



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101443340 B

(45) 授权公告日 2013. 12. 04

(21) 申请号 200780017620. 4

C07C 229/24 (2006. 01)

(22) 申请日 2007. 03. 14

A61P 35/00 (2006. 01)

A61P 13/08 (2006. 01)

(30) 优先权数据

60/782, 211 2006. 03. 14 US

(56) 对比文件

US 20040110723 A1, 2004. 06. 10, 全文 .

CN 1537170 A, 2004. 10. 13, 全文 .

CN 1652821 A, 2005. 08. 10, 全文 .

(85) PCT申请进入国家阶段日

2008. 11. 14

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2007/064002 2007. 03. 14

审查员 李宗韦

(87) PCT申请的公布数据

W02007/106869 EN 2007. 09. 20

(73) 专利权人 癌靶技术有限责任公司

地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 克利夫·伯克曼

(74) 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

11105

代理人 巫肖南

(51) Int. Cl.

C07F 9/22 (2006. 01)

A61K 31/66 (2006. 01)

权利要求书7页 说明书25页 附图11页

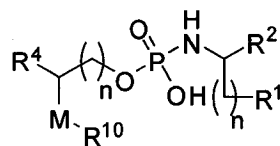
(54) 发明名称

前列腺特异性膜抗原的拟肽抑制剂、含该拟肽抑制剂的化合物及用法

(57) 摘要

本发明描述了式A-L-B的化合物,其中A是谷氨酸或谷氨酸类似物;L是氨基磷酸酯或氨基磷酸酯类似物;且B是丝氨酸或丝氨酸类似物,该化合物是前列腺特异性膜抗原(PMSA)的强效抑制剂。该化合物可用于治疗前列腺癌;并且当与荧光染料化学连接时,能够有效和选择性地标记前列腺癌细胞以进行荧光成像。

1. 具有下式的化合物或其可药用盐,



其中

每个 n 独立地是 1、2 或 3;

每个 R^1 和 R^2 独立地是 $-C(O)OR^3$;

每个 R^3 独立地是 $-H$ 或 C_1-C_6 烷基;

R^4 是 $-H$ 、 $-C(O)OR^3$;

M 是 $-N(R^3)-$ 或 $-CH_2-$;

R^{10} 是 $-H$ 、 $-C_1-C_6$ 烷基、 $-R^7$ 、 $-C(O)R^5$ 、具有 2 至 10 个氨基酸残基的肽、树枝状基团或树枝状多肽, 其中

R^5 是 $-CH(R^{51})N(R^{52})_2$; 或

任选被 1 至 3 个基团取代的 C_1-C_6 烷基, 所述 1 至 3 个基团独立地是 $COOR^{53}$ 或 $-N(R^{52})_2$;

其中

R^{51} 是 $-H$ 、或任选被 $-COOR^{53}$ 取代的 C_1-C_6 烷基; 以及

R^{52} 是 $-H$ 、 C_1-C_6 烷基; 以及

R^{53} 是 $-H$ 或 C_1-C_6 烷基;

R^6 是 $-H$ 或 C_1-C_6 烷基;

以及

R^7 是 $-L^1-R^8$, 其中

L^1 是 $-C(O)-L^2-$, 其中

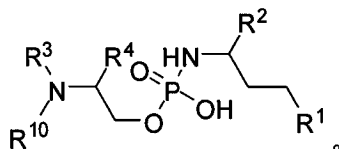
L^2 是 $-C_1-C_{24}$ 烷基- 或 - 苯基 $-C_1-C_{24}$ 烷基-, 其中

每个烷基基团任选被 1 至 4 个基团取代, 所述 1 至 4 个基团是氧代、 $=S$ 或 $-COOH$; 以及

在每个烷基基团中的 1 至 6 个亚甲基基团任选被 $-O-$ 、 $-S-$ 或 $-N(R^3)-$ 代替, 条件是两个相邻的亚甲基基团不同时被 $-O-$ 、 $-S-$ 或 $-N(R^3)-$ 代替; 以及

R^8 是 $-H$ 、 $-NH_2$ 或 $-OH$ 。

2. 具有下式的如权利要求 1 所述的化合物或其可药用盐,



3. 如权利要求 1-2 中任一项所述的化合物或其可药用盐, 其中每个 R^1 和 R^2 是 $-C(O)OH$ 。

4. 如权利要求 1-2 中任一项所述的化合物或其可药用盐, 其中 R^4 是 $-C(O)OH$ 。

5. 如权利要求 1-2 中任一项所述的化合物或其可药用盐, 其中 R^1 、 R^2 和 R^4 均为 $-C(O)OH$ 。

6. 如权利要求 1-2 中任一项所述的化合物或其可药用盐, 其中 R^{10} 是 R^7 。

7. 如权利要求 1-2 中任一项所述的化合物或其可药用盐, 其中 R^{10} 是 R^7 , 其中 R^7 是 $-L^1-R^8$, 其中

L^1 是 $-C(O)-L^2-$, 其中

L^2 是 $-C_1-C_{24}$ 烷基 - 或 - 苯基 $-C_1-C_{24}$ 烷基 -, 其中

每个烷基基团任选被 1 至 4 个基团取代, 所述 1 至 4 个基团是氧代、 $=S$ 或 $-COOH$; 以及

在每个烷基基团中的 1 至 6 个亚甲基基团任选被 $-O-$ 、 $-S-$ 或 $-N(R^3)-$ 代替, 条件是两个相邻的亚甲基基团不同时被 $-O-$ 、 $-S-$ 或 $-N(R^3)-$ 代替; 以及

R^8 是 $-H$ 、 $-NH_2$ 或 $-OH$ 。

8. 如权利要求 1-2 中任一项所述的化合物或其可药用盐, 其中 R^{10} 是 R^7 , 其中

R^7 是 $-L^1-R^8$, 其中

L^1 是 $-C(O)-L^2-$, 其中

L^2 是 $-C_1-C_{24}$ 烷基 - 或 - 苯基 $-C_1-C_{24}$ 烷基 -, 其中

每个烷基基团任选被 1 至 4 个基团取代, 所述 1 至 4 个基团是氧代或 $-COOH$; 以及

在每个烷基基团中的 1 至 6 个亚甲基基团任选被 $-O-$ 或 $-N(R^3)-$ 代替, 条件是两个相邻的亚甲基基团不同时被 $-O-$ 或 $-N(R^3)-$ 代替; 以及

R^8 是 $-H$ 、 $-NH_2$ 或 $-OH$ 。

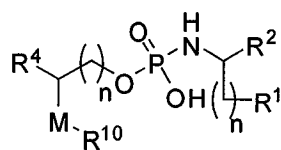
9. 如权利要求 1-2 中任一项所述的化合物或其可药用盐, 其中 R^{10} 是具有 2 至 10 个氨基酸残基的肽、树枝状基团或树枝状多肽。

10. 如权利要求 1 所述的化合物或其可药用盐, 所述化合物是 L - γ -谷氨酰基 $-O-[[[(1S)-1,3-二羧基丙基]氨基](羟基)磷酰基]-L$ -丝氨酸;

$N-[[[(2S)-2-氨基-2-羧基乙氧基](羟基)磷酰基]-L$ -谷氨酸; 或

$N-[[[(2S)-20-氨基-2-羧基-4,8-二氧化-6,12,15,18-四氧杂-3,9-二氮杂二十碳烷-1-基]氧基](羟基)磷酰基]-L$ -谷氨酸。

11. 一种具有下式的化合物,



或其可药用盐, 其中

每个 n 独立地是 1、2 或 3;

每个 R^1 和 R^2 独立地是 $-C(O)OR^3$ 、 $-C(O)N(R^3)_2$;

每个 R^3 独立地是 $-H$ 或 C_1-C_6 烷基;

R^4 是 $-H$ 、 $-C(O)OR^3$;

M 是 $-N(R^3)-$ 或 $-CH_2-$;

R^{10} 是 $-H$ 、 $-C_1-C_6$ 烷基、 $-R^7$ 、 $-C(O)R^5$ 、具有 2 至 10 个氨基酸残基的肽、树枝状基团或树枝状多肽, 其中

R^5 是 $-CH(R^{51})N(R^{52})_2$;

任选被 1 至 3 个基团取代的 C_1-C_6 烷基, 所述 1 至 3 个基团独立地是 $COOR^{53}$ 、 $-N(R^{52})_2$;

其中

R^{51} 是 -H、或任选被 $-COOR^{53}$ 取代的 C_1-C_6 烷基；以及

R^{52} 是 -H 或 C_1-C_6 烷基；以及

R^{53} 是 -H 或 C_1-C_6 烷基；

R^6 是 -H 或 C_1-C_6 烷基；

以及

R^7 是 $-L^1-R^8$ ，其中

L^1 是 $-C(O)-L^2-$ ，其中

L^2 是 $-C_1-C_{24}$ 烷基 - 或 - 苯基 $-C_1-C_{24}$ 烷基 -，其中

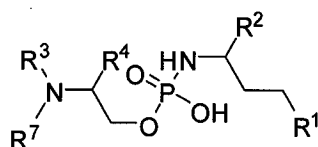
每个烷基基团任选被 1 至 4 个基团取代，所述 1 至 4 个基团是氧代、= S 或 $-COOH$ ；以及

在每个烷基基团中的 1 至 6 个亚甲基基团任选被 $-O-$ 、 $-S-$ 或 $-N(R^3)-$ 代替，条件是两个相邻的亚甲基基团不同时被 $-O-$ 、 $-S-$ 或 $-N(R^3)-$ 代替；以及

R^8 是 -H、 $-NH_2$ 或 $-OH$ ，其中

所述化合物任选地通过二价交联剂在化合物的任意可取代位置处共价键合至可检测标记、治疗药剂或连接至固体支撑物的生物分子锚。

12. 具有下式的化合物或其可药用盐，



其中

每个 R^1 和 R^2 独立地是 $-C(O)OR^3$ ；

每个 R^3 独立地是 -H 或 C_1-C_6 烷基；

R^4 是 -H 或 $-C(O)OR^3$ ；

R^7 是 $-L^1-R^8$ ，其中

L^1 是 $-C(O)-L^2-$ 、具有 2 至 10 个氨基酸残基的肽、树枝状基团或树枝状多肽，其中

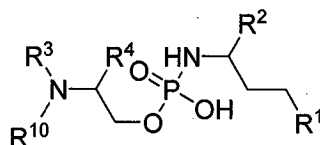
L^2 是 $-C_1-C_{24}$ 烷基 - 或 - 苯基 $-C_1-C_{24}$ 烷基 -，其中

每个烷基基团任选被 1 至 4 个基团取代，所述 1 至 4 个基团是氧代、= S 或 $-COOH$ ；以及

在每个烷基基团中的 1 至 6 个亚甲基基团任选被 $-O-$ 、 $-S-$ 或 $-N(R^3)-$ 代替，条件是两个相邻的亚甲基基团不同时被 $-O-$ 、 $-S-$ 或 $-N(R^3)-$ 代替；以及

R^8 是治疗药剂、可检测标记或连接至固体支撑物的生物分子锚。

13. 具有下式的如权利要求 11 所述的化合物或其可药用盐，



14. 如权利要求 11-13 中任一项所述的化合物或其可药用盐，其中每个 R^1 和 R^2 是 $-C(O)OH$ 。

15. 如权利要求 11-13 中任一项所述的化合物或其可药用盐,其中 R^4 是 $-C(O)OH$ 。
16. 如权利要求 11-13 中任一项所述的化合物或其可药用盐,其中 R^1 、 R^2 和 R^4 均为 $-C(O)OH$ 。
17. 如权利要求 11-13 中任一项所述的化合物或其可药用盐,其中 L^1 是 $-C(O)-L^2-$,其中
 L^2 是 $-C_1-C_{24}$ 烷基-或-苯基- $-C_1-C_{24}$ 烷基-,其中
每个烷基基团任选被 1 至 4 个基团取代,所述 1 至 4 个基团是氧代、 $=S$ 或 $-COOH$;以及
在每个烷基基团中的 1 至 6 个亚甲基基团任选被 $-O-$ 、 $-S-$ 或 $-N(R^3)-$ 代替,条件是两个相邻的亚甲基基团不同时被 $-O-$ 、 $-S-$ 或 $-N(R^3)-$ 代替。
18. 如权利要求 11-13 中任一项所述的化合物或其可药用盐,其中 L^1 是 $-C(O)-L^2-$,其中
 L^2 是 $-C_1-C_{24}$ 烷基-或-苯基- $-C_1-C_{24}$ 烷基-,其中
每个烷基基团任选被 1 至 4 个基团取代,所述 1 至 4 个基团是氧代或 $-COOH$;以及
在每个烷基基团中的 1 至 6 个亚甲基基团任选被 $-O-$ 或 $-N(R^3)-$ 代替,条件是两个相邻的亚甲基基团不同时被 $-O-$ 或 $-N(R^3)-$ 代替。
19. 如权利要求 11-13 中任一项所述的化合物或其可药用盐,其中 L^1 是肽、树枝状基团或树枝状多肽。
20. 如权利要求 11 所述的化合物或其可药用盐,其中所述化合物任选地通过二价交联剂共价键合至可检测标记。
21. 如权利要求 12 所述的化合物或其可药用盐,其中所述 R^8 是可检测标记。
22. 如权利要求 13 所述的化合物或其可药用盐,其中所述化合物任选地通过二价交联剂共价键合至可检测标记。
23. 如权利要求 11 所述的化合物或其可药用盐,其中所述化合物任选地通过二价交联剂共价键合至生物分子锚,且所述生物分子锚连接至固体支撑物。
24. 如权利要求 12 所述的化合物或其可药用盐,其中所述 R^8 是连接至固体支撑物的生物分子锚。
25. 如权利要求 13 所述的化合物或其可药用盐,其中所述化合物任选地通过二价交联剂共价键合至生物分子锚,且所述生物分子锚连接至固体支撑物。
26. 如权利要求 20-22 中任一项所述的化合物或其可药用盐,其中所述可检测标记是荧光染料。
27. 如权利要求 26 所述的化合物或其可药用盐,其中所述荧光染料是基于 Alexa Fluor、BODIPY、荧光素、若丹明、香豆素或芘的染料。
28. 如权利要求 27 所述的化合物或其可药用盐,其中所述荧光染料是荧光素或荧光素衍生物。
29. 如权利要求 20-22 中任一项所述的化合物或其可药用盐,其中所述可检测标记是螯合剂。
30. 如权利要求 29 所述的化合物或其可药用盐,其中所述螯合剂是 DOTA、DTPA、CHX-A''、PCTA 或 D03A。

31. 如权利要求 11-13 中任一项所述的化合物或其可药用盐,其中 R^8 是 R^9 , 其中 R^9 是 C_1-C_6 烷基、芳基或 C_1-C_6 烷基-芳基,其中 R^9 被 1 至 3 个基团取代,所述 1 至 3 个基团独立地是 $-COOH$ 或 $N(R^{91})_2$, 其中

每个 R^{91} 独立地是 $-H$ 或被 1 至 3 个基团取代的 C_1-C_6 烷基,所述 1 至 3 个基团独立地是 $-COOH$ 或 $-N(R^{92})_2$, 其中

每个 R^{92} 独立地是 $-H$ 或被 1 至 3 个 $COOH$ 取代的 C_1-C_6 烷基。

32. 如权利要求 20-22 中任一项所述的化合物或其可药用盐,其中所述可检测标记是特异性结合对的一半。

33. 如权利要求 32 所述的化合物或其可药用盐,其中所述特异性结合对的一半是生物素、DNA 或 RNA 的低聚核苷酸或脂类。

34. 如权利要求 33 所述的化合物或其可药用盐,其中所述特异性结合对的一半是生物素。

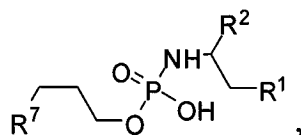
35. 如权利要求 11 所述的化合物或其可药用盐,其中所述化合物任选地通过二价交联剂共价键合至治疗药剂。

36. 如权利要求 12 所述的化合物或其可药用盐,其中所述 R^8 是治疗药剂。

37. 如权利要求 13 所述的化合物或其可药用盐,其中所述化合物任选地通过二价交联剂共价键合至治疗药剂。

38. 如权利要求 35-37 中任一项所述的化合物或其可药用盐,其中所述治疗药剂是任选被 1 至 5 个选自 C_1-C_{10} 烷基、氧代、羟基或卤素的基团取代的甾体基团。

39. 具有下式的如权利要求 11 所述的化合物或其可药用盐,



其中

R^7 是 $-O-R^8$, 其中

R^8 是任选被 1 至 5 个选自 C_1-C_{10} 烷基、氧代、羟基或卤素的基团取代的甾体基团。

40. 如权利要求 11 所述的化合物或其可药用盐,所述化合物是:

$N-\{[(2S)-2-羧基-2-((4-[(3-[(2-[(3-羧基-4-(6-羟基-3-氧代-9,9a-二氢化-3H-咕吨-9-基)苯基]氨基)-2-氧代乙基)硫代]丙酰基}氨基)甲基]苯甲酰基}氨基)乙氧基](羟基)磷酰基]-L-谷氨酸$;

$N-\{3-[(2-[(3-羧基-4-(6-羟基-3-氧代-9,9a-二氢化-3H-咕吨-9-基)苯基]氨基)-2-氧代乙基)硫代]丙酰基]-L-\gamma-谷氨酰基-O-[(1S)-1,3-二羧基丙基]氨基}(羟基)磷酰基]-L-丝氨酸$;

$N-(6-[(3-羧基-4-(6-羟基-3-氧代-9,9a-二氢化-3H-咕吨-9-基)苯甲酰基]氨基)己酰基)-L-\gamma-谷氨酰基-O-[(1S)-1,3-二羧基丙基]氨基}(羟基)磷酰基]-L-丝氨酸$;

$N-[(2S)-2-羧基-2-[(3-羧基-4-(6-羟基-3-氧代-9,9a-二氢化-3H-咕吨-9-基)苯基]氨基)硫代羰基]氨基)乙氧基}(羟基)磷酰基]-L-谷氨酸$;

$N-\{[(4-2-[双(羧基甲基)氨基]-3-[2-[双(羧基甲基)氨基]乙基](羧基甲$

基)氨基]丙基}苯基)氨基]硫代羰基}-L- γ -谷氨酰基-O-[[[(1S)-1,3-二羧基丙基]氨基](羟基)磷酸基]-L-丝氨酸;

N-{6-[(6-{[5-(2-氧代六氢化-1H-噻吩并[3,4-d]咪唑-4-基)戊酰基]氨基}己酰基)氨基]-L- $\tilde{\gamma}$ -谷氨酰基-O-[[[(1S)-1,3-二羧基丙基]氨基](羟基)磷酸基]-L-丝氨酸。

41. 如权利要求1所述的化合物是L- γ -谷氨酰基-O-[[[(1S)-1,3-二羧基丙基]氨基](羟基)磷酸基]-L-丝氨酸或其可药用盐。

42. 如权利要求11所述的化合物是L- γ -谷氨酰基-O-[[[(1S)-1,3-二羧基丙基]氨基](羟基)磷酸基]-L-丝氨酸,所述化合物通过二价交联剂在化合物的任意可取代位置处共价键合至可检测标记、治疗药剂或连接至固体支撑物的生物分子锚,或其可药用盐。

43. 如权利要求42所述的化合物是L- γ -谷氨酰基-O-[[[(1S)-1,3-二羧基丙基]氨基](羟基)磷酸基]-L-丝氨酸,所述化合物通过二价交联剂在化合物的任意可取代位置处共价键合至可检测标记,或其可药用盐。

44. 如权利要求11所述的化合物或其可药用盐,所述化合物是L- γ -谷氨酰基-O-[[[(1S)-1,3-二羧基丙基]氨基](羟基)磷酸基]-L-丝氨酸;

N-{[(2S)-2-氨基-2-羧基乙氧基](羟基)磷酸基}-L-谷氨酸;或

N-[[[(2S)-20-氨基-2-羧基-4,8-二氧代-6,12,15,18-四氧杂-3,9-二氮杂二十碳烷-1-基]氧基](羟基)磷酸基]-L-谷氨酸。

45. 如权利要求11-13和42-43中任一项所述的化合物,其中所述可检测标记是能结合放射性同位素的螯合结构。

46. 如权利要求11所述的化合物,其中所述二价交联剂是氨基酸、低聚肽、聚(乙)二醇、低聚乙二醇。

47. 如权利要求11所述的化合物是N-{[(4-{2-[双(羧基甲基)氨基]-3-[2-[双(羧基甲基)氨基]乙基](羧基甲基)氨基]丙基}苯基)氨基]硫代羰基}-L- γ -谷氨酰基-O-[[[(1S)-1,3-二羧基丙基]氨基](羟基)磷酸基]-L-丝氨酸或其可药用盐。

48. 如权利要求20-22和42-43所述的化合物,其中所述可检测标记是结合放射性同位素或核磁共振成像造影剂的螯合结构。

49. 如权利要求35-37和42所述的化合物,其中所述治疗药剂包括螯合或共价键合的细胞毒性放射性同位素。

50. 如权利要求49所述的化合物,其中所述细胞毒性放射性同位素是 ^{90}Y 或 ^{188}Re 。

51. 如权利要求35-37和42所述的化合物,其中所述治疗药剂是抗癌、抗增生或细胞毒性药剂;促进或提高细胞免疫原性的药剂;细胞凋亡诱导剂;组氨酸脱乙酰基酶抑制剂;诱导细胞凋亡或细胞毒性的siRNA、抗有丝分裂剂和包胶细胞毒性药物的纳米粒子或脂质体。

52. 如权利要求51所述的化合物,其中所述治疗药剂是2-甲氧基雌二醇、米非司酮、他莫昔芬、视黄酸、丁氯倍他松、Plk1 siRNA、阿霉素或氨甲喋呤。

53. 一种组合物,其包括如权利要求1-52中任一项所述的化合物和可药用赋形剂、载体或稀释剂。

54. 一种诊断试剂盒,其包括如权利要求1-52中任一项所述的化合物。

55. 如权利要求 53 所述的药物组合物在制备抑制前列腺特异性膜抗原 PSMA 的药物中的应用。

56. 如权利要求 1-52 中任一项所述的化合物在制备检测存在前列腺特异性膜抗原的细胞的药物中的应用。

57. 如权利要求 1-52 中任一项所述的化合物在制备抑制或治疗存在治疗需要的患者中与存在前列腺特异性膜抗原 PSMA 的细胞相关的病症的药物中的应用。

58. 如权利要求 57 所述的应用,其中所述患者是人类。

59. 如权利要求 11-52 中任一项所述的化合物在制备捕获、检测并计量存在前列腺特异性膜抗原 (PSMA) 的细胞的药物中的应用。

60. 如权利要求 59 所述的应用,其中所述化合物键合至固体支撑物上的生物分子锚。

61. 装有如权利要求 1-52 中任一项所述的化合物和含水或非水等渗无菌注射液的安瓿和小瓶。

62. 如权利要求 16 所述的化合物,其中所述化合物包括可检测标记,所述可检测标记是能结合放射性同位素的螯合结构。

63. 如权利要求 17 所述的化合物,其中所述化合物包括可检测标记,所述可检测标记是能结合放射性同位素的螯合结构。

64. 如权利要求 16 所述的化合物,其中所述化合物包括可检测标记,所述可检测标记是结合至放射性同位素的螯合结构。

65. 如权利要求 17 所述的化合物,其中所述化合物包括可检测标记,所述可检测标记是结合至放射性同位素的螯合结构。

66. 如权利要求 16 所述的化合物,其中所述化合物包括可检测标记,所述可检测标记是能结合核磁共振成像造影剂的螯合结构。

67. 如权利要求 17 所述的化合物,其中所述化合物包括可检测标记,所述可检测标记是能结合核磁共振成像造影剂的螯合结构。

68. 如权利要求 16 所述的化合物,其中所述化合物包括治疗药剂,所述治疗药剂包括螯合或共价键合的细胞毒性放射性同位素。

69. 如权利要求 17 所述的化合物,其中所述化合物包括治疗药剂,所述治疗药剂包括螯合或共价键合的细胞毒性放射性同位素。

70. 如权利要求 16 所述的化合物,其中所述化合物包括治疗药剂,所述治疗药剂是抗癌、抗增生或细胞毒性药剂;促进或提高细胞免疫原性的药剂;细胞凋亡诱导剂;组氨酸脱乙酰基酶抑制剂;诱导细胞凋亡或细胞毒性的 siRNA、抗有丝分裂剂和包胶细胞毒性药物的纳米粒子或脂质体。

71. 如权利要求 17 所述的化合物,其中所述化合物包括治疗药剂,所述治疗药剂是抗癌、抗增生或细胞毒性药剂;促进或提高细胞免疫原性的药剂;细胞凋亡诱导剂;组氨酸脱乙酰基酶抑制剂;诱导细胞凋亡或细胞毒性的 siRNA、抗有丝分裂剂和包胶细胞毒性药物的纳米粒子或脂质体。

前列腺特异性膜抗原的拟肽抑制剂、含该拟肽抑制剂的化合物及用法

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求于 2006 年 3 月 14 日提交的美国临时申请 60/782, 211 的优先权, 该文献在此通过引用将其全部内容并入本发明。

技术领域

[0003] 本发明涉及对前列腺特异性膜抗原 (prostate-specific membrane antigen, PSMA) 具有高亲和性和特异性的小分子, 以及将其用于诊断和治疗用途的方法。

背景技术

[0004] 前列腺特异性膜抗原 (PSMA) 在前列腺癌细胞的表面上以及在多种实体瘤的新血管系统中独特地过度表达。因此, PSMA 作为用于前列腺癌的检测和治疗的临床生物标记已引起了注意。通常, 这些方法利用特异性地靶向 PSMA 的抗体来导引成像剂或治疗剂。例如, 已被 FDA 认可用于前列腺癌的检测和成像的 ProstaScint (Cytogen, Philadelphia, PA) 利用抗体来递送螯合的放射性同位素 (铟-111)。然而, 现在公认 ProstaScint 技术只限于检测死细胞, 因此其临床实用性是可疑的。

[0005] 使用抗体进行癌症诊断和治疗的成功率受下列挑战所限: 例如, 这些生物分子从血液消除缓慢且血管渗透性差。而且, 结合至细胞表面靶点的大抗体阻碍另外的抗体随后在邻近细胞表面位点处的结合, 从而导致细胞表面标记减少。

[0006] 除了用作递送抗体的诊断或治疗剂的细胞表面靶点之外, PSMA 在很大程度上被忽略的独特性质是它的酶活性。也就是说, PSMA 能够识别并处理象二肽一样小的分子。尽管存在这种性质, 但是在开发新的诊断和治疗策略方面没有进行大量研究。在文献中只有少数近来的例子描述了使用被标记的小分子 PSMA 抑制剂来检测前列腺癌细胞的结果。

发明内容

[0007] 本发明包括以高亲和性和特异性结合至前列腺特异性膜抗原 (PSMA) 的化合物。由于这些性质, 本发明的化合物可用于将诊断或治疗剂递送至存在 PSMA 的细胞 (cell presenting PSMA), 或者例如当本发明的化合物直接或间接地锚定至固体支撑物时捕获并检测存在 PSMA 的细胞。同时, 因此, 本发明还包括用于检测和 / 或识别存在 PSMA 的细胞的诊断方法, 该方法包括: 使疑似存在 PSMA 的细胞与连接到可检测标记或传感器的本发明的化合物接触 (或使连接到可检测标记或传感器的本发明的化合物与疑似存在 PSMA 的细胞接触), 并确定所述化合物与细胞是否连接。本发明还包括含有本发明的化合物和药学可接受的载体、赋形剂和 / 或稀释剂的组合物。本发明还包括抑制或治疗前列腺癌的方法, 该方法包括将治疗有效量的连接到前列腺癌治疗剂的本发明的化合物 (或它们的组合物) 给予前列腺癌患者。

[0008] 本发明的小分子优于使用 PSMA 抗体的方法, 因为与抗体的制备相比, 小分子的制

备和纯化更高效且更节省成本。

附图说明

- [0009] 图 1 显示了 T33 的分子修剪类似物 (molecular pruning analogs)。
- [0010] 图 2 显示了 PSMA 的含甾体氨基磷酸酯抑制剂。
- [0011] 图 3 显示了 T33 的与时间相关的 PSMA 抑制作用。
- [0012] 图 4 显示了 T33 和代表性分子修剪类似物的不可逆和缓慢可逆的抑制作用。
- [0013] 图 5 显示了 T33 及其分子修剪类似物作为 PSMA 的不可逆、缓慢可逆和快速可逆的抑制剂的分类。
- [0014] 图 6 显示了用 T33 处理的 PSMA 的随 (A) 时间增加和 (B) 浓度增加 Western 印迹。
- [0015] 图 7 显示了 MP1D 的联苯类似物。
- [0016] 图 8 显示了合成的 PSMA 抑制剂,其被设计成用于在两个 N 末端氨基处衍生化和用于将成像和治疗有效负载 (payloads) 递送至前列腺癌细胞。
- [0017] 图 9 显示了荧光标记的 PSMA 抑制剂,已知其特异性标记表达 PSMA 的前列腺癌细胞。
- [0018] 图 10 显示了荧光标记的 PSMA 抑制剂的代表性制备。
- [0019] 图 11 显示了带有螯合剂的 PSMA 抑制剂 TL-LW-54-BnDTPA 的制备。
- [0020] 图 12 显示了代表性的生物素标记的 PSMA 抑制剂。

具体实施方式

[0021] 已公认如果小分子对肿瘤细胞具有足够的亲和性,则能够获得肿瘤靶向性。为了与基于抗体的递送试剂竞争并基本等效,小分子的亲和性应该与抗体对其靶点的亲和性在相同范围内。

[0022] 在第一方面,本发明包括满足这个标准的靶向 PSMA (优选 PSMA 的酶识别位点) 的小分子。本发明化合物的独特性质是它们主要衍生自中心氨基磷酸酯核。具体地,这些化合物包括在图 1 (除 CCS、JM139 和 2-PMPA 之外)、图 2 和图 7-12 中示出的所有化合物。当根据实施例中描述的试验测量 (参见下文) 时,本发明化合物一般具有小于 5 μ M、优选小于 1 μ M、更优选小于 100nM 的 IC_{50} 。

[0023] 本发明化合物具有三个部分,这三个部分导致有效的 PSMA 拟肽抑制剂,该抑制剂也可以被官能化以将诊断或治疗剂递送至表达 PSMA 的细胞,这三个部分是:1) P1' 位置的谷氨酸 (glutamate) 或谷氨酸类似物 (glutamate analog), 2) 中心的氨基磷酸酯或氨基磷酸酯类似物 (作为结合锌的基团), 和 3) P1 位置处的丝氨酸或丝氨酸类似物 (通过其侧链连接,并优选在其 N 末端或 N 末端等价物上具有疏水基团)。

[0024] 因此,在第一方面的实施方式中,本发明提供式 I 的化合物:

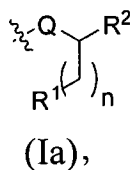
[0025] A-L-B(I),

[0026] 其中 A 是谷氨酸或谷氨酸类似物;L 是氨基磷酸酯或氨基磷酸酯类似物;B 是丝氨酸或丝氨酸类似物。优选地,丝氨酸或丝氨酸类似物在它的 N 末端或 N 末端等价物上具有疏水基团。说明书中公开的所有本发明化合物的药学可接受的盐也是本发明的一个方面。

[0027] 在第一方面的优选实施方式中,本发明提供式 I 的化合物及其药学可接受的盐,

其中 A 具有式 (Ia),

[0028]



[0029] 其中

[0030] n 是 1、2、3、4、5 或 6；

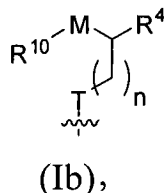
[0031] Q 是 -O-、-S-、-N(R³)-、N(R³)O-、-ON(R³)-、-CH₂- 或 =NO-，其中 Q 键合至 L；

[0032] R¹ 和 R² 独立地是 -C(O)OR³、-C(O)N(R³)₂、-P(O)(OR³)₂、-OP(O)(OR³)₂、-S(O)₂R³、-S(O)₂OR³、-S(O)₂N(R³)₂ 或四唑基；且

[0033] 每个 R³ 独立地是 -H 或 C₁-C₆ 烷基。

[0034] 在第一方面的另一实施方式中，本发明提供了式 I 化合物及其药学可接受的盐，其中 B 具有式 (Ib)，

[0035]



[0036] 其中

[0037] n 是 1、2、3、4、5 或 6；

[0038] R⁴ 是 -H、-C(O)OR³、-C(O)N(R³)₂、-P(O)(OR³)₂、-OP(O)(OR³)₂、-S(O)₂R³、-S(O)₂OR³、-S(O)₂N(R³)₂ 或四唑基；

[0039] M 和 T 独立地是 -O-、-S-、-N(R³)- 或 -CH₂-，其中 T 键合至 L；

[0040] R¹⁰ 是 -H、-C₁-C₆ 烷基、芳基、-C₁-C₆ 烷基-芳基、-芳基-芳基、-X-R⁶、-R⁷、-C(O)R⁵、-S(O)₂R⁵、肽、树枝状化合物 (dendrimer) 或树枝状多肽 (peptide dendrimer)，其中

[0041] X 是 -O-、-S- 或 -N(R³)-；

[0042] R⁵ 是 -CH(R⁵¹)N(R⁵²)₂；选择性地被 1 至 3 个基团取代的 C₁-C₆ 烷基，所述 1 至 3 个基团独立地是 - 卤素、COOR⁵³、-N(R⁵²)₂；芳基；或杂芳基，其中

[0043] R⁵¹ 是 -H；芳基；杂芳基；选择性地被 -OH 取代的 C₁-C₆ 烷基-芳基；C₁-C₆ 烷基-杂芳基；或选择性地被 -OR⁵³、-SR⁵³、-NH₂、-N(H)C(=NH)NH₂、-COOR⁵³ 或 -C(O)N(R⁵³)₂ 取代的 C₁-C₆ 烷基；且 R⁵² 是 -H、C₁-C₆ 烷基、-C(O)R⁵³、C(O)OR⁵³、-C(O)NH(C₁-C₆ 烷基)、-C(O)N(R⁵³)₂、-C(O)芳基或 -C(O)杂芳基；

[0044] R⁵³ 是 -H、C₁-C₆ 烷基或 C₁-C₆ 烷基-芳基；

[0045] R⁶ 是 -H 或 C₁-C₆ 烷基；且

[0046] R⁷ 是 -L¹-R⁸，其中

[0047] L¹ 是 -C(O)N(R³)-、-C(S)N(R³)-、-C(O)CH(R²¹)-、-C(O)(O) 或 -C(O)-L²-，其中

[0048] R²¹ 是 -H；芳基；杂芳基；选择性地被 -OH 取代的 C₁-C₆ 烷基-芳基；C₁-C₆ 烷基-杂芳基；或选择性地被 -OR²³、-SR²³、-NH₂、-N(H)C(=NH)NH₂、-COOR²³ 或 -C(O)N(R²³)₂ 取代的

C₁-C₆ 烷基 ; 且

[0049] R²³ 是 -H、C₁-C₆ 烷基或 C₁-C₆ 烷基 - 芳基 ;

[0050] L² 是 -C₁-C₂₄ 烷基 - 或 - 苯基 -C₁-C₂₄ 烷基 -, 其中

[0051] 每个烷基选择性地被 1 至 4 个基团取代, 所述 1 至 4 个基团是氧代 (oxo)、= S 或 -COOH ; 且

[0052] 每个烷基中的 1 至 6 个亚甲基选择性地被 -O-、-S- 或 -N(R³)- 代替, 条件是相邻的两个亚甲基不同时被 -O-、-S- 或 -N(R³)- 代替 ; 且

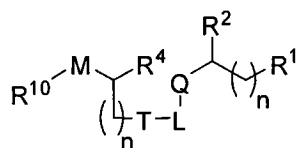
[0053] R⁸ 是 -H、-NH₂ 或 -OH ;

[0054] 且每个 R³ 独立地是 -H 或 C₁-C₆ 烷基。

[0055] 在第一方面的另一实施方式中, 本发明提供了式 I 化合物 (及其药学可接受的盐), 其中 L 是 -P(O)(OR³)-、-P(O)(N(R³)₂)-、-S(O)₂-、-C(O)- 或 -C(S)-, 其中每个 R³ 独立地是 -H 或 C₁-C₆ 烷基。

[0056] 在第一方面的优选实施方式中, 本发明提供式 (II) 化合物,

[0057]



(II)

[0058] 及其药学可接受的盐, 其中

[0059] 每个 n 独立地是 1、2、3、4、5 或 6 ;

[0060] 每个 R¹ 和 R² 独立地是 -C(O)OR³、-C(O)N(R³)₂、-P(O)(OR³)₂、-OP(O)(OR³)₂、-S(O)₂R³、-S(O)₂OR³、-S(O)₂N(R³)₂ 或四唑基 ;

[0061] 每个 R³ 独立地是 -H 或 C₁-C₆ 烷基 ;

[0062] R⁴ 是 -H、-C(O)OR³、-C(O)N(R³)₂、-P(O)(OR³)₂、-OP(O)(OR³)₂、-S(O)₂R³、-S(O)₂OR³、-S(O)₂N(R³)₂ 或四唑基 ;

[0063] L 是 -P(O)(OR³)-、-P(O)(N(R³)₂)-、-S(O)₂-、-C(O)- 或 -C(S)- ;

[0064] M 和 T 独立地是 -O-、-S-、-N(R³)- 或 -CH₂- ;

[0065] R¹⁰ 是 -H、-C₁-C₆ 烷基、芳基、-C₁-C₆ 烷基 - 芳基、- 芳基 - 芳基、-X-R⁶、-R⁷-C(O)R⁵、-S(O)₂R⁵、肽、树枝状化合物或树枝状多肽, 其中

[0066] X 是 -O-、-S- 或 -N(R³)- ;

[0067] R⁵ 是 -CH(R⁵¹)N(R⁵²)₂ ; 选择性地被 1 至 3 个基团取代的 C₁-C₆ 烷基, 所述 1 至 3 个基团独立地是 - 卤素、COOR⁵³、-N(R⁵²)₂ ; 芳基 ; 或杂芳基, 其中

[0068] R⁵¹ 是 -H ; 芳基 ; 杂芳基 ; 选择性地被 -OH 取代的 C₁-C₆ 烷基 - 芳基 ; C₁-C₆ 烷基 - 杂芳基 ; 或选择性地被 -OR⁵³、-SR⁵³、-NH₂、-N(H)C(=NH)NH₂、-COOR⁵³ 或 -C(O)N(R⁵³)₂ 取代的 C₁-C₆ 烷基 ; 且 R⁵² 是 -H、C₁-C₆ 烷基、-C(O)R⁵³、C(O)OR⁵³、-C(O)NH(C₁-C₆ 烷基)、-C(O)N(R⁵³)₂、-C(O)芳基或 -C(O)杂芳基 ;

[0069] R⁵³ 是 -H、C₁-C₆ 烷基或 C₁-C₆ 烷基 - 芳基 ;

[0070] R⁶ 是 -H 或 C₁-C₆ 烷基 ;

[0071] 且

[0072] R^7 是 $-L^1-R^8$, 其中

[0073] L^1 是 $-C(O)N(R^3)-$ 、 $-C(S)N(R^3)-$ 、 $-C(O)CH(R^{21})-$ 、 $-C(O)(O)$ 或 $-C(O)-L^2-$, 其中

[0074] R^{21} 是 $-H$; 芳基; 杂芳基; 选择性地被 $-OH$ 取代的 C_1-C_6 烷基-芳基; C_1-C_6 烷基-杂芳基; 或选择性地被 $-OR^{23}$ 、 $-SR^{23}$ 、 $-NH_2$ 、 $-N(H)C(=NH)NH_2$ 、 $-COOR^{23}$ 或 $-C(O)N(R^{23})_2$ 取代的 C_1-C_6 烷基; 且

[0075] R^{23} 是 $-H$ 、 C_1-C_6 烷基或 C_1-C_6 烷基-芳基;

[0076] L^2 是 $-C_1-C_{24}$ 烷基-或-苯基- $-C_1-C_{24}$ 烷基-, 其中

[0077] 每个烷基选择性地被 1 至 4 个基团取代, 所述 1 至 4 个基团是氧代、 $=S$ 或 $-COOH$; 且

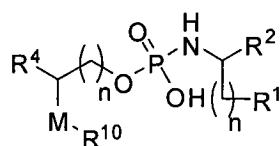
[0078] 每个烷基中的 1 至 6 个亚甲基选择性地被 $-O-$ 、 $-S-$ 或 $-N(R^3)-$ 代替, 条件是相邻的两个亚甲基不同时被 $-O-$ 、 $-S-$ 或 $-N(R^3)-$ 代替; 且

[0079] R^8 是 $-H$ 、 $-NH_2$ 或 $-OH$; 且

[0080] Q 是 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-N(R^3)-$ 、 $-N(R^3)O-$ 、 $-ON(R^3)-$ 、 $-CH_2-$ 或 $=NO-$ 。

[0081] 在第一方面的优选实施方式中, 本发明提供了式 (III) 化合物,

[0082]

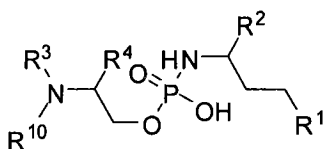


(III),

[0083] 及其药学可接受的盐, 其中每个变量如对式 (II) 所定义。

[0084] 在第一方面的优选实施方式中, 本发明提供了式 (IV) 化合物,

[0085]



(IV),

[0086] 及其药学可接受的盐, 其中每个变量如对式 (II) 所定义。

[0087] 在式 (II)-(IV) 的优选实施方式中, R^1 和 R^2 各自是 $-C(O)OH$ 。

[0088] 在式 (II)-(IV) 的优选实施方式中, R^4 是 $-C(O)OH$ 。

[0089] 在式 (II)-(IV) 的更优选的实施方式中, R^1 、 R^2 和 R^4 各自是 $-C(O)OH$ 。

[0090] 在式 (II)-(IV) 的优选实施方式中, R^{10} 是 $-C(O)-$ 苯基。

[0091] 在式 (II)-(IV) 的更优选的实施方式中, R^{10} 是 R^7 。

[0092] 在式 (II)-(IV) 的更优选的实施方式中, R^{10} 是 R^7 , 其中

[0093] R^7 是 $-L^1-R^8$, 其中

[0094] L^1 是 $-C(O)-L^2-$, 其中

[0095] L^2 是 $-C_1-C_{24}$ 烷基-或-苯基- $-C_1-C_{24}$ 烷基-, 其中

[0096] 每个烷基选择性地被 1 至 4 个基团取代, 所述 1 至 4 个基团是氧代、 $=S$ 或 $-COOH$;

且

[0097] 每个烷基中的 1 至 6 个亚甲基选择性地被 -O-、-S- 或 -N(R³)- 代替,条件是相邻的两个亚甲基不同时被 -O-、-S- 或 -N(R³)- 代替;且

[0098] R⁸ 是 -H、-NH₂ 或 -OH。

[0099] 在式 (II)-(IV) 的更优选的实施方式中, R¹⁰ 是 R⁷, 其中

[0100] R⁷ 是 -L¹-R⁸, 其中

[0101] L¹ 是 -C(O)-L²-, 其中

[0102] L² 是 -C₁-C₂₄ 烷基 - 或 - 苯基 -C₁-C₂₄ 烷基 -, 其中 每个烷基选择性地被 1 至 4 个基团取代, 所述 1 至 4 个基团是氧代或 -COOH; 且

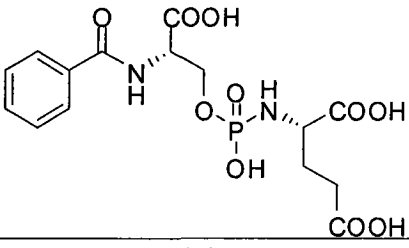
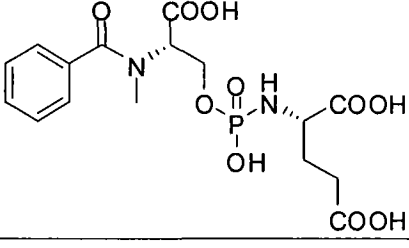
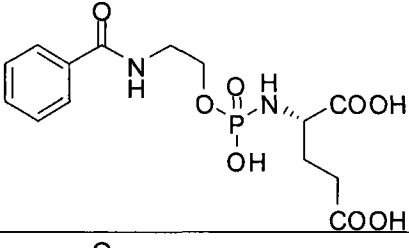
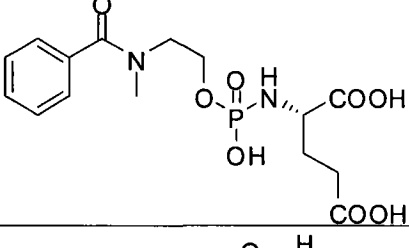
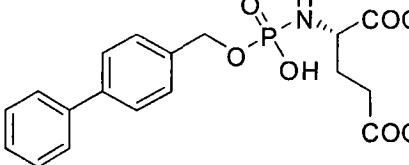
[0103] 每个烷基中的 1 至 6 个亚甲基选择性地被 -O- 或 -N(R³)- 代替, 条件是相邻的两个亚甲基不同时被 -O- 或 -N(R³)- 代替; 且

[0104] R⁸ 是 -H、-NH₂ 或 -OH。

[0105] 在式 (II)-(IV) 的更优选的实施方式中, R¹⁰ 是肽、树枝状化合物或树枝状多肽。

[0106] 在第一方面更优选的实施方式中, 本发明提供式 (I) 的化合物, 这些化合物是

[0107]

化合物	名称	结构
T33	<i>N</i> -{[(2 <i>S</i>)-2-(苯甲酰基氨基)-2-羧基乙氧基](羟基)磷酸基}-L-谷氨酸	
L36	<i>N</i> -[{(2 <i>S</i>)-2-[苯甲酰基(甲基)氨基]-2-羧基乙氧基}(羟基)磷酸基]-L-谷氨酸	
TC5074	<i>N</i> -{[2-(苯甲酰基氨基)乙氧基](羟基)磷酸基}-L-谷氨酸	
L101	<i>N</i> -[{2-[苯甲酰基(甲基)氨基]乙氧基}(羟基)磷酸基]-L-谷氨酸	
NC-2-29	<i>N</i> -[(联苯-4-基甲氧基)(羟基)磷酸基]-L-谷氨酸	

[0108]

化合物	名称	结构
MP1E	<i>N</i> -[(2-羧基-4-苯基丁氧基)(羟基)磷酰基]-L-谷氨酸	
MP1D	<i>N</i> -[羟基(4-苯基丁氧基)磷酰基]-L-谷氨酸	
LW-5-40	<i>N</i> -{[(2 <i>S</i>)-2-{[4-(氨基甲基)苯甲酰基]氨基}-2-羧基乙氧基](羟基)磷酰基}-L-谷氨酸	
LW-54	L-γ-谷氨酰基-O-[[[(1 <i>S</i>)-1,3-二羧丙基]氨基](羟基)磷酰基]-L-丝氨酸	
LW-5-40	<i>N</i> -{[(2 <i>S</i>)-2-氨基-2-羧基乙氧基](羟基)磷酰基}-L-谷氨酸	
LW-II-108	<i>N</i> -{[(2 <i>S</i>)-20-氨基-2-羧基-4,8-二氧代-6,12,15,18-四氧杂-3,9-二氮杂二十碳烷-1-基]氧基}(羟基)磷酰基]-L-谷氨酸	

[0109] 在第二方面,本发明包括一种嵌合化合物,其包含与可检测标记、治疗剂或连接至固体支撑物的生物分子锚(anchor)共价键合的根据本发明第一方面的化合物。固体

支撑物的例子包括可通过商业渠道获得的涂有聚赖氨酸、马来酸酐或抗生蛋白链菌素 (streptavidin) 的 96 孔板。其它固体支撑物包括可通过商业渠道获得的涂有金的传感器芯片或官能化的涂有金的传感器芯片。

[0110] 在一个实施方式中,可检测标记是荧光标记。标准的荧光标记包括 Alexa Fluor 染料、BODIPY 染料、荧光素基染料、若丹明基染料、香豆素基染料和芘基染料。

[0111] 在另一实施方式中,可检测标记是特异性结合对 (specific binding pair) 的一半,例如,生物素-抗生蛋白链菌素结合对中的生物素。代表性的结合对试剂和生物分子锚包括生物素、DNA 或 RNA 的低聚核苷酸、或脂类。

[0112] 在另一实施方式中,可检测标记是能够结合放射性同位素如 ^{99}Tc 或核磁共振成像造影剂如 Gd 的螯合结构。标准的螯合剂包括 DOTA、DTPA、CHX-A”、PCTA 和 DO3A。

[0113] 可以使用标准的荧光标记、结合对试剂和螯合剂、以及本发明所述的生物分子锚。可使用本领域技术人员已知的标准方法将本发明化合物连结至这些试剂和锚和连结至治疗剂。

[0114] 治疗剂优选是下述化合物:其阻碍存在 PSMA 的细胞的一种或多种生物学过程,由此治疗或抑制与存在 PSMA 的细胞相关的病症。治疗剂可选择性地包括螯合或共价键合的细胞毒性放射性同位素如 ^{90}Y 或 ^{188}Re ,这种螯合或共价键合可以使用本领域技术人员已知的方法。

[0115] 治疗剂包括下述化合物:那些化合物通过直接附着至癌细胞的细胞表面或通过调节抗原肽在癌细胞上的表达来提高肿瘤细胞的免疫原性。选择用于共价附着的试剂将具有已知的抗癌、抗增生或细胞毒性性质。或者,这些试剂将具有已知的促进或提高作为 T 细胞免疫监视目标的细胞的免疫原性的性质。

[0116] 治疗剂也包括但不限于类固醇类试剂(如 2-甲氧基雌二醇)、米非司酮(mifepristone)、他莫昔芬(tamoxifen)、细胞凋亡诱导剂(如视黄酸(retinoic acid))、组蛋白脱乙酰酶抑制剂(如丁氯倍他松(butyrate))、诱导细胞凋亡或细胞毒性的 siRNA(如 Plk1 siRNA)、抗有丝分裂剂(如阿霉素(doxorubicin))、抗代谢物(如氨甲喋呤(methotrexate))、以及用于封装细胞毒性药物的纳米粒子或脂质体。

[0117] 在第二方面的一个实施方式中,本发明提供了式 A-L-B 的化合物及其药学可接受的盐,其中

[0118] A 是谷氨酸或谷氨酸类似物;

[0119] L 是氨基磷酸酯或氨基磷酸酯类似物;

[0120] B 是丝氨酸或丝氨酸类似物,

[0121] 其中

[0122] 该化合物通过二价连接子在化合物的任何可取代位置处共价键合至可

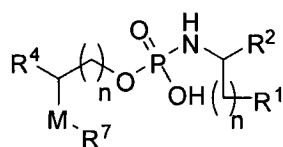
[0123] 检测标记、治疗剂或连接至固体支撑物的生物分子锚。

[0124] 在第二方面的一个实施方式中,二价连接子衍生自氨基酸、低聚肽、聚(乙)二醇、低聚乙二醇等。

[0125] 在第二方面的一个实施方式中,化合物共价键合至可检测标记。

[0126] 在第二方面的另一实施方式中,化合物共价键合至治疗剂。

[0127] 在第二方面的另一实施方式中,化合物共价键合至连接到固体支撑物的生物分子

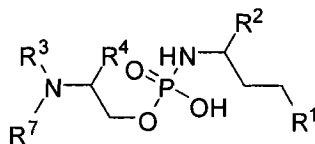


(VII),

[0149] 及其药学可接受的盐,其中每个变量如对式(VI)所定义。

[0150] 在第二方面的一个优选实施方式中,本发明提供了式(VIII)化合物,

[0151]



(VIII),

[0152] 及其药学可接受的盐,其中每个变量如对式(VI)所定义。

[0153] 在式(VI)-(VIII)的优选实施方式中, R^1 和 R^2 各自是 $-C(O)OH$ 。

[0154] 在式(VI)-(VIII)的优选实施方式中, R^4 是 $-C(O)OH$ 。

[0155] 在式(VI)-(VIII)的更优选的实施方式中, R^1 、 R^2 和 R^4 各自是 $-C(O)OH$ 。

[0156] 在式(VI)-(VIII)的更优选的实施方式中, L^1 是 $-C(O)-L^2-$,其中

[0157] L^2 是 $-C_1-C_{24}$ 烷基-或-苯基- $-C_1-C_{24}$ 烷基-,其中

[0158] 每个烷基选择性地被1至4个基团取代,所述1至4个基团是氧代、 $=S$ 或 $-COOH$;且

[0159] 每个烷基中的1至6个亚甲基选择性地被 $-O-$ 、 $-S-$ 或 $-N(R^3)-$ 代替,条件是相邻的两个亚甲基不同时被 $-O-$ 、 $-S-$ 或 $-N(R^3)-$ 代替。

[0160] 在式(VI)-(VIII)的更优选的实施方式中, L^1 是 $-C(O)-L^2-$,其中

[0161] L^2 是 $-C_1-C_{24}$ 烷基-或-苯基- $-C_1-C_{24}$ 烷基-,其中

[0162] 每个烷基选择性地被1至4个基团取代,所述1至4个基团是氧代或 $-COOH$;且

[0163] 每个烷基中的1至6个亚甲基选择性地被 $-O-$ 或 $-N(R^3)-$ 代替,条件是相邻的两个亚甲基不同时被 $-O-$ 或 $-N(R^3)-$ 代替。

[0164] 在式(VI)-(VIII)的更优选的实施方式中, L^1 是肽、树枝状化合物或树枝状多肽。

[0165] 在式(VI)-(VIII)的优选实施方式中, R^8 是可检测标记。

[0166] 在式(VI)-(VIII)的优选实施方式中, R^8 是连接至固体支撑物的生物分子锚。

[0167] 在式(VI)-(VIII)的优选实施方式中, R^8 是可检测标记,其中该标记是荧光染料。

[0168] 在式(VI)-(VIII)的优选实施方式中, R^8 是可检测标记,其中该标记是荧光染料,其中该荧光染料是基于Alexa Fluor、BODIPY、荧光素、若丹明、香豆素或芘的染料。

[0169] 在式(VI)-(VIII)的优选实施方式中, R^8 是可检测标记,其中该标记是荧光染料,其中该荧光染料是荧光素或荧光素衍生物。

[0170] 在式(VI)-(VIII)的优选实施方式中, R^8 是可检测标记,其中该标记是螯合剂。

[0171] 在式(VI)-(VIII)的优选实施方式中, R^8 是可检测标记,其中该标记是螯合剂,其中该螯合剂是DOTA、DTPA、CHX-A”、PCTA和D03A。

[0172] 在式(VI)-(VIII)的更优选的实施方式中, R^8 是 R^9 ,其中

[0173] R^9 是 C_1-C_6 烷基、芳基或 C_1-C_6 烷基-芳基, 其中 R^9 被 1 至 3 个基团取代, 所述 1 至 3 个基团独立地是 $-COOH$ 或 $N(R^{91})_2$, 其中

[0174] 每个 R^{91} 独立地是 $-H$ 或被 1 至 3 个基团取代的 C_1-C_6 烷基, 所述 1 至 3 个基团独立地是 $-COOH$ 或 $-N(R^{92})_2$, 其中

[0175] 每个 R^{92} 独立地是 $-H$ 或被 1 至 3 个 $COOH$ 取代的 C_1-C_6 烷基。

[0176] 在式 (VI)-(VIII) 的优选实施方式中, R^8 是可检测标记, 其中该标记是特异性结合对的一半。

[0177] 在式 (VI)-(VIII) 的优选实施方式中, R^8 是可检测标记, 其中该标记是特异性结合对的一半, 其中该特异性结合对的一半是生物素、DNA 或 RNA 的低聚核苷酸、或脂类。

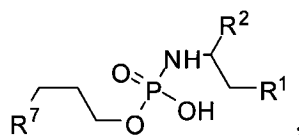
[0178] 在式 (VI)-(VIII) 的优选实施方式中, R^8 是可检测标记, 其中该标记是特异性结合对的一半, 其中该特异性结合对的一半是生物素。

[0179] 在式 (VI)-(VIII) 的优选实施方式中, R^8 是治疗剂。

[0180] 在式 (VI)-(VIII) 的更优选的实施方式中, R^8 是选择性地被 1 至 5 个基团取代的甾族基团, 所述 1 至 5 个基团选自 C_1-C_{10} 烷基、氧代、羟基或卤素。

[0181] 在第一方面的另一优选实施方式中, 本发明提供了式 (IX) 化合物,

[0182]



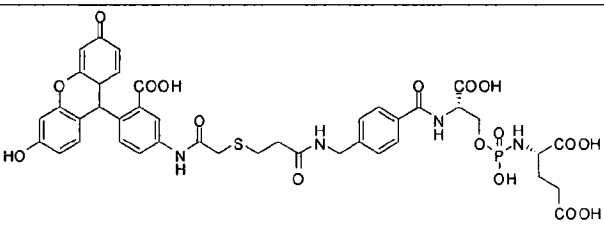
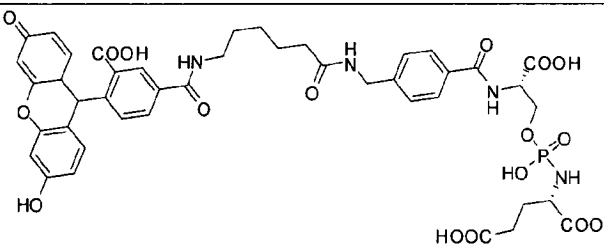
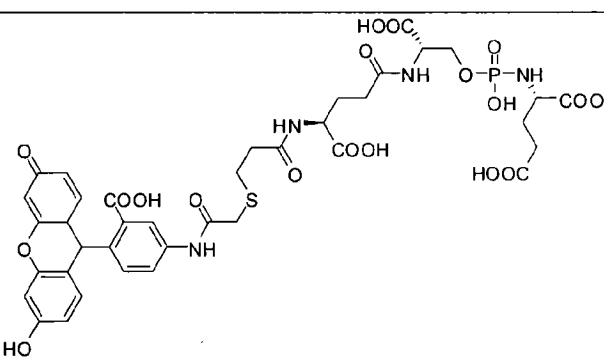
(IX)

[0183] 及其药学可接受的盐, 其中

[0184] R^7 是 $-O-R^8$, 其中 R^8 是选择性地被 1 至 5 个基团取代的甾族基团, 所述 1 至 5 个基团选自 C_1-C_{10} 烷基、氧代、羟基或卤素; 且每个剩余变量如对式 (VI) 所定义。

[0185] 在第一方面的更优选的实施方式中, 本发明提供了式 (VI) 的化合物及其药学可接受的盐, 这些化合物是:

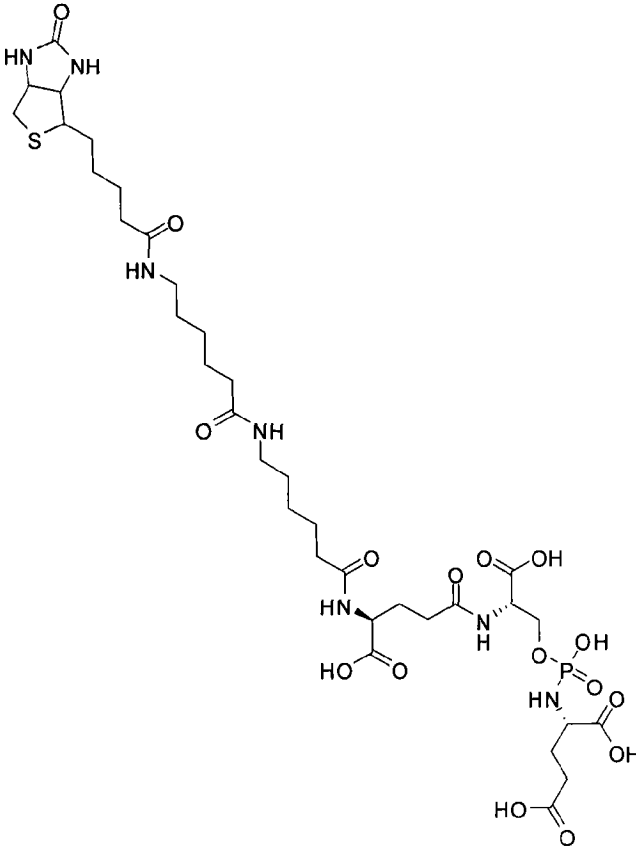
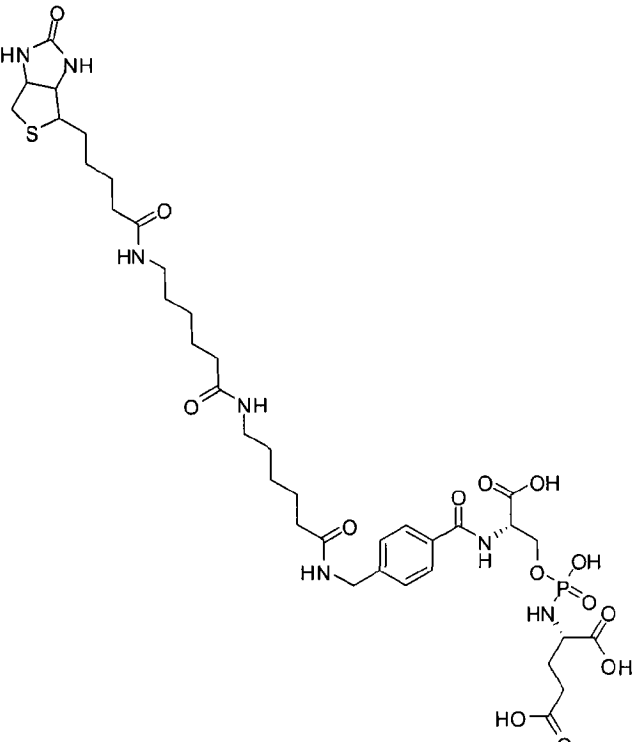
[0186]

化合物	名称	结构
LW-39-F5 EX	<i>N</i> -{[(2 <i>S</i>)-2-羧基-2-[(4-[(3-[(2-[(3-羧基-4-(6-羟基-3-氧代-9,9a-二氢化-3 <i>H</i> -咕吨-9-基)苯基]氨基}-2-氧乙基)硫代]丙酰基}氨基)甲基]苯甲酰基}氨基)乙氧基](羟基)磷酰基}-L-谷氨酸	
LW-39-5F AMX	<i>N</i> -{[(2 <i>S</i>)-2-羧基-2-[(4-[(6-[(3-羧基-4-(6-羟基-3-氧代-9,9a-二氢化-3 <i>H</i> -咕吨-9-基)苯甲酰基]氨基}己酰基)氨基)甲基]苯甲酰基}氨基]乙氧基}(羟基)磷酰基]-L-谷氨酸	
LW-54-F5 EX	<i>N</i> -{3-[(2-[(3-羧基-4-(6-羟基-3-氧代-9,9a-二氢化-3 <i>H</i> -咕吨-9-基)苯基]氨基}-2-氧乙基)硫代]丙酰基}-L-γ-谷氨酰基- <i>O</i> -[[(1 <i>S</i>)-1,3-二羧丙基]氨基](羟基)磷酰基]-L-丝氨酸	

[0187]

化合物	名称	结构
LW-54-5F AMX	<i>N</i> -(6-{[3-羧基-4-(6-羟基-3-氧代-9,9a-二氢化-3 <i>H</i> -咕吨-9-基)苯甲酰基]氨基}己酰基)- <i>L</i> - γ -谷氨酰基- <i>O</i> -[[(1 <i>S</i>)-1,3-二羧丙基]氨基](羟基)磷酰基]- <i>L</i> -丝氨酸	
L6-V1-21	<i>N</i> -[[(2 <i>S</i>)-2-羧基-2-[(3-羧基-4-(6-羟基-3-氧代-9,9a-二氢化-3 <i>H</i> -咕吨-9-基)苯基]氨基]硫代羰基]氨基]乙氧基](羟基)磷酰基]- <i>L</i> -谷氨酸	
TL-LW-54 -BnDTPA	<i>N</i> -{[(4-{2-[二(羧甲基)氨基]-3-[(2-[二(羧甲基)氨基]乙基)(羧甲基)氨基]丙基}苯基)氨基]硫代羰基}- <i>L</i> - γ -谷氨酰基- <i>O</i> -[[(1 <i>S</i>)-1,3-二羧丙基]氨基](羟基)磷酰基]- <i>L</i> -丝氨酸	

[0188]

化合物	名称	结构
TL-LW-54 -LC-LC-生 物素	<i>N</i> -{6-[(6-{[5-(2-氧六 氢-1 <i>H</i> -噻吩并[3,4- <i>d</i>] 咪唑-4-基)戊酰基]氨基 }己酰基)氨基]己酰基 }- <i>L</i> - γ -谷氨酰 基- <i>O</i> -{[(1 <i>S</i>)-1,3-二羧 丙基]氨基}(羟基)磷 酰基]- <i>L</i> -丝氨酸	
TL-LW-39 -LC-LC-生 物素	<i>N</i> -{[(2 <i>S</i>)-2-羧基-2- ({4-[(6-{[5-(2-氧六 氢-1 <i>H</i> -噻吩并[3,4- <i>d</i>] 咪唑-4-基)戊酰基]氨基 }己酰基)氨基]己酰基 }氨基)甲基]苯甲酰基 }氨基)乙氧基](羟基)磷 酰基]- <i>L</i> -谷氨酸	

[0189]

化合物	名称	结构
LW-S-120 A1	<i>N</i> -[3-[(3 β ,8 ξ ,9 ξ ,14 ξ ,17 ξ ,20 ξ)-胆甾烷-3-基-氧基]丙氧基}(羟基)磷酰基]-L-谷氨酸	
LW-S-120 A3	<i>N</i> -[羟基(3-[[3-[(3 β ,8 ξ ,9 ξ ,14 ξ)-17-氧代雄甾烷-3-基]氧基}丙氧基)磷酰基]-L-谷氨酸	
LW-A-149	<i>N</i> -{[(3 β ,8 ξ ,9 ξ ,14 ξ ,17 ξ ,20 ξ)-胆甾烷-3-基-氧基](羟基)磷酰基}-L-谷氨酸	
LW-S-120 A2	<i>N</i> -(羟基{[(3 β ,8 ξ ,9 ξ ,14 ξ)-17-氧代雄甾烷-3-基]氧基}磷酰基)-L-谷氨酸	
LW-A-152	<i>N</i> -[羟基(3-[[17-氧代雌甾烷-1(10),2,4-三烯-3-基]氧基}丙氧基)磷酰基]-L-谷氨酸	
LW-A-151	<i>N</i> -[3-{3-(苯甲酰氧基)雌甾烷-1(10),2,4-三烯-17-基]氧基}丙氧基}(羟基)磷酰基]-L-谷氨酸	

[0190] 在第三方面,本发明包括一种包含根据本发明第二方面的嵌合化合物或其药学可接受的盐以及药学可接受的载体、稀释剂或赋形剂的组合物。

[0191] 在第四方面,本发明包括一种包含根据本发明第二方面的嵌合化合物的诊断药

盒。在根据本发明该方面的一个实施方式中,可检测标记或生物分子锚是特异性结合对的一部分(例如,生物素),且药盒包括该特异性结合对的其它部分。

[0192] 在第五方面,本发明包括一种存在 PMSA 的细胞的检测方法,其包括:使疑似存在 PMSA 的细胞与根据本发明第二方面的嵌合化合物接触,并在下述条件下测量可检测标记的存在:在该条件中只有当可检测标记结合至存在 PMSA 的细胞时才能被检测出来。如何检测可检测标记当然将取决于所使用的标记,本领域技术人员将很清楚如何检测可检测标记。例如,如果可检测标记是近红外荧光标记,则可以使用体内荧光成像来检测标记。

[0193] 在第六方面,本发明包括一种抑制或治疗与存在 PMSA 的细胞相关的病症的方法,该方法包括:使细胞接触根据本发明第二方面的化合物或根据本发明第三方面的组合物,或者使根据本发明第二方面的化合物或根据本发明第三方面的组合物接触细胞,其中嵌合化合物包括与治疗剂共价键合的根据本发明第一方面的化合物。在该方面的一个实施方式中,本发明包括对患有与存在 PMSA 的细胞相关的病症的哺乳动物受试者(优选人类)给予有效抑制或治疗该病症的量的组合物。合适的制剂和给药方法可以使用标准方法来常规地确定。

[0194] 在第七方面,本发明包括一种捕获、检测和计量存在 PMSA 的细胞的方法,该方法包括使疑似存在 PMSA 的细胞与根据本发明第二方面的嵌合化合物接触,并检测被捕获或固定的存在 PMSA 的细胞。在第七方面的优选实施方式中,将第二方面的嵌合化合物连结至固体支撑物上的生物分子锚。如何检测细胞当然将取决于所使用的传感器设备,本领域技术人员将很清楚如何检测细胞。例如,如果根据本发明第二方面的嵌合化合物被连结至固体支撑物,则可以使用等离子体共振直接检测存在 PMSA 的细胞,或者可以使细胞脱离并用荧光标记标记后使用流动细胞计数器(flow cytometry)来检测存在 PMSA 的细胞。

[0195] 可用于本发明的代表性树枝状化合物在 J. M. J. Fréchet 和 D. A. Tomalia 的 Dendrimers and Other Dendritic Polymers, John Wiley & Sons, Ltd. NY, NY (2002) 中描述。

[0196] 可用于本发明的组合的代表性化合物包括上述那些化合物,以及它们的药学可接受的酸加成盐和碱加成盐及其溶剂化物。如果得到的本发明化合物为酸加成盐,则可以通过将酸性盐溶液碱化而得到游离碱。相反,如果产物是游离碱,则加成盐(尤其是药学可接受的加成盐)可以根据从碱性化合物制备酸加成盐的常规方法,通过将游离碱溶解在适合的有机溶剂中并用酸处理该溶液来制备。

[0197] 无毒的药学可接受的盐包括例如下列酸的盐:盐酸、磷酸、氢溴酸、硫酸、亚磺酸、甲酸、甲苯磺酸、甲磺酸、硝酸、苯甲酸、柠檬酸、酒石酸、马来酸、氢碘酸、链烷酸如乙酸、以及 $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_n-\text{COOH}$ (其中 n 是 0-4) 等。无毒的药学可接受的碱加成盐包括如钠、钾、钙、铵等碱的盐。本领域技术人员将认识到多种无毒的药学可接受的加成盐。

[0198] 本发明的化合物和/或其组合物在抑制和/或治疗动物和人的与 PMSA 相关的病症中具有特殊的用途。因此,本发明的另一方面是将治疗有效量的一种或多种本发明的化合物或含一种或多种本发明化合物的组合物给予需要治疗这种与 PMSA 相关的病症的患者。优选患者是哺乳动物,更优选人。当在这种情况下使用时,可以给予化合物本身,但通常以药物组合物的形式配制并给药。其中精确的组合物取决于给药方法,并且对本领域技术人员而言将是显而易见的。多种适合的药物组合物例如在 Remington 的 Pharmaceutical

Sciences, 20thed., (2001) 中描述。

[0199] 适于口服给药的制剂可包括:(a) 液体溶液,例如悬浮在稀释剂如水、盐水或 PEG400 中的有效量的活性化合物;(b) 胶囊剂、药包(sachet)或片剂,每种含预定量的呈液体、固体、颗粒或凝胶形式的活性成分;(c) 在合适液体中的悬浮液;以及(d) 合适的乳状液。片剂形式可包括乳糖、蔗糖、甘露醇、山梨醇、磷酸钙化合物、玉米淀粉、土豆淀粉、微晶纤维素、凝胶、胶体二氧化硅、滑石、硬脂酸镁、硬脂酸和其它赋形剂、着色剂、填料、粘合剂、稀释剂、缓冲剂、湿润剂、防腐剂、调味剂、染料、崩解剂和药学相容的载体中的一种或多种。锭剂形式可以包括在调味剂如蔗糖中的活性成分,以及包括在惰性基质如凝胶和甘油或蔗糖和阿拉伯胶乳液、凝胶等中包含活性成分的软锭剂(pastilles),该惰性基料除活性成分之外还包含本领域已知的载体。

[0200] 所选化合物(单独或与其它合适的组分组合)可以制成气雾剂(即,它们能够被“雾化”)以经吸入给药。气雾剂可以被置于例如二氯二氟甲烷、丙烷、氮等的可加压喷射剂中。

[0201] 适于直肠给药的制剂包括,例如,由用栓剂基质包裹的核酸组成的栓剂。合适的栓剂基质包括天然或合成的甘油三酯或石蜡烃。而且,也可以使用明胶直肠胶囊,其由所选化合物与基质的组合组成,该基质包括例如液体甘油三酯、聚乙二醇和石蜡烃。

[0202] 适于胃肠外给药(例如,通过关节内(在关节中)、静脉内、肌肉内、皮内、腹膜内和皮下途径给药)的制剂包括含水和非水等渗无菌注射液,该注射液可含有抗氧化剂、缓冲剂、抑菌剂和使该制剂与预期受体的血液等渗的溶质;以及含水和非水无菌悬浮液,该悬浮液可包含悬浮剂、增溶剂、增稠剂、稳定剂和防腐剂。在本发明的实践中,组合物可以例如通过静脉输注、口服、外用、腹膜内、膀胱内或鞘内给药。肠胃外给药、口服给药、皮下给药和静脉内给药是优选的给药方法。合适的溶液制剂的具体例子可包括约 0.5-100mg/ml 化合物和约 1000mg/ml 丙二醇/水。适合的溶液制剂的另一具体例子可包括约 0.5-100mg/ml 化合物和约 800-1000mg/ml 聚乙二醇 400(PEG400)/水。

[0203] 适合的悬浮液制剂的具体例子可包括约 0.5-30mg/ml 化合物和在水中一种或多种选自下组的赋形剂:约 200mg/ml 乙醇、约 1000mg/ml 植物油(例如,玉米油)、约 600-1000mg/ml 果汁(例如,葡萄柚汁)、约 400-800mg/ml 牛奶、约 0.1mg/ml 羧甲基纤维素(或微晶纤维素)、约 0.5mg/ml 苯甲醇(或苯甲醇和苯扎氯铵的组合)和约 40-50mM pH 为 7 的缓冲液(例如,磷酸盐缓冲液、乙酸盐缓冲液或柠檬酸盐缓冲液,或者,可使用 5% 右旋糖代替缓冲液)。

[0204] 适合的脂质体悬浮液制剂的具体例子可包括约 0.5-30mg/ml 化合物、约 100-200mg/ml 卵磷脂(或其它磷脂或磷脂混合物)和选择性地约 5mg/ml 胆固醇的水悬浮液。对于化合物 9 的皮下给药,脂质体悬浮液制剂提供良好的结果,所述脂质体悬浮液制剂包括在含有 100mg/ml 卵磷脂的水中的 5mg/ml 化合物和在含有 100mg/ml 卵磷脂和 5mg/ml 胆固醇的水中的 5mg/ml 化合物。这种制剂也可用于本发明的其它化合物。

[0205] 可以将化合物制剂装入单位剂量或多剂量密封容器中,例如安瓿(ampule)和小瓶(vial)中。注射溶液和悬浮液可以由前述种类的无菌粉剂、粒剂和片剂制备。

[0206] 药物制剂优选为单位剂量的形式。在这种形式中,制剂被分为含适当量活性组分的单位剂量。单位剂量形式可以是包装制剂,该包装含有离散量的制品,如在小瓶或安瓿中

包装的片剂、胶囊剂和粉剂。此外,单位剂量形式可以是胶囊剂、片剂、药包或锭剂自身,或者其可以是包装形式的适当数量的任何这些制剂。如果需要,组合物也可以包含其它可相容的治疗剂,下面更详细地讨论这些可相容的治疗剂。

[0207] 在另一方面,本发明包括一种制备用于治疗 and / 或抑制与 PMSA 相关的病症的组合物方法,该方法包括使本发明的化合物与药学可接受的载体、稀释剂和 / 或赋形剂混合。

[0208] 在治疗与 PMSA 相关的病症的治疗用途中,将在本发明药学方法中利用的化合物以适于获得治疗益处的剂量水平给予被诊断患有与 PMSA 相关的病症的患者。治疗益处指的是给予该化合物会随时间在患者体内导致有益的效果。如果给予该化合物的减慢或完全停止了与 PMSA 相关的病症通常伴有的不良症状,则也获得了治疗益处。

[0209] 也可以将本发明化合物和 / 或其组合物预防性地给予具有罹患与 PMSA 相关的病症的风险的患者。

[0210] 适于给予人类的初始剂量可以根据体外试验或动物模型来确定。例如,初始剂量可以配制为在体外试验中测量时获得包括被给药的特定化合物的 IC_{50} 的血清浓度。或者,对于人类的初始剂量,可以基于在与 PMSA 相关的病症的动物模型中有效的剂量。示例性的合适模型体系例如在 Muchmore 的 2001, Immunol. Rev. 183 :86-93 和 Lanford & Bigger 的 2002, Virology, 293 :1-9 以及本文中引用的文献中描述。作为一个例子,初始剂量可以是约 0.01mg/kg/ 天至约 200mg/kg/ 天,或者约 0.1mg/kg/ 天至约 100mg/kg/ 天,或者约 1mg/kg/ 天至约 50mg/kg/ 天,或者也可使用约 10mg/kg/ 天至约 50mg/kg/ 天。然而,剂量可以根据患者的需求、治疗状况的严重程度和所使用的化合物而改变。剂量大小也将通过伴随着将特定化合物给予特定患者的任何不良副作用的存在、种类和程度来确定。确定特定条件下的准确剂量在从业者的技能范围内。通常,用小于化合物最佳剂量的较小剂量开始治疗。其后,小量地增加剂量,直到达到使用条件下的最佳效果。如果需要,可以将每天的总剂量分开,并为方便起见在一天内分份给药。

[0211] 定义

[0212] 本发明的所有化合物均使用 ACD/Name8.00 (Product Release8.17, Build : 04May2005 ;<http://www.acdlabs.com> ;Toronto, ON, Canada) 命名。

[0213] 本发明化合物可以作为立体异构体存在,其中存在不对称中心或手性中心。本发明设想了各种立体异构体及其混合物,它们明确地包含在本发明范围内。立体异构体包括对映体、非对映体、以及对映体或非对映体的混合物。

[0214] 除非另外定义,本发明中使用的术语“烷基”指的是含 1 至 24 个碳原子的直链或支链烃。烷基的代表性例子包括但不限于甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、异丁基、叔丁基、正戊基、异戊基、新戊基、正己基、3- 甲基己基、2,2- 二甲基戊基、2,3- 二甲基戊基、正庚基、正辛基、正壬基和正癸基。

[0215] 本发明中使用的术语“烷基 - 芳基”指的是经本发明所定义的烷基键合至母体部分的本发明所定义的芳基。烷基 - 芳基的例子包括但不限于苄基和苯乙基。

[0216] 本发明中使用的术语“烷基 - 杂芳基”指的是经本发明所定义的烷基键合至母体部分的本发明所定义的杂芳基。烷基 - 杂芳基的例子包括但不限于吡啶基甲基和 2- 吡啶基乙基。

[0217] 本发明中使用的术语“芳基”指的是苯基或二环芳基或三环芳基。二环芳基是萘

基或与环烷基稠和的苯基或与环烯基稠和的苯基。二环芳基通过二环芳基中所含的任何碳原子连接至母体分子部分。二环芳基的代表性例子包括但不限于二氢茛基、茛基、萘基、二氢萘基和四氢萘基。三环芳基是蒽或菲或与环烷基稠和的二环芳基或与环烯基稠和的二环芳基或与苯基稠和的二环芳基。三环芳基通过三环芳基中所含的任何碳原子连接至母体分子部分。三环芳基的代表性例子包括但不限于蒽基 (azuleny1)、二氢蒽基、茛基和四氢菲基。

[0218] 本发明中使用的术语“杂芳基”指的是单环杂芳基或二环杂芳基。单环杂芳基是 5 或 6 元环。5 元环包含 2 个双键和 1、2、3 或 4 个氮原子,并 选择性地含有 1 个氧或硫原子。6 元环包含 3 个双键和 1、2、3 或 4 个氮原子。5 或 6 元杂芳基通过杂芳基中所含的任意碳原子或任意氮原子连接至母体分子部分。单环杂芳基的代表性例子包括但不限于呋喃基、咪唑基、异噁唑基、异噻唑基、噁二唑基、噁唑基、吡啶基、哒嗪基、嘧啶基、吡嗪基、吡唑基、吡咯基、四唑基、噻二唑基、噻唑基、噻吩基、三唑基和三嗪基。二环杂芳基包括与苯基稠和的单环杂芳基或与环烷基稠和的单环杂芳基或与环烯基稠和的单环杂芳基或与单环杂芳基稠和的单环杂芳基。二环杂芳基通过二环杂芳基中所含的任意碳原子或任意氮原子连接至母体分子部分。二环杂芳基的代表性例子包括但不限于苯并咪唑基、苯并呋喃基、苯并噻吩基、苯并噁二唑基、噌啉基、二氢喹啉基、二氢异喹啉基、呋喃并吡啶基、吲唑基、吲哚基、异喹啉基、二氮杂萘基、喹啉基、四氢喹啉基和噻吩并吡啶基。

[0219] 本发明中使用的术语“卤代”或“卤素”指的是 -Cl、-Br、-I 或 -F。

[0220] 本发明中使用的术语“羟基”指的是 -OH 基团。

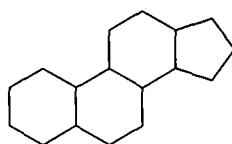
[0221] 本发明中使用的术语“亚甲基”指的是 -CH₂- 基团。

[0222] 本发明中使用的术语“氧代”指的是 = O 部分。

[0223] 本发明中使用的术语“肽”指的是具有 2 至 10 个氨基酸残基的肽。

[0224] 本发明中使用的术语“甾体”指的是具有广义四环结构的基团的单价基团,

[0225]



[0226] 其中四环结构可以是完全饱和的,或者可以含有一个或多个不饱和键,并且可以在任意可用的取代位置处键合至母体部分。例如,环状亚基中的一个或多个可以是芳基。

[0227] 本发明中使用的术语“谷氨酸类似物”指的是意图模仿谷氨酸结构的化学结构。围绕谷氨酸的分子骨架设计该结构,其由氨基或氨基的生物电子等排体以及两个羧基或羧基的生物电子等排体组成,这些基团彼此的相对位置与在谷氨酸结构中相似。例如,氨基可以被硫醇、羟基、羟胺基、肟或亚甲基代替。羧基中的一个或两个可以被羧酰胺、膦酸 (phosphonate)、磷酸 (phosphate)、磺酸 (sulfonate) 或四唑基团代替。谷氨酸类似物也包括环 状和非环状化学结构以及同系 (较短或较长) 结构。近来回顾了具有生物活性且能够用于本发明的谷氨酸类似物的例子。Aspartate and glutamate mimetic structures in biologically active compounds. (Stefanic P, Dolenc MS. Curr MedChem. 2004Apr ; 11(8) :945-68),在此通过引用将其全部内容并入本发明。

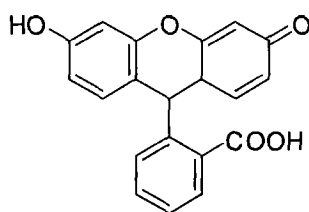
[0228] 本发明中使用的术语“丝氨酸类似物”指的是用来模拟丝氨酸结构的化学结构。围

绕丝氨酸的分子骨架设计该结构,其包括氨基或氨基的生物电子等排体、羧基或羧基的生物电子等排体、以及羟基或羟基的生物电子等排体,这些基团彼此的相对位置与在丝氨酸自身结构中相似。例如,氨基可以被硫醇(thiol)、羟基或亚甲基代替。羧基可以被羧酰胺、膦酸、磷酸、磺酸或四唑基代替。羧基可以被全部去除。羟基可以被氨基、硫醇或亚甲基代替。丝氨酸类似物也包括环状和非环状化学结构以及同系(较短或较长)结构。

[0229] 本发明中使用的术语“氨基磷酸酯类似物”指的是模拟具有结合锌的能力的氨基磷酸酯分子结构的化学结构。例如,氨基磷酸酯类似物可以是氨基膦酸酯、膦酸酯、磷酸酯、次膦酸酯、氨磺酰、脲、N-羟基脲、硫脲、氨基甲酸酯、异羟肟酸酯、反异羟肟酸酯(reverse hydroxamate)、N-羟基酰胺或N-羟基氨基甲酸酯基团。

[0230] 术语“荧光素”是指下面通式的化合物,

[0231]



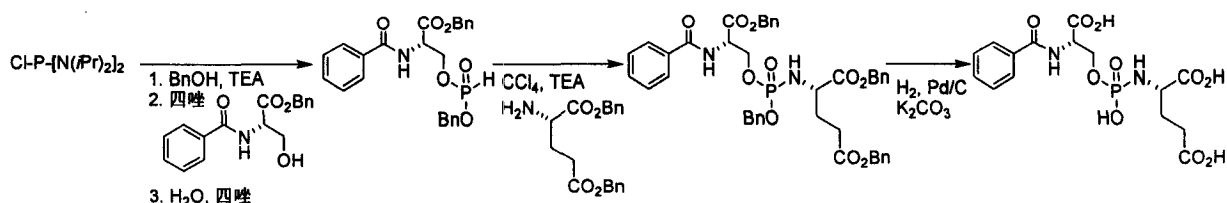
[0232] 术语“荧光素衍生物”是指选择性地被1至3个基团取代的本发明定义的荧光素,所述1至3个基团独立地是卤素或烷基,每个卤素或烷基均如本发明所定义。

[0233] 实施例

[0234] 方案1表示用于合成氨基磷酸酯抑制剂T33的代表性合成方案。使用这个通用策略,超过15种不同结构的氨基磷酸酯T33类似物已经被合成出来。这个方案与标准合成方法的结合能够用于制备根据本发明第一方面的化合物。根据这一点,可以使用标准合成方法常规地制备根据本发明第二方面的化合物。

[0235] 方案1

[0236]



[0237] 实施例1

[0238] PMSA 抑制作用试验

[0239] 改 写 自 Maung, J. ;Mallari, J.P. ;Girtsman, T.A. ;Wu, L.Y. ;Rowley, J. A. ;Santiago, N. M. ;Brunelle, A. ;Berkman, C.E. 的 Probing for a Hydrophobic aBinding Register in Prostate-Specific Membrane Antigen with Phenylalkylphosphonamidates. Bioorg. Med. Chem. 2004, 12, 4969.

[0240] 在 TRIS 缓冲液 (50mM, pH 7.4) 中制备底物 (N-[4-(苯偶氮基)苯甲酰基]-谷氨酰基-γ-谷氨酸, PAB-Glu-γ-Glu) 和所有抑制剂的工作溶液。将纯化的 PSMA 的工作溶液在 TRIS 缓冲液 (50mM, pH 7.4) 中适当地稀释,以便在不存在抑制剂时提供 15%至 20%的底物向产物的转化率。通过在试管中将 25 μL 抑制剂溶液或 25 μL TRIS 缓冲液 (50mM,

pH 7.4) 加入到 175 μ L TRIS 缓冲液 (50mM, pH 7.4) 中来制备典型的孵育混合物 (最终体积 250 μ L)。将体积为 25 μ L 的 PAB-Glu- γ -Glu (100 μ M) 加入到上述溶液中。通过加入 25 μ L 的 PSMA 工作溶液引发酶促反应。在所有情况中, PAB-Glu- γ -Glu 的最终浓度是 10 μ M, 同时将酶用 5 个连续稀释的抑制剂浓缩物孵育 (incubated) 以提供 10% 至 90% 抑制率的抑制范围。在持续振荡下使反应于 37°C 进行 15 分钟, 并通过加入 25 μ L TFA 的甲醇溶液 (2 体积% 三氟乙酸的甲醇溶液) 终止反应, 然后涡动搅拌。通过加入 25 μ L K_2HPO_4 (0.1M) 迅速缓冲处理淬灭的孵育混合物, 涡动搅拌并离心分离 (10 分钟, 7000g)。接着使用 HPLC 计量所得上清液的 85 μ L 等分试样 (aliquot)。使用 KaleidaGraph 3.6 (SynergySoftware) 计算 IC_{50} 值。

[0241] 使用分析用反相 HPLC 柱 (Lichrosphere C18 5 μ m, 150 $\times$ 4.6mm; Phenomenex, Torrence, CA) 将 PABG γ G 及其水解产物 (PABG) 分离并计量, 所述分析用反相 HPLC 柱具有由各自体积比为 40 : 60 的 ACN/ 磷酸钾 [25 mM, pH2.0 (用 H_3PO_4 调节)] 组成的流动相。在流动速率为 1.0 毫升 / 分钟条件下, 在 325 纳米处检测 PABG γ G 及其水解产物 (PABG), 保留时间分别为 4.8 和 6.9 分钟。

[0242] 实施例 2

[0243] 通过 γ -二谷氨酸的氨基磷酸酯类似物的分子修剪来识别强效 PSMA 抑制剂

[0244] 我们设计并合成了氨基磷酸酯 T33 作为抑制 PSMA 的先导化合物。它的设计是基于已知的 PSMA 底物如叶酸类似物的 γ -谷氨酸衍生物的结构。T33 的初始筛选表明, 它显示出相当的抑制 PSMA 的效能 (IC_{50} <50nM)。为更好地理解 T33 的各种结构成分对于 PSMA 抑制效能的重要性, 我们进行了分子修剪研究, 其中我们创建了如图 1 中所示的 T33 类似物库。这个库中的三个化合物的合成在文献: CCS、JM139 (Lu, H.; Ng, R.; Shieh, C. C.; Martinez, A. R.; Berkman, C. E. Inhibition of Glutamate Carboxypeptidase by Phosphoryl and Thiophosphoryl Derivatives of Glutamic and 2-Hydroxyglutaric Acid. Phosphorus, Sulfur and Silicon, 2003, 178, 17) 和 2-PMPA (Jackson, P. F.; Cole, D. C.; Slusher, B. S.; Stetz, S. L.; Ross, L. E.; Donzanti, B. A.; Trainor, D. A. Design, synthesis, and biological activity of a patent inhibitor of the neuropeptidase N-acetylated-linked acidic dipeptidase. J. Med. Chem. 1996, 39, 619-622.) 中已有叙述。图 1、图 2 和图 7-12 中的剩余化合物是本发明的新化合物。

[0245] 使用在实施例 1 中描述的试验来筛选图 1、图 2 和图 7-12 中描述的库中的所有化合物的抑制 PSMA 的效能。

[0246] 筛选图 1 库中的化合物抑制纯化 PSMA 的效能表明两个通用结构显示出优良的抑制效能: 未修剪的氨基磷酸酯拟肽化合物如 T33 和 L36, 以及简单的 P1' 类似物如 CCS、JM140 和 2-PMPA, 所述纯化的 PSMA 使用我们已发表的方法 (Purification of Prostate-Specific Membrane Antigen with Conformational Epitope-Specific Antibody-Affinity Chromatography. Liu, T.; Toriyabe, Y.; Berkman, C. E. Prot. Exp. Purif. 2006, 49, 251.) 从 LNCaP 细胞纯化。

[0247] 尽管缺少另外的亲和性原理, 仍假定 CCS、JM140 和 2-PMPA 的二元磷酸基序 (motif) 通过与 PSMA 活性部位锌原子的强相互作用造成它们对 PSMA 的亲和性增强。令人感兴趣的是, 在简单的疏水类似物 MP1D 中保持有相当的亲和性。当我们制备并筛选了含

体的氨基磷酸酯抑制剂库（图 2）时，进一步证实了 PSMA 对疏水和空间位阻高的配体的适应能力。当使用在实施例 1 中描述的试验测定时，图 2 中的所有化合物均显示小于 $1\ \mu\text{M}$ 的 IC_{50} 。MP1D 和含甾体的氨基磷酸酯抑制剂的抑制试验结果与我们先前的成果相符合，在先前的成果中，我们识别出远离 PSMA 中心催化体系的疏水结合区的存在（Maung, J. ;Mallari, J. P. ;Girtsman, T. A. ;Wu, L. Y. ;Rowley, J. A. ;Santiago, N. M. ;Brunelle, A. ;Berkman, C. E. Probing for a Hydrophobic aBinding Register in Prostate-Specific Membrane Antigen with Phenylalkylphosphonamidates. Bioorg. Med. Chem. 2004, 12, 4969.）。

[0248] 实施例 3

[0249] T33 类似物对 PSMA 的与时间相关且不可逆的抑制作用

[0250] 预料不到的是，我们发现在 T33 类似物库（图 1）中的抑制 PSMA 的化合物不仅是强效的 PSMA 抑制剂，而且如图 3 中所示呈现出与时间相关的酶活性丧失。这个独特的结果使我们猜测 T33 及其类似物是独特的缓慢结合抑制剂。在一些情况中，抑制作用看来是不可逆的。对于 T33、L36 和 MP1E 来说情况确实是这样，因为将这些化合物（图 4）抑制的酶稀释 100 倍并不能恢复 PSMA 活性。这些结果强烈暗示：T33、L36 和 MP1E 或者是 PSMA 的酶激活不可逆抑制剂，或者是可能导致显著的构象改变和可能对酶造成共价损害的 PSMA 的功能性不可逆抑制剂。除 T33、L36 和 MP1E 之外，我们近来已经证实 LW-54 和 LW-39 也是 PSMA 的不可逆抑制剂。基于对文献的纵览，这是首次发现 PSMA 的与时间相关且不可逆的抑制剂。尽管磷酸衍生物对锌肽酶和锌蛋白酶的缓慢结合抑制作用是已知现象，但是这些酶的酶激活不可逆抑制剂是罕见的。在图 5 中将来自图 1 的抑制剂分类为不可逆和缓慢可逆抑制剂。在图 5 中显示的所有化合物均显示出小于 $1\ \mu\text{M}$ 的 IC_{50} 。

[0251] 实施例 4

[0252] 抑制剂引起的同型二聚体形成

[0253] 关于氨基磷酸酯 T33 和 L36 的作用，我们已经证实用这些抑制剂处理 PSMA 导致如蛋白质印迹所示的共价 PSMA 同型二聚体的形成。如图 6 中代表性例子所示，T33 作为媒介引起的共价 PSMA 二聚体的形成既与浓度相关又与时间相关。这些结果符合如上述的氨基磷酸酯 T33 及其类似物对 PSMA 与时间相关的酶抑作用。更重要的是，这些数据与化合物 T33、L36 和 MP1D 的不可逆抑制作用分布图相符合。这些数据暗示 T33 和 L36 涉及促进蛋白质间交联和可能的蛋白质内交联的 PSMA 的共价键改性。尽管我们还没有确定 T33、L36 和 MP1D 的抑制作用机理，但很明显这些试剂代表一类独特的 PSMA 抑制剂，该抑制剂可以用作对表达 PSMA 的癌细胞具有特异性的共价键传递载体 (covalent delivery vehicles)。基于粗略的文献检索，这是首次设计并制备 PSMA 的不可逆共价键改性剂。

[0254] 实施例 5

[0255] 氨基磷酸酯抑制剂对 PSMA 的特异性

[0256] 为确定本发明氨基磷酸酯抑制剂的设计对 PSMA 是特异性的，用基质金属蛋白酶 -9 (MMP-9) 对 T33 类似物库（图 1）的代表性化合物进行了初步研究。MMP 酶类是涉及细胞外基质降解的锌依赖性肽链内切酶。在所检验的系列化合物（包括 NC-2-29）中，仅一种化合物 (NC-2-29) 呈现出对 MMP-9 的抑制效能， K_i 值为 5mM 。近来已经试验了 T33 对 MMP-2 的抑制作用且已证实在浓度高达 $10\ \mu\text{M}$ 的条件下无抑制作用。这些明显否定的结果暗示本发明基于 T33 的抑制剂的通用结构框架赋予了对于靶点金属肽酶—PSMA 的特异性。

[0257] 实施例 6

[0258] 表达 PSMA 的前列腺癌细胞的抑制剂导引的标记

[0259] 近来的实验已证实可将成像有效负载（例如有机荧光团）特异性递送至表达 PSMA 的前列腺癌细胞。我们设计并合成了四种 PSMA 抑制剂，每种具有 N 末端氨基作为成像或治疗有效负载附着点（图 8）。

[0260] 随后使这些化合物衍生有可与胺反应的荧光染料（图 9）以特异性标记表达 PSMA 的前列腺癌细胞。基于荧光显微术数据，已证实这些化合物的每一种均特异性标记表达 PSMA 的前列腺癌细胞（LNCaP 细胞）并且不标记不表达 PSMA 的细胞（PC3 细胞）。硫脲连接的荧光抑制剂 L6-V1-21 对 PSMA 呈现出 85nM 的 IC_{50} 。这个结果证实当抑制剂核衍生有相当尺寸的结构基序时抑制效能没有被消除。当使用荧光显微术观测时，用 L6-V1-21 处理的表达 PSMA 的前列腺癌细胞（LNCaP）导致特异性的标记。在用 L6-V1-21 和碘化丙锭（propidium iodide）处理后，对 LNCaP 和 PC3 前列腺癌细胞实施共聚焦显微术。

[0261] 当用 L6-V1-21 处理 LNCaP 细胞时，如细胞的强绿色荧光标记所示，荧光显微术证实了 L6-V1-21 导致的大范围的细胞表面标记。当用 L6-V1-2 和碘化丙锭处理 LNCaP 细胞时，如细胞表面上的强绿色荧光标记所示，共聚焦荧光显微术证实了 L6-V1-21 导致的大范围的细胞表面标记，同时对细胞核观察到碘化丙锭染色导致的红色荧光。当用 L6-V1-2 和碘化丙锭处理 PC3 细胞时，共聚焦荧光显微术证实了 L6-V1-2 对于表达 PSMA 的细胞（LNCaP）的特异性，因为对 PC3 细胞没有在细胞表面上观察到绿色荧光标记，但是对细胞核观察到碘化丙锭染色导致的红色荧光。PC3 细胞用作反面对照，因为它们不表达 PSMA。尽管碘化丙锭将两个细胞系的核染色，但是仅表达 PSMA 的 LNCaP 细胞表面被 L6-V1-21 荧光标记。在这些 LNCaP 细胞上被高密度标记的部位被猜测是 PSMA 积聚的位点。

[0262] 用荧光抑制剂 LW-54-F5EX 处理的 LNCaP 细胞的荧光显微术证实 PSMA 的小分子抑制剂在递送并用荧光染料标记表达 PSMA 的细胞方面与抗体（3C6）基本等效。在这个实验中，均标记有荧光素-5-EX 的 LW-54 和抗体 3C6 特异性标记 LNCaP 细胞膜。当用 LW-54-F5EX 或荧光标记的抗体 3C6-F5EX 处理 LNCaP 细胞时，通过如细胞表面的强绿色荧光标记所示，荧光显微术证实了在两种情况中大范围的细胞表面标记。为证实 LW-54-F5EX 对表达 PSMA 的细胞是特异性的，用这种化合物处理 LNCaP 和 PC3 细胞。尽管 DAPI（4',6-二脒基-2-苯基吡啶）将两种细胞系中的核 DNA 染色，但是仅 LNCaP 细胞被 LW-54-F5EX 荧光标记。当用 LW-54-F5EX 和 DAPI 处理 LNCaP 细胞时，如细胞表面上的强绿色荧光标记所示，荧光显微术证实了 LW-54-F5EX 导致的大范围的细胞表面标记，同时对细胞核观察到 DAPI 染色导致的蓝色荧光。当用 LW-54-F5EX 和 DAPI 处理 PC3 细胞时，荧光显微术证实了 LW-54-F5EX 对表达 PSMA 的细胞（LNCaP）的特异性，因为对 PC3 细胞没有在细胞表面上观察到绿色荧光标记，但是对细胞核观察到 DAPI 染色导致的蓝色荧光。因为 PC3 细胞不表达 PSMA，这些结果证实小分子试剂如 54-F5EX 对表达 PSMA 的癌细胞是特异性的。

[0263] 用荧光抑制剂 LW-54-5FAMX 处理的 LNCaP 细胞的荧光显微术再次证实，在递送并用荧光染料标记表达 PSMA 的细胞方面，小分子 PSMA 抑制剂与抗体是基本等效的。在这个实验中，用 LW-54-5FAMX 处理 LNCaP 和 PC3 细胞。尽管 DAPI（4',6-二脒基-2-苯基吡啶）将两种细胞系中的核 DNA 染色，但是仅 LNCaP 细胞被 LW-54-5FAMX 荧光标记。当用 LW-54-5FAMX 和 DAPI 处理 LNCaP 细胞时，如细胞表面上的强绿色荧光标记所示，荧光显微

术证实了 LW-54-5FAMX 导致的大范围的细胞表面标记,同时对细胞核观察到 DAPI 染色导致的蓝色荧光。当用 LW-54-5FAMX 和 DAPI 处理 PC3 细胞时,荧光显微术证实了 LW-54-5FAMX 对表达 PSMA 的细胞 (LNCaP) 的特异性,因为对 PC3 细胞没有在细胞表面上观察到绿色荧光标记,但是对细胞核观察到 DAPI 染色导致的蓝色荧光。这些结果证实小分子试剂如 LW-54-5FAMX 对表达 PSMA 的癌细胞是特异性的。

[0264] 上述从细胞标记研究得出的结果证实使用 PSMA 的小分子、非生物抑制剂能够获得 LNCaP 特异性标记。这些结果用作小分子 PSMA 抑制剂能够将成像或治疗有效负载特异性递送至表达 PSMA 的癌细胞的证据。

[0265] 应了解,前述的详细描述和随附的实施例仅是说明性的,不应认为其限制本发明范围,本发明范围由随附权利要求限定。对公开的实施方式作出各种改变和修饰对本领域技术人员将是显而易见的。这些改变和修饰可以在不脱离本发明主旨和范围的前提下做出,所述改变和修饰包括但不限于涉及化学结构、取代基、衍生物、中间体、合成和 / 或本发明使用方法的改变和修饰。

[0266] 特此通过引用的方式将本发明参考的期刊文章、书、专利和专利申请中的每个的全部内容并入本发明。

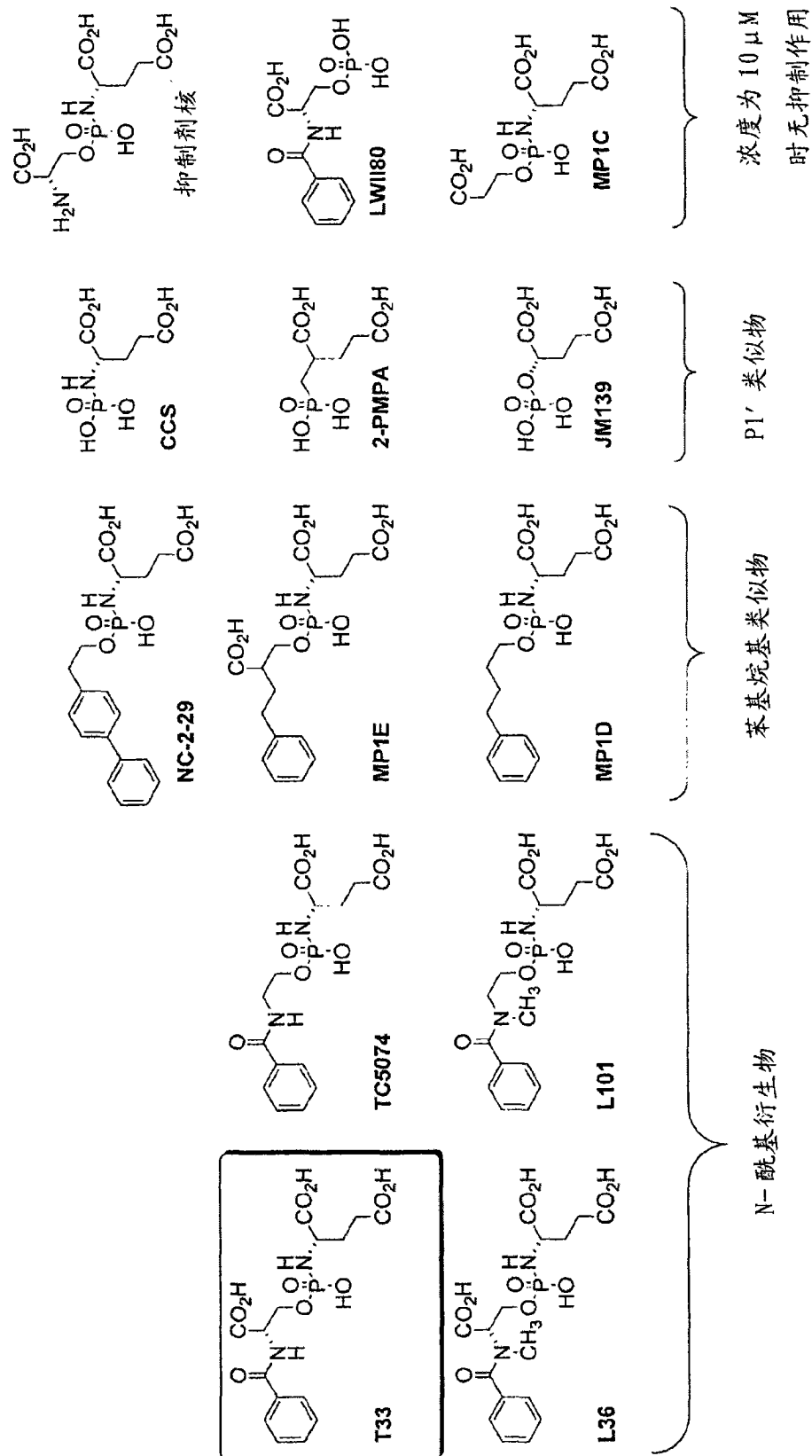


图 1

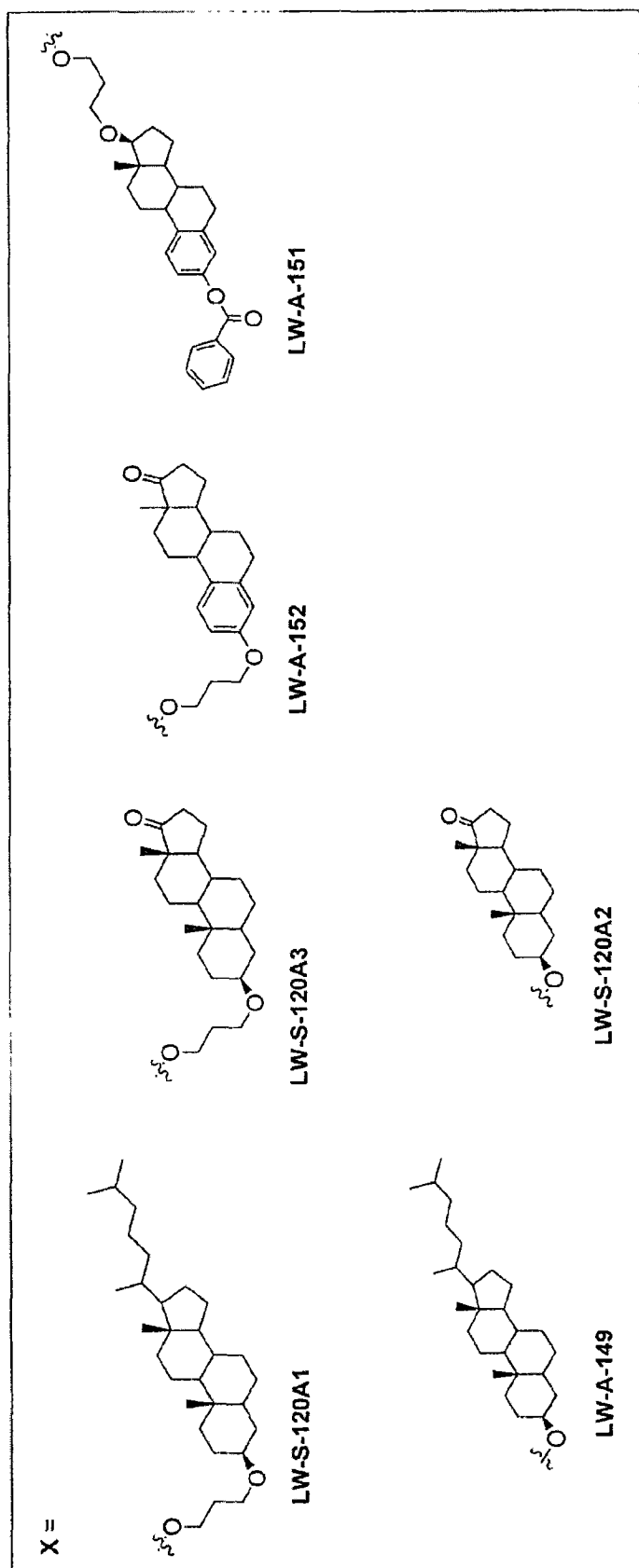
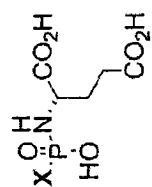


图 2

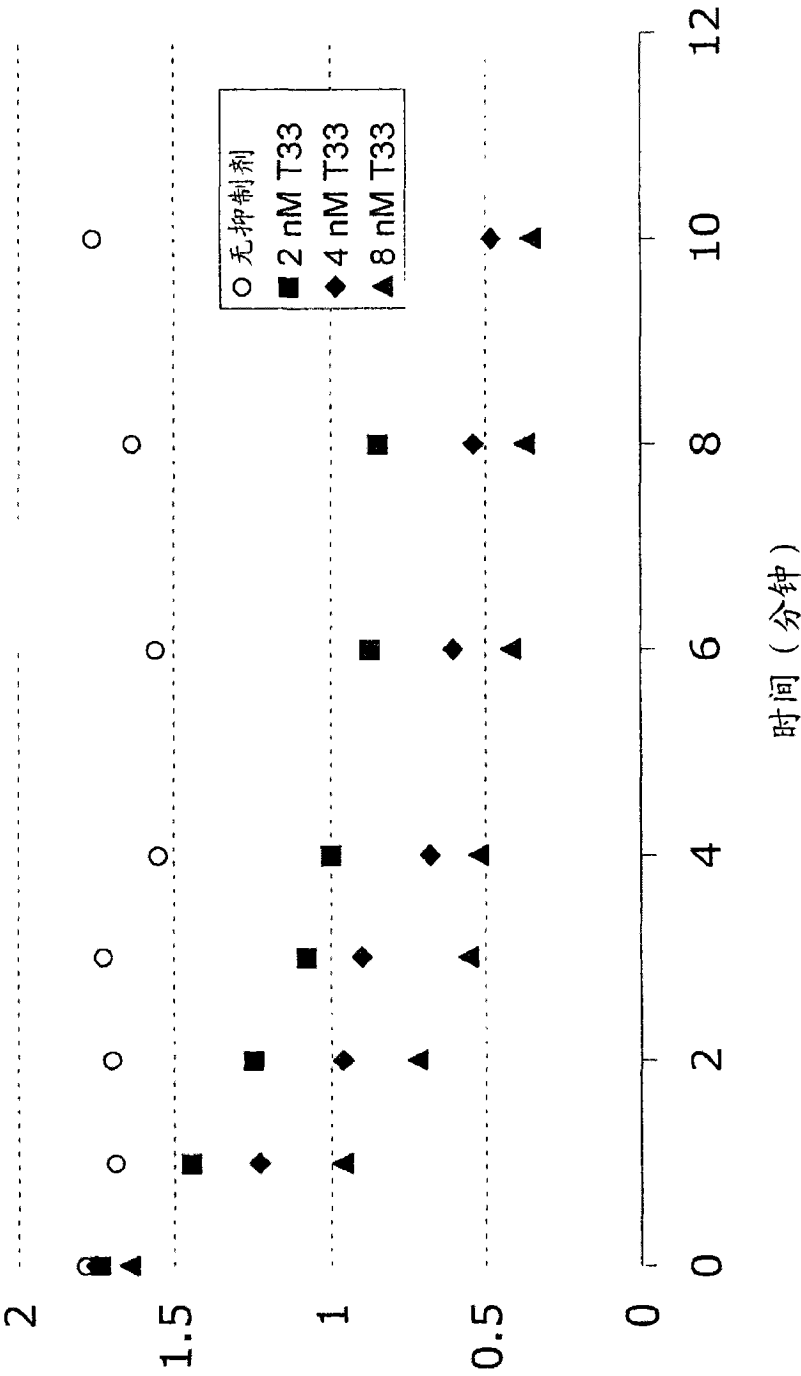


图 3

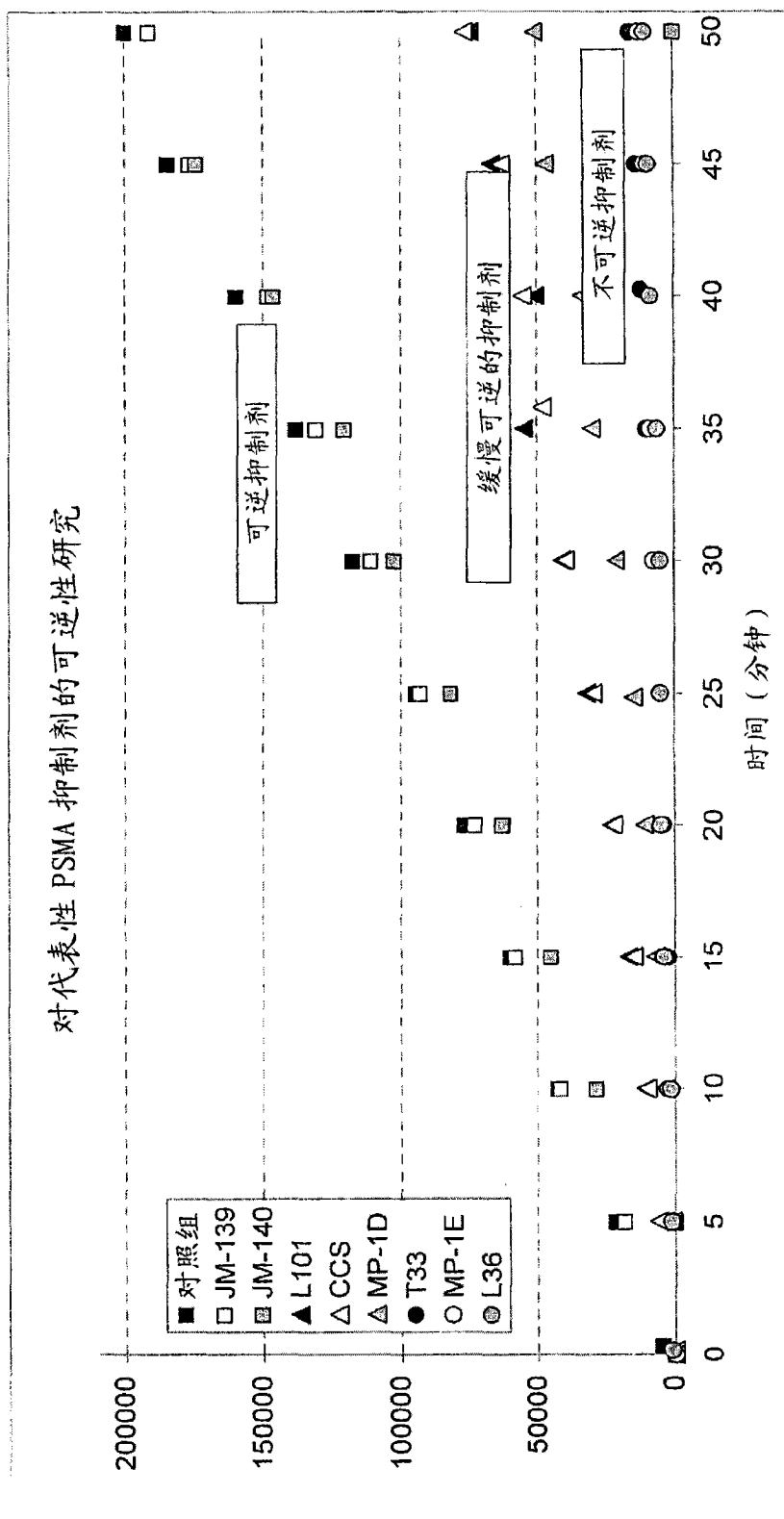


图 4

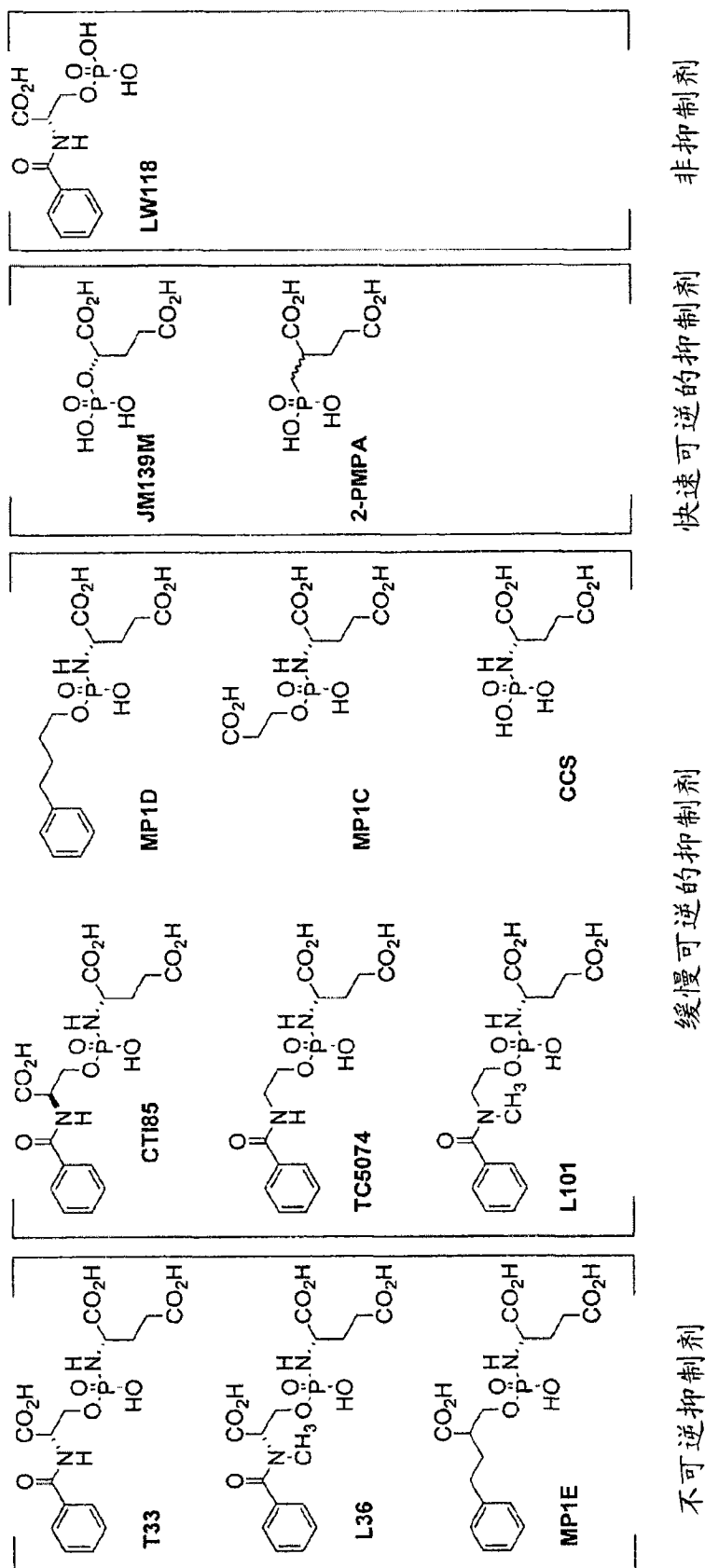


图 5

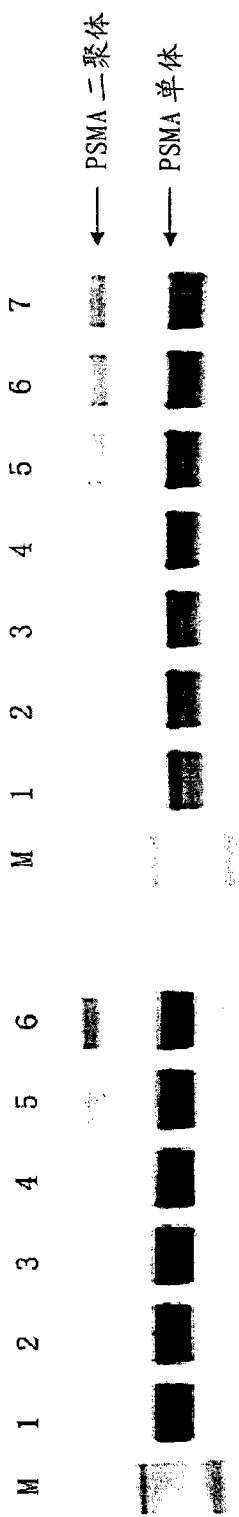


图 6

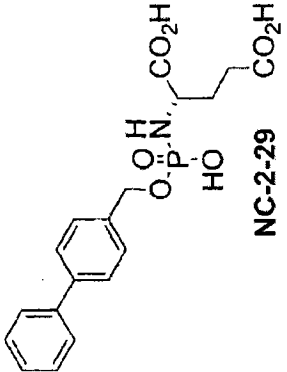


图 7

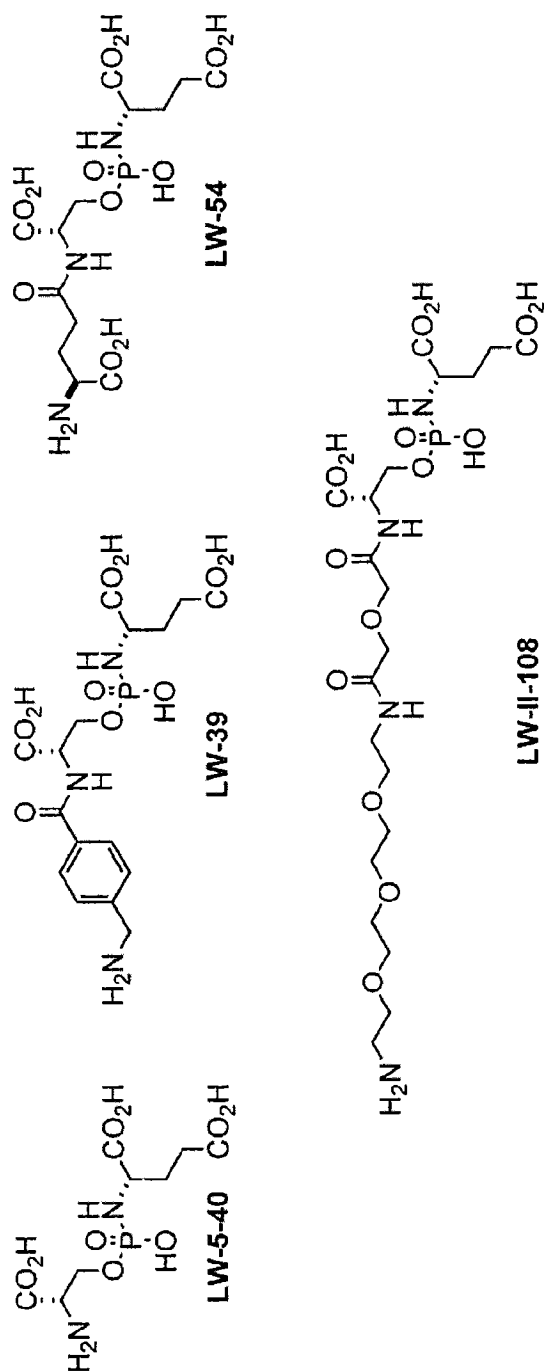


图 8

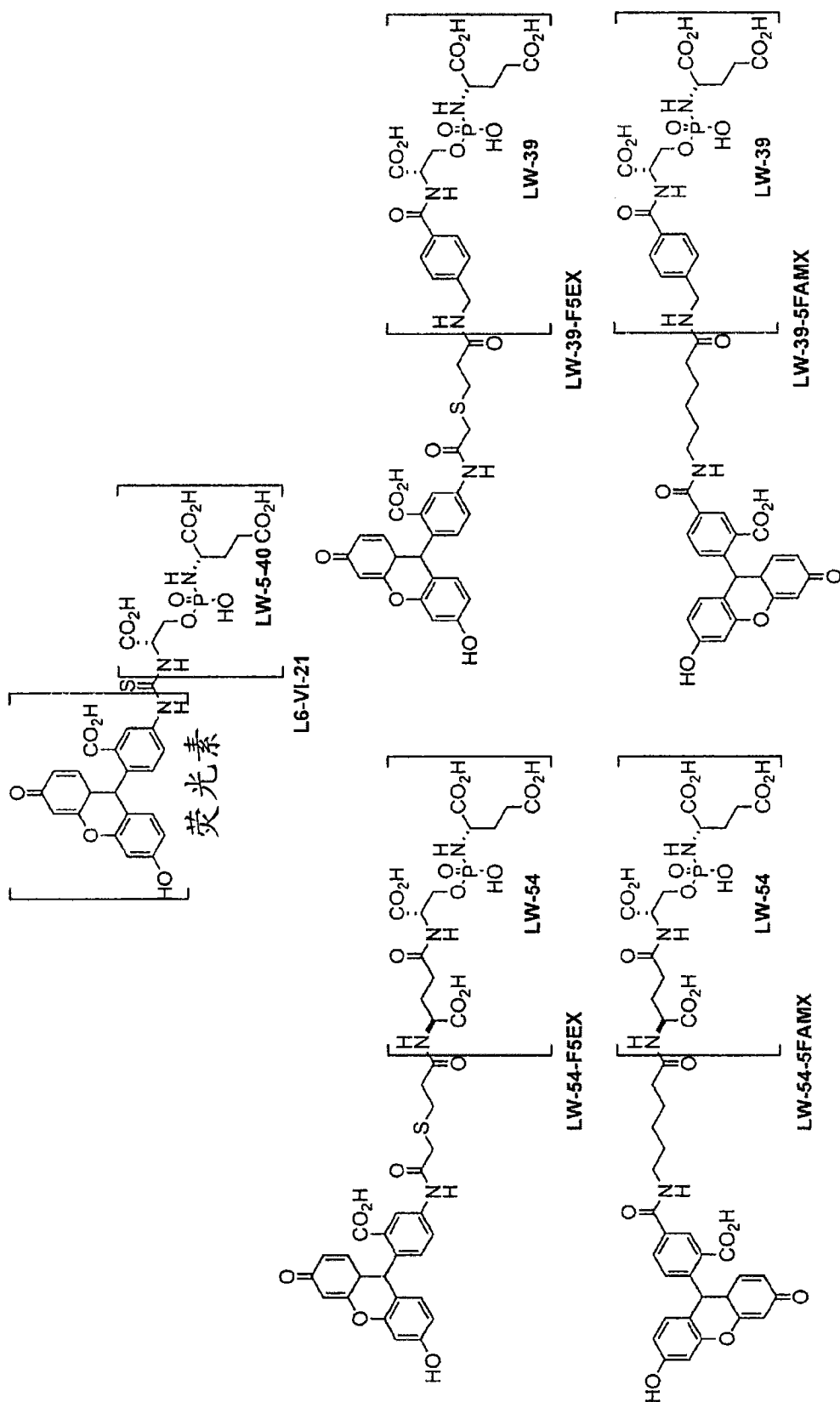


图 9

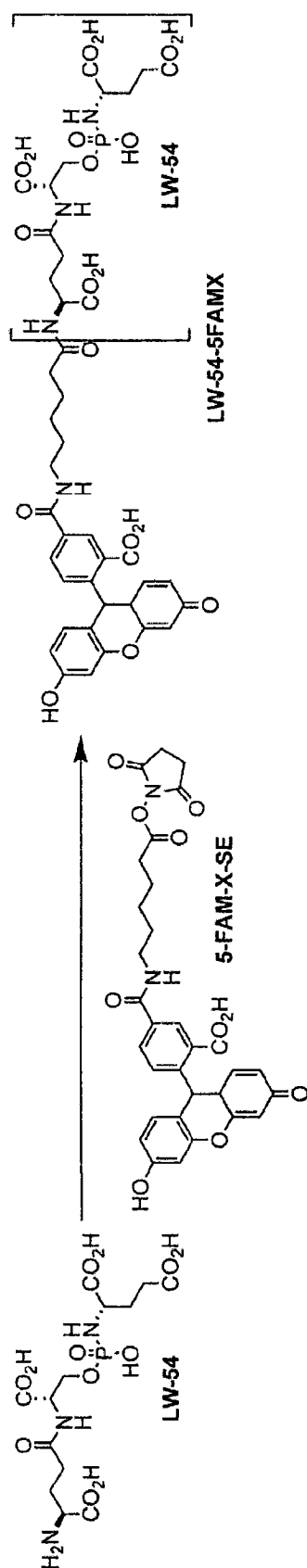


图 10

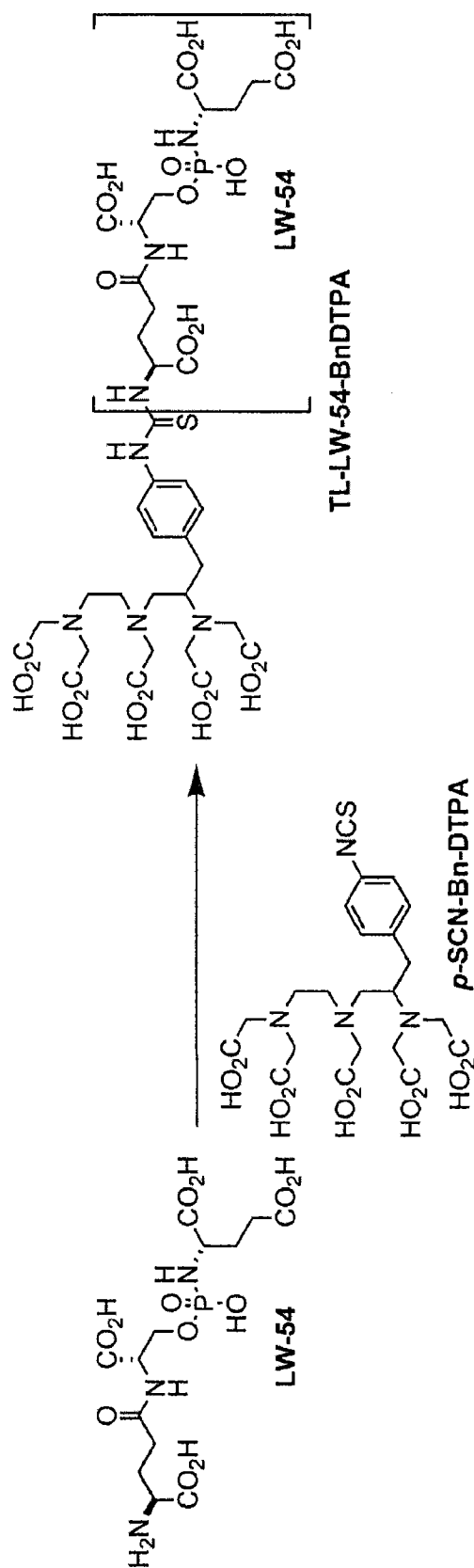


图 11

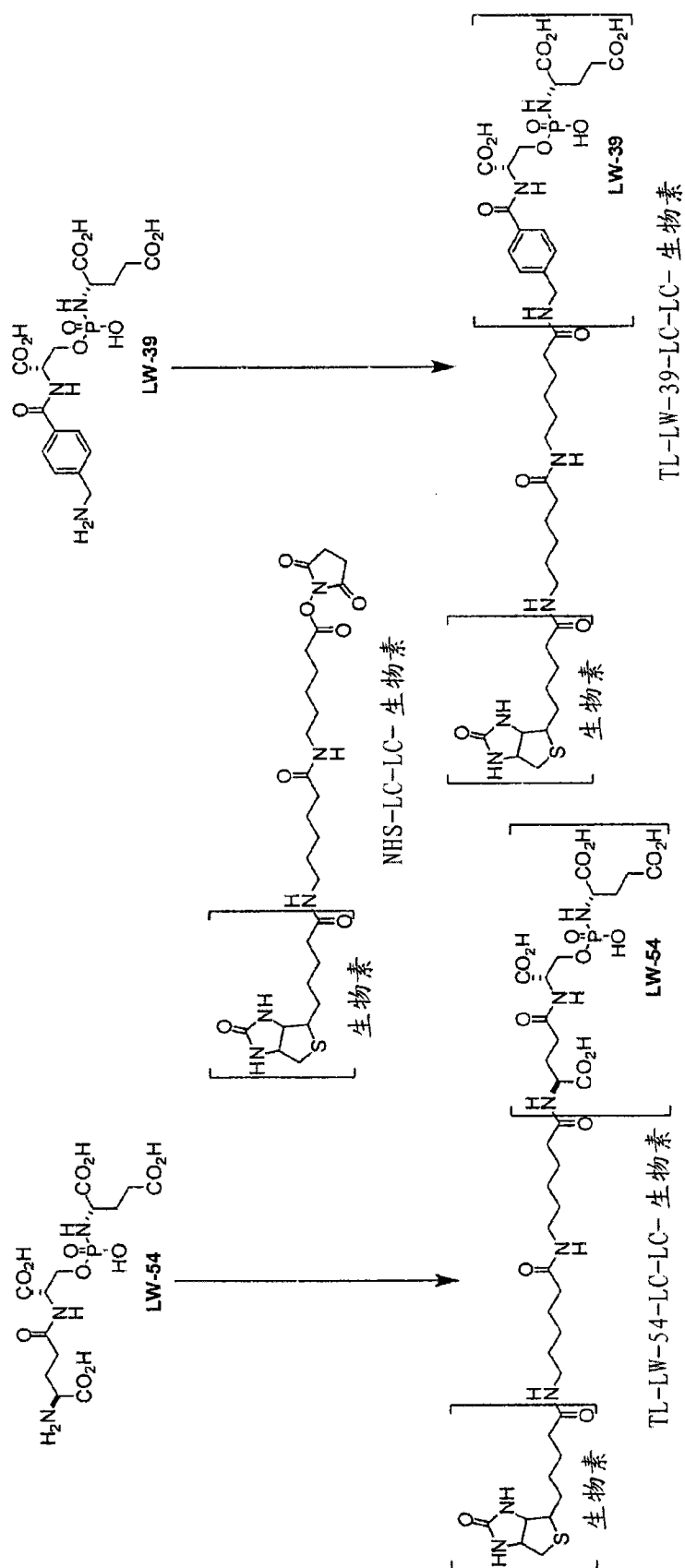


图 12