



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 120136941 A

(43) 申请公布日 2025. 06. 13

(21) 申请号 202510137110.0	A61P 37/08 (2006.01)
(22) 申请日 2019.07.11	A61P 17/06 (2006.01)
(30) 优先权数据	A61P 17/04 (2006.01)
62/696,486 2018.07.11 US	A61P 37/06 (2006.01)
(62) 分案原申请数据	A61P 35/00 (2006.01)
201980046447.3 2019.07.11	A61P 19/02 (2006.01)
(71) 申请人 鲁贝多生命科学公司	A61P 19/10 (2006.01)
地址 美国加利福尼亚州	A61P 1/00 (2006.01)
(72) 发明人 M·A·伽路普 M·夸尔塔	A61P 1/02 (2006.01)
J·克莱茵	A61P 9/00 (2006.01)
(74) 专利代理机构 广州市华学知识产权代理有	A61P 9/10 (2006.01)
限公司 44245	A61P 9/12 (2006.01)
专利代理师 刘新容 陈燕娴	A61P 9/04 (2006.01)
(51) Int. Cl.	A61P 3/06 (2006.01)
C07H 15/26 (2006.01)	A61P 9/06 (2006.01)
C07H 15/203 (2006.01)	A61P 21/00 (2006.01)
C07H 17/00 (2006.01)	A61P 39/00 (2006.01)
C07H 99/00 (2006.01)	A61P 13/12 (2006.01)
A61K 31/706 (2006.01)	A61P 27/16 (2006.01)
A61K 31/7072 (2006.01)	A61P 17/02 (2006.01)
A61K 31/7068 (2006.01)	A61P 1/16 (2006.01)
A61K 31/7048 (2006.01)	A61P 1/18 (2006.01)
A61P 17/00 (2006.01)	A61P 11/00 (2006.01)
	A61P 11/06 (2006.01)

(续)

权利要求书29页 说明书119页 附图6页

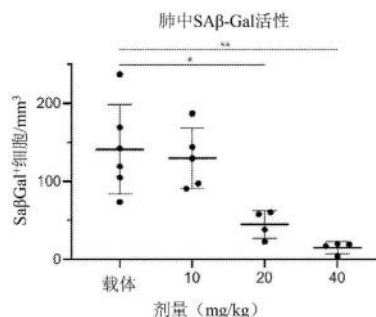
(54) 发明名称

抗衰老组合物及其用途

(57) 摘要

本文提供了用于选择性杀死与多种病理和疾病(包含年龄相关的病理和疾病)相关的衰老细胞的抗衰老剂。如本文所公开的,与衰老细胞相关的疾病和异常可以通过施用至少一种抗衰老剂或其药物组合物来治疗或预防。通过本文所述的方法治疗或预防的与衰老细胞相关的疾病或异常包含但不限于心血管疾病或异常、与动脉硬化相关的心血管疾病和异常(诸如动脉粥样硬化)、特发性肺纤维化(IPF)、慢性阻塞性肺部疾病(COPD)、骨关节炎、炎性疾病或异常、自身免疫

性疾病或异常、肺部疾病或异常、神经系统疾病或异常、皮肤病学疾病或异常、化疗副作用、放射治疗副作用、转移病变和代谢疾病。



CN 120136941 A

[接上页]

(51) Int. Cl.

A61P 15/00 (2006.01)

A61P 27/12 (2006.01)

A61P 25/16 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

A61P 25/14 (2006.01)

A61P 27/06 (2006.01)

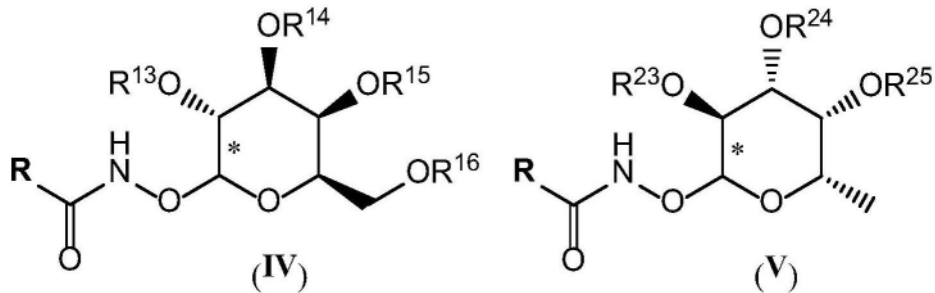
A61P 3/10 (2006.01)

A61P 3/14 (2006.01)

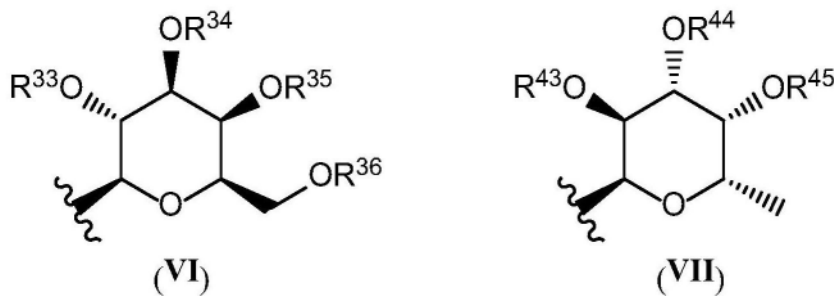
A61P 3/00 (2006.01)

A61P 3/04 (2006.01)

1. 一种化学式 (IV) 或 (V) 的化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物:



其中, R为异羟肟酸衍生物组蛋白脱乙酰基酶抑制剂的残基, R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 、 R^{16} 、 R^{23} 、 R^{24} 和 R^{25} 各自独立地为氢、 $-C(O)-R^1$ 、式 (VI) 的部分或式 (VII) 的部分:

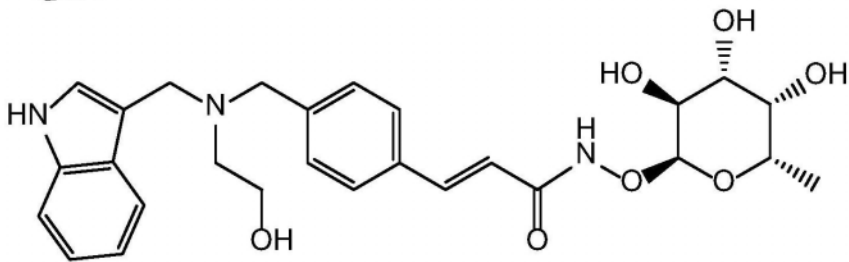
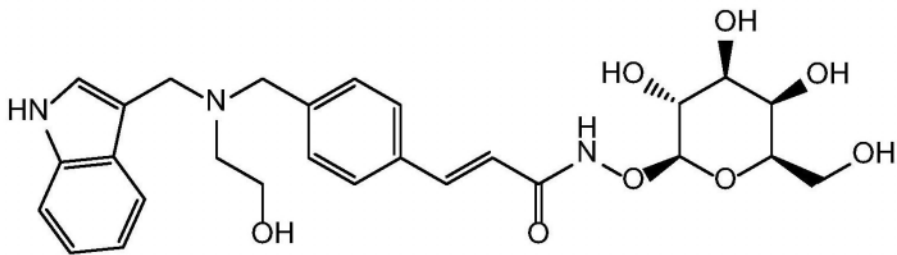
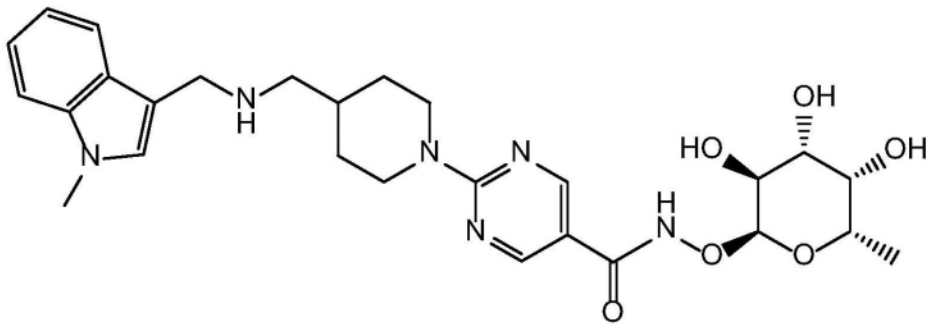
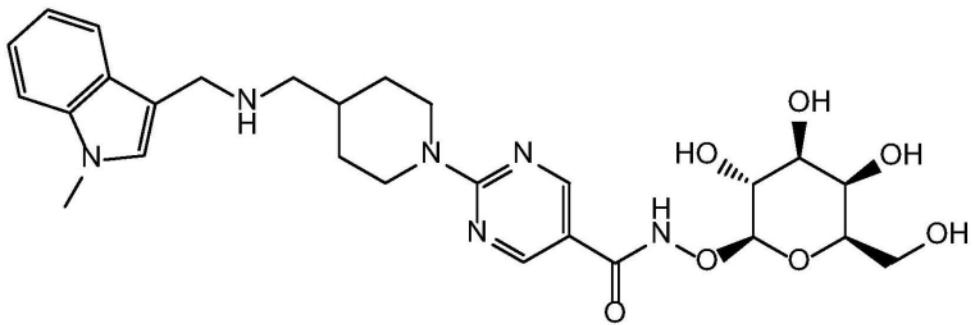
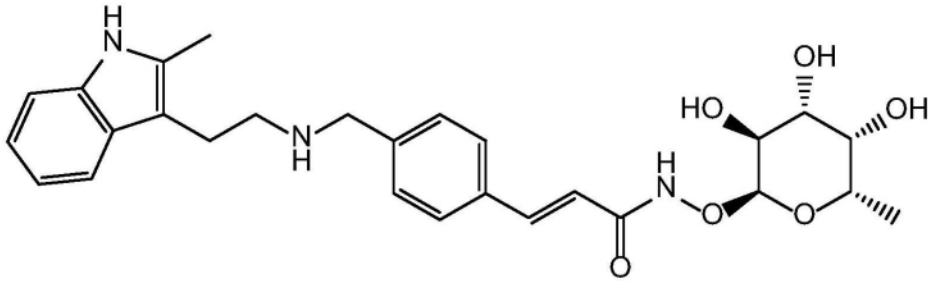
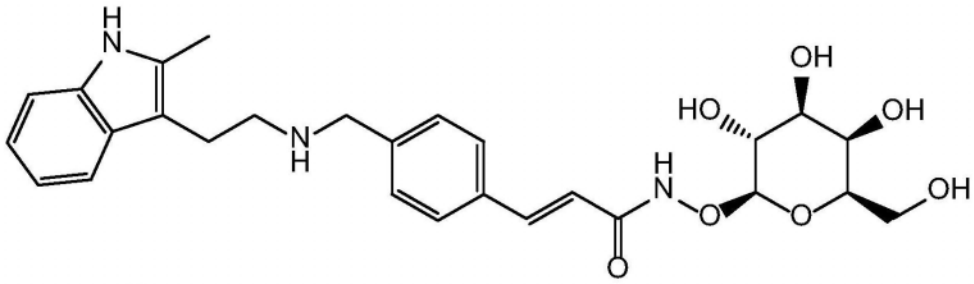


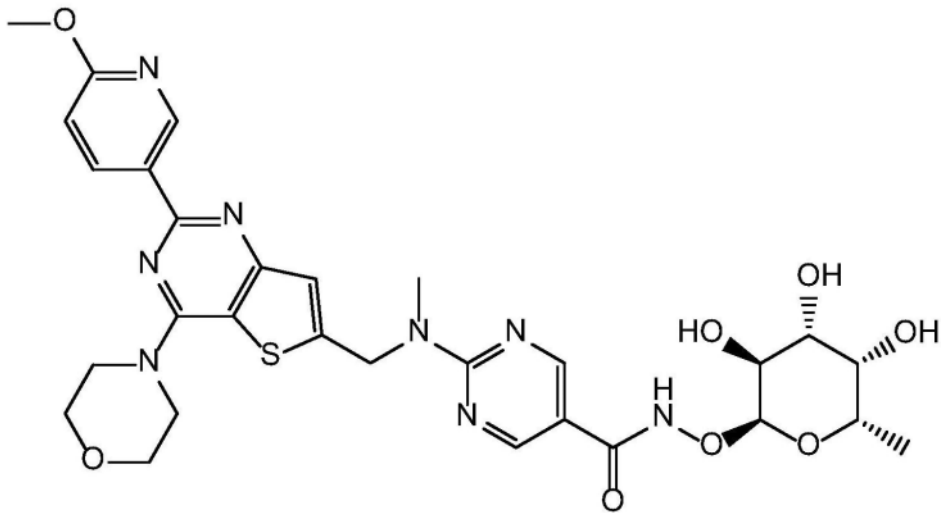
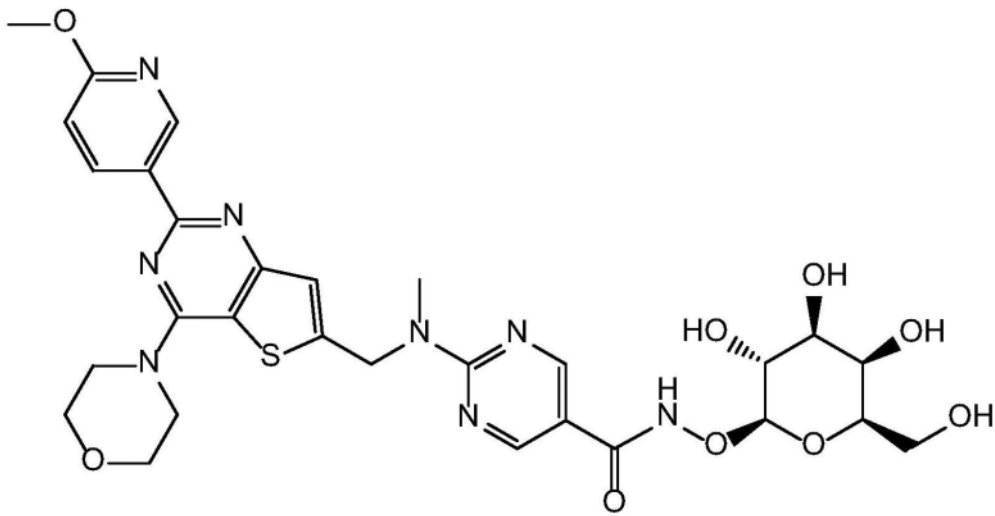
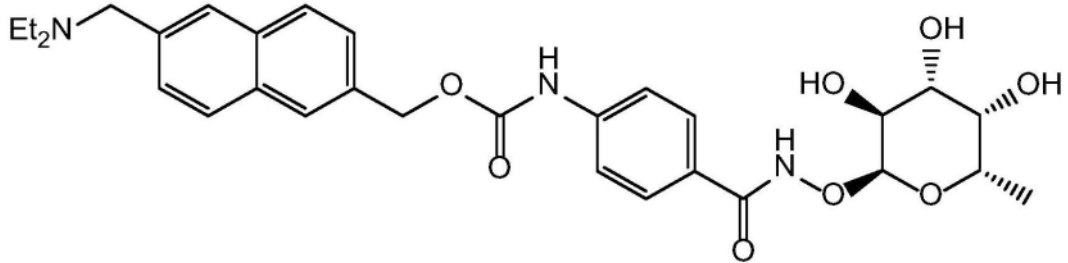
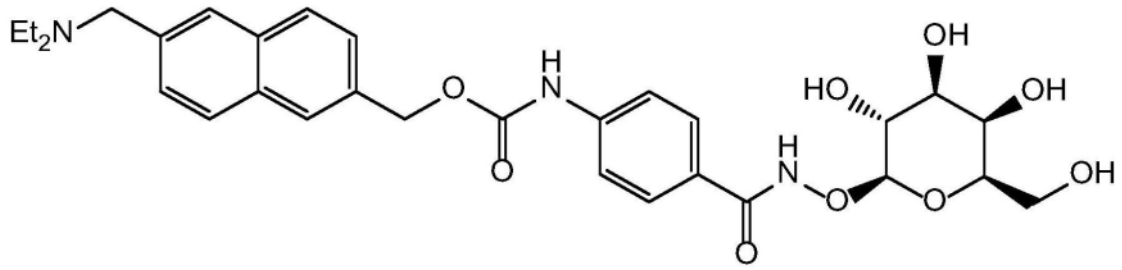
R^{33} 、 R^{34} 、 R^{35} 、 R^{36} 、 R^{43} 、 R^{44} 和 R^{45} 每个独立地为氢或 $-C(O)-R^2$; 每个 R^1 独立地为 C_{1-4} 烷基或苯基, 条件是如果 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 或 R^{16} 之一是式 (VI) 或式 (VII) 的部分, 那么 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 和 R^{16} 的剩余部分是氢或 $C(O)-R^1$; 并且每个 R^2 是独立的 C_{1-4} 烷基或苯基, 条件是如果 R^{23} 、 R^{24} 或 R^{25} 之一是式 (VI) 或式 (VII) 的部分, 那么 R^{23} 、 R^{24} 或 R^{25} 的剩余部分是氢或 $-C(O)-R^1$; 条件是当 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 和 R^{16} 各自是氢时, 则R不是7-庚酰基苯酰胺。

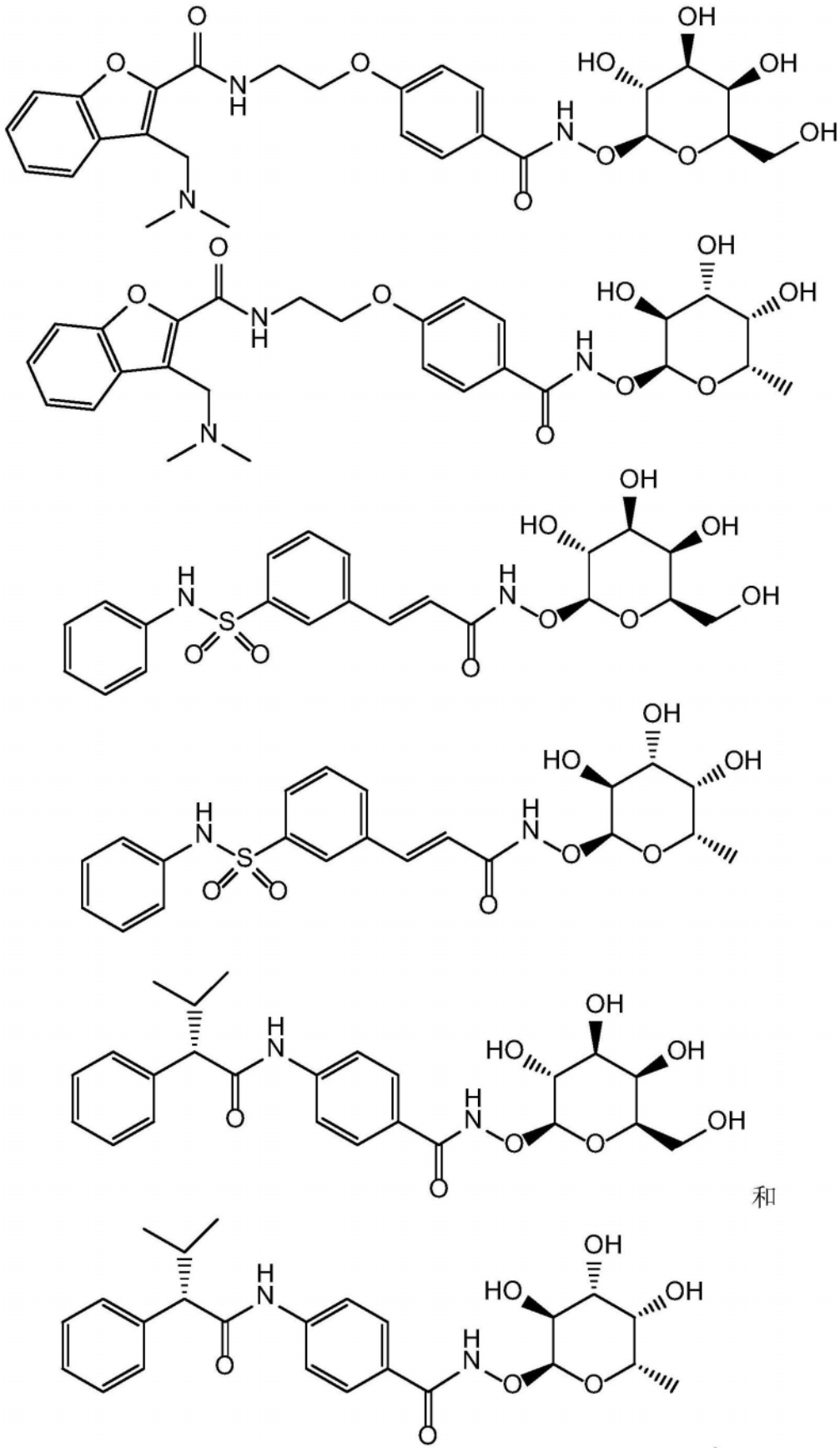
2. 根据权利要求1所述的化合物, 其中吡喃糖环的异头碳 (标记为*) 是S构型, 并且所述化合物分别是异羟肟酸衍生物组蛋白脱乙酰基酶抑制剂的 β -D-半乳糖苷和 α -L-岩藻糖苷缀合物。

3. 根据权利要求2所述的化合物, 其中所述异羟肟酸衍生物组蛋白脱乙酰基酶抑制剂选自以下组成的组: 帕比司他、奎诺司他、伏立诺他、达诺司他、吉维司他、CUDC-907、CUDC-101、艾贝司他、贝利司他、普诺司他、瑞诺司他、利可诺司他、焦草酰胺、APHA、曲古菌素A、奥沙莱丁和AR-42。

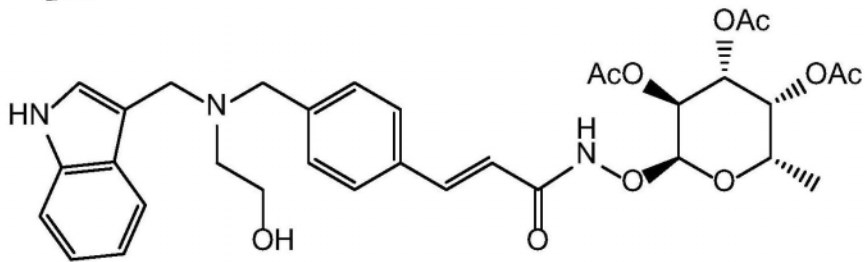
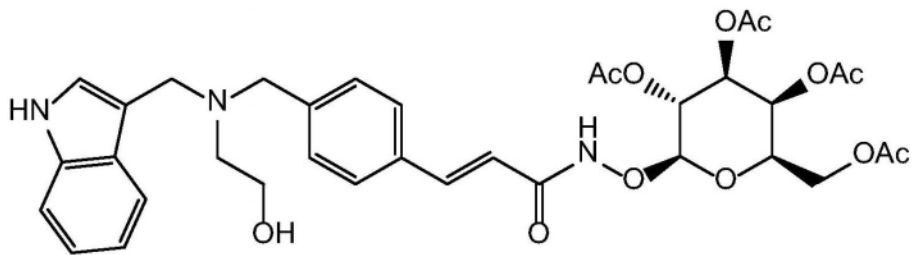
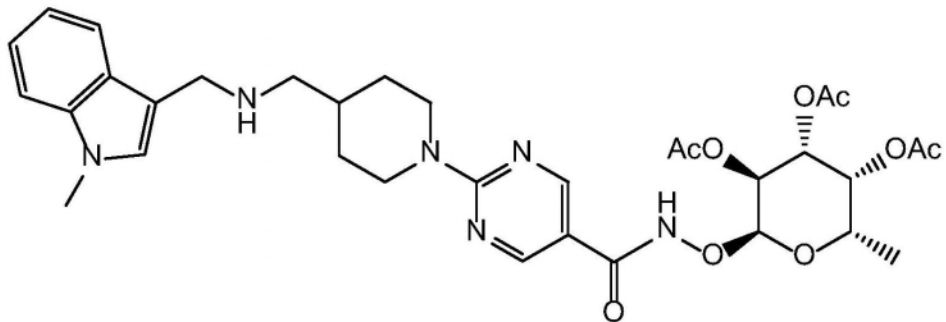
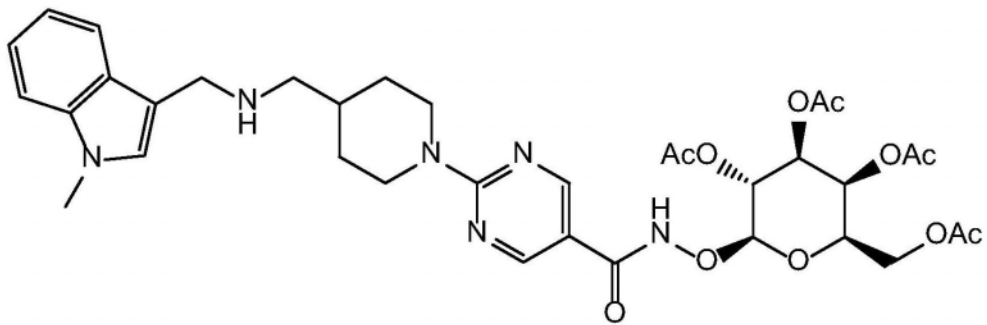
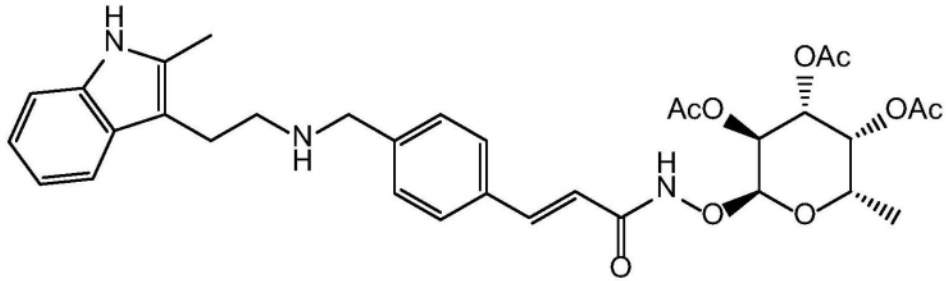
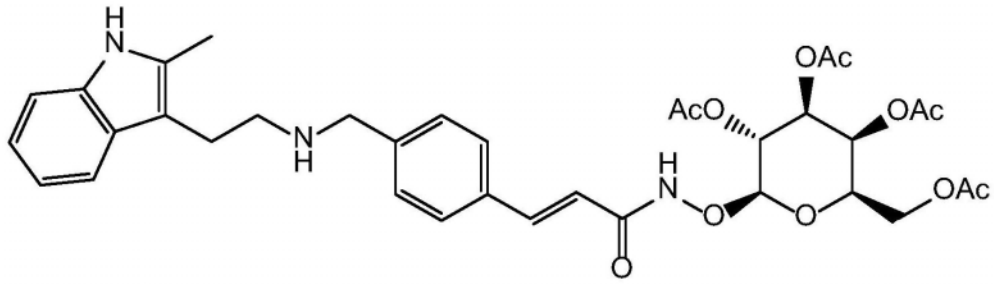
4. 根据权利要求3所述的化合物, 具有以下结构中的任何一种:

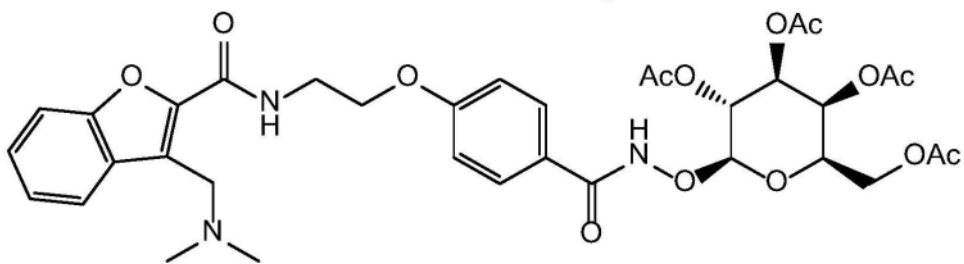
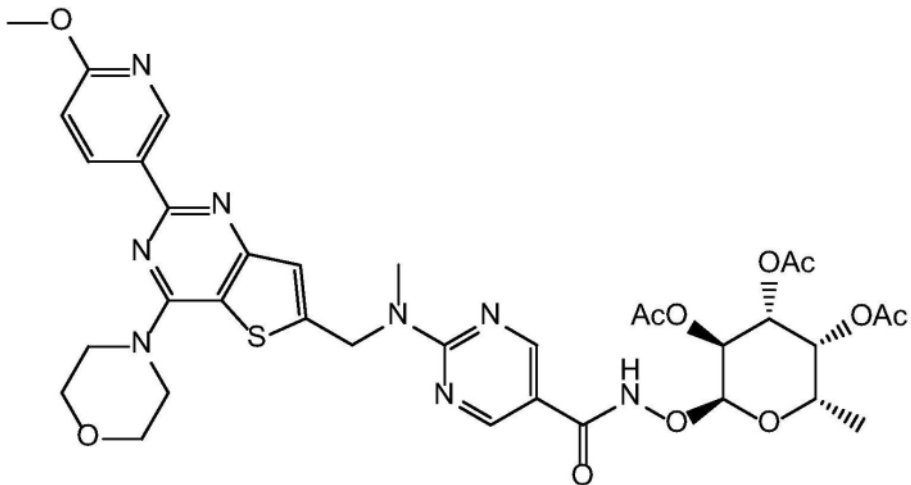
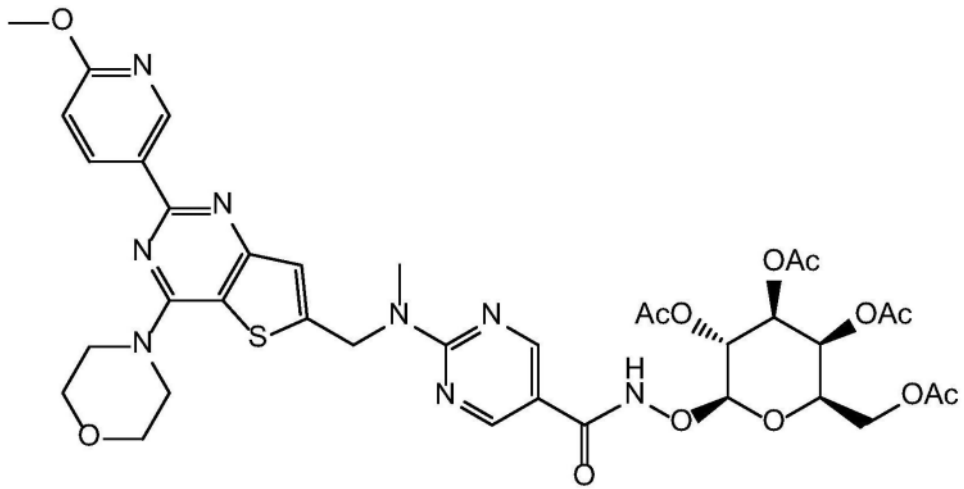
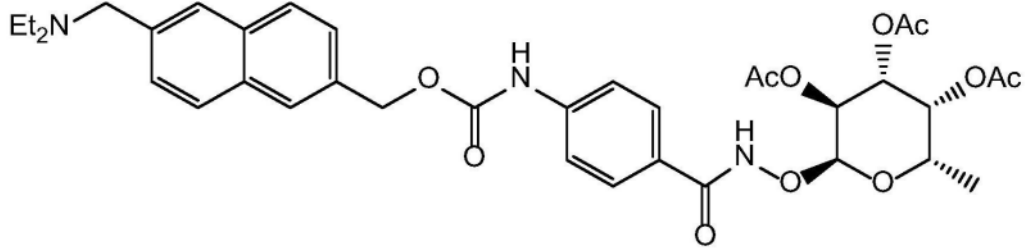
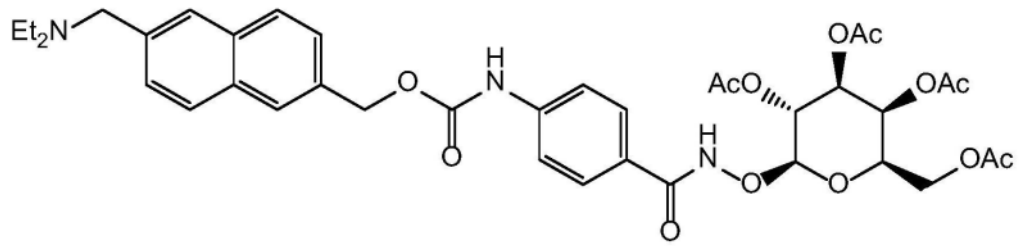


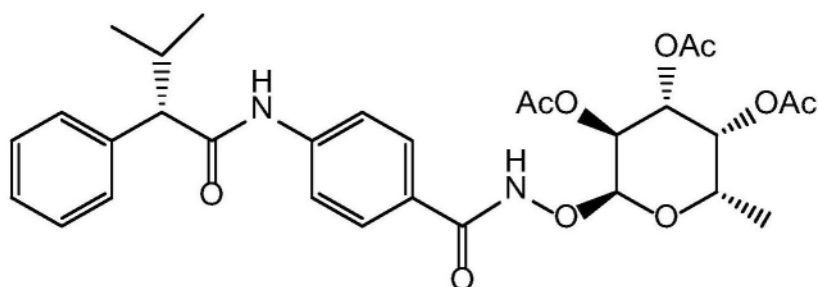
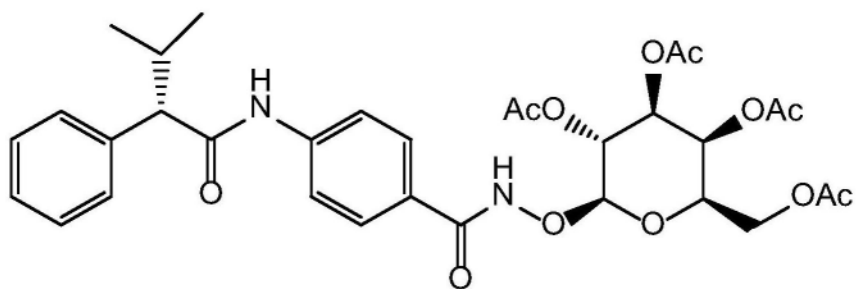
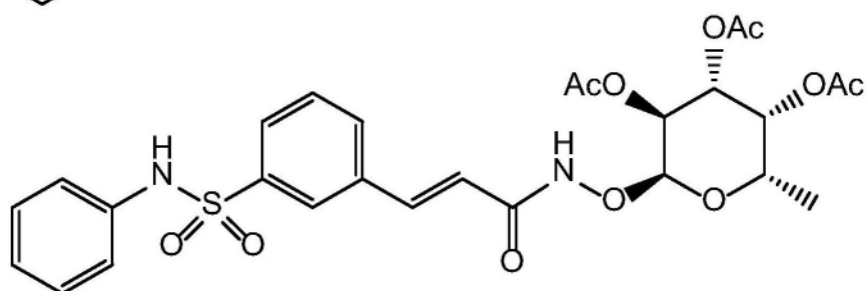
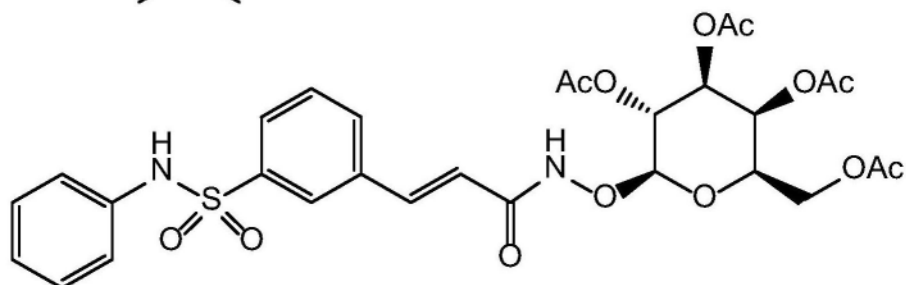
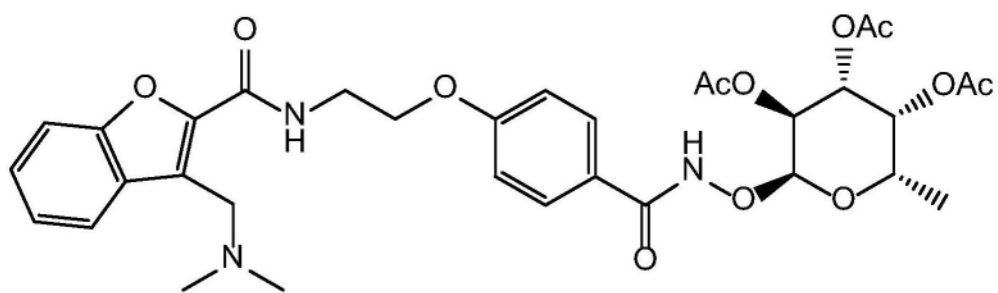




5. 根据权利要求3所述的化合物,具有以下结构中的任何一种:

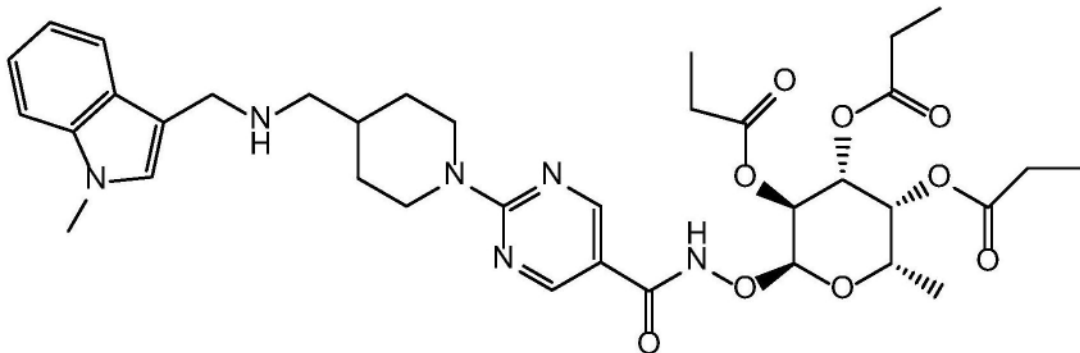
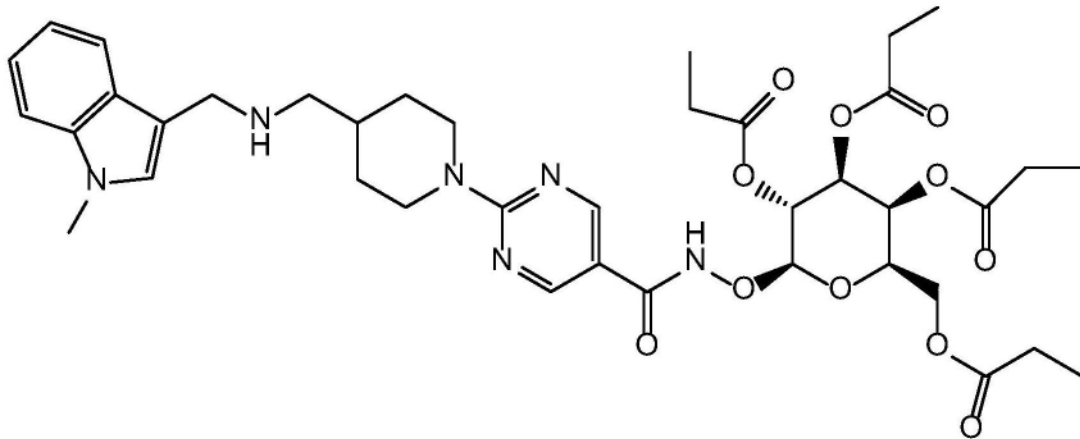
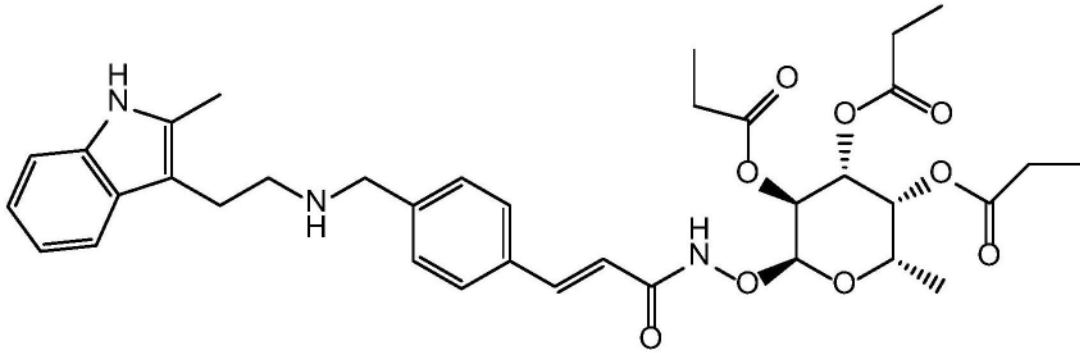
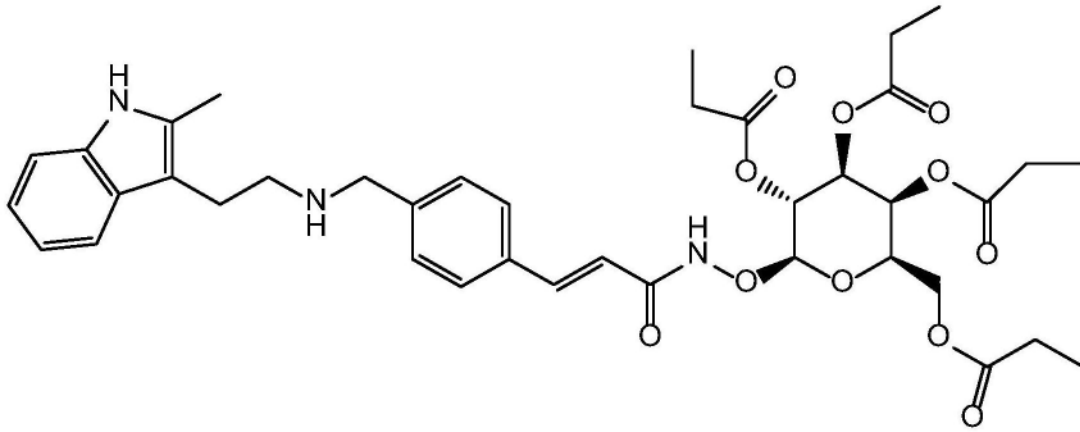


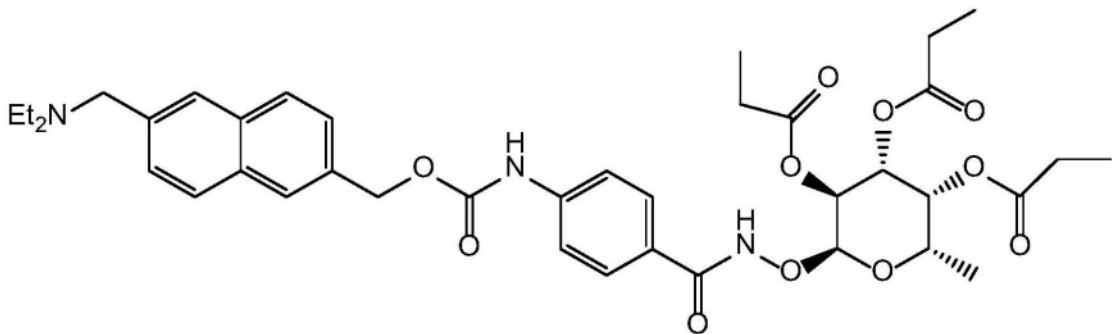
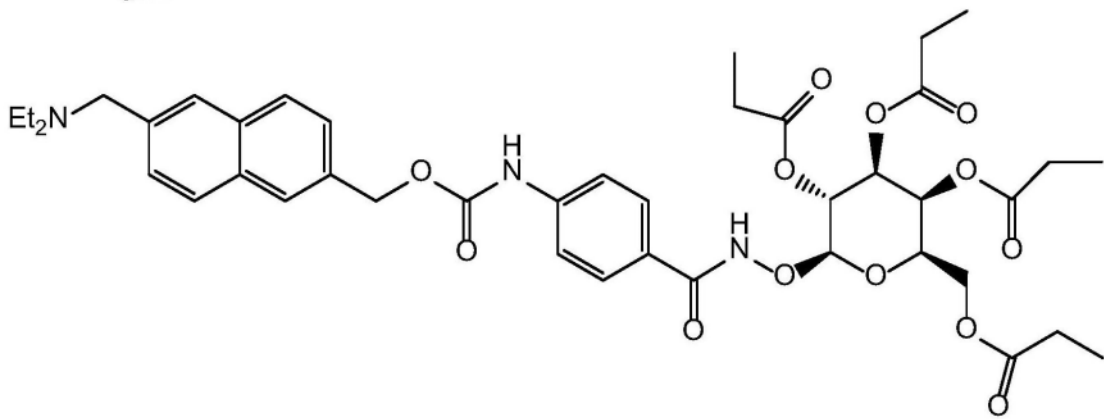
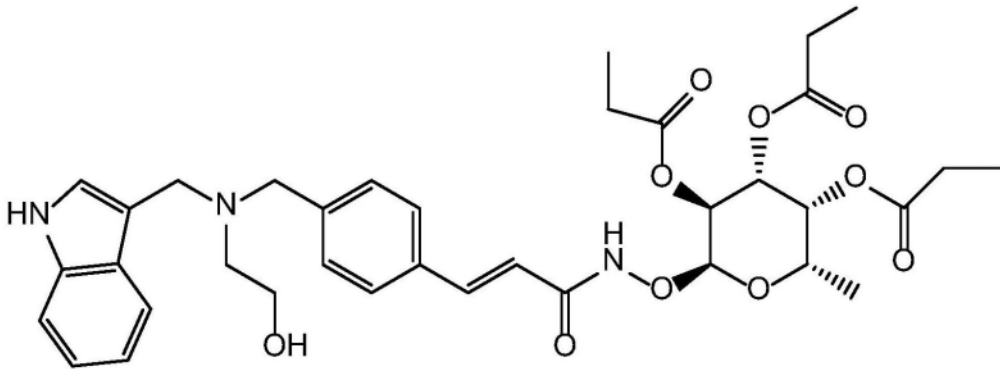
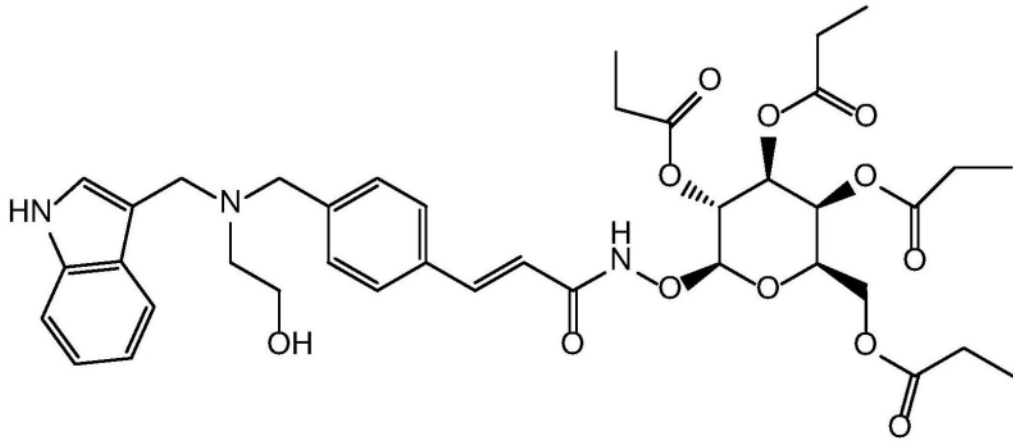


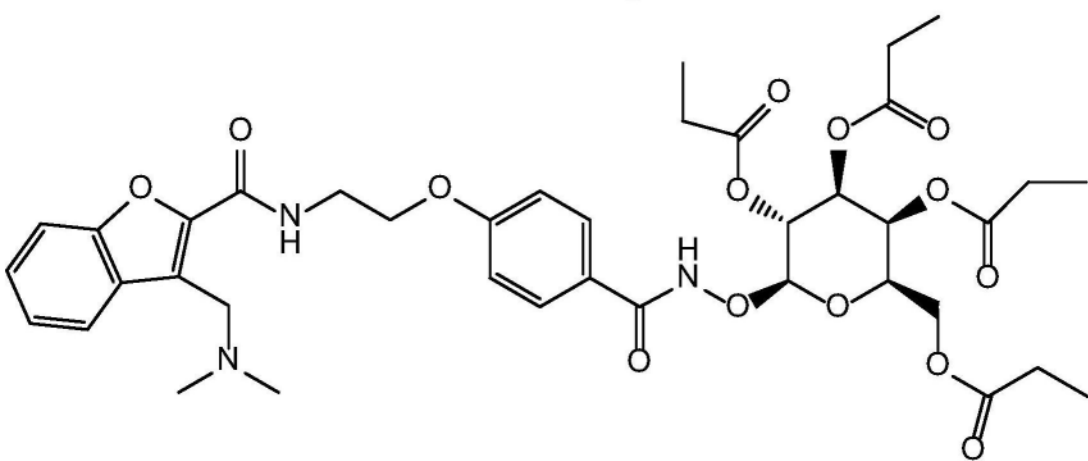
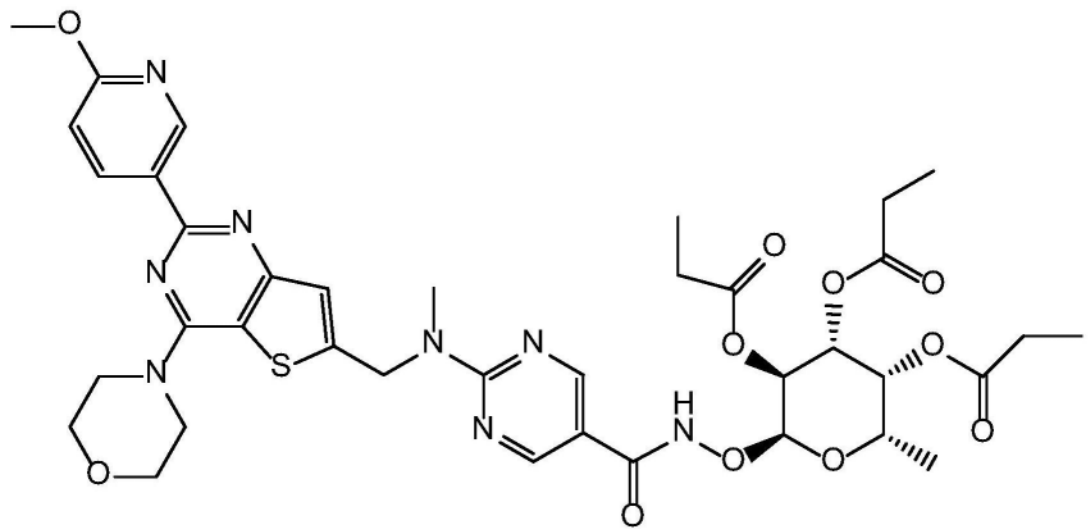
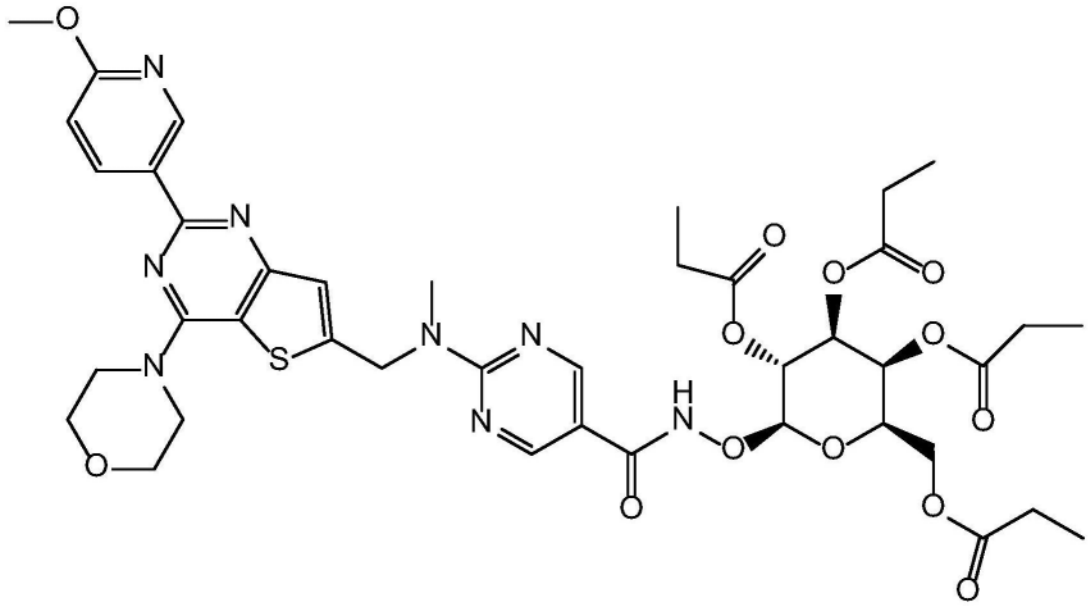


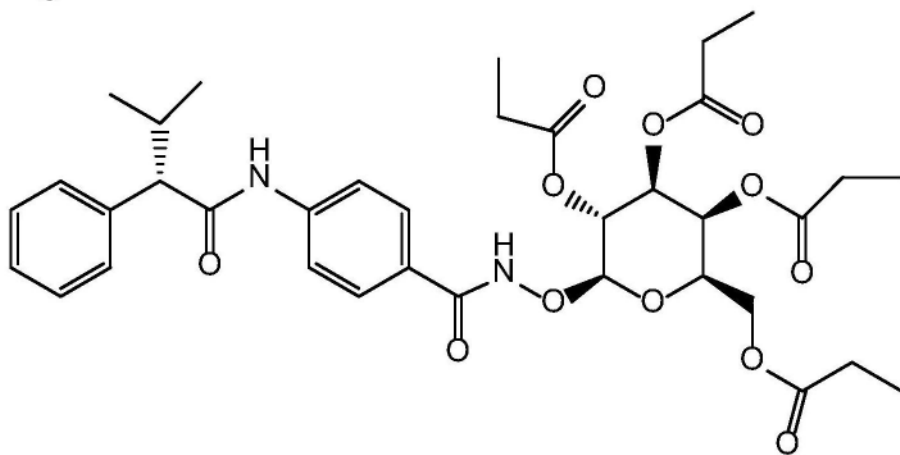
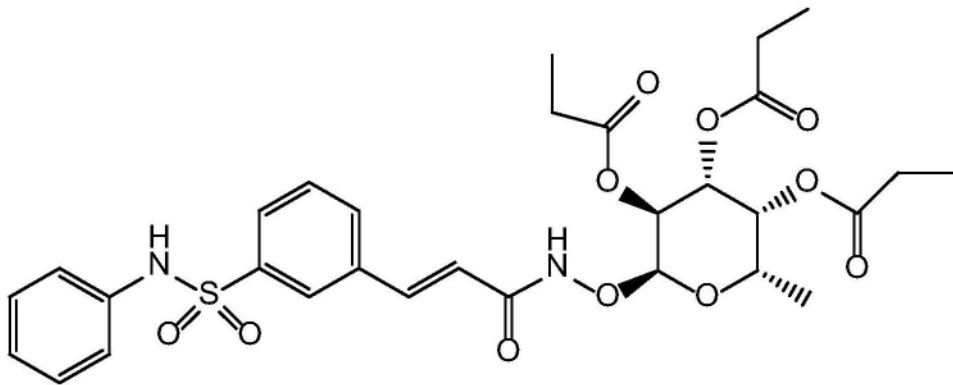
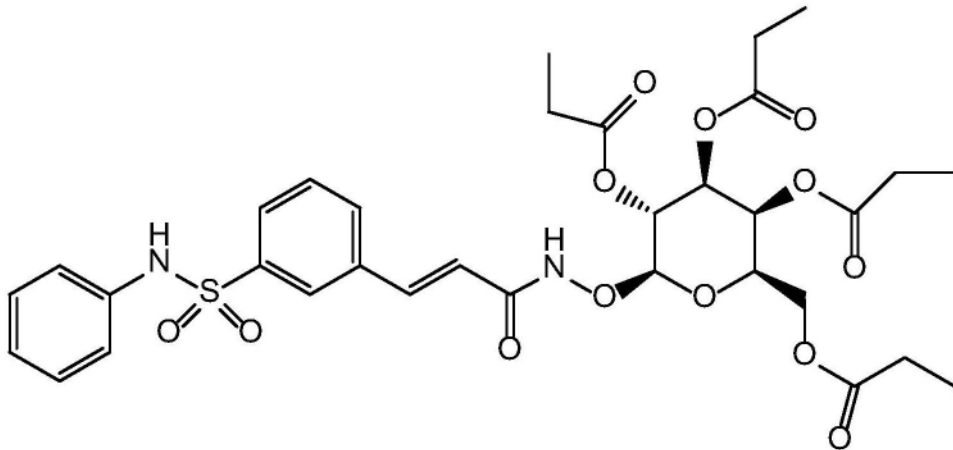
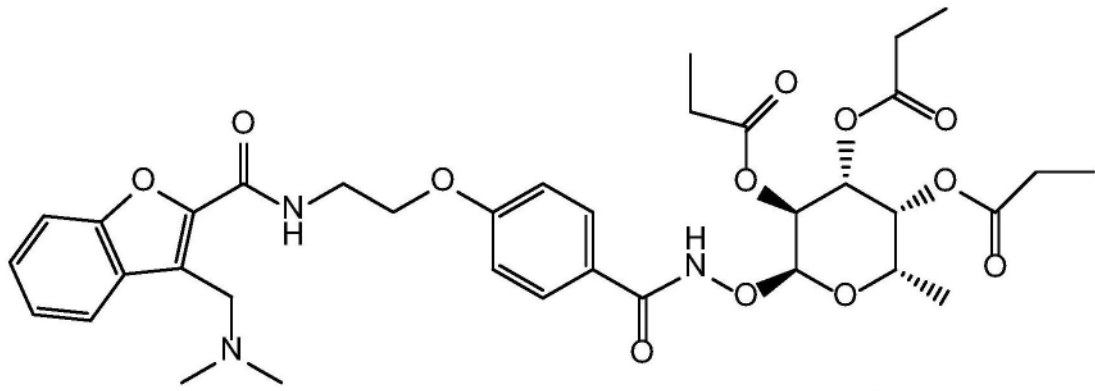
和

6. 根据权利要求3所述的化合物, 具有以下结构中的任何一种:

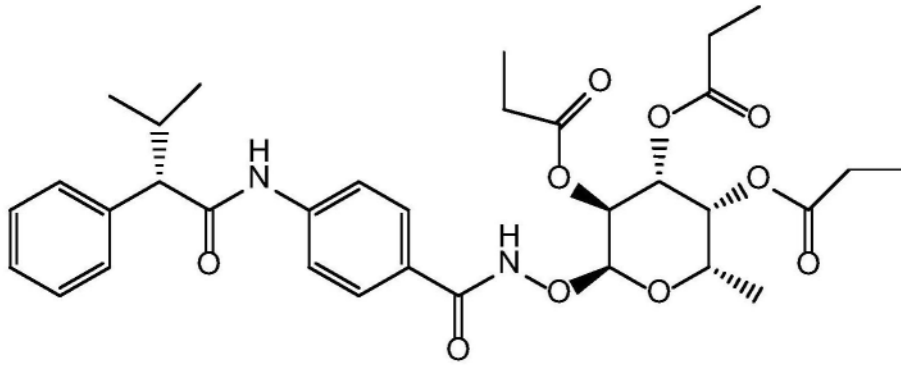




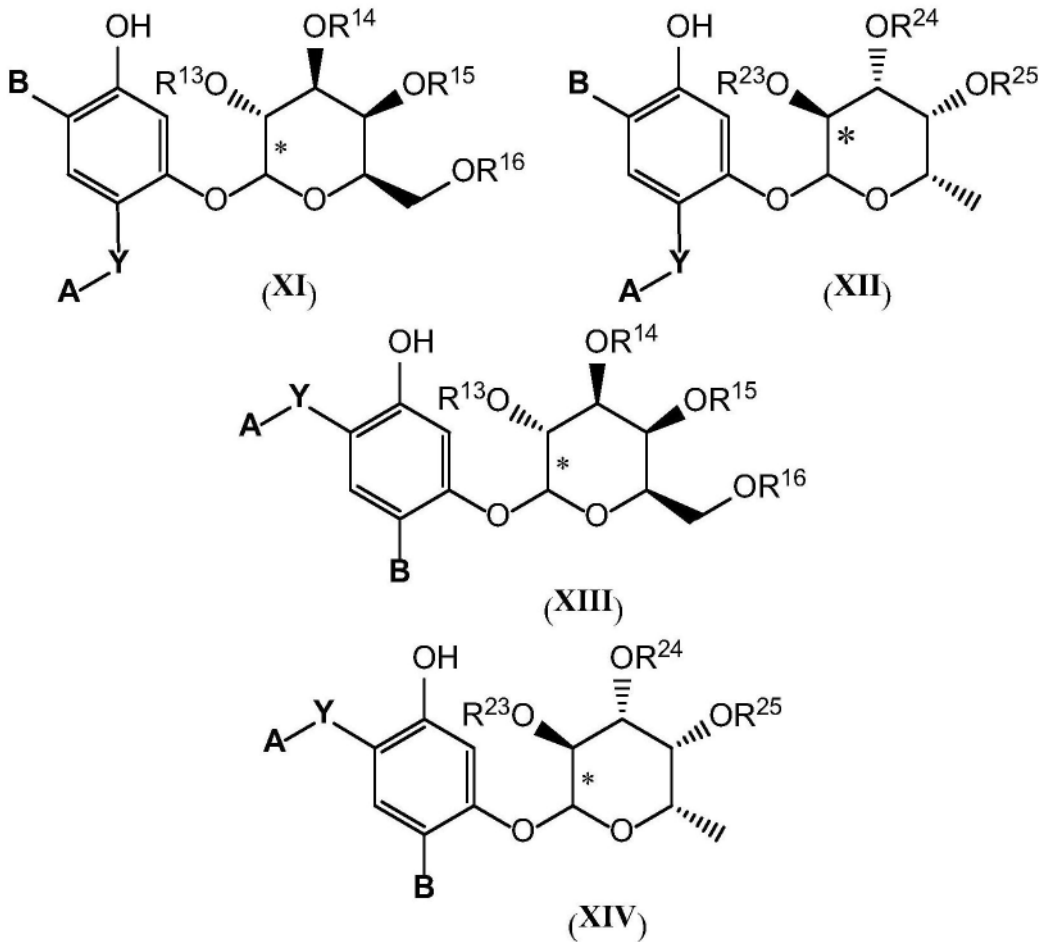




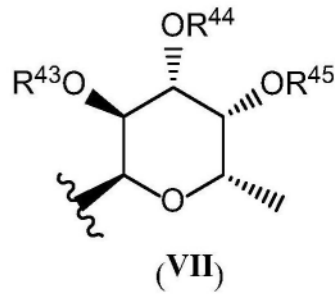
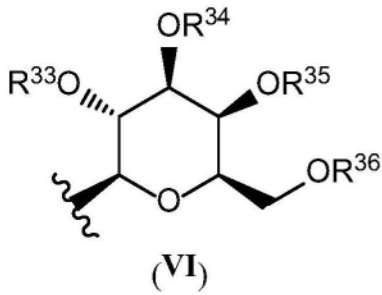
和



7. 一种化学式 (XI)、(XII)、(XIII) 或 (XIV) 的化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物:



其中Y是羰基或者不存在;A是一个被取代或苯并稠合的5元杂芳基或杂环基团,含有至少一个氮原子;B选自由乙基、异丙基或氯组成的组;R¹³、R¹⁴、R¹⁵、R¹⁶、R²³、R²⁴和R²⁵每个独立地是氢、C(O)-R¹、式(VI)的部分或式(VII)的部分:

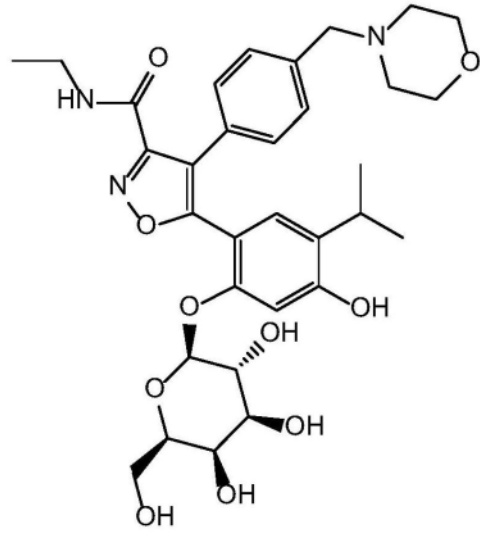
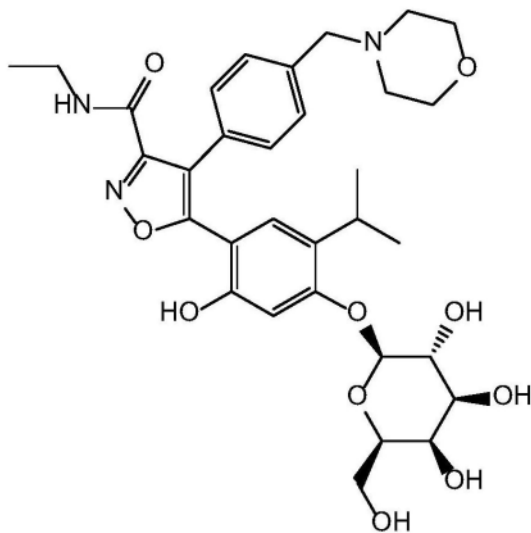


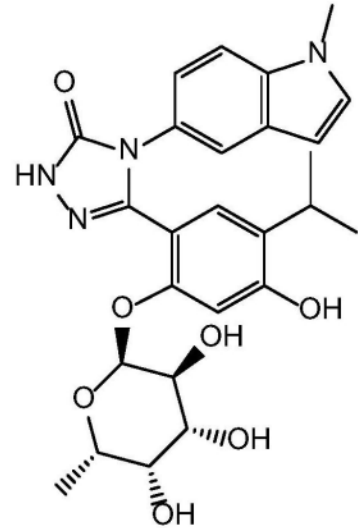
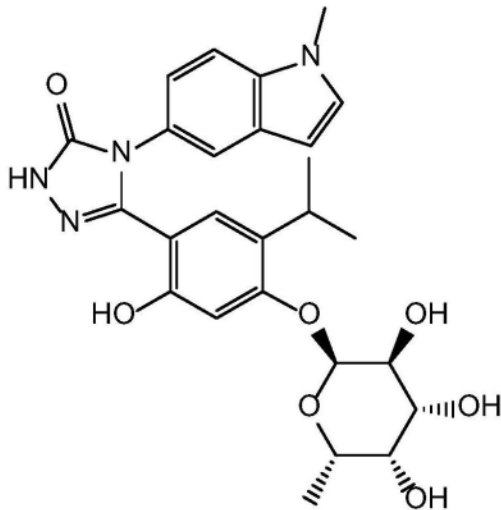
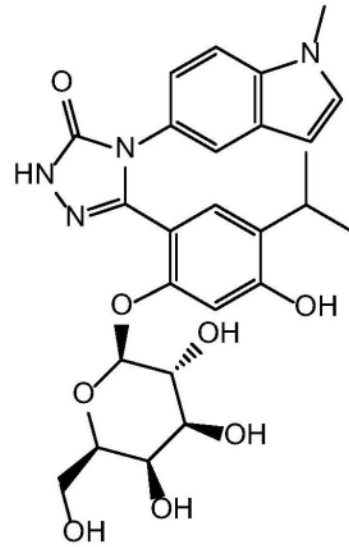
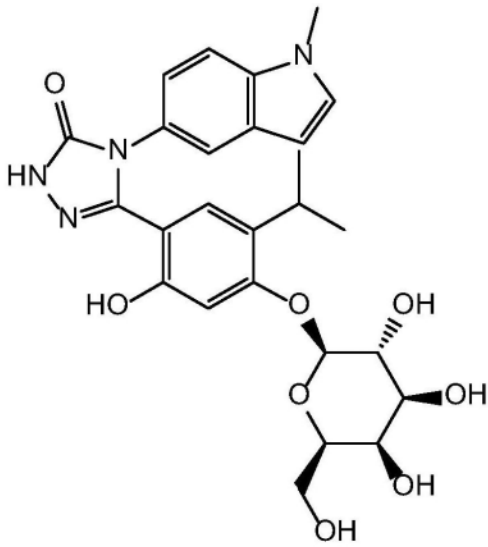
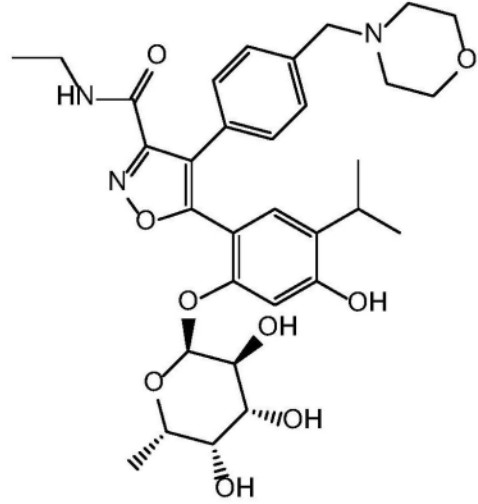
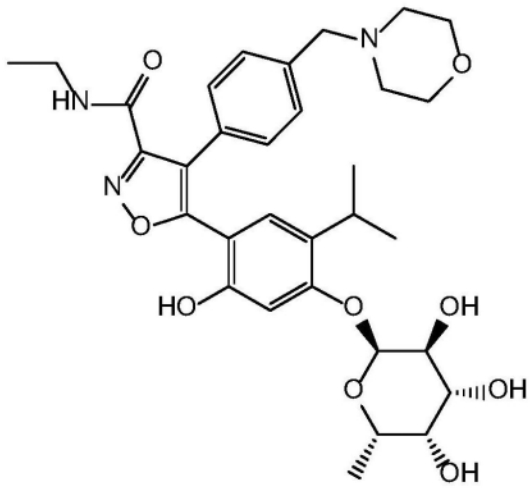
R^{33} 、 R^{34} 、 R^{35} 、 R^{36} 、 R^{43} 、 R^{44} 和 R^{45} 每个独立地是氢或 $-C(O)-R^2$ ；每个 R^1 是独立的 C_{1-4} 烷基或苯基，条件是如果 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 或 R^{16} 之一是式(VI)或式(VII)的部分，那么 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 和 R^{16} 的剩余部分是氢或 $C(O)-R^1$ ；并且每个 R^2 是独立的 C_{1-4} 烷基或苯基，条件是如果 R^{23} 、 R^{24} 或 R^{25} 之一是式(VI)或式(VII)的部分，那么 R^{23} 、 R^{24} 或 R^{25} 的剩余部分是氢或 $-C(O)-R^1$ 。

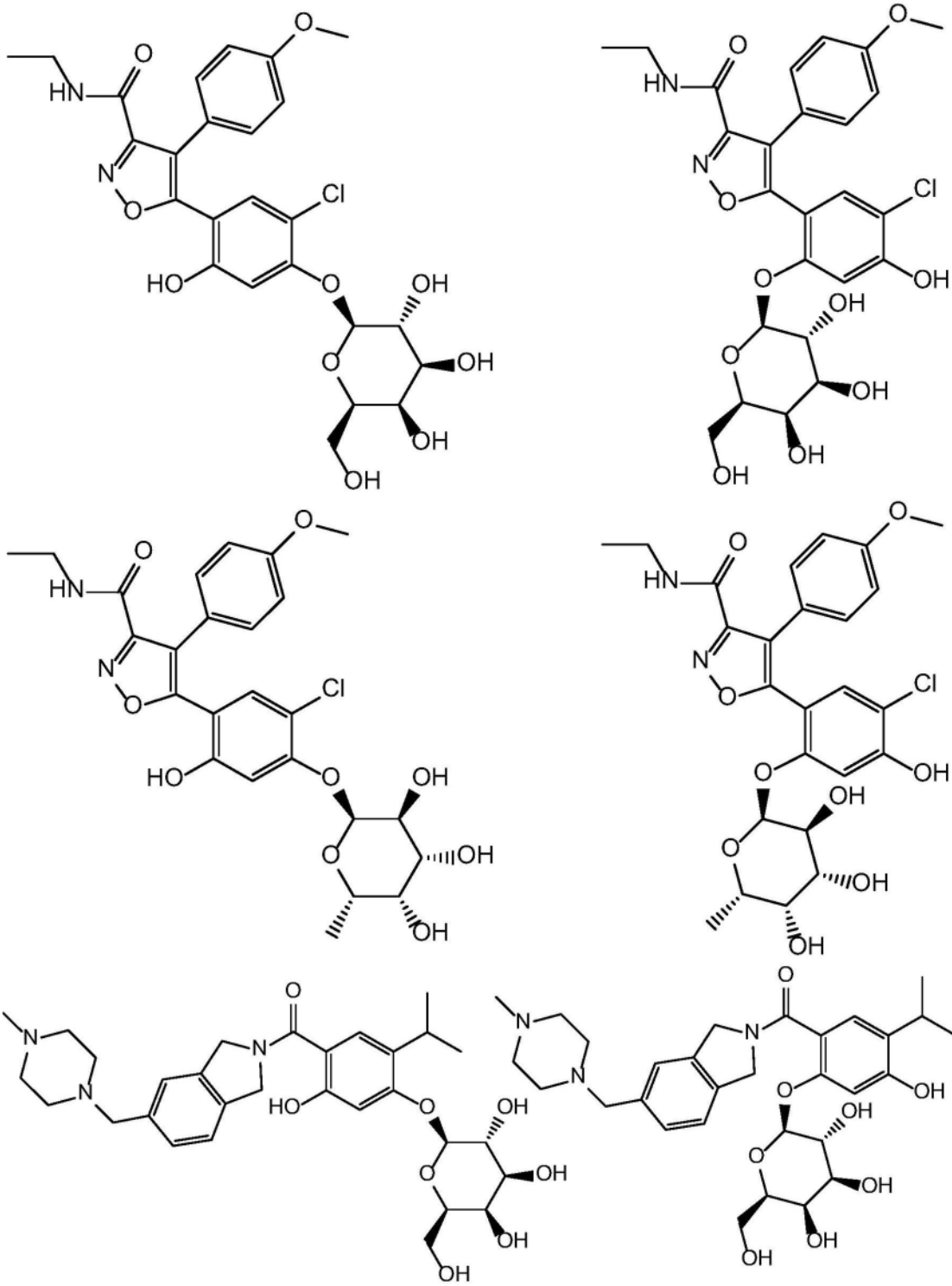
8. 根据权利要求7所述的化合物，其中所述吡喃糖环的异头碳(标记为*)为S构型，并且所述化合物分别为Hsp90抑制剂的 β -D-半乳糖苷和 α -L-岩藻糖苷缀合物。

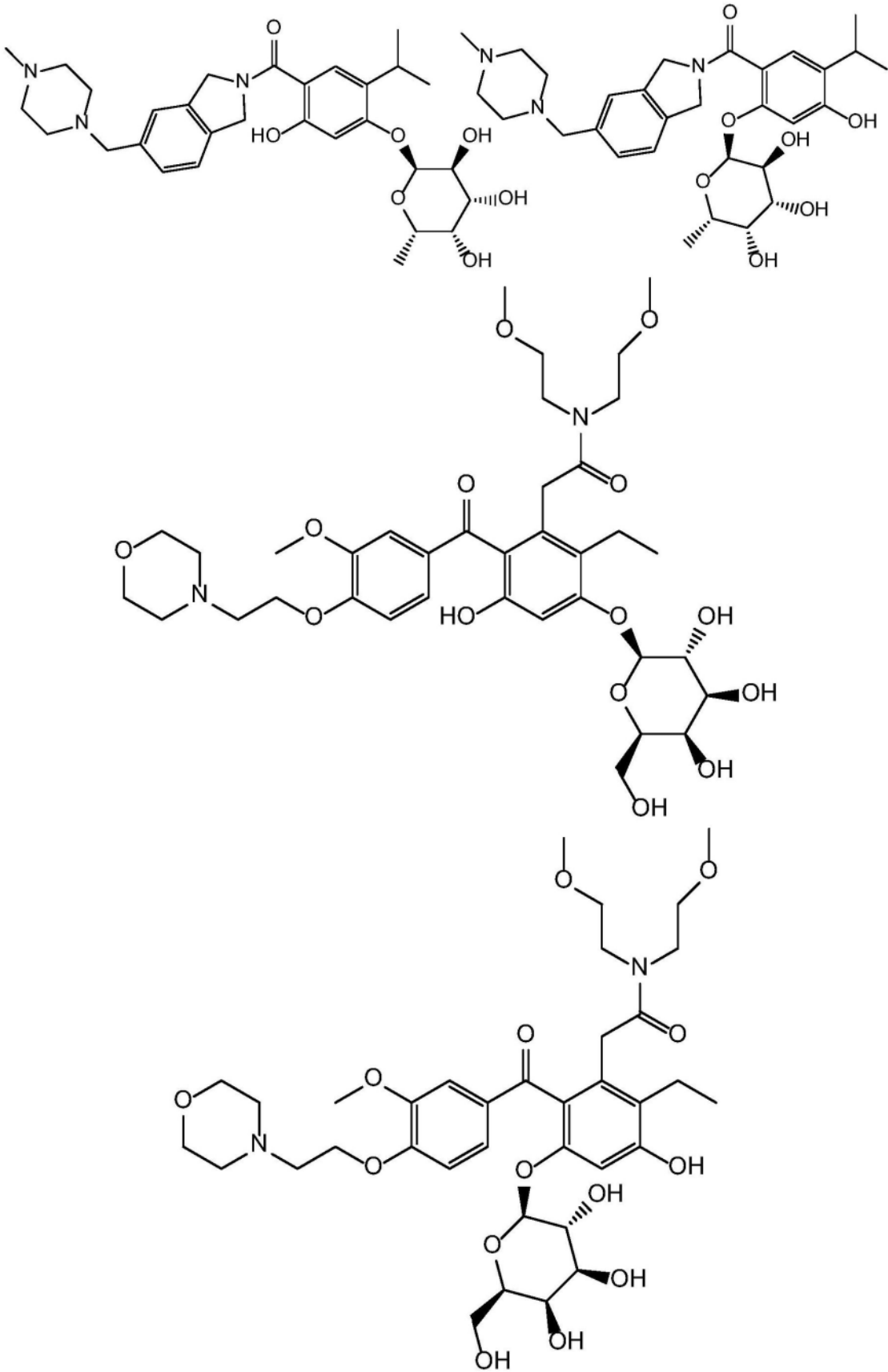
9. 根据权利要求8所述的化合物，其中所述 $A-Y-C_6H_2(OH)_2-B$ 部分是选自luminespib(NVP-AUY922)、ganetespib、VER-50589、AT13387和KW-2478组成的组的Hsp90抑制剂。

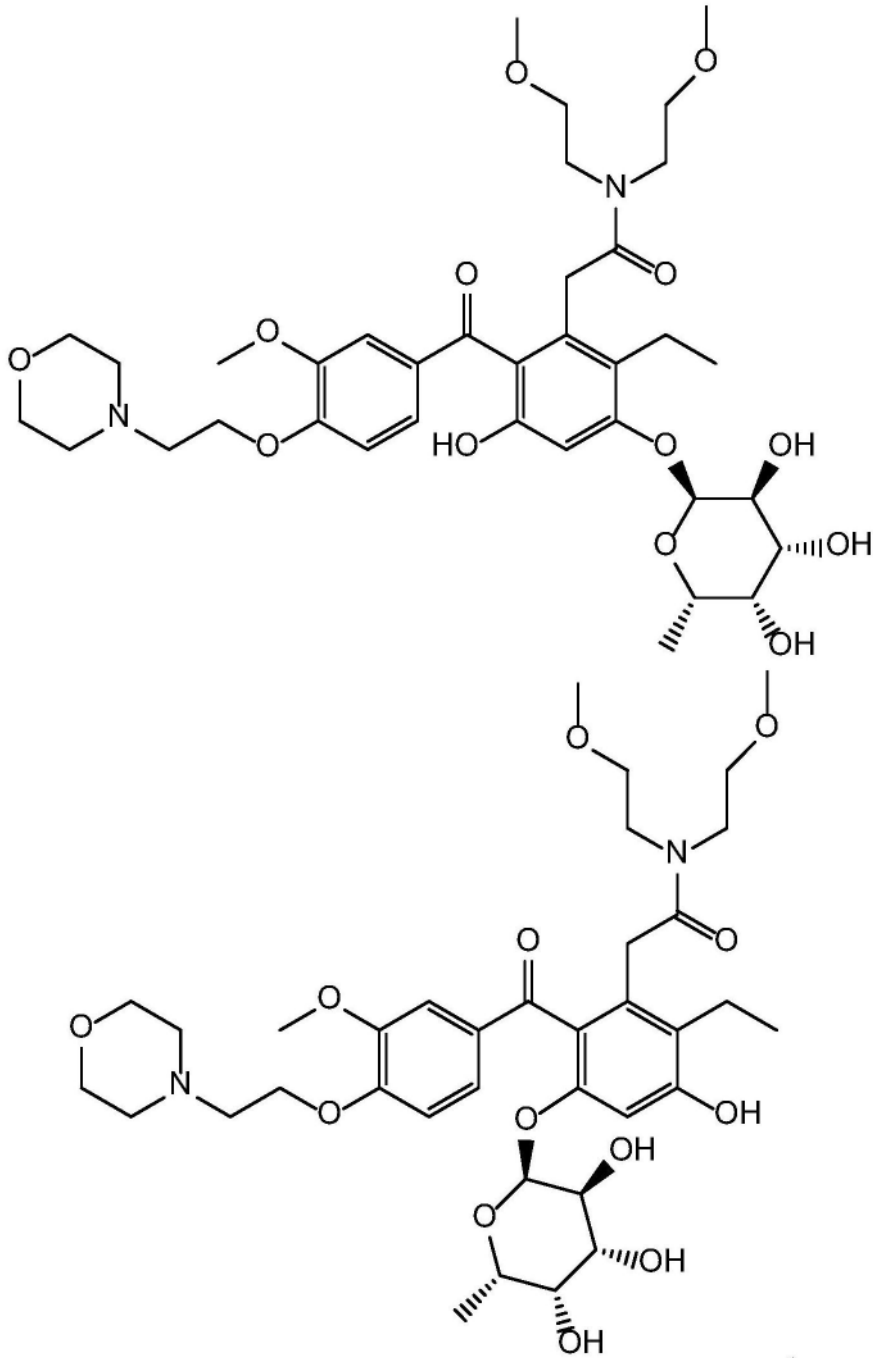
10. 根据权利要求9所述的化合物，具有以下结构中的任何一种：



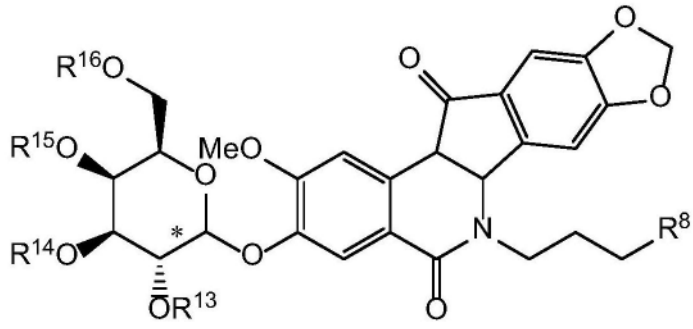




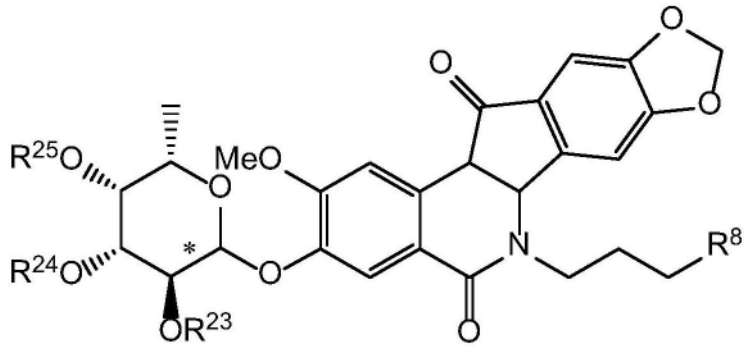




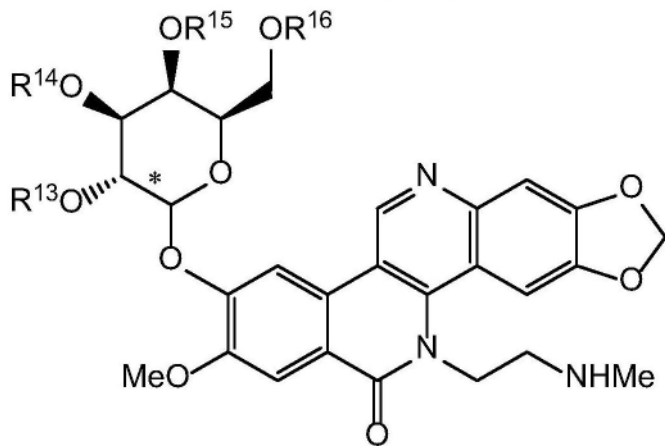
11. 一种化学式 (XVI)、(XVII)、(XVIII)、(XIX)、(XX)、(XXI)、(XXII)、(XXIII)、(XXIV) 或 (XXV) 的化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物：



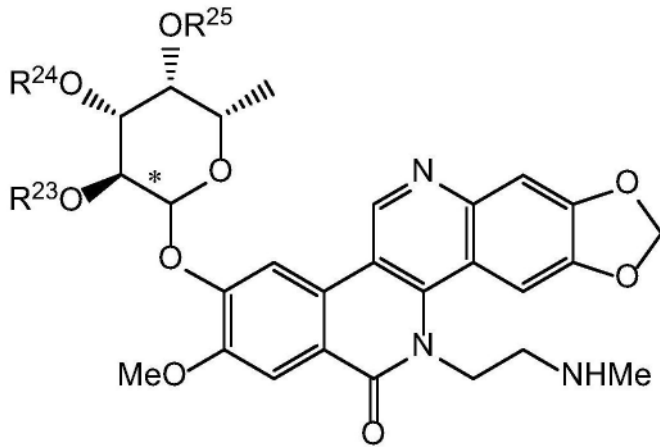
(XX)



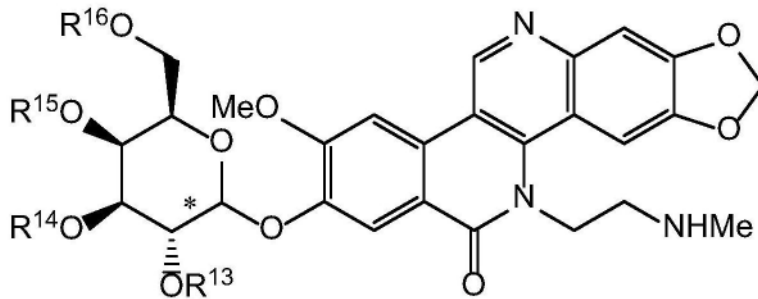
(XXI)



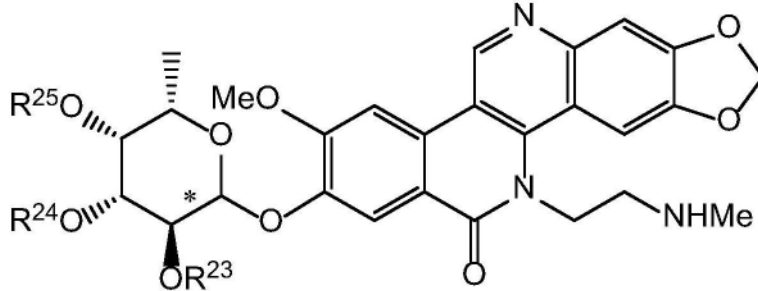
(XXII)



(XXIII)

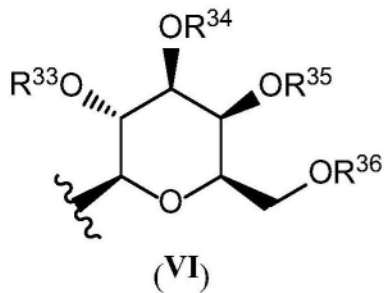


(XXIV)

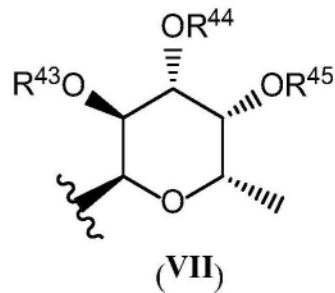


(XXV)

其中 R^8 是4-吗啉基或1-咪唑基； R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 、 R^{16} 、 R^{23} 、 R^{24} 和 R^{25} 每个独立地是氢、 $-C(O)-R^1$ 、式(VI)的部分或式(VII)的部分：



(VI)



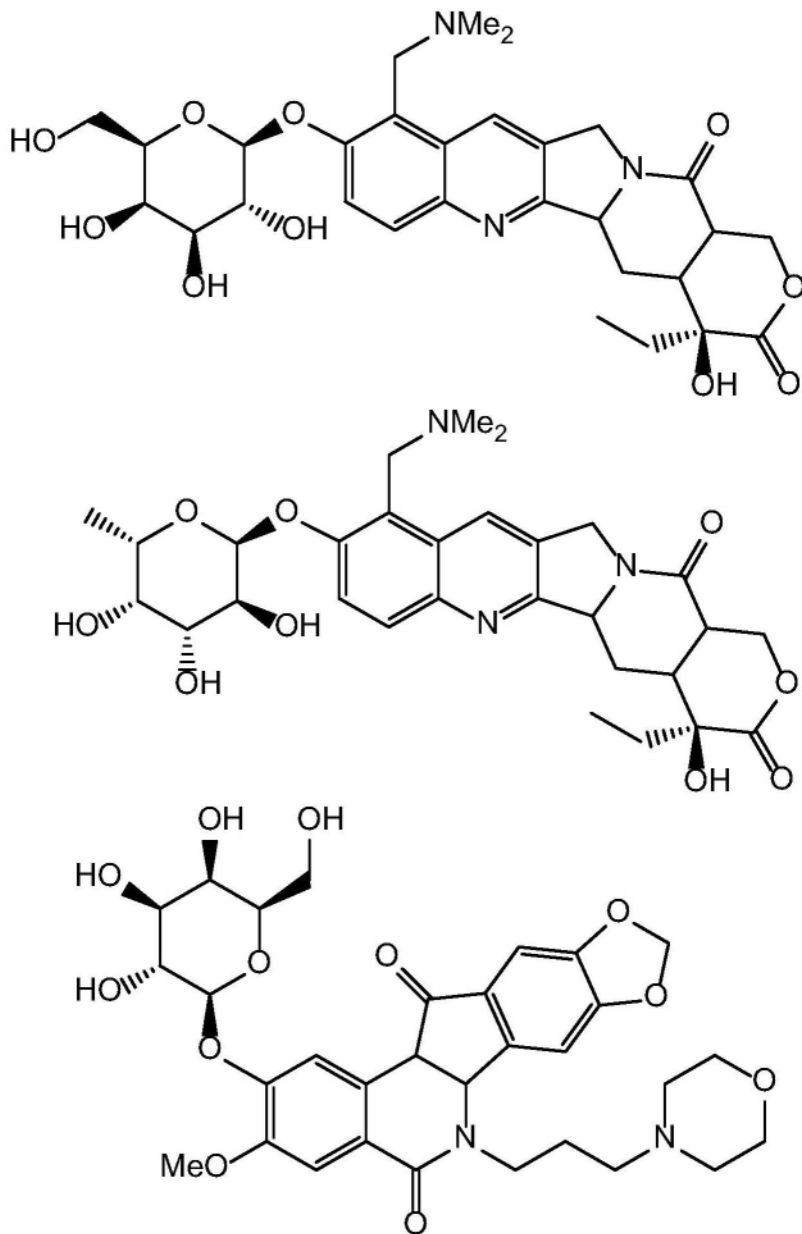
(VII)

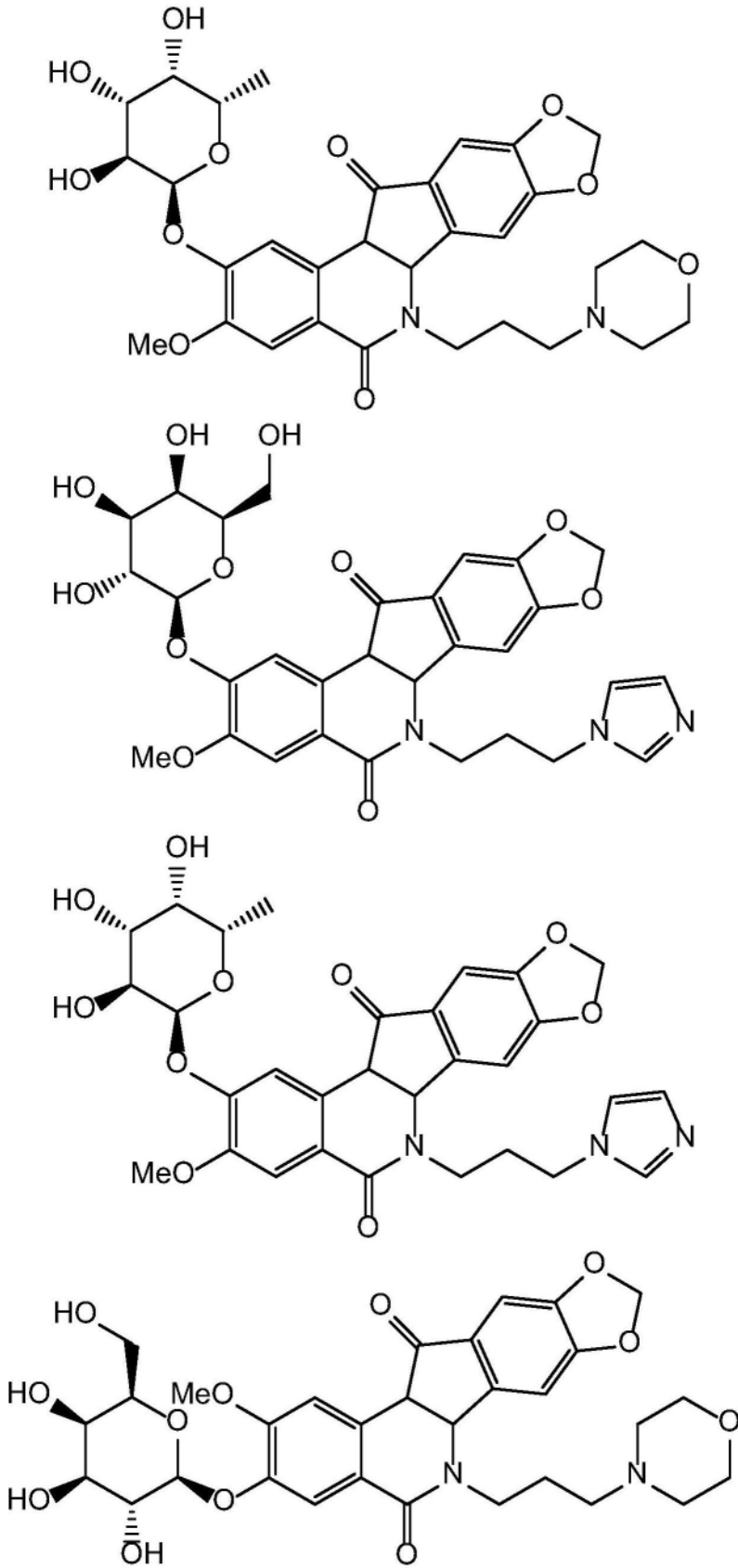
R^{33} 、 R^{34} 、 R^{35} 、 R^{36} 、 R^{43} 、 R^{44} 和 R^{45} 每个独立地是氢或 $-C(O)-R^2$ ；每个 R^1 是独立的 C_{1-4} 烷基或苯基，条件是如果 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 或 R^{16} 之一是式(VI)或式(VII)的部分，那么 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 和 R^{16} 的剩

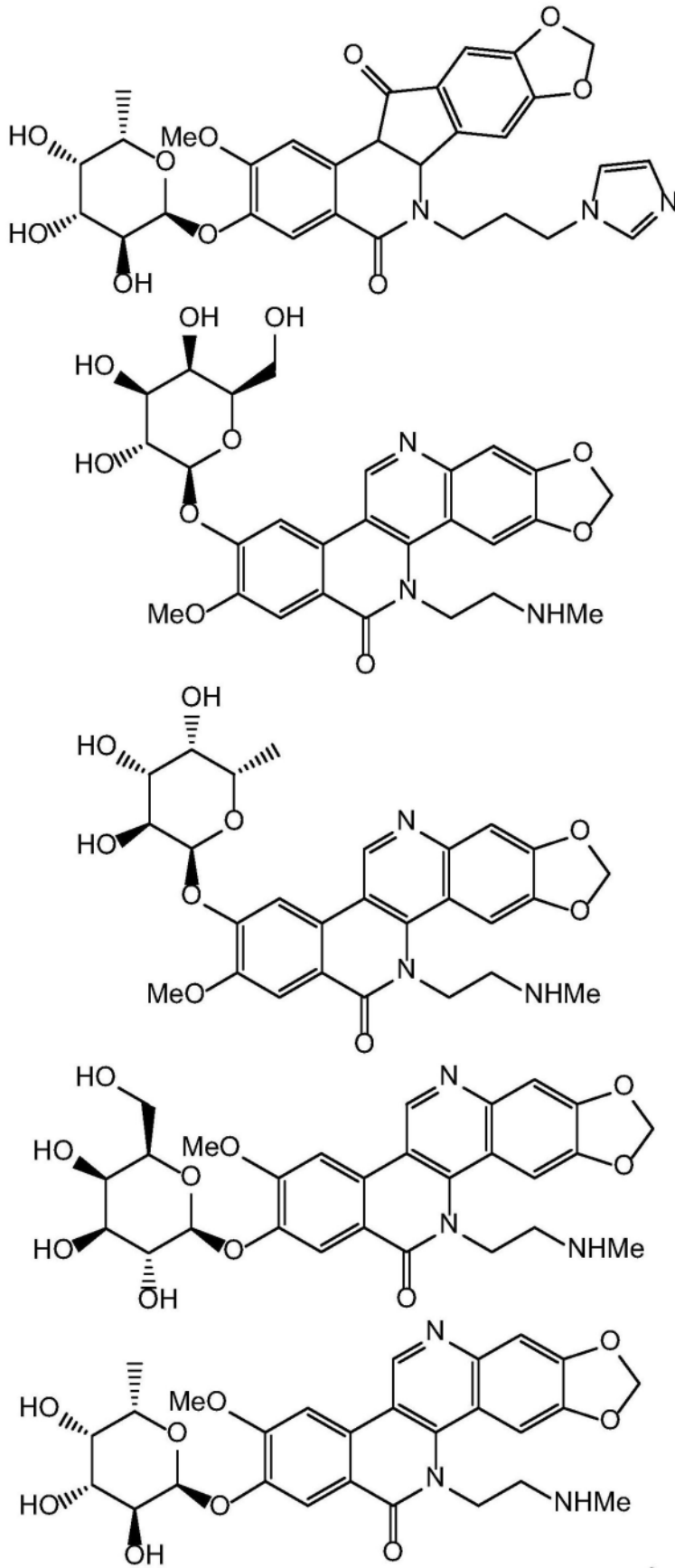
余部分是氢或C(O)-R¹;并且每个R²独立地是C₁₋₄烷基或苯基,条件是如果R²³、R²⁴或R²⁵之一是式(VI)或式(VII)的部分,那么R²³、R²⁴或R²⁵的剩余部分是氢或-C(O)-R¹。

12. 根据权利要求11所述的化合物,其中所述吡喃糖环的异头碳(标记为*)具有S构型,并且所述化合物分别是TOP1抑制剂的 β -D-半乳糖苷和 α -L-岩藻糖苷缀合物。

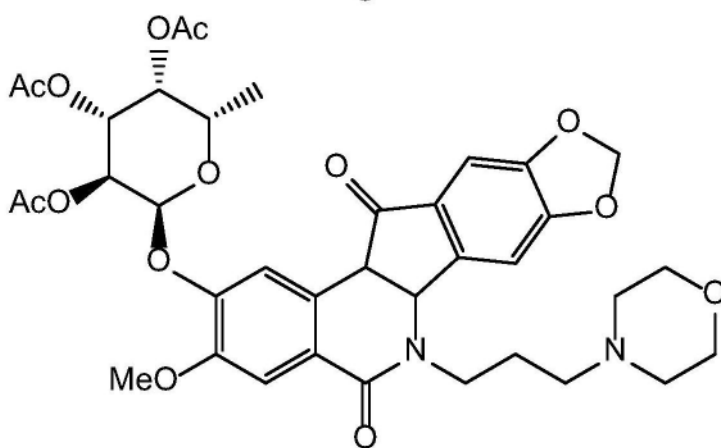
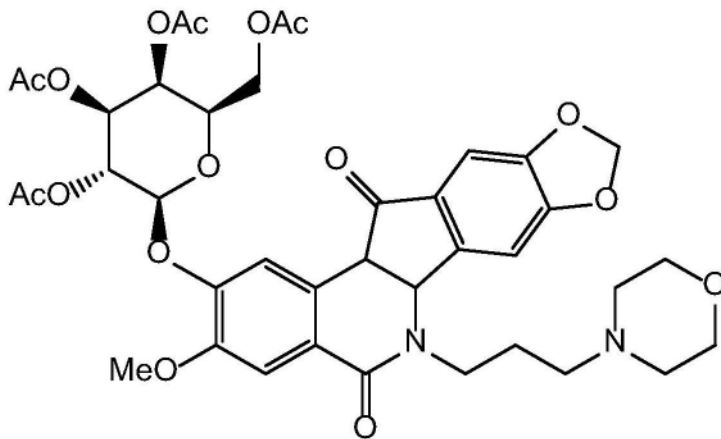
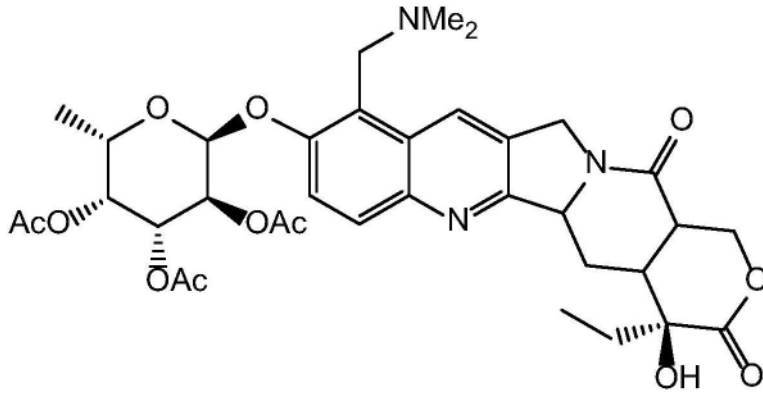
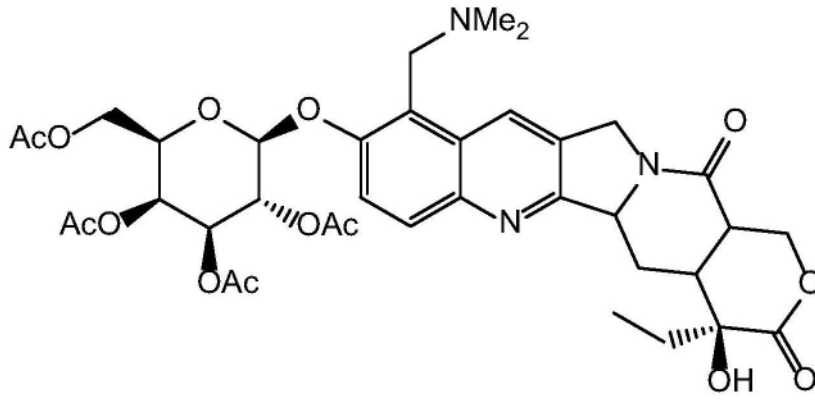
13. 根据权利要求12所述的化合物,具有以下结构中的任何一种:

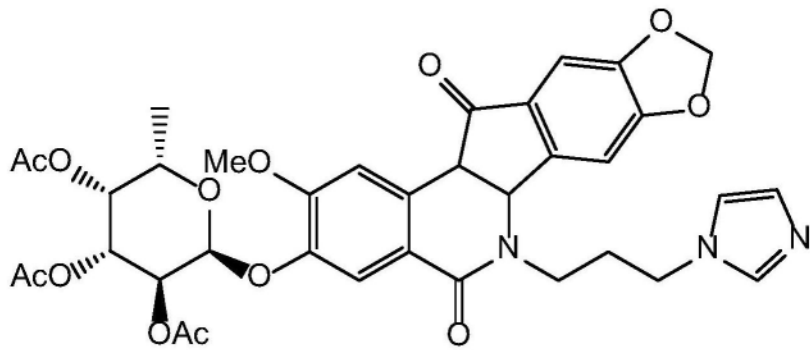
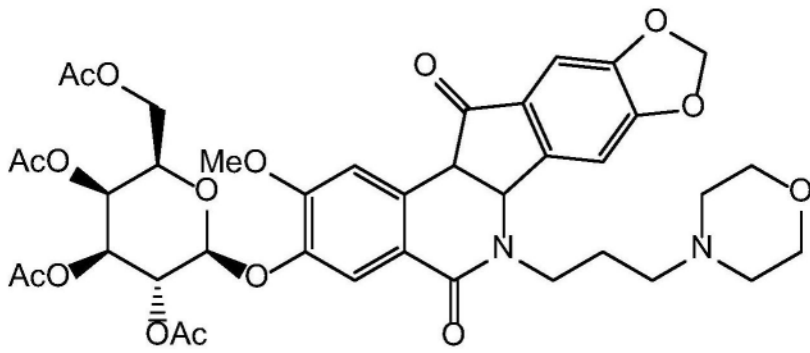
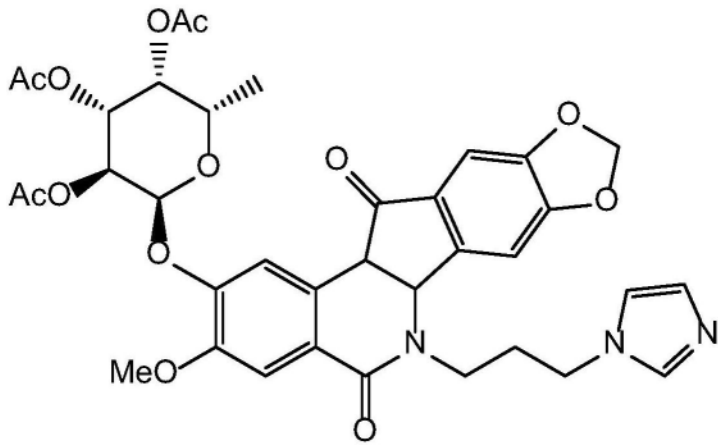
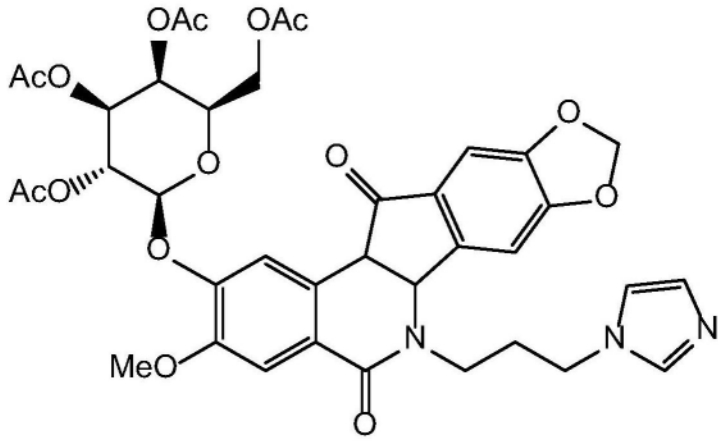


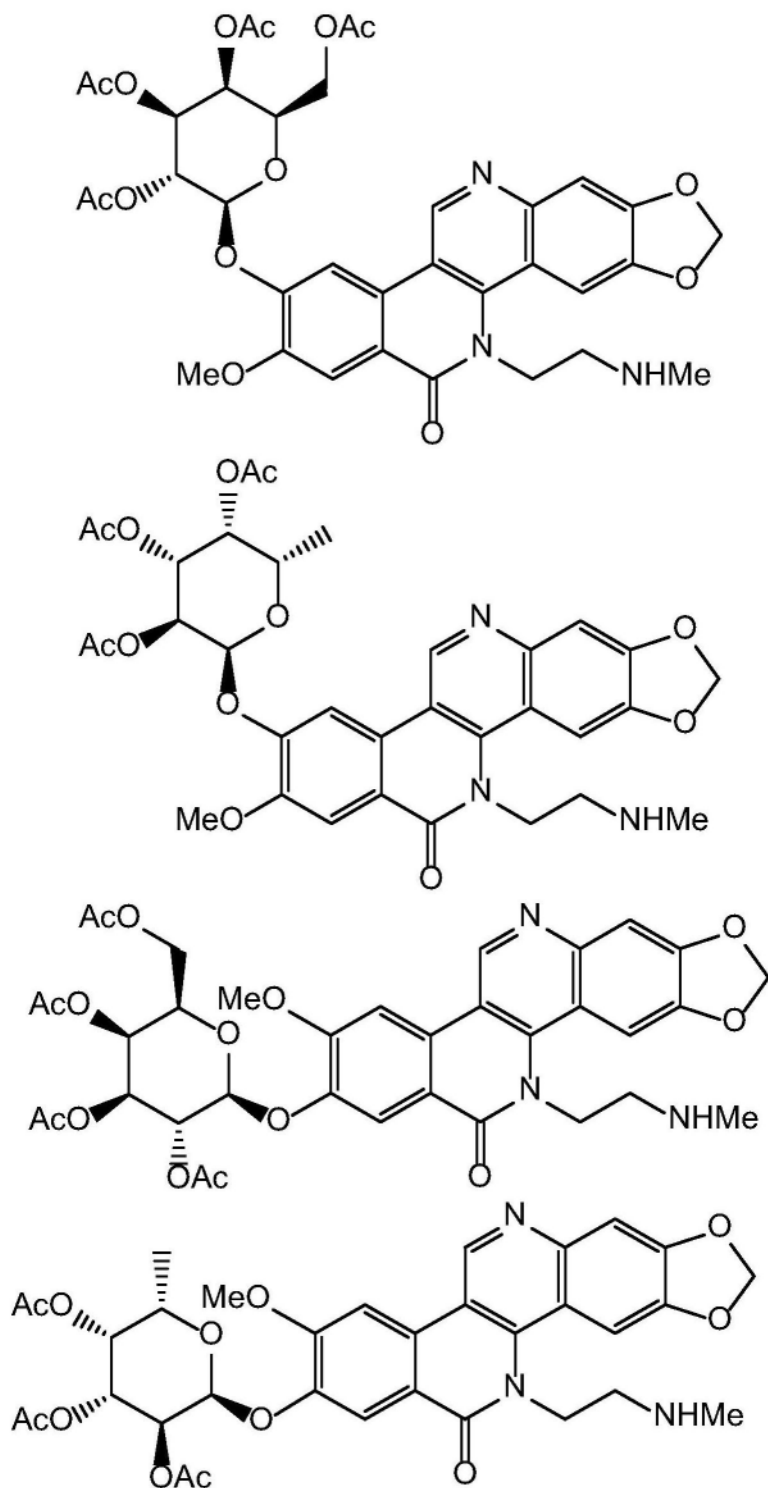




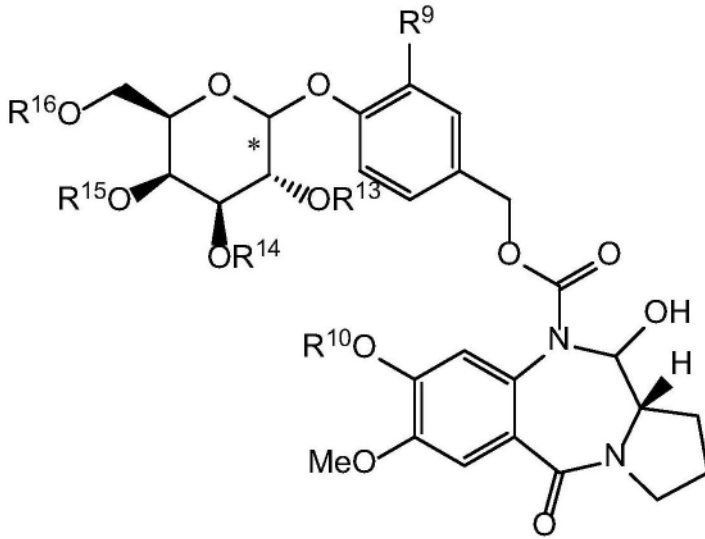
14. 根据权利要求12所述的化合物,具有以下结构中的任何一种:



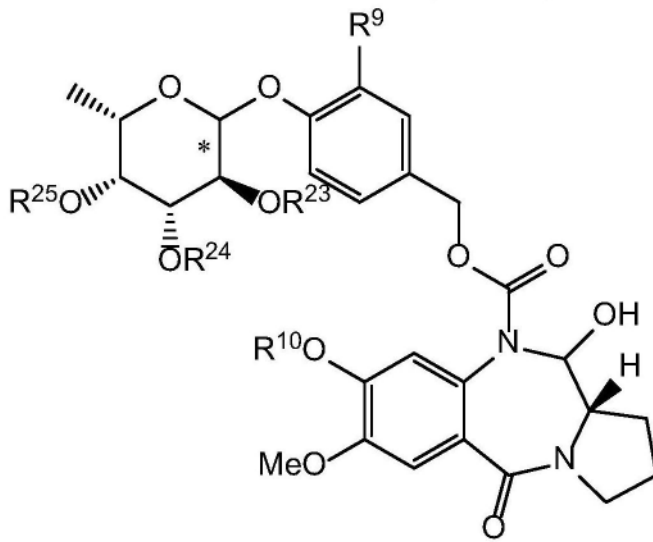




15. 一种化学式 (XXVIII) 或 (XXIX) 的化合物或其药学上可接受的盐、水合物或溶剂化物:

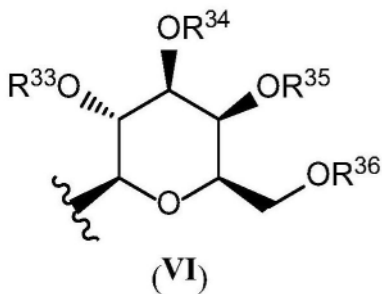


(XXVIII)

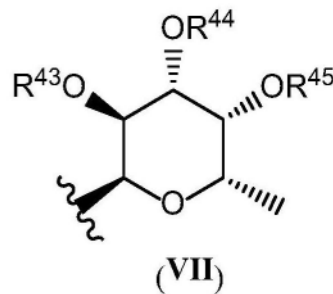


(XXIX)

其中 R^9 是氢、 C_{1-4} 烷基、 CF_3 、 CN 或 NO_2 ； R^{10} 是氢、 C_{1-4} 烷基或芳基烷基； R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 、 R^{16} 、 R^{23} 、 R^{24} 和 R^{25} 每个独立地是氢、 $C(O)-R^1$ 、式(VI)的部分或式(VII)的部分：



(VI)



(VII)

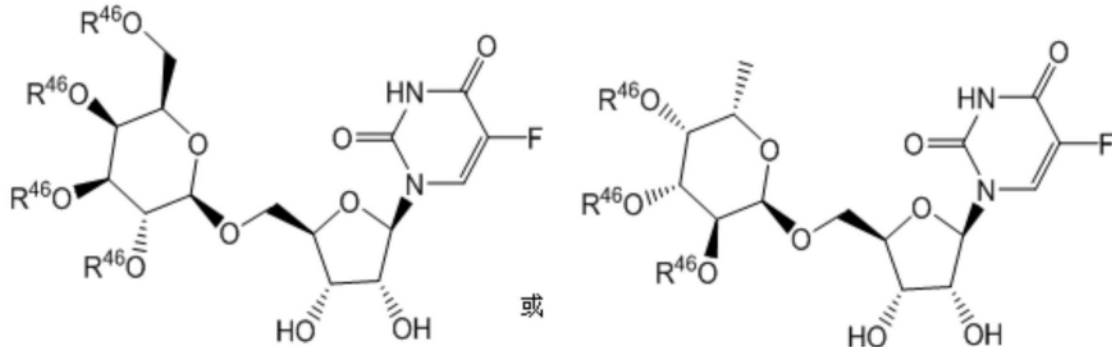
R^{33} 、 R^{34} 、 R^{35} 、 R^{36} 、 R^{43} 、 R^{44} 和 R^{45} 每个独立地是氢或 $C(O)-R^2$ ，每个 R^1 是独立的 C_{1-4} 烷基或苯基，条件是如果 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 或 R^{16} 之一是式(VI)或式(VII)的部分，那么 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 和 R^{16} 的剩余部分是氢或 $C(O)-R^1$ ；并且每个 R^2 是独立地的 C_{1-4} 烷基或苯基，条件是如果 R^{23} 、 R^{24} 或 R^{25} 之一

是式(VI)或式(VII)的部分,那么 R^{23} 、 R^{24} 或 R^{25} 的剩余部分是氢或 $C(O)-R^1$;条件是在式(XXVIII)的化合物中,当 R^9 是 NO_2 且 R^{10} 是苄基时, R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 、 R^{16} 各自不同时是氢或乙酰基。

16. 根据权利要求15所述的化合物,其中所述吡喃糖环的异头碳(标记为*)为S构型,并且化合物分别是吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂卓类似物的 β -D-半乳糖苷和 α -L-岩藻糖苷缀合物。

17. 一种用于治疗与衰老相关的疾病或异常的方法,包括向有需要的受试者施用有效治疗量的权利要求1-16中任一项所述的化合物或其药物组合物。

18. 一种用于治疗与衰老相关的疾病或异常的方法,包括向有需要的受试者施用有效治疗量的下列化学式的化合物或其药学上可接受的盐、药物组合物、水合物或溶剂化物:



其中 R^{46} 为氢、乙酰基或丙酰基。

19. 根据权利要求17或18所述的方法,其中所述与衰老相关的疾病或异常是选自由以下组成的与年龄相关的异常的组:肾病、肾衰竭、虚弱、认知障碍、听力损失、肌肉疲劳、皮肤病症、皮肤伤口愈合、肝纤维化、胰腺纤维化、口腔粘膜下层纤维化和少肌症。

20. 根据权利要求17或18所述的方法,其中所述与衰老相关的疾病或异常是选自由以下组成的肺部疾病的组:肺纤维化、慢性阻塞性肺部疾病、哮喘、囊性纤维化、肺气肿、支气管扩张和年龄相关的肺部功能丧失。

21. 根据权利要求17或18所述的方法,其中所述与衰老相关的疾病或异常是转移病变。

22. 根据权利要求17或18所述的方法,其中所述与衰老相关的疾病或异常是化疗副作用或放射治疗副作用。

23. 根据权利要求22所述的方法,其中所述化疗副作用或放射治疗副作用是胃肠毒性、外周神经病、疲劳、不适、体力活动低下、虚弱、血液毒性、肝毒性、脱发症(脱发)、疼痛、感染、粘膜炎、液体滞留、皮肤病学毒性、口、牙龈或咽喉问题、心肌病、充血性心脏病、炎症、早绝经、骨质疏松症、不孕症、认知功能受损、继发性癌症、白内障和其他视力问题、听力损失、肺容量降低和肺病。

24. 根据权利要求17或18所述的方法,其中所述与衰老相关的疾病或异常是选自由以下组成的神经变性疾病的组:阿尔茨海默氏病、帕金森病、亨廷顿病、痴呆、轻度认知障碍和运动神经元功能异常。

25. 根据权利要求17或18所述的方法,其中所述与衰老相关的疾病或异常是选自由以下组成的眼部疾病或异常的组:黄斑变性、青光眼、白内障、老花眼和视力丧失。

26. 根据权利要求17或18所述的方法,其中所述与衰老相关的疾病或异常是选自由以下组成的代谢疾病的组:糖尿病、糖尿病性溃疡、代谢综合征和过胖。

27. 根据权利要求17或18所述的方法,其中所述与衰老相关的疾病或异常是肾功能异常。

28. 根据权利要求17或18所述的方法,其中所述与衰老相关的疾病或异常是皮肤病学疾病或异常,其选自以下组成的组:湿疹、银屑病、色素沉着过度、痣、皮疹、特应性皮炎、荨麻疹、与光敏性或光老化相关的疾病和异常、皱纹;瘙痒;感觉异常;湿疹样疹;嗜酸性皮肤病;反应性嗜中性皮肤病;天疱疮;类天疱疮;免疫大疱性皮肤病;皮肤纤维组织细胞增生;皮肤淋巴瘤;和皮肤狼疮。

29. 根据权利要求17或18所述的方法,其中所述与衰老相关的疾病或异常是选自骨关节炎、骨质疏松症、口腔粘膜炎、炎性肠病、脊柱后凸和椎间盘突出的炎性或自身免疫性疾病或异常。

30. 根据权利要求17或18所述的方法,其中所述与衰老相关的疾病或异常是选自以下的心血管疾病:动脉粥样硬化、心绞痛、心律失常、心肌病、充血性心力衰竭、冠状动脉疾病、颈动脉疾病、心内膜炎、冠状动脉血栓形成、心肌梗死、高血压、主动脉瘤、心脏舒张功能异常、高胆固醇血症、高脂血症、二尖瓣脱垂、外周血管疾病、心脏应激抗性、心脏纤维化、脑动脉瘤和中风。

31. 根据权利要求17或18所述的方法,其中与所述与衰老相关的疾病或异常相关的衰老细胞是衰老前脂肪细胞、衰老内皮细胞、衰老成纤维细胞、衰老神经元、衰老上皮细胞、衰老间充质细胞、衰老平滑肌细胞、衰老巨噬细胞或衰老软骨细胞。

32. 根据权利要求17或18所述的方法,其中所述化合物杀死器官或组织中至少20%的衰老细胞且杀死不超过5%的非衰老细胞,所述器官或组织包括与所述与衰老相关的疾病或异常相关的衰老细胞。

33. 根据权利要求17或18所述的方法,其中所述化合物与一种或多种其他治疗剂组合施用。

34. 根据权利要求33所述的方法,其中所述化合物与化疗剂组合施用。

35. 一种药物组合物,包括权利要求1-16中任一项所述的化合物和药物学上可接受的载体。

抗衰老组合物及其用途

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2018年7月11日提交的美国临时申请专利序列号62/696,486的优先权和利益,其公开内容通过引用以其整体并入本文用于所有目的。

技术领域

[0003] 本文提供了用于选择性杀死与多种病理和疾病(包含年龄相关的病理和疾病)相关的衰老细胞的抗衰老剂。如本文所公开的,与衰老细胞相关的疾病和异常可以通过施用至少一种抗衰老剂或其药物组合物来治疗或预防。通过本文所述的方法治疗或预防的与衰老细胞相关的疾病或异常包含但不限于心血管疾病或异常、与动脉硬化相关的心血管疾病和异常(诸如动脉粥样硬化)、特发性肺纤维化(IPF)、慢性阻塞性肺部疾病(COPD)、骨关节炎、炎性疾病或异常、自身免疫性疾病或异常、肺部疾病或异常、神经系统疾病或异常、皮肤病学疾病或异常、化疗副作用、放射治疗副作用、转移病变和代谢疾病。

背景技术

[0004] 衰老是大多数慢性病、残疾和健康不良的风险因素。衰老细胞(其是处于复制停滞状态的细胞)在衰老的个体中积累,并且可能部分或显著地有助于细胞和组织退化,细胞和组织退化是衰老和年龄相关疾病的基础(参见,例如Childs et al.,*Nat.Rev.Drug Discov.*16(2017)718-735)。细胞也可能在暴露于环境、化学、生物损伤后或由于疾病而变得衰老(参见,例如Demaria et al.,*Cancer Discovery* 7(2017)165-176;和Schafer et al.,*Nat.Commun.*8(2017)doi:10.1038/ncomms14532)。

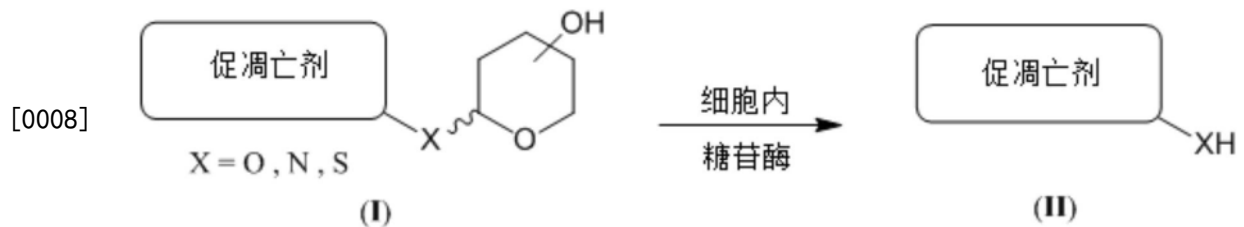
[0005] 具有多种药理学机制的抗衰老剂在本领域中是已知的。抗衰老剂可以是一种或多种Bcl-2抗凋亡蛋白家族成员的特异性抑制剂,其中所述抑制剂至少抑制Bcl-xL(例如,Bcl-2/Bcl-xL/Bcl-w抑制剂;一种选择性Bcl-xL抑制剂;Bcl-xL/Bcl-w抑制剂(例如,Navitoclax、ABT-737、A1331852、A1155463));(参见,例如Childs et al.,*supra*;Zhu et al.,*Aging* 9(2017)955-965;Yosef et al.,*Nature Commun.*(2016)doi:10.1038);Akt激酶特异性抑制剂(例如MK-2206);受体酪氨酸激酶抑制剂(例如,达沙替尼,参见,例如Zhu et al.,*Aging Cell* 14(2015)654-658);CDK4/6抑制剂(例如,帕博西尼(参见,例如Whittaker et al.,*Pharmacol.Ther.*173(2017)83-105));mTOR抑制剂(例如,雷帕霉素,(参见,例如Laberge et al.,*Nat.Cell Biol.*17(2015)1049-1061));MDM2抑制剂(例如Nutlin-3;和RG-7112,参见例如美国专利申请2016/0339019);Hsp90抑制剂(例如,17-DMAG;和ganetespib,参见,例如Fuhrmann-Stroissnigg et al.,*Nat.Commun.*8(2017)doi:10.1038/s41467-017-00314-z));黄酮(例如,槲皮素;和非瑟酮(参见,例如Zhu et al.,*Aging Cell* 14(2015)654-658;Zhu et al.,*Aging* 9(2017)955-965));或组蛋白脱乙酰基酶抑制剂(例如,帕比司他(参见,例如Samaraweera et al.,*Sci.Rep.*7(2017)1900.doi:10.1038/s41598-017-01964-1))。

[0006] 一个重要的挑战是鉴定选择性杀死衰老细胞同时保留非衰老细胞的抗衰老剂。此

外,许多已知的抗衰老剂最初被开发为细胞毒性抗癌剂,并且随后被重新用于‘选择性’去除衰老细胞群体。由于增殖细胞通常对抗肿瘤剂的细胞毒性或细胞抑制作用更敏感,造血细胞中的剂量限制毒性是一种经常观察到的副作用,其限制了抗衰老疗法的临床效用(例如,中性粒细胞减少症是一种与使用抗凋亡Bcl-2家族蛋白抑制剂相关的特征明确的毒性,参见Leverson et al.,*Sci.Transl.Med.* (2015) 7:279ra40.doi:10.1126/scitranslmed.aaa4642)。这样的抗衰老药的脉冲施用已经被提出作为使非衰老细胞暴露于这些分子最小化并潜在地限制脱靶效应的机制。因此,需要的是对杀死衰老细胞具有改善的选择性的抗衰老剂,该抗衰老剂对非衰老细胞具有最小毒性。

发明内容

[0007] 本文公开了由水解酶激活的抗衰老剂的无毒前药,所述水解酶优先在衰老细胞内积累,这满足了这些和其他需要。在一个方面中,水解酶是糖苷酶,并且利用与衰老相关的升高的细胞内糖苷酶活性以将促凋亡剂的无毒前药衍生物(I)转化为有毒的促凋亡母体化合物(II),导致衰老细胞的特异性杀伤。



[0009] 在一些实施例中,化合物(II)能够促进非增殖细胞的凋亡。

[0010] 在另一个方面中,提供了有毒的抗衰老剂的无毒前药,当其在衰老细胞内裂解为活性抗衰老剂时,特异性地导致衰老细胞死亡。在一些实施例中,提供了组蛋白脱乙酰基酶抑制剂的前药。在其他实施例中,提供了Hsp90抑制剂的前药。在又一些实施例中,提供了拓扑异构酶1抑制剂的前药。在又一些实施例中,提供了DNA烷化剂的前药。在又一些实施例中,提供了Akt1抑制剂的前药。在又一些实施例中,提供了蛋白酶体抑制剂的前药。还提供了本文所述的前药的衍生物,包含盐、溶剂化物、水合物、代谢物。还提供了组合物,其包含本文提供的前药和载体。

[0011] 在另一个方面中,本文还提供了治疗、预防或减轻受试者的医学异常的症状的方法,所述医学异常诸如例如心血管疾病或异常、与动脉硬化相关的心血管疾病和异常(诸如动脉粥样硬化)、特发性肺纤维化(IPF)、慢性阻塞性肺部疾病(COPD)、骨关节炎、炎性疾病或异常、自身免疫性疾病或异常、肺部疾病或异常、神经系统疾病或异常、皮肤病学疾病或异常、化疗副作用、放射治疗副作用、转移病变和代谢疾病。在实施所述方法时,向受试者施用治疗有效量的抗衰老剂或其药物组合物。

[0012] 在又一个方面中,提供了一种治疗与年龄相关的疾病或病症的方法。所述方法包括向受试者施用治疗有效量的所述抗衰老剂或其药物组合物。在又一个方面中,提供了一种用于延迟受试者的衰老的至少一个特征的方法。所述方法包括向受试者施用治疗有效量的所述抗衰老剂或其药物组合物。

[0013] 在又一个方面中,提供了一种杀死疗法诱导的衰老细胞的方法。所述方法包括向已接受DNA损伤疗法的受试者施用治疗有效量的所述抗衰老剂或其药物组合物。

附图说明

[0014] 图1A示出了在各种药物浓度下用5-氟尿苷(FUR)(102)或5-氟尿苷-5'-0-β-D-吡喃半乳糖苷(FURGal)(101)处理的增殖性小鼠胚胎成纤维细胞(MEF)的生存力。

[0015] 图1B示出了在各种药物浓度下用5-氟尿苷(FUR)(102)或5-氟尿苷-5'-0-β-D-吡喃半乳糖苷(FURGal)(101)处理的衰老小鼠胚胎成纤维细胞(MEF)的生存力。

[0016] 图2A示出了来自在治疗6天后通过单次腹膜内注射FUR(102)(100mg/kg)或FURGal(101)(160mg/kg)给药的野生型C57BL/6小鼠的血细胞计数的定量(N=3只小鼠/组)。

[0017] 图2B示出了来自在治疗6天后通过单次腹膜内注射FUR(102)(100mg/kg)或FURGal(101)(160mg/kg)给药的野生型C57BL/6小鼠的股骨中骨髓细胞数量的定量(N=3只小鼠/组)。

[0018] 图2C示出了来自在治疗6天后通过单次腹膜内注射FUR(102)(100mg/kg)或FURGal(101)(160mg/kg)给药的野生型C57BL/6小鼠的总脾重量的定量(N=3只小鼠/组)。

[0019] 图3A示出了注射阿霉素(25mg/kg)的C57BL/6小鼠的肝脏切片的代表性图像。

[0020] 图3B示出了注射阿霉素(25mg/kg)和FURGal(140mg/kg)的C57BL/6小鼠的肝脏切片的代表性图像。

[0021] 图3C示出了图3A和图3B的肝脏切片连同对照的量化。

[0022] 图3D示出了在分析当天C57BL/6小鼠的平均体重。

[0023] 图4A示出了在C57BL/6小鼠中诱导肝细胞衰老和随后用化合物(113)治疗的方案。

[0024] 图4B比较了注射阿霉素(20mg/kg)然后注射载体或化合物(113)的C57BL/6小鼠的肝脏切片的代表性图像。

[0025] 图4C示出了来自图4B的肝脏切片中的SA-β-Gal连同对照的量化。

[0026] 图4D示出了注射阿霉素(20mg/kg)然后注射载体或化合物(113)的C57BL/6小鼠的肝脏中Cdkn2a表达的定量。

[0027] 图4E示出了注射阿霉素(20mg/kg)然后注射载体或化合物(113)的C57BL/6小鼠的肝脏中IL-6表达的定量。

[0028] 图5A示出了用于观察化合物(119)在C57BL/6小鼠的肺组织中的抗衰老作用的方案。

[0029] 图5B比较了注射阿霉素(15mg/kg)然后注射20mg/kg载体或的化合物(119)的C57BL/6小鼠的肺切片的代表性图像。

[0030] 图5C示出了在以10mg/kg、20mg/kg或40mg/kg静脉内给药化合物(119)之后肺切片中的SA-β-Gal连同对照的定量。

[0031] 图5D示出了注射阿霉素(15mg/kg)然后以10mg/kg、20mg/kg或40mg/kg注射载体或化合物(119)的C57BL/6小鼠的肺中的Cdkn2a表达的定量。

具体实施方式

[0032] 定义

[0033] 如本文所使用的“衰老的特征”包含但不限于免疫系统的全身性下降、肌肉萎缩和肌肉力量降低、皮肤弹性降低、伤口愈合延迟、视网膜萎缩、晶状体透明度降低、听力降低、骨质疏松症、肌肉减少、毛发变灰、皮肤起皱、视力差、虚弱和认知障碍。

[0034] “酰基”是指H-CO-、烷基-CO-、烯基-CO-或环烷基-CO-基团,其中烷基、烯基或环烷基基团如本文所述。

[0035] “酰基氨基”是酰基-NH-基团,其中酰基如本文所定义。

[0036] 如本文所使用的“与年龄相关的疾病或病症”包含但不限于退行性疾病或功能减退性异常,诸如阿尔茨海默氏病、帕金森病、白内障、黄斑变性、青光眼、虚弱、肌肉无力、认知障碍、动脉粥样硬化、急性冠状动脉综合征、心肌梗塞、中风、高血压、特发性肺纤维化(IPF)、慢性阻塞性肺部疾病(COPD)、骨关节炎、2型糖尿病、肥胖、脂肪功能异常、冠状动脉疾病、脑血管疾病、牙周病、癌症治疗相关的残疾(诸如各种组织中的萎缩和纤维化、脑和心脏损伤和疗法相关的骨髓增生异常综合征和与DNA损伤修复和端粒维持中的加速老化和/或缺陷相关的疾病,诸如早衰综合征(即,哈钦森-吉尔福德早衰综合症、维尔纳综合征、布卢姆综合征、罗-汤综合征、科卡因综合征、着色性干皮病、毛发营养不良、着色性干皮病-科卡因综合征联合、限制性皮肤病)、共济失调性毛细血管扩张症、范可尼贫血、弗里德里希氏共济失调、先天性角化不良、再生不良性贫血以及其他。

[0037] “烯基”是指含有碳-碳双键的脂族烃基团,并且其可以是直链或支链的,在链中具有2至20个碳原子。在一些实施例中,烯基基团在链中具有2至12个碳原子。在其他实施例中,烯基基团在链中具有约2至6个碳原子。在又一些实施例中,烯基基团在链中具有2至4个碳原子。如本文和在整个文本中使用的“支链”是指一个或多个低级烷基基团(诸如甲基、乙基或丙基)连接到直链上;此处是线性烯基链。“低级烯基”是指链中约2至约4个碳原子,其可以是直链或支链的。示例性的烯基基团包含但不限于乙烯基、丙烯基、正丁烯基、异丁烯基、3-甲基丁-2-烯基、正戊烯基、庚烯基、辛烯基、环己基丁烯基和癸烯基。

[0038] “亚烯基”是指衍生自直链或支链烯基基团的脂族二价自由基,其中烯基基团如本文所述。示例性的亚烯基自由基包含但不限于亚乙烯基和亚丙烯基。

[0039] “烷氧基”是指烷基-O-基团,其中烷基基团如本文所述。示例性的烷氧基基团包含但不限于甲氧基、乙氧基、正丙氧基、异丙氧基、正丁氧基和庚氧基。

[0040] “烷氧基羰基”是指烷基-O-CO-基团,其中烷基基团如本文所述。示例性的烷氧基羰基基团包含甲氧基和乙氧基羰基。

[0041] 除非另有说明,否则“烷基”是指可以是直链或支链的在链中具有1至20个碳原子的脂族烃基团。在一些实施例中,烷基基团具有1至6个碳原子。除非另有说明,否则作为低级烷氧基、低级烷硫基、低级烷基亚磺酰基或低级烷基磺酰基基团的基团或部分的“低级烷基”是指可以为直链或支链的在链中具有1至4个碳原子的脂族烃基团。示例性的烷基基团包含但不限于甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、叔丁基、正戊基、3-戊基、庚基、辛基、壬基、癸基和十二烷基。

[0042] “亚烷基”是指衍生自直链或支链烷基基团的脂族二价自由基,其中烷基基团如本文所述。示例性的亚烷基自由基包含但不限于亚甲基、亚乙基和三亚甲基。

[0043] “亚烷基二氧基”是指-O-亚烷基-O-基团,其中亚烷基如上定义。示例性的亚烷基二氧基基团包含但不限于亚甲基二氧基和亚乙基二氧基。

[0044] “烷基亚磺酰基”是指烷基-SO-基团,其中烷基基团如前所述。示例性的烷基亚磺酰基基团包含但不限于其中烷基基团是C₁₋₄烷基的那些。

[0045] “烷基磺酰基”是指烷基-SO₂-基团,其中烷基基团如前所述。在一些实施例中,烷

基磺酰基基团是其中烷基基团是 C_{1-4} 烷基的那些。

[0046] “烷硫基”是指烷基-S-基团,其中烷基基团如前所述。示例性的烷硫基基团包含但不限于甲硫基、乙硫基、异丙基硫基和庚硫基。

[0047] “炔基”是指含有碳-碳三键的脂族烃基团,并且其可以是直链或支链的,在链中具有约2至约20个碳原子。在一些实施例中,炔基基团在链中具有2至12个碳原子。在其他实施例中,炔基基团在链中具有2至6个碳原子。在又一些实施例中,炔基基团在链中具有2至4个碳原子。示例性的炔基基团包含但不限于乙炔基、丙炔基、正丁炔基、异丁炔基、3-甲基丁-2-炔基和正戊炔基。

[0048] “亚炔基”是指衍生自直链或支链炔基基团的脂族二价自由基,其中炔基基团如本文所述。示例性的亚炔基自由基包含但不限于亚乙炔基和亚丙炔基。

[0049] “氨基酸侧链”是指在 α -氨基酸的氨基和羧基基团之间的碳上发现的取代基。对于氨基酸侧链的“相应的受保护的衍生物”的示例,参见T.W.Greene and P.G.M.Wuts in “Protective Groups in Organic Chemistry” John Wiley and Sons, 1991。

[0050] “芳酰基”是指芳基-CO-基团,其中所述芳基基团如本文所述。示例性的芳酰基基团包含苯甲酰基和1-萘甲酰基和2-萘甲酰基。

[0051] “芳基”作为基团或基团的一部分表示:(i)任选取代的具有约6至约14个碳原子的单环或多环芳族碳环部分,诸如苯基或萘基;或(ii)任选取代的部分饱和的多环芳族碳环部分,其中芳基和环烷基或环烯基基团稠合在一起以形成环状结构,诸如四氢萘基、茛基或茛满基环。

[0052] “芳烷基”是指芳基-烷基-基团,其中芳基和烷基部分如前所述。示例性的芳烷基基团包含但不限于苄基、2-苯乙基和萘甲基。

[0053] “芳基二基”是指衍生自芳基基团的任选取代的二价自由基。示例性的芳基二基基团包含但不限于任选取代的亚苯基,亚萘基和亚茛满基。合适的取代基包含一个或多个如上定义的“芳基基团取代基”,特别是卤素、甲基或甲氧基。

[0054] “芳氧基”是指芳基-O-基团,其中芳基基团如前所述。示例性的芳氧基基团包含但不限于任选取代的苯氧基和萘氧基。

[0055] “芳氧羰基”是指芳基-O-C(=O)-基团,其中芳基基团如前所述。示例性的芳氧羰基基团包含但不限于苯氧羰基和萘氧羰基。

[0056] “芳基亚磺酰基”是指芳基-SO-基团,其中芳基基团如前所述。

[0057] “芳基磺酰基”是指芳基-SO₂-基团,其中芳基基团如前所述。

[0058] “芳硫基”是指芳基-S-基团,其中芳基基团如前所述。示例性的芳硫基基团包含苯硫基和萘硫基。

[0059] “氮杂芳基”是指约5至约10个环成员的芳族碳环部分,其中环成员之一是氮,并且其他环成员选自碳、氧、硫或氮。氮杂芳基基团的示例包括吡啶基、嘧啶基、喹啉基、异喹啉基、喹唑啉基、咪唑基和苯并咪唑基。

[0060] “化合物”是指本文公开的结构式所包含的化合物,并且包含本文公开其结构的这些结构式中的任何特定化合物。化合物可以通过它们的化学结构和/或化学名称来鉴定。当化学结构和化学名称冲突时,化学结构决定了化合物的身份。本文所述的化合物可以含有一个或多个手性中心和/或双键,并且因此可以以立体异构体诸如双键异构体(即几何异构

体)、对映异构体或非对映异构体存在。因此,本文描绘的化学结构包括在结构中描绘的立体异构纯形式(例如,几何纯、对映异构体纯或非对映异构体纯)。本文所述的化学结构还包括所述化合物的对映异构体和立体异构衍生物,除非另有明确说明。对映异构体和立体异构体混合物可以使用本领域技术人员熟知的分离技术或手性合成技术被拆分成它们的组分对映异构体或立体异构体。这些化合物也可以以若干种互变异构形式(包含烯醇形式、酮形式及其混合物)存在。因此,本文所述的化学结构包括所示化合物的所有可能的互变异构形式。所描述的化合物还包含同位素标记的化合物,其中一个或多个原子具有不同于在自然界中常规发现的原子质量的原子质量。可以掺入到本文公开的化合物中的同位素的示例包含但不限于²H、³H、¹¹C、¹³C、¹⁴C、¹⁵N、¹⁸O、¹⁷O等。化合物可以以非溶剂化形式以及溶剂化形式存在,包含水合形式。通常,化合物可以是水合的或溶剂化的。某些化合物可能以多种结晶形式或无定形形式存在。总的来说,所有物理形式对于本文所预期的用途都是等同的,并且都意图在本公开的范围内。此外,应当理解,当举例说明化合物的部分结构时,括号表示部分结构与分子剩余部分的连接点。

[0061] “环胺”是指3至8元单环环烷基环体系,其中环碳原子之一被氮取代,并且其还可以含有选自O、S、SO₂或NY的另外的杂原子(其中Y是氢、烷基、芳基、芳烷基、酰基、酰氧基烷基、环烷基、杂芳基、杂环烷基或磺酰基)。示例性的环胺包含但不限于吡咯烷基、哌啶基、吗啉基、哌嗪基、吡啶基、吡啶并吡啶满基、四氢喹啉基。

[0062] “环烯基”是指含有至少一个碳-碳双键并具有3至10个碳原子的非芳族单环或多环体系。示例性的单环环烯基环包含但不限于环戊烯基、环己烯基或环庚烯基。

[0063] “环烷基”是指任选地被氧取代的3至10个碳原子的饱和单环或双环体系。示例性的单环烷基环包含但不限于环丙基、环丁基、环戊基、环己基和环庚基。

[0064] “环亚烷基”是指衍生自环烷基基团的二价自由基。示例性的环亚烷基自由基包含但不限于环亚戊基和环亚己基。

[0065] 如本文所使用的“DNA损伤疗法”包含但不限于 γ -辐照、烷化剂(诸如氮芥类(例如,苯丁酸氮芥、环磷酰胺、异环磷酰胺、美法仑)、亚硝脲类(链脲佐菌素、卡莫司汀、洛莫司汀)、烷基磺酸盐类(例如,白消安)、三嗪类(达卡巴嗪、替莫唑胺)和亚乙基亚胺类(例如,噻替派、六甲蜜胺))、铂类药物(诸如例如,顺铂、卡铂、奥沙拉铂)、抗代谢药(诸如例如,5-氟尿嘧啶、6-巯基嘌呤、卡培他滨、克拉屈滨、氯法拉滨、阿糖胞苷、氟尿苷、氟达拉滨、吉西他滨、羟基脲、甲氨蝶呤、培美曲塞、喷司他丁、硫鸟嘌呤)、葱环类药物(诸如例如,柔红霉素、阿霉素、表阿霉素、伊达比星)、抗肿瘤抗生素(诸如,放线菌素D、博来霉素、丝裂霉素-C、米托蒽醌)、拓扑异构酶抑制剂(诸如,拓扑异构酶I抑制剂(例如,拓扑替康、伊立替康)和拓扑异构酶II抑制剂(例如,依托泊苷、替尼泊苷、米托蒽醌))、有丝分裂抑制剂(诸如紫杉烷类(例如紫杉醇、多西他赛)、埃博霉素(例如,伊沙匹隆)、长春花生物碱(例如,长春碱、长春新碱、长春瑞滨)和雌莫司汀)。

[0066] “卤素(halo)”或“卤素(halogen)”是指氟、氯、溴或碘。

[0067] “杂芳酰基”是指杂芳基-C(=O)-基团,其中杂芳基基团如本文所述。示例性的基团是吡啶基羰基。

[0068] “杂芳基”作为基团或基团的一部分表示:(i)约5至约10个环成员的芳族单环或多环有机部分,其中一个或多个环成员是除碳以外的元素,例如氮、氧或硫(这样的基团的示

例包含苯并咪唑基、苯并噻唑基、呋喃基、咪唑基、吡啶基、吡啶啉基、异噻唑基、异噻啉基、异噻唑基、噁二唑基、吡嗪基、哒嗪基、吡唑基、吡啶基、嘧啶基、吡咯基、喹啉基、喹啉基、1,3,4-噻二唑基、噻唑基、噻吩基和三唑基基团,其任选地被一个或多个如上定义的芳基基团取代基取代);(ii)任选取代的部分饱和的多环杂碳环部分,其中杂芳基和环烷基或环烯基基团稠合在一起以形成环状结构(这样的基团的示例包含吡咯并二氢茚基基团)。

[0069] “杂芳基二基”是指衍生自杂芳基基团的二价自由基。

[0070] “杂芳氧基”是指杂芳基-O-基团,其中杂芳基基团如前所述。示例性的杂芳氧基基团是任选取代的吡啶氧基。

[0071] “杂环”表示5或6个环成员的任选取代的饱和的、部分饱和的或完全不饱和的单环有机部分,其中一个或多个环成员是除碳以外的元素,例如,氮、氧或硫。示例性的5或6元杂环包含呋喃基、咪唑基、异噻唑基、异噻啉基、噁二唑基、噁唑基、噁嗪基、哌啶基、吡嗪基、哒嗪基、吡唑基、吡啶基、嘧啶基、吡咯基、吡咯烷基、吡咯啉基、1,3,4-噻二唑基、噻唑基、噻吩基和三唑基基团。

[0072] “杂环烷基”是指:(i)含有一个或多个选自O、S或N的杂原子并任选地被氧取代的约3至7个环成员的环烷基基团;(ii)部分饱和的多环杂碳环部分,其中芳基(或杂芳基环)和杂环烷基基团被稠合在一起以形成环状结构(这样的基团的示例包含苯并二氢吡喃基、二氢苯并呋喃基、二氢吡啶基和吡啶并吡啶满基基团)。

[0073] 如本文所使用的“组蛋白脱乙酰基酶抑制剂”或“HDAC抑制剂”是能够在体内、体外或在体内和体外抑制组蛋白的去乙酰化的化合物(例如,参见Mottamal et al.,Molecules 20(2015)3898-3941;Roche and Bertrand,Eur.J.Med.Chem.121(2016)451-483)。因此,HDAC抑制剂抑制至少一种组蛋白去乙酰化酶的活性。作为抑制至少一种组蛋白的去乙酰化的结果,发生乙酰化的组蛋白增加,并且乙酰化的组蛋白的积累是用于评估HDAC抑制剂的活性的合适生物标记物。因此,可以测定乙酰化的组蛋白的积累的程序可以用于确定相关化合物的HDAC抑制活性。应当理解,可以抑制组蛋白去乙酰化酶活性的化合物也可以与其他底物结合,并且因此可以抑制其他生物活性分子,诸如酶。

[0074] “水合物”是指将水以化学计量比例掺入到本文所述化合物的晶格中,导致形成加合物。制备水合物的方法包含但不限于在含有水蒸气的气氛中储存、包含水的剂型或常规药物加工步骤,诸如例如结晶(即从水或混合水性溶剂中结晶)、冻干、湿法制粒、水性膜包衣或喷雾干燥。在某些情况下,在暴露于水蒸气时或在无水材料悬浮在水中时,水合物也可以由结晶溶剂化物形成。水合物也可以以多于一种的形式结晶,导致水合物多态性。参见,例如(Guillory,K.,Chapter 5,pp.202205in Polymorphismin Pharmaceutical Solids,(Brittain,H.ed.),Marcel Dekker,Inc.,New York,NY,1999)。用于制备水合物的上述方法完全在本领域技术人员的能力范围内,是完全常规的,并且除了本领域的典型方法之外,不需要任何实验。水合物可以通过本领域技术人员熟知的方法来表征和/或分析,诸如例如单晶X射线衍射、X射线粉末衍射、偏光光学显微镜、热显微镜、热重分析、差热分析、差示扫描量热法、IR光谱、拉曼光谱和NMR光谱。(Brittain,H.,Chapter 6,pp.205208in Polymorphismin Pharmaceutical Solids,(Brittain,H.ed.),Marcel Dekker,Inc.New York,1999)。此外,许多商业公司通常提供包含水合物的制备和/或表征的服务,诸如例如HOLODIAG,Pharmaparc II,Voie de l'Innovation,27 100Val de Reuil,France(<http://>

www.holodiag.com)。

[0075] 如本文所使用的“异羟肟酸衍生物组蛋白脱乙酰基酶抑制剂”是指作为异羟肟酸衍生物的一类组蛋白脱乙酰基酶抑制剂。

[0076] 如本文所使用的“异羟肟酸衍生物组蛋白脱乙酰基酶抑制剂的残基”是指异羟肟酸衍生物组蛋白脱乙酰基酶抑制剂的全部部分,不包括异羟肟酸部分。

[0077] 如本文所使用的“药物组合物”是指至少一种化合物和药学上可接受的载体,该化合物与该载体一起施用于患者。

[0078] 如本文所使用的“药学上可接受的盐”是指具有母体化合物的所需的药理学活性的化合物的盐。这样的盐包含:(1)酸加成盐,与无机酸诸如盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、磷酸等形成的酸加成盐;或者与有机酸形成的酸加成盐,所述有机酸诸如乙酸、丙酸、己酸、环戊烷丙酸、乙醇酸、丙酮酸、乳酸、丙二酸、琥珀酸、苹果酸、马来酸、富马酸、酒石酸、柠檬酸、苯甲酸、3-(4-羟基苯甲酰基)苯甲酸、肉桂酸、扁桃酸、甲磺酸、乙磺酸、1,2-乙烷-二磺酸、2-羟基乙磺酸、苯磺酸、4-氯苯磺酸、2-萘磺酸、4-甲苯磺酸、樟脑磺酸、4-甲基双环[2.2.2]-辛-2-烯-1-羧酸、葡糖庚酸、3-苯基丙酸、三甲基乙酸、叔丁基乙酸、月桂基硫酸、葡糖酸、谷氨酸、羟基萘甲酸、水杨酸、硬脂酸、粘康酸等;或者(2)当母体化合物中存在的酸性质子被金属离子,例如碱金属离子、碱土金属离子或铝离子取代时形成的盐;或与有机碱诸如乙醇胺、二乙醇胺、三乙醇胺、N-甲基葡糖胺等配位。

[0079] 如本文所使用的“药学上可接受的载体”是指与化合物一起施用的稀释剂、佐剂、赋形剂或载体。

[0080] “患者”包含人类。术语“人”和“患者”在本文中可互换使用。

[0081] 如本文所使用的“预防(preventing)”或“预防(prevention)”是指降低获得疾病或异常的风险(即,使可能暴露于疾病或易患该疾病但尚未经历或表现出该疾病的症状的患者不出现该疾病的至少一种临床症状)。

[0082] 如本文所使用的“前药”是指需要在体内转化以释放活性药物的药物分子的衍生物。前药通常(尽管不是必须的)在药理上是无活性的,直到转化为母体药物。

[0083] 如本文所使用的“前体部分”是指一种形式的保护基团,当用于掩蔽药物分子中的官能团时,将药物转化为前药。典型地,前体部分将通过在体内被酶促手段或非酶促手段切割的键被连接到药物上。

[0084] 如本文所使用的“保护基团”是指当连接到分子中的反应性官能团时,掩蔽、降低或阻止官能团的反应性的一组原子。保护基团的示例可以在Green et al.,“Protective Groups in Organic Chemistry”,(Wiley,2nd ed.1991)和Harrison et al.,“Compendium of Synthetic Organic Methods”,Vols.1-8(John Wiley and Sons,1971-1996)中找到。代表性的氨基保护基团包含但不限于甲酰基、乙酰基、三氟乙酰基、苄基、苄氧羰基(“Cbz”)、叔丁氧羰基(“Boc”)、三甲基甲硅烷基(“TMS”)、2-三甲基甲硅烷基-乙磺酰基(“SES”)、三苯甲基和取代的三苯甲基基团、烯丙氧基羰基、9-苄基甲氧基羰基(“Fmoc”)、硝基-藜芦基氧基羰基(“Nvoc”)等。代表性的羟基保护基团包含但不限于那些其中羟基基团被酰化或烷基化的基团,诸如苄基和三苯甲基醚以及烷基醚、四氢吡喃基醚、三烷基甲硅烷基醚和烯丙基醚。

[0085] 如本文所使用的“衰老”或“衰老细胞”是指其中细胞响应某些细胞应激而获得一

种或多种衰老标记物的状态。这样的标记物通常可以包含从细胞周期中永久退出、炎症因子的生物活性分泌组的表达、改变的甲基化、与衰老相关的异染色质病灶 (SAHF)、氧化应激的表达标记物、DNA损伤、蛋白质和脂质修饰的标记物的表达、衰老的形态学特征、改变的溶酶体/液泡和与衰老相关的 β -半乳糖苷酶的表达 (参见Lorenzo Galluzzi et al. (eds.), Cell Senescence: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology, vol. 965, DOI 10.1007/978-1-62703-239-1_4, ©Springer Science+Business Media, LLC 2013)。

[0086] 如本文所使用的“抗衰老剂”是指“选择性地” (优先地或在更大的程度上) 摧毁、杀死、去除衰老细胞或促进衰老细胞的选择性破坏的药剂。换句话说, 与其摧毁或杀死非衰老细胞的能力相比, 抗衰老剂以生物学、临床和/或统计学上显著的方式摧毁或杀死衰老细胞。抗衰老剂的使用量和使用时间足以选择性地杀死所建立的衰老细胞, 但不足以以临床显著或生物学显著的方式杀死非衰老细胞。在某些实施例中, 本文所述的抗衰老剂以诱导 (即, 引发、刺激、触发、激活、促进) 并导致衰老细胞死亡的方式改变至少一种信号传导通路。

[0087] “水合物”是指将水以化学计量比例掺入到本文所述化合物的晶格中, 导致形成加合物。制备水合物的方法包含但不限于在含有水蒸气的气氛中储存、包含水的剂型或常规药物加工步骤, 诸如例如结晶 (即从水或混合水性溶剂中结晶)、冻干、湿法制粒、水性膜包衣或喷雾干燥。在某些情况下, 在暴露于水蒸气时或在无水材料悬浮在水中时, 水合物也可以由结晶溶剂化物形成。水合物也可以以多于一种的形式结晶, 导致水合物多态性。参见, 例如 (Guillory, K., Chapter 5, pp. 202205 in Polymorphism in Pharmaceutical Solids, (Brittain, H. ed.), Marcel Dekker, Inc., New York, NY, 1999)。用于制备水合物的上述方法完全在本领域技术人员的能力范围内, 是完全常规的, 并且除了本领域的典型方法之外, 不需要任何实验。水合物可以通过本领域技术人员熟知的方法来表征和/或分析, 诸如例如单晶X射线衍射、X射线粉末衍射、偏光光学显微镜、热显微镜、热重分析、差热分析、差示扫描量热法、IR光谱、拉曼光谱和NMR光谱。(Brittain, H., Chapter 6, pp. 205208 in Polymorphism in Pharmaceutical Solids, (Brittain, H. ed.), Marcel Dekker, Inc. New York, 1999)。此外, 许多商业公司通常提供包含水合物的制备和/或表征的服务, 诸如例如 HOLODIAG, Pharmaparc II, Voie de l'Innovation, 27 100 Val de Reuil, France (<http://www.holodiag.com>)。

[0088] 如本文所使用的“取代的”当用于修饰指定的基团或自由基时, 是指指定的基团或自由基的一个或多个氢原子各自独立地被相同或不同的取代基取代。

[0089] 可用于取代指定的基团或自由基中饱和的碳原子的取代基基团包含但不限于- R^a 、卤素、 $-O^-$ 、 $=O$ 、 $-OR^b$ 、 $-SR^b$ 、 $-S^-$ 、 $=S$ 、 $-NR^cR^c$ 、 $=NR^b$ 、 $=N-OR^b$ 、三卤代甲基、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 、 $-OCN$ 、 $-SCN$ 、 $-NO$ 、 $-NO_2$ 、 $-N-OR^b$ 、 $-N-NR^cR^c$ 、 $-NR^bS(O)_2R^b$ 、 $=N_2$ 、 $-N_3$ 、 $-S(O)_2R^b$ 、 $-S(O)_2NR^bR^b$ 、 $-S(O)_2O^-$ 、 $-S(O)_2OR^b$ 、 $-OS(O)_2R^b$ 、 $-OS(O)_2O^-$ 、 $-OS(O)_2OR^b$ 、 $-OS(O)_2NR^cNR^c$ 、 $-P(O)(O^-)_2$ 、 $-P(O)(OR^b)(O^-)$ 、 $-P(O)(OR^b)(OR^b)$ 、 $-C(O)R^b$ 、 $-C(O)NR^b-OR^b-C(S)R^b$ 、 $-C(NR^b)R^b$ 、 $-C(O)O^-$ 、 $-C(O)OR^b$ 、 $-C(S)OR^b$ 、 $-C(O)NR^cR^c$ 、 $-C(NR^b)NR^cR^c$ 、 $-OC(O)R^b$ 、 $-OC(S)R^b$ 、 $-OC(O)O^-$ 、 $-OC(O)OR^b$ 、 $-OC(O)NR^cR^c$ 、 $-OC(NCN)NR^cR^c-OC(S)OR^b$ 、 $-NR^bC(O)R^b$ 、 $-NR^bC(S)R^b$ 、 $-NR^bC(O)O^-$ 、 $-NR^bC(O)OR^b$ 、 $-NR^bC(NCN)OR^b$ 、 $-NR^bS(O)_2NR^cR^c$ 、 $-NR^bC(S)OR^b$ 、 $-NR^bC(O)NR^cR^c$ 、 $-NR^bC(S)NR^cR^c$ 、 $-NR^bC(S)NR^bC(O)R^a$ 、 $-NR^bS(O)_2OR^b$ 、 $-NR^bS(O)_2R^b$ 、 $-NR^bC(NCN)NR^cR^c$ 、 $-NR^bC(NR^b)R^b$ 和 $-NR^bC(NR^b)NR^cR^c$, 其中 R^a 独立地是烷基、

杂烷基、芳基、芳基烷基、杂芳基和杂芳基烷基；每个 R^b 独立地是氢、 R^a 、取代的烷基、取代的杂烷基、取代的芳基、取代的芳基烷基、取代的杂芳基和取代的杂芳基烷基；并且每个 R^c 独立地是 R^b ，或者可替代地，两个 R^c 与它们所键合的氮原子一起形成4元、5元、6元或7元环杂烷基、取代的环杂烷基或与芳基基团耦合的环杂烷基，所述芳基基团可以任选地包含1至4个相同或不同的选自O、N和S组成的组的附加杂原子。作为具体的示例， $-NR^cR^c$ 意味着包含 $-NH_2$ 、 NH -烷基、 N -吡咯烷基和 N -吗啉基。类似地，可用于取代指定的基团或自由基中的不饱和碳原子的取代基基团包含但不限于 $-R^a$ 、卤素、 $-O^-$ 、 $-OR^b$ 、 $-SR^b$ 、 $-S^-$ 、 $-NR^cR^c$ 、三卤代甲基、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 、 $-OCN$ 、 $-SCN$ 、 $-NO$ 、 $-NO_2$ 、 $-N_3$ 、 $-S(O)_2R^b$ 、 $-S(O)_2O^-$ 、 $-S(O)_2OR^b$ 、 $-OS(O)_2R^b$ 、 $-OS(O)_2O^-$ 、 $-OS(O)_2OR^b$ 、 $-P(O)(O^-)_2$ 、 $-P(O)(OR^b)(O^-)$ 、 $-P(O)(OR^b)(OR^b)$ 、 $-C(O)R^b$ 、 $-C(S)R^b$ 、 $-C(NR^b)R^b$ 、 $-C(O)O^-$ 、 $-C(O)OR^b$ 、 $-C(S)OR^b$ 、 $-C(O)NR^cR^c$ 、 $-C(NR^b)NR^cR^c$ 、 $-OC(O)R^b$ 、 $-OC(S)R^b$ 、 $-OC(O)O^-$ 、 $-OC(O)OR^b$ 、 $-OC(S)OR^b$ 、 $-OC(O)NR^cR^c$ 、 $-OS(O)_2NR^cR^c$ 、 $-NR^bC(O)R^b$ 、 $-NR^bC(S)R^b$ 、 $-NR^bC(O)O^-$ 、 $-NR^bC(O)OR^b$ 、 $-NR^bS(O)_2R^a$ 、 $-NR^bS(O)_2R^a$ 、 $-NR^bC(S)OR^b$ 、 $-NR^bC(O)NR^cR^c$ 、 $-NR^bC(NR^b)R^b$ 和 $-NR^bC(NR^b)NR^cR^c$ ，其中 R^a 、 R^b 和 R^c 如前所定义。可用于取代杂烷基和环杂烷基中的氮原子的取代基基团包含但不限于 $-R^a$ 、 $-O^-$ 、 $-OR^b$ 、 $-SR^b$ 、 $-S^-$ 、 $-NR^cR^c$ 、三卤代甲基、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 、 $-NO$ 、 $-NO_2$ 、 $-S(O)_2R^b$ 、 $-S(O)_2O^-$ 、 $-S(O)_2OR^b$ 、 $-OS(O)_2R^b$ 、 $-OS(O)_2O^-$ 、 $-OS(O)_2OR^b$ 、 $-P(O)(O^-)_2$ 、 $-P(O)(OR^b)(O^-)$ 、 $-P(O)(OR^b)(OR^b)$ 、 $-C(O)R^b$ 、 $-C(S)R^b$ 、 $-C(NR^b)R^b$ 、 $-C(O)OR^b$ 、 $-C(S)OR^b$ 、 $-C(O)NR^cR^c$ 、 $-C(NR^b)NR^cR^c$ 、 $-OC(O)R^b$ 、 $-OC(S)R^b$ 、 $-OC(O)OR^b$ 、 $-OC(S)OR^b$ 、 $-NR^bC(O)R^b$ 、 $-NR^bC(S)R^b$ 、 $-NR^bC(O)OR^b$ 、 $-NR^bC(S)OR^b$ 、 $-NR^bC(O)NR^cR^c$ 、 $-NR^bC(NR^b)R^b$ 和 $-NR^bC(NR^b)NR^cR^c$ ，其中 R^a 、 R^b 和 R^c 如前所定义。可用于取代其他指定的基团或原子的来自上述清单的取代基基团对本领域技术人员来说将是明显的。在一些实施例中，用于取代指定的基团的取代基可以进一步被取代，通常被一个或多个选自上述各种基团的相同或不同基团取代。

[0090] 如本文所使用的“治疗(treating)”或“治疗(treatment)”任何疾病或异常在一些实施例中是指改善疾病或异常(即,阻止或减少疾病或其至少一种临床症状的发展)。在其他实施例中,“治疗”或“治疗”是指改善至少一个患者可能无法辨别的身体参数。在又一些实施例中,“治疗(treating)”或“治疗(treatment)”是指从物理上(例如,可辨别症状的稳定)、生理上(例如,物理参数的稳定)或两者来抑制疾病或异常。在又一些实施例中,“治疗(treating)”或“治疗(treatment)”是指延迟疾病或异常的发作。

[0091] 如本文所使用的“治疗有效量”是指当施用给患者以用于治疗疾病时,足以实现疾病的这样的治疗的化合物的量。“治疗有效量”将根据化合物、疾病及其严重程度以及待治疗的患者的年龄、体重等而变化。

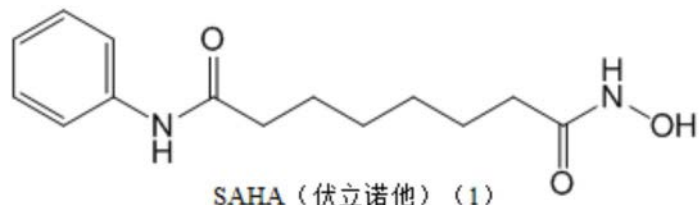
[0092] 现在将详细地参考化合物和方法的具体实施例。所公开的实施例不旨在限制权利要求。相反,权利要求旨在覆盖所有替代、修改和等同物。

[0093] 详细描述

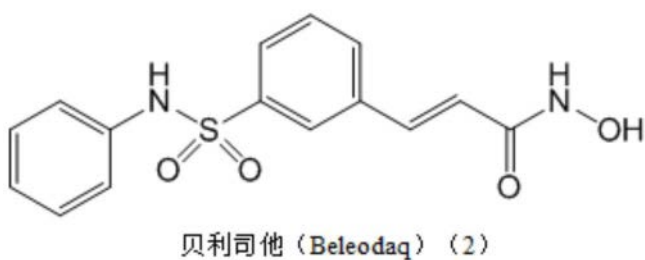
[0094] 抗衰老剂

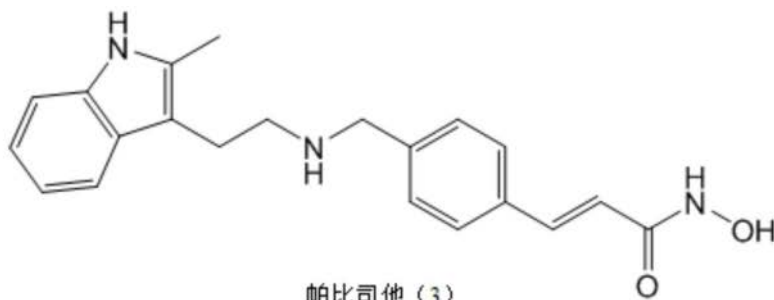
[0095] 已被批准用于临床治疗血液学癌症(诸如T细胞淋巴瘤、白血病和多发性骨髓瘤)的异羟肟酸衍生物HDAC抑制剂包含伏立诺他(辛二酰苯胺异羟肟酸或SAHA(1))、贝利司他(2)和帕比司他(3)。许多其他异羟肟酸衍生物HDAC抑制剂(例如化合物(4)-(13))已经作为单一药剂或与其他溶瘤化合物联合疗法正在进行血液肿瘤和实体肿瘤治疗的临床研究。除了HDAC I、II和IV类中的多种抑制酶外,还设计了异羟肟酸衍生物以同时抑制其他治疗靶,

例如CUDC-101 (12) (其有效地抑制EGFR和HER-2激酶) 和CUDC-907 (13) (其另外抑制各种PI3K同种型)。已经公开了许多其他异羟肟酸衍生物HDAC抑制剂, 包含从链霉菌分离的天然产物曲古抑菌素A(14) 和许多合成衍生的化合物, 其示例包含化合物(15) - (21) 以及在上文的Roche and Bertrand中所公开的其他化合物; 或在美国专利第5,369,108号、第5,932,616号、第6,087,367号和第6,511,990号中公开的任何异羟肟酸。

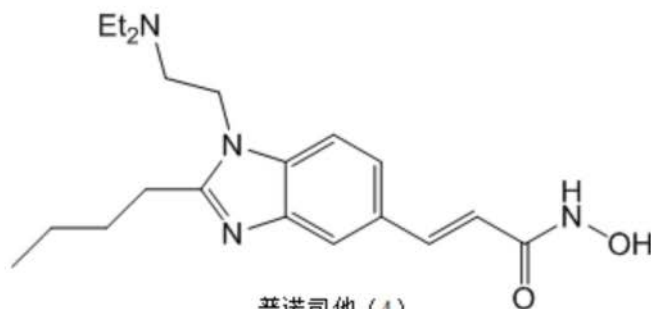


[0096]



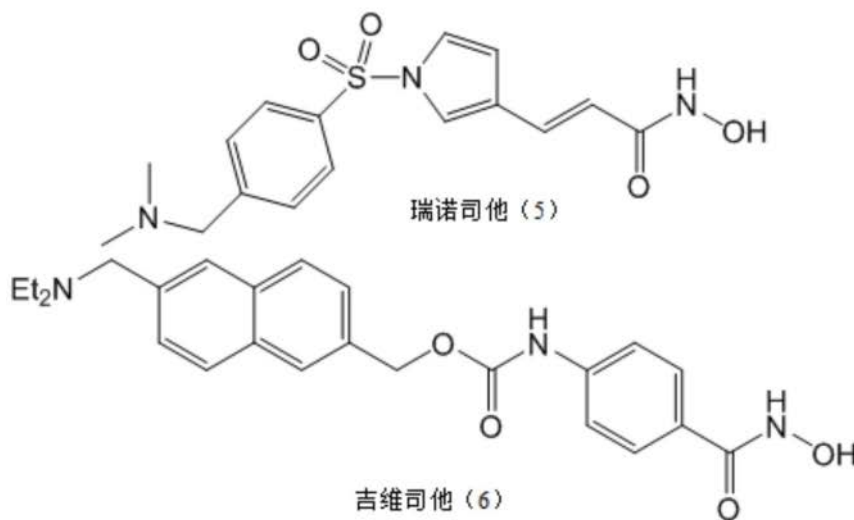


帕比司他 (3)

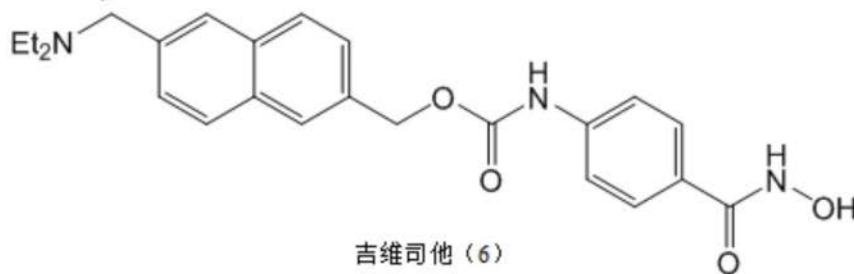


普诺司他 (4)

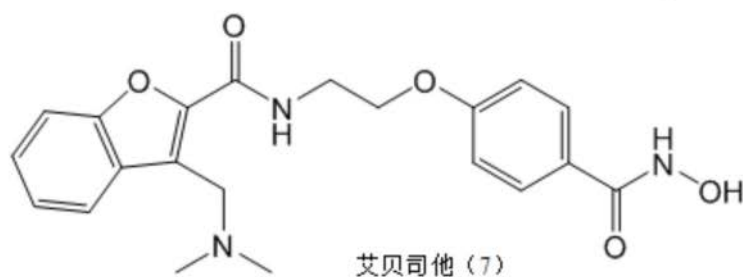
[0097]



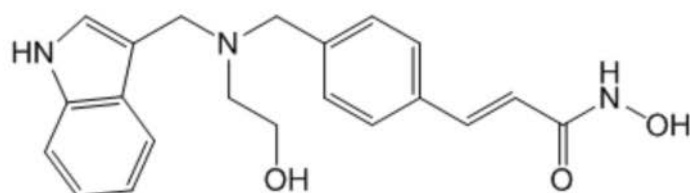
瑞诺司他 (5)



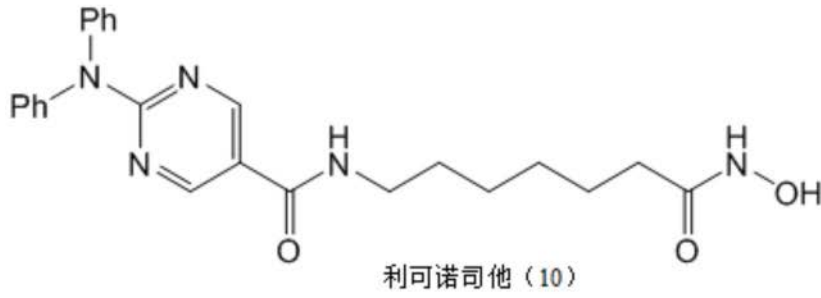
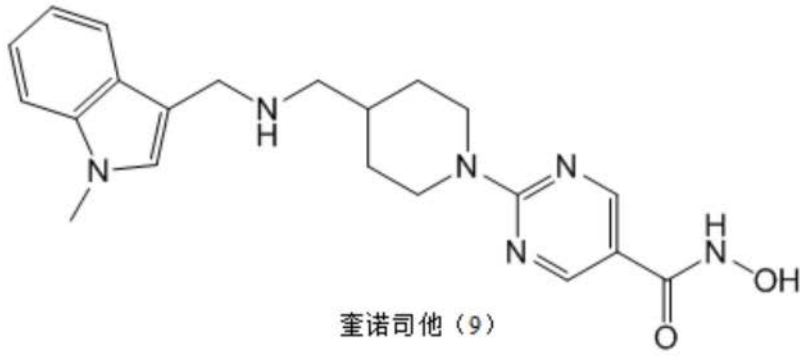
吉维司他 (6)



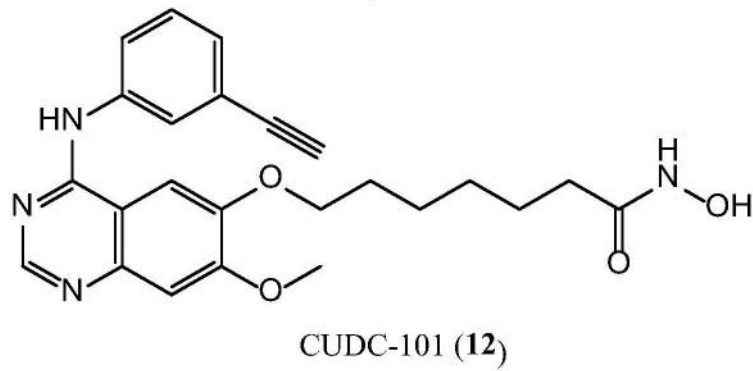
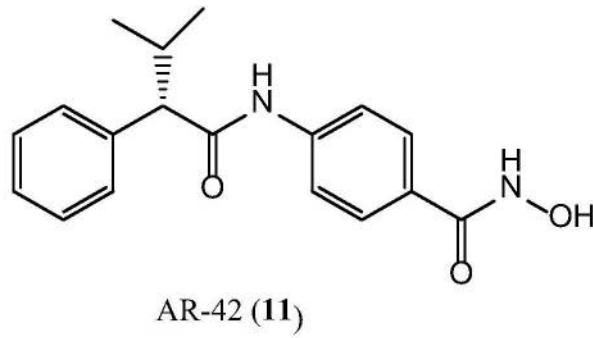
艾贝司他 (7)

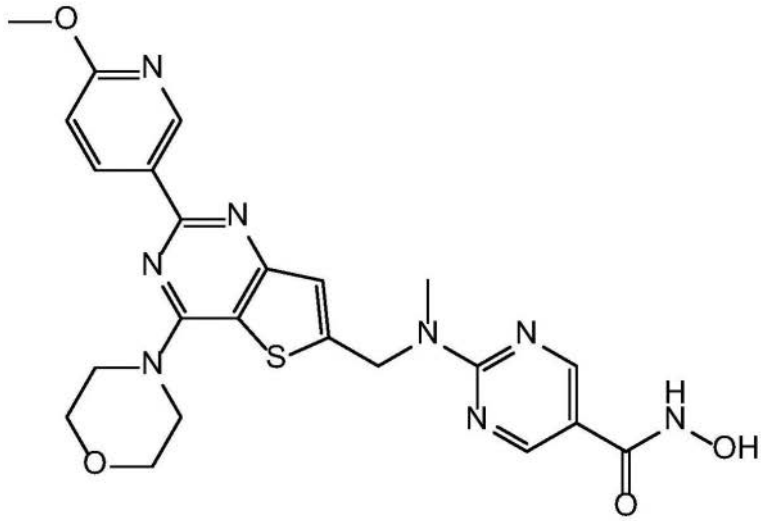


达诺司他 (LAQ824) (8)

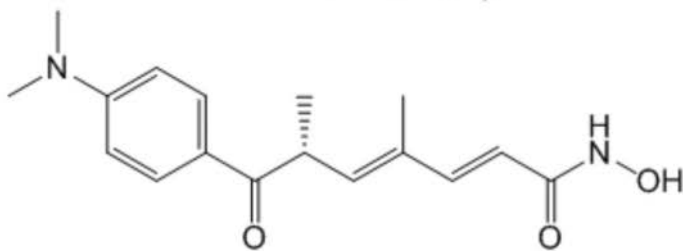


[0098]



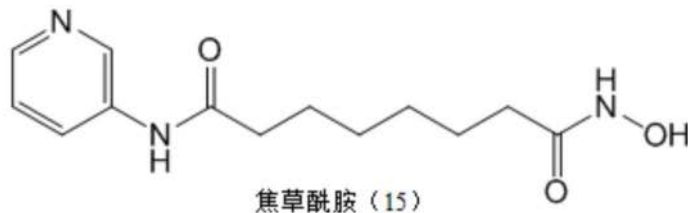


CUDC-907 (13)

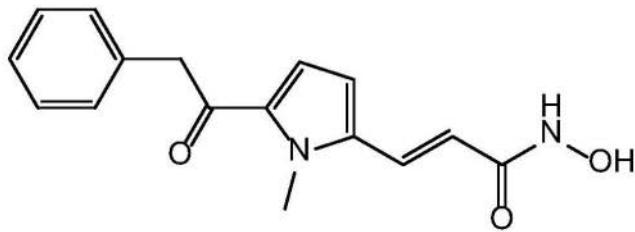


曲古抑菌素A (TST) (14)

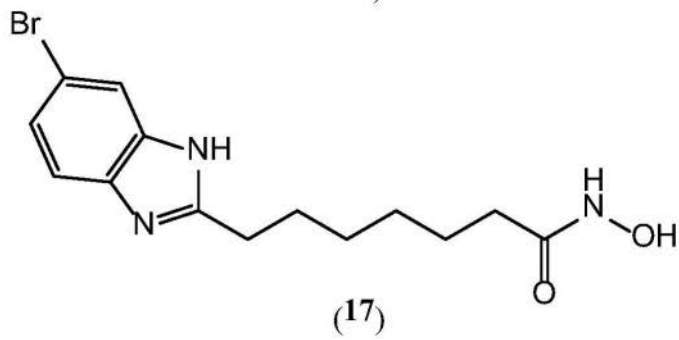
[0099]



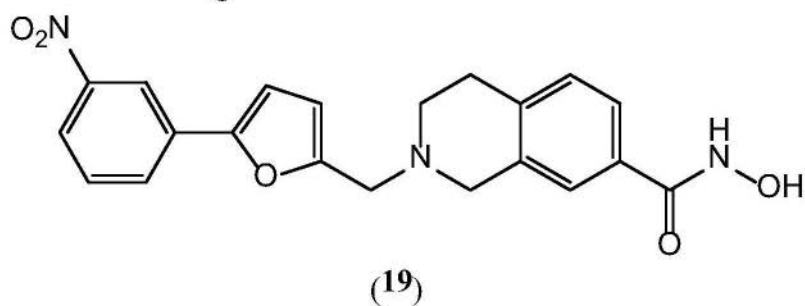
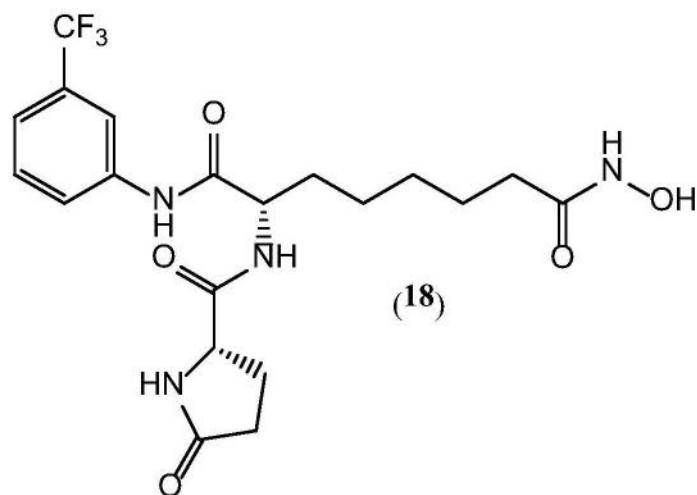
焦草酰胺 (15)



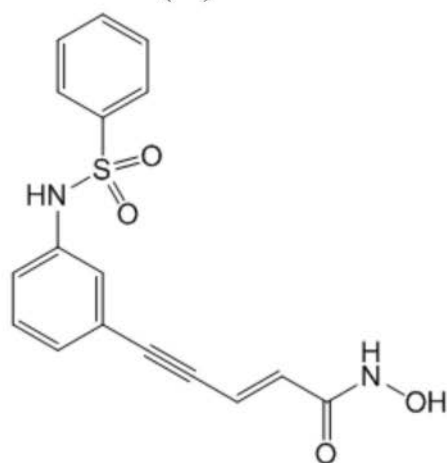
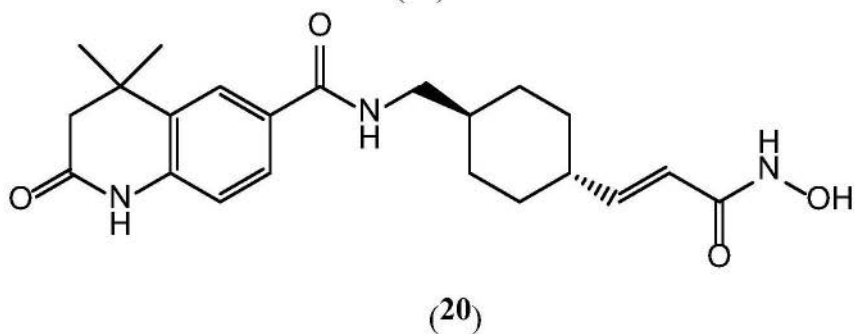
APHA (16)



(17)



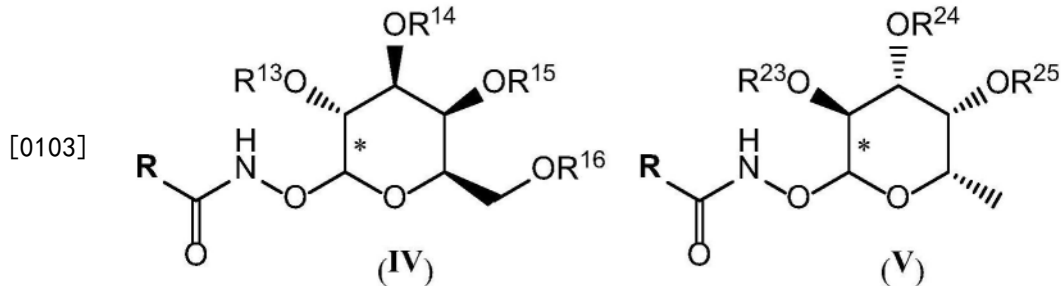
[0100]



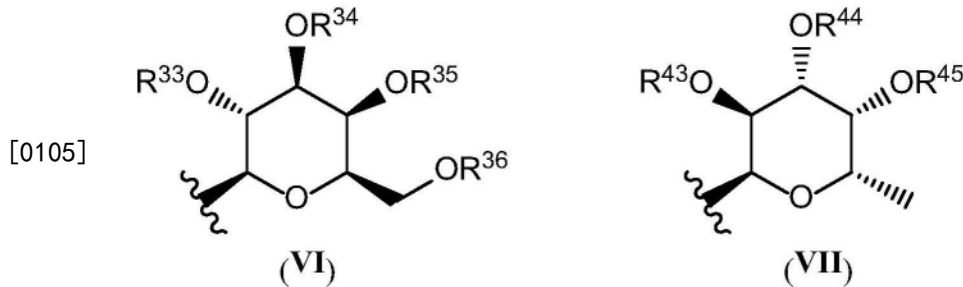
[0101] 以前曾报告pan-HDAC抑制剂帕比司他 (3) 的抗衰老活性(上文的Samaraweera等人),并且衰老已经被证明与总体组蛋白乙酰化的降低有关(Li et al.,*Proteomics* 13 (2013) 2585-2596)。若干份报告记录了HDAC抑制剂介导的Bcl-xL表达的降低(例如,参见Cao et al.,*Am.J.Respir.Cell Mol.Biol.*25 (2001) 562-568;Rada-Iglesias et al.,

Genome Res.17(2007)708-719;和Frys et al.,Br.J.Haematol.169(2015)506-519)。不希望受到任何理论的束缚,HDAC抑制剂的抗衰老活性的一个药理学基础可能是通过降低抗凋亡Bcl-xL蛋白水平来介导的。

[0102] 在一些实施例中,有效作为抗衰老剂的化合物是式(IV)或(V)的化合物:



[0104] 其中:R为异羟肟酸衍生物组蛋白脱乙酰基酶抑制剂的残基, R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 、 R^{16} 、 R^{23} 、 R^{24} 和 R^{25} 各自独立地为氢、 $-C(O)-R^1$ 、式(VI)的部分或式(VII)的部分:



[0106] R^{33} 、 R^{34} 、 R^{35} 、 R^{36} 、 R^{43} 、 R^{44} 和 R^{45} 各自独立地是氢或 $-C(O)-R^2$;每个 R^1 独立地是 C_{1-4} 烷基或苯基,条件是如果 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 或 R^{16} 之一是式(VI)或式(VII)的部分,那么 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 和 R^{16} 的剩余部分是氢或 $C(O)-R^1$;并且每个 R^2 独立地是氢、 C_{1-4} 烷基或苯基,条件是如果 R^{23} 、 R^{24} 或 R^{25} 之一是式(VI)或式(VII)的部分,那么 R^{23} 、 R^{24} 或 R^{25} 的剩余部分是氢或 $-C(O)-R^1$;条件是当 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 和 R^{16} 各自是氢时,R不是7-庚酰基苯酰胺。

[0107] 在式(IV)或(V)的化合物的一些实施例中,吡喃糖环的异头碳(标记为*)是S构型,并且这些化合物分别是异羟肟酸衍生物组蛋白脱乙酰基酶抑制剂的 β -D-半乳糖苷和 α -L-岩藻糖苷缀合物。

[0108] 在式(IV)或(V)的化合物的一些实施例中,R是异羟肟酸衍生物组蛋白脱乙酰基酶抑制剂的残基,其中组蛋白脱乙酰基酶抑制剂选自由以下组成的组:帕比司他、奎诺司他、伏立诺他、达诺司他、吉维司他、CUDC-907、CUDC-101、艾贝司他、贝利司他、普诺司他、瑞诺司他、利可诺司他、焦草酰胺、APHA、曲古菌素A、奥沙莱丁和AR-42。

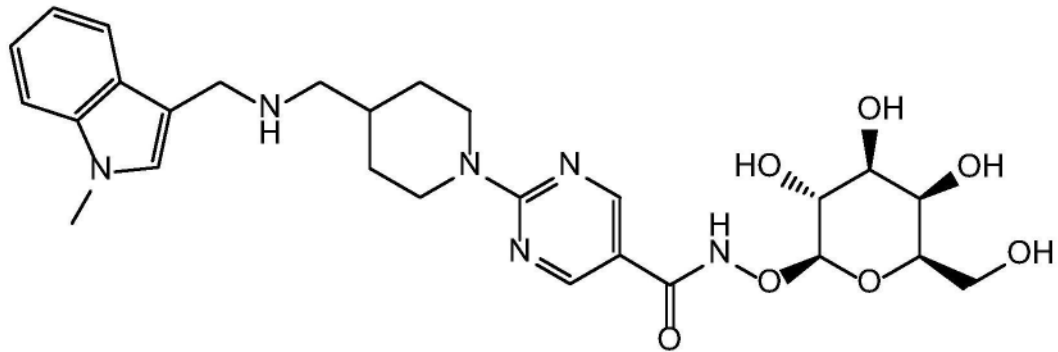
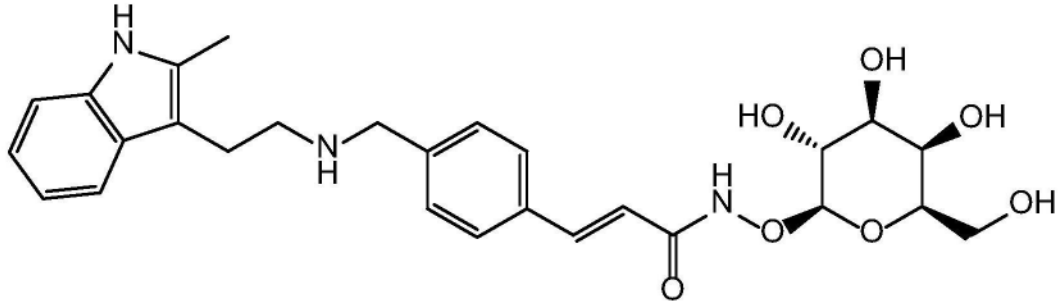
[0109] 在式(IV)的化合物的一些实施例中, R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 和 R^{16} 各自是氢。在式(V)的化合物的一些实施例中, R^{23} 、 R^{24} 和 R^{25} 各自是氢。

[0110] 在式(IV)的化合物的其他实施例中, R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 和 R^{16} 各自独立地是 $-C(O)-R^1$,其中 R^1 是 C_{1-4} 烷基或苯基。在式(V)的化合物的其他实施例中, R^{23} 、 R^{24} 和 R^{25} 各自独立地是 $-C(O)-R^1$,其中 R^1 是 C_{1-4} 烷基或苯基。

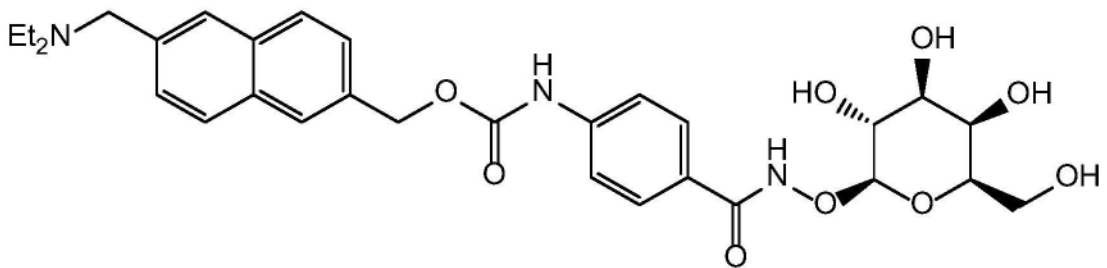
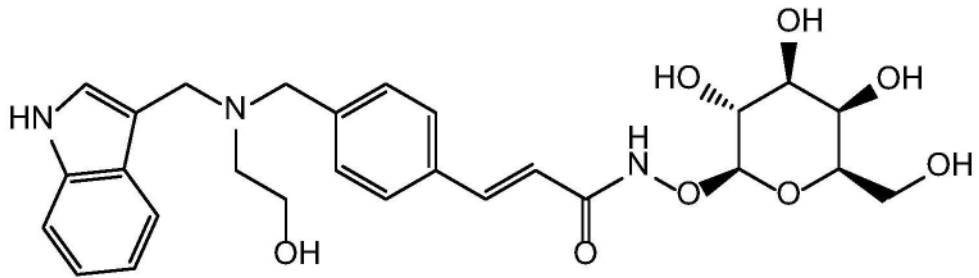
[0111] 在式(IV)的化合物的又一些实施例中, R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 和 R^{16} 各自独立地是 $-C(O)-R^1$,其中 R^1 是甲基。在式(V)的化合物的又一些实施例中, R^{23} 、 R^{24} 和 R^{25} 各自是 $-C(O)-R^1$,其中 R^1 是甲基。

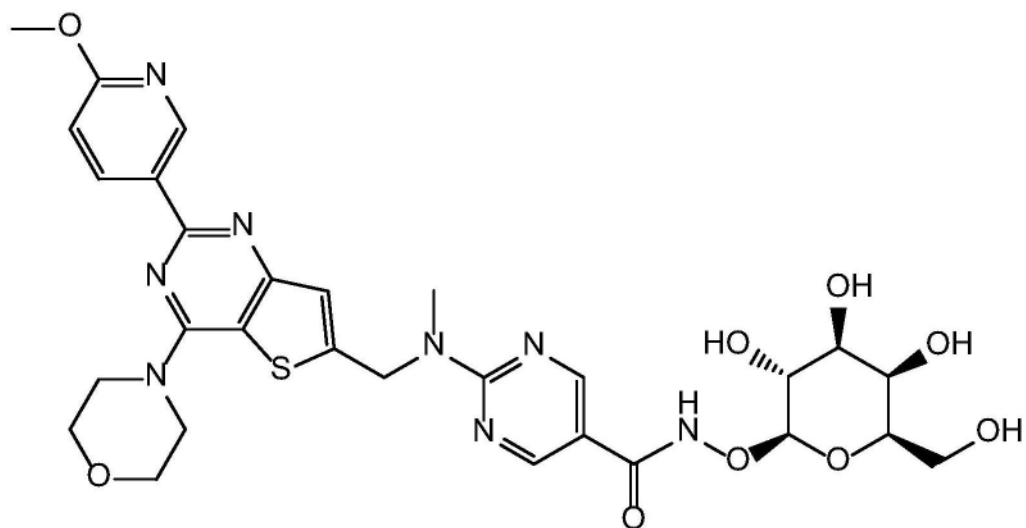
[0112] 在式(IV)的化合物的又一些实施例中, R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 和 R^{16} 各自独立地是 $-C(O)-R^1$,其中 R^1 是乙基。在式(V)的化合物的又一些实施例中, R^{23} 、 R^{24} 和 R^{25} 各自是 $-C(O)-R^1$,其中 R^1 是乙基。

[0113] 在进一步的实施例中,式(IV)的化合物是具有以下结构中的任何一种的化合物:

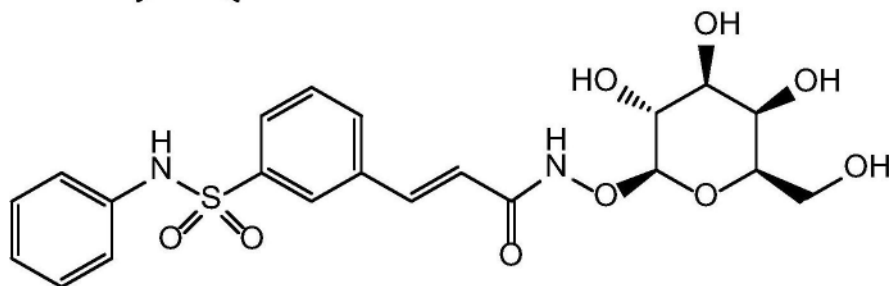
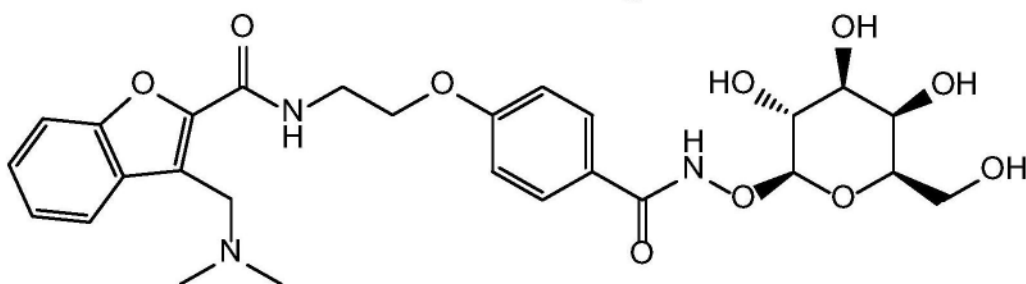


[0114]

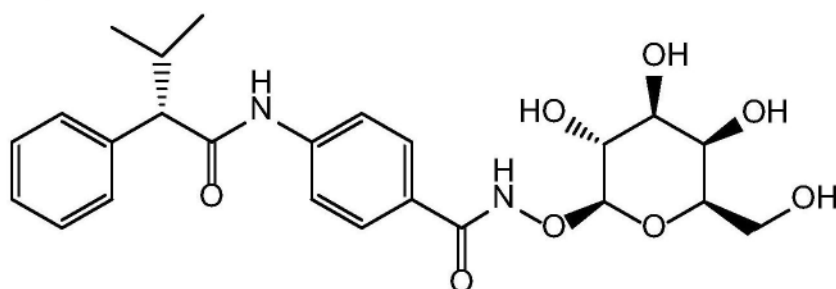




[0115]

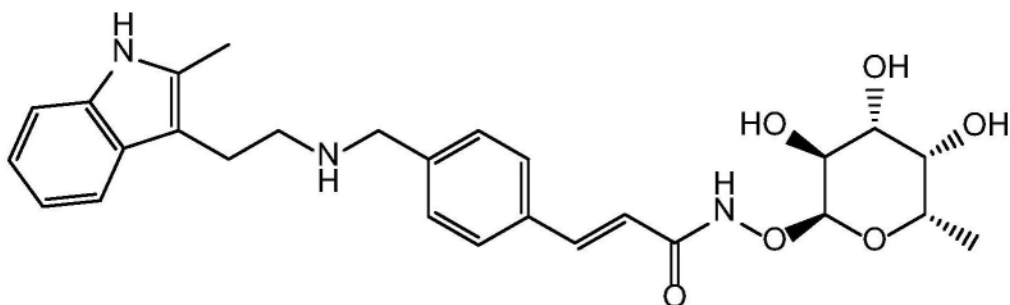


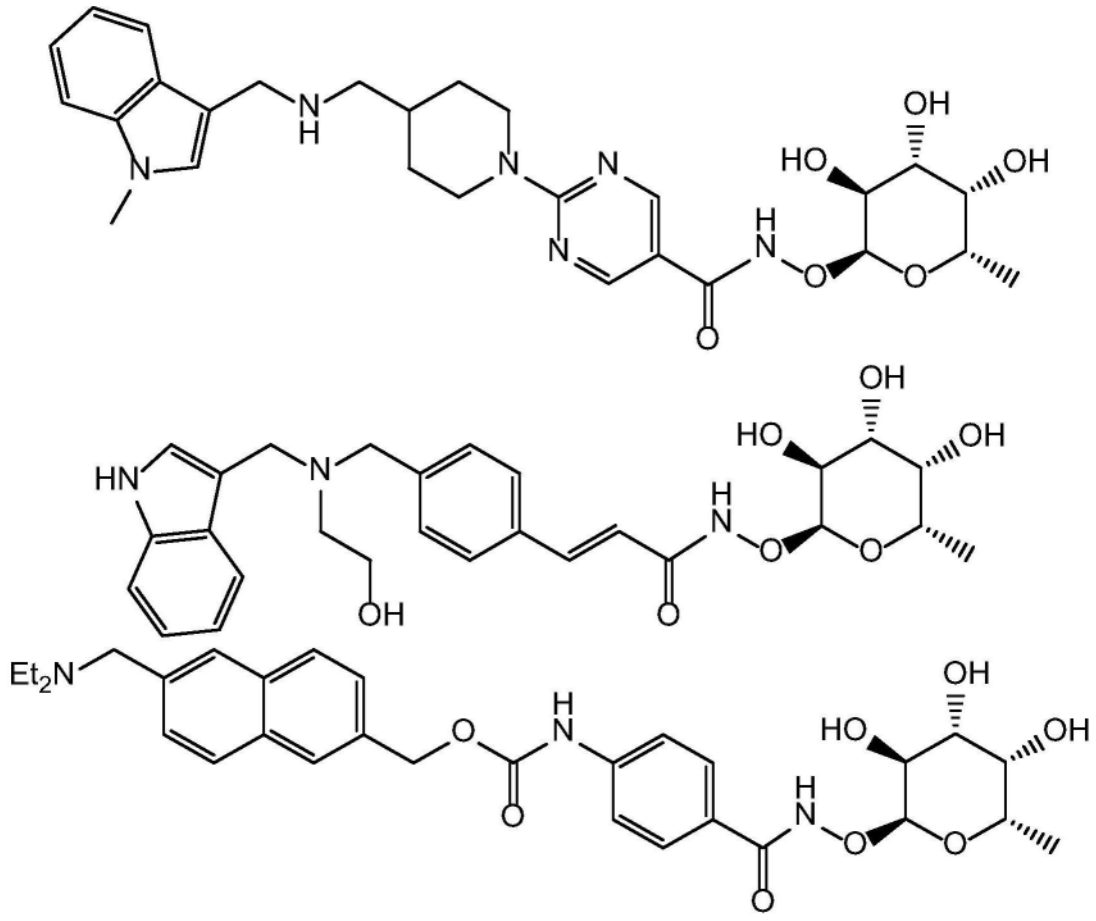
和



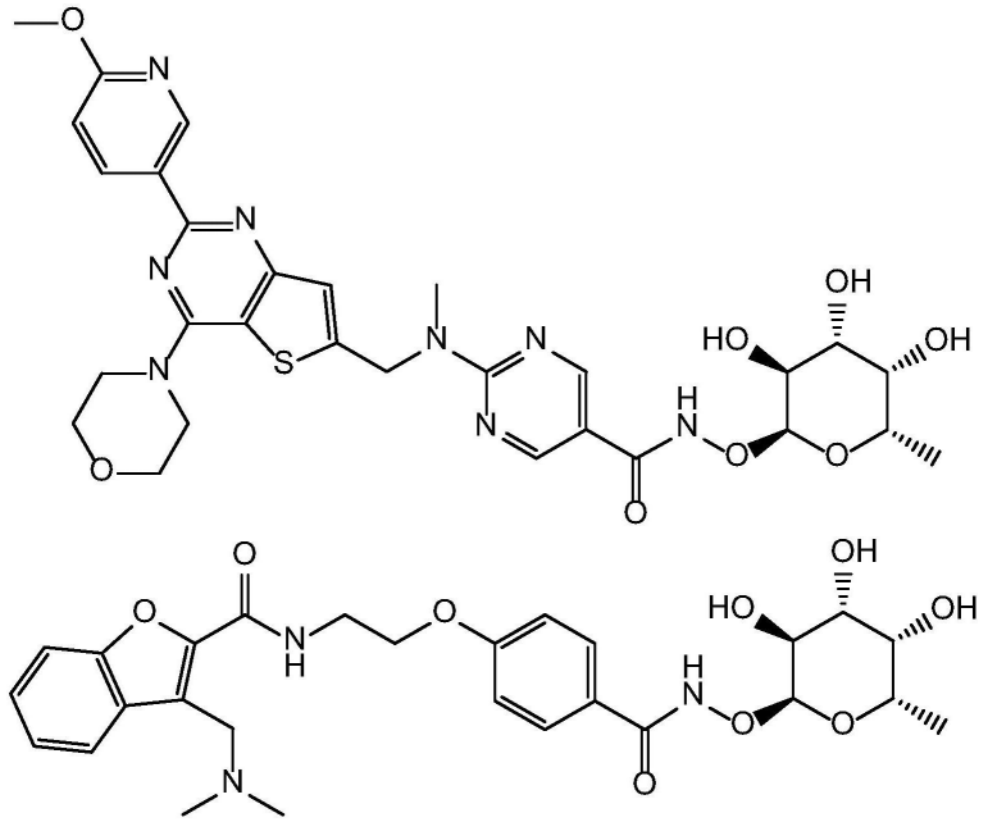
[0116] 在进一步的实施例中,式(V)的化合物是具有以下结构中的任何一种的化合物:

[0117]

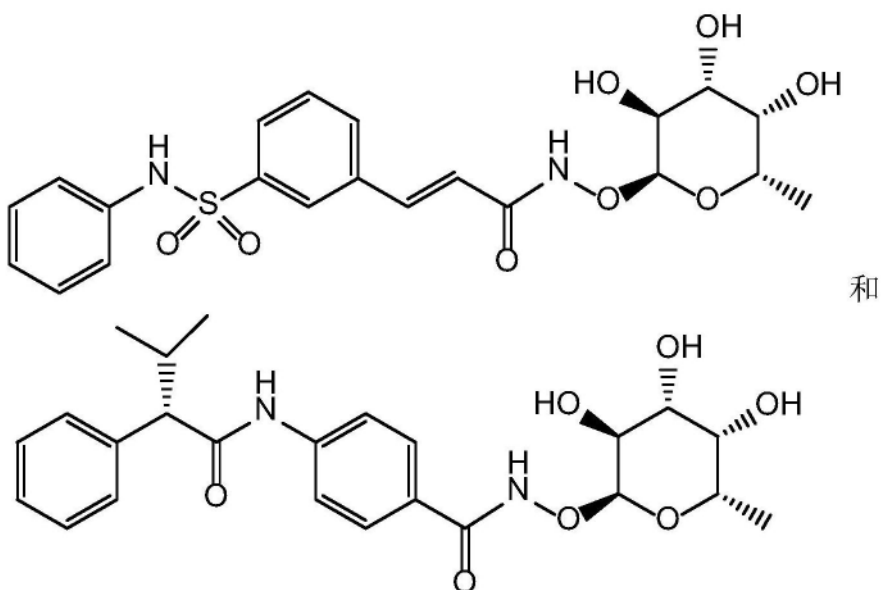




[0118]

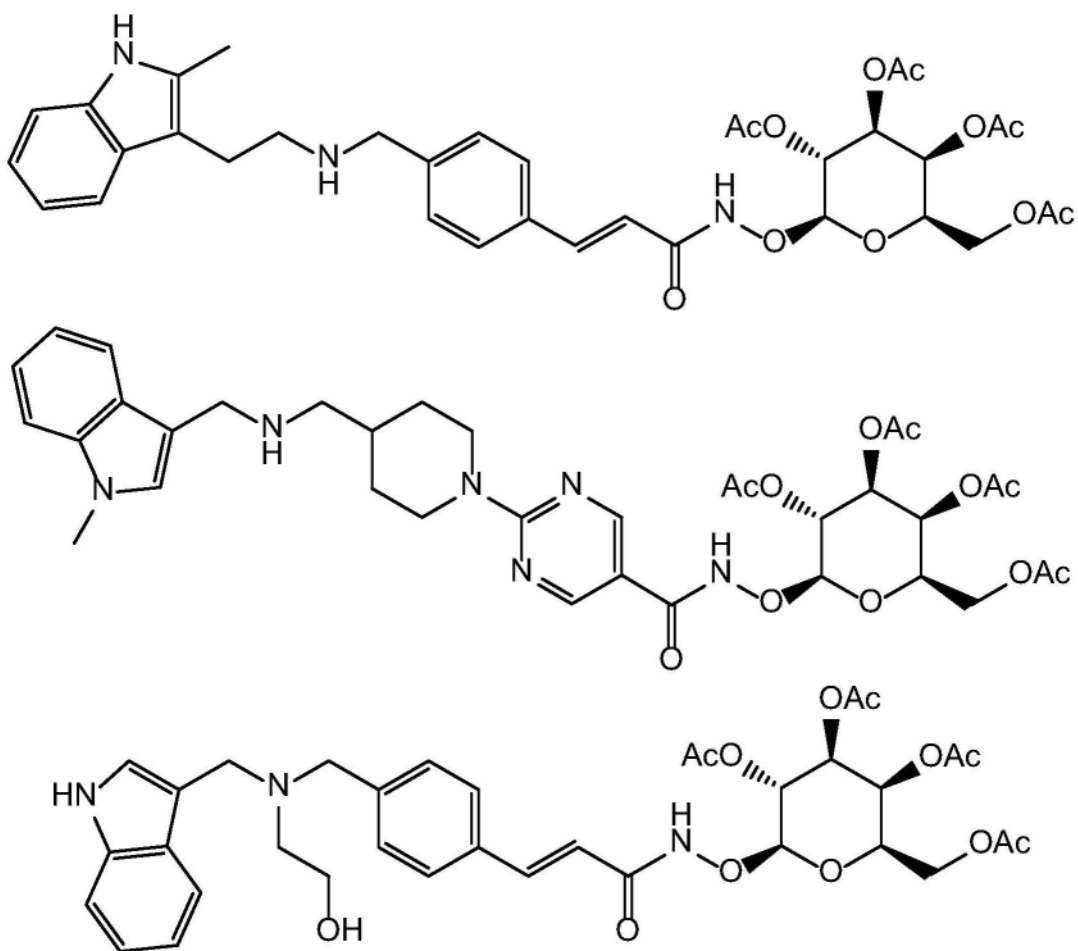


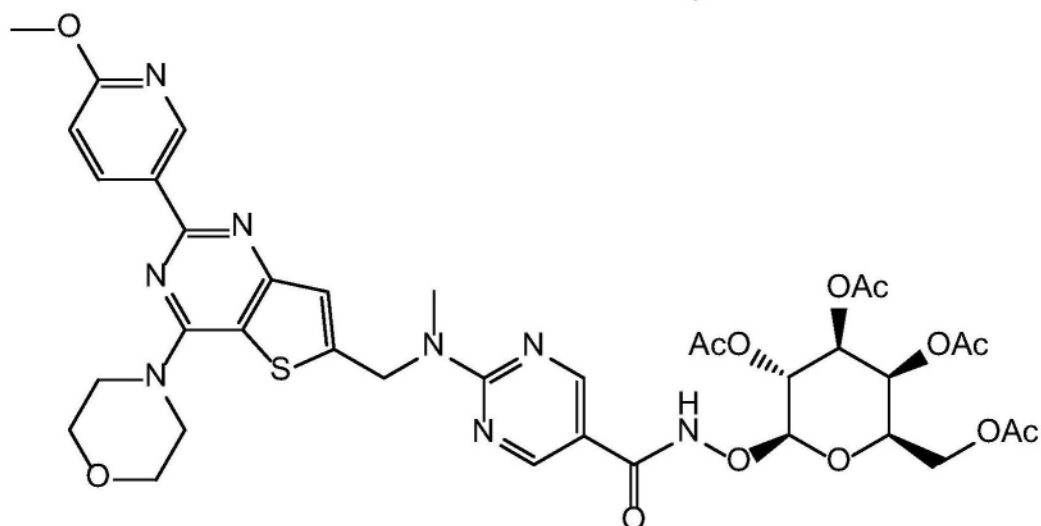
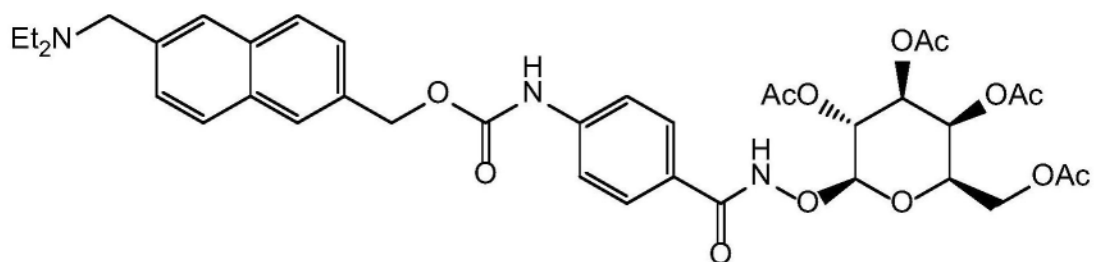
[0119]



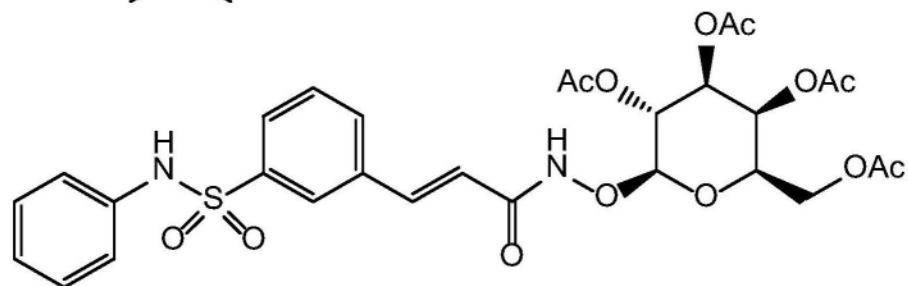
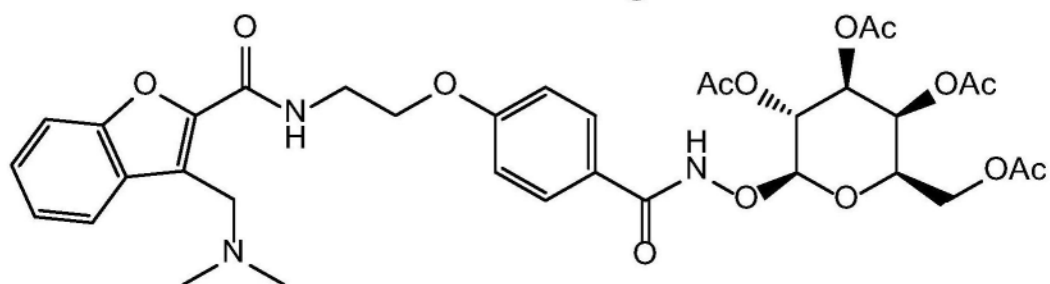
[0120] 在又进一步的实施例中,式(IV)的化合物是是具有以下结构中的任何一种的化合物;

[0121]

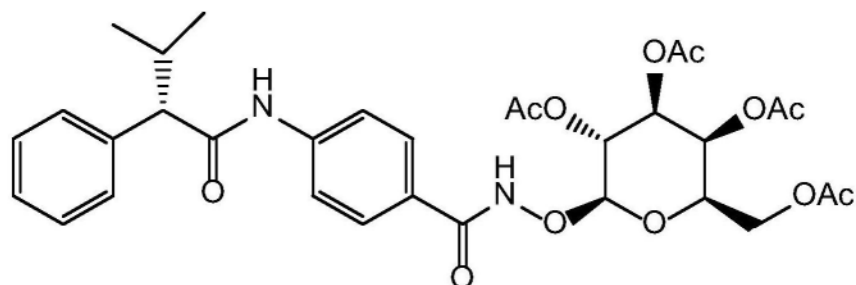




[0122]

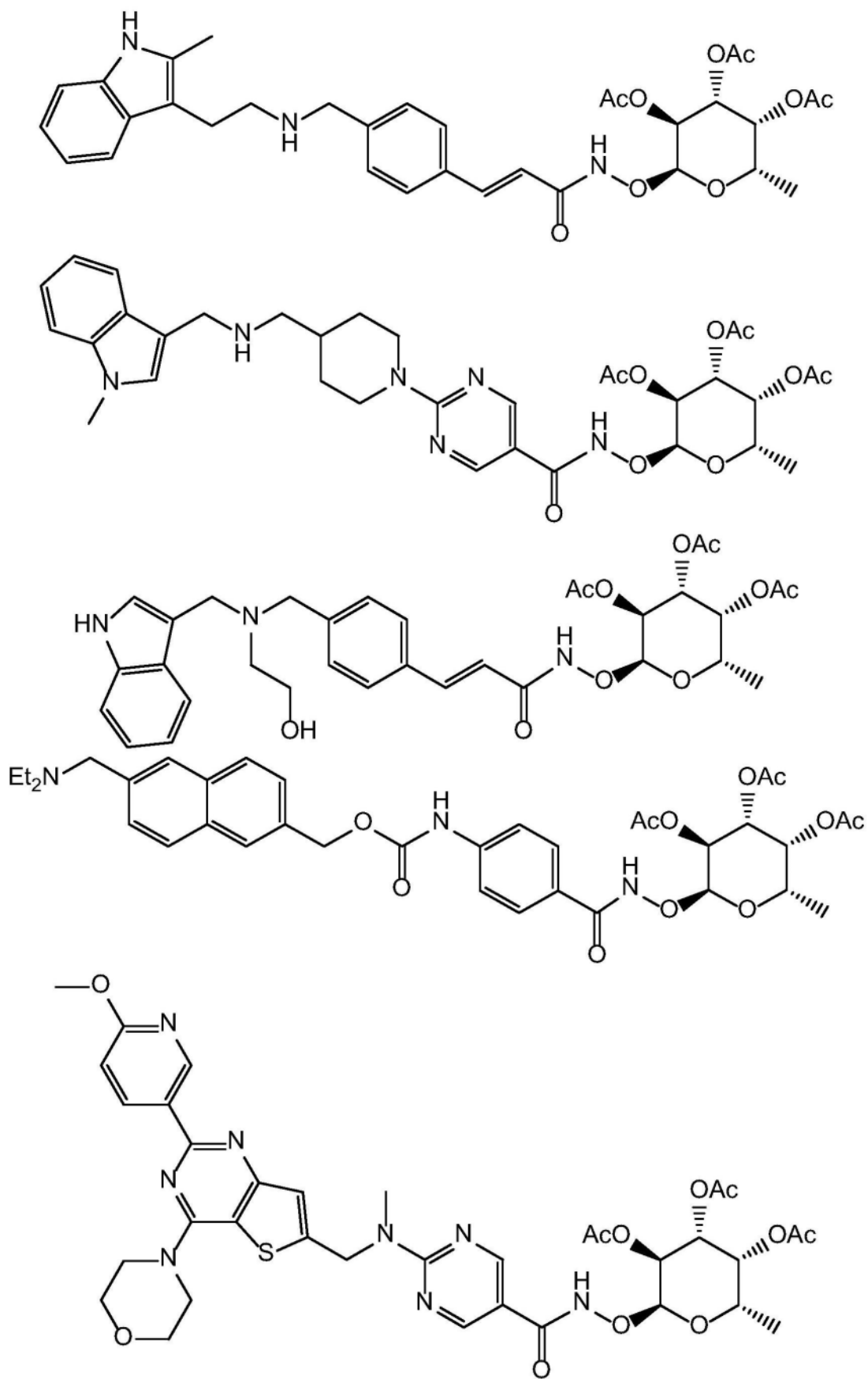


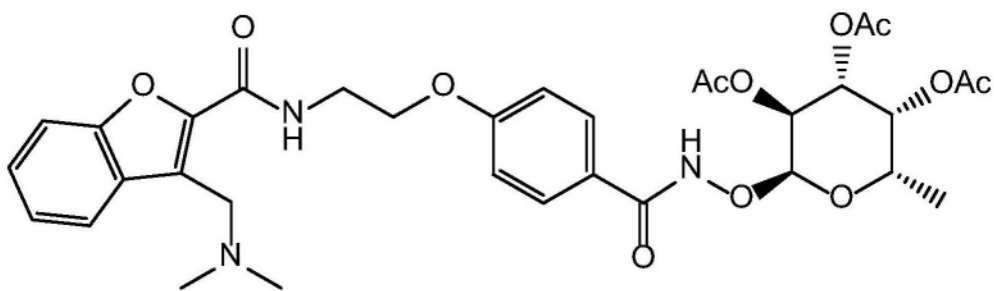
和



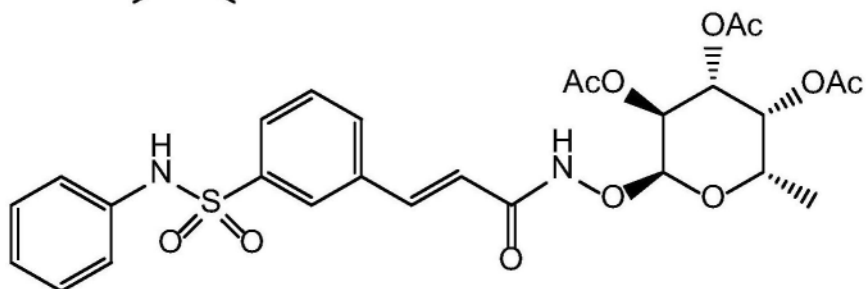
[0123] 在又进一步的实施例中,式(V)的化合物是具有以下结构中的任何一种的化合物:

[0124]

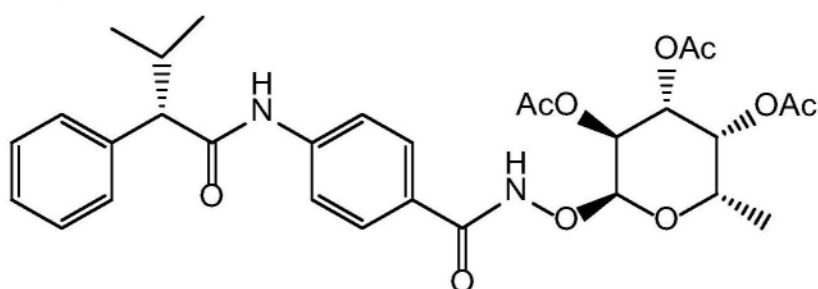




[0125]

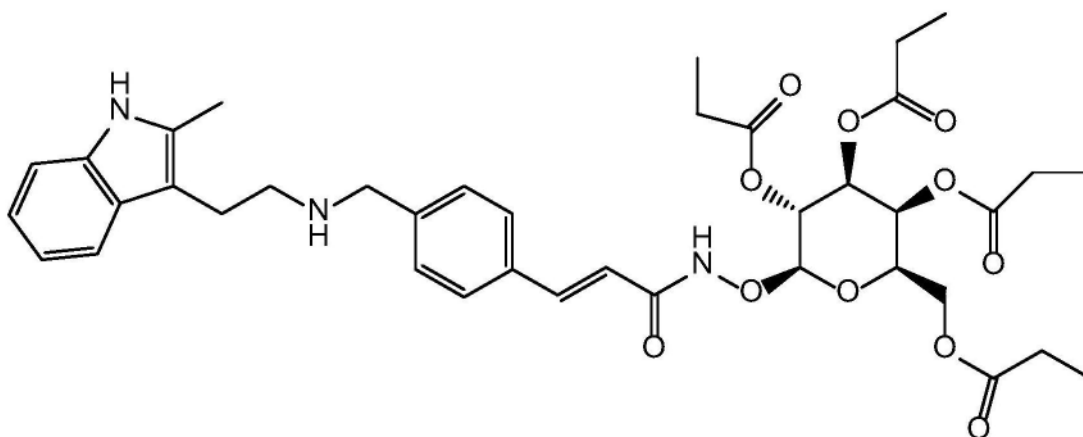


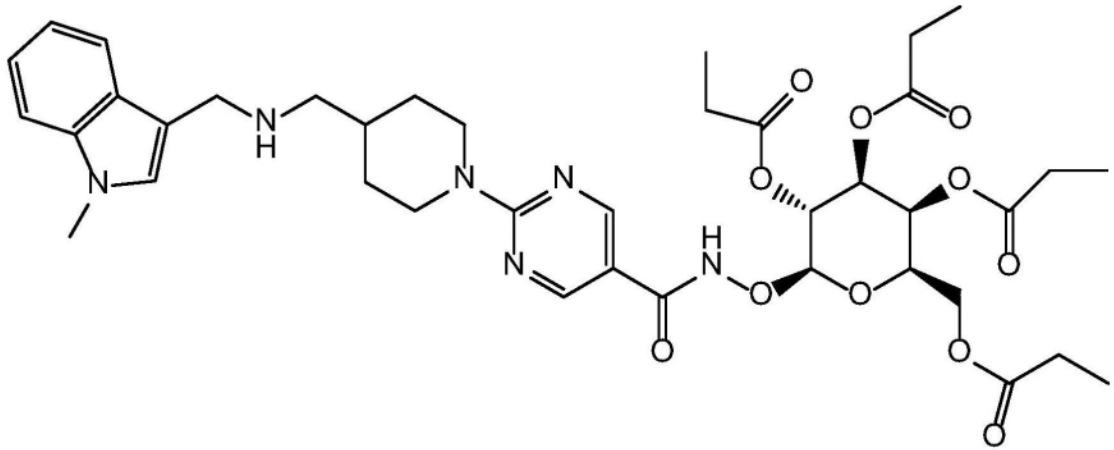
和



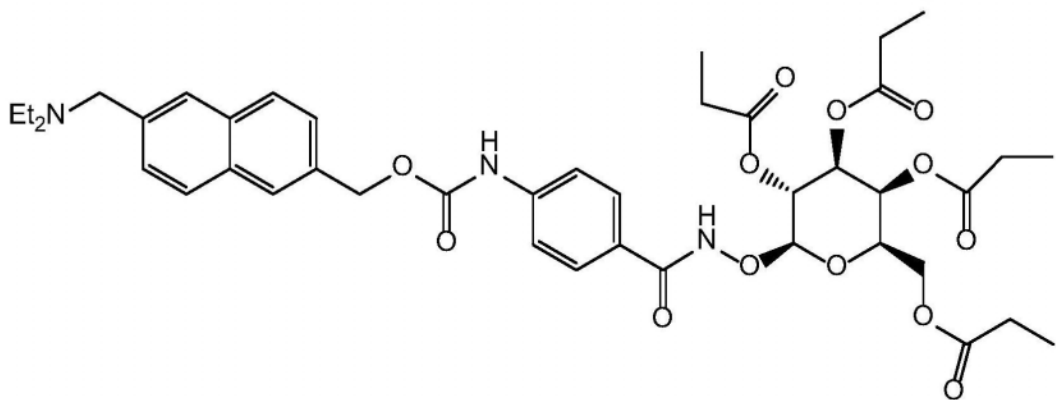
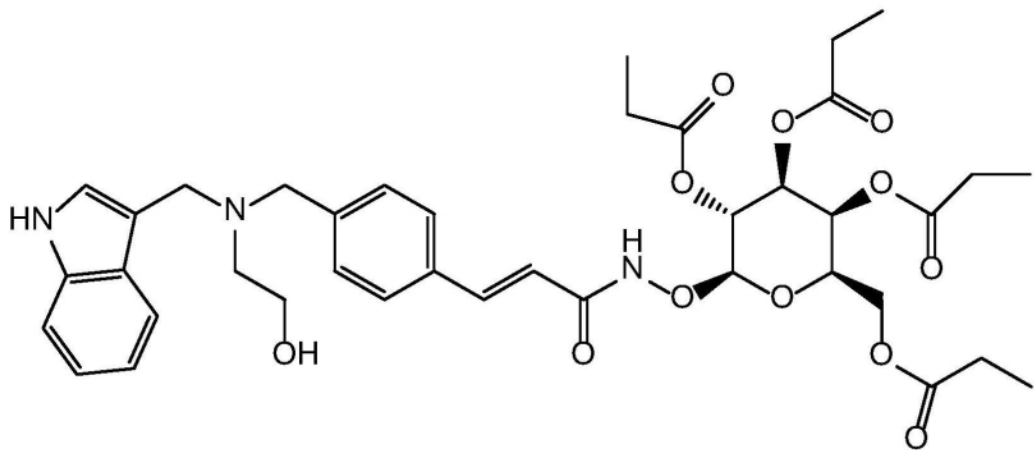
[0126] 在又进一步的实施例中,式(IV)的化合物是具有以下结构中的任何一种的化合物:

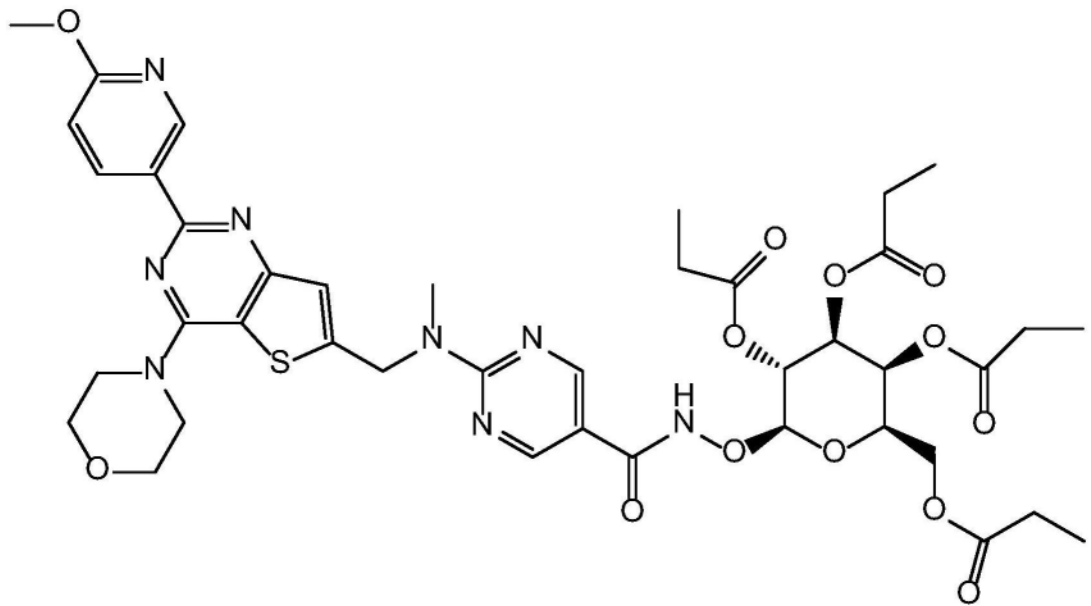
[0127]



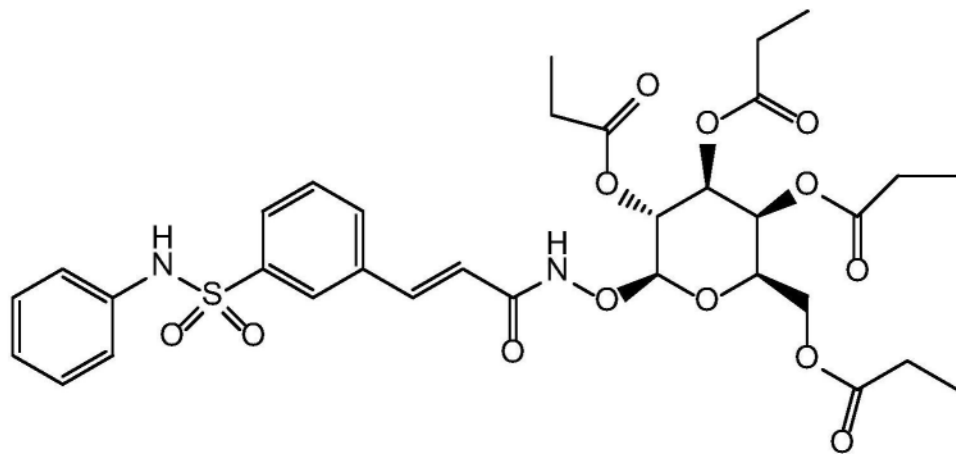
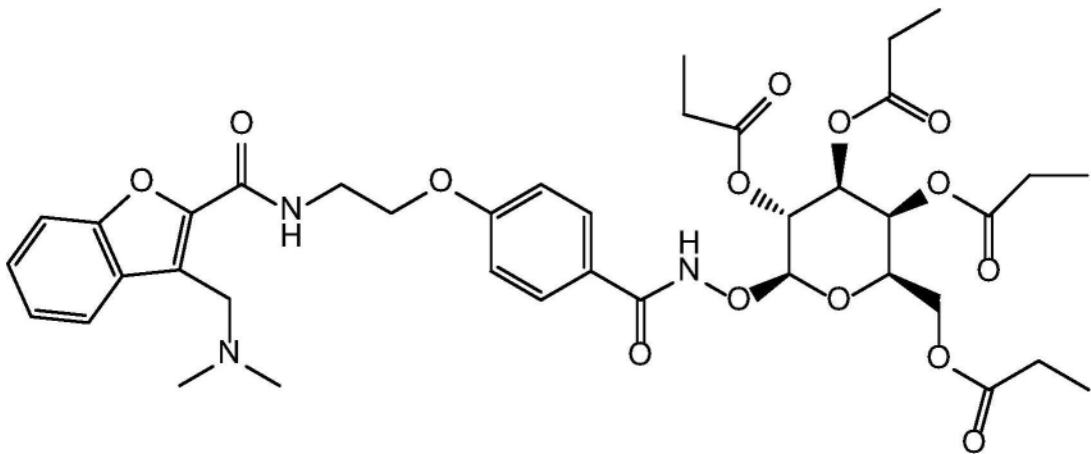


[0128]



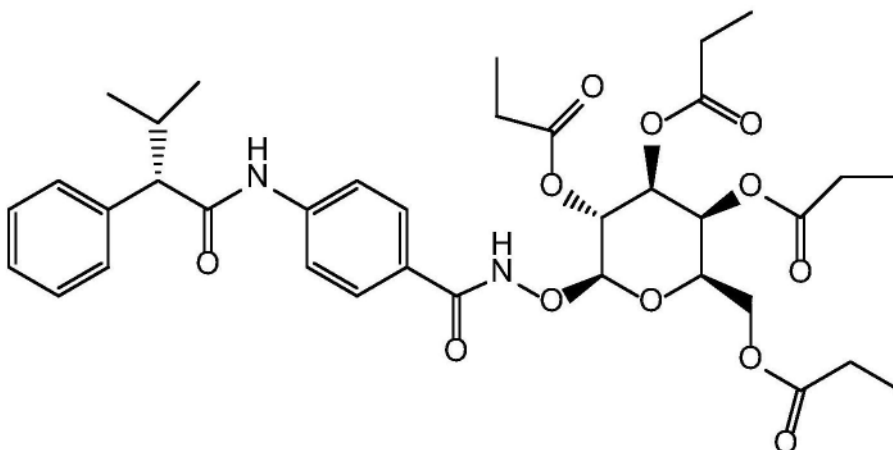


[0129]



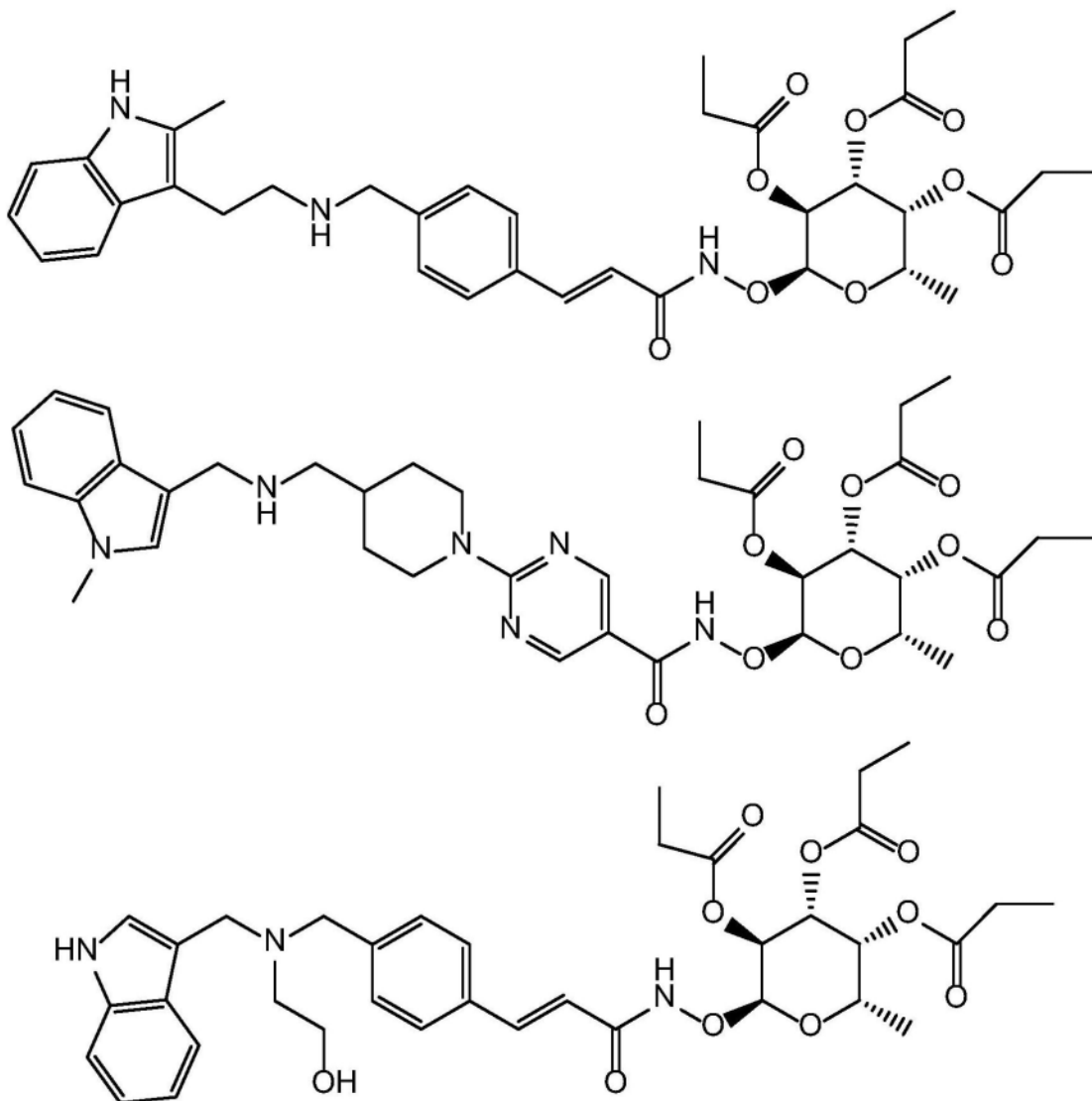
和

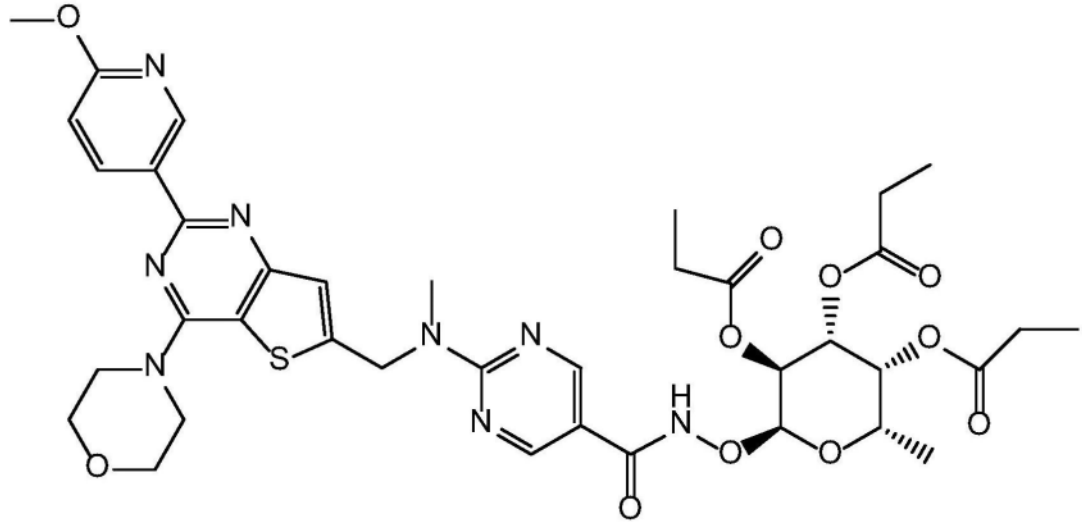
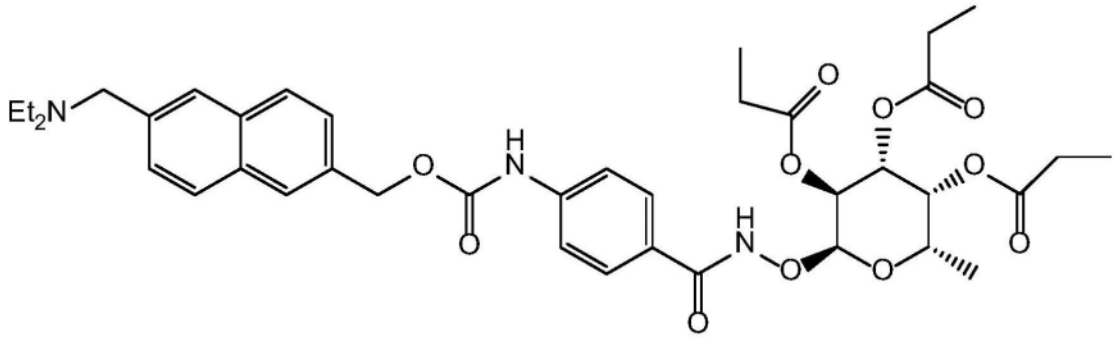
[0130]



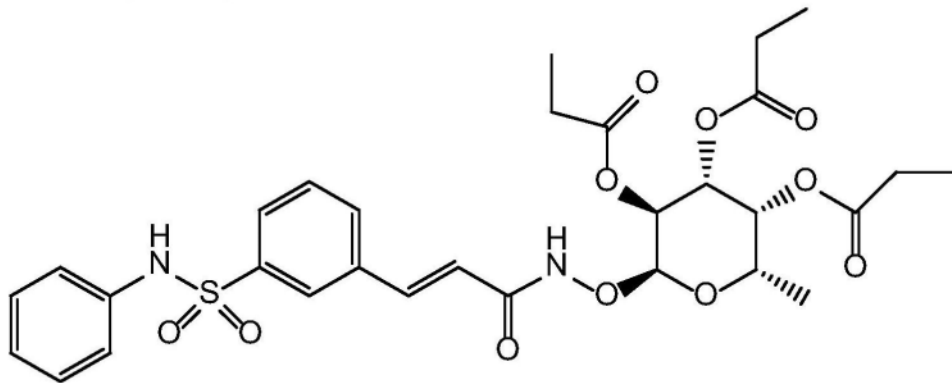
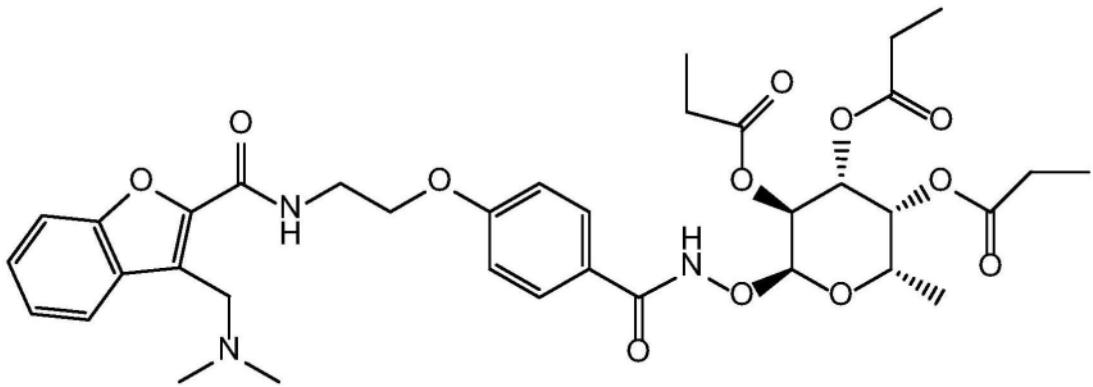
[0131] 在又进一步的实施例中,式(V)的化合物是具有以下结构中的任何一种的化合物:

[0132]



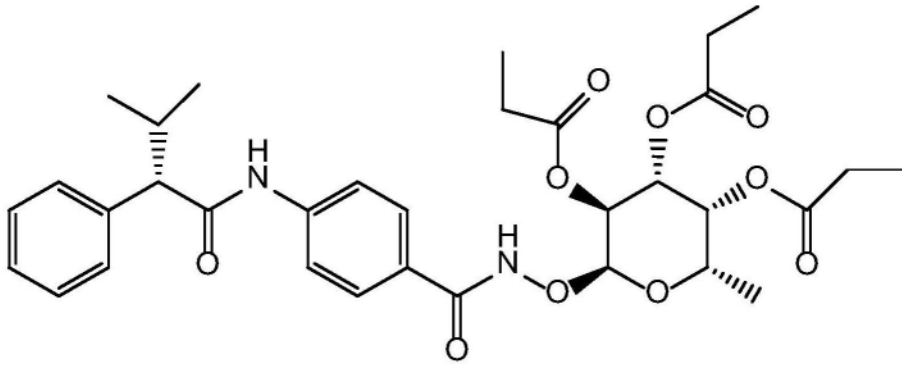


[0133]



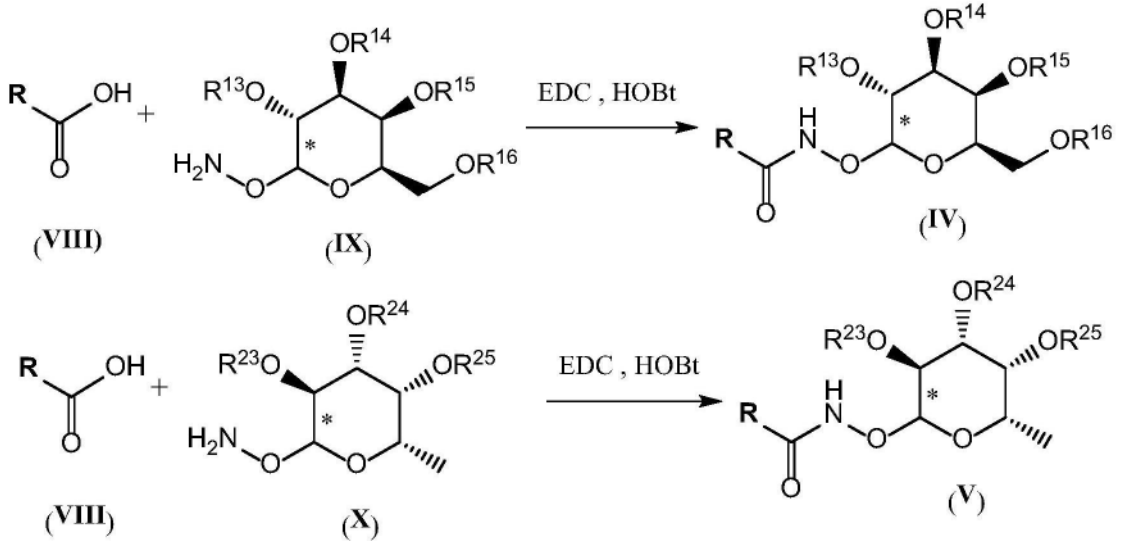
和

[0134]



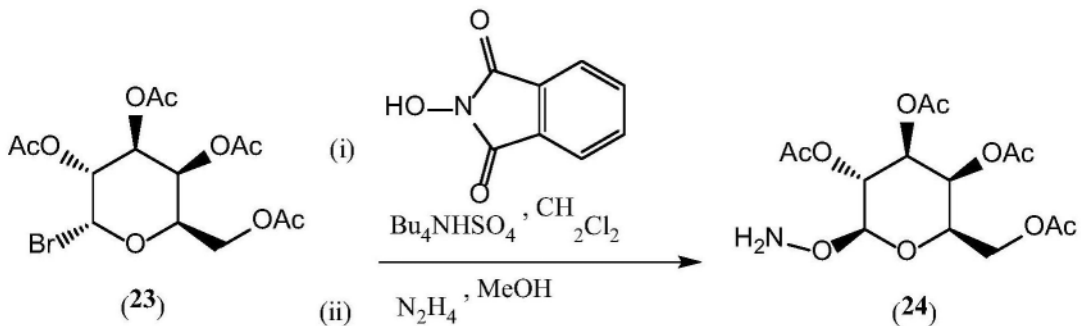
[0135] 式(IV)或(V)的化合物可以通过在酰基偶联剂诸如碳二亚胺(例如EDC)的存在下,或者可替代地在作为酰氯或混合酸酐酰化剂的预先活化之后,分别将异羟肟酸HDAC抑制剂的羧酸前体 RCO_2H (VIII)与糖脲化合物(IX)和(X)偶联来合成,如下所示。

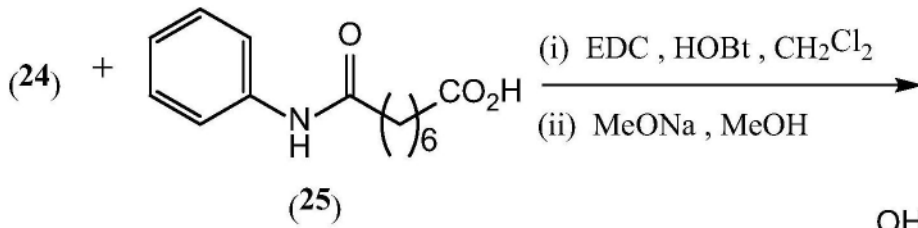
[0136]



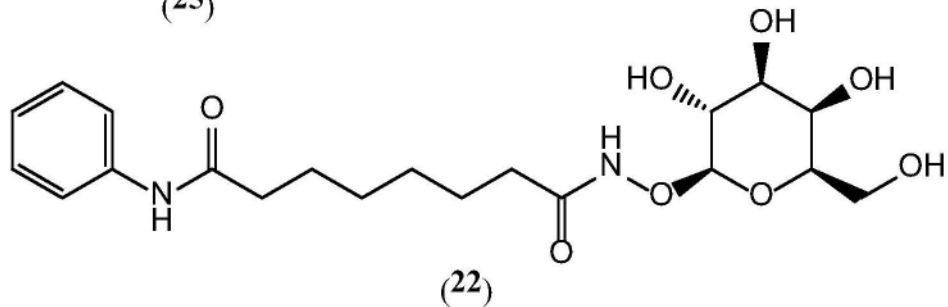
[0137] 具体地, SAHA的 $\text{O}-\beta$ -半乳糖苷衍生物, 化合物(22), 可以根据Thomas et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 17 (2007) 983-986的方法由已知的溴代半乳糖苷(23)制备:

[0138]





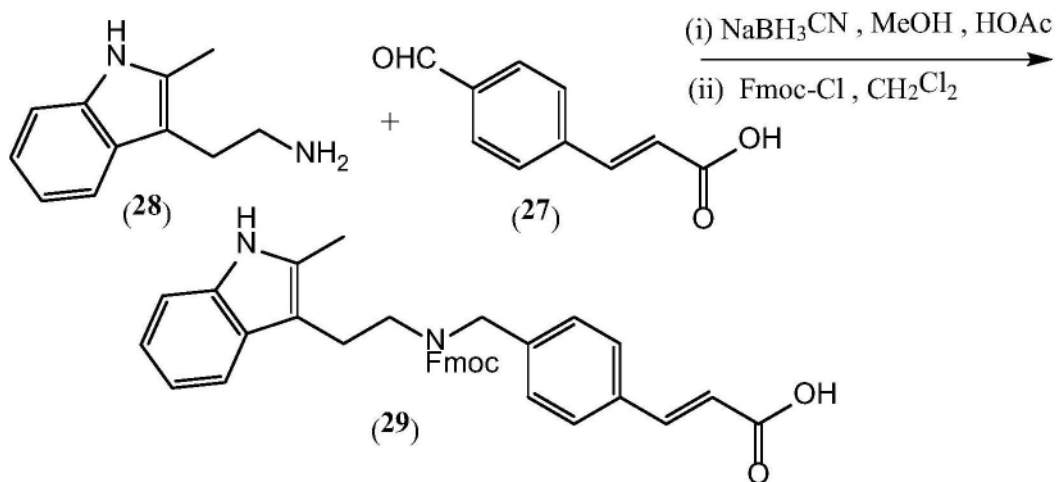
[0139]

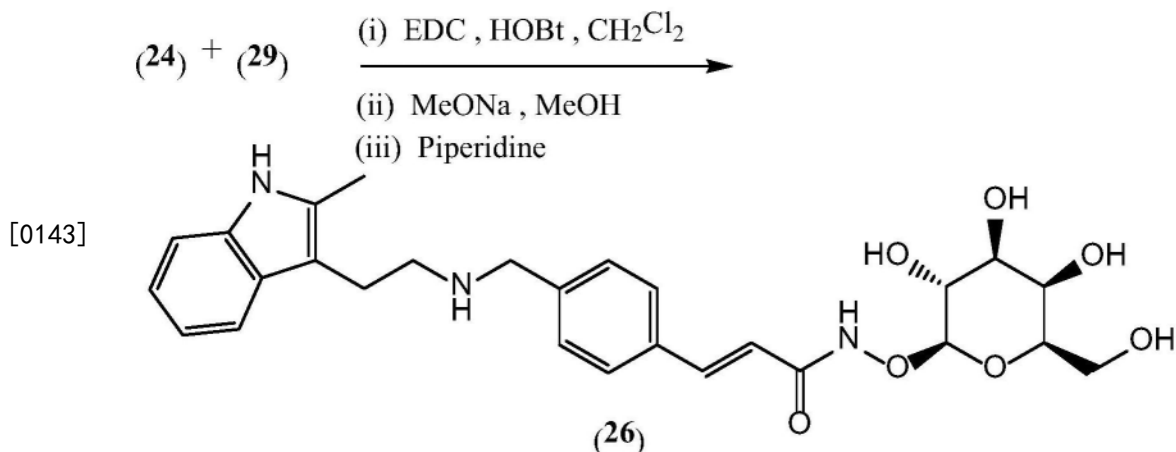


[0140] 化合物(22)与 β -半乳糖苷酶一起孵育显示定量转化为(1)。众所周知,异羟肟酸衍生物化合物的HDAC抑制活性主要依赖于游离异羟肟酸部分的锌螯合活性(例如,参见上文的Roche and Bertrand)。因此,在式(IV)或(V)的化合物中掩蔽作为糖苷衍生物的异羟肟酸官能团确保了这些前药作为HDAC抑制剂是无活性的,但在衰老细胞的溶酶体中水解时将变得被激活。

[0141] 类似地,帕比司他的O- β -半乳糖苷衍生物,化合物(26),可以通过4-甲酰基肉桂酸(27)与2-(2-甲基-1H-吲哚-3-基)乙胺(28)(如国际申请第W002/22577号中所述)和所保护的所得氨基酸的碱性氮的还原胺化来制备,例如作为苄氧基氨基甲酸酯(Fmoc)衍生物(29)。如前所述与化合物(24)偶联,然后依次去保护,得到帕比司他前药(26)。

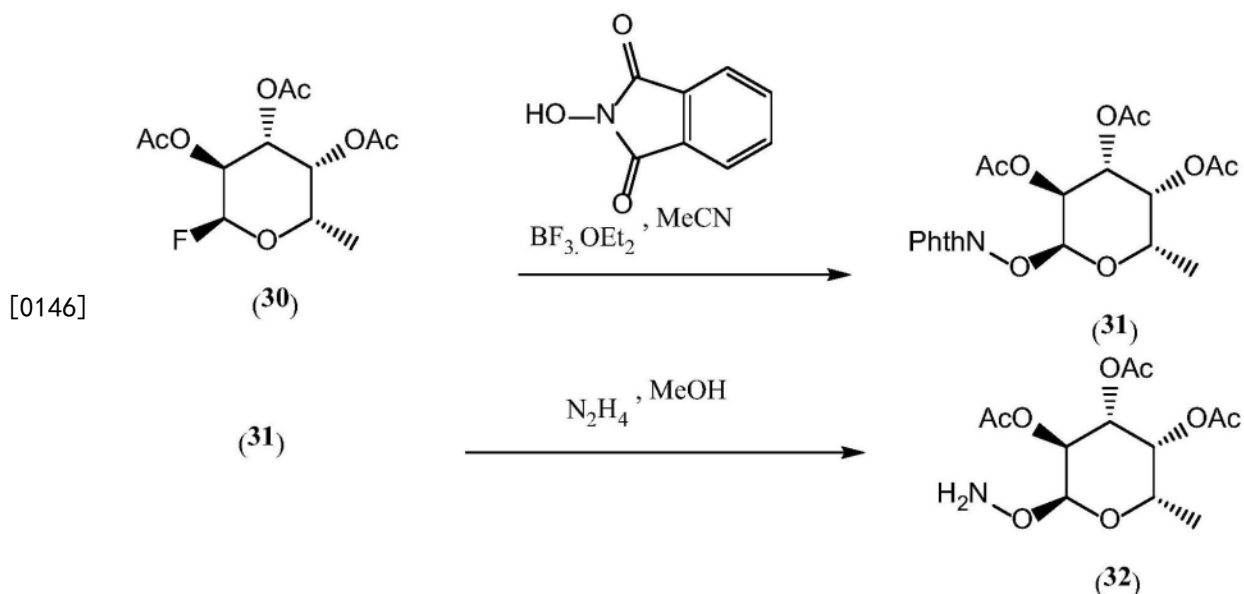
[0142]

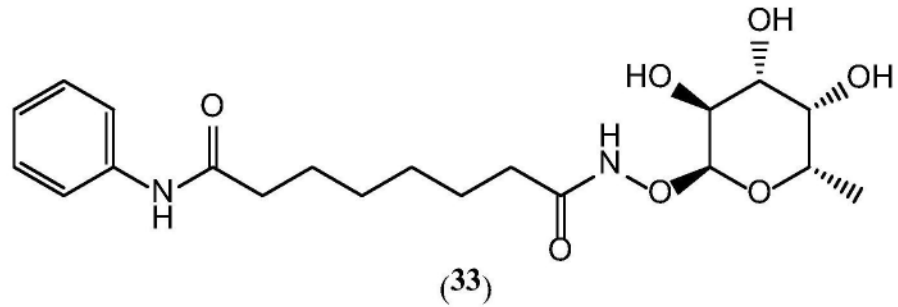
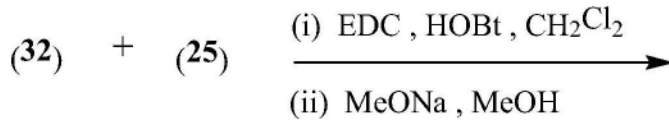




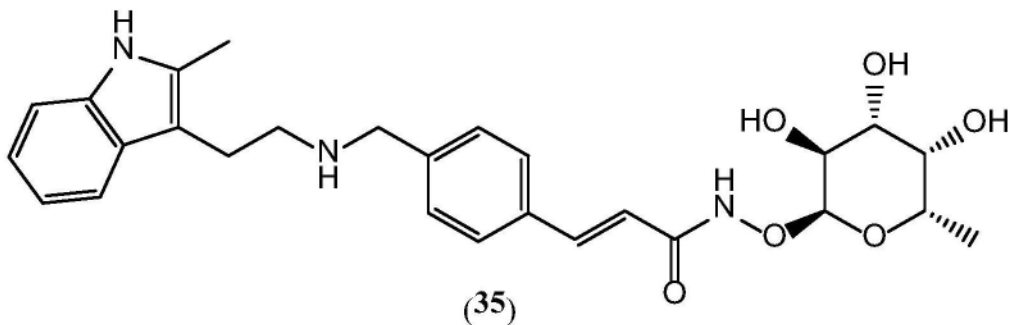
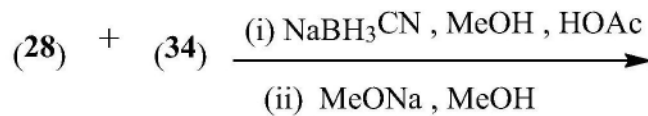
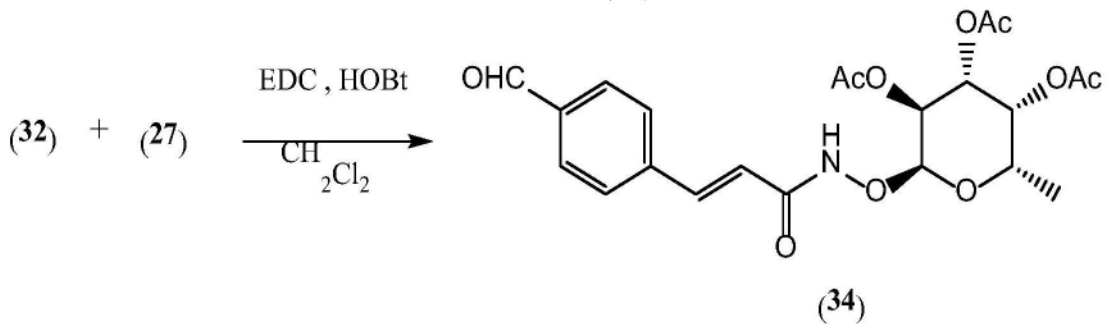
[0144] 在化合物(26)的替代路线中,化合物(24)首先与(27)偶联(例如,使用EDC、HOBt),并且所得的醛在还原胺化反应中用色胺衍生物(28)处理,其中甲醇钠介导的乙酰基保护基团的去除得到前药(26)。

[0145] 异羟肟酸衍生物组蛋白脱乙酰基酶抑制剂的特定 α -L-岩藻糖苷缀合物可以以类似的方式制备,从适当保护和活化的岩藻糖衍生物开始,其如Hou et al., Mater.Chem.Front.1(2017)660-667或美国申请第2015/0168374号中所述制备。例如,用N-羟基邻苯二甲酰亚胺处理1-氟-2,3,4-三-O-乙酰基-岩藻糖(30),以得到 α -和 β -L-岩藻糖基肟衍生物的混合物,其所需的 α 端基异构体(31)是极性较小的产物。然后用胍脱保护得到 α -L-岩藻糖基肟(32),其可以分别被进一步制备成SAHA和帕比司他的 α -L-岩藻糖苷前药,化合物(33)和(35):

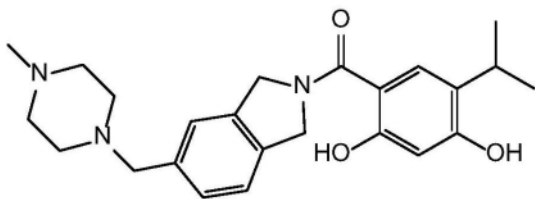




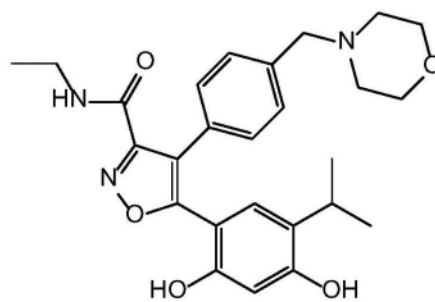
[0147]



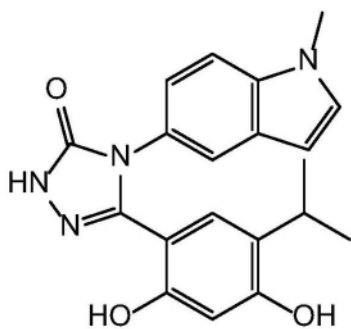
[0148] Hsp90抑制剂的示例为间苯二酚化合物AT13387 (onalespib (36))、NYP-AUY922 (luminespib (37))、ganetespib (38)、VER-50589 (39)、VER-49009 (40)、CCT018159 (41) 和 KW-2478 (42)、由SNX-2112 (43) 和 (SNX-7081) (44) 例举的2-(4-氨基环己醇)-苯甲酰胺衍生物。在一些实施例中,Hsp90抑制剂的O-半乳糖苷或O-岩藻糖苷缀合物是抗衰老化合物。在其他实施例中,Hsp90抑制剂的O-β-D-半乳糖苷或O-α-L-岩藻糖苷缀合物是抗衰老化合物。



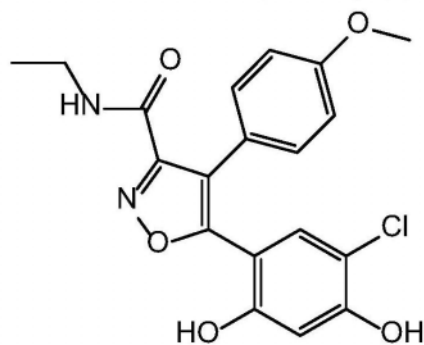
AT13387 (Onalespib) (36)



NVP-AUY922 (Luminespib) (37)

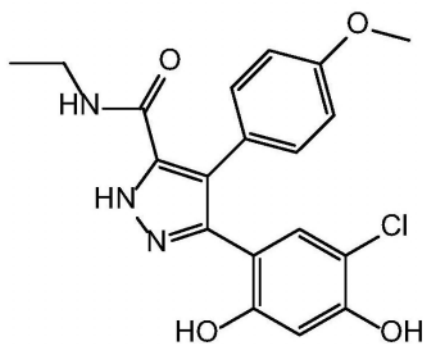


Ganetespib (38)

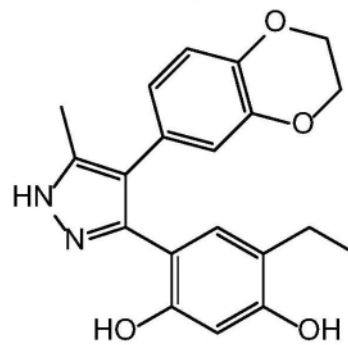


VER-50589 (39)

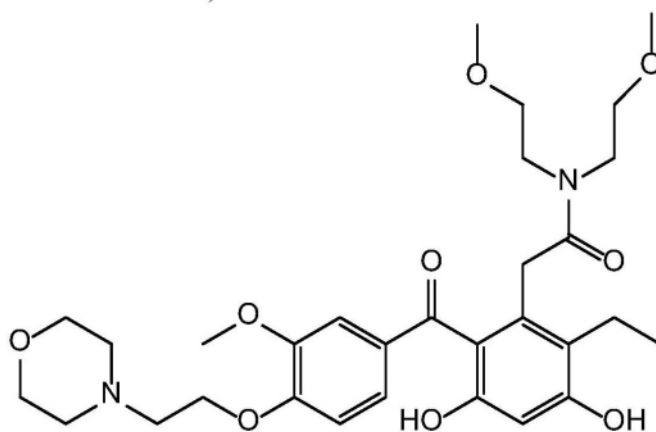
[0149]



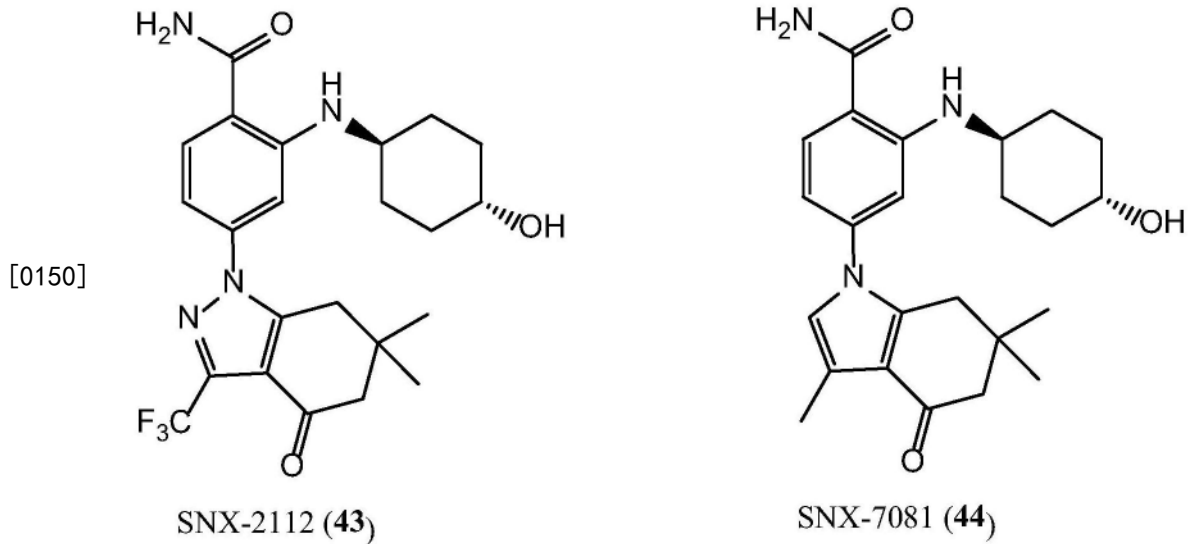
VER-49009 (40)



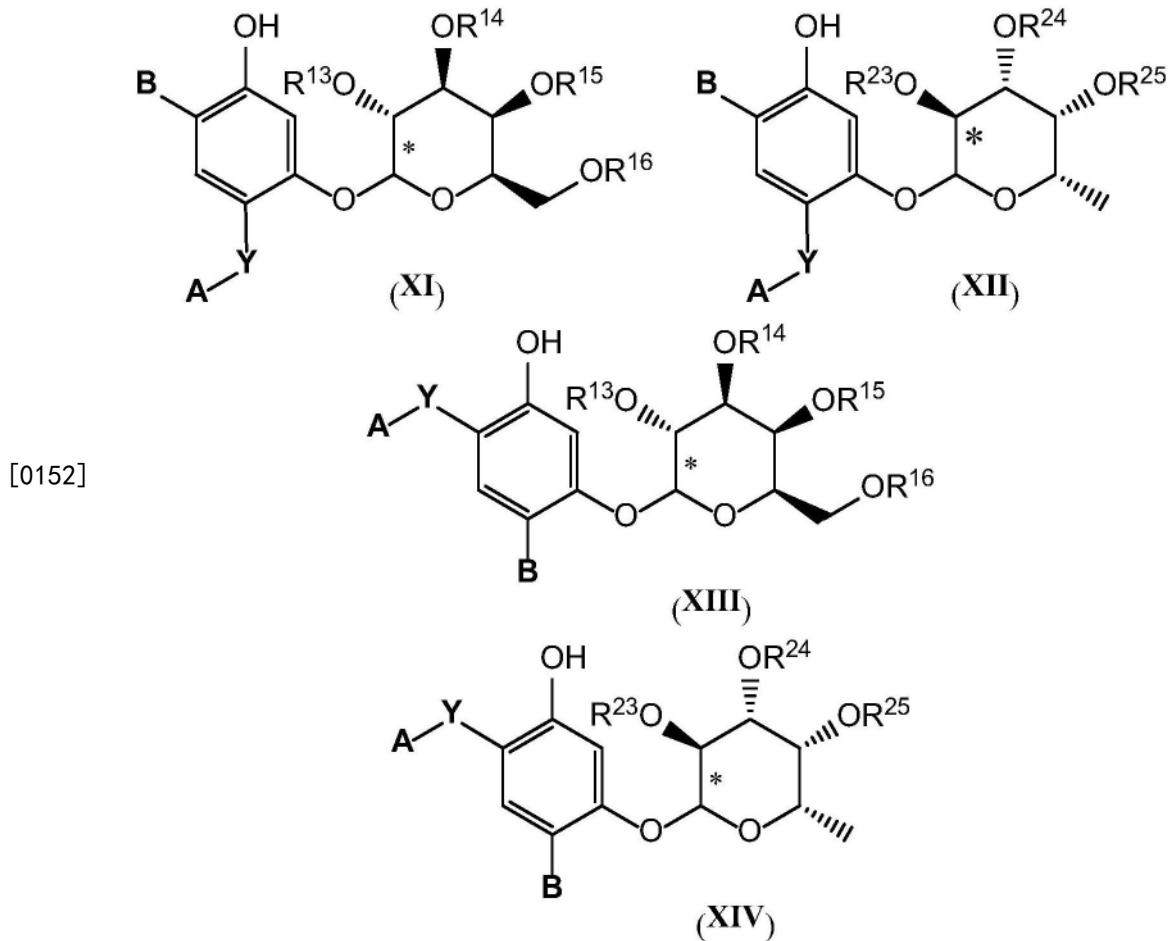
CCT018159 (41)



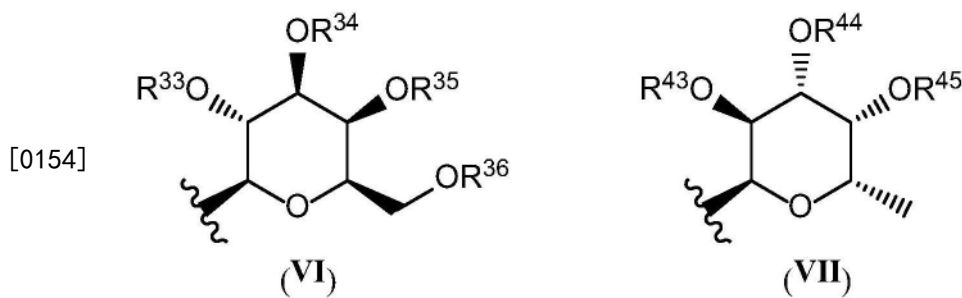
KW-2478 (42)



[0151] 在一些实施例中,式 (XI)、(XII)、(XIII) 或 (XIV) 的化合物是抗衰老剂:



[0153] 其中Y是羰基或者不存在;A是含有至少一个氮原子的取代的或苯并稠合的5元杂芳基或杂环基团;B选自由乙基、异丙基或氯组成的组; R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 、 R^{16} 、 R^{23} 、 R^{24} 和 R^{25} 各自独立地是氢、 $C(O)-R^1$ 、式 (VI) 的部分或式 (VII) 的部分;



[0155] R^{33} 、 R^{34} 、 R^{35} 、 R^{36} 、 R^{43} 、 R^{44} 和 R^{45} 各自独立地是氢或 $-C(O)-R^2$ ；每个 R^1 独立地是 C_{1-4} 烷基或苯基，条件是如果 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 或 R^{16} 之一是式(VI)或式(VII)的部分，那么 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 和 R^{16} 的剩余部分是氢或 $C(O)-R^1$ ；并且每个 R^2 独立地是 C_{1-4} 烷基或苯基，条件是如果 R^{23} 、 R^{24} 或 R^{25} 之一是式(VI)或式(VII)的部分，那么 R^{23} 、 R^{24} 或 R^{25} 的剩余部分是氢或 $-C(O)-R^1$ 。

[0156] 在式(XI)、(XII)、(XIII)或(XIV)的化合物的一些实施例中，吡喃糖环的异头碳(标记为*)为S构型，并且所述化合物分别为间苯二酚Hsp90抑制剂的 β -D-半乳糖苷和 α -L-岩藻糖苷缀合物。

[0157] 在式(XI)、(XII)、(XIII)或(XIV)的化合物的一些实施例中，部分 $A-Y-C_6H_2(OH)_2-B$ 是选自luminespib(NVP-AUY922)、ganetespib、VER-50589、AT13387和KW-2478组成的组的Hsp90抑制剂。

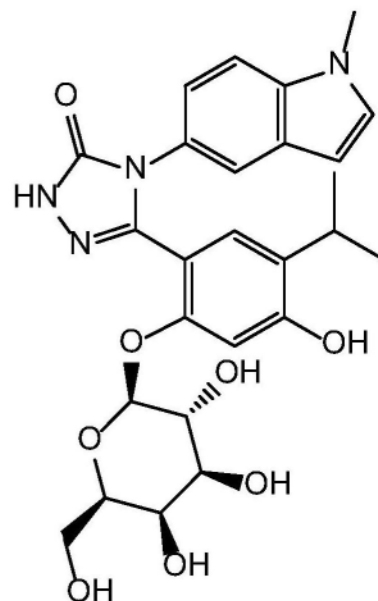
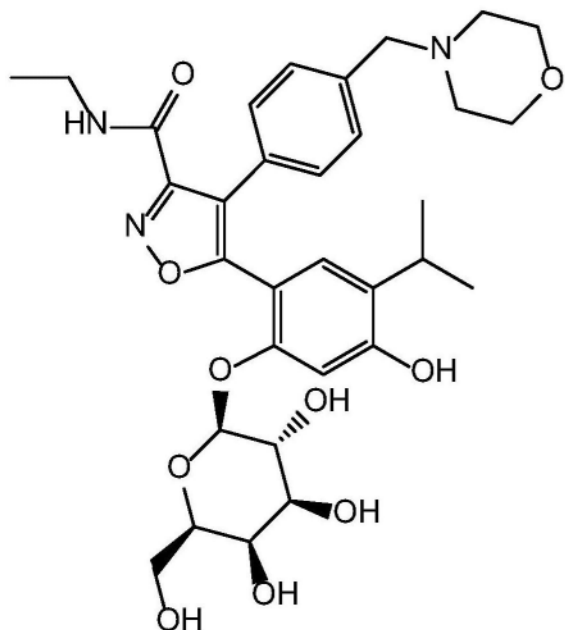
[0158] 在式(XI)的化合物的一些实施例中， R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 和 R^{16} 各自是氢。在式(XII)的化合物的一些实施例中， R^{23} 、 R^{24} 和 R^{25} 各自是氢。在式(XIII)的化合物的一些实施例中， R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 和 R^{16} 各自是氢。在式(XIV)的化合物的一些实施例中， R^{23} 、 R^{24} 和 R^{25} 各自是氢。

[0159] 在式(XI)的化合物的一些实施例中， R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 和 R^{16} 各自独立地是 $-C(O)-R^1$ ，其中 R^1 是 C_{1-4} 烷基或苯基。在式(XII)的化合物的一些实施例中， R^{23} 、 R^{24} 和 R^{25} 各自独立地是 $-C(O)-R^1$ ，其中 R^1 是 C_{1-4} 烷基或苯基。在式(XIII)的化合物的一些实施例中， R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 和 R^{16} 各自独立地是 $-C(O)-R^1$ ，其中 R^1 是 C_{1-4} 烷基或苯基。在式(XIV)的化合物的一些实施例中， R^{23} 、 R^{24} 和 R^{25} 各自独立地是 $-C(O)-R^1$ ，其中 R^1 是 C_{1-4} 烷基或苯基。

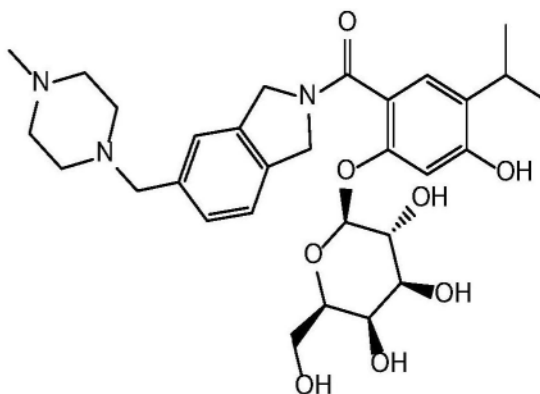
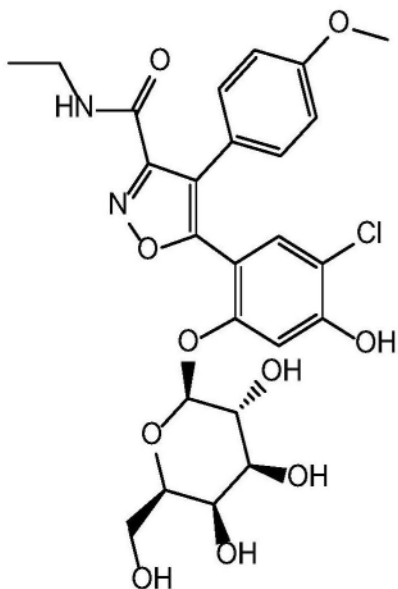
[0160] 在式(XI)的化合物的一些实施例中， R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 和 R^{16} 各自是 $-C(O)-R^1$ ，其中 R^1 是甲基。在式(XII)的化合物的一些实施例中， R^{23} 、 R^{24} 和 R^{25} 各自是 $-C(O)-R^1$ ，其中 R^1 是甲基。在式(XIII)的化合物的一些实施例中， R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 和 R^{16} 各自是 $-C(O)-R^1$ ，其中 R^1 是甲基。在式(XIV)的化合物的一些实施例中， R^{23} 、 R^{24} 和 R^{25} 各自是 $-C(O)-R^1$ ，其中 R^1 是甲基。

[0161] 在式(XI)化合物的一些实施例中， R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 和 R^{16} 各自是 $-C(O)-R^1$ ，其中 R^1 是乙基。在式(XII)的化合物的一些实施例中， R^{23} 、 R^{24} 和 R^{25} 各自是 $-C(O)-R^1$ ，其中 R^1 是乙基。在式(XIII)的化合物的一些实施例中， R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 和 R^{16} 各自是 $-C(O)-R^1$ ，其中 R^1 是乙基。在式(XIV)的化合物的一些实施例中， R^{23} 、 R^{24} 和 R^{25} 各自是 $-C(O)-R^1$ ，其中 R^1 是乙基。

[0162] 在进一步的实施例中，式(XI)的化合物是具有以下结构中的任何一种的化合物：

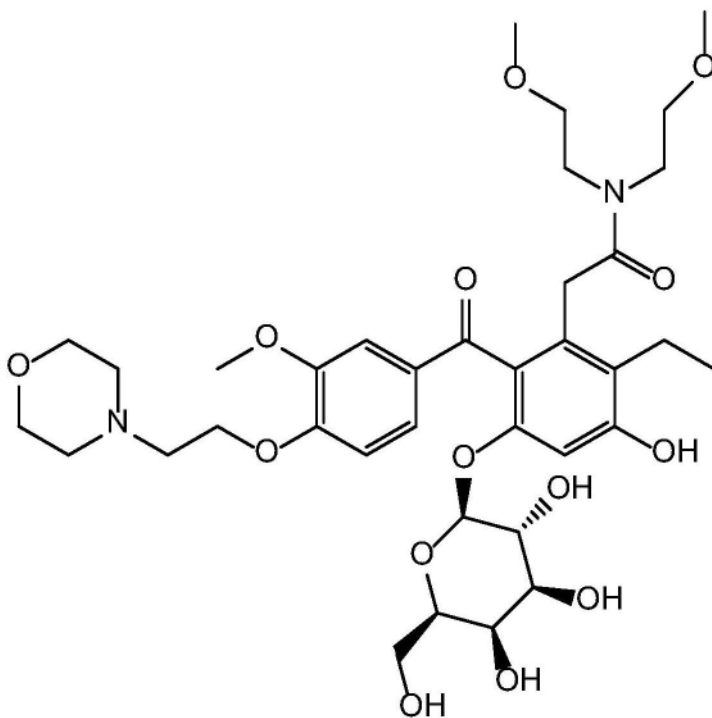


[0163]



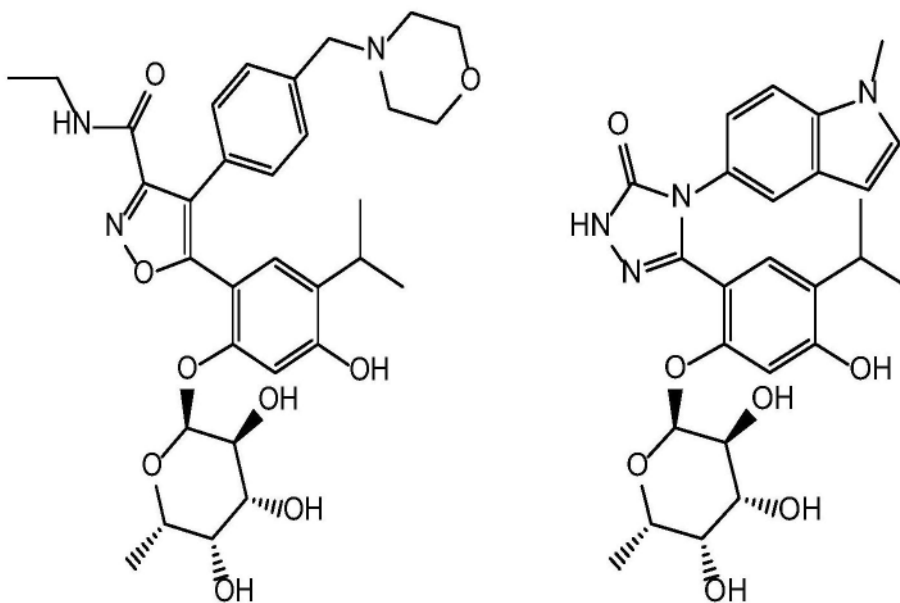
和

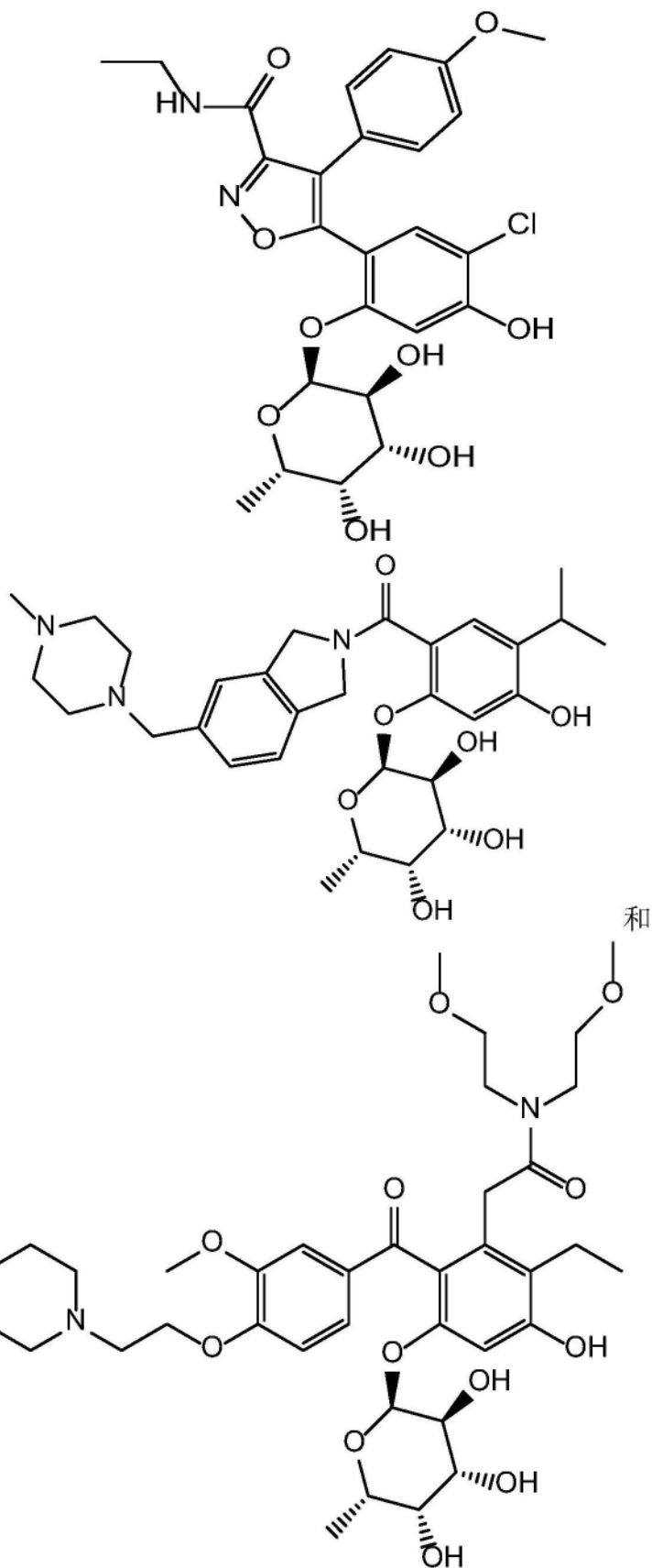
[0164]



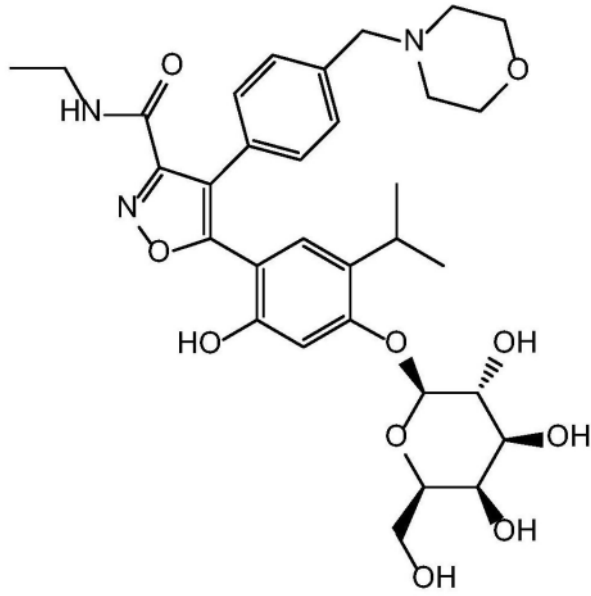
[0165] 在进一步的实施例中,式(XII)的化合物是具有以下结构中的任何一种的化合物:

[0166]

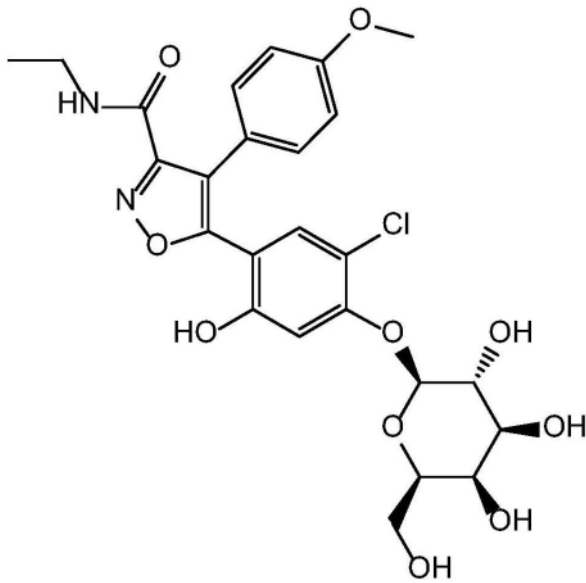
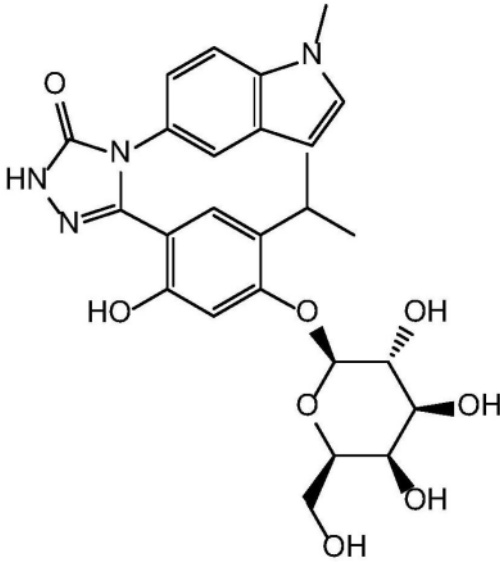


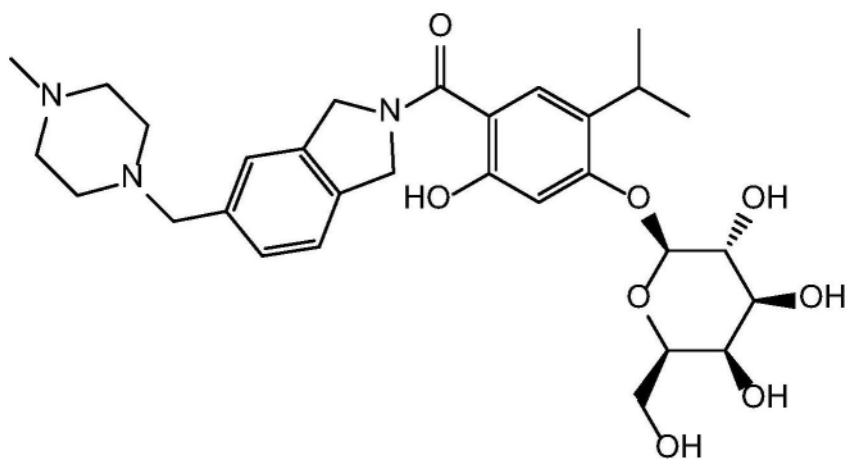


[0168] 在进一步的实施例中,式(XIII)的化合物是具有以下结构中的任何一种的化合物:

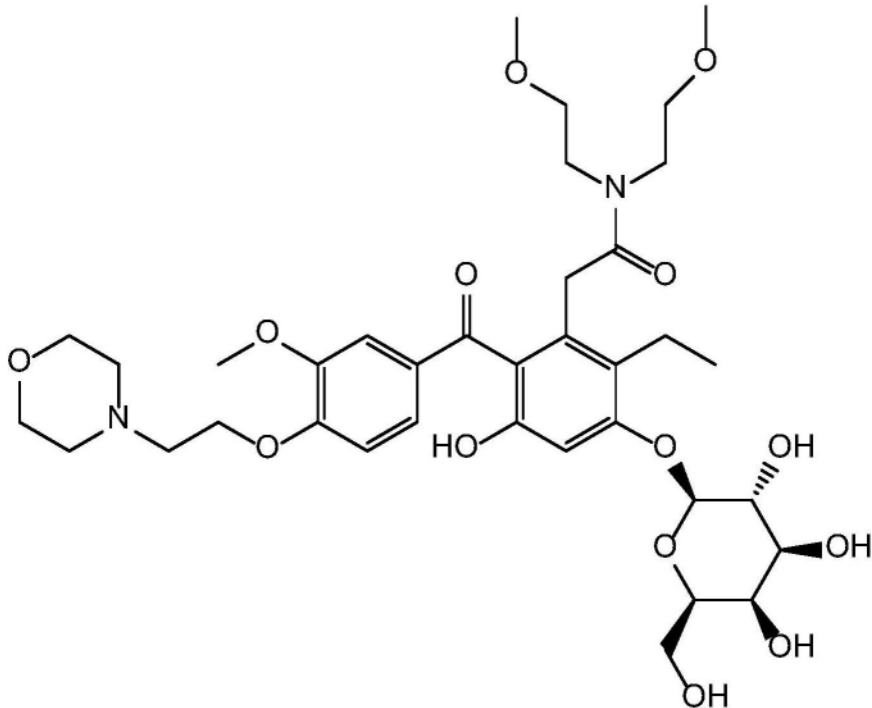


[0169]

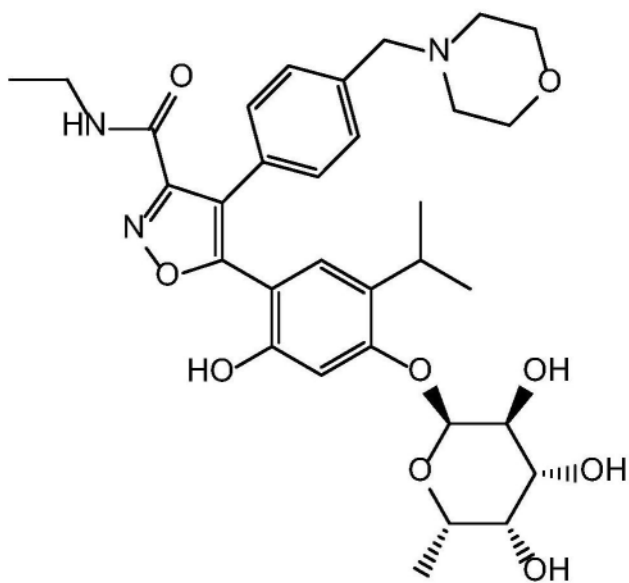




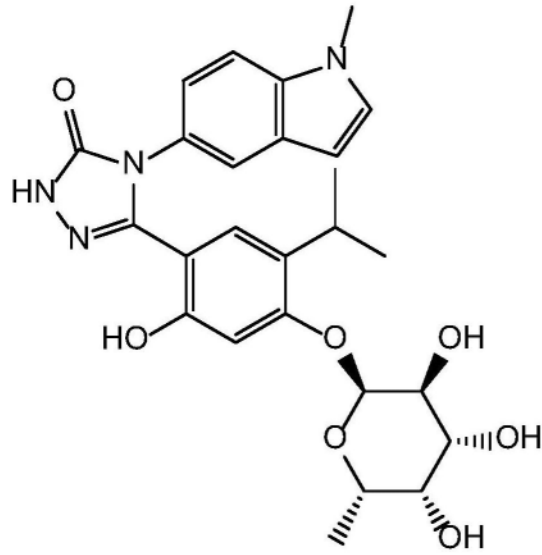
[0170]



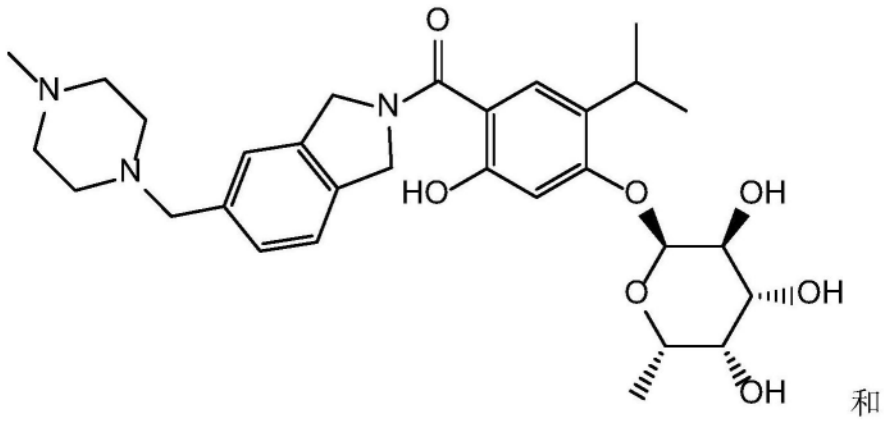
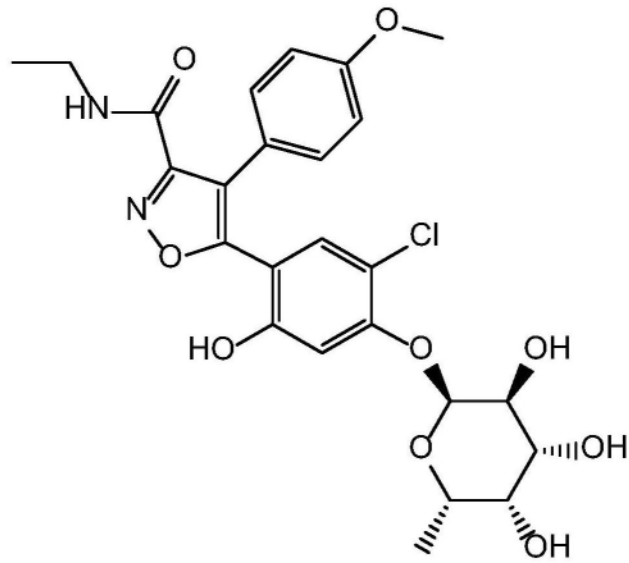
[0171] 在进一步的实施例中,式 (XIV) 的化合物是具有以下结构中的任何一种的化合物:



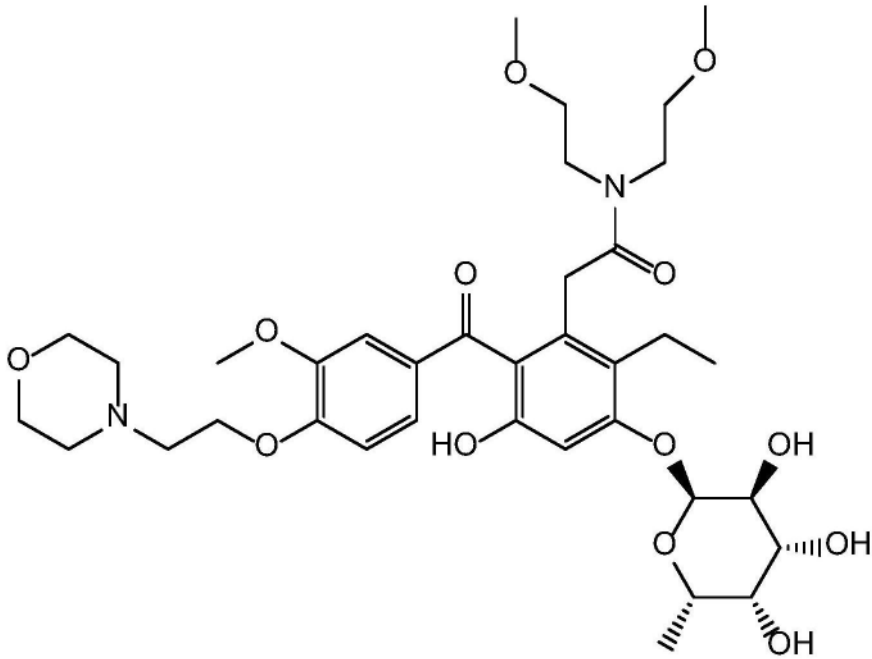
[0172]



[0173]

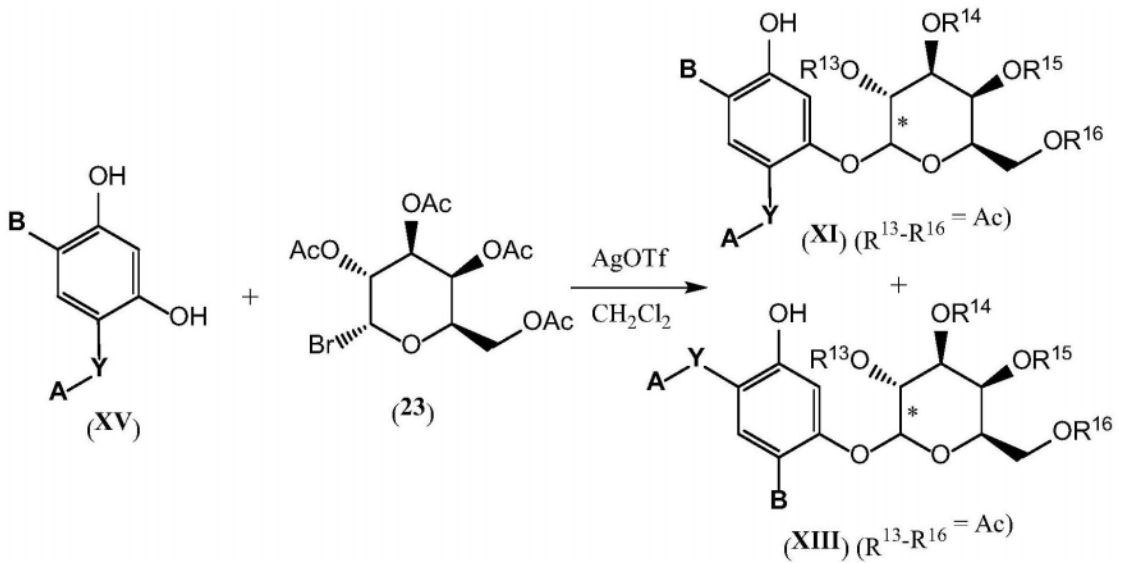


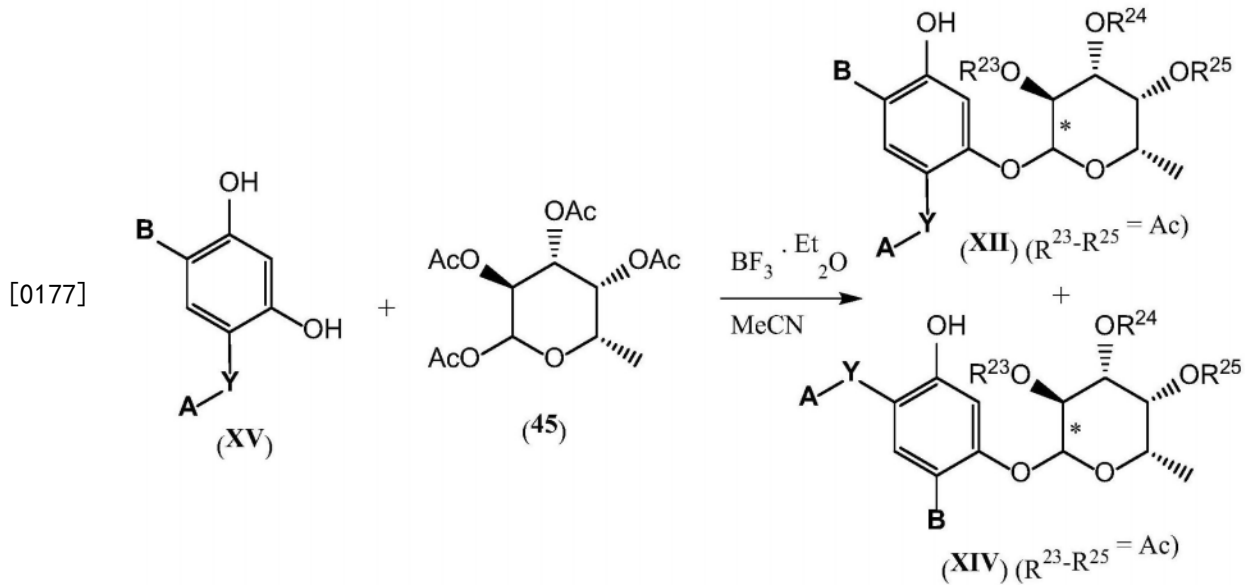
[0174]



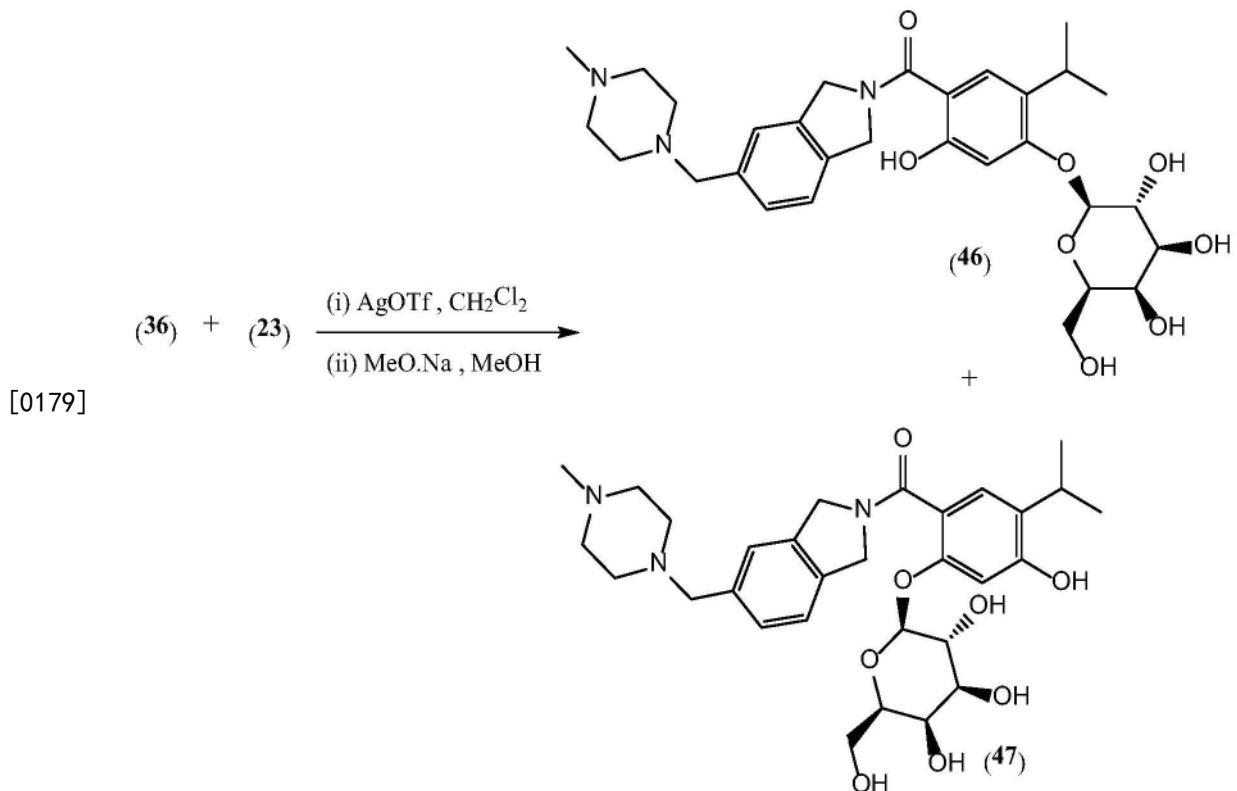
[0175] 式(XI)和(XIII)的化合物可以通过式(XV)的化合物与受保护的D-半乳糖基供体部分在经典的 BF_3 介导的糖基化或柯尼希斯-克诺尔偶联条件下反应来制备,其中所得的区域异构体通过色谱手段分离。可替代地,间苯二酚化合物(XV)的酚羟基可以首先被选择性保护,以允许区域选择性糖基化。

[0176]

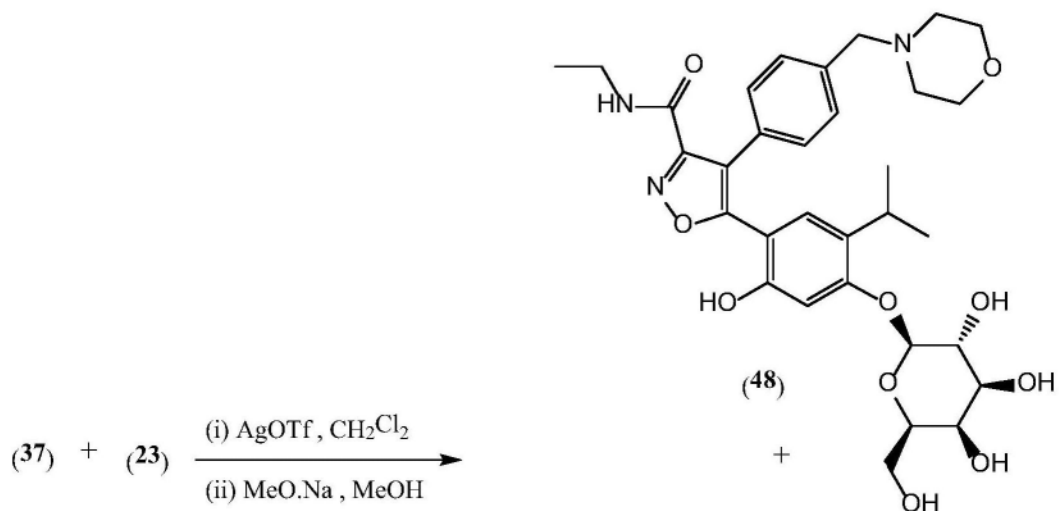




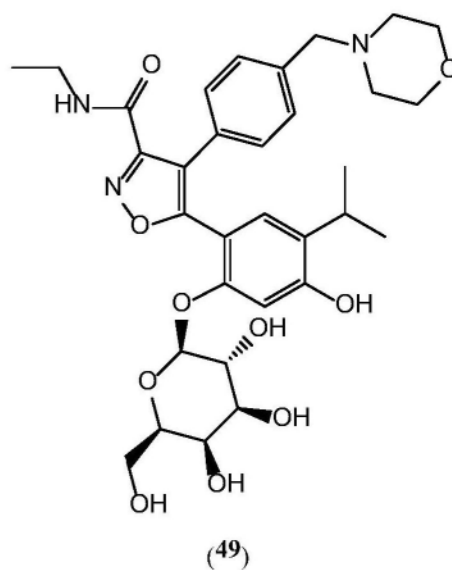
[0178] 具体而言,AT13387 (36) (如美国专利第8,779,132号所述制备)的0- β -半乳糖苷缀合物,即化合物(46)和(47),可以按照Shie et al., Carbohydrate Res. 341 (2006) 443-456的方法,通过(36)与(23)的反应来制备。



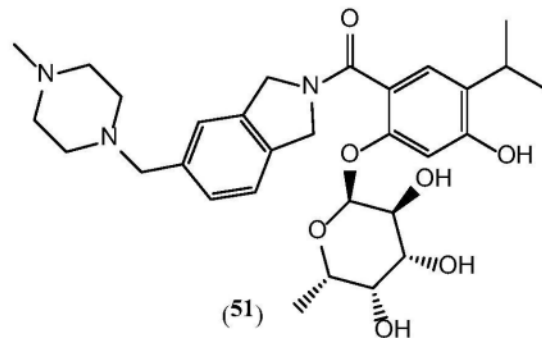
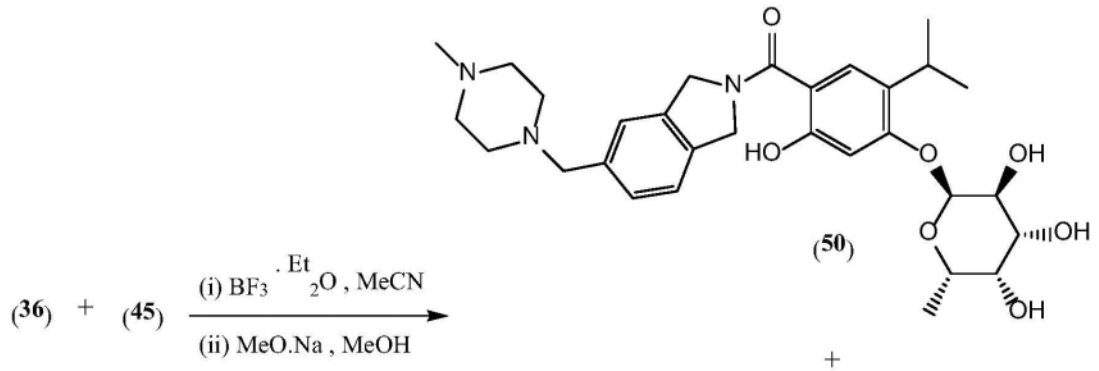
[0180] 类似地,NVP-AUY922 (37) (如Brough et al., J. Med. Chem. 51 (2008) 196-218中所述制备)的0- β -半乳糖苷缀合物,即化合物(48)和(49),可以通过(37)与(23)的反应来制备:



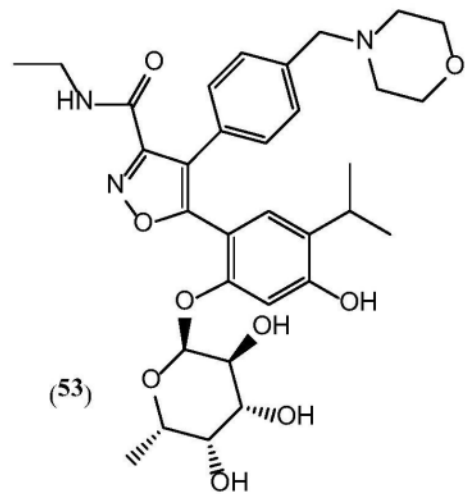
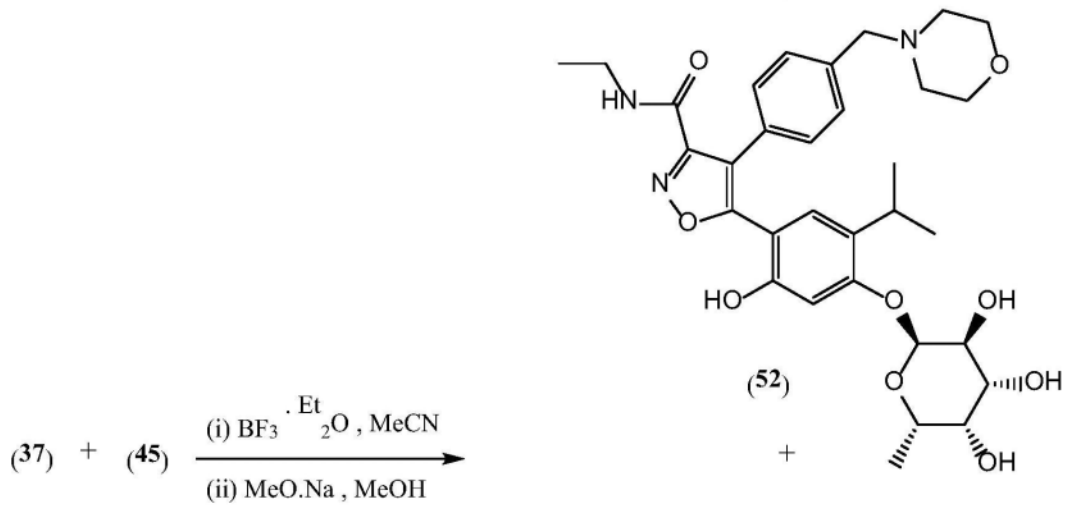
[0181]



[0182] 化合物 (50) - (53), Hsp90 抑制剂 (36) 和 (37) 的特定 α -L-岩藻糖苷缀合物, 可以以类似的方式从受保护的岩藻糖衍生物 (45) 开始制备:

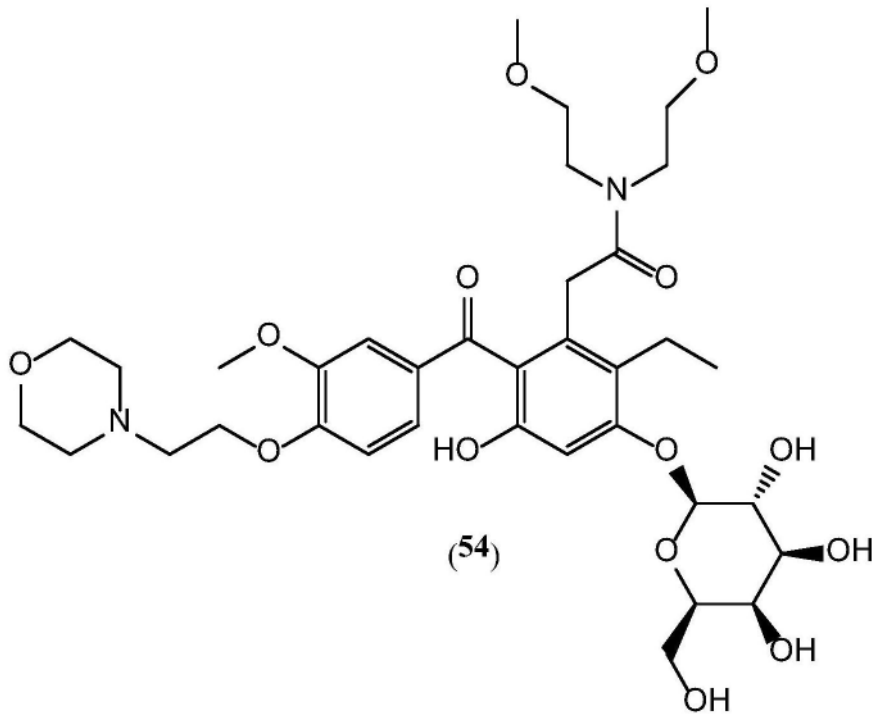


[0183]

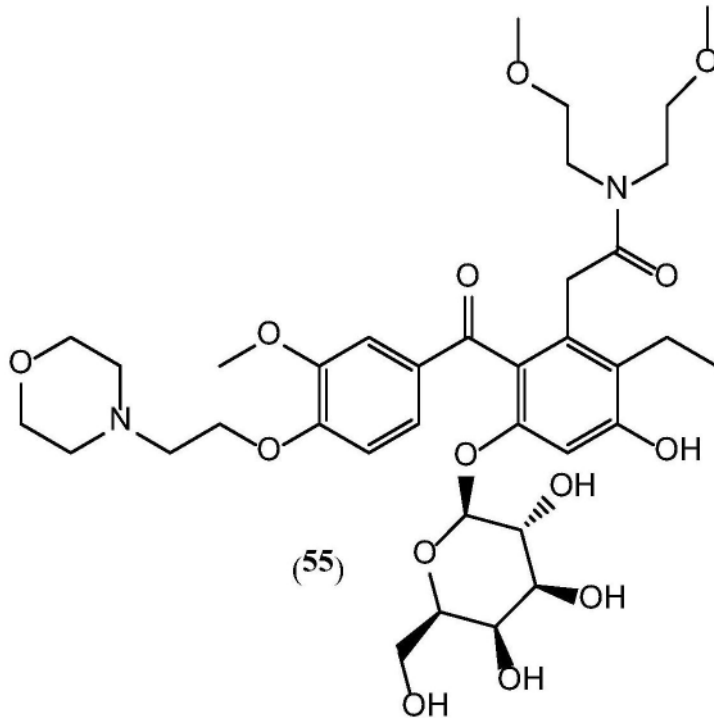


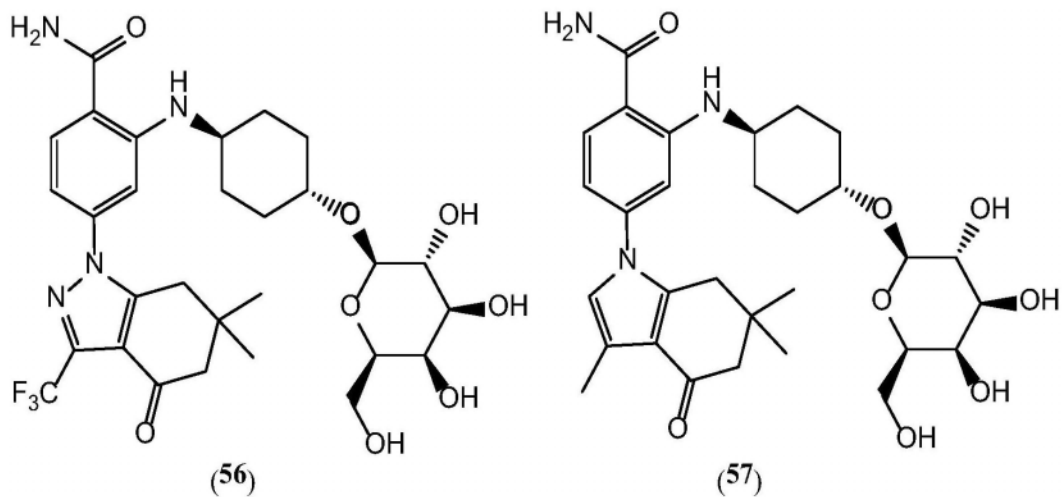
[0184] 可以以类似的方式来制备KW-2478 (42) (即化合物 (54) 和 (55))、SNX-2112 (43) (即化合物 (56)) 和SNX-7081 (44) (即化合物 (57)) 的0-β-半乳糖苷缀合物以及KW-2478 (42) (即

化合物(58)和(59))、SNX-2112(43)(即化合物(60))和SNX-7081(44)(即化合物(61))的O- α -岩藻糖苷缀合物。

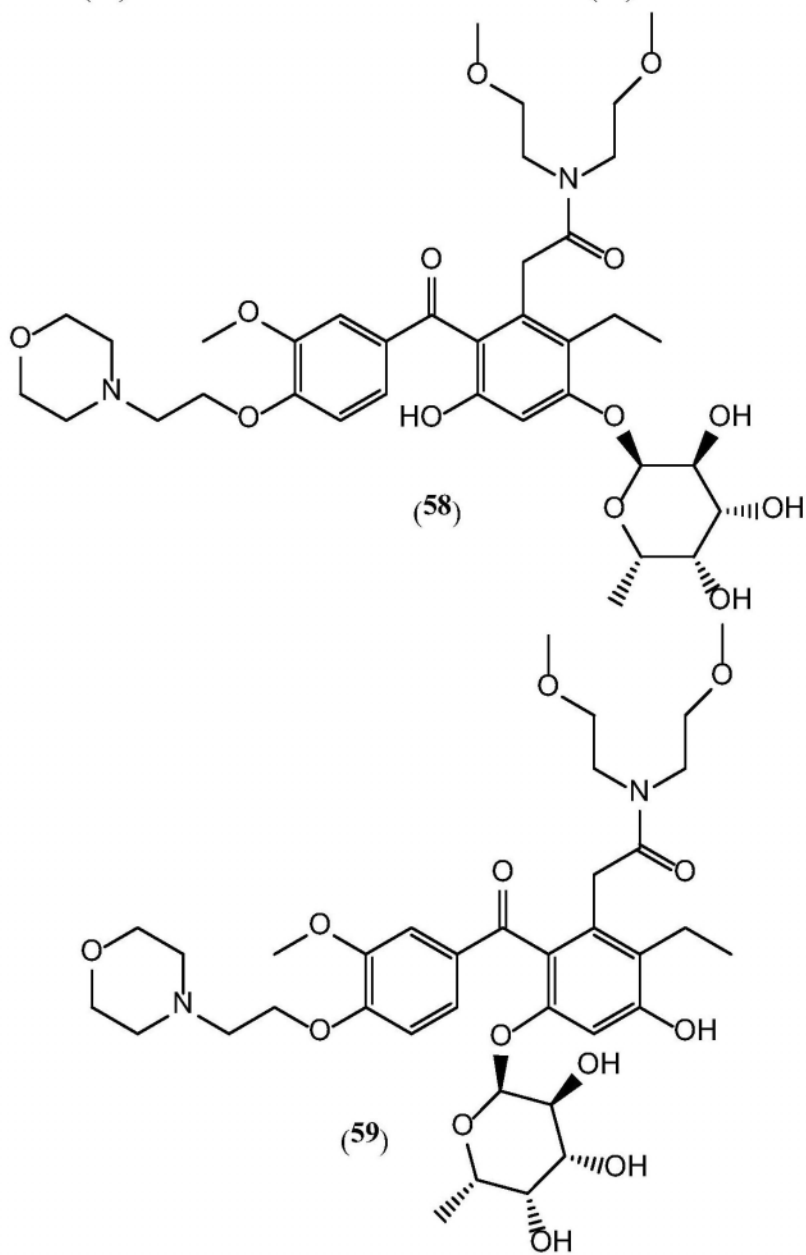


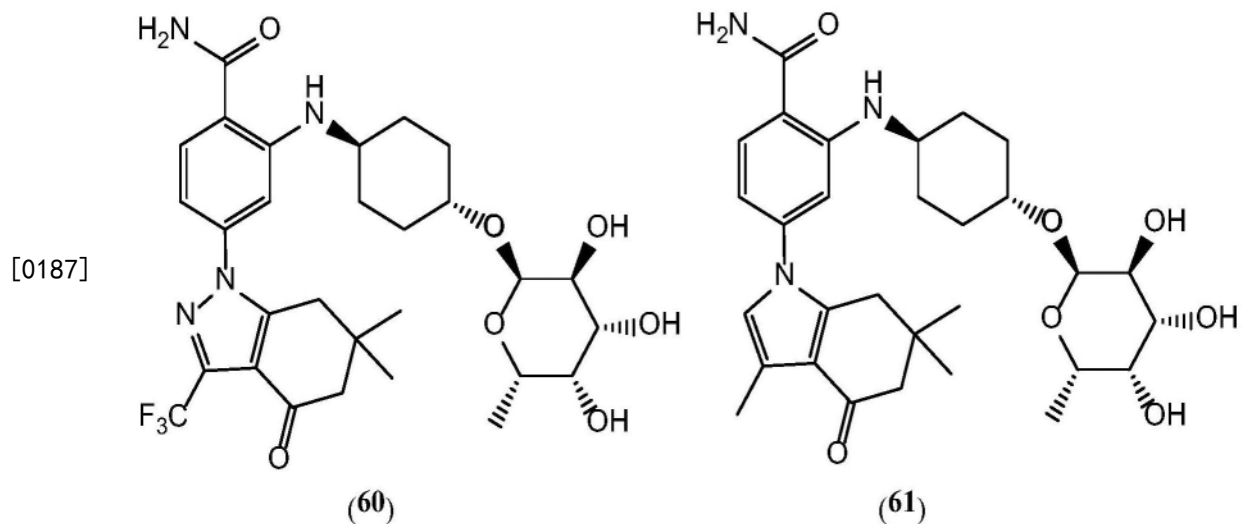
[0185]



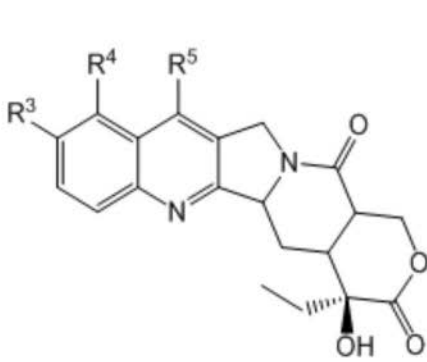


[0186]

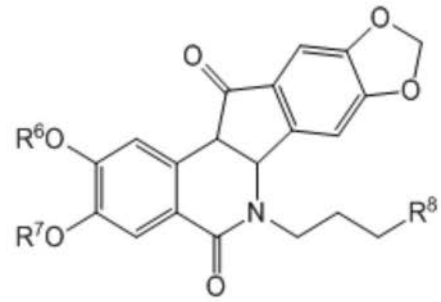





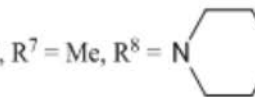
[0188] 还有其他实施例涉及拓扑异构酶I (TOP1) 抑制化合物的O-D-半乳糖基和O-L-岩藻糖基缀合物作为抗衰老化合物。喜树碱 (62) (一种细胞毒性五环喹啉生物碱天然产物) 是典型的TOP1抑制剂, 并且许多合成类似物 (包含SN-38 (63) 和拓扑替康 (64)) 已经在临床或临床前作为抗癌剂进行了研究 (参见, 例如Jain et al., *Current Genomics* 18(2017) 75-92; 和Liu et al., *Med. Res. Rev.* 35(2015) 753-789)。TOP1抑制剂的其他重要结构类别包含茚并异喹啉 (以化合物 (65) - (70) 为例), (参见, 例如Cinelli et al., *J. Med. Chem.* 55(2012) 10844-10862; 和Lv et al., *J. Med. Chem.* 59(2016) 4890-4899) 和二苯并萘啶酮 (以化合物 (71) - (73) 为例), (参见, 例如Sooryakumar et al., *Mol. Cancer Ther.* 10(2011) 1490-1499)。

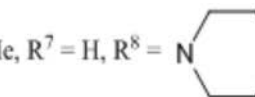


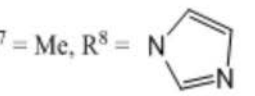
$R^3 = R^4 = R^5 = H$; 喜树碱 (62)
 $R^3 = OH, R^4 = H, R^5 = Et$; SN-38 (63)
 $R^3 = OH, R^4 = CH_2NMe_2, R^5 = H$; 托泊替康 (64)

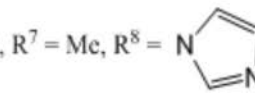


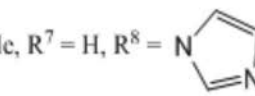
$R^6 = R^7 = Me, R^8 =$  ; 依立替康 (65)

$R^6 = H, R^7 = Me, R^8 =$  (66)

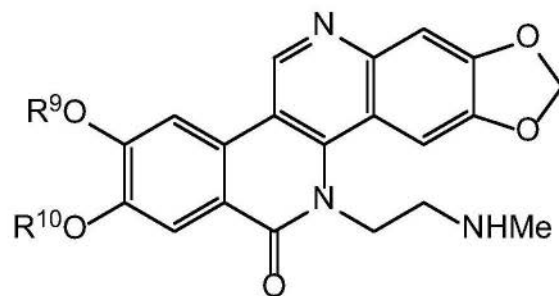
$R^6 = Me, R^7 = H, R^8 =$  (67)

$R^6 = R^7 = Me, R^8 =$  ; 茵米替康 (68)

$R^6 = H, R^7 = Me, R^8 =$  (69)

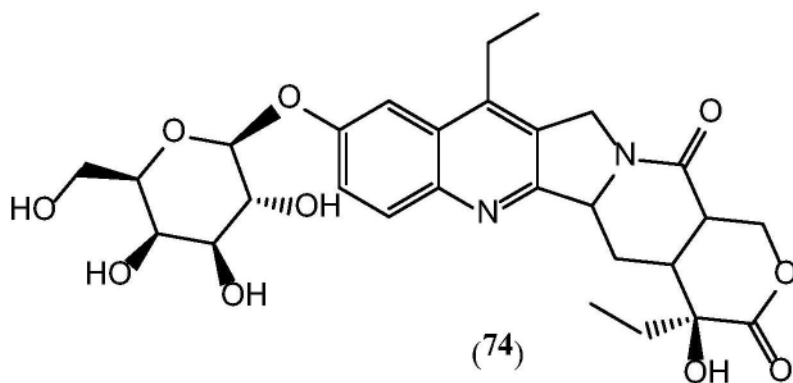
$R^6 = Me, R^7 = H, R^8 =$  (70)

[0189]

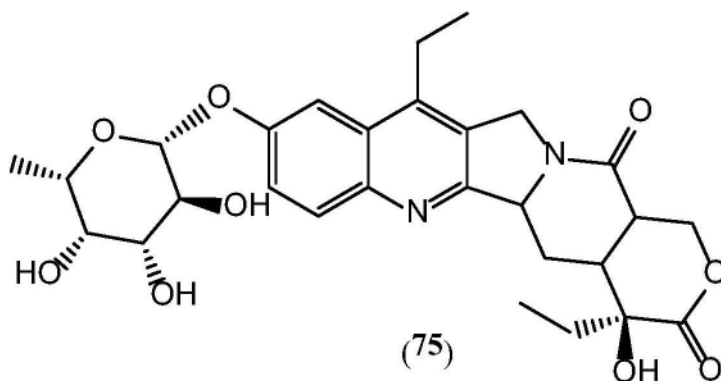


$R^9 = R_{10} = Me$; Genz-644282 (71)
 $R^9 = H, R_{10} = Me$ (72)
 $R^9 = Me, R_{10} = H$ (73)

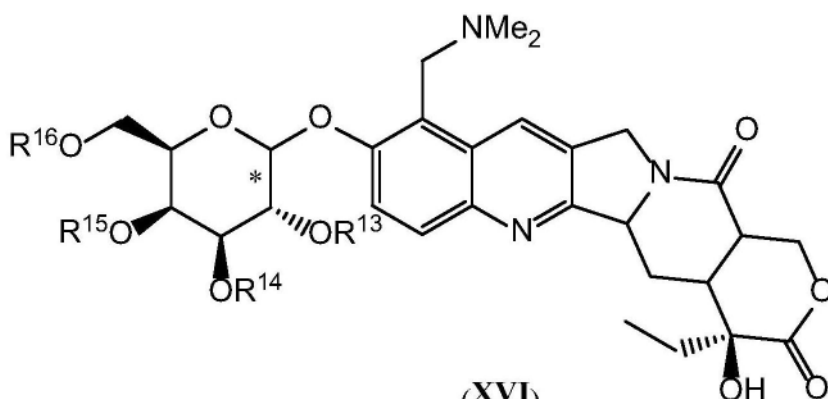
[0190] SN-38 (74) 的O-β-D-半乳糖苷缀合物(中国专利第CN1534046号,2004)和SN-38 (75) 的O-β-L-岩藻糖苷缀合物(日本专利第JP6328098号,1988)先前已经被公开作为抗肿瘤剂。



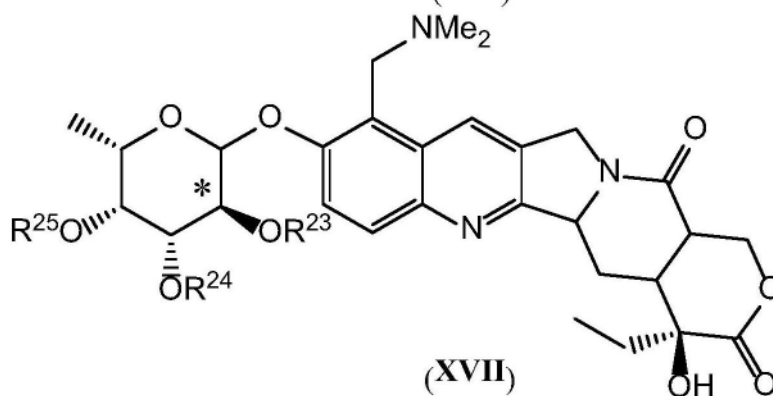
[0191]

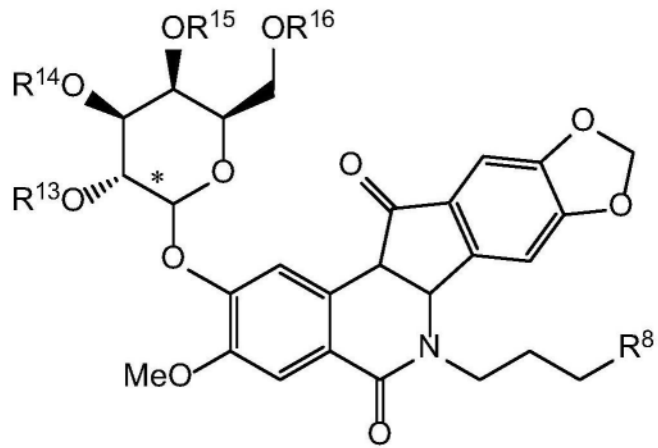


[0192] 在一些实施例中,式 (XVI)、(XVII)、(XVIII)、(XIX)、(XX)、(XXI)、(XXII)、(XXIII)、(XXIV) 或 (XXV) 的化合物是抗衰老剂:



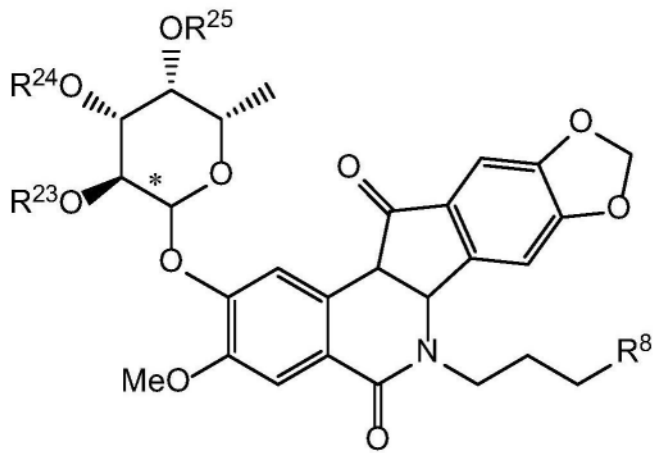
[0193]



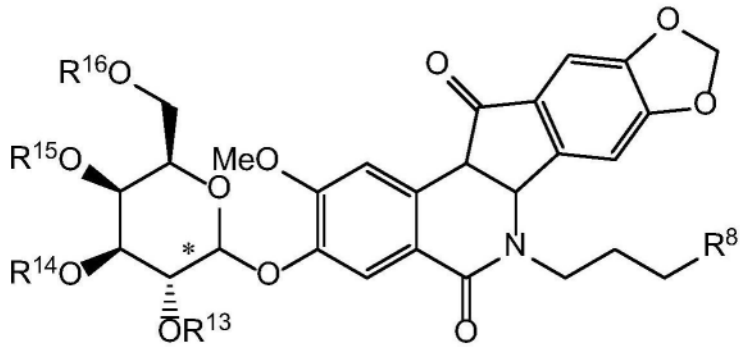


(XVIII)

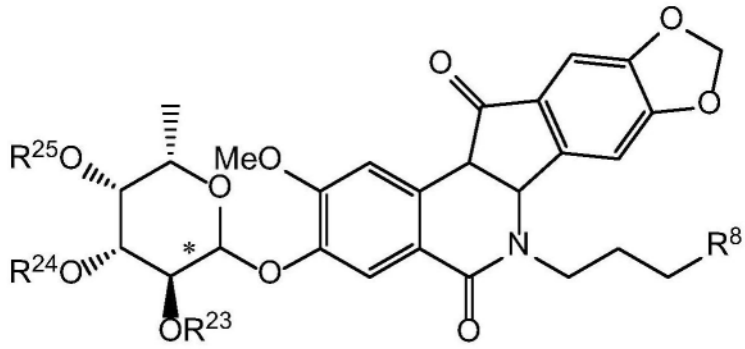
[0194]



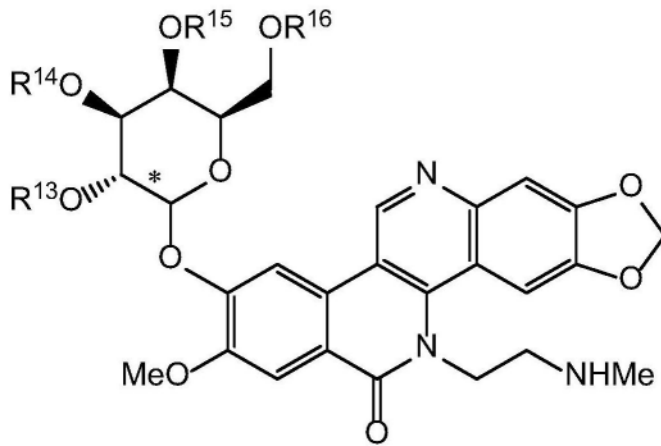
(XIX)



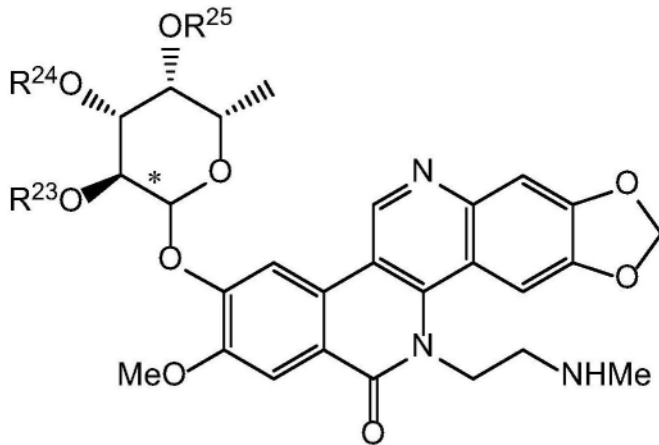
(XX)



(XXI)

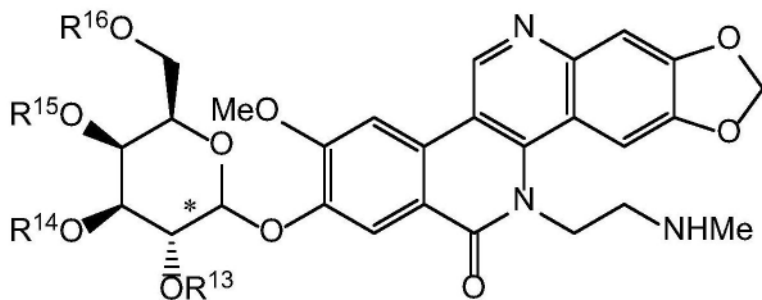


(XXII)



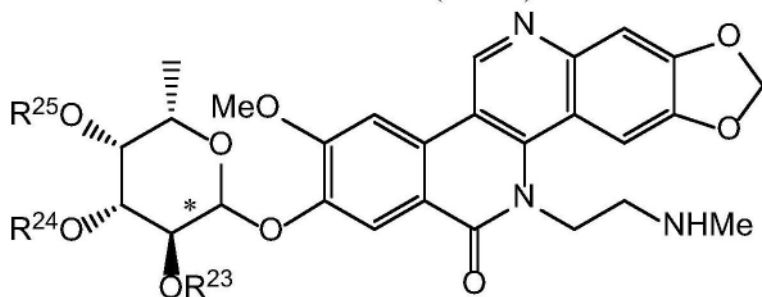
(XXIII)

[0195]



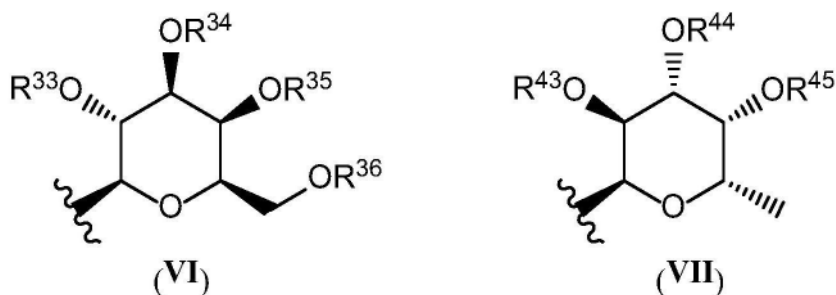
(XXIV)

[0196]



(XXV)

[0197] 其中R⁸是含有至少一个氮原子的杂芳基或杂环基团；R¹³、R¹⁴、R¹⁵、R¹⁶、R²³、R²⁴和R²⁵各自独立地是氢、-C(O)-R¹、式(VI)的部分或式(VII)的部分：



[0198]

(VI)

(VII)

[0199] R³³、R³⁴、R³⁵、R³⁶、R⁴³、R⁴⁴和R⁴⁵各自独立地是氢或-C(O)-R²；每个R¹独立地是C₁₋₄烷基或苯基，条件是如果R¹³、R¹⁴、R¹⁵或R¹⁶之一是式(VI)或式(VII)的部分，那么R¹³、R¹⁴、R¹⁵和R¹⁶的剩余部分是氢或C(O)-R¹；并且每个R²独立地是C₁₋₄烷基或苯基，条件是如果R²³、R²⁴或R²⁵之一是式(VI)或式(VII)的部分，那么R²³、R²⁴或R²⁵的剩余部分是氢或-C(O)-R¹。

[0200] 在式(XVI)、(XVII)、(XVIII)、(XIX)、(XX)、(XXI)、(XXII)、(XXIII)、(XXIV)或(XXV)的化合物的一些实施例中，吡喃糖环的异头碳(标记为*)具有S构型，并且这些化合物分别是TOP1抑制剂的β-D-半乳糖苷和α-L-岩藻糖苷缀合物。在式(XVIII)、(XIX)、(XX)或(XXI)的化合物的其他实施例中，R⁸是4-吗啉基或1-咪唑基。

[0201] 在式(XVI)的化合物的一些实施例中，R¹³、R¹⁴、R¹⁵和R¹⁶各自是氢。在式(XVII)的化合物的一些实施例中，R²³、R²⁴和R²⁵各自是氢。在式(XVIII)的化合物的一些实施例中，R¹³、R¹⁴、R¹⁵和R¹⁶各自是氢。在式(XIX)的化合物的一些实施例中，R²³、R²⁴和R²⁵各自是氢。在式(XX)的化合物的一些实施例中，R¹³、R¹⁴、R¹⁵和R¹⁶各自是氢。在式(XXI)的化合物的一些实施例中，R²³、R²⁴和R²⁵各自是氢。在式(XXII)的化合物的一些实施例中，R¹³、R¹⁴、R¹⁵和R¹⁶各自是氢。在式(XXIII)的化合物的一些实施例中，R²³、R²⁴和R²⁵各自是氢。在式(XXIV)的化合物的

一些实施例中, R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 和 R^{16} 各自是氢。在式 (XXV) 的化合物的一些实施例中, R^{23} 、 R^{24} 和 R^{25} 各自是氢。

[0202] 在式 (XVI) 的化合物的一些实施例中, R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 和 R^{16} 各自独立地是 $-C(O)-R^1$, 其中 R^1 是 C_{1-4} 烷基或苯基。在式 (XVII) 的化合物的一些实施例中, R^{23} 、 R^{24} 和 R^{25} 各自独立地是 $-C(O)-R^1$, 其中 R^1 是 C_{1-4} 烷基或苯基。在式 (XVIII) 的化合物的一些实施例中, R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 和 R^{16} 各自独立地是 $-C(O)-R^1$, 其中 R^1 是 C_{1-4} 烷基或苯基。在式 (XIX) 的化合物的一些实施例中, R^{23} 、 R^{24} 和 R^{25} 各自独立地是 $-C(O)-R^1$, 其中 R^1 是 C_{1-4} 烷基或苯基。在式 (XX) 的化合物的一些实施例中, R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 和 R^{16} 各自独立地是 $-C(O)-R^1$, 其中 R^1 是 C_{1-4} 烷基或苯基。在式 (XXI) 的化合物的一些实施例中, R^{23} 、 R^{24} 和 R^{25} 各自独立地是 $-C(O)-R^1$, 其中 R^1 是 C_{1-4} 烷基或苯基。在式 (XXII) 的化合物的一些实施例中, R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 和 R^{16} 各自独立地是 $-C(O)-R^1$, 其中 R^1 是 C_{1-4} 烷基或苯基。在式 (XXIII) 的化合物的一些实施例中, R^{23} 、 R^{24} 和 R^{25} 各自独立地是 $-C(O)-R^1$, 其中 R^1 是 C_{1-4} 烷基或苯基。在式 (XXIV) 的化合物的一些实施例中, R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 和 R^{16} 各自独立地是 $-C(O)-R^1$, 其中 R^1 是 C_{1-4} 烷基或苯基。在式 (XXV) 的化合物的一些实施例中, R^{23} 、 R^{24} 和 R^{25} 各自独立地是 $-C(O)-R^1$, 其中 R^1 是 C_{1-4} 烷基或苯基。

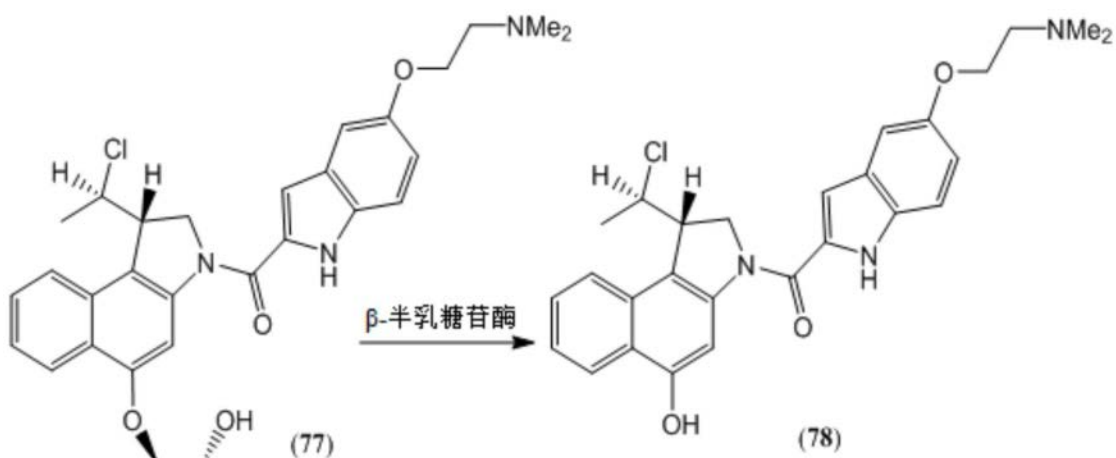
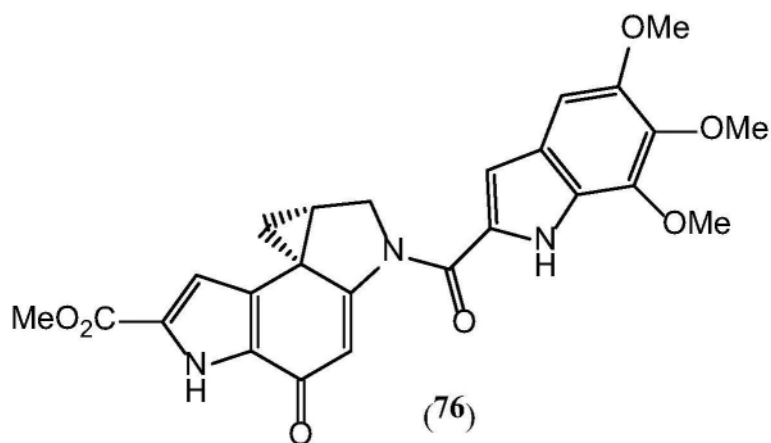
[0203] 在式 (XVI) 的化合物的一些实施例中, R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 和 R^{16} 各自是 $-C(O)-R^1$, 其中 R^1 是甲基。在式 (XVII) 的化合物的一些实施例中, R^{23} 、 R^{24} 和 R^{25} 各自是 $-C(O)-R^1$, 其中 R^1 是甲基。在式 (XVIII) 的化合物的一些实施例中, R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 和 R^{16} 各自是 $-C(O)-R^1$, 其中 R^1 是甲基。在式 (XIX) 的化合物的一些实施例中, R^{23} 、 R^{24} 和 R^{25} 各自是 $-C(O)-R^1$, 其中 R^1 是甲基。在式 (XX) 的化合物的一些实施例中, R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 和 R^{16} 各自是 $-C(O)-R^1$, 其中 R^1 是甲基。在式 (XXI) 的化合物的一些实施例中, R^{23} 、 R^{24} 和 R^{25} 各自是 $-C(O)-R^1$, 其中 R^1 是甲基。在式 (XXII) 的化合物的一些实施例中, R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 和 R^{16} 各自是 $-C(O)-R^1$, 其中 R^1 是甲基。在式 (XXIII) 的化合物的一些实施例中, R^{23} 、 R^{24} 和 R^{25} 各自是 $-C(O)-R^1$, 其中 R^1 是甲基。在式 (XXIV) 的化合物的一些实施例中, R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 和 R^{16} 各自是 $-C(O)-R^1$, 其中 R^1 是甲基。在式 (XXV) 的化合物的一些实施例中, R^{23} 、 R^{24} 和 R^{25} 各自是 $-C(O)-R^1$, 其中 R^1 是甲基。

[0204] 在式 (XVI) 的化合物的一些实施例中, R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 和 R^{16} 各自是 $-C(O)-R^1$, 其中 R^1 是乙基。在式 (XVII) 的化合物的一些实施例中, R^{23} 、 R^{24} 和 R^{25} 各自是 $-C(O)-R^1$, 其中 R^1 是乙基。在式 (XVIII) 的化合物的一些实施例中, R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 和 R^{16} 各自是 $-C(O)-R^1$, 其中 R^1 是乙基。在式 (XIX) 的化合物的一些实施例中, R^{23} 、 R^{24} 和 R^{25} 各自是 $-C(O)-R^1$, 其中 R^1 是乙基。在式 (XX) 的化合物的一些实施例中, R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 和 R^{16} 各自是 $-C(O)-R^1$, 其中 R^1 是乙基。在式 (XXI) 的化合物的一些实施例中, R^{23} 、 R^{24} 和 R^{25} 各自是 $-C(O)-R^1$, 其中 R^1 是乙基。在式 (XXII) 的化合物的一些实施例中, R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 和 R^{16} 各自是 $-C(O)-R^1$, 其中 R^1 是乙基。在式 (XXIII) 的化合物的一些实施例中, R^{23} 、 R^{24} 和 R^{25} 各自是 $-C(O)-R^1$, 其中 R^1 是乙基。在式 (XXIV) 的化合物的一些实施例中, R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 和 R^{16} 各自是 $-C(O)-R^1$, 其中 R^1 是乙基。在式 (XXV) 的化合物的一些实施例中, R^{23} 、 R^{24} 和 R^{25} 各自是 $-C(O)-R^1$, 其中 R^1 是乙基。

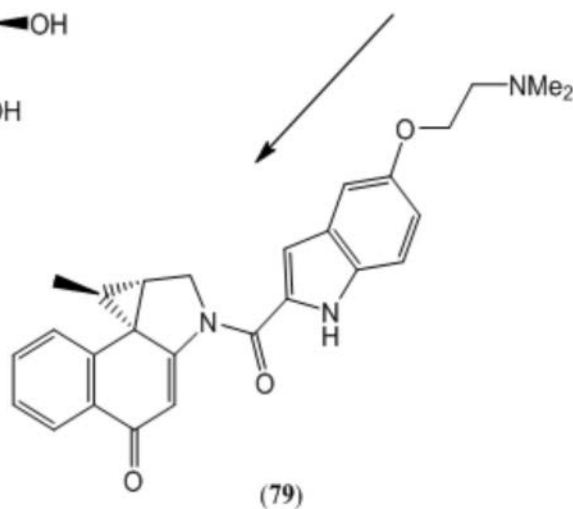
[0205] 在又一些实施例中, 基于细胞毒性多卡霉素家族抗生素的DNA烷化剂的O-D-半乳糖基和O-L-岩藻糖基缀合物是抗衰老剂。从链霉菌D0-113中分离的多卡霉素SA(76)含有高活性的螺环丙基环己二烯酮部分, 并且已被用作单糖和二糖衍生物诸如半乳糖基化合物(77)的设计灵感(例如, 参见Tietze et al., *Angew. Chem. Int. Ed.* 45 (2006) 6574-6577; Tietze et al., *J. Med. Chem.* 52 (2009) 537-543)。化合物(77)的细胞毒性比其水解的开环

产物(78)低超过4000倍,开环产物经历所谓的Winstein原位环化,以得到DNA反应性螺环丙基环己二烯酮(79)。

[0206]

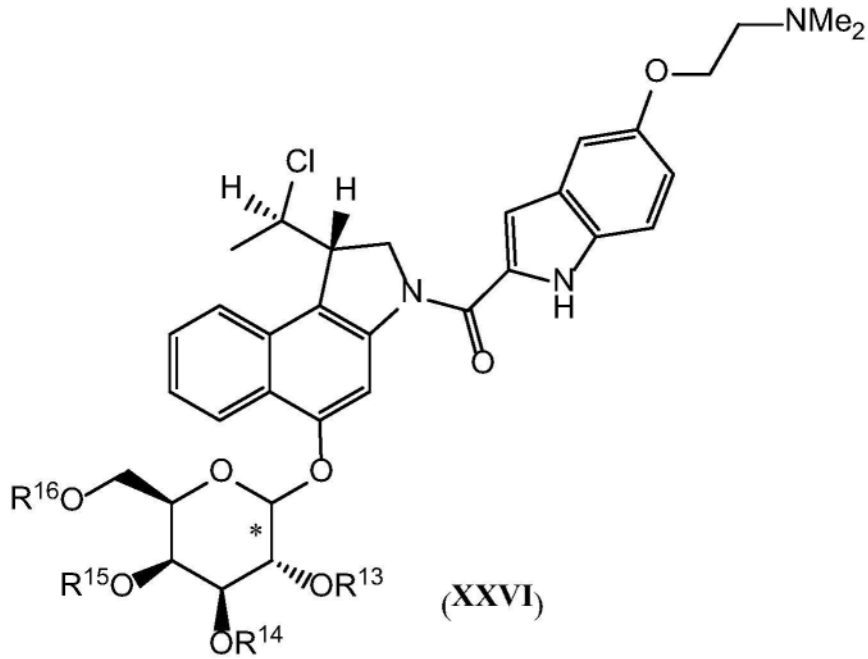


[0207]

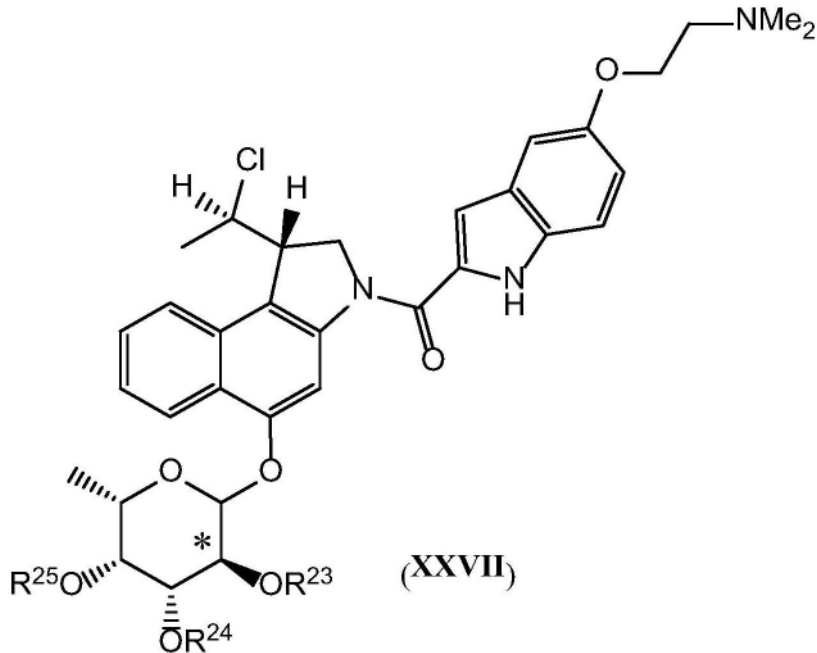


[0208] 在一些实施例中,式(XXVI)或(XXVII)的化合物是抗衰老剂:

[0209]

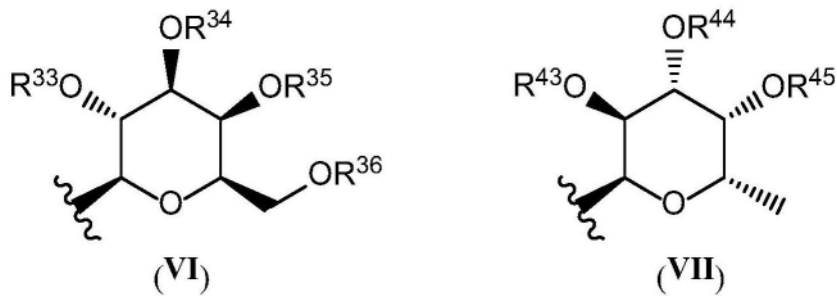


[0210]



[0211] 其中 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 、 R^{16} 、 R^{23} 、 R^{24} 和 R^{25} 各自独立地是氢、 $C(O)-R^1$ 、式(VI)的部分或式(VII)的部分：

[0212]



[0213] R^{33} 、 R^{34} 、 R^{35} 、 R^{36} 、 R^{43} 、 R^{44} 和 R^{45} 各自独立地是氢或 $-C(O)-R^2$ ；每个 R^1 独立地是 C_{1-4} 烷基或苯基，条件是如果 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 或 R^{16} 之一是式(VI)或式(VII)的部分，那么 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 和 R^{16}

的剩余部分是氢或C(O)-R¹;并且每个R²独立地是C₁₋₄烷基或苯基,条件是如果R²³、R²⁴或R²⁵之一是式(VI)或式(VII)的部分,那么R²³、R²⁴或R²⁵的剩余部分是氢或-C(O)-R¹;条件是在式(XXVI)的化合物中,R¹³、R¹⁴、R¹⁵和R¹⁶各自不同时是氢或乙酰基。

[0214] 在式(XXVI)或(XXVII)的化合物的一些实施例中,吡喃糖环的异头碳(标记为*)是S构型,并且这些化合物分别是多卡霉素类似物的 β -D-半乳糖苷和 α -L-岩藻糖苷缀合物。

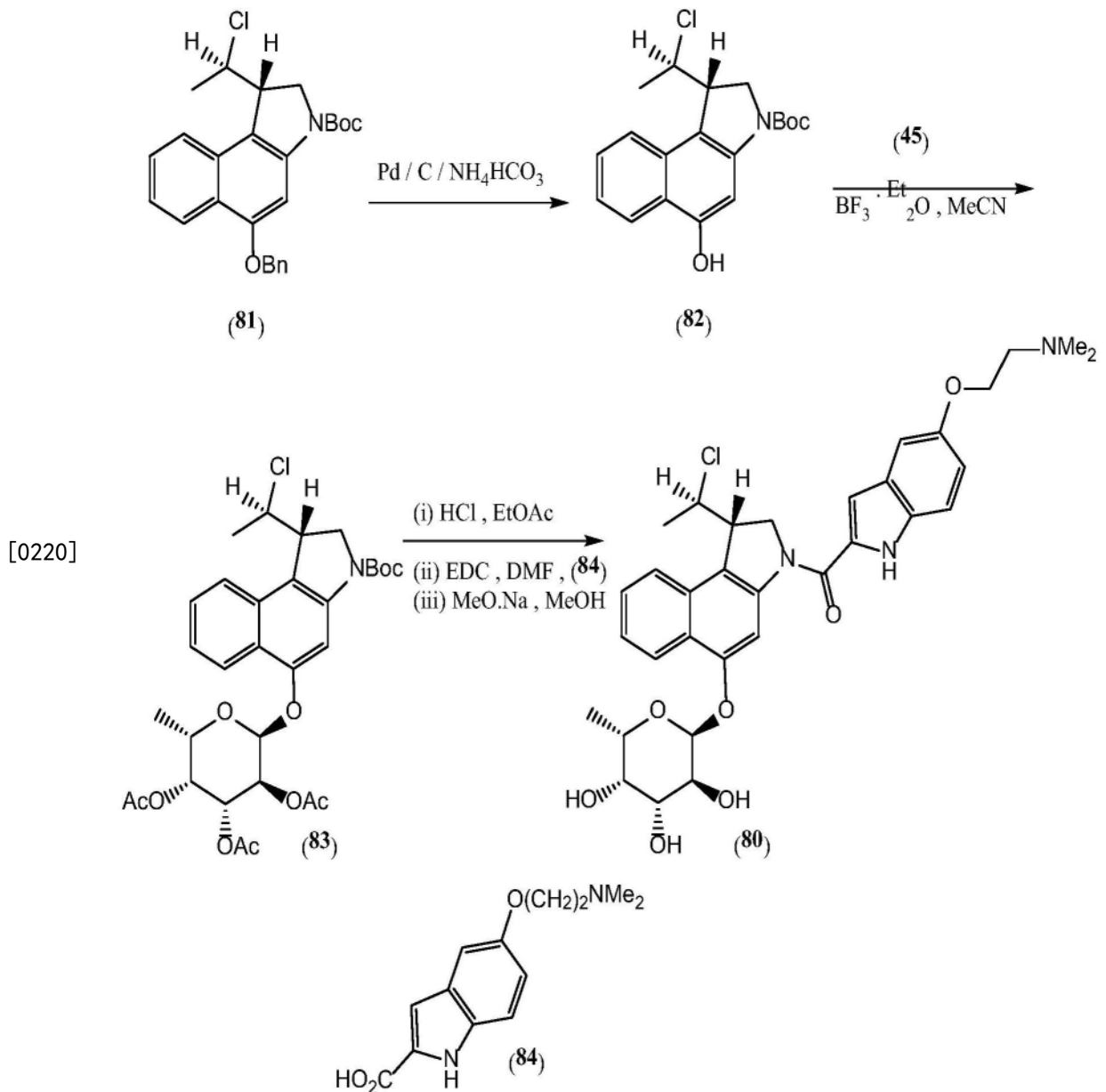
[0215] 在式(XXVI)的化合物的一些实施例中,R¹³、R¹⁴、R¹⁵和R¹⁶各自是氢。在式(XXVII)的化合物的一些实施例中,R²³、R²⁴和R²⁵各自是氢。

[0216] 在式(XXVI)的化合物的一些实施例中,R¹³、R¹⁴、R¹⁵和R¹⁶各自独立地是-C(O)-R¹,其中R¹是C₁₋₄烷基或苯基。在式(XXVII)的化合物的一些实施例中,R²³、R²⁴和R²⁵各自独立地是-C(O)-R¹,其中R¹是C₁₋₄烷基或苯基。

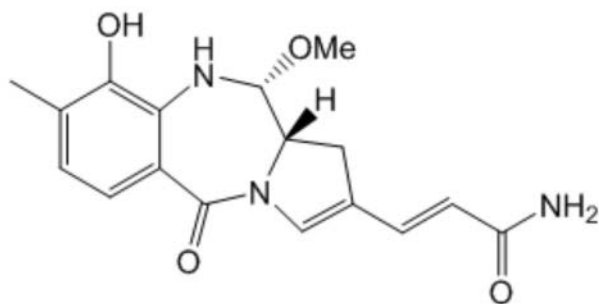
[0217] 在式(XXVI)的化合物的一些实施例中,R¹³、R¹⁴、R¹⁵和R¹⁶各自是-C(O)-R¹,其中R¹是甲基。在式(XXVII)的化合物的一些实施例中,R²³、R²⁴和R²⁵各自是-C(O)-R¹,其中R¹是甲基。

[0218] 在式(XXVI)的化合物的一些实施例中,R¹³、R¹⁴、R¹⁵和R¹⁶各自是-C(O)-R¹,其中R¹是乙基。在式(XXVII)的化合物的一些实施例中,R²³、R²⁴和R²⁵各自是-C(O)-R¹,其中R¹是乙基。

[0219] 在式(XXVII)的化合物的一些实施例中,化合物(80)由化合物(81)(根据上文的Tietze等人的方法制备)合成:

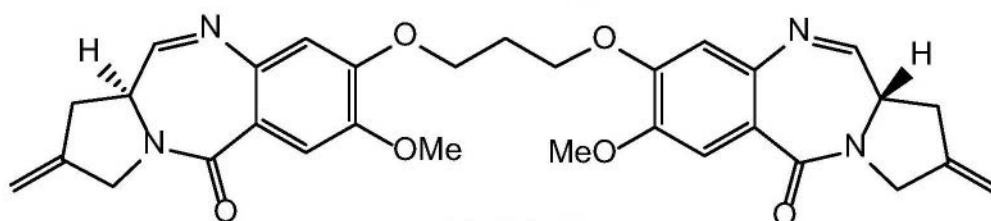


[0221] 还有其他实施例涉及细胞毒性吡咯并[2,1-c][1,4]苯二氮卓类(PBD)的O-D-半乳糖基和O-L-岩藻糖基缀合物作为抗衰老剂。PBD是抗肿瘤抗生素的家族,其包含天然产物氨基蒽素(85)。这些化合物通过经由其N10-C11亚胺官能团共价结合到DNA的小沟中鸟嘌呤残基的外环NH₂基团上来发挥其细胞毒性作用(参见,例如Antonow and Thurston, Chem.Rev.111(2011)2815-2864;和Mantaj et al., Angew.Chem.Int.Ed.56(2017)462-488)。PBD单体显示出显著的细胞毒性,并且通过接头连接两个PBD单体产生PBD二聚体,该二聚体能够进行链间DNA交联。SJG-136(86)是一种具有高细胞毒性效力的这样的二聚体,且已经被用于构建具有临床效用的抗体-药物缀合物。



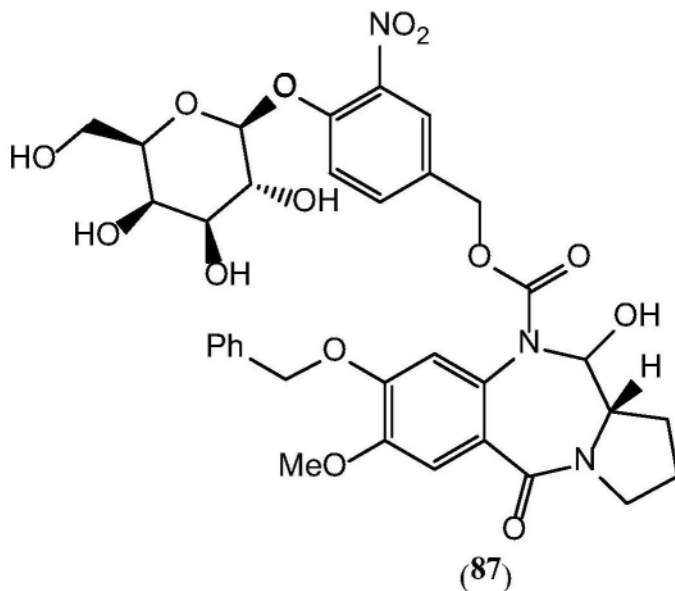
[0222]

氨基糖素 (85)



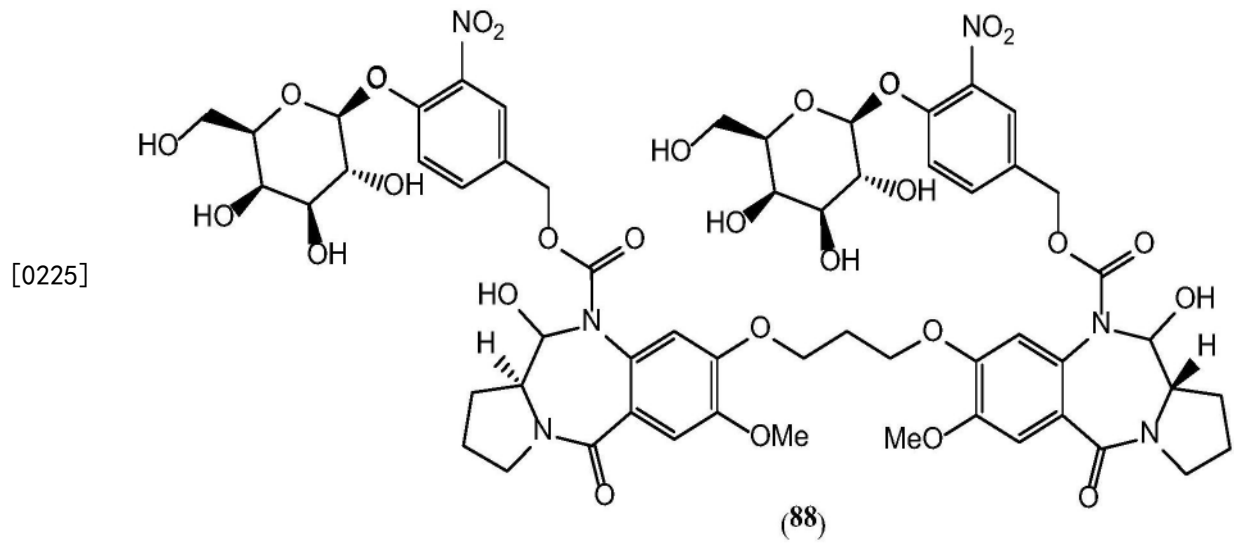
SJG-136 (86)

[0223] Kamal和同事已经描述了PBD单体和二聚体两者的 β -半乳糖苷类似物作为抗癌剂(例如,参见化合物(87)和(88)(Kamal et al., ChemMedChem 3 (2008) 794-802))。



[0224]

(87)



[0226] 在一些实施例中,式 (XXVIII) 或 (XXIX) 的化合物是抗衰老剂:

一是式(VI)或式(VII)的部分,那么 R^{23} 、 R^{24} 或 R^{25} 的剩余部分是氢或 $C(O)-R^1$;条件是在式(XXVIII)的化合物中,当 R^9 是 NO_2 且 R^{10} 是苄基时, R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 、 R^{16} 各自不同时是氢或乙酰基。

[0231] 在式(XXVIII)或(XXIX)的化合物的一些实施例中,吡喃糖环的异头碳(标记为*)为S构型,并且化合物分别是吡咯并[2,1-c][1,4]苯并二氮杂卓类似物的 β -D-半乳糖苷和 α -L-岩藻糖苷缀合物。

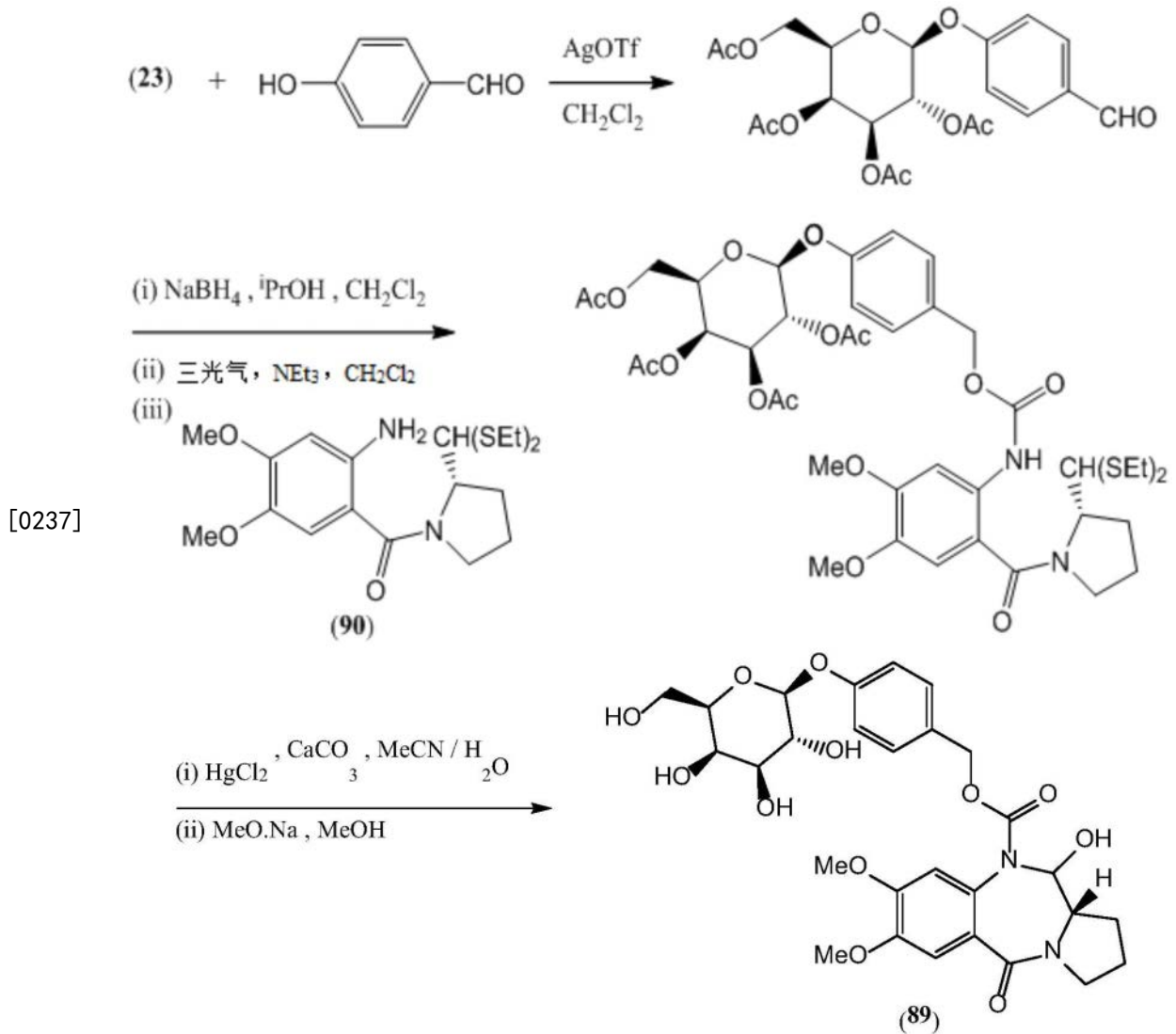
[0232] 在式(XXVIII)的化合物的一些实施例中, R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 和 R^{16} 各自是氢。在式(XXIX)的化合物的一些实施例中, R^{23} 、 R^{24} 和 R^{25} 各自是氢。

[0233] 在式(XXVIII)的化合物的一些实施例中, R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 和 R^{16} 各自独立地是 $-C(O)-R^1$,其中 R^1 是 C_{1-4} 烷基或苯基。在式(XXIX)的化合物的一些实施例中, R^{23} 、 R^{24} 和 R^{25} 各自独立地是 $-C(O)-R^1$,其中 R^1 是 C_{1-4} 烷基或苯基。

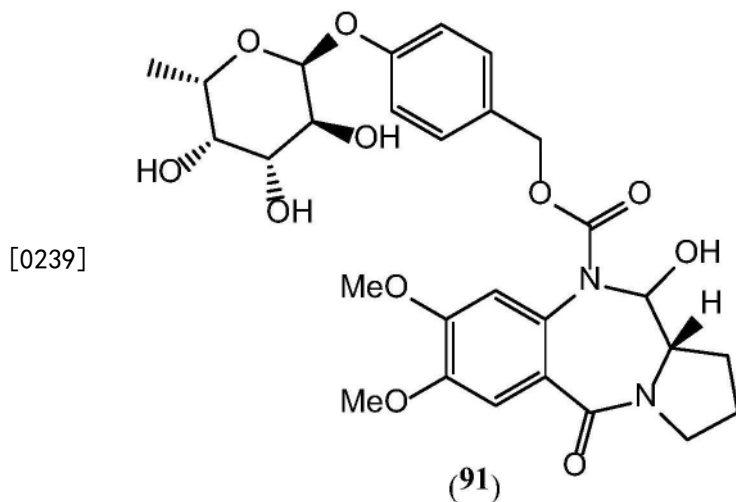
[0234] 在式(XXVIII)的化合物的一些实施例中, R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 和 R^{16} 各自是 $-C(O)-R^1$,其中 R^1 是甲基。在式(XXIX)的化合物的一些实施例中, R^{23} 、 R^{24} 和 R^{25} 各自是 $-C(O)-R^1$,其中 R^1 是甲基。

[0235] 在式(XXVIII)的化合物的一些实施例中, R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 和 R^{16} 各自是 $-C(O)-R^1$,其中 R^1 是乙基。在式(XXIX)的化合物的一些实施例中, R^{23} 、 R^{24} 和 R^{25} 各自是 $-C(O)-R^1$,其中 R^1 是乙基。

[0236] 在式(XXVIII)的化合物的一些实施例中,化合物(89)由化合物(90)(根据上文的Kamal等人的方法制备)合成:

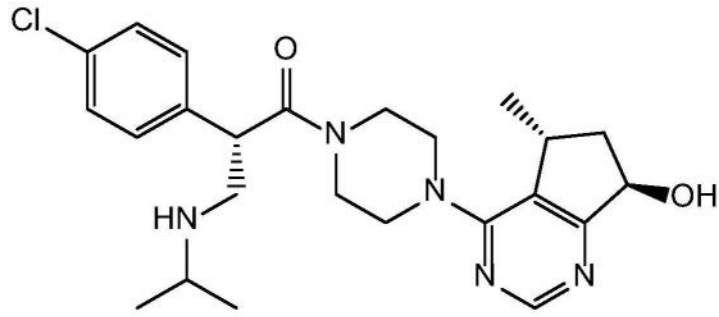


[0238] 具体而言,作为式 (XXIX) 的化合物的一个实施例,化合物 (91) 使用类似的合成方法由化合物 (90) 制备。



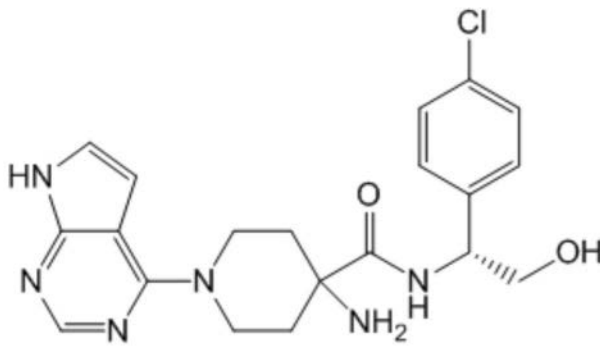
[0240] 在又一些实施例中, Akt 抑制剂的 O-半乳糖苷或 O-岩藻糖苷缀合物是抗衰老剂。可用于制备这样的缀合物的 Akt 抑制剂由诸如 ipatasertib (或 GDC-0068) (92)、AZD5363 (93)

和曲西瑞宾(94)等化合物举例说明。在一些实施例中,Akt抑制剂的O- β -D-半乳糖苷或O- α -L-岩藻糖苷缀合物是抗衰老剂。

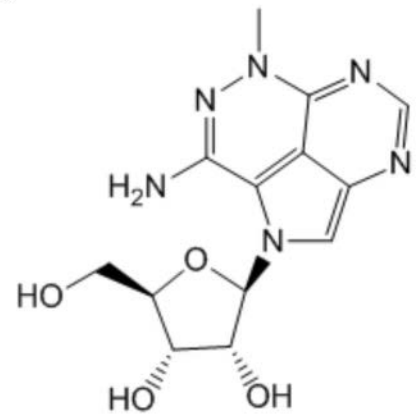


GDC-0068 (92)

[0241]

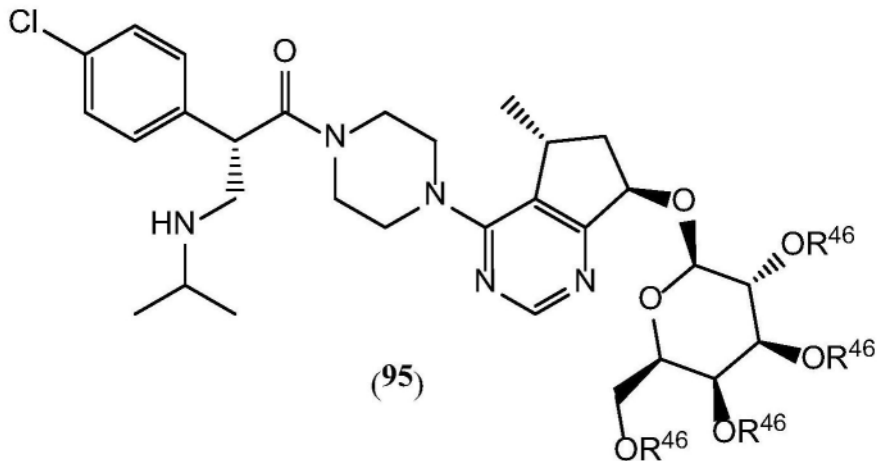


AZD5363 (93)



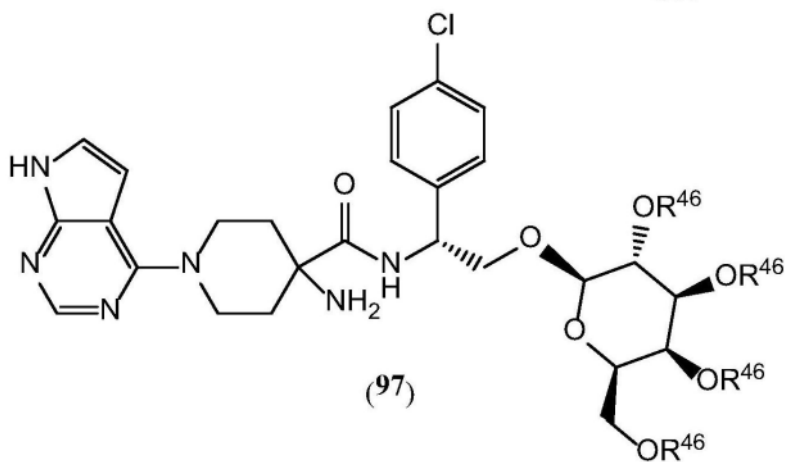
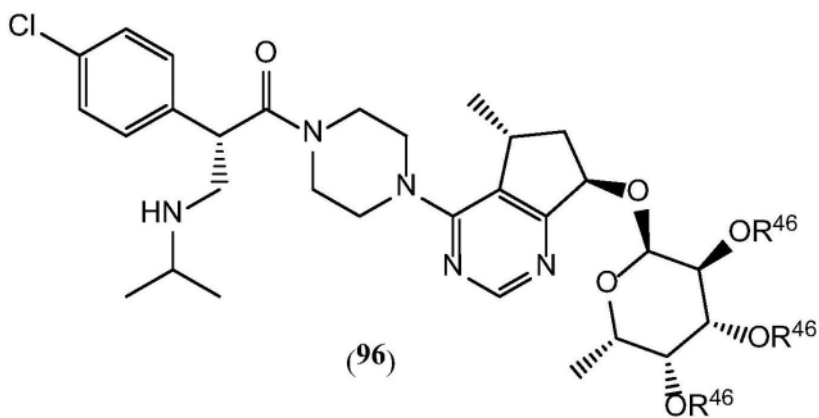
曲西瑞宾 (94)

[0242] 具体的化合物由化合物(95) - (100)举例说明,其中每个 R^{46} 是氢、乙酰基或丙酰基,其根据本文先前公开的方法制备:

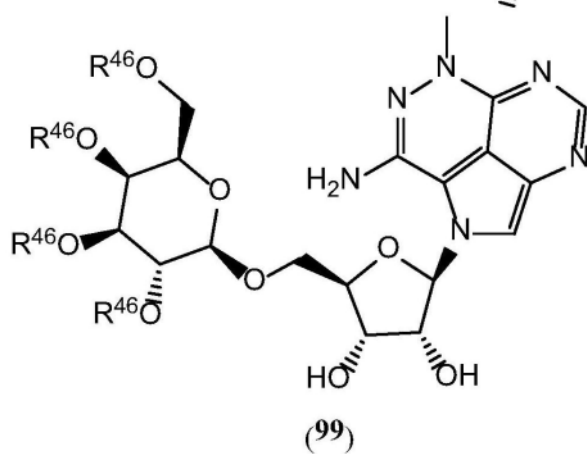
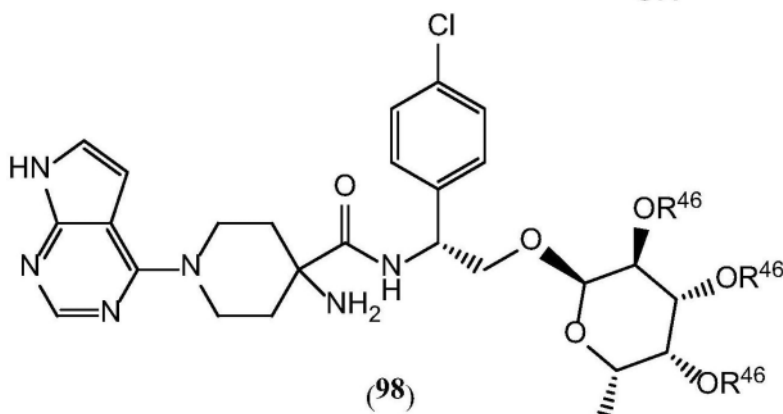


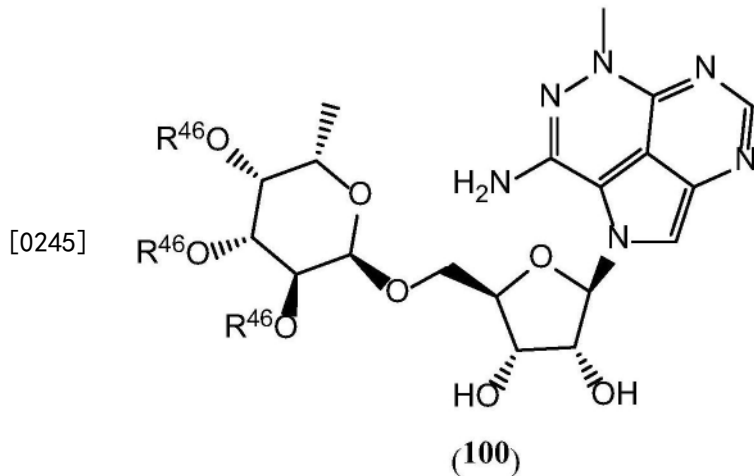
[0243]

(95)

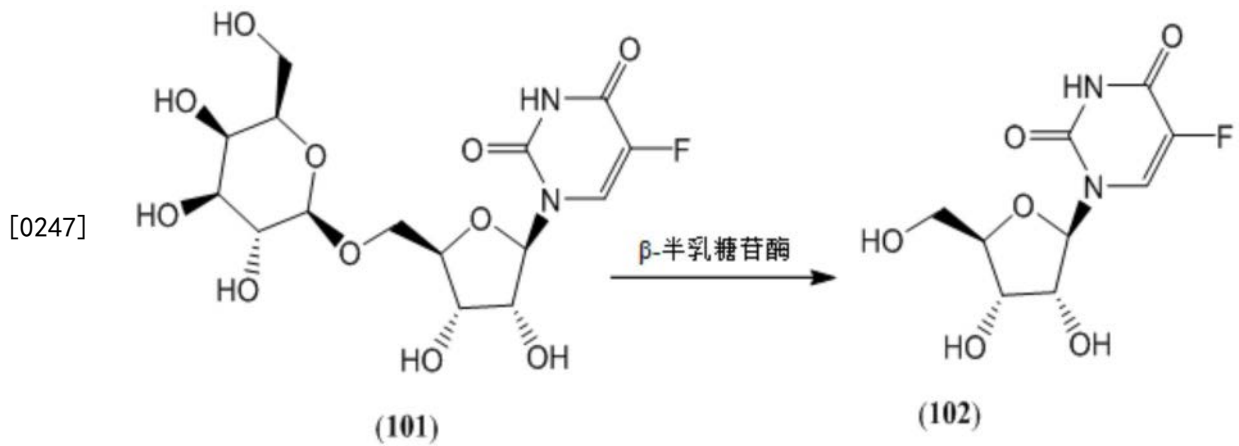


[0244]

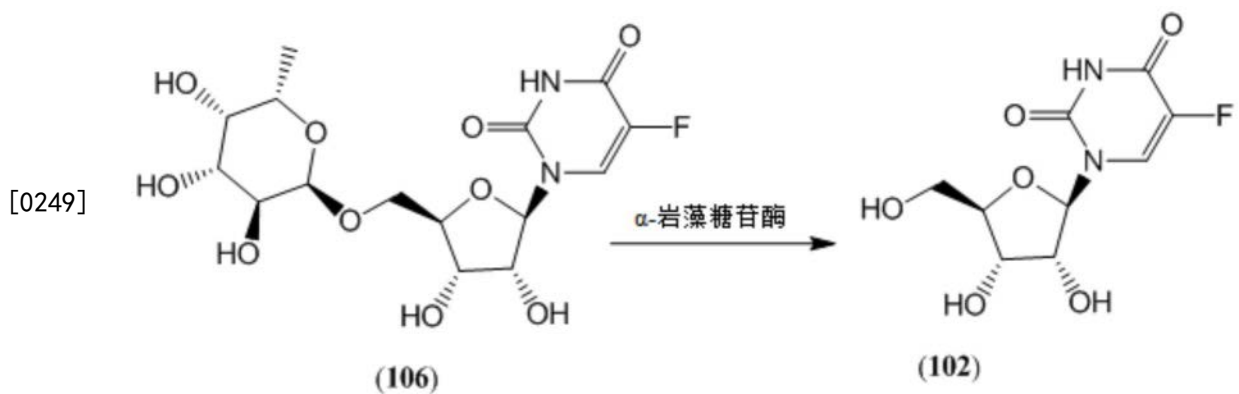




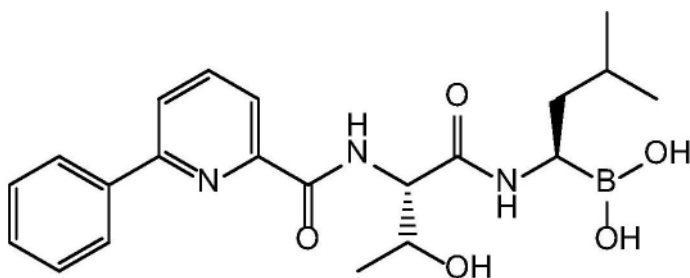
[0246] 在一些实施例中,将式(I)的化合物(其由5-氟尿苷-5'-O- β -D-吡喃半乳糖苷(FURGal) (101)举例说明)转化为式(II)的促凋亡化合物,具体是通过富含衰老细胞的细胞内 β -半乳糖苷酶(即SA- β -Gal)的作用产生的细胞毒素5-氟尿苷(FUR) (102):



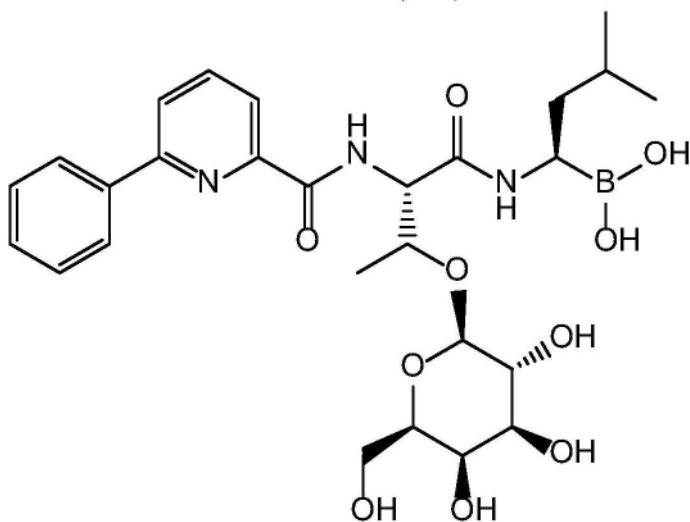
[0248] 在另一个实施例中,将式(I)的化合物(由5-氟尿苷-5'-O- α -L-岩藻吡喃糖苷(FURFuc) (106)举例说明)转化为式(II)的促凋亡化合物,具体是通过富含衰老细胞的细胞内 α -岩藻糖苷酶的作用产生的细胞毒素5-氟尿苷(FUR) (102):



[0250] 在另外的实施例中,蛋白酶体抑制剂的O-半乳糖苷或O-岩藻糖苷缀合物是抗衰老剂。可用于制备这样的缀合物的蛋白酶体抑制剂由诸如德兰佐米(103)的化合物举例说明。在一些实施例中,O- β -D-半乳糖苷或O- α -L-岩藻糖苷缀合物(104)和(105)是抗衰老剂。

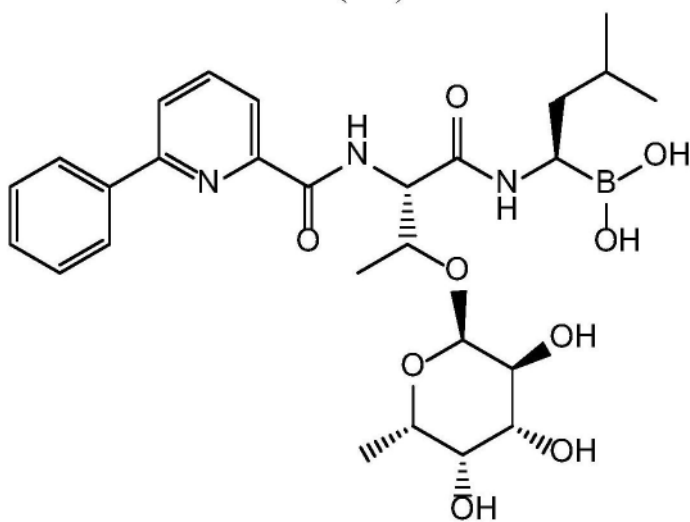


(103)



[0251]

(104)



(105)

[0252] 用于表征和鉴定抗衰老剂的方法

[0253] 可以通过使用一种或多种基于细胞的测定和一种或多种本文或本领域中描述并且本领域技术人员将熟悉的动物模型来确定抗衰老剂的特征。抗衰老剂可以选择性地杀死一种或多种类型的衰老细胞(例如,衰老前脂肪细胞、衰老内皮细胞、衰老成纤维细胞、衰老神经元、衰老上皮细胞、衰老间充质细胞、衰老平滑肌细胞、衰老巨噬细胞或衰老软骨细

胞)。在某些实施例中,抗衰老剂能够选择性地杀死至少衰老成纤维细胞。

[0254] 将化合物表征为抗衰老剂可以使用一种或多种基于细胞的测定和一种或多种本文或本领域描述的动物模型来完成。本领域技术人员将容易地理解,将化合物表征为抗衰老剂并确定化合物的杀伤水平可以通过将测试药剂的活性与适当的阴性对照(例如,仅载体或稀释剂和/或本领域已知的不杀死衰老细胞的组合物或化合物)和适当的阳性对照进行比较来完成。用于表征抗衰老剂的体外基于细胞的测定还包含用于确定药剂对非衰老细胞(例如,静止细胞或增殖细胞)的作用的对照。与一种或多种阴性对照相比,抗衰老剂降低(即,减少)多种衰老细胞的存活百分比(即,以某种方式降低动物或基于细胞的测定中存活的衰老细胞的数量)。用于特定体外测定的条件包含温度、缓冲液(包含盐、阳离子、介质)和其他组分,它们保持在测定中使用的测试药剂和试剂的完整性,是本领域技术人员所熟悉的和/或可以通过常规实验容易地确定。

[0255] 用于测定的衰老细胞的来源可以是原代细胞培养物或适应培养物的细胞系,包含但不限于可以含有染色体整合或附加体重组核酸序列的遗传工程改造的细胞系、永生化的或可永生化的细胞系、体细胞杂种细胞系、分化的或可分化的细胞系、转化的细胞系等。在一些实施例中,衰老细胞从由患有与衰老细胞相关的疾病或异常的宿主或受试者获得的生物样品中分离。在其他实施例中,使用非衰老细胞(例如,获自受试者的原代细胞或适于在培养物中生长的细胞系),并通过本文和本领域中所述的方法诱导衰老,诸如通过暴露于辐射或化疗剂(例如,阿霉素)。生物样品可以是例如血液样品、活检样品、体液(例如,肺灌洗液、腹水、粘膜洗液、滑液等)、骨髓、淋巴结、组织外植体、器官培养物或从受试者获得的任何其他组织或细胞制剂。生物样品可以是其中形态完整性或物理状态已被破坏的组织或细胞制剂,例如通过解剖、解离、增溶、分馏、均化、生物化学或化学提取、粉碎、冻干、声处理或用于处理来自受试者或生物来源的样品的任何其他手段被破坏。受试者可以是人或非人动物。作为示例,本发明的某些化合物对培养基中的人成纤维细胞的抗衰老作用在本文的示例23中表征,并且对小鼠胚胎成纤维细胞的抗衰老作用在本文的示例24中表征。示例26和27证明,体内施用本发明的抗衰老化合物导致小鼠中衰老肝细胞的减少。示例28证明体内施用本发明的抗衰老化合物导致小鼠中衰老肺细胞的减少。

[0256] 如本文和本领域中所述的转基因动物模型可以用于确定衰老细胞的杀死或去除(参见,例如上文的Baker等人;Nature, 479 (2011) 232-236;国际申请第W0/2012/177927号;国际申请第W0 2013/090645号)。示例性的转基因动物模型含有转基因,该转基因包含允许作为阳性对照的衰老细胞(例如p16INK4a阳性衰老细胞)的受控清除的核酸。转基因动物中衰老细胞的存在和水平可以通过测量在动物的衰老细胞中表达的一种或多种可检测标记的水平来确定。转基因核苷酸序列包含可检测的标记,例如一种或多种红色荧光蛋白;绿色荧光蛋白;和一种或多种荧光素酶以检测衰老细胞的清除。

[0257] 本文或本领域中描述的动物模型包含本领域接受的用于确定抗衰老剂治疗或预防特定的与衰老相关的疾病或异常(即,降低特定的与衰老相关的疾病或异常发生的可能性)的有效性的模型,诸如动脉粥样硬化模型、骨关节炎模型、COPD模型、IPF模型等。如本文所述,肺部疾病小鼠模型,诸如博莱霉素肺纤维化模型和慢性吸烟模型适用于诸如COPD的疾病,并且可以由本领域技术人员常规实践。用于确定抗衰老剂治疗和/或预防化疗和放射治疗副作用(即,降低化疗和放射治疗副作用的发生的可能性)的模型或治疗或预防转移病

变(即,降低转移病变的發生的可能性)的有效性的动物模型在国际申请第W0 2013/090645号和第W0 2014/205244号中描述。在本领域中还常规使用用于确定用于治疗眼部疾病,特别是年龄相关的黄斑变性的药剂的有效性的动物模型(参见,例如Pennesi et al., Mol.Aspects Med.33 (2012) 487-509;Zeiss et al.,Vet.Pathol.47 (2010) 396-413;和Chavala et al.,J.Clin.Invest.123 (2013) 4170-4181)。

[0258] 作为非限制性示例并且如本文所述,已经开发了骨关节炎动物模型。骨关节炎可以在动物中被诱发,例如,通过经由前交叉韧带的不完全或全部手术切断,诱发对例如膝盖中的关节的损伤。骨关节炎动物模型可以用于评估抗衰老剂治疗或预防骨关节炎(即,降低骨关节炎的發生的可能性)的有效性,并且导致蛋白聚糖侵蚀的减少,以及诱导(即,刺激、增强)胶原蛋白(诸如2型胶原蛋白)的产生,并且减轻进行ACL手术的动物的疼痛。可以进行免疫组织学以检查关节中组织和细胞的完整性和组成。免疫化学和/或分子生物学技术也可以使用本文所述的方法和技术来进行,诸如用于确定炎性分子(例如,IL-6)水平的测定和用于确定如上所述的衰老标记物水平的测定,这些方法和技术可以由本领域技术人员常规实践。

[0259] 作为另一个非限制性示例并且如本文所述,已经开发了动脉粥样硬化动物模型。动脉粥样硬化可以在动物中诱导,例如,通过给动物喂食高脂肪食物或通过使用对发展成动脉粥样硬化高度敏感的转基因动物。动物模型可以用于确定抗衰老剂减少动脉粥样硬化动脉的斑块的数量或抑制动脉粥样硬化动脉的斑块的形成、减少动脉粥样硬化斑块的脂质含量(即减少、降低斑块中脂质的量)以及导致斑块的纤维帽厚度的增加或提高斑块的纤维帽厚度的有效性。苏丹染色可以用于检测动脉粥样硬化血管中的脂质水平。免疫组织学和免疫化学和分子生物学测定(例如,用于确定炎性分子(例如,IL-6)的水平,以及用于确定如上所述的衰老标记物的水平)都可以根据本文所述的方法进行,这些方法在本领域中是常规实践的。

[0260] 在又一个非限制性示例中并且如本文所述,已经描述了其中用博莱霉素治疗动物的小鼠模型(参见,例如Peng et al.,PLoS One 8 (4) (2013) e59348.doi:10.1371/journal.pone.0059348;Mouratis et al.,Curr.Opin.Pulm.Med.17 (2011) 355-361)用于确定用于治疗IPF的药剂的有效性。在肺部疾病动物模型(例如博莱霉素动物模型、暴露于烟雾的动物模型等)中,可以进行呼吸测量以确定弹性、顺应性、静态顺应性和外周毛细血管氧饱和度(SpO_2)。免疫组织学和免疫化学和分子生物学测定(例如,用于确定炎性分子(例如,IL-6)的水平,以及用于确定如上所述的衰老标记物的水平)都可以根据本文所述的方法进行,这些方法在本领域中是常规实践的。

[0261] 可以使用本领域技术人员将熟悉的一种或多种统计分析来确定如本文所述的抗衰老剂在动物模型中选择性杀死衰老细胞的有效性。举例来说,诸如双向方差分析(ANOVA)的统计分析用于确定用药剂治疗的动物组和未用药剂治疗的动物组(即阴性对照组,其可以仅包含载体和/或非抗衰老剂)之间差异的统计显著性。统计软件包,诸如SPSS、MINITAB、SAS、Statistika、Graphpad、GLIM、Genstat和BMDP是容易获得的,并且被动物模型领域的技术人员常规使用。

[0262] 本领域技术人员将容易地理解,通过将测试药剂的活性与适当的阴性对照(例如,仅载体和/或本领域已知的不杀死衰老细胞的组合物、药剂或化合物)和适当的阳性对照进

行比较,可以完成表征抗衰老剂和确定通过该抗衰老剂的杀死水平。用于表征药剂的基于体外细胞的测定还包含用于确定药剂对非衰老细胞(例如,静止细胞或增殖细胞)的作用的对照。与一种或多种阴性对照相比,有用的抗衰老剂降低(即减少)衰老细胞的存活百分比(即以某种方式降低动物中或基于细胞的测定中存活的衰老细胞的量)。因此,与杀死非衰老细胞相比,抗衰老剂选择性地杀死衰老细胞(其在本文中可以被称为相对于非衰老细胞选择性地杀死衰老细胞)。

[0263] 在某些实施例中(在体外测定或体内测定中(在人或非人动物中)),至少一种抗衰老剂杀死至少20%的衰老细胞,并且杀死不超过5%的非衰老细胞。在其他实施例中(在体外测定或体内测定中(在人或非人动物中)),至少一种抗衰老剂杀死至少约25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%或65%的衰老细胞,并杀死不超过约5%或10%的非衰老细胞。在又一些实施例中(在体外测定或体内测定中(在人或非人动物中)),至少一种抗衰老剂杀死至少约30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%或65%的衰老细胞,并且杀死不超过约5%、10%或15%的非衰老细胞。在又一些实施例中(在体外测定或体内测定中(在人或非人动物中)),至少一种抗衰老剂杀死至少约40%、45%、50%、55%、60%或65%的衰老细胞,并且杀死不超过约5%、10%、15%、20%或25%的非衰老细胞。在又一些实施例中(在体外测定或体内测定中(在人或非人动物中)),至少一种抗衰老剂杀死至少约50%、55%、60%或65%的衰老细胞,并且杀死不超过约5%、10%、15%、20%、25%或30%的非衰老细胞。换句话说,与杀死非衰老细胞相比,对于杀死衰老细胞,抗衰老剂的选择性高至少5-25倍、10-50倍、10-100倍或100-1000倍。

[0264] 关于本文描述的用于治疗与衰老相关的疾病或异常的方法的具体实施例,被杀死的衰老细胞的百分比可以指组织或器官中被杀死的衰老细胞的百分比,所述组织或器官包括导致疾病或异常的发作、进展和/或恶化的衰老细胞。作为非限制性示例,脑组织、眼的组织和部分、肺组织、心脏组织、动脉、关节、皮肤和肌肉可以包括衰老细胞,所述衰老细胞可以通过本文所述的抗衰老剂以如上所述的百分比减少,并且从而提供治疗效果。此外,从受影响的组织或器官中选择性去除至少20%或至少25%的衰老细胞可以具有临床显著的治疗效果。

[0265] 关于本文所述方法的具体实施例,诸如例如通过施用抗衰老剂(即,参照上述体内方法)来治疗与动脉硬化相关的心血管疾病或异常(诸如动脉粥样硬化),杀死的衰老细胞百分比可以指在含有斑块的受影响动脉中杀死的衰老细胞相对于在动脉斑块中杀死的非衰老细胞的百分比。在某些实施例中,在用于治疗心血管疾病诸如动脉粥样硬化的方法中,如本文所述,至少一种抗衰老剂杀死动脉中至少20%的衰老细胞并且杀死不超过5%的非衰老细胞。在其他实施例中,抗衰老剂选择性地杀死动脉硬化动脉中至少25%的衰老细胞。

[0266] 在一些实施例中,关于本文描述的用于通过施用抗衰老剂来治疗骨关节炎的方法,杀死的衰老细胞百分比可以指在骨关节炎关节中杀死的衰老细胞相对于在骨关节炎关节中杀死的非衰老细胞的百分比。在某些实施例中,在如本文所述的用于治疗骨关节炎的方法中,至少一种抗衰老剂杀死骨关节炎关节中至少20%的衰老细胞并且杀死不超过5%的非衰老细胞。在其他实施例中,抗衰老剂选择性地杀死骨关节炎关节中至少25%的衰老细胞。

[0267] 在一些实施例中,关于本文描述的用于通过施用至少一种抗衰老剂来治疗与衰老

相关的肺部疾病或异常(例如,COPD,IPF)的方法,杀死的衰老细胞百分比可以指在受影响的肺组织中杀死的衰老细胞相对于在受影响的肺组织中杀死的非衰老细胞的百分比。在某些实施例中,在如本文所述的用于治疗与衰老相关的肺部疾病和异常的方法中,抗衰老剂杀死受影响的肺组织中至少20%的衰老细胞,并且杀死不超过5%的非衰老细胞。在其他实施例中,抗衰老剂选择性地杀死受影响的肺组织中至少25%的衰老细胞。

[0268] 在某些实施例中,提供了用于鉴定(即,筛选)药剂的方法,所述药剂是用于治疗或预防与衰老相关的疾病或异常(即,降低与衰老相关的疾病或异常发生的可能性)的有用抗衰老剂。在一些实施例中,一种用于鉴定用于治疗这样的疾病和异常的抗衰老剂的方法,包括诱导细胞衰老以提供已建立的衰老细胞。在本文和本领域中描述了用于诱导细胞衰老的方法,并且包含例如暴露于辐射(例如,10Gy通常足够)或化疗剂(例如,阿霉素或其他蒽环类药物)。在暴露于药剂后,细胞在适当的条件下(例如,适合于给定细胞类型或细胞系的培养基、温度、CO₂/O₂水平)培养适当的时间,以允许建立衰老。如本文所讨论的,细胞的衰老可以通过确定许多特征来确定,诸如形态学的变化(例如,如通过显微镜观察);产生例如与衰老相关的 β -半乳糖苷酶(SA- β -gal)、p16INK4a、p21或任何一种或多种SASP因子(例如IL-6、MMP3)。衰老细胞的样品然后与候选药剂接触(即,与细胞和药剂混合、结合或以某种方式允许细胞和药剂相互作用)。本领域技术人员将理解,测定将包含历史的或同时进行的阴性和阳性的适当对照。例如,使已经与衰老细胞相似培养但未暴露于衰老诱导剂的对照非衰老细胞的样品与候选药剂接触。确定衰老细胞的存活水平,并将其与非衰老细胞的存活水平进行比较。当衰老细胞的存活水平小于非衰老细胞的存活水平时,抗衰老剂被鉴定。

[0269] 在一些实施例中,上述鉴定抗衰老剂的方法可以进一步包括用于鉴定该抗衰老剂是否可用于治疗骨关节炎的步骤。该方法可以进一步包括使所鉴定的抗衰老剂与能够产生胶原蛋白的细胞接触;并且确定由细胞产生的胶原蛋白的水平。在实施例中,细胞是软骨细胞,并且胶原蛋白是2型胶原蛋白。该方法可以进一步包括向在关节中具有关节炎症损伤的非人动物施用候选的抗衰老剂,并确定以下中的一种或多种:(a) 关节中衰老细胞的水平;(b) 动物的身体功能;(c) 一种或多种炎症标记物的水平;(d) 关节的组织学;和(e) 所产生的2型胶原蛋白的水平,从而确定所述抗衰老剂的治疗功效,其中与未用所述抗衰老剂治疗的动物相比,在所治疗的动物中观察到以下中的一种或多种:(i) 治疗的动物关节中衰老细胞的水平的降低;(ii) 治疗的动物的改善的身体功能;(iii) 治疗的动物中一种或多种炎症标记物水平的降低;(iv) 治疗的动物的关节中增加的组织学正常性;和(v) 在治疗的动物中产生的2型胶原蛋白水平的增加。如本文和本领域中所描述的,动物的身体功能可以通过确定腿部对诱发的或自然的骨关节炎状况的敏感性的技术来确定,例如,通过动物在受影响的肢体上承受重量的耐受性或动物远离不舒服的刺激(诸如热或冷)的能力来确定。可以使用本领域技术人员将熟悉的一种或多种统计分析来确定如本文所述的药剂在动物模型中杀死衰老细胞的有效性。如本文所述和本领域常规实践的统计分析可以用于分析数据。

[0270] 在其他实施例中,上述鉴定抗衰老剂的方法可以进一步包括用于鉴定抗衰老剂是否可用于治疗由动脉粥样硬化引起或与动脉粥样硬化相关的心血管疾病的步骤。因此,该方法可以进一步包括在非人动物或动物模型中施用抗衰老候选药剂,以用于确定药剂减少斑块的量、抑制动脉粥样硬化动脉中斑块的形成、降低动脉粥样硬化斑块的脂质含量(即,降低、减少斑块中脂质的量)和/或导致斑块的纤维帽厚度的增加或提高斑块的纤维帽厚度

的有效性。苏丹染色可以用于检测动脉粥样硬化血管中的脂质水平。免疫组织学、用于确定炎症分子(例如,IL-6)水平的测定和/或用于确定如上述的衰老标记物水平的测定都可以根据本文所述的方法进行,并且在本领域中常规实践。

[0271] 在一个具体的实施例中,本文所述的用于鉴定抗衰老剂的方法可以进一步包括给患有动脉粥样硬化斑块的非人动物施用候选抗衰老剂,并且确定以下中的一种或多种:(a) 动脉中衰老细胞的水平;(b) 动物的身体功能;(c) 一种或多种炎症标记物的水平;(d) 受影响的血管(例如动脉)的组织学;并且从而确定所述抗衰老剂的治疗效果,其中与未用抗衰老剂治疗的动物相比,在治疗的动物中观察到以下中的一种或多种:(i) 治疗的动物的动脉中衰老细胞水平的降低;(ii) 治疗的动物的改善的身体功能;(iii) 治疗的动物中一种或多种炎症标记物水平的降低;(iv) 治疗的动物的动脉中增加的组织学正常性。如本文和本领域中所述,动物的身体功能可以通过测量身体活动来确定。如本文所述和本领域常规实践的统计分析可以用于分析数据。

[0272] 在一些实施例中,本文所述的用于鉴定抗衰老剂的方法可以包括将候选抗衰老剂施用于非人动物肺部疾病模型,诸如博莱霉素模型或暴露于烟雾的动物模型,并确定以下中的一种或多种:(a) 肺中衰老细胞的水平;(b) 动物的肺功能;(c) 一种或多种炎症标记物的水平;(d) 肺组织的组织学,从而确定抗衰老剂的治疗效果,其中与未用抗衰老剂治疗的动物相比,在治疗的动物中观察到以下中的一种或多种:(i) 治疗的动物的肺和肺组织中衰老细胞水平的降低;(ii) 治疗的动物的改善的肺功能;(iii) 治疗的动物中一种或多种炎症标记物水平的降低;和(iv) 治疗的动物的肺组织中增加的组织学正常性。可以进行呼吸测量,以确定弹性、顺应性、静态顺应性和外周毛细血管氧饱和度(SpO_2)。肺功能可以通过确定许多测量值中的任何一个来评估,诸如呼气储备量(ERV)、用力肺活量(FVC)、用力呼气量(FEV)(例如,一秒内的FEV,FEV1)、FEV1/FEV比率、25%至75%的用力呼气流量和最大自主通气量(MVV)、峰值呼气流量(PEF)、慢肺活量(SVC)。总肺容量包含总肺活量(TLC)、肺活量(VC)、剩余容量(RV)和功能剩余容量(FRC)。跨过肺泡毛细血管膜的气体交换可以使用一氧化碳的扩散量(DLCO)来测量。还可以测量外周毛细血管氧饱和度($SpO_{2,sub.2}$)。如本文所述和本领域常规实践的统计分析可以用于分析数据。

[0273] 治疗和预防与衰老相关的疾病和异常的方法

[0274] 本文提供了用于治疗需要其的受试者中与细胞衰老相关、与细胞衰老相关联或由细胞衰老引起的病症、疾病或异常(包含年龄相关的疾病和异常)的方法。与衰老相关的疾病或异常在本文中也可以称为与衰老细胞相关的疾病或异常。与衰老相关的疾病和异常包含例如由衰老诱导的与年龄相关的疾病和异常;肺部疾病和异常;神经系统疾病和异常(例如,神经退行性疾病和异常);眼部疾病和异常;代谢疾病和异常;心血管疾病和异常;炎症性疾病和异常;自身免疫性疾病和异常;皮肤病学疾病和异常;皮肤病症;年龄相关的疾病;以及与移植相关的疾病和异常。衰老的一个显著特征是在分子、细胞、组织和生物体水平上发生的功能的逐渐丧失或退化。年龄相关的退化引起良好识别的病理,诸如肌肉减少症、动脉粥样硬化和心力衰竭、骨质疏松症、肺功能不全、肾衰竭、神经退化(包含黄斑变性、阿尔茨海默氏病和帕金森病)和许多其他疾病。尽管不同的哺乳动物物种在其对特定的年龄相关的病理的易感性方面不同,但总的来说,年龄相关的病理通常在物种特定寿命的约中点(例如,对于人类为50-60岁)开始以大约指数动力学上升(参见,例如Campisi,

Annu.Rev.Physiol.75(2013)685-705;Naylor et al.,Clin.Pharmacol.Ther.93(2013)105-116)。

[0275] 可以通过根据本文所述的方法施用本文所述的任何一种抗衰老剂来治疗的与衰老相关的病症、异常或疾病的示例包含衰老相关的疾病和异常(例如,脊柱后凸、肾功能异常、虚弱、脱发、听力损失、肌肉疲劳、皮肤病症、肌肉减少症和椎间盘突出)以及由衰老诱发的其他衰老相关的疾病(例如,由辐射、化疗、吸烟、进食高脂肪/高糖饮食和环境因素引起的疾病/异常);肺部疾病(例如,特发性肺纤维化、慢性阻塞性肺部疾病(COPD)、肺气肿、阻塞性细支气管炎、哮喘);增生性疾病,包含癌症和转移病变;与化疗副作用或放射治疗相关的副作用;纤维化疾病和异常(例如,囊性纤维化、肾纤维化、肝纤维化、肺纤维化、口腔粘膜下纤维化、心脏纤维化和胰腺纤维化);认知疾病(例如,轻度认知障碍(MCI)、阿尔茨海默氏病和其他痴呆;亨廷顿病);运动功能疾病和异常(例如,帕金森病、运动神经元功能异常(MND);亨廷顿病);脑血管疾病;肺气肿;骨关节炎;良性前列腺肥大;眼部疾病或异常(例如,年龄相关的黄斑变性、白内障、青光眼、视力丧失、老花眼);代谢疾病和异常(例如,肥胖、糖尿病、代谢综合征);心血管疾病(例如,动脉粥样硬化、心脏舒张功能异常、主动脉瘤、心绞痛、心律失常、心肌病、充血性心力衰竭、冠状动脉疾病、心肌梗塞、心内膜炎、高血压、颈动脉疾病、外周血管疾病、心脏应激抗性、心脏纤维化);炎性/自身免疫性疾病和异常(例如,骨关节炎、湿疹、银屑病、骨质疏松症、粘膜炎、移植相关的疾病和异常);皮肤病学疾病,例如糖尿病性溃疡、伤口愈合和皮肤癌。在某些示例中,可以排除上述或本文中描述的任何一种或多种疾病或异常。

[0276] 在一些实施例中,提供了用于通过经由施用抗衰老剂来杀死患有与衰老相关的疾病或异常的受试者中与该疾病或异常相关的衰老细胞(即,已确定的衰老细胞)来治疗该疾病或异常的方法,其中该疾病或异常是衰老疾病(例如,虚弱、肌肉无力、认知障碍);特发性肺纤维化;慢性阻塞性肺部疾病(COPD);肾纤维化或肝纤维化;转移病变或其他增生性异常;骨关节炎;或者动脉粥样硬化。

[0277] 年龄相关的疾病和异常

[0278] 本文所述的抗衰老剂选择性杀死衰老细胞。以这种方式,在衰老过程期间针对衰老细胞可能是一种预防策略。因此,对受试者施用本文所述的抗衰老剂可以预防老年受试者的共病并延迟死亡率。此外,选择性杀死衰老细胞可以增强免疫系统,延长健康寿命,并且改善受试者的生活质量。

[0279] 抗衰老剂也可用于治疗或预防与年龄相关的疾病或异常(即,降低与年龄相关的疾病或异常的發生的可能性),所述与年龄相关的疾病或异常作为自然衰老过程的一部分发生或当受试者暴露于衰老诱导剂或因素(例如,辐射、化疗、吸烟、高脂肪/高糖饮食、其他环境因素)时发生。与年龄相关的异常或疾病或年龄敏感性状可能与衰老诱导刺激有关。本文所述的治疗方法的功效可以通过减少与衰老诱导刺激相关的年龄相关的异常或年龄敏感性状的症状数量、降低一种或多种症状的严重程度或延迟与衰老诱导刺激相关的年龄相关的异常或年龄敏感性状的进展来证明。在其他实施例中,预防与衰老诱导刺激相关的年龄相关的异常或年龄敏感性状是指预防(即,降低發生的可能性)或延迟与衰老诱导刺激相关的年龄相关的异常或年龄敏感性状的发作,或与衰老诱导刺激相关的一种或多种年龄相关的异常或年龄敏感性状的复发。年龄相关的疾病或病症包含例如肾功能异常、脊柱后凸、

椎间盘突出、虚弱、认知障碍、脱发、听力损失、视力丧失(失明或视力受损)、肌肉疲劳、皮肤病症、皮肤痣、糖尿病、代谢综合征和肌肉减少症。视力丧失是指当受试者先前有视力时,出现视力缺失。已经开发了各种尺度来描述基于视觉敏锐度的视力和视力丧失的程度。年龄相关的疾病和病症还包括皮肤学病症,例如但不限于治疗以下病症中的一种或多种:皱纹,包含表面细小皱纹;色素沉着过度;伤疤;瘢痕疙瘩;皮炎;银屑病;湿疹(包含脂溢性湿疹);酒渣鼻;白癜风;寻常性鱼鳞病;皮炎;和光化性角化病。虚弱已经被定义为由于在多种生理系统中与衰老相关的储备和功能下降而导致的增加的脆弱性的临床可识别状态,其削弱了受试者应对日常或急性应激源的能力。虚弱的特征可能是受损的能量学特征,诸如握力低、能量低、行走速度慢、体力活动少和/或无意的体重减轻。研究已经表明,当观察到上述五个特征中的三个时,患者可能被诊断为虚弱(参见,例如Fried et al., J.Gerontol.ABiol.Sci.Med.Sci.56(3)(2001)M146-M156;Xue,Clin.Geriatr.Med.27(1)(2001)1-15)。在某些实施例中,可以通过施用抗衰老剂来治疗或预防衰老和与衰老相关的疾病和异常(即,降低其发生的可能性)。抗衰老剂可以抑制成体干细胞的衰老,或者抑制已经变得衰老的成体干细胞的积累、杀死或促进其清除。防止干细胞中的衰老以维持组织的再生能力的重要性在例如Park et al., J.Clin.Invest.113(2004)175-179;和Sousa-Victor,Nature 506(2014)316-321中讨论。

[0280] 测量老化的方法在本领域中是已知的。例如,可以通过以下来测量骨中的衰老:偶发的非椎骨骨折、偶发的髌部骨折、偶发的全骨折、偶发的椎骨骨折、偶发的重复骨折、骨折后的功能恢复、腰椎和髌部的骨矿物密度降低、膝关节屈曲率、NSAID的使用、疼痛关节的数量和骨关节炎。肌肉中的衰老也可以通过功能衰退、跌倒率、反应时间和握力、上肢和下肢肌肉质量下降以及双任务10米步态速度来测量。此外,心血管系统中的衰老可以通过收缩压和舒张压变化、偶发高血压、主要心血管事件(诸如心肌梗塞、中风、充血性心脏病和心血管死亡率)来测量。此外,大脑中的衰老可以通过认知衰退、偶发抑郁症和偶发痴呆来测量。此外,免疫系统中的衰老可以通过感染率、上呼吸道感染率、流感样疾病率、导致入院的偶发严重感染、偶发癌症、植入物感染率和胃肠道感染率来测量。衰老的其他迹象可能包含但不限于口腔健康下降、牙齿脱落、GI症状发生率、空腹血糖和/或胰岛素水平的变化、身体组成、肾功能下降、生活质量、关于日常生活活动的意外残疾和意外疗养院入院。测量皮肤衰老的方法在本领域中是已知的,并且可以包含经表皮水分损失(TEWL)、皮肤水合作用、皮肤弹性、鱼尾纹的面积比分析、敏感性、光泽、粗糙度、斑点、松弛度、肤色均匀性、柔软度和起伏度(深度变化)。

[0281] 如果受试者没有接受治疗,则与预期的存活相比,施用本文所述的抗衰老剂可以延长延长的存活。需要治疗的受试者包含已经患有该疾病或异常的受试者,以及易于患该疾病或异常或有发展该疾病或异常风险的受试者,以及其中需要预防性治疗该疾病、病症或异常的受试者。受试者可能具有发展疾病或异常的遗传倾向,其将受益于衰老细胞的清除,或者可能不算年轻了,其中接受抗衰老剂将提供临床益处以延迟疾病(包含年龄相关的疾病或异常)的发展或降低其严重程度。

[0282] 在其他实施例中,提供了用于治疗与衰老相关的疾病或异常的方法,其进一步包括鉴定将受益于用本文所述的抗衰老剂治疗(即,表型;个体化治疗)的受试者。该方法包括首先检测受试者中(诸如受试者的特定器官或组织中)衰老细胞的水平。生物样品可以从受

试者获得,例如血液样品、血清或血浆样品、活检样品、体液(例如肺灌洗液、腹水、粘膜洗液、滑液、玻璃体液、脊髓液)、骨髓、淋巴结、组织外植体、器官培养物或来自受试者的任何其他组织或细胞制剂。可以根据本文所述的任何体外测定或技术来确定衰老细胞的水平。例如,可以通过形态学(例如通过显微镜观察);与衰老相关的标记物诸如与衰老相关的 β -半乳糖苷酶(SA- β -gal)、p16INK4a、p21、PAI-1或任何一种或多种SASP因子(例如IL-6、MMP3)的产生来检测衰老细胞。生物样品的衰老细胞和非衰老细胞也可以用于体外细胞测定,其中将细胞暴露于本文所述的任何一种抗衰老剂,以确定抗衰老剂杀死受试者的衰老细胞而不对非衰老细胞产生不期望的毒性的能力。此外,这些方法可以用于在用抗衰老剂治疗之前、期间和之后监测受试者中衰老细胞的水平。在某些实施例中,可以检测衰老细胞的存在(例如,通过确定mRNA的衰老细胞标记物表达的水平),并且可以相应地调整治疗过程和/或非治疗间隔。

[0283] 肺部疾病和异常

[0284] 在一些实施例中,提供了用于通过经由施用本文所述的抗衰老剂在患有与衰老相关的疾病或异常的受试者中杀死与所述疾病或异常相关的衰老细胞(即,确定的衰老细胞)来治疗或预防所述疾病或异常(即,降低所述疾病或异常发生的可能性)的方法,所述与衰老相关的疾病或异常是肺部疾病或异常。与衰老相关的肺部疾病和异常包含例如特发性肺纤维化(IPF)、慢性阻塞性肺部疾病(COPD)、哮喘、囊性纤维化、支气管扩张和肺气肿。

[0285] COPD是一种肺病,其通过由于肺组织分解(肺气肿)和小气道功能异常(阻塞性细支气管炎)而导致的持续不良的气流来定义。COPD的主要症状包含呼吸短促、喘息、胸闷、慢性咳嗽和痰液过多。来自香烟烟雾激活的中性粒细胞和巨噬细胞的弹性蛋白酶分解肺泡结构的细胞外基质,导致扩大的空气空间和呼吸量的丧失(参见,例如Shapiro et al., Am.J.Respir.Cell Mol.Biol.32(2005)367-372)。COPD最常见原因是数十年来发生的烟草烟雾(包含香烟烟雾、雪茄烟雾、二手烟、烟斗烟雾)、职业暴露(例如,暴露于粉尘、烟雾或烟气)和污染,从而意味着衰老是发展COPD的风险因素。

[0286] 引起肺损伤的过程包含例如由烟草烟雾中的高浓度自由基产生的氧化应激;由于对气道中刺激物的炎性反应引起的细胞因子释放;以及烟草烟雾和自由基对抗蛋白酶的损害,允许蛋白酶损害肺。遗传易感性也可以导致该疾病。在约1%的患有COPD的人中,这种疾病是由一种遗传性异常引起的,该遗传性异常导致肝脏中 α -1-抗胰蛋白酶的low水平产生。这种酶通常分泌到血流中,以帮助保护肺部。

[0287] 肺纤维化是一种慢性和进行性肺病,其特征是肺变硬和结疤,其可以导致呼吸衰竭、肺癌和心力衰竭。纤维化与上皮的修复有关。成纤维细胞被激活,细胞外基质蛋白的产生增加,并且转分化为收缩性肌成纤维细胞有助于伤口收缩。临时基质堵塞损伤的上皮,并且为上皮细胞迁移(涉及上皮-间充质转化(EMT))提供支架。与上皮损伤相关的失血诱导血小板活化、生长因子的产生和急性炎症反应。正常情况下,上皮屏障愈合,并且炎症反应消退。然而,在纤维变性疾病中,成纤维细胞反应持续,导致未解决的伤口愈合。成纤维细胞灶的形成是该疾病的一个特征,反映了正在进行的纤维生成的位置。顾名思义,IPF的病因是未知的。IPF中细胞衰老的参与通过以下观察显示,即,疾病的发病率随年龄增加并且IPF患者的肺组织富含SA- β -Gal-阳性细胞并含有升高水平的衰老标记物p21(参见,例如Minagawa et al., Am.J.Physiol.Lung Cell.Mol.Physiol.300(2011)L391-L401;还参见

例如上文的Naylor等人)。端粒短是一种常见于IPF和细胞衰老两者的风险因素(参见,例如Alder et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 105 (2008) 13051-13056)。不希望受理论的束缚,细胞衰老对IPF的贡献由以下报道显示,即衰老细胞的SASP组分(诸如IL-6、IL-8和IL-1 β)促进成纤维细胞至肌成纤维细胞的分化和上皮-间充质转化,导致肺泡和间质空间的细胞外基质的广泛重塑(参见,例如上文的Minagawa等人)。

[0288] 有发展肺纤维化风险的受试者包含暴露于环境或职业污染物诸如石棉沉着病和矽肺部疾病的受试者;吸烟的受试者;患有某些典型的结缔组织疾病(诸如类风湿性关节炎、SLE和硬皮病)的受试者;患有其他涉及结缔组织的疾病(诸如结节病和韦格纳肉芽肿病)的受试者;患有传染病的受试者;服用某些药物(例如,胺碘酮、博来霉素、白消安、甲氨蝶呤和呋喃妥因)的受试者;对胸部进行放射疗法的受试者;和其家庭成员患有肺纤维化的受试者。

[0289] COPD的症状可以包含以下中的任何一种:呼吸短促,尤其是在体力活动期间;喘息;胸闷;不得不在早上第一件事就是清嗓子,因为肺部过多的粘液;慢性咳嗽,其产生可能是透明的、白色、黄色或绿色的痰;嘴唇或指甲床发蓝(发绀);频繁的呼吸道感染;精力不足;意外的体重减轻(在疾病后期观察到)。患有COPD的受试者也可能经历恶化,在此期间症状恶化并持续数天或更长时间。肺纤维化的症状在本领域中是已知的并且包含呼吸短促,特别是在运动期间;频繁干咳;快速浅呼吸;逐渐的意外体重减轻;疲倦;疼痛的关节和肌肉;和杵状指(手指或脚趾的尖端的加宽和变圆)。

[0290] 患有COPD或肺纤维化的受试者可以使用本领域常规实践的标准诊断方法来鉴定。可以使用通常用于诊断的方法来监测施用给患有肺部疾病或具有发展肺部疾病风险的受试者的一种或多种抗衰老剂的效果。通常,可以进行以下检查或测试中的一项或多项:身体检查、患者的病史、患者的家族病史、胸部X光、肺功能测试(诸如肺活量测定)、血液测试(例如,动脉血气分析)、支气管肺泡灌洗、肺活检、CT扫描和运动测试。

[0291] 可以通过使用抗衰老剂治疗的其他肺部疾病或异常包含例如肺气肿、哮喘、支气管扩张和囊性纤维化(参见,例如Fischer et al., Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 304 (6) (2013) L394-400)。这些疾病还可以通过烟草烟雾(包含香烟烟雾、雪茄烟雾、二手烟、烟斗烟雾)、职业暴露(例如,暴露于粉尘、烟雾或烟气)、感染和/或诱导细胞衰老并且从而导致炎症的污染物而加重。肺气肿有时被认为是COPD的亚组。

[0292] 支气管扩张由对气道的损伤引起,损伤导致气道变宽并变得松弛和结疤。支气管扩张通常由损伤气道壁或抑制气道清除粘液的医学病症引起。这样的病症的示例包含囊性纤维化和原发性纤毛运动障碍(PCD)。当肺部的仅一部分受到影响时,异常可能是由阻塞而不是医学病症引起的。

[0293] 本文所述的用于治疗或预防与衰老相关的肺部疾病或异常(即,减少与衰老相关的肺部疾病或异常的可能性或发生)的方法也可以用于治疗正在衰老且具有肺功能丧失(或退化)(即,与年轻的受试者相比肺功能下降或受损)和/或肺组织退化的受试者。呼吸系统随着年龄的增长而经历各种解剖、生理和免疫变化。这些结构性变化包含胸壁和胸椎畸形,其可以损害整个呼吸系统的顺应性,导致呼吸力增加。呼吸系统随着年龄的增长而经历结构、生理和免疫变化。与年轻人相比,在老年人的支气管肺泡灌洗液(BAL)中发现中性粒细胞的增加的比例和巨噬细胞的降低的百分比。下呼吸道中的持续低度炎症可以导致对肺基

质的蛋白水解和氧化剂介导的损伤,导致肺泡单位的丧失和跨过肺泡膜的气体交换受损(随年龄增长而出现)。持续的下呼吸道炎症可以使老年人更容易受到有毒的环境暴露的影响,并加速肺功能下降。(参见,例如Sharma et al.,*Clinical Interventions in Aging* 1 (2006) 253-260)。氧化应激加剧衰老期间的炎症(参见,例如Brod,*Inflamm. Res.* 49 (2000) 561-570;Hendel et al.,*Cell Death and Differentiation* 17 (2010) 596-606)。衰老期间的氧化还原平衡的改变和增加的氧化应激促使细胞因子、趋化因子和粘附分子以及酶的表达(参见,例如Chung et al.,*Ageing Res. Rev.* 8 (2009) 18-30)。巨噬细胞、T细胞和肥大细胞的组成型激活和募集促进蛋白酶的释放,从而导致细胞外基质降解、细胞死亡、重塑和在慢性炎症期间可以导致组织和器官损伤的其他事件(参见,例如Demedts et al.,*Respir. Res.* 7 (2006) 53-63)。通过向衰老的受试者(其包含无症状的中年人)施用抗衰老剂,肺功能的下降可以通过杀死衰老细胞并从呼吸道中去除衰老细胞而被减缓或抑制。

[0294] 抗衰老剂的有效性可以由医学和临床领域的技术人员容易地确定。诊断方法(包含身体检查、临床症状的评估和监测以及本文所述的分析测试和方法的执行)中的一种或任意组合可以用于监测受试者的健康状况。使用本领域中已知的技术,诸如将已接受治疗的患有肺部疾病或具有患肺部疾病的风险的患者的症状与未没有这样的治疗或用安慰剂治疗的患者的症状进行比较,可以分析抗衰老剂或包括该药剂的药物组合物的治疗效果。此外,可以进行评估肺的机械功能的方法和技术,例如测量肺容量、弹性和气道超敏性的技术。为了确定肺功能并在整个治疗中监测肺功能,可以获得多个测量结果中的任何一种:呼气储备量(ERV)、用力肺活量(FVC)、用力呼气量(FEV)(例如,一秒内的FEV,FEV₁)、FEV₁/FEV₁比率、25%至75%的用力呼气流量和最大自主通气量(MVV)、峰值呼气流量(PEF)、慢肺活量(SVC)。总肺容量包含总肺活量(TLC)、肺活量(VC)、剩余容量(RV)和功能剩余容量(FRC)。跨过肺泡毛细血管膜的气体交换可以使用一氧化碳的扩散量(DLCO)来测量。还可以测量外周毛细血管血氧饱和度(SpO₂) ;正常的氧水平通常在95%至100%。SpO₂水平低于90%表明受试者具有低氧血症。低于80%的值被视为危急值,并且需要进行干预以维持脑和心脏功能,并避免心脏或呼吸骤停。

[0295] 转移病变

[0296] 在一些实施例中,提供了用于治疗或预防与衰老细胞相关的疾病(或异常或病症)(即,降低其发生或发展的可能性)的方法,所述疾病(或异常或病症)是转移病变。本文所述的抗衰老剂还可以根据本文所述的方法用于治疗或预防在体内从一个器官或组织向另一个器官或组织的转移病变(即,癌症或肿瘤细胞的扩散和播散)(即,降低其发生的可能性)。

[0297] 与衰老细胞相关的疾病或异常包含转移病变,并且患有癌症的受试者可以受益于施用如本文所述的用于抑制转移病变的抗衰老剂。当根据本文所述的方法施用给患有癌症的受试者时,这样的抗衰老剂可以抑制肿瘤增殖。当癌细胞(即肿瘤细胞)扩散超出起源和初始定殖的解剖部位至受试者全身的其他区域时,发生癌症的转移病变。肿瘤增殖可以通过肿瘤大小来确定,肿瘤大小可以通过本领域技术人员熟悉的各种方式来测量,例如诸如通过PET扫描、MRI、CAT扫描、活检。也可以通过检查肿瘤细胞的分化来评估治疗剂对肿瘤增殖的作用。

[0298] 如本文和本领域中所使用的,术语癌症或肿瘤是临床描述性术语,其包括通常以呈现异常细胞增殖的细胞为特征的疾病。术语癌症通常用于描述恶性肿瘤或由肿瘤引起的

疾病状态。可替代地,异常生长在本领域中可以称为肿瘤。术语肿瘤,诸如涉及组织时,通常指任何异常组织生长,其特征至少部分在于过度和异常的细胞增殖。肿瘤可能是转移性的,并且能够扩散超出其起源和初始定殖的解剖部位至受试者全身的其他区域。癌症可以包括实体肿瘤或可以包括“液体”肿瘤(例如,白血病和其他血液癌症)。

[0299] 细胞被癌症疗法(诸如辐射和某些化疗药物)诱导衰老。衰老细胞的存在增加炎症分子的分泌,促进肿瘤进展,这可能包含促进肿瘤生长和增加肿瘤大小、促进转移病变和改变分化。当衰老细胞被摧毁时,肿瘤进展被显著抑制,导致小尺寸的肿瘤并且几乎没有或没有观察到转移生长(参见,例如国际公开第WO 2013/090645号)。

[0300] 在一些实施例中,提供了用于通过施用如本文所述的抗衰老剂在患有癌症的受试者中预防(即,降低转移病变的发生的可能性)、抑制或延缓转移病变的方法。在其他实施例中,在不超过7天或14天的治疗窗口(即,治疗过程)内的一天或多天施用抗衰老剂。在又一些实施例中,治疗过程不超过2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20天或不超过21天。在又一些实施例中,治疗过程是一天。在又一些实施例中,抗衰老剂在不超过7天或14天的治疗窗口内的两天或更多天施用。

[0301] 因为细胞可能被癌症疗法诱导衰老,诸如辐射和某些化疗药物(例如,阿霉素;紫杉醇;吉西他滨;泊马度胺;来那度胺),所以本文所述的抗衰老剂可以在化疗或放射治疗后施用以杀死(或促进杀死)这些衰老细胞。如本文所讨论和本领域所理解的,衰老的建立(诸如通过与衰老相关的分泌表型(SASP)的存在所显示的)在数天内发生;因此,当衰老已经建立时,开始施用抗衰老剂以杀死衰老细胞,并且从而降低发生的可能性或降低转移病变的程度。如本文所讨论的,施用抗衰老剂的以下疗程可以用于本文所述的用于治疗或预防化疗或放射治疗副作用(即,降低其发生的可能性,或降低其严重程度)的方法中。

[0302] 在某些实施例中,当在至少一天的疗法(即,化疗或放射治疗)之后至少3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14(或约2周)、15、16、17、18、19、20、21(或约3周)天或约4周(约一个月)的非疗法(即,非化疗或放射治疗)的治疗周期中施用化疗或放射治疗时,抗衰老剂在非疗法时间间隔(时间段)期间的一天或多天施用,其开始于非疗法时间间隔的第二天或之后并且结束于非疗法时间间隔的最后一天或之前。作为说明性示例,如果n是非疗法天数,那么在非疗法时间间隔的至少一天且不超过n-1天施用所述抗衰老剂。在一些实施例中,当在至少一天的疗法(即,化疗或放射治疗)之后至少一周的非疗法的治疗周期中施用化疗或放射治疗时,在非疗法时间间隔期间的一天或多天施用抗衰老剂,其在非疗法时间间隔的第二天或之后开始并且在非疗法时间间隔的最后一天或之前结束。

[0303] 化疗可以称为化疗、化疗剂或化疗药物。许多化疗剂是被称为有机小分子的化合物。化疗是也用于描述被施用以治疗特定癌症的化疗药物的组合的术语。如本领域技术人员所理解的,化疗还可以指两种或更多种协同施用的化疗分子的组合,并且其可以被称为联合化疗。许多化疗药物用于肿瘤学领域,并且包含但不限于烷化剂;抗代谢药物;萘环类药物、植物生物碱;和拓扑异构酶抑制剂。

[0304] 可以转移的癌症可以是实体肿瘤,或者可以是液体肿瘤(例如血液癌症,例如白血病)。作为液体肿瘤的疾病在本领域中被分类为发生在血液、骨髓和淋巴结中的那些,并且通常包含白血病(髓性和淋巴性)、淋巴瘤(例如霍奇金淋巴瘤)和黑色素瘤(包含多发性骨髓瘤)。白血病包含例如急性淋巴细胞白血病(ALL)、急性髓细胞性白血病(AML)、慢性淋巴

细胞白血病 (CLL)、慢性髓细胞性白血病 (CML) 和毛细胞白血病。作为实体肿瘤并且在人类中以更高频率发生的癌症包含例如前列腺癌、睾丸癌、乳腺癌、脑癌、胰腺癌、结肠癌、甲状腺癌、胃癌、肺癌、卵巢癌、卡波西肉瘤、皮肤癌 (包含鳞状细胞皮肤癌)、肾癌、头颈癌、喉癌、在鼻、口、喉等的潮湿粘膜衬层上形成的鳞状癌、膀胱癌、骨肉瘤 (骨癌)、宫颈癌、子宫内膜癌、食道癌、肝癌和肾癌。在某些具体实施例中,通过本文所述方法治疗或预防 (即,发生或发展的可能性降低) 的与衰老细胞相关的疾病或异常是黑色素瘤细胞、前列腺癌细胞、睾丸癌细胞、乳腺癌细胞、脑癌细胞、胰腺癌细胞、结肠癌细胞、甲状腺癌细胞、胃癌细胞、肺癌细胞、卵巢癌细胞、卡波西肉瘤细胞、皮肤癌细胞、肾癌细胞、头或颈癌细胞、喉癌细胞、鳞状细胞癌细胞、膀胱癌细胞、骨肉瘤细胞、宫颈癌细胞、子宫内膜癌细胞、食道癌细胞、肝癌细胞或肾癌细胞的转移病变。

[0305] 本文所述的方法还可用于抑制、延缓或减慢医学领域中所述的任何一种类型的肿瘤的转移性癌症的进展。癌症 (肿瘤) 的类型包含以下: 肾上腺皮质癌、儿童肾上腺皮质癌、艾滋病相关癌症、肛门癌、阑尾癌、基底细胞癌、儿童基底细胞癌、膀胱癌、儿童膀胱癌、骨癌、脑肿瘤、儿童星形细胞瘤、儿童脑干神经胶质瘤、儿童中枢神经系统非典型畸胎样/横纹肌样瘤、儿童中枢神经系统胚胎瘤、儿童中枢神经系统生殖细胞肿瘤、儿童颅咽管瘤脑肿瘤、儿童室管膜瘤脑肿瘤、乳腺癌、儿童支气管肿瘤、类癌瘤、儿童类癌瘤、胃肠道类癌瘤、未知原发癌、儿童未知原发癌、儿童心脏 (心脏) 肿瘤、宫颈癌、儿童宫颈癌、儿童脊索瘤、慢性骨髓增生性异常、结肠癌、结肠直肠癌、儿童结肠直肠癌、肝外胆管癌、原位导管癌 (DCIS)、子宫内膜癌、食道癌、儿童食道癌、儿童嗅神经母细胞瘤、眼癌、骨恶性纤维组织细胞瘤、胆囊癌、胃 (胃) 癌、儿童胃 (胃) 癌、胃肠道间质瘤 (GIST)、儿童胃肠道间质瘤 (GIST)、儿童颅外生殖细胞瘤、性腺外生殖细胞瘤、妊娠滋养细胞瘤、神经胶质瘤、头颈癌、儿童头颈癌、肝细胞 (肝) 癌、下咽癌、肾癌、肾细胞肾癌、肾母细胞瘤、儿童肾肿瘤、朗格汉斯细胞组织细胞增多症、喉癌、儿童喉癌、白血病、急性淋巴细胞白血病 (ALL)、急性髓细胞性白血病 (AML)、慢性淋巴细胞白血病 (CLL)、慢性髓细胞性白血病 (CML)、毛细胞白血病、唇癌、肝癌 (原发性)、儿童肝癌 (原发性)、小叶原位癌 (LCIS)、肺癌、非小细胞肺癌、小细胞肺癌、淋巴瘤、艾滋病相关淋巴瘤、伯基特淋巴瘤、皮肤T细胞淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、原发性中枢神经系统淋巴瘤 (CNS)、黑色素瘤、儿童黑色素瘤、眼内 (眼) 黑色素瘤、梅克尔细胞癌、恶性间皮瘤、儿童恶性间皮瘤、伴有隐匿性原发的转移性鳞状颈癌、涉及NUT基因的中线道癌、口癌、儿童多发性内分泌瘤综合征、蕈样肉芽肿、骨髓增生异常综合征、骨髓增生异常肿瘤、骨髓增生性肿瘤、多发性骨髓瘤、鼻腔癌、鼻咽癌、儿童鼻咽癌、成神经细胞瘤、口腔癌、儿童口腔癌、口咽癌、卵巢癌、儿童卵巢癌、上皮性卵巢癌、低恶性潜能肿瘤卵巢癌、胰腺癌、儿童胰腺癌、胰腺神经内分泌肿瘤 (胰岛细胞瘤)、儿童乳头状瘤病、副神经节瘤、副鼻窦癌、甲状旁腺癌、阴茎癌、咽癌、嗜铬细胞瘤、垂体肿瘤、浆细胞瘤、儿童胸膜肺母细胞瘤、前列腺癌、直肠癌、肾盂移行细胞癌、视网膜母细胞瘤、唾液腺癌、儿童唾液腺癌、尤文肉瘤家族肿瘤、卡波西肉瘤、骨肉瘤、横纹肌肉瘤、儿童横纹肌肉瘤、软组织肉瘤、子宫肉瘤、塞扎里综合征、儿童皮肤癌、非黑色素瘤皮肤癌、小肠癌、鳞状细胞癌、儿童鳞状细胞癌、睾丸癌、儿童睾丸癌、喉癌、胸腺瘤和胸腺癌、儿童胸腺瘤和胸腺癌、甲状腺癌、儿童甲状腺癌、输尿管移行细胞癌、尿道癌、子宫内膜癌、阴道癌、外阴癌和华氏巨球蛋白血症。

[0306] 化疗和放射治疗副作用

[0307] 在其他实施例中,与衰老细胞相关的异常或病症是化疗副作用或放射治疗副作用。诱导非癌症细胞衰老的化疗剂的示例包含蒽环类药物(诸如阿霉素、柔红霉素);泰素(例如紫杉醇);吉西他滨;泊马度胺;和来那度胺。如本文所述施用的一种或多种抗衰老剂可以用于治疗和/或预防化疗副作用或放射治疗副作用(即,减少其可能性或发生)。衰老细胞的去除或破坏可以改善化疗或放射治疗的急性毒性,包含包括能量失衡的急性毒性。急性毒副作用包含但不限于胃肠道毒性(例如恶心、呕吐、便秘、厌食、腹泻)、周围神经病、疲劳、不适、体力活动低下、血液毒性(例如贫血)、肝毒性、脱发症(脱发)、疼痛、感染、粘膜炎、体液滞留、皮肤病学毒性(例如皮疹、皮炎、色素沉着过度、荨麻疹、光敏性、指甲变化)、口(例如口腔粘膜炎)、牙龈或咽喉问题,或由化疗或放射治疗引起的任何毒副作用。例如,由放射治疗或化疗引起的毒副作用可以通过本文所述的方法改善。因此,在某些实施例中,本文提供了用于在接受疗法的受试者中改善化疗或放射治疗或两者的急性毒性(降低、抑制或防止其发生(即,降低其发生的可能性))或降低其毒性副作用(即,有害副作用)的严重程度的方法,其中所述方法包括向所述受试者施用选择性杀死、去除或摧毁衰老细胞或促进衰老细胞的选择性破坏的药剂。本文所述的用于治疗或降低化疗或放射治疗副作用的发生的可能性或降低化疗或放射治疗副作用的严重程度的抗衰老剂的施用可以通过上述用于治疗/预防转移病变的相同疗程来完成。如针对治疗或预防转移病变(即,降低转移病变的发生的可能性)所描述的,抗衰老剂在非疗法或非疗法时间间隔期间或在化疗或放射治疗治疗方案已经完成后施用。

[0308] 在更具体的实施例中,急性毒性是包括能量失衡的急性毒性,并且可以包括体重减轻、内分泌改变(例如,激素失衡、激素信号传导改变)和身体组成改变中的一种或多种。在某些实施例中,包括能量失衡的急性毒性涉及受试者的身体活动能力的降低或减少,如通过比在未接受所述药物疗法的受试者中将观察到的降低或减少的能量消耗所指示的。作为非限制性示例,这样的包括能量失衡的急性毒性作用包含低体力活动。在其他实施例中,能量失衡包括疲劳或不适。

[0309] 在一些实施例中,通过本文所述的抗衰老剂治疗或预防(即,发生的可能性降低)的化疗副作用是心脏毒性。患有正在用蒽环类药物(诸如阿霉素、柔红霉素)治疗的癌症的受试者可以用一种或多种本文所述的减少、改善或降低蒽环类药物的心脏毒性的抗衰老剂治疗。如在医学领域中很好地理解的,由于与蒽环类药物相关的心脏毒性,即使癌症对药物有反应,受试者可以接受的最大生存期剂量也是有限的。施用一种或多种抗衰老剂可以降低心脏毒性,使得可以向受试者施用额外量的蒽环类药物,导致与癌症疾病相关的改善的预后。在一些实施例中,心脏毒性由蒽环类药物诸如阿霉素的施用引起。阿霉素是一种蒽环类药物拓扑异构酶抑制剂,其被批准用于治疗这样的患者,所述患者患有在铂类疗法失败后的卵巢癌;原发性全身化疗失败或对疗法不耐受后的卡波西肉瘤;或在以前未接受过硼替佐米或以前至少接受过一次疗法的患者中与硼替佐米联合治疗的多发性骨髓瘤。如果患者的总生存期剂量超过 $550\text{mg}/\text{m}^2$,则阿霉素可能会导致心肌损伤,其可以导致充血性心力衰竭。如果患者还接受纵隔辐射或其他心脏毒性药物,则即使在较低的剂量下也可能发生心脏毒性。

[0310] 在其他实施例中,本文所述的抗衰老剂可以用于如本文提供的用于改善慢性或长期副作用的方法中。慢性毒性副作用通常是由在较长的时间段内多次暴露于化疗或放射治

疗或施用化疗或放射治疗引起的。某些毒性作用在治疗后很长时间出现(也被称为晚期毒性作用),并且是由疗法对器官或系统的损伤引起的。在儿童期接受癌症治疗的患者中已经观察到器官功能异常(例如,神经、肺、心血管和内分泌功能异常)(参见,例如Hudson et al., JAMA 309 92013 2371-2381)。不希望受任何特定理论的束缚,通过摧毁衰老细胞,特别是通过化疗或放射治疗已经诱导衰老的正常细胞,可以降低慢性副作用发生的可能性,或者可以降低或减少慢性副作用的严重程度,或者可以延迟慢性副作用的发作时间。在接受化疗或放射治疗的受试者中发生的慢性和/或晚期毒性副作用作为非限制性示例包含心脏病、充血性心脏病、炎症、早期绝经、骨质疏松症、不孕症、认知功能受损、周围神经病、继发性癌症、白内障和其他视力问题、听力损失、慢性疲劳、肺容量降低和肺病。

[0311] 此外,通过经由施用抗衰老剂杀死或去除患有癌症的受试者中的衰老细胞,与不施用抗衰老剂相比,对化疗或放射治疗的敏感性可以以临床上或统计学上显著的方式被增强。换句话说,当向用相应的化疗或放射治疗治疗的受试者施用抗衰老剂时,化疗或放射治疗抗性的发展可以被抑制。

[0312] 神经学疾病和异常

[0313] 可通过施用本文所述的抗衰老剂治疗的与衰老相关的疾病或异常包含神经学疾病或异常。这样的与衰老相关的疾病和异常包含帕金森病、阿尔茨海默氏病(和其他痴呆)、运动神经元功能异常(MND)、轻度认知障碍(MCI)、亨廷顿病和眼部疾病和异常,诸如年龄相关的黄斑变性。与年龄增长相关的其他眼部疾病是青光眼、视力丧失、老花眼和白内障。

[0314] 帕金森病(PD)是第二常见的神经退行性疾病。它是一种大脑失能性疾病,其特征是运动缓慢(运动徐缓)、颤抖、僵硬并且在后期会失去平衡。许多这些症状是由于大脑中某些神经的缺失,其导致多巴胺的缺乏。该疾病以神经变性为特征,诸如黑质致密部中约50%至70%的多巴胺能神经元的缺失、纹状体中多巴胺的深度缺失和/或胞质内包涵体(路易体)的存在,其主要由 α -突触核蛋白和泛素组成。帕金森病还具有运动功能缺陷,诸如震颤、强直、运动徐缓和/或姿势不稳。有发展帕金森病风险的受试者包含具有帕金森病家族史的受试者和暴露于农药(例如鱼藤酮或百草枯)、除草剂(例如橙剂)或重金属的受试者。产生多巴胺的神经元的衰老被认为通过产生活性氧物质有助于PD中观察到的细胞死亡(参见,例如Cohen et al., J. Neural Transm. Suppl. 19(1983) 89-103);因此,本文所述的方法和抗衰老剂可用于治疗和预防帕金森病。

[0315] 用于检测、监测或定量与帕金森病相关的神经变性缺陷和/或运动缺陷的方法在本领域中是已知的,诸如组织学研究、生物化学研究和行为评估(参见,例如美国申请公开第2012/0005765号)。帕金森病的症状在本领域中是已知的,并且包含但不限于难以开始或完成随意运动、急动、僵硬运动、肌肉萎缩、颤抖(震颤)和心率变化,但反射正常、运动徐缓和姿势不稳定。越来越多的人认识到,诊断为帕金森病的人除了其身体症状外,还可能具有认知障碍,包括轻度认知障碍。

[0316] 阿尔茨海默氏病(AD)是一种神经退行性疾病,其表现为缓慢进行性精神退化,伴有记忆衰竭、向感异常和意识混乱,导致深度痴呆。年龄是发展AD的单一最大诱发风险因素,AD是老年人痴呆的主要原因(参见,例如Hebert, et al., Arch. Neural. 60(2003) 1119-1122)。早期临床症状显示出与轻度认知障碍显著的相似性(参见下文)。随着疾病的进展,出现判断能力受损、意识混乱、行为改变、向感异常以及行走和吞咽困难。

[0317] 阿尔茨海默氏病的特征在于在组织学样品中存在神经原纤维缠结和淀粉样(老年)斑块。该病主要涉及大脑的边缘区和皮质区。含有淀粉样前体蛋白(APP)的淀粉样原性A β 片段的嗜银斑被散布在整个大脑皮层和海马中。在主要位于新皮质、海马和迈纳特基底核中的锥体神经元中发现神经原纤维缠结。观察到其他变化,诸如海马的锥体细胞中的颗粒空泡变性以及皮质和海马中的神经元丢失和胶质增生。有发展阿尔茨海默氏病风险的受试者包含高龄受试者、具有阿尔茨海默氏病家族史的受试者、具有遗传风险基因(例如ApoE4)或确定性基因突变(例如APP、PS1或PS2)的受试者以及具有头部创伤或心脏/血管病症(例如,高血压、心脏病、中风、糖尿病、高胆固醇等)历史的受试者。

[0318] 本领域已知许多行为和组织病理学测定用于评估阿尔茨海默氏病表型、用于表征治疗剂和评估治疗。组织学分析通常在死后进行。可以使用硫黄素-S、刚果红或抗-A β 染色(例如,4G8、10D5或6E10抗体)进行A β 水平的组织学分析,以使切片的脑组织上的A β 沉积可视化(参见,例如Holcomb et al.,*Nat.Med.*4(1998)97-100;Borchelt et al.,*Neuron* 19(1997)939-945;Dickson et al.,*Am.J.Path.*132(1998)86-101)。还描述了使转基因小鼠中的A β 沉积可视化的体内方法。BSB((反式,反式)-1-溴-2,5-双-(3-羟基羰基-4-羟基)苯乙烯基苯)和PET示踪剂¹¹C标记的匹兹堡化合物-B(PIB)与A β 斑块结合(参见,例如Skovronsky et al.,*Proc.Natl.Acad.Sci.USA*97(2000)7609-7614;Klunk et al.,*Ann.Neurol.*55(2004)306-319)。含¹⁹F的亲淀粉样刚果红型化合物FSB((E,E)-1-氟-2,5-双-(3-羟基羰基-4-羟基)苯乙烯基苯)允许通过MRI可视化A β 斑块(参见,例如Higuchi et al.,*Nature Neurosci.*8(2005)527-533)。放射性标记的、经腐胺修饰的淀粉样 β 肽标记阿尔茨海默氏病的小鼠模型体内的淀粉样沉积物(参见,例如Wengenack et al.,*Nat.Biotechnol.*18(2000)868-872)。

[0319] 通过星形胶质细胞增加的胶质原纤维酸性蛋白(GFAP)是在神经变期间星形胶质细胞活化和胶质增生的标记物。AP斑块与GFAP阳性活化的星形胶质细胞有关,并且可以通过GFAP染色被可视化(参见,例如Nagele et al.,*Neurobiol.Aging* 25(2004)663-674;Mandybur et al.,*Neurology* 40(1990)635-639;Liang et al.,*J.Biol.Chem.*285(2010)27737-27744)。神经原纤维缠结可以通过使用硫黄素-S荧光显微镜和Gallyas银染色的免疫组织化学来鉴定(参见,例如Gotz et al.,*J.Biol.Chem.*276(2001)529-534;美国专利第6,664,443号)。用电子显微镜和轴突运输研究进行的轴突染色可以用于观察神经元变性(参见,例如Ishihara et al.,*Neuron* 24(1999)751-762)。

[0320] 使用本领域已知的阿尔茨海默氏病的标准诊断方法可以鉴定患有阿尔茨海默氏病的受试者。通常,阿尔茨海默氏病的诊断基于患者的症状(例如,记忆功能的进行性下降、对正常活动的逐渐退缩和挫折、冷漠、激动或易怒、攻击性、焦虑、睡眠困扰、烦躁、异常运动行为、去抑制、社交退缩、食欲下降、幻觉、痴呆)、病史、神经心理学测试、神经学和/或身体检查。还可以测试脑脊液中与阿尔茨海默氏病理相关的各种蛋白质,包含牛磺酸、淀粉样 β 肽和AD7C-NTP。基因测试也可用于早发性家族性阿尔茨海默氏病(eFAD),一种常染色体显性遗传疾病。临床基因测试可用于具有AD症状的个体或具有早发性疾病的患者的高危家庭成员。在美国,可根据临床实验室改进修正案在临床或联邦批准的实验室中测试PS2和APP的突变。用于PS1突变的商业测试也是可获得的(Elan Pharmaceuticals)。

[0321] Zhang等人已经报道,在患有AD的患者的脑中和在AD小鼠模型中,与A β 斑块相关的

表达Olig2和NG2的少突胶质祖细胞(OPC),而不是星形胶质细胞、小胶质细胞或少突胶质细胞,表现出以p21/CDKN1A、p16/INK4/CDKN2A蛋白的上调和与衰老相关的 β -半乳糖苷酶活性为特征的衰老样表型(参见Nature Neurosci.22(2019)719-728)。 $A\beta$ 斑块环境的分子询问揭示了编码参与OPC功能、复制性衰老和炎症的蛋白质的转录物的升高的水平。培养的OPC直接暴露于聚集性 $A\beta$ 触发细胞衰老。用包括达沙替尼和槲皮素的抗衰老混合物治疗AD小鼠从斑块环境中选择性去除衰老细胞,减少神经炎症,减轻 $A\beta$ 负荷,并改善认知缺陷。这些发现表明 $A\beta$ 诱导的OPC细胞衰老在AD的神经炎症和认知缺陷中的作用,以及抗衰老治疗的潜在治疗益处。

[0322] 本文所述的一种或多种抗衰老剂的有效性和对接受一种或多种抗衰老剂的受试者的监测可以由医学和临床领域的技术人员容易地确定。诊断方法(包含身体检查、临床症状的评估和监测以及本文所述的分析测试和方法的执行)中的一种或任意组合可以用于监测受试者的健康状况。施用一种或多种抗衰老剂的效果可以使用本领域已知的技术来分析,诸如将已经接受治疗的患有阿尔茨海默氏病或具有阿尔茨海默氏病风险的患者的症状与未接受这样的治疗或接受安慰剂治疗的患者的症状进行比较。

[0323] 轻度认知障碍(MCI)是一种脑功能综合征,其涉及认知障碍的发作和演变,其程度超出了基于个体的年龄和教育程度的预期,但还不足以显著干扰个体的日常活动。MCI是认知老化的一个方面,其被认为是正常老化和它可能转化为的痴呆之间的过渡状态(参见,Pepeu,Dialogues in Clinical Neuroscience 6(2004)369-377)。主要影响记忆的MCI被称为“遗忘型MCI”。患有遗忘型MCI的人可能会开始遗忘他或她以前很容易回忆起的重要信息,诸如最近的事件。遗忘型MCI经常被视为阿尔茨海默氏病的前驱期。影响除记忆以外的思维能力的MCI被称为“非遗忘型MCI”。这种类型的MCI影响思维技能,诸如做出正确决策的能力、判断完成复杂任务所需的时间或步骤顺序的能力,或视觉感知能力。患有非遗忘型MCI的个体被认为更有可能转变为其他类型的痴呆(例如,具有路易体的痴呆)。

[0324] 医疗领域的人员越来越认识到,被诊断患有帕金森病的人除了其身体症状之外,还可能患有MCI。最近的研究表明,20-30%的患有帕金森病的人患有MCI,并且他们的MCI倾向于是非遗忘型的。具有MCI的帕金森病患者有时会发展为完全性痴呆(具有痴呆的帕金森病)。

[0325] 用于检测、监测、定量或评估与MCI相关的神经病理学缺陷的方法在本领域中是已知的,包含星形胶质细胞形态分析、乙酰胆碱的释放、用于评估神经变性的银染和用于检测 β 淀粉样蛋白沉积的PiB PET成像(参见,例如美国申请公开第2012/0071468号;上文的Pepeu,(2004))。用于检测、监测、定量或评估与MCI相关的行为缺陷的方法在本领域中也是已知的,包含八臂径向迷宫范式、非匹配-样品任务、水迷宫中的异中心位置确定任务、Morris迷宫测试、视觉空间任务、延迟反应空间记忆任务和嗅觉新颖性测试。

[0326] 运动神经元功能异常(MND)是一组进行性神经异常,且摧毁运动神经元,即控制诸如说话、行走、呼吸和吞咽等基本随意肌活动的细胞。根据变性是否影响上运动神经元、下运动神经元或两者进行分类。MND的示例包含但不限于肌萎缩性侧索硬化(ALS)(也被称为卢·格里克病)、进行性延髓麻痹、假性延髓麻痹、原发性侧索硬化、进行性肌萎缩、下运动神经元疾病和脊髓性肌萎缩(SMA)(例如,SMA1(也称为韦德尼希-霍夫曼病)、SMA2、SMA3(也称为库格尔贝格-韦兰德病)和肯尼迪病)、脊髓灰质炎后综合征和遗传性痉挛性截瘫。在成

年人中,最常见的MND是肌萎缩性侧索硬化(ALS),其影响上运动神经元和下运动神经元。它可以影响手臂、腿部或面部肌肉。原发性侧索硬化是上运动神经元的疾病,而进行性肌萎缩仅影响脊髓中的下运动神经元。在进行性延髓麻痹中,脑干最底层的运动神经元受影响最大,导致言语不清以及咀嚼和吞咽困难。在手臂和腿部中几乎总是存在轻度异常体征。患有MND的患者表现出帕金森病的表型(例如,具有震颤、强直、运动徐缓和/或姿势不稳)。用于检测、监测或定量与帕金森病诸如MND相关的运动和/或其他缺陷的方法在本领域中是已知的(参见,例如美国申请公开第2012/0005765号)。

[0327] 用于检测、监测、定量或评估与MND相关的运动缺陷和组织病理学缺陷的方法在本领域中是已知的,包含组织病理学、生物化学和电生理学研究以及运动活性分析(参见,例如Rich et al., *J. Neurophysiol.* 88 (2002) 3293-3304; Appel et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88 (1991) 647-651)。组织病理学上,MND的特征是运动神经元的死亡,含有SOD1和泛素的洗涤剂抗性聚集体的进行性积聚,以及退化运动神经元中异常的神经丝积聚。此外,反应性星形胶质细胞和小胶质细胞经常在病变的组织中检测到。患有MND的患者显示出一种或多种运动缺陷,包含肌肉无力和消瘦、不可控制的抽搐、痉挛、缓慢且费力的运动和过度活跃的肌腱反射。

[0328] 眼部疾病和异常

[0329] 在某些实施例中,与衰老相关的疾病或异常是眼部疾病、异常或病症,例如老花眼、黄斑变性或白内障。在其他某些实施例中,与衰老相关的疾病或异常是青光眼。黄斑变性是一种神经退行性疾病,其导致视网膜中央部分(称为黄斑)感光细胞的丢失。黄斑变性一般被分为两种类型:干性类型和湿性类型。干性形式比湿性形式更常见,其中约90%的年龄相关的黄斑变性(ARMD或AMD)患者被诊断为干性形式。这种疾病的湿性形式通常导致更严重的视力丧失。虽然年龄相关的黄斑变性的确切原因尚不清楚,但衰老视网膜色素上皮(RPE)细胞的数量随着年龄的增长而增加。年龄和某些遗传因素以及环境因素是发展ARMD的风险因素(参见,例如Lyengar et al., *Am. J. Hum. Genet.* 74 (2004) 20-39; Kenealy et al., *Mol. Vis.* 10 (2004) 57-61; Gorin et al., *Mol. Vis.* 5 (1999) 29)。环境易感因素包含 ω -3脂肪酸的摄入(参见,例如Christen et al., *Arch. Ophthalmol.* 129 (2011) 921-929); 雌激素暴露(参见,例如Feshanich et al., *Arch. Ophthalmol.* 126 (4) (2008) 519-524); 和维生素D的增高的血清水平(参见,例如Millen, et al., *Arch. Ophthalmol.* 129 (4) (2011) 481-89)。遗传易感风险因素包含患有干性AMD的患者眼中降低水平的Dicer1(参与微RNA成熟的酶),并且减少的微RNA导致细胞衰老概况。

[0330] 干性ARMD与RPE层的萎缩有关,RPE层的萎缩导致感光细胞的丧失。ARMD的干性形式可能是由黄斑组织的老化和变薄以及黄斑中色素的沉积造成的。衰老似乎同时抑制了RPE的复制和迁移,导致干性AMD患者的黄斑中RPE的永久耗竭(参见,例如Iriyama et al., *J. Biol. Chem.* 283 (2008) 11947-11953)。在湿性ARMD的情况下,新的血管在视网膜下生长,并泄漏血液和液体。这种异常渗漏的脉络膜新生血管导致视网膜细胞死亡,在中央视觉中产生盲点。不同形式的黄斑变性也可能发生在年轻患者中。与年龄无关的病因可能与遗传、糖尿病、营养缺乏、头部损伤、感染或其他因素有关。

[0331] 患者或眼科医生在常规眼部检查期间注意到的视力下降可能是黄斑变性的第一个指标。黄斑的布鲁赫膜下渗出物或“疣”的形成通常是黄斑变性可能发展的第一个物理迹

象。症状包含感知到的直线扭曲,并且在一些情况下,视觉的中心看起来比场景的剩余部分更扭曲;在视觉的中心出现黑暗、模糊的区域或“空白”;和/或颜色感知改变或减弱。患有黄斑变性的受试者的诊断和监测可以由眼科领域的技术人员根据本领域接受的定期眼部检查程序和受试者的症状报告来完成。

[0332] 老花眼是一种年龄相关的病症,其中当随着年龄的增长,正常眼睛的调节速度和幅度降低时,眼睛对附近物体的聚焦能力逐渐减弱。晶状体弹性的丧失和睫状肌收缩力的丧失已经被认为是其原因(参见,例如Heys et al.,*Mol.Vis.*10(2004)956-963;Petrash, *Invest.Ophthalmol.Vis.Sci.*54(2013)ORSF54-ORSF59)。前晶状体囊和后晶状体囊的机械性能的与年龄相关的变化表明后晶状体囊的机械强度随着年龄显著降低(参见,例如Krag et al.,*Invest.Ophthalmol.Vis.Sci.*44(2003)691-696;Krag et al., *Invest.Ophthalmol.Vis.Sci.*38(1997)357-363)。

[0333] 囊的层状结构也发生变化,并且可能至少部分地由组织组成的变化引起(参见,例如上文的Krag et al.,1997,以及其中引用的参考文献)。晶状体囊的主要结构成分是基底膜IV型胶原蛋白,其被组织成三维分子网络(参见,例如Cummings et al.,*Connect.Tissue Res.*55(2014)8-12;Veis et al.,*Coll.Relat.Res.*1(1981)269-286)。IV型胶原蛋白由六个同源的 α 链($\alpha 1-6$)组成,它们结合成异源三聚体IV型胶原蛋白原聚体,其中每个原聚体包括 $\alpha 112$ 、 $\alpha 345$ 或 $\alpha 556$ 的特定链组合(参见,例如Khoshnoodi et al.,*Microsc.Res.Tech.*71(2008)357-370)。原聚体与Gly-X-Y的三联体肽序列共享三螺旋胶原蛋白结构域的结构相似性(Timpl et al.,*Eur.J.Biochem.*95(1979)255-263),终止于被称为非胶原蛋白1(NC1)结构域的球状C末端区域。N末端由被称为7S结构域的螺旋结构域组成(参见,例如Risteli et al.,*Eur.J.Biochem.*108(1980)239-250),其也参与原聚体-原聚体相互作用。

[0334] 研究已经表明,胶原蛋白IV影响细胞功能,这是从上皮层下基底膜的位置推断出来的,并且数据支持胶原蛋白IV在组织稳定中的作用(参见,例如上文的Cummings等人)。后囊混浊(PCO)在白内障手术后的随后几年中,在约20-40%的患者中发展为并发症(参见,例如Awasthi et al.,*Arch.Ophthalmol.*127(2009)555-562)。PCO是由于残余晶状体上皮细胞在类似于伤口愈合的反应中沿着后囊的增殖和活性而产生的。生长因子,诸如成纤维细胞生长因子、转化生长因子 β 、表皮生长因子、肝细胞生长因子、胰岛素样生长因子和白介素IL-1和IL-6也可以促进上皮细胞迁移(参见,例如上文的Awasthi等人;上文的Raj等人)。如本文所讨论的,通过衰老细胞产生这些因子和细胞因子有助于SASP。相比之下,体外研究表明,胶原蛋白IV促进晶状体上皮细胞的粘附(参见,例如Olivero et al.,*Invest.Ophthalmol.Vis.Sci.*34(1993)2825-2834)。胶原蛋白IV、纤连蛋白和层粘连蛋白与眼内晶状体的粘附抑制了细胞迁移,并且可能降低PCO的风险(参见,例如Raj et al.,*Int.J.Biomed.Sci.*3(2007)237-250)。

[0335] 不希望受任何特定理论的束缚,通过本文所述的抗衰老剂选择性地杀死衰老细胞可以减慢或阻止(延迟、抑制、延缓)IV型胶原蛋白网络的破坏。去除衰老细胞并由此去除SASP的炎症效应可以减少或抑制上皮细胞迁移,并且还可以延迟(抑制)老花眼的发作或减少或减慢病症的进行性严重程度(诸如减慢从轻度到中度或从中度到重度的进展)。本文所述的抗衰老剂也可用于白内障术后处理,以降低PCO发生的可能性。

[0336] 虽然从人类研究中没有获得细胞衰老与白内障发生有关的直接证据,但BubR1亚

效等位基因小鼠在生命早期发展双侧后囊下白内障,表明衰老可能起作用(参见,例如 Baker et al., Nat. Cell Biol. 10 (2008) 825-836)。白内障是眼睛晶状体的混浊,导致视力模糊,并且如果不治疗可以导致失明。手术是有效的并且常规地进行以去除白内障。施用本文描述的一种或多种抗衰老剂可以导致降低白内障发生的可能性或者可以减慢或抑制白内障的进展。白内障的存在和严重程度可以使用眼科领域技术人员常规执行的方法通过眼部检查来监测。

[0337] 在某些实施例中,本文所述的至少一种抗衰老剂可以施用于有发展老花眼、白内障或黄斑变性风险的受试者。当人类受试者至少40岁时,可以开始用抗衰老剂治疗,以延迟或抑制白内障、老花眼和黄斑变性的发作或发展。因为几乎所有的人都发展老花眼,所以在某些实施例中,可以在受试者达到40岁之后,以如本文所述的方式向人类受试者施用抗衰老剂,以延迟或抑制老花眼的发作或发展。

[0338] 在某些实施例中,与衰老相关的疾病或异常是青光眼。青光眼是一个宽泛的术语,其用于描述一组导致视野丧失的疾病,通常没有任何其他主要症状。症状的缺乏通常导致青光眼的延迟的诊断,直到疾病的晚期。即使患有青光眼的受试者没有变得失明,他们的视力通常也会严重受损。正常情况下,清澈的液体流入和流出眼睛的前部(被称为前房)。在患有开角/广角青光眼的个体中,这种液体排出太慢,导致眼睛内的压力增加。如果不治疗,这种高压随后损害视神经,并且可以导致完全失明。周围视觉的丧失是由视网膜中神经节细胞的死亡引起的。神经节细胞是连接眼睛和大脑的一种特定类型的投射神经元。当流出液体所需的细胞网络经历SA- β -Gal染色时,在青光眼患者中观察到衰老的四倍增加(参见,例如 Liton et al., Exp. Gerontol. 40 (2005) 745-748)。

[0339] 为了监测疗法对抑制青光眼的进展的效果,标准自动视野检查(视野检查)是最广泛使用的技术。此外,已经开发了若干种用于进展检测的算法(参见,例如 Wesselink et al., Arch. Ophthalmol. 127 (3) (2009) 270-274,以及其中的参考文献)。另外的方法包含前房角镜检查(检查小梁网和液体流出眼睛的角度);成像技术,例如扫描激光断层摄影(例如HRT3)、激光偏振测量(例如GDX)和眼睛相干断层摄影);检眼镜检查;和确定中央角膜厚度的测厚仪测量。

[0340] 代谢疾病或异常

[0341] 通过施用抗衰老剂可治疗的与衰老相关的疾病或异常包含代谢疾病或异常。这样的与衰老细胞相关的疾病和异常包含糖尿病、代谢综合征、糖尿病性溃疡和肥胖。

[0342] 糖尿病的特征在于由胰岛素产生、胰岛素作用或两者的缺陷引起的高水平血糖。大多数(90%至95%)成人糖尿病诊断病例为2型糖尿病,其特征是胰腺逐渐丧失胰岛素分泌。在美国,糖尿病是肾衰竭、非创伤性下肢截肢和成人失明的新病例的主要原因。糖尿病是心脏病和中风的主要原因,并且是美国第七大死亡原因(参见,例如 Centers for Disease Control and Prevention, National diabetes fact sheet: national estimates and general information on diabetes and pre-diabetes in the United States, 2011 ("Diabetes fact sheet"))。本文所述的抗衰老剂可以用于治疗2型糖尿病,特别是与年龄、饮食和肥胖相关的2型糖尿病。

[0343] 衰老细胞参与代谢疾病,诸如肥胖和2型糖尿病,已经被认为是对损伤或代谢功能异常的反应(参见,例如 Tchkonja et al., Aging Cell 9 (2010) 667-684)。来自肥胖小鼠的

脂肪组织显示衰老标记SA- β -Gal、p53和p21的诱导(参见,例如上文的Tchkonia等人; Minamino et al., Nat. Med. 15 (2009) 1082-1087)。在相同的脂肪组织中观察到促炎细胞因子(诸如肿瘤坏死因子 α 和Cc12/MCP1)的伴随上调(参见,例如上文的Minamino等人)。肥胖中衰老细胞的诱导潜在地具有临床意义,因为促炎SASP成分也被认为有助于2型糖尿病(参见,例如上文的Tchkonia等人)。衰老标记物和SASP成分的类似上调模式与糖尿病相关,无论是在小鼠中还是在人类中(参见,例如上文的Minamino等人)。因此,本文所述的包括施用抗衰老剂的方法可用于治疗或预防2型糖尿病以及肥胖和代谢综合征。不希望受理论的束缚,衰老前脂肪细胞与抗衰老剂接触从而杀死衰老前脂肪细胞可以为患有糖尿病、肥胖或代谢综合征中的任何一种的人提供临床和健康益处。

[0344] 患有2型糖尿病的受试者可以使用本领域已知的用于2型糖尿病的标准诊断方法来鉴定。一般来说,2型糖尿病的诊断基于症状(例如,口渴增加和尿频、饥饿增加、体重减轻、疲劳、视力模糊、溃疡愈合缓慢或频繁感染和/或皮肤变黑的区域)、病史和/或患者的身体检查。有发展2型糖尿病风险的受试者包含具有2型糖尿病家族史的受试者和具有其他风险因素的受试者,诸如超重、脂肪分布、不活动、种族、年龄、糖尿病前期和/或妊娠糖尿病。

[0345] 抗衰老剂的有效性可以由医学和临床领域的技术人员容易地确定。诊断方法(包含身体检查、临床症状的评估和监测,以及分析测试和方法的执行,诸如本文所述的那些)中的一种或任意组合可以用于监测受试者的健康状况。例如,可以通过测定葡萄糖和胰岛素耐受性、能量消耗、身体组成、脂肪组织、骨骼肌和肝脏炎症和/或脂肪毒性(通过体内成像的肌肉和肝脏脂质以及通过组织学的肌肉、肝脏、骨髓和胰腺 β 细胞脂质积聚和炎症)来监测接受本文所述的一种或多种用于治疗或预防糖尿病的抗衰老剂的受试者。2型糖尿病的其他特征或表型是已知的,并且可以如本文所述并通过使用本领域已知和常规实践的其他方法和技术来测定。

[0346] 肥胖和肥胖相关的异常用于指体质量在其身高和身材上明显大于理想值的受试者的病症。体质量指数(BMI)是一种用于确定超重体重的测量工具,并且由受试者的身高和体重来计算。当一个人具有25-29的BMI时,该人被认为超重;当一个人具有30-39的BMI时,该人被认为是肥胖的;并且当一个人具有 >40 的BMI时,该人被认为是严重肥胖的。因此,术语肥胖和肥胖相关是指体质量指数值大于30、大于35或大于40的人类受试者。没有被BMI捕捉的一类肥胖在本领域中被称作“腹部肥胖”,这与在受试者中间发现的额外脂肪有关,这是健康的重要因素,甚至与BMI无关。腹部肥胖的最简单且最常用的度量是腰围。一般来说,女性腹部肥胖被定义为腰围35英寸或更大,并且男性腹部肥胖被定义为腰围40英寸或更大。更复杂的用于确定肥胖的方法需要专门的设备,诸如磁共振成像或双能量X光吸收仪。

[0347] 与糖尿病和衰老相关的病症或异常是糖尿病性溃疡(即糖尿病性伤口)。溃疡是皮肤的破裂,其可延伸至涉及皮下组织或者甚至肌肉或骨。这些病变尤其发生在下肢。患有糖尿病静脉溃疡的患者在慢性伤口的部位表现出升高的细胞衰老的存在(参见,例如Stanley et al., J. Vas. Surg. 33 (2001) 1206-1211)。在慢性伤口的部位也观察到慢性炎症,诸如糖尿病性溃疡(参见,例如Goren et al., Am. J. Pathol. 168 (2006) 65-77),这表明衰老细胞的促炎细胞因子表型在病理学中具有作用。

[0348] 患有2型糖尿病或有发展2型糖尿病风险的受试者可能患有代谢综合征。人类代谢综合征通常与肥胖相关,并且其特征为心血管疾病、肝脂肪变性、高脂血症、糖尿病和胰岛

素抗性中的一种或多种。患有代谢综合征的受试者可能会出现一系列代谢异常或异常,其例如可以包含高血压、2型糖尿病、高脂血症、血脂异常(例如高甘油三酯血症、高胆固醇血症)、胰岛素抗性、肝脂肪变性(脂肪性肝炎)、高血压、动脉粥样硬化和其他代谢异常中的一种或多种。

[0349] 肾功能异常

[0350] 肾病病理学(诸如肾小球疾病)在老年人中发生,并且可以通过施用本文所述的抗衰老化合物来治疗。肾小球肾炎的特征是肾脏的炎症和两种蛋白IL1 α 和IL1 β 的表达(参见,例如Niemir et al.,*Kidney Int.*52(1997)393-403)。IL1 α 和IL1 β 被认为是SASP的主要调节剂(参见,例如Coppe et al.,*PLoS.Biol.*6(2008)2853-2868)。肾小球疾病与衰老细胞的增加的存在有关,尤其是在纤维化的肾脏中(参见,例如Sis et al.,*Kidney Int.*71(2007)218-226)。

[0351] 皮肤病学疾病或异常

[0352] 通过施用本文所述的抗衰老剂可治疗的与衰老相关的疾病或异常包含皮肤病学疾病或异常。这样的与衰老细胞相关的疾病和异常包含银屑病和湿疹,它们也是炎性疾病并且在上文中更详细地讨论。与衰老相关的其他皮肤病学疾病和异常包含皱纹(由于衰老引起的皱纹);瘙痒(与糖尿病和衰老有关);感觉迟钝(与糖尿病和多发性硬化症相关的化疗副作用);银屑病(如上所述)和其他丘疹性皮肤异常,例如红皮病、扁平苔藓和苔藓样皮肤病;特应性皮炎(湿疹的一种形式,并且与炎症有关);湿疹性皮炎(通常在老年患者中观察到,并且与某些药物的副作用有关)。与衰老相关的其他皮肤病学疾病和异常包含嗜酸性皮肤病(与某些类型的血液学癌症有关);反应性嗜中性皮肤病(与基础疾病诸如炎症性肠综合征相关);天疱疮(一种自身免疫性疾病,其中形成抗桥粒芯蛋白的自身抗体);类天疱疮和其他免疫大疱性皮肤病(皮肤自身免疫性水泡);皮肤纤维组织细胞增生,其与衰老有关;和在老年人群中更常见的皮肤淋巴瘤。根据本文所述方法可治疗的另一种皮肤病学疾病包含皮肤狼疮,其是红斑狼疮的症状。晚发性狼疮可能与T细胞和B细胞的功能下降(即降低)以及与衰老相关的细胞因子(免疫衰老)有关。

[0353] 炎性和自身免疫性疾病和异常

[0354] 在某些实施例中,与衰老相关的疾病或异常是炎性疾病或异常,诸如作为非限制性的示例,骨关节炎,其可以根据本文所述的包括施用抗衰老剂的方法来治疗或预防(即,发生的可能性降低)。可以通过施用抗衰老剂诸如本文所述的抑制剂和拮抗剂来治疗的其他炎性或自身免疫性疾病或异常包括骨质疏松症、银屑病、口腔粘膜炎、类风湿性关节炎、炎性肠病、湿疹、脊柱后凸、椎间盘突出和肺部疾病、COPD和特发性肺纤维化。

[0355] 骨关节炎退行性关节疾病的特征是在高机械应力部位的软骨纤维性颤动、骨硬化以及滑膜和关节囊的增厚。纤维性颤动是一种涉及软骨表层分裂的局部表面解体。早期分裂与软骨表面相切,遵循主要胶原蛋白束的轴。软骨内的胶原蛋白变得紊乱,并且蛋白聚糖从软骨表面丢失。在关节中缺乏蛋白聚糖的保护和润滑作用时,胶原蛋白纤维变得易于降解,并且随之而来的是机械破坏。发展骨关节炎的易患风险因素包含年龄增长、肥胖、以前的关节损伤、关节过度使用、大腿肌肉无力和遗传。骨关节炎的症状包含关节疼痛或僵硬,特别是在不活动或过度使用后的臀部、膝盖和下背部;休息后僵硬,其在运动后消失;和活动后或接近一天结束时更严重的疼痛。骨关节炎也可能影响颈部、小指关节、拇指根部、脚

踝和大脚趾。慢性炎症被认为是导致骨关节炎的主要年龄相关因素。与年龄组合,关节过度使用和肥胖似乎会促进骨关节炎。

[0356] 通过选择性杀死衰老细胞,抗衰老剂防止(即,降低发生的可能性)、减少或抑制关节中蛋白聚糖层的损失或侵蚀,减少受影响关节中的炎症,并促进(即,刺激、增强、诱导)胶原蛋白(例如,2型胶原蛋白)的产生。衰老细胞的去除导致在关节中产生的炎性细胞因子诸如IL-6的量(即水平)的降低,并且炎症被减轻。本文提供了用于通过向受试者施用至少一种抗衰老剂(其可以与至少一种药学上可接受的赋形剂组合以形成药物组合物)来治疗骨关节炎、选择性地杀死受试者的骨关节炎关节中的衰老细胞和/或诱导受试者关节中胶原蛋白(诸如2型胶原蛋白)产生的方法。抗衰老剂也可以用于减少(抑制、降低)降解关节中的胶原蛋白的金属蛋白酶13(MMP-13)的产生,并且用于恢复蛋白聚糖层或抑制蛋白聚糖层的损失和/或降解。因此,用抗衰老剂治疗还可以防止骨侵蚀(即,降低骨侵蚀发生的可能性)、抑制或减少骨侵蚀,或者减慢骨侵蚀(即,降低骨侵蚀速率)。如本文中详细地描述的,在某些实施例中,抗衰老剂被直接施用到骨关节炎关节(例如,通过关节内、局部、经皮、皮内或皮下递送)。用抗衰老剂治疗也可以恢复、改善或抑制关节强度的恶化。此外,包括施用抗衰老剂的方法可以减少关节疼痛,并且因此可用于骨关节炎关节的疼痛控制。

[0357] 一种或多种抗衰老剂用于治疗或预防受试者骨关节炎的有效性以及对接受一种或多种抗衰老剂的受试者的监测可以由医学和临床领域的技术人员容易地确定。诊断方法中的一种或任意组合,包含身体检查(诸如确定受影响关节的压痛、肿胀或发红)、临床症状(诸如疼痛、僵硬、活动度)的评估和监测,以及本文所述和本领域实践的分析测试和方法的执行(例如确定炎性细胞因子或趋化因子的水平;X光图像,以确定软骨的损失,如通过关节中骨之间的空间变窄所示;磁共振成像(MRI),其提供骨骼和软组织(包含软骨)的详细图像),可以用于监测受试者的健康状况。一种或多种抗衰老剂的治疗效果可以通过将患有炎性疾病或异常(诸如骨关节炎)或有患炎性疾病或异常风险的患者(其已经接受治疗)的症状与没有接受这样的治疗或已经接受了安慰剂治疗的患者的症状进行比较来分析。

[0358] 在某些实施例中,抗衰老剂可以用于治疗和/或预防类风湿性关节炎(RA)(即,降低或减少类风湿性关节炎发生的可能性)。先天性和适应性免疫反应的异常调节是类风湿性关节炎(RA)的特征,类风湿性关节炎是一种自身免疫性疾病,其发病率会随着年龄的增长而增加。类风湿性关节炎是一种通常影响手和脚的小关节的慢性炎性异常。骨关节炎至少部分是由关节的磨损和撕裂引起的,而类风湿性关节炎影响关节的衬层,导致疼痛性肿胀,其可以导致骨侵蚀和关节畸形。RA有时还可以影响身体的其他器官,诸如皮肤、眼睛、肺和血管。RA可以发生在任何年龄的受试者中;然而,RA通常在40岁以后开始发展。这种异常在女性中更为常见。在本文描述的方法的某些实施例中,RA被排除。

[0359] 慢性炎症也可能导致其他年龄相关的或衰老相关的疾病和异常,诸如脊柱后凸和骨质疏松症。脊柱后凸是脊柱中的严重弯曲,并且其在正常和过早衰老时经常见到(参见,例如Katzman et al., *J. Orthop. Sports Phys. Ther.* 40 (2010) 352-360)。年龄相关的脊柱后凸通常发生在骨质疏松症削弱脊柱到其断裂和压缩的程度之后。几种类型的脊柱后凸针对婴儿或青少年。严重的脊柱后凸可以影响肺部、神经以及其他组织和器官,引起疼痛和其他问题。脊柱后凸与细胞衰老有关。可以在本领域中使用的临床前动物模型中确定表征抗衰老剂用于治疗脊柱后凸的能力。例如,TTD小鼠发展为脊柱后凸(参见,例如de Boer et

al., Science 296 (2002) 1276-1279); 可以使用的其他小鼠包含Bub1^{H/H}小鼠, 其也已知发展为脊柱后凸(参见, 例如Baker et al., Nature 479 (2011) 232-236)。随着时间的推移, 通过视觉来测量脊柱后凸的形成。通过检测一种或多种与衰老细胞相关的标记物的存在, 诸如通过SA- β -Gal染色, 可以确定通过用抗衰老剂治疗而降低的衰老细胞的水平。

[0360] 骨质疏松症是一种进行性骨病, 其特征在于骨量和骨密度的减少, 这可能导致骨折风险的增加, 这可以通过施用本文所述的抗衰老剂来治疗或预防。骨矿物密度(BMD)降低, 骨微架构恶化, 并且骨中蛋白质的量和种类改变。骨质疏松症通常通过骨矿物密度测试来诊断和监测。绝经后女性或具有减少的雌激素的女性风险最大。虽然超过75岁的男性和女性都有风险, 但女性发展骨质疏松症的可能性是男性的两倍。通过检测一种或多种与衰老细胞相关的标记物的存在, 诸如通过SA- β -Gal染色, 可以确定通过用抗衰老剂治疗而降低的衰老细胞的水平。

[0361] 在又一些实施例中, 可以用本文所述的抗衰老剂治疗或预防(即, 发生的可能性降低)的炎性/自身免疫性异常包含肠易激综合征(IBS)和炎症肠病, 诸如溃疡性结肠炎和克罗恩病。炎症肠病(IBD)涉及全部或部分消化道的慢性炎症。除了由IBD引起的危及生命的并发症之外, 这种疾病还可以是疼痛的和使人虚弱的。溃疡性结肠炎是一种导致消化道部分长期炎症的炎症肠病。症状通常随着时间的推移而发展, 而不是突然发展。溃疡性结肠炎通常仅影响大肠(结肠)和直肠的最内衬层。克罗恩病是一种沿着您的消化道内壁的任何地方引起炎症并经常深入到受影响的组织中的炎症肠病。这可以导致腹痛、严重腹泻和营养不良。由克罗恩病引起的炎症可以涉及消化道的不同区域。疾病的诊断和监测是根据本领域常规实践的方法和诊断测试进行的, 包含血液测试、结肠镜检查、柔性乙状结肠镜检查、钡灌肠、CT扫描、MRI、内窥镜检查和小肠成像。

[0362] 可以通过使用抗衰老剂来治疗或预防(即, 发生的可能性降低)的其他炎性或自身免疫性疾病包含湿疹、银屑病、骨质疏松症和肺部疾病(例如, 慢性阻塞性肺部疾病(COPD)、特发性肺纤维化(IPF)、哮喘)、炎症肠病和粘膜炎(包括口腔粘膜炎, 其在一些情况下由辐射诱发)。某些器官纤维化或纤维化病症(诸如肾纤维化、肝纤维化、胰腺纤维化、心脏纤维化、皮肤伤口愈合和口腔粘膜下纤维化)可以用本文所述的抗衰老剂来治疗。

[0363] 在某些实施例中, 与衰老细胞相关的异常是皮肤的炎性异常, 诸如作为非限制性的示例, 银屑病和湿疹, 其可以根据本文所述的包括施用抗衰老剂的方法来治疗或预防(即, 发生的可能性降低)。银屑病的特征是皮肤表皮层的异常过度和快速生长。银屑病的诊断通常基于皮肤的外观。银屑病的典型皮肤特征是鳞状红色斑块、丘疹或可能疼痛和瘙痒的皮肤斑块。在银屑病中, 观察到各种促炎细胞因子(诸如IL-6, 一种SASP的关键成分)的皮肤和全身过度表达。湿疹是一种皮肤的炎症, 其特征是发红、皮肤肿胀、瘙痒和干燥、结痂、剥落、起泡、开裂、渗出或出血。用于治疗银屑病和湿疹的抗衰老剂的有效性以及对接受这样的抗衰老剂的受试者的监测可以由医学或临床领域的技术人员容易地确定。诊断方法中的一种或任意组合, 包含身体检查(诸如皮肤外观)、临床症状(诸如瘙痒、肿胀和疼痛)的监测评估, 以及本文所述和本领域实践的分析测试和方法的执行(即确定促炎细胞因子的水平)。

[0364] 可以用本文所述的抗衰老剂治疗或预防(即, 发生的可能性降低)的其他免疫异常或病症包含由宿主对器官移植(例如, 肾、骨髓、肝、肺或心脏移植)的免疫反应引起的病症,

诸如移植的器官的排斥。本文所述的抗衰老剂也可以用于治疗或降低移植物抗宿主病的发生可能性。

[0365] 心血管疾病和异常

[0366] 在其他实施例中,通过本文所述的方法治疗的与衰老相关的疾病或异常是心血管疾病。心血管疾病可以是心绞痛、心律失常、动脉粥样硬化、心肌病、充血性心力衰竭、冠状动脉疾病(CAD)、颈动脉疾病、心内膜炎、心脏病发作(冠状动脉血栓形成、心肌梗塞[MI])、血压偏高/高血压、主动脉瘤、脑动脉瘤、心脏纤维化、心脏舒张功能异常、高胆固醇血症/高脂血症、二尖瓣脱垂、外周血管疾病(例如外周动脉疾病(PAD))、心脏应激抗性和中风中的任何一种或多种。

[0367] 在某些实施例中,提供了用于治疗与动脉硬化(即动脉的硬化)相关或由其引起的与衰老相关的心血管疾病的方法。心血管疾病可以是动脉粥样硬化(例如,冠状动脉疾病(CAD)和颈动脉疾病);心绞痛、充血性心力衰竭和外周血管疾病(例如,外周动脉疾病(PAD))中的任何一种或多种。用于治疗与动脉硬化相关或由动脉硬化引起的心血管疾病的方法可以降低血压偏高/高血压、心绞痛、中风和心脏病发作(即冠状动脉血栓形成、心肌梗塞(MI))的发生的可能性。在某些示例中,提供了用于稳定受试者血管(例如动脉)中的动脉粥样硬化斑块,从而降低血栓形成事件(诸如中风或心肌梗塞)发生的可能性或延迟血栓形成事件的发生的方法。在某些实施例中,这些方法包括施用抗衰老剂,降低(即,导致降低)受试者的血管(例如,动脉)中动脉粥样硬化斑块的脂质含量和/或增加纤维帽厚度(即,导致纤维帽的增加、增强或促进纤维帽的增厚)。

[0368] 动脉粥样硬化的特征是侵袭中型和大型动脉腔的斑片状内膜斑块(粥样);斑块含有脂质、炎性细胞、平滑肌细胞和结缔组织。动脉粥样硬化可以影响大中型动脉,包含冠状动脉、颈动脉和脑动脉、主动脉及其分支和四肢主要动脉。在一些实施例中,提供了用于通过施用抗衰老剂来抑制动脉粥样硬化斑块的形成(或减少、降低动脉粥样硬化斑块的形成、引起动脉粥样硬化斑块的形成的减少)的方法。在其他实施例中,提供了用于减少(降低、减少)斑块的量(即,水平)的方法。血管(例如动脉)中斑块量的减少可以例如通过斑块表面积的减少来确定,或者通过血管(例如动脉)的闭塞范围或程度(例如百分比)的减少来确定,其可以通过血管造影术或在心血管领域中使用的其他可视化方法来确定。本文还提供了用于增加存在于受试者的一条或多条血管(例如,一条或多条动脉)中的动脉粥样硬化斑块的稳定性(或改善、促进、增强其稳定性)的方法,该方法包括向受试者施用本文所述的任何一种抗衰老剂。

[0369] 患有心血管疾病的受试者可以使用心血管疾病领域中已知的标准诊断方法来鉴定。通常,动脉粥样硬化和其他心血管疾病的诊断基于症状(例如,胸痛或压力(心绞痛)、手臂或腿部麻木或无力、说话困难或口齿不清、面部肌肉下垂、腿痛、高血压、肾衰竭和/或勃起功能异常)、病史和/或患者的身体检查。诊断可以通过血管造影术、超声波检查或其他成像测试来确认。有发展心血管疾病风险的受试者包含具有任何一种或多种易感因素(诸如心血管疾病家族史)的受试者和具有其他风险因素(即易感因素)(诸如血压偏高、血脂异常、高胆固醇、糖尿病、肥胖和吸烟、久坐不动的生活方式和高血压)的受试者。在某些实施例中,作为与衰老细胞相关的疾病/异常的心血管疾病是动脉粥样硬化。

[0370] 一种或多种抗衰老剂用于治疗或预防心血管疾病(例如,动脉粥样硬化)(即,降低

或减少其发展或发生的可能性)的有效性可以由医学和临床领域的技术人员容易地确定。诊断方法中的一种或任意组合,包含身体检查、临床症状的评估和监测,以及本文所述和本领域实践的分析测试和方法(例如血管造影术、心电图、应激测试、无应激测试)的执行,可以用于监测受试者的健康状况。可以使用本领域已知的技术来分析抗衰老剂或包括该抗衰老剂的药物组合物的治疗效果,诸如将已经接受治疗的患有心血管疾病或有心血管疾病风险的患者的症状与没有接受这种治疗或接受安慰剂治疗的患者的症状进行比较。

[0371] 联合疗法

[0372] 本文公开的抗衰老剂和组合物也可以与一种或多种其他活性成分联合使用。在某些实施例中,所述化合物可以与另一种治疗剂联合或顺序施用。这样的其他治疗剂包含已知用于治疗、预防或改善本文所述的一种或多种症状或异常的那些治疗剂。

[0373] 例如,抗衰老剂可以与化疗剂联合施用或在施用化疗剂后施用。在一个实施例中,用诱导肿瘤细胞衰老状态的化疗剂治疗肿瘤,并且共同施用的抗衰老剂杀死衰老肿瘤细胞。可用于肿瘤治疗的化疗药物与抗衰老化合物组合的示例包含拓扑异构酶抑制剂(诸如阿霉素)、CDK4/6抑制剂(诸如帕博西尼)和PARP抑制剂诸如奥拉帕尼(例如,参见Fleury et al, Nature Communications, 10(2019) 2556)。

[0374] 应当理解,本文提供的化合物和药物组合物与一种或多种上述治疗剂和任选地一种或多种其他药理学活性物质的任何合适的组合被认为在本公开的范围之内。在一些实施例中,本文提供的化合物和药物组合物在一种或多种另外的活性成分之前或之后施用。

[0375] 药物组合物和施用方法

[0376] 本文还提供了药物组合物,其包括如本文所述的抗衰老剂和至少一种药学上可接受的赋形剂,其也可以被称为药学上合适的赋形剂或载体(即,不干扰活性成分的活性的无毒材料)。药物组合物可以是无菌的水性或非水性溶液、悬浮液或乳液(例如,微乳液)。本文所述的赋形剂是示例并且决不是限制性的。有效量或治疗有效量是指作为单剂量或作为一系列剂量的一部分施用给受试者的有效产生所需治疗效果的一种或多种抗衰老剂的量。

[0377] 当向受试者施用两种或更多种抗衰老剂以用于治疗本文所述的疾病或异常时,可以将每种抗衰老剂配制成单独的药物组合物。可以制备包括每种单独的药物组合物的药物制剂(为了方便起见,其可以被称为例如分别包括第一抗衰老剂和第二抗衰老剂的第一药物组合物和第二药物组合物)。制剂中的每种药物组合物可以在相同时间(即同时)并通过相同的施用途径施用,或者可以通过相同或不同的施用途径在不同的时间施用。可替代地,两种或更多种抗衰老剂可以一起配制成单一药物组合物。

[0378] 施用给受试者的抗衰老剂(或其一种或多种代谢物)的药代动力学可以通过确定生物流体中,例如受试者的血液、血液部分(例如血清)和/或尿液和/或其他生物样品或生物组织中的抗衰老剂的水平来监测。本领域实践的和本文描述的检测药剂的任何方法可以用于测量在治疗过程期间抗衰老剂的水平。

[0379] 本文所述的用于治疗与衰老细胞相关的疾病或异常的抗衰老剂的剂量可以取决于受试者的状况,即疾病的阶段、由疾病引起的症状的严重程度、一般健康状况以及年龄、性别和体重,和对医学领域技术人员显而易见的其他因素。药物组合物可以以如由医学领域的技术人员确定的适合待治疗疾病的方式施用。除了本文所述的和上文与使用抗衰老剂用于治疗与衰老相关的疾病或异常相关的因素之外,抗衰老剂的施用的合适的持续时间和

频率也可以通过诸如患者的状况、患者疾病的类型和严重程度、活性成分的特定形式和施用方法等因素来确定或调节。药剂的最佳剂量通常可以使用实验模型和/或临床试验来确定。最佳剂量可能取决于受试者的体质量、体重或血容量。使用足以提供有效疗法的最小剂量通常是优选的。本文所述的抗衰老剂的临床前和临床研究的设计和执​​行(包含当为了预防益处而施用)完全在相关领域技术人员的技能范围内。当施用两种或更多种抗衰老剂以治疗与衰老相关的疾病或异常时,每种抗衰老剂的最佳剂量可以与当任一种药剂作为单一药剂疗法单独施用时不同,诸如更少。在某些实施例中,两种抗衰老剂组合使得协同地或相加地起作用,并且任一种药剂可以以比如果单独施用更少的量使用。可以每天施用的抗衰老剂的量可以是例如在约0.01mg/kg至100mg/kg之间(例如,在约0.1mg/kg至1mg/kg之间、在约1mg/kg至10mg/kg之间、在约10-50mg/kg之间、在约50-100mg/kg体重之间)。在其他实施例中,每日可以施用的抗衰老剂的量在约0.01mg/kg至1000mg/kg之间、在约100-500mg/kg之间或在约500-1000mg/kg体重之间。对于待治疗的与衰老相关的疾病或异常,最佳剂量(每天或每个疗程)可能不同,并且还​​可能随施用途径和治疗方案而变化。

[0380] 通过使用本领域常规实践的技术,可以以适合于递送方法的方式配制包括抗衰老剂的药物组合物。组合物可以是固体(例如片剂、胶囊)、半固体(例如凝胶)、液体或气体(气雾剂)的形式。在其他某些具体实施例中,抗衰老剂(或包括该抗衰老剂的药物组合物)以丸药输注方式施用。在某些实施例中,当通过输注递送抗衰老剂时,根据医学领域技术人员常规执行的技术,通过血管将抗衰老剂递送至包括待杀死的衰老细胞的器官或组织。

[0381] 药学上可接受的赋形剂是医学领域众所周知的,并且例如在Rowe et al., Handbook of Pharmaceutical Excipients: A Comprehensive Guide to Uses, Properties, and Safety, 5th Ed., 2006和Remington: The Science and Practice of Pharmacy (Gennaro, 21st Ed. Mack Pub. Co., Easton, Pa. (2005))中描述。示例性的药学上可接受的赋形剂包含处于生理pH的无菌盐水和磷酸盐缓冲盐水。在药物组合物中可以提供防腐剂、稳定剂、染料、缓冲剂等。此外,还可以使用抗氧化剂和悬浮剂。通常,赋形剂的类型根据施用方式以及活性成分的化学组成来选择。可替代地,本文所述的组合物可以被配制成冻干物。本文所述的组合物可以被冻干或以其他方式被配制成冻干产品,在施用时使用一种或多种合适的赋形剂溶液来增溶和/或稀释组合物的药剂。在其他实施例中,可以使用本领域已知和实践的技术将药剂包封在脂质体内。可以配制药物组合物用于本文和本领域所述的任何合适的施用方式。

[0382] 药物组合物可以通过本领域技术人员已知的若干种途径中的任一种递送至需要其的受试者。作为非限制性示例,组合物可以口服、静脉内、腹膜内、通过输注(例如丸药输注)、皮下、肠内、直肠、鼻内、通过吸入、口腔、舌下、肌内、透皮、皮内、局部、眼内、阴道、直肠或通过颅内注射或其任何组合递送。在某些实施例中,如上所述,通过静脉内、腹膜内、直接进入靶组织或器官或皮下途径来施用剂量。在某些实施例中,递送方法包含药物为抗衰老剂的药物包衣的或渗透的支架。本文更详细地描述适合于这样的递送方法的制剂。

[0383] 在某些实施例中,将抗衰老剂(其可以与至少一种药学上可接受的赋形剂组合以形成药物组合物)直接施用于包括有助于疾病或异常表现的衰老细胞的靶组织或器官。在治疗骨关节炎时的具体实施例中,将所述至少一种抗衰老剂直接施用于需要其的受试者的骨关节炎关节(即关节内)。在其他具体实施例中,抗衰老剂可以通过局部、透皮、皮内或皮

下途径施用于关节。在其他某些实施例中,本文提供了用于通过直接施用到动脉中来治疗与动脉硬化相关的心血管疾病或异常诸如动脉粥样硬化的方法。在其他实施例中,用于治疗与衰老相关的肺部疾病或异常的抗衰老剂(其可以与至少一种药学上可接受的赋形剂组合以形成药物组合物)可以通过吸入、鼻内、通过插管或鞘内施用,例如以将抗衰老剂更直接地提供给受影响的肺部组织。作为另一个非限制性示例,可以通过注射(例如眼内或玻璃体内)或通过眼睑下结膜施用乳膏、软膏、凝胶或滴眼液将抗衰老剂(或包括抗衰老剂的药物组合物)直接递送至眼部。在更具体的实施例中,抗衰老剂或包括抗衰老剂的药物组合物可以被配制成定时释放(也被称为持续释放、受控释放)组合物或可以作为丸药输注施用。

[0384] 药物组合物(例如,用于口服施用或用于注射、输注、皮下递送、肌内递送、腹膜内递送或其他方法)可以是液体形式。液体药物组合物可以包含例如以下中的一种或多种:无菌稀释剂,诸如水、盐溶液、优选地生理盐水、林格氏溶液、等渗氯化钠、可以用作溶剂或悬浮介质的固定油、聚乙二醇、甘油、丙二醇或其他溶剂;抗菌剂;抗氧化剂;螯合剂;缓冲剂和用于调节张力的药剂诸如氯化钠或葡萄糖。肠胃外组合物可以封闭在安瓿、一次性注射器或由玻璃或塑料制成的多剂量小瓶中。使用生理盐水是优选的,并且可注射的药物组合物优选地是无菌的。在其他实施例中,为了治疗眼部病症或疾病,液体药物组合物可以以滴眼液的形式施用于眼部。液体药物组合物可以口服递送。

[0385] 对于口服制剂,本文所述的抗衰老剂中的至少一种可以单独使用或与适当的添加剂组合使用以制备片剂、粉末、颗粒剂或胶囊剂,并且如果需要,可以与稀释剂、缓冲剂、润湿剂、防腐剂、着色剂和调味剂组合使用。化合物可以与缓冲剂(以保护化合物免受胃环境的低pH的影响)和/或与肠溶衣一起配制。包含在药物组合物中的抗衰老剂可以与调味剂一起配制用于口服递送,例如以液体、固体或半固体制剂和/或与肠溶衣一起配制。

[0386] 包括本文所述的任何一种抗衰老剂的药物组合物可以被配制用于持续或缓慢释放(也被称为定时释放或受控释放)。这样的组合物通常可以使用众所周知的技术制备,并且通过例如口服、直肠、皮内或皮下植入,或通过所需的靶部位植入来施用。持续释放制剂可以含有分散在载体基质中的化合物和/或包含在由速率控制膜包围的储库内的化合物。用于这样的制剂中的赋形剂是生物相容的,并且也可以是生物可降解的;优选地,该制剂提供相对恒定水平的活性成分释放。持续释放制剂中含有的活性剂的量取决于植入的部位、释放的速率和预期持续时间以及待治疗或预防的病症、疾病或异常的性质。

[0387] 在某些实施例中,将包括抗衰老剂的药物组合物配制用于透皮、皮内或局部施用。所述组合物可以使用注射器、绷带、透皮贴剂、插入物或注射器状施用器以粉末/滑石粉或其他固体、液体、喷雾、气雾剂、软膏、泡沫、乳膏、凝胶、糊剂的形式施用。这优选地为受控释放制剂或持续释放制剂的形式,其被局部施用或直接注射到待治疗区域附近或待治疗区域内的皮肤中(皮内或皮下)。活性组合物也可以通过离子电渗疗法递送。防腐剂可以用于防止真菌和其他微生物的生长。合适的防腐剂包含但不限于苯甲酸、对羟基苯甲酸丁酯、对羟基苯甲酸乙酯、对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸丙酯、苯甲酸钠、丙酸钠、苯扎氯铵、苜蓿氯铵、苯甲醇、氯化十六烷基吡啶鎓、氯丁醇、苯酚、苯乙醇、硫柳汞及其组合。

[0388] 包括抗衰老剂的药物组合物可以配制成用于局部施用的乳液。乳液含有一种液体,该液体分布在第二液体的主体中。乳液可以是水包油乳液或油包水乳液。油相和水相中

的任一种或两种可以含有一种或多种表面活性剂、乳化剂、乳液稳定剂、缓冲剂和其他赋形剂。油相可以含有其他油性药物批准的赋形剂。合适的表面活性剂包含但不限于阴离子表面活性剂、非离子表面活性剂、阳离子表面活性剂和两性表面活性剂。用于局部施用的组合物还可以包含至少一种合适的悬浮剂、抗氧化剂、螯合剂、润肤剂或湿润剂。

[0389] 软膏和乳膏可以例如在加入合适的增稠剂和/或胶凝剂的情况下与水性或油性基质一起配制。洗剂可以与水性或油性基质一起配制,并且通常还将含有一种或多种乳化剂、稳定剂、分散剂、悬浮剂、增稠剂或着色剂。液体喷雾可以从加压的包装中递送,例如通过特殊形状的封闭件。水包油乳液也可以用于组合物、贴剂、绷带和制品中。这些系统为半固体乳液、微乳液或泡沫乳液系统。

[0390] 受控释放或持续释放透皮或局部制剂可以通过加入本领域可获得的定时释放添加剂(诸如聚合物结构、基质)来实现。例如,可通过使用热熔挤出制品(诸如生物粘附热熔挤出膜)来施用组合物。所述制剂可以包括交联的聚羧酸聚合物制剂。交联剂可以以提供足够的粘附力的量存在,以允许系统保持附着于靶上皮或内皮细胞表面持续足够长的时间,以允许化合物的所需释放。

[0391] 插入物、透皮贴剂、绷带或制品可以包括聚合物的混合物或包衣,其提供活性剂在长时段内以恒定速率的释放。在一些实施例中,制品、透皮贴剂或插入物包括水溶性成孔剂,诸如聚乙二醇(PEG),其可以与水不溶性聚合物混合以增加插入物的耐久性并延长活性成分的释放。

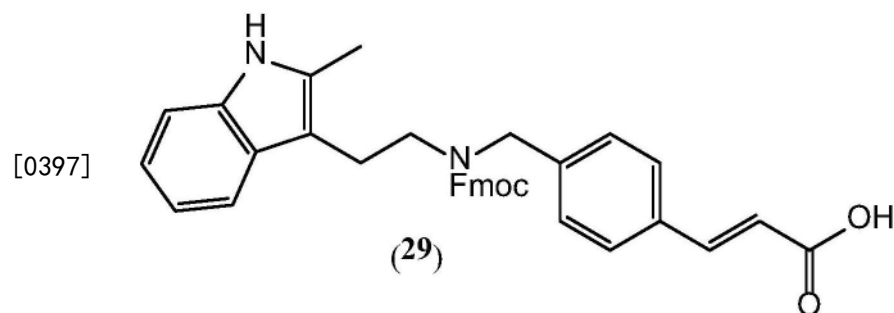
[0392] 聚合物制剂也可以用于提供受控释放或持续释放。可以使用本领域中描述的生物粘附性聚合物。例如,可以将持续释放凝胶和化合物掺入到聚合物基质(诸如疏水性聚合物基质)中。聚合物基质的示例包含微粒。微粒可以是微球,并且核可以是与聚合物壳不同的材料。可替代地,可以将聚合物浇铸成薄板或薄膜、通过研磨或其他标准技术生产的粉末或凝胶(诸如水凝胶)。聚合物还可以是包衣或绷带、支架、导管、血管移植或其他装置的一部分的形式,以便于抗衰老剂的递送。可以通过溶剂蒸发、喷雾干燥、溶剂提取和本领域技术人员已知的其他方法来形成基质。

[0393] 提供了具有通常为口服或注射剂量的单位剂量的的一种或多种本文所述的药剂的试剂盒。这样的试剂盒可以包含含有单位剂量的容器、描述药物在治疗与衰老细胞相关的疾病中的用途和伴随益处的信息包装插页以及任选地用于递送组合物的器具或装置。

[0394] 为了所有目的,所有参考文献和专利文件在此以其整体并入。

[0395] 示例

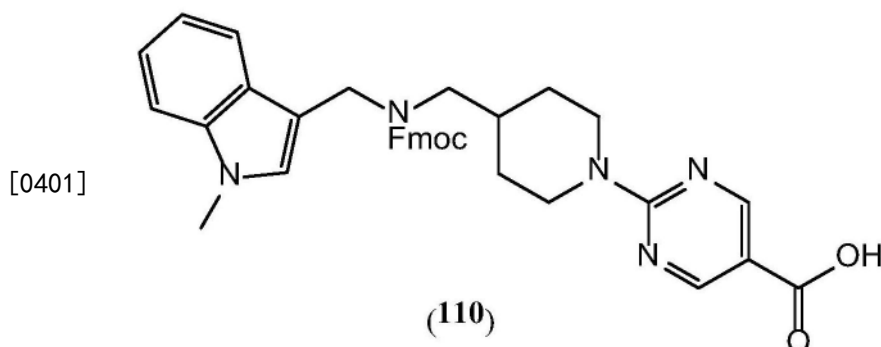
[0396] 示例1: (E)-3-(4-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)(2-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)甲基)苯基)丙烯酸(29)的制备



[0398] 将2-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)乙基-1-胺(28)(400mg, 2.2mmol)溶解在THF:二氯乙烷:甲醇(5:5:0.5)的混合物中。向该溶液中加入(E)-3-(4-甲酰基苯基)丙烯酸(27)(367mg, 2.09mmol, 0.95当量)、三乙酰氧基硼氢化物(2320mg, 11mmol, 5.0当量)和3滴乙酸。让混合物搅拌过夜,并且在真空下去除挥发物。LC/MS显示所需产物的存在。加入水,并且固体从溶液中沉淀出来。在用稀NaHCO₃将pH调节至7后,用乙酸乙酯洗涤水溶液。过滤白色固体,并且用水、醚和己烷洗涤,以得到作为浅黄色固体的(E)-3-(4-(((2-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)甲基)苯基)丙烯酸。(620mg, 81%产率)。LC/MS:RT=2.41min;m/z=335.4[M+H]⁺。

[0399] 将前述产物(E)-3-(4-(((2-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)甲基)苯基)丙烯酸(260mg, 0.77mmol, 1.0当量)和碳酸氢钠(245mg, 2.92mmol, 3.8当量)悬浮在二噁烷:水(3:1)(5.1mL, 0.15M)中。在0℃下分批加入Fmoc氯化物(230mg, 0.89mmol, 1.15当量)。让反应混合物升温至室温。通过LC/MS的分析显示期望的产物。加入稀HCl至pH 2。将水溶液用乙酸乙酯提取两次。合并的有机层用盐水洗涤,用硫酸钠干燥并浓缩,以得到橙色固体。使粗产物经历正相纯化,用在己烷中的10-100%乙酸乙酯洗脱。将产物级分合并并浓缩至干,以得到作为灰白色固体的(E)-3-(4-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)(2-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)甲基)苯基)丙烯酸(29)。(240mg, 56%产率)。LC/MS:RT=3.91min;m/z=557.6[M+H]⁺。

[0400] 示例2:2-(4-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)((1-甲基-1H-吡啶-3-基)甲基)氨基)甲基)哌啶-1-基)哌啶-5-羧酸(110)的制备



[0402] 在二噁烷(28.0mL, 0.23M)中的叔丁基(哌啶-4-基甲基)氨基甲酸酯(1400mg, 6.5mmol, 1.0当量)和2-氯嘧啶-5-羧酸甲酯(1180mg, 6.8mmol, 1.05当量)用碳酸铯(5.27g, 16.2mmol, 2.5当量)处理,并加入Pd(dba)₂丙酮(440mg, 0.48mmol, 0.075当量)。用氮气(3x)吹扫溶液。然后以一份加入咕吨(558mg, 0.96mmol, 0.15当量)。在几分钟内,悬浮液从暗红色变成黄绿色。然后在70℃下加热30min,此时LC/MS分析显示所需产物的存在。将混合物冷却至室温,并且通过硅藻土垫过滤,用二氯甲烷(20mL, 3x)洗涤。将溶剂浓缩至干,并且使残留物经历正相纯化,用己烷:乙酸乙酯(40-100%)洗脱。收集产物级分,合并并浓缩,以得到作为灰白色固体的2-[4-(叔丁氧基羰基氨基-甲基)-哌啶-1-基]-嘧啶-羧酸甲酯。(1650mg)。LC/MS:RT=3.23min;m/z=351.6[M+H]⁺。

[0403] 将2-[4-(叔丁氧基羰基氨基-甲基)-哌啶-1-基]-嘧啶-5-羧酸甲酯(1.65g, 4.7mmol)溶解在THF(10mL)中。加入4N HCl/二噁烷(9.4mL, 37.6mmol, 8.0当量),并将溶液在60℃下加热2h,在此期间,固体沉淀。过滤盐酸盐沉淀,用乙醚/己烷(3x)洗涤并干燥,以

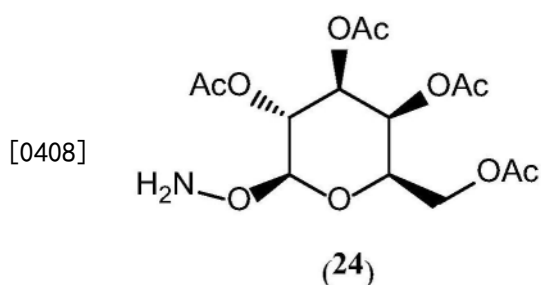
得到作为白色固体的2-(4-氨基甲基-哌啶-1-基)-嘧啶-5-羧酸甲酯盐酸盐(1.08g)。LC/MS:RT=1.88min;m/z=251.4[M+H]⁺。

[0404] 向在THF:DCE(1:1)5%甲醇18mL中的2-(4-氨基甲基-哌啶-1-基)-嘧啶-5-羧酸甲酯(1080mg,3.77mmol,1.0当量)和三乙胺(1.5mL,10.5mmol,2.5当量)中以一份加入1-甲基-1H-吡啶-3-甲醛(600mg,3.77mmol,0.95当量)。加入三乙酰氧基硼氢化钠(6300mg,30.6mmol,8.0当量)加4滴乙酸。加入NMP(1.8mL),并且将混合物在室温下搅拌2天。LC/MS分析显示所需产物的形成。加入水,用碳酸氢钠将pH调节至7,并且过滤白色固体,并用水和乙酸乙酯洗涤。将产物在高真空下干燥,以得到作为白色固体的2-(4-(((1-甲基-1H-吡啶-3-基)甲基)氨基)甲基)哌啶-1-基)嘧啶-5-羧酸甲酯(1300mg)。这种材料在没有进一步纯化的情况用于下一步骤。LC/MS:RT=2.67min;m/z=394.5[M+H]⁺。

[0405] 将粗2-(4-(((1-甲基-1H-吡啶-3-基)甲基)氨基)甲基)哌啶-1-基)嘧啶-5-羧酸甲酯(1300mg,3.3mmol,1.0当量)和氢氧化钠(1058mg,26.4mmol,8.0当量)悬浮在二噁烷:水(3:1)(10.0mL)中。将溶液在70℃下加热2h。LC/MS分析显示反应完成。浓缩溶剂以去除过量的醇,并且将混合物酸化至pH 5,并用水洗涤,然后用己烷洗涤。在高真空下干燥灰色固体,以得到纯的2-(4-(((1-甲基-1H-吡啶-3-基)甲基)氨基)甲基)哌啶-1-基)嘧啶-5-羧酸(220mg)。LC/MS:RT=2.41min;m/z=380.6[M+H]⁺。

[0406] 将2-(4-(((1-甲基-1H-吡啶-3-基)甲基)氨基)甲基)哌啶-1-基)嘧啶-5-羧酸(200mg,0.52mmol,1.0当量)和碳酸氢钠(165mg,1.9mmol,3.8当量)悬浮在二噁烷:水(3:1)(1.4mL)中。分批加入Fmoc氯化物(136mg,0.5mmol,1.0当量),直到溶液澄清。LC/MS分析显示所需的产物。将溶液的pH调节至2,并加入乙酸乙酯。用水(3x)提取混合物,并用盐水洗涤。合并的有机层用硫酸钠干燥,浓缩至干,以得到白色泡沫,其用二氯甲烷甲醇-己烷(1:5,3x)研磨。彻底干燥得到作为白色泡沫的标题化合物2-(4-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)((1-甲基-1H-吡啶-3-基)甲基)氨基)-甲基)哌啶-1-基)嘧啶-5-羧酸(110)(200mg)。LC/MS:RT=3.96min;m/z=602.3[M+H]⁺。

[0407] 示例3:(2R,3S,4S,5R,6S)-2-(乙酰氧基甲基)-6-(氨基氧基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(24)的制备

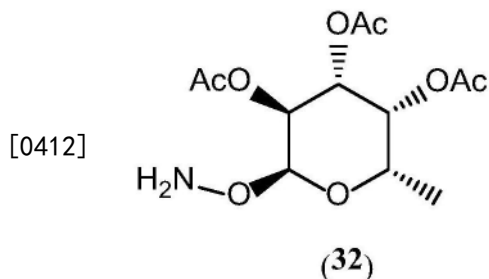


[0409] 将(2R,3S,4S,5R,6R)-2-(乙酰氧基甲基)-6-溴四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(23)(6600mg,16.05mmol,1.0当量)溶解在二氯甲烷(80mL)中。向该溶液中加入2-羟基异吡啶啉-1,3-二酮(2600mg,16.05mmol,1.0当量)。在冰浴温度下,缓慢加入在1M碳酸钠(32.0mL,32mmol,2.0当量)中的硫酸氢四丁基铵(1090mg,3.21mmol,0.2当量)。将混合物在室温下搅拌过夜。TLC分析显示,与带有PMA染色的起始材料相比,在较低的rf下出现新的斑点。加入水,并且混合物用二氯甲烷(3x)提取。用水和盐水洗涤合并的有机层,然后用硫酸钠干燥并浓缩,以得到红色固体。使粗产物经历正相纯化,用20-70%乙酸乙酯:己烷洗脱。

收集产物级分,合并并浓缩,以得到作为白色泡沫的纯的(2R,3S,4S,5R,6S)-2-(乙酰氧基甲基)-6-((1,3-二氧代异吡啶啉-2-基)氧基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯。(2000mg,55%)。LC/MS:RT=2.96min;m/z=494.4[M+H]⁺。

[0410] 将(2R,3S,4S,5R,6S)-2-(乙酰氧基甲基)-6-((1,3-二氧代异吡啶啉-2-基)氧基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(2000mg,4.05mmol,1.0当量)溶解在甲醇(35mL,0.1M)中。缓慢地加入水合肼(0.20mL,4.25mmol,1.05当量)。在五分钟后,LC/MS分析显示所需的产物。加入二氯甲烷(125mL),并且溶液用饱和的NaHCO₃(3x)洗涤。用水和盐水洗涤合并的有机层,用硫酸钠干燥并浓缩以得到固体(2000mg)。使产物经历正相纯化,用30-90%乙酸乙酯:己烷洗脱。收集产物级分,合并并浓缩,以得到作为白色泡沫的标题化合物(2R,3S,4S,5R,6S)-2-(乙酰氧基甲基)-6-(氨基氧基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(24)。(1170mg,79%产率)。LC/MS:RT=1.98min;m/z=364.3[M+H]⁺。

[0411] 示例4:(2S,3S,4R,5R,6S)-2-(氨基氧基)-6-甲基四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(32)的制备

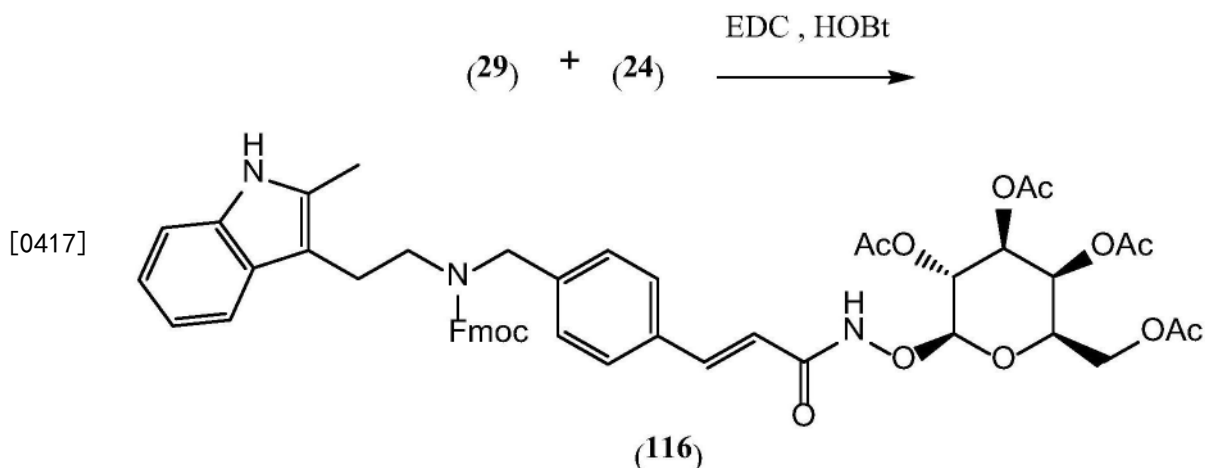


[0413] 将(3S,4R,5R,6S)-2-羟基-6-甲基四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(5000mg,17mmol)溶解在THF(100.0mL)中。在-30℃下加入DAST(18.0mL,137mmol,8.0当量),用干冰-甲醇浴冷却。让反应混合物升温至室温,在此温度下搅拌1h。在-30℃下加入另一份DAST(4mL),并让再次升温至室温并搅拌1h。LC/MS分析表明反应完成。在-20℃下加入甲醇,并蒸发溶剂。加入NaHCO₃,并用二氯甲烷(3x)提取溶液。用水洗涤合并的有机层。加入稀HCl以分解残留的DAST,并且溶液用乙酸乙酯(2x)提取。合并的有机层用盐水洗涤,用硫酸钠干燥并浓缩,以得到作为油状物的粗产物(4000mg)。使该棕色油状物经历正相纯化,用己烷-乙酸乙酯(0至40%)洗脱。收集产物级分,合并并浓缩,以得到作为白色泡沫固体的(3S,4R,5R,6S)-2-氟-6-甲基四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(30)。(2000mg)。LC/MS:RT=2.45min;m/z=310[M+H₂O]⁺。

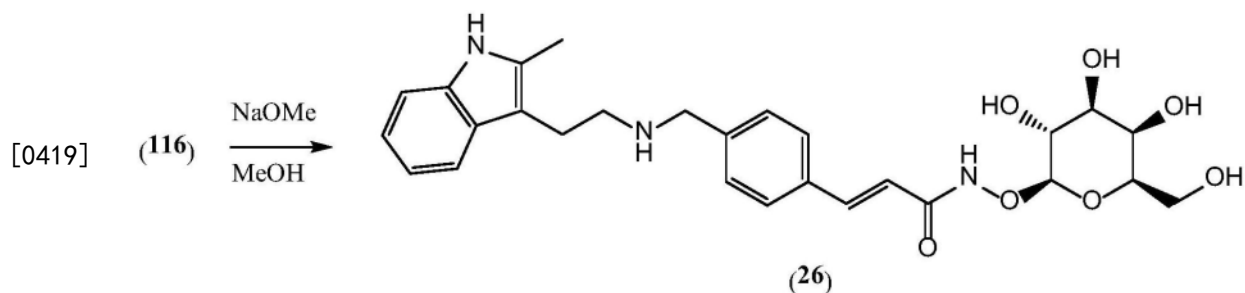
[0414] 将(3S,4R,5R,6S)-2-氟-6-甲基四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(30)(1800mg,6.16mmol,1.0当量)溶解在乙腈(30mL)中。加入N-羟基邻苯二甲酰亚胺(1100mg,6.78mmol,1.1当量),随后加入TEA(1.15mL,6.78mmol,1.05当量)。逐滴加入BF₃:Et₂O(1.1mL,6.78mmol,1.05当量),并将反应产物搅拌1h,此时LC/MS分析显示所需产物的存在。将混合物倒入10%的NaHCO₃/EtOAc中。摇动并分离各层,并且有机层用碳酸氢钠(2x)、水和盐水洗涤。有机层用硫酸钠干燥并浓缩,以得到深色油状物。使粗产物经历正相纯化,用己烷:乙酸乙酯(0至50%)洗脱。收集并合并产物级分(低极性产物-级分55-64,1.0g;高极性产物-级分91-105,500mg)。低极性产物是所需的(2S,3S,4R,5R,6S)-2-((1,3-二氧代异吡啶啉-2-基)氧基)-6-甲基四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(31)的α-异头物。高极性产物是不期望的β-异头物。LC/MS:RT=3.02min和3.28min;m/z=436.5[M+H]⁺。

[0415] 将(2S,3S,4R,5R,6S)-2-((1,3-二氧代异吲哚啉-2-基)氧基)-6-甲基四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(31)(350mg,0.8mmol,1.0当量)溶解在甲醇(8.0mL)中。在冰浴温度下缓慢加入水合肼(65%,0.066mL,0.8mmol,1.0当量)。LC/MS分析显示在几分钟内反应完成。滤出白色沉淀。用二氯甲烷稀释反应产物,并第二次过滤。过滤后的溶液用NaHCO₃(3x)洗涤。有机层用盐水洗涤,用硫酸钠干燥,并浓缩以得到所需的作为白色泡沫固体的(2S,3S,4R,5R,6S)-2-(氨基氧基)-6-甲基四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(32)(500mg)。LC/MS:RT=2.2min;m/z=306.6[M+H]⁺。

[0416] 示例5:(E)-3-(4-(((2-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)甲基)苯基)-N-(((2S,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-三羟基-6-(羟甲基)四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)丙烯酰胺(26)的制备

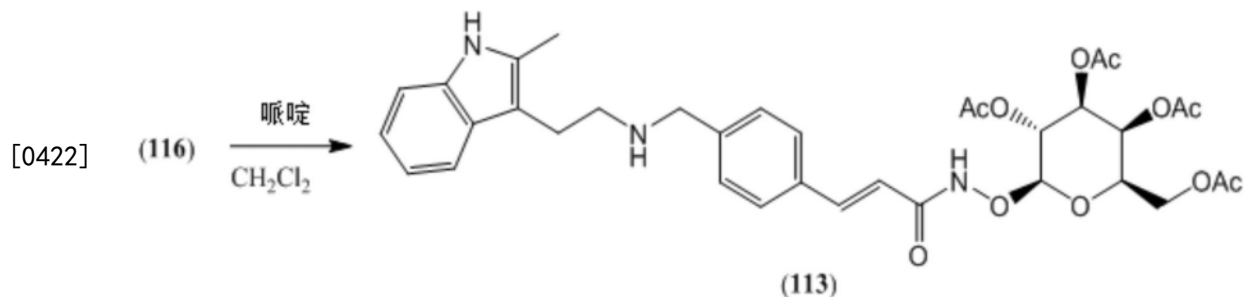


[0418] 将1-(3-二甲基氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC·HCl)(114mg,0.59mmol,1.33当量)和1-羟基苯并三唑(HOBt)(91mg,0.59mmol,1.33当量)加入到在N,N-二甲基甲酰胺(DMF)(1.4mL)中的(E)-3-(4-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)(2-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)甲基)苯基)丙烯酸(29)(250mg,0.449mmol,1.0当量)的溶液中并在室温下搅拌30min。然后,在冰浴温度下,向混合物中加入(2R,3S,4S,5R,6S)-2-(乙酰氧基甲基)-6-(氨基氧基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(24)(244mg,0.67mmol,1.5当量)和DIPEA(0.078mL,0.449mmol,1.4当量)。将混合物在室温下搅拌过夜。LC/MS分析显示所需的产物。混合物用冷的饱和NH₄Cl溶液淬灭。过滤由此形成的白色沉淀,并用水(2x)洗涤。将白色固体重新溶解在乙酸乙酯中,用水、NaHCO₃和盐水洗涤。合并的有机层用硫酸钠干燥并浓缩,以得到作为淡黄色泡沫状固体的纯的(2S,3R,4S,5S,6R)-2-(((E)-3-(4-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)(2-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)甲基)苯基)丙烯酰胺氨基)氧基)-6-(乙酰氧基甲基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(116)。(320mg,79%产率)。LC/MS:RT=6.95min;m/z=902.7[M+H]⁺。



[0420] 将(2S,3R,4S,5S,6R)-2-(((E)-3-(4-(((9H-茛-9-基)甲氧基)羰基)(2-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)甲基)苯基)丙烯酰氨基)氧基)-6-(乙酰氧基甲基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(116)(150mg,0.166mmol,1.0当量)溶解在甲醇(3.0mL)中,并且在冰浴温度下缓慢加入在甲醇(0.1mL,0.49mmol,3.0当量)中的25%甲醇钠。在20min后,LC/MS显示所需的产物。通过加入10%的乙酸来淬灭反应。去除水,并用甲醇代替。过滤两次去除不溶性盐,并且使去除溶剂后的粗产物经历HPLC纯化,用于最终分析。标题化合物(E)-3-(4-(((2-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)甲基)苯基)-N-(((2S,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-三羟基-6-(羟甲基)四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)丙烯酰胺(26)作为白色固体被分离出。LC/MS:RT=1.28min;m/z=512.5[M+H]⁺。¹H NMR(500MHz,甲醇-d₄):δ7.59-7.45(m,3H),7.40(d,J=7.8Hz,1H),7.31(d,J=7.9Hz,2H),7.25(d,J=8.1Hz,1H),7.02(t,J=7.5Hz,1H),6.94(t,J=7.2Hz,1H),6.50(J=15.8Hz,1H),4.56(d,J=8.0Hz,1H),3.85(m,4H),3.78-3.67(m,2H),3.65-3.60(m,1H),3.57(dd,J=9.6,3.4Hz,1H),2.97(dd,J=7.9,5.8Hz,2H),2.90(t,J=7.3Hz,2H),2.36(s,3H)。

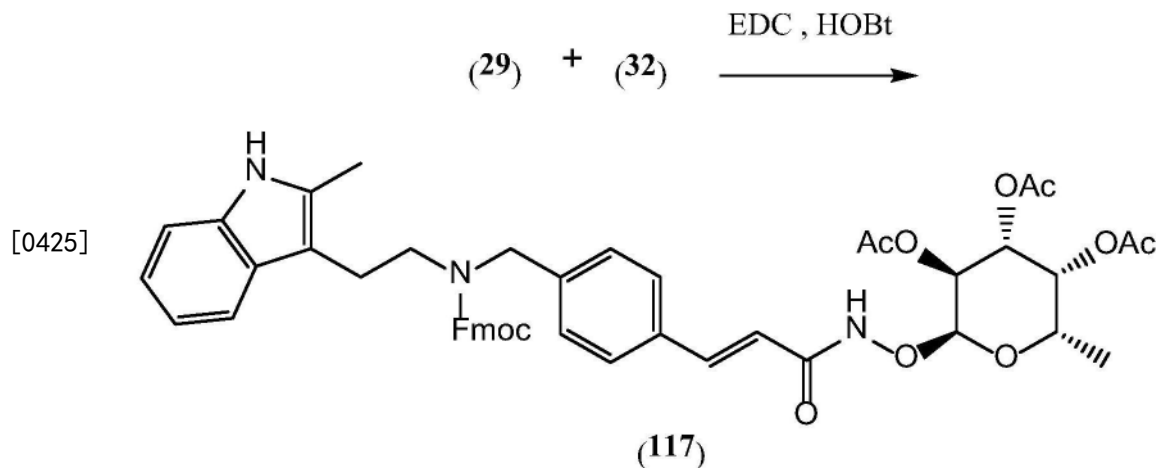
[0421] 示例6:(2R,3S,4S,5R,6S)-2-(乙酰氧基甲基)-6-(((E)-3-(4-(((2-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)甲基)苯基)丙烯酰氨基)氧基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(113)的制备



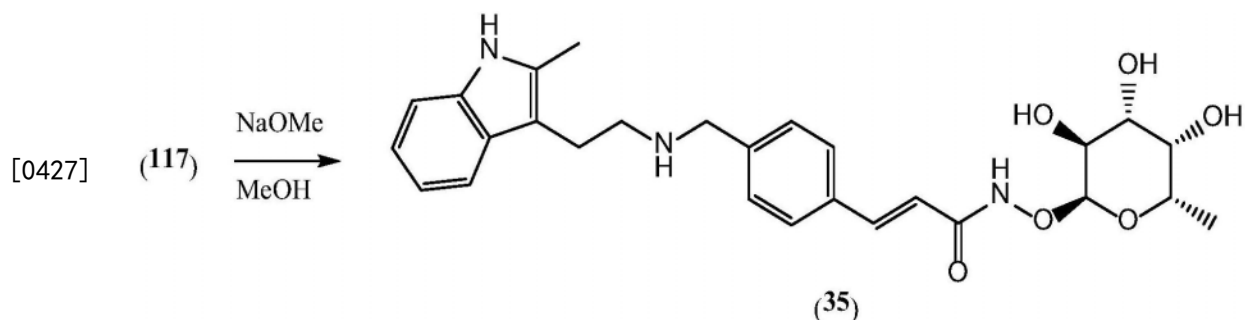
[0423] 将(2S,3R,4S,5S,6R)-2-(((E)-3-(4-(((9H-茛-9-基)甲氧基)羰基)(2-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)甲基)苯基)丙烯酰氨基)氧基)-6-(乙酰氧基甲基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(116)(745mg,0.825mmol,1.0当量)溶解在二氯甲烷(5mL)中。加入哌啶(在DCM中的10%)(7.0mL,8.2mmol,10.0当量),并且将混合物在室温下搅拌3h。LC/MS分析显示反应完成。加入EtOAc(200mL),并且溶液用NaHCO₃(2x)洗涤。有机层用盐水洗涤,用硫酸钠干燥,并浓缩至干,以得到粗产物。标题化合物(2R,3S,4S,5R,6S)-2-(乙酰氧基甲基)-6-(((E)-3-(4-(((2-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)甲基)苯基)丙烯酰氨基)氧基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(113)在使用含HCl的缓冲液进行HPLC纯化后作为其白色盐酸盐(550mg,80%产率)被分离。LC/MS:RT=4.38min;m/z=680.7[M+H]⁺。¹H NMR(500MHz,甲醇-d₄):δ7.61-7.48(m,3H),7.40(dt,J=7.8Hz,1.0Hz,1H),7.33(d,J=

7.9Hz, 2H), 7.25 (d, J=8.0Hz, 1H), 7.02 (t, J=7.5Hz, 1H), 6.95 (t, J=7.4Hz, 1H), 6.48 (d, J=16.1Hz, 1H), 5.43 (d, J=3.3Hz, 1H), 5.32-5.19 (m, 2H), 5.02 (d, J=8.0Hz, 1H), 4.27-4.13 (m, 3H), 3.89 (s, 2H), 3.11 (t, J=5.7Hz, 1H), 3.02-2.87 (m, 4H), 2.37 (s, 3H), 2.15 (s, 3H), 2.13 (s, 3H), 2.03 (s, 3H), 1.98 (s, 3H)。

[0424] 示例7: (E)-3-(4-(((2-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)甲基)苯基)-N-(((2S,3S,4R,5S,6S)-3,4,5-三羟基-6-甲基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)丙烯酰胺(35)的制备



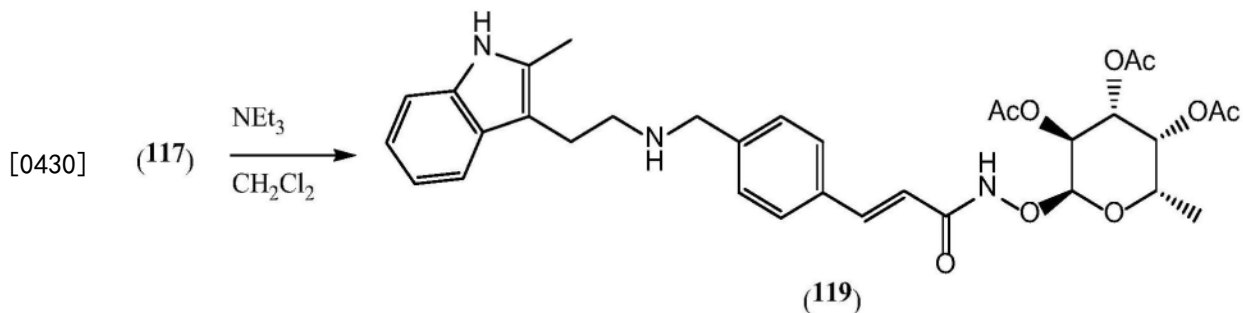
[0426] 将EDC(430mg, 2.2mmol, 1.4当量)和HOBt(344mg, 2.2mmol, 1.4当量)加入到在DMF(8.0mL)中的(29)(900mg, 1.6mmol, 1.0当量)中。将混合物搅拌10min。加入化合物(32)(500mg, 1.63mmol, 1.05当量),然后在冰浴温度下加入DIEA(418 μ L, 1.5当量)。反应产物在室温下搅拌过夜。LC/MS分析显示所需的产物。加入饱和的氯化铵溶液(20mL),并沉淀出白色固体。过滤固体,用水(2x)洗涤,并干燥,以得到白色固体(1.30g)。固体通过正相色谱法纯化,用己烷-乙酸乙酯(20-75%)洗脱。收集产物级分,合并,并且浓缩溶剂,以得到作为灰白色固体的(2S,3S,4R,5R,6S)-2-(((E)-3-(4-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)(2-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)甲基)苯基)丙烯酰胺基)氧基)-6-甲基四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(117)(650mg)。LC/MS:RT=3.89min;m/z=844.5[M+H]⁺。



[0428] 将(2S,3S,4R,5R,6S)-2-(((E)-3-(4-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)(2-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)甲基)苯基)丙烯酰胺基)氧基)-6-甲基四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(117)(150mg, 0.17mmol, 1.0当量)和在甲醇(1.0mL)中的甲醇钠(25%)(0.085mL, 2.6当量)在冰浴温度下混合。将混合物在室温下搅拌2h。加入1N HCl(1.0当量),并将溶液浓缩至干,并且使残留物经历HPLC纯化,其中标题化合物(E)-3-(4-(((2-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)甲基)苯基)-N-(((2S,3S,4R,5S,6S)-3,4,5-三羟基-6-甲基

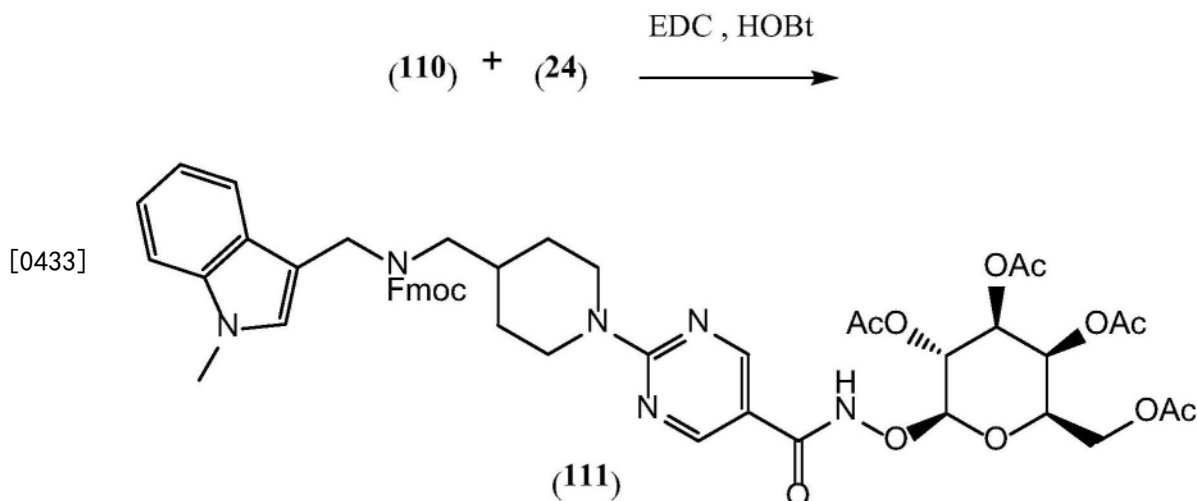
四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)丙烯酰胺(35)作为白色固体(70mg)被分离。LC/MS:RT=1.35min;m/z=496.5[M+H]⁺。¹H NMR(500MHz,甲醇-d₄):δ7.69(d,J=8.5Hz,3H),7.53(d,J=8.2Hz,2H),7.43(d,J=7.8Hz,1H),7.28(d,J=8.0Hz,1H)7.08-6.97(m,2H),6.59(d,J=15.8Hz,1H),4.57(d,J=7.9Hz,1H),4.28(s,2H),3.74(q,J=6.4Hz,1H),3.68-3.61(m,2H),3.57(dd,J=9.7,3.3Hz,1H),3.30-3.22(m,2H),3.14(dd,J=9.3,6.6Hz,2H),2.42(s,3H),1.33(d,J=6.4Hz,3H)。

[0429] 示例8:(2S,3R,4R,5S,6S)-2-甲基-6-(((E)-3-(4-(((2-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)甲基)苯基)丙烯酰氨基)氧基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(119)的制备



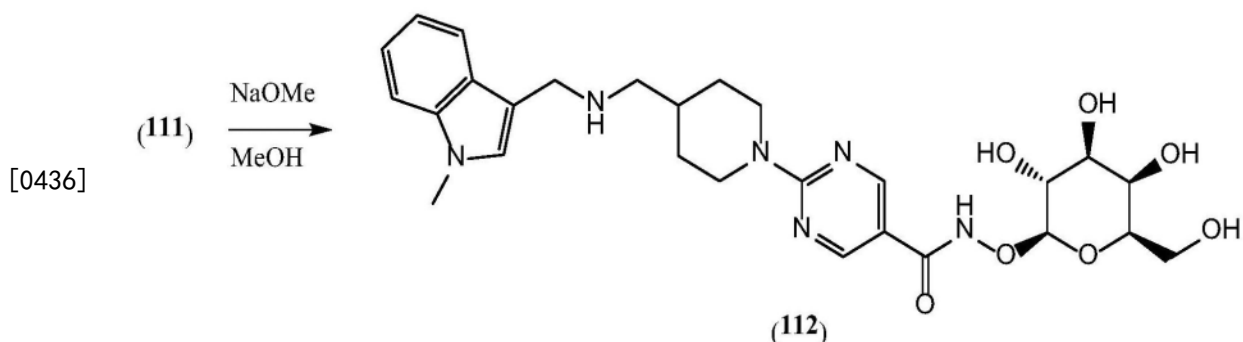
[0431] 向在DCM:DMF(1:1)(10mL)中的化合物(117)(640mg,0.75mmol,1.0当量)中加入50%三乙胺/DCM(10.0mL)。将混合物在室温下搅拌过夜。LC/MS分析显示所需的产物和起始材料的存在。浓缩溶剂。将残留物溶于50%的TEA/DCM(5mL)和DMF(2.0mL)中,并将混合物搅拌4h。现在LC/MS显示起始材料已被消耗。在减压下去除溶剂。残留物用己烷研磨,以去除大部分9-亚甲基-9H-芴。加入饱和的氯化铵溶液和乙酸乙酯,并且有机层用水(3x)洗涤,然后用盐水洗涤,并用硫酸钠干燥。去除溶剂,并且残留物使用含有HCl的缓冲液通过HPLC纯化,并且标题化合物(2S,3R,4R,5S,6S)-2-甲基-6-(((E)-3-(4-(((2-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)甲基)苯基)丙烯酰氨基)氧基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(119)作为其盐酸盐以白色固体被分离。LC/MS:RT=1.89min;m/z=622.4[M+H]⁺。¹H NMR(500MHz,甲醇-d₄):δ7.73-7.61(m,3H),7.54(d,J=8.1Hz,2H),7.44(d,J=7.8Hz,1H),7.28(d,J=8.0Hz,1H),7.06(t,J=7.5Hz,1H),7.00(t,J=7.4Hz,1H),6.55(d,J=15.9Hz,1H),5.48-5.31(m,3H),5.16(dd,J=11.3,3.9Hz,1H),4.63(s,1H),4.28(s,2H),3.26(dd,J=9.5,6.5Hz,2H),3.14(dd,J=9.3,6.5Hz,2H),2.42(s,3H),2.18(s,3H),2.16(s,3H),2.01(s,3H),1.20(d,J=6.5Hz,3H)。

[0432] 示例9:(2S,3R,4S,5S,6R)-2-(((2-(4-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)((1-甲基-1H-吡啶-3-基)甲基)氨基)甲基)哌啶-1-基)嘧啶-5-甲酰氨基)氧基)-6-(乙酰氧基甲基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(111)的制备



[0434] 将EDC (76mg, 0.40mmol, 1.4当量) 和HOBt (61mg, 0.4mmol, 1.4当量) 加入到在DMF (0.5mL) 中的2-(4-{(9H-苈-9-基甲氧羰基)-(1-甲基-1H-吡咯-3-基甲基)-氨基}-甲基)-哌啶-1-基)-嘧啶-5-羧酸(110) (170mg, 0.28mmol, 1.0当量) 中。将溶液搅拌10min, 之后加入化合物(24) (148mg, 0.45mmol, 1.5当量), 随后在冰浴温度下加入DIEA (80 μ L, 1.5当量)。溶液在室温下搅拌过夜。LC/MS分析显示所需产物的形成。加入饱和的氯化铵溶液(2.0mL), 并沉淀出白色固体。用水(2x)洗涤沉淀物。过滤并干燥固体, 以得到作为白色固体的(2S, 3R, 4S, 5S, 6R)-2-((2-(4-(((9H-苈-9-基)甲氧基)羰基)((1-甲基-1H-吡咯-3-基)甲基)氨基)甲基)哌啶-1-基)嘧啶-5-甲酰氨基)氧基)-6-(乙酰氧基甲基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(111) (260mg), 其在没有进一步纯化的情况下在随后的步骤中使用。LC/MS: RT=7.07min; m/z=947.9[M+H]⁺。

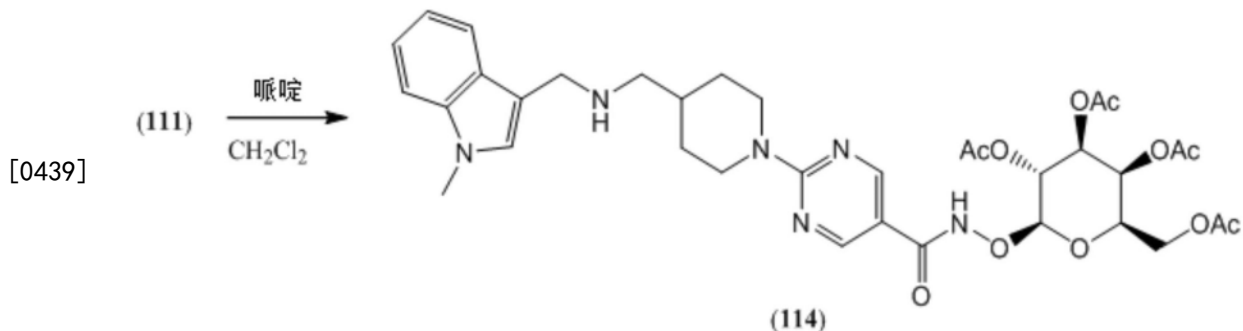
[0435] 示例10: 2-(4-(((1-甲基-1H-吡咯-3-基)甲基)氨基)甲基)哌啶-1-基)-N-(((2S, 3R, 4S, 5R, 6R)-3,4,5-三羟基-6-(羟甲基)四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)嘧啶-5-甲酰胺(112)的制备



[0437] 将化合物(111) (170mg, 0.18mmol) 溶解在甲醇(1.79mL) 中, 并在冰浴温度下缓慢加入在甲醇(0.040mL, 1.0当量) 中的25%甲醇钠。在室温下搅拌2h后, Fmoc保护基团没有完全去除。在冰浴温度下加入另外的0.2当量的甲醇钠, 并且使反应在20min内完成。加入HCl/二噁烷(1N, 1.2当量), 以将pH调节至5-6。将溶剂浓缩至干, 并且使残留物经历HPLC纯化, 以得到标题化合物2-(4-(((1-甲基-1H-吡咯-3-基)甲基)氨基)甲基)哌啶-1-基)-N-(((2S, 3R, 4S, 5R, 6R)-3,4,5-三羟基-6-(羟甲基)四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)嘧啶-5-甲酰胺(112) (80mg)。LC/MS: RT=1.33min; m/z=557.3[M+H]⁺。¹H NMR (500MHz, 甲醇-d₄): δ 8.72 (s, 2H), 7.75 (m, 1H), 7.47 (m, 2H), 7.29 (m, 1H), 7.20 (m, 1H), 4.95-4.91 (m, 2H), 4.60 (d, J=7.8Hz,

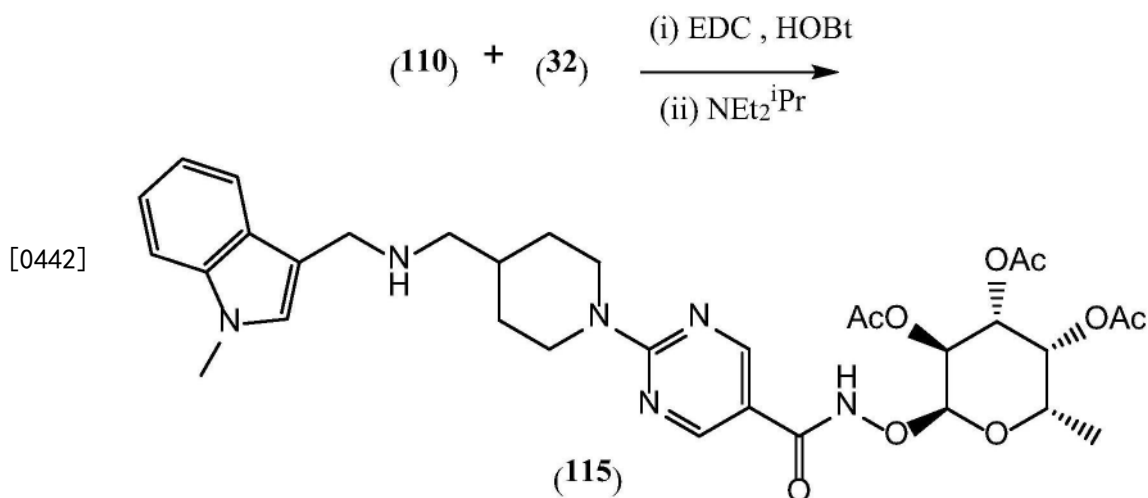
1H), 4.45, (s, 2H), 3.88-3.81 (m, 5H), 3.77 (dd, J=11.3, 4.6Hz, 1H), 3.71 (dd, J=9.6, 8.0Hz, 1H), 3.64 (m, 1H), 3.57 (m, 1H), 3.05-2.96 (m, 4H), 2.10 (m, 1H), 2.06 (s, 2H), 1.92-1.85 (m, 2H), 1.26 (m, 2H)。

[0438] 示例11: (2R,3S,4S,5R,6S)-2-(乙酰氧基甲基)-6-((2-(4-(((1-甲基-1H-吡啶-3-基)甲基)氨基)甲基)哌啶-1-基)嘧啶-5-甲酰氨基)氧基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(114)的制备



[0440] 将化合物(111) (88mg, 0.092mmol) 溶解在二氯甲烷(0.1mL)中。加入哌啶(在DCM中的20%) (0.47mmol, 1.1mmol, 12.0当量)。将混合物在室温下搅拌6h。LC/MS分析显示反应完成。加入1N HCl/二噁烷(1.0当量)。将溶液浓缩至干,并且使粗残留物经历HPLC纯化,以得到60mg的标题化合物(2R,3S,4S,5R,6S)-2-(乙酰氧基甲基)-6-((2-(4-(((1-甲基-1H-吡啶-3-基)甲基)氨基)甲基)哌啶-1-基)嘧啶-5-甲酰氨基)氧基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(114)。LC/MS:RT=1.89min;m/z=725.3[M+H]⁺。¹HNMR(500MHz,甲醇-d₄):δ8.64(s,2H),7.69(m,1H),7.40(m,1H),7.31(s,1H),7.23(m,1H),7.13(m,1H),5.42(d,J=3.5Hz,1H),5.34(m,1H),5.21(m,1H),5.07(d,J=8.3Hz,1H),4.81(d,J=13.3Hz,2H),4.26-4.13(m,5H),3.82(s,3H),2.94(t,J=12.8Hz,2H),2.77(d,J=6.8Hz,2H),2.13(s,3H),2.11(s,3H),2.02(s,3H),1.97(s,3H),1.85(d,J=11.6Hz,2H),1.19(m,2H)。

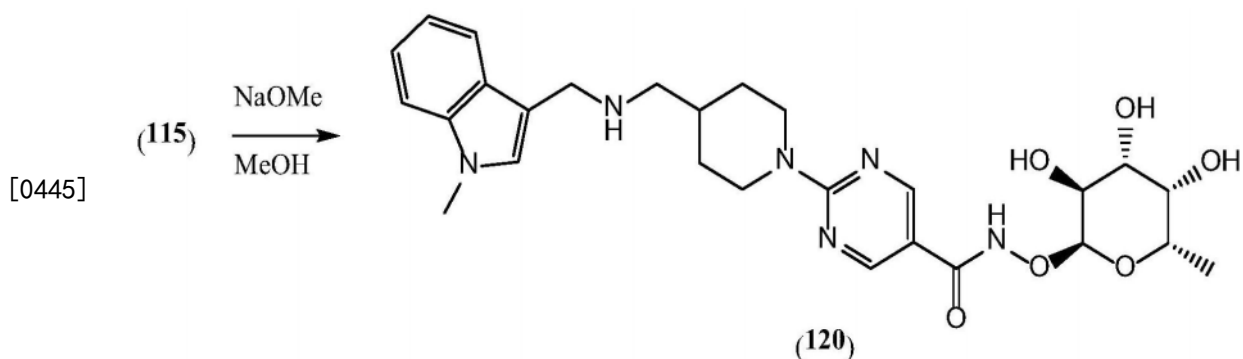
[0441] 示例12: (2S,3R,4R,5S,6S)-2-甲基-6-((2-(4-(((1-甲基-1H-吡啶-3-基)甲基)氨基)甲基)哌啶-1-基)嘧啶-5-甲酰氨基)氧基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(115)的制备



[0443] 将EDC(54mg, 0.28mmol)和HOBT(42mg, 0.28mmol, 1.05当量)加入到在DMF(0.5mL)中的化合物(110) (96mg, 0.31mmol, 1.4当量)的溶液中。将溶液在室温下搅拌15min,此时加

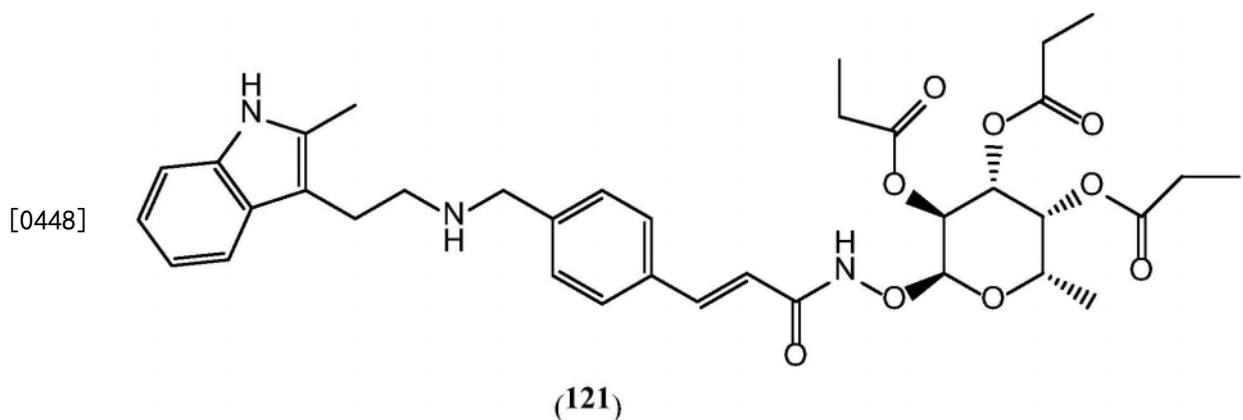
入一份化合物 (32) (96mg, 0.37mmol, 1.4 当量)。在冰浴温度下加入 DIEA (1.5 当量, 0.073mL), 并且将混合物在室温下搅拌 1h。LC/MS 分析显示所需产物的存在。向反应产物中加入饱和的氯化铵溶液, 并且滤出黄色固体, 并用水洗涤。向溶液中加入乙酸乙酯, 并用盐水 (2x) 洗涤。将合并的有机层用硫酸钠干燥并浓缩, 以得到作为泡沫固体的 (2S, 3R, 4R, 5S, 6S) -2-甲基-6-((2-(4-(((1-甲基-1H-吡啶-3-基)甲基)氨基)甲基)哌啶-1-基)嘧啶-5-甲酰氨基)氧基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯 (115) (200mg), 其在没有纯化的情况被用于下一反应。LC/MS: RT=6.83min; m/z=889.9[M+H]⁺。

[0444] 示例 13: 2-(4-(((1-甲基-1H-吡啶-3-基)甲基)氨基)甲基)哌啶-1-基)-N-(((2S, 3S, 4R, 5S, 6S)-3,4,5-三羟基-6-甲基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)嘧啶-5-甲酰胺 (120) 的制备



[0446] 在冰浴温度下, 将化合物 (115) (70mg, 0.079mmol, 1.0 当量) 和甲醇钠 (25%) (2.0 当量) 溶解在甲醇 (0.8mL) 中。将混合物在室温下搅拌 2h。加入 1N HCl (1.0 当量), 并将溶液浓缩至干, 并使残留物经历 HPLC 纯化, 以得到标题化合物 (120)。LC/MS: RT=3.05min; m/z=541.3[M+H]⁺。¹H NMR (500MHz, 甲醇-d₄): δ 8.71 (s, 2H), 7.74 (d, J=8.0Hz, 1H), 7.51-7.43 (m, 2H), 7.30 (m, 1H), 7.21 (m, 1H), 4.93 (d, J=3.9Hz, 1H), 4.59 (d, J=7.9Hz, 1H), 4.45 (s, 2H), 3.87 (s, 3H), 3.77-3.71 (m, 1H), 3.68-3.61 (m, 2H), 3.57 (m, 1H), 3.05-2.95 (m, 4H), 2.09 (m, 1H), 1.88 (d, J=12.4Hz, 2H), 1.33 (d, J=6.5Hz, 3H), 1.26 (m, 2H)。

[0447] 示例 14: (2S, 3R, 4R, 5S, 6S) -2-甲基-6-((E)-3-(4-((2-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)甲基)苯基)丙烯酰氨基)氧基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三丙酸酯 (121) 的制备



[0449] 将 L-岩藻糖 (3000mg, 18.2mmol, 1.0 当量) 在吡啶 (9.0mL) 和丙酸酐 (27.0mL) 的混合物中搅拌。将溶液在 80°C 下加热 2 天, 此时加入更多的丙酸酐 (5.0mL), 并继续再搅拌一

天。将混合物浓缩至干,加入乙酸乙酯(80mL)和水(30mL),并且将水层进一步提取两次。用稀的1N HCl洗涤合并的有机层,然后用盐水洗涤。用硫酸钠干燥溶液,并将溶液浓缩至干,以得到作为棕色油状物的(2R,3S,4R,5R,6S)-6-甲基四氢-2H-吡喃-2,3,4,5-四基四(丙酸酯)(10g)。LC/MS:RT=3.3min;m/z=467.5[M+79]⁺。

[0450] 将乙酸(1.8mL,28.8mmol,1.4当量)加入到在THF(200mL)中的乙二胺(1.78mL,24.7mmol,1.2当量)的溶液中。沉淀出固体,并且以一份加入(2R,3S,4R,5R,6S)-6-甲基四氢-2H-吡喃-2,3,4,5-四基四(丙酸酯)(8g,20.66mmol,1.0当量)。将反应混合物在室温下搅拌过夜,此时,LC/MS分析显示主要是未反应的起始材料。将反应产物进行再处理,并再次经历相同的反应条件,在室温下搅拌过夜。第二批以同样的规模重复。LC/MS分析显示反应完成。加入水,并且分离两层。加入稀HCl(2%)和乙酸乙酯,并且有机层用水洗涤两次,然后用盐水洗涤。用硫酸钠干燥溶液,并去除溶剂,以得到作为白色粘性固体的(2R,3S,4R,5R,6S)-2-羟基-6-甲基四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三丙酸酯。(5.8g)。LC/MS:RT=2.6min;m/z=350.1[M+18]。

[0451] 将(2R,3S,4R,5R,6S)-2-羟基-6-甲基四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三丙酸酯(3.0g,9.03mmol,1.0当量)溶解在THF(150mL)中。用氮气吹扫溶液5min,并将溶液冷却至-50℃。通过塑料移液管滴加DAST(5.0mL)。让溶液升温至0℃。TLC分析显示主要是起始材料。在-50℃下加入另一份DAST(2.0mL)(1.5当量),并将温度提高至0℃。TLC分析显示低极性斑点和少量的起始材料。如前所述,添加两次额外的DAST(3.0mL,每次3.0mL),并搅拌反应产物,直到起始材料被完全消耗(总共约8h)。将溶液冷却至-30℃,缓慢加入甲醇(15mL),并且让混合物升温至室温。加入冷的NaHCO₃溶液,并且混合物用二氯甲烷稀释。分离有机层,并用1N HCl(2x)洗涤,然后用盐水洗涤。用硫酸钠干燥溶液,并去除溶剂,以得到黄色油状物(4.1g)。TLC分析显示产物不纯。使粗产物经历正相纯化,用100%己烷至在己烷中的15%乙酸乙酯的梯度洗脱60min。收集产物级分,并去除溶剂,以得到作为无色油状物的纯的(2S,3S,4R,5R,6S)-2-氟-6-甲基四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三丙酸酯(2.4g)。LC/MS:RT=3.2min;m/z=413.1[M+79]⁺。

[0452] 将(2S,3S,4R,5R,6S)-2-氟-6-甲基四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三丙酸酯(1500mg,4.49mmol,1.0当量)溶解在乙腈(15mL)中。加入N-羟基邻苯二甲酰亚胺(915mg,5.61mmol,1.25当量),然后加入三乙胺(0.81mL,5.61mmol,1.25当量)。溶液变成暗红色。加入BF₃-醚合物(1.03mL,8.08mmol,1.8当量),并且溶液变澄清。在室温下搅拌1h。LC/MS显示所需的产物。加入NaHCO₃的冷溶液,并且用乙酸乙酯提取两次。溶液变成暗红色。将合并的有机层用NaHCO₃洗涤两次,直到不再检测到颜色。有机溶剂用硫酸钠干燥。浓缩溶剂,以得到黄色油状物(2000mg)。使用25g硅胶柱使粗混合物经历正相纯化,用100%己烷至在己烷中的25%乙酸乙酯的梯度洗脱40分钟。产物级分收集为2个峰。峰#1(正相,低极性)LC/MS(反相):RT=3.56min;m/z=478.4[M+H]⁺。峰#2(正相,高极性)LC/MS(反相):RT=3.31min;m/z=478.4[M+H]⁺。通过将其¹H NMR光谱与文献表征的三乙酰氧基类似物(31)进行比较,峰#1被确定为所需的 α 异构体,(2S,3S,4R,5R,6S)-2-((1,3-二氧代异吡啶啉-2-基)氧基)-6-甲基四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三丙酸酯。将其作为白色固体分离(500mg)。

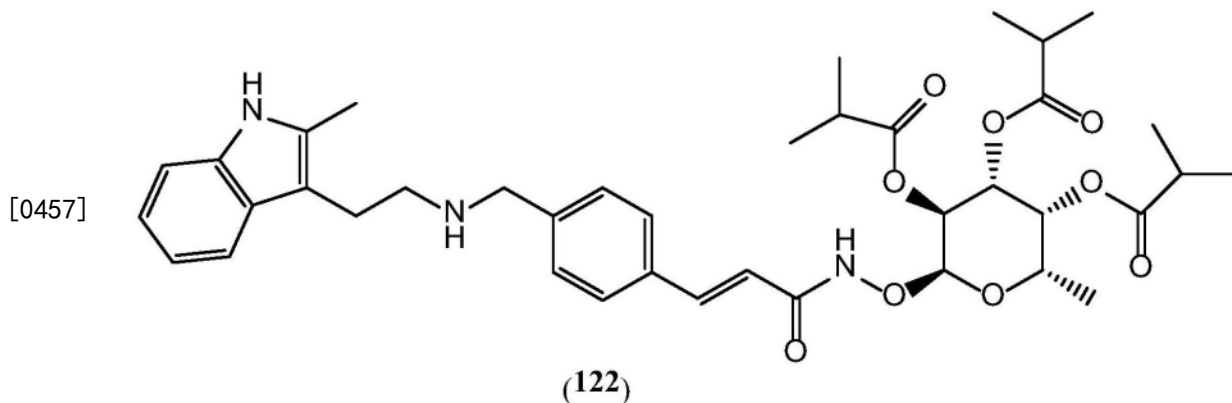
[0453] 将(2S,3S,4R,5R,6S)-2-((1,3-二氧代异吡啶啉-2-基)氧基)-6-甲基四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三丙酸酯(500mg,1.04mmol,1.0当量)溶解在甲醇(10mL)中。在冰浴温度下

滴加水合肼 (65%, 0.090mL, 1.04mmol, 1.0当量)。将混合物搅拌30分钟,并且溶液从清澈变为浑浊。LC/MS显示反应完成。加入二氯甲烷 (15mL), 并且混合物用冷饱和的含水NaHCO₃提取两次。用盐水洗涤合并的有机层,并用硫酸钠干燥。浓缩溶剂,以得到作为白色固体的 (2S,3S,4R,5R,6S)-2-(氨基氧基)-6-甲基四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三丙酸酯 (280mg)。LC/MS:RT=2.34min;m/z=348.4[M+H]⁺。

[0454] 将(E)-3-(4-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)(2-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)甲基)苯基)丙烯酸 (29) (281mg, 0.503mmol, 1.0当量) 溶解在DMF (1.5mL) 中。加入EDC (124mg, 0.653mmol, 1.3当量) 和1-羟基苯并三唑 (100mg, 0.65mmol, 1.3当量), 并将混合物搅拌10分钟。加入(2S,3S,4R,5R,6S)-2-(氨基氧基)-6-甲基四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三丙酸酯 (226mg, 0.503mmol, 1.0当量), 然后加入DIPEA (1.4当量)。在室温下搅拌2h后, LC/MS显示所需的产物。加入饱和的NH₄Cl溶液, 然后加入乙酸乙酯, 并且将有机相用NaHCO₃提取两次。用盐水洗涤合并的有机层, 并浓缩溶剂, 以得到淡黄色泡沫。(490mg)。在40g硅胶柱上使用正相纯化来纯化产物, 用100%己烷至在己烷中的50%乙酸乙酯的梯度洗脱45分钟。收集产物级分, 并浓缩溶剂, 以得到作为白色泡沫状固体的(2S,3S,4R,5R,6S)-2-(((E)-3-(4-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)(2-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)甲基)苯基)丙烯酰氨基)氧基)-6-甲基四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三丙酸酯。(200mg)。LC/MS:RT=7.48min;m/z=886.7[M+H]⁺。

[0455] 将(2S,3S,4R,5R,6S)-2-(((E)-3-(4-((((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)(2-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)甲基)苯基)丙烯酰氨基)氧基)-6-甲基四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三丙酸酯 (200mg, 0.225mmol, 1.0当量) 溶解于在DCM/DMF中的50%的NEt₃中。将溶液在室温下搅拌3天, 以去除Fmoc保护基团。LC/MS显示反应完成。浓缩溶剂, 加入饱和的NH₄Cl溶液, 然后用乙酸乙酯提取混合物两次。合并的有机层用硫酸钠干燥。粗混合物用己烷研磨两次。浓缩最终产物, 以得到白色泡沫状固体。(138mg)。使用含有HCl的缓冲液通过HPLC来纯化该固体, 并且标题化合物(2S,3R,4R,5S,6S)-2-甲基-6-(((E)-3-(4-(((2-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)甲基)苯基)丙烯酰氨基)氧基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三丙酸酯 (121) 作为其盐酸盐以白色固体被分离。LC/MS:RT=4.98min;m/z=664.7[M+H]⁺。¹H NMR (500MHz, 甲醇-d₄): δ7.70-7.68 (m, 3H), 7.53 (d, J=7.9Hz, 2H), 7.47-7.40 (m, 1H), 7.28 (dt, J=8.0, 1.0Hz, 1H), 7.06 (ddd, J=8.2, 7.1, 1.2Hz, 1H), 7.03-6.97 (m, 1H), 6.55 (d, J=15.8Hz, 1H), 5.49-5.43 (m, 1H), 5.43-5.39 (m, 1H), 5.38-5.31 (m, 1H), 5.24-5.17 (m, 1H), 4.66 (s, 1H), 4.28 (s, 2H), 3.29-3.23 (m, 2H), 3.17-3.10 (m, 2H), 2.55-2.46 (m, 3H), 2.42 (s, 3H), 2.34-2.20 (m, 2H), 1.25-1.14 (m, 9H), 1.10 (t, J=7.6Hz, 3H)。

[0456] 示例15: (2S,3R,4R,5S,6S)-2-甲基-6-(((E)-3-(4-(((2-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)甲基)苯基)丙烯酰氨基)氧基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三(2-甲基丙酸酯) (122) 的制备



[0458] 将L-岩藻糖(3g, 18.4mmol, 1.0当量)溶解在吡啶(13mL)和氯仿(19.5mL)中。在氮气气氛下,在冰浴温度下通过注射器缓慢加入异丁酰氯(13.14mL, 123.8mmol, 6.7当量)。让反应混合物升至室温,并且然后搅拌48h。在高真空下将溶液浓缩至干,并且然后用2M HCl(15mL)猝灭。加入乙酸乙酯(200mL),并且将溶液用水洗涤两次。有机层再次用2M HCl(20mL)洗涤,然后用饱和的碳酸氢钠溶液(30mL)和然后水(30mL)洗涤。有机层用硫酸钠溶液干燥。去除溶剂,以得到作为淡黄色油状物的(2S, 3S, 4R, 5R, 6S)-6-甲基四氢-2H-吡喃-2,3,4,5-四基四(2-甲基丙酸酯)(9.8g)。LC/MS:RT=3.93min;m/z=462.8[M+18]。

[0459] 将乙酸(1.5mL, 24mmol, 1.4当量)加入到在THF(200mL)中的乙二胺(1.6mL, 20.5mmol, 1.2当量)的溶液中。向沉淀的固体的悬浮液中以一份加入(2S, 3S, 4R, 5R, 6S)-6-甲基四氢-2H-吡喃-2,3,4,5-四基四(2-甲基丙酸酯)(8g, 20.66mmol, 1.0当量)。将混合物在室温下搅拌过夜。第二天,LC/MS分析显示主要是未反应的起始材料。对反应产物进行再处理,并重新经历相同的反应条件,这次搅拌总共五天,此时加入水。分离各层,并加入稀HCl(2%),然后加入乙酸乙酯(200mL)。在摇动后,分离各层,并且用水洗涤有机层两次。有机层进一步用盐水洗涤,并用硫酸钠干燥。去除溶剂,以得到作为黄色油状物的(2R, 3S, 4R, 5R, 6S)-2-羟基-6-甲基四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三(2-甲基丙酸酯)。将粗产物干燥装载到80g的硅胶柱上,并使用100%己烷至在己烷中的30%乙酸乙酯的梯度纯化1小时。收集产物级分并浓缩,以得到作为无色油状物的(2R, 3S, 4R, 5R, 6S)-2-羟基-6-甲基四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三(2-甲基丙酸酯)。(2.89g)。LC/MS:RT=3.19min;m/z=392.5[M+18]。

[0460] 在0°C下,在30min内向在二氯甲烷(60mL)中的(2R, 3S, 4R, 5R, 6S)-2-羟基-6-甲基四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三(2-甲基丙酸酯)(2.4g, 6.4mmol, 1.0当量)的溶液中以3份

[0461] 逐滴加入DAST(3.69mL, 27.5mmol, 4.3当量)。在此温度下将混合物搅拌另外的30min。TLC分析显示没有起始材料。将反应混合物冷却至-20°C,并缓慢加入甲醇(5.0mL)。将混合物搅拌另外的15min,此时加入二氯甲烷,并将混合物倒入碳酸氢钠的冷溶液中。分离的有机层用1N HCl洗涤两次,然后用饱和碳酸氢钠溶液洗涤,并且最后用盐水洗涤。在用硫酸钠干燥后,去除溶剂,以得到黄色油状物(2.5g)。使用25g硅胶柱,使粗产物经历正相纯化,用100%己烷至在己烷中的25%乙酸乙酯的梯度洗脱。收集产物级分,并去除溶剂,以得到作为白色泡的(2RS, 3S, 4R, 5R, 6S)-2-氟-6-甲基四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三(2-甲基丙酸酯)(2.0g)。LC/MS:RT=3.64, 3.78min;m/z=377.5[M+H]⁺。

[0462] 向在乙腈(4.0mL)中的(2RS, 3S, 4R, 5R, 6S)-2-氟-6-甲基四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三(2-甲基丙酸酯)(2000mg, 5.3mmol, 1.0当量)和N-羟基邻苯二甲酰亚胺(1100mg,

6.89mmol, 1.3当量)的溶液中加入三乙胺(0.98mL, 6.8mmol, 1.3当量)。通过注射器缓慢加入 $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (2.1mL, 15.9mmol, 3.0当量)。溶液从红色变成清晰的浅黄色。在30min后, LC/MS分析显示反应完成, 得到两种异构产物。加入二氯甲烷, 并将溶液倒入冷的碳酸氢钠溶液中。分离有机层, 并用含水的碳酸氢钠洗涤两次, 直到无色。然后用盐水洗涤溶液, 并用硫酸钠干燥。将溶液浓缩至干, 以得到2500mg的粗(2RS, 3S, 4R, 5R, 6S)-2-((1, 3-二氧代异吲哚啉-2-基)氧基)-6-甲基四氢-2H-吡喃-3, 4, 5-三基三(2-甲基丙酸酯)。在40min内, 使用100%己烷至在己烷中的25%乙酸乙酯的梯度通过正相色谱法(在40g硅胶柱上)来纯化产物。产物级分被收集为2个峰。峰#1(正相, 低极性)LC/MS(反相): RT=4.04min; m/z=520.6[M+H]⁺。峰#2(正相, 高极性)LC/MS(反相): RT=3.74min; m/z=520.6[M+H]⁺。

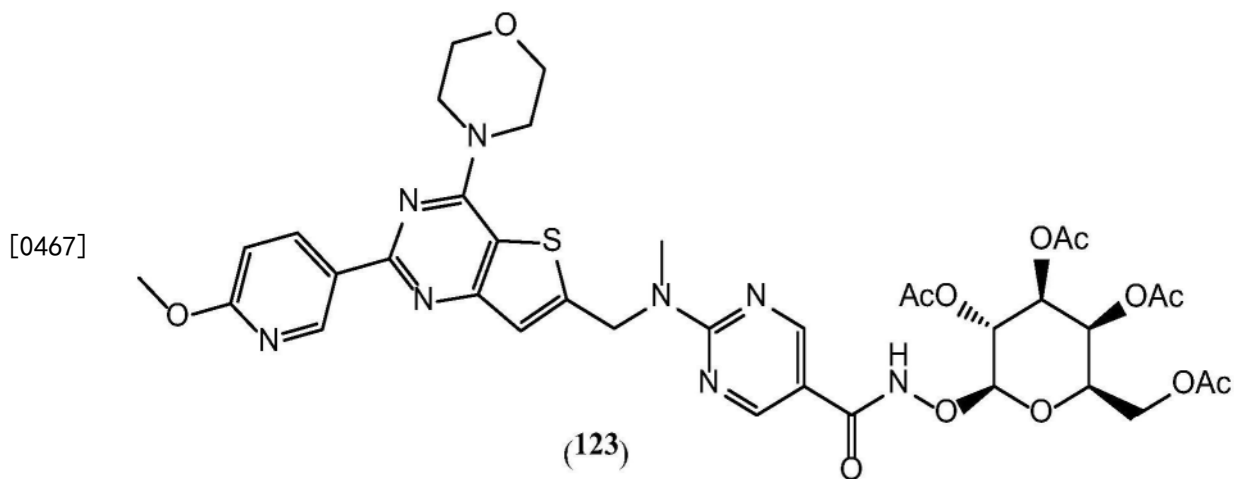
[0463] 通过将其¹H NMR光谱与文献表征的三乙酰氧基类似物(31)进行比较, 峰#1被确定为所需的 α 异构体, (2S, 3S, 4R, 5R, 6S)-2-((1, 3-二氧代异吲哚啉-2-基)氧基)-6-甲基四氢-2H-吡喃-3, 4, 5-三基三(2-甲基丙酸酯)。其作为白色固体(1400mg)被分离。峰#2被确定为 β 异构体, (2R, 3S, 4R, 5R, 6S)-2-((1, 3-二氧代异吲哚啉-2-基)氧基)-6-甲基四氢-2H-吡喃-3, 4, 5-三基三(2-甲基丙酸酯)。将其作为白色固体分离(500mg)。

[0464] 将(2R, 3S, 4R, 5R, 6S)-2-((1, 3-二氧代异吲哚啉-2-基)氧基)-6-甲基四氢-2H-吡喃-3, 4, 5-三基三(2-甲基丙酸酯)(900mg, 2.3mmol, 1.0当量)溶解在甲醇(20mL)中。在冰浴温度下逐滴加入水合肼(65%, 2.3mL, 2.3mmol, 1.0当量), 并将反应混合物搅拌30min。溶液由清澈变为浑浊。LC/MS分析显示反应完成。加入二氯甲烷(25mL), 并且将分离的有机层用冷饱和 NaHCO_3 溶液洗涤两次。有机层用盐水洗涤, 并用硫酸钠干燥。去除溶剂, 以得到作为白色固体的(2S, 3S, 4R, 5R, 6S)-2-(氨基氧基)-6-甲基四氢-2H-吡喃-3, 4, 5-三基三(2-甲基丙酸酯)(750mg)。LC/MS: RT=2.87min; m/z=390.5[M+H]⁺。将(E)-3-(4-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)(2-(2-甲基-1H-吲哚-3-基)乙基)氨基)甲基)苯基)丙烯酸(29)(300mg, 0.53mmol, 1.0当量)溶解在DMF(1.5mL)中。加入EDC(124mg, 0.653mmol, 1.3当量)和1-羟基苯并三唑(100mg, 0.65mmol, 1.3当量)。将反应混合物搅拌10min, 之后加入(2S, 3S, 4R, 5R, 6S)-2-(氨基氧基)-6-甲基四氢-2H-吡喃-3, 4, 5-三基三(2-甲基丙酸酯)(247mg, 0.53mmol, 1.0当量), 然后加入DIPEA(1.4当量)。将混合物在室温下搅拌2h。LC/MS分析显示所需产物的形成。加入乙酸乙酯, 并且混合物用饱和的 NH_4Cl 溶液洗涤两次。乙酸乙酯层用含水的 NaHCO_3 洗涤两次, 并且最后用盐水洗涤。去除溶剂, 以得到淡黄色泡沫(590mg)。使用10g硅胶柱, 使用正相纯化法来纯化产物, 用100%己烷至在己烷中的30%乙酸乙酯的梯度洗脱45min。收集产物级分, 并去除溶剂, 以得到作为白色泡沫的(2S, 3S, 4R, 5R, 6S)-2-(((E)-3-(4-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)(2-(2-甲基-1H-吲哚-3-基)乙基)氨基)甲基)苯基)丙烯酰氨基)氧基)-6-甲基四氢-2H-吡喃-3, 4, 5-三基三(2-甲基丙酸酯)(250mg)。LC/MS: RT=8.13min; m/z=829.1[M+H]⁺。

[0465] 将(2S, 3S, 4R, 5R, 6S)-2-(((E)-3-(4-(((9H-芴-9-基)甲氧基)羰基)(2-(2-甲基-1H-吲哚-3-基)乙基)氨基)甲基)苯基)丙烯酰氨基)氧基)-6-甲基四氢-2H-吡喃-3, 4, 5-三基三(2-甲基丙酸酯)(250mg, 0.26mmol, 1.0当量)溶解在DMF(1.0mL)中。加入三乙胺(1.0mL), 并在室温下搅拌过夜, 以去除Fmoc保护基团。LC/MS显示所需的产物。混合物用己烷研磨, 加入乙酸乙酯, 并且混合物用饱和的 NH_4Cl 提取两次。用盐水洗涤合并的有机层, 并用硫酸钠干燥。浓缩溶剂, 以得到黄色泡沫。(300mg)。该残留物用己烷/DCM(10%)研磨。将

粗产物浓缩并干燥,以得到橙色固体(180mg)。使用含有HCl的缓冲液通过HPLC来纯化该固体,并且标题化合物(2S,3R,4R,5S,6S)-2-甲基-6-(((E)-3-(4-(((2-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)甲基)苯基)丙烯酰氨基)氧基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三(2-甲基丙酸酯)(122)作为其盐酸盐以白色固体被分离。LC/MS:RT=5.67min;m/z=706.9[M+H]⁺。¹H NMR(500MHz,甲醇-d₄): δ 7.72-7.61(m,3H),7.53(d,J=8.2Hz,2H),7.43(m,1H),7.28(dt,J=8.0,1.0Hz,1H),7.06(ddd,J=8.2,7.1,1.2Hz,1H),7.00(ddd,J=8.0,7.1,1.1Hz,1H),6.55(d,J=15.9Hz,1H),5.48(dd,J=11.1,3.3Hz,1H),5.40(dd,J=3.4,1.4Hz,1H),5.33(d,J=3.9Hz,1H),5.24(d,J=10.3Hz,1H),4.70(br.s,1H),4.28(s,2H),3.26(m,2H),3.17-3.10(m,2H),2.73(m,1H),2.67(s,2H),2.47(m,1H),2.42(s,3H),1.31-1.15(m,15H),1.12(d,J=7.0Hz,6H)。

[0466] 示例16:(2R,3S,4S,5R,6S)-2-(乙酰氧基甲基)-6-((2-(((2-(6-甲氧基吡啶-3-基)-4-吗啉代噻吩并[3,2-d]嘧啶-6-基)甲基(甲基)氨基)嘧啶-5-甲酰氨基)氧基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(123)的制备

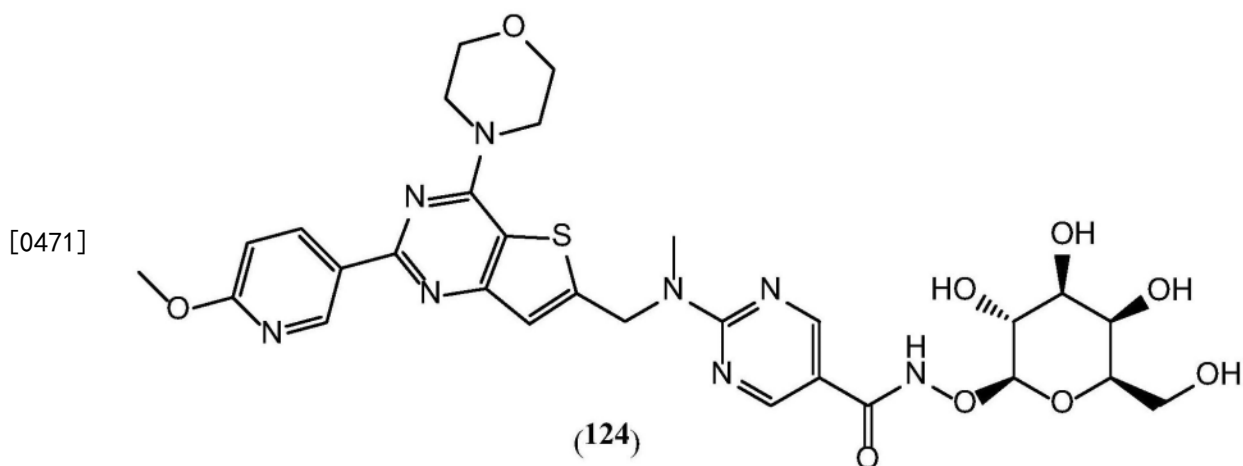


[0468] 向在二噁烷(60mL)和水(15mL)中的2-(N-((2-(6-甲氧基吡啶-3-基)-4-吗啉代噻吩并[3,2-d]嘧啶-6-基)甲基)-N-甲基氨基)嘧啶-5-羧酸甲酯(如在W02018085342A1中所述制备)(1.8g,3.5mmol)的溶液中加入LiOH(340mg,14.2mmol),并且将所得的混合物在50℃下搅拌16h。将反应混合物冷却至室温,用水(10mL)稀释,并用含水的2M HCl酸化至pH 5。然后将反应混合物在真空中浓缩以去除二噁烷。过滤沉淀的产物,用水(15mL)洗涤,并在高真空下干燥,以提供作为灰白色固体的2-(N-((2-(6-甲氧基吡啶-3-基)-4-吗啉代噻吩并[3,2-d]嘧啶-6-基)甲基)-N-甲基氨基)嘧啶-5-羧酸(1.5g,85%)。LC/MS:RT=2.52min;m/z=494.4[M+H]⁺。

[0469] 向在DMF(4.2mL)中的2-(N-((2-(6-甲氧基吡啶-3-基)-4-吗啉代噻吩并[3,2-d]嘧啶-6-基)甲基)-N-甲基氨基)嘧啶-5-羧酸(740mg,1.5mmol)的悬浮液中加入EDC·HCl(401mg,2.1mmol),然后加入HOBt(321mg,2.1mmol),并且将所得的混合物在室温下搅拌5min。以一份加入化合物(24)(700mg,1.92mmol)。将反应混合物在冰/水浴中冷却,并加入Et₃N(0.3mL,2.1mmol)。将反应混合物逐渐升温至室温,并搅拌12h。加入饱和的含水NH₄Cl(6mL),并且过滤所得的沉淀物,并用水(10mL)洗涤。将残留物溶解在EtOAc(20mL)中,用盐水洗涤,用无水Na₂SO₄干燥,过滤并浓缩,以得到作为白色泡沫状固体的粗产物(1g,80%产率,90%纯度)。在反相HPLC上纯化350mg的该粗材料,以得到146mg的标题化合物(2R,3S,

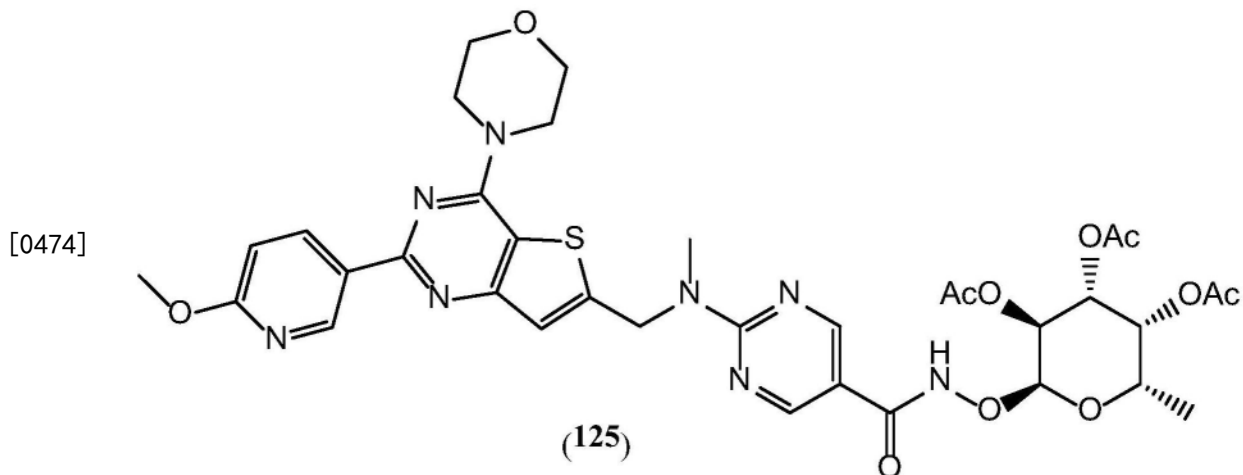
4S,5R,6S)-2-(乙酰氧基甲基)-6-(((2-(6-甲氧基吡啶-3-基)-4-吗啉代噻吩并[3,2-d]嘧啶-6-基)甲基(甲基)氨基)嘧啶-5-甲酰氨基)氧基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(123)。LC/MS:RT=1.92min;m/z=839.4[M+H]⁺。¹H NMR(500MHz,甲醇-d₄):δ9.08(d,J=2.6Hz,1H),8.79(s,2H),8.51(dd,J=8.8,2.6Hz,1H),7.56(s,1H),7.04(d,J=8.7Hz,1H),5.45(d,J=3.3Hz,1H),5.33(s,2H),5.30(dd,J=10.4,8.1Hz,1H),5.24(dd,J=10.4,3.4Hz,1H),5.06(d,J=8.1Hz,1H),4.29-4.16(m,7H),4.06(s,3H),3.91(m,4H),3.38(s,3H),2.18(s,3H),2.16(s,3H),2.04(s,3H),1.98(s,3H)。

[0470] 示例17:2-(((2-(6-甲氧基吡啶-3-基)-4-吗啉代噻吩并[3,2-d]嘧啶-6-基)甲基(甲基)氨基)-N-(((2S,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-三羟基-6-(羟甲基)四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)嘧啶-5-甲酰胺(124)的制备



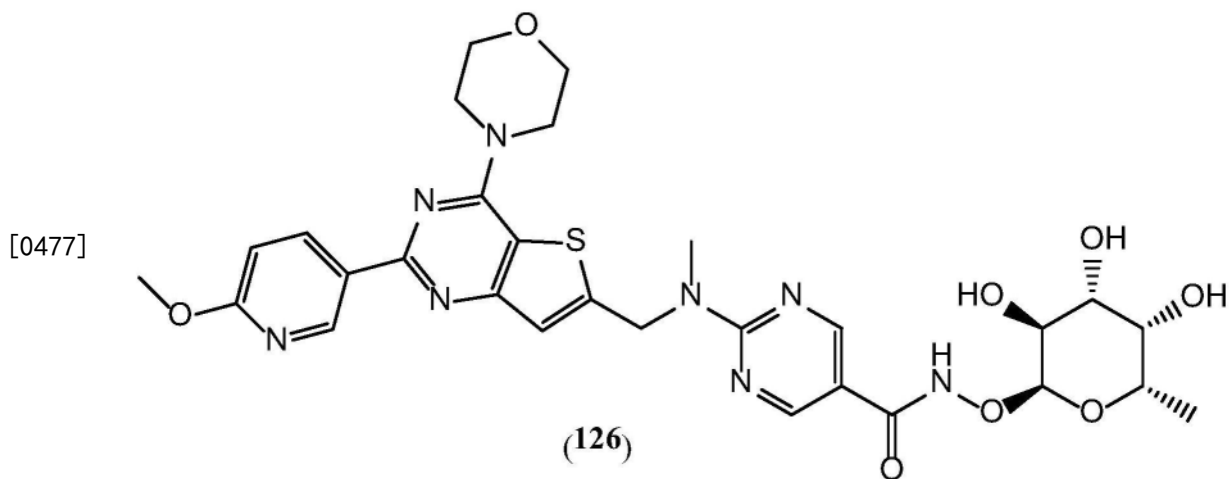
[0472] 在冰/水浴中,向在MeOH(7.7mL)中的化合物(123)(650mg,0.77mmol)的溶液中滴加在MeOH(0.21mL,1mmol)中的25%的NaOMe溶液。然后将反应混合物升温至室温并搅拌1h。通过加入含水的1N HCl将反应混合物淬灭,以将pH调节至7。在减压下去除溶剂,并且残留物通过反相HPLC纯化,以得到作为白色粉末的标题化合物2-(((2-(6-甲氧基吡啶-3-基)-4-吗啉代噻吩并[3,2-d]嘧啶-6-基)甲基(甲基)氨基)-N-(((2S,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-三羟基-6-(羟甲基)四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)嘧啶-5-甲酰胺(124)(267mg)。LC/MS:RT=1.34min;m/z=671.6[M+H]⁺。¹H NMR(500MHz,甲醇-d₄):δ9.08(dd,J=2.7,0.7Hz,1H),8.85(s,2H),8.51(dd,J=8.9,2.6Hz,1H),7.58(d,J=1.0Hz,1H),7.05(dd,J=8.9,0.7Hz,1H),5.36-5.34(m,2H),4.63(d,J=7.9Hz,1H),4.27(m,4H),4.07(s,3H),3.94-3.82(m,6H),3.78(dd,J=11.4,4.6Hz,1H),3.71(dd,J=9.7,7.9Hz,1H),3.65(ddd,J=7.6,4.6,1.1Hz,1H),3.58(dd,J=9.6,3.4Hz,1H),3.38(s,3H)。

[0473] 示例18:(2S,3S,4R,5R,6S)-2-(((2-(6-甲氧基吡啶-3-基)-4-吗啉代噻吩并[3,2-d]嘧啶-6-基)甲基(甲基)氨基)嘧啶-5-甲酰氨基)氧基)-6-甲基四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(125)的制备



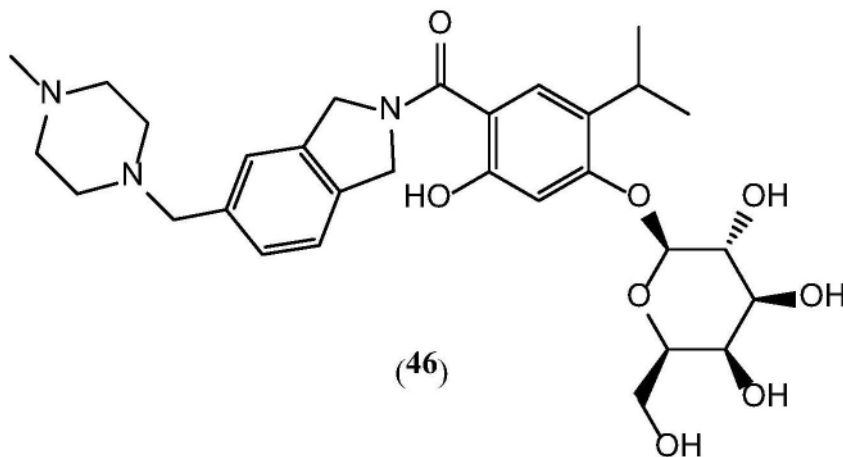
[0475] 在室温下,向在DMF (4.6mL) 中的2-(N-((2-(6-甲氧基吡啶-3-基)-4-吗啉代噻吩并[3,2-d]嘧啶-6-基)甲基)-N-甲基氨基)嘧啶-5-羧酸(700mg, 1.4mmol) 的溶液中以一份加入EDC.HCl (377mg, 1.9mmol), 随后加入HOBT (290mg, 1.9mmol)。在20min后,将反应混合物在冰/水浴中冷却,并在0℃下加入化合物(32) (491mg, 1.6mmol) 和DIPEA (0.34mL, 1.4当量)。将所得的混合物置于室温并搅拌2h。加入冷饱和NH₄Cl水溶液(10mL), 并过滤沉淀的产物,并用水(5mL)洗涤。将残留物溶解在EtOAc (20mL) 中,并用盐水洗涤,用无水Na₂SO₄干燥,过滤并浓缩,以得到作为白色泡沫状固体的粗产物(125) (1.1g, 定量, 90%纯度)。在反相HPLC上纯化350mg的该粗材料,以得到153mg的标题化合物(2S, 3S, 4R, 5R, 6S)-2-((2-((2-(6-甲氧基吡啶-3-基)-4-吗啉代噻吩并[3,2-d]嘧啶-6-基)甲基(甲基)氨基)嘧啶-5-甲酰胺基)氧基)-6-甲基四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(125)。LC/MS: RT=1.96min; m/z=781.5 [M+H]⁺。¹H NMR (500MHz, 甲醇-d₄): δ9.08 (dd, J=2.6, 0.8Hz, 1H), 8.80 (s, 2H), 8.52 (dd, J=8.8, 2.6Hz, 1H), 7.51 (d, J=0.9Hz, 1H), 7.00 (d, J=8.8Hz, 1H), 5.46-5.36 (m, 3H), 5.32 (s, 2H), 5.17 (dd, J=11.1, 4.0Hz, 1H), 4.70 (d, J=6.7Hz, 1H), 4.20 (m, 4H), 4.05 (s, 3H), 3.90 (m, 4H), 3.37 (s, 3H), 2.19 (s, 3H), 2.17 (s, 3H), 2.01 (s, 3H), 1.19 (d, J=6.5Hz, 3H)。

[0476] 示例19:2-(((2-(6-甲氧基吡啶-3-基)-4-吗啉代噻吩并[3,2-d]嘧啶-6-基)甲基(甲基)氨基)-N-(((2S, 3S, 4R, 5S, 6S)-3,4,5-三羟基-6-甲基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)嘧啶-5-甲酰胺(126)的制备

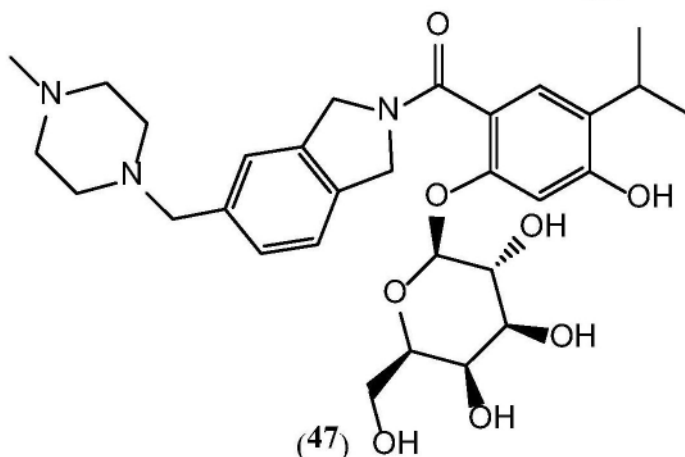


[0478] 在冰/水浴中,向在MeOH (9.6mL) 中的化合物 (125) (750mg, 0.96mmol) 的溶液中滴加在MeOH (0.22mL, 1.06mmol) 中的25%的NaOMe溶液。然后将反应混合物升温至室温并搅拌1h。通过加入含水的1N HCl将反应混合物淬灭,以将pH调节至7。在减压下去除溶剂,并且残留物通过反相HPLC来纯化,以得到作为白色粉末的标题化合物2-(((2-(6-甲氧基吡啶-3-基)-4-吗啉代噻吩并[3,2-d]嘧啶-6-基)甲基(甲基)氨基)-N-(((2S,3S,4R,5S,6S)-3,4,5-三羟基-6-甲基四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)嘧啶-5-甲酰胺 (126) (359mg)。LC/MS:RT=1.40min;m/z=655.4[M+H]⁺。¹H NMR (500MHz, 甲醇-d₄): δ9.08 (dd, J=2.7, 0.7Hz, 1H), 8.81 (s, 2H), 8.51 (dd, J=8.8, 2.6Hz, 1H), 7.57 (d, J=0.9Hz, 1H), 7.05 (dd, J=8.8, 0.7Hz, 1H), 5.34 (m, 2H), 5.15 (d, J=3.7Hz, 1H), 4.42 (m, 1H), 4.27 (m, 4H), 4.07 (s, 3H), 3.95-3.84 (m, 6H), 3.76 (dd, J=3.0, 1.3Hz, 1H), 3.38 (s, 3H), 1.26 (d, J=6.5Hz, 3H)。

[0479] 示例20: (2-羟基-5-异丙基-4-(((2S,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-三羟基-6-(羟甲基)四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苯基)(5-((4-甲基哌嗪-1-基)甲基)异吲哚啉-2-基)甲酮 (46) 和 (4-羟基-5-异丙基-2-(((2S,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-三羟基-6-(羟甲基)四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苯基)(5-((4-甲基哌嗪-1-基)甲基)异吲哚啉-2-基)甲酮 (47) 的制备



[0480]



[0481] β-D-半乳糖基缀合物 (46) 和 (47) 通过调整Wadzinski et al (Nature Chem. Biol., 10 (2018) 644-652) 的用于在水性介质中快速O-酚糖基化的合成方案来合成。从市售的 (2,4-二羟基-5-异丙基苯基)(5-((4-甲基哌嗪-1-基)甲基)异吲哚啉-2-基)甲酮 AT13387 (36) 开始,在Ca(OH)₂的存在下用α-D-吡喃半乳糖基氟化物处理提供了通过HPLC分离的β-D-半乳糖苷的区域异构体混合物。

[0482] α -D-吡喃半乳糖基氟化物如下制备:通过注射器向在冰/水浴下冷却的塑料瓶中的 β -D-半乳糖五乙酸酯(10g, 25.7mmol, 1当量)中缓慢加入70% HF·吡啶(17mL, 1.5M)的冷溶液。将反应容器旋盖,并逐渐升温至室温,并且搅拌16h。通过加入冷水(50mL)将反应混合物淬灭。加入DCM(50mL),并将所得的混合物搅拌30min。然后分离有机层,并且水层用DCM(2×50 mL)提取。合并的有机层用饱和的 NaHCO_3 水溶液(150mL)、盐水(100mL)洗涤,用无水硫酸钠干燥,过滤,并在真空中浓缩,并且在高真空下干燥,以得到粗残留物。

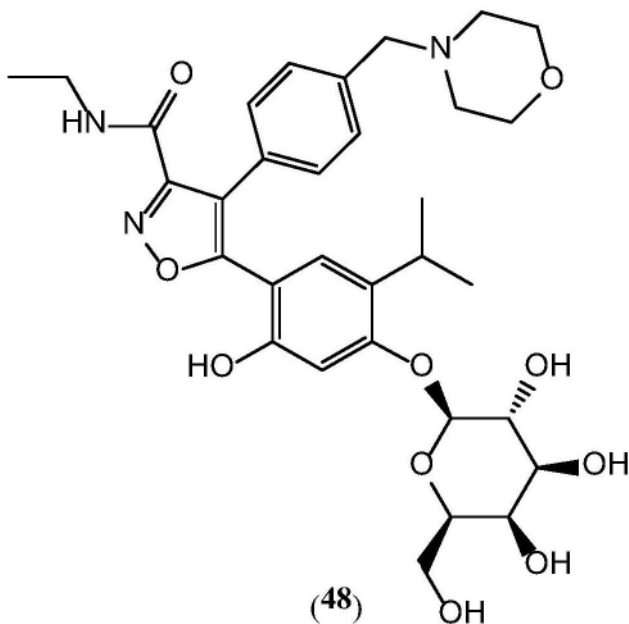
[0483] 向上述残留物中加入无水MeOH(130mL),并将所得的混合物搅拌15min。然后将反应混合物在冰/水中冷却10min,加入NaOMe(139mg, 2.57mmol),并且在10min后,去除冰/水浴,并且使反应混合物在3h内逐渐升温至室温。将反应混合物在冰/水浴中再次冷却,并加入硅胶(11g)。将所得的悬浮液浓缩成稠的糊剂。加入7:3EtOAc:MeOH(50mL)的溶液,充分搅拌5min并过滤。残留物用7:3EtOAc:MeOH(60mL)洗涤,并且将合并的滤液使用旋转蒸发器浓缩至干。将残留物在高真空下干燥过夜,以得到作为泡沫状固体的所需产物 α -D-吡喃半乳糖基氟化物(4.2g, 91%),其在没有任何进一步纯化的情况下被用于下一步骤。

[0484] 向在水(7mL)和DMSO(7mL)中的AT13387(36)(90mg, 0.22mmol)和 α -D-吡喃半乳糖基氟化物(1.2g, 6.6mmol)的溶液中加入 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ (488mg, 6.6mmol),并且将所得的混合物在室温下搅拌8h。LC/MS分析表明向所需的化合物(46)和(47)的明显转化。通过加入含水的1M HCl将反应混合物淬灭以将pH调节至8,并将所得的混合物在真空中浓缩以去除水。残留物的DMSO溶液通过反相HPLC直接纯化,并且分离出两种区域异构体产物。通过将反相LC/MS上的保留时间与计算出的LogP值(计算出的亲脂性较低的区域异构体被分配至HPLC上较早的洗脱峰)相关联来推断产物的区域化学特征。

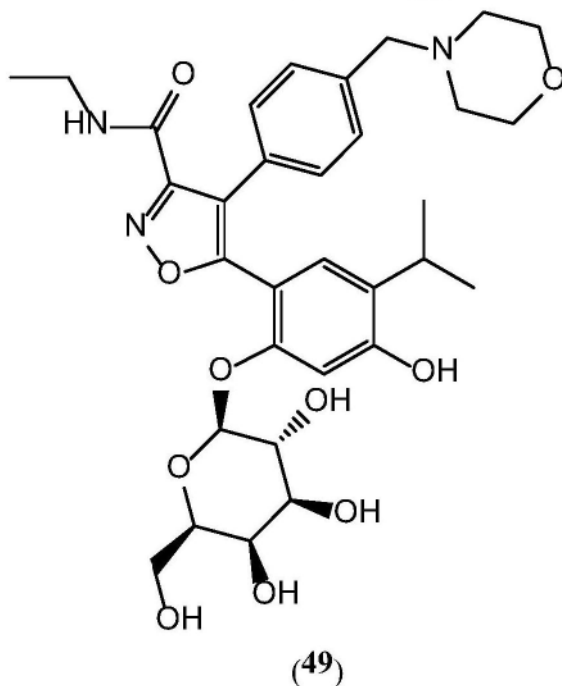
[0485] 较早的洗脱峰产生34mg的作为白色固体的(2-羟基-5-异丙基-4-(((2S, 3R, 4S, 5R, 6R)-3,4,5-三羟基-6-(羟甲基)四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苯基)(5-((4-甲基哌嗪-1-基)甲基)异吲哚啉-2-基)甲酮(46)($\text{cLogP}=1.8$)。LC/MS:R T=1.13min; $m/z=572.5[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 ^1H NMR(500MHz, 甲醇- d_4): δ 7.41-7.35(br s, 2H), 7.33(s, 1H), 7.30(s, 2H), 5.01-4.90(m, 6H), 4.10-4.00(m, 2H), 3.83-3.63(m, 9H), 3.29(m, 4H), 2.88(s, 3H), 1.25(d, $J=6.9\text{Hz}$, 3H), 1.24(d, $J=6.9\text{Hz}$, 3H)。

[0486] 随后的洗脱峰产生22mg的作为白色固体的(4-羟基-5-异丙基-2-(((2S, 3R, 4S, 5R, 6R)-3,4,5-三羟基-6-(羟甲基)四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苯基)(5-((4-甲基哌嗪-1-基)甲基)异吲哚啉-2-基)甲酮(47)($\text{cLogP}=2.0$)。LC/MS:RT=1.20min; $m/z=572.5[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 ^1H NMR(500MHz, 甲醇- d_4): δ 7.42-7.35(m, 1H), 7.35-7.27(m, 1H), 7.25-7.18(m, 1H), 7.12(d, $J=1.7\text{Hz}$, 1H), 6.78(s, 1H), 4.98-4.78(m, 6H), 4.71(m, 1H), 3.92-3.86(m, 1H), 3.85-3.62(m, 6H), 3.55(m, 1H), 3.30-3.22(m, 7H), 2.88(d, $J=8.8\text{Hz}$, 3H), 1.24(d, $J=6.8\text{Hz}$, 3H), 1.22(d, $J=6.8\text{Hz}$, 3H)。

[0487] 示例21:N-乙基-5-(2-羟基-5-异丙基-4-(((2S, 3R, 4S, 5R, 6R)-3,4,5-三羟基-6-(羟甲基)四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苯基)-4-(4-(吗啉代甲基)苯基)异噁唑-3-甲酰胺(48)和N-乙基-5-(4-羟基-5-异丙基-2-(((2S, 3R, 4S, 5R, 6R)-3,4,5-三羟基-6-(羟甲基)四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苯基)-4-(4-(吗啉代甲基)苯基)异噁唑-3-甲酰胺(49)的制备



[0488]



[0489] β -D-半乳糖基缀合物 (48) 和 (49) 通过调整Wadzinski et al (Nature Chem.Biol., 10 (2018) 644-652) 的用于在水性介质中快速O-酚糖基化的合成方案来合成。从商业上可获得的间苯二酚化合物NVP-AUY922 (37) 开始,在Ca(OH)₂的存在下用 α -D-吡喃半乳糖基氟化物处理提供了 β -D-半乳糖苷的区域异构体混合物,通过HPLC将其分离。

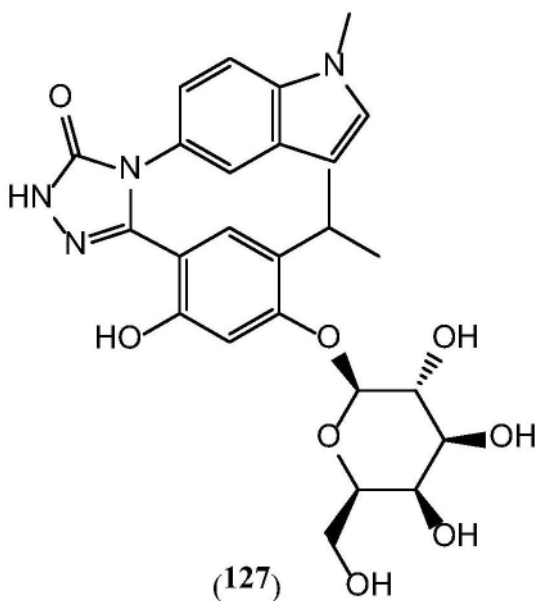
[0490] 将在水 (0.4mL) 中的5-(2,4-二羟基-5-异丙基苯基)-N-乙基-4-(4-(吗啉代甲基)苯基)异噁唑-3-甲酰胺NVP-AUY922 (37) (100mg, 0.21mmol)、 α -D-吡喃半乳糖基氟化物 (352mg, 1.9mmol) 和Ca(OH)₂ (47mg, 0.64mmol) 悬浮在4mL的小瓶中。将反应小瓶旋盖,并且将所得的混合物在室温下搅拌3h。LC/MS表明向所需的化合物 (48) 和 (49) 的明显转化。通过加入含水的1M HCl将反应混合物淬灭,以调节至pH 8,并且将所得的混合物通过反相HPLC直接纯化,以得到两种区域异构体产物。通过将反相LC/MS上的保留时间与计算出的LogP值(计算出的亲脂性较低的异构体被分配至HPLC上较早的洗脱峰)相关联来推断产物的区域

化学特征。

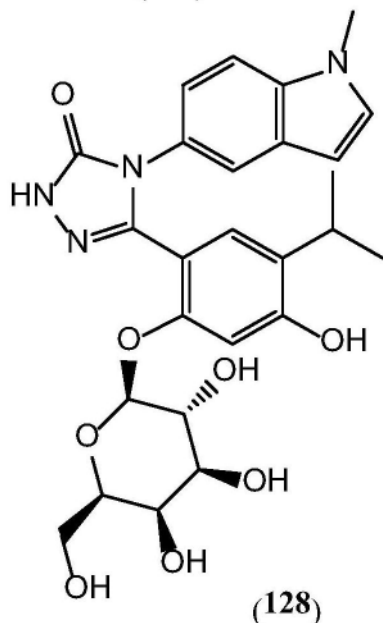
[0491] 较早的洗脱峰产生7mg的作为白色固体的N-乙基-5-(2-羟基-5-异丙基-4-(((2S,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-三羟基-6-(羟甲基)四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苯基)-4-(4-(吗啉代甲基)苯基)异噁唑-3-甲酰胺(48)(cLogP=0.88)。LC/MS:RT=1.29min;m/z=628.4[M+H]⁺。¹H NMR(500MHz,甲醇-d₄): δ 7.44(m,4H),6.98(s,1H),6.73(s,1H),4.83(m,1H),4.31(s,1H),3.94(s,1H),3.87-3.76(m,4H),3.71(m,1H),3.59(m,1H),3.39-3.15(m,11H),1.23(t,J=7.3Hz,3H),1.06(d,J=6.9Hz,3H),1.05(d,J=6.9Hz,3H)。

[0492] 随后的洗脱峰产生22mg的作为白色固体的N-乙基-5-(4-羟基-5-异丙基-2-(((2S,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-三羟基-6-(羟甲基)四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苯基)-4-(4-(吗啉代甲基)苯基)异噁唑-3-甲酰胺(49)(cLogP=1.02)。LC/MS:RT=1.43min;m/z=628.4[M+H]⁺。¹H NMR(500MHz,甲醇-d₄): δ 7.45(s,4H),7.05(s,1H),6.72(s,1H),4.71(d,J=7.7Hz,1H),4.35(q,J=7.3Hz,2H),4.06(br.s,1H),3.86(m,1H),3.77-3.70(m,3H),3.60(m,1H),3.48-3.20(m,10H),3.16(m,1H),1.23(t,J=7.3Hz,3H),1.10(d,J=6.9Hz,3H),1.09(d,J=6.9Hz,3H)。

[0493] 示例22:5-(2-羟基-5-异丙基-4-(((2S,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-三羟基-6-(羟甲基)四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苯基)-4-(1-甲基-1H-吡啶-5-基)-2,4-二氢-3H-1,2,4-三唑-3-酮(127)和5-(4-羟基-5-异丙基-2-(((2S,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-三羟基-6-(羟甲基)四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苯基)-4-(1-甲基-1H-吡啶-5-基)-2,4-二氢-3H-1,2,4-三唑-3-酮(128)的制备



[0494]



[0495] 向在无水DMF(10mL)中的5-(2,4-二羟基-5-异丙基苯基)-4-(1-甲基-1H-吡啶-5-基)-2,4-二氢-3H-1,2,4-三唑-3-酮、ganetespiib(38)(200mg,0.55mmol)和2,3,4,6-四-O-乙酰基- α -D-吡喃半乳糖基溴化物(1.35g,3.3mmol)的混合物中加入 Cs_2CO_3 (3.2g,9.8mmol),并且将所得的混合物在室温下搅拌15h。加入水(100mL),并用EtOAc(3X 50mL)提取所得的混合物。合并的有机层用盐水洗涤,用无水硫酸钠干燥,过滤并在真空中浓缩。残留物在高真空下干燥过夜。

[0496] 向上述残留物中加入MeOH(5mL)和NaOMe(在MeOH中的25%溶液,25 μ L,0.11mmol),并将所得的混合物在室温下搅拌1h。LC/MS表明向所需的化合物(127)和(128)的显著转化。通过加入在二噁烷溶液中的4M HCl来淬灭反应混合物,以调节至pH 8。然后将反应混合物在真空中浓缩,并通过反相HPLC纯化,以得到两种区域异构体产物。通过将反相LC/MS上的保留时间与计算出的LogP值(计算出的亲脂性较低的异构体被分配至HPLC上较早的洗脱峰)相关联来推断产物的区域化学特征。

[0497] 较早的洗脱峰产生25mg的作为白色固体的5-(2-羟基-5-异丙基-4-((2S,3R,4S,

5R,6R)-3,4,5-三羟基-6-(羟甲基)四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苯基)-4-(1-甲基-1H-吡啶-5-基)-2,4-二氢-3H-1,2,4-三唑-3-酮(127) (cLogP=1.96)。LC/MS:RT=1.30min;m/z=527.2[M+H]⁺。¹H NMR(500MHz,甲醇-d₄): δ 7.53-7.46(m,2H),7.29(d,J=3.2Hz,1H),7.08(dd,J=8.6,2.1Hz,1H),6.71(s,1H),6.67(s,1H),6.49(dd,J=3.1,0.8Hz,1H),4.80(d,J=7.8Hz,1H),3.90(d,J=2.9Hz,1H),3.86(s,3H),3.82-3.71(m,3H),3.67(m,1H),3.55(dd,J=9.7,3.4Hz,1H),3.14(m,1H),0.73(dd,J=6.9,1.7Hz,6H)。随后的洗脱峰产生35mg的作为白色固体的5-(4-羟基-5-异丙基-2-(((2S,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-三羟基-6-(羟甲基)四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)苯基)-4-(1-甲基-1H-吡啶-5-基)-2,4-二氢-3H-1,2,4-三唑-3-酮(128) (cLogP=2.09)。LC/MS:RT=1.54min;m/z=527.2[M+H]⁺。¹H NMR(500MHz,甲醇-d₄): δ 7.55-7.49(m,2H),7.30(d,J=3.1Hz,1H),7.09(dd,J=8.6,2.0Hz,1H),6.59(s,1H),6.51(d,J=3.0Hz,1H),6.29(s,1H),5.27(d,J=9.1Hz,1H),4.40(m,1H),3.98(d,J=3.3Hz,1H),3.87(s,3H),3.85-3.75(m,3H),3.72(dd,J=9.6,3.3Hz,1H),2.91(m,1H),0.67(d,J=6.9Hz,3H),0.65(d,J=6.9Hz,3H)。

[0498] 示例23:化合物对正常增殖、衰老或静止成纤维细胞的毒性

[0499] 正常人成纤维细胞(IMR90)和患者来源的 β -半乳糖苷酶(GLB1)或 α -岩藻糖苷酶(FUCA1)缺陷细胞用于确定在暴露于化合物后细胞生存力的变化。在5%二氧化碳和5%氧气的受控气氛下,用DMEM和10%热灭活FBS培养细胞。由细胞接触抑制诱导,并由与衰老相关的 β -半乳糖苷酶(SA- β -Gal)染色的缺失和重新进入细胞周期的能力证实。通过用阿霉素处理来诱导衰老,并通过SA- β -Gal阳性染色和DNA复制的缺乏来证实。细胞用化合物处理三天。在十种浓度的测试化合物下,通过线粒体脱氢酶活性(XTT测定,Cayman Chemical)来确定细胞生存力。为了生成剂量-反应曲线,数据被拟合到一个四参数希尔函数,并且IC₅₀在Y=0.5生存力时确定。每种化合物的抗衰老指数(S.I.)通过用针对正常增殖细胞的IC₅₀除以针对衰老细胞的IC₅₀来确定。抗衰老指数数据在表1中示出,其中化合物具有S.I.<1(-)、S.I.>1(+)、S.I.>5(++)和S.I.>10(+++)。

	化合物	抗衰老指数(S.I.)
[0500]	(26)	++
	(35)	+

	(46)	-
	(47)	-
	(48)	+
	(49)	+
	(101)	+++
	(112)	+
	(113)	+++
	(114)	+
	(115)	+++
[0501]	(119)	+++
	(120)	+
	(121)	+++
	(122)	+
	(123)	+
	(124)	-
	(125)	++
	(126)	-
	(127)	+
	(128)	-

[0502] 示例24:5-氟尿苷-5'-0- β -D-吡喃半乳糖苷(FURGal) (101) 对小鼠胚胎成纤维细胞(MEF)的抗衰老作用

[0503] 将小鼠胚胎成纤维细胞与300nM阿霉素一起孵育24h以诱导衰老。洗涤细胞,并且在培养基中孵育7天后,通过SA- β -Gal染色(Itahana et al., Methods Mol. Biol. 371 (2007) 21-31)和缺乏5-乙炔基-2'-脱氧尿苷(EdU)的掺入(参见Yu et al., J. Immunol. Methods 350(2009)29-35)来证实衰老。

[0504] 增殖或衰老的MEF用浓度增加的FURGal (101) 或5-氟尿苷(FUR) (102) 处理4天。细胞用4',6-二脒基-2-苯基吡啶(DAPI)和碘化丙啶(PI)洗涤和染色,并且活细胞的比例由PI阳性细胞核与PI阴性细胞核的比率来评估。图1A中所示的结果表明,活性药物(102)显著地降低细胞生存力,而前药(101)在高达4mM的浓度下对增殖细胞完全无毒。相比之下,化合物(101)和(102)对衰老的MEF具有同等毒性,如图1B所示,这表明前药(101)被衰老细胞群体中的水解酶有效地转化为细胞毒性FUR(102)。

[0505] 示例25:5-氟尿苷-5'-0- β -D-吡喃半乳糖苷(FURGal) (101) 和5-氟尿苷(FUR) (102) 对C57BL/6小鼠的比较毒性

[0506] 将等摩尔剂量的(101) (160mg/kg)和(102) (100mg/kg)通过单剂量腹膜内注射施用给2组小鼠(每组N=3)。治疗六天后,通过标准方法确定血细胞计数(图2A),计数来自股

骨的骨髓细胞(图2B),并确定脾脏重量(图2C)以比较两种药物的毒性。前药(101)显示出对血小板、中性粒细胞、淋巴细胞和骨髓细胞可忽略的毒性,而FUR(102)诱导所有细胞群体的显著减少。与FUR(102)相比,前药(101)还显示出对脾脏重量的最小影响。

[0507] 示例26:体内施用后5-氟尿苷-5'-0- β -D-吡喃半乳糖苷(FURGal)(101)对衰老C57BL/6小鼠肝细胞的影响

[0508] 两组C57BL/6小鼠(N=5只/组)腹腔内注射阿霉素(25mg/kg)以诱导肝细胞衰老。4天和6天后,给各组注射PBS或FURGal(140mg/kg)(101)。第三组的5只动物用作对照。在另外4天后,在SA- β -Gal染色之前,取出肝脏并切片(30 μ m)(评估了6个视场/动物)(图3A和3B)。如图3C所示,定量揭示了FURGal处理后衰老肝细胞减少的数值趋势。分析当天小鼠的平均体重在图3D中示出。

[0509] 示例27:体内施用后(2R,3S,4S,5R,6S)-2-(乙酰氧基甲基)-6-(((E)-3-(4-(((2-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)甲基)苯基)丙烯酰氨基)氧基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(113)(又名RB0-013)对衰老C57BL/6小鼠肝细胞的影响

[0510] 两组C57BL/6小鼠(N=9只/组)腹腔内注射阿霉素(20mg/kg)以诱导肝细胞衰老。4天和6天后,各组分别腹腔内注射PBS或化合物(113)(又名RB0-013)(2x20 mg/kg)。第三组动物用作对照。在另外的2天后,如前所述,在SA- β -Gal染色之前,取出肝脏并切片(30 μ m)(图4A和4B)。如图4C所示,定量揭示了用(113)处理后衰老肝细胞的减少(如通过SA- β -Gal染色可视化的)。通过使用定量PCR检测Cdkn2a(p16^{INK4a})和IL-6(注意,Cdkn2a的表达仅在接受阿霉素的动物中检测到)的mRNA水平,也证实了这种抗衰老作用。报告了相对于作为参考基因的Actb的表达水平。图4D和4E分别示出了Cdkn2a和IL-6基因表达的显著降低。

[0511] 示例28:体内施用后(2S,3R,4R,5S,6S)-2-甲基-6-(((E)-3-(4-(((2-(2-甲基-1H-吡啶-3-基)乙基)氨基)甲基)苯基)丙烯酰氨基)氧基)四氢-2H-吡喃-3,4,5-三基三乙酸酯(119)(又名RB0-019)对C57BL/6小鼠的衰老肺细胞的抗衰老作用

[0512] 四组C57BL/6小鼠(N=9只/组)静脉内注射阿霉素(15mg/kg)以诱导肺组织的衰老。五天后,各组注射载体或化合物(119)(又名RB0-019)(10mg/kg、20mg/kg或40mg/kg静脉注射)。在另外的3天后,如前所述,在SA- β -Gal染色之前,取出肺并对左叶进行切片(图5A和5B)。如图5C所示,定量揭示了用(119)处理后SA- β -Gal染色的剂量依赖性降低。这种抗衰老作用也通过使用定量PCR检测Cdkn2a(p16^{INK4a})的mRNA水平得到证实。报告了相对于作为参考基因的Actb的表达水平。图5D示出了肺中Cdkn2a基因表达的剂量依赖性降低。

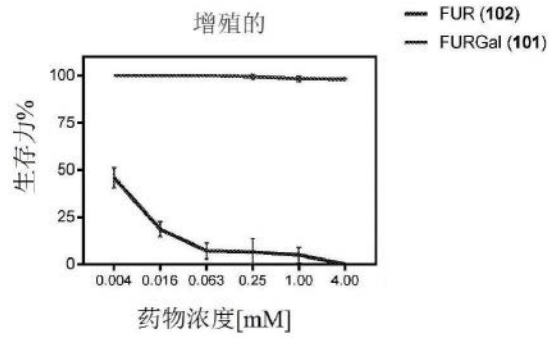


图1A

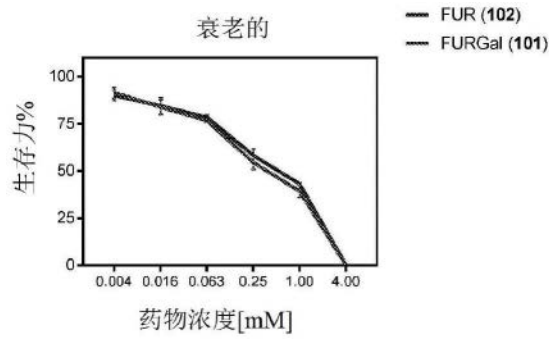


图1B

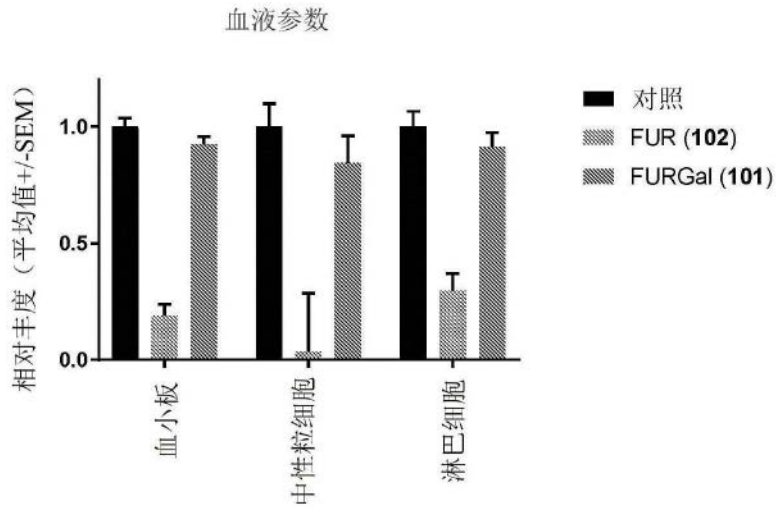


图2A

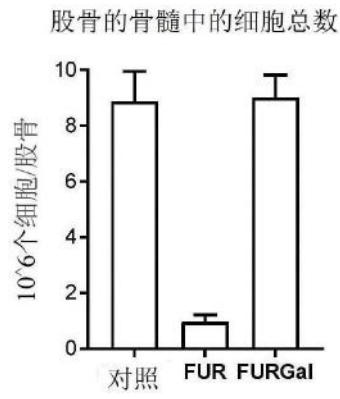


图2B

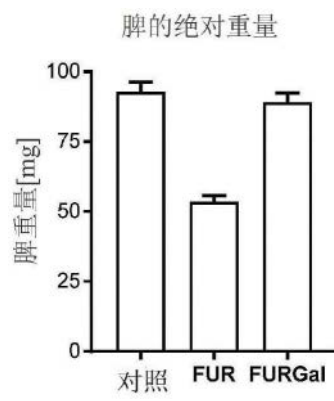


图2C

C57BL/16小鼠中肝脏切片（左侧叶）中的SA-β-Gal

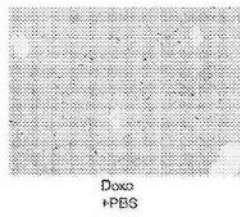


图3A

C57BL/16小鼠中肝脏切片（左侧叶）中的SA-β-Gal

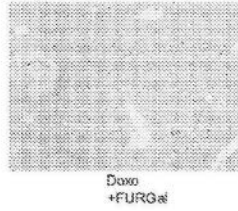


图3B

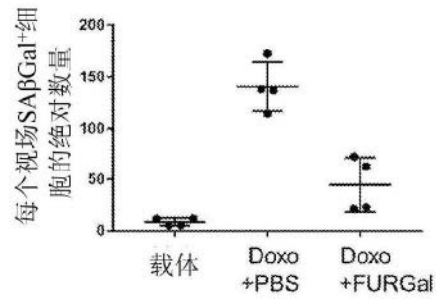


图3C

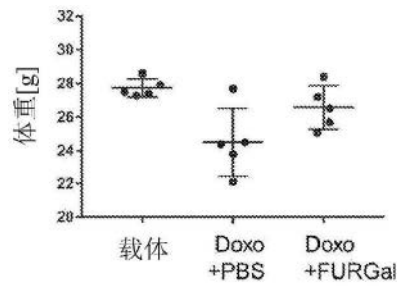


图3D

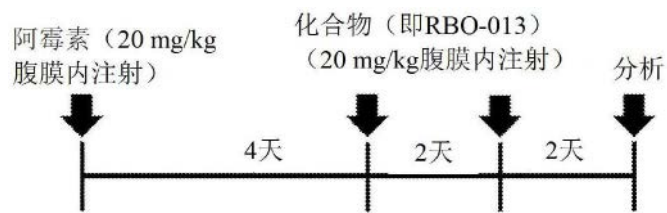


图4A

肝脏（左侧叶）中与衰老相关的β-半乳糖苷酶（SAβGal）活性

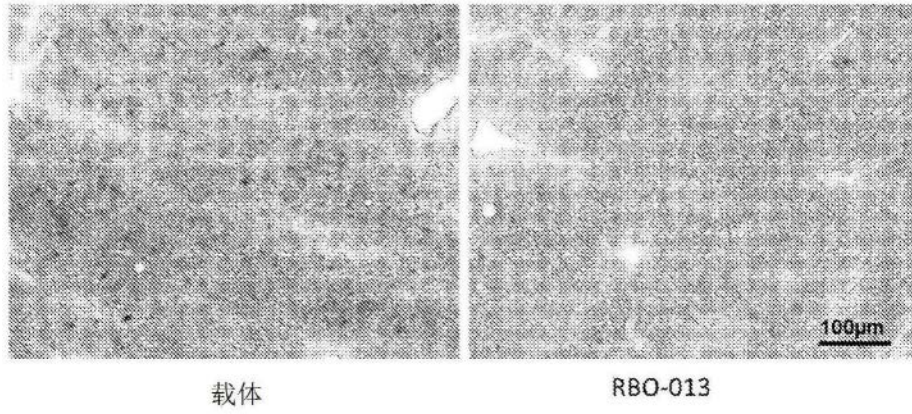


图4B

肝脏中的SAβGal活性

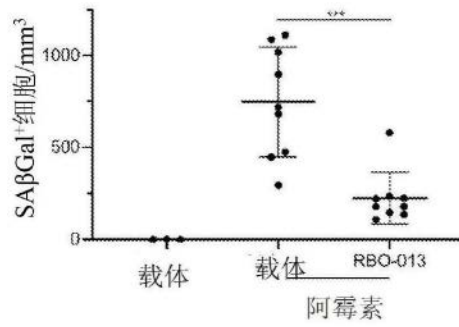


图4C

肝脏中的Cdkn2a (mRNA) 水平

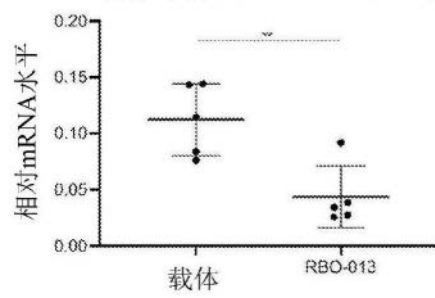


图4D

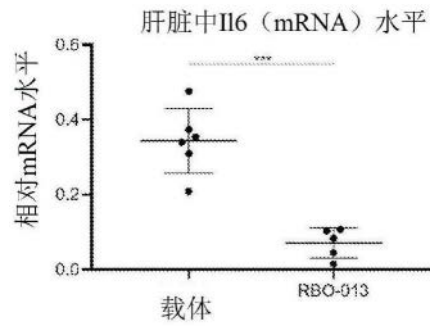


图4E

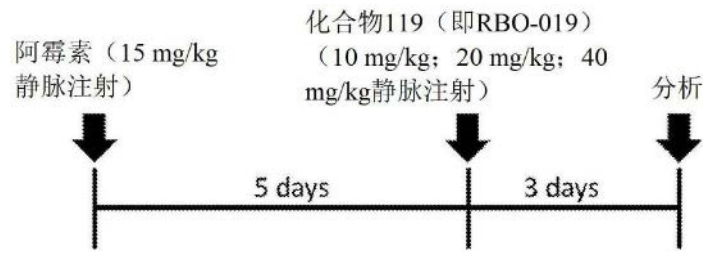


图5A

肺 (左叶) 中与衰老相关的 β -半乳糖苷酶活性

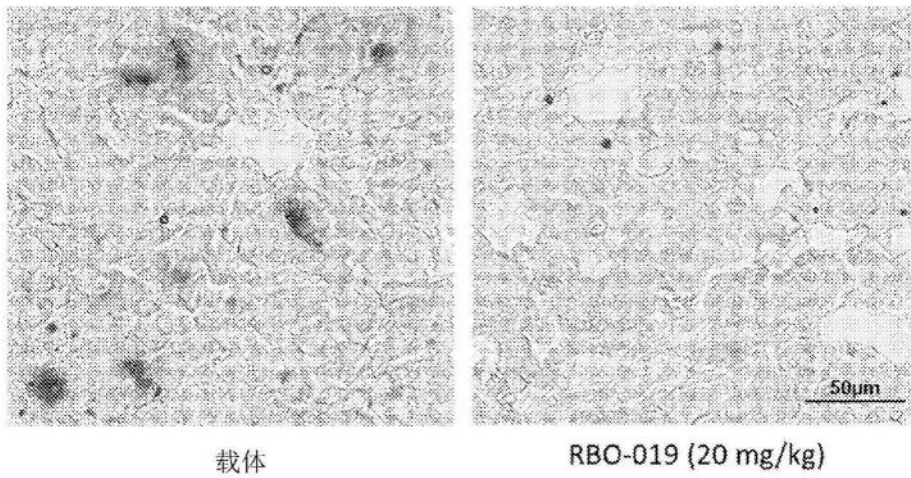


图5B

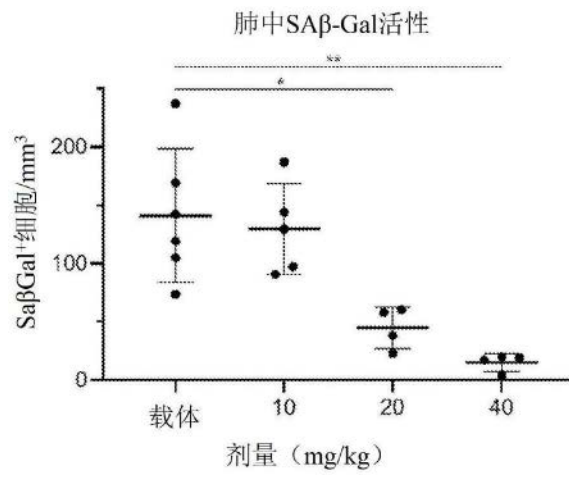


图5C

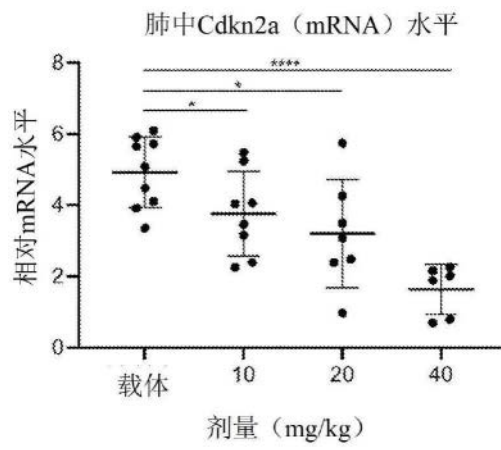


图5D