件下，使用氮气鼓吹反应 4-8 h，抽干，DMF 清洗两遍；

使用乙酸酐封头，具体的说，使用 5ml 的 DCM 为溶剂，并在反应体系中另外加入 2ml 的 DIPEA 和 2ml 的乙酸酐(以上均购自安耐吉)，在室温条件下，使用氮气鼓吹反应 20-30min；待反应结束后，使用 DMF 清洗 4 遍；

使用商购获得的 20%的派啉/DMF 溶液(100ml/400ml)脱 Fmoc 两次，在室温条件下，使用氮气鼓吹分别反应 10min 和 5min，反应结束后用 DMF 清

洗 5 次, 使用商购获得的茚三酮: 苯酚: 派啉(2:1:1)检测 30-60s, 树脂变为深蓝色, 则证明成功脱掉了 Fmoc;

称取 1.612g 的 Fmoc-N(trt)-OH(四川郑源生物科技有限公司)、1.023g 的商购 HBTU, 加入多肽固相反应器中, 使用 5ml 的 DMF 作溶剂, 并加入 1ml 的 DIPEA, 在室温条件下, 使用氮气鼓吹反应 40-60min 后, 抽干, DMF 清洗 4 次, 使用茚三酮: 苯酚: 派啉(2:1:1)检测 2-3min, 树脂为无色, 则证明偶联成功;

使用 20%的派啉/DMF 溶液(100ml/400ml)脱 Fmoc 两次, 在室温条件下, 使用氮气鼓吹分别反应 10min 和 5min, 反应结束后用 DMF 清洗 5 次, 使用茚三酮: 苯酚: 派啉(2:1:1)检测 30-60s, 树脂变为深蓝色, 则证明成功脱掉了 Fmoc;

重复上述操作, 按照在肽序列中依次加入每个氨基酸。按照肽顺序依次偶联 Fmoc-A-OH、Fmoc-Y(tBu)-OH、Fmoc-P-OH、Fmoc-S(tBu)-OH 和 Fmoc-R(pbf)-OH(以上均购自四川郑源生物科技有限公司), 然后用 20%的派啉/DMF 溶液(100ml/400ml)脱除 Fmoc 保护基团。将该溶液用 DMF 洗涤 6 次, 用甲醇收缩两次, 抽干, 获得 P1-AI 保护肽树脂。

使用 15.2 ml 的商购 TFA、0.8ml 的 H₂O 和 0.8ml 的商购 Tis 作为裂解液, 将 P1-AI 保护肽树脂与裂解液共同放置离心管中, 反应 1.5-2h 后, 使用冰乙醚进行沉降、离心三次, 得到白色固体, 使用真空干燥箱进行干燥, 得到粗品, 粗品的纯度为 90%, 利用 HPLC 纯化并冻干得到白色粉末肽 P1-AI (SEQ ID NO:1), 其结构如图 1 所示。

2. FITC-P1-AI 肽的制备

称取 Wang 树脂 0.1g, 取代度为 1.1mmol/g, 加入至肽固相反应器中, 加入 5ml 的 DCM 氮气鼓泡溶胀 10min, 抽干, 精确称量 0.0348g Fmoc-S(tBu)-OH, 13mg 的 DMAP, 0.0408g 的 HOBT, 使用 DMF 作溶剂并加入 0.2ml 的 DIC, 在室温条件下, 使用氮气鼓吹反应 4-8 h, 抽干, DMF 清洗两遍;

使用乙酸酐封头, 具体的说, 使用 5ml 的 DCM 为溶剂, 加入 0.2ml 的 DIPEA 和 0.2ml 的乙酸酐, 在室温条件下, 使用氮气鼓吹反应 20-30min; 待反应结束后, 使用 DMF 清洗 4 遍;

使用 20%的派啉/DMF 溶液脱 Fmoc 两次，在室温条件下，使用氮气鼓吹分别反应 10min 和 5min，反应结束后用 DMF 清洗 5 次，使用茚三酮：苯酚：派啉(2:1:1)检测 30-60s，树脂变为深蓝色，则证明成功脱掉了 Fmoc；

称取 0.1161g 的 Fmoc-N(trt)-OH，0.1023g 的 HBTU，加入反应器中，使用 DMF 作溶剂，并加入 0.1ml 的 DIPEA，在室温条件下，使用氮气鼓吹反应 60min 后，抽干，DMF 清洗 4 次，使用茚三酮：苯酚：派啉(2:1:1)检测 2-3min，树脂为无色，则证明偶联成功；

使用 20%的派啉/DMF 溶液脱 Fmoc 两次，在室温条件下，使用氮气鼓吹分别反应 10min 和 5min，反应结束后用 DMF 清洗 5 次，使用茚三酮：苯酚：派啉(2:1:1)检测 30-60s，树脂变为深蓝色，则证明成功脱掉了 Fmoc；

重复上述操作，按照在肽序列中依次加入每个氨基酸。按照肽顺序依次偶联 Fmoc-A-OH、Fmoc-Y(tBu)-OH、Fmoc-P-OH、Fmoc-S(tBu)-OH 和 Fmoc-R(pbf)-OH 然后用 20%的派啉/DMF 溶液脱除 Fmoc 保护基团。

称取 0.381g 的 Fmoc-Acp-OH，0.1023g 的 HBTU，加入反应器中，使用 DMF 作溶剂，并加入 0.1ml 的 DIPEA，在室温条件下，使用氮气鼓吹反应 3h 后，抽干，DMF 清洗 4 次，使用茚三酮：苯酚：派啉(2:1:1)检测 2-3min，树脂为无色，则证明偶联成功；

使用 20%的派啉/DMF 溶液脱 Fmoc 两次，分别反应 10min 和 5min，反应结束后用 DMF 清洗 5 次，使用茚三酮：苯酚：派啉(2:1:1)检测 30-60s，树脂变为深蓝色，则证明成功脱掉了 Fmoc；

称取 0.14g FITC 加入至反应器中，使用 DMF 做溶剂，并加入 1ml 的三乙胺，避光反应 4h 后，将该溶液用 DMF 洗涤 6 次，用甲醇收缩两次，抽干，获得 FITC-P1-AI 保护肽树脂。

使用 7.6ml 的 TFA，0.4ml 的 H₂O 和 0.4ml 的 Tis 作为裂解液，将 FITC-P1-AI 保护肽树脂与裂解液共同放置离心管中，反应 1.5-2h 后，使用冰乙醚进行沉降、离心三次，得到黄色固体，使用真空干燥箱进行干燥，得到粗品，粗品的纯度为 90%，利用 HPLC 纯化并冻干得到黄色粉末中的肽 FITC-P1-AI。

3. Cy5-P1-AI 肽的制备

称取 Wang 树脂 0.1g, 取代度为 1.1mmol/g, 加入至肽固相反应器中, 加入 5ml 的 DCM 氮气鼓泡溶胀 10min, 抽干, 精确称量 0.0348g Fmoc-S(tBu)-OH, 13mg 的 DMAP, 0.0408g 的 HOBt, 使用 DMF 作溶剂并加入 0.2ml 的 DIC, 在室温条件下, 使用氮气鼓吹反应 4-8h, 抽干, DMF 清洗两遍;

使用乙酸酐封头, 具体的说, 使用 DCM 为溶剂, 加入 0.2ml 的 DIPEA 和 0.2ml 的乙酸酐, 在室温条件下, 使用氮气鼓吹反应 20-30min; 待反应结束后, 使用 DMF 清洗 4 遍;

使用 20%的派啉/DMF 溶液脱 Fmoc 两次, 在室温条件下, 使用氮气鼓吹分别反应 10min 和 5min, 反应结束后用 DMF 清洗 5 次, 使用茚三酮: 苯酚: 派啉(2:1:1)检测 30-60s, 树脂变为深蓝色, 则证明成功脱掉了 Fmoc;

称取 0.1161g 的 Fmoc-N(trt)-OH, 0.1023g 的 HBTU, 加入反应器中, 使用 DMF 作溶剂, 并加入 0.1ml 的 DIPEA, 在室温条件下, 使用氮气鼓吹反应 60min 后, 抽干, DMF 清洗 4 次, 使用茚三酮: 苯酚: 派啉(2:1:1)检测 2-3min, 树脂为无色, 则证明偶联成功;

使用 20%的派啉/DMF 溶液脱 Fmoc 两次, 在室温条件下, 使用氮气鼓吹分别反应 10min 和 5min, 反应结束后用 DMF 清洗 5 次, 使用茚三酮: 苯酚: 派啉(2:1:1)检测 20-30s, 树脂变为深蓝色, 则证明成功脱掉了 Fmoc;

重复上述操作, 按照在肽序列中依次加入每个氨基酸。按照肽顺序依次偶联 Fmoc-A-OH、Fmoc-Y(tBu)-OH、Fmoc-P-OH、Fmoc-S(tBu)-OH 和 Fmoc-R(pbf)-OH 然后用 20%的派啉/DMF 溶液脱除 Fmoc 保护基团。将该溶液用 DMF 洗涤 6 次, 用甲醇收缩两次, 抽干, 获得 P1-AI 保护肽树脂。

称取 100mg 磺酸基-Cy5 羧酸与过量的 P1-AI 保护肽树脂, 0.1023g 的 HBTU, 加入反应器中, 使用 DMF 作溶剂, 并加入 0.1ml 的 DIPEA 使用 DMF 做溶剂, 避光反应 2h 后, 将该溶液用 DMF 洗涤 6 次, 用甲醇收缩两次, 抽干, 获得 Cy5-P1-AI 保护肽树脂。

使用 7.6ml 的 TFA, 0.4ml 的 H₂O 和 0.4ml 的 Tis 作为裂解液, 将 Cy5-P1 保护肽树脂与裂解液共同放置离心管中, 反应 1.5-2h 后, 使用冰乙醚进行沉降、离心三次, 得到蓝色固体, 使用真空干燥箱进行干燥, 得到粗品, 粗品的纯度为 90%, 利用 HPLC 纯化并冻干得到蓝色粉末中的肽 Cy5-P1-AI。

4. 其它肽的制备

使用上述固相合成的方法得到了肽 P1-AI (RSPYANS, 分子量 793.82)、FITC-P1-AI (FITC-RSPYANS, 分子量 1296.36)、Cy5-P1-AI (Cy5-RSPYANS, 分子量 1432.63)、CM7-1 (DQIIANN, 分子量 786.83, 其对应 CN 112979753 B 中所设计的最优多肽)、FITC-CM7-1 (FITC-DQIIANN, 分子量 1289.36)、FITC-CM7-1.1 (FITC-AQIIANN, 分子量 1245.35)、FITC-CM7-1.2 (FITC-DAIIANN, 分子量 1232.31)、FITC-CM7-1.3 (FITC-DQAIANN, 分子量 1247.28)、FITC-CM7-1.4 (FITC-DQIAANN, 分子量 1247.28)、FITC-CM7-1.5 (FITC-DQIIAAN, 分子量 1246.34)、FITC-CM7-1.6 (FITC-DQIIANA, 分子量 1246.34)。此处涉及的肽及其序列展示于表 1 中。HPLC 检测结果如图 2A 和图 2B 所示, 质谱分析结果如图 3 所示。

表 1. 实施例 1 中的肽和其序列

SEQ ID NO	名称	氨基酸序列
1	P1-AI	RSPYANS
2	CM7-1	DQIIANN
3	CM7-1.1	AQIIANN
4	CM7-1.2	DAIIANN
5	CM7-1.3	DQAIANN
6	CM7-1.4	DQIAANN
7	CM7-1.5	DQIIAAN
8	CM7-1.6	DQIIANA

实施例 2: 流式细胞术检测不同细胞 c-Met 的表达情况

复苏、培养人胃癌细胞 MKN-45(北京北纳创联生物技术研究院)、人高转移肝癌细胞 HCCLM3、人结肠癌细胞 HT29(北京北纳创联生物技术研究院)、肾细胞腺癌细胞 ACHN、人肾透明细胞腺癌细胞 786-O、人肝星状细胞 LX-2(以上细胞除另有说明, 均购自南京赛泓瑞生物科技有限公司), 并进行传代三次以上备用; 细胞培养三代后, 在适宜的密度条件下, 用 4°C 预冷的商购 PBS 洗涤数次, 去除状态不好的细胞及漂浮物, 然后用胰蛋白酶溶液进行消化; 待细胞变圆后, 加入等体积 1640 或 DMEM 培养基终止消化, 1000rpm 离心 5min; 弃去上清, 在 4°C 的条件下用 2% 的商购 BSA 封闭液进行封闭 1h; 分别取 100μl 上述浓度的细胞于 1.5ml 的离心管中, 然后在 4°C 条件下加入抗人 FITC-c-Met 抗体(购买自 eBioscience)和 FITC-c-Met 同型对照 IgG(购买自 eBioscience), 避光孵育 30min; 上述细胞在 4°C、2000 rpm 条件下离心 5min, PBS 洗涤 3 次, 然后使用流式细胞仪(CytoFLEX)上机检测,

结果如图 4 所示。图 4 示出了不同细胞中 c-Met 表达情况的流式细胞术检测结果，其中横轴代表荧光信号，纵轴为细胞数量。

结果显示：HCCLM3、HT29、MKN-45、ACHN、786-O 显著高表达 c-Met 蛋白，而人肝星状细胞 LX-2 几乎不表达 c-Met 蛋白。

实施例 3：肽与 c-Met 阳性细胞 MKN45 的亲合力检测

将含有 1640 培养液(南京森贝伽生物科技有限公司)的 MKN-45 细胞收集，并用预冷的 PBS 洗涤两次。加入 1mL 1%的 BSA 溶液，固定于旋转混合仪(力辰科技有限公司)上，4℃混合 30min。避光条件下分别加入不同浓度的 FITC-P1-AI、FITC-CM7-1、FITC-CM7-1.1、FITC-CM7-1.2、FITC-CM7-1.3、FITC-CM7-1.4、FITC-CM7-1.5、FITC-CM7-1.6 肽溶液以得到多个组，将其固定于旋转混合仪上，避光 4℃混合 1h。孵育完成后，800rpm、5min 离心后弃上清。用预冷的 PBS 洗涤两次，PBS 调节细胞浓度至 1×10^6 个细胞/mL。每组细胞做 3 个平行复孔，每个样品准备 0.5mL；使用流式细胞仪检测肽与 c-Met 阳性细胞 MKN-45 的结合，并作出 EC50 数据和结合曲线，结果如表 2 和图 5 所示。图 5 示出了本公开的肽与 c-Met 阳性细胞 MKN-45 的结合曲线，其中横轴代表 $\log(\text{多肽浓度})$ ，浓单位为 μM ；纵轴代表结合率(%)。

表 2. 肽与 MKN-45 的结合亲和力

名称	EC50(μM)
FITC-CM7-1	9.505
FITC-CM7-1.1	2.073
FITC-CM7-1.2	1.884
FITC-CM7-1.3	0.0456
FITC-CM7-1.4	5.367
FITC-CM7-1.5	15.22
FITC-CM7-1.6	5.053

结果显示：CM7-1.1、CM 7-1.2 和 CM 7-1.3、CM7-1.4 和 CM7-1.6 的 EC50 低于 CM 7-1 (CN 112979753 B 中所设计的最优多肽)的 EC50，从而指示 CM7-1.1、CM 7-1.2、CM 7-1.3、CM7-1.4 和 CM7-1.6 相对于 CM7-1 具有提高的对 c-Met 阳性细胞 MKN45 的亲合力。特别地，CM7-1.2 和 CM7-1.3 的 EC50 显著低于 CM 7-1 的 EC50，从而指示 CM7-1.2 和 CM7-1.3 相对于 CM7-1 具有显著提高的对 c-Met 阳性细胞 MKN45 的亲合力。此外，CM7-1.2 和 CM7-1.3 与 c-Met 阳性细胞 MKN45 的结合呈现剂量依赖性。

收集含有 1640 培养液的 MKN-45 细胞，并用预冷的 PBS 洗涤两次。加入 1mL 1%的 BSA 溶液，固定于旋转混合仪上，4℃混合 30-60 min。避光条

件下分别加入 10μM 的 FITC-P1-AI 肽溶液和 FITC-CM7-1 形成两个组，固定于旋转混合仪上，避光 4℃混合 1h。孵育完成后，800rpm、5min 离心后弃上清。用预冷的 PBS 洗涤 1-2 次，PBS 调节细胞浓度至 1×10⁶ 个细胞/mL。每组细胞做 3 个平行复孔，每个样品准备 0.5mL；使用流式细胞仪检测肽与 c-Met 阳性细胞的结合，结果如图 6 所示。图 6 示出了本公开的肽与 c-Met 阳性细胞 MKN-45 的结合曲线，其中横轴代表荧光信号；纵轴代表细胞数量。

结果显示：P1-AI 和 CM7-1 与 c-Met 阳性细胞 MKN45 结合。进一步，与 CM7-1 相比，P1-AI 肽与 c-Met 阳性细胞 MKN45 的亲和力显著提高。

实施例 4：分子对接

使用计算机和丙氨酸扫描对 CM7-1 肽序列各个位置的氨基酸进行了替换与对接，并且得到了替换后的如表 3 所示的氨基酸序列，这些肽序列与 c-met 的对接分数也呈现在表 3 中。

表 3. 分子对接分析

SEQ ID NO.	序列	对接分数	SEQ ID NO.	序列	对接分数
9	HQIIANN	-9.3	78	RSPNANN	-6.7
10	RQIIANN	-10	79	RSPSANN	-8.7
11	FQIIANN	-9.9	80	RSPYANN	-9.9
12	AQIIANN	-9.8	81	RSPTANN	-8.7
13	CQIIANN	-9.4	82	RSPWANN	-7.5
14	GQIIANN	-9.8	83	RSPPANN	-8.5
15	QQIIANN	-8.9	84	RSPVANN	-9.7
16	EQIIANN	-8.8	85	RSPYANN	-9.9
17	KQIIANN	-9.6	86	RSPYHNN	-8.3
18	LQIIANN	-8.7	87	RSPYDNN	-0.3
19	MQIIANN	-8.6	88	RSPYRNN	-1.5
20	NQIIANN	-9.2	89	RSPYFNN	-7.3
21	SQIIANN	-8	90	RSPYCNN	-10.3
22	YQIIANN	-8.5	91	RSPYGNN	-6.4
23	TQIIANN	-7.6	92	RSPYQNN	-6.2
24	IQIIANN	-7.4	93	RSPYENN	-6.7
25	WQIIANN	-8.2	94	RSPYKNN	-5.4
26	PQIIANN	-8.1	95	RSPYLNN	-7.6
27	VQIIANN	-7	96	RSPYMNN	-9
28	RHIIANN	-9.5	97	RSPYNNN	-4.2
29	RDIIANN	-4.2	98	RSPYSNN	-6.8
30	RRIIANN	-5.1	99	RSPYYNN	4.9
31	RFIANN	-4.6	100	RSPYTNN	-7.6
32	RAIIANN	-6.4	101	RSPYINN	-1.4
33	RCIIANN	-6.3	102	RSPYWNN	-4.1
34	RGIANN	-6.9	103	RSPYPNN	-7.7
35	REIIANN	-9.2	104	RSPYVNN	-8
36	RKIIANN	-4.4	105	RSPYANN	-9.9
37	RLIIANN	-8	106	RSPYAHN	-6.5
38	RMIIANN	-6.4	107	RSPYADN	-7.3

39	RNIIANN	-7	108	RSPYARN	-7.1
40	RSIIANN	-9.6	109	RSPYAFN	-7.2
41	RYIIANN	-6.4	110	RSPYAAN	-4.7
42	RTIIANN	-3.2	111	RSPYACN	-9.7
43	RIIIANN	-4.9	112	RSPYAGN	-6.5
44	RWIIANN	-4.2	113	RSPYAQN	-6.6
45	RPIIANN	-7.8	114	RSPYAEN	-6.4
46	RVIIANN	-8.1	115	RSPYAKN	-5.8
47	RSHIANN	-4.6	116	RSPYALN	0.5
48	RSDIANN	-8.3	117	RSPYAMN	-8.2
49	RSRIANN	-5.9	118	RSPYASN	-7.3
50	RSFIANN	-6.5	119	RSPYAYN	-6.5
51	RSAlIANN	-7.6	120	RSPYATN	-8.3
52	RSCIANN	-8	121	RSPYAIN	-6.4
53	RSGIANN	-6.4	122	RSPYAWN	-4.8
54	RSQIANN	-7.8	123	RSPYAPN	-9.5
55	RSEIANN	-4.2	124	RSPYAVN	-6.7
56	RSKIANN	-7.4	125	RSPYANN	-9.2
57	RSLIANN	-5.5	126	RSPYANH	-7.1
58	RSMIANN	-7.4	127	RSPYAND	-8.3
59	RSNIANN	-7.7	128	RSPYANR	-1.7
60	RSSIANN	-6.9	129	RSPYANF	-6.2
61	RSYIANN	-5.4	130	RSPYANA	-8.1
62	RSTIANN	-7.8	131	RSPYANC	-6.7
63	RSWIANN	-4.1	132	RSPYANG	-5.5
64	RSPiANN	-9.7	133	RSPYANQ	-5.5
65	RSVIANN	-7.6	134	RSPYANE	-8.1
66	RSPHANN	-9.2	135	RSPYANK	-8.6
67	RSPDANN	-7.6	136	RSPYANL	-5.3
68	RSPRANN	-7.3	137	RSPYANM	-6.1
69	RSPFANN	-3.1	1 (P1-AI)	RSPYANS	-10.2
70	RSPAANN	-8.5	138	RSPYANY	-6.9
71	RSPCANN	-8.2	139	RSPYANT	-5.5
72	RSPGANN	-9.3	140	RSPYANI	-7.8
73	RSPQANN	-7.8	141	RSPYANW	-5.6
74	RSPEANN	-6.3	142	RSPYANP	-4.7
75	RSPKANN	-7.3	143	RSPYANV	-5.9
76	RSPLANN	-6.9	2 (CM7-1)	DQIIANN	-8.6
77	RSPMANN	-2.1	144 (P1-AC)	RSPYCNS	-10.47

其中，多肽 P1-AI: Arg-Ser-Pro-Tyr-Ala-Asn-Ser 和 CM7-1: Asp-Gln-Ile-Ile-Ala-Asn-Asn 分别与 c-Met 蛋白进行分子对接。如图 7 所示，P1-AI 的对接分数(Docking Score)为-10.162，疏水性平均值(GRAVY，负值代表亲水性，GRAVY 值越小亲水力越强)为-0.46；CM7-1 的对接分数为-3.724，GRAVY 为-1.53。因此，结果表明，P1-AI 的 对接分数远远优于 CM7-1，并且理论水溶性也要好于 CM7-1。

实施例 5：肽与 c-Met 蛋白特异性结合检测

收集含有 1640 培养液的人肝星状细胞 LX-2，并用预冷的 PBS 洗涤两次。加入 1mL 含有 1%的 BSA 溶液，固定于旋转混合仪上，4℃混合 30min。

避光条件下分别加入 10 μ M 的 FITC-P1-AI 肽溶液和 FITC-CM7-1 以形成两个组，固定于旋转混合仪上，避光 4 $^{\circ}$ C 混合 1h。孵育完成后，800rpm、5min 离心后弃上清。用预冷的 PBS 洗涤两次，PBS 调节细胞浓度至 1 $\times$ 10⁶ 个细胞/mL。每组细胞分别以 1, 5, 10 μ M 的浓度做 3 个平行复孔，每个样品准备 0.5mL；使用流式细胞仪检测肽与 LX-2 细胞的结合，结果如图 8 所示。图 8 示出了本公开的肽与几乎不表达 c-Met 的人肝星状细胞 LX-2 的结合曲线，其中横轴代表荧光信号；纵轴代表细胞数量。

如实施例 2 所证实，人肝星状细胞 LX-2 几乎不表达 c-Met。图 8 的结果显示：在高达 10 μ M 的浓度条件下，FITC-P1-AI 和 FITC-CM7-1 几乎均不与 LX-2 细胞结合。综合考虑图 6-8 呈现的结果，P1-AI 和 CM7-1 肽能够与 c-Met 蛋白特异性结合，且 P1-AI 的结合表现如上所述优于 CM7-1。

实施例 6：肽的溶解性检测

分别称取 13.4mg 的 CM7-1 和 15mg 的 P1-AI，使用超纯(UP)水(使用优普纯水/超纯水制造系统 UPR-II-10T 制备)进行溶解，结果如图 9 所示。图 9 示出了本公开的肽的水溶性检测结果。

结果显示：当浓度为 6 mM 时，CM7-1 在水中呈现完全浑浊的状态；而当浓度为 19 mM 时，P1-AI 在水中形成澄清的溶液，肉眼观察到与水的状态相同。这表明，肽 P1-AI 的水溶性远远高于 CM7-1 的水溶性，从而更有益于后续的药物开发与制备。

实施例 7：使用微量热泳动(MST)检测肽与 c-Met 蛋白的相互作用

将 FITC-P1-AI 和 FITC-CM7-1 配置成不同浓度的液体，使用毛细管虹吸肽溶液，并用 MST 仪器(OCTED RED 96e)检测荧光吸收数值。

使用 PBS 按照 2 倍量稀释 c-Met 蛋白，以形成 12 个浓度梯度，分别为 10 μ M、5 μ M、2.5 μ M、1.25 μ M、0.625 μ M、0.32 μ M、0.16 μ M、0.08 μ M、0.04 μ M、0.02 μ M、0.01 μ M、0.005 μ M。按照 1:1 的体积比将 c-Met 蛋白稀释液与 FITC-P1-AI 或 FITC-CM7-1 混合，并静置；

计算 FITC-P1-AI 或 FITC-CM7-1 与 c-Met 蛋白的亲和力。使用 NT Analysis 软件进行数据拟合，结果如图 10 所示。图 10 示出了使用 MST 检测本公开的肽与 c-Met 蛋白的相互作用的结果，其中横轴代表 c-Met 蛋白的浓度，单位为 μ M；纵轴代表荧光强度。

结果显示: P1-AI 与 c-Met 蛋白的亲合力为 $K_d=41.097\text{ nM}$, 而 CM7-1 与 c-Met 蛋白的亲合力仅仅为 $K_d=1270.355\text{ nM}$ 。可见, 相较于 CM7-1 而言, P1-AI 与 c-Met 蛋白的亲合力提升了 30.9 倍。

实施例 8: 裸鼠皮下移植瘤活体成像研究

在 MKN-45 皮下移植瘤小鼠中(裸鼠购买自常州卡文斯实验动物有限公司), 将 5×10^6 的 MKN45 细胞接入裸鼠的皮下, 待肿瘤体积为 400 mm^3 左右时, 尾静脉注射 5 mg/kg 的 Cy5-P1-AI, 使用活体成像仪器分析其组织分布, 结果如图 11 所示。图 11 示出了 Cy5-P1-AI 在荷瘤小鼠中活体成像的结果。图中圆圈区域为肿瘤部位。

结果显示: 清晰观察到了 Cy5-P1-AI 在 c-Met 高表达癌症部位的富集。

实施例 9: P1-AI 丙氨酸扫描分析

使用丙氨酸扫描以 P1-AI 为起始肽产生了如表 4 所列出的肽。将含有 1640 培养液的 MKN-45 细胞收集, 并用预冷的 PBS 洗涤两次。加入 $1\text{ mL } 1\%$ 的 BSA 溶液, 固定于旋转混合仪上, 4°C 混合 30min。避光条件下分别加入不同浓度($10, 5, 2.5, 1.25, 0.625\text{ }\mu\text{ M}$)的 FITC-P1-AI、FITC-P1-AI-1、FITC-P1-AI-2、FITC-P1-AI-3、FITC-P1-AI-4、FITC-P1-AI-6、FITC-P1-AI-7 肽溶液形成 7 个组, 固定于旋转混合仪上, 避光 4°C 混合 1h。孵育完成后, 800rpm、5min 离心后弃上清。用预冷的 PBS 洗涤 1-2 次, PBS 调节细胞浓度至 1×10^6 个细胞/mL。每组细胞做 3 个平行复孔, 每个样品准备 0.5 mL ; 使用流式细胞仪检测肽与 c-Met 阳性细胞 MKN-45 的结合。图 12 示出了本公开的肽与 c-Met 阳性细胞 MKN-45 的结合曲线, 其中横轴代表荧光信号; 纵轴代表细胞数量, 深色为加入多肽后的荧光化学位移, 浅色为未加肽的空白对照。

表 4. 肽的序列

SEQ ID NO.	名称	分子量	序列
145	FITC-P1-AI-1	1211.2	FITC-ASP YANS
146	FITC-P1-AI-2	1280.36	FITC -RAP YANS
147	FITC-P1-AI-3	1270.32	FITC -RSAYANS
148	FITC-P1-AI-4	1204.26	FITC-RSPAANS
149	FITC-P1-AI-6	1253.33	FITC-RSPYAAS
150	FITC-P1-AI-7	1280.36	FITC-RSPYANA
1	FITC-P1-AI	1296.36	FITC-RSPYANS

图 12 显示出 P1-AI-4 对 c-Met 阳性细胞 MKN45 的结合亲合力比 P1-AI 增强, P1-AI-6 和 P1-AI-7 对 c-Met 阳性细胞 MKN45 的结合亲合力与 P1-AI 相似, P1-AI-1、P1-AI-2 和 P1-AI-3 对 c-Met 阳性细胞 MKN45 的结合亲合力

比 P1-AI 降低。通过序列比对可以得知 P1-AI 的肽序列的前三个位点 R、S、P 为保持与 c-Met 结合能力的关键位点。

综上所述, P1-AI、P1-AI-4、P1-AI-6 和 P1-AI-7 与 c-Met 的结合亲和力优于 CM7-1。

实施例 10: 药物-肽缀合物的溶解度

喜树碱(CPT)和 P1-AI 缀合物,即 CPT-P1-AI、多西他赛(DOC)和 P1-AI 的缀合物,即 DOC-P1-AI、紫杉醇(PTX)和 P1-AI 的缀合物,即 PTX-P1-AI 的制备: 将 1.20g 紫杉醇、喜树碱或多西他赛与 0.21g 丁二酸酐(安徽泽升科技有限公司)在室温下反应 3 小时,得到丁酸-紫杉醇、丁酸-喜树碱、丁酸-多西他赛。将 0.88g 丁酸-紫杉醇、丁酸-喜树碱或丁酸-多西他赛与溶于 DCM 中的 0.53g EDC(安徽泽升科技有限公司)/0.21gNHS(上海阿拉丁生化科技股份有限公司)在室温条件下反应 9h, 得到丁酸-紫杉醇-NHS 活化酯、丁酸-喜树碱-NHS 活化酯或琥珀酰-多西他赛-NHS 活化酯。将 0.51g 上述三种 NHS 活化酯中的一种分别与 0.58g P1-AI 多肽溶于溶剂(水: 氮甲基吡咯烷酮=1: 2.5, V:V)中, 并加入三乙胺调节 pH 呈弱碱性, 在室温条件下反应 4h, 得到 CPT-P1-AI、DOC-P1-AI、PTX-P1-AI。

制备 CPT、CPT-P1-AI、DOC、DOC-P1-AI、PTX、PTX-P1-AI 的系列标准溶液标准溶液: 称取 CPT、CPT-P1-AI、DOC、DOC-P1-AI、PTX、PTX-P1-AI 各 2mg 至 2mL 容量瓶, 加入甲醇至刻度线, 摇匀, 得到 1 mg/mL 贮备液。精密量取上述贮备液 25、50、100、200、300、400 μ L 于 1ml 容量瓶中, 甲醇定容至刻度, 分别得到浓度为 25、50、100、200、300、400 μ g/ml 的系列标准溶液, 通过 HPLC(流动相: 0.065% TFA 水+0.05% TFA; 色谱柱: YMC-TriartC18; 波长: 220 nm)检测系列标准溶液的峰面积, 构建浓度-峰面积标准曲线, 如图 13 所示。图 13 中横坐标代表浓度, 纵坐标代表峰面积。

制备 CPT、CPT-P1-AI、DOC、DOC-P1-AI、PTX、PTX-P1-AI 过饱和水溶液, 超声 15min, 有机滤膜过滤至液相小瓶。用 HPLC 检测样品的峰面积, 通过浓度-峰面积标准曲线计算其在水中溶解度值。结果见表 5。

表 5. 样品在水中的溶解度值

样品	CPT	CPT-P1-AI	DOC	DOC-P1-AI	PTX	PTX-P1-AI
溶解度 (mg/mL)	8.4×10^{-5}	913.37	2.74×10^{-5}	4.43	1.2×10^{-4}	5.56×10^{-3}
药物-肽缀合物 比药物溶解度 的提升倍数	-	1.09×10^7	-	1.62×10^5	-	46.33

由图 13 可知 CPT、CPT-P1-AI、DOC、DOC-P1-AI、PTX、PTX-P1-AI 的浓度-峰面积标准曲线拟合度良好。由表 5 可知，CPT、DOC、PTX 几乎不溶于水，在水中的溶解度分别为 8.4×10^{-5} 、 2.74×10^{-5} 、 1.2×10^{-4} mg/mL。CPT-P1-AI 在水中具有良好的溶解度，为 913.37mg/mL，相比于阳性药 CPT 提升了 1.09×10^7 倍；DOC-P1-AI 在水中的溶解度为 4.43mg/mL，相比于阳性药 DOC 提升了 1.62×10^5 倍，PTX-P1-AI 相比于阳性药 PTX 提升了 46.33 倍。

将 PTX 分子与 19 个氨基酸肽 Angiopep-2 进行偶联形成的化合物 SNG-1005 已完成 III 期临床。但是，SNG-1005 与水接触仍存在不溶解现象，导致其在批次生产过程中难度较大，相关临床试验被迫推迟。Machulkin 等通过连接子二肽将靶向 PSMA 配体与 DOC 偶联得到了 PSMA-DOC，其在水中的溶解度为 130 μ g/mL (Machulkin AE, Uspenskaya AA, Zyk NY, et al. PSMA-targeted small-molecule docetaxel conjugate: Synthesis and preclinical evaluation. Eur J Med Chem. 2022;227:113936.)，仍对 PSMA-DOC 的应用有较大限制，而本申请的多肽偶联物 DOC-P1-AI 在水中的溶解度为 4.43 mg/mL，比 DOC 单药溶解度提高了 1.62×10^5 倍，可以极大的改善 DOC 的应用。喜树碱水溶性差不利于药物吸收，目前研究人员通过纳米、微米制剂体系克服喜树碱水溶性差的缺陷，但该方法存在制剂体系载药量低、溶剂溶解度低等问题。喜树碱化学基团修饰也用来改善喜树碱的水溶性。Fan 等通过在喜树碱上附着饱和碳原子合成了 7-乙基-10-[2-氧基-2(哌啶基)乙氧基]喜树碱，其在水中溶解度约为 6.22 μ g/mL (FAN S, CAO Y X, LI G Y, et al. F10, a new camptothecin derivative, was identified as a new orally-bioavailable, potent antitumor agent[J]. Eur J Med Chem, 2020, 202:112528.)，该溶解度仍有待提高，而本申请的多肽偶联物 CPT-P1-AI 在水中的溶解度为 913.37 mg/mL，比 CPT 单药

溶解度提高了 1.09×10^7 倍，可以极大的改善 CPT 的应用。本申请的多肽偶联物极大的增加了 CPT、DOC 和 PTX 的水溶性。

尽管具体的实施方式已被描述，然而对于申请人或其它本领技术人员而言，可能存在或目前无法预见上述实施方式的替代、修改、变化、改进和实质等效物。因此，提交的所附的权利要求以及可能被修改的权利要求旨在涵盖所有这样的替代、修改、变化、改进和实质等效物。

权利要求书

1.包含下式 I 或式 II 的靶向 c-Met 的肽或其衍生物,

(R)-(X1)-(X2)-(X3)-(X4)-(X5)-(X6) 式 I

(Y1)-(Y2)-(Y3)-(Y4)-(A)-(N)-(Y5) 式 II

其中, X1-X6 彼此独立地代表任意一种氨基酸或其衍生物;

Y1-Y5 彼此独立地代表任意一种氨基酸或其衍生物, 且式 II 不包括 CM7-1 的序列(D)-(Q)-(I)-(I)-(A)-(N)-(N);

所述肽或其衍生物相对于 CM7-1 具有相似或者更好的与 c-Met 的结合亲和力。

2.根据权利要求 1 所述的肽或其衍生物, 其中 X1 代表 S、H 或 E, X2 代表 P、I 或 D, X3 代表任意一种氨基酸或其衍生物, X4 代表 A、M 或 C, X5 代表 N、C 或 P, X6 代表任意一种氨基酸或其衍生物;

Y1 代表任意一种氨基酸或其衍生物, Y2 代表 Q 或 A, Y3 代表 I 或 A、Y4 代表 I 或 A、Y5 代表 N 或 A, 且式 II 不包括(D)-(Q)-(I)-(I)-(A)-(N)-(N)。

3.根据权利要求 1 或 2 所述的肽或其衍生物, 其包含选自以下的任意一个序列: SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:3-6, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:9-144, SEQ ID NO: 148-150。

4.根据权利要求 1 或 2 所述的肽或其衍生物, 其中所述肽或其衍生物包含选自以下的任意一个序列: SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:3-6, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:9-20, SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:35, SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:48, SEQ ID NO:64, SEQ ID NO:66, SEQ ID NO:70, SEQ ID NO:72, SEQ ID NO:79-81, SEQ ID NO:83-85, SEQ ID NO:90, SEQ ID NO:96, SEQ ID NO:105, SEQ ID NO:111, SEQ ID NO:123, SEQ ID NO:125, SEQ ID NO:135, SEQ ID NO:144, SEQ ID NO: 148-150。

5.根据权利要求 1 所述的肽或其衍生物, 其包含下式 I

(R)-(X1)-(X2)-(X3)-(X4)-(X5)-(X6) 式 I

其中,

X1 为 S, X2 为 P, X3-6 相互独立地代表任意一种氨基酸或其衍生物, 且所述肽或其衍生物相对于 P1-AI 具有相似或者更好的与 c-Met 的结合亲和力。

6.根据权利要求 5 所述的肽或其衍生物，其中所述肽或其衍生物包含选自以下的任意一个序列：SEQ ID NO：148-150。

7.根据权利要求 1-6 中任一项所述的肽或其衍生物，其中所述衍生物与所述肽相比包含选自以下的任意一种或多种修饰：氨基酸修饰、保守氨基酸取代、氨基酸残基中的氢被取代。

8.药物-肽缀合物，其包含根据权利要求 1-7 中任一项所述的肽或其衍生物以及药物，优选地，其中所述肽或其衍生物直接或者通过连接子与药物缀合，优选地，所述药物选自细胞毒性剂，如喜树碱、多西他赛、紫杉醇中的至少一种。

9.药物组合物，其包含根据权利要求 1-7 中任一项所述的肽或其衍生物或根据权利要求 8 所述的药物-肽缀合物，以及药学上可接受的载体或盐。

10.根据权利要求 1-7 中任一项所述的肽或其衍生物用于增加药物水溶性的用途，其中所述肽或其衍生物与药物直接或者间接缀合。

11.增加药物水溶性的方法，包括将根据权利要求 1-7 中任一项所述的肽或其衍生物与药物直接或者间接缀合。

12.用于检测、预防或治疗疾病的方法，所述方法包括向有此需要的受试者施用检测、预防或治疗有效量的权利要求 1-7 中任一项所述的肽或其衍生物，根据权利要求 8 所述的药物-肽缀合物或权利要求 9 所述的药物组合物，优选地，其中所述疾病包括癌症，如实体瘤和/或血液瘤，优选地，所述疾病包括甲状腺癌、食管癌、肺癌、非小细胞肺癌、胃癌、肝癌、胆管癌、肾癌、胰腺癌、肠癌、结直肠癌、膀胱癌、前列腺癌、乳腺癌、子宫癌、子宫内膜癌、卵巢癌、宫颈癌、输卵管癌、皮肤癌、脑瘤、脑胶质瘤、星形胶质母细胞瘤、黑色素瘤、骨肉瘤、肉瘤、淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、多发性骨髓瘤、白血病、急性淋巴细胞白血病、慢性淋巴细胞白血病、急性髓细胞性白血病或慢性髓细胞白血病中的一种或多种。