



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105431426 A

(43) 申请公布日 2016. 03. 23

(21) 申请号 201480032972. 7

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2014. 04. 09

C07D 407/08(2006. 01)

(30) 优先权数据

C08F 22/22(2006. 01)

61/810, 468 2013. 04. 10 US

C07K 2/00(2006. 01)

61/925, 918 2014. 01. 10 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2015. 12. 09

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2014/033476 2014. 04. 09

(87) PCT国际申请的公布数据

W02014/169026 EN 2014. 10. 16

(71) 申请人 新德发制药有限公司

地址 美国马萨诸塞州

(72) 发明人 约翰·S·彼得森 詹姆斯·尚南

(74) 专利代理机构 北京聿宏知识产权代理有限公司 11372

代理人 吴大建 刘华联

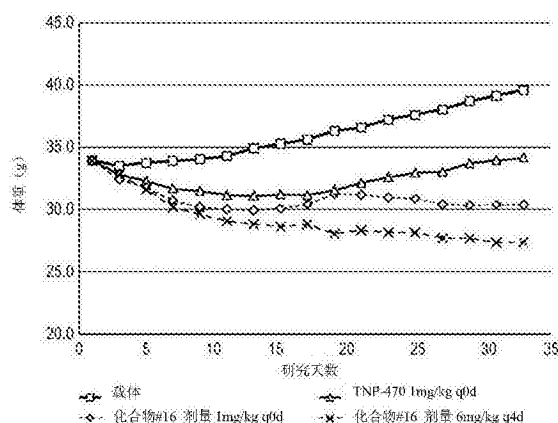
权利要求书44页 说明书79页 附图24页

(54) 发明名称

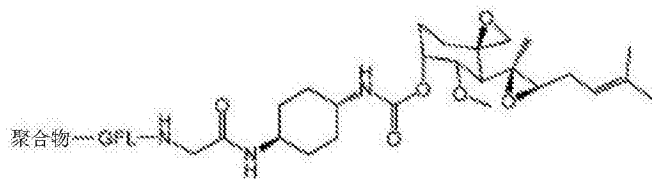
METAP2 抑制剂和治疗肥胖症的方法

(57) 摘要

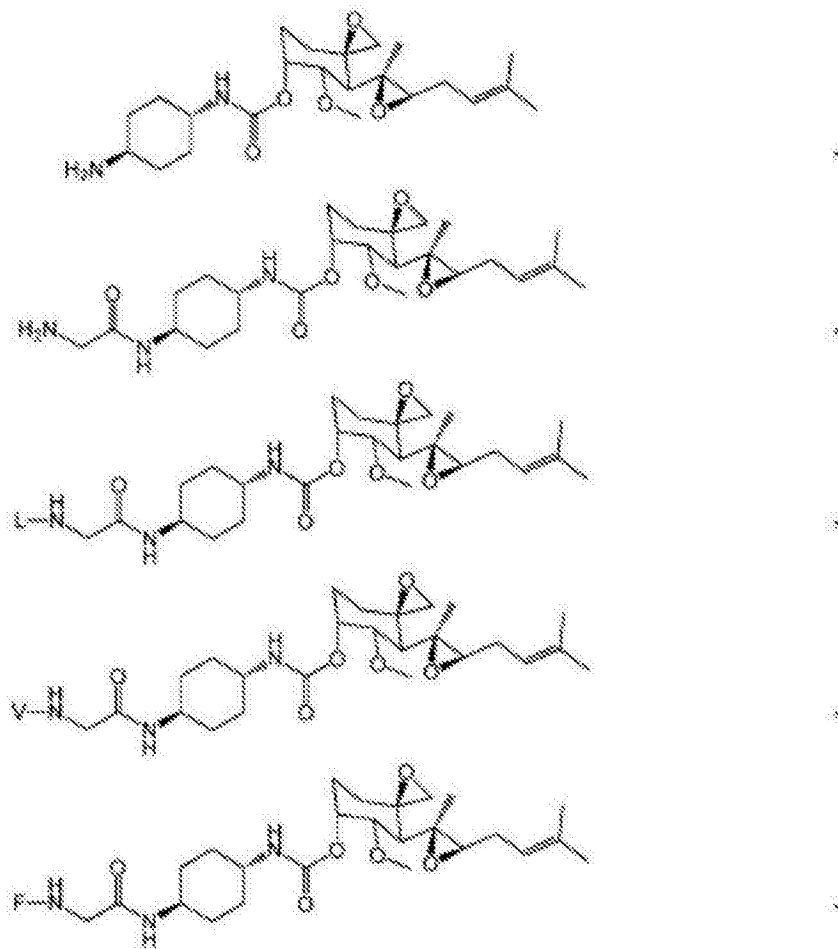
本发明涉及修饰的或聚合物缀合的 MetAP2 抑制剂。本发明还涉及利用所述修饰的或聚合物缀合的 MetAP2 抑制剂来预防、诱发、导致或增加体重减少、治疗肥胖症和 / 或治疗代谢综合征的方法。本发明还涉及利用所述修饰的或聚合物缀合的 MetAP2 抑制剂来改善胰岛素敏感性和血糖控制、降低胰岛素水平和 / 或改善瘦素敏感性的方法。

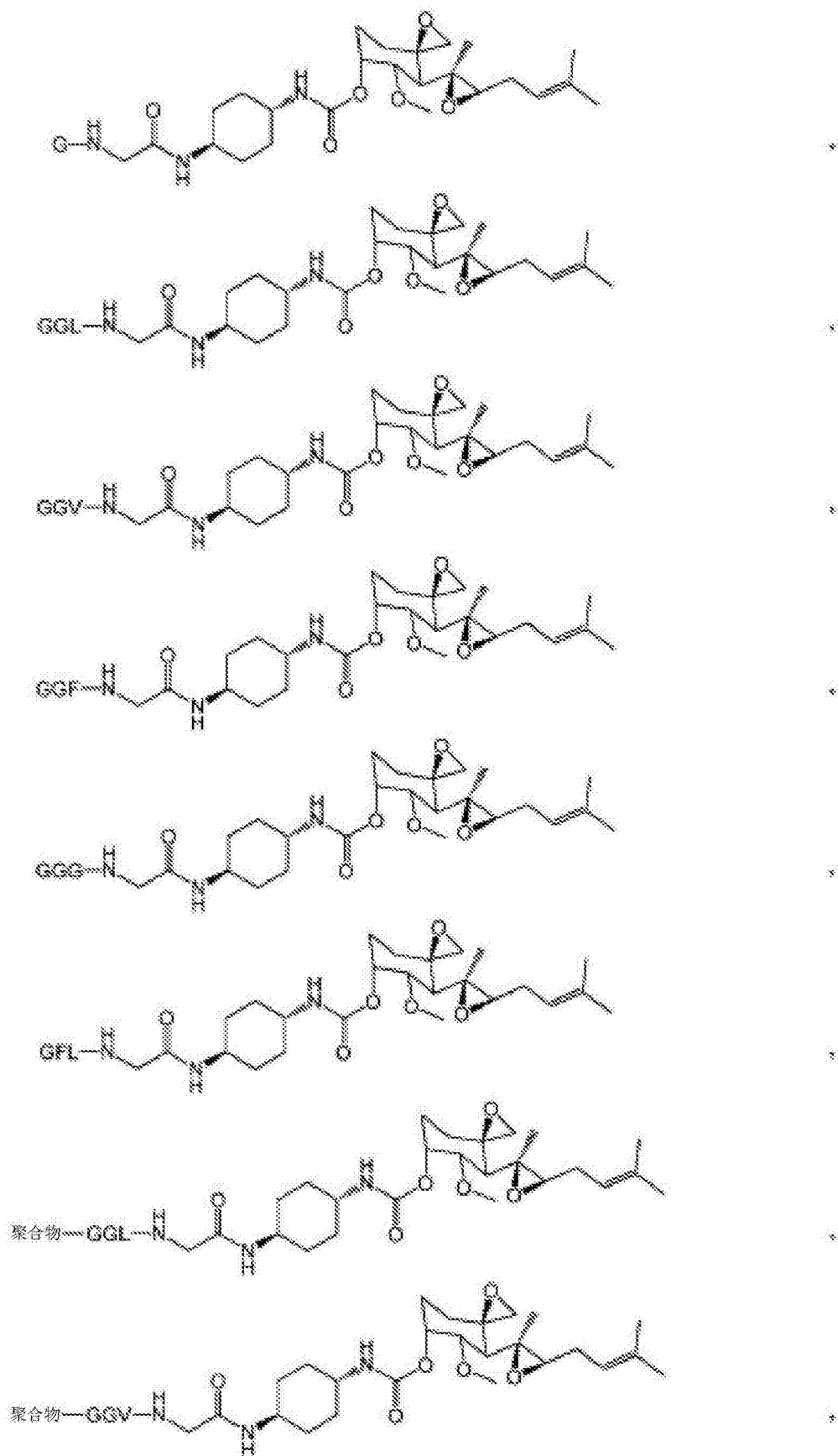


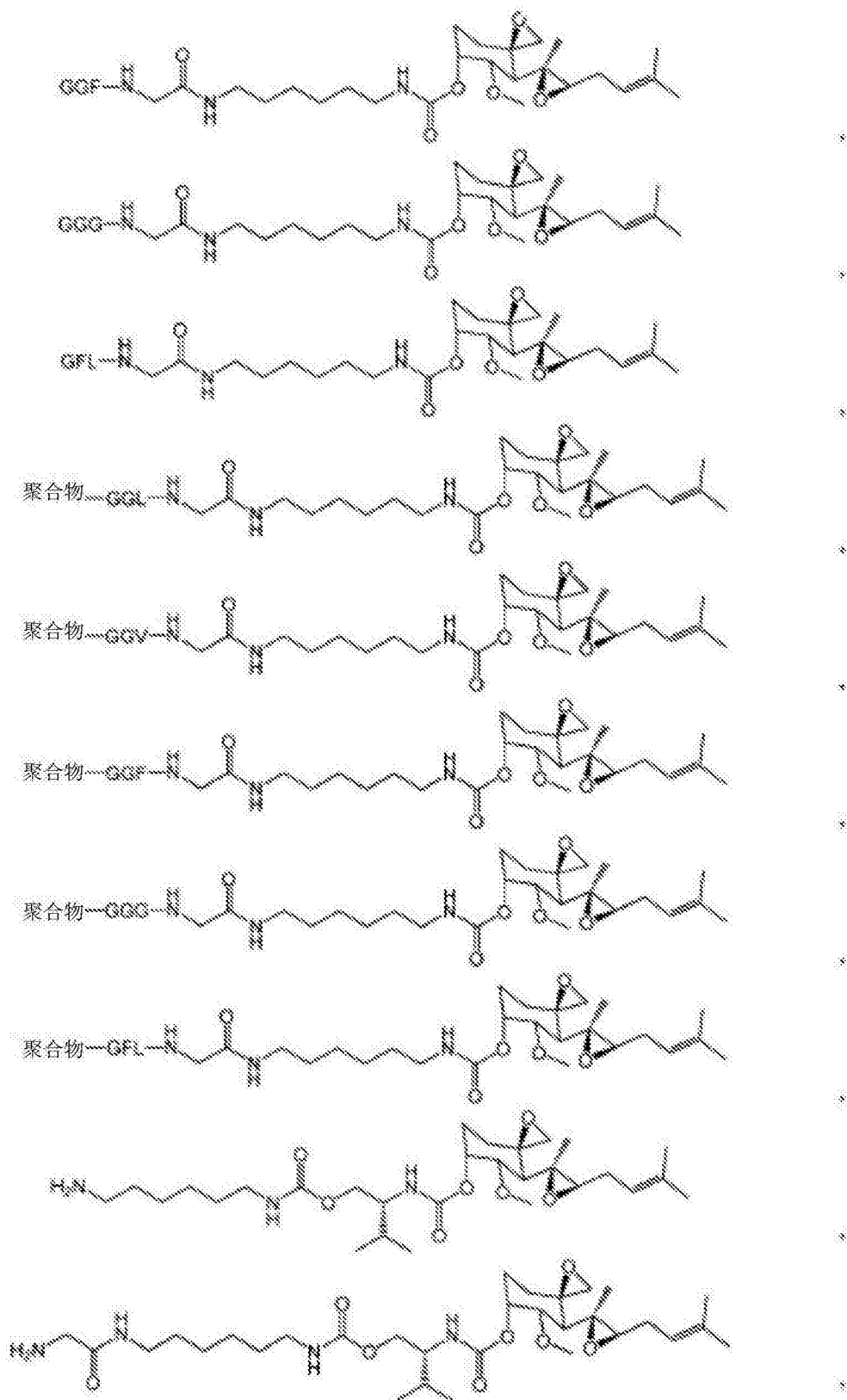
1. 一种在需要导致体重减轻的主体中导致体重减轻的方法, 包括向所述主体施用治疗有效量的如下结构式的至少一种化合物或其药学上可接受的盐、前药、代谢物、类似物或衍生物, 以导致体重减轻,

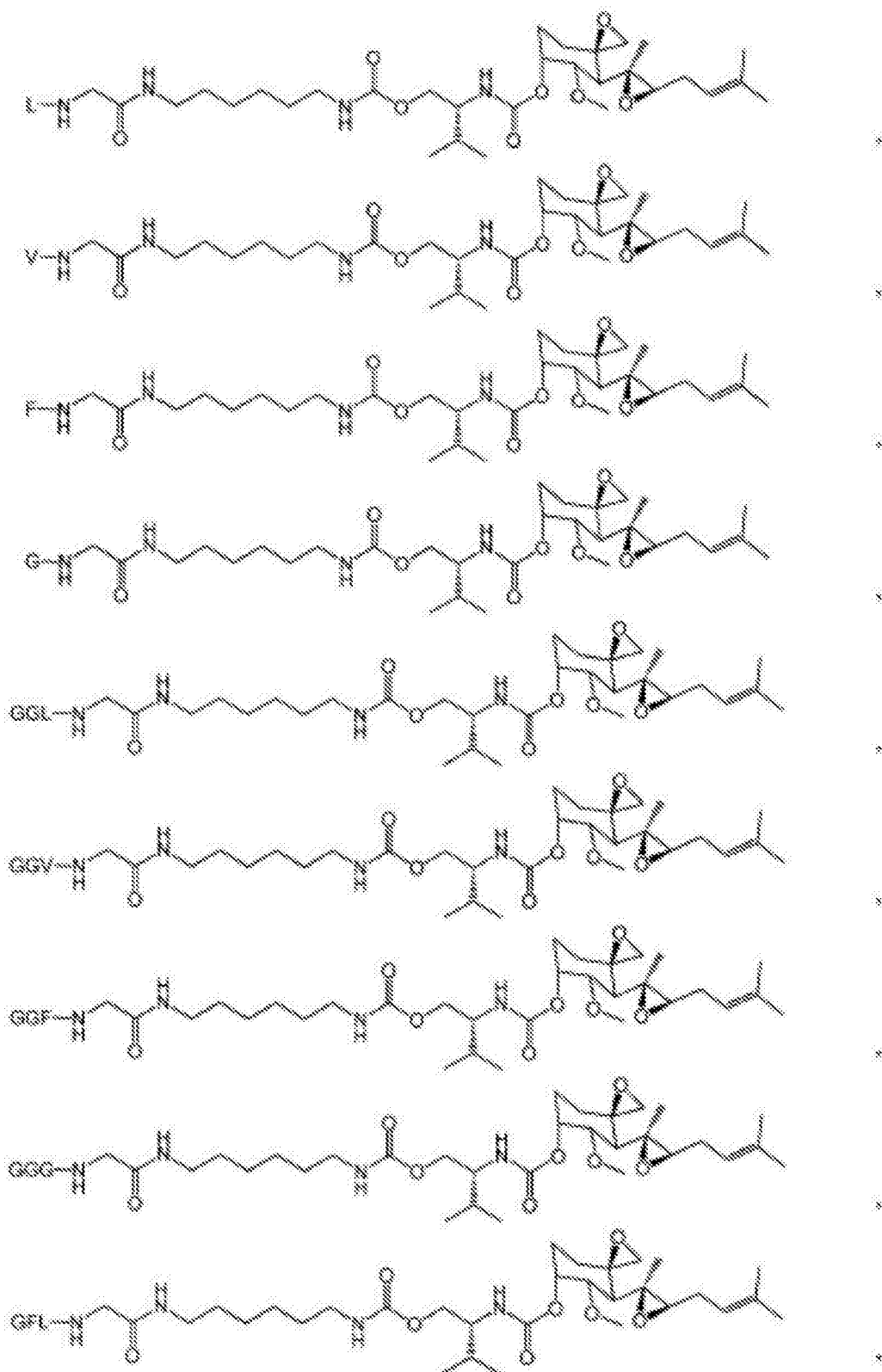


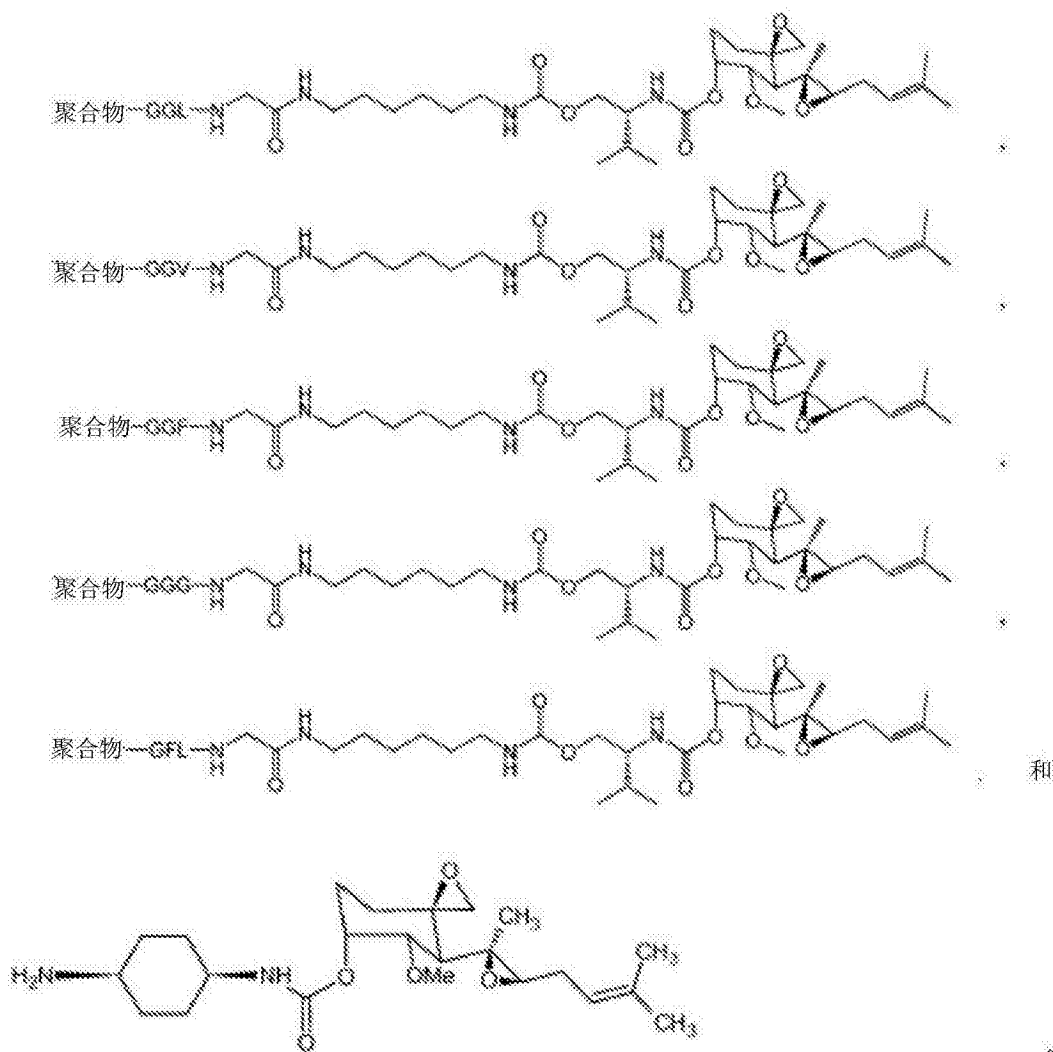
2. 一种在需要导致体重减轻的主体中导致体重减轻的方法, 包括向所述主体施用治疗有效量的选自由下列各项组成的组中的至少一种化合物或其药学上可接受的盐、前药、代谢物、类似物或衍生物, 以导致体重减轻,



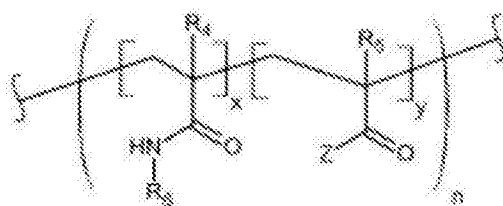








3. 一种在需要导致体重减轻的主体中导致体重减轻的方法,包括向所述主体施用治疗有效量的如下结构式的至少一种化合物或其药学上可接受的盐、前药、代谢物、类似物或衍生物,以治疗或改善肥胖症,



其中,每种情况下独立地

R₄是H或C₁-C₆烷基；

R₅是H或C₁-C₆烷基；

R₆是C₂-C₆羟烷基；

Z 是 $-\text{NH}-\text{AA}_1-\text{AA}_2-\text{AA}_3-\text{AA}_4-\text{AA}_5-\text{AA}_6-\text{C}(\text{O})-\text{L}$ 或 $-\text{NH}-\text{AA}_1-\text{AA}_2-\text{AA}_3-\text{AA}_4-\text{AA}_5-\text{AA}_6-\text{C}(\text{O})-\text{Q}-\text{X}-\text{Y}-\text{C}(\text{O})-\text{W}$;

AA₁是甘氨酸、丙氨酸或H₂N(CH₂)_mCO₂H,其中m是2、3、4或5;

AA₂是键,或丙氨酸、半胱氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、苯丙氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、赖氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸、天冬酰胺、脯氨酸、谷氨酰胺、精氨酸、丝氨酸、苏氨酸、缬氨

酸、色氨酸或酪氨酸；

AA₃是键，或丙氨酸、半胱氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、苯丙氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、赖氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸、天冬酰胺、脯氨酸、谷氨酰胺、精氨酸、丝氨酸、苏氨酸、缬氨酸、色氨酸或酪氨酸；

AA₄是键，或丙氨酸、半胱氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、苯丙氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、赖氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸、天冬酰胺、脯氨酸、谷氨酰胺、精氨酸、丝氨酸、苏氨酸、缬氨酸、色氨酸或酪氨酸；

AA₅是键，或甘氨酸、缬氨酸、酪氨酸、色氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸、亮氨酸、异亮氨酸或天冬酰胺；

AA₆是键，或丙氨酸、天冬酰胺、瓜氨酸、谷氨酰胺、甘氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、丝氨酸、苏氨酸、色氨酸、酪氨酸、缬氨酸，或 H₂N(CH₂)_mCO₂H，其中 m 是 2、3、4 或 5；

L 是 -OH、-O- 琥珀酰亚胺、-O- 磺酸基琥珀酰亚胺、烷氧基、芳氧基、酸氧基、芳酰氧基、烷氧基羰氧基、芳氧基羰氧基、-NH₂、-NH(C₂-C₆羟烷基)、卤化物或全氟烷氧基；

Q 是 NR、O 或 S；

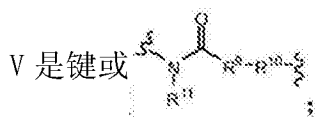
X 是 M-(C(R)₂)_p-M-J-M-(C(R)₂)_p-M-V；

M 是键，或 C(O)；

J 是键，或 ((CH₂)_qQ)_r、C₅-C₈环烷基、芳基、杂芳基、NR、O 或 S；

Y 是 NR、O 或 S；

R 是 H 或烷基；



R⁹是烷基、芳基、芳烷基或键；或者 R⁹与 Y 一起形成杂环；

R¹⁰是氨基或键；

R¹¹是 H 或烷基；

W 是 MetAP2 抑制剂部分或烷基；

x 在 1 至约 450 的范围；

y 在 1 至约 30 的范围；

n 在 1 至约 50 的范围；

p 是 0 至 20；

q 是 2 或 3；

r 是 1、2、3、4、5 或 6；并且

所述化合物的分子量小于约 60kDa。

4. 根据权利要求 3 所述的方法，其特征在于，R₄是甲基。

5. 根据权利要求 3 所述的方法，其特征在于，R₅是甲基。

6. 根据权利要求 3 所述的方法，其特征在于，R₆是 2-羟丙基。

7. 根据权利要求 3 所述的方法，其特征在于，Z 是 -NH-AA₆-C(O)-Q-X-Y-C(O)-W。

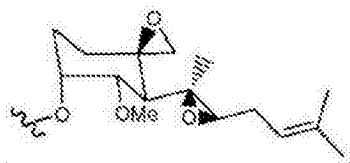
8. 根据权利要求 7 所述的方法，其特征在于，AA₆是甘氨酸。

9. 根据权利要求 3 所述的方法，其特征在于，Z 是 -NH-AA₅-AA₆-C(O)-Q-X-Y-C(O)-W。

10. 根据权利要求 9 所述的方法,其特征在于,AA₅是亮氨酸,AA₆是甘氨酸。
11. 根据权利要求 9 所述的方法,其特征在于,AA₅是缬氨酸,AA₆是甘氨酸。
12. 根据权利要求 9 所述的方法,其特征在于,AA₅是苯丙氨酸,AA₆是甘氨酸。
13. 根据权利要求 9 所述的方法,其特征在于,AA₅是甘氨酸,AA₆是甘氨酸。
14. 根据权利要求 3 所述的方法,其特征在于,Z 是 -NH-AA₃-AA₄-AA₅-AA₆-C(O)-Q-X-Y-C(O)-W。
15. 根据权利要求 14 所述的方法,其特征在于,AA₅是亮氨酸,AA₃、AA₄或 AA₆均为甘氨酸。
16. 根据权利要求 14 所述的方法,其特征在于,AA₅是缬氨酸,AA₃、AA₄或 AA₆均为甘氨酸。
17. 根据权利要求 14 所述的方法,其特征在于,AA₅是苯丙氨酸,AA₃、AA₄或 AA₆均为甘氨酸。
18. 根据权利要求 14 所述的方法,其特征在于,AA₃是甘氨酸,AA₄是苯丙氨酸,AA₅是亮氨酸,AA₆是甘氨酸。
19. 根据权利要求 14 所述的方法,其特征在于,AA₃、AA₄、AA₅和 AA₆均为甘氨酸。
20. 根据权利要求 3 所述的方法,其特征在于,-Q-X-Y 是



21. 根据权利要求 3 所述的方法,其特征在于,W 是



22. 根据权利要求 3 所述的方法,其特征在于,x 与 y 的比在约 20:1 至约 4:1 的范围内。
23. 根据权利要求 3 所述的方法,其特征在于,x 与 y 的比为约 6:1。
24. 一种化合物,或其药学上可接受的盐、前药、代谢物、类似物或衍生物,由 Z-Q-X-Y-C(O)-W 表示,

其中,在每种情况下独立地,

Z 是 H₂N-AA₃-AA₄-AA₅-AA₆-C(O)- 或者 Z 是 H₂N-AA₅-AA₆-C(O) ;

AA₆是丙氨酸、天冬酰胺、瓜氨酸、谷氨酰胺、甘氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、丝氨酸、苏氨酸、色氨酸、酪氨酸、缬氨酸或 H₂N(CH₂)_mCO₂H,其中 m 是 2、3、4 或 5 ;

Q 是 NR、O 或 S ;

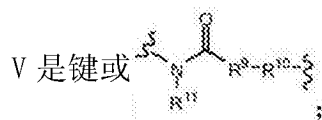
X 是 M-(C(R)₂)_p-M-J-M-(C(R)₂)_p-M-V ;

M 是键,或 C(O) ;

J 是键,或 ((CH₂)_qQ)_r、C₅-C₈环烷基、芳基、杂芳基、NR、O 或 S ;

Y 是 NR、O 或 S ;

R 是 H 或烷基 ;



R^9 是烷基、芳基、芳烷基或键；或者 R^9 与 Y 一起形成杂环；

R^{10} 是氨基或键；

R^{11} 是 H 或烷基；

W 是 MetAP2 抑制剂部分；

p 是 0 至 20；

q 是 2 或 3；并且

r 是 1、2、3、4、5 或 6。

25. 根据权利要求 24 所述的化合物，其特征在于，Z 是 $-\text{NH}-\text{AA}_5-\text{AA}_6-\text{C}(\text{O})-\text{Q}-\text{X}-\text{Y}-\text{C}(\text{O})-\text{W}$ ， AA_5 是亮氨酸， AA_6 是甘氨酸。

26. 根据权利要求 24 所述的化合物，其特征在于，Z 是 $-\text{NH}-\text{AA}_5-\text{AA}_6-\text{C}(\text{O})-\text{Q}-\text{X}-\text{Y}-\text{C}(\text{O})-\text{W}$ ， AA_5 是缬氨酸， AA_6 是甘氨酸。

27. 根据权利要求 24 所述的化合物，其特征在于，Z 是 $-\text{NH}-\text{AA}_5-\text{AA}_6-\text{C}(\text{O})-\text{Q}-\text{X}-\text{Y}-\text{C}(\text{O})-\text{W}$ ， AA_5 是苯丙氨酸， AA_6 是甘氨酸。

28. 根据权利要求 24 所述的化合物，其特征在于，Z 是 $-\text{NH}-\text{AA}_5-\text{AA}_6-\text{C}(\text{O})-\text{Q}-\text{X}-\text{Y}-\text{C}(\text{O})-\text{W}$ ， AA_5 是甘氨酸， AA_6 是甘氨酸。

29. 根据权利要求 24 所述的化合物，其特征在于，Z 是 $-\text{NH}-\text{AA}_3-\text{AA}_4-\text{AA}_5-\text{AA}_6-\text{C}(\text{O})-\text{Q}-\text{X}-\text{Y}-\text{C}(\text{O})-\text{W}$ ， AA_5 是亮氨酸， AA_3 、 AA_4 或 AA_6 均为甘氨酸。

30. 根据权利要求 24 所述的化合物，其特征在于，Z 是 $-\text{NH}-\text{AA}_3-\text{AA}_4-\text{AA}_5-\text{AA}_6-\text{C}(\text{O})-\text{Q}-\text{X}-\text{Y}-\text{C}(\text{O})-\text{W}$ ， AA_5 是缬氨酸， AA_3 、 AA_4 或 AA_6 均为甘氨酸。

31. 根据权利要求 24 所述的化合物，其特征在于，Z 是 $-\text{NH}-\text{AA}_3-\text{AA}_4-\text{AA}_5-\text{AA}_6-\text{C}(\text{O})-\text{Q}-\text{X}-\text{Y}-\text{C}(\text{O})-\text{W}$ ， AA_5 是苯丙氨酸， AA_3 、 AA_4 或 AA_6 均为甘氨酸。

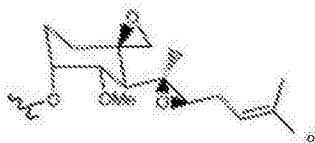
32. 根据权利要求 24 所述的化合物，其特征在于，Z 是 $-\text{NH}-\text{AA}_3-\text{AA}_4-\text{AA}_5-\text{AA}_6-\text{C}(\text{O})-\text{Q}-\text{X}-\text{Y}-\text{C}(\text{O})-\text{W}$ ， AA_5 是甘氨酸， AA_4 是苯丙氨酸， AA_3 是亮氨酸， AA_6 是甘氨酸。

33. 根据权利要求 24 所述的化合物，其特征在于，Z 是 $-\text{NH}-\text{AA}_3-\text{AA}_4-\text{AA}_5-\text{AA}_6-\text{C}(\text{O})-\text{Q}-\text{X}-\text{Y}-\text{C}(\text{O})-\text{W}$ ， AA_3 、 AA_4 、 AA_5 和 AA_6 均为甘氨酸。

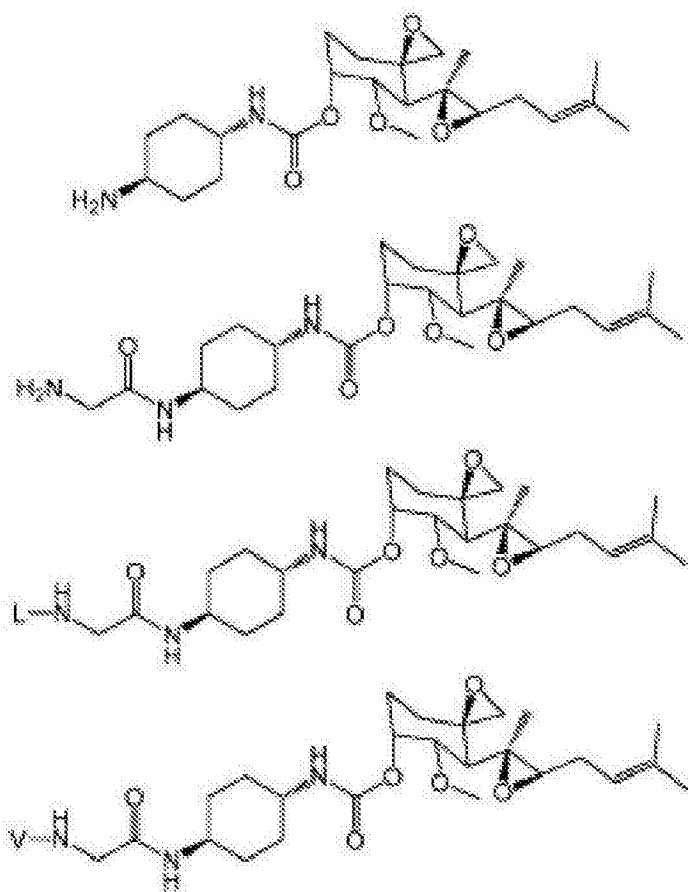
34. 根据权利要求 24 所述的化合物，其特征在于， $-\text{Q}-\text{X}-\text{Y}$ 是

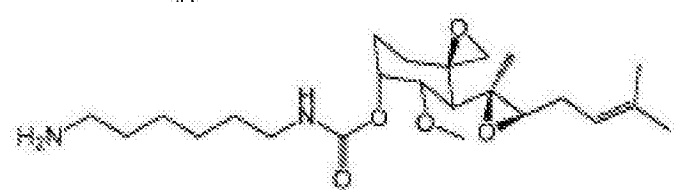
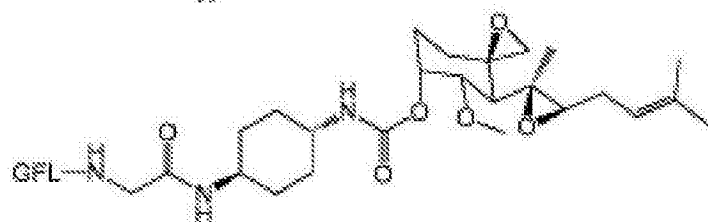
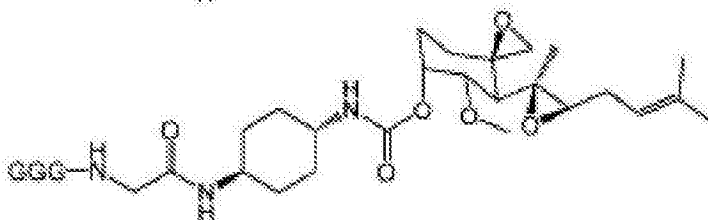
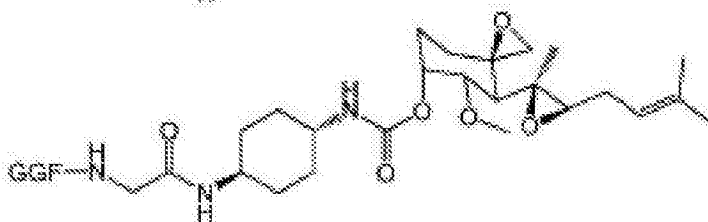
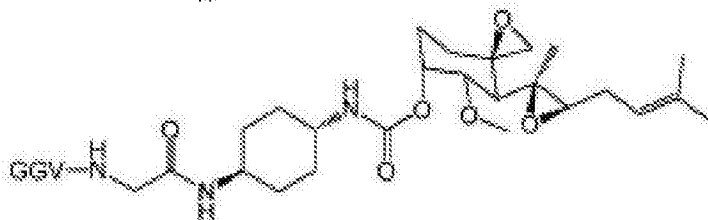
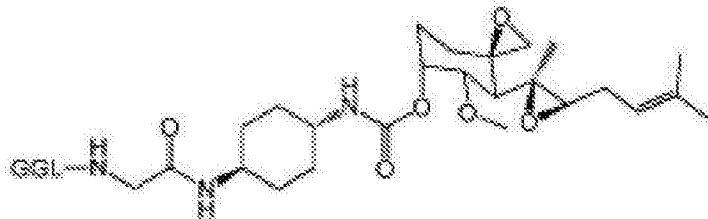
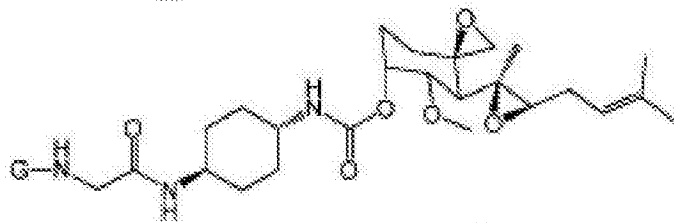
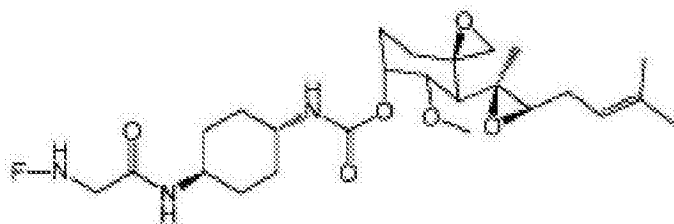


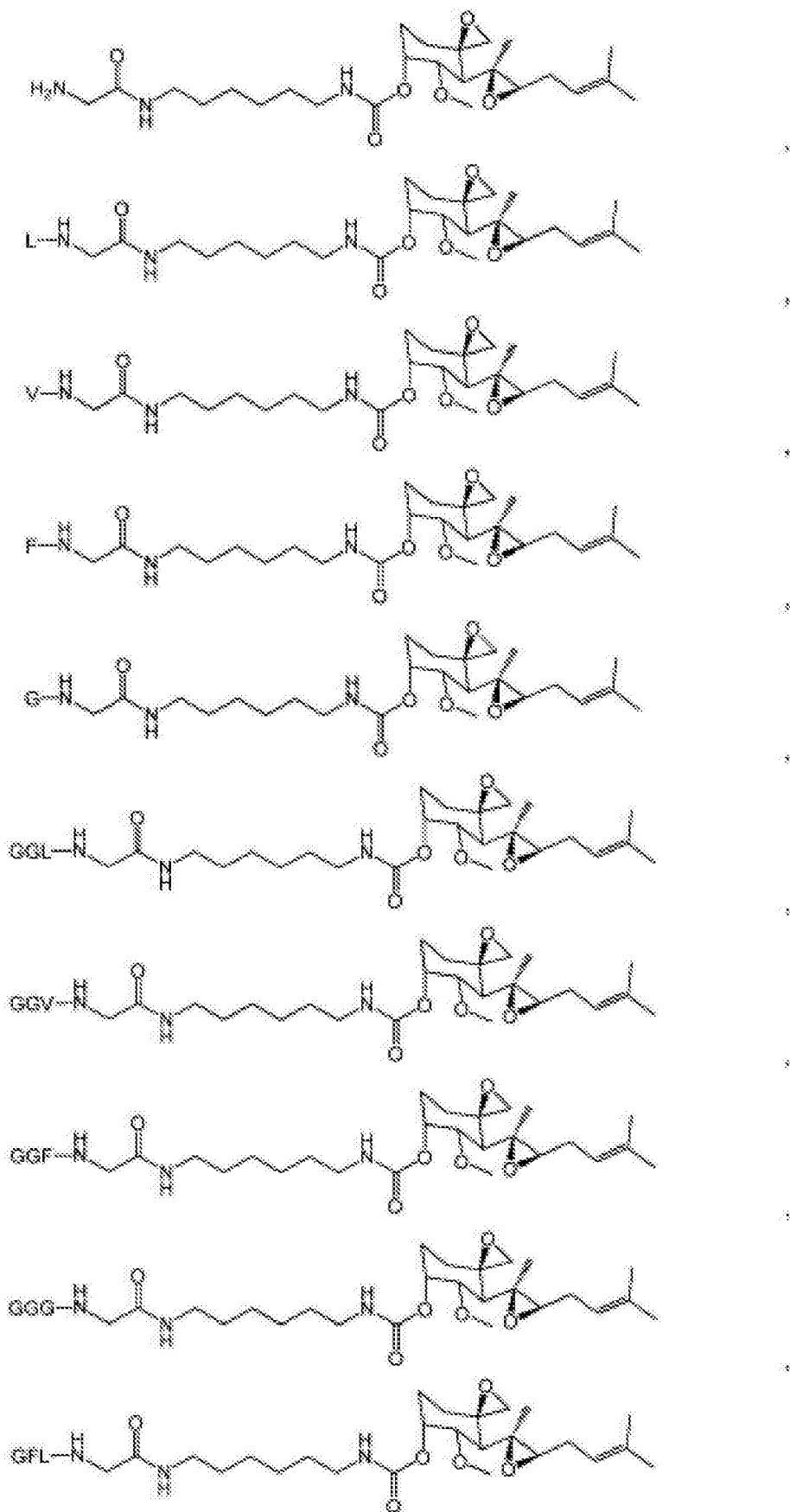
35. 根据权利要求 24 所述的化合物，其特征在于，W 是

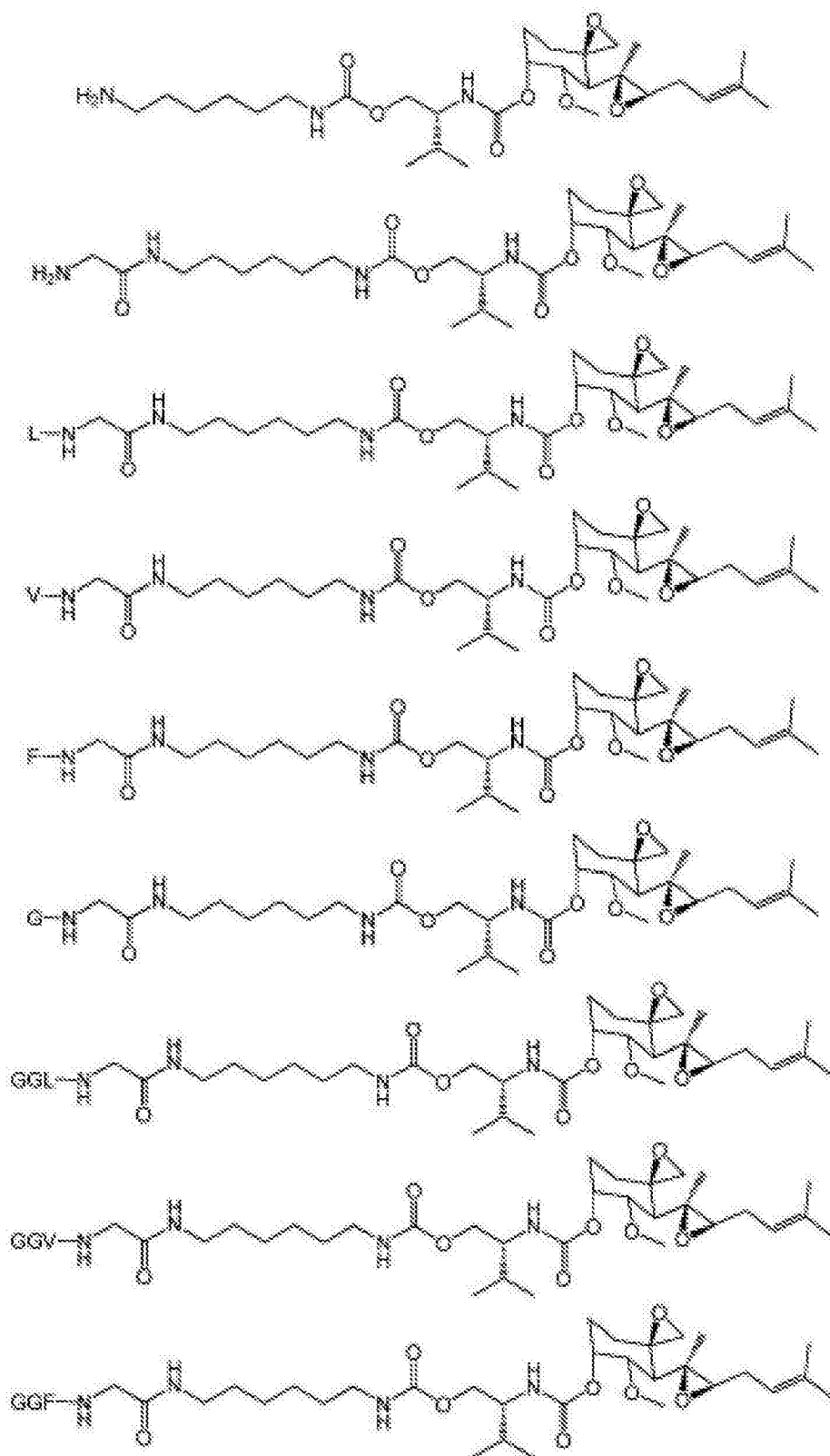


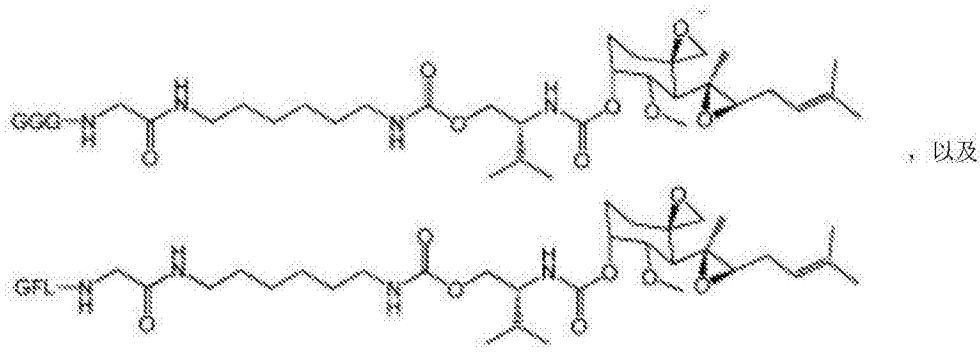
36. 根据权利要求 24 所述的化合物，其特征在于，所述化合物选自由下列各项组成的组中：











37. 一种在需要导致体重减轻的主体中导致体重减轻的方法,包括向所述主体施用治疗有效量的至少一种根据权利要求 24-36 中任一项所述的化合物,或其药学上可接受的盐、前药、代谢物、类似物或衍生物,以导致体重减轻。

38. 根据权利要求 1、2、3 或 37 中任一项所述的方法,其特征在于,所述主体具有 $25\text{kg}/\text{m}^2$ 至 $29.9\text{kg}/\text{m}^2$ 的体重指数。

39. 根据权利要求 1、2、3 或 37 中任一项所述的方法,其特征在于,所述主体具有 $30\text{kg}/\text{m}^2$ 或更大的体重指数。

40. 根据权利要求 1、2、3 或 37 中任一项所述的方法,其特征在于,所述主体具有 $35\text{kg}/\text{m}^2$ 或更大的体重指数。

41. 根据权利要求 1、2、3 或 37 中任一项所述的方法,其特征在于,所述主体具有 $40\text{kg}/\text{m}^2$ 或更大的体重指数。

42. 根据权利要求 1、2、3 或 37 中任一项所述的方法,其特征在于,所述主体具有至少一种肥胖症诱导的或肥胖症相关的共病。

43. 根据权利要求 1、2、3 或 37 中任一项所述的方法,其特征在于,所述主体具有至少两种肥胖症诱导的或肥胖症相关的共病。

44. 根据权利要求 42 所述的方法,其中所述共病选自由下列各项组成的组中:糖尿病、非胰岛素依赖型糖尿病 II 型、受损的葡萄糖耐量、空腹血糖受损、升高的血浆胰岛素浓度、胰岛素抗性综合征、高血脂、血脂异常、高血压、高尿酸血症、痛风、冠状动脉疾病、心脏病心肌梗塞、心绞痛、睡眠呼吸暂停、阻塞性睡眠呼吸暂停、匹克威克综合征、脂肪肝;脑梗塞、中风、脑血栓、呼吸系统并发症、胆石症、胆囊疾病、肾病、胃食管反流、压力性尿失禁、动脉硬化、心脏病、异常心脏节律、心律失常、短暂性脑缺血发作、骨科疾病、骨关节炎、关节炎畸形、腰痛、月经病、内分泌病、荷尔蒙失调和不育。

45. 根据权利要求 42 所述的方法,所述化合物的施用治疗或改善所述肥胖症,并治疗或改善所述共病。

46. 根据权利要求 1、2、3 或 37 中任一项所述的方法,进一步包括在所述主体中治疗、减少或改善一种或多种心血管代谢危险因素。

47. 根据权利要求 46 所述的方法,其特征在于,所述心血管代谢危险因素选自由血浆甘油三酯水平、LDL 胆固醇水平、C-反应蛋白水平、收缩压和舒张压组成的组中。

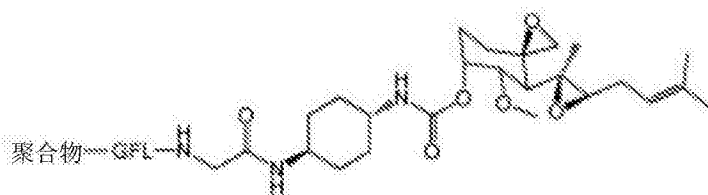
48. 根据权利要求 1、2、3 或 37 中任一项所述的方法,进一步包括施用第二活性试剂。

49. 根据权利要求 48 所述的方法,其特征在于,导致体重减轻包括在所述主体中减少体重,其中所述体重被减少约 1% 至约 50%。

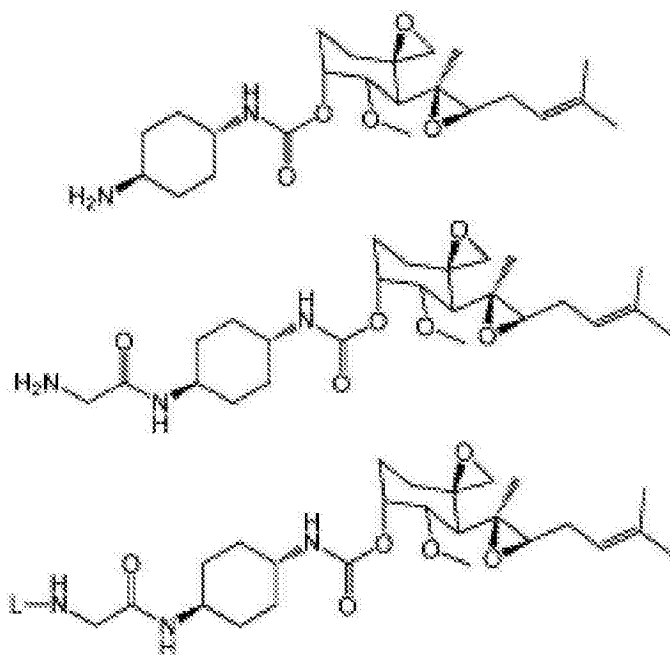
50. 根据权利要求 48 所述的方法,其特征在于,体重被减少至少约 5%。
51. 根据权利要求 1、2、3 或 37 中任一项所述的方法,其特征在于,导致体重减轻包括在所述主体中减少体脂肪。
52. 根据权利要求 51 所述的方法,其特征在于,体脂肪被减少至少约 10%。
53. 根据权利要求 51 所述的方法,进一步包括在所述主体中减少体脂肪,同时基本保持肌肉质量。
54. 根据权利要求 53 所述的方法,其特征在于,肌肉质量被减少少于约 10%。
55. 根据权利要求 1、2、3 或 37 中任一项所述的方法,其特征在于,导致体重减轻包括在所述主体中减少脂肪细胞。
56. 根据权利要求 1、2、3 或 37 中任一项所述的方法,其特征在于,导致体重减轻包括在所述主体中减少食物摄入量。
57. 根据权利要求 56 所述的方法,其特征在于,食物摄入量被减少约 5%至约 50%。
58. 根据权利要求 1、2、3 或 37 中任一项所述的方法,其特征在于,导致体重减轻包括在所述主体中减少饥饿感。
59. 根据权利要求 1、2、3 或 37 中任一项所述的方法,其特征在于,所述主体不患有癌症或过度增殖疾病。
60. 根据权利要求 1、2、3 或 37 中任一项所述的方法,其特征在于,所述治疗有效量是每天约 0.0001mg/kg 至约 5mg/kg 体重。
61. 根据权利要求 1、2、3 或 37 中任一项所述的方法,其特征在于,所述治疗有效量是每天约 0.001mg/kg 至约 0.005mg/kg 体重。
62. 根据权利要求 1、2、3 或 37 中任一项所述的方法,其特征在于,所述治疗有效量是足以使所述主体的体重减少约 0.5kg/ 周至约 1kg/ 周的量。
63. 根据权利要求 1、2、3 或 37 中任一项所述的方法,其特征在于,所述治疗有效量是足以使所述主体的体重每周减少约 5%至约 1%的量。
64. 根据权利要求 1、2、3 或 37 中任一项所述的方法,其特征在于,每周施用所述化合物约 1 次至约 5 次。
65. 根据权利要求 1、2、3 或 37 中任一项所述的方法,其特征在于,所述化合物以 q4d 给药方案来施用。
66. 根据权利要求 1、2、3 或 37 中任一项所述的方法,其特征在于,所述化合物以 q7d 给药方案来施用。
67. 根据权利要求 1、2、3 或 37 中任一项所述的方法,其特征在于,所述主体被治疗至少约 6 个月。
68. 根据权利要求 1、2、3 或 37 中任一项所述的方法,其特征在于,所述主体被治疗至少约 2 年。
69. 根据权利要求 1、2、3 或 37 中任一项所述的方法,其特征在于,所述化合物通过肠道外给药。
70. 根据权利要求 1、2、3 或 37 中任一项所述的方法,其特征在于,所述化合物通过皮下给药。
71. 根据权利要求 1、2、3 或 37 中任一项所述的方法,其特征在于,以包含所述化合物和

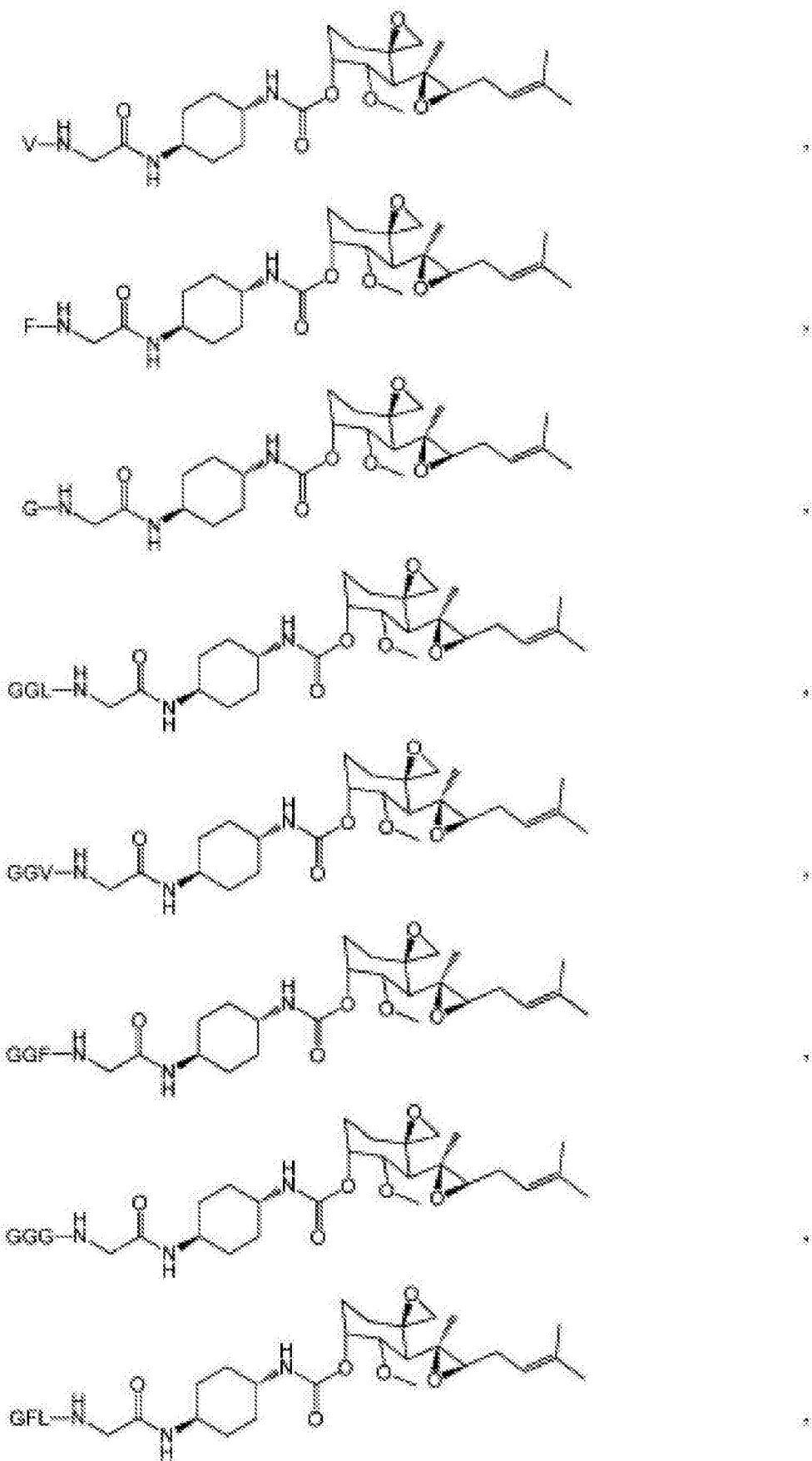
药学上可接受的载体的药物组合物来提供所述化合物。

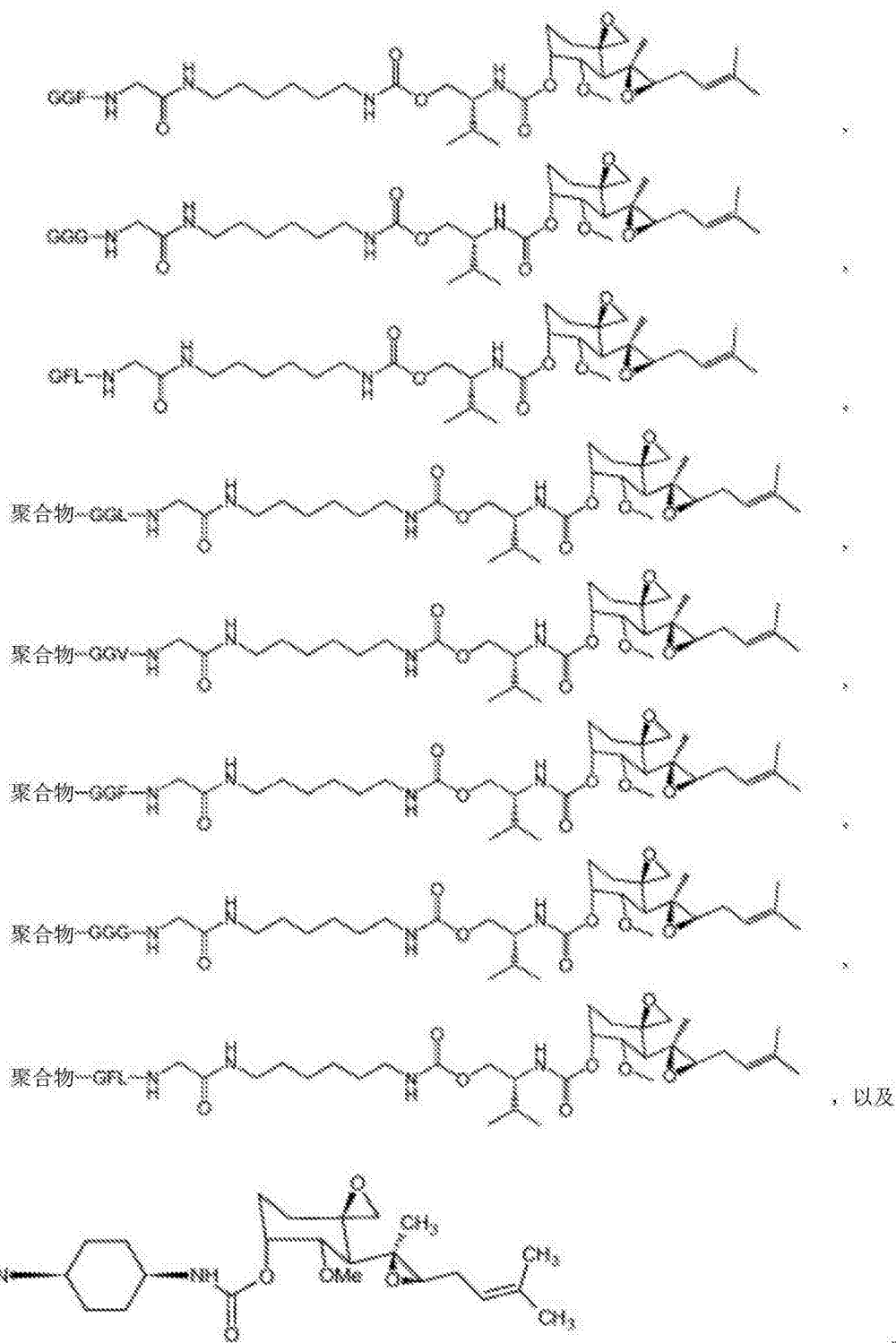
72. 一种在需要其的主体中改善或恢复胰岛素敏感性的方法, 包括向所述主体施用治疗有效量的如下结构式的至少一种化合物或其药学上可接受的盐、前药、代谢物、类似物或衍生物, 以改善或恢复胰岛素敏感性,



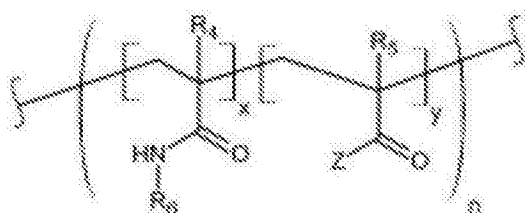
73. 一种在需要其的主体中改善或恢复胰岛素敏感性的方法, 包括向所述主体施用治疗有效量的选自由下列各项组成的组中的至少一种化合物或其药学上可接受的盐、前药、代谢物、类似物或衍生物, 以改善或恢复胰岛素敏感性,







74. 一种在需要其的主体中改善或恢复胰岛素敏感性的方法,包括向所述主体施用至少一种治疗有效量的如下结构式的化合物或其药学上可接受的盐、前药、代谢物、类似物或衍生物,以改善或恢复胰岛素敏感性,



其中,每种情况下独立地,

R_4 是 H 或 C_1-C_6 烷基;

R_5 是 H 或 C_1-C_6 烷基;

R_6 是 C_2-C_6 羟烷基;

Z 是 $-NH-AA_1-AA_2-AA_3-AA_4-AA_5-AA_6-C(O)-L$ 或 $-NH-AA_1-AA_2-AA_3-AA_4-AA_5-AA_6-C(O)-Q-X-Y-C(O)-W$;

AA_1 是甘氨酸、丙氨酸或 $H_2N(CH_2)_mCO_2H$, 其中 m 是 2、3、4 或 5;

AA_2 是键,或丙氨酸、半胱氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、苯丙氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、赖氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸、天冬酰胺、脯氨酸、谷氨酰胺、精氨酸、丝氨酸、苏氨酸、缬氨酸、色氨酸或酪氨酸;

AA_3 是键,或丙氨酸、半胱氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、苯丙氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、赖氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸、天冬酰胺、脯氨酸、谷氨酰胺、精氨酸、丝氨酸、苏氨酸、缬氨酸、色氨酸或酪氨酸;

AA_4 是键,或丙氨酸、半胱氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、苯丙氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、赖氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸、天冬酰胺、脯氨酸、谷氨酰胺、精氨酸、丝氨酸、苏氨酸、缬氨酸、色氨酸或酪氨酸;

AA_5 是键,或甘氨酸、缬氨酸、酪氨酸、色氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸、亮氨酸、异亮氨酸或天冬酰胺;

AA_6 是键,或丙氨酸、天冬酰胺、瓜氨酸、谷氨酰胺、甘氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、丝氨酸、苏氨酸、色氨酸、酪氨酸、缬氨酸,或 $H_2N(CH_2)_mCO_2H$, 其中 m 是 2、3、4 或 5;

L 是 $-OH$ 、 $-O-$ 琥珀酰亚胺、 $-O-$ 磺酸基琥珀酰亚胺、烷氧基、芳氧基、酸氧基、芳酰氧基、烷氧基羰氧基、芳氧基羰氧基、 $-NH_2$ 、 $-NH(C_2-C_6$ 羟烷基)、卤化物或全氟烷氧基;

Q 是 NR、O 或 S;

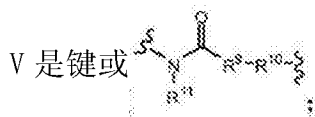
X 是 $M-(C(R)_2)_p-M-J-M-(C(R)_2)_p-M-V$;

M 是键,或 C(O);

J 是键,或 $((CH_2)_qQ)_r$ 、 C_5-C_8 环烷基、芳基、杂芳基、NR、O 或 S;

Y 是 NR、O 或 S;

R 是 H 或烷基;



R^9 是烷基、芳基、芳烷基或键;或者 R^9 与 Y 一起形成杂环;

R^{10} 是氨基或键;

R^{11} 是 H 或烷基;

W 是 MetAP2 抑制剂部分或烷基;

x 在 1 至约 450 的范围内;

y 在 1 至约 30 的范围内;

n 在 1 至约 50 的范围内;

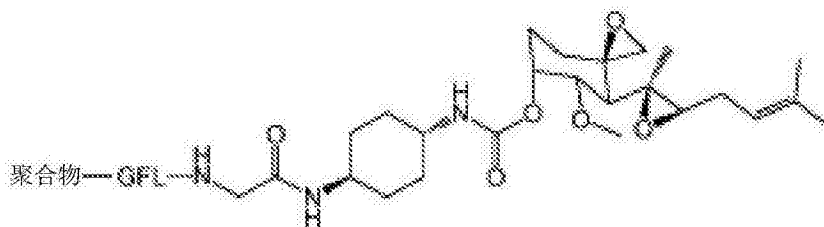
p 是 0 至 20;

q 是 2 或 3 ;

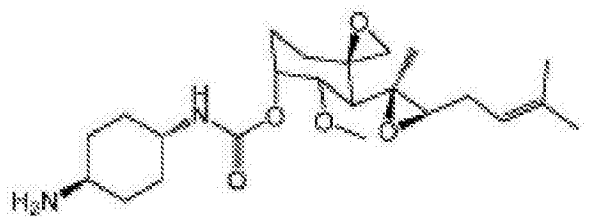
r 是 1、2、3、4、5 或 6 ;并且

所述化合物的分子量小于约 60kDa。

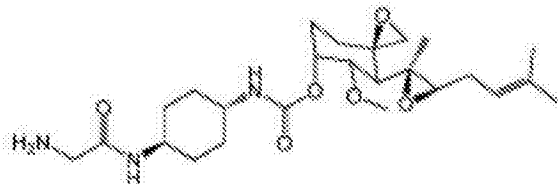
75. 一种在需要其的主体中降低胰岛素水平的方法,包括向所述主体施用治疗有效量的如下结构式的至少一种化合物或其药学上可接受的盐、前药、代谢物、类似物或衍生物,以降低胰岛素水平,



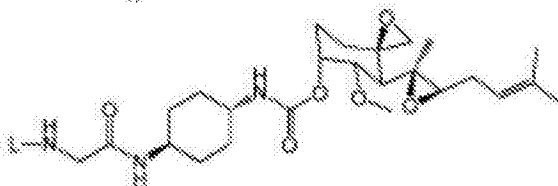
76. 一种在需要其的主体中降低胰岛素水平的方法,包括向所述主体施用治疗有效量的选自由下列各项组成的组中的至少一种化合物或其药学上可接受的盐、前药、代谢物、类似物或衍生物,以降低胰岛素水平,



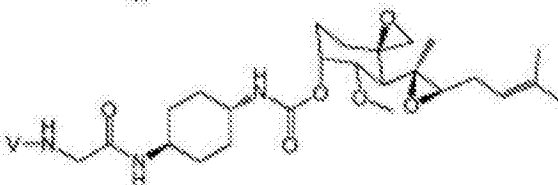
x



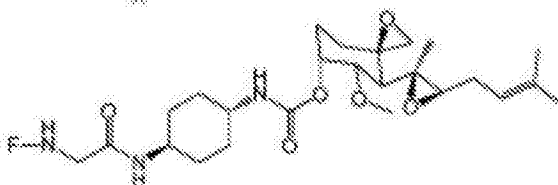
x



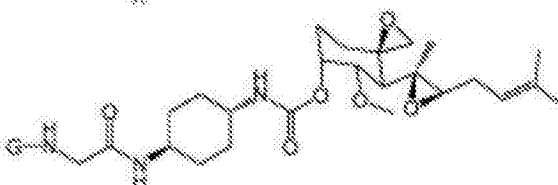
x



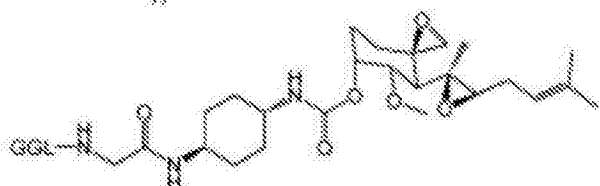
x



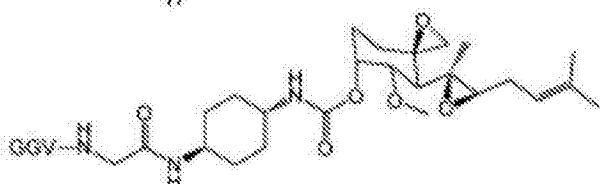
x



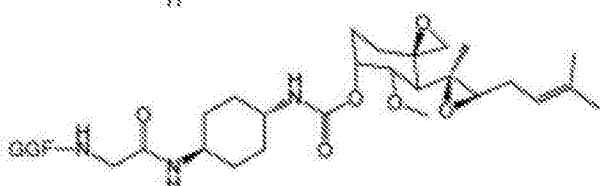
x



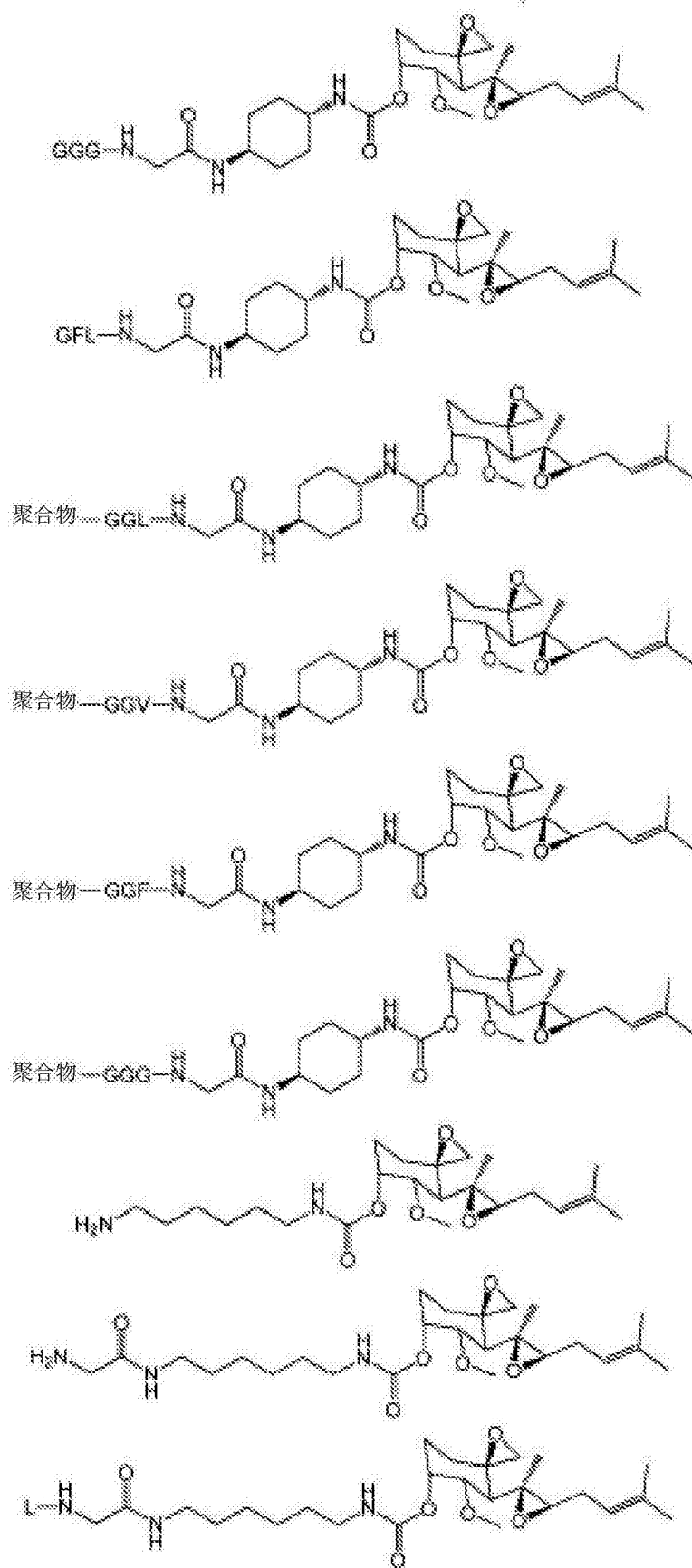
x

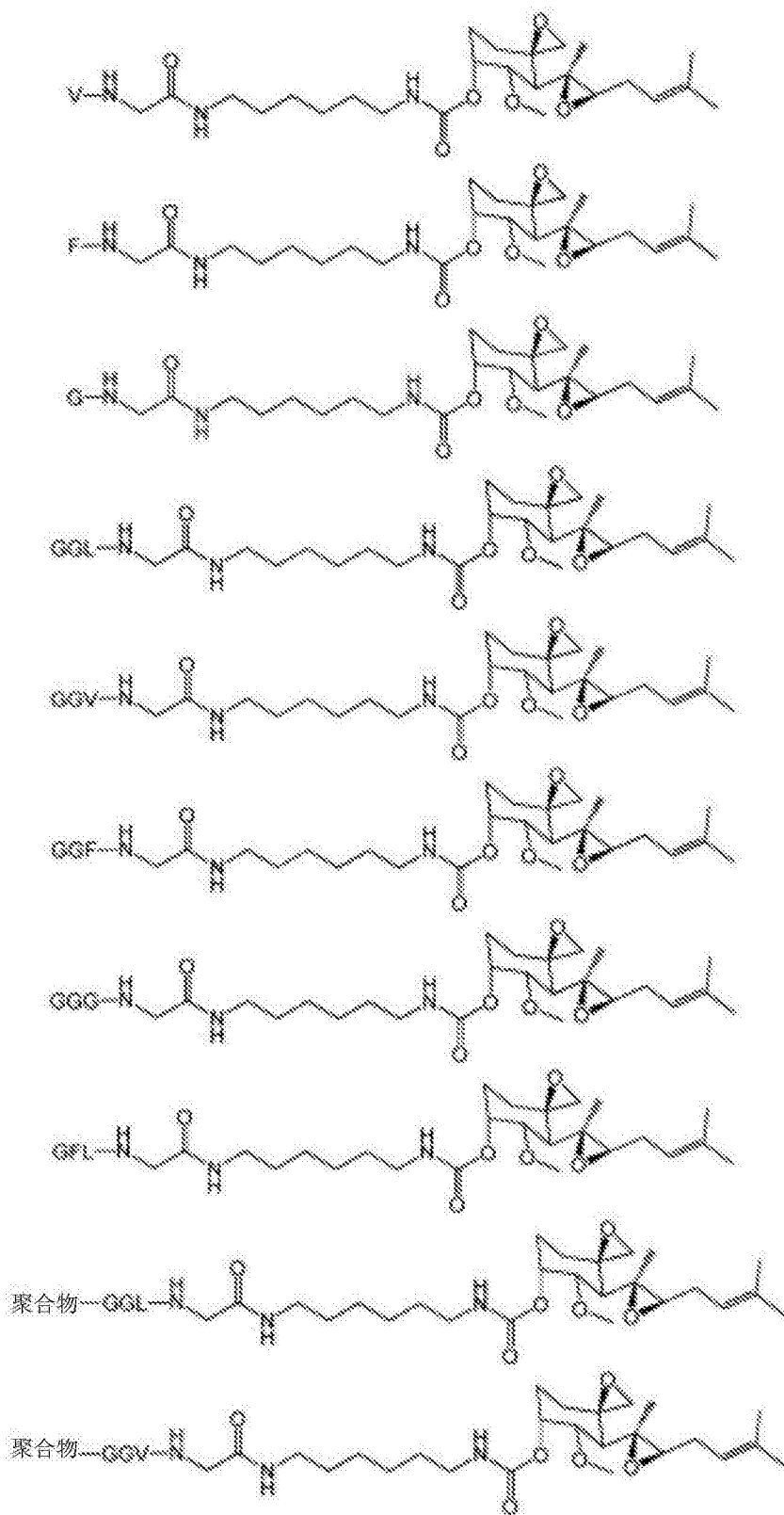


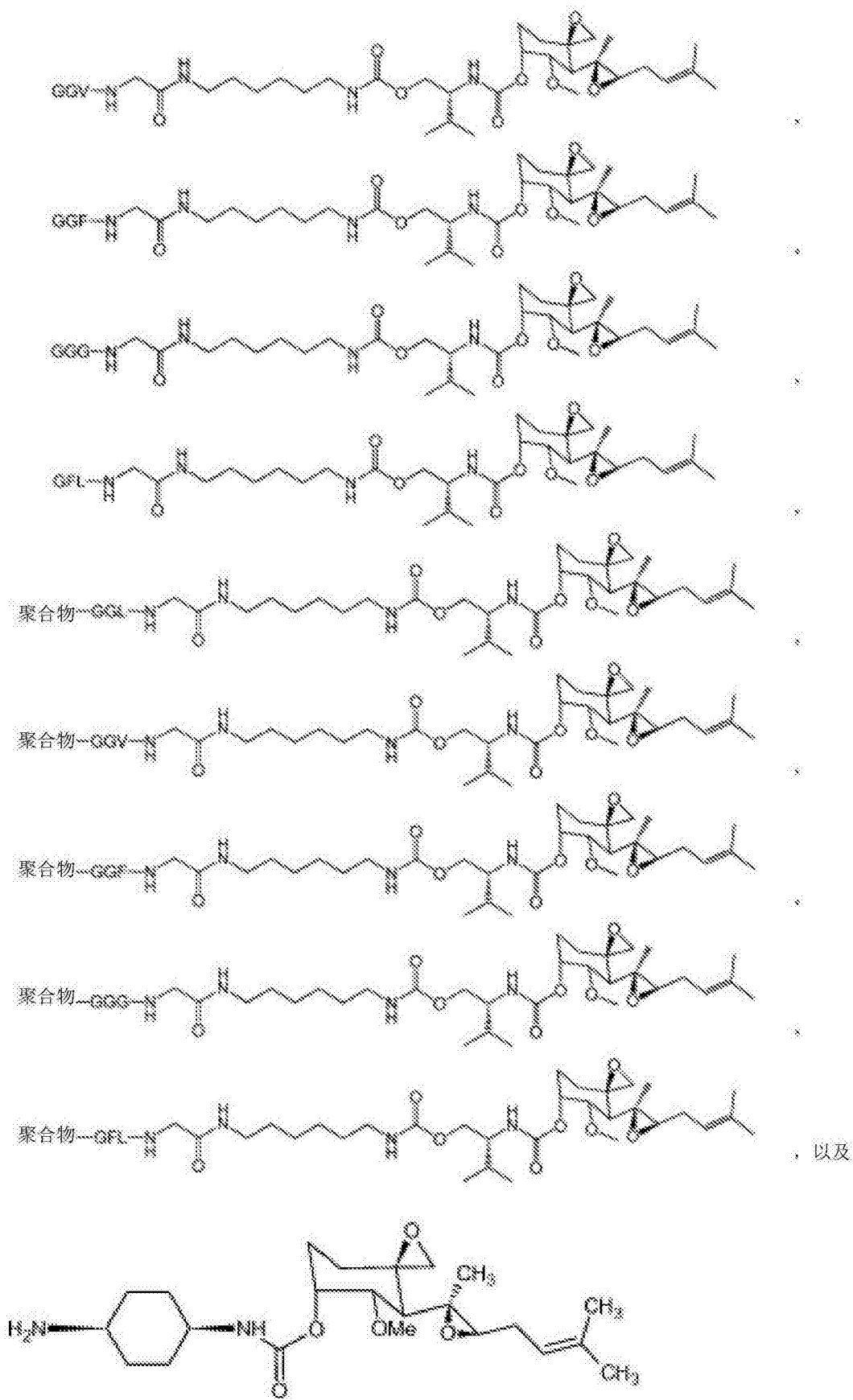
x



x

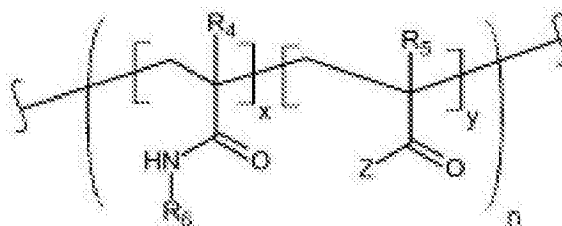






77. 一种在需要其的主体中降低胰岛素水平的方法, 包括向所述主体施用治疗有效量的如下结构式的至少一种化合物或其药学上可接受的盐、前药、代谢物、类似物或衍生物,

以降低胰岛素水平,



其中,每种情况下独立地,

R_4 是 H 或 C_1-C_6 烷基;

R_5 是 H 或 C_1-C_6 烷基;

R_6 是 C_2-C_6 羟烷基;

Z 是 $-NH-AA_1-AA_2-AA_3-AA_4-AA_5-AA_6-C(O)-L$ 或 $-NH-AA_1-AA_2-AA_3-AA_4-AA_5-AA_6-C(O)-Q-X-Y-C(O)-W$;

AA_1 是甘氨酸、丙氨酸或 $H_2N(CH_2)_mCO_2H$, 其中 m 是 2、3、4 或 5;

AA_2 是键, 或丙氨酸、半胱氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、苯丙氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、赖氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸、天冬酰胺、脯氨酸、谷氨酰胺、精氨酸、丝氨酸、苏氨酸、缬氨酸、色氨酸或酪氨酸;

AA_3 是键, 或丙氨酸、半胱氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、苯丙氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、赖氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸、天冬酰胺、脯氨酸、谷氨酰胺、精氨酸、丝氨酸、苏氨酸、缬氨酸、色氨酸或酪氨酸;

AA_4 是键, 或丙氨酸、半胱氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、苯丙氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、赖氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸、天冬酰胺、脯氨酸、谷氨酰胺、精氨酸、丝氨酸、苏氨酸、缬氨酸、色氨酸或酪氨酸;

AA_5 是键, 或甘氨酸、缬氨酸、酪氨酸、色氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸、亮氨酸、异亮氨酸或天冬酰胺;

AA_6 是键, 或丙氨酸、天冬酰胺、瓜氨酸、谷氨酰胺、甘氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、丝氨酸、苏氨酸、色氨酸、酪氨酸、缬氨酸, 或 $H_2N(CH_2)_mCO_2H$, 其中 m 是 2、3、4 或 5;

L 是 $-OH$ 、 $-O-$ 琥珀酰亚胺、 $-O-$ 磺基琥珀酰亚胺、烷氧基、芳氧基、酸氧基、芳酰氧基、烷氧基羰氧基、芳氧基羰氧基、 $-NH_2$ 、 $-NH(C_2-C_6$ 羟烷基)、卤化物或全氟烷氧基;

Q 是 NR、O 或 S;

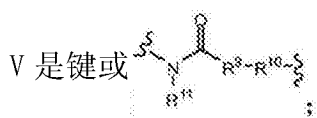
X 是 $M-(C(R)_2)_p-M-J-M-(C(R)_2)_p-M-V$;

M 是键, 或 $C(O)$;

J 是键, 或 $((CH_2)_qQ)_r$ 、 C_5-C_8 环烷基、芳基、杂芳基、NR、O 或 S;

Y 是 NR、O 或 S;

R 是 H 或烷基;

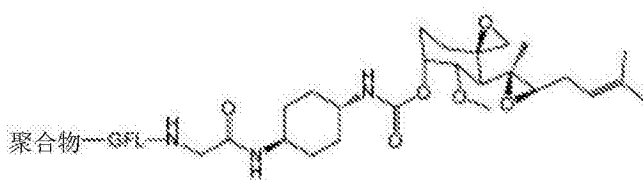


R^9 是烷基、芳基、芳烷基或键; 或者 R^9 与 Y 一起形成杂环;

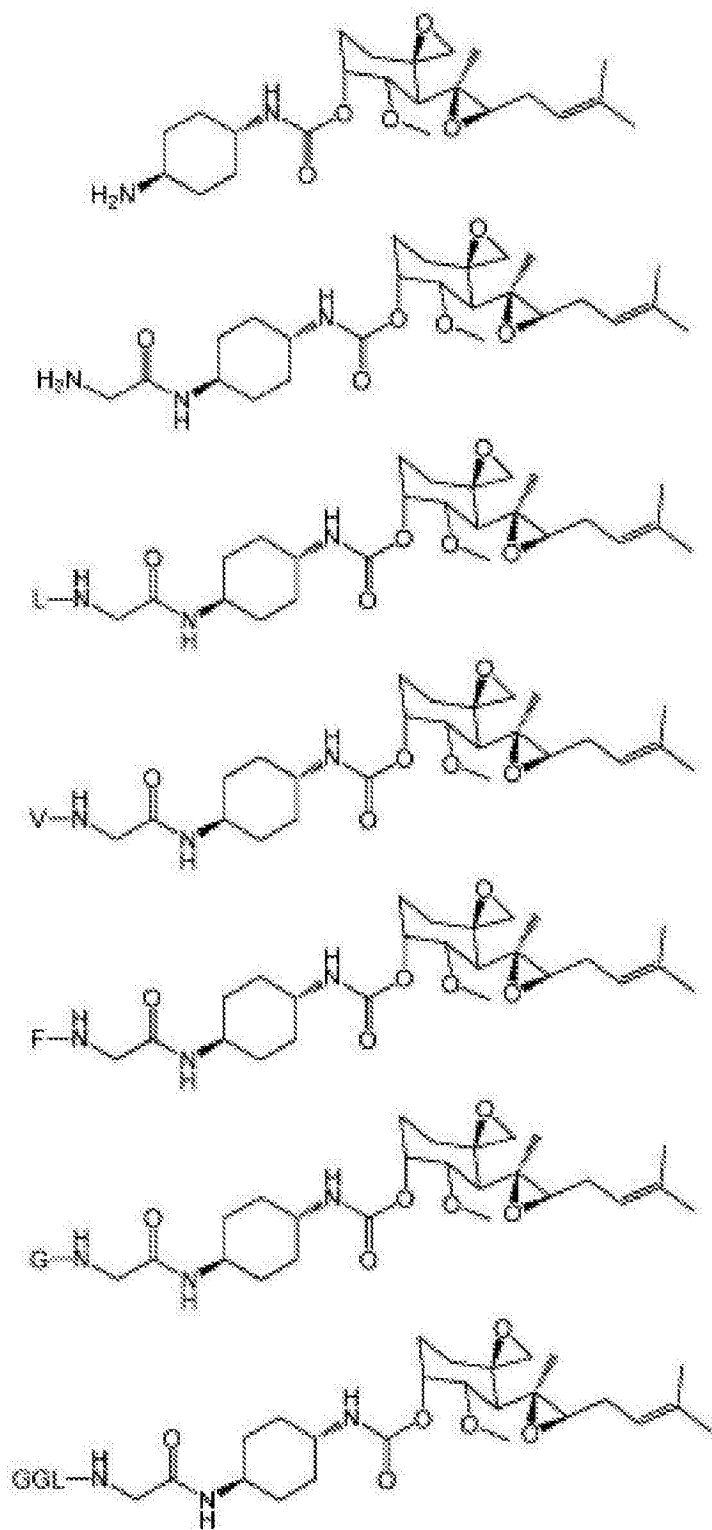
R^{10} 是氨基或键;

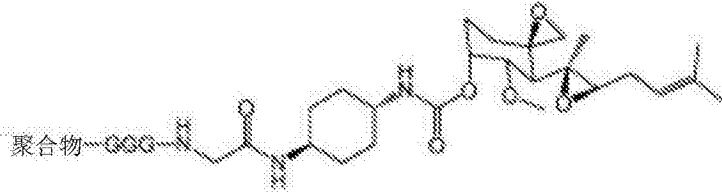
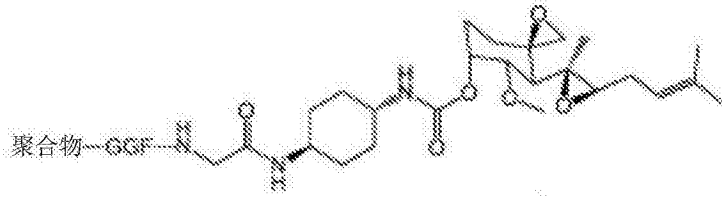
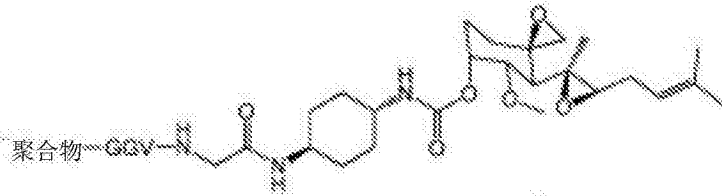
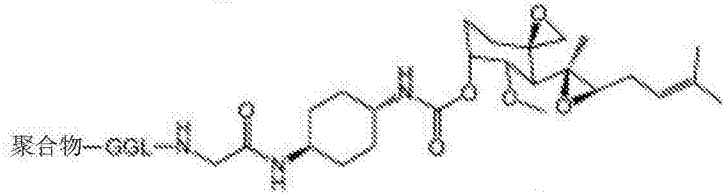
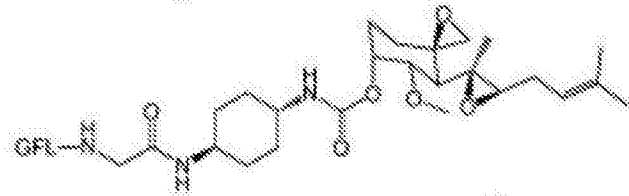
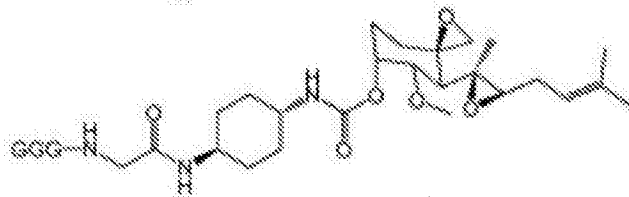
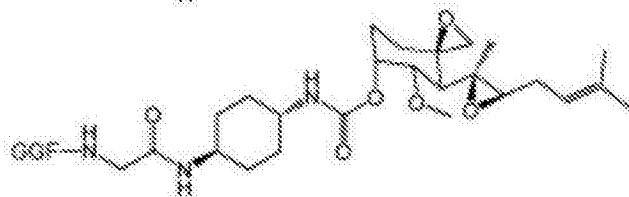
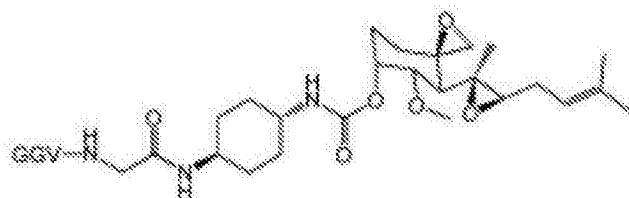
R^{11} 是 H 或烷基；
 W 是 MetAP2 抑制剂部分或烷基；
 x 在 1 至约 450 的范围内；
 y 在 1 至约 30 的范围内；
 n 在 1 至约 50 的范围内；
 p 是 0 至 20；
 q 是 2 或 3；
 r 是 1、2、3、4、5 或 6；以及
 所述化合物的分子量小于约 60kDa。

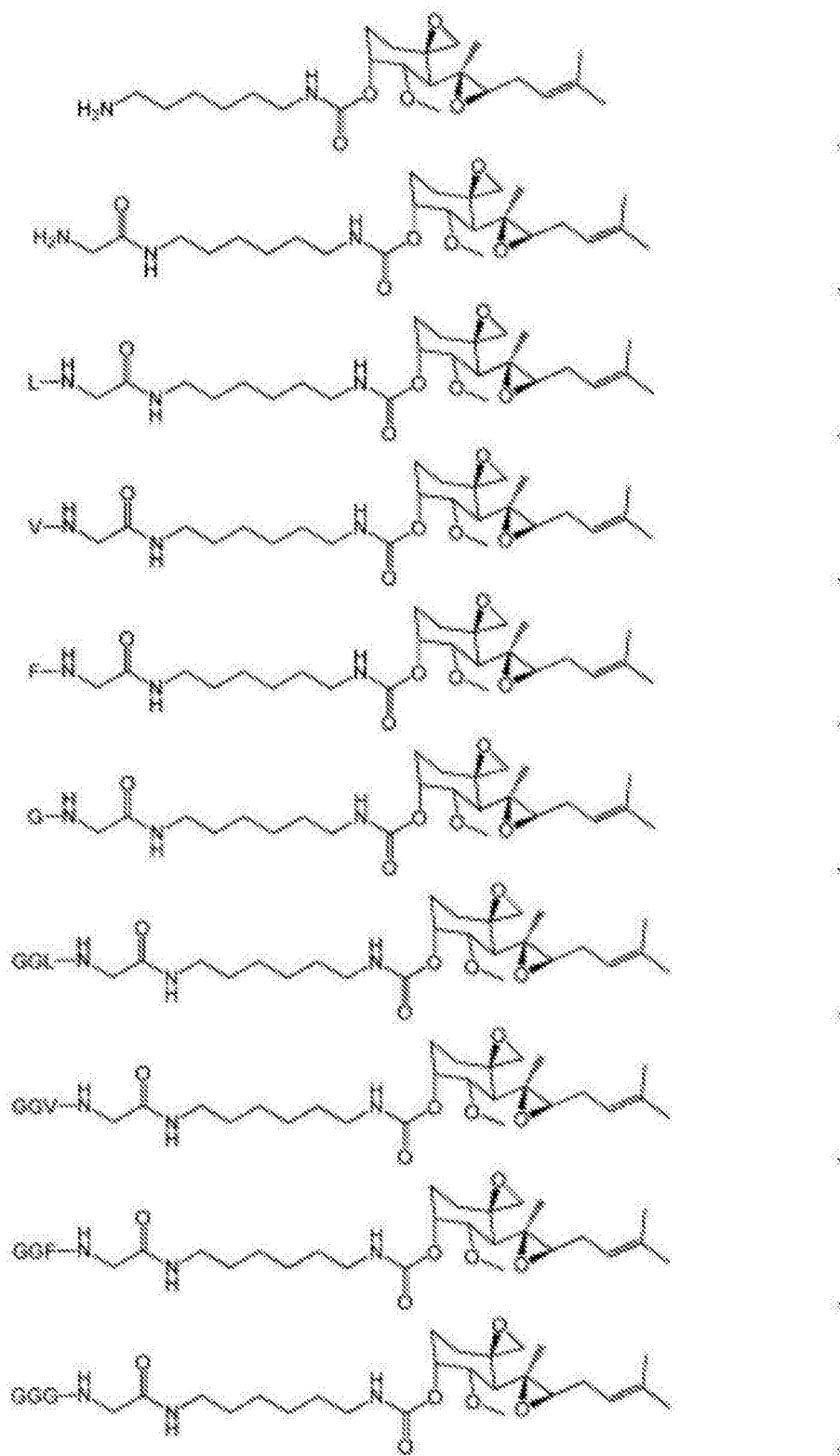
78. 一种在需要其的主体中改善或恢复瘦素敏感性的方法，包括向所述主体施用治疗有效量的如下结构式的至少一种化合物或其药学上可接受的盐、前药、代谢物、类似物或衍生物，以改善或恢复瘦素敏感性，

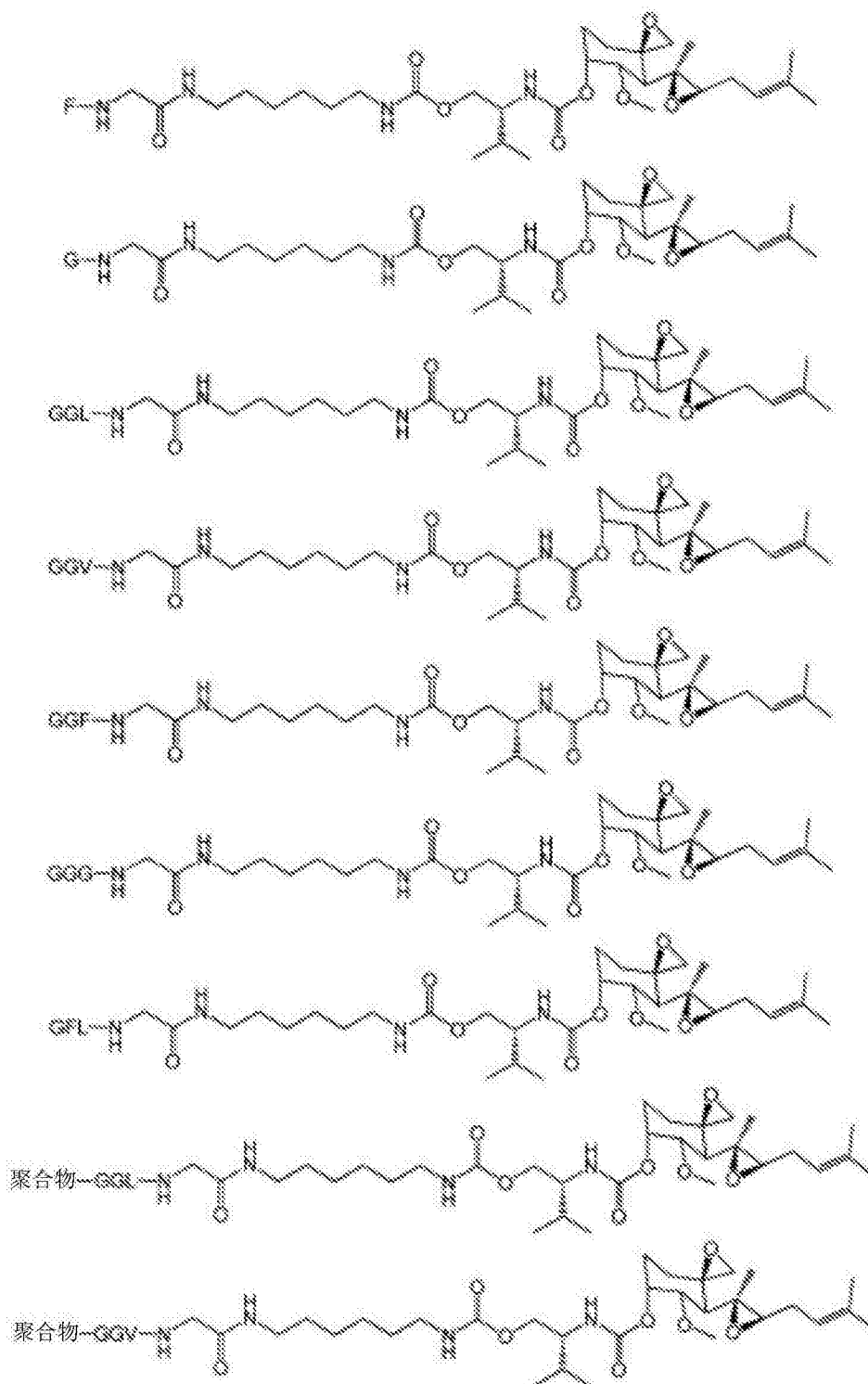


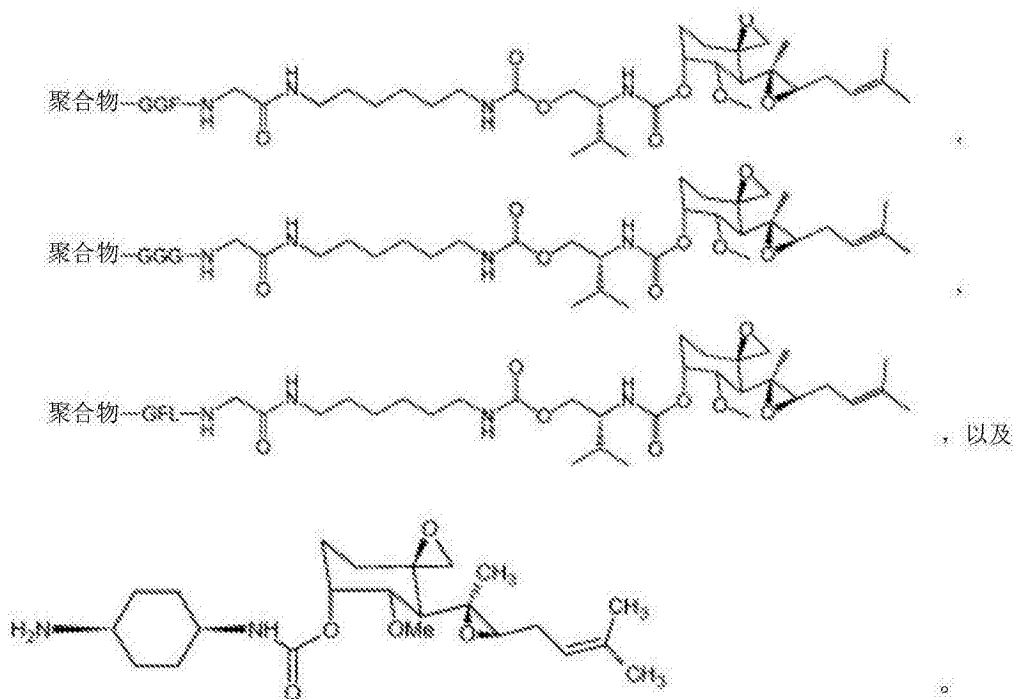
79. 一种在需要其的主体中改善或恢复瘦素敏感性的方法，包括向所述主体施用治疗有效量的选自由下列各项组成的组中的至少一种化合物或其药学上可接受的盐、前药、代谢物、类似物或衍生物，以改善或恢复瘦素敏感性，



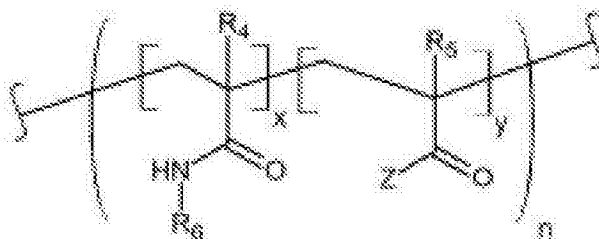








80. 一种在需要其的主体中改善或恢复瘦素敏感性的方法,包括向所述主体施用治疗有效量的如下结构式的至少一种化合物或其药学上可接受的盐、前药、代谢物、类似物或衍生物,以改善或恢复瘦素敏感性,



其中, 每种情況下獨立地,

R₄是H或C₁-C₆烷基；

R₅是H或C₁-C₆烷基；

R₆是C₂-C₆羟烷基；

Z 是 $-\text{NH-AA}_1-\text{AA}_2-\text{AA}_3-\text{AA}_4-\text{AA}_5-\text{AA}_6-\text{C(O)}-\text{L}$ 或 $-\text{NH-AA}_1-\text{AA}_2-\text{AA}_3-\text{AA}_4-\text{AA}_5-\text{AA}_6-\text{C(O)}-\text{Q-X-Y}$
 $-\text{C(O)}-\text{W}$;

AA₁是甘氨酸、丙氨酸或H₂N(CH₂)_mCO₂H,其中m是2、3、4或5;

AA₂是键,或丙氨酸、半胱氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、苯丙氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、赖氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸、天冬酰胺、脯氨酸、谷氨酰胺、精氨酸、丝氨酸、苏氨酸、缬氨酸、色氨酸或酪氨酸;

AA₃是键,或丙氨酸、半胱氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、苯丙氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、赖氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸、天冬酰胺、脯氨酸、谷氨酰胺、精氨酸、丝氨酸、苏氨酸、缬氨酸、色氨酸或酪氨酸;

AA₄是键,或丙氨酸、半胱氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、苯丙氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、赖氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸、天冬酰胺、脯氨酸、谷氨酰胺、精氨酸、丝氨酸、苏氨酸、缬氨酸、色氨酸或酪氨酸;

AA₅是键,或甘氨酸、缬氨酸、酪氨酸、色氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸、亮氨酸、异亮氨酸或天冬酰胺;

AA₆是键,或丙氨酸、天冬酰胺、瓜氨酸、谷氨酰胺、甘氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、丝氨酸、苏氨酸、色氨酸、酪氨酸、缬氨酸,或 $H_2N(CH_2)_mCO_2H$, 其中 m 是 2、3、4 或 5;

L 是 -OH、-O- 琥珀酰亚胺、-O- 磺基琥珀酰亚胺、烷氧基、芳氧基、酸氧基、芳酰氧基、烷氧基羰氧基、芳氧基羰氧基、-NH₂、-NH(C₂-C₆羟烷基)、卤化物或全氟烷氧基;

Q 是 NR、O 或 S;

X 是 $M-(C(R)_2)_p-M-J-M-(C(R)_2)_p-M-V$;

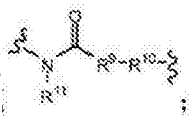
M 是键,或 C(O);

J 是键,或 $((CH_2)_qQ)_r$ 、C₅-C₈环烷基、芳基、杂芳基、NR、O 或 S;

Y 是 NR、O 或 S;

R 是 H 或烷基;

V 是键或



R⁹是烷基、芳基、芳烷基或键;或者 R⁹与 Y 一起形成杂环;

R¹⁰是氨基或键;

R¹¹是 H 或烷基;

W 是 MetAP2 抑制剂部分或烷基;

x 在 1 至约 450 的范围内;

y 在 1 至约 30 的范围内;

n 在 1 至约 50 的范围内;

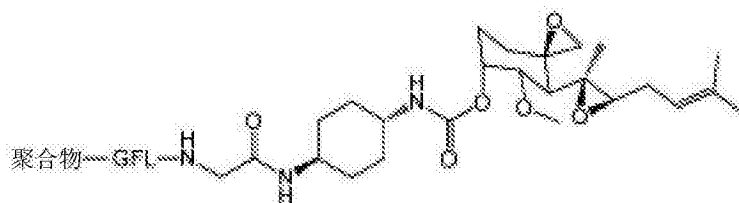
p 是 0 至 20;

q 是 2 或 3;

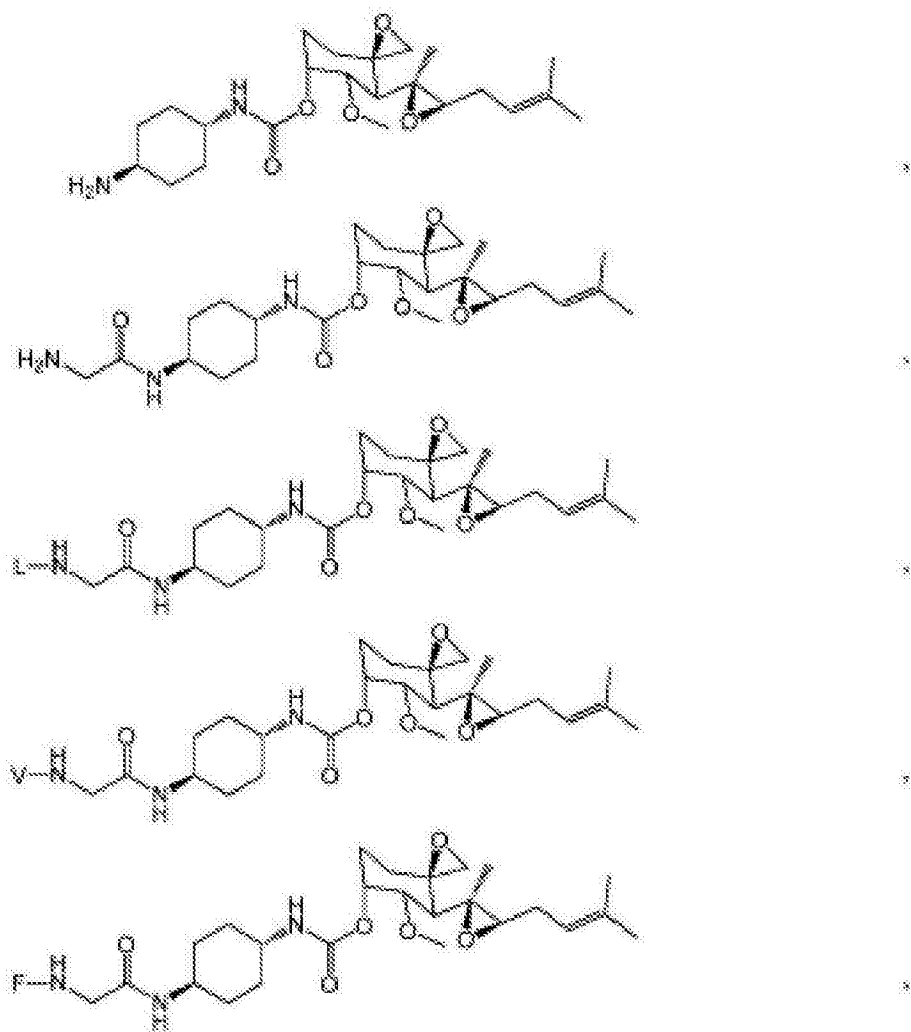
r 是 1、2、3、4、5 或 6;并且

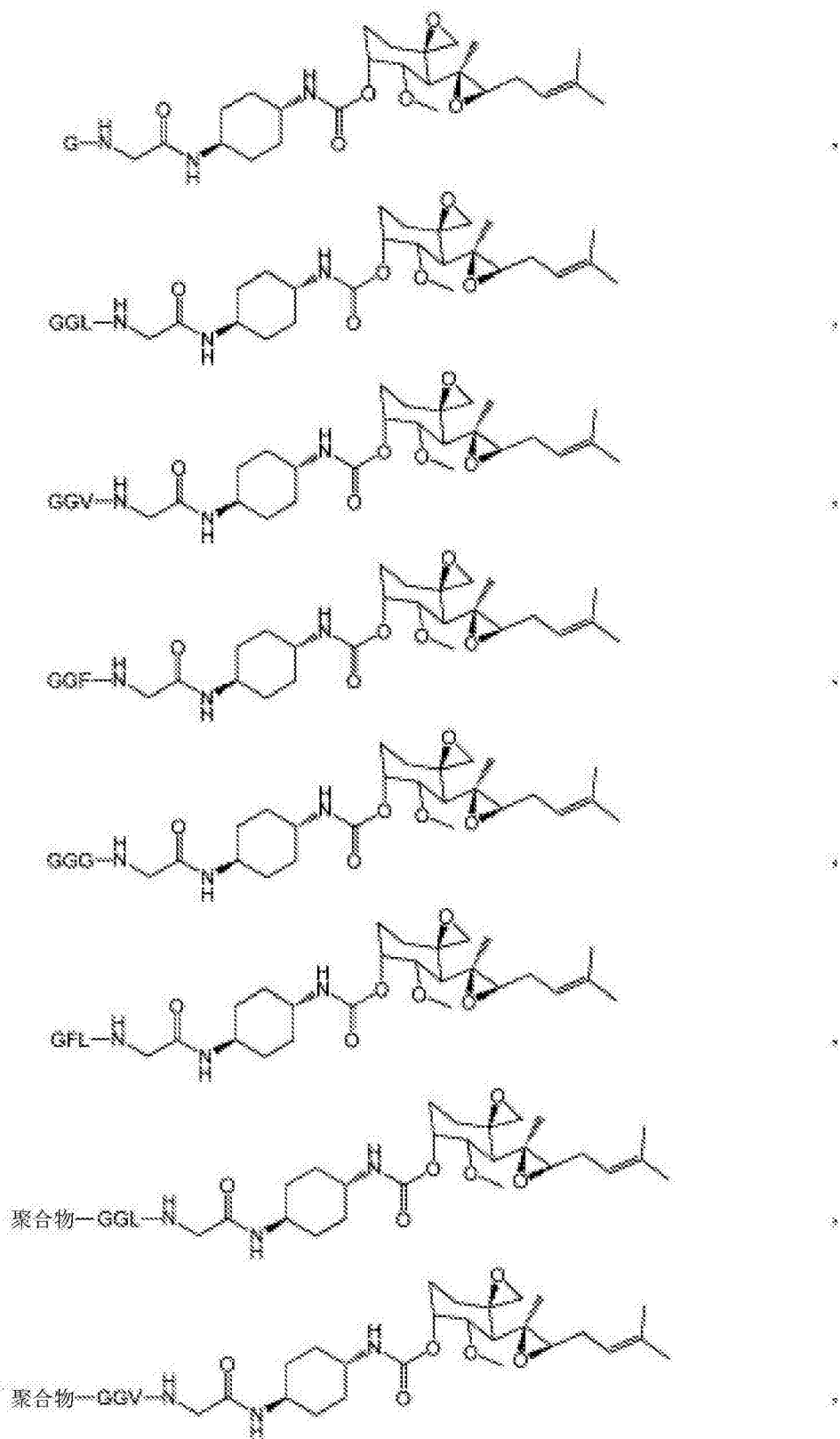
所述化合物的分子量小于约 60kDa。

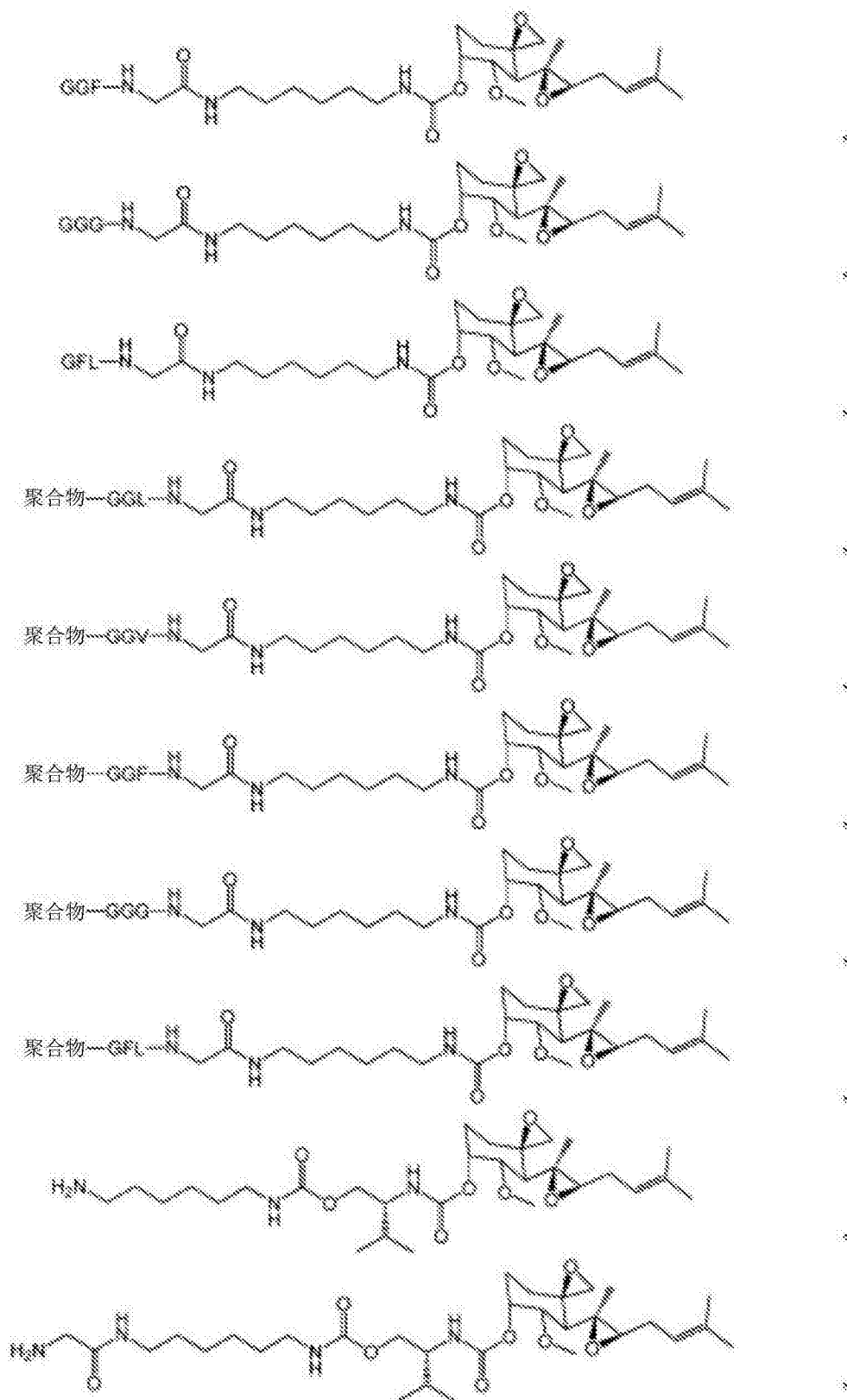
81. 一种在需要其的主体中降低或减少血糖水平的方法,包括向所述主体施用治疗有效量的如下结构式的至少一种化合物或其药学上可接受的盐、前药、代谢物、类似物或衍生物,以降低或减少血糖水平,

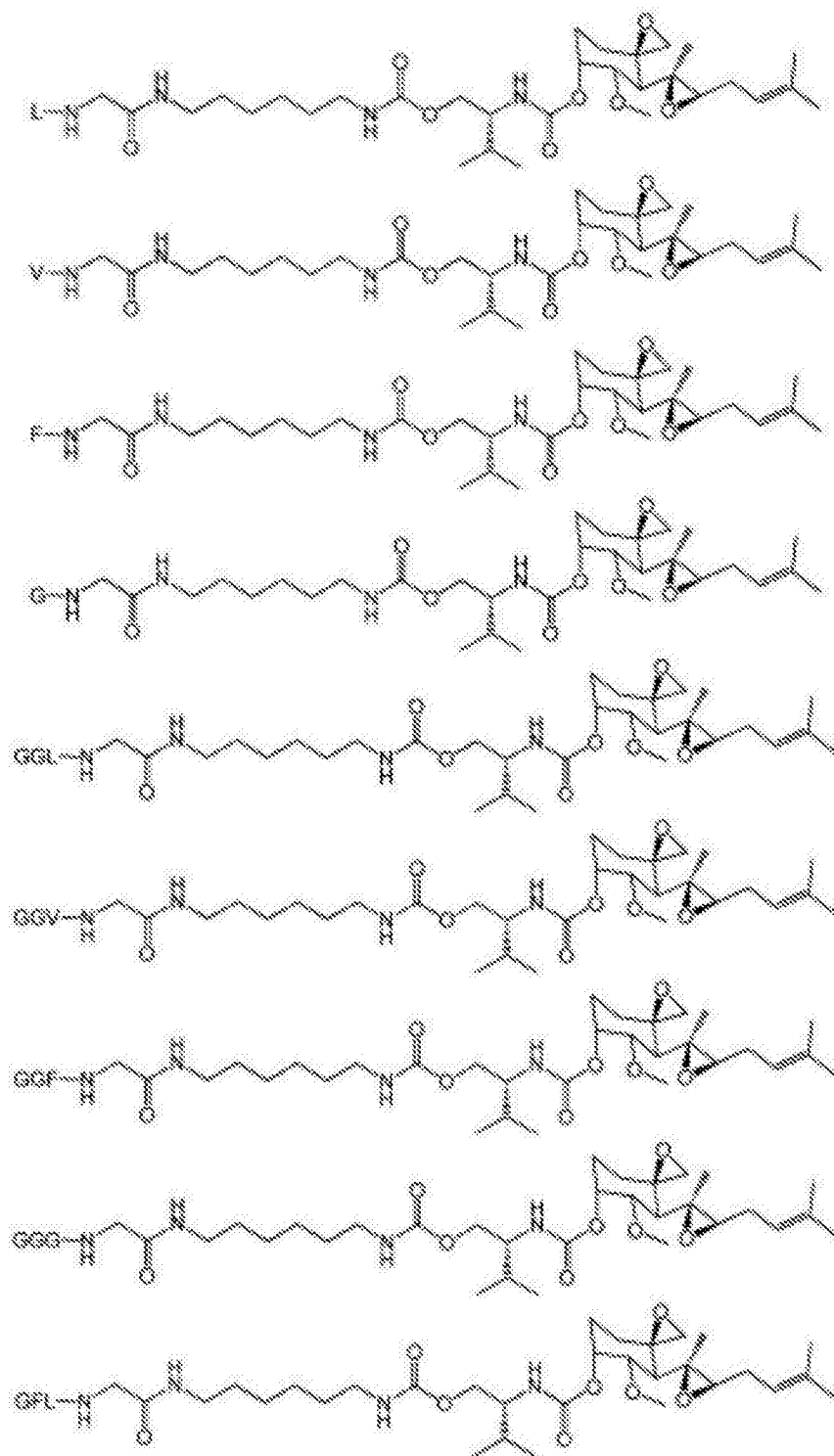


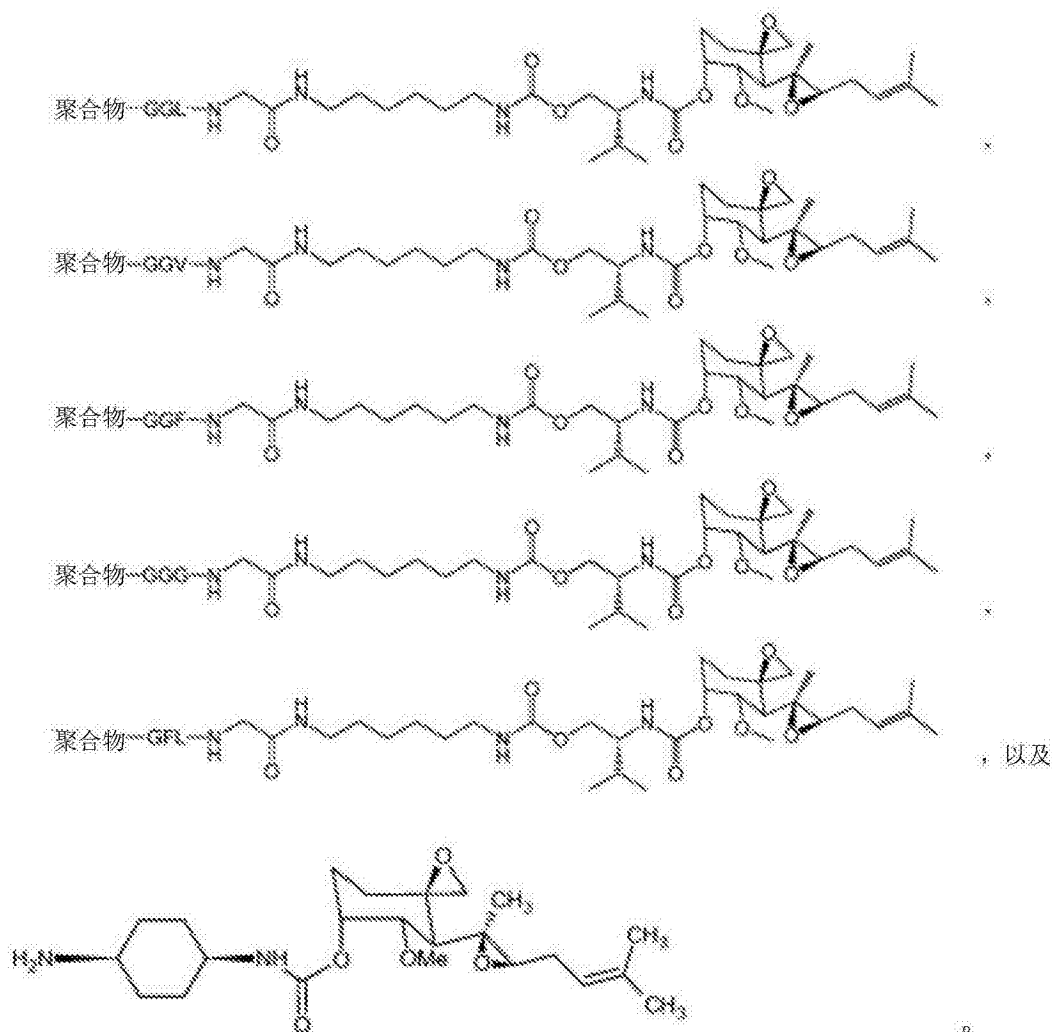
82. 一种在需要其的主体中降低或减少血糖水平的方法,包括向所述主体施用治疗有效量的选自由下列各项组成的组中的至少一种化合物或其药学上可接受的盐、前药、代谢物、类似物或衍生物,以降低或减少血糖水平,



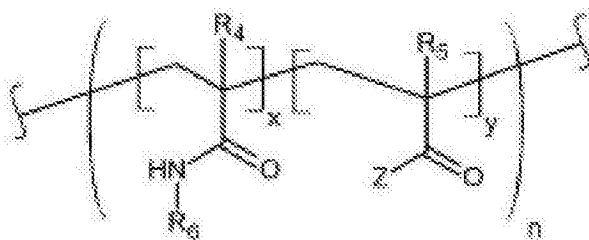








83. 一种在需要其的主体中降低或减少血糖水平的方法,包括向所述主体施用治疗有效量的如下结构式的至少一种化合物或其药学上可接受的盐、前药、代谢物、类似物或衍生物,以降低或减少血糖水平,



其中, 每种情况下独立地,

R₄是H或C₁-C₆烷基；

R₅是H或C₁-C₆烷基；

R₆是C₂-C₆羟烷基；

Z 是 $-\text{NH-AA}_1-\text{AA}_2-\text{AA}_3-\text{AA}_4-\text{AA}_5-\text{AA}_6-\text{C}(\text{O})-\text{L}$ 或 $-\text{NH-AA}_1-\text{AA}_2-\text{AA}_3-\text{AA}_4-\text{AA}_5-\text{AA}_6-\text{C}(\text{O})-\text{Q-X-Y}$
 $-\text{C}(\text{O})-\text{W}$;

AA₁是甘氨酸、丙氨酸或H₂N(CH₂)_mCO₂H,其中m是2、3、4或5;

AA₂是键,或丙氨酸、半胱氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、苯丙氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、赖氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸、天冬酰胺、脯氨酸、谷氨酰胺、精氨酸、丝氨酸、苏氨酸、缬氨

酸、色氨酸或酪氨酸；

AA₃是键，或丙氨酸、半胱氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、苯丙氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、赖氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸、天冬酰胺、脯氨酸、谷氨酰胺、精氨酸、丝氨酸、苏氨酸、缬氨酸、色氨酸或酪氨酸；

AA₄是键，或丙氨酸、半胱氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、苯丙氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、赖氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸、天冬酰胺、脯氨酸、谷氨酰胺、精氨酸、丝氨酸、苏氨酸、缬氨酸、色氨酸或酪氨酸；

AA₅是键，或甘氨酸、缬氨酸、酪氨酸、色氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸、亮氨酸、异亮氨酸或天冬酰胺；

AA₆是键，或丙氨酸、天冬酰胺、瓜氨酸、谷氨酰胺、甘氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、丝氨酸、苏氨酸、色氨酸、酪氨酸、缬氨酸，或 H₂N(CH₂)_mCO₂H，其中 m 是 2、3、4 或 5；

L 是 -OH、-O- 琥珀酰亚胺、-O- 磺酸基琥珀酰亚胺、烷氧基、芳氧基、酸氧基、芳酰氧基、烷氧基羰氧基、芳氧基羰氧基、-NH₂、-NH(C₂-C₆羟烷基)、卤化物或全氟烷氧基；

Q 是 NR、O 或 S；

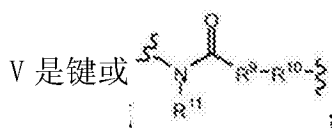
X 是 M-(C(R)₂)_p-M-J-M-(C(R)₂)_p-M-V；

M 是键，或 C(O)；

J 是键，或 ((CH₂)_qQ)_r、C₅-C₈环烷基、芳基、杂芳基、NR、O 或 S；

Y 是 NR、O 或 S；

R 是 H 或烷基；



R⁹是烷基、芳基、芳烷基或键；或者 R⁹与 Y 一起形成杂环；

R¹⁰是氨基或键；

R¹¹是 H 或烷基；

W 是 MetAP2 抑制剂部分或烷基；

x 在 1 至约 450 的范围内；

y 在 1 至约 30 的范围内；

n 在 1 至约 50 的范围内；

p 是 0 至 20；

q 是 2 或 3；

r 是 1、2、3、4、5 或 6；以及

所述化合物的分子量小于约 60kDa。

METAP2 抑制剂和治疗肥胖症的方法

[0001] 相关申请的交联引用

[0002] 本申请要求 2013 年 4 月 10 日提交的美国临时申请 NO. 61/810468 和 2014 年 1 月 10 日提交的美国临时申请 NO. 61/925918 的优先权。这两项申请的全部内容都通过引用并入本文中。

背景技术

[0003] 肥胖症是慢性疾病,是现代社会的主要健康问题。根据疾病控制中心 (CDC),美国正处于肥胖症的流行当中。在美国,大约 65% 的成年人超重,30% 的成年人是肥胖的,超过 5 百万的成年人归类为病态地肥胖。一千万人以上接近该标记,可能处于肥胖症相关的疾病问题的风险中。该问题正在加剧;儿童和青少年中的肥胖症在过去的二十年中增加了两倍。

[0004] 肥胖症的现有疗法包括标准饮食和运动、非常低的卡路里饮食、行为疗法、药物治疗(包括食欲抑制剂产热药物、食物吸收抑制剂)、机械设备(例如下巴栓结、腰绳和气球)以及外科手术。然而,这些现有的疗法不是非常有效果。依附于能量限制饮食是存在问题且通常是不成功的,医药疗法对于长期体重管理来说仅有有限的功效。在很多情况下,毒性和副作用阻碍了潜在的减肥药物候选物的发展。新陈代谢综合症 (Sutherland, et al., Metabolic Syndrome and Related Disorders 2:82-104(2004); Esposito, et al., Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis. 14:228-232(2004)) 与肥胖症相关,且特征在于一组新陈代谢风险因素,包括:1) 腹部肥胖(在腹部中及其周围有过量的脂肪组织);2) 致动脉粥样硬化性血脂异常(高甘油三酯;低 HDL 胆固醇和高 LDL 胆固醇);3) 血压升高;4) 胰岛素抵抗或葡萄糖耐受不良;5) 血栓前状态(例如,在血液中高纤维蛋白原或纤溶酶原激活物抑制剂-1);以及 6) 促炎状态(例如,血液中 CRP 升高)。新陈代谢综合症在发达国家中已经变得越发常见,其与冠心病风险密切相关 (Malik, et al., Circulation 110:1245-1250(2004); Irabarren, et al., J. Am. Coll. Cardiol. 48:1800-1807(2006))。

[0005] 心血管代谢综合症包括与肥胖症相关的新陈代谢紊乱和动脉粥样硬化。心血管代谢综合症还会促进动脉和瓣膜钙化,这可能会导致致命的临床并发症:急性心肌梗塞和大动脉狭窄。此外,糖尿病引起慢性肾病,其也会导致心血管异常钙化和急性心肌梗塞。共同地,心血管代谢综合症的诸多主要因素,通过相互关联的机制发展,通过局部或全身性炎症反应相互促进。进一步地,患者对规定的药物的依循性的缺乏对全球医疗共同体提出了极大的挑战。2009 年,仅仅在美国,可避免的药费费用估计在 3000 亿美元。伴随着大量死亡、乏力的上市前药物研究状态以及买方增加的成本控制,桥接依循性缺口对于制药公司来说是“必须要做的事”。

[0006] 因此,需要用于引起、引发和/或增加体重减轻以及治疗肥胖症和新陈代谢综合症的新化合物和方法。本发明解决了这些需求。

发明内容

[0007] 本发明提供在需要其的主体中引发或导致体重减轻的方法,包括向该主体施用治

疗有效量的本发明的至少一种化合物,以引发或导致体重减轻。在一些实施方式中,该主体超重或肥胖。在一些实施方案中,引发或导致体重减轻是增加体重减轻。

[0008] 本发明还提供在需要其的主体中治疗肥胖症、新陈代谢综合征和 / 或相关副发病变的方法,包括向该主体施用治疗有效量的本发明的至少一种化合物或其药学上可接受的盐、前药、代谢物、类似物或衍生物,以治疗或减轻这些疾病和病症。

[0009] 本发明还提供在需要其的主体中改善胰岛素敏感性和血糖控制,减少胰岛素水平和 / 或改善瘦素敏感性的方法,包括以合理的时间表向该主体施用治疗有效量的本发明的至少一种化合物或其药学上可接受的盐、前药、代谢物、类似物或衍生物,以治疗或减轻这些疾病和病症。

[0010] 除非另有限定,否则在本文中使用的所有的技术和科学术语具有与本发明所属的领域技术的普通技术人员的常规理解相同的意义。在说明书中,单数形式还包括复数,除非上下文明确规定除外。尽管与本文中所描述的那些方法和材料相同或等价的方法和材料可以用于本发明的实践或测试中,合适的方法和材料在下文中描述。本文所提到的所有的出版物、专利申请、专利和其他参考文献通过引用并入本文中。本文中引用的参考文献并不被承认是所要求的发明的现有技术。在有冲突的情况下,将以本说明书(包括定义)为准。此外,材料、方法和例子仅仅是示例性的,不能认为构成限制。

附图说明

[0011] 图 1 是显示施用本发明的化合物后体重随时间改变的图。

[0012] 图 2 是显示施用本发明的化合物后平均每周食物消耗量的图。

[0013] 图 3 是显示施用本发明的化合物后总的脂肪重量和体重之间的关系图。

[0014] 图 4 是显示在鼠科动物研究的使用本发明的化合物的治疗期间,施加葡萄糖负荷之后的血糖水平的图。

[0015] 图 5 是显示在 q4d 给药方案下施用不同剂量的本发明的化合物后体重随时间改变的图。

[0016] 图 6 是显示在 32 天研究末尾时,总胆固醇、甘油三酯、HDL 胆固醇和 LDL 胆固醇作为使用本发明的化合物的剂量水平的函数而变化的图。

[0017] 图 7 是显示在 q4d 给药方案下向大鼠施用不同剂量的本发明的化合物后体重随时间改变的图。

[0018] 图 8 是显示用单剂量的多种测试试剂治疗后的大鼠的体重变化的图。

[0019] 图 9 是显示基于施用两种不同的化合物后本发明的化合物的血浆浓度的图。

[0020] 图 10 是显示施用本发明的多种化合物后体重随时间改变的图。

[0021] 图 11 是显示施用本发明的多种化合物后,高脂肪饮食下的雄性莱文大鼠 (Levin rat) 的体重变化的图。

[0022] 图 12 是显示施用本发明的多种化合物后,DIO 大鼠的烟霉醇暴露与体重减轻的相对的图。

[0023] 图 13 是显示施用本发明的多种化合物后,高脂肪饮食下的雄性莱文 DIO 大鼠的胰岛素水平改变的图。

[0024] 图 14 是显示施用本发明的多种化合物后,在口服葡萄糖负荷 (OGTT) 期间的胰岛

素水平的图。

[0025] 图 15 是显示施用本发明的多种化合物后, DIO 大鼠在口服葡萄糖负荷 (OGTT) 期间的血糖下降的图。

[0026] 图 16 是显示施用本发明的多种化合物后, DIO 大鼠在 OGTT 期间的胰岛素抗性指数结果 (HOMA-ir product) 的图。

[0027] 图 17 是显示施用本发明的多种化合物后每周食物消耗量的图。

[0028] 图 18 是显示施用本发明的多种化合物后, 瘦素水平基于基线的变化的图。

[0029] 图 19 是显示在 Q4D 和 Q8D 给药方案下施用本发明的多种化合物后的 DIO 大鼠的体重改变的图。

[0030] 图 20 是显示在 Q2D 和 Q4D 给药方案下施用 CKD-732 后的体重减轻的图。

[0031] 图 21 是显示施用本发明的多种化合物后, 食物摄入的减少的图。

[0032] 图 22 是显示施用本发明的多种化合物后, 持续高脂肪饮食 25 个星期的雄性 C57B16 小鼠在 ipGTT 过程中的显著减少的胰岛素水平的图。

[0033] 图 23 是显示施用本发明的多种化合物后, 雄性 DIO 小鼠在葡萄糖负荷期间的胰岛素 AUC 的图。

[0034] 图 24 是显示施用本发明的多种化合物后, 高脂肪饮食下的雄性 C57B16 小鼠的血糖水平的图。

[0035] 图 25 是显示施用本发明的多种化合物后, 高脂肪饮食下的雄性 C57B16 小鼠在 ipGTT 期间的胰岛素抗性结果 (HOMA product) 的图。

具体实施方式

[0036] 本发明的化合物

[0037] 本发明提供了药物缀合组合物, 其包括活性部分 (active moiety) 修饰的、缀合部分 (conjugate moiety) 和可剪切连接子, 其中连接子的剪切基本上在目标组织中发生, 以产生具有被修饰的活性部分, 所述被修饰的活性部分与未修饰的活性部分相比, 具有减少的从目标组织的流出。本发明还提供包括被修饰的活性部分的组合物。

[0038] 除了生物需求, 例如活性部分的药代动力学和药效特性, 以及疾病知识之外, 使用的缀合部分还取决于缀合部分和活性部分的生化特性。本领域技术人员基于以上考虑将能够选择合适的缀合部分。缀合部分可以被用于输送小分子活性部分或较大分子的活性部分, 例如蛋白质、肽类或寡核苷酸类。

[0039] 缀合部分改善活性组分向目标的输送。缀合部分被选择来使活性部分的生物可利用度最大化, 优化活性部分输送的起始、持续和速率, 并使目标组织中的活性部分的浓度保持在只要对于有效治疗所需的治疗范围内。缀合部分也可以使活性部分的副作用最小化。因此缀合部分延长活性部分的药理学活性, 使不稳定的活性部分在化学和蛋白水解降解方面稳定化, 使副反应最小化, 增加溶解度, 并使活性部分靶向特定细胞或组织。

[0040] 缀合部分要被考虑的其他特性使缀合部分是最小化地或非免疫性的和非毒性的。缀合部分的分子量必须足够大以避免通过肾脏超滤的快速去除, 并足够低以防止在体内的不期望的积聚。在一些实施方式中, 缀合部分是亲水的并且是生物可降解的。非生物可降解的缀合部分也适合于本发明的组合物和方法。缀合部分必须能够携带所需的量的活

性部分,并保护活性部分在向目标组织运送中免受过早代谢。

[0041] 示例性的缀合物包括聚合物的所有形式,合成聚合物以及天然产物相关的聚合物,包括肽类、聚核酸、抗体和适配体。在优选的实施方式中,缀合物是合成聚合物。本发明的示例性的聚合物已在 Bock 等人的 US 4997878, Kopecek 等人的 US 5037883, Kopecek 等人的 US 5258453, Zhang 等人的 US 6464850, Brocchini 等人的 US 6803438 中描述,这些的全部内容均通过引用而并入本发明中。其他的示例性的聚合物已在 Subr et al., *J Controlled Release*, 18, 123-132(1992) 中描述。在一些实施方式中,聚合物的合成的方法可导致两种或多种聚合物链的偶联,并可能增加聚合物缀合物的平均分子量。进一步意识到的是,如果该偶联发生,则连接子将会是生物可降解的。

[0042] 活性部分可以是在主体中产生治疗效果的任何化合物或分子。在一些实施方式中,化合物或分子的分子量为 2000 道尔顿或更少,1500 道尔顿或更少,1000 道尔顿或更少,500 道尔顿或更少,250 道尔顿或更少。在一些实施方式中,化合物或分子是 MetAP2 抑制剂。在一些实施方式中,化合物或分子是烟曲霉素、烟霉醇,或其类似物、衍生物、盐或酯。选择的化合物或分子将取决于要被治疗的病症或疾病。在一些实施方式中,可使用两种或多种活性部分。在一些实施方式中,可使用活性部分和非活性“盖帽”部分。在一些实施方式中,要被治疗的病症是肥胖。在本发明的组合物中,缀合部分通过连接子被结合于活性部分。本领域中公知的任何连接子可以用于将被修饰的活性部分连接于缀合部分。所使用的连接子将取决于目标组织的生理条件、被优化的活性部分的特性,以及剪切机理。D' Souza 等人综述了各种类型的连接子,包括通过溶蛋白性剪切实施的连接子,“Release from Polymeric Prodrugs: Linkages and Their Degradation”*J. Pharm. Sci.*, 93, 1962-1979(2004)。Blencoe 等人描述了各种自杀性连接子,“Self-immolative linkers in polymeric delivery systems”*Polym. Chem.* 2, 773-790(2011)。Ducry 等人在 *Bioconj. Chem.* 21, 5-13(2010) “Antibody-Drug Conjugates: Linking Cytotoxic Payloads to Monoclonal Antibodies” 综述了连接子。适用于通过基质金属蛋白酶 (MMP) 剪切的肽连接子在 “Antitumor efficacy of a novel polymer-peptide-drug conjugate in human tumor xenograft models” *Int. J. Cancer* 118, 1519-1526(2006) 和 Chau 等人的美国专利公开 US 2004/0116348 中描述。适合于本发明的组合物的其他连接子化学成分在 Shiose et al. *Biol. Pharm. Bull.* 30(12) 2365-2370(2007); Shiose et al. *Bioconjugate Chem.* 20(1) 60-70(2009); Senter, US 7553816; De Groot, US 7223837; King, US 6759509; Susaki, US 6835807; Susaki US 6436912; and Gemeinhart US 7943569。

[0043] 在一些实施方式中,连接子是肽连接子。示例性的肽连接子在 Susak 等人的 US 6835807, Inoue 等人的 US 6291671, Inoue 等人的 US 6811996, Susaki 等人的 US 7041818, Senter 等人的 US 7091186, Senter 等人的 US 7553816 中描述,这些的全部内容均通过引用而并入本发明中。其他示例性肽和其剪切在 Shiose et al. *Biol. Pharm. Bull.* 30(12) 2365-2370(2007) and Shiose et al. *Bioconjugate Chem.* 20(1) 60-70(2009) 中描述。适用于通过基质金属蛋白酶 (MMP) 剪切的肽连接子在 Chau et al. “Antitumor efficacy of a novel polymer-peptide-drug conjugate in human tumor xenograft models” *Int. J. Cancer* 118, 1519-1526(2006) 和 Chau 等人的美国专利申请 US 2004/0116348 中描述。

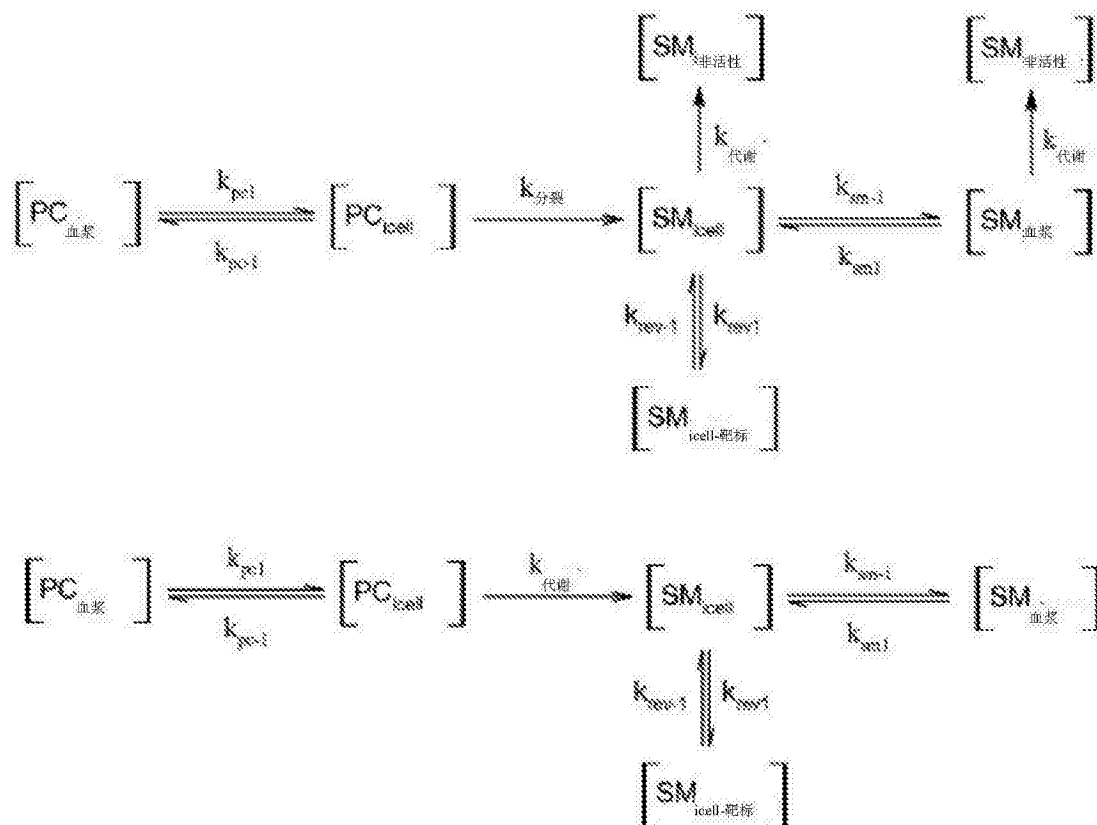
[0044] 连接子可通过已知的任何机理剪切。例如,连接子可以被设计用于蛋白水解剪切或细胞内蛋白水解剪切。在一些实施方式中,连接子被设计以便在血浆中没有连接子剪切,或者在血浆中有非常低的剪切速率。示例性的连接子结构在下面进行更详细的描述。

[0045] 在一些实施方式中,连接子具有这样的结构使其优先地在疾病组织中被分解。由于多少水解酶存在于正常组织和疾病组织中,连接子必须被在疾病组织中更加活跃和/或在疾病组织中更普遍的水解酶分解。例如,肿瘤通常上调代谢速率,尤其是过度表达蛋白酶,包括组织蛋白酶。在癌症中的水解酶的上调和作用在 Mason et al. Trends in Cell Biology 21, 228-237 (2011) 中描述。

[0046] 在一些实施方式中,被修饰的活性部分的类别是不可逆地结合其靶标的部分,即从缀合物种释放后,活性部分共价地结合生化靶标。一旦结合,活性部分不能扩散或被运出细胞。在不可逆结合的情况下,对于要发生的靶向,小分子结合于靶标- evi 的速率必须与小分子流出的速率 K_{sm-1} 显著相关。如果流出的速率与小分子结合高度相关,则在血浆和细胞内结构之间可以建立小分子平衡,分子内的递送相对于细胞外递送将没有优势。

[0047] 在一些实施方式中,被修饰的活性部分的类型是可逆地结合它们的靶标的部分。在可逆结合的情况下,对于要发生的靶向,对于小分子结合靶标的平衡常数 $K = k_{rev1}/k_{rev-1}$ 必须大,且“速率中 (on-rate)” k_{rev1} 相对于小分子流出速率 k_{sm-1} 必须大。如果流出的速率与小分子结合高度相关,那么在血浆和细胞内结构之间可以建立小分子平衡,分子内的递送相对于细胞外递送将没有优势。这样一种关系在下面通过图示说明,其中 $[PC]$ = 聚合物缀合物的浓度; $[SM]$ = 被释放的小分子的浓度; 血浆 = 血浆浓度; $icell$ = 细胞内浓度; $icell$ -靶标 = 可逆地结合细胞内靶标的小分子; 以及非活性 = 小分子的非活性代谢物。在一些实施方式中,当 $k_{rev-1} = 0$ 时,部分不可逆地结合其靶标。

[0048]

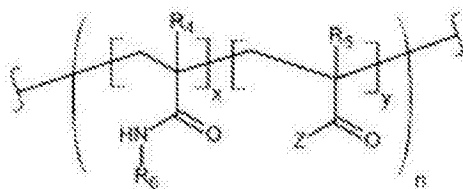


[0049] 在一些实施方式中,被修饰的活性部分的类型是具有非常高的平衡常数的部分,且相对于流出高度“速率中”。在一些实施方式中,被修饰的活性部分的类型是经相对应于流出而言高速率的细胞内代谢的部分。

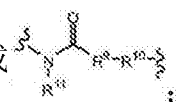
[0050] 在一些实施方式中,对活性部分的修饰通过使用具有这样的结构以使得在剪切中,连接子的碎片仍然与活性部分结合的连接子来实现。该碎片可以改变任意的分子量、疏水性、极性表面积或活性部分的带电性,以此产生与未被修饰的活性部分相比具有减少的从目标细胞的流出的被修饰的活性部分。例如,在此描述的通过连接子偶联 MetAP2 抑制的活性部分提供了缀合物,其中在连接子的剪切中,产生具有与其(被修饰的活性部分)结合的连接子的碎片。在此所描述的该被修饰的部分与未被修饰的活性部分可具有减少的从细胞的流出,导致被修饰的活性部分对母体小细胞分子具有出色的效力,对母体小细胞分子具有出色的效力,以及具有出色的药代动力学类型。

[0051] 本发明提供具有如下结构的连接子的缀合物:

[0052]



[0053] 其中,在每种情况下相互独立地, R_4 是 H 或 C_1-C_6 烷基; R_5 是 H 或 C_1-C_6 烷基; R_6 是 C_2-C_6 羟烷基; Z 是 $-NH-AA_1-AA_2-AA_3-AA_4-AA_5-AA_6-C(O)-L$ 或 $-NH-AA_1-AA_2-AA_3-AA_4-AA_5-AA_6-C(O)-Q-X-Y-C(O)-W$; AA_1 是甘氨酸、丙氨酸或 $H_2N(CH_2)_mCO_2H$, 其中 m 是 2、3、4 或 5; AA_2 是键,或丙氨酸、半胱氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、苯丙氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、赖氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸、天冬酰胺、脯氨酸、谷氨酰胺、精氨酸、丝氨酸、苏氨酸、缬氨酸、色氨酸或酪氨酸; AA_3 是键,或丙氨酸、半胱氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、苯丙氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、赖氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸、天冬酰胺、脯氨酸、谷氨酰胺、精氨酸、丝氨酸、苏氨酸、缬氨酸、色氨酸或酪氨酸; AA_4 是键,或丙氨酸、半胱氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、苯丙氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、赖氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸、天冬酰胺、脯氨酸、谷氨酰胺、精氨酸、丝氨酸、苏氨酸、缬氨酸、色氨酸或酪氨酸; AA_5 是键,或甘氨酸、缬氨酸、酪氨酸、色氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸、亮氨酸、异亮氨酸或天冬酰胺; AA_6 是键,或丙氨酸、天门冬酰胺、瓜氨酸、谷氨酰胺、甘氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、丝氨酸、苏氨酸、色氨酸、酪氨酸、缬氨酸,或 $H_2N(CH_2)_mCO_2H$, 其中 m 是 2、3、4 或 5; L 是 $-OH$ 、 $-O-$ 琥珀酰亚胺、 $-O-$ 磺基琥珀酰亚胺、烷氧基、芳氧基、酸氧基、芳酰氧基、烷氧基羰氧基、芳氧基羰氧基、 $-NH_2$ 、 $-NH(C_2-C_6$ 羟烷基)、卤化物或全氟烷氧基; Q 是 NR 、 O 或 S ; X 是 $M-(C(R)_2)_p-M-J-M-(C(R)_2)_p-M-V$; M 是键,或 $C(O)$; J 是键,或 $((CH_2)_qQ)_r$ 、 C_5-C_8 环烷基、芳基、杂芳基、 NR 、 O 或 S ; Y 是 NR 、 O 或 S ; R 是 H 或烷基; V 是键

或  R^9 是烷基、芳基、芳烷基或键;或者 R^9 与 Y 一起形成杂环; R^{10} 是氨基或键; R^{11}

是 H 或烷基; W 是 MetAP2 抑制剂部分或烷基; x 在 1 至约 450 的范围内; y 在 1 至约 30 的范围内; n 在 1 至约 50 的范围内; p 是 0 至 20; q 是 2 或 3; 以及 r 是 1、2、3、4、5 或 6。

[0054] 在一些实施方式中, R_4 是 C_1-C_6 烷基。在一些实施方式中, R_4 是甲基。在一些实施

方式中, R_5 是 C_1-C_6 烷基。在一些实施方式中, R_5 是甲基。在一些实施方式中, R_6 是 2- 羟乙基、2- 羟丙基或 3- 羟丙基。在一些实施方式中, R_6 是 2- 羟丙基。

[0055] 在一些实施方式中, 所述化合物的分子量小于约 60kDa。在其他实施方式中, 分子量小于约 45kDa。在其他实施方式中, 分子量小于约 35kDa。

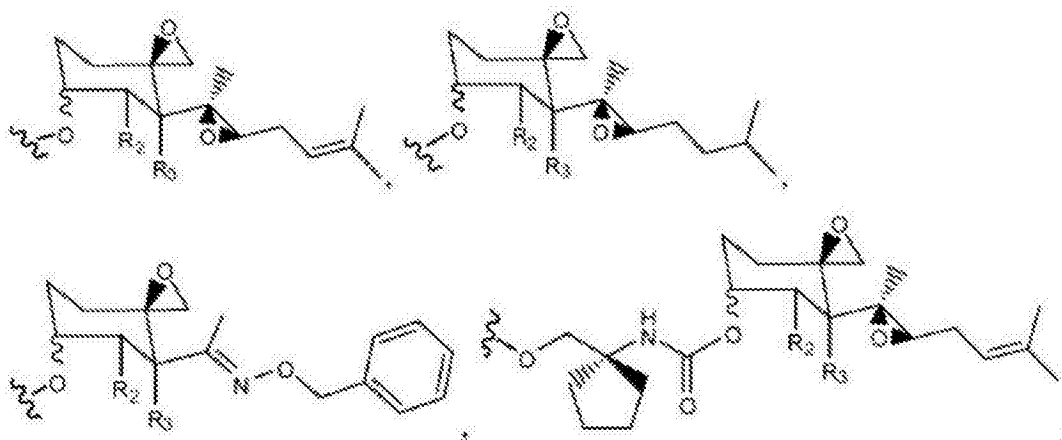
[0056] 在一些实施方式中, x 比 y 的比例在 30:1 至 3:1 的范围内。在其他实施方式中, x 比 y 的比例在 19:2 至 7:2 的范围。在一些实施方式中, x 比 y 的比例在 30:1 至 3:1 的范围。在一些实施方式中, x 比 y 的比例在 9:1 至 4:1 的范围。在一些实施方式中, x 比 y 的比例为约 11:1。在一些实施方式中, x 比 y 的比例为约 9:1。在一些实施方式中, x 比 y 的比例为约 4:1。

[0057] 在一些实施方式中, Z 是 $-NH-AA_1-AA_2-AA_3-AA_4-AA_5-AA_6-C(O)-L$ 在一些实施方式中, L 是甲氧基、乙氧基、五氟苯氧基、苯氧基、乙酰氧基、氟、氯、甲氧基羰氧基、乙氧羰氧基、苯氧基羰氧基、4- 硝基苯氧基、三氟甲氧基、五氟乙氧基、或三氟乙氧基。在一些实施方式中, L 是 4- 硝基苯氧基。

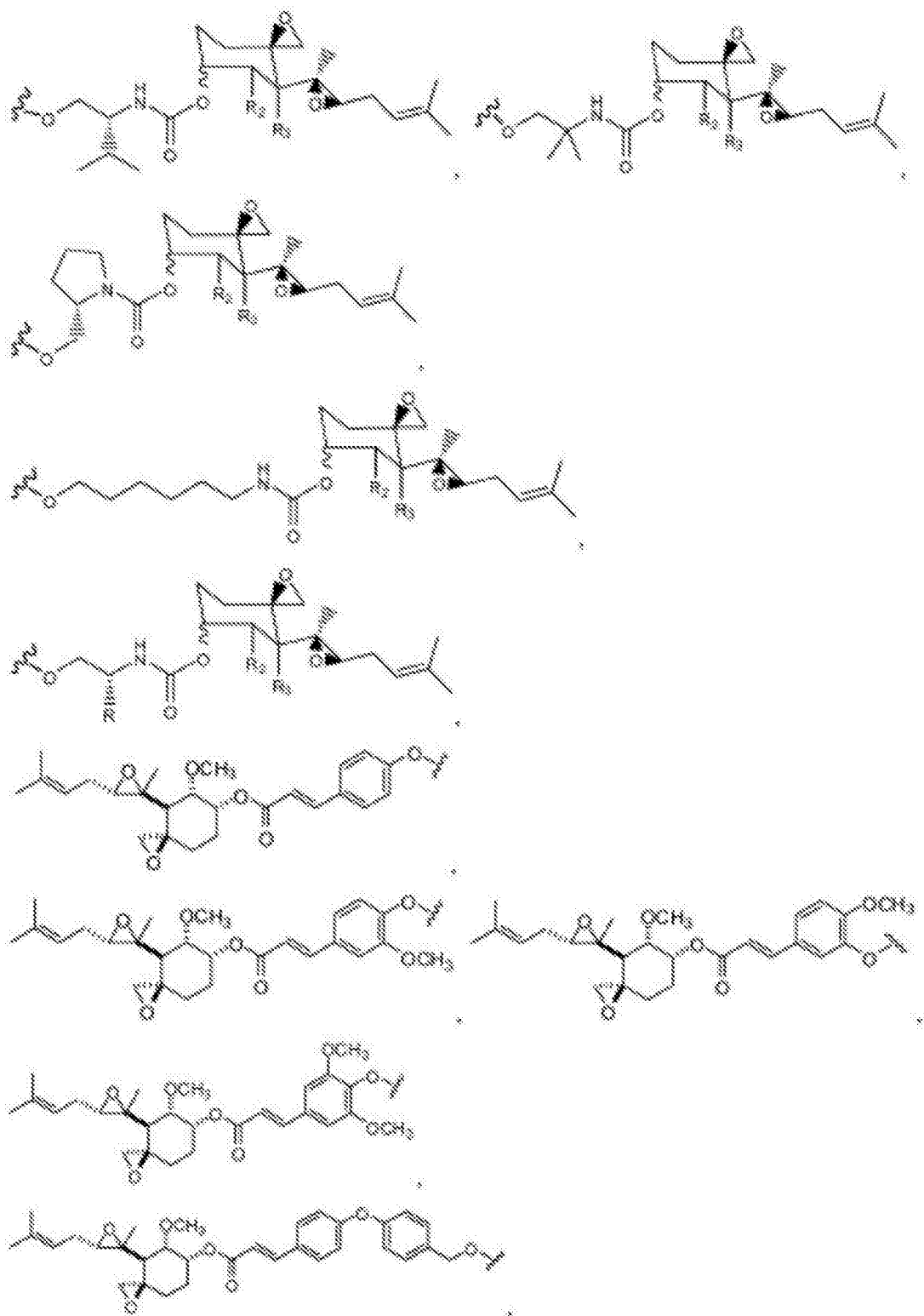
[0058] 在一些实施方式中, Z 是 $-NH-AA_1-AA_2-AA_3-AA_4-AA_5-AA_6-C(O)-Q-X-Y-C(O)-W$ 在一些实施方式中, AA_1 是甘氨酸。在一些实施方式中, AA_2 是甘氨酸。在一些实施方式中, AA_3 是甘氨酸。在一些实施方式中, AA_4 是甘氨酸或苯丙氨酸。在一些实施方式中, AA_5 是亮氨酸、苯丙氨酸、缬氨酸或酪氨酸。在一些实施方式中, AA_6 为天冬酰胺、瓜氨酸、谷氨酰胺、甘氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸、苏氨酸或酪氨酸。在一些实施方式中, AA_5-AA_6 是 Leu-Cit、Leu-Gln、Leu-Gly、Leu-Leu、Leu-Met、Leu-Thr、Phe-Cit、Phe-Gln、Phe-Leu、Phe-Met、Phe-Thr、Val-Asn、Val-Cit、Val-Gln、Val-Leu、Val-Met、Val-Thr、Tyr-Cit、Tyr-Leu 或 Tyr-Met。在一些实施方式中, AA_1 , AA_3 和 AA_5 是甘氨酸、缬氨酸、酪氨酸、色氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸、亮氨酸、异亮氨酸或天冬酰胺。在一些实施方式中, AA_2 , AA_4 和 AA_6 是甘氨酸、天冬酰胺、瓜氨酸、谷氨酰胺、甘氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、苏氨酸或酪氨酸。在一些实施方式中, AA_2 是键; AA_3 是键。在一些实施方式中, AA_1 是甘氨酸; AA_4 是苯丙氨酸; AA_5 是亮氨酸; 和 AA_6 是甘氨酸。

[0059] 在一些实施方式中, W 是

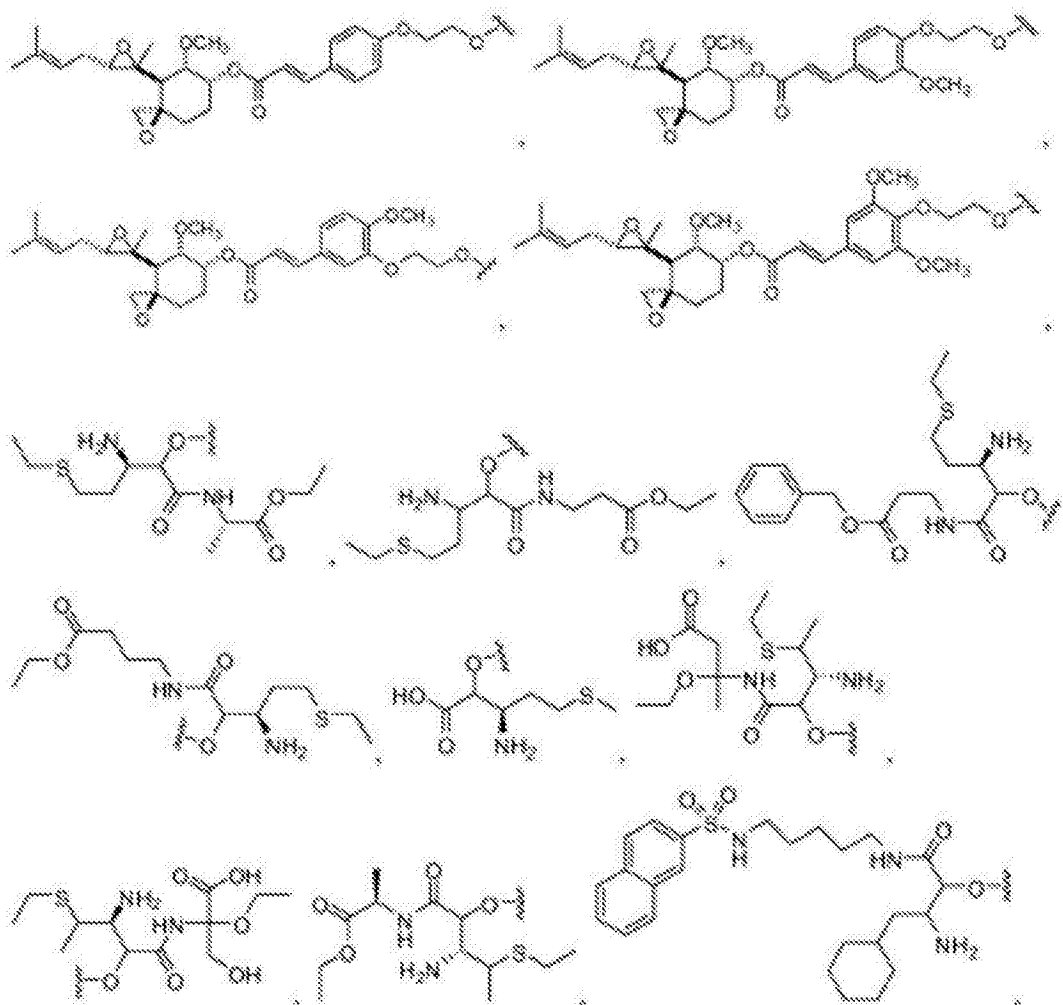
[0060]



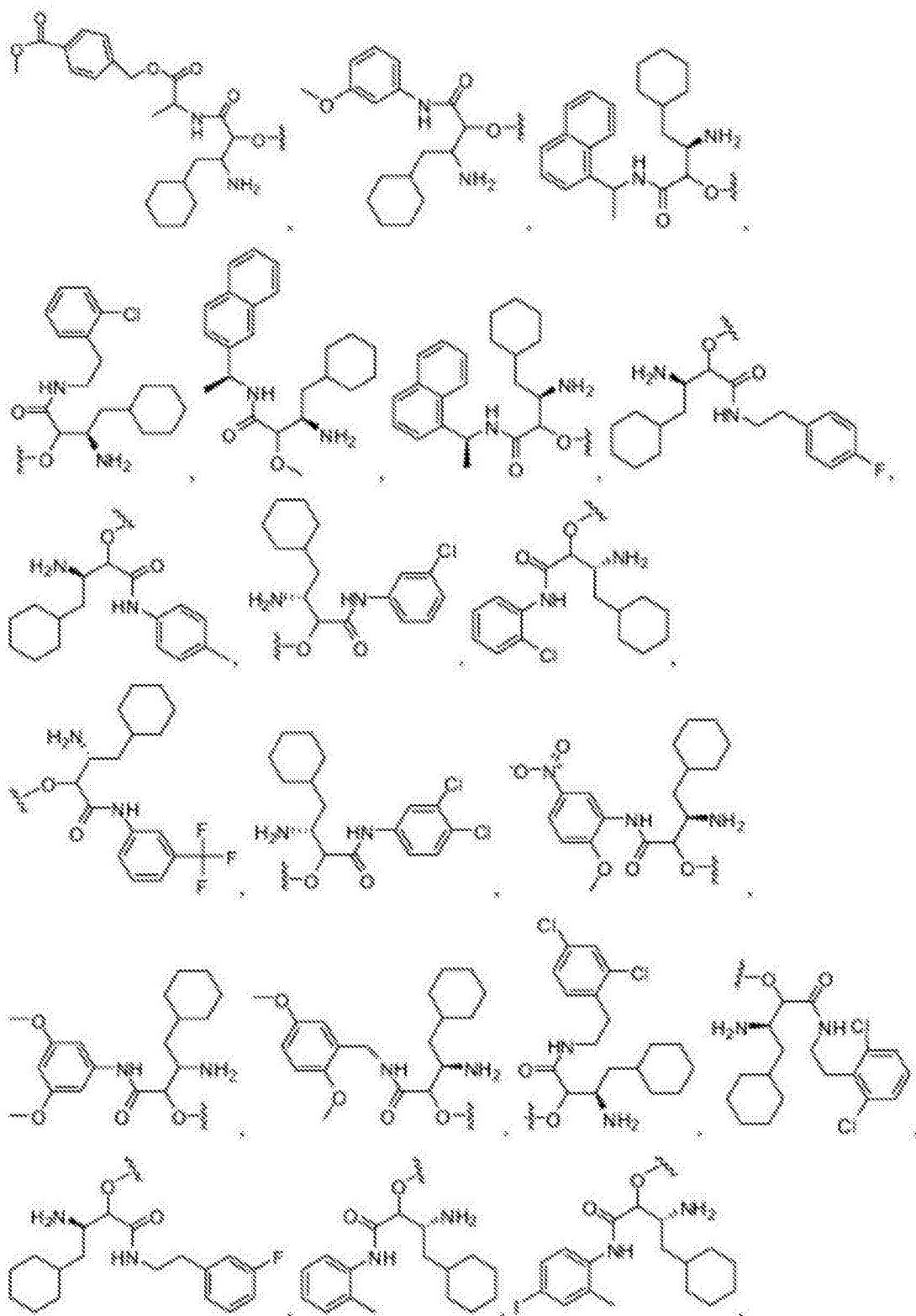
[0061]



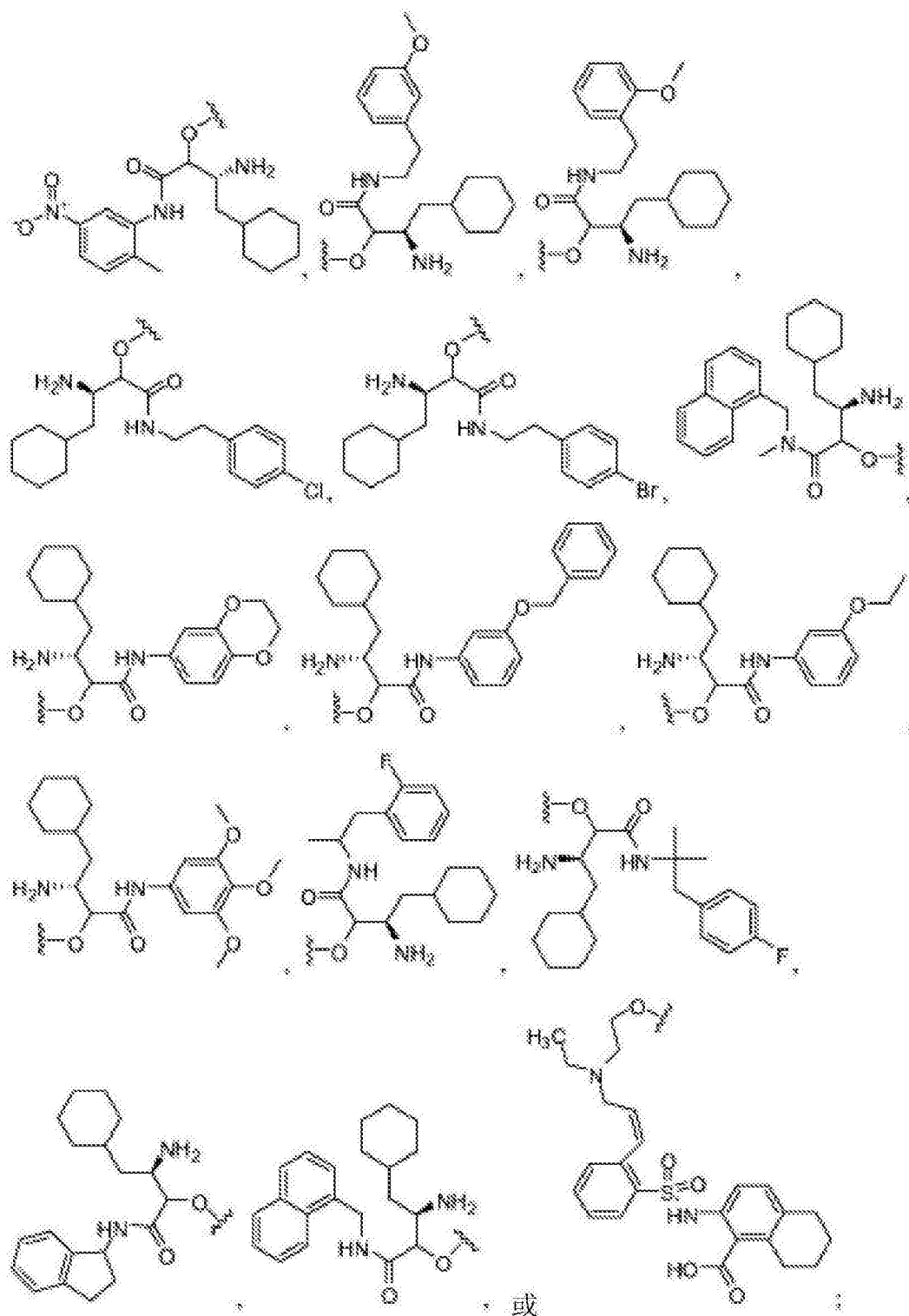
[0062]



[0063]



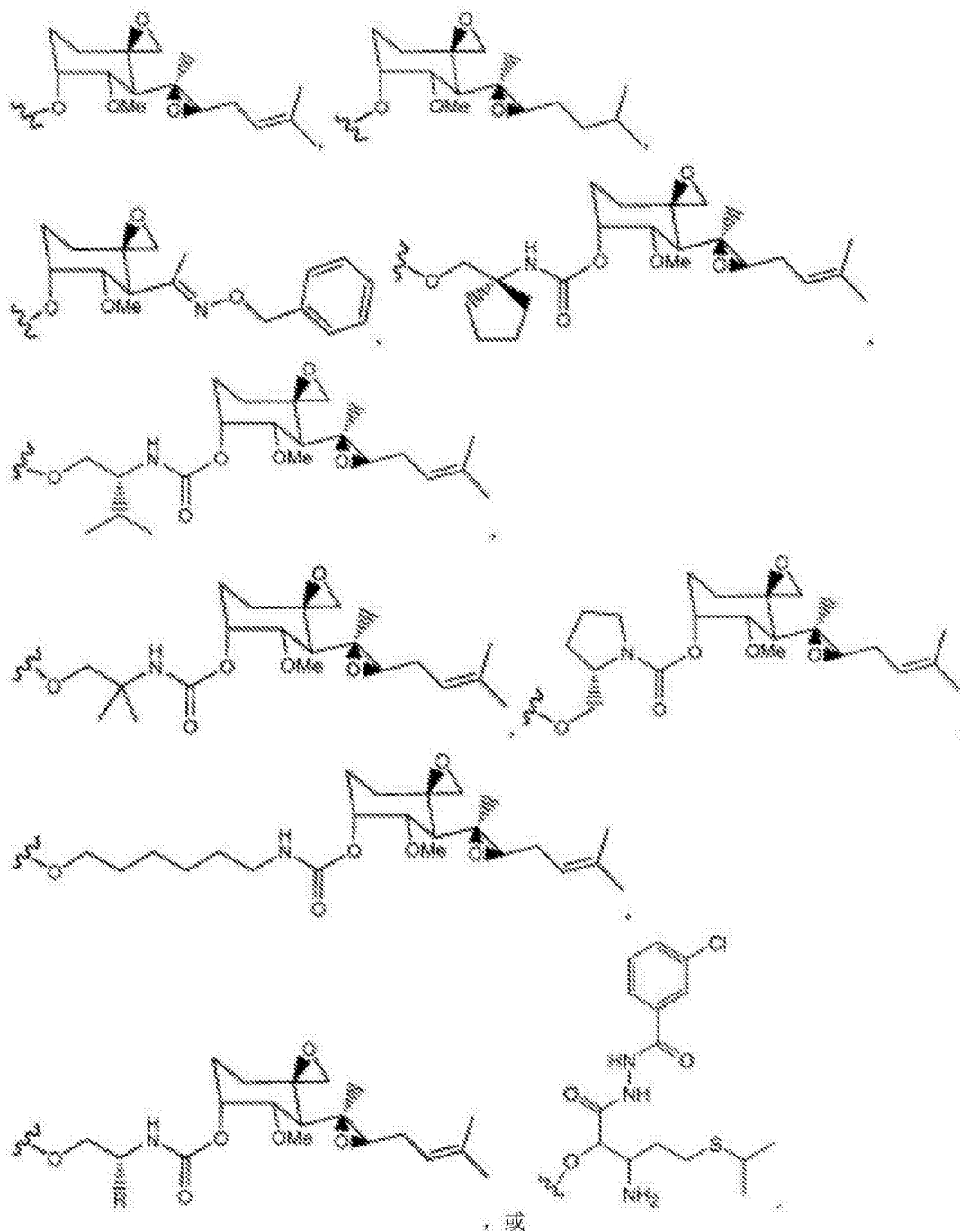
[0064]



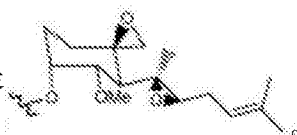
[0065] 其中, R_2 是 -OH 或甲氧基; R_3 是 H、-OH 或甲氧基。

[0066] 在一些实施方式中, W 是

[0067]



[0068] 在一些实施方式中, W 是

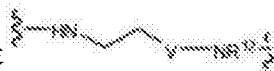


[0069] 在一些实施方式中, Q 是 NR。在一些实施方式中, Q 是 S。

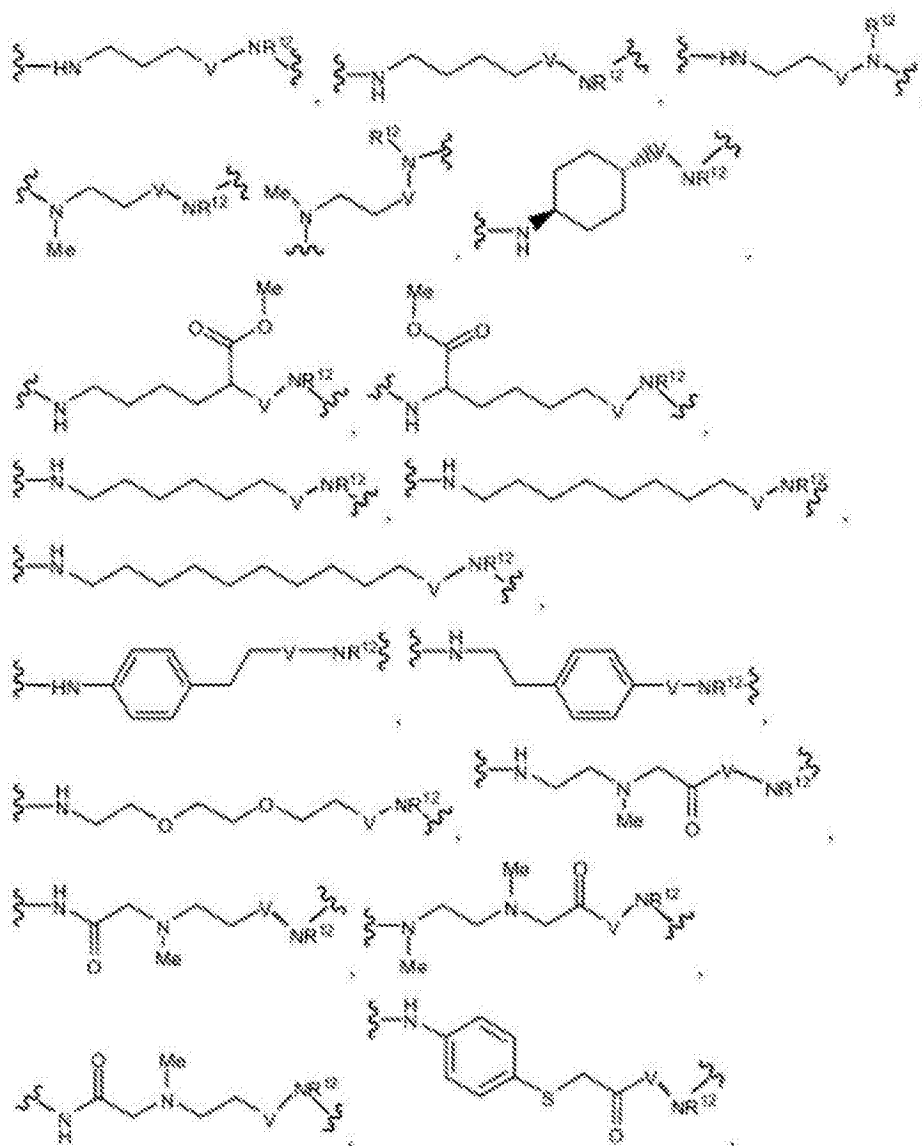
[0070] 在一些实施方式中, J 是 NR。在一些实施方式中, J 是 $((\text{CH}_2)_q\text{Q})_r$ 。在一些实施方式中, J 是 C_5 - C_8 环烷基。在一些实施方式中, J 是芳基。

[0071] 在一些实施方式中, Y 是 NR。在一些实施方式中, Y 是 S。

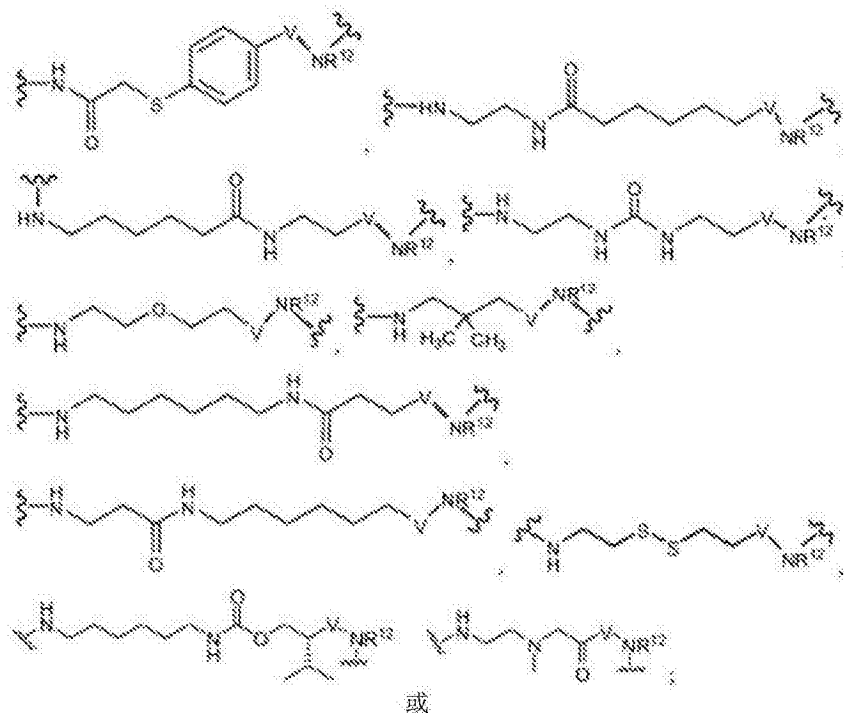
[0072] 在一些实施方式中, -Q-X-Y- 是



[0073]

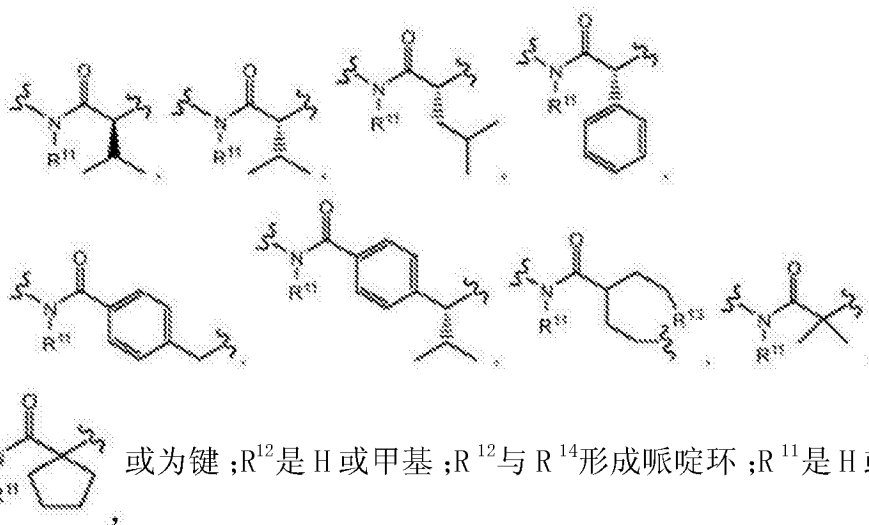


[0074]



[0075] V 是：

[0076]



R^{12} 形成哌啶环。

[0078] 在一些实施方式中, -Q-X-Y- 是 

[0079] 在一些实施方式中, -Q-X-Y- 是 

[0080] 在一些实施方式中, -Q-X-Y- 是 

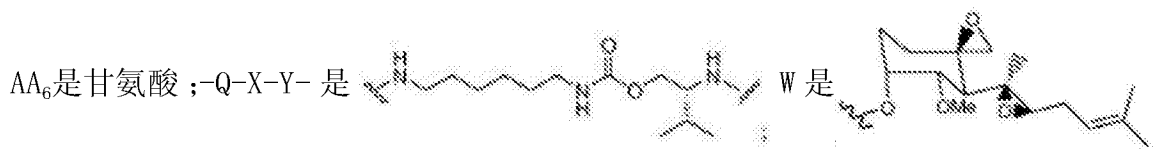
[0081] 在一些实施方式中, -Q-X-Y- 是  在一些实施方式中, -Q-X-Y- 是



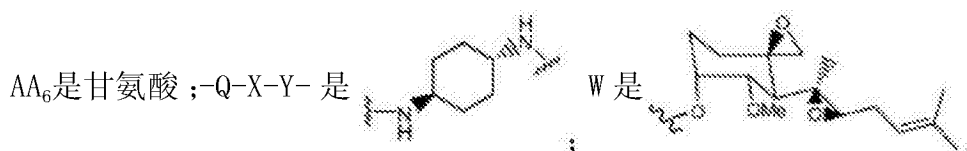
[0082] 在一些实施方式中, R_4 和 R_5 是甲基; R_6 是2-羟丙基; Z 是 $-\text{NH}-\text{AA}_1-\text{AA}_2-\text{AA}_3-\text{AA}_4-\text{AA}_5-\text{AA}_6-\text{C}(\text{O})-\text{Q}-\text{X}-\text{Y}-\text{C}(\text{O})-\text{W}$; AA_1 是甘氨酸; AA_2 是键; AA_3 是键; AA_4 是苯丙氨酸; AA_5 是亮氨酸;



[0083] 在一些实施方式中, R_4 和 R_5 是甲基; R_6 是2-羟丙基; Z 是 $-\text{NH}-\text{AA}_1-\text{AA}_2-\text{AA}_3-\text{AA}_4-\text{AA}_5-\text{AA}_6-\text{C}(\text{O})-\text{Q}-\text{X}-\text{Y}-\text{C}(\text{O})-\text{W}$; AA_1 是甘氨酸; AA_2 是键; AA_3 是键; AA_4 是苯丙氨酸; AA_5 是亮氨酸;

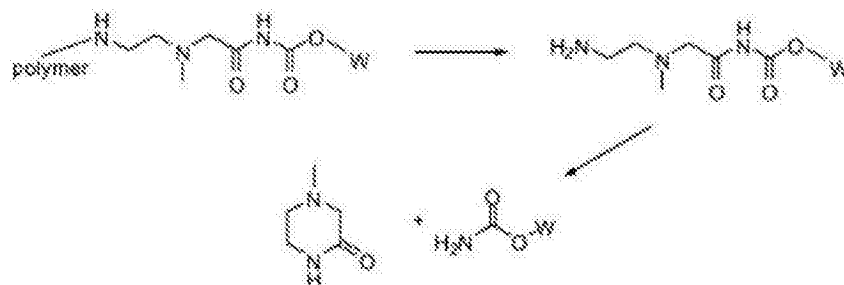


[0084] 在一些实施方式中, R_4 和 R_5 是甲基; R_6 是2-羟丙基; Z 是 $-\text{NH}-\text{AA}_1-\text{AA}_2-\text{AA}_3-\text{AA}_4-\text{AA}_5-\text{AA}_6-\text{C}(\text{O})-\text{Q}-\text{X}-\text{Y}-\text{C}(\text{O})-\text{W}$; AA_1 是甘氨酸; AA_2 是键; AA_3 是键; AA_4 是苯丙氨酸; AA_5 是亮氨酸;



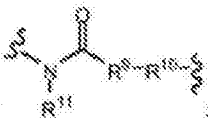
[0085] 在一些实施方式中, $-\text{Q}-\text{X}-\text{Y}-$ 是释放氨基甲酸酯形式的 MetAP2 抑制剂自杀性连接子, 如下图所示:

[0086]



[0087] 本发明的另一个方面提供了带有连接子的缀合物, 所述连接子具有结构: $Z-\text{Q}-\text{X}-\text{Y}-\text{C}(\text{O})-\text{W}$; 其中, 在每种情况下独立地, Z 是 $\text{H}_2\text{N}-\text{AA}_2-\text{AA}_3-\text{AA}_4-\text{AA}_5-\text{AA}_6-\text{C}(\text{O})-$ 或 H ; AA_2 是键, 或丙氨酸、半胱氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、苯丙氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、赖氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸、天冬酰胺、脯氨酸、谷氨酰胺、精氨酸、丝氨酸、苏氨酸、缬氨酸、色氨酸或酪氨酸; AA_3 是键, 或丙氨酸、半胱氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、苯丙氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、赖氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸、天冬酰胺、脯氨酸、谷氨酰胺、精氨酸、丝氨酸、苏氨酸、缬氨酸、色氨酸或酪氨酸; AA_4 是键, 或丙氨酸、半胱氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、苯丙氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、赖氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸、天冬酰胺、脯氨酸、谷氨酰胺、精氨酸、丝氨酸、苏氨酸、缬氨酸、色氨酸或酪氨酸; AA_5 是键, 丙氨酸、半胱氨酸、甘氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、缬氨酸、色氨酸, 或; AA_6 是丙氨酸、天冬酰胺、瓜氨酸、谷氨酰胺、甘氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、丝氨酸、苏氨酸、色氨酸、酪氨酸、缬氨酸或

$\text{H}_2\text{N}(\text{CH}_2)_m\text{CO}_2\text{H}$, 其中 m 是 2、3、4 或 5; Q 是 NR 、 O 或 S ; X 是 $\text{M}-(\text{C}(\text{R})_2)_p-\text{M}-\text{J}-\text{M}-(\text{C}(\text{R})_2)_p-\text{M}-\text{V}$; M 是键, 或 $\text{C}(\text{O})$; J 是键, 或 $(\text{C}(\text{CH}_2)_q\text{Q})_r$ 、 $\text{C}5-\text{C}8$ 环烷基、芳基、杂芳基、 NR 、 O 或 S ; Y 是 NR 、 O

或 S ; R 是 H 或烷基; V 是键或  R^9 是烷基、芳基、芳烷基或键; 或者 R^9 与 Y 一起形成杂环; R^{10} 是氨基或键; R^{11} 是 H 或烷基; W 是 MetAP2 抑制剂部分; p 是 0 至 20; q 是 2 或 3; 以及 r 是 1、2、3、4、5 或 6。

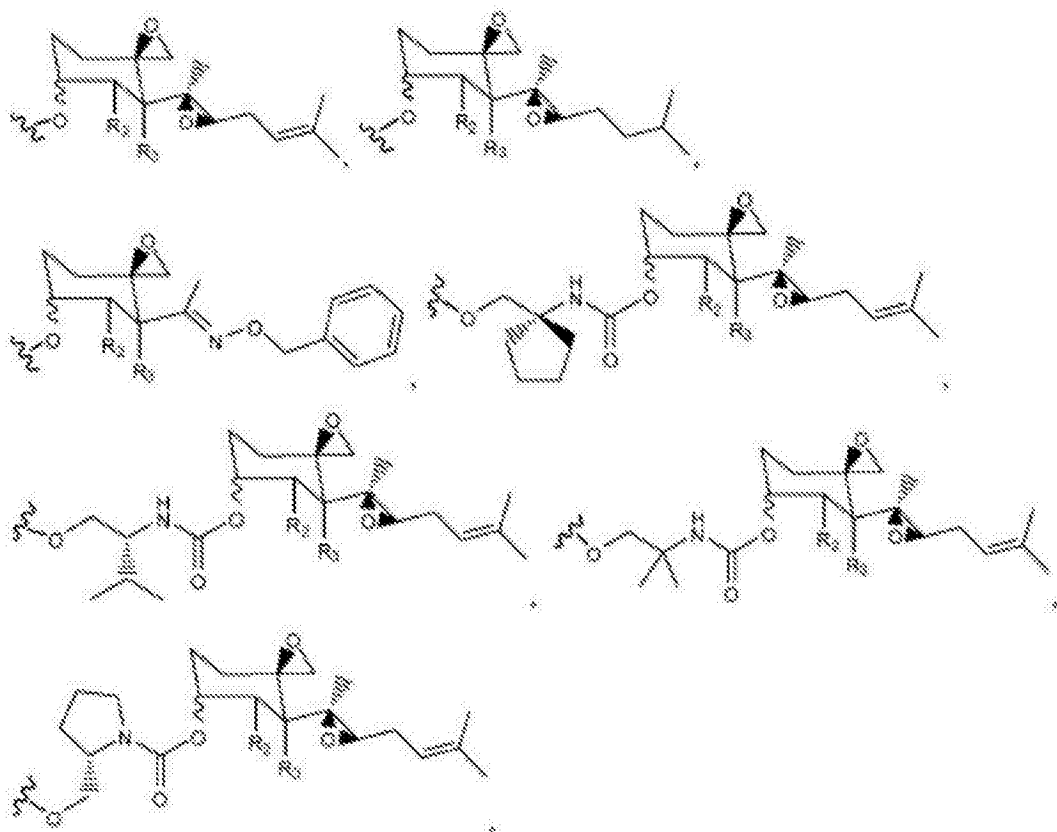
[0088] 在一些实施方式中, Z 是 $\text{H}_2\text{N}-\text{AA}_5-\text{AA}_6-\text{C}(\text{O})-$ 。在一些实施方式中, AA_5 是丙氨酸、半胱氨酸、甘氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、缬氨酸、色氨酸或酪氨酸, AA_6 是甘氨酸。在一些实施方案中, AA_5 是亮氨酸, AA_6 是甘氨酸。在一些实施方案中, AA_5 是缬氨酸, AA_6 是甘氨酸。在一些实施方案中, AA_5 是苯丙氨酸和 AA_6 是甘氨酸。在一些实施方案中, AA_5 是甘氨酸和 AA_6 是甘氨酸。在一些实施方案中, AA_5 不是缬氨酸。

[0089] 在其他实施方式中, Z 是 $\text{H}_2\text{N}-\text{AA}_3-\text{AA}_4-\text{AA}_5-\text{AA}_6-\text{C}(\text{O})-$ 。在一些实施方式中, AA_5 是丙氨酸、半胱氨酸、甘氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、缬氨酸、色氨酸或酪氨酸, 每个 AA_3 、 AA_4 或 AA_6 是甘氨酸。在一些实施方案中, AA_5 是亮氨酸, 每个 AA_3 、 AA_4 或 AA_6 是甘氨酸。在一些实施方案中, AA_5 是缬氨酸, 每个 AA_3 、 AA_4 或 AA_6 是甘氨酸。在一些实施方案中, AA_5 是苯丙氨酸, 每个 AA_3 、 AA_4 或 AA_6 是甘氨酸。在一些实施方案中, AA_3 是甘氨酸, AA_4 是苯丙氨酸, AA_5 是亮氨酸, AA_6 是甘氨酸。在一些实施方案中, 每个 AA_3 、 AA_4 、 AA_5 和 AA_6 的是甘氨酸。在一些实施方案中, AA_5 不是缬氨酸。

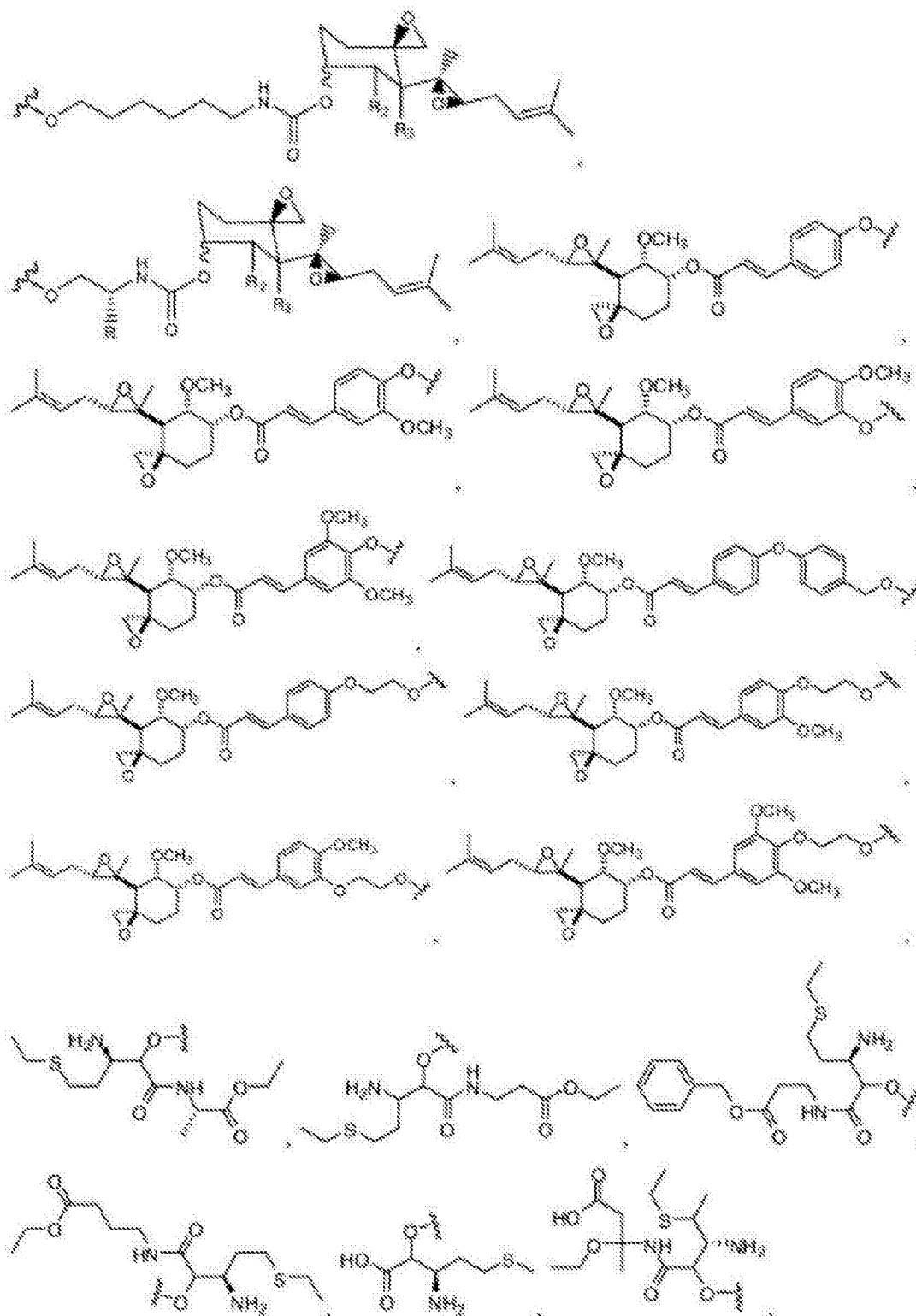
[0090] 在一些实施方式中, Q 是 NR 。在一些实施方式中, M 是键。在一些实施方式中, J 是键。在一些实施方式中, Y 是 NR 。

[0091] 在一些实施方式中, W 是:

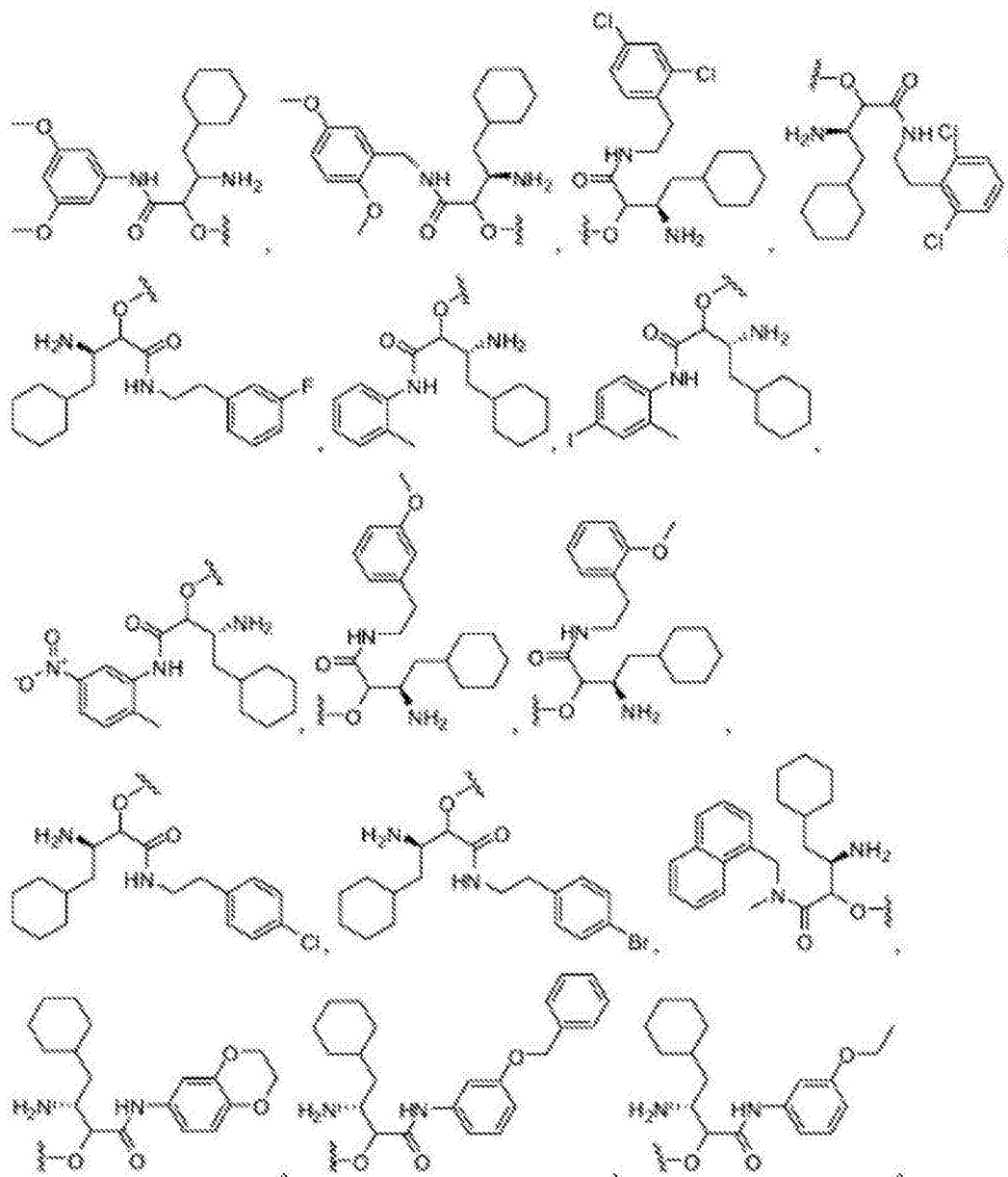
[0092]



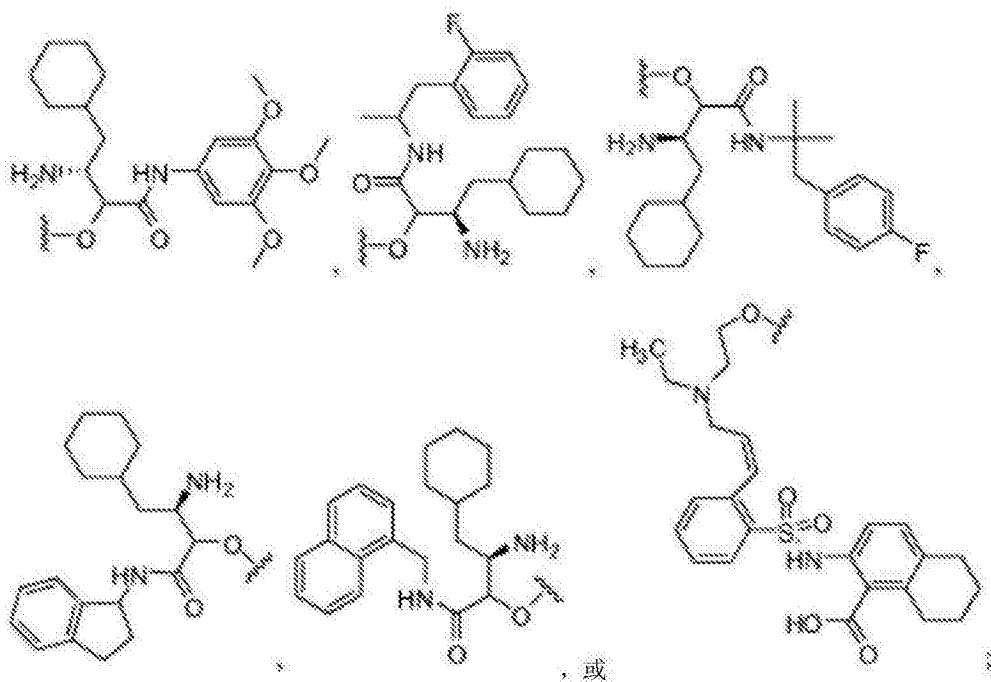
[0093]



[0094]



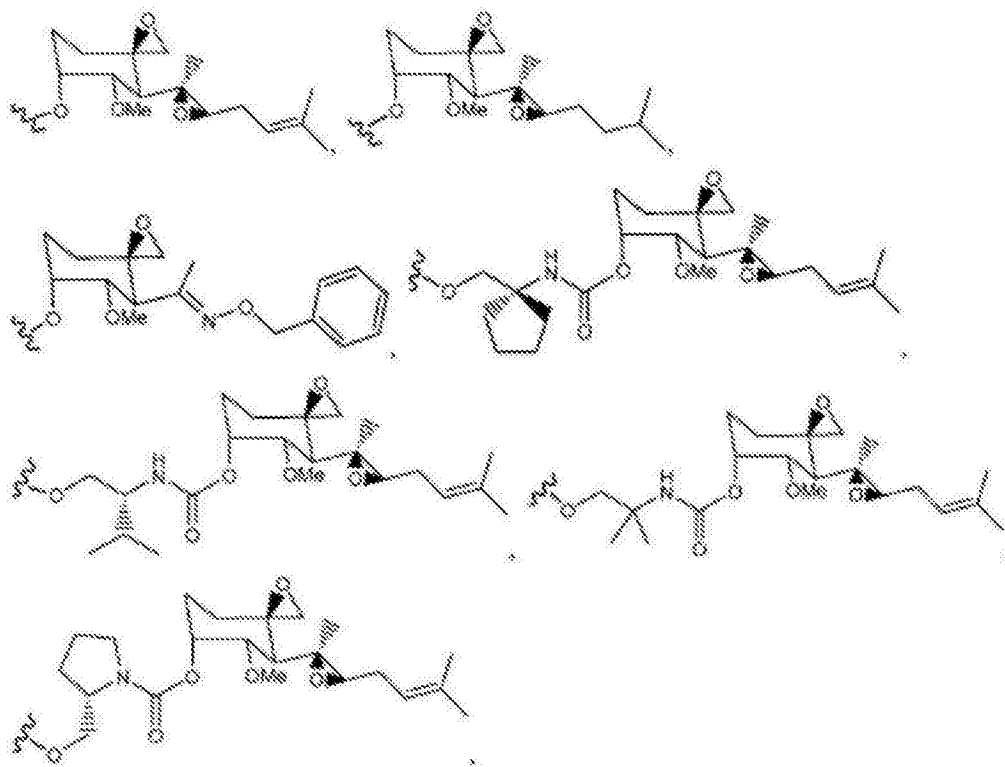
[0096]



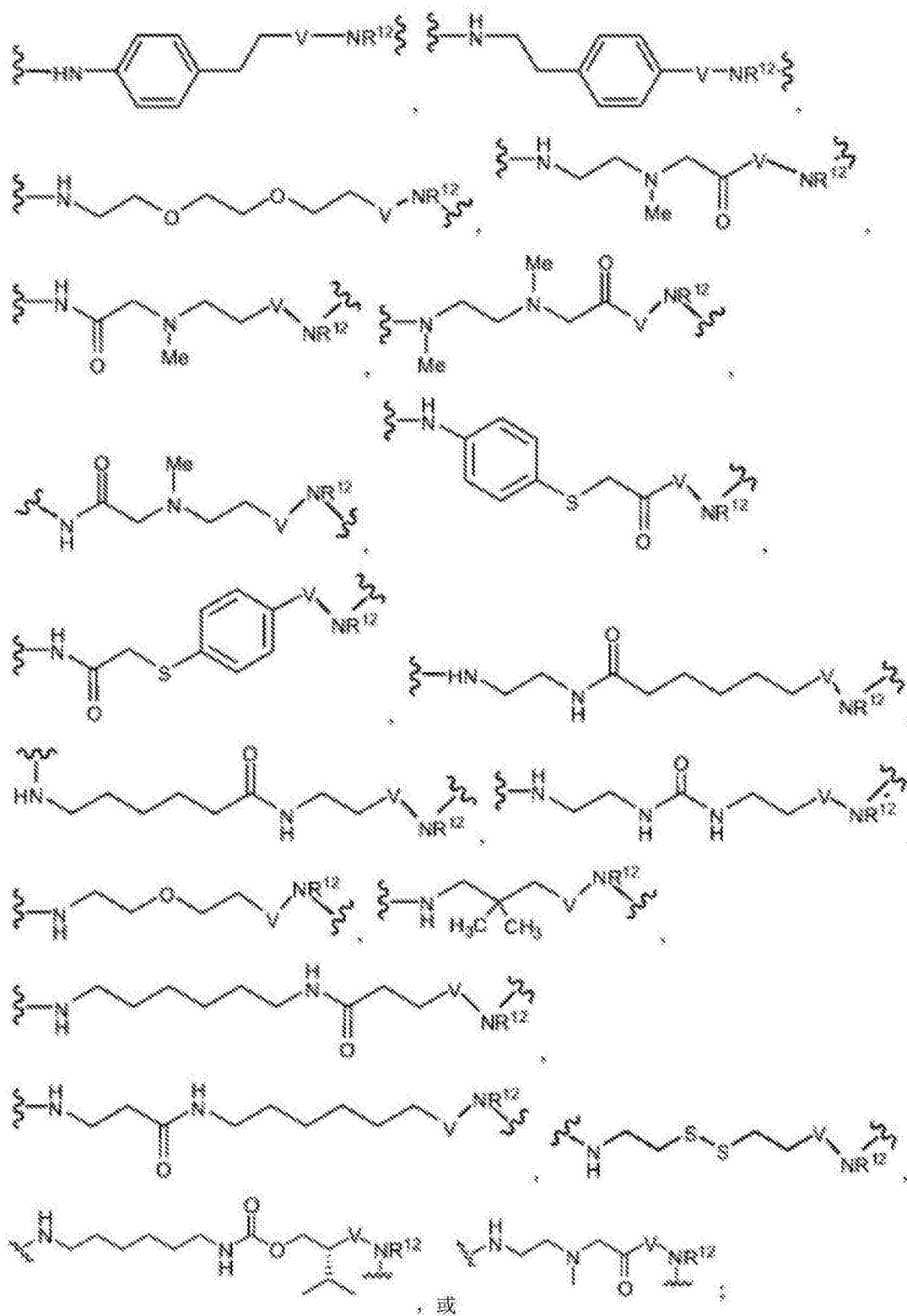
[0097] 其中, R_2 是 -OH 或甲氧基; R_3 是 H、-OH 或甲氧基。

[0098] 在一些实施方式中, W 是:

[0099]

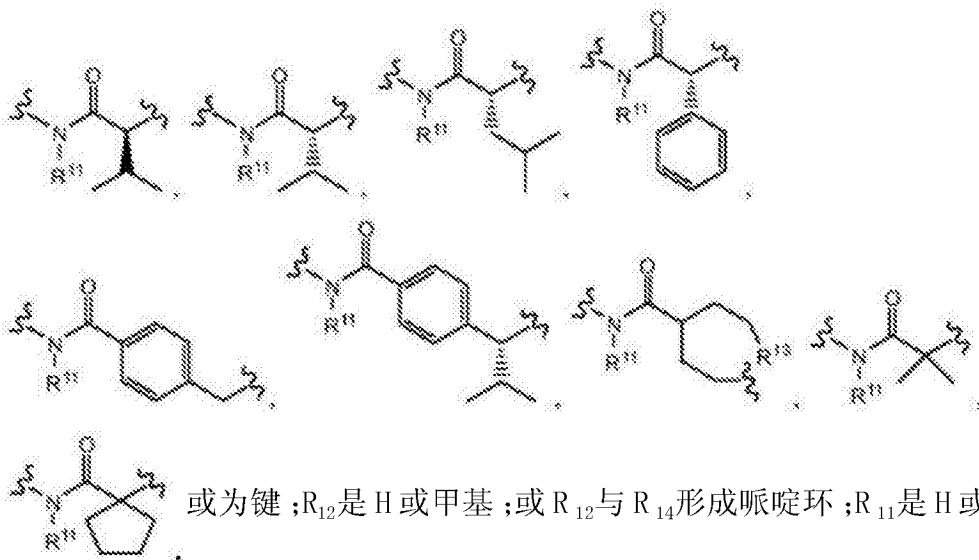


[0100]



[0105] V 是：

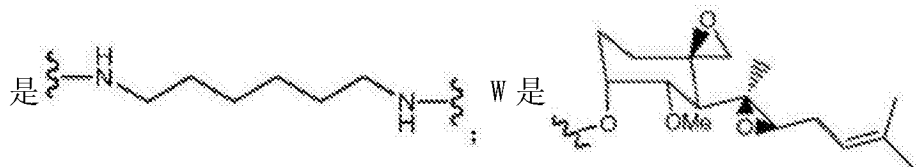
[0106]



[0107] 或为键; R_{12} 是 H 或甲基; 或 R_{12} 与 R_{14} 形成哌啶环; R_{11} 是 H 或甲基; R_{13}

与 R_{12} 形成哌啶环。

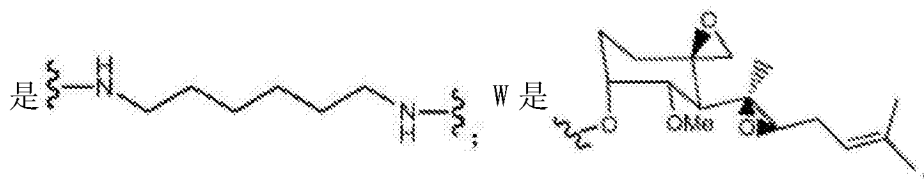
[0108] 在一些实施方式中, Z 是 $H_2N-AA_5-AA_6-C(O)-$; AA_5 是亮氨酸, AA_6 是甘氨酸; Q-X-Y



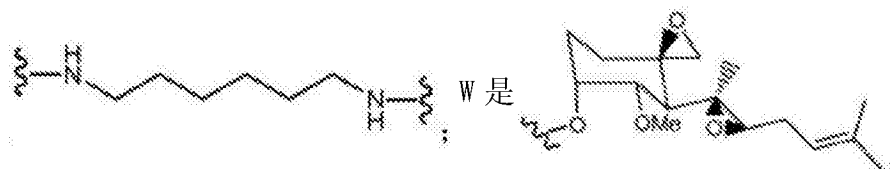
[0109] 在一些实施方式中, Z 是 $H_2N-AA_5-AA_6-C(O)-$; AA_5 是缬氨酸, AA_6 是甘氨酸; Q-X-Y 是



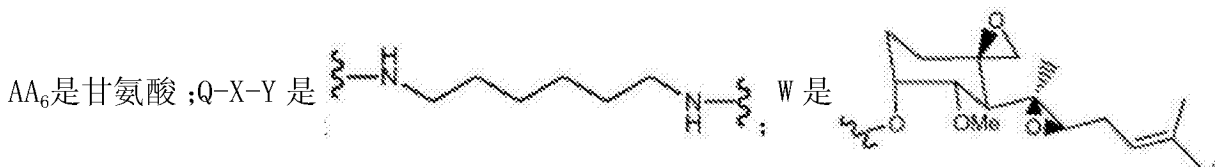
[0110] 在一些实施方式中, Z 是 $H_2N-AA_5-AA_6-C(O)-$; AA_5 是苯丙氨酸, AA_6 是甘氨酸; Q-X-Y 是



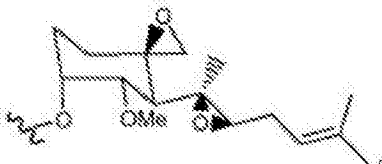
[0111] 在一些实施方式中, Z 是 $H_2N-AA_5-AA_6-C(O)-$; AA_5 是甘氨酸, AA_6 是甘氨酸; Q-X-Y 是



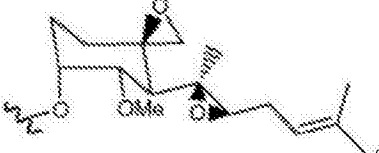
[0112] 在一些实施方式中, Z 是 $H_2N-AA_3-AA_4-AA_5-AA_6-C(O)-$; AA_5 是亮氨酸, 每个 AA_3 、 AA_4 或



[0113] 在一些实施方式中, Z 是 $H_2N-AA_3-AA_4-AA_5-AA_6-C(O)-$; AA_5 是缬氨酸, 每个 AA_3 、 AA_4 或

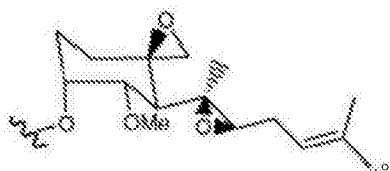
AA₆是甘氨酸;Q-X-Y 是 ; W 是 

[0114] 在一些实施方式中,Z 是 H₂N-AA₃-AA₄-AA₅-AA₆-C(O)-;AA₅是苯丙氨酸,每个 AA₃、AA₄

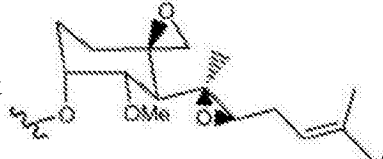
或 AA₆是甘氨酸;Q-X-Y 是 ; W 是 

[0115] 在一些实施方式中,Z 是 H₂N-AA₃-AA₄-AA₅-AA₆-C(O)-;AA₃是甘氨酸,AA₄是苯

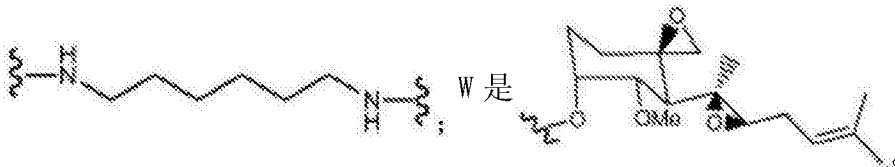
丙氨酸,AA₅是亮氨酸,AA₆是甘氨酸;Q-X-Y 是 ; W 是



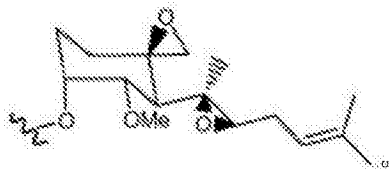
[0116] 在一些实施方式中,Z 是 H₂N-AA₃-AA₄-AA₅-AA₆-C(O)-;AA₃、AA₄、AA₅和 AA₆均为甘氨酸

;Q-X-Y 是 ; W 是 

[0117] 在一些实施方式中,Z 是 H₂N-AA₆-C(O)-;AA₆是甘氨酸;Q-X-Y 是



[0118] 在一些实施方式中,Z 是 H;Q-X-Y 是 ; W 是



[0119] 在一些实施方式中,Z 是 H₂N-AA₅-AA₆-C(O)-;AA₅是亮氨酸,AA₆是甘氨酸;Q-X-Y 是



[0120] 在一些实施方式中,Z 是 H₂N-AA₅-AA₆-C(O)-;AA₅是缬氨酸,AA₆是甘氨酸;Q-X-Y 是



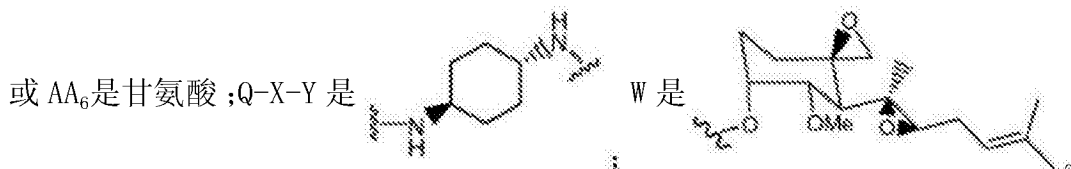
[0121] 在一些实施方式中, Z 是 $\text{H}_2\text{N-AA}_5\text{-AA}_6\text{-C(O)-}$; AA_5 是苯丙氨酸, AA_6 是甘氨酸; Q-X-Y



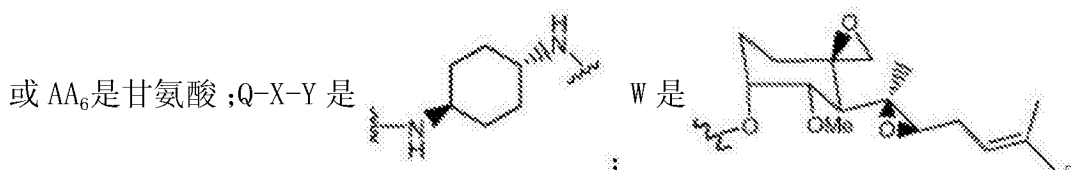
[0122] 在一些实施方式中, Z 是 $\text{H}_2\text{N-AA}_5\text{-AA}_6\text{-C(O)-}$; AA_5 是甘氨酸, AA_6 是甘氨酸; Q-X-Y 是



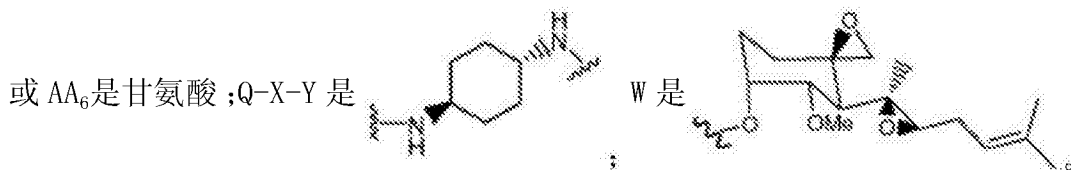
[0123] 在一些实施方式中, Z 是 $\text{H}_2\text{N-AA}_3\text{-AA}_4\text{-AA}_5\text{-AA}_6\text{-C(O)-}$; AA_5 是亮氨酸, 每个 AA_3 、 AA_4



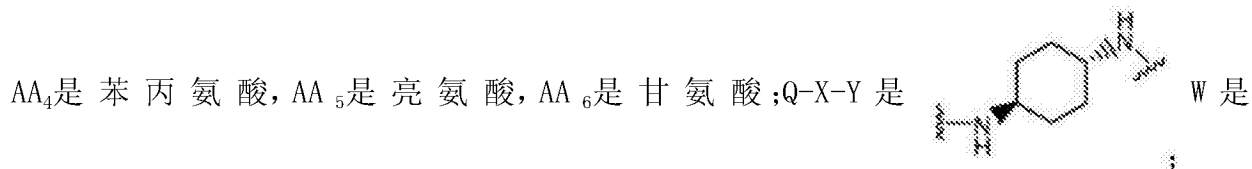
[0124] 在一些实施方式中, Z 是 $\text{H}_2\text{N-AA}_3\text{-AA}_4\text{-AA}_5\text{-AA}_6\text{-C(O)-}$; AA_5 是缬氨酸, 每个 AA_3 、 AA_4



[0125] 在一些实施方式中, Z 是 $\text{H}_2\text{N-AA}_3\text{-AA}_4\text{-AA}_5\text{-AA}_6\text{-C(O)-}$; AA_5 是苯丙氨酸, 每个 AA_3 、 AA_4



[0126] 在一些实施方式中, Z 是 $\text{H}_2\text{N-AA}_3\text{-AA}_4\text{-AA}_5\text{-AA}_6\text{-C(O)-}$; AA_3 是甘氨酸,

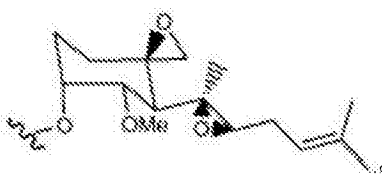


[0127] 在一些实施方式中, Z 是 $\text{H}_2\text{N-AA}_3\text{-AA}_4\text{-AA}_5\text{-AA}_6\text{-C(O)-}$; 每个 AA_3 、 AA_4 、 AA_5 和 AA_6 是甘

氨酸;Q-X-Y 是



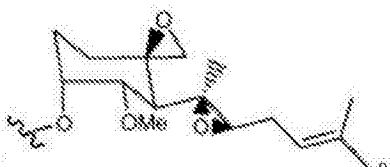
W 是



[0128] 在一些实施方式中,Z 是 $\text{H}_2\text{N-AA}_6\text{-C(O)-}$; AA_6 是甘氨酸;Q-X-Y 是



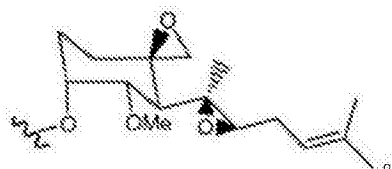
W 是



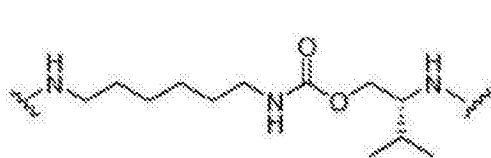
[0129] 在一些实施方式中,Z 是 H;Q-X-Y 是



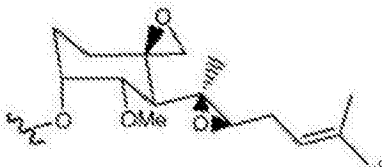
W 是



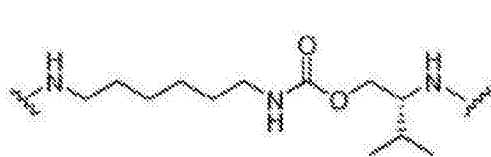
[0130] 在一些实施方式中,Z 是 $\text{H}_2\text{N-AA}_5\text{-AA}_6\text{-C(O)-}$; AA_5 是亮氨酸, AA_6 是甘氨酸;Q-X-Y 是



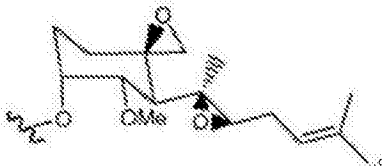
W 是



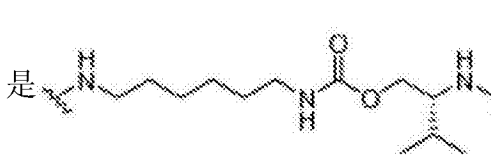
[0131] 在一些实施方式中,Z 是 $\text{H}_2\text{N-AA}_5\text{-AA}_6\text{-C(O)-}$; AA_5 是缬氨酸, AA_6 是甘氨酸;Q-X-Y 是



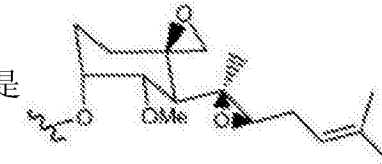
W 是



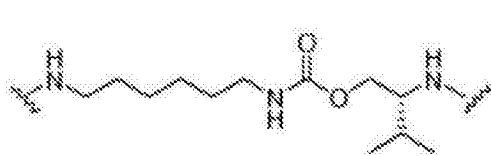
[0132] 在一些实施方式中,Z 是 $\text{H}_2\text{N-AA}_5\text{-AA}_6\text{-C(O)-}$; AA_5 是苯丙氨酸, AA_6 是甘氨酸;Q-X-Y 是



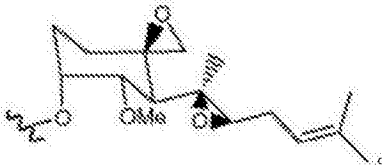
W 是



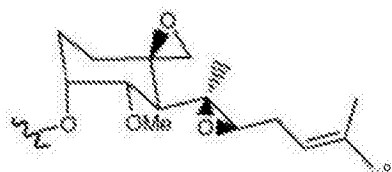
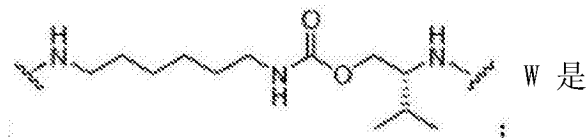
[0133] 在一些实施方式中,Z 是 $\text{H}_2\text{N-AA}_5\text{-AA}_6\text{-C(O)-}$; AA_5 是甘氨酸, AA_6 是甘氨酸;Q-X-Y 是



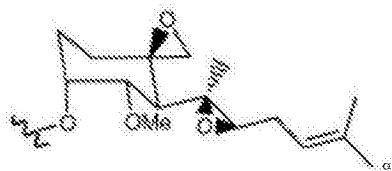
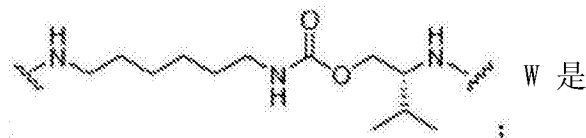
W 是



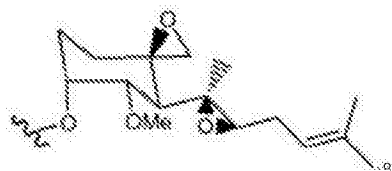
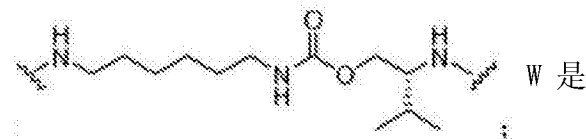
[0134] 在一些实施方式中, Z 是 $\text{H}_2\text{N-AA}_3\text{-AA}_4\text{-AA}_5\text{-AA}_6\text{-C(O)-}$; AA_5 是亮氨酸, 每个 AA_3 、 AA_4 或 AA_6 是甘氨酸; Q-X-Y 是



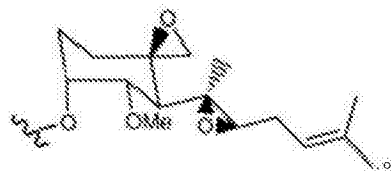
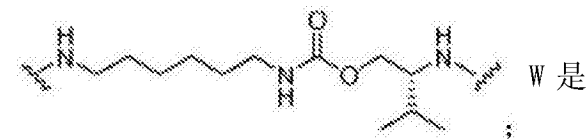
[0135] 在一些实施方式中, Z 是 $\text{H}_2\text{N-AA}_3\text{-AA}_4\text{-AA}_5\text{-AA}_6\text{-C(O)-}$; AA_5 是缬氨酸, 每个 AA_3 、 AA_4 或 AA_6 是甘氨酸; Q-X-Y 是



[0136] 在一些实施方式中, Z 是 $\text{H}_2\text{N-AA}_3\text{-AA}_4\text{-AA}_5\text{-AA}_6\text{-C(O)-}$; AA_5 是苯丙氨酸, 每个 AA_3 、 AA_4 或 AA_6 是甘氨酸; Q-X-Y 是



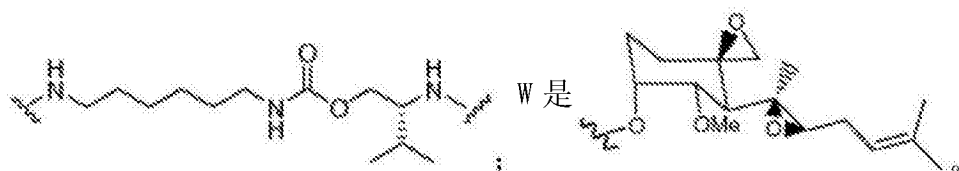
[0137] 在一些实施方式中, Z 是 $\text{H}_2\text{N-AA}_3\text{-AA}_4\text{-AA}_5\text{-AA}_6\text{-C(O)-}$; AA_3 是甘氨酸, AA_4 是苯丙氨酸, AA_5 是亮氨酸, AA_6 是甘氨酸; Q-X-Y 是

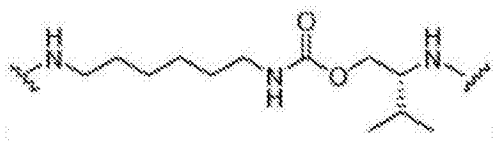


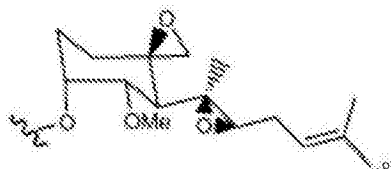
[0138] 在一些实施方式中, Z 是 $\text{H}_2\text{N-AA}_3\text{-AA}_4\text{-AA}_5\text{-AA}_6\text{-C(O)-}$; 每个 AA_3 、 AA_4 、 AA_5 或 AA_6 是甘氨酸; Q-X-Y 是



[0139] 在一些实施方式中, Z 是 $\text{H}_2\text{N-AA}_6\text{-C(O)-}$; AA_6 是甘氨酸; Q-X-Y 是

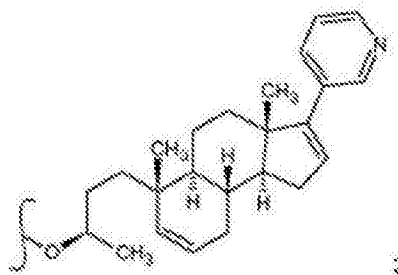
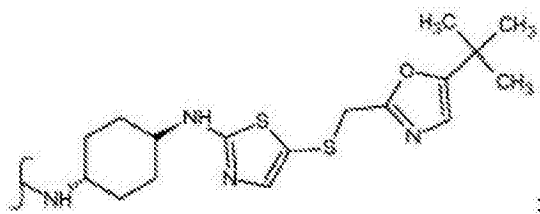


[0140] 在一些实施方式中, Z 是 H; Q-X-Y 是  W 是

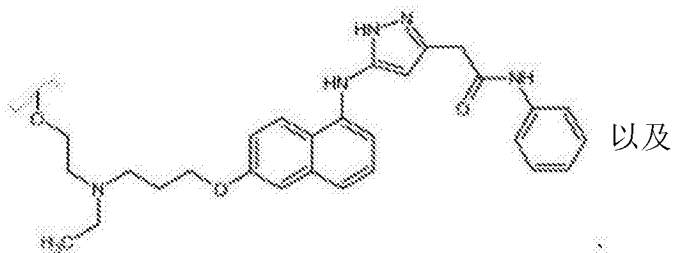


[0141] 可被修饰以用在本发明的缀合物中的其他活性部分包括以下结构:

[0142]

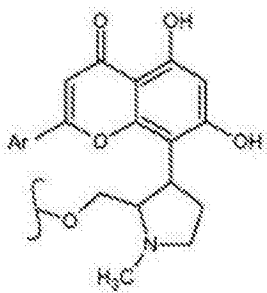


[0143]



以及

[0144]



[0145] 在一些实施方式中, 活性部分是抗肥胖化合物。在其他实施方式中, 该活性部分是抑制甲硫氨酸氨肽酶-2 (MetAP2) 的化合物, 例如烟曲霉素、烟霉醇, 或其类似物、

衍生物、盐或酯。进一步的示例性的 MetAP2 抑制剂在 Craig 等人的 US 6242494, Hong 等人的 US 6063812, Craig 等人的 US 6887863, BaMaung 等人的 US 7030262, Comess 等人的 US 7491718 中描述,这些文献中的每一项的全部内容都通过引用而并入本发明中。其他示例性的 MetAP2 抑制剂在 Wang et al. "Correlation of tumor growth suppression and methionine aminopeptidase-2 activity blockade using an orally active inhibitor," PNAS 105(6)1838-1843(2008); Lee et al. "Design, Synthesis, and Antiangiogenic Effects of a Series of Potent Novel Fumagillin Analogues," Chem. Pharm. Bull. 55(7)1024-1029(2007); Jeong et al. "Total synthesis and antiangiogenic activity of cyclopentane analogues of fumagillol," Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters 15, 3580-3583(2005); Arico-Muendel et al. "Carbamate Analogues of Fumagillin as Potent, Targeted Inhibitors of Methionine Aminopeptidase-2," J. Med. Chem. 52, 8047-8056(2009); 以及 Heinrich 等人的国际申请 WO 2010/003475 中描述。

[0146] 烟曲霉素是一种小分子,其已被用作抗菌剂和抗原生动物剂。其生化特性和制备方法是公知的(见 US 2803586 和 Turner, J. R. et al, The Stereochemistry of Fumagillin, Proc. Natl. Acad. Sci. 48, 733-735(1962))。发酵产品烟曲霉素可被水解产生醇烟霉醇,烟霉醇反过来可以被转化成多种衍生物,包括氨基甲酰烟霉醇、MW 325。美国专利 US 5166172 中描述了氨基甲酰烟霉醇和一些小分子衍生物的合成和制备。

[0147] 烟曲霉素和相关化合物被认为通过抑制 MetAP2 来发挥其生物作用。该酶从新生的细胞蛋白中移除 N 末端甲硫氨酸。(Tucker, L. A., et al "Ectopic Expression of Methionine Aminopeptidase-2 Causes Cell Transformation and Stimulates Proliferation", Oncogene 27, 3967(2008).)

[0148] 氨基甲酰烟霉醇和衍生物以及 MetAP2 的其他抑制剂已在临床前和临床研究中显示出疗效。这些化合物已知细胞增殖和血管生成,如在美国专利 US 5166172 中所述。烟霉醇类似物或衍生物,例如 CKD-732 和 PI-2458,在多种系统中被深入地研究,如在 Bernier et al., "Fumagillin class inhibitors of methionine aminopeptidase-2" Drugs of the Future 30(5):497-508, 2005 中所详细描述。

[0149] 烟曲霉素及其类似物的抗肥胖作用是公知的。Rupnick et al. "Adipose tissue mass can be regulated through the vasculature" PNAS 99, 10730-10735, 2002 中描述了在 TNP-470 的日剂量为 2.5mg/kg 至 10mg/kg 的 ob/ob 小鼠的体重减轻。Brakenhielm 描述了在每隔一天为 15 或 20mg/kg 的 TNP-470 剂量下的肥胖症的预防("The Angiogenesis Inhibitor, TNP-470, Prevents Diet-Induced and Genetic Obesity in Mice" Circulation Research 94:1579-1588, 2004)。Kim 等人在 "Assessment of the anti-obesity effects of the TNP-470 analog, CKD-732" J Molecular Endocrinology 38, 455-465, 2007 中描述了在 5mg/kg/ 天的剂量下的 C57BL/6J 小鼠和 SD 大鼠中的体重减轻。Fumagillin reduces adipose tissue formation in murine models of nutritionally induced obesity" Obesity 12, 2241-2246, 2010 描述了每天口服给药 1mg/kg 的烟曲霉素导致 C57BL/6 小鼠的体重减轻。

[0150] 这些衍生物中的一种,氯乙酰基氨基甲酰烟霉醇 (TNF-470) 已经被广泛地研究。

(见 H. Mann-Steinberg, et al, "TNP-470: The Resurrection of the First Synthetic Angiogenesis Inhibitor", Chapter 35 in Folkman and Figg, Angiogenesis: An Integrative Approach from Science to Medicine, Springer NY (2008).) TNF-470 已显示出针对许多癌症有活性, 包括肺癌、宫颈癌、卵巢癌、乳腺癌和结肠癌。由于剂量限制的神经毒性, TNF-470 已被尝试使用多次给药方案, 但是为限制其毒性的这些尝试并未成功。因此, TNF-470 已被发现毒性太强而不能用于人的使用。TNF-470 具有短的半衰期, 因此对于治疗应用, 需要延长的静脉内施用。TNF-470 的代谢物, 氨基甲酰烟霉醇在人体中具有 12 分钟的半衰期。(见 Herbst et al., "Safety and Pharmacokinetic Effects of TNP-470, an Angiogenesis Inhibitor, Combined with Paclitaxel in Patients with Solid Tumors: Evidence for Activity in Non-Small-Cell Lung Cancer", Journal of Clinical Oncology 20(22) 4440-4447 (2002).) 此外, 烟曲霉素及其衍生物是疏水的, 并难以配制。

[0151] 尽管烟曲霉素衍生物的有用性已知, 它们并未被成功地用于治疗, 因为并未成功地解决这些化合物的低水溶性、短半衰期值以及毒害神经的副作用的问题。TNF-470 与紫杉醇的结合被确定了, 基于先前观察的剂量每周三次地使用 60mg/m² 剂量的 MTD 限制神经精神性毒性。Herbst et al., "Safety and pharmacokinetic effects of TNP-470, an angiogenesis inhibitor, combined with paclitaxel in patients with solid tumors: evidence for activity in non-small-cell lung Cancer" Journal of Clinical Oncology 20, 4440-4447, 2002. Similarly Shin et al. "A Phase I pharmacokinetic and pharmacodynamics study of CKD-732, an antiangiogenic agent, in patients with refractory solid cancer" Investigational New Drugs 28, 650-658, 2010 报道了, 由于意识模糊和失眠的原因, CKD-732 的 MTD 被以每四天以 15mg/m²/天的剂量给药的方案来给药。因此, 本发明的化合物比目前已知的烟曲霉素衍生物更有效, 显示出减少的毒性(更少的神经毒性)、改善的水溶性、更稳定, 和/或具有更长的半衰期(血清半衰期)。

[0152] 如本文所使用的短语“减少的毒性”具有如本领域技术人员所理解的常规意思。仅仅通过例子以及不意在限制该术语的意思, 在使用小鼠的旷场实验中, 相比于单独的烟曲霉素类似物, 烟曲霉素类似物缀合物的施用引起较少的副作用。

[0153] 短语“改善的水溶性”具有本领域技术人员所理解的常规意思。仅仅通过例子以及不意在限制该术语的意思, 该术语的以下描述是提供信息性的: 与未缀合的烟曲霉素类似物单独溶解于水中相比, 由于共价地结合于缀合物中, 增加的量的烟曲霉素类似物会溶解在水中。

[0154] 短语“较长的半衰期”具有本领域技术人员所理解的常规意思。仅仅通过例子以及不意在限制该术语的意思, 该术语的以下描述是提供信息性的: 与单独的烟曲霉素类似物在体内或体外的半衰期相比, 使烟曲霉素类似物在体内或体外失效所需的时长的任何合适的增加。

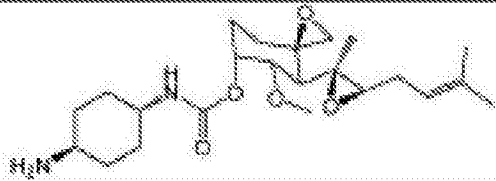
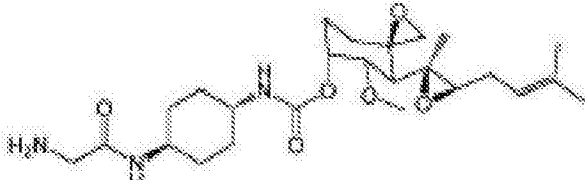
[0155] 不被任何理论所束缚地, 用以抑制胞外信号调节激酶 1 和 2 (ERK1/2) 的活性的 MetAP2 的非酶促行为是重要的, 可能是真核起始因子、eIF 被 MetAP2 结合。反映潜在的 ERK 相关过程的对 MetAP2 抑制的细胞反应可包括甾醇调节因子结合蛋白 1 (SREBP) 活性的抑制, 导致减少的脂质和胆固醇生物合成。有趣的是, 在延长的(大约 9 个月)烟曲霉素

暴露之后,在肝脏和脂肪组织的表达模式的改变表明了 MetAP2 抑制也可能改变炎症涉及的因素的相对多度 (relative abundance),与减少的 ERK- 依赖的细胞过程相符。导致脂肪储存处的活动化和游离脂肪酸的分解代谢作为身体提供的能源的 MetAP2 抑制的推定机理,得到血浆 β -羟基丁酸、脂联素、瘦素和在以前的研究中观察到的 FGF21 的改变的支持。主要的分解代谢激素脂联素和 FGF21 水平的提高,加上酮体 (β -羟基丁酸) 的出现,说明了通过本发明的缀合的或修饰的烟曲霉素、烟霉醇,或其类似物、衍生物、盐或酯化合物的 MetAP2 抑制刺激能量消耗,脂肪利用和脂质排泄。在以前的研究和在此提供的研究中观察到的脂质的减少与总的脂肪组织的减少和负能量平衡相符。还可能的是,本发明的缀合的或修饰的烟曲霉素、烟霉醇,或其类似物、衍生物、盐或酯化合物与 MetAP2 形成共价键,由此不可逆地抑制和存在的酶或使其沉默,直到 MetAP2 的新生产的池在目标组织例如肝脏和脂肪组织中产生。

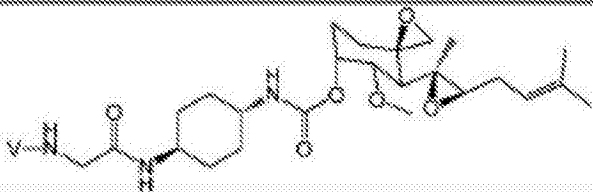
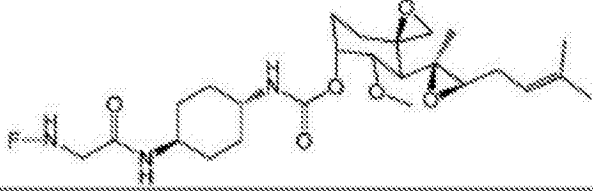
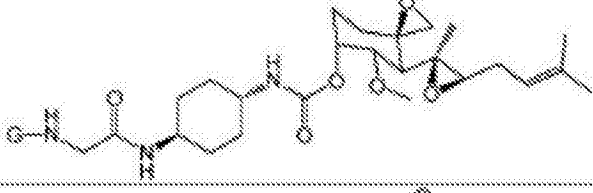
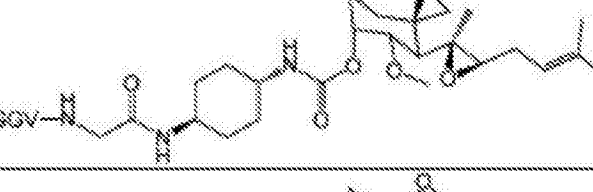
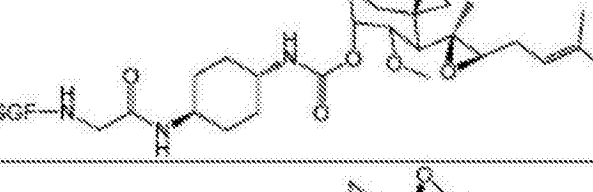
[0156] 在一些实施方式中,本发明的缀合的或修饰的烟曲霉素、烟霉醇,或其类似物、衍生物、盐或酯化合物,例如具有如表 1 所示的以下结构式。

[0157] 表 1

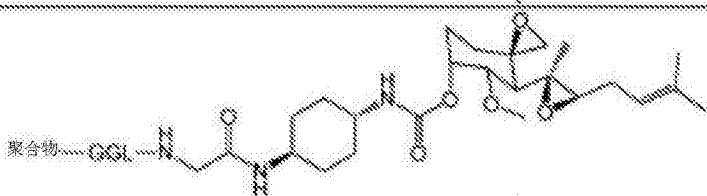
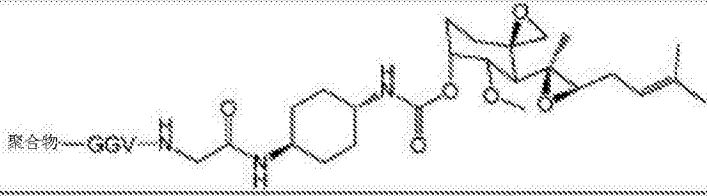
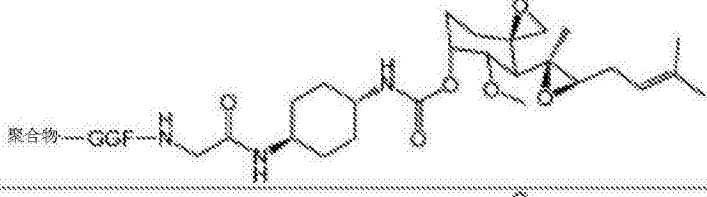
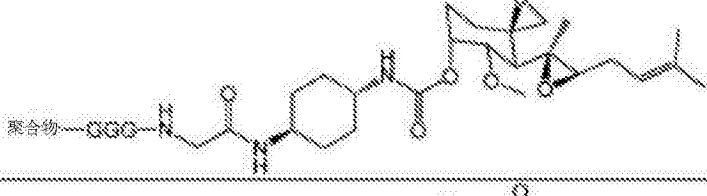
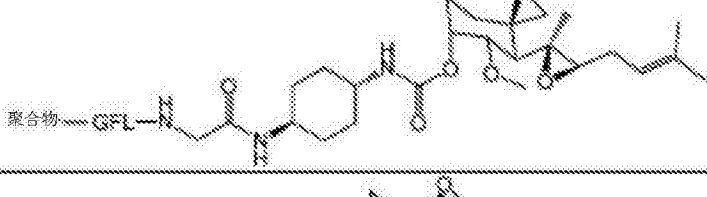
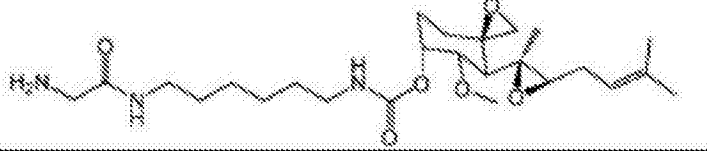
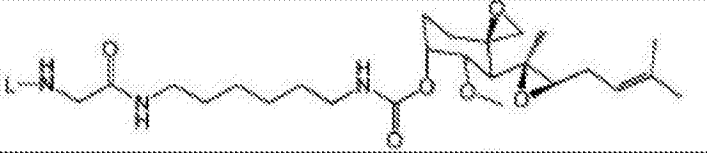
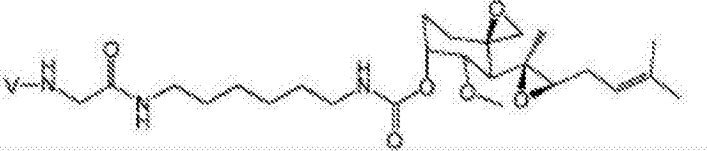
[0158]

化合物 序号	化学结构
1	
2	
3	

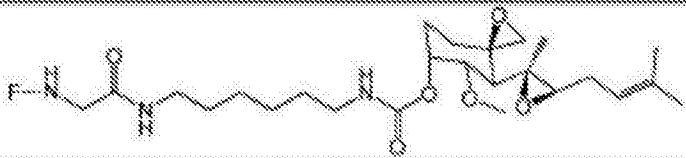
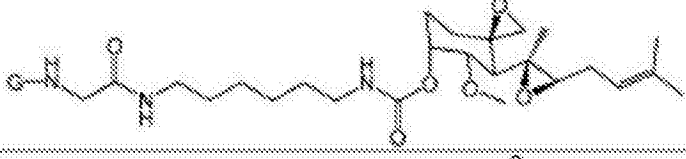
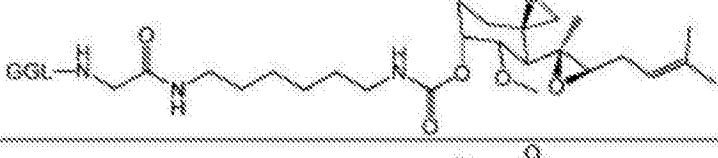
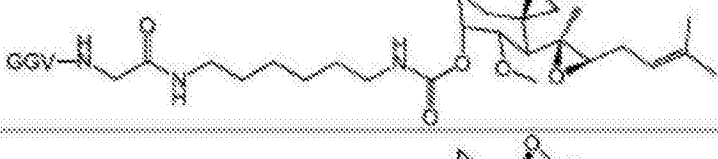
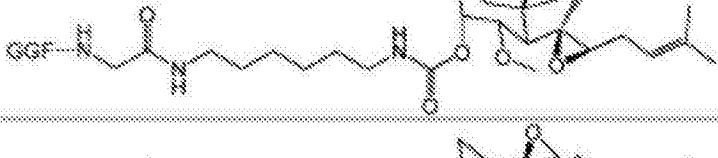
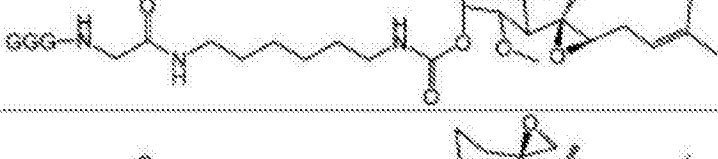
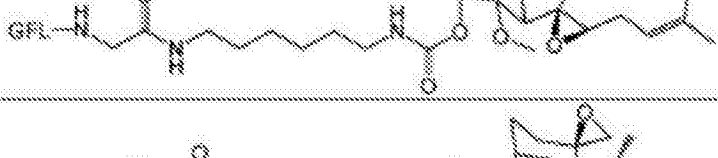
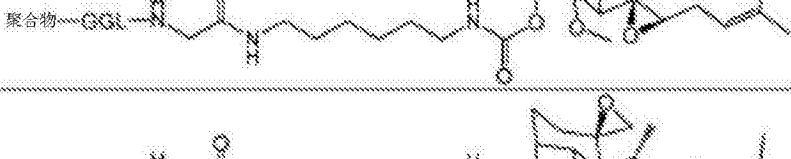
[0159]

4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	
11	

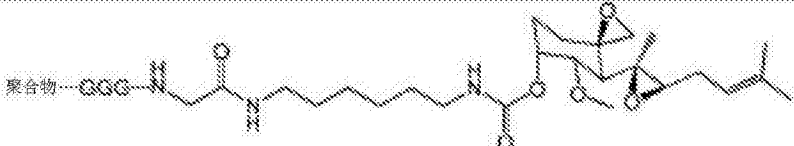
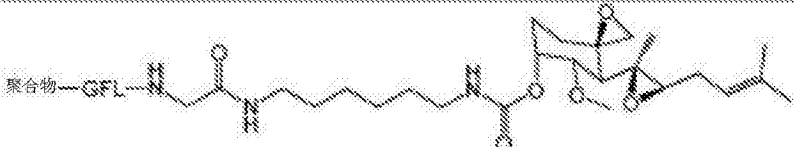
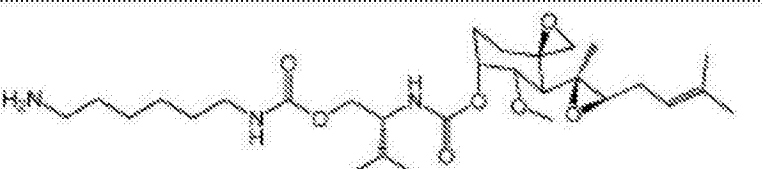
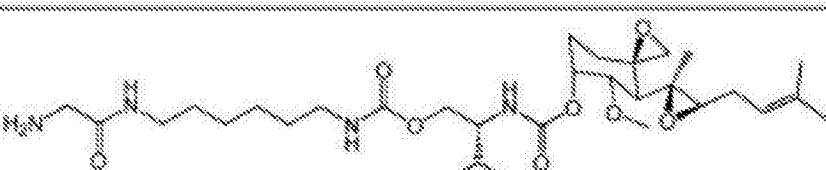
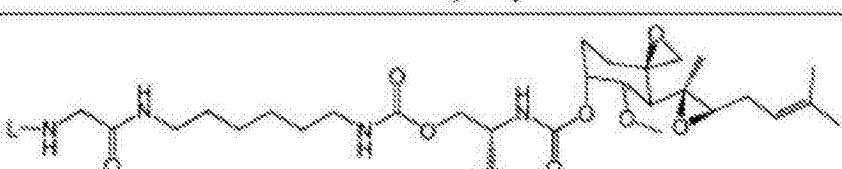
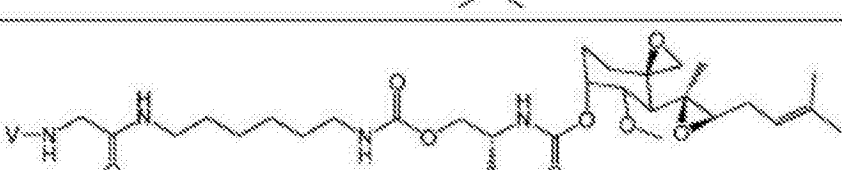
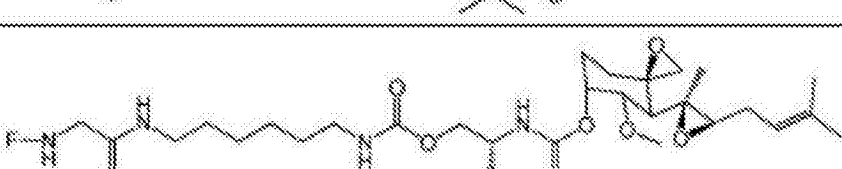
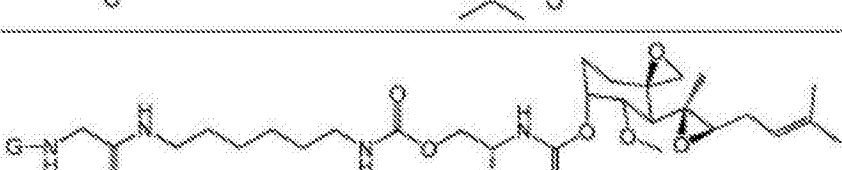
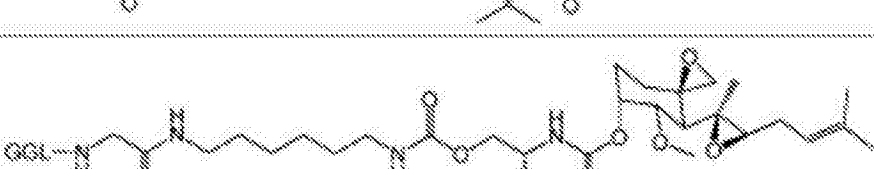
[0160]

12	
13	
14	
15	
16	
17	
18	
19	
20	

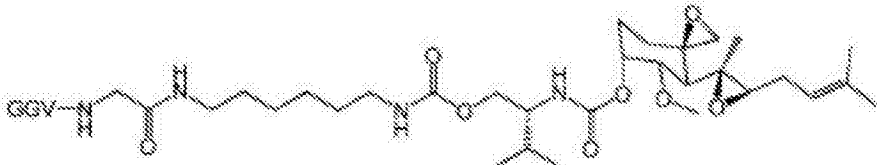
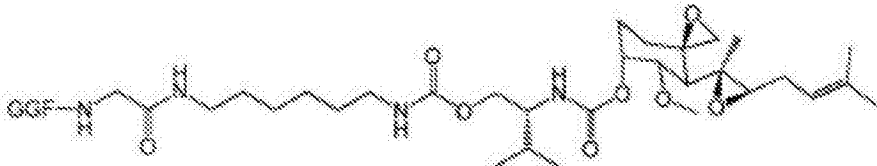
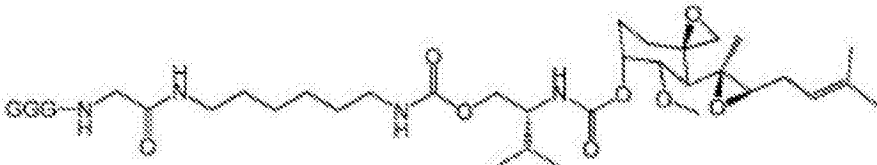
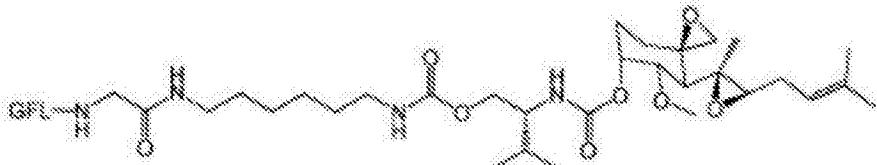
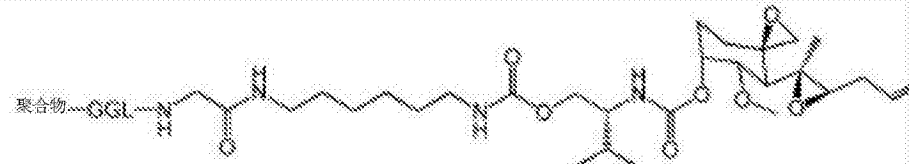
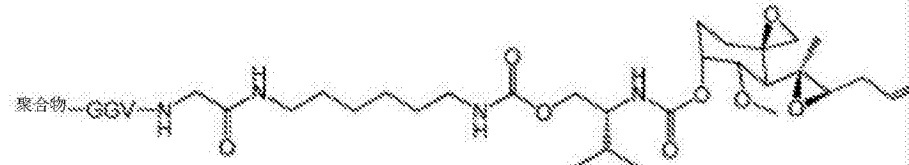
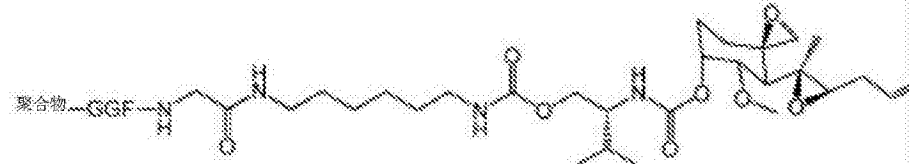
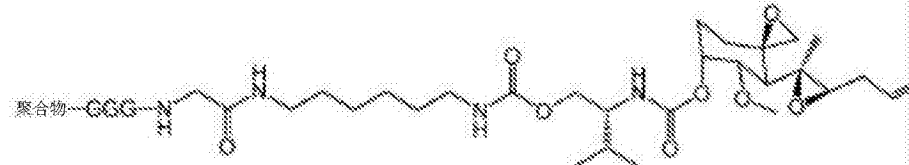
[0161]

21	
22	
23	
24	
25	
26	
27	
28	
29	
30	

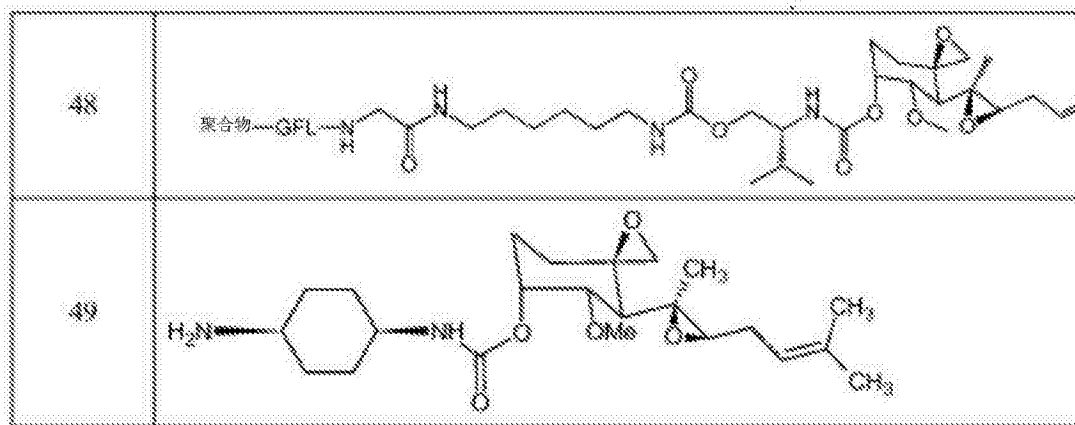
[0162]

31	
32	
33	
34	
35	
36	
37	
38	
39	

[0163]

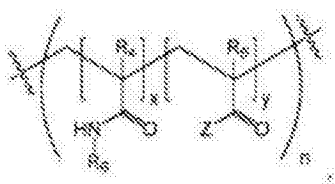
40	
41	
42	
43	
44	
45	
46	
47	

[0164]



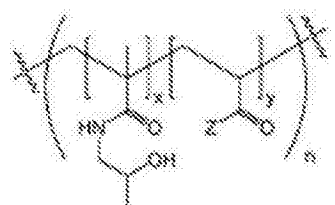
[0165] * 其中, 聚合物具有以下结构:

[0166]



[0167] 优选具有以下结构:

[0168]



[0169] 出于本发明的目的, 化学元素被根据元素周期表 (CAS 版本, Handbook of Chemistry and Physics, 67th Ed., 1986-87 (内封面)) 鉴定。

[0170] 术语“烷基”是指充分饱和的支链或非支链碳链基团, 其具有指定的碳原子数, 或如无特别说明则具有高达 30 个碳原子。例如, “低级烷基”指具有 1-10 个碳原子的烷基, 例如甲基、乙基、丙基、丁基、戊基、己基、庚基和辛基, 以及这些烷基的位置异构体。10-30 个碳原子的烷基包括癸基、十一烷基、十二烷基、十三烷基、十四烷基、十五烷基、十六烷基、十七烷基、十八烷基、十九烷基、二十烷基、二十一烷基、二十二烷基、二十三烷基和二十四烷基。在一些实施方式中, 直链或支链烷基在其骨架上具有 30 或更少的碳原子数 (例如, 对于直链为 C_1-C_{30} , 对于支链为 C_3-C_{30}), 更优选 20 或更少个。类似的, 某些环烷基在其环结构具有 3-10 个碳原子, 可能在环结构中具有 5、6 或 7 个碳原子。

[0171] 除非碳原子数另有限定, 如在此所使用的“低级烷基”指如上所限定的烷基基团, 但是在其骨架上具有从 1 至 10 个碳原子, 或从 1 至 6 个碳原子, 例如甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基和叔丁基。类似地, “低级烯基”和“低级炔基”具有类似的链长度。在整个申请中, 某些烷基基团是低级基团。在一些实施方式中, 在此指定为烷基的取代基是低级烷基。

[0172] 如在此所使用的术语“碳环”是指环上的每个原子都是碳原子的芳香的或非芳香的环。

[0173] 如在此所使用的术语“芳基”包括 5-、6- 和 7- 元单环芳香基团,所述单环芳香基团可包括 0 至 4 个杂原子,例如苯、吡咯、呋喃、噻吩、咪唑、恶唑、噻唑、三唑、吡唑、吡啶、吡嗪、哒嗪和嘧啶,或类似物。这些在环结构上具有杂原子的芳香基团也称为“芳香杂环化合物”或“杂芳族化合物”。芳香环可以在一个或多个环位置上被如上所述的取代基取代,例如卤、叠氮化物、烷基、芳烷基、烯基、炔基、环烷基、羟基、烷氧基、氨基、硝基、巯基、亚氨基、酰氨基、膦酸酯、次膦酸酯、羰基、羧基、甲硅烷基、醚、烷硫基、磺酰基、磺酰氨基、酮、醛、酯、杂环基、芳香族或杂芳族基团、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{CN}$,或类似物。术语“芳基”也包括具有两个或更多个环形环的多环形环体系,其中两个或多个碳为邻接的环所共享(该环是“稠环”),其中这些环中的至少一个是芳香族的,例如其他环形环体系是环烷基、环烯基、环炔基、芳基,和/或杂环基。

[0174] “烯基”是指任何支链或非支链的不饱和碳链基团,其具有指定的碳原子数,或如果没有对碳原子数具体限定,则高达 26 个碳原子;并且其在基团中具有 1 个或多个双键。6-26 碳原子的烯基示例性地为己烯基、庚烯基、辛烯基、壬烯基、癸烯基、十一碳烯基、十二碳烯基、十三碳烯基、十四碳烯基、十五碳烯基、十六碳烯基、十七碳烯基、十八碳烯基、十九碳烯基、二十碳烯基、二十一碳烯基、二十二碳烯基、二十三碳烯基和二十四碳烯基,在其多种异构体形式中,不饱和键可位于基团中的任何位置,并双键可以是 (Z) 或 (E) 构型。

[0175] 术语“炔基”指烯基范围的烃基基团,但在基团中具有一个或多个三键。

[0176] 如在此所述使用的术语“烷氧基的”或“烷氧基”是指烷基基团,如下面所定义的,其连接有氧基。代表性的烷氧基基团包括甲氧基、乙氧基、丙氧基、叔丁氧基,或类似物。“醚”指两个碳氢化合物被氧共价地连接。因此,使得烷基成为醚的烷基取代基是或者类似于烷氧基的,例如可以表示为 -O- 烷基、-O- 烯基、-O- 炔基、-O-(CH₂)_m-R₁中的一种,其中 m 和 R₁如下所述。

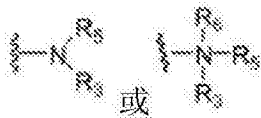
[0177] 术语“杂环基”或“杂环基团”是指 3-至 10-元环结构,更优选地 3-至 7-元环结构,其环结构包括 1 个至 4 个杂原子。杂环也可以是多环的。杂环基团包括例如噻吩、噻蒎、呋喃、吡喃、异苯并呋喃、色烯、咕吨、吩噻、吡咯、咪唑、吡唑、异噻唑、异恶唑、吡啶、吡嗪、嘧啶、哒嗪、𫍇嗪、异𫍇嗪、𫍇唑、嘌呤、嘧啶、喹啉、喹啶、酞嗪、萘啶、喹喔啉、喹唑啉、噌啉、蝶啶、卟啉、卟琳、菲啶、吲啶、嘓啶、菲咯琳、吩嗪、吩砒嗪、吩噻嗪、呋咱、吩恶嗪、吡咯烷、氧杂环戊烷、硫杂环戊烷、恶唑、哌啶、哌嗪、吗啉、内酯类、内酰胺类如氮杂环丁酮类和吡咯烷酮类、磺内酰胺类、磺酸内酯类,或类似物。杂环可以在一个或多个位置被如上所述的取代基取代,例如卤素、烷基、芳烷基、烯基、炔基、环烷基、羟基、氨基、硝基、巯基、亚氨基、酰氨基、磷酸酯、膦酸酯、次膦酸酯、羰基、羧基、甲硅烷基、氨磺酰基、亚磺酰基、醚、烷硫基、磺酰基、酮、醛、酯、杂环基、芳族或杂芳族基团、 $-CF_3$ 、 $-CN$,或类似物。

[0178] 术语“烷硫基”是指烷基基团,如上所述,其连接有硫基。在一些实施方式中,“烷硫基”基团通过 $-(S)-$ 烷基、 $-(S)-$ 烯基、 $-(S)-$ 炔基和 $-(S)-(CH_2)_m-R_1$ 中的一个表示,其中 m 和 R_1 如下所定义。代表性的烷硫基基团包括甲硫基、乙硫基以及类似物。

[0179] 如在此所述使用的,术语“硝基”意思是指 $-NO_2$;术语“卤素”是指 F、Cl、Br 或 I;术语“巯基”是指 $-SH$;术语“羟基”是指 $-OH$;术语“磺酰基”是指 $-SO_2-$ 。

[0180] 术语“胺”和“氨基”是领域公知的,指未取代或取代的胺类,例如可以通过以下通式表达的基团:

[0181]



[0182] 其中, R_3 、 R_5 和 R_6 各自独立地表示氢、烷基、烯基、 $-O-(CH_2)_m-R_1$ 中, 或 R_3 和 R_5 与其所连接的 N 一起组成在环结构上具有 4 至 8 个原子的杂环; R_1 表示烯基、芳基、环烷基、环烯基、杂环基或多环基; m 是 0 或 1 至 8 的整数, R_3 和 R_5 中只有一个是羰基, 例如 R_3 、 R_5 和 N 一起不会形成酰亚胺。在一些实施方式中, R_3 和 R_5 (以及任选地 R_6) 各自独立地表示氢、烷基、烯基或 $-O-(CH_2)_m-R_1$ 。因此, 如在此所使用的术语“烷胺基”是指胺基基团, 如上所述, 连接有取代或未取代的烷基, 即, R_3 和 R_5 中的至少一个是烷基基团。在一些实施方式中, 胺基基团或烷胺基是碱性的, 意思是其 $pK_a > 7.00$ 。这些功能基团的质子化形式相对于水具有大于 7.00 的 pK_a 。

[0183] 术语“羰基”(C(O)) 是本领域公知的, 包括可通过以下通式表示的基团:

[0184]

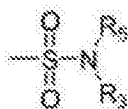


[0185] 其中, X 是键或表示氧或硫, R_7 表示氢、烷基、烯基、 $-O-(CH_2)_m-R_1$ 或药学上可接受的盐, R_8 表示氢、烷基、烯基或 $-O-(CH_2)_m-R_1$, 其中 m 和 R_1 如上所定义。当 X 是氧, R_7 或 R_8 不是氢时, 结构式表示一种“酯”。当 X 是氧, R_7 如上所定义时, 该基团在此被称为羧基基团, 尤其是当 R_7 是氢时, 结构式表示“羧酸”。当 X 是氧, R_8 是氢时, 结构式表示“甲酸酯”。通常, 当上述结构式的氧原子被硫取代时, 结构式表示“硫代羰基”基。当 X 是硫, R_7 或 R_8 不是氢时, 结构式表示“硫酯”基团。当 X 是硫, R_7 是氢时, 结构式表示“硫代羧酸”基团。当 X 是硫, R_8 是氢时, 结构式表示“硫代甲酸酯”基团。另一方面, 当 X 是键, R_7 不是氢时, 上述结构式表示“酮”基团。当 X 是键, R_7 是氢时, 上述结构式表示“醛”基团。

[0186] 如在此所使用的, 术语“取代的”意在包括有机化合物的所有可允许的取代基。在一个宽泛的方面, 可允许的取代基包括有机化合物的非环形的和环形的、支链的和非支链的、碳环的和杂环的、芳香族的和非芳香族的取代基。示例性的取代基包括例如上面所述的那些取代基。对于合适的有机化合物, 可允许的取代基可以是一个或多个的相同或不同的。对于本发明的目的, 杂原子例如氮可以带有氢取代基和 / 或有机化合物的在此所描述的任何可允许的取代基, 该取代基满足杂原子的化合价。本发明意在不以任何方式的有机化合物的可允许的取代基所限制。应理解, “取代”或“用……取代”包括暗含的条件, 即这样的取代与被取代的原子的和取代基的被允许的化合价相符, 并且该取代能带来稳定的化合物, 例如不自发地经历例如通过重排、环化、消除等的转化。

[0187] 术语“氮磺酰”是本领域公知的, 包括可通过如下通式表示的部分:

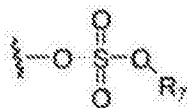
[0188]



[0189] 其中, R_3 和 R_5 是如上所定义。

[0190] 术语“硫酸酯”是本领域公知的,包括可通过如下通式表示的部分:

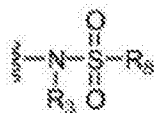
[0191]



[0192] 其中, R_7 是如上所定义。

[0193] 术语“磺氨基”是本领域公知的,包括可通过如下通式表示的部分:

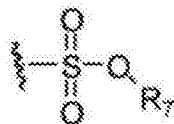
[0194]



[0195] 其中, R_2 和 R_4 是如上所定义。

[0196] 术语“磺酸酯”是本领域公知的,包括可通过如下通式表示的部分:

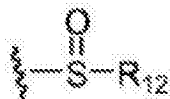
[0197]



[0198] 其中, R_7 是电子对、氢、烷基、环烷基或芳基。

[0199] 如在此所使用的“亚砷”或“亚磺酰基”是指可通过如下通式表示的部分:

[0200]



[0201] 其中, R_{12} 选自自由氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环基、芳烷基或芳基组成的组中。

[0202] 类似的取代基可以用于烯基和炔基基团,以产生例如氨基烯基、氨基炔基、酰胺基烯基、酰胺基炔基、亚氨基烯基、亚氨基炔基、硫代烯基、硫代炔基、羰基取代的烯基或炔基。

[0203] 如在此所使用的,每种表述的定义,例如炔基、m、n 等,当其在任何结构中出现不只一次时,意味着在同一个结构中的不同位置的定义是独立的。

[0204] 术语“氨基酸”意在包含包括氨基功能团和酸功能团的所有化合物,无论是天然的还是合成的,其包括氨基酸类似物和衍生物。在一些实施方式中,本发明中涉及的氨基酸是在蛋白质中发现的天然产生的氨基酸,或者是这样的氨基酸的天然产生的合成代谢的或分解代谢的产物,其包括氨基和羧基基团。天然产生的氨基酸通过常规的三-字母和/或一-字母缩写来表示,对应于氨基酸的俗名,根据随后的列表。该缩写肽领域中接受,且被生物化学命名 IUPAC-IUB 委员会所推荐。

[0205] 通过术语“氨基酸残基”指氨基酸。通常在此使用的用于指明天然发生的氨基酸的缩写是基于生物化学命名 IUPAC-IUB 委员会的推荐(见 Biochemistry(1972)11:1726-1732)。例如, Met、He、Leu、Ala 和 Gly 分别表示甲硫氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、丙氨酸和甘氨酸。残基是指通过消除羧基的 OH 部分和氨基的 H 部分而衍生于相应的氨基酸的基团。

[0206] 术语“氨基酸侧链”是氨基酸残基除了骨架外的部分,如被 K. D. Kopple, "Peptides and Amino Acids", W. A. Benjamin Inc., New York and Amsterdam, 1966, pages

2and 33 所定义的；常见氨基酸的这样的侧链的例子是 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SCH}_3$ （甲硫氨酸的侧链）、 $-\text{CH}_2(\text{CH}_3)-\text{CH}_2\text{CH}_3$ （异亮氨酸的侧链）、 $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ （亮氨酸的侧链）或 $\text{H}-$ （甘氨酸的侧链）。这些侧链挂在骨架 $\text{C}\alpha$ 碳上。

[0207] 在此所使用的术语“肽”是指通过肽键或通过修饰的肽键连接在一起的氨基酸残基的序列。术语“肽”意在包括肽类似物、肽衍生物、模拟肽和肽变体。术语“肽”被理解为包括任何长度的肽类。在此给出的肽序列根据通常被接受的惯例来书写，其中 N 末端氨基酸在左边，C 末端的氨基酸在右边（ $\text{H}_2\text{N}-\text{AA}_1-\text{AA}_2-\text{AA}_3-\text{AA}_4-\text{AA}_5-\text{AA}_6-\text{CO}_2\text{H}$ ）。

[0208] 本发明的某些化合物可存在尤其是几何学的或立体异构的形式。本发明涉及所有的此类化合物，包括顺式和反式异构体、R- 和 S- 对映异构体、非对映异构体、(D)- 异构体、(L)- 异构体、其外消旋混合物及其其他混合物，同样落入本发明的范围内。其他的不对称碳原子可以存在例如烷基基团的取代基中。所有这类异构体及其混合物包括在本发明中。具体异构体的任何表示仅仅是示例性的（例如反式异构体的举例，也包括顺式异构体）。

[0209] 例如，如果需要本发明的化合物的特定对映异构体，其可通过不对称合成或通过手性助剂的衍生来制备，其中产生的非对映异构体混合物被分离，助剂基团剪切，以提供纯的所学的异构体。可替代的是，在分子包含例如氨基的碱性功能基团，或例如羧基的酸性功能基团的情况下，非对映的盐可通过合适的光学活性酸或碱来形成，然后通过本领域有公知的分级结晶或色谱方式对如此形成的非对映异构体进行再溶解，然后回收纯的对映体。

[0210] 本发明的化合物的合成

[0211] 本发明的合成方法可以接受很多种功能团；因此可以使用多种取代的起始原料。该方法通常在整个方法的结尾或接近结尾时提供所需的最终化合物，尽管在某种程度上可能期望将该化合物进一步转化为其药学上可接受的盐、酯或前药。

[0212] 本发明的化合物可以使用可商购的起始原料、文献中已知的化合物或源自直接制备的中间体，通过本领域技术人员公知的或者在此教导下对于本领域技术人员而言是显而易见的标准合成方法和程序的多种路径来制备。用于制备有机分子和功能基团转换的标准合成方法和操作可通过相关的科学文献或从本领域的标准教科书获得。尽管不限制于任何一种或多种资源，典型的文章例如通过引用结合进来的 Smith, M. B., March, J., March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure, 5th edition, John Wiley & Sons: New York, 2001；和 Greene, T. W., Wuts, P. G. M., Protective Groups in Organic Synthesis, 3rd edition, John Wiley & Sons: New York, 1999，都是对于本领域技术人员公知的对有机合成有用的和公认的参考教科书。合成方法的以下描述被设计来说明而不是限制用于制备本发明的化合物的一般程序。

[0213] 本发明的化合物可以通过本领域技术人员熟悉的多种方法来方便地制备。本发明的化合物可根据在此提供的方案和例子，由可商购的起始原料或使用文献程序来制备的起始原料来制备。本发明的化合物及其合成在 PCT 公开出版物 WO 2011/150088 和 WO 2011/150022 中进一步描述。出于所有目的，这两项公开出版物的全部内容通过引用而并入本发明中。

[0214] 药物组合物

[0215] 本发明还提供药物组合物，所述药物组合物包括本发明的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物、非对映异构体和多晶型物，以及药学上可接受的载体或赋形剂。

[0216] 如在本文中所用的“药学上可接受的赋形剂”或“药学上可接受的载体”意在包括任何和所有的与药物给药相兼容的溶剂、分散介质、包衣、抗菌剂和抗真菌剂、等渗和吸收性延迟剂等。适宜的载体在 Remington's Pharmaceutical Sciences——本领域的标准参考书的最新版本中描述。这些载体或稀释剂的优选的例子包括但不限于水、盐水、ringer 试剂、右旋葡萄糖溶液以及 5% 人血清白蛋白。

[0217] 药学上可接受的载体包括固体载体,例如乳糖、石膏粉、蔗糖、滑石、明胶、琼脂、果胶、阿拉伯胶、硬脂酸镁、硬脂酸等。示例性的液体载体包括糖浆、花生油、橄榄油、水等。类似地,载体或稀释剂可包括本领域公知的延时材料,例如单独的或带有蜡的单硬脂酸甘油酯或甘油二硬脂酸酯、乙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、甲基丙烯酸甲酯等。其他填料、赋形剂、调味剂和例如本领域公知的其他添加剂也可以包括在根据本发明的药物组合物中。也可以使用诸如固定油的脂质体和非水运载体。除非任何传统的介质或试剂与活性化合物不兼容,其在组合物中的使用是可以预期的。增补的活性化合物也可以被结合在组合物中。在一些实施方式中,药物组合物包含 DMSO。

[0218] 术语“药学上可接受的盐”是指化合物的相对无毒性的,无机或有机酸加成盐。这些盐可以在化合物的最后的分离和纯化期间原位制备,或者通过分开地使自由碱形式的纯化的化合物与合适的有机或无机酸反应,并分离由此产生的盐。代表性的盐包括氢溴酸盐、盐酸盐、硫酸盐、硫酸氢盐、磷酸盐、硝酸盐、乙酸盐、戊酸盐、油酸盐、棕榈酸盐、硬脂酸盐、月桂酸盐、苯甲酸盐、乳酸盐、磷酸盐、甲苯磺酸盐、柠檬酸盐、马来酸盐、富马酸盐、琥珀酸盐、酒石酸盐、茶酸盐、甲磺酸盐、葡庚糖酸盐、乳糖酸盐和月桂基磺酸盐等。代表性的碱金属盐和碱土金属盐包括锂、钠、钾、钙、镁和铝盐等。适用于形成碱加成盐的代表性的有机胺包括乙胺、二乙胺、乙二胺、乙醇胺、二乙醇胺、哌嗪等(例如见 Berge et al. (1977) "Pharmaceutical Salts", J. Pharm. Sci. 66:1-19)。

[0219] 在此使用短语“药学上可接受”来指在可靠医疗判断的范围内,适用于与人类或动物的组织接触的应用的,基本上无热源的,不具有过度毒性、刺激性、变态反应或其他问题或并发症,与合理的益处/风险比例相称的那些配体、材料、组合物和/或剂型。

[0220] 如在此所使用的,术语“代谢物”是指本发明的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物、非对映体和多晶型物的代谢的产物,其在体内显示出与本发明的化合物或药学上可接受的盐、溶剂化物、非对映体和多晶型物相似的活性。

[0221] 如在此所使用的,术语“前药”意思是本发明的化合物或药学上可接受的盐、溶剂化物、非对映体和多晶型物共价连接至一个或多个前基团,例如氨基酸部分或其他水溶性部分。本发明的化合物或药学上可接受的盐、溶剂化物、非对映体和多晶型物可以通过水解、氧化和/或酶促释放机制从前基团中释放出来。在一个实施方式中,本发明的前药组合物展示了提高的水溶性、改善的稳定性和改善的药代动力学模式的增加的好处。可以选择前基团以获得所需的前基团特征。例如,前基团,例如 RR4 范围内的氨基酸部分或其他水溶性部分例如磷酸盐,可基于溶解性、稳定性、生物利用度和/或体内输送或吸收来选择。前药的例子包括但不限于本发明的化合物中的羟基功能基团的酯类(例如乙酸盐、二烷基氨基乙酸酯、甲酸盐、磷酸盐、硫酸盐和苯甲酸酯衍生物)和氨基甲酸酯(例如 N, N-二甲基氨基羰基),羰基功能基团的酯类(例如乙酯、吗啉代乙醇酯),氨基功能基团的 N 酰基衍生物(例如 N-乙酰基) N-Mannich 碱、席夫碱和烯胺酮,酮和醛基功能基团的肟、缩醛、缩酮和烯

醇, 见 Bundegaard, H., Design of Prodrugs, pi-92, Elsevier, New York-Oxford(1985)。

[0222] 治疗方法

[0223] 本发明提供了引发或导致在需要其的主体中的体重减轻的方法, 包括向主体施用治疗有效量的本发明的至少一种化合物, 以引发或导致体重减轻。在一些实施方式中, 所述主体是超重或肥胖。在一些实施方式, 引发或导致体重减轻是在增加的体重减轻。

[0224] 本发明还提供用于防止或延迟处于体重上升的主体的体重上升的方法, 包括向所述主体施用治疗有效量的根据本发明的至少一种化合物, 以防止或延迟体重的增加。在一些实施方式中, 该主体处于变得超重或变成肥胖的风险中。

[0225] 本发明提供治疗需要其的主体中的肥胖症的方法, 包括向所述主体施用治疗有效量的本发明的至少一种化合物, 以治疗或改善肥胖症。

[0226] 本发明还提供用于防止或延迟处于肥胖症风险的主体中的肥胖症的发展的方法, 包括向所述主体施用治疗有效量的本发明的至少一种化合物, 以防止或延迟肥胖症的发展。

[0227] 本发明提供治疗需要其的主体中的代谢综合症或其一种或多种组分的方法, 包括向所述主体施用根据本发明的至少一种化合物, 以治疗或改善代谢综合症或其一种或多种组分。

[0228] 本发明还提供用于防止或延迟处于代谢综合症或其一种或多种组分的发展中的主体中的代谢综合症或其一种或多种组分的发展的方法, 包括向所述主体施用根据本发明的至少一种化合物, 以防止或延迟代谢综合症或其一种或多种组分的发展。

[0229] 本发明还提供在需要减少体重的主体中减少体重的方法, 包括向所述主体施用根据本发明的至少一种化合物, 以减少体重。在一些实施方式中, 该主体超重或肥胖。在一些实施方式中, 该主体需要减少过量的脂肪组织。

[0230] 肥胖和超重是指与平均体重相比, 在主体中的脂肪过量。过量的脂肪聚集与脂肪组织细胞的尺寸(肥大或脂肪变性)和数量(增生)的增加相关联。肥胖可归因于任何起因, 不管是基因的(例如普拉德-威利综合征)或是环境的。肥胖被多方面地测量, 以绝对体重, 体重:身高比, 过量体脂肪程度, 内脏或皮下脂肪的分布, 以及社会和审美标准。体脂肪的常见测量值是体重指数(BMI)。BMI是指体重(以千克表示)对高度(以米表示)的平方的比。体重指数可使用以下公式精确计算:SI单位: $BMI = \text{重量 (kg)} / (\text{高度}^2 (\text{m}^2))$, 或美国单位: $BMI = \text{重量 (磅)} * 703 / (\text{高度}^2 (\text{英寸}^2))$ 。

[0231] 如在此所述, “超重”指一种病症, 其中其他方面健康的成年人具有 25kg/m^2 至 29.9kg/m^2 的 BMI。如在此所述的, “肥胖”或“肥胖症”指一种病症, 其中其他方面健康的成年人具有 30kg/m^2 或更大的 BMI。肥胖症具有数个子分类。具有 35kg/m^2 或更大的 BMI 的成年人被称为“严重地肥胖”或“严重的肥胖症”。具有 $>40-44.9\text{kg/m}^2$ 的 BMI 的成年人或和具有 35kg/m^2 或更大的 BMI 且具有至少一种与肥胖症相关的健康病症的成年人被称为“病态地肥胖”或“病态的肥胖症”。具有 45kg/m^2 或更大的 BMI 的成年人被称为“超级地肥胖”或“超级的肥胖症”。对于儿童, 超重和肥胖的定义要考虑年龄和性别对体脂肪的影响。

[0232] 不同国家可能以不同的 BMI 定义肥胖症和超重。术语“肥胖症”意思是包括所有国家的中的定义。例如, 在亚洲, 与肥胖症相关的增加的风险发生在较低的体重指数(BMI)。再亚洲国家, 包括日本, “肥胖症”指一种病症, 其中患有至少一种肥胖症引发的或肥胖症相

关的伴随疾病（其需要体重减轻或通过体重减轻来改善）主体具有大于或等于 25kg/m^2 的 BMI。美国南部和中部的民族倾向于被更接近于亚洲地分类，而不更接近于欧洲或北美洲。

[0233] BMI 不构成过量脂肪组织可以选择性地产生于身体的不同部位的事实，因此脂肪组织的发展在身体的一些部位而不是在身体的其他部位对健康更加危险。例如，“向心性肥胖”典型地与“苹果形”身体相关，其由尤其是腹部区域的过度肥胖、包括腹脂和内脏脂肪导致，因此比“外周型肥胖”携带更高的共病风险，所述“外周型肥胖”典型地与“梨形”身体相关，其由尤其是在臀部的过度肥胖导致。腰 / 臀围比 (WHR) 的测量值可以用作向心性肥胖的指标。指示向心性肥胖的最小的 WHR 已被多方面地设置，向心性肥胖的成年人如果是女性通常具有约 0.85 或更高的 WHR，如果是男性具有约 0.9 或更高的 WHR。

[0234] 疾病的评估使用本领域已知的标准方法来实施，例如通过监测合适的标记物。例如，以下标记物可以用于肥胖症的监测：体重、BMI、身体组成研究、体脂肪分布、中央脂肪分布、食物或热量的摄入、饥饿和饱腹感的行为测量、代谢率和肥胖相关并存症。

[0235] 测定主体是否超重或肥胖的方法，说明过量脂肪组织对瘦体重的比例，可包括获得主体的身体组成。身体组成可以通过测量身体上的多个位置的皮下脂肪的厚度来获得，所述位置例如为腹部区域、肩胛下区域、臂、臀部和腿部。这些测量之后被用于估计总的体脂肪，误差幅度为大约四个百分点。另一种方法是使用大的水槽来测量身体的浮力。增加的体脂肪会导致更大的浮力，而较大的肌肉质量将导致下沉的趋势。另一种方法是扇形束双能量 X 射线吸收测量法 (DEXA)。DEXA 允许身体组成尤其是总的体脂肪和 / 或局部脂肪质量被无创性地测定。MRI 也可以被用于无创地测定。

[0236] 关于在此所描述的所有方法，本发明的化合物的提及也包括组合物，例如在此所描述的组合物，包含一种或多种这些化合物。这些组合物可进一步包括合适的赋形剂，例如药学上可接受的赋形剂，包括缓冲剂，其为本领域所公知。本发明可单独使用或与其他常规的治疗方法结合使用。

[0237] 如本发明提供的需要治疗的主体也可具有至少一种肥胖导致的或肥胖相关的共病，即与超重或肥胖相关、被超重或肥胖加剧或促成的疾病和其他负面健康状态。在其他实施方式中，主体可具有至少两种肥胖导致的或肥胖相关的共病。

[0238] 肥胖诱导的或肥胖相关的共病包括但不限于糖尿病、非胰岛素依赖型糖尿病 II 型、葡萄糖耐量降低、空腹血糖受损、血糖代谢障碍、升高的血浆胰岛素浓度、胰岛素抗性综合征、高血脂、血脂异常、高的游离脂肪酸、高血压、高尿酸血症、痛风、冠状动脉疾病、心脏病、心肌梗塞、心绞痛、微血管病变、睡眠呼吸暂停、阻塞性睡眠呼吸暂停、匹克威克综合征、脂肪肝；脑梗塞、中风、脑血栓、呼吸系统并发症、胆石症、胆囊疾病、肾脏疾病、胃食管返流、压力性尿失禁、动脉硬化、心脏疾病、异常心脏节律、心脏心律失常、短暂性脑缺血发作、骨科疾病、骨关节炎、变形性关节炎、腰痛、月经病、荷尔蒙失调、内分泌疾病和不育。特别是，共病包括：高血压、高脂血症、血脂异常、葡萄糖耐受不良、心血管疾病、睡眠呼吸暂停、糖尿病和其它与肥胖相关的病症。

[0239] 除了提供对需要其的主体治疗肥胖症或导致、引发或增加体重减轻（在下降的重量），本发明还提供在患有共病的病人中治疗一种或多种这些肥胖导致的或肥胖相关的共病的方法，包括向所述主体施用治疗有效量的本发明的至少一种化合物，以治疗或改善肥胖症或减少体重，并治疗或改善一种或多种肥胖导致的或肥胖相关的共病。

[0240] 本发明提供用于对需要其的主体治疗代谢紊乱或代谢综合症的方法,其中所述综合症的特征在于一组代谢风险因素,包括:1) 腹部肥胖(在腹部或其周围的过多的脂肪组织);2) 动脉粥样硬化血脂异常(高甘油三酯;低高密度脂蛋白胆固醇和高 LDL 胆固醇或低 HDL:LDL 比);3) 血压升高;4) 胰岛素抵抗或葡萄糖不耐受;5) 血栓前状态(例如,血液中高纤维蛋白原或纤溶酶原激活物抑制剂 1);6) 促炎症状态(例如,血液中 CRP 升高);和 7) 前期糖尿病或 2 型糖尿病。本发明可以单独治疗代谢疾病,或结合治疗肥胖症,或导致、引发或增加体重损失。

[0241] 除了对需要其的主体治疗结合治疗肥胖症或导致、引发或增加体重损失,本发明还提供在遭受心血管代谢危险因素的主体中减少或改善一种或多种所述风险因素,包括向所述主体施用治疗有效量的本发明的至少一种化合物,以治疗或减轻肥胖症或减少体重,并治疗或减轻一种或多种风险因素,所述心血管代谢危险因素选自但不限于由血浆甘油三酯水平、LDL 胆固醇水平、C-反应蛋白(CRP) 水平和血压(收缩压和/或舒张压)组成的组中。

[0242] 本发明的化合物或其药学上可接受的盐、前药、代谢物、类似物或衍生物可与第二活性试剂结合施用。该第二活性试剂也可以被缀合于聚合物。

[0243] 可预期的第二活性试剂包括被施用以治疗 2 型糖尿病的那些:例如磺酰脲类(例如,氯磺丙脲、格列吡嗪、格列本脲、格列美脲);氯茴苯酸类(例如瑞格列奈和那格列奈);双胍类(例如,二甲双胍);噻唑烷二酮(罗格列酮、曲格列酮、吡格列酮);胰高血糖素样 1 肽模拟物(如艾塞那肽和利拉鲁肽);钠-葡萄糖协同转运蛋白抑制剂(如,达帕格列净)、二肽基肽 4 抑制剂(例如 gliptins)、钠-葡萄糖连接的转运蛋白抑制剂、肾素抑制剂,和 α -葡萄糖苷酶抑制剂(如,阿卡波糖和 meglitol),和/或施用以治疗心脏疾病和病症,例如高血压、血脂异常、缺血性心脏疾病、心肌病、心肌梗塞、中风、静脉血栓栓塞性疾病和肺动脉高血压,其已与超重或肥胖相关的那些,例如,氯噻酮;氢氯噻嗪;吲达帕胺、美托拉宗;袢利尿剂(如布美他尼,利尿酸,呋喃苯胺酸,呋塞米,托拉塞米);保钾制剂(如盐酸阿米洛利,安体舒通,氨苯蝶啶);外围剂(例如利血平);中枢 α -激动剂(例如,可乐定盐酸盐、胍那苄醋酸盐、胍法辛、盐酸和甲基多巴); α -受体阻滞剂(例如,多沙唑嗪甲磺酸盐、盐酸哌唑嗪、特拉唑嗪和盐酸盐); β -阻断剂(例如,醋丁洛尔、阿替洛尔、倍他洛尔、nisoprolol 富马酸盐、盐酸卡替洛尔、酒石酸美托洛尔、琥珀酸美托洛尔、纳多洛尔、喷布洛尔硫酸盐、吲哚洛尔、盐酸普萘洛尔、马来酸和噻吗洛尔);合并的 α -和 β -阻断剂(例如,卡维地洛和盐酸拉贝洛尔);直接血管扩张剂(如盐酸肼屈嗪和米诺地尔);钙拮抗剂(例如,盐酸地尔硫和维拉帕米盐酸盐);二氢吡啶(例如苯磺酸氨氯地平、非洛地平、伊拉地平、尼卡地平、硝苯地平、尼索地平和);ACE 抑制剂(盐酸贝那普利、卡托普利、依那普利、马来酸福辛普利钠、赖诺普利、莫昔普利、喹那普利盐酸盐、雷米普利、群多普利);血管紧张素 II 受体阻断剂(例如,氯沙坦钾、缬沙坦、厄贝沙坦);以及它们的组合,以及他汀类药物如美伐他汀、洛伐他汀、普伐他汀、辛伐他汀、velostatin、二氢康帕丁(dihydrocompactin)、氟伐他汀、阿托伐他汀、达伐他汀、carvastatin、克伐他汀(crilvastatin)、bevastatin、cefvastatin、罗苏伐他汀、匹伐他汀和格仑伐地汀(glenvastatin),通常用于治疗血脂异常。

[0244] 能够共同施用(依次地或同时地)的其他第二活性试剂包括被施用以治疗局部

缺血性心脏病的试剂,包括他汀类药物、硝酸盐(例如,消心痛和单硝酸异山梨醇)、 β -阻滞剂和钙通道拮抗剂;被施用以治疗心肌病的试剂,包括正性肌力药(例如,地高辛)、利尿剂(如呋喃苯胺酸)、ACE抑制剂、钙拮抗剂、抗心律不齐剂(例如,甲磺胺嘧啶、胺碘酮和丙吡胺)和 β -阻断剂;被施用以治疗心肌梗塞的试剂,包括ACE抑制剂、血管紧张素 II 受体阻断剂、直接血管扩张剂、 β 阻滞剂、抗心律不齐剂和血栓溶解剂(例如,阿替普酶、瑞替普酶、替奈普酶、阿尼普酶和尿激酶);被施用以治疗中风的试剂,包括抗血小板药物(如阿司匹林、氯吡格雷、双嘧达莫和噻氯匹定)、抗凝血剂(如肝素)和溶栓药物;被施用以治疗静脉血栓栓塞性疾病的试剂,包括抗血小板剂、抗凝血剂和血栓溶解剂;被施用以治疗肺动脉高血压的试剂,包括正性肌力药、抗凝血剂、利尿剂、钾(例如,K-DUR)剂、血管扩张剂(例如,硝苯地平和地尔硫卓)、波生坦、依前列醇、和西地那非;被施用以治疗哮喘的试剂,包括支气管扩张剂、抗炎剂、白三烯阻滞剂和抗 IgE 剂。特别是包括扎鲁司特、氟尼缩松、去炎松、倍氯米松、特布他林、氟替卡松、福莫特罗、倍氯米松、沙美特罗、茶碱和左旋沙丁胺醇(Xopenex)的哮喘剂;被施用以治疗睡眠呼吸暂停的试剂,包括莫达非尼和安非他明;被施用以治疗非酒精性脂肪性肝病的试剂,包括抗氧化剂(如:维生素 E 和 C)、胰岛素增敏剂(二甲双胍、吡格列酮、罗格列酮和甜菜碱)、保肝剂和降脂剂;被施用以治疗承重关节的骨关节炎的试剂,包括对乙酰氨基酚、非甾体抗炎剂(如布洛芬、依托度酸、恶丙嗪、萘普生、双氯芬酸和萘丁美酮)、COX-2 抑制剂(例如,塞来昔布)、类固醇、补充剂(如葡萄糖胺和硫酸软骨素)和人工关节液;被施用以治疗帕-魏二氏综合征的试剂,包括人生长激素(HGH)、促生长激素和减肥药(如,奥利司他、西布曲明、甲基苯丙胺、酚特明(Ionamin)、芬特明、安非他酮、二乙胺、苯甲曲秦、苄非他明(Benzphetamine)和妥泰);被施用以治疗多囊卵巢综合征的试剂,包括胰岛素增敏剂、人工合成雌激素和孕激素的组合、安体舒通、依氟鸟氨酸和克罗米酚;施用以治疗勃起功能障碍的试剂,包括磷酸二酯酶抑制剂(例如,他达拉非、枸橼酸西地那非和伐地那非)、前列腺素 E 类似物(例如,前列地尔)、生物碱(例如,育亨宾)和睾酮;被施用以治疗不育的试剂,包括氯米芬、克罗米芬、溴隐亭、促性腺激素释放激素(GnRH)、GnRH 激动剂、GnRH 拮抗剂、他莫昔芬/三苯氧胺(nolvadex)、促性腺激素、人绒毛膜促性腺激素(HCG)、人绝经期促性腺激素(HMG)、孕激素、重组促卵泡激素(FSH)、尿促卵泡素、肝素、促卵泡素 α 和促卵泡素 β ;被施用以治疗产科并发症的试剂,包括盐酸布比卡因、地诺前列酮 PGE₂、哌替啶 HCl、含铁叶酸-500/iberet-叶酸-500、哌替啶、甲酸盐、罗哌卡因 HCl、纳布啡 HCl、吗啡酮盐酸、催产素、地诺前列酮、利托君、氢溴酸东莨菪碱、柠檬酸舒芬太尼和催产素;被施用以治疗抑郁症的试剂,包括羟色胺再摄取抑制剂(如氟西汀、艾司西酞普兰、西酞普兰、帕罗西汀、舍曲林、文拉法辛);三环抗抑郁药(例如,阿米替林、阿莫沙平、氯米帕明、地昔帕明、度硫平、盐酸多塞平、丙咪嗪、伊普吲哚(Iprindole)、洛非帕明、去甲替林、奥匹哌醇(Opipramol)、普罗替林、曲米帕明和)、单胺氧化酶抑制剂(如异卡波肼、吗氯贝胺、苯乙肼、反苯环丙胺、司来吉兰、雷沙吉兰、尼亚酰胺、异丙烟肼、异丙氯肼、托洛沙酮、利奈唑胺、Dienolide kavapyrone desmethoxyangonin 和右旋安非他命);精神刺激(如安非他命、甲基苯丙胺、哌甲酯和槟榔碱);抗精神病药(例如丁酰苯、吩噻嗪、噻吨、氯氮平、奥氮平、利培酮、喹硫平、齐拉西酮、氨磺必利、帕潘立酮、氟西汀(Symbyax)、丁苯那嗪和大麻二酚);和情绪稳定剂(例如,碳酸锂、丙戊酸、双丙戊酸钠、丙戊酸钠、拉莫三嗪、卡马西平、加巴喷丁、奥卡西平和托吡酯);被施用以治疗焦虑的

试剂,包括血清素再摄取抑制剂、情绪稳定剂、苯二氮类(例如,阿普唑仑、氯硝西泮、地西泮和劳拉西泮)、三环抗抑郁药、单胺氧化酶抑制剂和 β -阻断剂,和其它减肥剂,包括血清素和去甲肾上腺素再摄取抑制剂;去甲肾上腺素再摄取抑制剂;选择性血清素再吸收抑制剂;和肠道脂肪酶抑制剂。特别的减肥药包括奥利司他、西布曲明、甲基苯丙胺、酚特明(ionamin)、芬特明、安非他酮、二乙胺、苯甲曲秦、苄非他明(benzphetamine)和妥泰。

[0245] 本发明还提供在需要其的主体中减少脂肪细胞的方法,包括向所述主体施用治疗有效量的至少一种本发明的化合物,以减少脂肪细胞或脂肪组织。本发明还提供在处于脂肪增加的风险中的主体中防止脂肪组织的增加的方法,包括向所述主体施用治疗有效量的至少一种本发明的化合物,以防止脂肪细胞增加。减少脂肪细胞意思是减少脂肪细胞的数量或减少脂肪细胞的尺寸(脂肪含量)。防止脂肪细胞增加意思是减少或保持脂肪细胞的数量或者减少或保持脂肪细胞的尺寸。在一些实施方式中,使用本发明的化合物使所需要其的主体中的脂肪细胞收缩。脂肪组织可以是白色脂肪组织或棕色脂肪组织。

[0246] 本发明还提供了在需要其的主体中减少食物摄入的方法,包括向所述主体施用治疗有效量的至少一种本发明的化合物,以减少食物摄入。

[0247] 食物摄入的减少意思是日常食物摄入的减少。日常食物摄入的减少可以是约5%的减少至约50%的减少(例如,约5%、约10%、约20%、约30%、约40%或约50%)。基于2000kcal日食量,所述减少是每天约100kcal至约1000kcal的减少(例如,约100kcal、约200kcal、约400kcal、约600kcal、约800kcal或约100kcal)。

[0248] 本发明还提供用于在需要其的主体中减少饥饿感的方法,包括向所述主体施用治疗有效量的至少一种本发明的化合物,以减少饥饿感。该主体也具有减少的食物摄入。

[0249] 饥饿感可以使用10点直观类比标度(VAS)在加速状态下进行评估,其可以被很好地利用于食欲调查。见Flint et al. Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord. 24(1):38-48, 2000。具体地,主体被要求在前两天中用1-10等级估计其整个饥饿感,其中10是极其饥饿,1是根本不饿。

[0250] 本发明的方法也可以在需要其的主体中减少腰围。腰围是通过使用卷尺围绕在髂嵴以上1cm的腰部来评估。本发明的主体可具有从约1英尺至约20英尺的腰围减少量(例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20)。

[0251] 在本发明的方法中,使用所述化合物导致在所述患者中减少的体脂肪和肌肉质量的基本保持。在一些实施方式中,与单独地限制食物摄入量的患者相比,通过施用,患者中的脂肪氧化被增强。例如,在此提供的是在需要的患者中减少体脂肪的方法。相比于单独使用能量限制的饮食的患者中的体脂肪的减少量,这样的患者可保持基本更多的肌肉质量。

[0252] 本发明还提供了用于在需要其的主体中改善手术效果的方法,包括在手术前向所述主体施用治疗有效量的至少一种本发明的化合物,以改善手术效果。在一些实施方式中,施用可减少所述患者中的肝脏和/或腹部脂肪,因此改善手术效果。在一些实施方式中,手术是非急性手术。这样的手术可包括减肥手术、心血管外科、腹部外科或矫形手术。

[0253] 如在此所记载的“患者”或“主体”可以指人类或非人类主体。在一些实施方式中,该主体是脊椎动物。在一些实施方式中,该脊椎动物是哺乳动物。哺乳动物还包括但不限于农场动物、运动动物、宠物、灵长类动物(包括人类)、马、狗、猫、小鼠和大鼠。在一些实施方案中,该哺乳动物是人。

[0254] 如在此所使用的,“需要其的主体”是指超重或肥胖的主体(可患有或可不患有的一种或多种共病),或者相对应于大众而言,具有增加的变成超重或发展肥胖症的风险的主体。在一些实施方式中,需要其的主体是肥胖的,具有 $30\text{kg}/\text{m}^2$ 或更大的 BMI。在一些实施方式中,相对应于大众而言,需要其的主体是超重的或者肥胖的或者具有变成超重或发展肥胖症的增加的风险,所述大众不患有或不被诊断患有选自癌症、过度增殖障碍、因黄斑变性导致的视网膜新血管形成、牛皮癣和化脓性肉芽肿、风湿性关节炎、免疫性和退化性关节炎组成的组中的疾病。

[0255] 术语“预防性的或治疗性的”治疗是本领域公知的,且包括向宿主施用一种或多种题述组合物。如果在不良状态(例如宿主动物的疾病或其他不良状态)临床表现之前施用,则该治疗是预防性的,(即其保护该宿主使其免受不良状态的发展),而如果在不良状态的表现之后施用,则该治疗是治疗性的,(即意图在于减小、改善或稳定已存在的不良状态或其副作用)。

[0256] 如在此所使用的,“治疗”是为获得有益的或想要的临床结果的方法。对于本发明的目的,有益的或想要的临床结果包括但不限于以下各项的一项或多项:改善、降低严重性、减轻与疾病相关的一种或多种症状。对于肥胖症,有益的想要的临床结果包括以下各项中的一项或多项:减少或保持体重;控制(包括减少)食物摄入或卡路里摄入;增加代谢率或抑制代谢率的减少;以及改善、降低严重性和/或缓解与肥胖症相关的任何疾病,例如糖尿病、非胰岛素依赖型糖尿病、高血糖、低葡萄糖耐量、胰岛素抗性、脂质紊乱、血脂异常、高脂血症、高甘油三酯血症、高胆固醇血症、腹部肥胖、进食障碍、代谢综合征、高血压、骨关节炎、心肌梗塞、脂肪肝疾病、脂肪性肝炎、非酒精性脂肪性肝炎(NASH)、非酒精性脂肪肝(NAFLD)、中风以及其它相关的疾病;提高患有肥胖症的那些患者的生活质量,和/或延长寿命。

[0257] 如在此所使用的,“延迟”肥胖症的发展是指推迟、阻碍、减慢、阻止、稳定和/或延缓该疾病的发展。该延迟可以是改变生命的长度,取决于病史和/或被治疗的个体。如对于本领域技术人员显然可知的,足够的或显著的延迟在效果上可以包括预防,因为个体不会发展该疾病。例如,延迟发展的一种表现可以是相对于施用在此所描述的组合物之前主体的当下体重,处于肥胖症风险中的主体的体重减少。延迟发展的另一种表现可以是防止由于饮食、运动或药物治疗导致的之前减少的体重的回升。延迟发展的另一个表现可以是,如果该治疗是在处于肥胖症风险的主体中肥胖症发病之前施用,则其可以防止肥胖症的发生。延迟发展的另一个表现可以是,如果该治疗是在处于肥胖症风险的主体中肥胖症发病之前施用,则其可以减少与肥胖症相关的疾病的发生率和/或严重程度。

[0258] 个体处于肥胖症“风险”可患有或不患有可检测到的疾病,在在此所描述的治疗方法之前可表现出或不表现出可检测到的疾病。“处于风险”表示个体具有一种或多种所谓的风险因素,其是与肥胖症的发展相关的可测定的参数。具有一种或多种的这些风险因素的个体,相比于不具有这些风险因素的个体,具有较高的肥胖可能性。这些风险因素包括但不限于年龄、饮食、身体活动、代谢综合征、肥胖的家族史、种族、遗传性综合征、以前的疾病史(例如进食障碍、代谢综合征和肥胖症)、前导疾病的存在(例如,超重)。例如,BMI 为 25.0 至少于 $30.0\text{kg}/\text{m}^2$ 的其他方面健康的人,或者患有至少一种共病、BMI 为 25.0 至少于 $27.0\text{kg}/\text{m}^2$ 的个体处于肥胖症的风险中。

[0259] 肥胖症的“发展”是指该疾病在个体中发病和 / 或进展（其可以是与本发明不同的实施方式）。肥胖症发展可以使用如在此所描述的标准临床技术来测量。然而，发展也指最初不可检测的疾病进展。对于本发明的目的，进展是指疾病状态的生物进程，在此情况下，如通过评估高度和重量以估算 BMI、测量腰围、评估共病和肥胖并发症（例如动脉硬化、II 型糖尿病、多囊性卵巢病、心血管疾病、骨关节炎、皮肤病、高血压、胰岛素抵抗、高胆固醇血症、高甘油三酯血症和胆石病）的发病和 / 或进展所测定的。多种这些诊断测试在本领域是公知的。“发展”包括发生、复发和发病。如在此所使用的，肥胖症的“发病”或“发生”包括最初发病和 / 或复发。

[0260] 如在此所使用的，“控制体重”或“改善体重”是指减少或保持个体的体重（相比于治疗之前的水平）。在一些实施方式中，体重通常被保持在正常的范围。体重可以通过减少卡路里摄入和 / 或减少体脂肪累积来减少。在一些实施方式中，相比于治疗之前的水平，个体的体重被减少至少约为 3%、4%、5%、10%、20%、30%、40% 或 50% 中的任意一项。

[0261] 如在此所使用的，“控制食物摄入”是指在个体中减少或保持食物摄入（相比于治疗之前的水平）。在一些实施方式中，食物摄入通常被保持在正常的范围。在一些实施方式中，相比于治疗之前的水平，个体的食物摄入被减少至少约为 3%、4%、5%、10%、20%、30%、40% 或 50% 中的任意一项。

[0262] 关于在治疗中使用的“治疗有效量”的化合物，是指在制剂中的化合物的量，其当被作为所需的给药方案的一部分（向哺乳动物，优选人）而被施用，能缓和症状、改善病症，或者减慢或预防疾病病症的发病（根据对于要被治疗的疾病或病症或者美容目的的临床上可接受的标准），例如，在适用于任何药物治疗的合理的益处 / 风险比下。“治疗有效量”与“有效剂量”同义。

[0263] 如在此所使用的，药物、化合物或药物组合物的“有效剂量”或“有效量”是足以产生有益的或期望的结果的量。对于预防性使用，有益的或期望的结果例如减小强度、持续时间或被疾病侵袭的频率，以及减少由该疾病导致的一种或多种症状（生化的、组织学的和 / 或行为的），包括在该疾病发展过程的并发症和中间病理学表型呈现，提高患有该疾病的那些患者的生活质量，增强其他药物的效果，和 / 或延迟病人的疾病进展。有效剂量可以在一次或多次施用中被施用。对于本发明目的，药物、化合物或药物组合物的有效剂量的是足以直接或间接地完成预防性或治疗性治疗的量。如在临床方面所理解的，药物、化合物或药物组合物的有效剂量可以结合或不结合另一种药物、化合物或药物组合来实现。因此，“有效剂量”可以被认为在施用一种或多种治疗剂的情况，单一试剂可被认为以有效量与一种或多种其它试剂组合给药，如果是希望的或实现的结果。例如，用于治疗肥胖症的本发明的化合物的有效量是足以治疗或改善一种或多种与肥胖相关的症状的量。“有效量”是足以导致下列一种或多种的量（其也可以对应于本发明的多种实施方式）的一个或多个：减少、降低或控制体重，降低、减少或控制食物摄取，增加代谢率，降低由与肥胖有关的疾病导致的一种或多种症状，增加那些患肥胖症的生活质量和 / 或延长寿命。

[0264] 在向主体提供在此所述的一种或多种化合物中，施用的化合物的剂量将取决于这样的因素如主体的年龄、体重、身高、性别、一般医学状况、以前的病史、疾病进展给药途径、剂型等而变化。

[0265] 本发明的化合物的剂量可以在被给予一种或多种施用的个体中凭经验为主地确

定。个体被给予增量的剂量的本发明的化合物。为了评估本发明的化合物的效力,可监测疾病状态的标志物。对于本领域技术人员将是显而易见的是,剂量将取决于个体、该疾病的阶段(例如,阶段的肥胖)、过去和目前使用的治疗而改变。

[0266] 毒性和本发明化合物的治疗功效可以通过在实验动物中的标准药学方法来确定。毒性剂量可以被确定为最大耐受剂量(MTD)或备选的LD₅₀(群体的50%的致死剂量)。有效的剂量可以被确定为ED₅₀(在群体的50%的治疗有效的剂量)或需要在动物中提供一些平均量的改变的剂量(例如,需要在一组主体中提供10mm Hg的收缩压平均减少量)。

[0267] 理想的是,有效的和有毒的剂量可在相同物种中测定。然而,如果它们在不同的物种测定,可以用异速比例将有效或毒性剂量转换至另一个物种。毒性和治疗效果之间的剂量比是治疗指数,其可以表示为比率LD₅₀/ED₅₀。在将小鼠与大鼠比较时,普遍接受的比例因子为2;大鼠剂量被估计为在小鼠中的二分之一的剂量。因此,如果有毒的剂量在大鼠为100mg/kg,有效剂量在小鼠中为1mg/kg,大鼠的治疗指数可以计算为在大鼠的有效剂量等于1mg/kg/2或0.5mg/kg,治疗指数是200。FDA定义药物为具有窄的治疗范围,如果:(a)在半数致死和半数有效剂量之间的差值少于2倍,或(b)在血液中最小毒性和最小有效浓度之间的差值小于2。

[0268] 显示大的治疗指数的本发明的化合物是优选的。尽管可以使用表现出毒副作用的本发明的化合物,应当小心设计使本发明的此类化合物靶向受影响的组织的递送系统,以尽量减少对未感染的细胞的潜在的损害,从而减少副作用。

[0269] 从动物研究获得的数据可用于配制用于人类使用的剂量范围。本发明的这类化合物的剂量优选处于循环浓度范围,其中包括具有很少或没有毒性的有效剂量范围。剂量可以在此范围内根据所使用的剂型和利用的施用途径而变化。对于具有分子量小于1000的本发明化合物,治疗有效剂量可最初从细胞培养试验来估计,而动物模型将提供缀合物的更好的估计剂量,其中连接子需要断裂,以释放出活性部分。此类信息可用于更准确地确定在人类中有用的剂量。本领域公知的是,聚合物偶联稀释了活性部分的活性(聚合物为稀释剂)在。这被例示在下面的表中所示的抗癌药物的小鼠给药模型中。

[0270]

母药	药物剂量 (mg/kg)	缀合物	缀合物剂量 (mg/kg)
TNP-470	30 (q0d)	XMT-1107	800
多西他赛 (Docetaxel)	12 (Q4d)	紫杉醇聚谷氨酸 (Opaxio)	480

[0271]

CPT-11	20 (q2d)	EZN-2208	145 (q2d)
阿霉素 (Doxorubicin)	5 (q4d)	PK1	62 (q7d)
卡铂 (Carboplatin)	60 (Qd)	AP-5356	2200

[0272] 因此,容易理解的是,聚合物偶联增加了临床剂量,其中治疗指数不被改进。这被例示在下面的表中所示的抗癌药物的人类给药模型中。

[0273]

母药	药物剂量 (mg/m ²)	缀合物	缀合物剂量 (mg/m ²)
TNP-470	180	XMT-1107	待定
紫杉醇 (Paclitaxel)	175	紫杉醇聚谷氨酸 (Opaxio)	473
CPT-11	125	EZN-2208	260
阿霉素 (Doxorubicin)	75	PK1	280
奥沙利铂 (Oxaliplatin)	85	AP-5356	6400

[0274] 与未缀合的或未修饰的母体药物 / 活性部分相比,所述聚合物缀合物和本发明的修饰的化合物令人惊奇地提供了优良的功效和较低的毒性。

[0275] 例如,烟霉醇缀合物和本发明的修饰的烟霉醇化合物是出人意料地优于烟霉醇小分子,因为它们在等摩尔的剂量下在 D10 小鼠中提供增加的重量减少。本发明的化合物可以用在较低摩尔的剂量和更低的给药频率中,以提供等效的重量减少。较低的摩尔剂量和减少的给药频率降低全身药物暴露和全身药物毒性。此外,烟霉醇缀合物和本发明的修饰烟霉醇化合物提供类似于烟霉醇小分子的下列行动:在 D10 小鼠中脂肪优先损失和食物消费减少。

[0276] 传统的聚合物缀合物稀释活性,增加 5-20 倍的剂量,并提供变化不大的治疗指数 (<2 倍)。与此相反,本发明的聚合物缀合化合物令人惊奇和出乎意料提供增强的治疗指数 (数量级的改善),并在降低的剂量展示增加的活性。

[0277] 在本发明的方法中,本发明的聚合物缀合化合物令人惊讶地表明了较不频繁的剂量施用 (例如, Q4D, 每第四天给药, q7d, 每第七天给药, q8d, 每第八天给药), 剂量被降低至少 84% (摩尔) 的烟霉醇当量,在非靶室被减少 AUC,而治疗指数增加 (>10 倍)。

[0278] 在另一个实施方案中,本文提供有效剂量,例如本发明化合物的日剂量。例如,这里提供的是包括施用本发明化合物的对体重减轻有效的剂量的方法。例如,在本文描述的方法中,本发明的化合物的预期剂量可以包括施用不依赖于体重的剂量,为约 200mg/ 天的剂量、约 80mg/ 天、约 4mg/ 天、约 20mg/ 天、约 10mg/ 天、约 5mg/ 天、约 3mg/ 天、约 2mg/ 天、约 1mg/ 天、约 0.5mg/ 天、约 0.2mg/ 天、约 0.05mg/ 天、约 0.01mg/ 天、或约 0.001mg/ 天。

[0279] 在患者中对体重减轻的有效量的药物也可根据体重或表面积给药,为每天约 0.0001mg/kg 至约 5mg/kg 体重。例如,可预期的剂量可以是每天约 0.001 至 5mg/kg 体重、每天约 0.001mg/kg 至 1mg/kg 体重、每天约 0.001mg/kg 至 0.1mg/kg 体重、一天约 0.001 至约 0.010mg/kg 体重,或一天约为 0.007mg/kg 体重。

[0280] 本发明的化合物可以以足以使患者体重降低约 0.5kg/ 周至约 1kg/ 周 (或约 0.5% 体重每周至约 1% 体重每周) 的量施用。在一些实施方案中,体重的每周减少在治疗的持续期间发生。

[0281] 根据本发明的方法的本发明化合物的施用可以是连续的或间歇性的,这取决于,例如,在接受者的生理状况、给药的目的是治疗性的还是预防性的,和熟练从业者公知的其他因素。本发明的化合物的施用可以是在一段预选的时间基本上连续的或可以是一系列间

隔的剂量。

[0282] 对于持续数天或更长的重复施用,根据状况,持续治疗直至疾病症状的所需抑制发生或直至足够治疗水平得以实现。例如,每周给药一至五次是预期的。在一些实施方式中,本发明的化合物约每第四天被施用。其他给药方案包括每周 1-5 次,每 3 至 4 天,或更不频繁的方案。在一些实施方案中,本发明的化合物约每周被施用一次,每两周一次,或根据对药物施用的反应持续时间每月大约 1 至 4 次。可以使用间隔 2 天至 7 天或甚至 14 天交错给药的间歇给药方案。在一些实施方案中,治疗从每天给药开始,之后更改为每周甚至每月给药。此疗法的进展易于通过常规技术和测定法,或通过如在美国专利号 6548477 中描述的测量 MetAP2 来监测。

[0283] 在治疗过程中可以确定和调整施用频率。例如,施用频率可以被基于要被治疗的疾病的类型和严重程度、给药的目的是治疗性的还是预防性的、先前的疗法、患者的临床史和对该试剂的反应,以及主治医师的判断来确定或调整。典型地,临床医师会施用本发明的化合物直到获得能实现所需结果的剂量。

[0284] 治疗可以根据需要继续或长或短的时期。合适的治疗时期可以是,例如,至少约一周、至少约 4 周、至少约 1 个月、至少约 6 个月、至少约 1 年、至少约 2 年,或无限期。当所希望的结果产生时,治疗时期可以终止,例如体重减轻目标得以实现。例如,当在约 5% 体重,约 10% 体重,约 20% 体重,约 30% 体重或更多的减轻量已经实现。治疗方案可以包括纠正阶段,在此期间,以足以提供过度肥胖的减小的剂量或给药频率来施用本发明的化合物;随后是维持阶段,在此期间,以足以防止过度肥胖复发的较低的化合物剂量或减少的给药频率来施用。

[0285] 化合物或其药学上可接受的盐、酯或前药(或其药物组合物)可以通过本领域已知的任何方法来施用。例如,本发明的化合物或组合物通过口服、经鼻、经皮、局部地、肺部、吸入地、颊、舌下、腹腔内地、皮下、肌肉内、静脉内、直肠、胸膜内、鞘内和肠胃外给药。施用可以是全身性的,例如,静脉内给药或局部给药。在一些实施方案中,给药途径可以是静脉内、肌肉内、皮下、皮内、腹膜内、鞘内、胸膜内、子宫内、直肠、阴道、局部等。在一些实施方案中,该化合物是皮下给药。

[0286] 一方面,本发明的化合物,或其药学上可接受的盐、溶剂化物、非对映体和多晶型物,被以合适的剂型或制剂来施用,所述剂型或制剂被根据一般步骤通过组合治疗有效量(例如,有效的水平足以实现所需的治疗效果的有效水平)的本发明的化合物或其药学上可接受的盐、溶剂化物、非对映体和多晶型物(作为活性成分)和标准药物载体或稀释剂来制备(例如通过制备本发明的药物组合物)。这些程序可以涉及混合、制粒,以及适当的压缩或溶解成分以获得所需的制剂。

[0287] 肠胃外剂型可以通过本领域中已知的任何方法来制备。例如,无菌可注射水或油性悬浮液可以根据已知技术使用合适的分散剂或润湿剂和悬浮剂来配制。

[0288] 口服剂型(例如胶囊、片剂、丸剂、粉剂和颗粒剂)可以使用本领域已知的任何合适的方法制备。例如,本发明的化合物可与肠溶材料混合并压制成片。或者,本发明的制剂被掺入咀嚼片、可压碎的片剂、入口即快速溶解的片剂或漱口水中。

[0289] 为用于肺部(例如,支气管内)给药,本发明的化合物可与常规的赋形剂进行配制,以制备细粉或可雾化液体形式的可吸入的组合物。为用于眼睛给药,本发明的化合物可

与常规的赋形剂进行配制成,例如,滴眼剂或眼植入物的形式。在赋形剂中,适用于滴眼剂的是增粘剂或胶凝剂,以通过改善在眼睛的保留而尽可能减少通过流泪的损失量。

[0290] 用于口服或其他给药的液体剂型包括,但不限于药学上可接受的乳剂、微乳、溶液、悬浮液、糖浆和酞剂。除了活性试剂外,液体剂型可以含有本领域常用的惰性稀释剂,例如水或其它溶剂、增溶剂和乳化剂如乙醇、异丙醇、碳酸乙酯、乙酸乙酯、苄醇、苯甲酸苄酯、丙二醇、1,3-丁二醇、二甲基甲酰胺、油(特别是棉籽油、花生油、玉米油、胚芽油、橄榄油、蓖麻油和芝麻油)、甘油、四氢糠醇、聚乙二醇和山梨糖醇的脂肪酸酯,以及它们的混合物。除惰性稀释剂外,眼部、口、或其他全身性递送的组合物还可以包括佐剂,例如润湿剂,以及乳化剂和悬浮剂。

[0291] 用于液体制剂的可商购的喷雾器,包括喷射喷雾器和超声喷雾器对于施用是有用的。液体制剂可以直接雾化并冻干在重构后可被雾化的粉末。或者,本发明的化合物可以使用氟碳制剂和计量剂量吸入器来雾化,或作为冻干并研磨的粉末被吸入。

[0292] 用于局部或透皮给药的本发明药物组合物的剂型可包括软膏、糊剂、霜剂、洗剂、凝胶、粉剂、溶液、喷雾剂、吸入剂或贴剂。活性试剂与可能需要的药学上可接受的载体和任何所需的防腐剂或缓冲剂在无菌条件下混合。例如,皮肤途径的施用可使用水滴剂、薄雾、乳剂或乳膏来实现。

[0293] 经皮贴片可以具有向身体提供受控的活性成分递送的额外优点。这种剂型可通过将化合物溶解或分散在恰当的介质中来制备。吸收促进剂也可以用于增加通过皮肤的化合物通量。速率可通过提供速率控制膜或通过聚合物基质或凝胶中分散化合物进行控制。

[0294] 用于直肠或阴道给药的组合物可以是可通过将本发明的化合物与合适的无刺激的赋形剂或载体(如可可脂、聚乙二醇或栓剂蜡)混合来制备的栓剂,其在环境温度下是固体但在体温下是液体,因此在直肠或阴道腔内融化并释放活性试剂。可替代地,可预期的制剂可以通过在内腔镜已被插入到主体的直肠后,从内腔镜的内腔释放来给药。

[0295] 本领域的技术人员可以参考一般参考文献以获得在此讨论的已知技术或等效技术的详细描述。这些文献 Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology; John Wiley and Sons, Inc. (2005); Sambrook et al., Molecular Cloning, A Laboratory Manual (3d ed.), Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, New York (2000); Coligan et al., Current Protocols in Immunology, John Wiley & Sons, N.Y.; Enna et al., Current Protocols in Pharmacology, John Wiley & Sons, N.Y.; Fingl et al., The Pharmacological Basis of Therapeutics (1975), Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, PA, 18th edition (1990)。当然,在制作或使用本发明的方面中也可以参考这些文献。

[0296] 实施例

[0297] 下面提供实施例来进一步阐释本发明的不同特征。这些实施例也阐释了用于实施本发明的有用的方法。这些实施例并不对所要求保护的发明构成限制。

[0298] 一般步骤

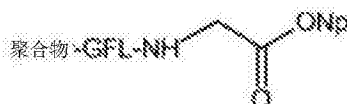
[0299] 用切向流过滤(TFF)纯化本发明的聚合物产物。使用 Pall Minimate™ 胶囊和 Minimate™ TFF 系统,根据制造商的说明进行 TFF。使用具有 5kDa 的欧米茄膜(Omega membrane) (5K) 的 Minimate TFF 胶囊或具有 10kDa 的欧米茄膜(10K) 的 Minimate TFF 胶

囊柱体纯化使用了。在所有的情况下,渗透物被丢弃,保留物被冻干,以得到聚合物产物。产物结构由 ^1H NMR 确证,小分子也通过 MS 表征。在实施例中报道的聚合物的重量未校准含水量。

[0300] 氨基甲酰基烟霉醇和氯乙酰基氨基甲酰烟霉醇可以根据在美国专利 5166172(Kishimoto 等人,其通过引用并入本文中)中公开的方法制备,对硝基苯 fumagill-6-基碳酸酯可以根据公开的程序来制备。(见 Han, C. et al. *Biorg. Med. Chem. Lett.* 2000, 10, 39-43)。MA-GFLG-ONp 可以根据在美国专利 5258453 中公开的方法制备(Kopecek 等人,通过引用并入本文)。

[0301] 聚(HPMA-共-MA-GFLG-ONp)的合成

[0302]



[0303] 将羟丙基甲基丙烯酰胺(HPMA, 22.16 克, 155 毫摩尔), N-甲基丙烯醛基-甘氨酸-苯丙氨酸-亮氨酸-甘氨酸对硝基苯酯(MA-GFLG-ONp, 10.00g, 17.19 毫摩尔), AIBN(1.484 克, 9.037 毫摩尔)和丙酮(225 克)的混合物脱气(冻结, 泵, 解冻, 4 个周期)。将所得反应混合物在 50°C 下搅拌 48 小时, 然后冷却到室温。所需产物通过用丙酮研磨纯化, 然后在真空下干燥, 产生 17.6 克聚(HPMA-共-MA-GFLG-ONp), 为白色固体。其结构经 ^1H NMR 验证, 该产物显示出几乎不含杂质(例如硝基苯酚)。根据 UV 吸光度, 该共聚物含有 0.47 毫摩尔对硝基苯酯每克聚合物。本实施例的共聚物被用于大多数的随后的实施例。通过调节化学计量和 / 或使用不同的单体, 根据该程序可以制备基于不同的单体和 / 或单体比率的大范围的共聚物。

[0304] 聚(HPMA-共-MA-GFLG-OH)的合成

[0305] 将聚(HPMA-共-MA-GFLG-ONp)(700 毫克)在 0°C 下分批加入至 0.1M 氢氧化钠的溶液(11.3 毫升)中。将黄色反应混合物在 0°C 搅拌 0.5 小时, 然后在室温下搅拌 4 小时。溶液的一半用 0.1M 盐酸酸化至 $\text{pH} = 6$ 。水相用乙酸乙酯萃取, 以除去过量的对硝基苯酚。将水相冻干, 得到聚(HPMA-共-MA-GFLG-OH), 为无色固体(360 毫克)。

[0306] 聚(HPMA-共-MA-GG-ONp)的合成

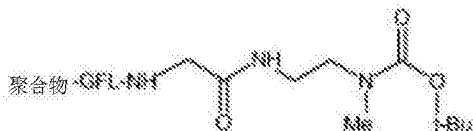
[0307]



[0308] 将羟丙基甲基丙烯酰胺(HPMA, 82.5 克), N-甲基丙烯醛基-甘氨酸-甘氨酸对硝基苯酯(MA-GG-ONp, 16.8 克), AIBN(5.7 克)和丙酮(875 克)的混合物充氩气 90 分钟。将所得反应混合物在 50°C 下搅拌 48 小时, 然后冷却到室温。所需产物通过用丙酮研磨来纯化, 然后在真空下干燥, 得到 69.3 克聚(HPMA-共-MA-GG-ONp), 为白色固体。其结构经 ^1H NMR 验证, 该产物显示出几乎不含杂质(例如硝基苯酚)。每克聚合物含有的对硝基苯酯的量可通过 UV 吸光度来测定。通过调节化学计量和 / 或使用不同的单体, 根据该程序可以制备基于不同的单体和 / 或单体比率的大范围的共聚物。

[0309] 聚(HPMA-共-MA-GFLG-NHCH₂CH₂N(Me)BOC)的合成和一般步骤 A。

[0310]



[0311] 将聚(HPMA-共-MA-GFLG-ONp) (1.0 克, 0.534 毫摩尔) 在 DMF (6mL) 和 H₂O (10 毫升) 中的溶液在 15 分钟的时间间隔中逐滴加入在 0℃ 下的 N-(2-氨基乙基)-N-甲基氨基甲酸叔丁酯 (0.20 克, 1.15 毫摩尔) 在水 (20mL) 中的溶液中。将反应混合物在 0℃ 搅拌 15 分钟, 然后温热至室温并搅拌 12 小时。将溶剂减压蒸发。将得到的残余物溶解于水 (50mL) 中, 用 0.1M NaOH 将 pH 调节至约 8.0。将溶液通过 VacuCap 过滤器过滤, 然后用 TFF (10K) 纯化。将含聚合物的溶液用 25mM NaCl 溶液 (800 毫升) 洗涤 (作为 TFF 过程的一部分), 以除去对硝基苯酚, 将溶液的 pH 用 0.1M 的盐酸调节至约 4, 然后用水 (400 毫升) 洗涤 (作为 TFF 过程的一部分)。将聚合物溶液冻干, 以分离化合物聚(HPMA-共-MA-GFLG-NHCH₂CH₂N(Me)BOC), 为浅黄色固体 (720 毫克, 71%)。

[0312] Fmoc-Phe-Gly-NH-(CH₂)₆NH-Boc 的合成

[0313] 在 0℃、在 N₂ 下, 向 Fmoc-Phe-Gly-OH (0.66 克) 在无水 THF (20mL) 的溶液中加入 N, N'-二环己基碳二亚胺 (0.307 克) 和 1-羟基苯并三唑水合物 (0.201 克)。搅拌 15 分钟后, 加入 N-Boc-1, 6-二氨基己烷 (0.322 克)。将反应混合物温热至室温, 且搅拌过夜。滤出固体, 用 EtOAc 洗涤。然后将滤液和洗涤液在减压下浓缩。将得到的残余物通过快速柱色谱法 (在 CH₂Cl₂ 中的 0 至 10% MeOH), 得到的 Fmoc-Phe-Gly-NH-(CH₂)₆NH-Boc, 为白色固体 (0.9 克)。

[0314] Fmoc-Phe-Gly-NH-(CH₂)₆NH₂·TFA 的合成

[0315] 在 0℃、在 N₂ 下, 将 Fmoc-Phe-Gly-NH-(CH₂)₆NH-Boc (0.7 克) 溶解于 CH₂Cl₂ (4 毫升), 然后加入三氟乙酸 (TFA) (4 毫升)。将反应混合物温热至室温, 且在 N₂ 下搅拌 2 小时。减压除去溶剂, 残余物在高真空下干燥, 以提供 0.71 克的 Fmoc-Phe-Gly-NH-(CH₂)₆NH₂·TFA。此粗物质用于不经进一步纯化地用于制备。

[0316] Fmoc-Phe-Gly-NH(CH₂)₆NH-CO-烟霉醇的合成

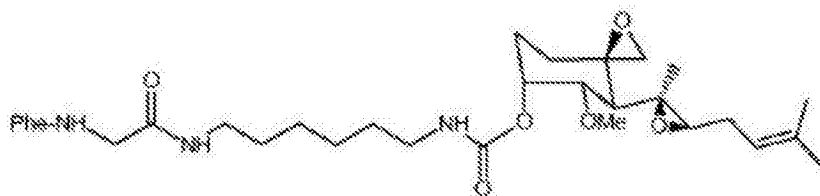
[0317]



[0318] 在 N₂ 下, 向 Fmoc-Phe-Gly-NH(CH₂)₆NH₂·TFA (0.71 克) 在无水 CH₂Cl₂ (20 毫升) 和 DMF (1 毫升) 中的溶液中加入硝基苯烟曲霉素基-6-基碳酸酯 (0.536 克)。然后加入异丙基乙胺 (DIPEA) (0.74 毫升)。将反应混合物温热至室温, 然后在相同的温度下搅拌过夜。减压除去溶剂, 将所得残余物溶解在 EtOAc (70mL) 中。将 EtOAc 液用水和盐水洗涤。然后乙酸乙酯溶液经 MgSO₄ 过滤干燥并减压浓缩。将残余物通过快速柱色谱法 (在 CH₂Cl₂ 的 0 至 10% MeOH) 纯化, 得到的 Fmoc-Phe-Gly-NH(CH₂)₆NH-CO-烟霉醇, 为灰白色固体 (0.81 克)。

[0319] H-Phe-Gly-NH(CH₂)₆NH-CO-烟霉醇的合成

[0320]



[0321] 在 N_2 下, 向 $0^\circ C$ 的 Fmoc--Phe-Gly-NH-(CH_2) $_6$ NH-CO-烟毒醇 (0.80 克) 在无水 CH_2Cl_2 (20 毫升) 的溶液中加入 DBU (0.15 克)。将反应混合物温热至室温。减压下除去溶剂, 将所得残余物通过快速柱色谱法纯化 (在 CH_2Cl_2 的 0 至 10% MeOH), 得到的 H-Phe-Gly-NH(CH_2) $_6$ NH-CO-烟毒醇, 为浅黄色胶状物 (0.45 克, 76%)。

[0322] 聚 [HPMA-共-MA-GGFG-N-(6-氨基己基) 氨基甲酰基烟毒醇] 的合成和一般步骤 B

[0323]



[0324] 在 N_2 下, 向 $0^\circ C$ 的在无水 DMF (12 毫升) 中的聚 (HPMA-共-MA-GG-ONp) (0.68 克) 溶液中加入在无水 DMF (5mL) 中的 H-Phe-Gly-NH(CH_2) $_6$ NHCO-烟毒醇 (0.45 克), 随后加入二异丙基乙胺 (DIPEA) (0.25 毫升)。将反应混合物温热至室温, 且在 N_2 下搅拌过夜, 然后加入 3-氨基-1-丙醇 (0.032 克)。该混合物再搅拌一小时。减压除去溶剂, 将所得残余物溶解在 300 毫升的蒸馏水中, 并用 EtOAc 萃取 (4 $\times$)。使用饱和 NaCl 水溶液 (50mL) 以促进相分离。在氮气流下搅拌以从聚合物溶液中除去痕量的 EtOAc。将聚合物溶液通过 VACU 帽过滤器 (pH 值 = 5.56) 过滤, 通过 10K 胶囊的 TFF 浓缩至 30 毫升, 通过 TFF 用水 (700 毫升) 洗涤。然后将聚合物冻干, 以提供所需的聚合物缀合物聚 [HPMA-共-MA-GGFG-N-(6-氨基己基) 氨基甲酰基烟毒醇], 为淡粉红色泡沫状物 (0.685 克)。斯皮罗环氧化物 (spiroepoxide) 含量通过与 2-巯基嘧啶反应来测定, 结果测定为 0.4 毫摩尔 / 克。

[0325] 聚 [HPMA-共-MA-GGLG-N-(6-氨基己基) 氨基甲酰基烟毒醇] 的合成

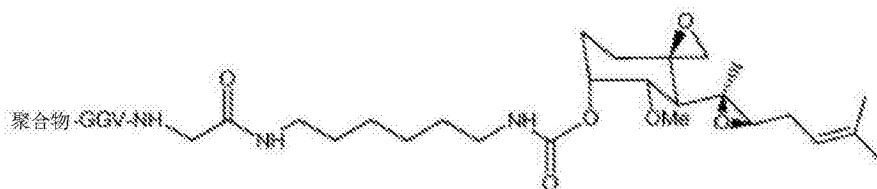
[0326]



[0327] 使用标准技术, 制备二肽 H-Leu-Gly-NH(CH_2) $_6$ NHCO-Fum, 并使用一般步骤 B 偶联至聚 (HPMA-共-MA-GG-ONp)。

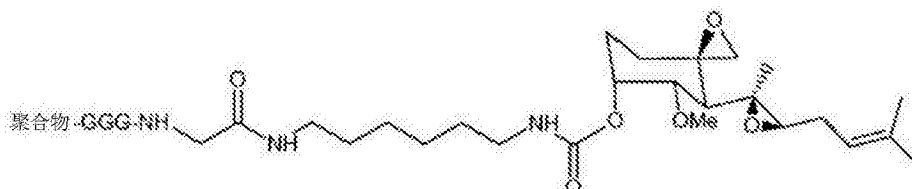
[0328] 聚 [HPMA-共-MA-GGVG-N-(6-氨基己基) 氨基甲酰基烟毒醇] 的合成

[0329]



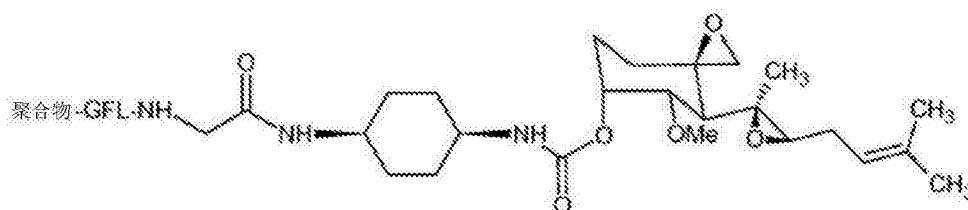
[0330] 使用标准技术,制备二肽 H-Val-Gly-NH(CH₂)₆NHCO-Fum,并使用一般步骤 B 偶联至聚 (HPMA-共-MA-GG-ONp)。

[0331] 聚 [HPMA-共-MA-GGGG-N-(6-氨基己基)氨基甲酰基烟霉醇] 的合成
[0332]



[0333] 使用标准技术,制备二肽 H-Gly-Gly-NH(CH₂)₆NHCO-Fum,并使用一般步骤 B 偶联至聚 (HPMA-共-MA-GG-ONp)。

[0334] 通过聚 [HPMA-共-MA-GFLG-N-(顺式-4-氨基环己基胺-HCl)] 合成聚 [HPMA-共-MA-GFLG-N-(顺式-4-氨基环己基)氨基甲酰基烟霉醇]
[0335]

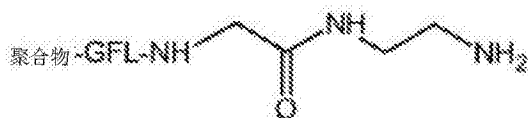


[0336] 使用顺式-1,4-二氨基环己烷 (0.914 克) 和聚 (HPMA-共-MA-GFLG-ONp) (1.5 克) 随后进行常规操作 C,得到聚 [HPMA-共-MA-GFLG-N-(顺式-4-氨基环己基胺-HCl)],为灰白色固体 (1.08 克)。

[0337] 使用聚 [HPMA-共-MA-GFLG-N-(顺式-4-氨基环己基胺-HCl)] (0.98 克),对硝基苯基烟曲霉素-6-基碳酸酯 (0.465 克) 和 DIEA (0.268 克) (在 DMF 中 (16 毫升)) 随后进行一般步骤 F。蒸发溶剂,并且将溶液用水稀释。将水相 (总共 500 毫升) 用乙酸乙酯 (总共 80 毫升) 萃取,并用额外的 350 毫升水通过 TFF 纯化。保留物用水稀释,用乙酸乙酯萃取,冻干,得聚 [HPMA-共-MA-GFLG-N-(顺式-4-氨基环己基)氨基甲酰基烟霉醇],为浅粉色固体 (0.79 克)。

[0338] ¹H NMR (DMSO-d₆): δ 7.90-8.35 (m, 4H, 酰胺-NH), 7.0-7.70 (m, 25H, 苯基丙氨酸和酰胺-NH), 5.26 (m, H-5-Fum), 5.18 (bt, 烯烃-Fum), 4.60-4.90 (m, 14H), 4.50-4.60 (m, 1H, 苯丙氨酸 α 质子), 4.10-4.30 (m, 1H, 亮氨酸 α 质子), 3.40-3.80 (m, 21H), 3.26 (s, 3H, OMe-Fum), 2.80-3.10 (m, 31H), 2.17 (m, 2H, 烯丙基-Fum), 0.37-2.0 [m, 166H {1.69 (s, 3H, Fum-Me), 1.59 (s, 3H, Fum-Me), 1.07 (s, 3H, Fum-Me)}]。

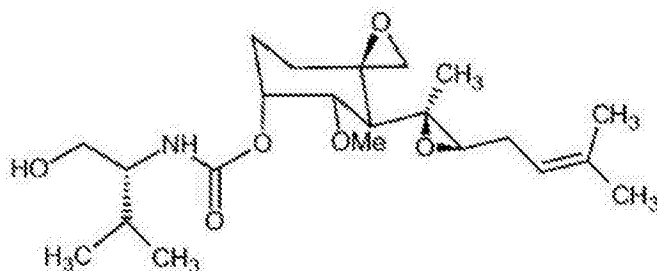
[0339] 聚 (HPMA-共-MA-GFLG-NHCH₂CH₂NH₂·HCl) 的合成和一般步骤 C 用于二胺与聚 (HPMA-共-MA-GFLG-ONp) 的反应
[0340]



[0341] 通过加入 37% 含水盐酸 (17-18 滴), 将乙二胺 (0.33 克, 5.49 毫摩尔) 水 (20 毫升) 溶液 (pH 值 11.7) 调节至 pH 9.1。将溶液在冰浴中冷却, 并在 20 分钟内逐滴滴加在 DMF (6 毫升) 中的聚 (HPMA-共-MA-GFLG-ONp) (1.03 克) 溶液, 同时保持温度低于 4℃。将溶液在 4℃ 下搅拌 20 分钟后, 在室温下搅拌 50 分钟, 得到柠檬黄溶液, pH 值 8.1。将溶液在 40℃ 蒸发。加入 H₂O (3×10 毫升) 并蒸发。将产物用水稀释 (60mL) 中, 用 NaOH 调节溶液至 pH 值为 8.0。将溶液通过 VacuCap 过滤器过滤, 并如下通过 TFF 纯化。首先将聚合物溶液用 25mM NaCl 溶液 (800 毫升) 洗涤, 以除去对硝基苯酚。该溶液用水 (400 毫升) 洗涤, 然后用 0.1M 盐酸调节至 pH 值为 4。将 TFF 保留物收集, 过滤器用 2×10mL 水洗涤。合并的保留物和洗涤物产生聚合物溶液, 其被冻干, 以分离出化合物的聚聚 (HPMA-共-MA-GFLG-NHCH₂CH₂NH₂·HCl), 为浅黄色固体 (0.71 克, 72%)。

[0342] N-[(2R)1-羟基-2-甲基丁烷-2-基]氨基甲酰基烟霉醇的合成和一般步骤 D

[0343]



[0344] 将对硝基苯烟曲霉素-6-基碳酸酯 (400 毫克, 0.89 毫摩尔) 和 (R)-2-氨基-3-甲基-1-丁醇 (280 毫克, 2.71 毫摩尔) 的溶液在乙醇 (10mL) 中在室温下搅拌 12 小时。将黄色溶液浓缩, 残余物经快速色谱 (甲醇/二氯甲烷) 纯化, 得到 N-[(2R)1-羟基-2-甲基丁烷-2-基]氨基甲酰基烟霉醇 (340 毫克, 0.83 毫摩尔), 为无色油状物。

[0345] N-(6-羟基己基)氨基甲酰基烟霉醇的合成

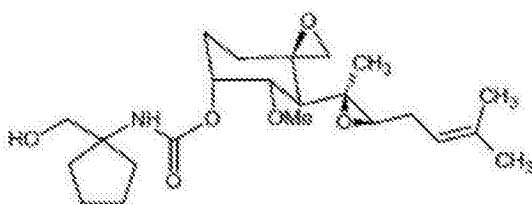
[0346]



[0347] 使用在乙醇 (10mL) 中的对硝基苯烟曲霉素-6-基碳酸酯 (150 毫克) 和 6-氨基己醇 (48mg) 随后进行一般步骤 D。产物被分离成无色油状物 (110mg, 78%)。

[0348] N-[1-(羟甲基)环戊基]氨基甲酰基烟霉醇的合成

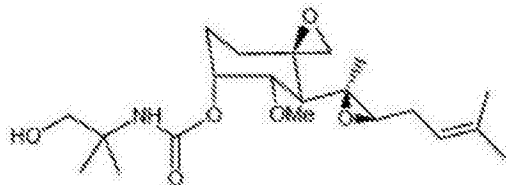
[0349]



[0350] 使用在乙醇 (3mL) 和 THF (1mL) 中的对硝基苯烟曲霉素 -6- 基碳酸酯 (100 毫克) 和环亮氨酸 (52mg) 随后进行一般步骤 D, 以产生油状物 N-[1-(羟基甲基) 环戊基] 氨基甲酰烟曲霉素 (50mg)。

[0351] N-(1- 羟基 -2- 甲基丙烷 -2- 基) 氨基甲酰基烟曲霉素的合成

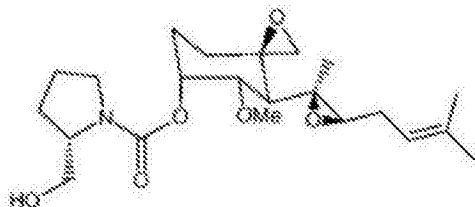
[0352]



[0353] 使用在乙醇 (3mL) 和 THF (2mL) 中的对硝基苯烟曲霉素 -6- 基碳酸酯 (100 毫克) 和 2- 氨基 -2- 甲基丙醇 (40mg) 随后进行一般步骤 D, 以产生油状物 N-(1- 羟基 -2- 甲基丙烷 -2- 基) 氨基甲酰基烟曲霉素 (37mg)。

[0354] 烟曲霉素 -6- 基 (2S)-2-(羟甲基) 吡咯烷 -1- 羧酸酯的合成

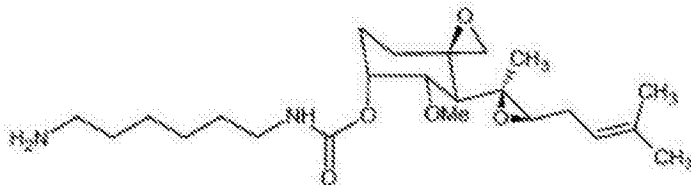
[0355]



[0356] 随后进行一般步骤 D。将 S- 辅氨酸 (68mg, 0.67mmol) 与在乙醇 (4mL) 中的对硝基苯烟曲霉素 -6- 基碳酸酯 (150 毫克, 0.335mmol) 反应。产物经快速色谱 (甲醇 / 二氯甲烷) 纯化, 以产生白色泡沫物烟曲霉素 -6- 基 (2S)-2-(羟甲基) 吡咯烷 -1- 羧酸酯 (81mg, 63%)。

[0357] N-(6- 氨基己基) 氨基甲酰基烟曲霉素的合成

[0358]



[0359] 将 1, 6- 二氨基己烷 (0.13 克) 的甲醇 (8mL) 溶液冷却至 0℃, 逐滴加入对硝基苯烟曲霉素 -6- 基碳酸酯 (0.13 克) 的甲醇 (2mL) 溶液。通过旋蒸将溶剂减少约 2mL。加入乙酸乙酯, 将有机相用水, 0.1N NaOH, 水, 盐水洗涤并用硫酸钠干燥。将溶剂蒸发并将残余物溶解在乙醇 (15 毫升) 中。加入 DL- 酒石酸 (16 毫克), 将溶液储存过夜, 然后蒸发至约 0.5 毫升。加入乙醚, 形成白色固体。将固体通过过滤收集, 用乙醚洗涤并干燥, 得到 N-(6- 氨基己基) 氨基甲酰基烟曲霉素的酒石酸盐 (74 毫克)。

[0360] 烟曲霉素 -6- 基 [反式 -(4- 氨基环己基)] 氨基甲酸酯的合成

[0361]



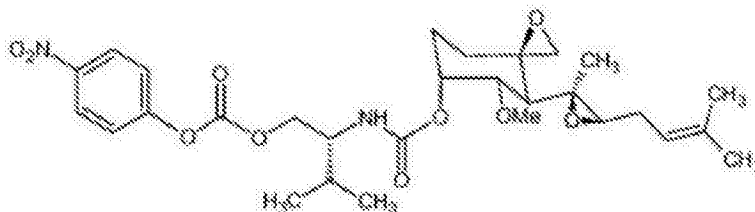
[0362] 在 30 分钟中,向 0-5℃ 下的反式 1,4-二氨基环己烷 (1.3 克) 的甲醇 (80 毫升) 溶液中加入烟曲霉素-6-基-4-硝基苯基碳酸酯 (1.0 克) 的甲醇 (20 毫升) 和 CH_2Cl_2 (20 毫升) 溶液,然后搅拌 30 分钟。在旋转蒸发仪上浓缩至 20ml 并用乙酸乙酯 (75ml) 稀释后,用水 (30 毫升),0.1N 氢氧化钠 (30 毫升),水和盐水 (30ml) 洗涤有机层,减压干燥 (硫酸镁) 并浓缩,得到 0.78 克固体。将其溶解于乙醇 (80 毫升) 中,并加入 DL-酒石酸 (127 毫克)。1 小时后,形成的溶液,在被减压浓缩以除去几乎所有的乙醇前静置过夜。加入 MTBE (100ml),浓缩,并接着 MTBE (30ml)。固体通过过滤收集,用 MTBE (2×10 毫升) 洗涤,在真空中干燥,得到烟曲霉素-6-基 [反式-(4-氨基环己基)] 氨基甲酸酯半酒石酸 (0.73 克);熔点 180-185℃。

[0363] 聚 [HPMA-共-MA-GFLG-NH $(\text{CH}_2)_6\text{NH}_2 \cdot \text{HCl}$] 的合成

[0364] 使用 1,6-二氨基己烷 (621 毫克,5.36 毫摩尔) 和聚 (HPMA-共-MA-GFLG-ONp) (1.0g) 随后进行常规操作 C。使用氯化钠 (25mM) 水溶液将粗产物通过 TFF 法 (5K) 纯化,然后用 0.1M 盐酸酸化至 pH4.0,并进一步用水通过 TFF 纯化,得到聚 [HPMA-共-MA-GFLG-NH $(\text{CH}_2)_6\text{NH}_2 \cdot \text{HCl}$],其为灰白色固体 (860 毫克)。

[0365] N-[(2R)1-羟基-2-甲基丁烷-2-基]氨基甲酰基烟曲霉素-6-基碳酸对硝基苯酯的合成和一般步骤 E

[0366]



[0367] 向在 0℃、在 N_2 下的 N-[(2R)1-羟基-2-甲基丁烷-2-基]氨基甲酰基烟曲醇 (1.11 克) 的二氯甲烷溶液中加入 DMAP (660 毫克,5.40 毫摩尔),随后分批加入对硝基苯基氯甲酸酯 (810 毫克)。将反应混合物在 0℃ 下搅拌 1 小时。将溶剂蒸发,将所得残余物溶解在 EtOAc 中,并用水,盐水洗涤并干燥 (硫酸钠)。EtOAc 的蒸发提供了粗产物,将其经快速层析纯化 (硅胶,用 100% 己烷,然后用 2% -30% EtOAc 洗脱) 纯化。将含纯产品的部分合并并蒸发,以分离出 N-[(2R)1-羟基-2-甲基丁烷-2-基]氨基甲酰基烟曲霉素-6-基碳酸对硝基苯酯 (1.25 克,80%),为白色固体。

[0368] N-[1-(对硝基苯氧基羰基羟甲基)-2-甲基丙烷-2-基]氨基甲酰基烟曲醇的合成

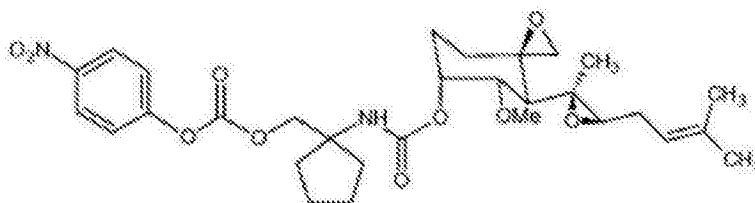
[0369]



[0370] 接着一般步骤E,将二甲基乙醇(60毫克),对硝基苯基烟曲霉素-6-基碳酸酯(46毫克)和DMAP(37毫克)在二氯甲烷(8毫升)中反应。将反应混合物用乙酸乙酯稀释,并用水(3×),然后盐水洗涤。将有机相干燥(硫酸钠)并蒸发,得到黄色泡沫物(87毫克),其被使用而无需进一步纯化。

[0371] N-[1-(对硝基苯氧基羰基羟甲基)环戊基]氨基甲酰基烟霉醇的合成

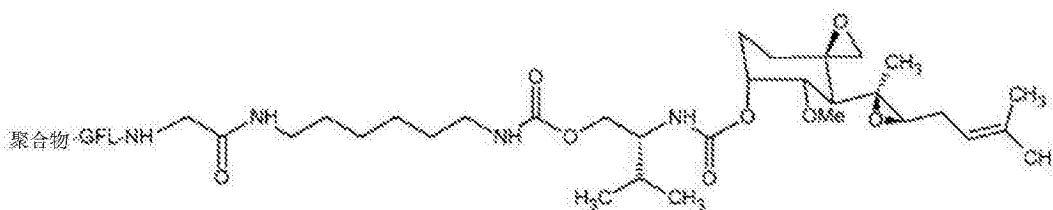
[0372]



[0373] 接着一般步骤E,将N-[1-(羟甲基)环戊基]氨基甲酰基烟霉醇(来自实施例14的产物,74毫克),对硝基苯基氯甲酸酯(53毫克)和DMAP(43毫克)在二氯甲烷(5毫升)中反应。经萃取后,N-[1-(对硝基苯氧基羰基羟甲基)环戊基]氨基甲酰基烟霉醇(100mg)不经进一步纯化而被使用。

[0374] 聚[HPMA-共-MA-GFLG-NH(CH₂)₆NH氨基甲酰基-[1-羟基-3-甲基丁烷-2-基]氨基甲酰基烟霉醇]的合成和一般步骤F

[0375]

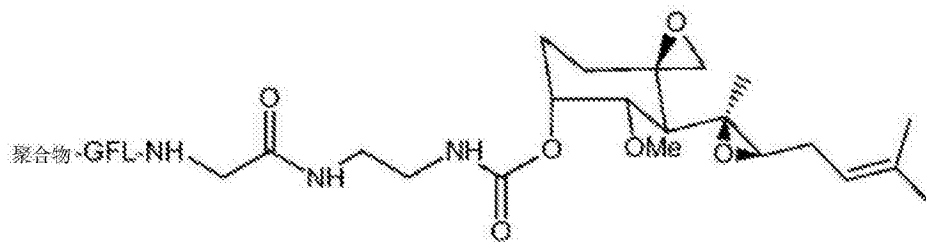


[0376] 向在0℃下的聚合物(400毫克)和对硝基苯基N-[(2R)-1-羟基-3-甲基丁-2-基]氨基甲酰基烟曲霉素-6-基碳酸酯(240毫克)的DMF(8mL)溶液中逐滴加入DIEA(0.11克)。将溶液在0℃下搅拌一小时,并温热至室温。在3天之后,将溶剂蒸发,加入水(80毫升)。水相用乙酸乙酯(总共500毫升)萃取,直到通过MS检测不到起始原料碳酸酯。水相由TFF(10K)纯化,并将保留物冻干,以产生缀合物,为白色固体(380毫克,77%)。

[0377] ¹H NMR(DMSO-d₆): δ 8.25(bs, 2H, 酰胺-NH), 8.0(bs, 1H, 酰胺-NH), 7.70(bs, 2H, 酰胺-NH), 7.10-7.30(m, 15H, 苯基丙氨酸和酰胺-NH), 7.10(bt, 1H, NH-Fum), 6.92(bd, 1H, NH-Fum), 5.26(m, H-5-Fum), 5.18(bt, 烯炔-Fum), 4.50-4.80(m, 1H, 苯基丙氨酸α质子), 4.0-4.21(m, 1H, 亮氨酸α质子), 3.50-3.84(m, 19H), 3.29(s, 3H, OMe-Fum), 2.80-3.10(m, 28H), 2.51(d, 1H, J = 4.4Hz, H-2-Fum), 2.19(m, 2H, 烯丙基-Fum), 0.82-1.92[m, 131H{1.84(m, 2H, Fum), 1.72(s, 3H, Fum-Me), 1.60(s, 3H, Fum-Me), 1.09(s, 3H, Fum-Me), 0.84(dd, 6H, Fum-异丙基)}].

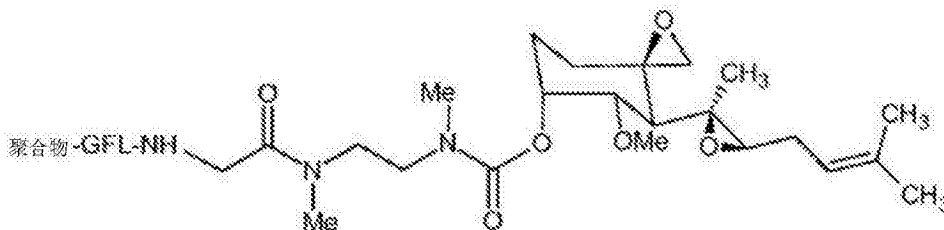
[0378] 聚[HPMA-共-MA-GFLG-N-(2-氨基基)氨基甲酰基烟霉醇]的合成

[0379]



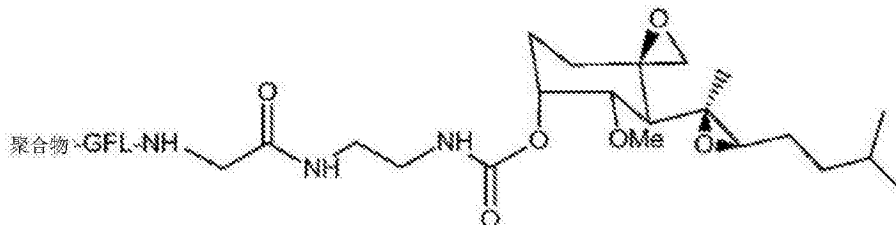
[0380] 使用聚(HPMA-共-MA-GFLG-NHCH₂CH₂NH₂·HCl)(200毫克),对硝基苯基烟曲霉素-6-基碳酸酯(100毫克)和DIEA(57毫克)在DMF(10mL)中接着进行一般步骤F。产物经TFF(10K)用水纯化并冻干,产生缀合物,为浅黄色固体(160毫克)。

[0381] 聚 [HPMA- 共 -MA-GFLG-N(Me)-(2- 甲基氨乙基) 氨基甲酰基烟霉醇] 的合成
[0382]



[0383] 使用聚(HPMA-共-MA-GFLG-N(Me)CH₂CH₂NH₂Me·HCl)(200 毫克),对硝基苯基烟曲霉素-6-基碳酸酯(100 毫克)和 DIEA(57 毫克)在 DMF(5mL)中接着进行一般步骤 F。产物经 TFF(10K)用水纯化并冻干,产生缀合物,为浅黄色固体(160 毫克)。

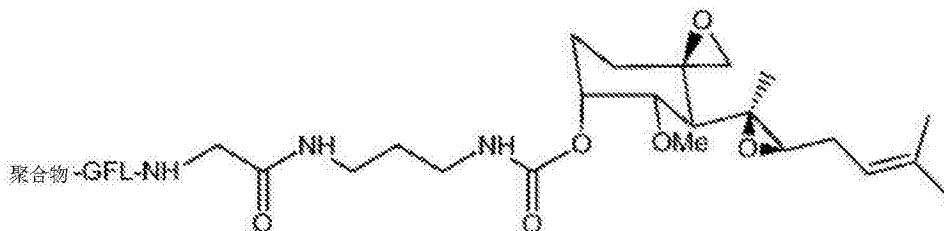
[0384] 聚(HPMA-共-MA-GFLG-N-(2-氨基乙基)氨基甲酰基二氢烟霉醇的合成
[0385]



[0386] 使用聚(HPMA-共-MA-GFLG-HCH₂CH₂NH₂·HCl)(200毫克),对硝基苯基烟曲霉素-6-基碳酸酯(200毫克)和DIEA(57毫克)在DMF(10mL)中接着进行一般步骤F。产物经TFF(10K)用水(150mL)纯化并冻干,产生聚(HPMA-共-MA-GFLG-N-(2-氨基乙基)氨基甲酰基二氢烟霉醇,为浅黄色固体(160毫克)。

[0387] 合成聚 [HPMA- 共 -MA-GFLG-N-(3- 氨基丙基) 氨基甲酰基烟霉醇] 的合成

[0388]

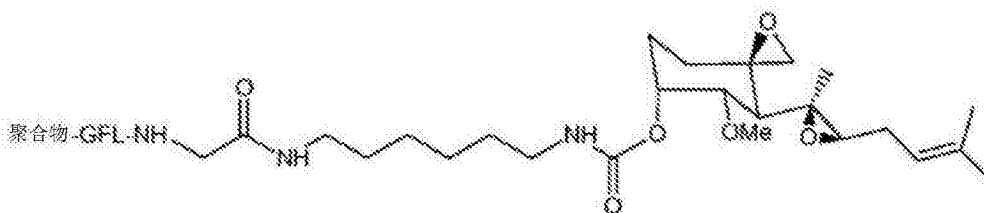


[0389] 使用聚(HPMA-共-MA-GFLG-NHCH₂CH₂CH₂NH₂•HCl)(200 毫克),对硝基苯基烟曲霉素-6-基碳酸酯(110 毫克)和 DIEA(63 毫克)在 DMF(6mL)中接着进行一般步骤 F。将溶剂蒸发并将产生的溶液用水稀释。水相用乙酸乙酯萃取,并用 300mL 水通过 TFF(10K)纯化。

将保留物冻干,以产生聚 [HPMA-共-MA-GFLG-N-(3-氨基己基)氨基甲酰基烟霉醇],为浅粉色粉末(200毫克)。

[0390] 聚 [HPMA-共-MA-GFLG-N-(6-氨基己基)氨基甲酰基烟霉醇] 的合成

[0391]

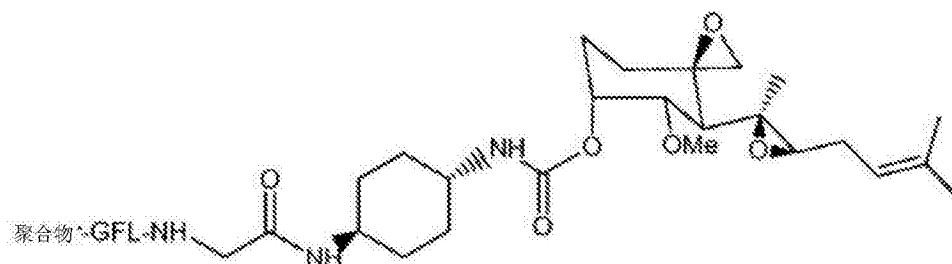


[0392] 使用聚 (HPMA-共-MA-GFLG-N-(反式-4-氨基环己基胺)·HCl)(1.0克),对硝基苯基烟曲霉素-6-基碳酸酯(0.48克)和 DIEA(0.27克)在 DMF(25mL)中接着进行一般步骤 F。将溶剂蒸发并将产生的溶液用水稀释。水相(300毫升)用乙酸乙酯(总共 700 毫升)萃取,并用额外的 350mL 水通过 TFF 纯化。将保留物冻干,以产生聚 [HPMA-共-MA-GFLG-N-(6-氨基己基)氨基甲酰基烟霉醇],为浅粉色粉末(0.9克)。

[0393] ^1H NMR(DMSO- d_6): δ 8.10-8.35(m, 3H, 酰胺-NH), 7.90-8.10(m, 酰胺-NH), 7.05-7.32(m, 22H, 酰胺-NH) 5.27(m, H-5-Fum), 5.18(bt, 烯烃-Fum), 4.60-4.90(m, 14H), 4.50-4.60(m, 1H, 苯基丙氨酸 α 质子), 4.10-4.30(m, 1H, 亮氨酸 α 质子), 3.40-3.80(m, 21H), 3.27(s, 3H, OMe-Fum), 2.80-3.20(m, 33H), 2.56(d, 1H, H = 3.90Hz, H-2-Fum), 2.18(m, 2H, 烯丙基-Fum), 0.37-2.0[m, 147H{1.70(s, 3H, Fum-Me), 1.60(s, 3H, Fum-Me), 1.07(s, 3H, Fum-Me)}]。

[0394] 聚 [HPMA-共-MA-GFLG-N-(反式-4-氨基环己基)氨基甲酰基烟霉醇] 的合成

[0395]



[0396] 使用聚 (HPMA-共-MA-GFLG-N-(反式-4-氨基环己基胺)·HCl)(1.0克),对硝基苯基烟曲霉素-6-基碳酸酯(0.48克)和 DIEA(0.27克)在 25mL DMF 中接着进行一般步骤 F。将溶剂蒸发并用水稀释溶液。水相(300毫升)用乙酸乙酯(总共 700 毫升)萃取,并用额外的 350mL 水通过 TFF 纯化。将保留物冻干,以产生聚 [HPMA-共-MA-GFLG-N-(3-氨基己基)氨基甲酰基烟霉醇],为浅粉色粉末(0.9克)。

[0397] ^1H NMR(DMSO- d_6): δ 7.90-8.35(m, 4H, 酰胺-NH), 7.0-7.70(m, 25H, Phenylalanine and 酰胺-NH), 5.26(m, H-5-Fum), 5.18(bt, 烯烃-Fum), 4.60-4.90(m, 14H), 4.50-4.60(m, 1H, 苯基丙氨酸 α 质子), 4.10-4.30(m, 1H, 亮氨酸 α 质子), 3.40-3.80(m, 21H), 3.26(s, 3H, OMe-Fum), 2.80-3.10(m, 31H), 2.17(m, 2H, 烯丙基-Fum), 0.37-2.0[m, 166H{1.69(s, 3H, Fum-Me), 1.59(s, 3H, Fum-Me), 1.07(s, 3H, Fum-Me)}]。

[0398] 聚 [HPMA-共-MA-GFLG-N-[2-(4-氨基苯基)乙基]氨基甲酰基烟霉醇] 的合成

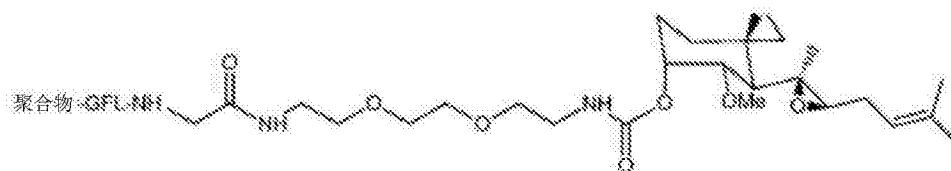
[0399]



[0400] 在 0℃下,向聚 [HPMA-共-MA-GFLG-OH] (200 毫克),N-(2-(4-氨基苯基)乙基]氨基甲酰基烟霉醇] (100 毫克) 和 DIEA (75 毫克) 在 DMF (6 毫升) 中的悬浮液中分批加入 EDCI (总共 44 毫克)。将溶液温热至室温并搅拌过夜。将溶剂蒸发,将残余物悬浮在水中,并用 EtOAc 萃取该悬浮液 (7 次,总共 250mL)。水相用水 (350 毫升) 通过 TFF (10K) 纯化。将保留液冻干,以得到聚合物,其为白色蓬松固体 (170 毫克)。

[0401] 聚 [HPMA-共-MA-GFLG-NH-2-[(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)乙基]氨基甲酰基烟霉醇] 的合成

[0402]

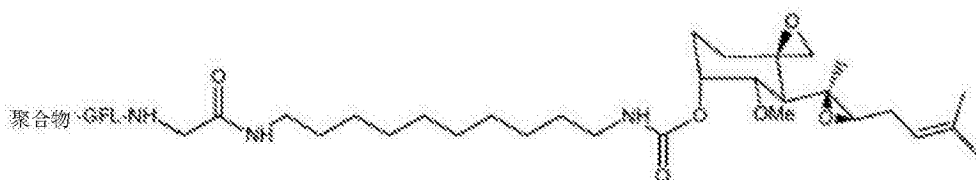


[0403] 向 2,2'-(亚乙二氧基)二(乙胺) (0.79 克,5.34 毫摩尔) 在蒸馏水 (20mL) 中的 0℃下的溶液 (pH 值 = 11.56) 中加入浓盐酸,直至溶液的 pH 为 9.01 (通过 pH 计测量)。将在 DMF (6mL) 和 H₂O (10 毫升) 中的聚 (HPMA-共-MA-GFLG-ONp) (1.0 克,0.534 毫摩尔) 在 15 分钟期间逐滴加入到含胺溶液中,将反应混合物在 0℃下搅拌 15 分钟。将反应混合物然后温热至室温并搅拌 2 小时。该溶液的 pH 经测量为 8.15。将反应混合物用蒸馏水 (300 毫升) 稀释,并通过 VacuCap 过滤器过滤,用水 (100 毫升) 洗涤反应烧瓶。通过 TFF (10K) 将聚合物溶液浓缩至 40 毫升,用 25mM 氯化钠 (800 毫升) 洗涤以除去对硝基苯酚,然后用 0.1M 盐酸将 pH 调至 4,最后用水 (400 毫升) 洗涤。将纯聚合物溶液冻干,以分离聚 [HPMA-共-MA-GFLG-NH-2-[(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)乙胺]·HCl],为粉红色固体 (800 毫克,78%)。

[0404] 向在无水 DMF (5 毫升) 中的对硝基苯基烟曲霉素-6-基碳酸酯 (93 毫克,0.208 毫摩尔) 和聚 [HPMA-共-MA-GFLG-N-2-[(2-(2-氨基乙氧基))乙氧基)乙胺]·HCl] (200 毫克,0.104 毫摩尔) 的在 0℃在 N₂下的混合物中加入 DIEA (57 毫克,0.416 毫摩尔)。将反应混合物温热至室温并搅拌 12 小时。减压除去溶剂,将所得残余物悬浮在水 (30mL) 中,并用 EtOAc 萃取 (使用离心机分离形成的乳液的水和有机相),以除去过量的对硝基苯基烟曲霉素-6-基碳酸酯和对硝基苯酚。将氮气通过水溶液,以除去痕量的乙酸乙酯,并使用 TFF (5K) 通过用水 (150 毫升) 洗涤纯化以除去 DIEA 盐酸盐。将聚合物溶液冻干,得到所需的聚合物缀合物聚 [HPMA-共-MA-GFLG-NH-2-[(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)乙基]氨基甲酰基烟霉醇] (220 毫克,95%),为灰白色固体。

[0405] 聚 [HPMA-共-MA-GFLG-NH-(6-氨基癸基)氨基甲酰基烟霉醇] 的合成

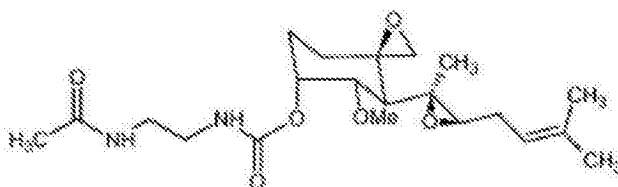
[0406]



[0407] 向在无水 DMF (6mL) 中的对硝基苯基烟曲霉素-6-基碳酸酯 (300 毫克, 0.67 毫摩尔) 和聚 [HPMA-共-MA-GFLG-N-10-[癸胺·HCl] 的混合物 (300 毫克, 0.15 毫摩尔; 以与实施例 33 类似的方式来制备, 只是使用 1, 10-二氨基癸烷作为胺) 的在 0°C 在 N₂ 下混合物中加入 DIEA (83 毫克, 0.64 毫摩尔)。将反应混合物温热至室温并搅拌 12 小时。减压下除去溶剂, 将所得残余物悬浮于水 (30mL) 中, 用 EtOAc 萃取以除去过量的对硝基苯基烟曲霉素-6-基碳酸酯和对硝基苯酚 (使用离心机分离形成的乳液的水和有机相)。将氮气通过水溶液, 以除去痕量的乙酸乙酯。通过 TFF (10K) 使用水 (150 毫升) 洗涤来纯化粗产品, 以除去 DIEA 盐酸盐。将聚合物溶液冻干, 得到所需的聚合物缀合物聚聚 [HPMA-共-MA-GFLG-NH-(6-氨基癸基) 氨基甲酰基烟霉醇] (300 毫克, 87%), 为灰白色固体。

[0408] N-(2-乙酰氨基乙基) 氨基甲酰基烟霉醇的合成

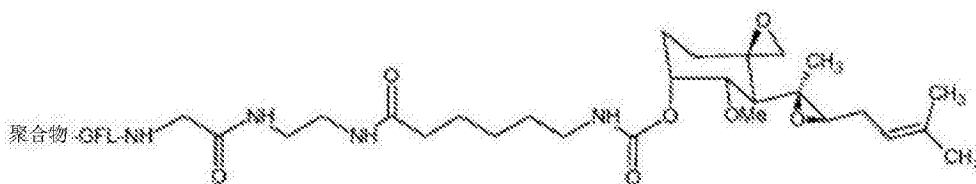
[0409]



[0410] 向 0°C 的对硝基苯基烟曲霉素-6-基碳酸酯 (200 毫克) 的乙醇 (5 毫升) 的溶液中加入 N-(2-氨基乙基) 乙酰胺 (0.132 毫升)。溶液在 0°C 搅拌一小时, 在室温下搅拌过夜。将反应物用乙酸乙酯稀释, 用水洗涤。水相回用乙酸乙酯萃取, 干燥合并的有机相 (硫酸镁)。将粗产物通过快速色谱法纯化。产物为黄色固体 (120 毫克)。

[0411] 以下化合物的合成

[0412]



[0413] 向 0°C 的聚 (HPMA-共-MA-GFLG-NHCH₂CH₂NH₂·HCl) (200mg) 和 N-(5-羧戊基) 氨基甲酰基烟霉醇 (96 毫克) 的 DMF (6mL) 溶液中加入 DIEA (104 毫克), 然后加入 N-(3-二甲基氨基丙基)-N'-乙基碳二亚胺盐酸盐 (42 毫克)。将溶液温热至室温, 且搅拌过夜。将溶剂蒸发, 残余物溶解于水 (50 毫升) 中, 用乙酸乙酯 (200 毫升) 萃取。水相通过 TFF 用水 (450 毫升) 纯化。将保留液冻干, 得到聚合物 (200 毫克), 为浅黄色固体。

[0414] 以下化合物的合成

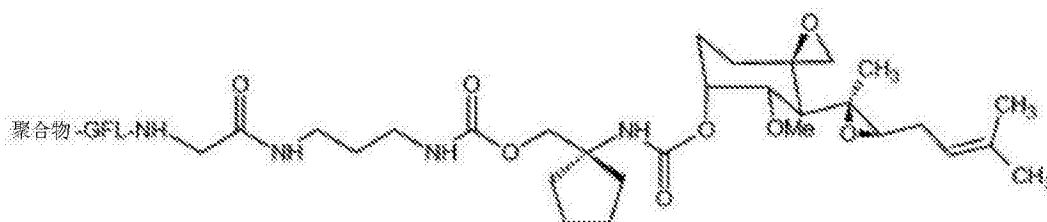
[0415]



[0416] 向在 0℃ 的聚 [HPMA- 共 -MA-GFLG-N(CH₂)₆NH₂·HCl] (216 毫克), 2- 羧基乙基氨基甲酰基烟霉醇 (91 毫克) 的 DMF (8mL) 溶液中加入 DIEA (118 毫克), 然后加入 N-(3- 二甲基氨基丙基)-N'- 乙基碳二亚胺盐酸盐 (88 毫克)。将溶液温热至室温并搅拌过夜。将溶剂蒸发, 残余物溶解于水 (50 毫升) 中, 用乙酸乙酯 (200 毫升) 萃取。水相通过 TFF (10K) 用水 (1L) 纯化。将保留物冻干, 得到聚合物 (170 毫克), 为浅黄色固体。

[0417] 以下化合物的合成

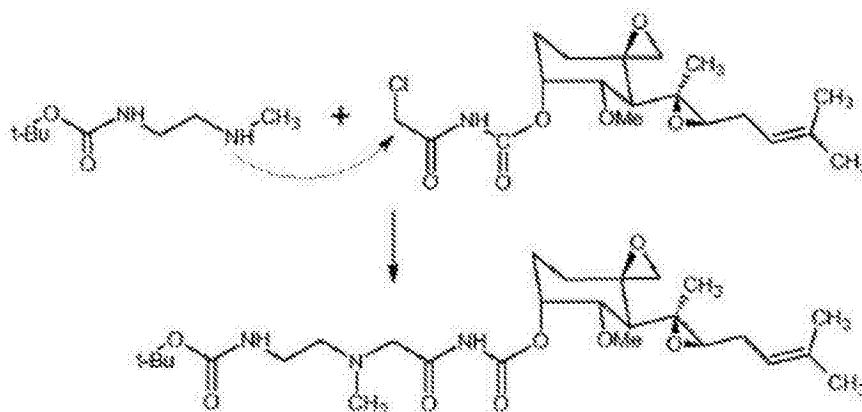
[0418]



[0419] 使用在 DMF (6mL) 中的聚 (HPMA- 共 -MA-GFLG-NHCH₂CH₂CH₂NH₂·HCl) (220 毫克) 和碳酸酯 (实施例 24, 100mg) 与 DIEA (63 毫克) 接着进行一般步骤 F。将反应用乙酸乙酯萃取。接着用水进行 TFF (10K) 纯化, 冻干, 分离出产物, 为浅粉色粉末 (140 毫克)。

[0420] BocNHCH₂CH₂N(Me)CH₂C(O)NHC(O)₂- 烟曲毒素-6-基 (烷基化的 N-BOC, -N'- 甲基乙二胺与氯乙酰氨基甲酰基烟霉醇)

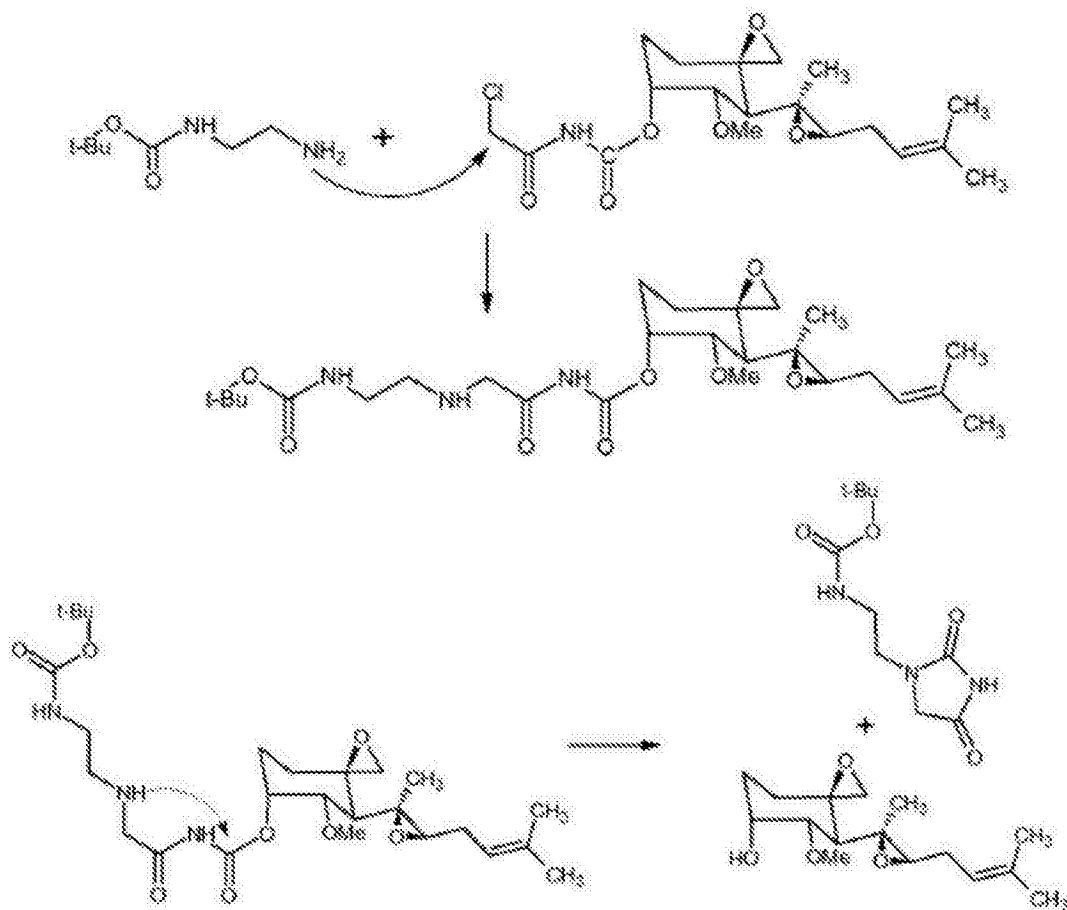
[0421]



[0422] 将 TNP-470 (0.2 克) 和 DIEA (0.105 克) 的 DMF 溶液 (3 毫升) 溶液冷却至 0℃。加入 N-[2-(甲基氨基) 乙基] 氨基甲酸叔丁酯 (0.105 克) 的 DMF (3mL) 溶液, 并将混合物在 0℃ 搅拌 3 小时, 然后搅拌过夜。将反应物用乙酸乙酯稀释并用水萃取。将水相用乙酸乙酯萃取, 将合并的有机相用盐水萃取, 干燥 (MgSO₄) 并蒸发, 得到油状物。通过硅胶色谱法 (甲醇 / 二氯甲烷) 纯化, 并蒸发产物级分, 得到 BocNHCH₂CH₂N(Me)CH₂C(O)NHC(O)₂- 烟曲毒素-6-基, 白色泡沫物 (0.16g, 60%)。

[0423] N-[2- 氨基乙基] 氨基甲酸叔丁酯与氯乙酰基氨基甲酰基烟霉醇的反应

[0424]



[0425] 将在 DMF 中的 1M Boc- 乙二胺溶液的 30 微升等分加入到 DMF (270 微升) 中。将溶液冷却至 0℃, 在 2 分钟内逐滴添加 TNP-470 (48 毫克) 的 DMF 溶液 (600 微升) 溶液。反应通过 LC/MS 监测。观察到所期望的烷基化产物的量最大为 34%。也产生氨基甲酰基烟酶醇。所需产物比氨基甲酰基烟酶醇的比率为 1.0 至 0.4。所需产物的试图分离导致了乙内酰脲和烟酶醇的分离。因此, 所需的产物由于分解速度而不能被分离。因此, 根据所描述的方法, TNP-470 不能被烷基化。

[0426] 体内测试 DIO C57B16 小鼠——体重变化、食品消耗、身体组成

[0427] 对 13 周龄、平均体重 34 克的 C57B16 雄性小鼠 (N = 6) 随意喂食 TD. 06414 高脂肪食物, 其包含来自脂肪的 60% 千卡 (哈伦饮食)。在研究第 1 天将动物随机分组, 使得各组的平均重量为 33.9 克。所述小鼠用磷酸盐缓冲盐水 (载体), TNP-470, 或化合物 16 (背侧、皮下给药) 中任一种来治疗。在下表所示的剂量和时间表下治疗持续 31 天。动物每隔一天进行称重。食物消耗量每周测量。在第 33 天进行大体病理分析, 以测定身体组成。

[0428] 图 1 比较了以如表 2 所示的不同的剂量 / 治疗方案下用本发明的烟酶醇缀合化合物 (化合物 16) 或 TNP-470 (合成烟曲霉素类似物) 治疗肥胖的 DIO 小鼠的体重减轻。

[0429] 表 2

[0430]

体重 第 33 天	剂量 mg/kg/天	剂量*	方案	药物
39.6	0	0	qod	载体
34.1	0.5	1.12	qod	TNP-470
30.4	0.5	0.18	qod	化合物 16
27.4	1.5	0.56	q4d	化合物 16
*每日剂量, 微摩尔/kg 烟毒醇				

[0431] 图 1 中的结果显示了,载体对照组重量增加 16%,而当以 q4d 给药方案施用化合物 16 时体重减少 19%。化合物 16 的施用提供了治疗和预防作用。具体地,化合物 16 诱导或增加体重减轻,并且其也可以防止重量增加。在减肥的程度上化合物 16 优于 TNP-470。化合物 16 优于 TNP-470,因为烟毒醇的剂量减少。

[0432] 图 3 比较了在此所描述的不同的剂量/治疗方案下化合物 16 或 TNP-470 治疗的肥胖的 DIO 小鼠的体脂肪组成。在 33 日进行大体病理分析。载体对照组的总脂肪的 BW 百分数为 13.2%,而在用化合物 16 处理的组的总脂肪为 8.2% (1mg/kg 的 qod) 或 5.6% (6mg/kg q4d)。

[0433] 表 3 体重 (克), 组平均值

[0434]

	B.W.	脂肪总量	附睾脂肪	腹股沟脂肪	腹膜后脂肪	肝脏
载体	39.6	5.24	2.21	1.93	1.10	1.46
TNP qod	34.1	3.55	1.54	1.21	0.80	1.15
化合物 16 1 mg/kg qod	30.4	2.52	1.18	0.92	0.42	1.10
化合物 16 6 mg/kg q4d	27.4	1.55	0.78	0.53	0.23	1.17

[0435] 图 2 比较了在不同的剂量/治疗方案下使用化合物 16 或 TNP-470 治疗的肥胖的 DIO 小鼠的平均日常食物消耗。图 2 中的结果显示了用化合物 16 治疗后的减少的食物消耗,且化合物 16 导致比 TNP-470 更大的食物消耗减少量。

[0436] 图 3 比较了在不同的剂量/治疗方案下使用化合物 16 或 TNP-470 治疗的肥胖的 DIO 小鼠的身体组成 (脂肪 V. 体重)。图 3 中的结果表明了体重减少的量直接与脂肪减少相关。

[0437] 体内测验 DIO C57B16 小鼠——体重变化,食物消耗,糖耐量和身体组成剂量反应

[0438] 对 15 周龄、平均体重 42 克的 C57B16 雄性小鼠 (N = 6) 随意喂食 TD. 06414 高脂肪食物,其包含来自脂肪的 60% 千卡 (哈伦饮食)。在研究第 1 天,用磷酸盐缓冲盐水 (载体) 或化合物 16 以不同剂量治疗 (背侧,皮下给药) 动物。在下表所示的剂量和时间表下持续治疗 29 天。动物每隔一天进行称重。食物消耗量每周测量。在第 24 天 (小鼠已最近在第 21 天用化合物 16 治疗) 的过夜禁食 IP 的葡萄糖耐量试验 (GTT) 施用于载体组和 4 组化合物 16 治疗组。称重每只动物并收集基线禁食葡萄糖测量值。给每只动物以 1 克每

千克剂量腹腔内注射 25% 的葡萄糖溶液。IP 施用葡萄糖后 15 分钟、30 分钟、60 分钟、90 分钟和 120 分钟测定血糖水平（通过使用 AlphaTRAK 血糖监测系统（包括来自 Abbott 实验室的血糖仪和测试条）（北芝加哥，伊利诺伊州，美国）通过尾静脉血液样本）。AlphaTRAK 仪表显示 20 和 750mg/dL (1.1-41.7mmol/L) 之间的结果。将在 32 日（老鼠已最近在第 29 天被给药）的动物禁食三小时，称重，通过心脏穿刺收集血液，并进行大体病理以测定身体组成。由爱德士 (Idexx) 实验室进行血液分析。对于剂量 0、0.2、0.6、2.0 和 6.0，血糖分别为 278、290、265、259 和 227mg/dL。对于剂量 0、0.2、0.6、2.0 和 6.0，BUN 分别为 21.8、22.0、19.7、15.3 和 16.5。

[0439] 表 4 显示了血糖水平作为时间和化合物 16 的剂量的函数。表 4 显示了较高剂量的化合物 16 导致较低的血糖水平，即使在最低剂量 0.2mg/kg；这些结果显示在图 4 中。

[0440] 表 4 血糖，组平均值

[0441]

剂量	平均值	血糖 mg/dL 组平均值 $\pm$ SEM					
mg/kg	BW (g)	禁食	15 min	30 min	60 min	90 min	120
载体-0	43.0	226 $\pm$ 22.9	502 $\pm$ 30.3	621 $\pm$ 38.4*	580 $\pm$ 48.7*	459 $\pm$ 54.0	297 $\pm$ 33.7
0.2	43.4	254 $\pm$ 5.8	505 $\pm$ 33.9	446 $\pm$ 20.5	456 $\pm$ 25.9	341 $\pm$ 15.5	241 $\pm$ 16.8
0.6	40.9	206 $\pm$ 14.9	442 $\pm$ 50.0	441 $\pm$ 35.54	388 $\pm$ 56.7	302 $\pm$ 43.3	192 $\pm$ 12.9
2.0	36.8	198 $\pm$ 11.6	388 $\pm$ 20.7	361 $\pm$ 24.3	327 $\pm$ 26.7	244 $\pm$ 24.0	166 $\pm$ 6.4
6.0	33.0	185 $\pm$ 6.5	473 $\pm$ 39.1	355 $\pm$ 23.8	324 $\pm$ 19.1	240 $\pm$ 6.7	177 $\pm$ 9.3

*每组中的一只小鼠血糖 > 750mg/mL；以等于 750mg/mL 处理

[0442] 表 5 显示了在大于 0.2mg/kg q4d 剂量时，化合物剂量的增加导致体重减少量的明显增加。表 6 显示了与载体组相比，剂量 2mg/kg 的 Q4D 和 6mg/kg Q4D 剂量均与食物消耗的显著减少相关，食物消耗量是剂量响应性的。从 9-29 天，2mg/kg 组的每周食物消耗率为 90% 的载体，而 6mg/kg 组的食物消耗率为 75% 的载体。

[0443] 表 5 第 32 天体重

[0444]

剂量	组 BW (g)	从第 1 天的	烟霉醇*
mg/kg	$\pm$ SEM	体重改变	
载体-0	45.7 $\pm$ 1.12	+8.3%	0.00
0.2	46.5 $\pm$ 0.65	+10.5%	0.02
0.6	43.3 $\pm$ 0.42	+2.9%	0.06
2.0	38.8 $\pm$ 0.70	-7.4%	0.18
6.0	33.6 $\pm$ 0.72	-20.0%	0.54

[0445] * 微摩尔 /kg/ 天 ;q4d 给药

[0446] 表 6 每周食物消耗，组平均值

[0447]

组	第 1-8 天	第 9-15 天	第 15-22 天	第 22-29 天
	食物 (g)	食物 (g)	食物 (g)	食物 (g)
载体	22.4	23.3	22.4	21.5
0.2 mg/kg	25.8	22.6	20.3	19.7
0.6 mg/kg	19.5	21.5	20.2	18.4
2 mg/kg	14.3	22.2	19.9	18.5
6 mg/kg	9.0	17.5	17.8	16.1

[0448] 表 7 显示了脂肪组织比其他组织优先减少, 因为对照组的小鼠为约 13% 的脂肪, 而 2 毫克 / 公斤 Q4D 组和 6 毫克 / 公斤 Q4D 组的小鼠分别是 11% 和 10% 的脂肪。

[0449] 表 7 在第 32 天的组织重量, 组平均值

[0450]

剂量 mg/kg	平均的 B.W. (g)	平均的总 脂肪量	组织重量平均值 (g)				脂肪% 体重
			附睾脂肪	腹股沟脂肪	腹膜后脂肪	肝脏	
0.0	45.70	5.88	1.88	2.65	1.35	2.00	12.9%
0.2	46.50	6.02	2.01	2.54	1.48	2.06	13.0%
0.6	43.32	6.01	2.24	2.51	1.26	1.75	13.9%
2.0	38.82	4.42	1.72	1.81	0.89	1.44	11.4%
6.0	33.60	3.25	1.11	1.54	0.60	1.30	9.7%

[0451] 图 5 中的结果显示了利用 Q4D 方案在大于或等于 0.6mg/kg 的剂量下使用化合物 16 治疗的体重减轻增加。重量减轻是剂量响应性的, 越高的剂量造成越大的重量减轻量。

[0452] 表 8 的结果显示了胆固醇、甘油三酯、高密度脂蛋白 (HDL)、低密度脂蛋白 (LDL) 和 HDL/LDL 比率的减少, 其与增加的化合物 16 剂量相关联。这些结果显示在图 6 中。

[0453] 表 8 第 32 天的脂质

[0454]

剂量 mg/kg	胆固醇 mg/dL	甘油三酯 mg/dL	HDL mg/dL	LDL mg/dL	HDL/LDL 比
0	244±12.6	140±7.7	112±4.0	24±2.2	4.8±0.4
0.2	253±8.4	158±10.9	117±2.7	24±1.1	4.9±0.2
0.6	210±3.7	116±3.1	106±1.2	20±0.3	5.4±0.1
2	149±4.7	95±8.7	92±2.6	10±0.5	9.0±0.4
6	109±2.6	81±13.6	72±1.3	8±0.5	9.0±0.5

[0455] 值为 ±SEM

[0456] 表 9 中的结果显示了与化合物 16 的增加的剂量相关的碱性磷酸酶、SGPT、SGOT 和 CPK 的有利的变化。

[0457] 表 9 血酶分析

[0458]

剂量 mg/kg	碱性磷酸酶	SGPT (ALT)	SGOT (AST)	CPK
0	61±1.2	74±11.2	72±5.4	34±2.5
0.2	51±3.2	79±16.8	77±10.1	74±18.5
0.6	44±1.4	50±2.3	57±2.4	66±11.3
2	43±2.4	35±3.1	53±3.7	68±17.8
6	36±0.9	42±5.9	59±2.2	84±13.3

[0459] 实施例

[0460] 对 15 周龄、平均体重 42 克的 C57B16 雄性小鼠 (N = 6) 随意喂食 TD. 06414 高脂肪食物, 其包含来自脂肪的 60% 千卡 (哈伦饮食)。在研究的第 1 天, 基于 q4d 的方案, 以磷酸盐缓冲盐水 (载体) 或 2mg/kg 的剂量的化合物 16、28、29 或 30, 或者 6mg/kg 的剂量的化合物 31 治疗动物 (背部, 皮下给药)。动物每隔一天进行称重。图 10 比较了在用本发明的多种缀合物治疗 23 天后的肥胖 DIO 小鼠的体重减轻。图 10 中的结果显示了仅改变连接子导致重量减轻的程度。

[0461] 实施例

[0462] 对 9-10 周龄、平均体重 300 克的 SD 雄性大鼠 (Sprague Dawley male rat) (N = 3) 随意喂食啮齿动物的标准饮食 (PharmaServ 实验室 5001)。图 7 - 在第 1、8、15、22 和 29 天, 用化合物 16 以 100mg/kg 或 200mg/kg (IV, 尾巴静脉) 治疗大鼠。大鼠被定期地称重, 并在第 10、17、24 天抽血。对于活体血液采集, 使用 4% 异氟醚和 1.5% 氧气的吸入混合物将大鼠麻醉, 然后经由后眼窝丛穿刺以收集至少 1mL 体积的血液。在第 31 天对动物进行称重, 通过心脏穿刺收集血液, 并进行大体病理分析以测定身体组成。在正常范围和给药前数据比较的限定内, 对于白蛋白、白蛋白 / 球蛋白比、碱性磷酸酶、转氨酶 (SGPT)、AST (SGOT)、碳酸氢盐、直接胆红素、间接胆红素、总胆红素、BUN、BUN / 肌酐酐比、钙、氯化物、胆甾醇、CK、肌酐、球蛋白、葡萄糖、磷、钾、钠、钠 / 钾比、总蛋白的临床发现并不明显。除了减肥和此报告的其他调查结果, 动物似乎是非常正常的, 并没有表现出神经毒性的证据, 如共济失调、神志不清、震颤或痉挛。图 7 中的结果显示了基于 q7d 给药方案的高剂量下化合物 16 是可以被忍受的。

[0463] 实施例

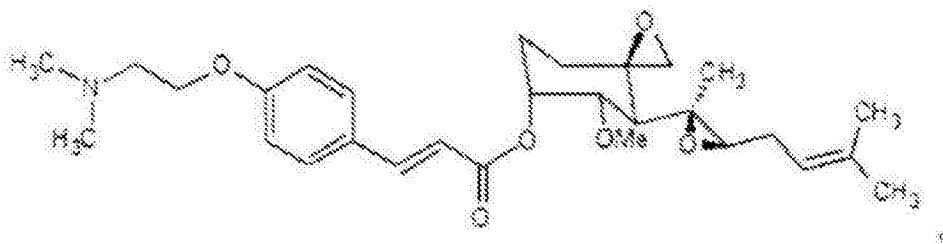
[0464] 对 SD 雄性大鼠 (N = 3, 平均体重 350 克) 单次静脉注射载体、化合物 1 (30mg/kg) 或化合物 16 (200mg/kg)。在第 0、0.25、0.5、1、2、4、8、24 和 48 小时通过隐静脉穿刺收集血液样品。每个样品的等分试样用含作为内标的普萘洛尔的甲醇稀释, 并通过定量下限为 2.5nM 的 LC/MS/MS 进行分析。在施用化合物 1 或化合物 16 任一种的情况下, 分析物是化合物 1。小分子化合物 1 的半衰期是在 10-15 分钟的范围; 峰值浓度为大约 15 μ M 并出现在 T_0 。对于聚合物缀合物, 被释放的小分子化合物 16, 在约 3 小时时显示出大约 0.3 μ M 的峰值浓度, 终末消除半衰期为 10 小时。这些结果显示在图 9。

[0465] 实施例 体内检测 DIO 莱文大鼠——体重变化、食物消耗、身体组成、方案 - 剂量反应、瘦素水平

[0466] 进行研究以评价烟毒醇聚合物缀合物、化合物 16 和小分子烟毒醇衍生物、化合物 1 和 CKD-732 (也称为的贝洛盐和 ZGN-443) 的相对功效。在此提及的 CKD-732 是以下结构

的半酒石酸盐：

[0467]



[0468] 化合物 1 也以半酒石酸盐的形式测试。

[0469] 对膳食诱导肥胖的 (DIO) 莱文-DS 大鼠模型以每 4 天 (Q4D) 给药的方案同时皮下施用试验样品。化合物 16 的效力也通过每周 (q7d) 给药的方案来评价。饮食干预 (标准饮食 (Standard Chow), Labdiet 5001 ;3.4 千卡 / 克) 被引入用以比较药物干预。达到三周龄后,雄性大鼠接受哈伦饮食 TD. 06414 的随意粒料,60% 的卡路里来自脂肪,21% 的卡路里来自碳水化合物 ;5.1kcal/g。给药之前,将大鼠随机分成三只动物的组,平均体重 595 克。用磷酸盐缓冲盐水 (载体),化合物 16 或化合物 1 或 CKD-732 治疗 (背侧,皮下给药) 大鼠。将化合物 16 溶解于载体中。在用载体稀释之前,将半酒石酸盐形式的化合物 1 和半酒石酸盐形式的 CKD-732 稀释溶于乙醇中。所有剂量以 5.0ml/kg 的量施用。在下表 10 中所示的剂量和给药方案下,治疗持续 68 天。由于 CKD-732 的分子量比化合物 1 的分子量大 15%,因此出于以摩尔基础来比较的目的,CKD-732 剂量为 1.15mg/kg,而化合物 1 剂量为 1mg/kg。在第 1 天的第一次给药,大鼠 14 周龄。此外,在第 1 天,第 2 组从高脂肪的饮食转换至标准饮食 ;剩下的组在研究期间维持在高脂肪饮食。

[0470] 表 10

[0471]

组 #	试验品	大鼠数量	途径	饮食	给药频率	给药量 (ml/kg)	浓度 (mg/ml)	剂量 (mg/kg)
1	载体	3	SC	60%脂肪	q4day	5.0	0	0
2	载体	3	SC	标准	q4day	5.0	0	0
3	化合物 16	3	SC	60%脂肪	q4day	5.0	0.067	0.3
4	化合物 16	3	SC	60%脂肪	q4day	5.0	0.2	1.0
5	化合物 16	3	SC	60%脂肪	q4day	5.0	0.6	3.0
6	化合物 16	3	SC	60%脂肪	q7day	5.0	1.2	6.0
7	化合物 1	3	SC	60%脂肪	q4day	5.0	0.3	1.0
8	化合物 1	3	SC	60%脂肪	q4day	5.0	0.6	3.0
9	CKD-732	3	SC	60%脂肪	q4day	5.0	0.23	1.15

[0472] 动物每隔一天进行称重。食物消耗量每周测量。在整个研究中的大约每周,取血样用于评估血清化学,包括葡萄糖和胰岛素。在第 48 天,所有大鼠进行 4 小时的禁食口服葡萄糖耐量试验 (OGTT)。动物被以 8mL/kg 口服给药 (经口, PO) 25% 葡萄糖 (2g/kg)。第 68 天,进行大体病理分析,以测定身体组成。

[0473] 图 11 显示了每组的体重随研究日的变化。在 Q4D 和 Q7D 聚合物缀合物给药组观察到体重的显著减少。使用 3mg/kg (Q4D) 或 6mg/k (Q7D) 的化合物 16 的治疗表现出比标准饮食更大的体重减轻。在研究结束时,用 3mg/kg (Q4D) 的化合物 16 呈现出比载体对照低

22.1%的体重,比在标准饮食下的大鼠低6.2%。大约十周后,使用6mg/k(Q7D)的化合物16的治疗显示出与3mg/kg(Q4D)方案下的治疗相当的体重。Q4D方案下以1mg/kg给药的化合物1和以1.15mg/kg给药的CDK-732显示出比载体低3.9%或3.2%的体重。Q4D方案下以3mg/kg给药的化合物1显示出比载体低8.9%的体重。聚合物缀合物是活性烟霉醇衍生物的约1/6th(重量)。

[0474] 图12显示了第68天的所有组的最终体重,其作为平均每日烟霉醇暴露的函数。载体和标准饮食没有烟霉醇暴露。与在与聚合物缀合物相同的方案下的化合物1或CKD-732相比,化合物16显示了在显著更低的烟霉醇暴露下的更大的重量减少量。所有组均基于Q4D方案给药,除了6mg/kg的化合物16,其是Q7D给药。

[0475] 表11 平均(n = 3)D10大鼠终体重(克),作为烟霉醇剂量的函数

[0476]

干预后68天的体重减轻 vs 暴露					
组	剂量(mg/kg)	方案	μM: 烟霉醇	kg/day	终体重 (g)
载体 HF	0	q4d	0		742.3
标准饮食	0	q4d	0		645.0
化合物 16	0.3	q4d	25		727.3
化合物 16	1.0	q4d	83		668.6
化合物 16	3.0	q4d	250		604.7
化合物 16	6.0	q7d	286		596.7
化合物 1	1.0	q4d	500		717.3
化合物 1	3.0	q4d	1500		684.0
CKD-732	1.15	q4d	500		714.0

[0477] 图13显示了相比于标准饮食干预和载体组,保持60%脂肪饮食并以q4d(3mg/kg)和q7d(6mg/kg)方案施用本发明的化合物的雄性莱文D10大鼠中的血清胰岛素水平的减少量。

[0478] 表12:平均(n = 3)的D10大鼠胰岛素作为时间的函数

[0479]

在雄性莱文D10大鼠中的平均胰岛素 (ng/mL)					
	给药前	第7天	第15天	第23天	第48天
载体	1.74	2.66	3.37	3.15	3.00
标准饮食	1.96	1.68	1.40	1.78	1.51
化合物 16, 0.3mg/kg	1.76	2.27	1.65	1.66	1.70
化合物 16, 0.6mg/kg	2.95	2.09	1.38	1.72	1.91
化合物 16, 3mg/kg	1.49	0.66	0.54	1.26	1.08
化合物 16, 6mg/kg	3.06	1.96	1.00	1.11	1.32
化合物 1, 1mg/kg	1.92	1.83	1.39	1.20	1.75
化合物 1, 3mg/kg	2.10	1.35	1.68	1.27	1.40
CKD-732, 1.15mg/kg	2.58	2.08	1.91	1.60	1.56

[0480] 表12显示了每组空腹胰岛素水平的变化。所有组(除载体对照组)显示出减少的胰岛素水平,这表明本发明的化合物在不频繁的给药方案下较低的胰岛素水平。

[0481] 图14显示了与标准饮食干预和载体组相比,以q4d和q7d方案用本发明的化合物

治疗的大鼠在胰岛素水平方面的口服葡萄糖耐受性试验 (OGTT) 结果。标准饮食干预也导致了较低的胰岛素水平。相对于载体胰岛素水平仍然减少,异常高的葡萄糖水平的存在表明了需要较低的胰岛素水平来减少血糖 (参见图 15), 表明了改善的 / 恢复的胰岛素敏感性。

[0482] 图 15 显示了对于口服葡萄糖负荷试验后的多种治疗的减少的葡萄糖水平随时间的变化。

[0483] 表 13 在 DIO 进行口服葡萄糖耐量试验 (OGTT) 后的血糖水平

[0484]

在葡萄糖挑战期间雄性莱文大鼠中的血糖含量 (mg/dl)								
组别	时间	OGTT 前	15	30	60	90	120	体重 (g)
载体 HF		128	158	153	163	160	132	702
标准饮食		110	147	145	134	124	129	617
化合物 16, 0.3mg/kg		121	156	145	157	149	147	697
化合物 16, 0.6mg/kg		121	150	148	149	143	150	662
化合物 16, 3mg/kg		120	157	144	140	127	129	582
化合物 16, 6mg , q7d		128	161	141	145	145	136	604
化合物 1, 1mg/kg		124	156	142	152	151	142	686
化合物 1, 3mg/kg		123	175	171	149	147	129	668
CKD-732, 1.15mg/kg		123	174	171	158	153	144	686

[0485] 图 16 显示了雄性莱文 DIO 大鼠葡萄糖的产物 (mM/L) × 胰岛素 (uU/ml)/22.5 作为胰岛素敏感性的可接受的衡量 (Matthews et al., Diabetologia(1985)28, 412+419; Pickavance et al., British Journal of Pharmacology(1999)128, 1570±1576)。

[0486] 表 14 对于 DIO 大鼠的 HOMA-ir 计算

[0487]

HOMA-ir (胰岛素敏感性)			
	给药前	15 分钟	30 分钟
载体 HF	26.7	73.6	24.3
标准饮食	11.7	36.5	11.7
化合物 16, 0.3mg/kg	14.6	40.1	10.8
化合物 16, 1mg/kg	16.4	50.1	18.1
化合物 16, 3mg/kg	9.2	13.7	4.6
化合物 16, 6mg, q7d	12.0	37.2	3.5
化合物 1, 1mg/kg	15.4	42.7	21.1
化合物 1, 3mg/kg	12.2	29.2	9.5
CKD-732, 1.15mg/kg	13.6	49.0	35.9

[0488] 脂肪细胞激素瘦素是食欲的抑制器。瘦素抵抗 (不依赖于食物摄入量的异常高的水平) 已知会使病人和动物出现饮食型肥胖症 (Levin et al., Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2002Oct;283(4):R941-8)。瘦素水平低已与饮食过多有关 (Sindelar et al., 1999, Enriori et al., 2006)。食物消耗量每周测量。血清瘦素水平在第 29 天测定, 并相对含第 29 天的周数的食物消耗量绘图。标准饮食的动物是贪食的, 并比用本发明的化合物表现出显著更大的食物摄取量对瘦素水平。用化合物 1 的治疗没有导致瘦素水平的显著降低。图 17 显示出每组的以克计的每周食物消耗量。标准食物组从高脂肪饮食切换到

标准饮食下后显示出显著高的食物摄取量。摄食过度已知是为了保持热量摄入而发生。

[0489] 表 15 食物消耗量

[0490]

组平均食物消耗量										
给药 组别	1-8 天 食物(g)	9-15 天 食物 (g)	16-23 天 食物(g)	24-30 天 食物(g)	31-36 天 食物(g)	37-43 天 食物(g)	44-50 天 食物(g)	51-57 天 食物(g)	58-63 天 食物(g)	63-68 天 食物(g)
载体	115.7	135.3	246.9	111.8	124.3	129.4	126.9	131.8	117.9	99.6
标准饮食	338.1	333.5	291.7	174.6	184.8	261.8	256.4	288.3	291.1	328.4
化合物 16, 0.3mg/kg	126.2	125.9	128.2	123.1	122.4	131.9	135.6	134.5	134.3	57.6
化合物 16, 0.6mg/kg	121.2	131.6	139.7	122.3	125.6	116.6	118.3	123.1	130.7	45.3
化合物 16, 3mg/kg	87.3	63.2	123.4	138.7	101.6	105.5	128.9	115.2	128.0	43.3
化合物 16, 6mg q7d	105.2	48.3	49.9	135.8	117.4	126.3	81.2	127.5	127.7	19.8
化合物 1, 1mg/kg	128.6	139.3	121.1	155.9	144.6	121.7	122.4	137.7	130.7	55.1
化合物 1, 3mg/kg	123.8	98.9	116.1	149.3	139.8	130.9	94.7	116.2	124.9	42.8
CKD-732, 1.15mg/kg	121.8	113.5	108.7	133.9	151.9	143.7	112.3	135.0	125.8	81.9

[0491] 图 18 显示了保持在高脂肪饮食并用本发明的缀合物治疗或标准食物干预的雄性莱文 DIO 大鼠的瘦素水平从基线的变化。从对于化合物 16 的瘦素水平从基线的变化中观察到剂量 - 依赖性反应。

[0492] 表 16 瘦素水平从基线的变化

[0493]

瘦素水平, 第 29 天, 从基线的变化			
组别	变化%	给药前	第 29 天
载体 HF	5.3%	4.43	4.67
标准饮食	-63.9%	3.33	1.20
化合物 16, 0.3mg/kg	30.3%	2.53	3.30
化合物 16, 0.6mg/kg	-2.9%	4.67	4.53
化合物 16, 3mg/kg	-45.0%	2.47	1.36
化合物 16, 6mg q7d	-49.2%	3.93	2.00
化合物 1, 1mg/kg	-1.3%	2.50	2.47
化合物 1, 3mg/kg	11.3%	3.23	3.60
CKD-732, 1.15mg/kg	-3.0%	4.43	4.30

[0494] 实施例 : 体内测验 DIO 小鼠——体重变化、食物消耗, 方案 - 剂量反应

[0495] 对 21 周龄、平均重量 46.8 克的雄性 C57B1/6 小鼠 (N = 9/ 组) 随意喂食高脂肪食物 (包含来自脂肪的 60% Kcal)。动物被根据下表 17 中的方案给药。

[0496] 表 17

[0497]

组别	治疗	剂量 mg/kg	载体	频率
1	载体-1	0	PBS	q4d
2	聚合物	12	PBS	q4d
3	化合物 16	2	PBS	q4d
4	化合物 16	6	PBS	q4d
5	化合物 16	12	PBS	q8d*
6	CKD-732	1	载体-2	qod
7	载体-2	0	载体-2	qod
8	CKD-732	2	载体-2	q4d
9	载体-2	0	载体-2	q4d

[0498] * 载体 -1 基于交替的 q4d

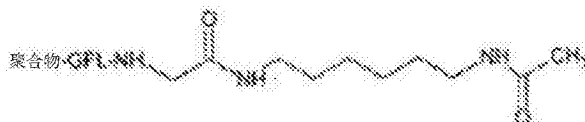
[0499] 在给药当天的上午 9 点到 10 点进行化合物给药。组 6 和 7 共接收 17 剂量。q4d 组 (1,2,3,4,8,9) 共接收 9 剂量。q8d 组 (5) 共接收 5 药物剂量。体重和食物摄入量测定每隔一天。在第 -7 天,第 0 天,第 7 天,第 14 天,第 21 天及 28 天在上午 9:00 在进食状态下测定血糖 (在给药天在给药前测定 BG)。BG 用血糖仪测量。进行腹膜内葡萄糖耐量试验 (ipGTT,6h 禁食)。

[0500] 研究终止于第 34 天。肝脏和附睾白脂肪组织 (eWAT) 被收取、称重,并储存在 -80℃。收集血清以测定 :AST、ALT、ALP、CK、BUN、肌酸酐、钙、钾、钠、氯、总蛋白、白蛋白、总胆红素、葡萄糖、甘油三酯和胆固醇。胰岛素的样品使用商业试剂盒测量。

[0501] 在本实施例中提及的聚合物是聚 [HPMA- 共 -MA-GFLG-N-(6-氨基己基) 乙酰胺,其是不含有烟霉醇的聚合物。聚 [HPMA- 共 -MA-GFLG-N-(6-氨基己基) 乙酰胺的合成在 WO/2011/150022 中描述,其全部作为参考并入本文中。

[0502] 聚 [HPMA- 共 -MA-GFLG-N-(6-氨基己基) 乙酰胺] 的结构

[0503]



[0504] 图 19 显示了令人惊讶的和意想不到的发现是, Q8D 方案的 12mg/kg 的剂量比 Q4D 方案的 6mg/kg 剂量造成更大的初始重量损失。到研究结束时, Q8D 组已经停止减肥, 而 6mg/kg 组出现继续减肥。不含烟霉醇的聚合物显示了与载体相似的体重变化。

[0505] 图 20 显示了以 Q2D(Q0D) 方案给药的小分子的 CKD-732 (化合物 B) 显示出比以 Q4D 方案施用的相同的平均日剂量更好的反应。正如所料, 在更频繁给药下, 小分子显示更好的反应。

[0506] 图 21 显示了本发明化合物的食物摄取量的减少。注意到对于 Q8D 下的 12mg/kg 组在食物摄入的初始的、显著的减少, 和随后根据周期性减少 - 恢复模式的恢复。

[0507] 图 22 显示了在高脂肪饮食雄性 C57B16 小鼠在 ipGTT 期间的显著降低的胰岛素水平。本发明的化合物大大减少胰岛素的量（在升高的葡萄糖的存在下被 β 细胞代谢），表明了减小的耐性和改善的胰岛素敏感性。还要注意的，在所有化合物 16 组的小鼠中，空腹胰岛素也减少。

[0508] 图 23 显示了保持在高脂肪饮食的雄性 C57B16 小鼠中的总胰岛素 AUC 在葡萄糖耐受试验过程中的变化，作为治疗组的函数。

[0509] 图 24 显示了在治疗期间相对载体和聚合物组的血糖下降。

[0510] 图 25 显示了葡萄糖的产物 (mg/dl) $\times$ 胰岛素 (uU/ml)/405 (Akagiri et al., A Mouse Model of Metabolic Syndrome, J. Clin. Biochem. Nutr., 42, 150-157, March 2008) 或 HOMA-IR 测量，这是胰岛素抵抗的公认的测量和心血管疾病的预测因子 (Bonora et al., Diabetes Care. 2002, 25, 1135-1141)。

[0511] 表 18 用于 HOMA-ir 计算的数据

[0512]

ipGTT	胰岛素 (uU/ml)		葡萄糖 (mg/dl)	
	0min	15min	0min	15min
载体 Q4D	205.0	263.4	239.2	482.0
载体 12 mg/kg Q4D	291.9	299.4	215.6	525.9
化合物 16, 2mg/kg	104.6	133.4	182.8	488.6
化合物 16, 6mg/kg	53.2	64.3	179.8	557.3
化合物 16, 12mg/kg Q8D	75.9	96.0	204.0	563.1
载体 Q2D (乙醇)	264.7	241.8	218.0	521.9
载体 Q4D (乙醇)	249.4	284.9	231.0	493.8
CKD-732, 1mg/kg Q2D	54.8	89.3	161.3	469.2
CKD-732, 2mg/kg 4D	99.8	118.3	182.8	498.6

[0513] 实施例 在 DIO 小鼠模型中的多种化合物的效力

[0514] 对 C57B16 雄性小鼠 (N = 6) 随意喂食 TD. 06414 高脂肪食物（包含来自脂肪的 60% Kcal）（哈伦饮食）。在研究第 1 天将动物随机分组，使得各组小鼠的平均重量为 47 克。所述小鼠用磷酸盐缓冲盐水（载体），或如表 19 所列的溶解在载体中的化合物治疗（背侧，皮下给药）。在下表 19 中所示的剂量和方案下，治疗持续 26 天。该实施例中涉及的聚合物称为指聚 [HPMA- 共 -MA-GFLG-N-(6-氨基己基) 乙酰胺，其是不含有烟霉醇的聚合物。

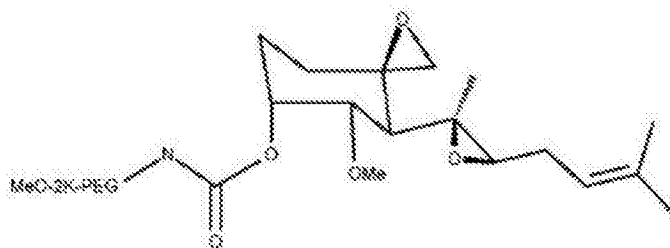
[0515]



[0516] 化合物顺式 -16 是化合物 16，其中 1,4- 二氨基环己烷是顺式构型，而不是反式构型，如为化合物 16 所描绘的。

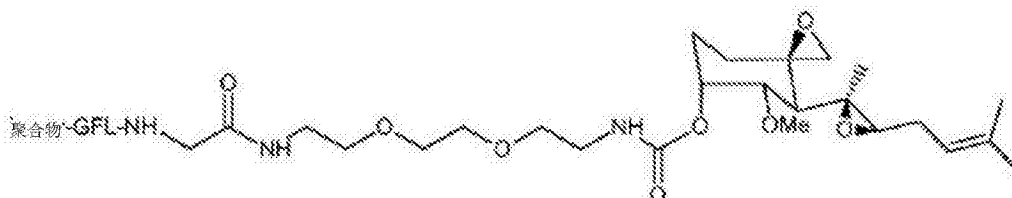
[0517] 化合物 aa 是 2KDa 分子量的甲氧基终止的 PEG 胺和对硝基苯基烟曲霉素 -6- 基碳酸酯的反应产物：

[0518]



[0519] 化合物 bb 是：

[0520]



[0521] 聚 [HPMA- 共 -MA-GFLG-NH-2-[(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)乙基]氨基甲酰基烟霉醇] 的合成在 W0/2011/150022 中描述,其通过引用整体并入本文中。

[0522] 表 19 在 D10 小鼠模型中体重比时间

[0523]

组	剂量 {q4d}	方案	到研究日的组平均体重 (g)					体重变化 比载体
	mg/kg		1	7	15	23	26	
载体	0	q4d	47.0	45.0	45.8	46.1	46.1	0.0%
化合物 16	2	q4d	47.0	43.4	43.2	42.0	41.7	-9.6%
化合物 16 q8d	12	q8d	47.0	41.3	38.3	36.2	38.0	-17.5%
化合物 32	2	q4d	47.0	42.0	40.6	41.6	40.5	-12.1%
化合物 48	2	q4d	47.0	44.3	43.8	42.9	43.6	-5.5%
聚合物	12	q4d	47.0	44.8	46.1	46.3	46.5	0.8%
化合物顺式 16	2	q4d	47.0	42.7	42.6	40.9	40.6	-12.0%
化合物 aa	2	q4d	47.0	44.3	45.2	45.4	45.8	-0.8%
化合物 bb	2	q4d	47.0	43.6	43.9	42.2	42.5	-7.8%

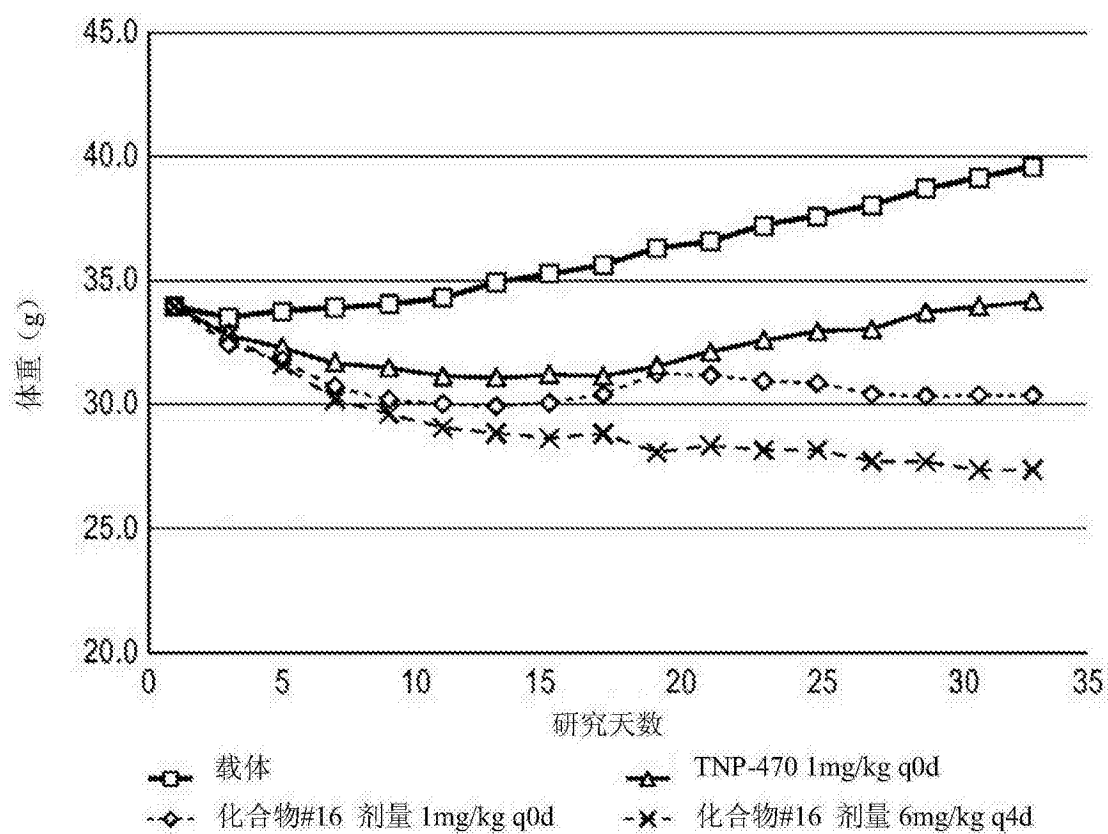


图 1

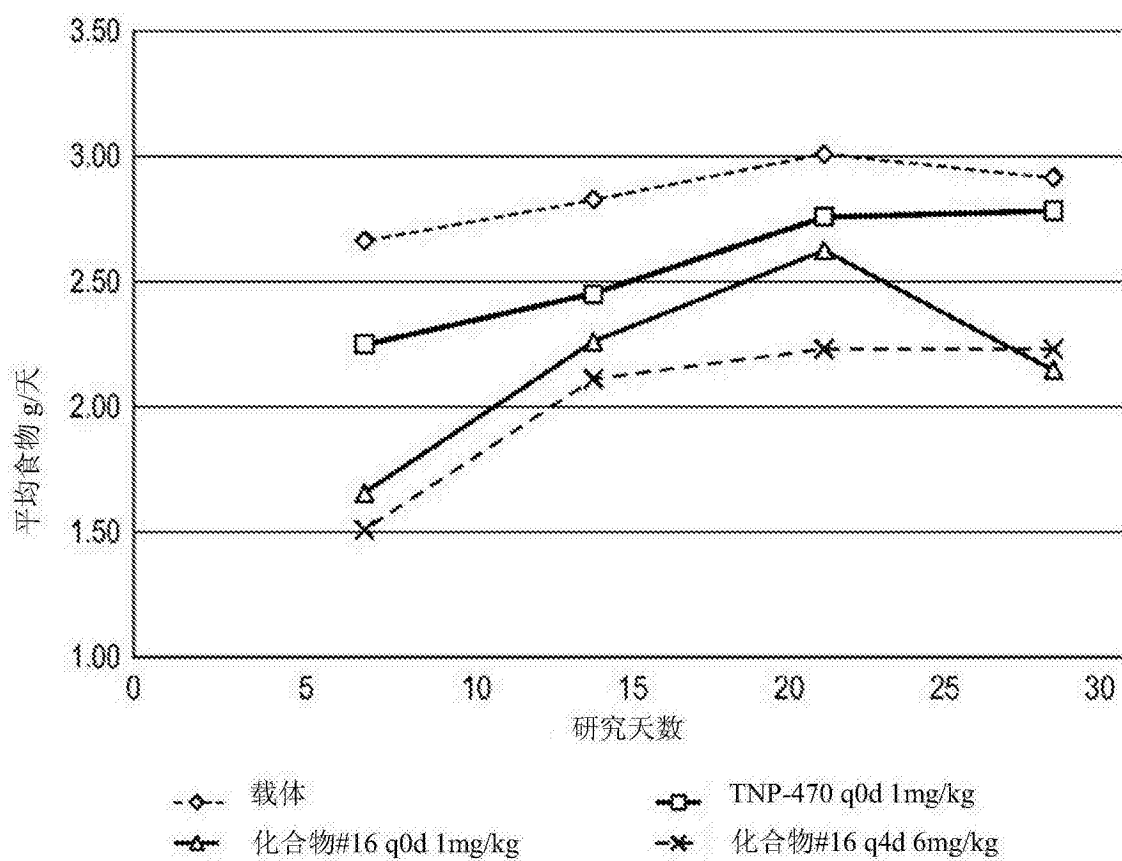


图 2

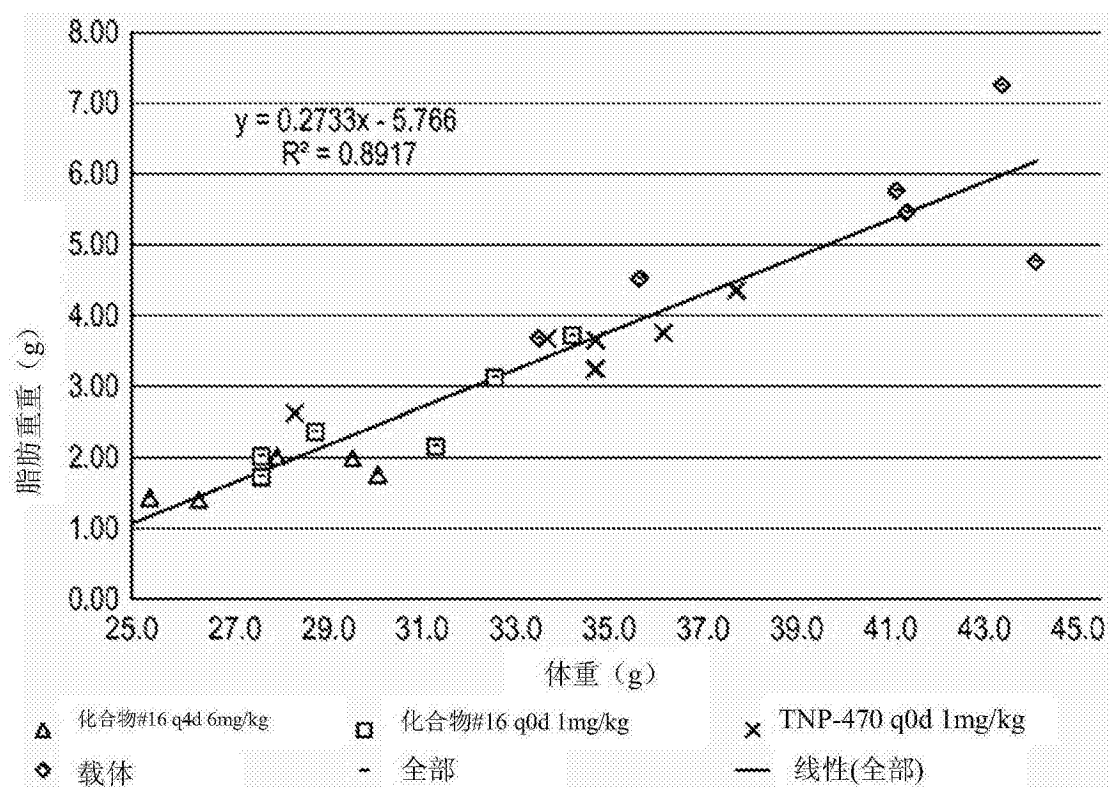


图 3

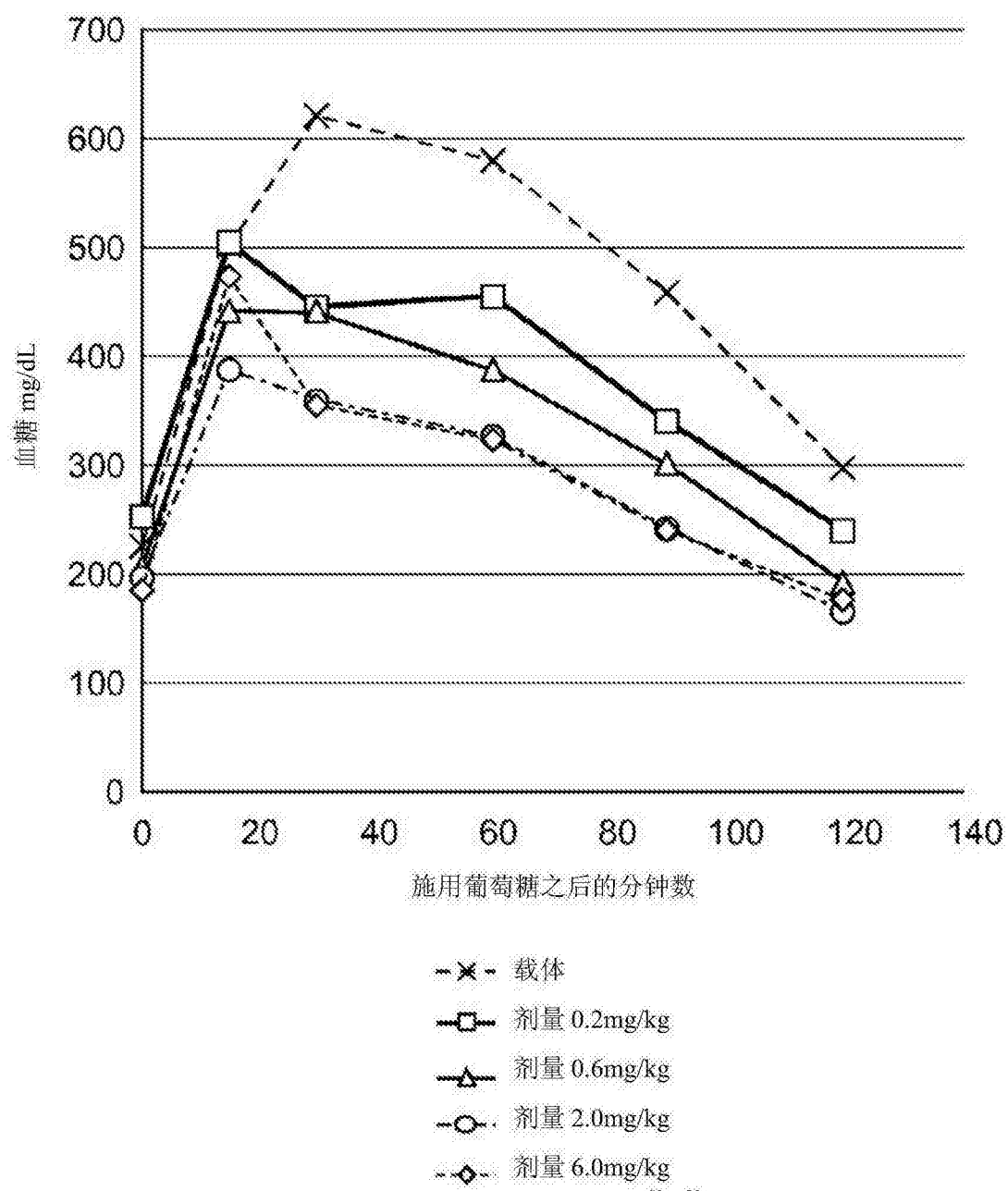


图 4

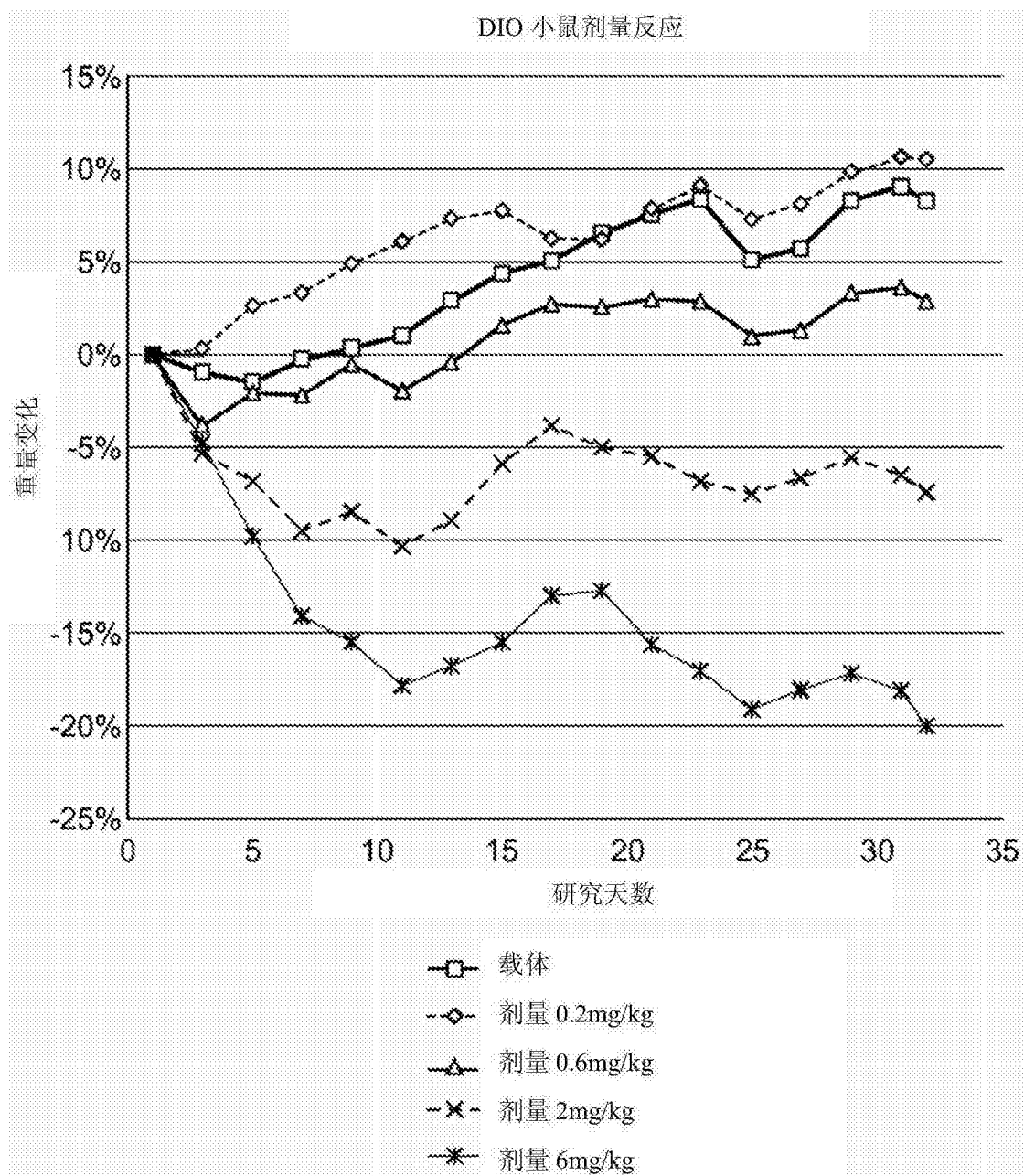


图 5

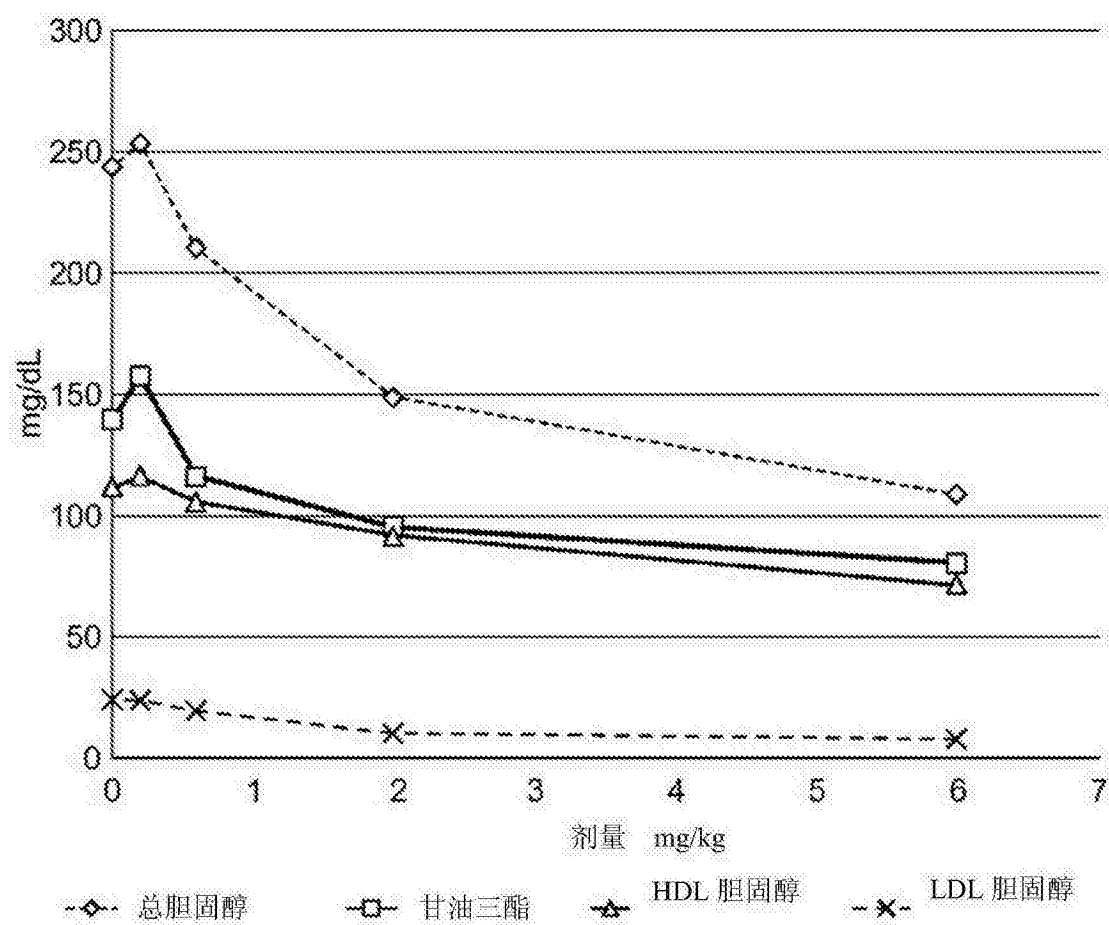


图 6

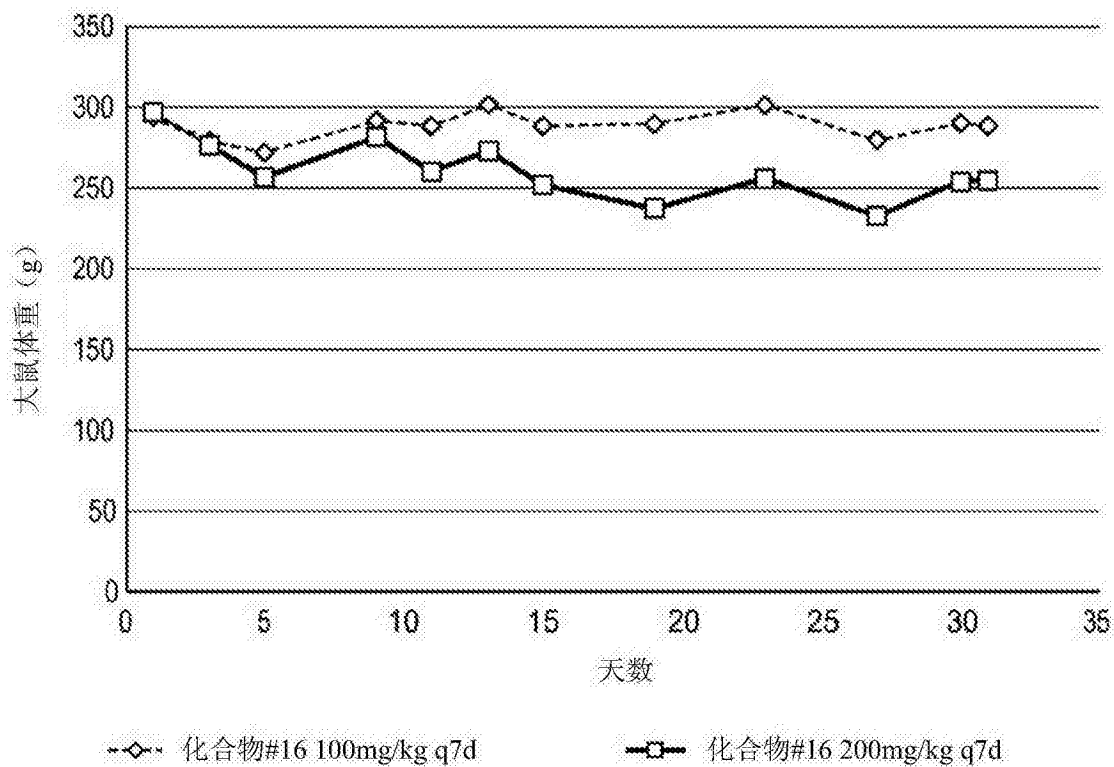


图 7

用测试试剂处理的大鼠的体重

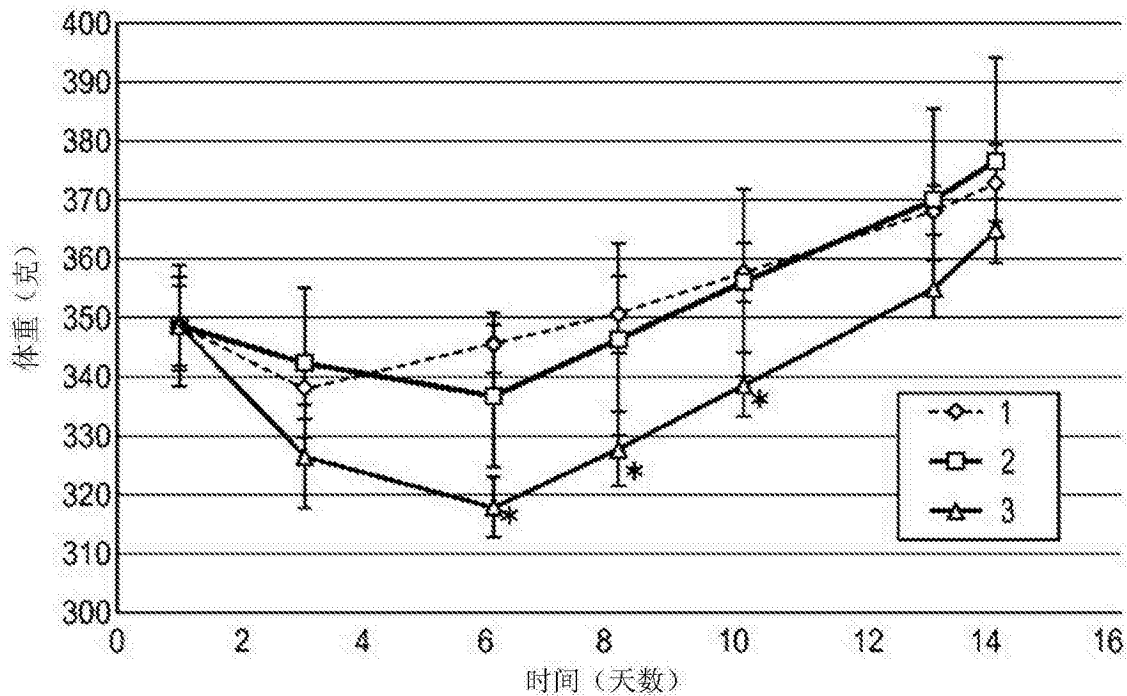


图 8

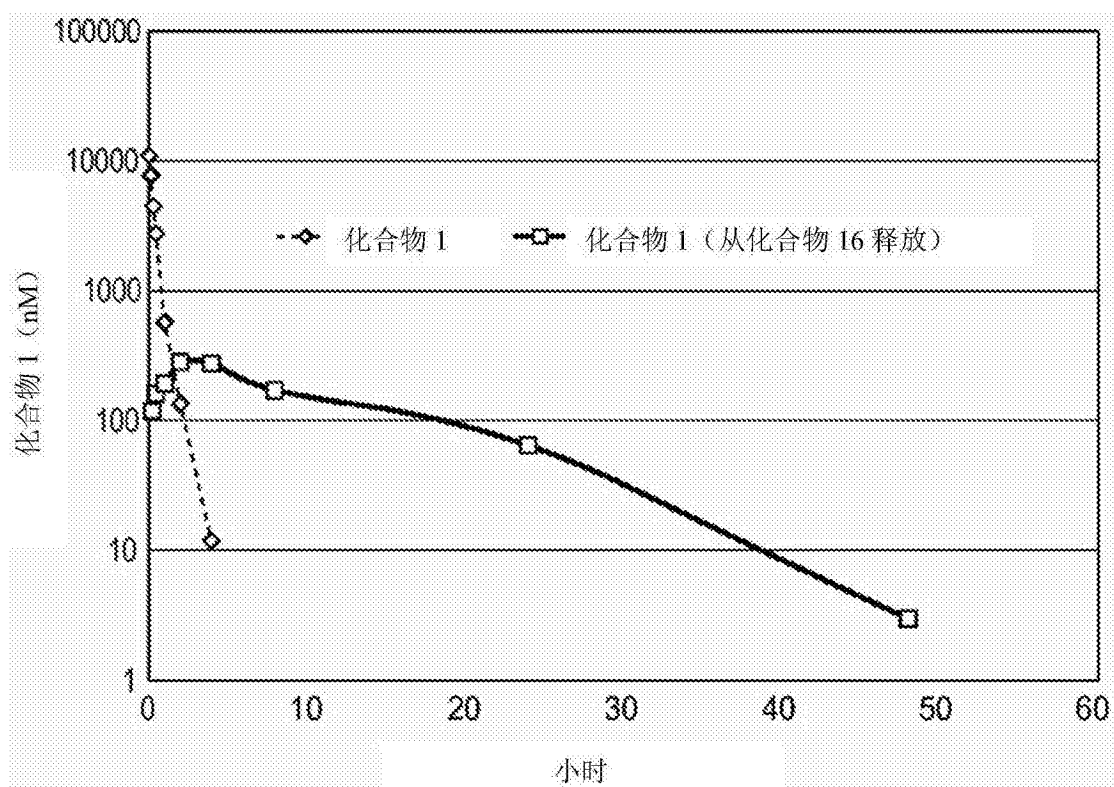


图 9

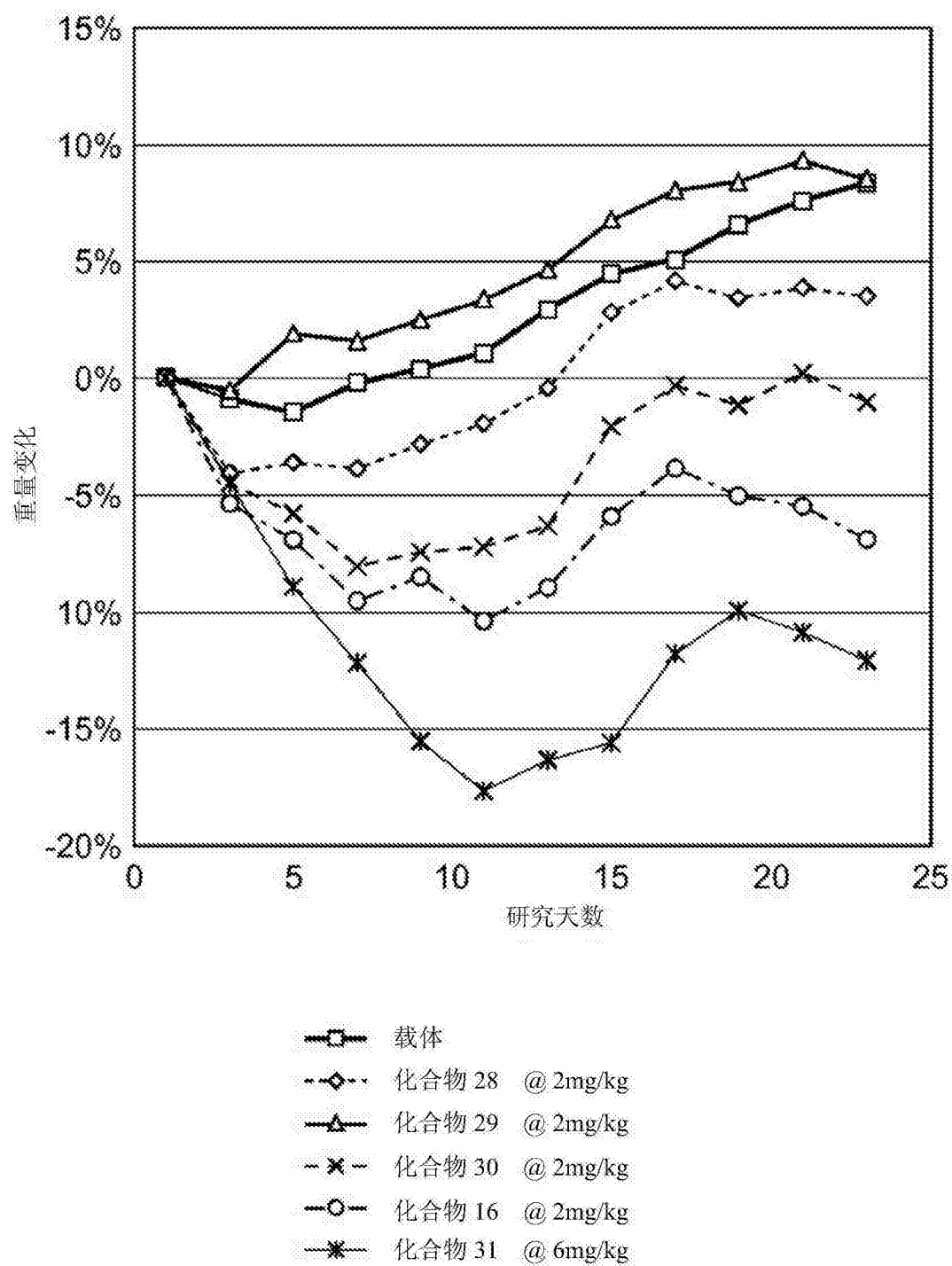


图 10

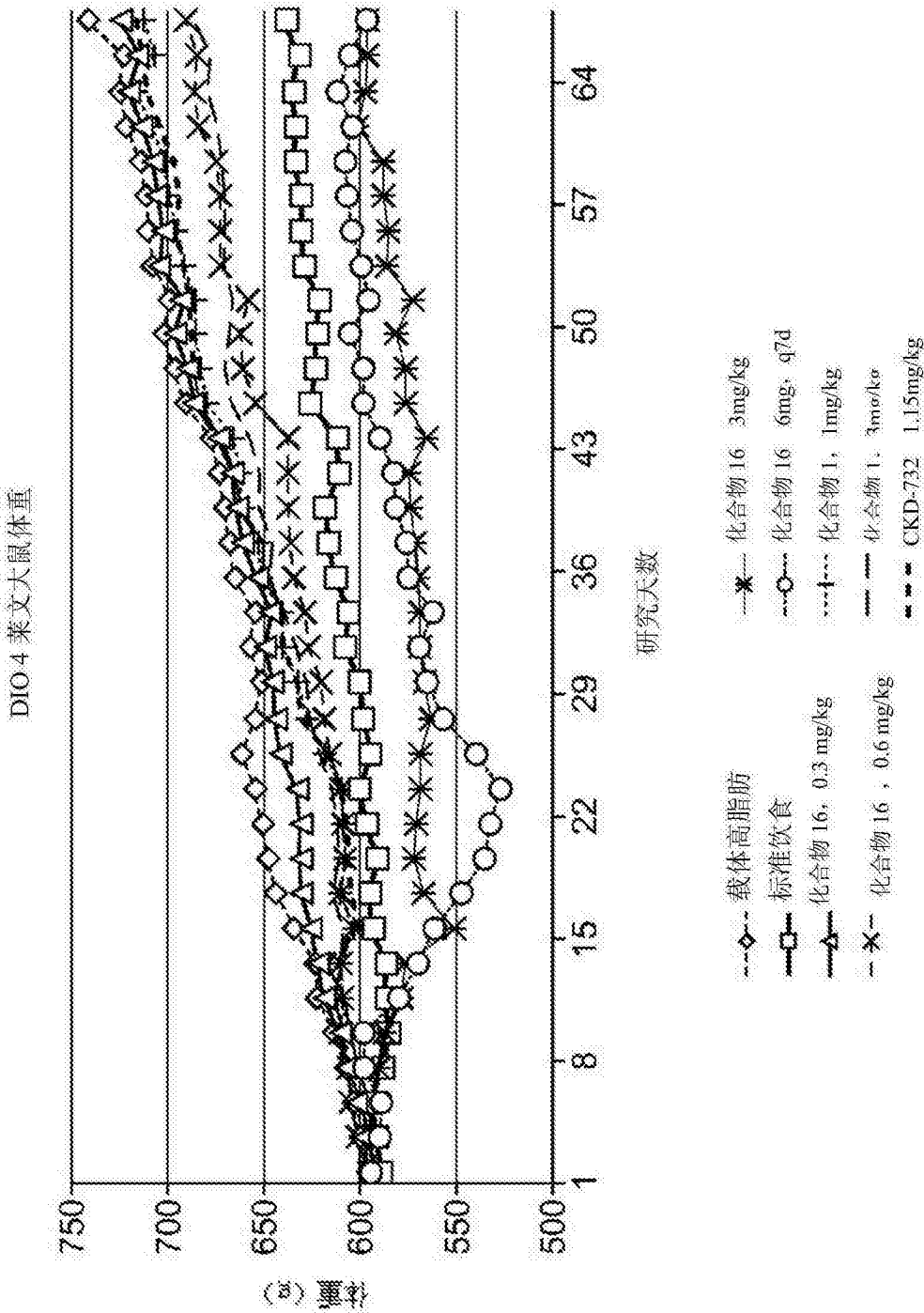


图 11

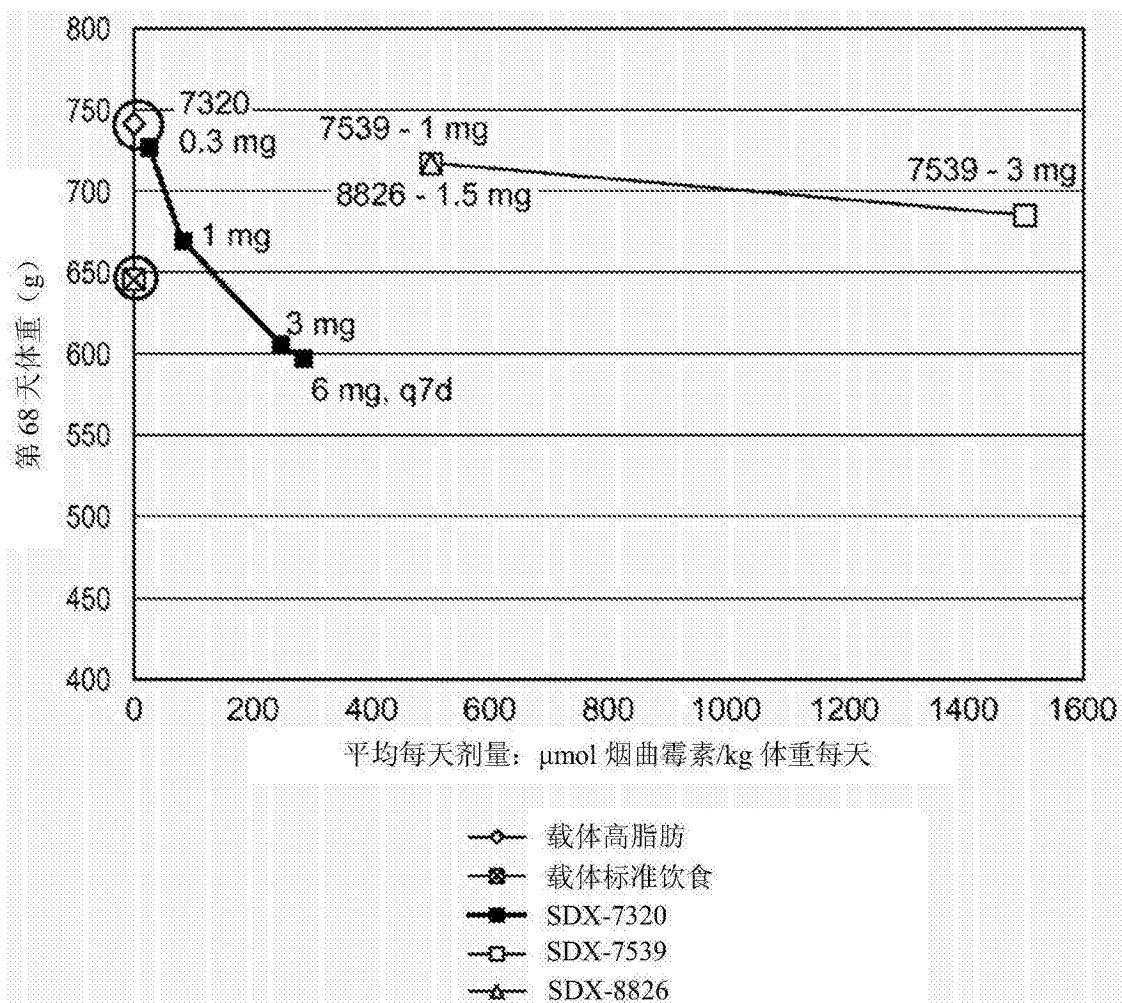


图 12

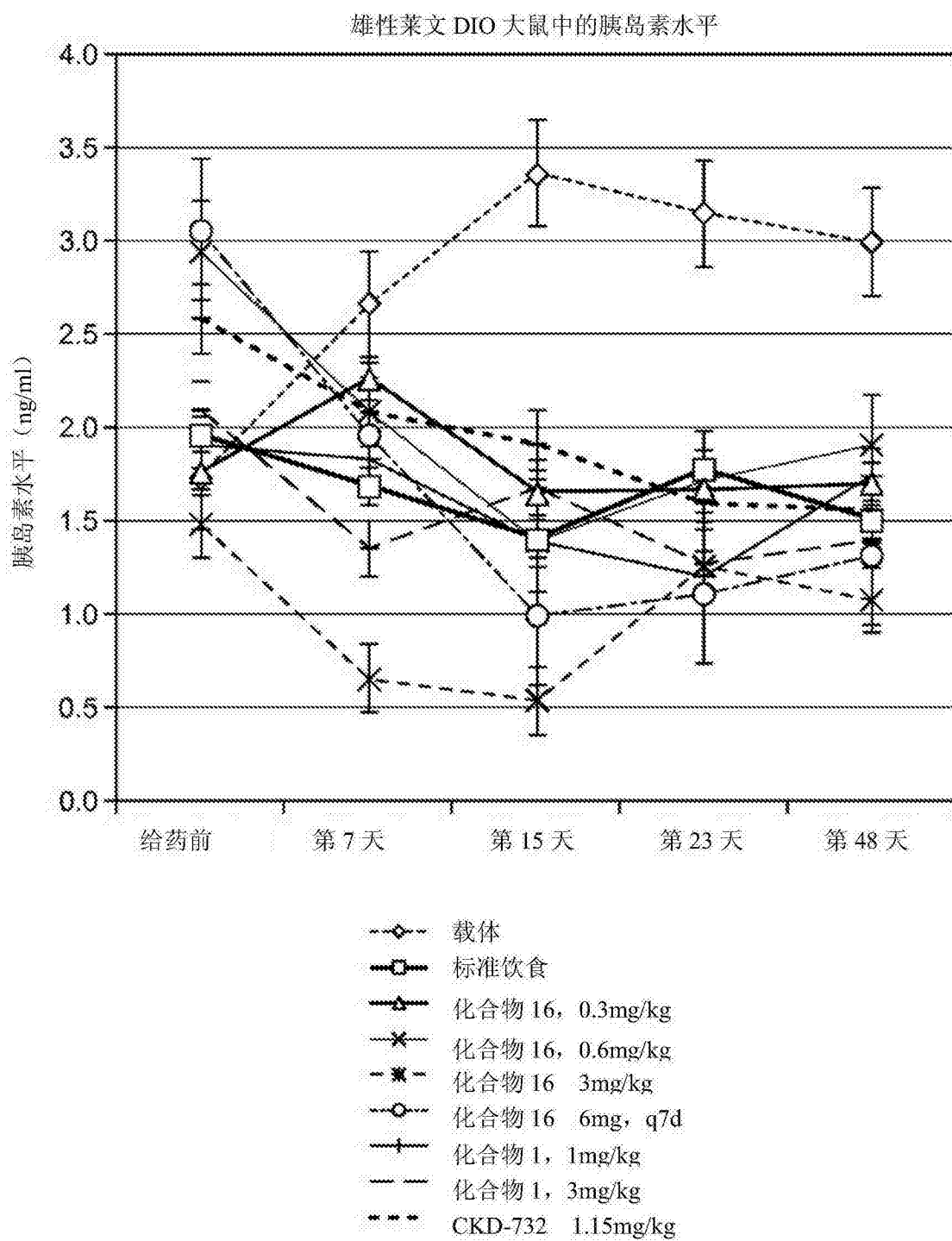


图 13

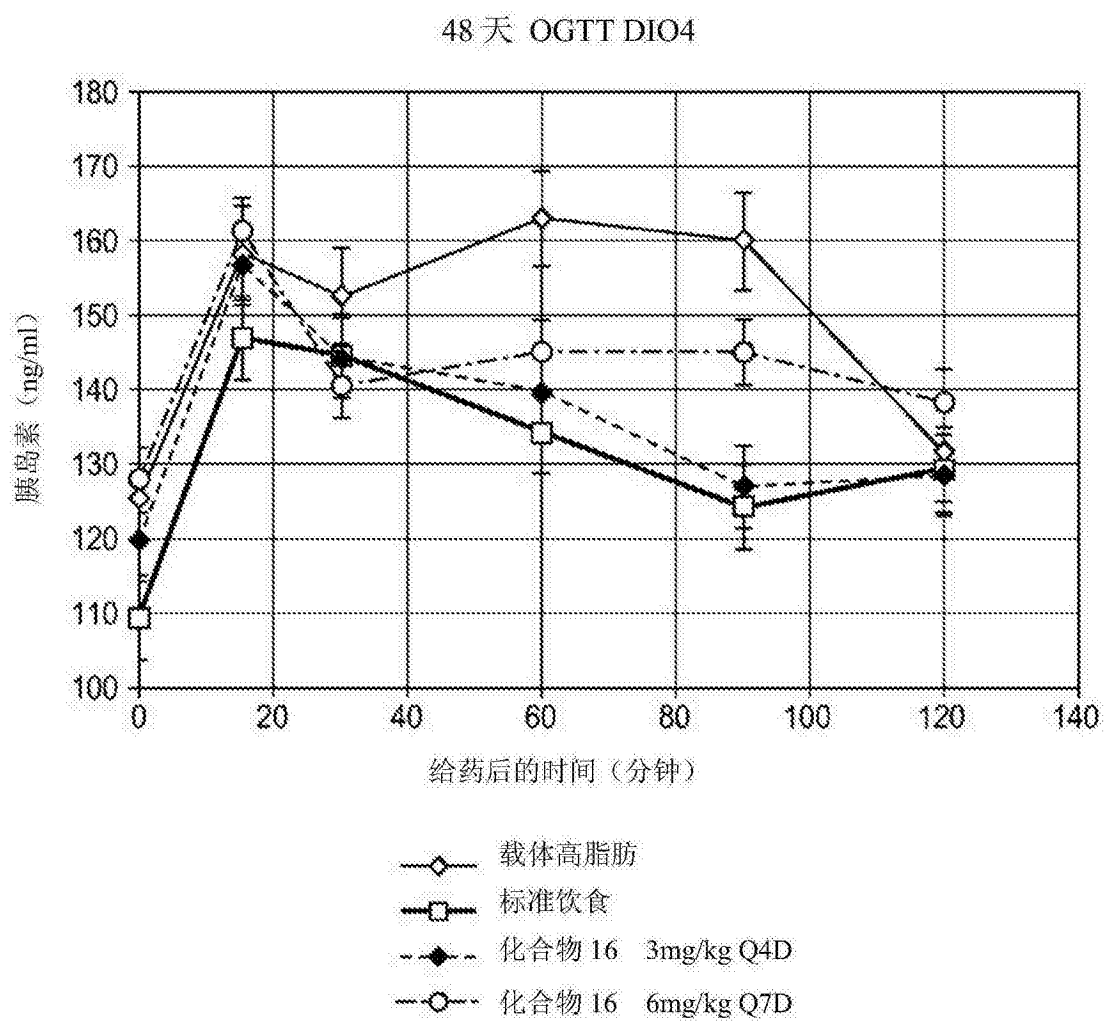


图 14

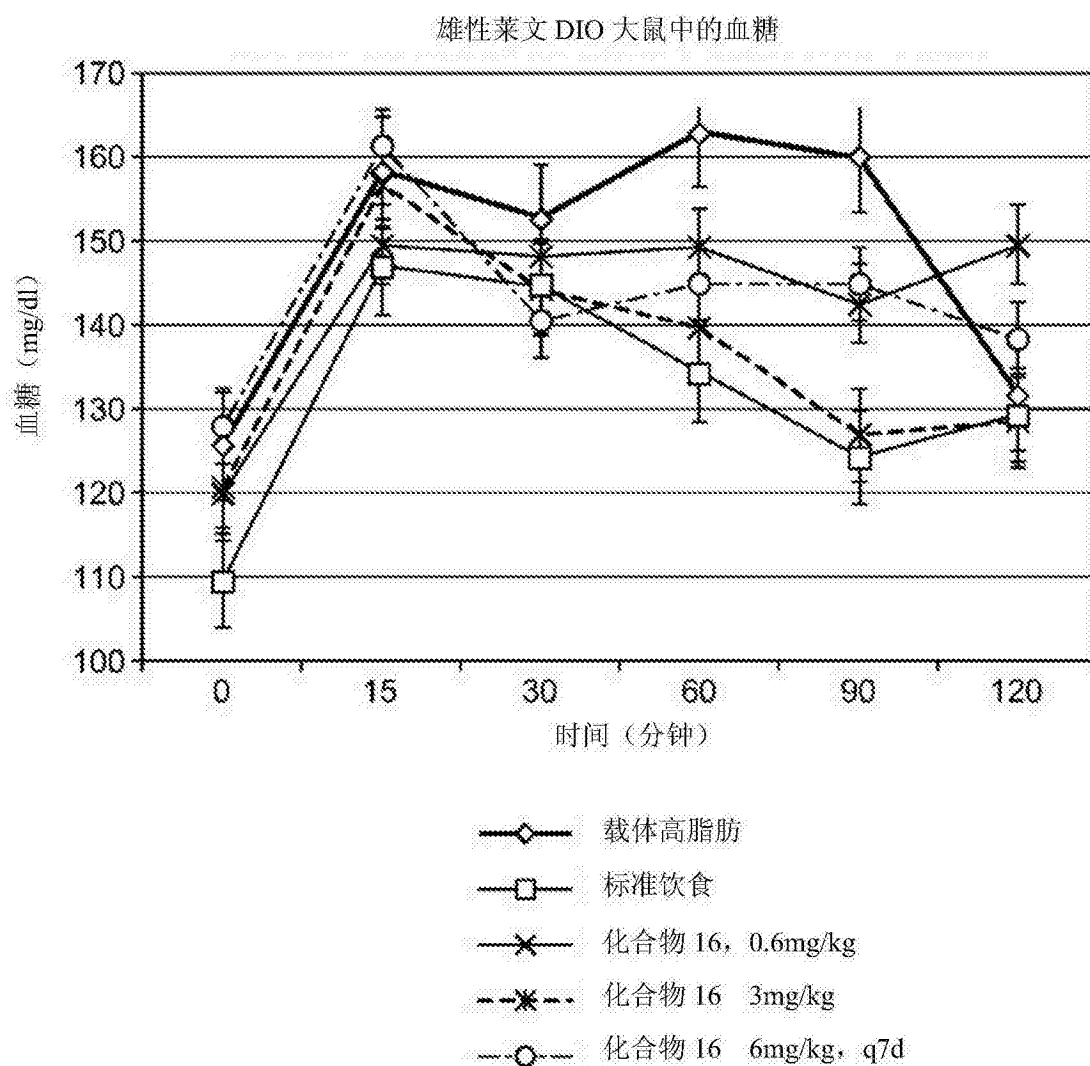


图 15

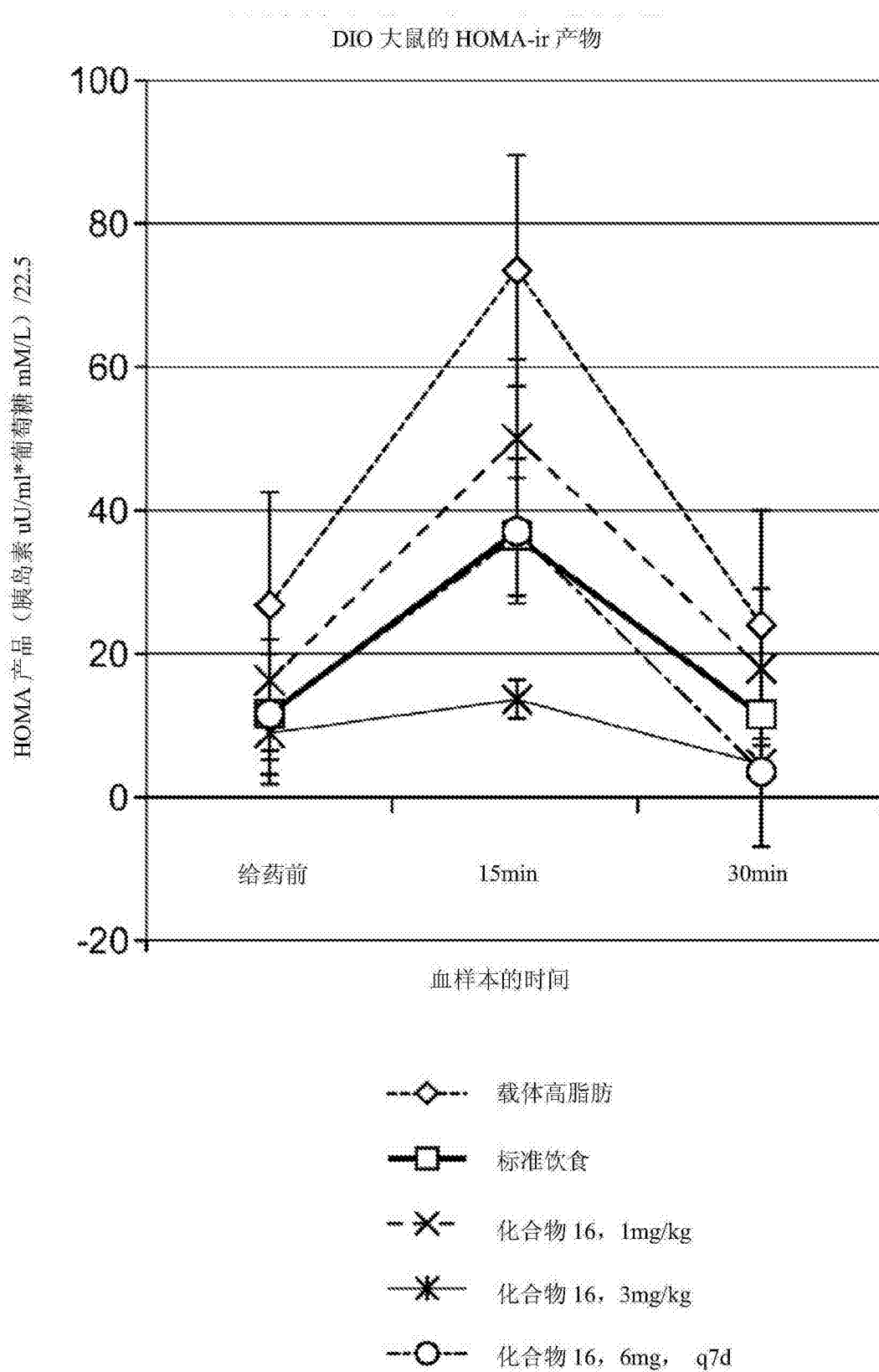


图 16

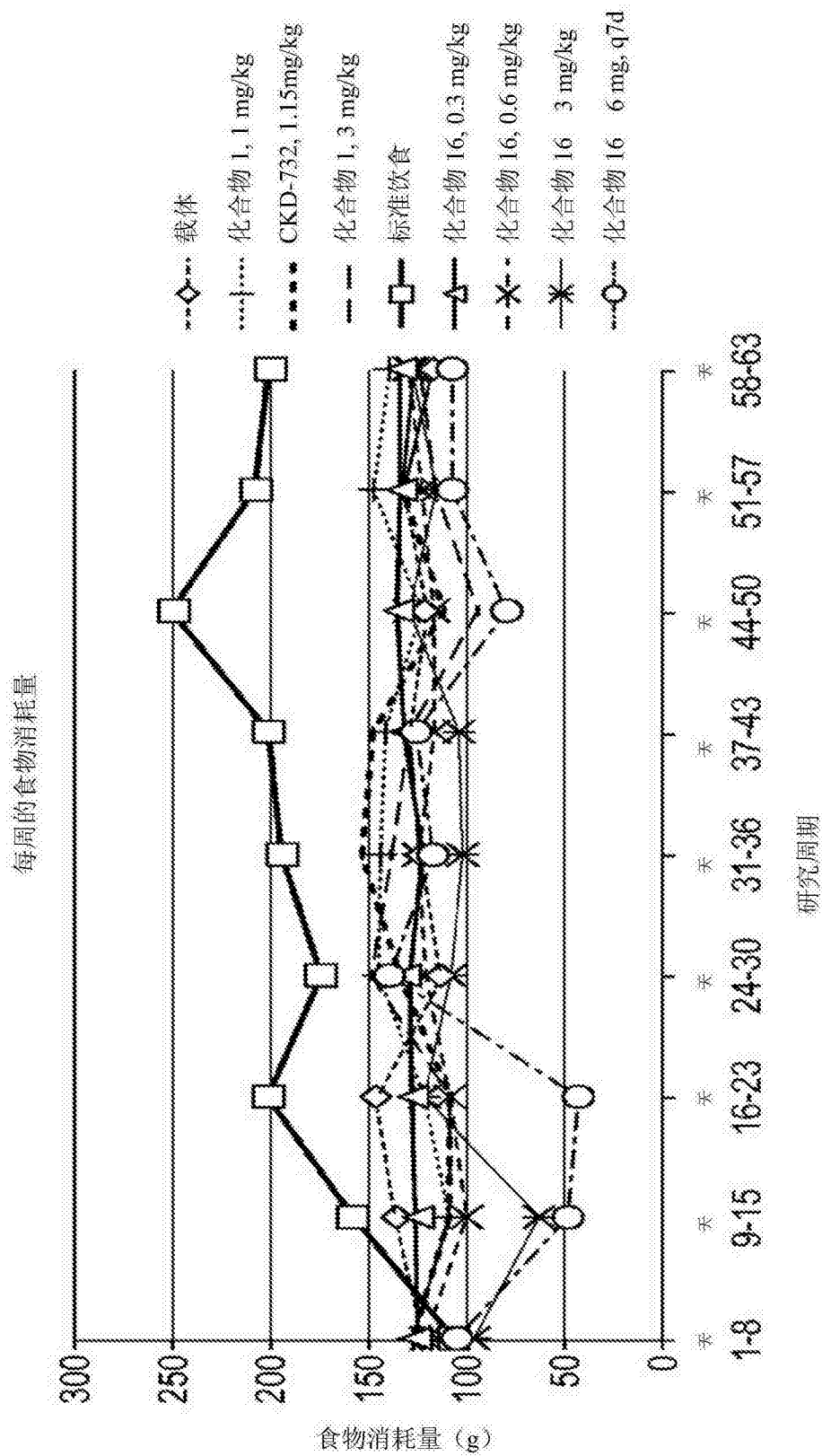


图 17

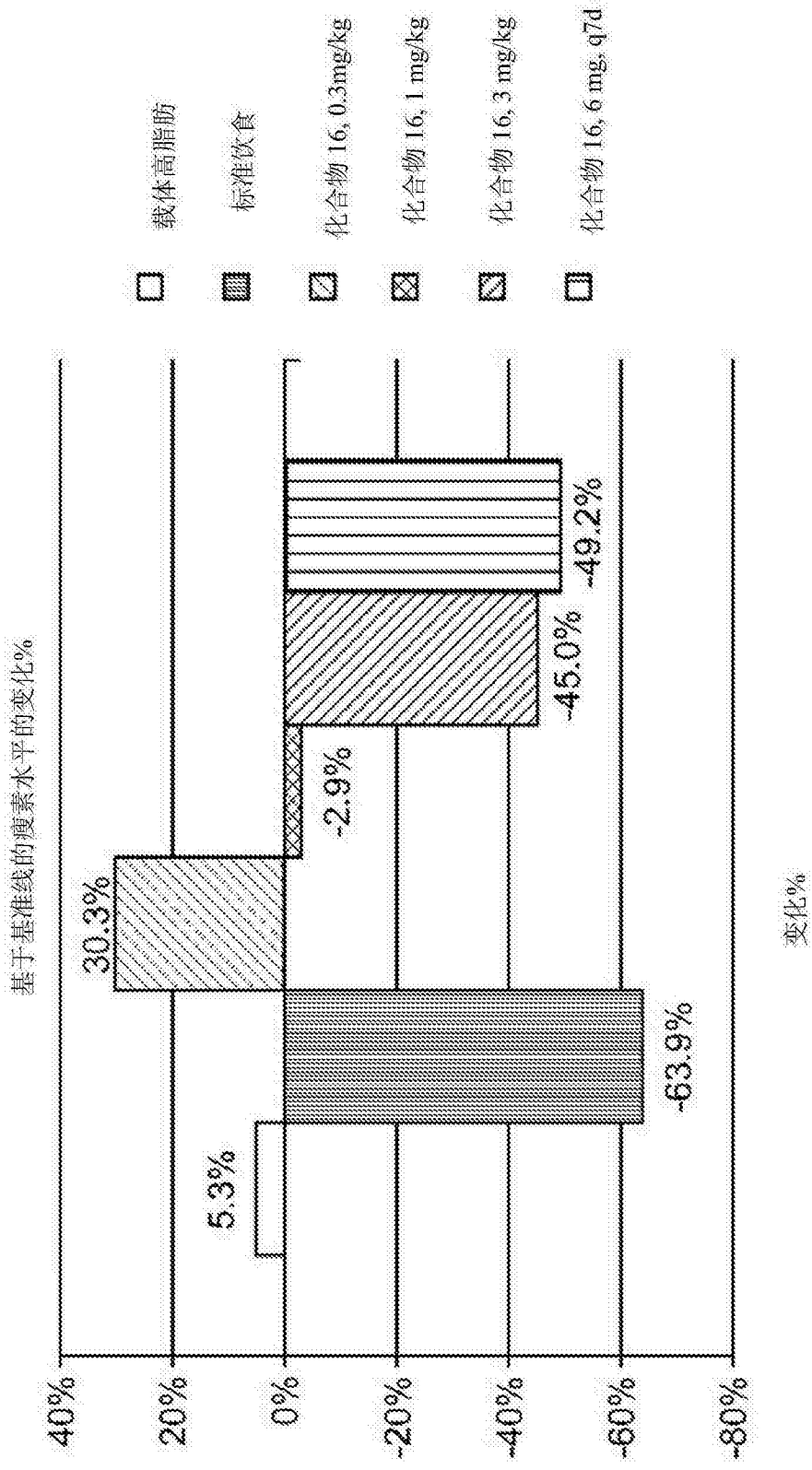


图 18

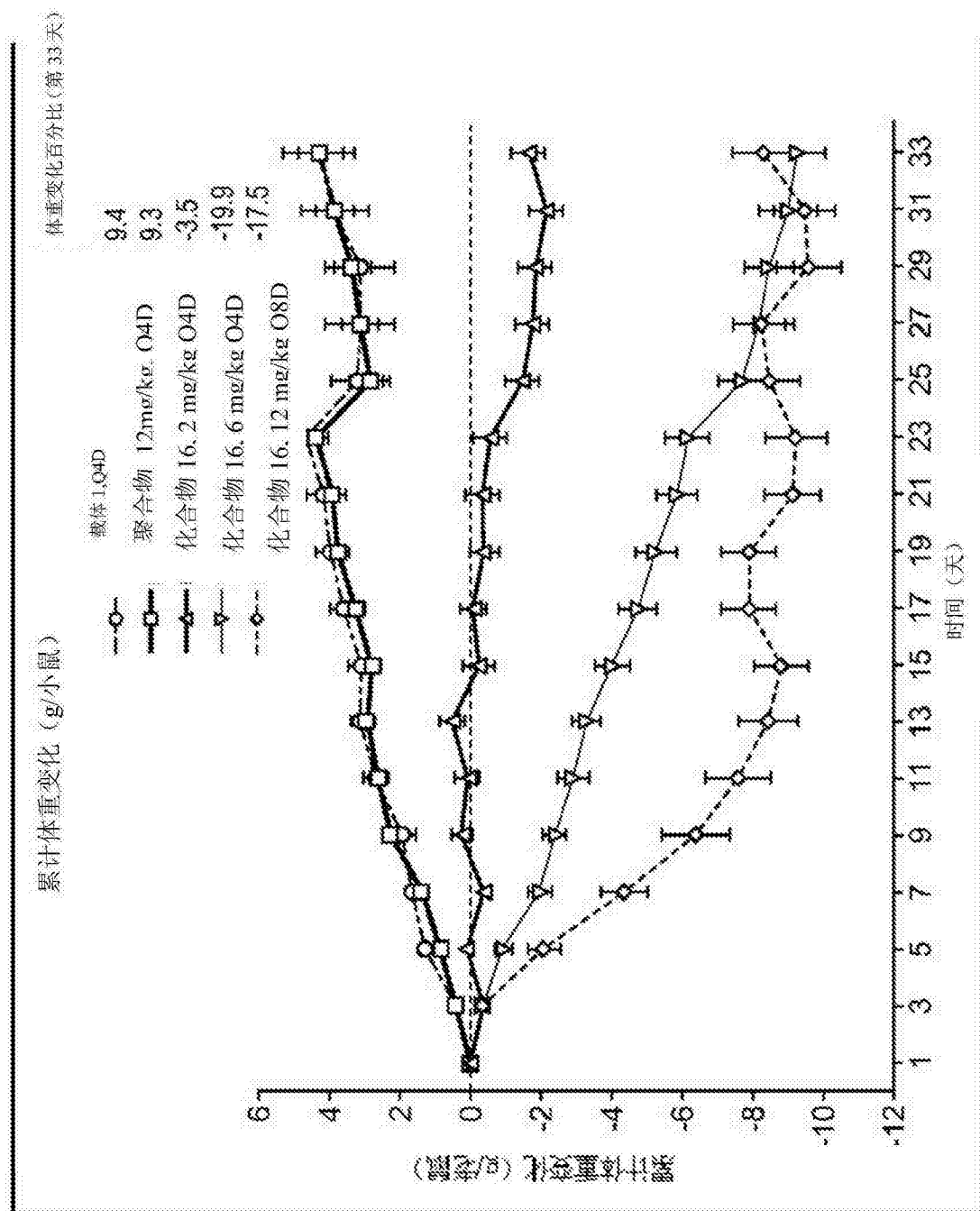


图 19

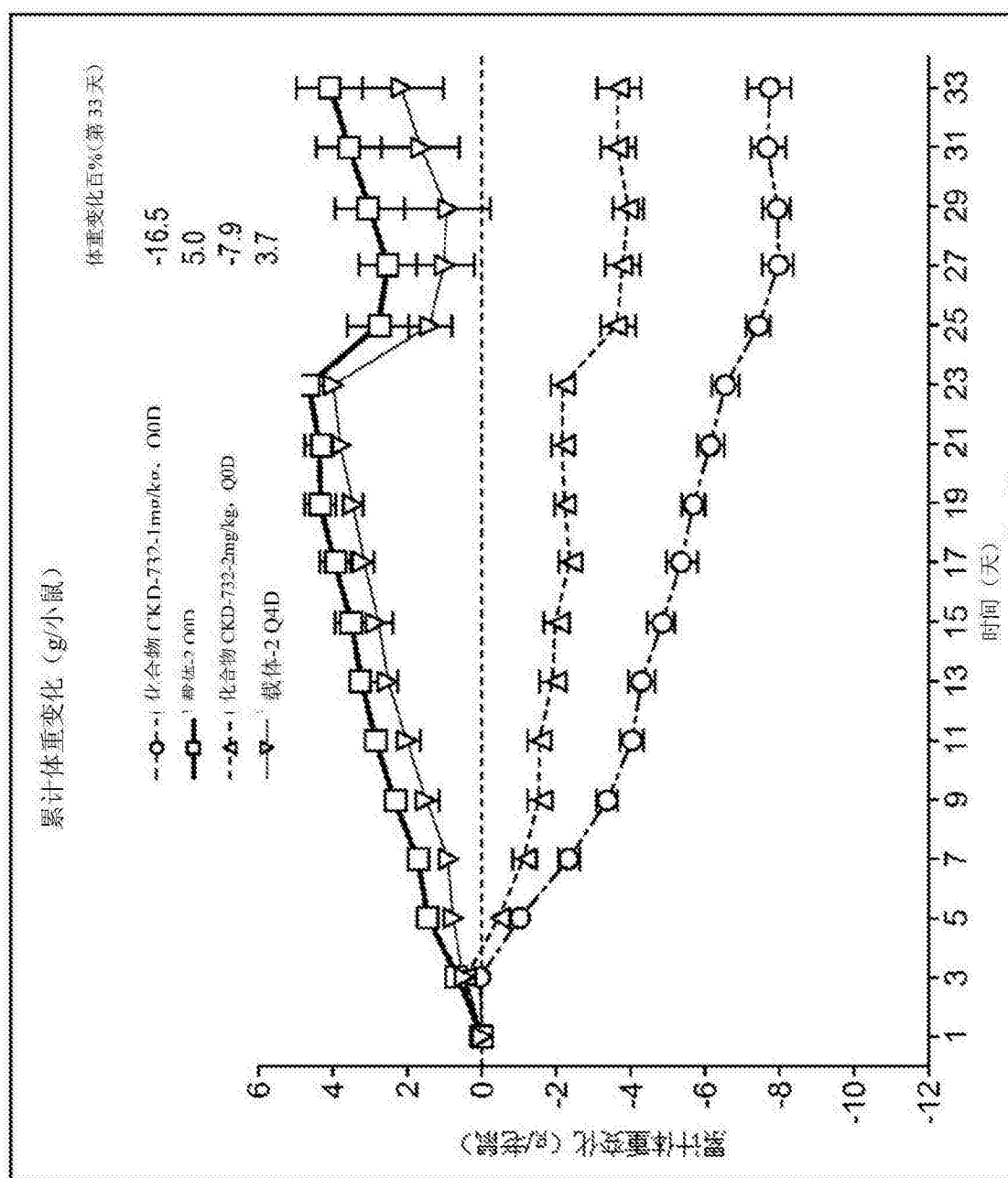


图 20

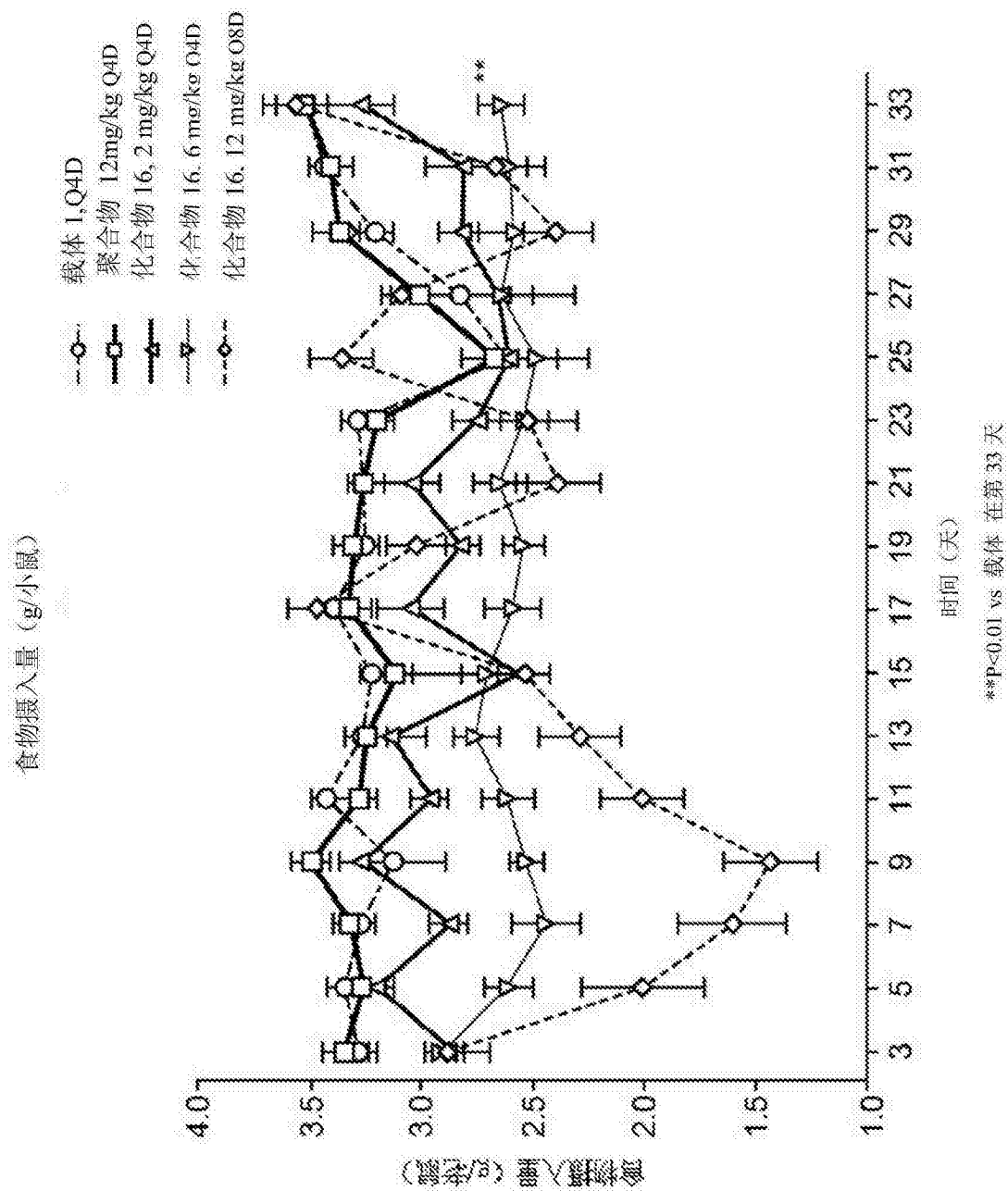


图 21

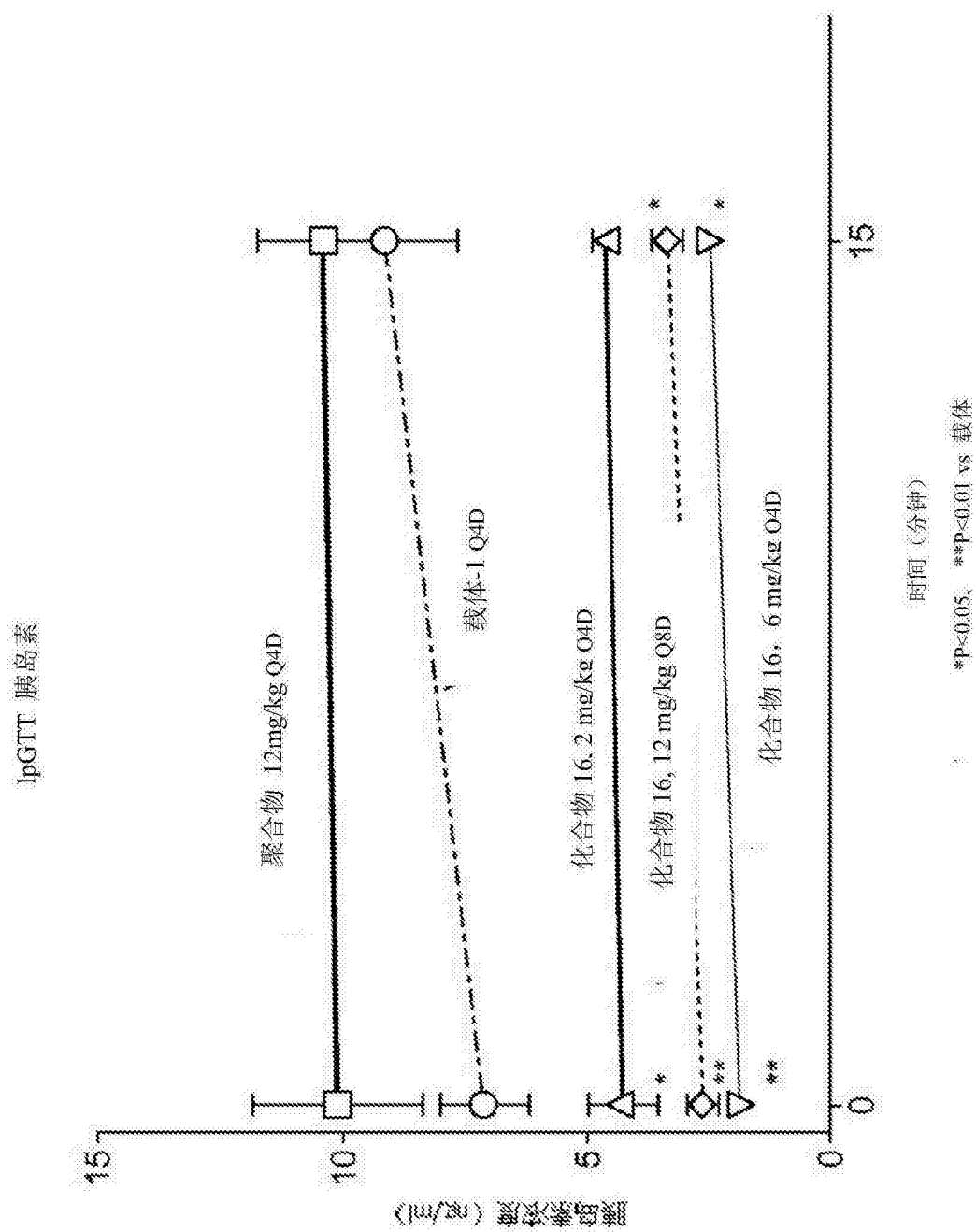


图 22

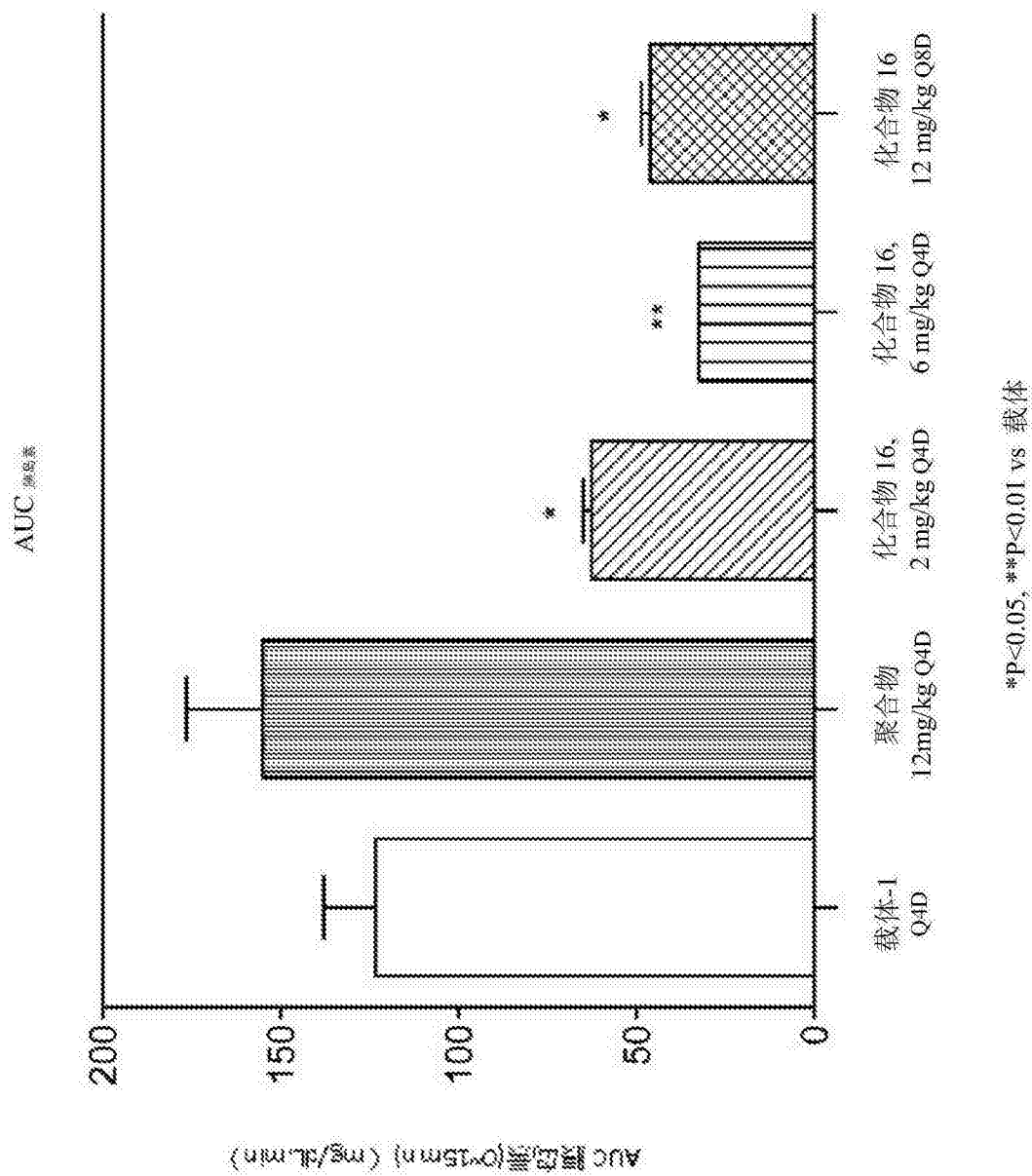


图 23

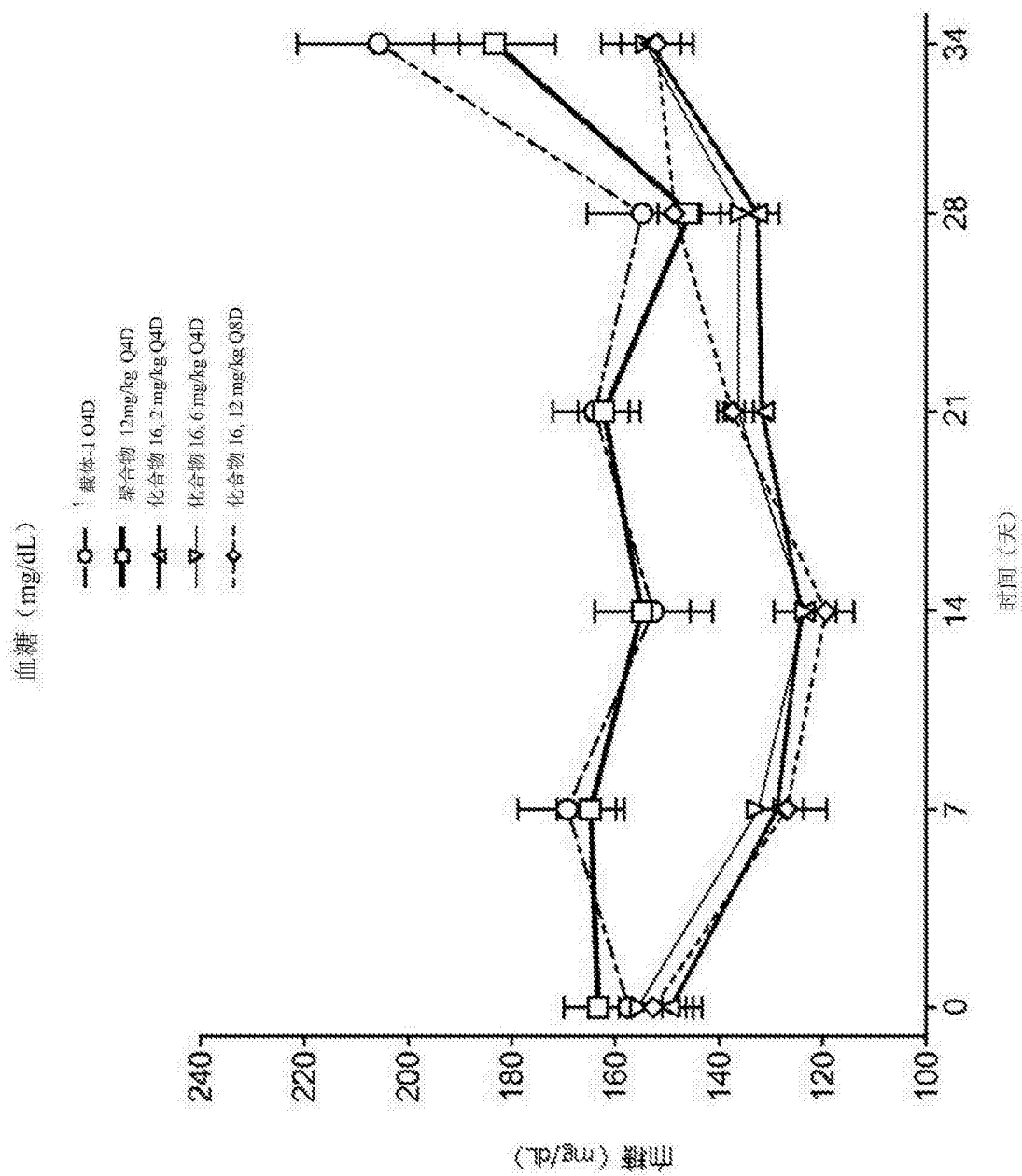


图 24

在雄性 C57B16 DIO 小鼠中的 HOMA 产物

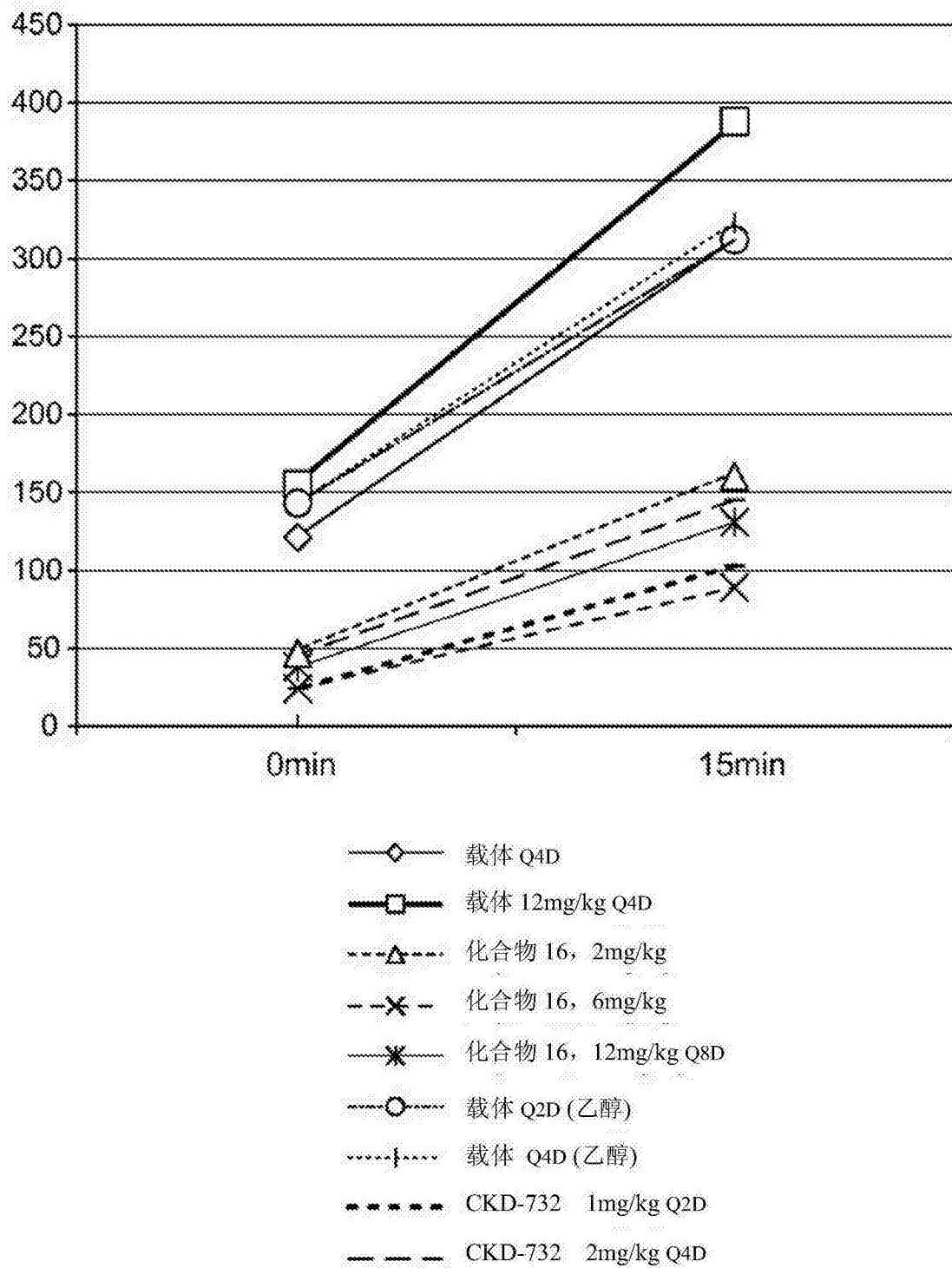


图 25