

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200780032448. X

[51] Int. Cl.

C07C 275/34 (2006.01)

C07C 275/24 (2006.01)

C07C 275/16 (2006.01)

C07C 235/20 (2006.01)

C07F 9/54 (2006.01)

A61K 31/205 (2006.01)

[43] 公开日 2009 年 8 月 19 日

[11] 公开号 CN 101511780A

[51] Int. Cl. (续)

A61K 31/66 (2006.01)

A61P 3/10 (2006.01)

[22] 申请日 2007.7.10

[21] 申请号 200780032448. X

[30] 优先权

[32] 2006. 8. 2 [33] EP [31] 06118338.0

[86] 国际申请 PCT/EP2007/057030 2007.7.10

[87] 国际公布 WO2008/015081 英 2008.2.7

[85] 进入国家阶段日期 2009.3.2

[71] 申请人 希格马托制药工业公司

地址 意大利罗马

[72] 发明人 F·吉安尼斯 E·塔索尼

N·德鲁奥莫 R·康蒂

M·O·廷蒂

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利
商标事务所

代理人 任宗华

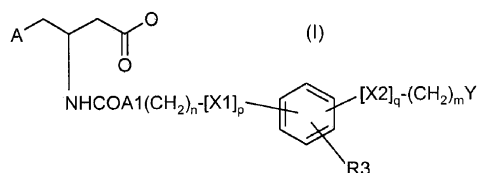
权利要求书 3 页 说明书 21 页 附图 3 页

[54] 发明名称

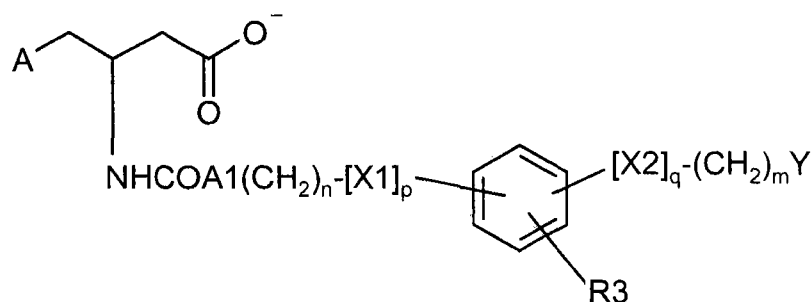
作为 CPT - 抑制剂的 4 - 三甲基铵 - 3 - 氨基
丁酸盐和 4 - 三甲基磷 - 3 - 氨基丁酸盐衍生
物

[57] 摘要

本发明提供一类能够抑制肉毒碱棕榈酰转移酶
(CPT) 的式 (I) 的新化合物。本发明还涉及包含至
少一种根据本发明的新化合物的药物组合物, 及其
在治疗高血糖病症, 例如糖尿病, 和与之相关的病
症, 例如充血性心力衰竭和肥胖中的用途。



1. 下式(I)的化合物:



(I)

其中:

A 选自 $-\text{N}^+(\text{RR}_1\text{R}_2)$ 、 $-\text{P}^+(\text{RR}_1\text{R}_2)$, 其中 R 、 R_1 、 R_2 相同或不同, 并且选自 $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_2)$ 烷基、苯基和苯基- $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_2)$ 烷基; A1 为 O 或 NH 或者不存在;

n 为 0-20 的整数;

p 为 0 或 1; q 为 0 或 1;

X1 为 O 或 S ;

X2 为 O 或 S ;

m 为 1-20 的整数;

Y 选自 H 、苯基和苯氧基;

R3 选自 H 、卤素、直链或支链 $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_4)$ 烷基和 $(\text{C}_1\text{--}\text{C}_4)$ 烷氧基, 及其药学上可接受的盐。

2. 权利要求 1 的化合物, 其中 R 、 R_1 和 R_2 均为甲基。

3. 权利要求 1 或 2 中任一项的化合物, 所述化合物选自:

(R)-4-三甲基铵-3-[[4-[(3-己氧基)-苯氧基]丁基]氨基甲酰基]-氨基-丁酸盐;

(R)-4-三甲基磷-3-[[4-[(3-己氧基)-苯氧基]丁基]氨基甲酰基]-氨基-丁酸盐;

- (R)-4-三甲基铵-3-[[4-(庚氧基)-苄基]-氨基甲酰基]-氨基-丁酸盐;
(R)-4-三甲基铵-3-[[2-(苄氧基)-苄基]氨基甲酰基]-氨基-丁酸盐;
(R)-4-三甲基铵-3-[[4-(苄氧基-3-甲氧基)-苄基]氨基甲酰基]-氨基-丁酸盐;
(R)-4-三甲基铵-3-[[4-[(2-己氧基)-苄氧基]丁基]氨基甲酰基]-氨基-丁酸盐;
(R)-4-三甲基铵-3-[[4-[(3-己氧基)-苄氧基]丙基]氨基甲酰基]-氨基-丁酸盐; 和
(R)-4-三甲基铵-3-[[3-(己氧基)苄氧基]乙酰基]-氨基-丁酸盐。

4. 作为药物的权利要求 1-3 中任一项的化合物。

5. 一种制备权利要求 1-3 中任一项的化合物的方法, 该方法包括在 4℃-溶剂的回流温度下, 在偶极非质子或质子溶剂中, 使氨基肉毒碱和磷酸氨基肉毒碱与相应的异氰酸酯反应, 反应时间为 1-72 小时。

6. 权利要求 1-3 中任一项的化合物的用途, 其用于制备具有抗高血糖活性的药物。

7. 权利要求 1-3 中任一项的化合物的用途, 其用于制备用来治疗和/或预防肥胖、高血糖症、糖尿病和与糖尿病有关的病症的药物。

8. 根据权利要求 7 的用途, 其中所述与糖尿病有关的病症为糖尿病性视网膜病变、糖尿病性神经病变和心血管疾病。

9. 权利要求 1-3 中任一项的化合物的用途, 其用于制备用来治疗和/或预防心脏疾病的药物。

10. 根据权利要求 9 的用途, 其中所述心脏疾病为充血性心力衰

竭。

11. 一种药物组合物，其含有作为活性成分的权利要求 1-3 中任一项的化合物，和至少一种药学上可接受的赋形剂和/或稀释剂。

12. 根据权利要求 11 的药物组合物，其用于治疗和/或预防权利要求 7-10 中提及的任一种疾病。

13. 一种制备权利要求 12 或 13 的组合物的方法，其包括将权利要求 1-3 中任一项的化合物与至少一种药学上可接受的赋形剂和/或稀释剂混合。

14. 一种对患有根据权利要求 7-10 中任一项的疾病的哺乳动物进行治疗的方法，其包括给药治疗有效量的权利要求 1-3 中任一项的化合物。

作为 CPT-抑制剂的 4-三甲基铵-3-氨基丁酸盐
和 4-三甲基磷-3-氨基丁酸盐衍生物

发明领域

本发明描述一类能够抑制肉毒碱棕榈酰转移酶(CPT)的新化合物;本发明还涉及包含至少一种根据本发明的新化合物的药物组合物,及其在治疗高血糖病症,例如糖尿病,和与之有关的病症,例如充血性心力衰竭和肥胖中的用途。

发明背景

已知的降血糖治疗是以具有不同作用机理的药物的使用为基础的(Arch. Intern. Med. 1997, 157, 1802-1817)。

最常见的治疗是基于胰岛素或其类似物,其利用该激素的直接降血糖作用。

其它化合物则间接地通过刺激胰岛素的释放而进行作用(磺酰脲类)。降血糖药物的另一个靶标是通过抑制肠的葡糖苷酶来降低肠的吸收,或者降低胰岛素耐受性。高血糖症还可由糖异生的抑制剂,例如双胍来治疗。

一些作者指出了糖异生与肉毒碱棕榈酰转移酶之间的关系。

肉毒碱棕榈酰转移酶催化肉毒碱和棕榈酰辅酶 A,使其在细胞质内形成棕榈酰肉毒碱(活化的脂肪酸)。棕榈酰肉毒碱不同于棕榈酸,因为其很容易就穿过线粒体膜。棕榈酰辅酶 A 在线粒体基质内自身重组,释放出肉毒碱。棕榈酰辅酶 A 被氧化为乙酰辅酶 A,其能活化丙酮酸羧化酶,一种糖异生途径的关键酶。

一些作者报道,糖尿病患者的血脂肪酸含量高,该脂肪酸在肝脏中被氧化成乙酰基辅酶 A、ATP 和 NADH。这些物质的高可利用率导致糖异生的过度调节,从而使血糖水平升高。在这些情况下,抑制 CPT 能限制脂肪酸的氧化,继而限制糖异生和高血糖症。CPT 抑制剂已经

在 J. Med. Chem., 1995, 38(18), p. 3448-50, 及相关的欧洲专利申请 EP-A-574355 中进行了描述, 其为潜在的具有降血糖作用的衍生物。

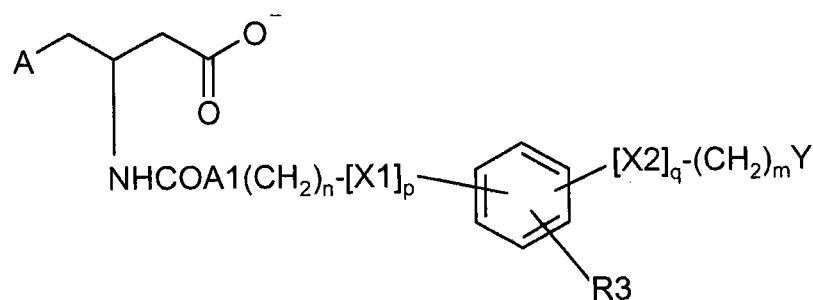
本申请人的国际专利申请 WO99/59957 描述和要求了一类丁酸衍生物, 所述衍生物显示了对 CPT 的抑制作用。这些化合物的例子为 R-4-三甲基铵-3-(十四烷基氨基甲酰基)-氨基丁酸盐(ST1326)。

近来显示, 在下丘脑中试验性地经脑室给药抑制剂会产生对 CPT-1 的抑制作用, 从程度和持续时间来看, 该抑制作用能够显著和持续地降低食物的摄入和糖异生(Nature Medicine, 2003, 9(6), 756-761)。使用化合物 ST1326 也显示了该性质。

找到尤其在口服途径给药时具有提高的效力的化合物一直都是研究人员的目的。

发明描述

本发明涉及具有下列式(I)的新的肉毒碱棕榈酰转移酶抑制剂:



(I)

其中:

A 选自 $-\text{N}^+(\text{RR}_1\text{R}_2)$ 、 $-\text{P}^+(\text{RR}_1\text{R}_2)$, 其中 R、R₁、R₂ 相同或不同, 选自 (C₁-C₂) 烷基、苯基和苯基-(C₁-C₂) 烷基;

A1 为 O 或 NH 或不存在;

n 为 0-20 的整数;

p 为 0 或 1; q 为 0、1;

X1 为 O 或 S;

X2 为 O 或 S;

m 为 1-20 的整数;

Y 选自 H、苯基和苯氧基;

R3 选自 H、卤素、直链或支链(C₁-C₄)烷基和(C₁-C₄)烷氧基。

优选 R、R₁ 和 R₂ 全部为甲基。优选 m 为 1-10 的整数，更优选为 4-8 的整数。

为了本发明的目的需澄清，各个式(I)的产物都可以作为外消旋混合物 R/S 以及单独的 R 和 S 形式而存在。

本发明还包括互变异构体、几何异构体、作为对映异构体、非对映异构体和外消旋形式的光学活性形式，以及式(I)化合物的药学上可接受的盐。本发明覆盖式(I)化合物的所有这些可能的不同成盐状态。

优选的式(I)的药学上可接受的盐是与药学上可接受的酸形成的酸加成盐，所述盐如盐酸盐、氢溴酸盐、硫酸盐或硫酸氢盐、磷酸盐或磷酸氢盐、乙酸盐、苯甲酸盐、琥珀酸盐、富马酸盐、马来酸盐、乳酸盐、柠檬酸盐、酒石酸盐、葡糖酸盐、甲磺酸盐、苯磺酸盐和对甲苯磺酸盐。

在本发明的框架内，直链或支链(C₁-C₄)烷基的例子被理解为包括甲基、乙基、丙基和丁基及其可能的异构体，例如异丙基、异丁基和叔丁基。

下面是一些最优选的根据本发明的化合物：

(R)-4-三甲基铵-3-[[4-[(3-乙氧基)-苯氧基]丁基]氨基甲酰基]-氨基-丁酸盐(ST2425)；

(R)-4-三甲基磷-3-[[4-[(3-乙氧基)-苯氧基]丁基]氨基甲酰基]-氨基-丁酸盐(ST2452)；

(R)-4-三甲基铵-3-[[4-(庚氧基)-苯基]-氨基甲酰基]-氨基-丁酸盐(ST2773)；

(R)-4-三甲基铵-3-[[2-(苄氧基)-苄基]氨基甲酰基]-氨基-丁酸盐(ST2790)；

(R)-4-三甲基铵-3-[[4-(苄氧基)-3-甲氧基]-苄基]氨基甲酰基]-氨基-丁酸盐(ST2816)；

(R)-4-三甲基铵-3-[[4-[(2-乙氧基)-苯氧基]丁基]氨基甲酰基]-氨基-丁酸盐(ST4005)；

(R)-4-三甲基铵-3-[[4-[(3-乙氧基)-苯氧基]丙基(propyl)]氨基甲酰基]-氨基-丁酸盐(ST4024); 和

(R)-4-三甲基铵(ammonio)-3-[[3-(乙氧基)苯氧基]乙酰基]-氨基-丁酸盐(ST4004)。

本文中描述的本发明的进一步的目的是用于医学领域的通式(I)的化合物。

本文中描述的本发明的进一步的目的是含有作为活性成分的式(I)化合物和至少一种药学上可接受的赋形剂和/或稀释剂的药物组合物。

式(I)化合物对肉毒碱棕榈酰转移酶具有抑制活性。该活性使其可以用于治疗和/或预防肥胖、高血糖症、糖尿病和相关病症，例如糖尿病性视网膜病变、糖尿病性神经病变和心血管疾病。式(I)化合物还可以用于预防和治疗心脏疾病，例如充血性心力衰竭。

式(I)化合物主要对肉毒碱棕榈酰转移酶的亚型1(CPT-1)发生抑制作用，尤其还对下丘脑发生作用。

本文中描述的本发明的进一步的目的是含有作为活性成分的式(I)化合物的药物组合物，其中所述药物组合物用于治疗 and/或预防肥胖、高血糖症、糖尿病和相关病症，例如糖尿病性视网膜病变、糖尿病性神经病变和心血管疾病。式(I)化合物还用于预防和治疗心脏疾病，如充血性心力衰竭。

本发明的另一个目的是一种制备任一种上述药物组合物的方法，该方法包括将式(I)化合物与适当的赋形剂和/或稀释剂混合。

本文中描述的本发明的进一步的目的是式(I)化合物用于制备药物的用途，其中所述药物用于治疗 and/或预防肥胖、高血糖症、糖尿病和相关的病症，例如糖尿病性视网膜病变、糖尿病性神经病变和心血管疾病。式(I)化合物还可用于预防和治疗心脏疾病，例如充血性心力衰竭。

本发明的另一个目的是一种治疗患有肥胖、高血糖症、糖尿病和相关病症的哺乳动物的方法，该方法包括给药治疗有效量的式(I)化合物。

“治疗有效量”是在被治疗个体中有效实现希望的医学结果的量。所述药物组合物可以含有适当的药学上可接受的载体、适于给药于动物的生理相容的载体(例如,生理盐水),和任选地包括有助于将活性化合物加工为能够药用的制剂的助剂(如赋形剂、稳定剂或稀释剂)。

对于任一化合物而言,最初可以在细胞培养试验或动物模型,通常是小鼠、大鼠、豚鼠、兔、犬或猪中估计治疗有效剂量。

还可以使用动物模型确定适当的浓度范围和给药途径。之后可以将这种信息用于确定可用于人类的给药剂量和途径。

可以以任何适当的方式将所述药物组合物制成制剂,以满足给药方式的需要。文献中已经公开了用于药物递送的生物材料和其它聚合物的使用,以及使特定给药模式生效的不同的技术和模型。

还可以使用本发明的化合物的变型,用以改善对血脑屏障的穿透能力。

所属领域熟练技术人员能够使用和确定任何可接受的给药模式。例如,可以通过各种肠道外途径,例如皮下、皮内、肌肉内、腹膜内、鼻内、透皮、口服或口腔途径给药。

肠道外给药可以为大丸药注射或耗时的逐渐灌注。用于肠道外给药的制剂包括无菌的水性或非水性溶液、悬浮液和乳液,其可以含有本领域已知的助剂或赋形剂,其还可以按照常规方法制得。此外,活性化合物的悬浮液可以作为适当的油状注射悬浮液而给药。适当的亲脂性溶剂或载体包括脂肪油,例如芝麻油,或者合成脂肪酸酯,例如油酸乙酯或三甘油酯。

水性注射悬浮液可以含有提高悬浮液粘度的物质,所述水性注射悬浮液包括例如羧甲基纤维素钠、山梨糖醇和/或葡聚糖。任选地,所述悬浮液还可以含有稳定剂。

用于鼻内给药的药物组合物可有利地含有壳聚糖。

药物组合物包括用于注射给药的适当的溶液,并且含有约0.01-99%,优选约20-75%的活性化合物以及赋形剂。能够经直肠给药的组合物包括栓剂。应该理解,给药剂量取决于年龄、性别、健康

状况和受者的体重、共同治疗的种类，如果有的话，治疗频率，以及希望的效果的性质。应该根据个体来调整剂量，就如所属领域熟练技术人员所理解和能够确定的。每次治疗所需的总剂量可以分多个剂量或单个剂量给药。本发明的药物组合物可以单独或与针对所述病症或者针对病症的其它症状的其它疗法结合给药。通常，活性成分的日剂量为每千克体重 0.01-100，优选 0.05-50mg。

本发明的化合物可以在药学上可接受的载体，例如生理盐水中通过静脉内方式给药于病人。

可以使用细胞内递送肽的标准方法，例如经由脂质体递送。这种方法对所属领域普通技术人员来说是公知的。本发明的制剂可以用于肠道外给药，例如经静脉内、皮下、肌肉内和腹膜内给药。

如医学领域所公知的，针对任一病人的剂量取决于许多因素，包括病人的体型大小、体表面积、年龄、给药的特定化合物、性别、给药时间和途径、总的健康状况以及同时给药的其它药物。

本发明的进一步的实施方案是一种制备药物组合物的方法，其特征在于使一个或多个式(I)化合物与适当的赋形剂、稳定剂和/或药学上可接受的稀释剂混合。

可以使用下列一般方法和步骤，由容易获得的原料制备式(I)化合物。应该理解，除非另外说明，否则即使给出了常用和优选的试验条件(即，反应温度、时间、试剂摩尔数、溶剂等)，还是可以使用其它试验条件。最佳的反应条件可以根据所用的特定反应物或溶剂而变化，但是所属领域熟练技术人员通过常规的优化步骤可以确定这种条件。

制备本发明的化合物的方法包括，在 4℃-溶剂的回流温度、优选 25-40℃ 下，在偶极非质子或质子溶剂，优选例如 THF 或 MeOH 中，优先使氨基肉毒碱和磷酸氨基肉毒碱(phosphoaminocarnitine)与相应的异氰酸酯反应，反应时间为 1-72 小时、优选 24-48 小时。所述异氰酸酯可以以适当的羧酸为原料，经酰氯并随后转化为酰基叠氮化物，或者就地使用二苯基磷酸基叠氮化物(diphenylphosphorilazide)而制得。

现在将借助非限制性实施例对本发明作更详细地说明，所述实施

例参考下列附图。

附图描述

图 1 显示口服给药式(I)的新的 CPT I 抑制剂对禁食大鼠的酮体产生的影响。在禁食 17 小时之后($n = 5$)于 9:00 经口(per os)给药所述化合物, 剂量相当于 10mg/kg ST1326 的摩尔数, 所述 ST1326 用作参考化合物。

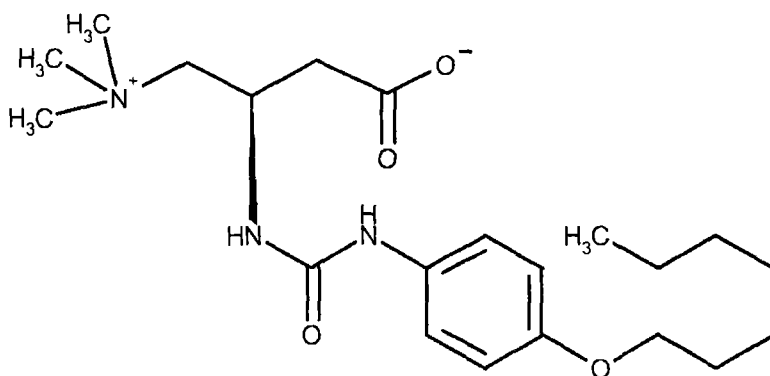
图 2 报道化合物 ST2425 对禁食大鼠的酮体所产生的与剂量-有关的作用。还观察到该化合物具有更快的引发作用。

图 3 报道用 ST2425 (320 μ g/40 μ l/大鼠)以均分至两个鼻孔的方式经鼻治疗 3 天后, Sprague Dawley 大鼠的摄食情况(表示为 g/kg b.w.)。(平均值 $\pm$ S.D.($n = 5$)。一元 ANOVA 事后检验 SNK * $p \leq 0.05$ vs 对照)

实施例

实施例 1

(R)-4-三甲基铵-3-[[4-(庚氧基)苯基]-氨基甲酰基]氨基-丁酸盐 (ST2773) 的制备

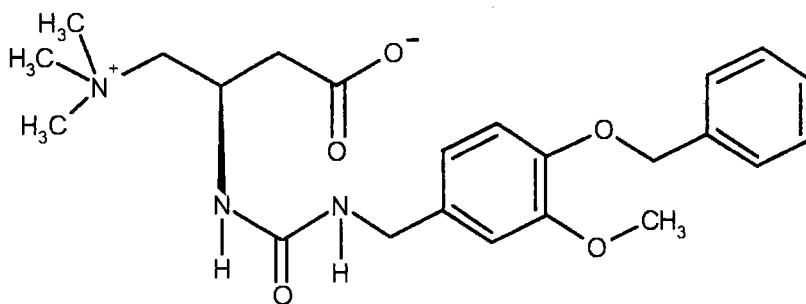


5 $^{\circ}$ C 下向(R)-氨基肉毒碱(149mg, 0.93mmol)的无水 MeOH (3.2ml) 溶液中加入 4-(庚氧基)苯基异氰酸酯(500mg, 2.14mmol)。在室温下搅拌反应混合物 48 小时, 之后过滤掉固体。减压蒸发溶剂, 用乙醚研磨剩余物若干次, 之后减压干燥, 得到 200mg 希望的产物(产率 55%)。TLC: 硅胶, $R_f = 0.49$ (42:7:28:10.5:10.5 CHCl_3 /异丙醇/MeOH/ CH_3COOH / H_2O); $[\alpha]^{20}_D = -21.5^{\circ}$ ($c = 0.5\%$, MeOH); $^1\text{H NMR}$ (300MHz, MeOH- d_4) δ 7.32 (d, 2H), 6.92 (d, 2H), 4.68 (br s, 1H), 4.01 (t, 2H), 3.83-3.58 (m, 2H), 3.31 (s, 9H), 2.58 (t, 2H), 1.86-1.79 (m, 2H), 1.58-1.43 (m, 8H),

1.03-0.98 (m, 3H); HPLC: spherisorb SCX 柱($5\mu\text{m}$ - $4.6 \times 250\text{mm}$), 流动相 KH_2PO_4 50mM/ CH_3CN 70/30 v/v, pH 为其本身的值, 室温, 流速 0.75ml/min, 检测器 UV 205nm, 保留时间 = 6.7min; K.F. = 5.8% H_2O ; A.E.与 $\text{C}_{21}\text{H}_{35}\text{N}_3\text{O}_4$ 一致。

实施例 2

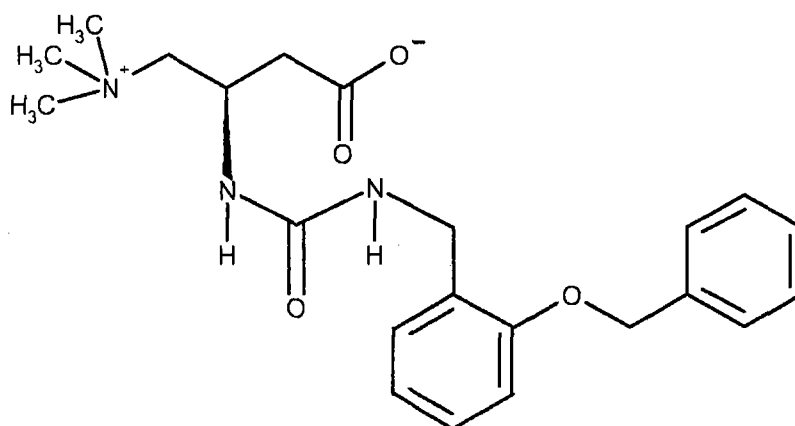
(R)-4-三甲基铵-3-[[[(4-苄氧基-3-甲氧基)-苄基]氨基甲酰基]-氨基-丁酸盐(ST2816)的制备



将三乙胺(357.3 μL , 2.57mmol)加入到 4-苄氧基-3-甲氧基苄基乙酸(700mg, 2.75mmol)在 7ml 无水 THF 中所形成的溶液中, 在室温下搅拌所述溶液 30 分钟。之后加入二苯基磷酰基叠氮化物(554 μL , 2.57mmol), 并将溶液回流 6 小时。将溶液冷却至 5-10 $^{\circ}\text{C}$, 并加入到(R)-氨基肉毒碱(206mg, 1.28mmol)在 3.5ml 无水甲醇中所形成的溶液中。室温下搅拌如此获得的溶液 48 小时, 之后真空蒸发溶剂, 在硅胶快速色谱上用 $\text{CH}_3\text{OH}/\text{AcOEt}$ 9/1 洗脱以纯化剩余物, 得到 390mg (产率 60.6%)为白色固体的产物。Mp 139-141 $^{\circ}\text{C}$; TLC: 硅胶, R_f = 0.47 (42:7:28:10.5:10.5 CHCl_3 /异丙醇/ $\text{MeOH}/\text{CH}_3\text{COOH}/\text{H}_2\text{O}$); $[\alpha]^{20}_{\text{D}}$ = -16 $^{\circ}$ (c = 0.5%, MeOH); ^1H NMR (300MHz, $\text{MeOH}-d_4$) δ 7.5 (d, 1H), 7.42 (m, 4H), 7.0 (m, 2H), 6.85 (dd, 1H), 5.15 (s, 2H), 4.60 (m, 1H), 4.30 (m, 2H), 3.90 (s, 3H), 3.70 (dd, 1H), 3.55 (dd, 1H), 3.25 (s, 9H), 2.51 (m, 2H); HPLC: spherisorb S5 SCX 柱($4.6 \times 250\text{mm}$), 流动相 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{KH}_2\text{PO}_4$ 50mM 30/70 v/v, pH 为其本身的值, 室温, 流速 = 0.7ml/min, 检测器 UV 205nm, 保留时间 = 7.4min; K.F. = 1.15% H_2O A.E.与 $\text{C}_{23}\text{H}_{31}\text{N}_3\text{O}_5$ 一致。

实施例 3

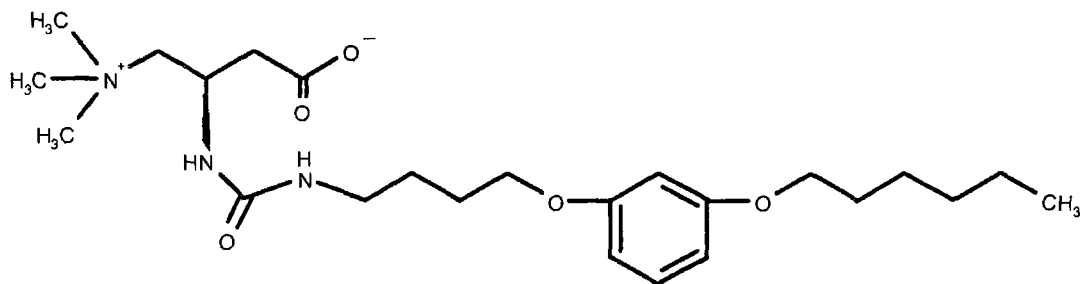
(R)-4-三甲基铵-3-[[2-(苄氧基)-苄基]氨基甲酰基]-氨基-丁酸盐 (ST2790)的制备



向 2-苄氧基苯基乙酸(900mg, 3.71mmol)在 10ml 无水 THF 中所形成的溶液中加入三乙胺(516 μ L, 3.71mmol)并在室温下搅拌 30 分钟。之后加入二苯基磷酰基叠氮化物(796 μ L, 3.71mmol), 并将溶液回流 6 小时。将溶液冷却至 5-10 $^{\circ}$ C 并加入(R)-氨基肉毒碱(297mg, 1.85mmol)在 5ml 无水甲醇中所形成的溶液。室温下搅拌如此获得的溶液 48 小时, 之后真空蒸发溶剂, 在硅胶快速色谱上用 CH₃OH/AcOEt 9/1 洗脱以纯化剩余物, 得到 420mg(产率 56.7%)为白色固体的产物。Mp 150-152 $^{\circ}$ C; TLC: 硅胶, R_f = 0.54 (42:7:28:10.5:10.5 CHCl₃/异丙醇/MeOH/CH₃COOH/H₂O); [α]²⁰_D = -20.5 $^{\circ}$ (c = 0.5%, MeOH); ¹H NMR (300MHz, MeOH-*d*₄) δ 7.50-7.20 (m, 7H), 7.10 (d, 1H), 6.95 (t, 1H), 5.16 (s, 2H), 4.55 (m, 1H), 4.40 (dd, 2H), 3.65-3.45 (m, 2H), 3.15 (s, 9H), 2.45 (m, 2H); HPLC: Spherisorb SCX 柱(5 μ m-4.6 x 250mm), 流动相 CH₃CN/KH₂PO₄ 50mM 30/70 v/v, pH 为其本身的值, 室温, 流速 = 0.7ml/min, 检测器 UV 205nm, 保留时间 = 8.3min; K.F. = 1.81% H₂O, A.E.与 C₂₂H₂₉N₃O₄ 一致。

实施例 4

(R)-4-三甲基铵-3-[[4-[(3-己氧基)-苯氧基]丁基]氨基甲酰基]-氨基-丁酸盐(ST2425)的制备



中间体 3-己氧基苯酚的制备

以溶于 230ml 无水 DMF 中的间苯二酚(4.00g, 36.3mmol)和 NaH (0.87g, 36.3mmol)为原料制备标题化合物。使混合物在室温、磁力搅拌下保持 20 分钟, 之后加入 1-溴己烷(5.99g, 36.3mmol)。使反应混合物在 80℃下保持 72 小时, 之后将其倾入到 H₂O(约 1L)中并用 AcOEt (3 x 250ml)萃取。在 Na₂SO₄上干燥有机层、过滤、蒸发溶剂, 在不经进一步纯化的情况下使用所得剩余物(6.50g, 产率 97%); ¹H NMR (CDCl₃, 300MHz), δ 7.10 (brm, 1H), 6.50 (m, 3H), 3.98 (t, 2H), 1.80 (m, 2H), 1.40 (m, 6H), 0.90 (m, 3H)。

中间体 5-[(3-己氧基)苯氧基]戊酸甲酯的制备

以溶于无水 DMF(14.4.mL)中的 3-己氧基苯酚(按上述方式制得), (360mg, 1.85mmol)和 NaH 80%(61.5mg, 2.03mmol)为原料制备标题化合物。1 小时之后, 加入 5-溴戊酸甲酯(361mg, 1.85mmol), 使反应混合物在 60℃、磁力搅拌下保持 18 小时, 之后加入 H₂O(100ml), 用 AcOEt (3 x 30ml)萃取混合物。用水洗涤合并的有机层, 在 Na₂SO₄上干燥并真空蒸发。用两个硅胶色谱纯化剩余物, 第一个使用己烷/AcOEt 97/3, 第二个使用 CH₂Cl₂/己烷 80/20 和 85/15, 得到 408mg 油状产物(70%产率; ¹H NMR (CDCl₃, 300MHz), δ 7.10 (t, 1H), 6.50 (m, 3H), 3.98 (m, 4H), 3.70 (s, 3H), 2.40 (brt, 2H), 1.98 (m, 6H), 1.40 (m, 6H), 0.90 (m, 3H)。

中间体 5-[(3-己氧基)苯氧基]戊酸的制备

向溶于 216ml CH₃OH 中的 5-[3-(己氧基)苯氧基]戊酸甲酯(3.4g, 11.02mmol)溶液中加入 NaOH 2N(11.05ml)和 H₂O(59ml), 将反应混合物保温至 50℃并保持 3 小时, 之后在室温下放置 18 小时。之后真空

蒸发溶液, 剩余物用 H_2O 稀释并用 AcOEt 萃取。用 HCl 2N 将碱性水相酸化至 pH 为 2, 并用 AcOEt (3 x 250ml) 萃取。用水洗涤合并的有机相, 在 Na_2SO_4 上干燥, 过滤, 之后真空蒸发, 得到 2.7g 产物(产率 83%), 其不经进一步纯化而使用; ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz), δ 7.20 (t, 1H), 6.50 (m, 3H), 3.98 (m, 4H), 2.50 (m, 2H), 1.85 (m, 6H), 1.40 (m, 6H), 0.95 (m, 3H)。

(R)-4-三甲基铵-3-[[4-[(3-己氧基)-苯氧基]丁基]氨基甲酰基]-氨基-丁酸盐(ST2425)的制备

0℃下向 5-[(3-己氧基)苯氧基]戊酸(1.3g, 4.41mmol)的 CH_2Cl_2 (6.5ml)溶液中加入 CO_2Cl_2 (3.4g, 26.4mmol), 在磁力搅拌下使反应在 10℃下进行 2 小时。之后真空蒸发有机溶剂, 剩余物用无水乙醚洗涤 3 次。在不经进一步纯化的情况下使用油状剩余物。

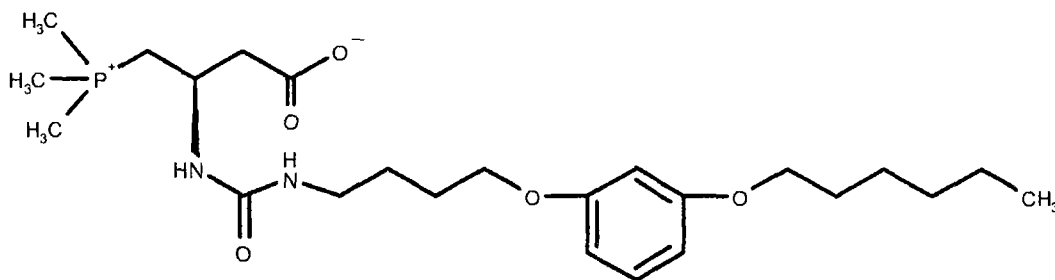
将 NaN_3 (488mg, 7.50mmol)溶解在 H_2O (1.7ml)中, 将如此获得的溶液冷却至 8-15℃; 向该溶液中加入溶解在 1.7ml 丙酮中的、上面制备的酰氯。在该温度范围内将反应放置 10 分钟, 在室温下再放置 1 小时。之后将反应倾入到装有甲苯(5.5ml)的烧瓶中, 在磁力搅拌下于 70℃下加热溶液。真空蒸发有机层, 并在不经进一步纯化的情况下使用所得剩余物。

5℃下将所得的异氰酸酯加入到溶解在无水 CH_3OH (53ml)中的 (R)-氨基肉毒碱(706mg, 4.41mmol)中, 使反应在室温、磁力搅拌下保持 18 小时。之后真空蒸发反应混合物, 剩余物经硅胶色谱纯化, 使用 7/3 至 8/2 的 $\text{CH}_3\text{OH}/\text{CHCl}_3$ 作为洗脱剂, 得到 370mg 白色固体(产率 18.6%)。TLC: 硅胶 $R_f = 0.59$, 洗脱剂 $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$: 异丙醇: $\text{CH}_3\text{COOH}:\text{H}_2\text{O}$ 42:28:7:10.5:10.5; ^1H NMR (MeOH-d_4 , 300MHz) δ 7.10 (t, 1H), 6.45 (m, 3H), 4.50 (brm, 1H), 3.90 (q, 4H), 3.50 (m, 2H), 3.20 (s, 9H), 2.40 (m, 2H), 1.75 (m, 6H), 1.45 (m, 6H), 1.20 (m, 2H), 0.90 (t, 3H); HPLC: 对称-C18 柱(5 μm) 150 x 4.6mm, 流动相 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 50mM(40/60 v/v), pH 为其本身的值, 室温, 流速 = 1.0ml/min, 检测器 UV 205nm, 保留时间 = 5.8min; $[\alpha]^{20}_D = -15^\circ$, (c

= 0.2%MeOH); KF = 3.2%H₂O; A.E.与 C₂₄H₄₁N₃O₅ 一致。

实施例 5

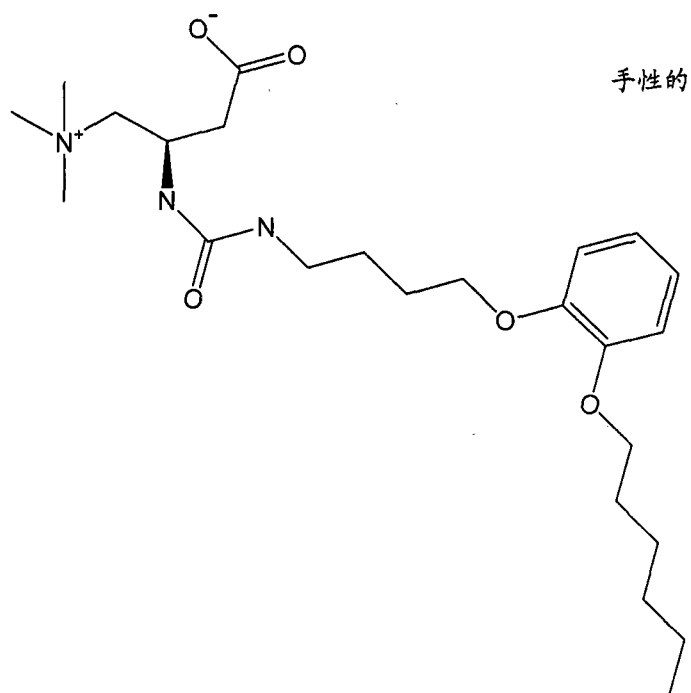
(R)-4-三甲基磷-3-[[4-[(3-己氧基)苯氧基]丁基]氨基甲酰基]-氨基-丁酸盐(ST2452)的制备



向溶解在 CH₃OH(20ml)中并冷却至 5℃的、按照实施例 4 中描述的方式制备的 4-[(3-己氧基)苯氧基]丁基]异氰酸酯(ST2425)中加入溶解在 CH₃OH(38ml)中的(R)-磷酰氨基肉毒碱(781mg, 4.41mmol)。使反应混合物在磁力搅拌下保持 72 小时,之后蒸发溶剂,剩余物以硅胶色谱纯化,用 7/3 至 8/2 的 CHCl₃/CH₃OH 洗脱,得到 600mg 产物(产率 23%); TLC: 硅胶 R_f = 0.55, CHCl₃:iPrOH:MeOH:H₂O:CH₃COOH (42:7:28:10.5:10.5); [α]²⁰_D = -14.4°, c = 0.5%MeOH; ¹H NMR (MeOH d₄, 300MHz): δ 7.15 (t, 1H), 6.45 (m, 3H), 4.40 (m, 1H), 3.95 (q, 4H), 3.20 (t, 2H), 2.70-2.40 (m, 4H), 1.90-1.30 (m, 21H), 0.90 (t, 3H); HPLC: 对称 C18 柱(5μm), 4.6 x 150mm, T = 30℃, 流动相 CH₃CN/NH₄H₂PO₄ 50mM (35/65 v/v) pH = 其本身的值, 流速 = 1ml/min, 检测器 = RI, UV 205nm, 保留时间 = 10.1min; A.E.与 C₂₄H₄₁N₂O₅P 一致; KF = 2.2%H₂O。

实施例 6

(R)-4-三甲基铵-3-[[4-[(2-己氧基)-苯氧基]丁基]氨基甲酰基]-氨基-丁酸盐(ST4005)的制备



中间体 5-[(2-己氧基)苯氧基]丁酸甲酯的制备

以溶于无水 CH_3CN (60ml) 的 2-己氧基苯酚(按照实施例 4 中针对 3-己氧基苯酚所描述的方式制得), (750mg, 3.82mmol) 和 KOH (256mg, 4.58mmol) 制备标题化合物。1 小时之后, 加入 5-溴戊酸甲酯(0.745g, 3.82mmol), 使反应混合物在 60°C 、磁力搅拌下保持 48 小时。真空蒸发反应混合物, 之后加入 H_2O (100ml), 用 AcOEt (3 x 30ml) 萃取混合物。用水洗涤合并的有机层, 在 Na_2SO_4 上干燥并真空蒸发, 得到 705mg 油状产物(产率 60%)。

^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz), δ 6.9 (m, 4H), 4.00 (m, 4H), 3.70 (s, 3H), 3.40 (t, 2H), 2.40 (m, 4H), 1.90 (m, 8H), 0.90 (m, 3H)。

中间体 5-[(2-己氧基)苯氧基]丁酸的制备

向溶于 100ml CH_3OH 的 5-[2-(己氧基)苯氧基]丁酸甲酯(1.8g, 5.79mmol)溶液中加入 NaOH 2N(22ml)和 H_2O (29ml), 将反应混合物保温至 50°C 保持 3 小时。之后真空蒸发溶液, 剩余物用 H_2O 洗脱并用 AcOEt 萃取。用 HCl 2N 将碱性水相酸化至 pH 为 2, 并用 AcOEt (3 x 250ml) 萃取。用水洗涤合并的有机相, 在 Na_2SO_4 上干燥, 过滤, 之后真空蒸发, 得到 940mg 产物(产率 55%), 其不经进一步纯化而使用;
 ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz), δ 6.90 (m, 4H), 4.00 (m, 4H), 2.5 (t, 2H),

1.90 (m, 6H), 1.20 (m, 6H) 0.95 (m, 3H)。

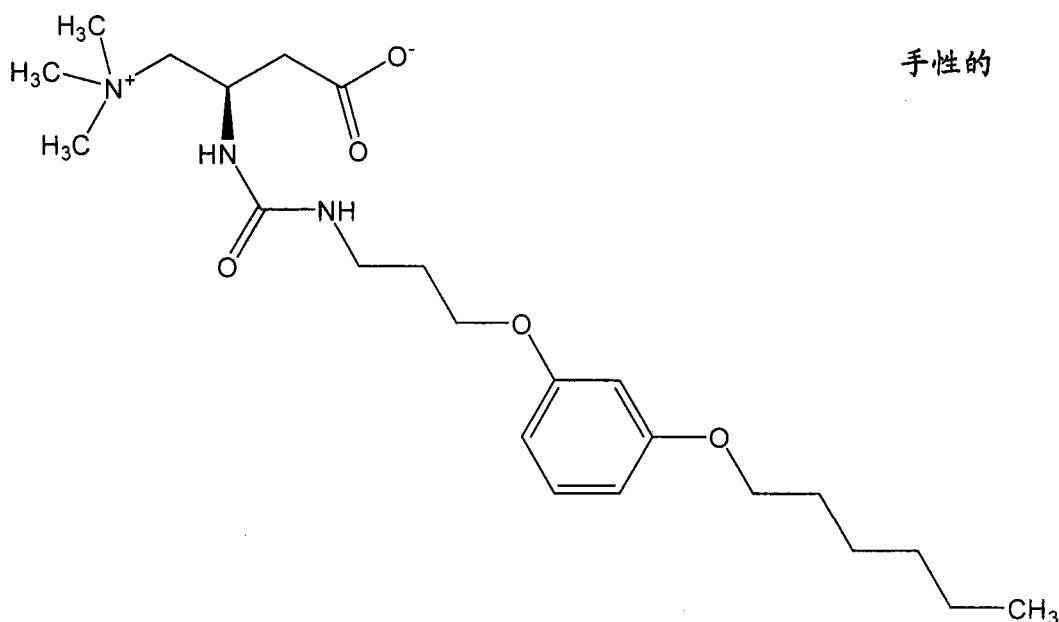
(R)-4-三甲基铵-3-[[4-[(2-己氧基)-苯氧基]丁基]氨基甲酰基]-氨基-丁酸盐(ST4005)的制备

0℃下向溶于干燥 THF(8.7ml)中的 5-[(2-己氧基)苯氧基]丁酸(500mg, 1.68mmol)溶液中加入 TEA(170mg, 1.68mmol)、二苯基磷酰基叠氮化物(463mg, 1.68mmol), 使反应在 80℃、磁力搅拌下保持 18 小时。

之后加入溶解在干燥 MeOH(12.4ml)中的 R-氨基肉毒碱(240mg, 1.5mmol), 使温度至 5-10℃, 随后使反应混合物在室温、磁力搅拌下保持 18 小时。之后真空蒸发反应混合物, 剩余物用硅胶色谱纯化, 使用 7/3 至 8/2 的 CH₃OH/AcOEt 作为洗脱剂, 得到 310mg 白色固体(产率 48%)。TLC: 硅胶 R_f = 0.56, 洗脱剂 CHCl₃:MeOH:异丙醇:CH₃COOH:H₂O 42:28:7:10.5:10.5; ¹H NMR (MeOH-d₄, 300MHz) δ 6.90 (m, 4H), 4.50 (brm, 1H), 4.00 (q, 4H), 3.50 (m, 2H), 3.20 (m, 11H), 2.40 (m, 2H), 1.85 (m, 6H), 1.45 (m, 6H), 0.90 (t, 3H); ESI-MS [M+H⁺] 452.2; [M+Na⁺] 474.2

实施例 7

(R)-4-三甲基铵-3-[[4-[(3-己氧基)-苯氧基]丙基]氨基甲酰基]-氨基-丁酸盐 (ST4024)的制备



中间体 5-[(3-己氧基)苯氧基]丁酸甲酯的制备

以溶于无水 CH_3CN (80ml)的 3-己氧基苯酚(按照实施例 4 中描述的方式制得), (1g, 5.47mmol)和 K_2CO_3 (856mg, 6.17mmol)为原料制备标题化合物。1 小时之后加入 4-溴丁酸甲酯(1.8g, 10.3mmol), 使反应混合物在 60°C 、磁力搅拌下保持 18 小时, 之后加入 H_2O (100ml), 并用 AcOEt (3 x 30ml)萃取混合物。用水洗涤合并的有机层, 在 Na_2SO_4 上干燥并真空蒸发。剩余物用两个硅胶色谱纯化, 第一个使用己烷/ AcOEt 98/2, 得到 1.35g 产物(产率 66%)。 $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300MHz), δ 7.20 (t, 1H), 6.50 (m, 3H), 3.98 (dt, 4H), 3.65 (s, 3H), 2.60 (t, 2H), 2.1 (m, 2H), 1.90 (m, 2H), 1.4 (m, 6H), 0.95 (t, 3H)。

中间体 5-[(3-己氧基)苯氧基]丁酸的制备

向溶于 80ml CH_3OH 的 4-[3-(己氧基)苯氧基]丁酸甲酯(1.35g, 4.58mmol)溶液中加入 NaOH 2N (17ml)和 H_2O (23ml), 将反应混合物保温至 50°C 保持 3 小时。之后真空蒸发溶液, 剩余物用 H_2O 洗脱和用 AcOEt 萃取。用 HCl 2N 将碱性水相酸化至 pH 为 2, 并用 AcOEt (3 x 250ml)萃取。用水洗涤合并的有机相, 在 Na_2SO_4 上干燥, 过滤, 之后真空蒸发, 得到 1.2g 为白色固体的产物(产率 92%), 其不经进一步纯化而使用; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 300MHz), δ 7.20 (t, 1H), 6.50 (m, 3H), 3.98 (dt, 4H), 2.60 (t, 2H), 2.1 (m, 2H), 1.90 (m, 2H), 1.4 (m, 6H), 0.95 (t, 3H)。

(R)-4-三甲基铵-3-[[4-[(3-己氧基)-苯氧基]丙基]氨基甲酰基]-氨基-丁酸盐(ST4024)的制备

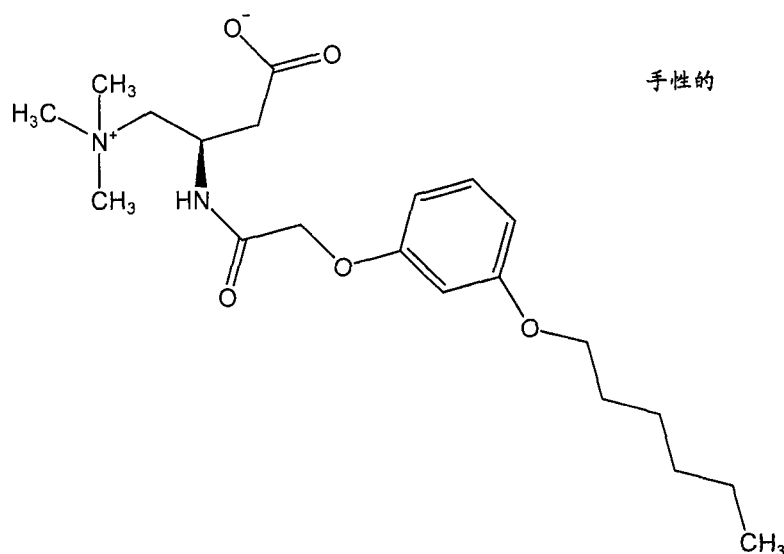
0°C 下向溶于干燥 THF (18.3ml)中的 5-[(3-己氧基)苯氧基]丁酸溶液(1g, 3.55mmol)中加入 TEA (0.359mg, 3.55mmol)、二苯基磷酰基叠氮化物(976mg, 3.55mmol), 使反应在 80°C 、磁力搅拌下保持 18 小时。

之后加入溶解在干燥 MeOH (12.4ml)中的 R-氨基肉毒碱(506mg, 3.16mmol), 使温度至 $5-10^\circ\text{C}$, 随后使反应混合物在室温、磁力搅拌下保持 18 小时。之后真空蒸发反应混合物, 剩余物经硅胶色谱纯化, 以 7/3 至 8/2 的 $\text{CH}_3\text{OH}/\text{AcOEt}$ 为洗脱剂, 得到 635mg 白色固体(产率

46%)。TLC: 硅胶 $R_f = 0.57$, 洗脱剂 $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{异丙醇}:\text{CH}_3\text{COOH}:\text{H}_2\text{O} = 42:28:7:10.5:10.5$; ^1H NMR (MeOH-d_4 , 300MHz) δ 7.10 (t, 1H), 6.45 (m, 3H), 4.50 (brm, 1H), 3.90 (m, 4H), 3.50 (m, 2H), 3.30 (m, 2H), 3.20 (s, 9H), 2.40 (m, 2H), 1.90 (m, 2H), 1.70 (m, 2H), 1.45 (m, 2H), 1.30 (m, 4H), 0.90 (t, 3H); ESI-MS $[\text{M}+\text{Na}^+]$ 460。

实施例 8

(R)-4-三甲基铵-3-[[3-(己氧基)苯氧基]乙酰基]-氨基-丁酸盐 (ST4004) 的制备



中间体 2-[(3-己氧基)苯氧基]乙酸乙酯的制备

以溶于无水 CH_3CN (80ml) 中的 3-己氧基苯酚 (按照实施例 4 中描述的方式制得), (1g, 5.47mmol) 和 K_2CO_3 (853mg, 6.1mmol) 为原料制备标题化合物。1 小时之后加入 2-溴乙酸乙酯 (1.14ml, 1.7g, 10.3mmol), 使反应混合物在 60°C 、磁力搅拌下保持 18 小时。过滤之后真空蒸发反应混合物, 得到 1.4g 油状化合物, 其不经进一步纯化而使用。

^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz), δ 7.20 (t, 1H), 6.50 (m, 3H), 4.65 (s, 2H), 4.25 (q, 2H), 3.98 (t, 2H), 1.80 (m, 2H), 1.50 (m, 2H), 1.3 (m, 7H), 0.95 (m, 3H)。

中间体 2-[(3-己氧基)苯氧基]乙酸的制备

向 2-[(3-己氧基)苯氧基]乙酸乙酯 (1.25g, 4.46mmol) 在 78ml 乙醇中所形成的溶液中加入 NaOH 2N (15ml) 和 H_2O (22ml), 将反应混合物保温至 50°C 保持 3 小时。之后真空蒸发溶液, 剩余物用 H_2O 稀释

并用 AcOEt 萃取。用 HCl 2N 将碱性水相酸化至 pH 为 2, 并用 AcOEt (3 x 250ml) 萃取。用水洗涤合并的有机相, 在 Na₂SO₄ 上干燥, 过滤, 之后真空蒸发, 得到 1g 产物(产率 89%), 其不经进一步纯化而使用。

¹H NMR (CDCl₃, 300MHz), δ 7.20 (t, 1H), 6.50 (m, 3H), 4.65 (s, 2H), 3.98 (t, 2H), 1.80 (m, 2H), 1.50 (m, 2H), 1.3 (m, 4H), 0.95 (m, 3H)。

(R)-4-三甲基铵-3-[[3-(己氧基)苯氧基]乙酰基]-氨基-丁酸盐 (ST4004) 的制备

0℃下向溶于干燥 CH₂Cl₂ (6ml) 中的 2-[(3-己氧基)苯氧基]乙酸溶液(400mg, 1.58mmol) 中加入 1-氯-2-N,N-三甲基-1-丙烯胺(255mg, 1.9mmol), 使反应在室温、磁力搅拌下保持 3 小时。之后真空蒸发有机溶剂, 剩余物用无水乙醚洗涤 3 次。所述化合物不经进一步纯化就使用, 将其溶解在干燥 CH₂Cl₂(1ml) 中并滴加至溶解在干燥 MeOH (8ml) 中的 R-4-三甲基铵-3-氨基-丁酸盐(203mg, 1.27mmol) 中。使反应在室温、磁力搅拌下保持 18h。

之后真空蒸发反应混合物, 剩余物经硅胶色谱纯化, 使用 7/3 至 9/1 的 CH₃OH/AcOEt 作为洗脱剂, 得到 106mg 化合物(产率 22%)。TLC: 硅胶 R_f = 0.54, 洗脱剂 CHCl₃:MeOH:异丙醇:CH₃COOH:H₂O 42:28:7:10.5:10.5; ¹H NMR (MeOH-d₄, 300MHz) δ 7.10 (t, 1H), 6.60 (m, 3H), 4.80 (brm, 1H), 4.60 (s, 2H), 4.00 (m, 2H), 3.60 (m, 2H), 3.20 (s, 9H), 2.50 (dq, 2H), 1.80 (m, 2H), 1.50 (m, 2H), 1.40 (m, 4H), 0.90 (t, 3H); ESI-MS [M + Na⁺] 417。

生物学研究

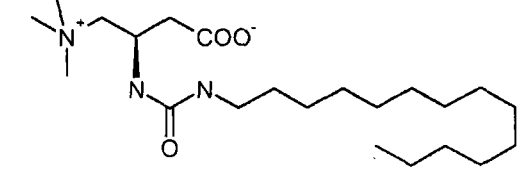
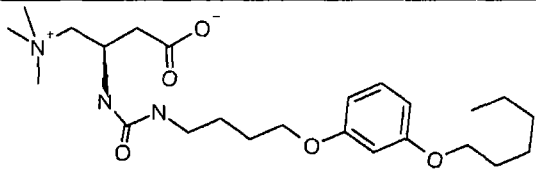
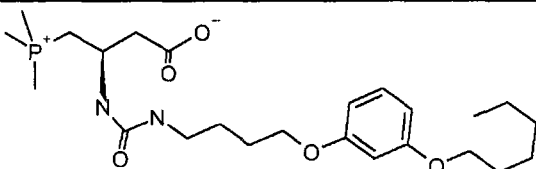
对 CPT I 的体外抑制作用

从正常喂食的 Fischer 大鼠的肝脏或心脏中获得新制线粒体制剂, 在其上评价对 CPT 的抑制作用; 将得自肝脏或心脏的线粒体悬浮在 75mM 的蔗糖缓冲液中, EGTA 1mM, pH 7.5。在 100μl 含有 50μM [¹⁴C] 棕榈酰-CoA(spec.act. 10000dpm/摩尔) 和 10mM L-肉毒碱的线粒体悬浮液中, 于 37℃ 下, 在梯度浓度(0-3mM) 的待测产物存在下进行培养。

反应时间: 1 分钟。

之后确定 IC_{50} 。结果示于表 1 中。

表 1: 大鼠线粒体 CPT1 抑制曲线的 IC_{50}

化合物	结构	IC_{50} (心脏)	IC_{50} (肝脏)	比例
ST1326		48.8 μ M	0.36 μ M	135
ST2425		31.6 μ M	0.27 μ M	117
ST2452		57.3 μ M	0.12 μ M	478

ST2425 和 ST2452 与 ST1326 对体内酮体产生的抑制作用的比较

在禁食 17 小时的大鼠体内评价 ST2425 和 ST2452 对 CPT 和相继的 β -羟基丁酸盐的产生所起的抑制作用，剂量相当于用作参考化合物的 10mg/Kg ST1326 的摩尔数。在单次口服治疗的 3 和 6 小时之后测量 β -羟基丁酸盐的水平。如图 1 中针对 ST2425 和 ST2452 所显示的，其对 β -羟基丁酸盐水平的降低作用比 ST1326 更高、更快，在 3 小时之后达到最小值，并能再保持 3 小时。

对于化合物 ST2425，还在单次口服治疗 9 小时、 β -羟基丁酸盐降低之后，在禁食 16 小时的大鼠中评价 0、1、3、7、10mg/kg 剂量下对酮体的产生的抑制作用。以 0-9 小时的 AUC 为基础计算得到的 ED_{50} 值等于 3.7mg/kg，其低于 ST1326(ED_{50} = 14.5mg/kg)的实测值。如图 2 中所示，还观察到其有更快速的引发作用。

ST2425 和 ST2452 在 db/db 小鼠中的抗高血糖活性

以 30mg/kg/日的剂量将 ST2425 和 ST2452 给药于 db/db 小鼠，持续 12 天，使用更高剂量(80mg/kg/天)的 ST1326 作为参考化合物。在治疗结束时，在禁食 16 小时和最后一次给药 2 小时之后评价血清的血糖水平。结果示于表 2，其显示 ST2425 诱使血糖水平降低 41%，

ST2452 诱使血糖水平降低 30%，而 ST1326 虽然剂量几乎高达 3 倍，但是仅观察到血糖水平降低 26%。

表 2 抗-高血糖活性

化合物	剂量	血糖量(mg/dL)
对照	载体	709 ± 79
ST1326	80mg/kg	521* ± 131
ST2425	30mg/kg	418* ± 114
ST2452	30mg/kg	492* ± 108

平均值 + SD (n = 7); * = p<0.05 vs 对照, 学生试验

经脑室重复给药 ST2425 时对摄食和体重的影响

用溶解在 RPMI 1640(载体)中的 250pmol (0.113μg) ST2425 icv (3μL)注射两组各 8 只 C57BL/6J 小鼠(ST2425 和对照), 注射 4 天(从第 0 天开始)。用异氟烷麻醉使动物轻微地意识混乱。将头部安置在无需割开皮肤即能显示“实际前囟”的装置上。用注射器注射 3.5mm 深, 使用按前囟计的下列坐标: 中央径向切缝左侧 1mm 和后部 3mm(侧脑室)。在 5:00p.m.治疗动物, 在隔天 8:00a.m.监测食物的摄取。从第一次治疗的第二天开始于 8:00a.m.-5:00p.m.移走食物。

使用二元重复测量 ANOVA 进行统计学分析, 之后采用学生, Newman, Keuls 试验作为事后分析。

结果示于表 3 和 4 中, 其显示在试验期间与对照组相比, ST2425 减少摄食量(-25%)和小鼠体重(-7%)。在第 3 和第 4 天观察到的摄食量的减少(约 30%), 以及第 2(-5%)、3 和 4(-10%)天观察到的小鼠体重的降低均具有统计学上的显著性。

表 3: 重复地经脑室给药 ST2425 时对
C57BL6/J 小鼠的摄食的影响

物种/品系/数量/性别	试验日	24 小时摄食量(g)	平均值± S.D.
		对照	ST2425
小鼠/C57BL6J/8/雌性	0	-	-
	1	3.67 ± 0.49	3.15 ± 0.61
	2	3.93 ± 0.45	3.31 ± 0.70
	3	5.13 ± 0.46	3.35 ± 0.73*
	4	5.14 ± 0.46	3.55 ± 0.63*

每组 8 个动物。

二元重复测量 ANOVA, 组, $F_{(1, 14)} = 41.4, p < 0.001$; 时间, $F_{(3, 42)} = 14.9, p < 0.001$; 组 x 时间, $F_{(3, 63)} = 7.32, p < 0.001$ 。事后分析, 因子处理比较: * = $p < 0.05$ vs. 对照。

表 4 重复地经脑室给药 ST2425 时对小鼠体重的影响

物种/品系/数量/性别	试验日	小鼠体重 (g)	平均值 + S.D.
		对照	ST2425
小鼠/C57BL6J/8/雌性	0	21.7 ± 1.23	22.2 ± 0.91
	1	21.7 ± 0.95	21.2 ± 0.96
	2	21.7 ± 0.72	20.5 ± 1.14*
	3	22.4 ± 0.75	20.0 ± 0.69*
	4	22.6 ± 0.66	20.1 ± 0.64*

每组 8 个动物。

二元重复测量 ANOVA, 组, $F_{(1, 14)} = 22.1, p < 0.001$; 时间, $F_{(3, 42)} = 1.8, ns$; 组 x 时间, $F_{(3, 63)} = 12.6, p < 0.001$ 。事后分析, 因子处理比较: * = $p < 0.05$ vs. 对照。

在正常大鼠中经鼻给药 ST2425 时对摄食的影响

为了试验经鼻给药之后本发明的化合物在影响摄食中的活性, 在暗循环前 2h 将 ST2425 喂给正常喂食的 Sprague Dawley 大鼠 (320µg/40µL/大鼠, 在柠檬酸盐缓冲液中, 10mmol/L pH 5.0, 均分至

两个鼻孔)。给药所述化合物 3 天(从第 0 天开始), 并且每隔 24h 测量一次摄食量。每组有 5 只大鼠。

如图 3 所示, 与对照相比, 在用 ST2425 进行第二次治疗之后的那天开始观察到摄食量显著减少。

图1: 口服给药新的CPT I抑制剂对禁食大鼠的酮体产生的影响

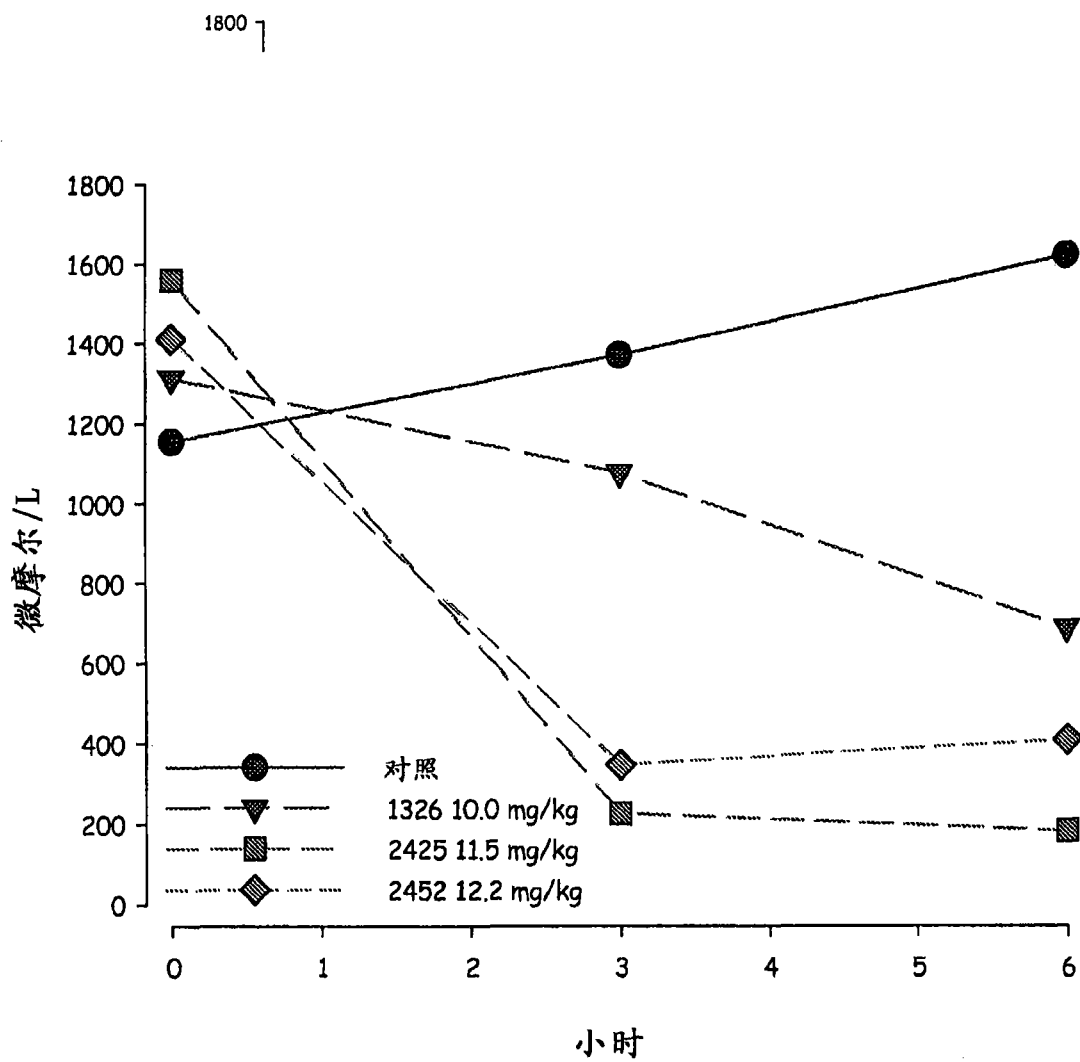


图2: ST2425对禁食大鼠的酮体水平的与剂量有关的影响

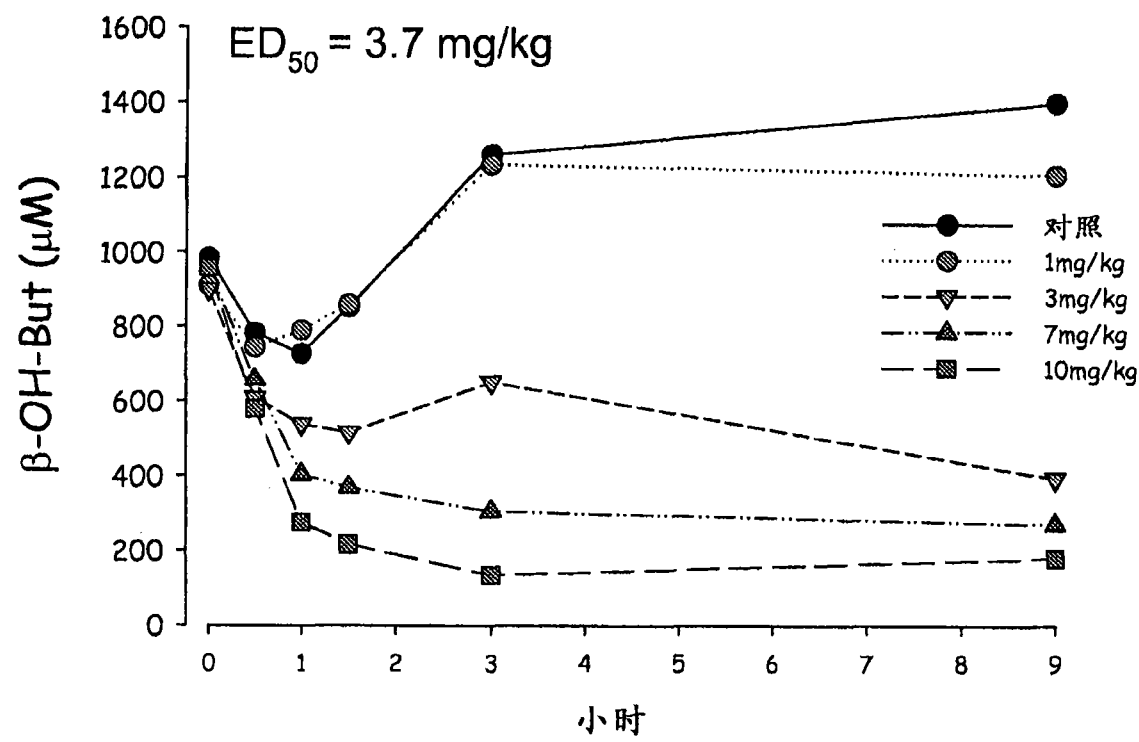
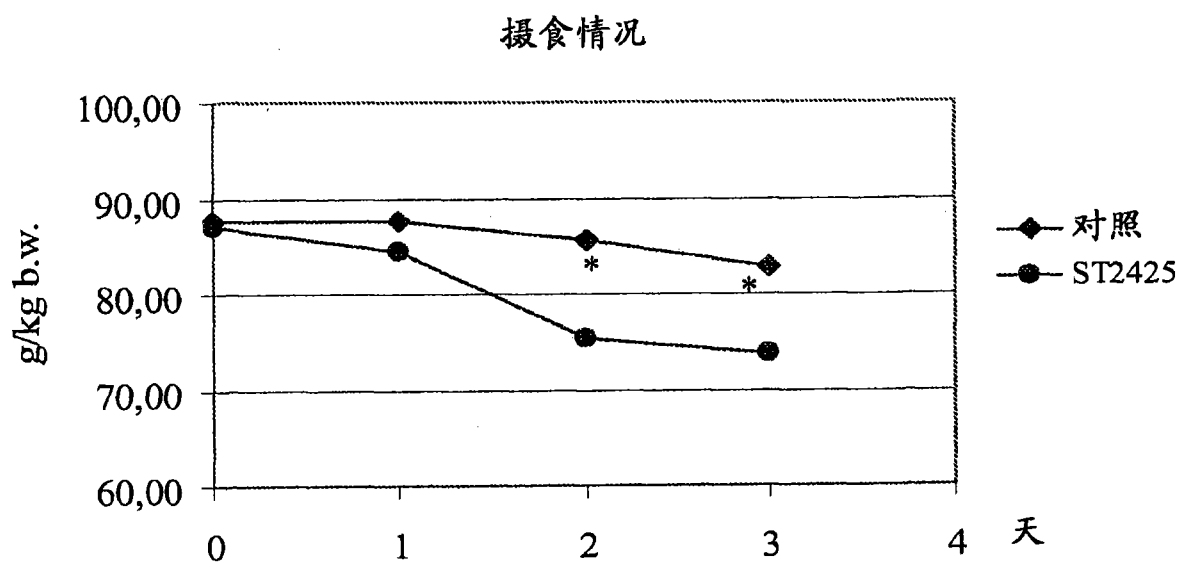


图3: 用ST2425 (320 μ g/40 μ l/大鼠) 以均分至两个鼻孔的方式经鼻治疗3天后, Sprague Dawley大鼠的摄食情况



平均值 $\pm$ S. D. (n=5). 一元ANOVA的事后检验SNK * $p \leq 0.05$ vs对照