(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 112351775 A
(43)申请公布日 2021.02.09

(21)申请号 201980034666.X
(22)申请日 2019.05.22
(30)优先权数据
20180714 2018.05.23 NO
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2020.11.23
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/IB2019/000655 2019.05.22
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2019/224602 EN 2019.11.28
(71)申请人 北海医疗私人有限公司
地址 荷兰阿姆斯特丹
申请人 巴斯夫股份公司
(72)发明人 D.A.弗拉瑟 T.斯克杰雷特 D.舒潘
(74)专利代理机构 北京市柳沈律师事务所 11105
代理人 余晓文
(51)Int.Cl.
A61K 31/202(2006.01)
A61P 1/00(2006.01)
A61P 3/08(2006.01)
A61P 3/10(2006.01)
A61P 29/00(2006.01)

权利要求书6页 说明书27页 附图7页

(54)发明名称

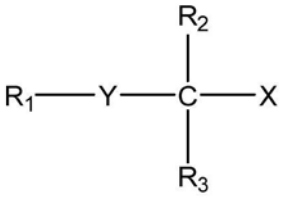
用于改善血糖控制和治疗炎性肠病的结构修饰的脂肪酸

(57)摘要

本公开提供了用作肠内分泌GLP-1产生的活化剂的化合物,其单独或与一种或多种其他治疗剂组合,改善血糖控制和治疗炎性肠病,其中该化合物是具有α-取代基的结构修饰的不饱和脂肪酸。

CN 112351775 A

1.式(I)的化合物：



(I)

• 其中R1选自具有3-6个双键的C10-C22烯基；

• R2和R3相同或不同，并且选自由氢原子，羟基，烷基，卤素原子，烷氧基，酰基氧基，酰基，烯基，炔基，芳基，烷基硫基，烷氧基羰基，羧基，烷基亚磺酰基，烷基磺酰基，氨基和烷基氨基组成的一组取代基，条件是R2和R3能够连接以形成环烷烃，如环丙烷，环丁烷，环戊烷或环己烷，且条件是R2和R3都不是氢；

• X是羧酸或其衍生物，其中所述衍生物是羧酸盐/酯，例如羧酸酯；甘油酯；酸酐；羧酰胺；磷脂；或羟甲基；或其前药；

• Y是氧，硫，亚砜或砜；

• 或药学上可接受的盐，溶剂化物或此类盐的溶剂化物；

用于在受试者中减少基础和/或餐后高血糖症和/或增加餐后血浆胰岛素水平的用途，其中所述化合物任选地与一种或多种另外的活性剂组合施用于所述受试者。

2.用于权利要求1所述的用途的根据权利要求1的化合物，其中R1是具有3-6个双键的C18-C22烯基，并且其中一个双键在Ω-3位。

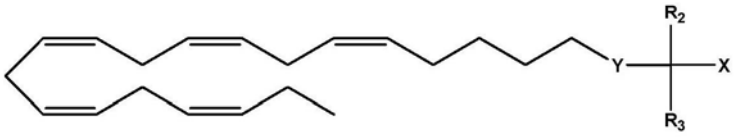
3.用于权利要求1所述的用途的根据权利要求1或2的化合物，其中R2和R3独立地选自氢原子和直链，支链和/或环状的C1-C6烷基的组。

4.用于权利要求1所述的用途的根据权利要求1-3中任一项的化合物，其中R2和R3独立地选自氢原子，甲基，乙基，正丙基，以及异丙基，丁基和戊基的组。

5.用于权利要求1所述的用途的根据权利要求1-4中任一项的化合物，其中Y是氧或硫。

6.根据权利要求5的化合物，其中Y是硫。

7.用于权利要求1所述的用途的根据前述权利要求中任一项的化合物，其中所述化合物是式(II)的化合物：



(II)。

8.根据前述权利要求中任一项的化合物，其中所述用途是用于减少基础性高血糖症。

9.根据前述权利要求中任一项的化合物，其中所述用途是用于减少餐后高血糖症。

10.根据前述权利要求中任一项的化合物，其中所述受试者患有2型糖尿病。

11.根据权利要求9或10的化合物，其中餐后血浆葡萄糖水平降低25％。

12.根据权利要求9或10的化合物，其中餐后血浆葡萄糖水平降低50％。

13.根据权利要求9至12中任一项的化合物，其中在餐后15分钟和/或30分钟时餐后血

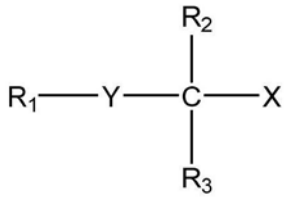
浆葡萄糖水平降低。

14.根据前述权利要求中任一项的化合物,其中所述用途是用于增加餐后血浆胰岛素浓度。

15.根据前述权利要求中任一项的化合物,其中所述化合物与另外的活性剂共同施用,其中所述另外的活性剂是DPP-4抑制剂。

16.一种包含第一和第二组分的组合产品,其中

所述第一组分是式(I)的化合物:



(I)

• 其中R1选自具有3-6个双键的C10-C22烯基;

• R2和R3相同或不同,并且选自由氢原子,羟基,烷基,卤素原子,烷氧基,酰基氧基,酰基,烯基,炔基,芳基,烷基硫基,烷氧基羰基,羧基,烷基亚磺酰基,烷基磺酰基,氨基和烷基氨基组成的一组取代基,条件是R2和R3能够连接以形成环烷烃,如环丙烷,环丁烷,环戊烷或环己烷,且条件是R2和R3都不是氢;

• X是羧酸或其衍生物,其中该衍生物是羧酸盐/酯,例如羧酸酯;甘油酯;酸酐;羧酰胺;磷脂;或羟甲基;或其前药;

• Y是氧,硫,亚砜或砜;和

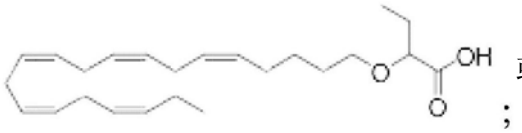
其中所述第二组分是另外的活性剂,

用于减少基础和/或餐后高血糖症和/或增加餐后血浆胰岛素浓度的用途。

17.用于权利要求16所述的用途的根据权利要求16所述的组合产品,其中Y是氧或硫。

18.用于权利要求16所述的用途的根据权利要求17所述的组合产品,其中Y是硫。

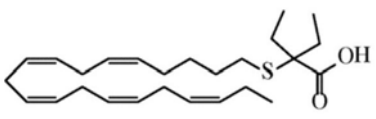
19.用于权利要求16所述的用途的根据权利要求16至18中任一项所述的组合产品,其中所述第一组分为2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-二十碳-5,8,11,14,17-戊烯-1-基)氧基)丁酸(2-(((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-icosa-5,8,11,14,17-pentaen-1-yl)oxy)butanoic acid):



或

;

2-乙基-2-(((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-二十碳-5,8,11,14,17-戊烯基硫基)丁酸(2-ethyl-2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-icosa-5,8,11,14,17-pentaenylthio)butanoic acid)



。

20.根据权利要求16至18中任一项的组合产品,其中所述第二组分是DPP4抑制剂。

21.根据权利要求16至20中任一项的组合产品,其中所述用途是用于降低餐后葡萄糖

水平。

22.式(I)的化合物：

(I)

• 其中R1选自具有3-6个双键的C10-C22烯基；

• R2和R3相同或不同，并且选自由氢原子，羟基，烷基，卤素原子，烷氧基，酰基氧基，酰基，烯基，炔基，芳基，烷基硫基，烷氧基羰基，羧基，烷基亚磺酰基，烷基磺酰基，氨基和烷基氨基组成的一组取代基，条件是R2和R3能够连接以形成环烷烃，如环丙烷，环丁烷，环戊烷或环己烷，条件是R2和R3都不是氢；

• X是羧酸或其衍生物，其中该衍生物是羧酸盐/酯，例如羧酸酯；甘油酯；酸酐；羧酰胺；磷脂；或羟甲基；或其前药；

• Y是氧，硫，亚砜或砜；和

• 或药学上可接受的盐，溶剂化物或此类盐的溶剂化物；

用于治疗受试者的IBD的用途。

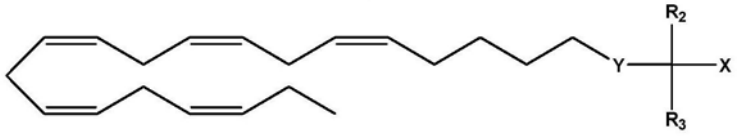
23.用于权利要求22所述的用途的根据权利要求22的化合物，其中Y是硫。

24.用于权利要求22所述的用途的根据权利要求22或23的化合物，其中R1是具有5或6个亚甲基间断的双键的C18-C22烯基，其中第一个双键在从Ω端起的第3和第4个碳原子之间。

25.用于权利要求22所述的用途的根据权利要求22至24中任一项的化合物，其中R2和R3独立地选自氢原子和直链，支链和/或环状的C1-C6烷基。

26.用于权利要求22所述的用途的根据权利要求22至25中任一项的化合物，其中X是羧酸或羧酸酯。

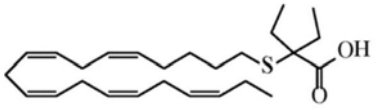
27.用于权利要求22所述的用途的根据权利要求22至26中任一项的化合物，其中所述化合物是式(II)的化合物：



式(II)。

28.用于权利要求22所述的用途的根据权利要求22至27中任一项的化合物，其中R2和R3是乙基。

29.用于权利要求22所述的用途的根据权利要求22至28中任一项的化合物，其中所述化合物是2-乙基-2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-二十碳-5,8,11,14,17-戊烯基硫基)丁酸(2-ethyl-2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-icosa-5,8,11,14,17-pentaenylthio)butanoic acid)：



。

30.根据权利要求22至29中任一项的化合物，其中所述IBD是溃疡性结肠炎。

31.根据权利要求22至29中任一项的化合物，其中所述IBD是克罗恩氏病。

32.根据权利要求22至29中任一项的化合物，其中所述IBD是未定型性结肠炎。

33.根据权利要求22至32中任一项的化合物，用于诱导IBD的缓解。

34.根据权利要求22至32中任一项的化合物，用于维持IBD的缓解。

35.根据权利要求22至33中任一项的化合物，用于减少具有IBD症状的受试者的体重减轻。

36.根据权利要求22至35中任一项的化合物，用于减少患有IBD的受试者的结肠长度的减少。

37.根据权利要求22至36中任一项的化合物，用于减少患有IBD的受试者的肠炎症。

38.根据权利要求22至37中任一项的化合物，其用于减少患有IBD的受试者的肠损伤。

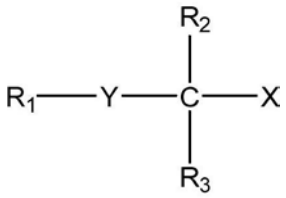
39.根据权利要求22至38中任一项的化合物，其中所述化合物与另外的活性剂共同施用。

40.根据权利要求22至39中任一项的化合物，其中以每天1g至1.5g的剂量施用所述化合物。

41.根据权利要求22至40中任一项的化合物，其中每天施用所述化合物一次。

42.根据权利要求22至41中任一项的化合物，其中口服施用所述化合物。

43.一种在有此需要的受试者中减少基础和/或餐后高血糖症和/或增加餐后血浆胰岛素浓度的方法，所述方法包括向所述受试者施用药学上有效量的式(I)化合物：



(I)

• 其中R1选自具有3-6个双键的C10-C22烯基；

• R2和R3相同或不同，并且选自由氢原子，羟基，烷基，卤素原子，烷氧基，酰基氧基，酰基，烯基，炔基，芳基，烷基硫基，烷氧基羰基，羧基，烷基亚磺酰基，烷基磺酰基，氨基和烷基氨基组成的一组取代基，条件是R2和R3能够连接以形成环烷烃，如环丙烷，环丁烷，环戊烷或环己烷，条件是R2和R3都不是氢；

• X是羧酸或其衍生物，其中该衍生物是羧酸盐/酯，例如羧酸酯；甘油酯；酸酐；羧酰胺；磷脂；或羟甲基；或其前药；

• Y是氧，硫，亚砜或砜；和

• 或药学上可接受的盐，溶剂化物或此类盐的溶剂化物。

44.根据权利要求43的方法，其中R1是具有3-6个双键的C18-C22烯基，并且其中一个双键在Ω-3位。

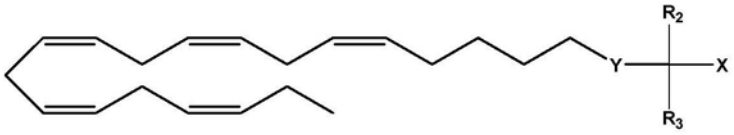
45.根据权利要求43或44的方法，其中R2和R3独立地选自氢原子和直链，支链和/或环状的C1-C6烷基的组。

46.根据权利要求43至45中任一项的方法，其中R2和R3独立地选自氢原子，甲基，乙基，正丙基和异丙基，丁基和戊基的组。

47.根据权利要求43至46中任一项的方法，其中Y是氧或硫。

48.根据权利要求47的方法，其中Y是硫。

49.根据权利要求43至48中任一项的方法，其中所述化合物是式(II)的化合物：



(II)。

50.根据权利要求43至49中任一项的方法,其中基础和/或餐后高血糖症减少。

51.根据权利要求50的方法,其中所述受试者患有2型糖尿病。

52.根据权利要求50或51的方法,其中餐后血浆葡萄糖水平降低25%。

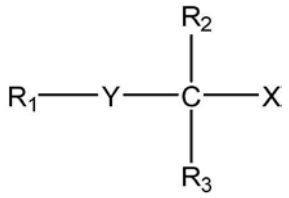
53.根据50或51的方法,其中餐后葡萄糖水平降低50%。

54.根据权利要求50至53中任一项的方法,其中在餐后15分钟和/或30分钟时,餐后血浆葡萄糖水平降低。

55.根据权利要求43至54中任一项的方法,其中餐后血浆胰岛素浓度增加。

56.根据权利要求43至55中任一项的方法,其中所述方法包括施用药学上有效量的DPP-4抑制剂。

57.一种在有此需要的受试者中治疗IBD的方法,所述方法包括向所述受试者施用药学上有效量的式(I)化合物:



(I)

• 其中R1选自具有3-6个双键的C10-C22烯基;

• R2和R3相同或不同,并且选自由氢原子,羟基,烷基,卤素原子,烷氧基,酰基氧基,酰基,烯基,炔基,芳基,烷基硫基,烷氧基羰基,羧基,烷基亚磺酰基,烷基磺酰基,氨基和烷基氨基组成的一组取代基,条件是R2和R3能够连接以形成环烷烃,如环丙烷,环丁烷,环戊烷或环己烷,且条件是R2和R3都不是氢;

• X是羧酸或其衍生物,其中该衍生物是羧酸盐/酯,例如羧酸酯;甘油酯;酸酐;羧酰胺;磷脂;或羟甲基;或其前药;

• Y是氧,硫,亚砜或砜;和

• 或药学上可接受的盐,溶剂化物或此类盐的溶剂化物。

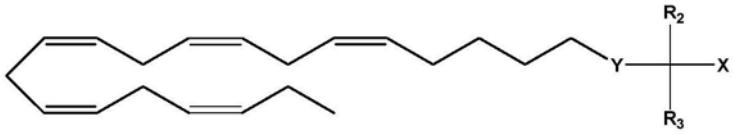
58.根据权利要求57的方法,其中Y是硫。

59.根据权利要求57或58的方法,其中R1是具有5或6个亚甲基间断的双键的C18-C22烯基,其中第一个双键在从Ω端起的第3至第4个碳之间。

60.根据权利要求57至59中任一项的方法,其中R2和R3独立地选自氢原子和直链,支链和/或环状的C1-C6烷基。

61.根据权利要求57至60中任一项的方法,其中X是羧酸或羧酸酯。

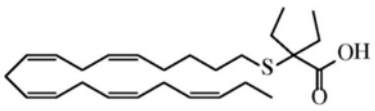
62.根据权利要求57至61中任一项的方法,其中所述化合物是式(II)的化合物:



式(II)。

63.根据权利要求57至62中任一项的方法,其中R2和R3是乙基。

64.根据权利要求57或63中任一项所述的方法,其中所述化合物是2-乙基-2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-二十碳-5,8,11,14,17-戊烯基硫基)丁酸:



。

65.根据权利要求57至64中任一项的方法,其中所述IBD是溃疡性结肠炎。

66.根据权利要求57至65中任一项的方法,其中所述IBD是克罗恩氏病。

67.根据权利要求57至66中任一项的方法,其中所述IBD是未定型性结肠炎。

68.根据权利要求57至67中任一项的方法,其中所述方法包括维持IBD的缓解。

69.根据权利要求57至67中任一项的方法,其中所述方法包括诱导IBD的缓解。

70.根据权利要求57至68中任一项的方法,其中所述方法包括减少经历IBD症状的受试者的体重减轻。

71.根据权利要求57至69中任一项的方法,其中所述方法包括减少结肠长度的减少。

72.根据权利要求57至71中任一项的方法,其中所述方法包括减少肠炎症。

73.根据权利要求57至72中任一项的方法,其中所述方法包括减少肠损伤。

74.根据权利要求57至73中任一项的方法,其中所述方法还包括共同施用另外的活性剂。

75.根据权利要求57至74中任一项的方法,其中以每天1g至1.5g的剂量施用所述化合物。

76.根据权利要求57至75中任一项的方法,其中每天施用所述化合物一次。

77.根据权利要求57至76中任一项的方法,其中口服施用所述化合物。

用于改善血糖控制和治疗炎性肠病的结构修饰的脂肪酸

[0001] 本申请要求2018年5月23日提交的挪威专利申请No.20180714的优先权的权益。前述申请的全部内容通过引用并入本文。

发明领域

[0002] 本公开提供了用作肠的肠内分泌胰高血糖素样肽1(enteroendocrine glucagon-like peptide 1,GLP-1)产生的刺激剂的化合物,其中所述化合物是具有α-取代基的结构修饰的不饱和脂肪酸,单独或与一种或更多其他治疗剂组合使用。本公开提供了用于改善血糖控制的化合物,包括降低基础和/或餐后高血糖症(postprandial hyperglycemia)和增加餐后血浆胰岛素水平。本公开还提供了用于治疗炎性肠病(IBD),例如克罗恩氏病,溃疡性结肠炎(ulcerative colitis)和未定型性结肠炎(indeterminate colitis)的化合物。

[0003] 发明背景

[0004] G蛋白偶联受体GPR40(也称为游离脂肪酸受体[FFAR]-1)在胰腺β细胞上高度表达,并通过改善葡萄糖刺激的胰岛素分泌(GSIS)来响应配体结合。GPR40与相关的受体GPR120/FFAR4一起也在肠中的肠内分泌细胞(具有内分泌功能的胃肠道和胰腺特化细胞)上表达,并通过增加肠降血糖素(incretin),如胰高血糖素样肽1(GLP-1)的分泌来响应配体结合。GLP-1继而刺激GSIS并降低肝葡萄糖输出。胰岛素分泌的葡萄糖依赖性使GLP-1以及受体GPR40和GPR120都成为开发具有良好安全性概况(避免低血糖)的疗法用于治疗2型糖尿病(T2DM)的有吸引力的靶标。

[0005] 在发现肠中的肠内分泌GLP-1作为餐后胰岛素分泌的介质之前,先观察到静脉内葡萄糖递送不会刺激与口服葡萄糖负荷相同的胰岛素反应。肥胖症治疗学手术后立即(重量减轻之前)改善葡萄糖耐量也表明远端肠中的细胞积极参与调节餐后葡萄糖耐量。

[0006] GLP-1作为一种关键的肠源性肠降血糖素调节葡萄糖耐量的鉴定导致了用于T2DM的胃肠外,并且最近口服GLP-1疗法的迅速发展。然而,由于GLP-1在从肠道释放的几分钟内就被分解,因此抑制内源性GLP-1分解的口服化合物(例如二肽基肽酶4(dipeptidyl peptidase-4,DPP-4)抑制剂)以及稳定的但在很大程度上胃肠外施用的抗DPP-4降解的GLP-1类似物(短效和长效)已成为患有T2DM的患者的有效治疗策略。最近,GPR40激动剂也正在临床开发中,旨在直接刺激胰腺β细胞GSIS。

[0007] 增加内源性GLP-1浓度的另一种策略是通过GPR40和/或GPR120与天然配体(即游离脂肪酸)一起靶向小肠和大肠中的肠的肠内分泌细胞。然而,如Morishita et al.,J.Control.Release.,2008,132(2):99-104中所显示的,尽管鉴定出长链Ω-3(n-3)脂肪酸作为GPR40和GPR120两者的配体,在体外调节肠内分泌细胞产生GLP-1,但口服供给长链n-3脂肪酸对诱导临床上相关的GLP-1浓度和/或改善人的血糖控制是最小程度有效的。不受理论的束缚,这可能有多种原因。

[0008] 首先,如前所述,DLP-4在多个组织中使GLP-1迅速失活,导致人中的半衰期少于2分钟,而啮齿动物中的半衰期更短。这刺激了DDP-4抑制剂药物的开发,以增加GLP-1的半衰

期。

[0009] 其次，口服脂肪酸主要在小肠上部吸收，因此不能靶向远端小肠和大肠中高浓度的FFAR。Morishita et al.,J.Control.Release.,2008,132(2):99-104进一步报道，通过二十碳五烯酸刺激肠GLP-1的产生是部位特异性的，并且取决于结肠施用，在递送至胃或空肠时未观察到效果。

[0010] 第三，Christensen et al.,Physiol Rep.,2015,3(9)报告的研究表明，FFAR，GPR40主要在肠衬里的血管侧而不是腔侧被激活。因此，应吸收长链脂肪酸以最佳地激活GPR40。然而，口服递送的脂肪酸在吸收后在肠的血管侧在最小程度上以游离酸形式存在，而是取而代之作为甘油三酸酯掺入到乳糜微粒中，具有最小的结合并激活FFAR能力。

[0011] 最后，Tunaru et al.,Nat Commun.,2018,9(1):177还表明，结合GPR40的脂肪酸的羟基化代谢物作为自分泌GPR40配体比其母体化合物有效得多。因此，我们假设使游离脂肪酸形式的利用度最大化，从而使对肠上皮细胞(enterocyte)中复杂脂质和分泌前脂蛋白的掺入最小化并防止其代谢的结构修饰可以增加酶修饰的底物利用性和更有效的FFAR配体的产生。

[0012] 除了其对餐后胰岛素分泌有影响外，研究还表明GLP-1还施加抗炎效应。因此，涉及在肠中诱导GLP-1的治疗可能会对炎性肠病(IBD)提供一些治疗益处。

[0013] 炎性肠病(IBD)是慢性肠炎性疾病，其特征在于由于粘膜免疫系统的不适当且持续的激活而导致的不受控制的炎症。Uniken Venema et al.,J.Pathol.2017,241(2):146-158;Huang et al.,Am.J.Transl.Res.,2016,8(6):2490-2497。活性IBD的标志是炎症细胞的募集，它们在肠粘膜和固有层中的浸润和激活以及增强的促炎介质的产生。Fakhoury et al.,J.Inflamm.Res.,2014,7:113-120;Xavier et al.,Nature,2007,448(7152):427-434。IBD大致可以分为溃疡性结肠炎，具有突出的Th2 T细胞应答，以及克罗恩氏病，具有突出的Th1 T细胞应答。虽然溃疡性结肠炎仅限于肠道，但克罗恩氏病可以影响结肠和小肠两者。第三类是未定型性结肠炎，它兼具溃疡性结肠炎和克罗恩氏病的特征，并且影响10-15％的IBD患者。

[0014] 目前，没有针对IBD的治愈，并且治疗模式(modality)关注炎症过程的减少，以减轻症状并预防将来的并发症，从而改善患者的生活质量。IBD的药物治疗包括五个主要类别:抗炎药，包括生物制剂，免疫抑制剂，免疫调节剂，抗生素和缓解症状的药物。然而，这些治疗通常与显著的副作用有关，并且在某些患者中得到有限的成功，这突出表明需要具有最小副作用或没有副作用的新型治疗剂。Ananthakrishnan et al.,Inflamm.Bowel Dis.,2017,23(6):882-893。

[0015] 开发此类具有最小副作用的用于IBD的治疗剂的先前努力包括使用天然存在的Ω-3脂肪酸的口服施用。然而，这些治疗IBD的努力没有获得成功，或者充其量是不确定的。Lev-Tzion et al.,Cochrane Database Syst.Rev.,2014,28(2):CD006320;Cabre et al.,Br.J.Nutri.,2012,Suppl 2:S240-252。这种失败可能至少部分是因为，如上所述，口服施用的Ω-3脂肪酸主要在小肠上部吸收，因此可能无法靶向下部肠和结肠的富含脂肪酸受体的区段。尽管直接结肠递送EPA和DHA能够诱导啮齿动物中GLP-1的分泌，然而与口服给药相比，这种方法对于患者而言并不方便。重要的是，期望效果所需的Ω-3脂肪酸的剂量会过高，因为它们大量掺入细胞膜中或被代谢，而不是激活脂肪酸受体。

[0016] 基于上述，需要激活肠内分泌GLP-1产生和/或改善血糖控制的新型替代方法。还需要口服施用的具有最小副作用的治疗IBD的治疗剂。我们假设脂肪酸的特定结构修饰可改善其结合和刺激肠GPR40/120和/或增加GLP-1分泌的能力。我们假设这些修饰的脂肪酸可改善血糖控制，例如通过降低基础和/或餐后葡萄糖水平和/或增加餐后胰岛素水平，并治疗IBD。

发明内容

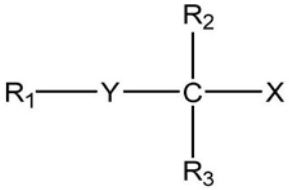
[0017] 本公开提供了用作肠内分泌GLP-1产生的刺激剂的化合物，其中所述化合物是在α位具有取代基的不饱和脂肪酸，其可以单独或与一种或多种其他治疗剂组合使用。不受理论的束缚，修饰的脂肪酸可以是GPR40/120的配体，其具有改善的到达并激活位于回肠和大肠中的受体和/或抑制DPP-4活性的能力。

[0018] 更具体地，本发明提供了用作肠内分泌GLP-1产生的增效剂，改善GSIS，促进饱腹感，减慢胃排空，抑制葡萄糖依赖性胰高血糖素分泌和减少肝葡萄糖产生的化合物。本公开还提供了化合物，用于改善血糖控制，包括降低基础和/或餐后高血糖症，和/或增加餐后血浆胰岛素浓度。

[0019] 本公开进一步提供了用于治疗IBD，例如克罗恩氏病，溃疡性结肠炎和未定型性结肠炎的化合物。本公开提供了化合物，其用于减少IBD中的肠炎症，诱导IBD的缓解，维持IBD的缓解，减少经历IBD症状的受试者的体重减轻，减少结肠长度的减少，减少患有IBD的受试者的肠炎症和/或减少患有IBD的受试者中肠损伤。

[0020] 在一个方面，本发明提供了一种在有此需要的受试者中增加GLP-1水平的方法，包括向该受试者施用药学上有效量的式(I)化合物。在一些实施方案中，本发明提供了一种在有此需要的受试者中减少基础和/或餐后高血糖症和/或增加餐后血浆胰岛素浓度的方法，包括向该受试者施用药学上有效量的式(I)化合物。在一些实施方案中，本发明提供了一种在有此需要的受试者中治疗IBD的方法，包括向该受试者施用药学上有效量的式(I)化合物。在一些实施方案中，将该化合物任选地与一种或多种另外的活性剂组合施用于受试者。

[0021] 式(I)化合物为：

[0022] 

(I)

[0023] • 其中R1选自具有3-6个双键的C10-C22烯基；

[0024] • R2和R3相同或不同，并且选自由氢原子，羟基，烷基，卤素原子，烷氧基，酰基氧基，酰基，烯基，炔基，芳基，烷基硫基，烷氧基羰基，羧基，烷基亚磺酰基，烷基磺酰基，氨基和烷基氨基组成的一组取代基，条件是R2和R3能够连接以形成环烷烃，如环丙烷，环丁烷，环戊烷或环己烷，且条件是R2和R3都不是氢；

[0025] • X是羧酸或其衍生物，其中所述衍生物是羧酸盐/酯，例如羧酸酯；甘油酯；酸酐；羧酰胺；磷脂；或羟甲基；或其前药；

[0026] • Y是氧,硫,亚砜,砜或CH_2;

[0027] • 或药学上可接受的盐,溶剂化物或此类盐的溶剂化物;

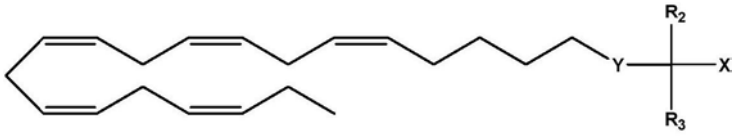
[0028] • 和任选地一种或多种另外的活性剂。

[0029] 在同等方面,本发明提供式(I)化合物,用于增加受试者的GLP-1产生,其中所述化合物任选地与一种或多种另外的活性剂组合施用于受试者。

[0030] 在一些实施方案中,本发明提供式(I)化合物,用于改善血糖控制,包括降低受试者的基础或餐后高血糖症和/或增加餐后血浆胰岛素浓度,其中所述化合物任选地与一种或多种另外的活性剂组合施用于受试者。

[0031] 在一些实施方案中,本发明提供式(I)化合物,用于治疗受试者中的IBD,减少IBD中的肠炎症,诱导IBD的减轻,维持IBD的减轻,减少经历IBD症状的受试者的体重减轻,减少结肠长度的减少,减少患有IBD的受试者的肠炎症和/或减少患有IBD的受试者的肠损伤,其中所述化合物任选地与一种或多种另外的活性剂组合施用于受试者。

[0032] 更特别地,所使用的化合物由式(II)提供:

[0033] 

(II)

[0034] 其中R2,R3,Y和X如式I所定义;

[0035] 以及任选地与一种或多种另外的活性剂一起施用。

[0036] 本发明进一步提供了组合产品,包括

[0037] i)第一组分是式(I)化合物;

[0038] ii)第二组分是另外的活性剂。

[0039] 附图简述

[0040] 图1示出了在瘦Sprague-Dawley(SPD)大鼠中短期饲喂玉米油+媒介物,玉米油+二肽基肽酶4(DPP4)抑制剂或化合物B+DPP4抑制剂对曲线下面积(AUC)(0-60分钟)葡萄糖刺激的活性GLP-1(pg/ml)x min的影响。

[0041] 图2示出了在瘦SPD大鼠中在24h时玉米油+媒介物,玉米油+DPP4抑制剂,单独的化合物A或化合物A+DPP4抑制剂对活性GLP-1(pg/ml)的影响。

[0042] 图3示出了在瘦SPD大鼠中在24h时玉米油+媒介物,玉米油+DPP4抑制剂,单独的化合物B或化合物B+DPP4抑制剂对活性GLP-1(pg/ml)的影响。

[0043] 图4示出了在瘦SPD大鼠中在24h时玉米油+媒介物,玉米油+DPP4抑制剂,单独的化合物A或化合物A+DPP4抑制剂对血浆胰岛素(pg/ml)的影响。

[0044] 图5示出了在瘦SPD大鼠中在24h时玉米油+媒介物,玉米油+DPP4抑制剂,单独的化合物B或化合物B+DPP4抑制剂对血浆胰岛素(pg/ml)的影响。

[0045] 图6A示出了在T2DM啮齿动物模型中,与吡格列酮相比,以2种剂量的化合物B进行28天处理对葡萄糖耐量(0-120min)的影响。图6B示出了在T2DM啮齿动物模型中,与吡格列酮相比,用化合物A处理21天对葡萄糖耐量的影响。

[0046] 图7示出了在葡聚糖硫酸钠(DSS)诱发性结肠炎小鼠模型中,与没有处理相比,用2种剂量的化合物B处理对体重的影响。

[0047] 图8示出了在DSS诱发性结肠炎小鼠模型中，与没有处理(仅媒介物)相比，以2种剂量(L，较低剂量；H，较高剂量)的化合物B处理对结肠长度的影响。

[0048] 图9示出了在DSS诱发性结肠炎小鼠模型中，与没有处理相比，以2种不同剂量的化合物B处理的小鼠的存活率。

[0049] 图10示出了在DSS诱发性结肠炎小鼠模型中，与未处理的小鼠相比，以2种不同剂量的化合物B处理的小鼠的肠横截面的组织学评分。

[0050] 图11示出了与未用DSS诱导的小鼠(图11G)相比，未经处理(图11A-B)，用低剂量(图11C-D)或高剂量化合物B(图11E-F)处理的DSS诱发性结肠炎小鼠的小鼠肠的组织学横截面。图11A，C和E的比例尺为200μm。图11B，D，F和G比例尺为50μm。

[0051] 图12示出了化合物B处理对与IBD相关的一组细胞因子和生物标志物的相对结肠mRNA水平的影响。测试的该组基因包括IL6(图12A)，IL1b(图12B)，S100A8(图12C)，TNFα(图12D)，Reg3g(图12E)和IL17a(图12F)。

[0052] 发明详述

[0053] 通过参照以下结合附图的详细描述，可以更容易地理解所公开的组合物和方法，所述附图形成了本公开的一部分。本文引用的所有参考文献出于任何目的通过引用并入。如果参考文献与说明书冲突，以说明书为准。

[0054] 本文公开了可刺激肠内分泌GLP-1产生的化合物。本文还公开了减少基础和/或餐后高血糖症和/或增加餐后血浆胰岛素浓度的化合物。本文还公开了用于治疗和/或减轻炎性肠病(IBD)症状(例如肠炎症)并诱导IBD缓解，维持IBD缓解，减少经历IBD症状的患者体重减轻，减少患有IBD的受试者结肠长度减少，减少患有IBD的受试者的肠炎症，和/或减少患有IBD的受试者的肠损伤的化合物。该化合物是结构上被修饰以在α位包含取代基并且优选在β位掺入杂原子的不饱和脂肪酸。该化合物可以单独或与一种或多种其他治疗剂组合使用。

[0055] 下面更详细地描述本公开的特定方面。如在本申请中使用的以及如在本文中阐明的术语和定义意在表示本公开内的含义。

[0056] 除非上下文另有指示，否则单数形式“一个”、“一种”和“该”包括复数形式。

[0057] 术语“大体”和“大约”意味着与参照数字或值几乎相同。如本文所用，术语“大体”和“大约”通常应理解为涵盖指定量、频率或值的±5％。

[0058] 术语“治疗”包括可以有益于人类或非人类哺乳动物的任何治疗或预防应用。人类和兽医治疗均在本公开的范围内。治疗可以对现有状况有反应，也可以是防范性的(prophylactic)，即预防性的(preventative)。

[0059] 如本文所用，术语“施用”是指(1)由健康从业者或其授权代理人或在他的指导下提供、给予、给药和/或规定根据本公开的化合物或组合物，和(2)人类患者或人本人或非人类哺乳动物放入、服用或消费本公开的化合物或组合物。

[0060] 术语“共同施用”是指(a)式(I)或(II)的化合物或药学上可接受的盐，溶剂化物或其盐的溶剂化物；和(b)另外的治疗剂，以协同的方式在一起。例如，共同施用可以是同时施用，顺序施用，重叠施用，间隔施用，连续施用或其组合。对于化合物和另外的药剂，施用方式可以不同，并且共同施用包括任何施用方式，例如口服，皮下，舌下，经粘膜，胃肠外，静脉内，动脉内，腹膜内，含服，舌下，局部，阴道，直肠，眼，耳，鼻，吸入和经皮，或其组合。胃肠外

施用的实例包括但不限于静脉内(IV)施用,动脉内施用,肌内施用,皮下施用,骨内施用,鞘内施用或其组合。式(I)或(II)的化合物和另外的治疗剂可以独立地施用,例如口服或胃肠外。在一个实施方案中,口服施用式(I)或(II)的化合物;并且胃肠外施用另外的治疗剂。胃肠外施用可以通过注射或输注进行。在另一个实施方案中,式(I)化合物和另外的药剂,例如DPP-4抑制剂,都是口服施用。

[0061] 术语“预防和/或治疗”和“治疗性和/或预防性处理”可以互换使用。此外,术语“治疗/处理”还可涵盖预防性处理。典型地,式(I)或式(II)的化合物将用于治疗,即预防性处理例如IBD;基础和/或餐后高血糖症。然而,式(I)或式(II)的化合物还可用于例如IBD的预防性处理,包括维持IBD的缓解。还可以预见,在某些情况下,式(I)或式(II)的化合物可以用作肠内分泌GLP-1分泌的增强剂,促进GSIS,饱腹感,减慢胃排空,抑制葡萄糖依赖性胰高血糖素的分泌并减少通过GLP-1的肝脏葡萄糖产生。

[0062] 术语“药学上有效量”是指足以达到所需药理和/或治疗作用的量,即,对于预期目的有效的所公开的化合物和药剂的量。尽管个体受试者/患者需求可以变化,然而确定有效量的所公开化合物的最佳范围在本领域技术范围内。通常,可以根据多种因素,例如受试者/患者的类型,年龄,体重,性别,饮食和/或医学状况,来确定用目前公开的化合物治疗疾病和/或病症的剂量方案。术语“药物组合物”是指适用于医学用途的任何形式的根据本公开的化合物。

[0063] 公开的化合物

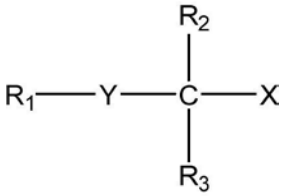
[0064] 式(I)和(II)的化合物可以以各种立体异构形式存在,包括对映异构体,非对映异构体或其混合物。应理解,本发明涵盖式(I)和(II)的化合物的所有旋光异构体及其混合物。因此,以非对映异构体,外消旋体和/或对映异构体形式存在的式(I)和(II)化合物在本公开的范围内。

[0065] 一方面,本发明提供用于增加受试者的GLP-1产生的式(I)化合物,其中所述化合物任选地与一种或多种另外的活性剂组合施用于受试者。

[0066] 在一些实施方案中,本发明提供了用于减少受试者的基础或餐后高血糖症和/或增加受试者的餐后血浆胰岛素浓度的式(I)化合物,其中所述化合物任选地与一种或多种另外的活性剂组合施用于受试者。

[0067] 在一些实施方案中,本发明提供了用于治疗受试者的IBD,诱导IBD的缓解,维持IBD的缓解,减少经历IBD症状的受试者的体重减轻,减少结肠长度的减少,减少患有IBD的受试者的肠炎症和/或减少患有IBD的受试者的肠损伤的式(I)化合物,其中所述化合物任选地与一种或多种另外的活性剂组合施用于受试者。

[0068] 式(I)化合物为:

[0069] 

(I)

[0070] • 其中R1选自具有3-6个双键的C10-C22烯基;

[0071] • R2和R3相同或不同，并且选自由氢原子，羟基，烷基，卤素原子，烷氧基，酰基氧基，酰基，烯基，炔基，芳基，烷基硫基，烷氧基羰基，羧基，烷基亚磺酰基，烷基磺酰基，氨基和烷基氨基组成的一组取代基，条件是R2和R3能够连接以形成环烷烃，如环丙烷，环丁烷，环戊烷或环己烷，条件是R2和R3都不是氢；

[0072] • X是羧酸或其衍生物，其中所述衍生物是羧酸盐/酯，例如羧酸酯；甘油酯；酸酐；羧酰胺；磷脂；或羟甲基；或其前药；

[0073] • Y是氧，硫，亚砜，砜或CH_2；

[0074] • 或药学上可接受的盐，溶剂化物或此类盐的溶剂化物。

[0075] 在至少一个实施方案中，所述化合物与一种或多种另外的活性剂共同施用。受试者是动物，通常是哺乳动物，优选是人类。

[0076] 在一些实施方案中，Y是氧。在一些实施方案中，Y是硫。

[0077] 此外，所公开的化合物用于治疗高血糖症，例如用于治疗基础和/或餐后高血糖症。在一些实施方案中，这可以通过GSIS的增加和/或肝葡萄糖输出的减少来实现。

[0078] 在至少一个实施方案中，R1是具有3-6个双键，例如5或6个双键的C18-C22烯基，并且优选地，其中一个双键在Ω-3位。在一些实施方案中，R1为具有5或6个亚甲基间断的双键的C18-C22烯基，其中第一个双键在从Ω端起的第3至第4个碳之间。

[0079] α-取代基R2和R3更优选独立地选自氢原子和直链，支链和/或环状的C1-C6烷基，条件是R2和R3均不能为氢原子。在一个实施方案中，R2和R3中的至少一个是氢原子，甲基，乙基，正丙基和异丙基，丁基或戊基。在一个实施方案中，R2和R3均为甲基，乙基或正丙基，并且最优选地，R2和R3均为乙基。在另一个实施方案中，R2和R3中的一个是氢基，而另一个R2或R3是C1-C3烷基。

[0080] X优选代表羧酸或羧酸酯；或药学上可接受的盐，溶剂化物，此类盐的溶剂化物。更优选地，X为提供游离酸形式的修饰的脂肪酸的羧酸基团。

[0081] Y优选为氧，硫，亚砜或砜，最优选为氧或硫。

[0082] 对于式(I)化合物更优选，

[0083] • R2和R3独立地选自氢原子或直链，支链和/或环状的C1-C6烷基，条件是R2和R3不能都为氢原子；

[0084] • X是羧酸或羧酸酯；或药学上可接受的盐，溶剂化物或此类盐的溶剂化物；和

[0085] • Y是氧或硫。

[0086] 在一些实施方案中，对于式(I)化合物，

[0087] • R2和R3独立地选自氢原子或直链，支链和/或环状的C1-C6烷基，条件是R2和R3不能都为氢原子；

[0088] • X是羧酸或羧酸酯；或药学上可接受的盐，溶剂化物或此类盐的溶剂化物；和

[0089] • Y是硫。

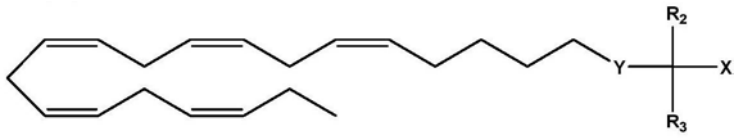
[0090] 在一些实施方案中，对于式(I)化合物，

[0091] • R2和R3独立地选自氢原子或直链，支链和/或环状的C1-C6烷基，条件是R2和R3不能都为氢原子；和

[0092] • X是羧酸或羧酸酯；或药学上可接受的盐，溶剂化物或此类盐的溶剂化物；和

[0093] • Y是氧。

[0094] 在至少一个实施方案中,R1为具有5个亚甲基间断的双键的C20烯基,使得第一个双键在Ω-3位(即,C20:5n 3链),并且更优选地使用的式(I)化合物是式(II)的化合物:

[0095] 

(II)

[0096] 其中R2,R3,Y和X如式(I)所定义,

[0097] 用于增加GLP-1的产生,减少基础和/或餐后高血糖症,减少餐后血浆胰岛素水平,治疗受试者中的IBD,减轻患有IBD的受试者的肠炎症,诱导IBD缓解,维持IBD缓解,减少经历IBD症状的受试者的体重减少,减少患有IBD的受试者的结肠长度减少,减少患有IBD的受试者的肠炎症和/或减少患有IBD的受试者的肠损伤。

[0098] 因此,式(II)代表式(I)化合物的有限基团。

[0099] 对于式(II)的化合物更优选,

[0100] • R2和R3独立地选自氢原子或直链,支链和/或环状的C1-C6烷基,条件是R2和R3均不能为氢原子;

[0101] • X是羧酸或羧酸酯;或药学上可接受的盐,溶剂化物或此类盐的溶剂化物;和

[0102] • Y是氧或硫。

[0103] 在一些实施方案中,对于式(II)的化合物,

[0104] • R2和R3独立地选自氢原子或直链,支链和/或环状的C1-C6烷基,条件是R2和R3不能都为氢原子;

[0105] • X是羧酸或羧酸酯;或药学上可接受的盐,溶剂化物或此类盐的溶剂化物;和

[0106] • Y是硫。

[0107] 在一些实施方案中,对于式(II)的化合物,

[0108] • R2和R3独立地选自氢原子或直链,支链和/或环状的C1-C6烷基,条件是R2和R3不能都为氢原子;

[0109] • X是羧酸或羧酸酯;或药学上可接受的盐,溶剂化物或此类盐的溶剂化物;和

[0110] • Y是氧。

[0111] 在R2和R3不同的情况下,式(I)和式(II)的化合物能够以立体异构形式存在。应理解,本发明涵盖式(I)和式(II)的化合物的所有光学异构体及其混合物。

[0112] 对于式(I)和式(II)的化合物,在至少一个实施方案中,R2和R3独立地选自氢原子,甲基,乙基,正丙基,异丙基,丁基和戊基。在一些实施方案中,R2和R3不能都为氢原子。在至少一个实施方案中,R2和R3独立地选自氢原子,甲基和乙基。在一些实施方案中,R2和R3独立地选自氢原子,甲基和乙基,条件是R2和R3不能都为氢原子。

[0113] 在至少一个实施方案中,R2和R3中的一个是氢原子,并且R2和R3中的另一个选自C1-C3烷基。在一个实施方案中,R2和R3中的一个是氢原子,并且R2和R3中的另一个选自甲基和乙基,并且最优选地,R2和R3中的一个是氢原子并且另一个是乙基。

[0114] 在另一个实施方案中,R2和R3均为C1-C3烷基。在一个实施方案中,R2和R3相同或不同,并且各自独立地选自甲基,乙基,正丙基或异丙基。在一个优选的实施方案中,R2和R3

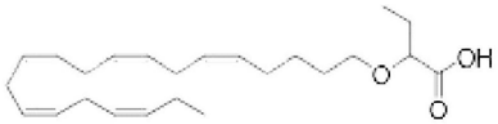
相同，并且选自一对甲基，一对乙基，一对正丙基或一对异丙基。在至少一个优选的实施方案中，R2和R3为乙基。在一个实施方案中，R2和R3中的一个是甲基，另一个是乙基。在一个实施方案中，R2和R3中的一个是乙基，另一个是正丙基。

[0115] 在至少一个实施方案中，化合物以其各种立体异构形式存在，例如对映异构体(R或S)，非对映异构体或它们的混合物。在至少一个实施方案中，化合物以外消旋形式存在。特别地，在那些情况下，如果R2和R3不同，则式(I)和式(II)的化合物能够以立体异构形式存在。应理解，本发明涵盖式(I)和式(II)的化合物的所有光学异构体及其混合物。

[0116] 在根据式(I)化合物是具有至少一个立体生成中心的抗衡离子的盐或具有至少一个立体生成中心(stereogenic center)的醇的酯的情况下，该化合物可以具有多个立体中心(stereocenter)。在那些情况下，本公开的化合物可以非对映异构体的形式存在。因此，在至少一个实施方案中，本公开的化合物作为至少一种非对映异构体存在。

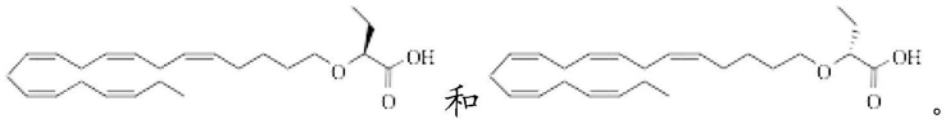
[0117] 在至少一个实施方案中，当Y为氧时，R2和R3优选为不同，并且更优选R2和R3中的一个为乙基，另一个为氢。在其他实施方案中，当Y为硫时，R2和R3优选相同，并且更优选R2和R3均为乙基。

[0118] 在至少一个实施方案中，用于本公开的化合物是2-(((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-二十碳-5,8,11,14,17-戊烯-1-基)氧基)丁酸(2-(((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-icosa-5,8,11,14,17-pentaen-1-yl)oxy)butanoic acid)(化合物A)：

[0119] 

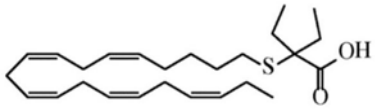
[0120] (化合物A)。

[0121] 在至少一个实施方案中，用于本公开的化合物是以式S和/或R形式存在的化合物A，由下式表示：

[0122] 

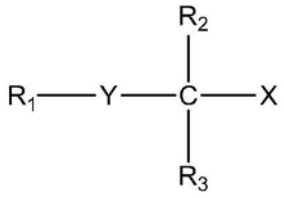
。

[0123] 在至少一个实施方案中，用于本发明的化合物是2-乙基-2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-二十碳-5,8,11,14,17-戊烯基硫基)丁酸(2-ethyl-2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-icosa-5,8,11,14,17-pentaenylthio)butanoic acid)(化合物B)：

[0124] 

[0125] (化合物B)。

[0126] 在另一方面，本发明提供了包含第一和第二组分的组合产品，其中第一组分是式(I)化合物：

[0127] 

(I)

[0128] • 其中R1选自具有3-6个双键的C10-C22烯基；

[0129] • R2和R3相同或不同，并且选自由氢原子，羟基，烷基，卤素原子，烷氧基，酰基氧基，酰基，烯基，炔基，芳基，烷基硫基，烷氧基羰基，羧基，烷基亚磺酰基，烷基磺酰基，氨基和烷基氨基组成的一组取代基，条件是R2和R3能够连接以形成环烷烃，如环丙烷，环丁烷，环戊烷或环己烷，条件是R2和R3都不是氢；

[0130] • X是羧酸或其衍生物，其中所述衍生物是羧酸盐/酯，例如羧酸酯；甘油酯；酸酐；羧酰胺；磷脂；或羟甲基；或其前药；

[0131] • Y是氧，硫，亚砜，砜和CH_2；

[0132] • 或药学上可接受的盐，溶剂化物或此类盐的溶剂化物；和

[0133] • 第二组分是另外的活性剂。

[0134] 在针对方法和用途的第一方面的上下文中描述的实施方案和特征也适用于本发明的该另一方面。因此，组合产品的第一组分选自涉及化合物用途(compounds for use)的第一方面中公开的的化合物的组。在优选的方面，组合产品包含式(II)的化合物作为第一组分。在一个实施方案中，组合产品包含化合物B作为第一组分。在另一个实施方案中，组合产品包含化合物A作为第一组分。

[0135] 组合产品的第一组分，即式(I)或(II)的化合物可以作为药物施用，例如在药物组合物中。本公开的组合物可包含至少一种如所公开的化合物和任选地至少一种非活性药物成分，即赋形剂。非活性成分可以将活性成分溶解，悬浮，增稠，稀释，乳化，稳定，保存，保护，着色，增味和/或塑造(fashion)成适用且有效的制剂，从而使其安全，方便和/或用途可接受的。赋形剂的实例包括但不限于溶剂，载体，稀释剂，粘合剂，填充剂，甜味剂，香料，pH调节剂，粘度调节剂，抗氧化剂，增量剂，湿润剂，崩解剂，缓释剂，吸收促进剂，润湿剂，吸收剂，润滑剂，着色剂，分散剂和防腐剂。赋形剂可具有一种以上的作用或功能，或者可被分类为不止一组；分类仅是描述性的，并不旨在进行限制。在一些实施方案中，例如，至少一种赋形剂可以选自玉米淀粉，乳糖，葡萄糖，微晶纤维素，硬脂酸镁，聚乙烯吡咯烷酮，柠檬酸，酒石酸，水，乙醇，甘油，山梨醇，聚乙二醇，丙二醇，十六烷基硬脂醇，羧甲基纤维素和脂肪物质如硬脂或其合适的混合物。

[0136] 在一些实施方案中，组合物包含至少一种式(I)化合物，例如式(II)之一，和至少一种药学上可接受的抗氧化剂，例如生育酚，例如α-生育酚，β-生育酚，γ-生育酚，和δ-生育酚，或它们的混合物，BHA，例如2-叔丁基-4-羟基茴香醚和3-叔丁基-4-羟基茴香醚，或其混合物和BHT(3,5-二叔丁基-4-羟基甲苯)，或它们的混合物。本公开的组合物可以配制成口服施用形式，例如片剂或明胶软或硬胶囊。该剂型可以是适合口服施用的任何形状，例如球形，卵形，椭圆形，立方体形，规则和/或不规则形状。组合物可以是明胶胶囊或片剂的形式。

[0137] 组合产品的第二组分，即另外的活性剂，被配制为适合药剂本身的类型，并取决于多种因素，包括药剂的施用方式。例如，已经开发了几种可以口服作为片剂的DPP-4抑制剂。在一个优选的实施方案中，第一组分和第二组分均以口服施用形式提供。

[0138] 式(I)化合物的合适的日剂量的范围可以为约5mg至约4g，例如约5mg至约2g。例如，在一些实施方案中，日剂量范围为约10mg至约1.5g，约50mg至约1g，约100mg至约1g，约150mg至约900mg，约50mg至约800mg，约100mg至约800mg，约100mg至约600mg，约150至约550mg，或约200至约500mg。在一些实施方案中，日剂量的范围为约200mg至约400mg，约250mg至约350mg，约300至约500mg，约400mg至约600mg，约550mg至约650mg，或约600mg至约800mg。

[0139] 在一些实施方案中，式(I)化合物的日剂量范围为约900mg至约1.6g。在一些实施方案中，式(I)化合物的日剂量范围为约1g至约1.5g。

[0140] 在一些实施方案中，式(I)化合物以600mg的日剂量施用。在一些实施方案中，式(I)化合物以300mg的日剂量施用。在一些实施方案中，式(I)化合物以250mg的日剂量施用。优选地，式(I)化合物以每天300mg，600mg，1g或1.5g的日剂量施用。

[0141] 在至少一个实施方案中，日剂量范围为约200mg至约600mg。在至少一个实施方案中，日剂量为约50mg，约100mg，约200mg，约300mg，约400mg，约500mg，约600mg，约700mg，约800mg或约900mg。在一些实施方案中，日剂量是50mg，100mg，150mg，200mg，250mg，300mg，350mg，400mg，450mg，500mg，550mg，600mg，650mg，700mg，750mg，800mg，850mg或900mg。例如，化合物可以每天一次，两次或三次施用。在至少一个实施方案中，式(I)化合物以每剂约200mg至约800mg范围内的量施用。在至少一个实施方案中，式(I)化合物每天施用一次。另外的活性剂的剂量取决于所选药剂的类型，并且应符合特定药剂的批准用量。优选地，式(I)化合物每天以300mg或600mg的剂量施用一次。

[0142] 在至少一个实施方案中，日剂量范围为约900mg至1.6g。在至少一个实施方案中，日剂量为约900mg，约950mg，约1000mg，约1050mg，约1100mg，约1150mg，约1200mg，约1250mg，约1300mg，约1350mg，约1400mg，约1450mg，约1500mg，约1550mg或约1600mg。

[0143] 在至少一个实施方案中，式(II)的化合物以范围为每剂约200mg至约800mg或范围为约900mg至约1.6g的量施用。在至少一个实施方案中，式(II)的化合物每天施用一次。在一些实施方案中，式(II)的化合物每天以1.5g的剂量施用一次。在一些实施方案中，式(II)的化合物每天以1.25g的剂量施用一次。在一些实施方案中，式(II)的化合物每天以1g的剂量施用一次。在至少一个实施方案中，式(II)的化合物每天以750mg的剂量施用一次。在一些实施方案中，式(II)的化合物每天以600mg的剂量施用一次。在一些实施方案中，式(II)的化合物每天以500mg的剂量施用一次。在一些实施方案中，式(II)的化合物每天以300mg的剂量施用一次。在一些实施方案中，式(II)的化合物每天以250mg的剂量施用一次。优选地，式(II)的化合物每天以300mg，600mg，1g或1.5g的剂量施用一次。

[0144] 优选地，化合物A每天以300mg或600mg的剂量施用一次。优选地，化合物B每天以范围为1g至1.5g的剂量施用一次。

[0145] 式(I)和式(II)的化合物可以如例如在PCT申请WO 2009/061208，WO 2010/008299，WO2010/128401，WO 2011/089529，WO 2016/156912中所述并根据下面实施例中所述制备。另外，化合物A可以如例如PCT申请WO2014/132135中所述制备。化合物B可以如例如

WO 2010/008299中所述制备。

[0146] 增加GLP-1

[0147] 现已发现,与未修饰的长链脂肪酸相比,所公开的结构修饰的脂肪酸具有改善的增加GLP-1浓度的能力。因此,更具体地,本公开提供了用作GSIS增效剂和用作肝葡萄糖输出抑制剂的化合物。

[0148] 应当注意,在本公开的一个方面的上下文中描述的实施方案和特征也适用于本发明的其他方面。特别地,适用于根据本公开的增加GLP-1的方法的实施方案也适用于全部根据本公开的涉及化合物用途或包含与另一种药物共同施用的该化合物的组合物用途的方面,例如用于增加GLP-1的用途。

[0149] 现已发现,根据式I或更优选如式II所示的特定结构修饰的脂肪酸具有改善的刺激肠内分泌GLP-1分泌的能力。不受理论的束缚,结构修饰的脂肪酸可以通过以下方法实现此效果:

[0150] a)具有减少的全身吸收,从而靶向远端小肠和大肠中的肠内分泌L细胞;和/或

[0151] b)具有延长的与肠内分泌L细胞接触,从而实现了GLP-1从肠道的延长释放;和/或

[0152] c)抵抗对乳糜微粒的掺入,从而促进更大的游离脂肪酸递送至肠壁血管侧上/嵌入肠衬里中的肠内分泌L细胞;和/或

[0153] d)抵抗细胞内酯化为复杂脂质,从而增加用于CYP450/脂氧合酶修饰的底物利用率,以产生更有效的自分泌GPR40/GPR120结合配体;和/或

[0154] e)抑制肝/肠DPP-4活性,从而减少GLP-1降解。

[0155] 改善血糖控制

[0156] 化合物用途进一步提供了增加GSIS,促进饱腹感,减慢胃排空,抑制葡萄糖依赖性胰高血糖素(glucacon)分泌和/或减少肝葡萄糖产生的手段。

[0157] 在进一步的实施方案中,所述化合物用于治疗性处理升高的血糖水平。更具体地,本发明提供了用于治疗基础和/或餐后高血糖症的式(I)化合物。不受理论的束缚,这可能是由于餐后和基础GLP-1和GSIS增加和/或肝葡萄糖输出减少所致。

[0158] 在一些实施方案中,所述化合物用于改善血糖控制,例如减少基础和/或餐后高血糖症,和/或增加餐后血浆胰岛素浓度。在一些实施方案中,所述化合物用于减少基础血浆胰岛素浓度。在一些实施方案中,所述化合物用于减少血液HbA1c和/或减少HOMA-1R。在一些实施方案中,所述化合物用于减少患有T2DM的受试者的血浆ALT。在优选的实施方案中,所述化合物用于减少餐后高血糖症和/或增加餐后血浆胰岛素浓度。

[0159] 血糖控制是血浆葡萄糖水平的调节。可以通过降低血浆葡萄糖水平,通过增加餐后血浆胰岛素水平和/或通过增加细胞胰岛素敏感性和/或通过降低肝葡萄糖输出量来实现改善血糖控制。

[0160] 在施用式(I)化合物的受试者中的术语“减少基础性高血糖症”表示与不施用式(I)化合物的受试者相比,基础性高血糖症减少。人体的基础性高血糖症定义为进食后8小时的130mg/dl以上的血浆葡萄糖水平。在施用式(I)化合物的受试者中的术语“减少餐后高血糖症”表示与不施用式(I)化合物的受试者相比,餐后高血糖症减少。人体餐后高血糖症定义为进食后1-2小时180mg/dl以上的血浆葡萄糖水平。对于这两个术语,高血糖症的减少代表血浆或血液葡萄糖水平的减少。

[0161] 在施用式(I)化合物的受试者中的术语“增加餐后血浆胰岛素浓度”表示与未施用式(I)化合物的受试者相比,受试者的餐后胰岛素浓度增加。在施用式(I)化合物的受试者中的术语“减少基础血浆胰岛素浓度”表示与不施用式(I)化合物的受试者相比,受试者的基础血浆胰岛素浓度减少。术语“血浆胰岛素浓度”可以与术语“血浆胰岛素水平”互换使用。

[0162] 在施用式(I)化合物的受试者中的术语“减少HbA1c水平”表示与不施用式(I)化合物的受试者相比,受试者的HbA1c水平减少。在施用化合物(I)的患有T2DM的受试者中的术语“减少血浆ALT水平”表示与未施用式(I)化合物的患有T2DM的受试者相比,受试者的血浆ALT水平减少。

[0163] 在施用式(I)化合物的受试者中的术语“减少HOMA-IR”表示与不施用式(I)化合物的受试者相比,受试者的HOMA-IR计算减少。HOMA-IR是对胰岛素抵抗的评估,并且可以通过以下公式计算:空腹胰岛素(微U/L)x空腹葡萄糖(nmol/L)/22.5。

[0164] 如生物学实施例1中所提供的,与未施用式(I)化合物的大鼠相比,在口服葡萄糖负荷后的前60分钟内,式(I)化合物在瘦SPD大鼠中增加活性GLP-1浓度。如上所述,GLP-1增加葡萄糖刺激的胰岛素分泌(GSIS),这导致餐后血浆胰岛素水平增加。生物学实施例2-5表明,与未施用式(I)化合物的大鼠相比,口服葡萄糖负荷后24小时,施用式(I)化合物的瘦SPD大鼠具有增加的GLP-1水平和增加的血浆胰岛素水平两者。这些数据支持在施用式(I)化合物的大鼠中,在口服葡萄糖负荷后的前60分钟期间,血浆胰岛素浓度同样增加。

[0165] 如生物学实施例4和5中提供的,与未施用式(I)化合物的大鼠相比,口服葡萄糖负荷后24小时,式(I)化合物增加瘦SPD大鼠的血浆胰岛素水平。在一些实施方案中,与未施用式(I)化合物的受试者相比,式(I)化合物使血浆胰岛素水平提高25%。在一些实施方案中,与施用DPP4抑制剂但不施用式(I)化合物的受试者相比,式(I)化合物使血浆胰岛素水平增加25%。在一些实施方案中,与未施用式(I)化合物的受试者相比,式(I)化合物与DDP4抑制剂一起施用并且使血浆胰岛素水平增加40%。在一些实施方案中,式(I)化合物导致口服葡萄糖负荷后24小时血浆胰岛素水平升高。

[0166] 如生物学实施例6和14中提供的,与未施用式(I)化合物的小鼠相比,式(I)化合物在T2DM小鼠模型中降低餐后葡萄糖水平。在一些实施方案中,与未施用式(I)化合物的患有T2DM的受试者相比,式(I)化合物在患有T2DM的受试者中餐后15分钟和30分钟使血浆葡萄糖水平降低25%。在一些实施方案中,与未施用式(I)化合物的患有T2DM的受试者相比,式(I)化合物在患有T2DM的受试者中餐后15分钟和30分钟后使血浆葡萄糖水平降低50%。在一些实施方案中,与施用吡格列酮但不施用式(I)化合物的患有T2DM的受试者相比,式(I)化合物在患有T2DM的受试者中餐后15分钟和30分钟降低血浆葡萄糖水平。在一些实施方案中,与未施用式(I)化合物的患有T2DM的受试者相比,式(I)化合物在患有T2DM的受试者中从餐后15分钟至90分钟降低血浆葡萄糖水平。在一些实施方案中,与未施用式(I)化合物的患有T2DM的受试者相比,式(I)化合物在患有T2DM的受试者中在餐后60分钟使血浆葡萄糖水平降低50%。

[0167] 如生物学实施例14中所述,与未施用式(I)化合物的小鼠相比,用式(I)化合物进行的长期治疗降低T2DM小鼠模型中的基础葡萄糖水平。在一些实施方案中,与未施用式(I)化合物的患有T2DM的受试者相比,式(I)化合物在患有T2DM的受试者中降低基础血浆葡萄

糖水平。在一些实施方案中，与未施用式(I)化合物的患有T2DM的受试者相比，式(I)化合物在患有T2DM的受试者中使基础血浆葡萄糖水平降低25％。在一些实施方案中，与未施用式(I)化合物的患有T2DM的受试者相比，式(I)化合物在患有T2DM的受试者中使基础血浆葡萄糖水平降低30％。在一些实施方案中，与未施用式(I)化合物的患有T2DM的受试者相比，式(I)化合物在患有T2DM的受试者中使基础血浆葡萄糖水平降低35％。在一些实施方案中，与未施用式(I)化合物的患有T2DM的受试者相比，式(I)化合物在患有T2DM的受试者中使基础血浆葡萄糖水平降低40％。在一些实施方案中，与未施用式(I)化合物的患有T2DM的受试者相比，式(I)化合物在患有T2DM的受试者中使基础血浆葡萄糖水平降低45％。在一些实施方案中，与未施用式(I)化合物的患有T2DM的受试者相比，式(I)化合物在患有T2DM的受试者中使基础血浆葡萄糖水平降低50％。

[0168] 如生物学实施例14中所述，与未施用式(I)化合物的小鼠相比，用式(I)化合物进行的长期治疗降低T2DM小鼠模型中的基础血浆胰岛素水平。在一些实施方案中，与未施用式(I)化合物的患有T2DM的受试者相比，式(I)化合物在患有T2DM的受试者中降低基础血浆胰岛素水平。在一些实施方案中，与未施用式(I)化合物的患有T2DM的受试者相比，式(I)化合物在患有T2DM的受试者中使基础血浆胰岛素水平降低50％。在一些实施方案中，与未施用式(I)化合物的患有T2DM的受试者相比，式(I)化合物在患有T2DM的受试者中使基础血浆胰岛素水平降低60％。在一些实施方案中，与未施用式(I)化合物的患有T2DM的受试者相比，式(I)化合物在患有T2DM的受试者中使基础血浆胰岛素水平降低70％。

[0169] 如生物学实施例14中所述，与未施用式(I)化合物的小鼠相比，用式(I)化合物进行的长期治疗降低T2DM小鼠模型中的HBA1c水平。在一些实施方案中，与未施用式(I)化合物的患有T2DM的受试者相比，式(I)化合物在患有T2DM的受试者中降低HBA1c水平。在一些实施方案中，与未施用式(I)化合物的患有T2DM的受试者相比，式(I)化合物在患有T2DM的受试者中使HBA1c水平降低25％。在一些实施方案中，与未施用式(I)化合物的患有T2DM的受试者相比，式(I)化合物在患有T2DM的受试者中使HBA1c水平降低30％。在一些实施方案中，与未施用式(I)化合物的患有T2DM的受试者相比，式(I)化合物在患有T2DM的受试者中使HBA1c水平降低40％。

[0170] 如生物学实施例14中所述，与未施用式(I)化合物的小鼠相比，用式(I)化合物进行的长期治疗降低T2DM小鼠模型中的HOMA-IR值。在一些实施方案中，与未施用式(I)化合物的患有T2DM的受试者相比，式(I)化合物在患有T2DM的受试者中降低HOMA-IR值。在一些实施方案中，与未施用式(I)化合物的患有T2DM的受试者相比，式(I)化合物在患有T2DM的受试者中使HOMA-IR值降低50％。在一些实施方案中，与未施用式(I)化合物的患有T2DM的受试者相比，式(I)化合物在患有T2DM的受试者中使HOMA-IR值降低60％。在一些实施方案中，与未施用式(I)化合物的患有T2DM的受试者相比，式(I)化合物在患有T2DM的受试者中使HOMA-IR值降低70％。在一些实施方案中，与未施用式(I)化合物的患有T2DM的受试者相比，式(I)化合物在患有T2DM的受试者中使HOMA-IR值降低80％。

[0171] 如生物学实施例14中所述，与未施用式(I)化合物的小鼠相比，用式(I)化合物进行的长期治疗降低T2DM小鼠模型中的血浆丙氨酸氨基转移酶(ALT)水平。在一些实施方案中，与未施用式(I)化合物的患有T2DM的受试者相比，式(I)化合物在患有T2DM的受试者中降低血浆ALT水平。在一些实施方案中，与未施用式(I)化合物的患有T2DM的受试者相比，式

(I)化合物在患有T2DM的受试者中使血浆ALT水平降低20％。在一些实施方案中，与未施用式(I)化合物的患有T2DM的受试者相比，式(I)化合物在患有T2DM的受试者中使血浆ALT水平降低25％。在一些实施方案中，与未施用式(I)化合物的患有T2DM的受试者相比，式(I)化合物在患有T2DM的受试者中使血浆ALT水平降低30％。

[0172] 所公开的化合物也适用于制备用于所述适应症的药物。例如，本公开提供了式(I)化合物在制备用于减少基础和/或餐后高血糖症和增加餐后血浆胰岛素水平的药物中的用途。

[0173] 在一个实施方案中，本发明的方法和化合物用途提供了使用至少两种不同的活性剂，分别为式(I)或(II)的化合物以及另外的活性剂，优选DPP-4抑制剂的用途。所述至少两种活性剂可以被视为“组合产品”，其中所述活性剂例如单独包装，并且其中需要两种药剂达到最佳预期效果。因此，根据本发明，式(I)或(II)的化合物与另外的活性剂共同施用。在一些实施方案中，另外的活性剂是二肽基肽酶-4(DPP-4)抑制剂，并且该药剂和式(I)化合物对增加血浆GLP-1浓度具有协同作用。非限制性示例性的一批二肽基肽酶抑制剂包括：西格列汀(Sitagliptin)，维格列汀(Vildagliptin)，沙格列汀(Saxagliptin)，利那列汀(Linagliptin)，吉格列汀(Gemigliptin)，阿拉格列汀(Anagliptin)，特力利汀(Teneligliptin)，阿格列汀(Alogliptin)，曲格列汀(Trelagliptin)，奥格列汀(Omarigliptin)，依格列汀(Evogliptin)，度格列汀(Dutogliptin)。因此，所公开的方法和用途包括任选施用这些或类似的DPP-4抑制剂的任一种。

[0174] 已经进行了一系列实验，以在对在啮齿动物中短期(0-60分钟)和长时间(24h)血浆GLP-1和胰岛素浓度的影响外评估对长链脂肪酸的特定结构修饰对肠道保留相对于全身吸收的影响。

[0175] 如实施例中提供的，研究支持以下观念：组合DPP-4抑制剂与在α位具有取代基的不饱和脂肪酸，即，式(I)或(II)的化合物，例如化合物B，在增加血浆GLP-1浓度方面优于单独的任意治疗。由于可以通过增强葡萄糖刺激的胰岛素分泌和/或降低的肝脏葡萄糖输出来降低餐后和升高的基础性高血糖症两者，因此这些发现证明与DPP-4抑制剂组合的结构修饰的脂肪酸(例如化合物A或B)相对于单独的DPP-4抑制剂的优越性。总体而言，数据表明DPP-4抑制剂与含氧/硫的结构修饰的脂肪酸的组合可以对增加餐后和基础GLP-1和胰岛素浓度两者实现协同作用。

[0176] 尽管口服DPP-4抑制剂被广泛用作有效的2型糖尿病(T2DM)药物，但它们增加血浆GLP-1浓度的能力最终取决于内源性GLP-1的产生。内源性GLP-1主要在食物摄入后发生，并在餐后后期和空腹过夜期间减少，因为食物衍生的肠GPR40/120配体从上消化道吸收。DPP-4抑制剂将GLP-1的半衰期从几分钟延长至2-4小时。因此，非常期望利用下消化道中的富含GPR40/120的肠内分泌细胞的能力，既增加总GLP-1的产生，又在空腹状态下延长从肠道产生GLP-1。因此，不仅响应短期葡萄糖负荷(0-60分钟GLP-1)，而且在24小时(当DPP-4抑制剂在玉米油的情况下不再增加GLP-1水平时)，用化合物B所实现的活性GLP-1的新颖且显著的增加表明化合物B能够诱导上肠道和下肠道两者的GLP-1产生，从而提供延长的GLP-1水平。与24h胰岛素水平升高相结合，这表明化合物A或B可以单独使用，或优选地与DPP-4抑制剂一起使用，以增加短期和长期GLP-1两者，从而降低餐后和基础血浆葡萄糖两者。

[0177] 由于较坏控制的糖尿病患者中糖化血红蛋白的主要决定因素是基础而非餐后葡

萄糖,因此这种对血浆GLP-1的延长作用可以在与延长的葡萄糖升高相关的大血管和微血管并发症的预防性处理中具有相当大的益处。值得注意的是,短期作用以通常用作诱导GLP-1产生所需的脂肪口服食团(oral bolus)的剂量(75mg/kg)的分数来实现。相对于表明天然存在的长链Ω-3脂肪酸在通过胃和空肠施用时对GLP-1没有影响的先前研究(Morishita M et al.,J.Control.Release,2008,132(2):99-104),这些作用特别令人惊讶。这表明化合物B对GLP-1的作用不仅与其到达下GI道的能力有关。总体而言,数据支持使用根据式(I)或(II)的结构修饰的脂肪酸作为肠内分泌GLP-1产生的活化剂,其可以与DPP-4抑制剂最佳组合,用作葡萄糖刺激的/或基础胰岛素的产生的增效剂,促进饱腹感,减慢胃排空,抑制葡萄糖依赖性胰高血糖素的分泌并通过GLP-1降低肝葡萄糖的产生。

[0178] 基于以上发现,式(I)或优选式(II)的化合物可以与DPP-4抑制剂最佳地共同施用。可以施用其他化合物以治疗性和/或预防性处理需要肠内分泌GPR40/GPR120活化的病况。

[0179] 实施例突出显示了在α-位具有取代基的结构修饰的脂肪酸与DPP-4抑制剂组合的潜力。这些组合不仅可以改善与单一疗法相比的疗效相关的结果,而且与可注射的GLP-1激动剂相比还可以改善安全性,可耐受性和顺应性,因为DPP-4抑制剂和化合物A和B均可以口服施用,从而消除了注射点反应的风险。由于已证明化合物A和B均能显著降低人类(化合物A)和APOE*3CETP小鼠(化合物A和B)的致动脉粥样硬化脂质,化合物A或B与DPP-4抑制剂的组合可以优化血浆GLP-1浓度并治疗任何相关的血脂异常。考虑到已知的胰岛素抵抗/T2DM和高脂血症与发病率和死亡率增加的关联,这可能是有利的。

[0180] 在一些实施方案中,式(I)化合物将与另外的活性剂结合使用。在一些实施方案中,另外的活性剂优选是使肠降血糖素失活的酶的抑制剂,因此,另外的活性剂优选是二肽基肽酶-4(DPP-4)抑制剂。优选地,DPP-4抑制剂选自西格列汀,维格列汀,沙格列汀,利那列汀,吉格列汀,阿拉格列汀,特力利汀,阿格列汀,曲格列汀,奥格列汀,依格列汀,度格列汀的非限制性示例性列表。在一个实施方案中,第一组分和第二组分对增加血浆肠降血糖素浓度,例如GLP-1具有协同作用。

[0181] 治疗炎性肠病

[0182] 本发明还提供了化合物,其用作期望肠内分泌GPR40/GPR120活化和/或GLP-1刺激的胃肠道病症的治疗。这种与GLP-1相关的病症包括肠炎症,特别是在炎性肠病,例如溃疡性结肠炎(UC),克罗恩氏病和未定型性结肠炎中。

[0183] 现已发现,根据式(I)或更优选如式II所示的结构修饰的脂肪酸可以治疗炎性肠病(IBD)或减轻炎性肠病(IBD)的症状。一方面,化合物用于IBD的治疗性处理。IBD是一组慢性免疫失调性肠道病症,包括但不限于克罗恩氏病(CD),溃疡性结肠炎(UC)和未定型性结肠炎。在一些实施方案中,本文公开的化合物用于治疗克罗恩氏病。在一些实施方案中,本文公开的化合物用于治疗溃疡性结肠炎。在一些实施方案中,本文公开的化合物用于治疗未定型性结肠炎。此外,化合物用于IBD的治疗性,系统性和/或预防性处理。

[0184] 在一些实施方案中,化合物用于减少与IBD有关的肠炎症。在一些实施方案中,化合物用于诱导IBD的缓解。在一些实施方案中,化合物用于维持IBD的缓解。在一些实施方案中,化合物用于预防经历IBD症状的受试者的体重减轻。在一些实施方案中,化合物用于减少患有IBD的受试者的结肠长度的减少。在一些实施方案中,化合物用于减少患有IBD的受

试者的肠损伤。

[0185] 在施用式(I)化合物的患有IBD的受试者中的术语“减少肠炎症”表明,与未施用式(I)化合物的患有IBD的受试者相比肠炎症被减少。肠炎症可以通过组织学评分来评估,如生物学实施例12中所述,并且可以通过炎症标志物的表达来评估,例如生物学实施例12中所述。肠炎症也可以通过临床以及临床组织学综合评分来评估,包括适用于3种IBD形式的内窥镜组织学特征和临床实验室参数。de Jong et al.,Clin Gastroenterol Hepatol.,2018,16(5):648-663。

[0186] 在施用式(I)化合物的患有IBD的受试者中的术语“诱导缓解”表明,与未施用式(I)化合物的患有IBD的受试者相比,诱导从IBD症状和/或肠炎症的缓解。术语“缓解”涵盖症状减轻或不存在的时段以及肠炎症不存在的时段两者。

[0187] 在施用式(I)化合物的患有IBD的受试者中的术语“维持缓解”表明,与未施用式(I)化合物的患有IBD的受试者相比,IBD症状和/或肠炎症的缓解维持更长时段。

[0188] 在具有IBD症状并施用式(I)化合物的受试者中的术语“预防体重减轻”表明,与未施用式(I)化合物的具有IBD症状的受试者相比减少体重减轻。预防体重减轻涵盖减少体重减轻的量并维持初始体重。

[0189] 在施用式(I)化合物的患有IBD的受试者中的术语“减少结肠长度的减少”表明,与未施用式(I)化合物的患有IBD的受试者相比减少或改善结肠长度的减少。

[0190] 如本文所用的术语“肠损伤”描述了对肠上皮细胞和/或粘膜表面的损伤。施用式(I)化合物的患有IBD的受试者中的术语“减少肠损伤”表明与未施用式(I)化合物的患有IBD的受试者相比减少肠上皮和/或粘膜损伤。可以通过组织学评分来评估肠上皮和粘膜损伤,如生物学实施例12中所述。用于评估肠上皮和粘膜损伤的其他方法包括免疫学概况分析(profiling),其使用例如免疫组织化学,FACS分析,PCR和肠粘膜的蛋白质组学/磷酸蛋白质组学(phosphoproteomic)概况分析,以及使用因IBD引起的肠炎症和一般炎症的替代血清/血浆或粪便标志物进行。Di Ruscio et al.,Inflamm Bowel Dis.,2017,24(1):78-92;Iborra et al.,Gastrointest Endosc Clin N Am.,2016,26(4):641-655。

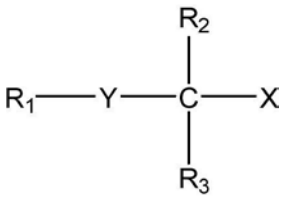
[0191] 以前使用口服施用天然存在的Ω-3脂肪酸来治疗IBD的努力尚未成功。Lev-Tzion et al.,Cochrane Database Syst.Rev.,2014,28(2):CD006320;Cabre et al.,Br.J.Nutri.,2012,Suppl 2:S240-252。这可能至少部分是因为这些化合物在到达下部小肠,结肠和大肠之前被大量吸收。相反,发明人惊奇地发现,式(I)化合物不仅在口服施用后到达远端小肠和结肠,而且积聚在肠的这些区域中。具体地,如生物学实施例7中所提供的,在大鼠中的研究发现,在单次口服剂量后,化合物B从4小时开始至1天在盲肠中累积,并在8小时时在大肠中累积。如生物学实施例8中所提供,化合物B主要通过粪便排泄,表明化合物B在肠中积累。式(I)化合物在小肠和结肠中的这种积累支持这些化合物在治疗IBD中的用途。

[0192] 如生物学实施例9和10中提供的,与未施用式(I)化合物的小鼠相比,当用式(I)化合物治疗时,患有诱发性结肠炎的小鼠表现出剂量依赖性挽救(rescue)而免于体重减轻和结肠长度减小的结肠炎表型。在一些实施方案中,与未施用式(I)化合物的患有IBD的受试者相比,式(I)化合物用于减少患有IBD的受试者的体重减轻。在一些实施方案中,与未施用式(I)化合物的患有IBD的受试者相比,式(I)化合物用于将体重保持在患有IBD的受试者的

初始体重的10％以内。在一些实施方案中，与未施用式(I)化合物的患有IBD的受试者相比，式(I)化合物用于将体重保持在患有IBD的受试者的初始体重的5％以内。在一些实施方案中，与未施用式(I)化合物的患有IBD的受试者相比，式(I)化合物用于减少患有IBD的受试者的结肠长度的减少。

[0193] 如生物学实施例12中所示，与未施用式(I)化合物的小鼠相比，基于组织学评分，当用式(I)化合物治疗时，具有诱发性结肠炎的小鼠显示出剂量依赖性挽救而免于结肠损伤和炎症。此外，如生物学实施例13所示，当用化合物B治疗时，患有结肠炎的小鼠显示出炎症关键标志物的减少的结肠表达。具体而言，化合物B降低IL-6，IL-1b，S100A8，TNFα和Reg3g的结肠表达，它们是与IBD相关的炎性细胞因子和/或生物标志物。Eichele et al., World J.Gastroenterol.,2017,23(33):6016-6029。在一些实施方案中，与未施用式(I)化合物的患有IBD的受试者相比，式(I)化合物用于减少患有IBD的受试者的肠炎症。在一些实施方案中，与未施用式(I)化合物的患有IBD的受试者相比，式(I)化合物用于减少患有IBD的患者的肠损伤。

[0194] 在优选的实施方案中，本发明提供式(I)化合物：

[0195] 

(I)

[0196] • 其中R1选自具有3-6个双键的C10-C22烯基；

[0197] • R2和R3相同或不同，并且选自由氢原子，羟基，烷基，卤素原子，烷氧基，酰基氧基，酰基，烯基，炔基，芳基，烷基硫基，烷氧基羰基，羧基，烷基亚磺酰基，烷基磺酰基，氨基和烷基氨基组成的一组取代基，条件是R2和R3能够连接以形成环烷烃，如环丙烷，环丁烷，环戊烷或环己烷，条件是R2和R3都不是氢；

[0198] • X是羧酸或其衍生物，其中所述衍生物是羧酸盐/酯，例如羧酸酯；甘油酯；酸酐；羧酰胺；磷脂；或羟甲基；或其前药；

[0199] • Y是硫；

[0200] • 或药学上可接受的盐，溶剂化物或此类盐的溶剂化物；

[0201] • 用于治疗IBD，诱导IBD缓解，维持IBD缓解，减少患有IBD的患者的体重减轻，减少患有IBD的患者的结肠长度减少，减轻患有IBD的患者的肠炎症和/或减少患有IBD的患者的肠损伤。

[0202] 在优选的实施方案中，本公开提供式(I)化合物，

[0203] • 其中R2和R3独立地选自氢原子或直链，支链和/或环状的C1-C6烷基，条件是R2和R3不能都为氢原子；

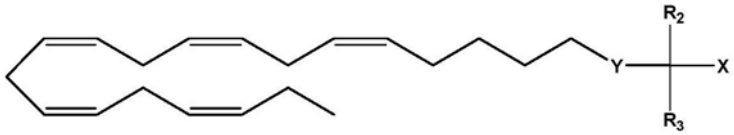
[0204] • X是羧酸或羧酸酯；或药学上可接受的盐，溶剂化物或此类盐的溶剂化物；和

[0205] • Y是硫；

[0206] • 用于治疗IBD，诱导IBD缓解，维持IBD缓解，减少患有IBD的患者的体重减轻，减少患有IBD的患者的结肠长度减少，减轻患有IBD的患者的肠炎症和/或减少患有IBD的患者

的肠损伤。

[0207] 在更优选的实施方案中，本公开提供式(II)的化合物：

[0208] 

(II)

[0209] • 其中R2和R3相同或不同，并且选自氢原子，羟基，烷基，卤素原子，烷氧基，酰基氧基，酰基，烯基，炔基，芳基，烷基硫基，烷氧基羰基，羧基，烷基亚磺酰基，烷基磺酰基，氨基和烷基氨基组成的一组取代基，条件是R2和R3可以连接以形成环烷烃，如环丙烷，环丁烷，环戊烷或环己烷，并且条件是R2和R3都不是氢；

[0210] • X是羧酸或其衍生物，其中该衍生物是羧酸盐/酯，例如羧酸酯；甘油酯；酸酐；羧酰胺；磷脂；或羟甲基；或其前药；和

[0211] • Y是硫；

[0212] • 用于治疗IBD，诱导IBD缓解，维持IBD缓解，减少患有IBD的患者的体重减轻，减少患有IBD的患者的结肠长度减少，减轻患有IBD的患者的肠炎症和/或减少患有IBD的患者的肠损伤。

[0213] 在特别优选的实施方案中，本公开提供了式(II)的化合物，

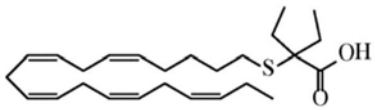
[0214] • 其中R2和R3独立地选自氢原子或直链，支链和/或环状的C1-C6烷基，条件是R2和R3均不能为氢原子；

[0215] • X是羧酸或羧酸酯；或药学上可接受的盐，溶剂化物或此类盐的溶剂化物；和

[0216] • Y是硫；

[0217] • 用于治疗IBD，诱导IBD缓解，维持IBD缓解，减少患有IBD的患者的体重减轻，减少患有IBD的患者的结肠长度减少，减轻患有IBD的患者的肠炎症和/或减少患有IBD的患者的肠损伤。

[0218] 在一些实施方案中，本公开提供了2-乙基-2-(((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-二十碳-5,8,11,14,17-戊烯基硫基)丁酸：

[0219] 

[0220] 用于治疗IBD，诱导IBD缓解，维持IBD缓解，减少患有IBD的患者的体重减轻，减少患有IBD的患者的结肠长度减少，减轻患有IBD的患者的肠炎症和/或减少患有IBD的患者的肠损伤。

[0221] 所公开的化合物也适用于制备用于所述适应症的药物。例如，本公开提供了式(I)化合物在制备用于治疗IBD的药物中的用途，所述IBD例如溃疡性结肠炎，克罗恩氏病和未定型性结肠炎。同样地，本公开提供了式(I)化合物在制备用于减轻IBD中的肠炎症，诱导IBD的缓解，维持IBD的缓解，减少经历IBD症状的受试者的体重减轻，减少结肠长度的减少，减少患有IBD的受试者的肠炎症，和/或减少患有IBD的受试者的肠损伤的药物中的用途。

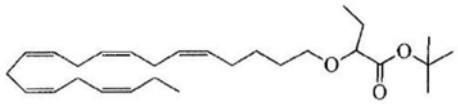
[0222] 在一些实施方案中，本公开提供了至少两种不同的活性剂，式(I)或(II)的化合物和另外的活性剂在治疗IBD，诱导IBD的缓解，维持IBD的缓解，减少患有IBD的患者的体重减

轻，减少患有IBD的患者的结肠长度减少，减少患有IBD的患者的肠炎症，和/或减少患有IBD的患者的肠损伤中的用途。目前用于治疗IBD症状的药物类别包括但不限于皮质类固醇，氨基水杨酸盐/酯，免疫抑制剂，小分子和生物制剂。免疫抑制剂的非限制性列表包括硫唑嘌呤(Azasan®， Imuran®)，巯基嘌呤(Purinethol®， Purixan®)，环孢菌素(Gengraf®， Neoral®， Sandimmune®)和甲氨蝶呤(Trexall®)。生物制剂的非限制性列表包括英夫利昔单抗(infliximab)(Remicade®)，阿达木单抗(adalimumab)(Humira®)，戈利木单抗(golimumab)(Simponi®)，那他珠单抗(natalizumab)(Tysabri®)，维多珠单抗(vedolizumab)(Entyvio®)和ustekinumab(Stelara®)。氨基水杨酸盐/酯的非限制性列表包括美沙拉敏(Asacol HD®， Delzicol®)，Balsalazide(Colazal®)和奥沙拉嗪(Olsalazine，Dipentum®)。皮质类固醇的非限制性列表包括氢化可的松，泼尼松龙，泼尼松和布地奈德。

实施例

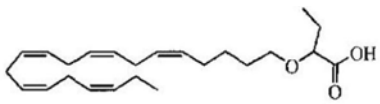
[0223] 合成实施例

[0224] 实施例1:2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-二十碳-5,8,11,14,17-戊烯-1-基氧基)丁酸叔丁酯的制备：

[0225] 

[0226] 在室温下在氮气下，将四丁基氯化铵(0.55g，1.98mmol)加入到(5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-二十碳-5,8,11,14,17-戊烯-1-醇(3.50g，12.1mmol)的甲苯(35mL)溶液中。在室温剧烈搅拌下加入氢氧化钠水溶液(50％(w/w)，11.7mL)，然后加入2-溴丁酸叔丁酯(5.41g，24.3mmol)。将所得混合物加热至50℃，并在1.5小时(2.70g，12.1mmol)，3.5小时(2.70g，12.1mmol)和4.5小时(2.70g，12.1mmol)之后加入另外的2-溴丁酸叔丁酯，并总共搅拌12个小时。冷却至室温后，加入冰水(25mL)，并分离得到的两相。有机相用NaOH(5％)和盐水的混合物洗涤，干燥($MgSO_4$)，过滤并浓缩。残余物通过快速层析在硅胶上纯化，使用极性增加的庚烷和乙酸乙酯的混合物(100:0->95:5)作为洗脱剂。适当馏分的浓缩得到1.87g(36％收率)的油状标题化合物。^{1}H NMR(300MHz，CDCl3)：δ0.85-1.10(m,6H)，1.35-1.54(m,11H)，1.53-1.87(m,4H)，1.96-2.26(m,4H)，2.70-3.02(m,8H)，3.31(dt,1H)，3.51-3.67(m,2H)，5.10-5.58(m,10H)。

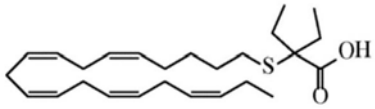
[0227] 实施例2:2-((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-二十碳-5,8,11,14,17-戊烯基氧基)丁酸(化合物A)的制备：

[0228] 

[0229] 将2-(((5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-二十碳-5,8,11,14,17-戊烯-1-基氧基)丁酸叔丁酯(19.6g，45.5mmol)溶于二氯甲烷(200mL)并置于氮气下。加入三氟乙酸(50mL)，并将反应混合物在室温搅拌1小时。加入水，并且水相用二氯甲烷提取两次。合并的有机提取物用盐

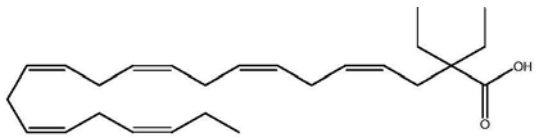
水洗涤，干燥($Na2SO_4$)，过滤并浓缩。将残余物在硅胶上进行快速层析，使用极性增加的庚烷，乙酸乙酯和甲酸的混合物(90:10:1->80:20:1)作为洗脱剂。适当馏分的浓缩得到12.1g(71％收率)的油状标题化合物。^{1}H-NMR(300MHz,$CDCl_3$):δ0.90-1.00(m,6H),1.50(m,2H),1.70(m,2H),1.80(m,2H),2.10(m,4H),2.80-2.90(m,8H),3.50(m,1H),3.60(m,1H),3.75(t,1H),5.30-5.50(m,10H);MS(电喷雾):373.2$[M-H]^-$。

[0230] 实施例3:2-乙基-2-(((5Z,8Z,1 1Z,14Z,17Z)-二十碳-5,8,1 1,14,17-戊烯基硫基)丁酸(化合物B)的制备

[0231] 

[0232] 将NaOEt(在EtOH中为21重量％，0.37mL，0.98mmol)逐滴添加至2-巯基-2-乙基丁酸(0.08g，0.49mmol)在无水EtOH(7mL)中的溶液中，保持在0℃惰性气氛。将得到的混合物在0℃下搅拌30分钟，然后滴加(5Z,8Z,1Z,14Z,17Z)-二十碳-5,8,11,14,17-戊烯基甲磺酸盐/酯(0.15g，0.41mmol)的无水EtOH(3ml)溶液。将得到的混浊混合物在环境温度下搅拌24小时，倒入NH4Cl(饱和)(水溶液)(15ml)中，加入3M HCl至pH～2，然后用EtOAc(2×20ml)提取两次。合并的有机提取物用盐水(10ml)洗涤，干燥($MgSO_4$)，过滤并真空蒸发。将残余物通过硅胶上的快速层析纯化，使用在庚烷中的10-25％乙酸乙酯的梯度作为洗脱剂。适当馏分的浓缩得到0.12g(70％收率)的油状的标题化合物。1H-NMR(300MHz,CDCI3):delta 0.88-1.02(m,9H),1.45-1.58(2xm,4H),1.72(m,2H),1.82(m,2H)2.09(m,4H),2.53(t,2H),2.76-2.86(m,8H),5.29-5.39(m,10H.MS(电喷雾):417.3$[M-H]$-。

[0233] 实施例4:(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)-2,2-二乙基二十二碳-4,7,10,13,16,19-己烯酸的制备

[0234] 

[0235] 步骤a)

[0236] 在0℃，在N_2下将丁基锂(38.6ml，0.62mol，1.6M，在己烷中)滴加到二异丙胺(9.1ml，0.65mol)在无水THF(200ml)中的搅拌溶液中。将所得溶液在0℃搅拌30min并冷却至-78℃(溶液A)。将(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)-二十二碳-4,7,10,13,16,19-己烯酸乙酯(ethyl(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)-docosa-4,7,10,13,16,19-hexaenoate)(DHA EE，20.0g，0.56mol)在无水THF(100ml)中的溶液滴加到溶液A中，并将得到的混合物在-78℃下搅拌30min。加入碘乙烷(6.8ml，0.84mol)，并且使反应混合物达到-10℃，然后倒入水中并用己烷(2x)提取。合并的有机相用1M HCl(水溶液)洗涤，干燥(Na_2SO_4)，过滤并真空蒸发。将粗产物溶于无水THF(100ml)中，并在-78℃下逐滴加入到新一批溶液A中。加入碘乙烷(6.8ml，0.84mol)，并使反应混合物达到环境温度。将混合物搅拌过夜，倒入水中并用己烷(2x)提取。合并的有机相用1M HCl(水溶液)洗涤，干燥(Na_2SO_4)，过滤并真空蒸发。粗产物通过在硅胶上的干快速层析纯化，用庚烷/EtOAc(99:1，然后98:2)洗脱，得到10.0g(43％收率)的油状的标题化合物;^{1}H-NMR(200MHz;$CDCl_3$)δ0.83(t,6H),0.94(t,3H),1.28(t,3H),1.63(q,4H),2.10(m,2H),2.34(d,2H),2.8-3.0(m,10H),4.15(q,2H),5.3-5.6(m,12H);^{13}C-

NMR(50MHz;$CDCl_3$)δ8.9,14.7,21.0,23.1,25.9,26.0,26.2,27.4,31.2,50.1,60.6,125.5,127.4,128.3,128.6,128.9,130.5,132.4,177.1;MS(电喷雾);413.3[M+H],435.3[M+Na]。

[0237] 步骤b)

[0238] 将(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)-2,2-二乙基二十二碳-4,7,10,13,16,19-己烯酸乙酯(2.42g,5.87mmol)溶解在DMF(10mL)中并加入苯硫酚(0.63mL,6.17mmol)和KOH(0.41g,6.17mmol)。将反应混合物在100℃在N_2下搅拌139小时。将混合物冷却,加入1M HCl(水溶液),并用乙醚(4x)提取。合并有机层,用盐水洗涤,经MgSO4干燥并浓缩。粗产物通过快速层析纯化(庚烷:EtOAC9:1,然后4:1,然后7:3),得到0.48g(21%收率)的油状的标题化合物。1H-NMR(200MHz;CDCl3)δ0.78(t,6H),0.95(t,3H),1.52-1.68(m,4H),1.98-2.12(m,2H),2.34(d,2H),2.70-2.90(m,10H),3.65(s,3H),5.20-5.50(m,12H)。

[0239] 生物实施例

[0240] 在瘦雄性SPD大鼠中在口服葡萄糖耐量测试(OGTT)期间和24小时时评估化合物A和化合物B对活性GLP-1浓度的短期作用

[0241] 为了建立口服施用化合物A和化合物B对活性GLP-1和胰岛素浓度的短期作用,将瘦(约300g)雄性Sprague-Dawley(SPD)大鼠分成组(n=6-8),在如下所述口服葡萄糖耐量测试(OGTT)前60分钟,在具有或没有二肽基肽酶4(DPP-4)抑制剂的同时施用的情况下,喂养分别为74和84mg/kg体重的化合物A或化合物B。包括接受单独的玉米油(玉米油+媒介物,n=10)或玉米油和DPP-4抑制剂("DPP-4i")(玉米油+(DPP-4i),n=10)的平行组作为对照。DPP-4抑制剂是利格列汀。

[0242] 表1

[0243]

体内研究期										
第0天	-120 min	-60 min	0 Min	15 min	30 min	60 min	120 min	240 min	480 min*	+24 hrs
OGTT半空腹60%	DPPP IV给药/媒介物	活性GLP-1+胰岛素+媒介物/药物给药	活性GLP-1+胰岛素+葡萄糖2g/kg	活性GLP-1+胰岛素	活性GLP-1+胰岛素	活性GLP-1+胰岛素	活性GLP-1+胰岛素	活性GLP-1+胰岛素+媒介物/药物给药+食物(自由进食)	活性GLP-1+胰岛素+DPPIV给药/媒介物	活性GLP-1+胰岛素

[0244] 如表1所示,在0、15、30和60分钟时收集样品,以测量活性GLP-1。在240分钟时施用分别为74和84mg/kg体重的化合物A或化合物B的第二口服剂量,并开始自由进食。在熄灯之前的480分钟时,施用第二剂DPP-4抑制剂。在24h时收集血样以测量活性GLP-1和胰岛素。所有数值均为平均值,数字表示平均值(SEM)。

[0245] 生物学实施例1.玉米油+媒介物,玉米油+DPP4抑制剂或化合物B+DPP4抑制剂的短期喂养在瘦SPD大鼠中对曲线下面积(AUC)(0-60分钟)葡萄糖刺激的活性GLP-1(pg/ml)x分钟的影响。

[0246] 与DPP4抑制剂组合时,与玉米油+媒介物(增加>2倍)相比,化合物B显著增加($p<0.05$)活性GLP-1浓度(AUC0-60min),而单独的玉米油+DPP4抑制剂与单独的玉米油相比无

显著性效果。结果显示在图1中。

[0247] 生物学实施例2.玉米油+媒介物，玉米油+DPP4抑制剂，单独的化合物A或化合物A+DPP4抑制剂在瘦SPD大鼠中24h时对活性GLP-1(pg/ml)的影响

[0248] 与DPP4抑制剂组合时，与玉米油+媒介物相比，化合物A显著($p<0.05$)增加活性24h GLP-1的浓度，而单独的玉米油+DPP4抑制剂没有显著影响。结果显示在图2中。

[0249] 生物学实施例3.玉米油+媒介物，玉米油+DPP4抑制剂，单独的化合物B或化合物B+DPP4抑制剂在瘦SPD大鼠中24h时对活性GLP-1(pg/ml)的影响

[0250] 与DPP4抑制剂组合时，化合物B与玉米油+媒介物相比显著($p<0.01$)增加活性GLP-1的浓度，而单独的玉米油+DPP4抑制剂与单独的玉米油相比没有显著影响。结果显示在图3中。

[0251] 生物学实施例4.玉米油+媒介物，玉米油+DPP4抑制剂，单独的化合物A或化合物A+DPP4抑制剂在瘦SPD大鼠中24h时对血浆胰岛素(pg/ml)的影响

[0252] 与玉米油+媒介物和玉米油+DPP4抑制剂(无显著性)两者相比，化合物A单独或与DPP4抑制剂组合使胰岛素浓度增加25％。结果显示在图4中。

[0253] 生物学实施例5.玉米油+媒介物，玉米油+DPP4抑制剂，单独的化合物B或化合物B+DPP4抑制剂在SPD瘦大鼠中24h时对血浆胰岛素(pg/ml)的影响

[0254] 与玉米油+媒介物和玉米油+DPP4抑制剂(无显著性)两者相比，化合物B单独或与DPP4抑制剂组合分别使胰岛素浓度增加25％和40％。结果显示在图5中。

[0255] 生物学实施例6.化合物B或化合物A相对于吡格列酮对ob/ob小鼠中葡萄糖耐量(0-120min)的影响

[0256] 进行这项研究以评估在T2DM啮齿动物模型中用化合物B或化合物A长期处理对葡萄糖耐量的影响。

[0257] 为了评估化合物B的影响，向B6.V-Lepob/Jrj小鼠(ob/ob)小鼠以125和250mg/kg的2种剂量之一施用化合物B，持续28天。每天一次对八周龄的雄性ob/ob小鼠(每组8只)口服强饲化合物B(2剂)，吡格列酮(30mg/kg)或媒介物，并在28天后禁食5小时，然而接受2g/kg的口服葡萄糖负荷。口服葡萄糖负荷后，在多个时间点测量血浆葡萄糖，并计算葡萄糖的AUC(0-120min)。化合物B的两种剂量改善葡萄糖耐量，而250mg/kg的剂量诱导AUC葡萄糖的有效且高度显著($p＜0.001$)降低(图6A)。

[0258] 为了评估化合物A的影响，从5周龄开始向ob/ob小鼠喂食高脂饮食(包含2％胆固醇，40％脂肪(包含18％反式脂肪酸)，20％果糖)，持续15周。通过饮食每天一次向小鼠(每组10只)施用化合物A(112mg/kg)，吡格列酮(30mg/kg)或媒介物。21天后，小鼠接受2g/kg的口服葡萄糖负荷。口服葡萄糖负荷后，在0-240分钟的多个时间点测量血浆葡萄糖。与媒介物相比，化合物A在葡萄糖负荷后15分钟至90分钟显著改善葡萄糖耐量(*$p<0.05$;**$p<0.01$;***$p<0.001$)。化合物A也显著降低AUC葡萄糖($p＜0.01$)。

[0259] 生物实施例7.以50mg/kg体重标称剂量水平单次口服施用[14C]-化合物B后，雄性大白鼠肠段中的放射性浓度。

[0260] 进行这项研究以确定使用定量全身放射自显影(QWBA)在单次口服施用[14C]-化合物B后在雄性大白鼠中肠组织的放射性分布。50mg/kg(约5MBq/kg)的单次口服剂量的[14C]化合物B后，大鼠的组织分布通过QWBA分析研究，直至给药后168小时。小肠粘膜的峰

值浓度发生在4小时，从4小时到1天出现的盲肠中积累，以及8小时时在大肠中积累，这表明化合物B到达远端小肠和结肠的能力。结果列于表2。

[0261] 表2：

[0262]

	化合物B的μg当量/g组织						
动物数量和性别	6M	5M	4M	3M	7M	8M	9M
组织 采样时间	1小时	2小时	4小时	8小时	1天	3天	7天
食道壁	5.83	1.72	1.29	5.86	2.25	BLQ	BLQ
胃粘膜(胃底)	8.08	4.31	5.38	7.84	1.15	BLQ	BLQ
胃粘膜(非胃底)	17.3*	28.1*	300*	252*	3.87	0.253	BLQ
小肠粘膜	127*	56.5*	158*	42.7	22.6	0.197	BLQ
盲肠粘膜	1.04	1.73	93.1*	112*	113*	0.319	0.374
大肠粘膜	0.740	0.332	0.920	120*	2.63	1.06	0.296
直肠粘膜	0.417	0.883	1.03	3.57*	0.870	BLQ	0.641
定量上限=	1019	1019	1019	1019	1019	1019	1019
定量下限=	0.175	0.175	0.175	0.175	0.175	0.175	0.175

[0263] *测量受到邻近内容物中高水平放射性的影响

[0264] BLQ-组织浓度低于定量下限

[0265] 生物实施例8.以50mg/kg体重的标称剂量水平单次口服施用[14C]-化合物B后，雄性大白鼠粪便中放射性的回收率。

[0266] 为了评估化合物B通过尿液相对于粪便的清除率，在雄性大白鼠中确定单次口服剂量[14C]-化合物B的排泄方式。每只动物的排泄方式相似，并且获得放射性的定量回收率(101％)。口服施用后放射性的总排泄在前48小时内>95％。通过尿液排泄占施用剂量的12％。口服给药后，粪便清除率为86％，这表明大量[14C]-化合物B相关物质被排泄而未被吸收。表3提供了排泄平衡调查的结果。

[0267] 表3：

[0268]

样品	施用剂量的回收率％(平均值)
尿液(0-168h)	12.4
粪便(0-168h)	85.8
笼子清洗*(0-168h)	1.27
笼子残屑(0-168h)	0.038
动物尸体(168h)	1.14
平均总放射性(0-168h)	101

[0269] 均值n＝3

[0270] *-包括最后的笼子清洗

[0271] 评估化合物B对DSS诱发性结肠炎小鼠中的肠炎症的影响

[0272] 右旋糖酐硫酸钠诱发性(DSS)诱发性结肠炎模型在本领域中公知为肠炎症动物模型的可再现的化学诱导。参见例如Eichele et al.,World J Gastroenterol,2017,23(33):6016-6029;Randhawa et al.,Korean J.Physiol.Pharmacol.(2014)18:279-288;Jurjus et al.,J.Pharmacol.Toxicol.,Methods,2004,50:81-92;Gaudio et al.,Dig.Dis.Sci.,1999,44:1458-1475。DSS诱发性结肠炎模型在形态上和症状上类似于在人IBD中所见的上皮损害,因此已成为应用最广泛的肠炎症实验模型。Okayasu等人,Gastroenterology,1990,98:694-702;Kawada等人,World J.Gastroenterol.2007,13:5581-5593。DSS诱发性结肠炎模型与人类溃疡性结肠炎最相似,但也与克罗恩氏病有很多相似之处。

[0273] DSS是水溶性的,带负电荷的硫酸化多糖,具有在5至1400kDa范围内高度可变的分子量。小鼠结肠炎是由于向对DSS诱发性结肠炎易感的小鼠品系的饮用水中施用约1%至3%的DSS所致。不受理论的束缚,硫酸化多糖可能不会直接诱导肠炎症,而是可以充当结肠上皮的直接化学毒素,从而导致上皮细胞损伤。认为DSS破坏了肠上皮单层衬里,导致腔细菌和相关抗原进入粘膜,并使促炎性肠内容物散布到下面的组织中。已显示添加到无菌饮用水中的大小范围约为40-50kDa的DSS穿透肠粘膜。Perse et al.,J.Biomed.Biotechnol.,2012:718617。

[0274] C56BL/6J小鼠是对DSS诱发性结肠炎易感的品系。为了评估化合物B在处理DSS诱发性结肠炎中的功效和剂量,通过向饮用水中添加1.5%DSS达7天,在30只9周龄的C56BL/6J小鼠中诱发炎症。向小鼠喂食由30重量%小麦组成的标准食物。将小鼠分成三组,每组十只,并且对于每天的DSS施用,每组通过口服强饲施用(1)每天100μL玉米油(对照),(2)每天126mg/kg化合物B(溶于100μL玉米油)(“化合物B-低”或“化合物B-L”),或(3)每天252mg/kg化合物B(溶于100μL玉米油)(“化合物B-高”或“化合物B-H”)。在7天的DSS诱导期后,处死小鼠,并将其肠组织用于组织病理学和基因表达分析。

[0275] 生物实施例9.

[0276] 为了评估化合物B在处理DSS诱发性小鼠结肠炎中的功效,监测小鼠的体重。体重减轻是结肠炎严重程度的指标。如图7所示,在饮用水中喂食1.5%DSS的小鼠显示出体重逐渐下降。与对照组相比,用化合物B处理的小鼠表现出体重减轻的剂量依赖性减少。对照组与处理组之间的体重减轻差异对于化合物B-高组在DSS诱导6天后是统计学上显著的,对于化合物B-高组和化合物B-低组两者在7天后是统计学上显著的。

[0277] 生物实施例10.

[0278] 为了评估化合物B在处理DSS诱发性小鼠结肠炎中的功效,测量测试小鼠的结肠长度。结肠长度与炎症呈反相关。如图8所示,与对照相比,用低和高剂量的化合物B处理的小鼠显示出结肠长度的显著增加。

[0279] 生物实施例11.

[0280] 如图9所示,与对照相比,用化合物B处理的小鼠显示出存活率的剂量依赖性增加。对照组中50%(n=5)的未处理小鼠在诱导结肠炎后存活7天,相比于用低剂量化合物B处理的小鼠中的90%(n=9)和用高剂量化合物B处理的小鼠中的100%(n=10)。对照组的死亡归因于败血症和严重的结肠炎症。因此,化合物B对结肠炎小鼠的存活率具有统计学上显著

的作用。

[0281] 生物实施例12.

[0282] 苏木精和曙红(H&E)染色后,对福尔马林固定石蜡包埋的组织切片进行组织病理学分析。如Neurath et al.,J.Exp.Med.,2002,195:1129-1143所述,通过用于分配结肠炎活性得分的组织病理学分析结肠样品。简而言之,将结肠显微截面上的炎症程度以及上皮和粘膜损伤程度从0到4进行半定量分级。对于炎症,得分为0=无炎症证据;1=炎症水平低,散在的浸润性单个核细胞(仅1-2个病灶);2=中度发炎,有多个病灶;3=高度炎症,血管密度增加且壁明显增厚;以及4=最大炎症严重程度,透壁白细胞浸润和杯状细胞丢失。对于损伤,得分为0=无上皮损伤;1=偶有上皮病变;2=1-2个溃疡病灶;以及3=广泛溃疡。作为另外的对照,自未诱导的(即,没有DSS)动物取得小肠切片,并且没有显示出炎症的证据。如图10所示,用高剂量化合物B处理的小鼠的样品的组织学评分显著低于未处理的小鼠。用高剂量化合物B处理的小鼠的炎症以及上皮和粘膜损伤均低于未处理的小鼠。

[0283] DSS诱发性小鼠以及未诱导的(即,没有DSS)小鼠的结肠的代表性组织学横截面示于图11。在DSS诱发性对照小鼠中(图11A和B),组织学横截面显示出绒毛-隐窝结构的消失,固有层和粘膜肌层的水肿和炎性浸润/病灶,肠上皮细胞脱落和保护性粘液层(橙色)丢失。在处理的小鼠中(图11C-F),组织学显示炎性浸润物和水肿的剂量依赖性减弱,以及绒毛结构和粘液后来重建成近正常形态。相比之下,用高剂量的化合物B处理的结肠的组织学横截面显示出几乎完全的挽救,其形态类似于从未施用DSS的小鼠的结肠的形态(图11G)。图11A,C和E的比例尺为200μm。图11B,D,F和G的比例尺为50μm。

[0284] 生物实施例13.

[0285] 为了评估用化合物B的处理对促炎性细胞因子和生物标志物水平的影响,从小肠和大肠组织样品(>100mg)中提取总RNA。通过逆转录合成cDNA,并通过实时PCR进行分析。将结果相对于持家基因次黄嘌呤鸟嘌呤磷酸核糖基转移酶(HPRT)的水平标准化。使用$2^{-\Delta\Delta Ct}$方法,如Pickert et al.,J.Exp.Med.,2009,206:1465-1472中所描述的,计算测试基因相对于HPRT表达的相对mRNA表达。已经暗示白介素6(IL6),IL1b,钙粒蛋白(calgranulin)-A(S100A8)和肿瘤坏死因子α(TNFα)为IBD的介体,包括溃疡性结肠炎和克罗恩氏病两者。IL6,IL1b和钙粒蛋白-A在炎性巨噬细胞中显著表达。IL22依赖性再生胰岛衍生的3γ(Reg3g)响应上皮细胞的炎症而被诱导。IL17由Th17 T辅助细胞和3型先天淋巴样细胞(ILC3)分泌。

[0286] 如图12所示,与未处理的小鼠相比,在化合物B处理的小鼠中IL6,IL1b,S100A8,TNFα和Reg3g的mRNA水平显示出剂量依赖性的降低,这与免于结肠炎的挽救和炎症减少相一致。响应化合物B处理的IL17a表达变化的缺乏与针对IBD的保护相一致。总而言之,结果表明化合物B对结肠炎和其他炎性肠病,例如克罗恩氏病和未定型性结肠炎可具有临床有益的效果。

[0287] 生物实施例14.

[0288] 为了评估在T2DM啮齿动物模型中用化合物A进行长期处理的效果,向6-8周龄的雄性ob/ob小鼠通过饮食混合物(diet admix)施用三种剂量的化合物A(15mg/kg bw/d;45mg/kg bw/d;135mg/kg bw/d)之一,通过饮食混合物施用吡格列酮(30mg/kg bw/d),通过饮食混合物施用非诺贝特(Fenofibrate)(100mg/kg bw/d),或者未经处理(对照)5周(每组10只

小鼠)。向小鼠喂食标准的低脂(7％w/w脂肪)饮食。4周后,将小鼠禁食4小时,并评估化合物A的影响。化合物A的影响的评估包括血糖,血浆胰岛素的基础水平,HbA1c水平和胰岛素抵抗的稳态模型评估(HOMA-IR)。HOMA-IR是对胰岛素抵抗的评估,并且计算公式如下:空腹胰岛素(微U/L)x空腹葡萄糖(nmol/L)/22.5。表4提供了135mg/kg剂量的化合物A的影响。

[0289] 表4:

	对照	化合物A	非诺贝特	吡格列酮
体重(g)	54.5 ± 1.5	55.0 ± 1.1	56.5 ± 1.4	62.3 ± 1.6*
食物摄入(g/m/d)	6.8 ± 0.5	6.1 ± 0.3	4.4 ± 0.2	6.2 ± 0.1
血糖(mg/dL)	380.8 ± 26.3	191.5 ± 6.1*	220.3 ± 8.1*	147.5 ± 3.1*
血浆胰岛素(ng/mL)	73.2 ± 13.6	17.6 ± 6.8*	35.5 ± 9.0*	5.7 ± 0.8*
血液HbA1c (%)	8.4 ± 0.4	4.5 ± 0.1*	4.8 ± 0.2*	3.8 ± 0.1*
HOMA-IR	65.7 ± 9.8	8.6 ± 3.6*	20.3 ± 5.9*	2.1 ± 0.3*
血浆脂联素(μg/mL)	4.3 ± 0.4	3.8 ± 0.4	5.0 ± 0.4	19.3 ± 1.8*
血浆ALT (U/L)	271.4 ± 18.8	180.6 ± 14.6*	224.0 ± 27.4	257.3 ± 15.5

[0290]

[0291]

[0292] 数据代表平均值±平均值的标准误。*与对照相比,p＜0.05。

[0293] 5周后,禁食4小时后进行口服葡萄糖(2g/kg)耐量测试。化合物A在降低葡萄糖水平方面显示出剂量依赖性响应。

[0294] 表5:

	血浆葡萄糖(mM)						
	0 min	15 min	30 min	45 min	60 min	120 min	AUC (0-120 min)
对照	18.0 ± 6.4	43.8 ± 5.4	42.8 ± 6.2	38.3 ± 8.0	36.6 ± 10.6	26.7 ± 10.3	2026 ± 348
15 mg/kg bw/d 化合物A	11.4 ± 1.5*†	37.5 ± 5.7*	34.4 ± 9.3*	28.0 ± 9.0*	25.5 ± 10.1*	19.6 ± 7.8	1762 ± 807
45 mg/kg bw/d 化合物A	13.3 ± 3.7*	36.5 ± 8.0	30.1 ± 6.7*	24.5 ± 7.4*†	21.0 ± 6.5*†	15.3 ± 3.5*	1112 ± 588*
135 mg/kg bw/d 化合物A	9.2 ± 2.0*†	27.7 ± 5.6*†	22.1 ± 6.5*†	14.6 ± 3.1*†	13.4 ± 2.3*†	12.8 ± 1.8*†	816 ± 281*
非诺贝特	15.4 ± 4.7	35.9 ± 5.3*	35.9 ± 6.4*	30.6 ± 5.2*	28.2 ± 6.0*	18.7 ± 5.3*	1416 ± 400*
吡格列酮	7.8 ± 0.8*	24.2 ± 6.0*	18.5 ± 14.4*	17.3 ± 14.0*	15.2 ± 10.7*	10.9 ± 3.5*	879 ± 1023*

[0295]

[0296] 数据代表平均值±标准偏差。*与对照相比,p<0.05;†化合物A与非诺贝特相比p<0.05。

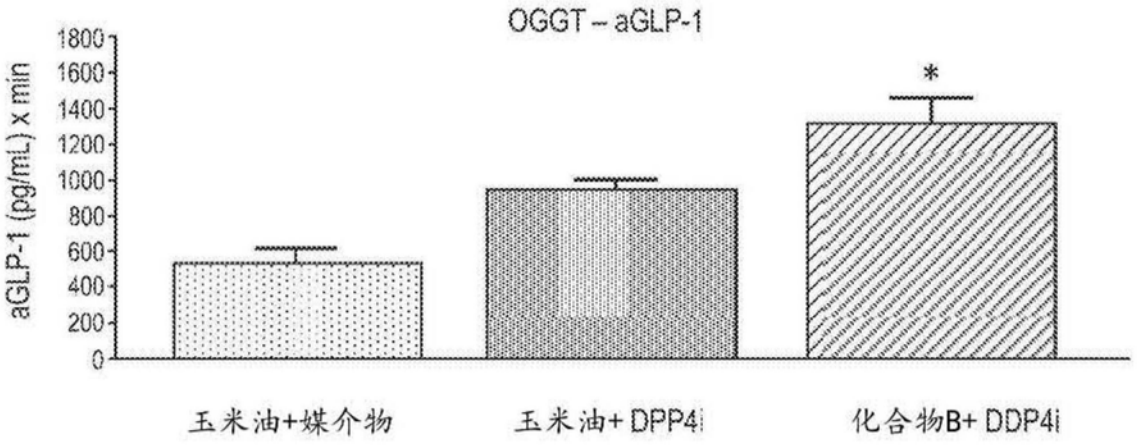

OGGT – aGLP-1
aGLP-1 (pg/mL) x min
1800
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
*
玉米油+媒介物
玉米油+ DPP4i
化合物B+ DDP4i

图1

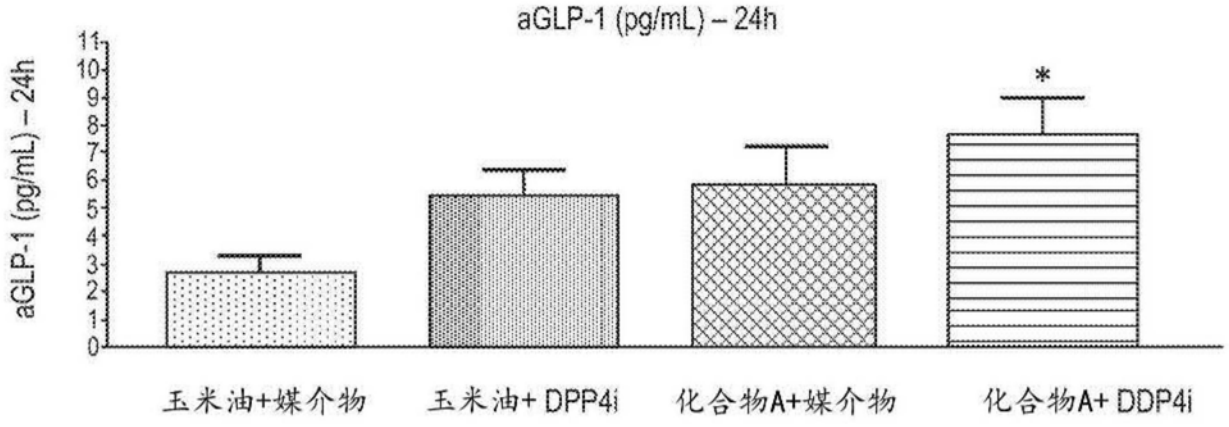

aGLP-1 (pg/mL) – 24h
aGLP-1 (pg/mL) – 24h
11
10
9
8
7
6
5
4
3
2
1
0
*
玉米油+媒介物
玉米油+ DPP4i
化合物A+媒介物
化合物A+ DDP4i

图2

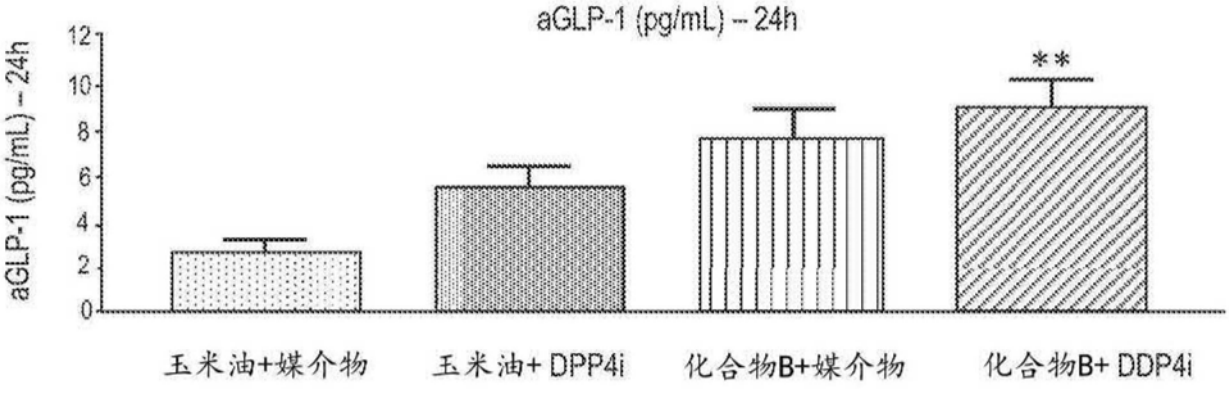

aGLP-1 (pg/mL) – 24h
aGLP-1 (pg/mL) – 24h
12
10
8
6
4
2
0
**
玉米油+媒介物
玉米油+ DPP4i
化合物B+媒介物
化合物B+ DDP4i

图3

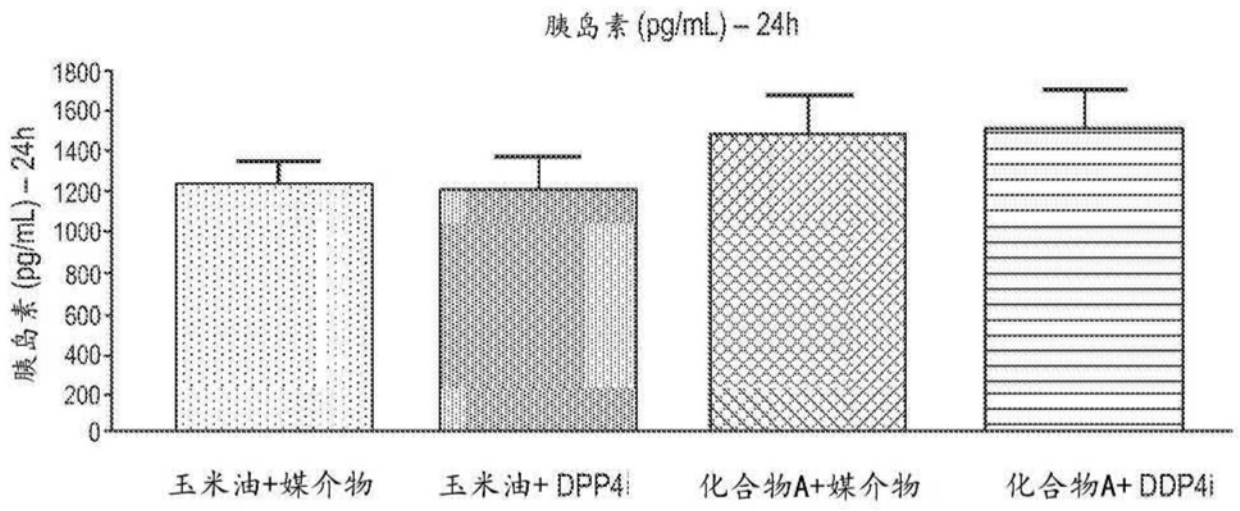

胰岛素 (pg/mL) – 24h
胰岛素 (pg/mL) – 24h
1800
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
玉米油+媒介物
玉米油+ DPP4i
化合物A+媒介物
化合物A+ DDP4i

图4

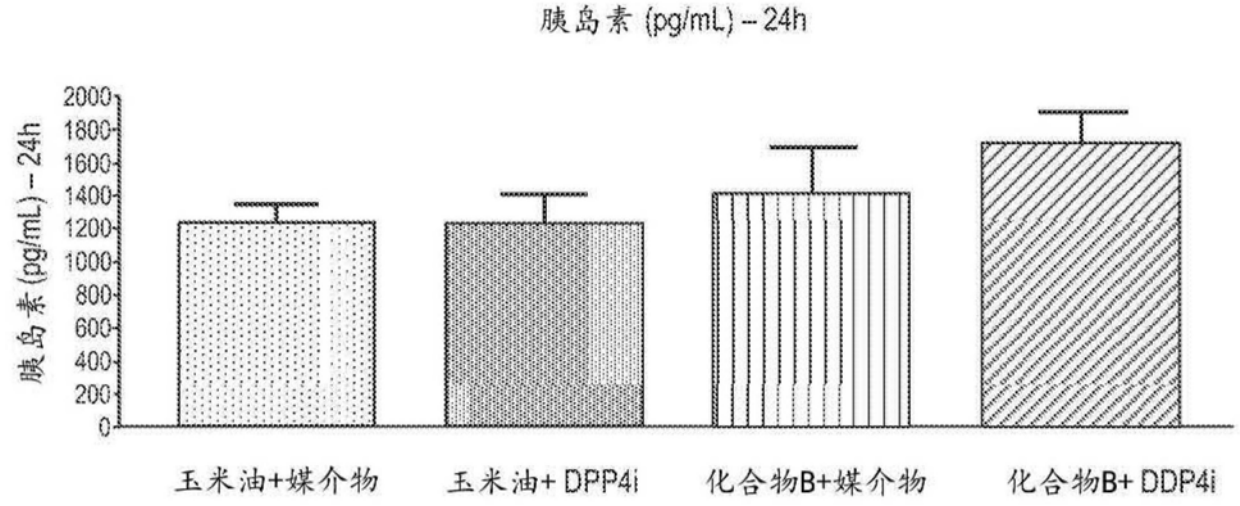

胰岛素 (pg/mL) – 24h
胰岛素 (pg/mL) – 24h
2000
1800
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
玉米油+媒介物
玉米油+ DPP4i
化合物B+媒介物
化合物B+ DDP4i

图5

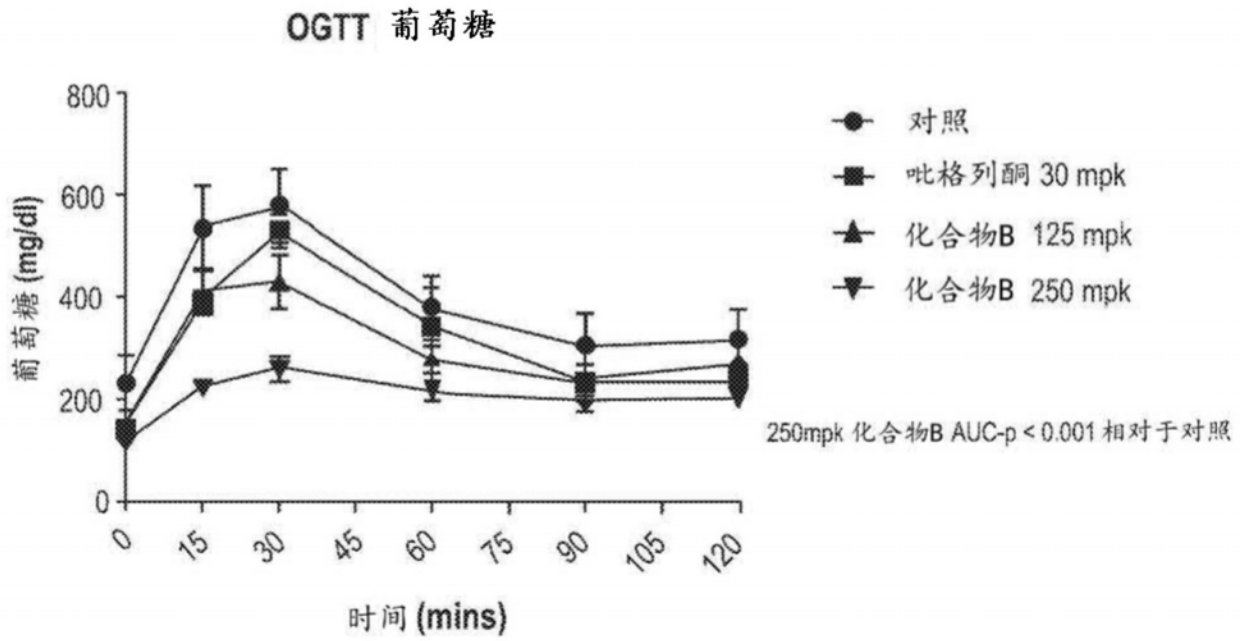

OGTT 葡萄糖
葡萄糖 (mg/dl)
800
600
400
200
0
0
15
30
45
60
75
90
105
120
时间 (mins)
对照
吡格列酮 30 mpk
化合物B 125 mpk
化合物B 250 mpk
250mpk 化合物B AUC-p < 0.001 相对于对照

图6A

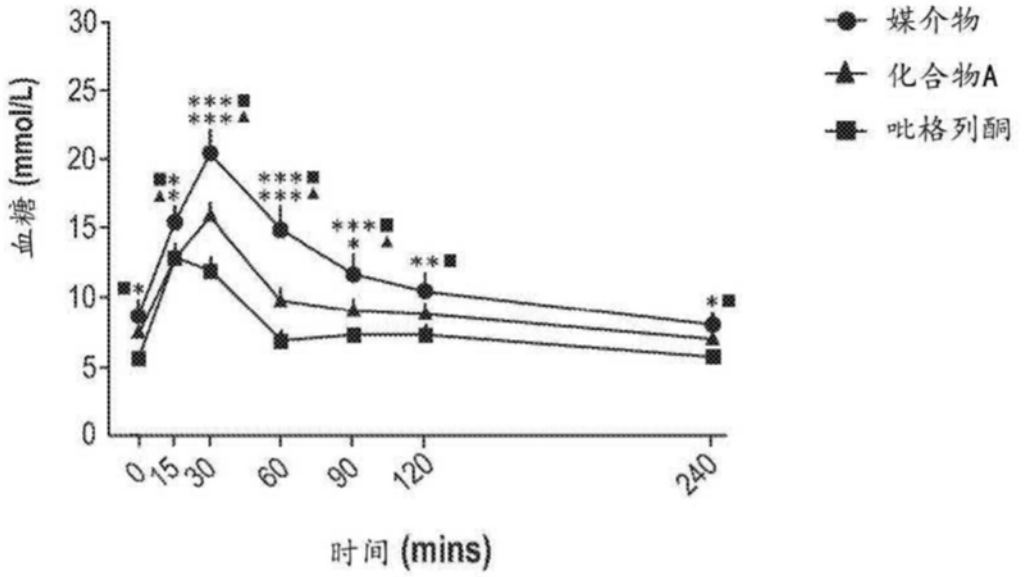

血糖 (mmol/L)
30
25
20
15
10
5
0
0
15
30
60
90
120
240
时间 (mins)
媒介物
化合物A
吡格列酮

图6B

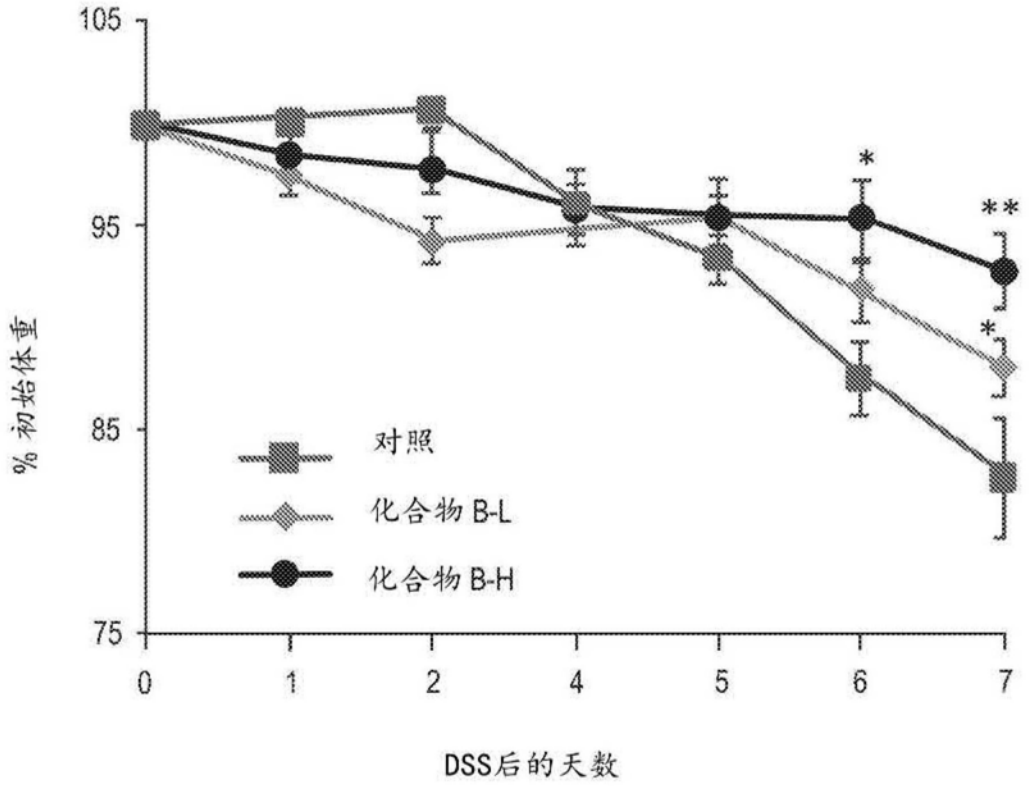

105
95
85
75
% 初始体重
0
1
2
4
5
6
7
DSS后的天数
对照
化合物 B-L
化合物 B-H
*
*
**

图7

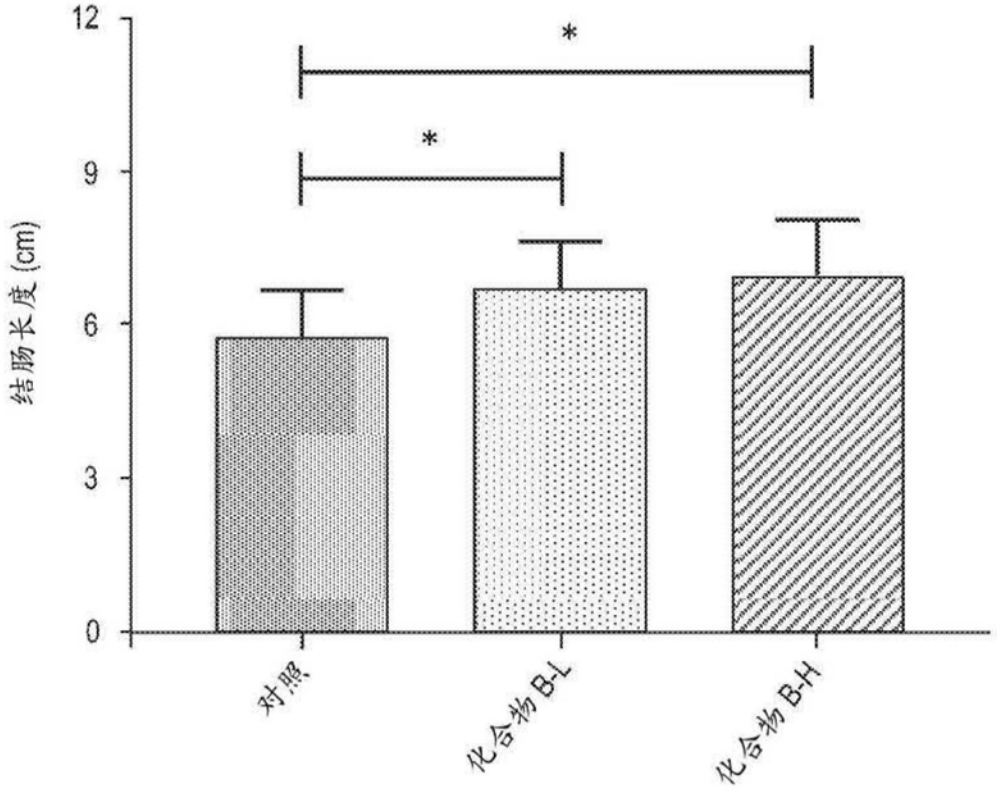

12
9
6
3
0
结肠长度 (cm)
*
*
对照
化合物 B-L
化合物 B-H

图8

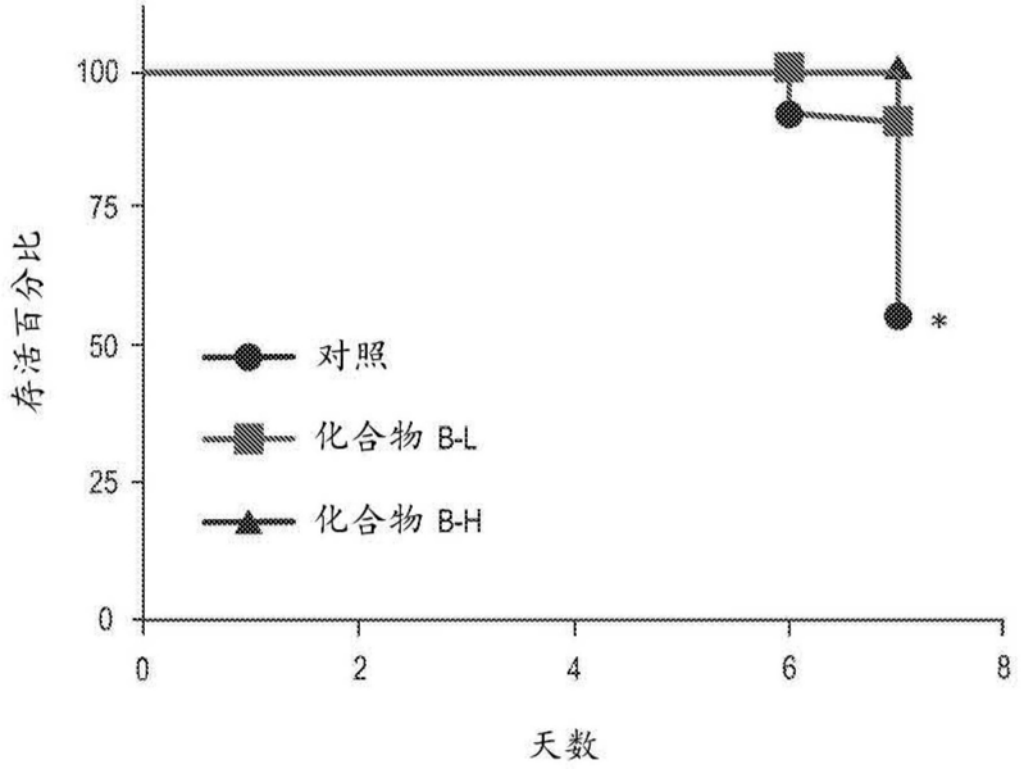

100
75
50
25
0
存活百分比
对照
化合物 B-L
化合物 B-H
*
0
2
4
6
8
天数

图9

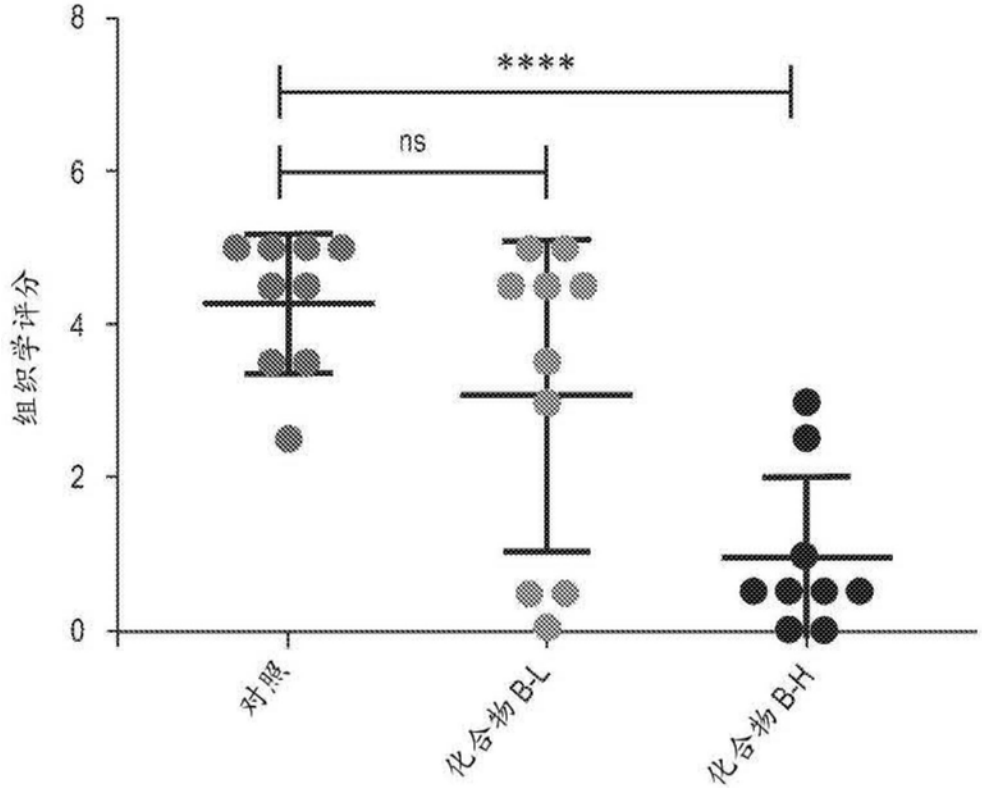

8
6
4
2
0
组织学评分
****
ns
对照
化合物 B-L
化合物 B-H

图10

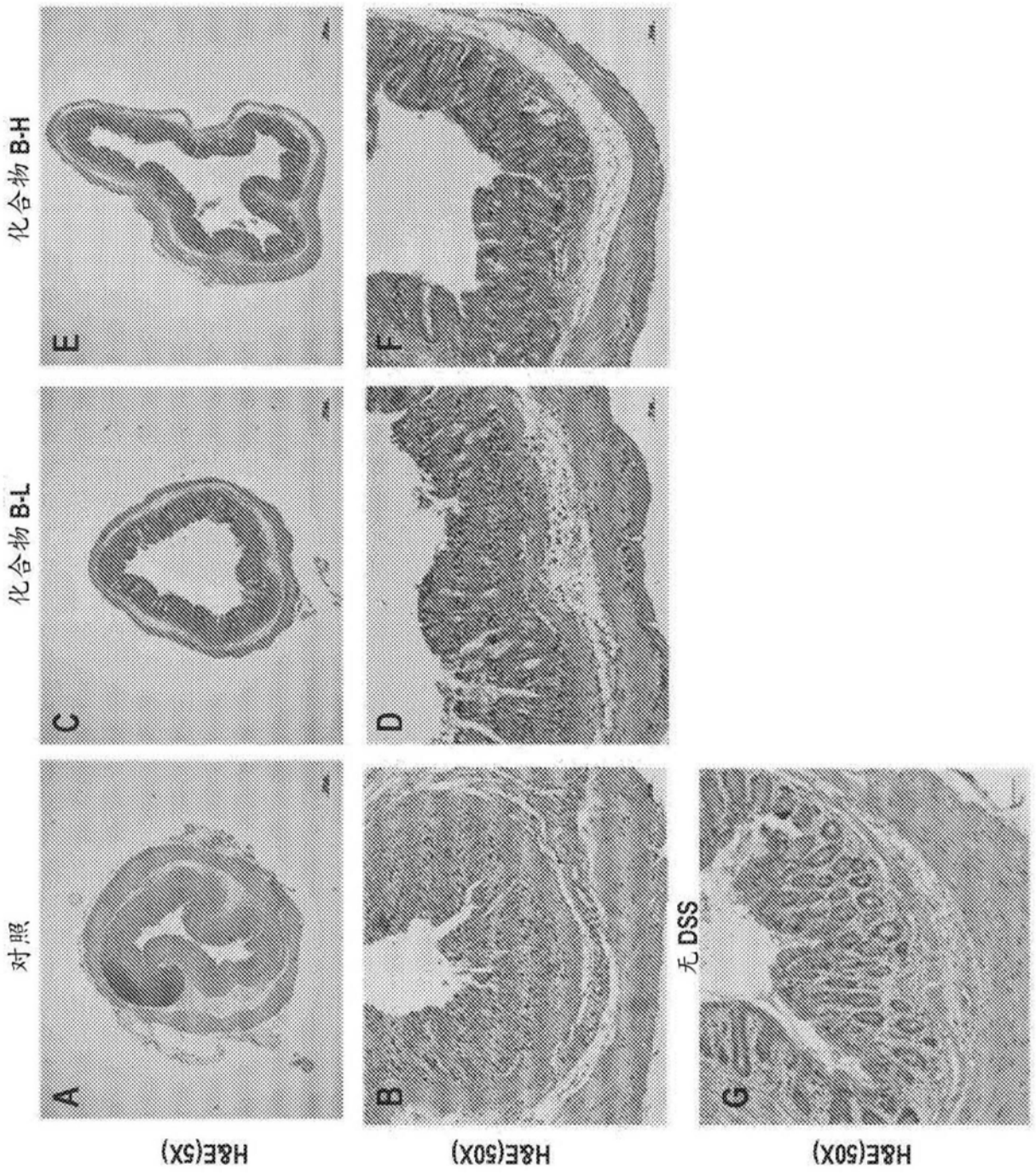


图11

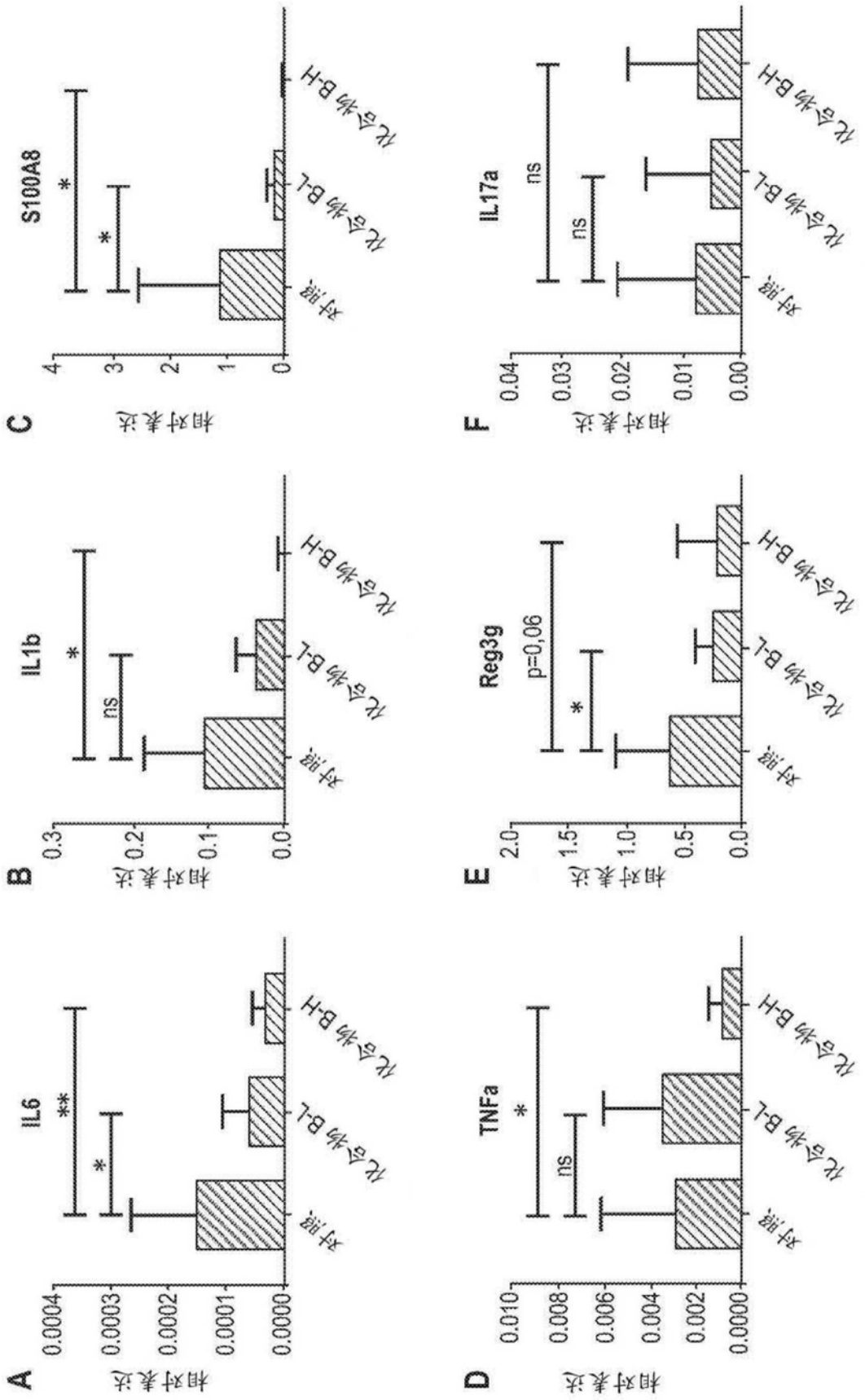

A
IL6
相对表达
0.0004
0.0003
0.0002
0.0001
0.0000
**
*
对照
化合物 B-L
化合物 B-H
B
IL1b
相对表达
0.3
0.2
0.1
0.0
*
ns
对照
化合物 B-L
化合物 B-H
C
S100A8
相对表达
4
3
2
1
0
*
*
对照
化合物 B-L
化合物 B-H
D
TNFa
相对表达
0.010
0.008
0.006
0.004
0.002
0.0000
*
ns
对照
化合物 B-L
化合物 B-H
E
Reg3g
p=0,06
相对表达
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
*
对照
化合物 B-L
化合物 B-H
F
IL17a
相对表达
0.04
0.03
0.02
0.01
0.00
ns
ns
对照
化合物 B-L
化合物 B-H

图12