

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 201992065 (13) A2

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2020.01.09

(22) Дата подачи заявки
2014.04.09

(51) Int. Cl. C07D 407/08 (2006.01)
C08F 22/22 (2006.01)
C07K 2/00 (2006.01)

(54) ИНГИБИТОРЫ MetAP2 И СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ ОЖИРЕНИЯ

(31) 61/810,468; 61/925,918

(32) 2013.04.10; 2014.01.10

(33) US

(62) 201591943; 2014.04.09

(71) Заявитель:
СИНДЕВРКС, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
Петерсен Джон С., Шанахан Джеймс
(US)

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(57) Настоящее изобретение относится к модифицированным или конъюгированным с полимером ингибиторам MetAP2. Настоящее изобретение относится также к способам, которые предотвращают, индуцируют, вызывают или увеличивают потери массы тела, лечения ожирения и/или лечения метаболического синдрома с применением модифицированного или конъюгированного с полимером ингибиторов MetAP2. Настоящее изобретение относится также к способам улучшения чувствительности к инсулину и гликемической регуляции, снижения уровня инсулина и/или улучшения чувствительности к лептину с применением модифицированных или конъюгированных с полимером ингибиторов MetAP2.

A2

201992065

201992065

A2

ИНГИБИТОРЫ МЕТАР2 И СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ ОЖИРЕНИЯ

Перекрестная ссылка на родственные заявки

Настоящая заявка испрашивает преимущество предварительной заявки на патент США № 61/810468, поданной 10 апреля 2013 года, и предварительной заявки на патент США № 61/925918, поданной 10 января 2014 года. Содержание каждой из этих заявок включены в контекст в качестве ссылки во всей их полноте.

Уровень техники изобретения

Ожирение является хроническим заболеванием и имеет особую важность в области здоровья в современном обществе. По данным Центров по контролю и профилактике заболеваний (CDC), Соединенные Штаты Америки находятся в центре эпидемии ожирения. В США приблизительно 65% взрослых людей имеют избыточную массу тела, 30% взрослых людей страдают ожирением, более чем 5 миллионов взрослых людей классифицируют, как имеющих патологическое ожирение. Более десяти миллионов находятся близко к такому показателю и имеют риск иметь проблемы со здоровьем, связанными с ожирением.

Существующие методы лечения ожирения включают в себя стандартные диеты и физические упражнения, очень низкокалорийные диеты, поведенческую терапию, фармакотерапию, включающую в себя подавления аппетита, термогенные лекарственные средства, ингибиторы всасывания пищи, механические устройства, такие как фиксация челюсти с помощью проволоки, струны для талии и надувные баллоны, и хирургию. Однако эти существующие методы лечения являются не очень эффективными. Соблюдение диет, ограничивающих энергию, является проблематичным и обычно неудачным, и медицинские методы лечения имеют умеренную эффективность только для долгосрочного регулирования массы тела. В большинстве случаев токсичность и побочные действия препятствовали разработке потенциальных кандидатов в лекарственные средства для снижения массы тел пациентов. Метаболический синдром (Sutherland, et al., Metabolic Syndrome and Related Disorders 2:82-104 (2004); Esposito, et al., Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis. 14:228-232 (2004)) относится к ожирению

и характеризуется группой метаболических факторов риска, включающих в себя: 1) абдоминальное ожирение (избыточная жировая ткань в брюшной полости и вокруг нее); 2) атерогенную дислипидемию (высокий уровень триглицеридов, низкий уровень холестерина HDL (липопротеида высокой плотности) и высокий уровень холестерина LDL (липопротеида низкой плотности); 3) повышенное артериальное давление; 4) инсулинорезистентность или непереносимость глюкозы; 5) протромботическое состояние (например, высокий фибриноген или ингибитор-1 активатора плазминогена в крови) и 6) провоспалительное состояние (например, повышенный уровень CRP в крови). Метаболический синдром становится все более распространенным в развитых странах и тесно связан с риском развития ишемической болезни сердца (Malik, et al., *Circulation* 110:1245-1250 (2004); Irabarren, et al., *J. Am. Coll. Cardiol.* 48:1800-1807 (2006)). Кардиометаболический синдром включает в себя связанные с ожирением нарушения обмена веществ и атеросклероз. Кардиометаболические нарушения также способствуют артериальной и клапанной кальцификации, которая может привести к разрушительным клиническим осложнениям: острому инфаркту миокарда и аортальному стенозу. Кроме того, диабет вызывает хроническое заболевание почек, что также приводит к сердечно-сосудистой эктопической кальцификации и острому инфаркту миокарда. В совокупности несколько основных компонентов кардиометаболического синдрома, развитых посредством взаимосвязанных механизмов, усиливают друг друга посредством местного или системного воспаления. Кроме того, отсутствие у пациента приверженности к прописанному медикаментозному лечению создает огромную проблему для мирового сообщества здравоохранения. Только в США медицинские расходы, которые можно было избежать, оценивались в 300 млрд \$ в 2009 году. С истечением срока действия лекарственных препаратов, являющихся лидерами продаж (препаратов-лидеров), осушающих трубопроводов и увеличением сдерживания роста стоимости медицинского обслуживания плательщиков, преодоление этого дефицита является дефицитом является наилучшим для фармацевтических компаний. В соответствии с этим, новые

соединения и способы, которые вызывают индуцирование и/или увеличение потери массы тела и лечения ожирения и метаболического синдрома являются необходимыми. Настоящее изобретение направлено на разрешение этих потребностей.

Сущность изобретения

Настоящее изобретение относится к способам индуцирования или вызывания потери массы тела у субъекта, нуждающегося в этом, содержащий введение по меньшей мере одного соединения настоящего изобретения в терапевтически эффективном количестве субъекту для индуцирования или вызывания потери массы тела. В некоторых вариантах осуществления субъект имеет избыточную массу тела или страдает ожирением. В некоторых вариантах осуществления индуцированием или вызыванием потери массы тела является увеличение потери массы тела.

Настоящее изобретение относится также к способам лечения ожирения, метаболического синдрома и/или связанных с ними сопутствующих заболеваний у субъекта, нуждающегося в этом, включающим в себя введение по меньшей мере одного соединения настоящего изобретения или его фармацевтически приемлемой соли, пролекарства, метаболита, аналога или производного в терапевтически эффективном количестве по приемлемой схеме применения лекарственного средства субъекту для лечения или облегчения симптомов этих заболеваний и состояний.

Настоящее изобретение также относится к способам повышения чувствительности к инсулину и улучшения гликемической регуляции, снижения уровней инсулина и/или улучшений в лептиночувствительности у субъекта, нуждающегося в этом, содержащим введение по меньшей мере одного соединения настоящего изобретения или его фармацевтически приемлемой соли, пролекарства, метаболита, аналога или производного в терапевтически эффективном количестве по приемлемой схеме применения лекарственного средства субъекту для лечения или облегчения симптомов этих заболеваний и состояний.

Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в контексте, имеют такие же значения, какие обычно предполагает средний специалист в области, к которой относится

это изобретение. В описании изобретения формы единственного числа включают в себя также множественное число, если из контекста явно не следует иное. Хотя способы и вещества, подобные или эквивалентные способам и веществам, описанным в контексте, можно применять на практике или при тестировании настоящего изобретения, подходящие способы и вещества описаны ниже. Все публикации, заявки на патенты, патенты и другие ссылки, указанные в контексте, включены в качестве ссылки. Не допускается, что ссылки, цитированные в контексте, являются известным уровнем техники для заявленного изобретения. В случае конфликта, настоящую заявку, включая определения, можно регулировать. Кроме того, вещества, способы и примеры являются только иллюстративными и не предназначены для ограничения.

Краткое описание чертежей

Фигура 1 представляет собой график, показывающий изменение массы тела с течением времени после введения соединений настоящего изобретения.

Фигура 2 представляет собой график, показывающий среднее еженедельное потребление пищи после введения соединений настоящего изобретения.

Фигура 3 представляет собой график, показывающий отношение между общей массой жира и массой тела после введения соединений настоящего изобретения.

Фигура 4 представляет собой график, показывающий уровни глюкозы в крови после введения мышам сахарной нагрузки во время изучения периода лечения с применением соединений настоящего изобретения.

Фигура 5 представляет собой график, показывающий изменение массы тела с течением времени после введения различных доз соединения настоящего изобретения по схеме применения лекарственного средства q4d.

Фигура 6 представляет собой график, показывающий изменения общего холестерина, триглицеридов, HDL-холестерина и LDL-холестерина при завершении 32-дневного исследования как функцию уровня дозы применяемых соединений настоящего изобретения.

Фигура 7 представляет собой график, показывающий изменение

массы тела с течением времени после введения различных доз соединения настоящего изобретения крысам по схеме применения лекарственного средства q7d.

Фигура 8 представляет собой график, показывающий изменение массы тела крыс, обработанных одной дозой различных испытуемых агентов.

Фигура 9 представляет собой график, показывающий концентрацию в плазме соединения настоящего изобретения с течением времени на основе введения двух различных соединений.

Фигура 10 представляет собой график, показывающий изменение массы тела с течением времени после введения различных соединений настоящего изобретения.

Фигура 11 представляет собой график, показывающий изменения массы тела у самцов крыс Levin при приеме корма с высоким содержанием жиров после введения различных соединений настоящего изобретения.

Фигура 12 представляет собой график, показывающий влияние фумагиллола как функцию потери массы тела у крыс DIO после введения различных соединений настоящего изобретения.

Фигура 13 представляет собой график, показывающий изменения уровней инсулина у самцов крыс Levin DIO при приеме корма с высоким содержанием жиров после введения различных соединений настоящего изобретения.

Фигура 14 представляет собой график, показывающий уровни инсулина во время перорального введения сахарной нагрузки (OGTT) после введения различных соединений настоящего изобретения.

Фигура 15 представляет собой график, показывающий снижение уровня глюкозы в крови у крыс DIO во время перорального введения сахарной нагрузки (OGTT) после введения различных соединений настоящего изобретения.

Фигура 16 представляет собой график, показывающий продукт НОМА-ir во время OGTT у крыс DIO после введения различных соединений настоящего изобретения.

Фигура 17 представляет собой график, показывающий еженедельное потребление корма после введения различных соединений настоящего изобретения.

Фигура 18 представляет собой график, показывающий изменения уровней лептина от базовой линии после введения различных соединений настоящего изобретения.

Фигура 19 представляет собой график, показывающий изменения массы тела у мышей DIO после введения различных соединений настоящему изобретению по схеме применения лекарственного средства Q4D и Q8D.

Фигура 20 представляет собой график, показывающий потерю массы тела после введения CKD-732 по схеме применения лекарственного средства Q2D и Q4D.

Фигура 21 представляет собой график, показывающий снижения в потреблении корма после введения различных соединений настоящего изобретения.

Фигура 22 представляет собой график, показывающий значительно пониженные уровни инсулина во время ipGTT у самцов мышей C57B16, которым давали корм с высоким содержанием жиров в течение 25 недель, после введения различных соединений настоящего изобретения.

Фигура 23 представляет собой график, показывающий AUC (площадь под кривой) инсулина во время введения сахарной нагрузки самцам мышей DIO после введения различных соединений настоящего изобретения.

Фигура 24 представляет собой график, показывающий уровни глюкозы в крови у самцов мышей C57B16, которым давали корм с высоким содержанием жиров, после введения различных соединений настоящего изобретения.

Фигура 25 представляет собой график, показывающий продукт НОМА во время ipGTT у мышей C57B16, которым давали корм с высоким содержанием жиров, после введения различных соединений настоящего изобретения.

Подробное описание изобретения

Соединения настоящего изобретения

Настоящее изобретение относится к композициям конъюгатов лекарственных средств, включающим в себя модифицированный активный остаток, конъюгатный остаток и расщепляемую связь, у которых расщепление связи происходит по существу в ткани-мишени

с образованием модифицированного активного остатка, имеющего пониженный отток из ткани-мишени по сравнению с немодифицированным активным остатком. Настоящее изобретение также относится к композициям, включающим в себя модифицированный активный остаток.

Применение конъюгатного остатка зависит от физико-химических свойств как конъюгатного остатка, так и активного остатка, помимо биологических требований, например, фармакокинетических и фармакодинамических свойств активного остатка и знания патологического состояния. Специалист в данной области способен выбрать подходящий конъюгатный остаток на основе вышеизложенных соображений. Конъюгатный остаток можно применять для доставки активных частей малых молекул или активных частей более крупных молекул, таких как белки, пептиды или олигонуклеотиды.

Конъюгатный остаток улучшает доставку активного остатка к мишени. Конъюгатный остаток выбирают с целью максимизации биологической доступности активного остатка, оптимизации начала, продолжительности и скорости доставки активного остатка и поддержания концентрации активного остатка в ткани-мишени в терапевтическом диапазоне так долго, как требуется для эффективного лечения. Конъюгатный остаток может также помочь в минимизации отрицательного побочного действия активного остатка. Таким образом, конъюгатный остаток пролонгирует фармакологическую активность активного остатка, стабилизирует лабильные активные остатки от химического и протеолитического разрушения, минимизирует побочные действия, повышает растворимость и целенаправленно доставляет активный остаток к определенным клеткам или тканям.

Другими свойствами конъюгатного остатка, которые рассматриваются, являются такие свойства, благодаря которым конъюгатный остаток является минимально иммуногенным или токсичным или неиммуногенным и нетоксичным. Молекулярная масса конъюгатного остатка должна быть достаточно большой, чтобы избежать быстрого устранения его посредством почечного ультрафильтрации, и достаточно малой, чтобы предотвратить

нежелательное накопление его в организме. В некоторых вариантах осуществления конъюгатный остаток является гидрофильным и биоразлагаемым. Конъюгатные остатки, которые являются небiorазлагаемыми, являются также подходящими для применения в композициях и способах настоящего изобретения. Конъюгатный остаток должен быть способен нести требуемое количество активных остатков и защищать активный остаток от преждевременного метаболизма при доставке к ткани-мишени.

Примеры конъюгатов включают в себя все формы полимеров, синтетических полимеров, а также полимеров, относящихся к натуральным продуктам, включая пептиды, полисахариды, полинуклеиновые кислоты, антитела и аптамеры. В предпочтительных вариантах осуществления конъюгат представляет собой синтетический полимер. Репрезентативные полимеры изобретения были описаны в патентах США № 4997878 на имя Bock et al., 5037883 на имя Kopesek et al., 5258453 на имя Kopesek et al., 6464850 на имя Zhang et al., 6803438 на имя Brocchini et al., каждый из которых включен в качестве ссылки во всей своей полноте. Дополнительные репрезентативные полимеры описаны в публикации Subr et al., J. Controlled Release, 18, 123-132 (1992). В некоторых вариантах осуществления способ синтеза полимера может привести к связыванию двух или более полимерных цепей и может увеличить среднюю молекулярную массу полимерного конъюгата. Далее известно, что если имеет место такое связывание, то связи могут быть биоразлагаемыми.

Активным остатком может быть любое соединение или молекула, которая вызывает терапевтическое действие у субъекта. В некоторых вариантах осуществления соединение или молекула имеет молекулярную массу 2000 дальтонов или меньше, 1500 дальтонов или меньше, 1000 дальтонов или меньше, 500 дальтонов или меньше, или 250 дальтонов или меньше. В некоторых вариантах осуществления соединение или молекула представляет собой ингибитор MetAP2. В некоторых вариантах осуществления соединение или молекула является фумагиллином, фумагиллолом или его аналогом, производным, солью или сложным эфиром. Выбор соединения или молекулы будет зависеть от состояния или заболевания, которое

лечат. В некоторых вариантах осуществления можно использовать два или более активных остатка. В некоторых вариантах осуществления можно применять активный остаток и неактивный "шапочный" остаток. В некоторых вариантах осуществления подвергаемым лечению состоянием является ожирение. В композициях настоящего изобретения конъюгатный остаток соединен с активным остатком посредством связи (линкера). Можно применять любую связывающую структуру, известную в данной области, для связывания модифицированного активного остатка с конъюгатным остатком. Применяемая связь будет зависеть от физиологических условий ткани-мишени, свойств активной части, которые являются оптимизированными, и механизма расщепления. D'Souza et al. приводят обзор различных типов связей, включающие в себя связи, которые действуют посредством протеолитического расщепления "Release from Polymeric Prodrugs: Linkages and Their Degradation" *J. Pharm. Sci.*, 93, 1962-1979 (2004). Blencoe et al. описали различные "саможертвующиеся" связи, "Self-immolative linkers in polymeric delivery systems" *Polym. Chem.* 2, 773-790 (2011). Ducry et al. приводят обзор связей в *Bioconj. Chem.* 21, 5-13 (2010) "Antibody-Drug Conjugates: Linking Cytotoxic Payloads to Monoclonal Antibodies". Пептидные связи, подходящие для расщепления матричными металлопротеинами (MMPs), описываются в публикации Chau et al. "Antitumor efficacy of a novel polymer-peptide-drug conjugate in human tumor xenograft models" *Int. J. Cancer* 118, 1519-1526 (2006) и Chau et al. в публикации патента США номер 2004/0116348. Другие химические связи, пригодные для композиций изобретения, показаны в публикациях Shiose et al. *Biol. Pharm. Bull.* 30(12) 2365-2370 (2007); Shiose et al. *Bioconjugate Chem.* 20(1) 60-70 (2009); Senter, патент США номер 7553816; De Groot, патент США номер 7223837; King, патент США номер 6759509; Susaki, патент США номер 6835807; Susaki, патент США номер 6436912 и Gemeinhart, патент США номер 7943569.

В некоторых вариантах осуществления связь является пептидной связью. Репрезентативные пептидные связи описываются в патентах США № 6835807 на имя Susaki et al., № 6291671 на имя Inoue et al., № 6811996 на имя Inoue et al., № 7041818 на имя

Susaki et al., № 7091186 на имя Senter et al., № 7553816 на имя Senter et al., каждый из которых включен в качестве ссылки во всей своей полноте. Дополнительные репрезентативные пептиды и их расщепление были описаны в публикациях Shiose et al., *Biol. Pharm. Bull.* 30(12) 2365-2370 (2007) и Shiose et al., *Bioconjugate Chem.* 20(1) 60-70 (2009). Пептидные связи, подходящие для расщепления матричными металлопротеинами (MMPs), описываются в публикациях Chau et al., "Antitumor efficacy of a novel polymer-peptide-drug conjugate in human tumor xenograft models" *Int. J. Cancer* 118, 1519-1526 (2006) и Chau et al., публикация патент США номер 204/0116348.

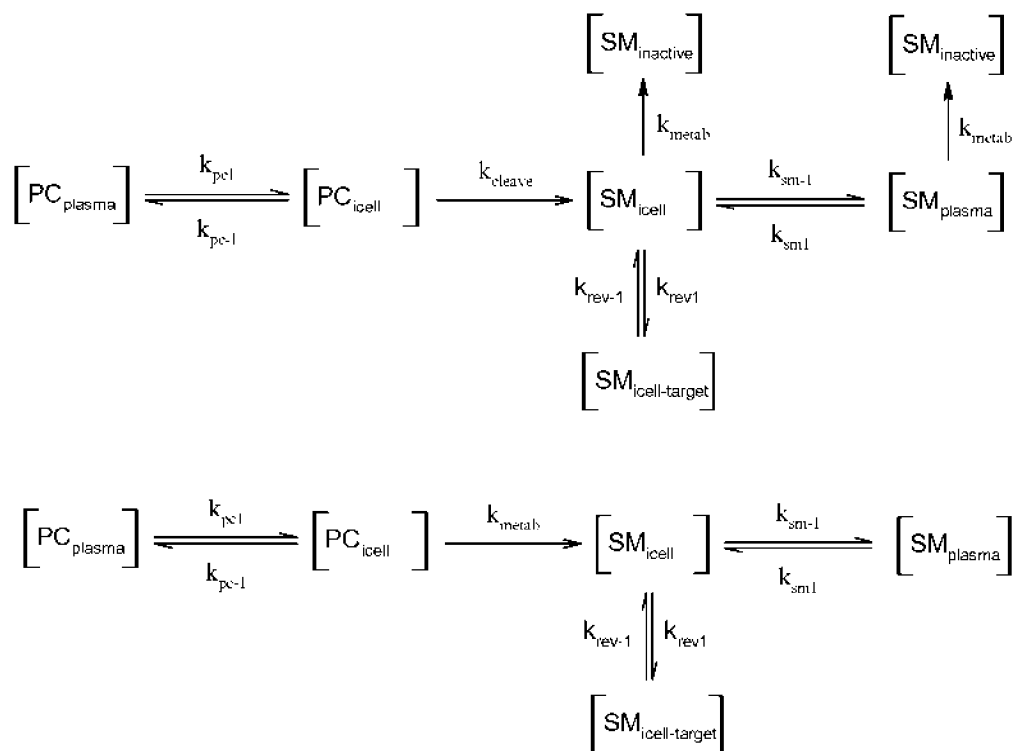
Связь можно расщепить любым механизмом, известным в данной области. Например, связи могут быть предназначены для протеолитического расщепления или внутриклеточного протеолитического расщепления. В некоторых вариантах осуществления связь сконструирована таким образом, чтобы не было расщепления связи в плазме или имела очень низкая скорость расщепления в плазме. Репрезентативные структуры связей описываются более подробно ниже.

В некоторых вариантах осуществления связь имеет такую структуру, что она должна преимущественно расщепляться в пораженной ткани. Поскольку большинство гидролаз существует как в нормальной, так и пораженной ткани, связь должна расщепляться гидролазой, которая более активна в пораженной ткани и/или присутствует в более преобладающем количестве в пораженной ткани. Например, опухоли обычно повышали уровни регуляции скорости метаболизма и, в частности сверхэкспрессировали протеазы, включая катепсины. Повышение уровня регуляции и роль протеаз при раке описываются Mason et al., *Trends in Cell Biology* 21, 228-237 (2011).

В некоторых вариантах осуществления, класс активных остатков, которые модифицируются, являются остатками, которые необратимо связываются со своими мишенями, т.е. после высвобождения из конъюгата активный остаток ковалентно связывается с биохимической мишенью. После связывания активный остаток не может диффундировать или транспортироваться из

клетки. Для адресной доставки, которая имеет место в случае необратимого связывания, скорость связывания малой молекулы с мишенью, k_{rev1} , должна быть значительной относительно скорости оттока малой молекулы, K_{sm-1} . Если скорость оттока является высокой относительно связывания малой молекулы, будет установлено равновесие содержания малой молекулы между плазмой и внутриклеточным компартментом и не будет никакого преимущества для внутриклеточной доставки относительно внеклеточной доставки.

В других вариантах осуществления класс активных остатков, которые модифицируются, являются остатками, которые обратимо связываются со своими мишенями. Для адресной доставки, которая имеет место в случае обратимого связывания, константа равновесия для связывания малой молекулы с мишенью $K=k_{rev1}/k_{rev-1}$ должна быть большой и "при скорости", k_{rev1} должна быть больше скорости оттока малой молекулы, k_{sm-1} . Если скорость оттока является высокой относительно связывания малой молекулы, будет установлено равновесие содержания малой молекулы между плазмой и внутриклеточным компартментом и не будет никакого преимущества для внутриклеточной доставки относительно внеклеточной доставки. Такая зависимость описана схематично ниже, где $[PC]$ = концентрация полимерного конъюгата; $[SM]$ = концентрация высвобожденной малой молекулы; плазма = концентрация в плазме; i_{cell} = внутриклеточная концентрация; i_{cell} -мишень = малая молекула, обратимо связанная с внутриклеточной мишенью; и неактивный = неактивный метаболит малой молекулы. В некоторых вариантах осуществления, когда k_{rev-1} = нулю, остаток необратимо связывается со своей мишенью.

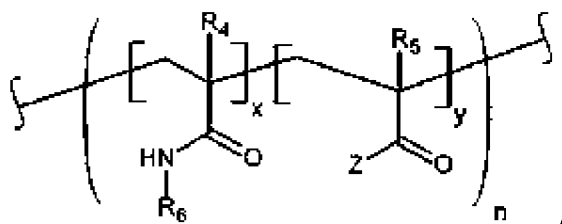


В других вариантах осуществления класс активных остатков, которые модифицируются, представляет собой остатки, которые имеют очень высокие константы равновесия и высокие "скорости связывания" относительно оттока. В других вариантах осуществления, класс активных фрагментов, которые модифицируются, представляет собой остатки, которые подвергаются внутриклеточному метаболизму при высокой скорости относительно оттока.

В некоторых вариантах осуществления, модификации активного остатка выполняют с использованием связи, имеющей такую структуру, что при расщеплении фрагмент связи остается прикрепленным к активному остатку. Этот фрагмент может изменить любую величину из молекулярной массы, гидрофобности, площади полярной поверхности или заряда активного остатка, тем самым образуя модифицированный активный остаток, имеющий уменьшенный отток из клетки-мишени по сравнению с немодифицированным активным остатком. Например, связывание ингибиторных активных остатков MetAP2 посредством связей, описанных в контексте, дает конъюгаты, в которых при расщеплении связи образуется активный остаток, содержащий фрагмент связи прикрепленный к нему (модифицированный активный остаток). Модифицированные активные остатки, описанные в контексте, могут иметь уменьшенный отток из

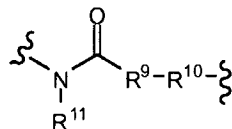
клетки по сравнению с немодифицированными активными остатками, в результате чего модифицированные активные остатки обладают превосходной эффективностью по сравнению с родительскими малыми молекулами и превосходной эффективностью по сравнению с родительскими малыми молекулами и улучшенными фармакокинетическими профилями.

Настоящее изобретение относится к конъюгатам со связями, имеющими структуру:



в которой независимо для каждого случая R_4 представляет собой H или C_1 - C_6 алкил; R_5 представляет собой H или C_1 - C_6 алкил; R_6 представляет собой C_2 - C_6 гидроксиалкил; Z представляет собой $-NH-AA_1-AA_2-AA_3-AA_4-AA_5-AA_6-C(O)-L$ или $-NH-AA_1-AA_2-AA_3-AA_4-AA_5-AA_6-C(O)-Q-X-Y-C(O)-W$; AA_1 представляет собой глицин, аланин или $H_2N(CH_2)_mCO_2H$, где m равно 2, 3, 4 или 5; AA_2 представляет собой связь или аланин, цистеин, аспарагиновую кислоту, глутаминовую кислоту, фенилаланин, глицин, гистидин, изолейцин, лизин, лейцин, метионин, аспарагин, пролин, глутамин, аргинин, серин, треонин, валин, триптофан или тирозин; AA_3 представляет собой связь или аланин, цистеин, аспарагиновую кислоту, глутаминовую кислоту, фенилаланин, глицин, гистидин, изолейцин, лизин, лейцин, метионин, аспарагин, пролин, глутамин, аргинин, серин, треонин, валин, триптофан или тирозин; AA_4 представляет собой связь или аланин, цистеин, аспарагиновую кислоту, глутаминовую кислоту, фенилаланин, глицин, гистидин, изолейцин, лизин, лейцин, метионин, аспарагин, пролин, глутамин, аргинин, серин, треонин, валин, триптофан или тирозин; AA_5 представляет собой связь или глицин, валин, тирозин, триптофан, фенилаланин, метионин, лейцин, изолейцин или аспарагин; AA_6 представляет собой связь или аланин, аспарагин, цитруллин, глутамин, глицин, лейцин, метионин, фенилаланин, серин, треонин, триптофан, тирозин, валин или $H_2N(CH_2)_mCO_2H$, где m равно 2, 3, 4 или 5; L

представляет собой $-\text{OH}$, $-\text{O}$ -сукцинимид, $-\text{O}$ -сульфосукцинимид, алкокси, арилокси, ацилокси, ароилокси, алкоксикарбонилокси, арилоксикарбонилокси, $-\text{NH}_2$, $-\text{NH}(\text{C}_2\text{--C}_6\text{гидроксиалкил})$, галогенид или перфторалкилокси; Q представляет собой NR, O или S; X представляет собой $\text{M}-(\text{C}(\text{R})_2)_p\text{--M--J--M}-(\text{C}(\text{R})_2)_p\text{--M--V}$; M представляет собой связь или $\text{C}(\text{O})$; J представляет собой связь или $((\text{CH}_2)_q\text{Q})_r$, $\text{C}_5\text{--C}_8$ циклоалкил, арил, гетероарил, NR, O или S; Y представляет собой NR, O или S; R представляет собой H или алкил; V



представляет собой связь или R^{11} ; R^9 представляет собой алкил, арил, аралкил или связь или R^9 , взятый вместе с Y, образует гетероциклическое кольцо; R^{10} представляет собой амидо или связь; R^{11} представляет собой H или алкил; W представляет собой ингибиторный остаток MetAP2 или алкил; x равно числу в диапазоне от 1 до приблизительно 450; y равно числу в диапазоне от 1 до приблизительно 30; n равно числу в диапазоне от 1 до приблизительно 50; p равно числу от 0 до 20; q равно 2 или 3 и r равно 1, 2, 3, 4, 5 или 6.

В некоторых вариантах осуществления R_4 представляет собой $\text{C}_1\text{--C}_6$ алкил. В некоторых вариантах осуществления R_4 представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления R_5 представляет собой $\text{C}_1\text{--C}_6$ -алкил. В некоторых вариантах осуществления R_5 представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления R_6 представляет собой 2-гидроксиэтил, 2-гидроксипропил или 3-гидроксипропил. В некоторых вариантах осуществления R_6 представляет собой 2-гидроксипропил.

В некоторых вариантах осуществления соединение имеет молекулярную массу меньше приблизительно 60 кДа. В других вариантах осуществления молекулярная масса составляет меньше приблизительно 45 кДа. В других вариантах осуществления молекулярная масса составляет меньше приблизительно 35 кДа.

В некоторых вариантах осуществления отношение x к y находится в диапазоне от приблизительно 30:1 до приблизительно 3:1. В других вариантах осуществления отношение x к y находится в диапазоне от приблизительно 19:2 до приблизительно 7:2. В

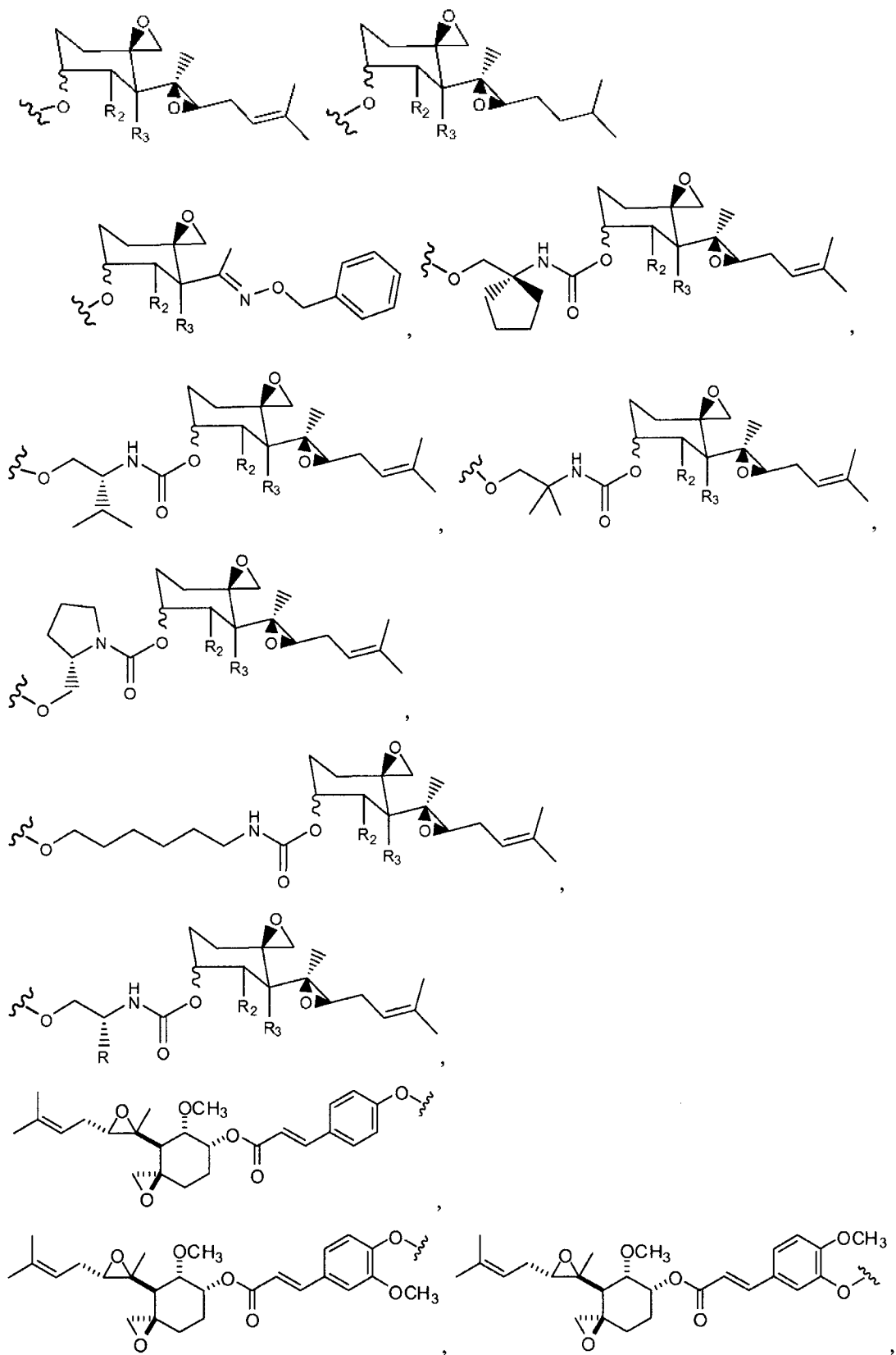
некоторых вариантах осуществления отношение x к y находится в диапазоне от приблизительно 9:1 до приблизительно 4:1. В некоторых вариантах осуществления отношение x к y равно приблизительно 11:1. В некоторых вариантах осуществления отношение x к y равно приблизительно 9:1. В некоторых вариантах осуществления отношение x к y равно приблизительно 4:1.

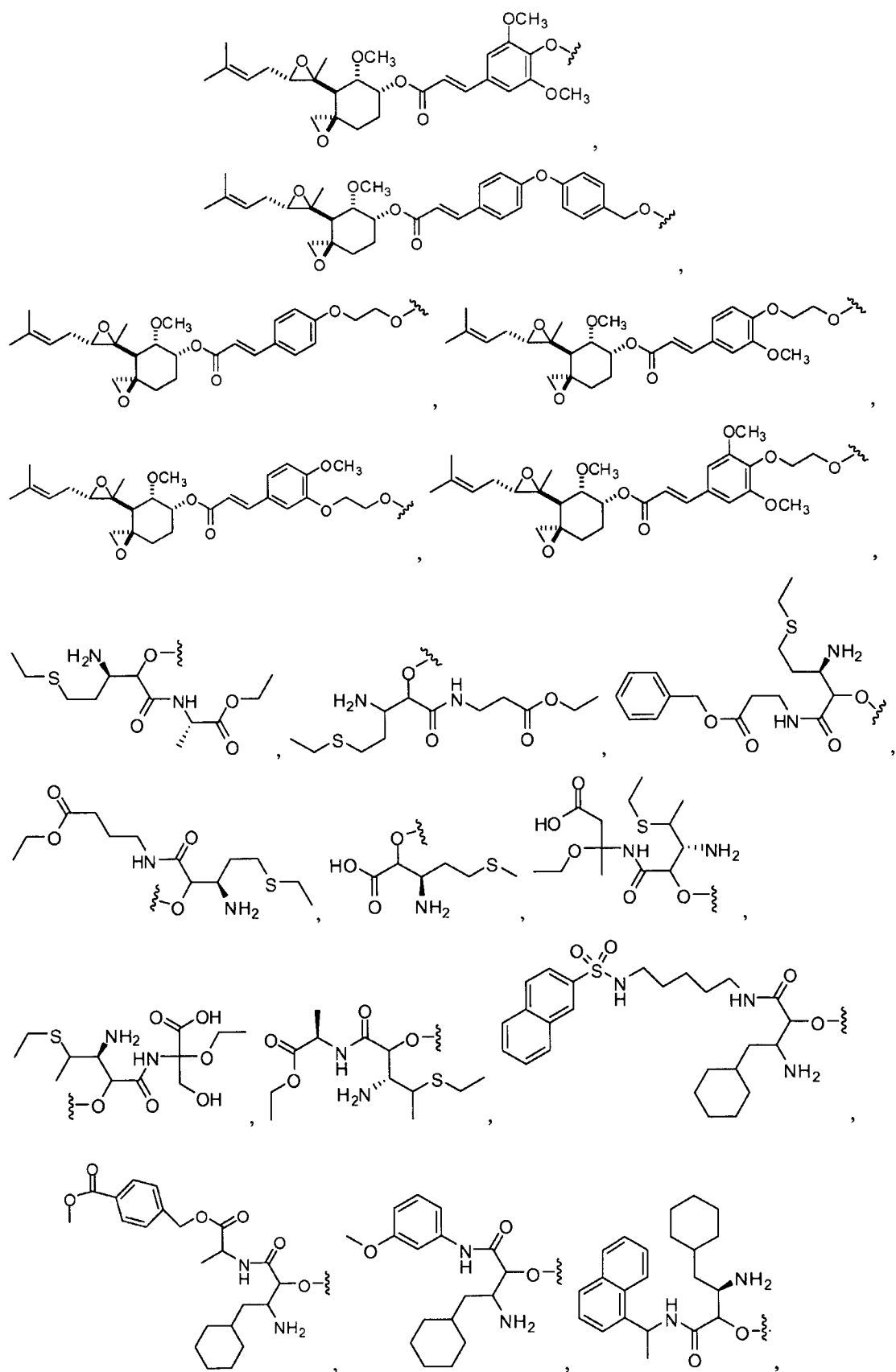
В некоторых вариантах осуществления Z представляет собой $\text{NH-AA}_1\text{-AA}_2\text{-AA}_3\text{-AA}_4\text{-AA}_5\text{-AA}_6\text{-C(O)-L}$. В некоторых вариантах осуществления L представляет собой метокси, этокси, пентафторфенилокси, фенилокси, ацетокси, фторид, хлорид, метоксикарбониллокси; этоксикарбониллокси, фенилоксикарбониллокси, 4-нитрофенилокси, трифторметокси, пентафторэтокси или трифторэтокси. В некоторых вариантах осуществления L представляет собой 4-нитрофенилокси.

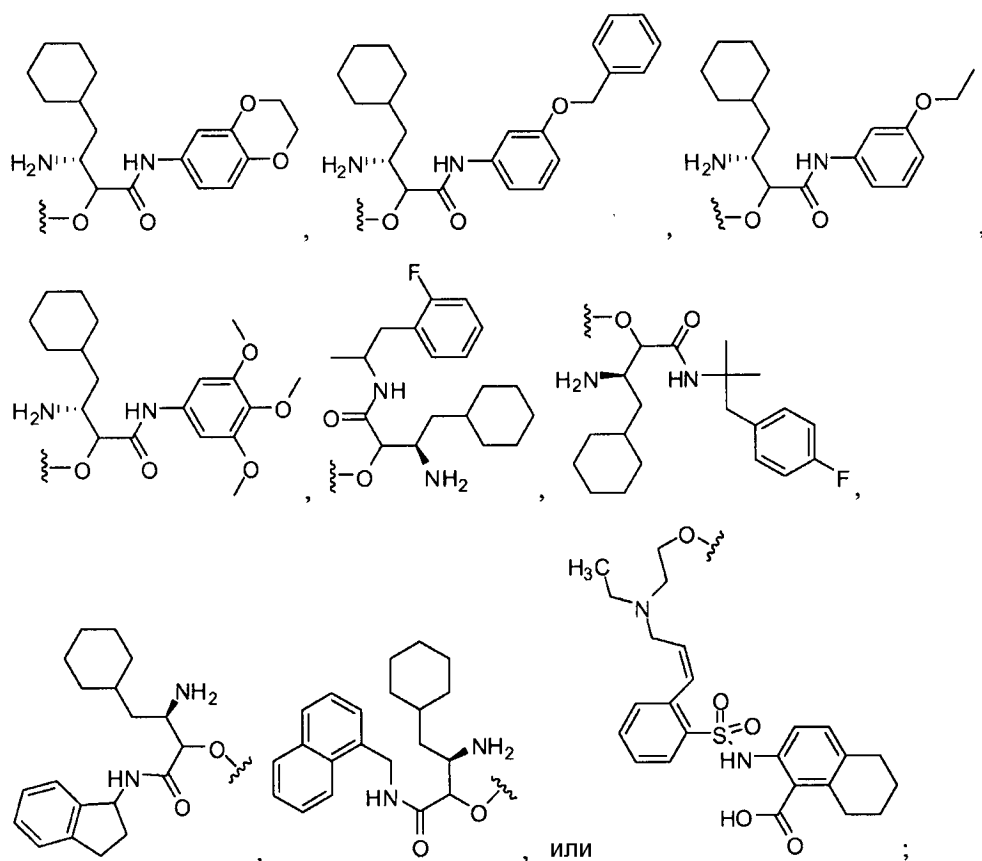
В некоторых вариантах осуществления Z представляет собой $\text{NH-AA}_1\text{-AA}_2\text{-AA}_3\text{-AA}_4\text{-AA}_5\text{-AA}_6\text{-C(O)-Q-X-Y-C(O)-W}$. В некоторых вариантах осуществления AA_1 представляет собой глицин. В некоторых вариантах осуществления AA_2 представляет собой глицин. В некоторых вариантах осуществления AA_3 представляет собой глицин. В некоторых вариантах осуществления AA_4 представляет собой глицин или фенилаланин. В некоторых вариантах осуществления AA_5 представляет собой лейцин, фенилаланин, валин или тирозин. В некоторых вариантах осуществления AA_6 представляет собой аспарагин, цитруллин, глутамин, глицин, лейцин, метионин, треонин или тирозин. В некоторых вариантах осуществления $\text{AA}_5\text{-AA}_6$ представляет собой Leu-Cit, Leu-Gln, Leu-Gly, Leu-Leu, Leu-Met, Leu-Thr, Phe-Cit, Phe-Gln, Phe-Leu, Phe-Met, Phe-Thr, Val-Asn, Val-Cit, Val-Gln, Val-Leu, Val-Met, Val-Thr, Tyr-Cit, Tyr-Leu или Tyr-Met. В некоторых вариантах осуществления, AA_1 , AA_3 и AA_5 представляют собой глицин, валин, тирозин, триптофан, фенилаланин, метионин, лейцин, изолейцин или аспарагин. В некоторых вариантах осуществления AA_2 , AA_4 и AA_6 представляют собой глицин, аспарагин, цитруллин, глутамин, глицин, лейцин, метионин, фенилаланин, треонин или тирозин. В некоторых вариантах осуществления AA_2 представляет собой связь и AA_3 представляет собой связь. В некоторых вариантах осуществления AA_1

представляет собой глицин; AA₄ представляет собой фенилаланин; AA₅ представляет собой лейцин и AA₆ представляет собой глицин.

В некоторых вариантах осуществления W представляет собой

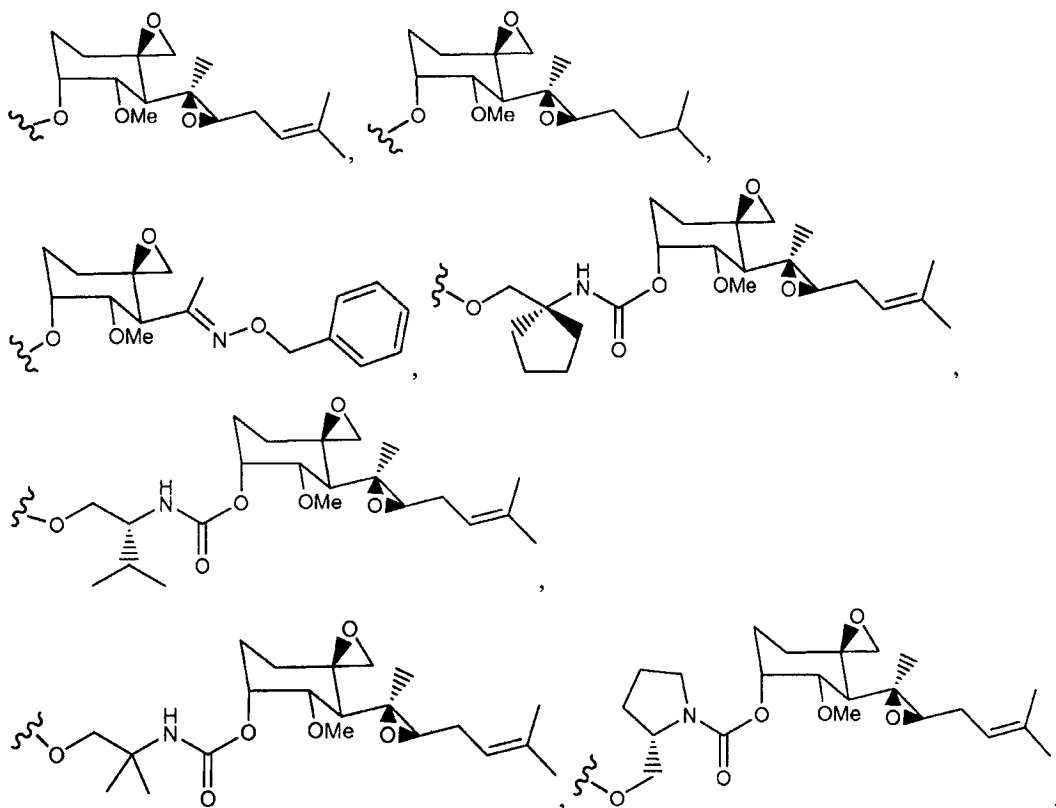


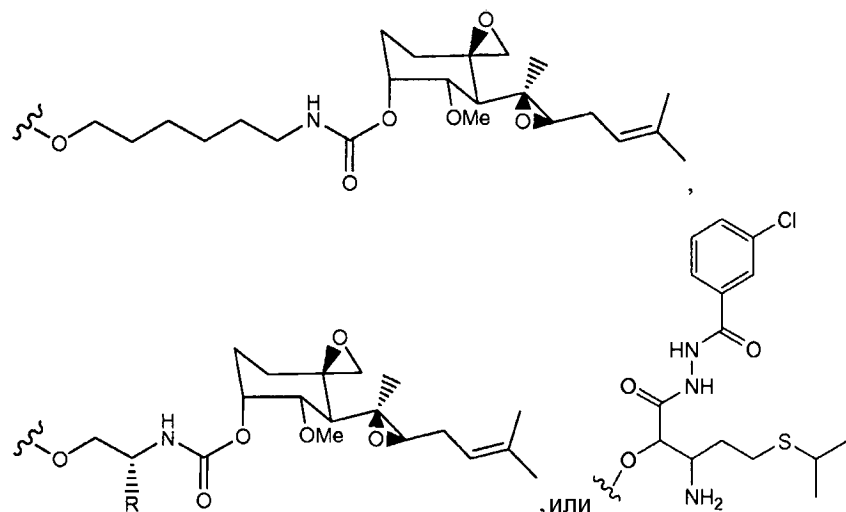




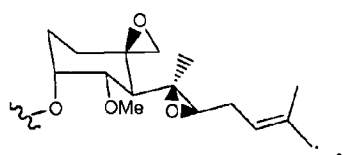
где R_2 представляет собой $-\text{OH}$ или метокси и R_3 представляет собой H , $-\text{OH}$ или метокси.

В некоторых вариантах осуществления W представляет собой





В некоторых вариантах осуществления W представляет собой

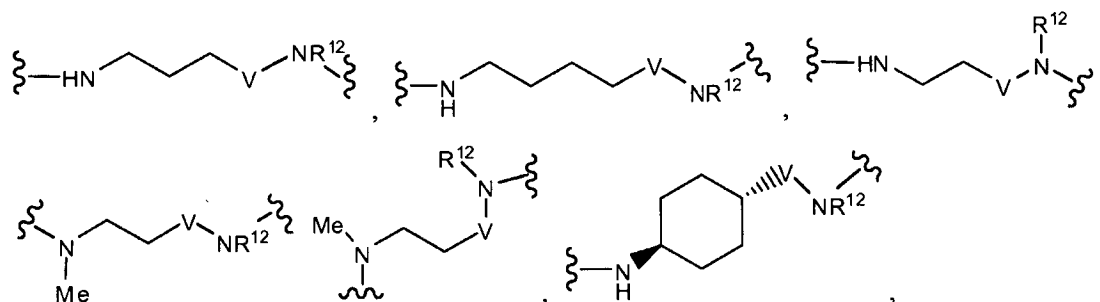
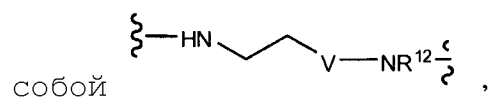


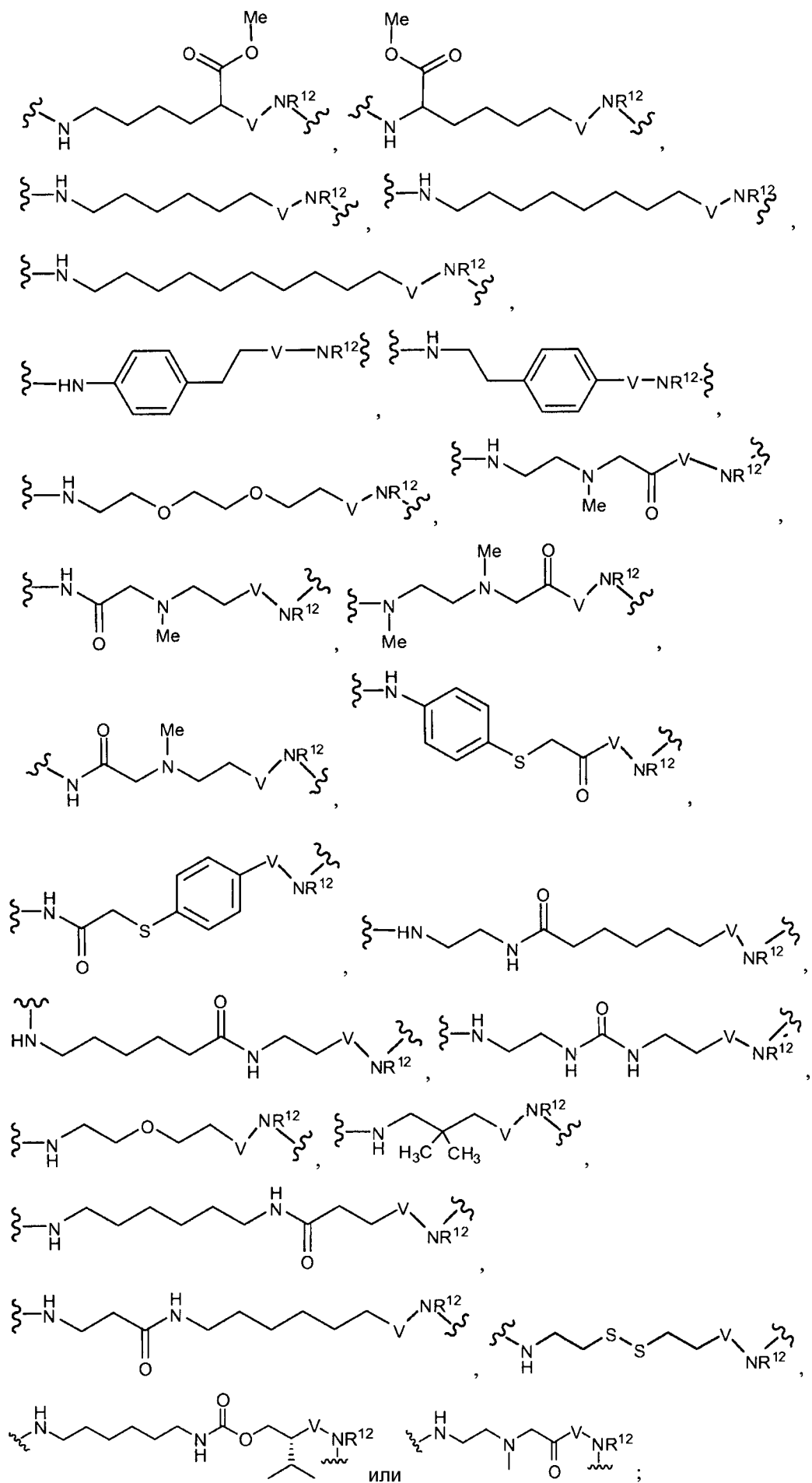
В некоторых вариантах осуществления Q представляет собой NR. В других вариантах осуществления Q представляет собой S.

В некоторых вариантах осуществления J представляет собой NR. В других вариантах осуществления J представляет собой $((CH_2)_qQ)_r$. В других вариантах осуществления J представляет собой C_5 - C_8 циклоалкил. В некоторых вариантах осуществления J представляет собой арил.

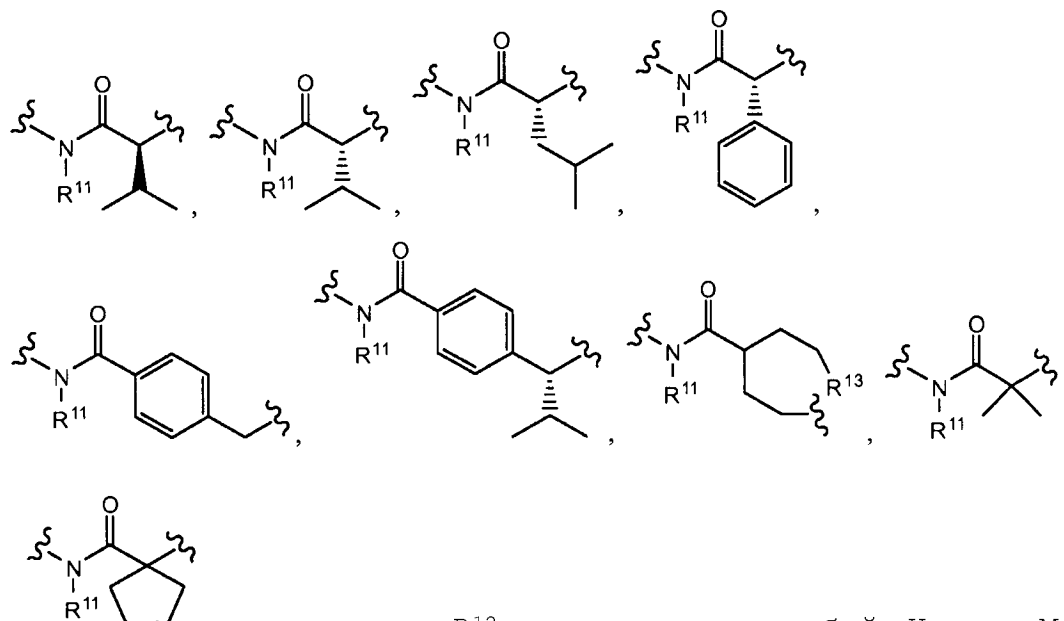
В некоторых вариантах осуществления Y представляет собой NR. В других вариантах осуществления Y представляет собой S.

В некоторых вариантах осуществления, -Q-X-Y- представляет



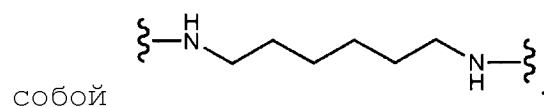


V представляет собой:



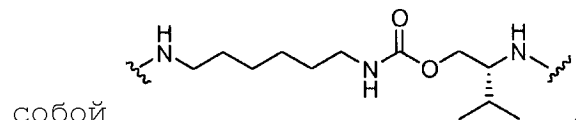
или связь; R^{12} представляет собой H или Me или R^{12} , взятый вместе с R^{14} , образует пиперидиновое кольцо; R^{11} представляет собой H или Me и R^{13} , взятый вместе с R^{12} , образует пиперидиновое кольцо.

В некоторых вариантах осуществления $-Q-X-Y-$ представляет



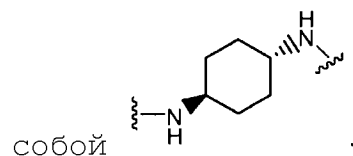
собой

В некоторых вариантах осуществления $-Q-X-Y-$ представляет



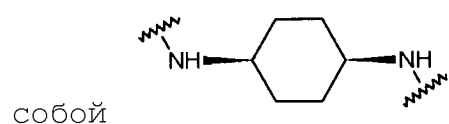
собой

В некоторых вариантах осуществления $-Q-X-Y-$ представляет



собой

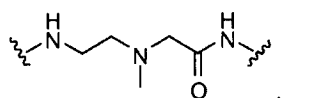
В некоторых вариантах осуществления $-Q-X-Y-$ представляет



собой

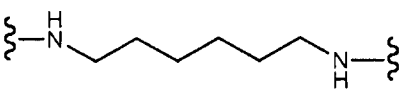
. В некоторых вариантах осуществления $-Q-$

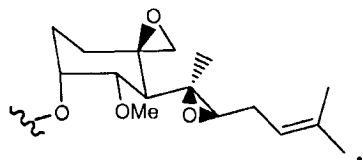
$X-Y-$ представляет собой



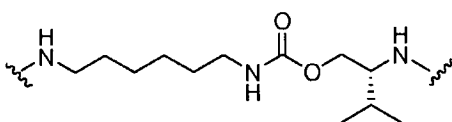
В некоторых вариантах осуществления R_4 и R_5 представляют собой метил; R_6 представляет собой 2-гидроксипропил; Z

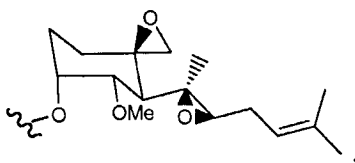
представляет собой $-\text{NH}-\text{AA}_1-\text{AA}_2-\text{AA}_3-\text{AA}_4-\text{AA}_5-\text{AA}_6-\text{C}(\text{O})-\text{Q}-\text{X}-\text{Y}-\text{C}(\text{O})-\text{W}$;
 AA_1 представляет собой глицин; AA_2 представляет собой связь; AA_3
 представляет собой связь; AA_4 представляет собой фенилаланин; AA_5
 представляет собой лейцин; AA_6 представляет собой глицин; $-\text{Q}-\text{X}-\text{Y}-$

представляет собой  и W представляет собой

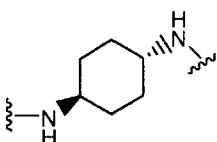


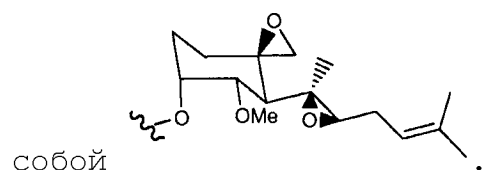
В некоторых вариантах осуществления R_4 и R_5 представляют собой метил; R_6 представляет собой 2-гидроксипропил; Z представляет собой $\text{NH}-\text{AA}_1-\text{AA}_2-\text{AA}_3-\text{AA}_4-\text{AA}_5-\text{AA}_6-\text{C}(\text{O})-\text{Q}-\text{X}-\text{Y}-\text{C}(\text{O})-\text{W}$;
 AA_1 представляет собой глицин; AA_2 представляет собой связь; AA_3
 представляет собой связь; AA_4 представляет собой фенилаланин; AA_5
 представляет собой лейцин; AA_6 представляет собой глицин; $-\text{Q}-\text{X}-\text{Y}-$

представляет собой 

и W представляет собой .

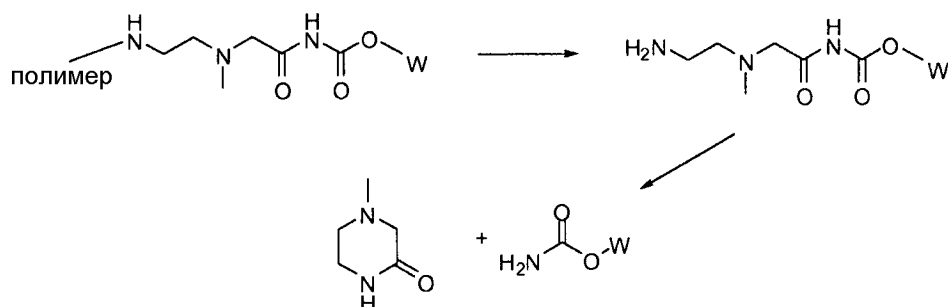
В некоторых вариантах осуществления R_4 и R_5 представляют собой метил; R_6 представляет собой 2-гидроксипропил; Z представляет собой $\text{NH}-\text{AA}_1-\text{AA}_2-\text{AA}_3-\text{AA}_4-\text{AA}_5-\text{AA}_6-\text{C}(\text{O})-\text{Q}-\text{X}-\text{Y}-\text{C}(\text{O})-\text{W}$;
 AA_1 представляет собой глицин; AA_2 представляет собой связь; AA_3
 представляет собой связь; AA_4 представляет собой фенилаланин; AA_5
 представляет собой лейцин, AA_6 представляет собой глицин; $-\text{Q}-\text{X}-\text{Y}-$

представляет собой  и W представляет собой

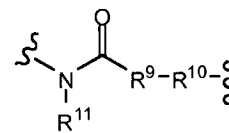


В некоторых вариантах осуществления, $-\text{Q}-\text{X}-\text{Y}-$ представляет

собой "саможертвующуюся" связь, которая высвобождает ингибитор MetAP2 в форме карбаматного производного, как показано на схеме ниже:



Другой аспект настоящего изобретения относится к конъюгатам со связями, имеющими структуру $Z-Q-X-Y-C(O)-W$; в которой независимо для каждого случая Z представляет $H_2N-AA_2-AA_3-AA_4-AA_5-AA_6-C(O)-$ или H ; AA_2 представляет собой связь или аланин, цистеин, аспарагиновую кислоту, глутаминовую кислоту, фенилаланин, глицин, гистидин, изолейцин, лизин, лейцин, метионин, аспарагин, пролин, глутамин, аргинин, серин, треонин, валин, триптофан или тирозин; AA_3 представляет собой связь или аланин, цистеин, аспарагиновую кислоту, глутаминовую кислоту, фенилаланин, глицин, гистидин, изолейцин, лизин, лейцин, метионин, аспарагин, пролин, глутамин, аргинин, серин, треонин, валин, триптофан, или тирозин; AA_4 представляет собой связь или аланин, цистеин, аспарагиновую кислоту, глутаминовую кислоту, фенилаланин, глицин, гистидин, изолейцин, лизин, лейцин, метионин, аспарагин, пролин, глутамин, аргинин, серин, треонин, валин, триптофан, или тирозин; AA_5 представляет собой связь, аланин, цистеин, глицин, изолейцин, лейцин, метионин, фенилаланин, валин или триптофан; AA_6 представляет собой аланин, аспарагин, цитруллин, глутамин, глицин, лейцин, метионин, фенилаланин, серин, треонин, триптофан, тирозин, валин или $H_2N(CH_2)_mCO_2H$, где m равно 2, 3, 4 или 5; Q представляет собой NR , O или S ; X представляет собой $M-(C(R)_2)_p-M-J-M-(C(R)_2)_p-M-V$; M представляет собой связь или $C(O)$; J представляет собой связь или $((CH_2)_qQ)_r$, C_5-C_8 циклоалкил, арил, гетероарил, NR , O или S ; Y представляет собой NR , O или S ; R представляет собой H или



алкил; V представляет собой связь или R^{11} ; R^9 представляет собой алкил, арил, аралкил или связь или R^9 , взятый вместе с Y, образует гетероциклическое кольцо; R^{10} представляет собой амидо или связь; R^{11} представляет собой H или алкил; W представляет собой остаток ингибитора MetAP2; p равно числу от 0 до 20; q равно 2 или 3 и r равно 1, 2, 3, 4, 5 или 6.

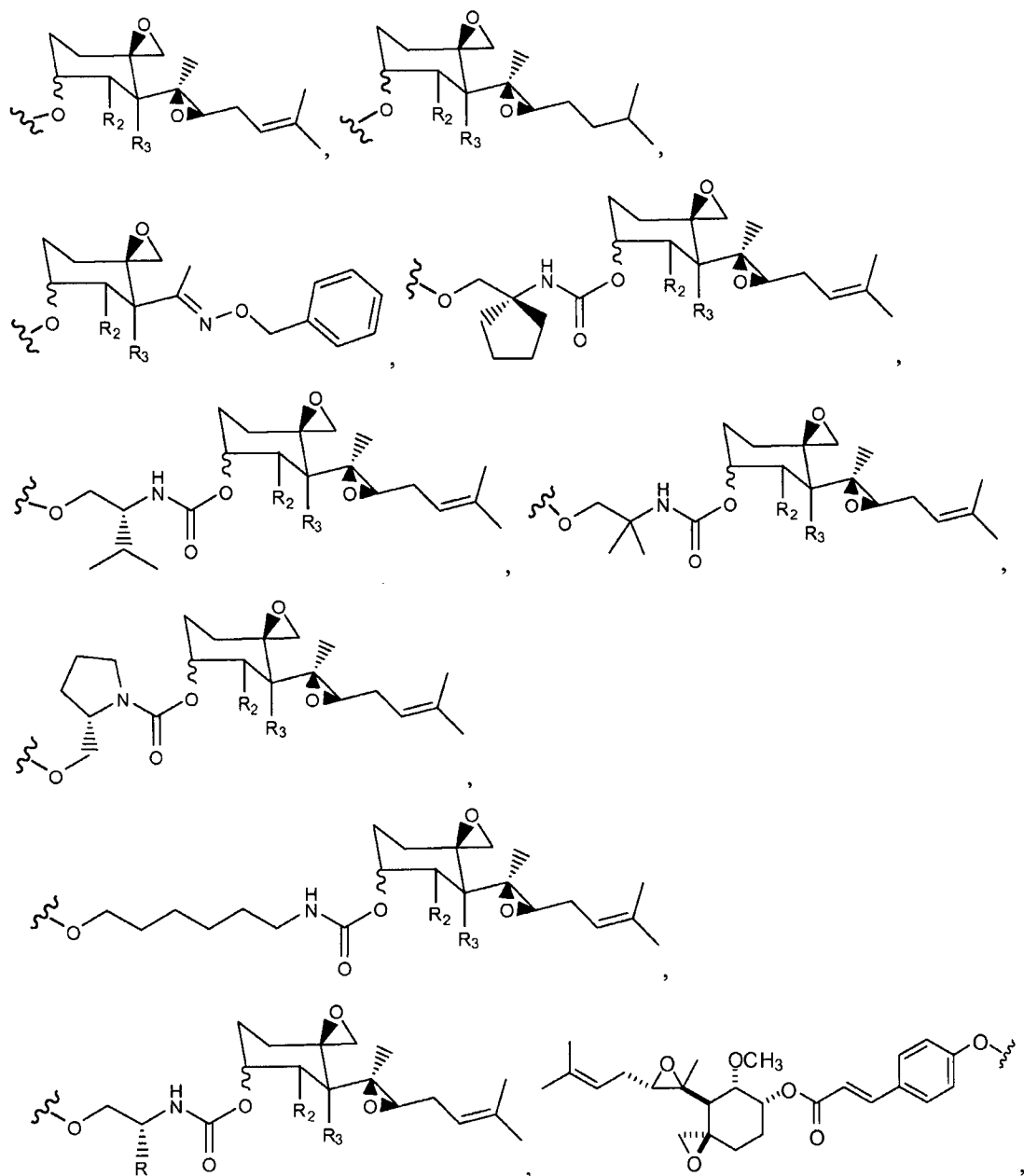
В некоторых вариантах осуществления Z представляет собой $\text{H}_2\text{N-AA}_5\text{-AA}_6\text{-C(O)-}$. В некоторых вариантах осуществления AA_5 представляет собой аланин, цистеин, глицин, изолейцин, лейцин, метионин, фенилаланин, валин, триптофан или тирозин и AA_6 представляет собой глицин. В некоторых вариантах осуществления AA_5 представляет собой лейцин и AA_6 представляет собой глицин. В некоторых вариантах осуществления, AA_5 представляет собой валин и AA_6 представляет собой глицин. В некоторых вариантах осуществления AA_5 представляет собой фенилаланин и AA_6 представляет собой глицин. В некоторых вариантах осуществления AA_5 представляет собой глицин и AA_6 представляет собой глицин. В некоторых вариантах осуществления AA_5 не является валином.

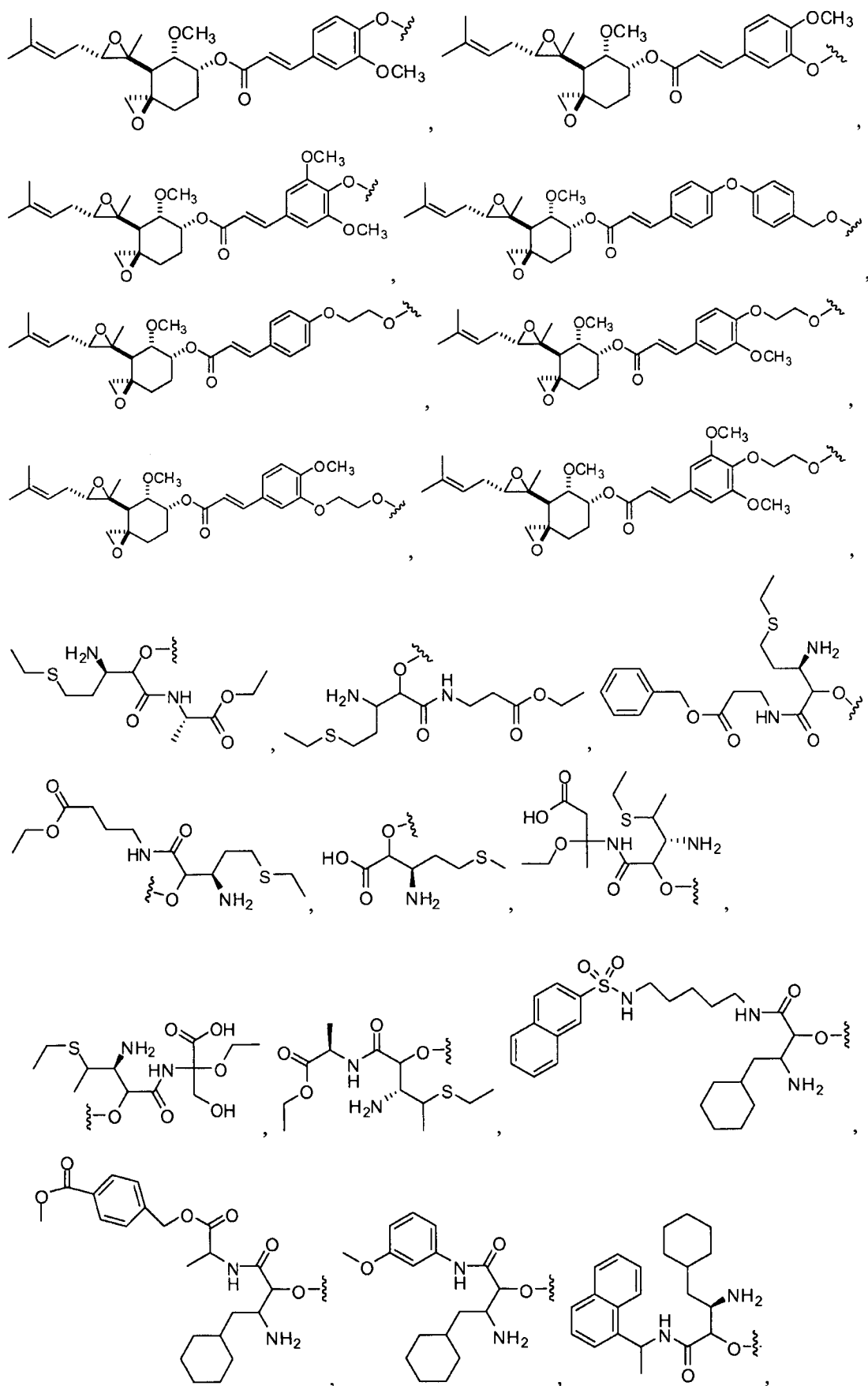
В других вариантах осуществления Z представляет собой $\text{H}_2\text{N-AA}_3\text{-AA}_4\text{-AA}_5\text{-AA}_6\text{-C(O)-}$. В некоторых вариантах осуществления AA_5 представляет собой аланин, цистеин, глицин, изолейцин, лейцин, метионин, фенилаланин, валин, триптофан или тирозин и каждый из AA_3 , AA_4 или AA_6 представляет собой глицин. В некоторых вариантах осуществления AA_5 представляет собой лейцин и каждый из AA_3 , AA_4 или AA_6 представляет собой глицин. В некоторых вариантах осуществления AA_5 представляет собой валин и каждый из AA_3 , AA_4 или AA_6 представляет собой глицин. В некоторых вариантах осуществления, AA_5 представляет собой фенилаланин и каждый из AA_3 , AA_4 или AA_6 представляет собой глицин. В некоторых вариантах осуществления AA_3 представляет собой глицин, AA_4 представляет собой фенилаланин, AA_5 представляет собой лейцин и AA_6 представляет собой глицин. В некоторых вариантах осуществления каждый из AA_3 , AA_4 , AA_5 и AA_6 представляет собой глицин. В некоторых вариантах осуществления AA_5 не является валином.

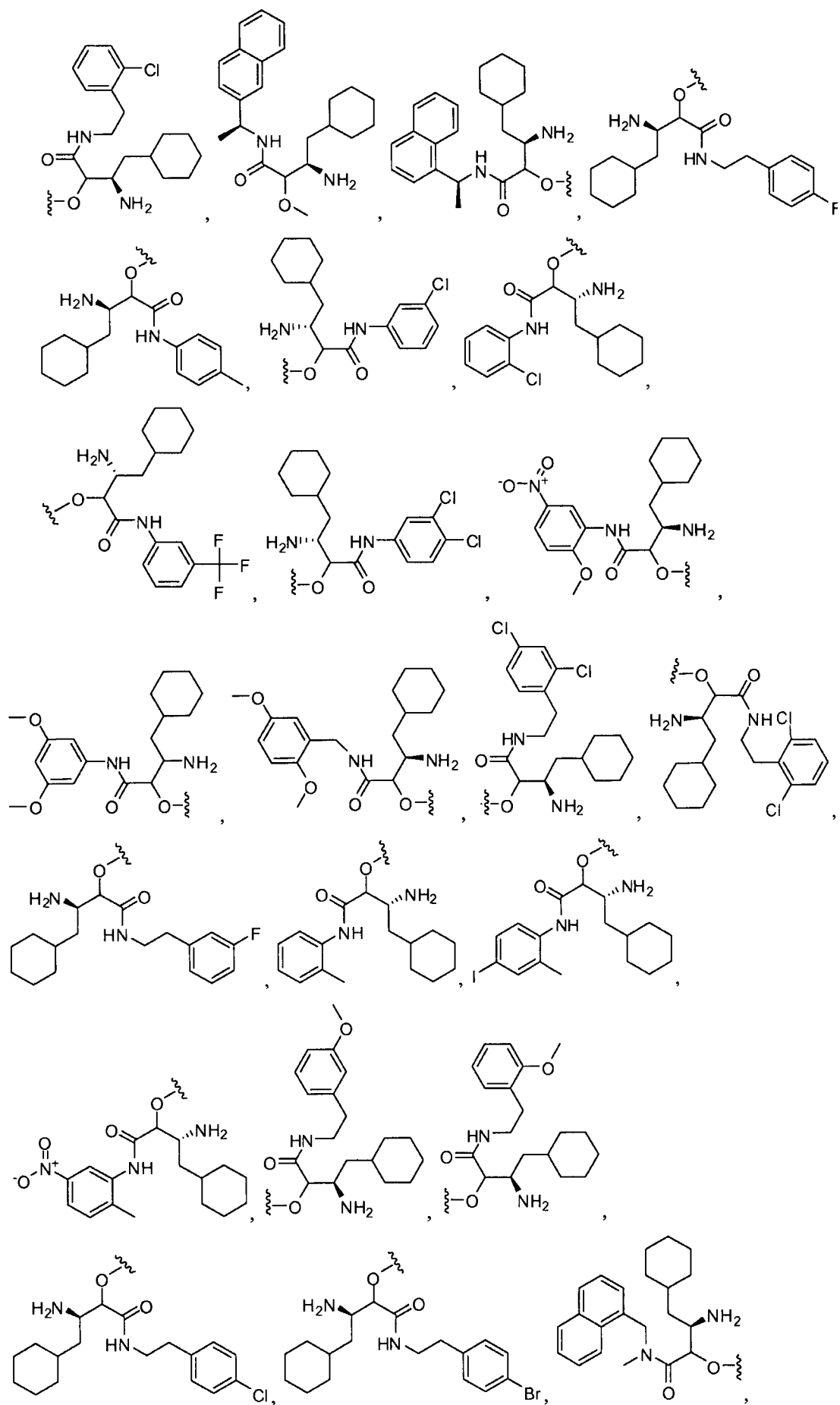
В некоторых вариантах осуществления Z представляет собой H. В других вариантах осуществления Z представляет $\text{H}_2\text{N-AA}_6\text{-C(O)-}$. В некоторых вариантах осуществления AA_6 представляет собой глицин.

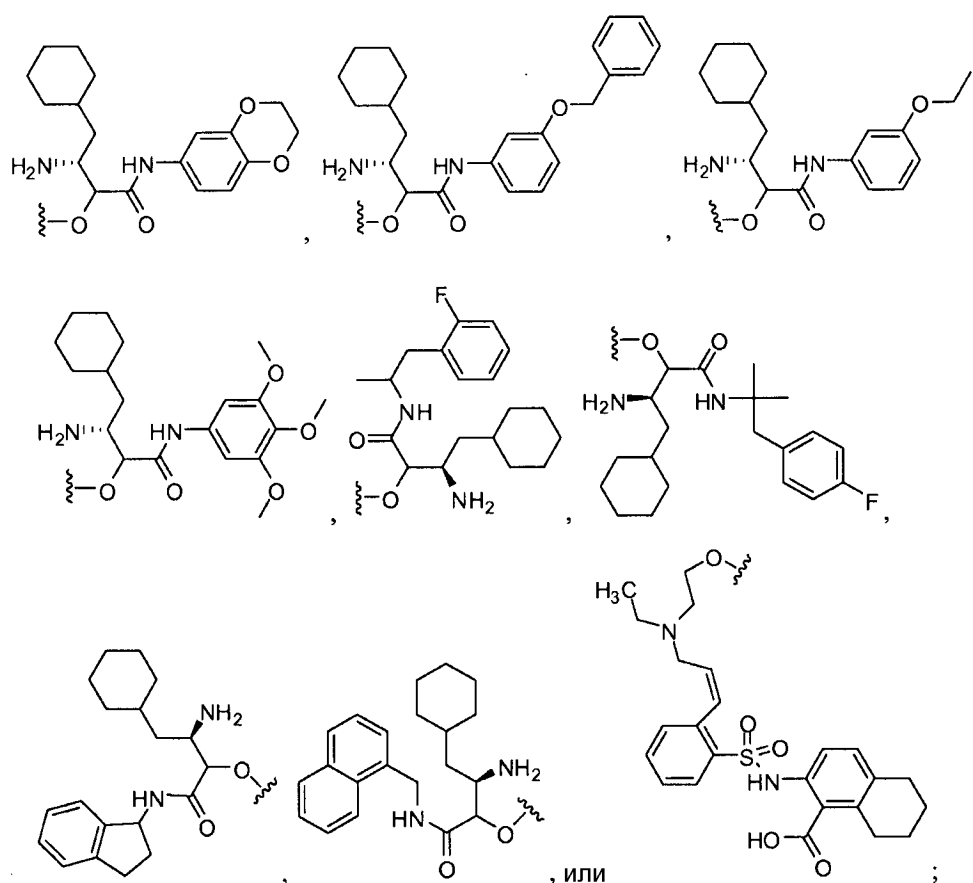
В некоторых вариантах осуществления Q представляет собой NR. В некоторых вариантах осуществления M представляет собой связь. В некоторых вариантах осуществления J представляет собой связь. В некоторых вариантах осуществления Y представляет собой NR.

В некоторых вариантах осуществления W представляет собой



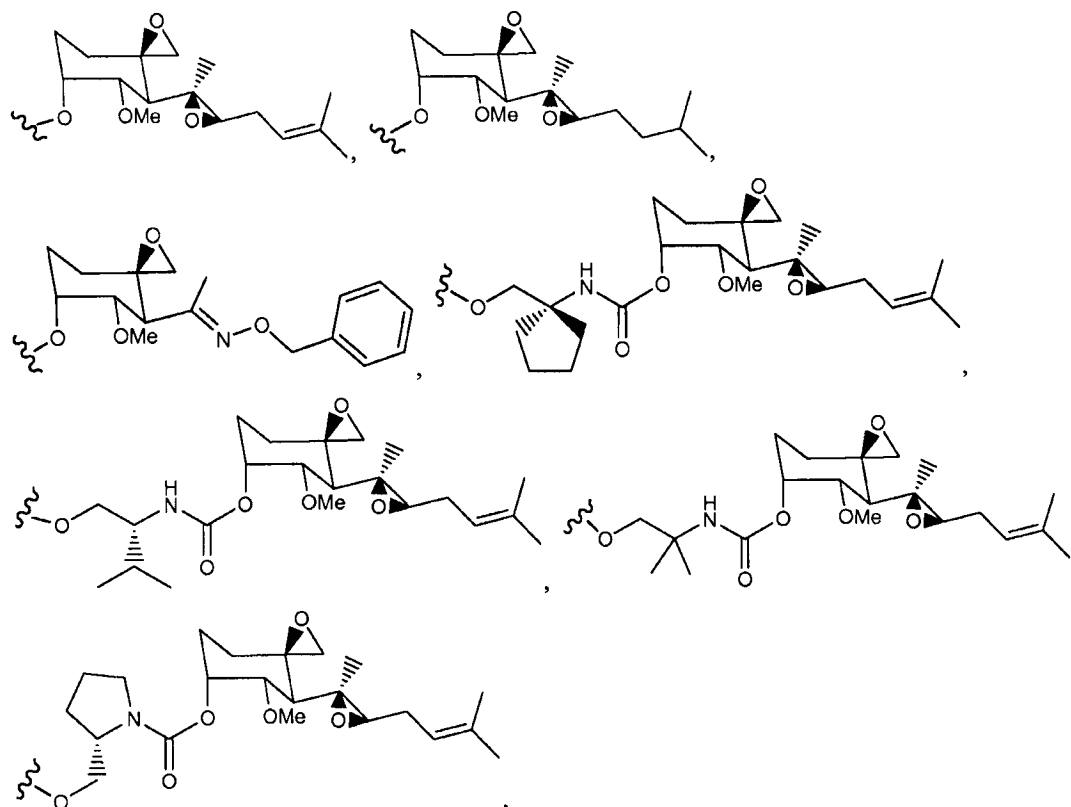


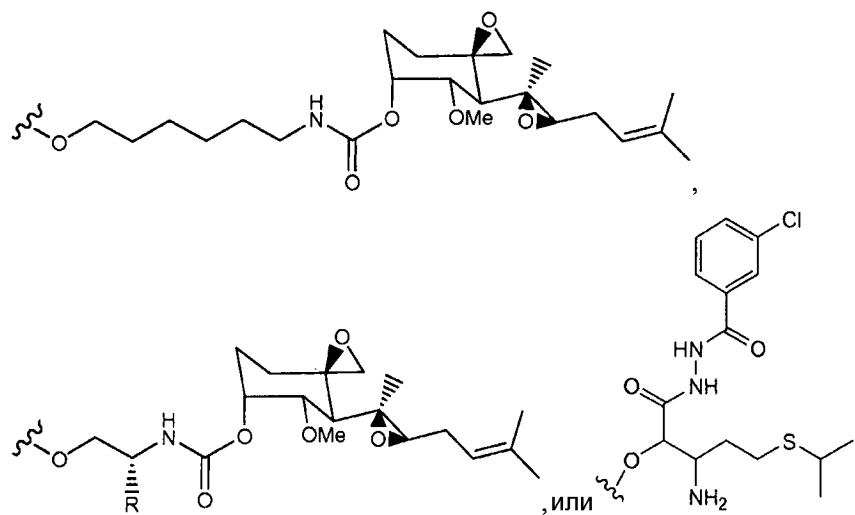




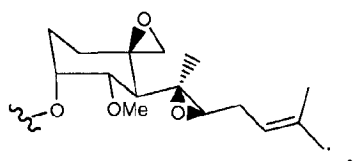
где R_2 представляет собой $-\text{OH}$ или метокси и R_3 представляет собой H , $-\text{OH}$ или метокси.

В некоторых вариантах осуществления W представляет собой

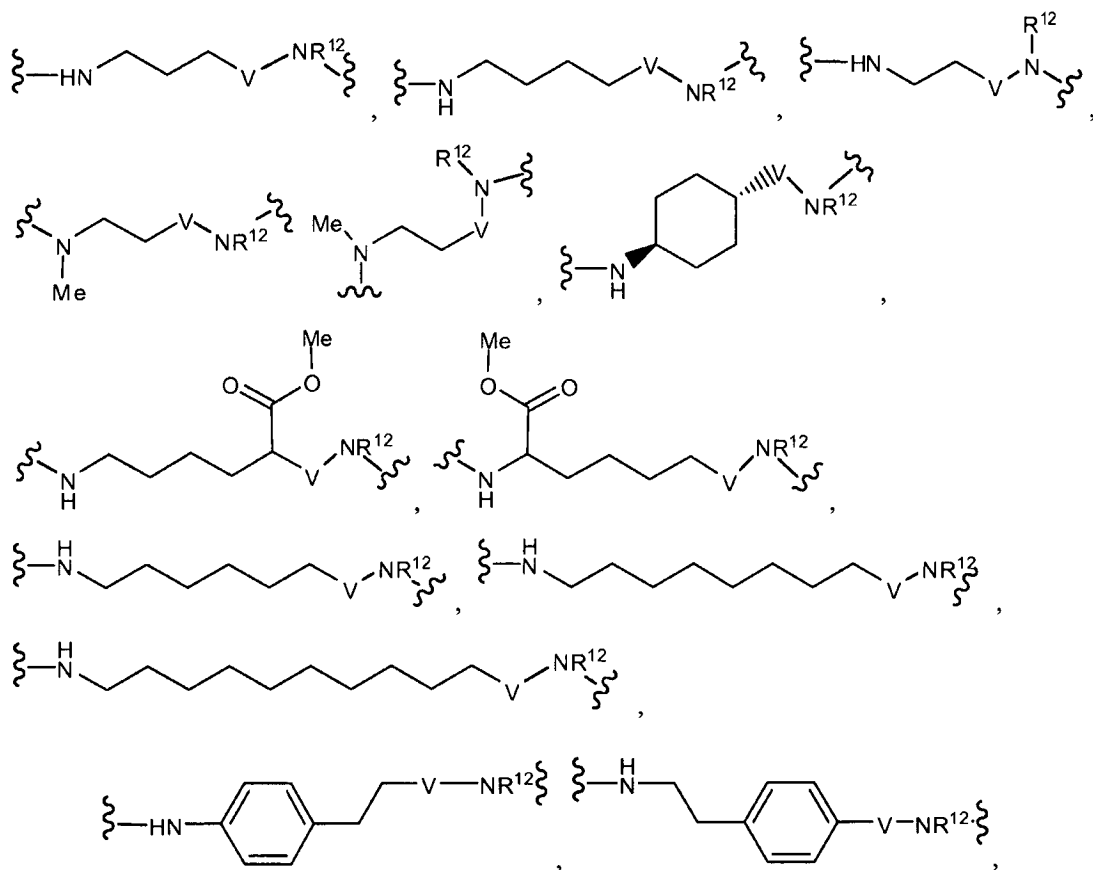
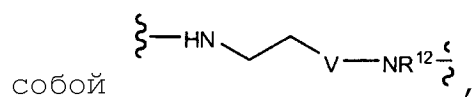




В некоторых вариантах осуществления W представляет собой



В некоторых вариантах осуществления -Q-X-Y- представляет

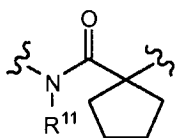


Chemical structures 1-6 showing various substituents R^{11} and R^{13} :

- 1: R^{11} is a 1-methylpropyl group (isobutyl).
- 2: R^{11} is a 2-methylpropyl group (isobutyl).
- 3: R^{11} is a 2-methylbutyl group.
- 4: R^{11} is a 1-phenylethyl group.
- 5: R^{11} is a 4-(2-methylpropyl)phenyl group.
- 6: R^{11} is a 1-phenylethyl group.

Chemical structures 7-8 showing various substituents R^{11} and R^{13} :

- 7: R^{11} is a 1-phenylethyl group.
- 8: R^{11} is a 1-phenylethyl group.



или связь; R^{12} представляет собой H или Me или R^{12} , взятый вместе с R^{14} , образует пиперидиновое кольцо; R^{11} представляет собой H или Me и R^{13} , взятый вместе с R^{12} , образует пиперидиновое кольцо.

В некоторых вариантах осуществления Z представляет собой $H_2N-AA_5-AA_6-C(O)-$; AA_5 представляет собой лейцин и AA_6 представляет собой глицин; Q-X-Y представляет собой



В некоторых вариантах осуществления Z представляет собой $H_2N-AA_5-AA_6-C(O)-$; AA_5 представляет собой валин и AA_6 представляет

собой глицин; Q-X-Y представляет собой

и W

представляет собой

В некоторых вариантах осуществления Z представляет собой $H_2N-AA_5-AA_6-C(O)-$; AA_5 представляет собой фенилаланин и AA_6 представляет собой глицин; Q-X-Y представляет собой

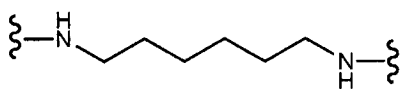


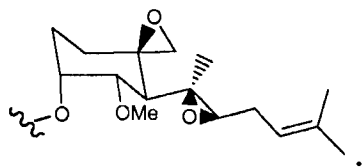
В некоторых вариантах осуществления Z представляет собой $H_2N-AA_5-AA_6-C(O)-$; AA_5 представляет собой глицин и AA_6 представляет собой глицин; Q-X-Y представляет собой



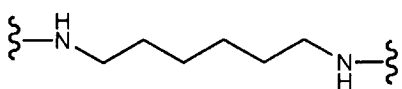
В некоторых вариантах осуществления Z представляет собой $H_2N-AA_3-AA_4-AA_5-AA_6-C(O)-$; AA_5 представляет собой лейцин и каждый

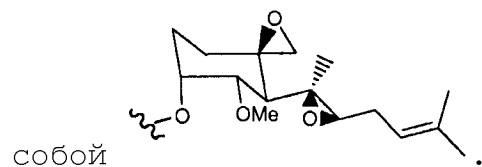
из AA₃, AA₄ или AA₆ представляют собой глицин; Q-X-Y представляет

с собой  и W представляет собой

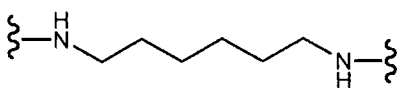


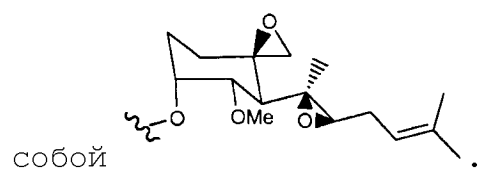
В некоторых вариантах осуществления Z представляет собой H₂N-AA₃-AA₄-AA₅-AA₆-C(O)-; AA₅ представляет собой валин и каждый из AA₃, AA₄ или AA₆ представляют собой глицин; Q-X-Y представляет

с собой  и W представляет собой

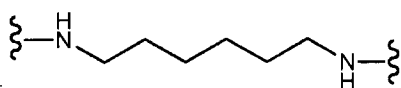


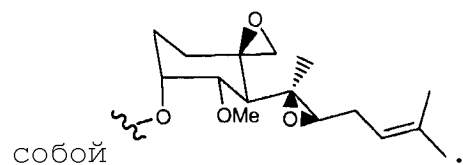
В некоторых вариантах осуществления Z представляет собой H₂N-AA₃-AA₄-AA₅-AA₆-C(O)-; AA₅ представляет собой фенилаланин и каждый из AA₃, AA₄ или AA₆ представляют собой глицин; Q-X-Y

представляет собой  и W представляет собой



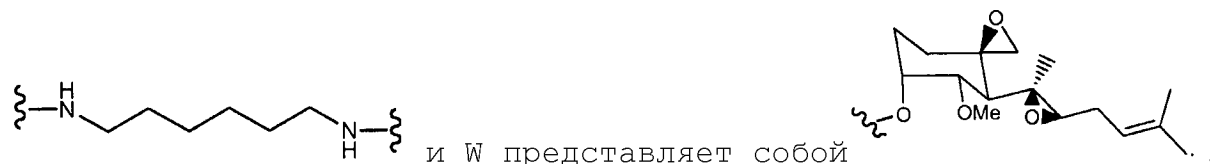
В некоторых вариантах осуществления Z представляет собой H₂N-AA₃-AA₄-AA₅-AA₆-C(O)-; AA₃ представляет собой глицин, AA₄ представляет собой фенилаланин, AA₅ представляет собой лейцин, AA₆ представляет собой глицин; Q-X-Y представляет

с собой  и W представляет собой

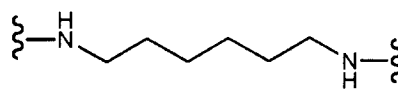


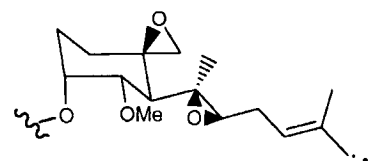
В некоторых вариантах осуществления Z представляет собой H₂N-AA₃-AA₄-AA₅-AA₆-C(O)-; каждый из AA₃, AA₄, AA₅ или AA₆

представляют собой глицин; Q-X-Y представляет собой

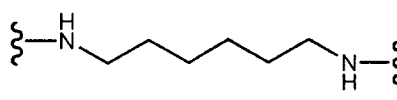


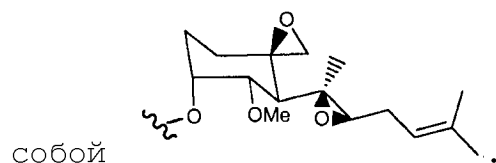
В некоторых вариантах осуществления Z представляет собой $H_2N-AA_6-C(O)-$; AA_6 представляет собой глицин; Q-X-Y представляет

собой
 
 и W представляет собой

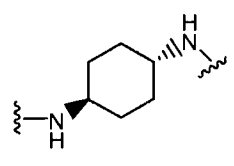


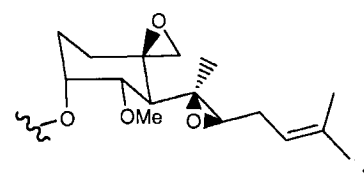
В некоторых вариантах осуществления Z представляет собой H;

Q-X-Y представляет собой
 
 и W представляет

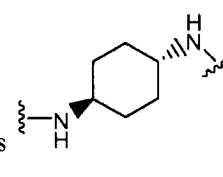
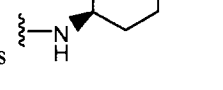


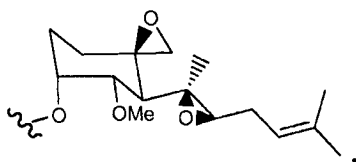
В некоторых вариантах осуществления Z представляет собой $H_2N-AA_5-AA_6-C(O)-$; AA_5 представляют собой лейцин и AA_6

представляет собой глицин; Q-X-Y представляет собой
 

и W представляет собой
 

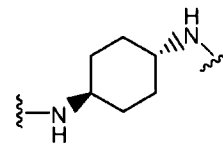
В некоторых вариантах осуществления Z представляет собой $H_2N-AA_5-AA_6-C(O)-$; AA_5 представляет собой валин и AA_6 представляет

собой глицин; Q-X-Y представляет собой
 
 X-Y is
 
 и W

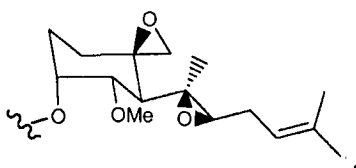


представляет собой

В некоторых вариантах осуществления Z представляет собой $H_2N-AA_5-AA_6-C(O)-$; AA_5 представляет собой фенилаланин и AA_6

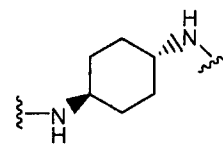


представляет собой глицин; Q-X-Y представляет собой

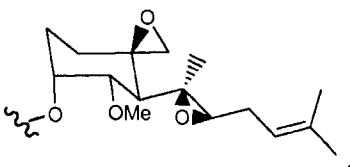


и W представляет собой

В некоторых вариантах осуществления Z представляет собой $H_2N-AA_5-AA_6-C(O)-$; AA_5 представляет собой глицин и AA_6

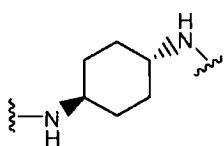


представляет собой глицин; Q-X-Y представляет собой



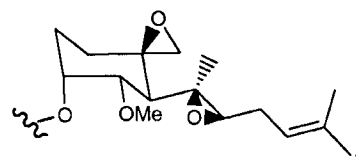
и W представляет собой

В некоторых вариантах осуществления Z представляет собой $H_2N-AA_3-AA_4-AA_5-AA_6-C(O)-$; AA_5 представляет собой лейцин и каждый из AA_3 , AA_4 или AA_6 представляют собой глицин; Q-X-Y представляет

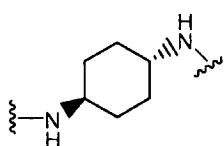


собой

и W представляет собой

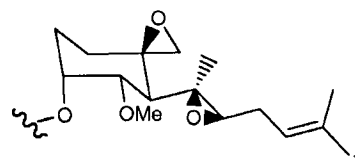


В некоторых вариантах осуществления Z представляет собой $H_2N-AA_3-AA_4-AA_5-AA_6-C(O)-$; AA_5 представляет собой валин и каждый из AA_3 , AA_4 или AA_6 представляют собой глицин; Q-X-Y представляет



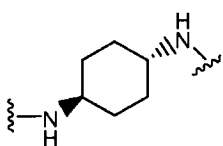
собой

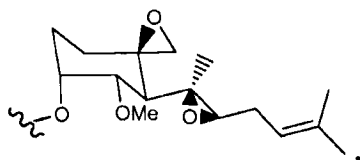
и W представляет собой



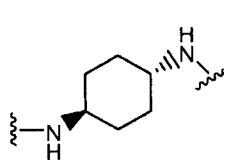
В некоторых вариантах осуществления Z представляет собой

$H_2N-AA_3-AA_4-AA_5-AA_6-C(O)-$; AA_5 представляет собой фенилаланин и каждый из AA_3 , AA_4 или AA_6 представляют собой глицин; $Q-X-Y$

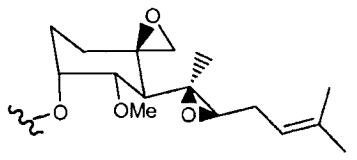
представляет собой  и W представляет собой



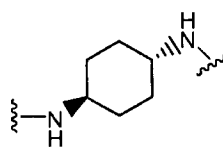
В некоторых вариантах осуществления Z представляет собой $H_2N-AA_3-AA_4-AA_5-AA_6-C(O)-$; AA_3 представляет собой глицин, AA_4 представляет собой фенилаланин, AA_5 представляет собой лейцин и AA_6 представляет собой глицин; $Q-X-Y$ представляет собой

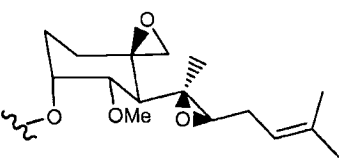


и W представляет собой

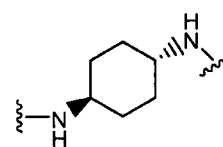


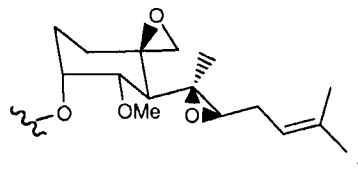
В некоторых вариантах осуществления Z представляет собой $H_2N-AA_3-AA_4-AA_5-AA_6-C(O)-$; каждый из AA_3 , AA_4 , AA_5 и AA_6

представляет собой глицин; $Q-X-Y$ представляет собой 

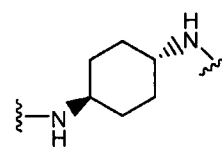
и W представляет собой 

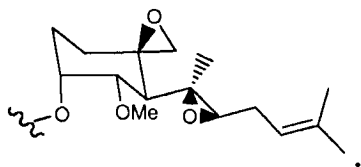
В некоторых вариантах осуществления Z представляет собой $H_2N-AA_6-C(O)-$; AA_6 представляет собой глицин; $Q-X-Y$ представляет

собой  и W представляет собой

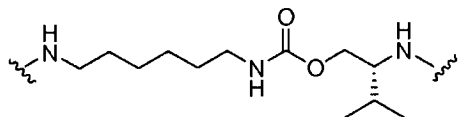


В некоторых вариантах осуществления Z представляет собой H ;

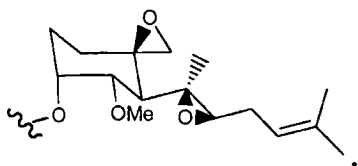
$Q-X-Y$ представляет собой  и W представляет собой



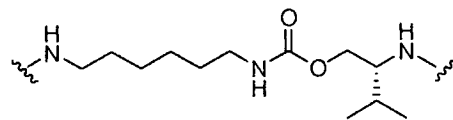
В некоторых вариантах осуществления Z представляет собой $H_2N-AA_5-AA_6-C(O)-$; AA_5 представляет собой лейцин и AA_6 представляет собой глицин; Q-X-Y представляет собой



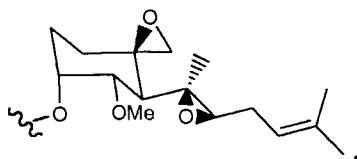
и W представляет собой



В некоторых вариантах осуществления Z представляет собой $H_2N-AA_5-AA_6-C(O)-$; AA_5 представляет собой валин и AA_6 представляет

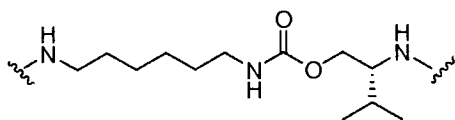


собой глицин; Q-X-Y представляет собой

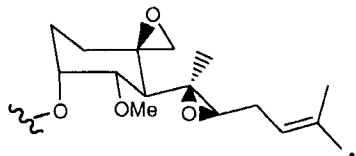


и W представляет собой

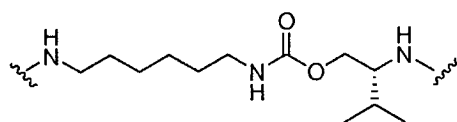
В некоторых вариантах осуществления Z представляет собой $H_2N-AA_5-AA_6-C(O)-$; AA_5 представляет собой фенилаланин и AA_6 представляет собой глицин; Q-X-Y представляет собой



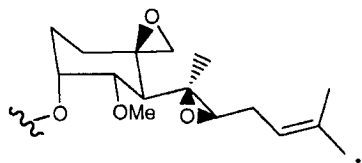
и W представляет собой



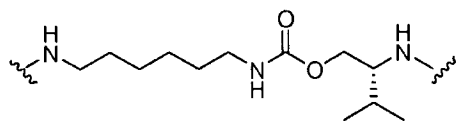
В некоторых вариантах осуществления Z представляет собой $H_2N-AA_5-AA_6-C(O)-$; AA_5 представляет собой глицин и AA_6 представляет собой глицин; Q-X-Y представляет собой



и W представляет собой

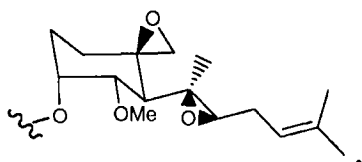


В некоторых вариантах осуществления Z представляет собой $\text{H}_2\text{N-AA}_3\text{-AA}_4\text{-AA}_5\text{-AA}_6\text{-C(O)-}$; AA_5 представляет собой лейцин и каждый из AA_3 , AA_4 или AA_6 представляют собой глицин; Q-X-Y представляет

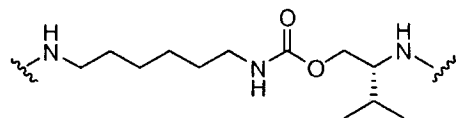


собой

и W представляет собой

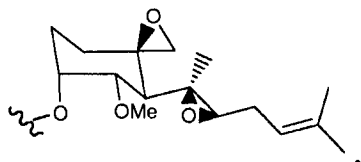


В некоторых вариантах осуществления Z представляет собой $\text{H}_2\text{N-AA}_3\text{-AA}_4\text{-AA}_5\text{-AA}_6\text{-C(O)-}$; AA_5 представляет собой валин и каждый из AA_3 , AA_4 или AA_6 представляют собой глицин; Q-X-Y представляет

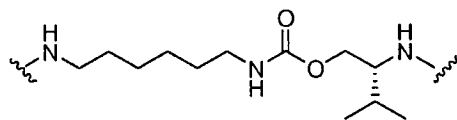


собой

и W представляет собой

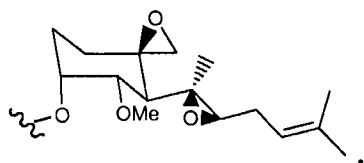


В некоторых вариантах осуществления Z представляет собой $\text{H}_2\text{N-AA}_3\text{-AA}_4\text{-AA}_5\text{-AA}_6\text{-C(O)-}$; AA_5 представляет собой фенилаланин и каждый из AA_3 , AA_4 или AA_6 представляют собой глицин; Q-X-Y



представляет собой

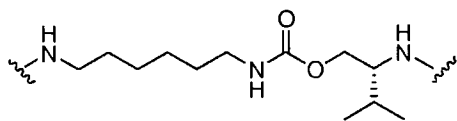
и W представляет



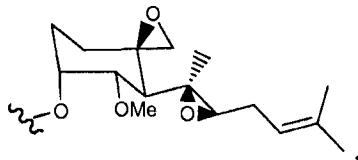
собой

В некоторых вариантах осуществления Z представляет собой $\text{H}_2\text{N-AA}_3\text{-AA}_4\text{-AA}_5\text{-AA}_6\text{-C(O)-}$; AA_3 представляет собой глицин, AA_4

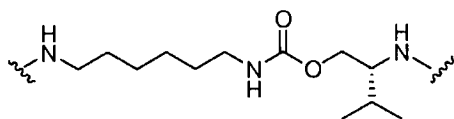
представляет собой фенилаланин, AA₅ представляет собой лейцин и AA₆ представляет собой глицин; Q-X-Y представляет собой



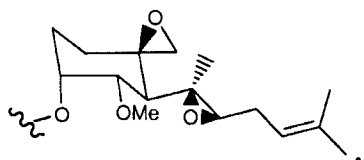
и W представляет собой



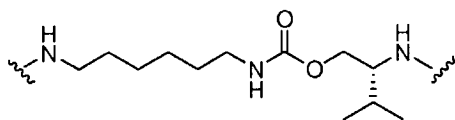
В некоторых вариантах осуществления Z представляет собой H₂N-AA₃-AA₄-AA₅-AA₆-C(O)-; каждый из AA₃, AA₄, AA₅ или AA₆ представляют собой глицин; Q-X-Y представляет собой



и W представляет собой

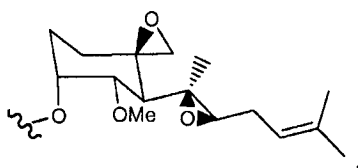


В некоторых вариантах осуществления Z представляет собой H₂N-AA₆-C(O)-; AA₆ представляет собой глицин; Q-X-Y представляет



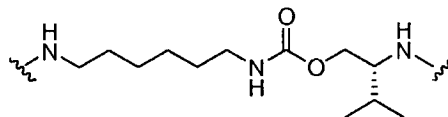
собой

и W представляет собой



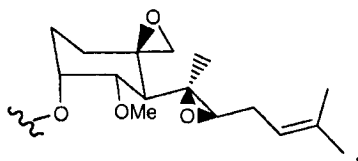
В некоторых вариантах осуществления Z представляет собой H;

Q-X-Y представляет собой



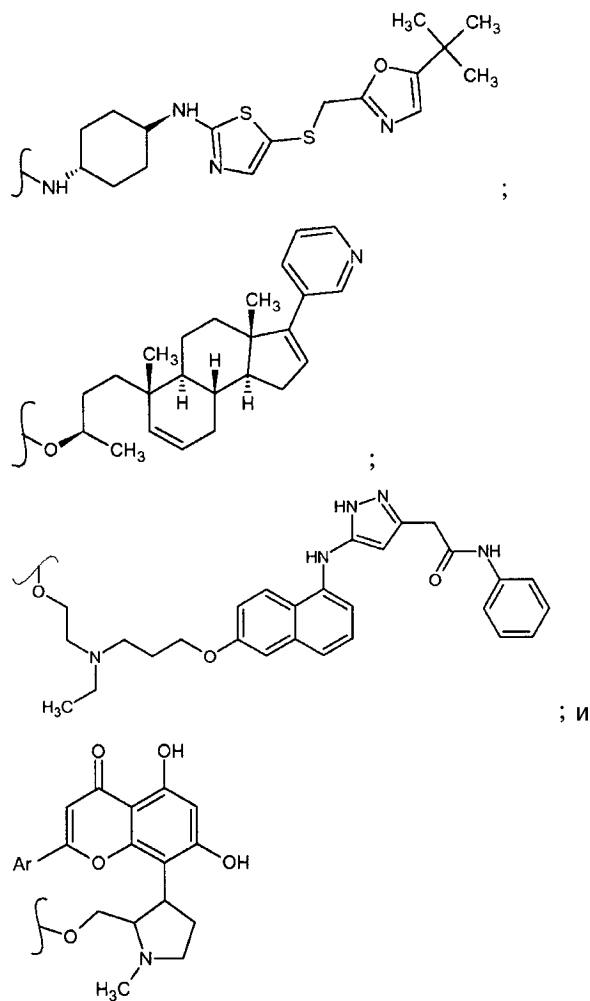
и W

представляет собой



Другие активные остатки, которые можно модифицировать, чтобы применять в конъюгатах изобретения, включают в себя

следующие структуры:



В некоторых вариантах осуществления активным остатком является соединение против ожирения. В других вариантах осуществления активным остатком является соединение, которое ингибирует метионинаминопептидазу-2 (MetAP2), такое как фумагиллин, фумагиллол или его аналог, производное, соль или эфир. Дополнительные репрезентативные ингибиторы MetAP2 описаны в патентах США № 6242494 на имя Craig et al., № 6063812 на имя Hong et al., № 6887863 на имя Craig et al., № 7030262 на имя BaMaung et al., № 7491718 на имя Comess et al., каждый из которых включен в качестве ссылки во всей своей полноте. Дополнительные репрезентативные ингибиторы MetAP2 были описаны в публикациях Wang et al. "Correlation of tumor growth suppression and methionine aminopeptidase-2 activity blockade using an orally active inhibitor," PNAS 105(6) 1838-1843 (2008); Lee et al. "Design, Synthesis, and Antiangiogenic Effect of a Series of

Potent Novel Fumagillin Analogues", *Chem. Pharm. Bull.* 55(7) 1024-1029 (2007); Jeong et al. "Total synthesis and antiangiogenic activity of cyclopentane analogues of fumagillol", *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* 15, 3580-3583 (2005); Arico-Muendel et al. "Carbamate Analogues of Fumagillin as Potent, Targeted Inhibitors of Methionine Aminopeptidase-2", *J. Med. Chem.* 52, 8047-8056 (2009); and International Publication No. WO 2010/003475 to Heinrich et al.

Фумагиллин является малой молекулой, которую применяли в качестве противомикробного и противопротозойного агента. Его физико-химические свойства и способ получения являются хорошо известными (см. патент США № 2803586 и Turner, J.R. et al., *The Stereochemistry of Fumagillin*, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 48, 733-735 (1962)). Продукт ферментации, фумагиллин, можно гидролизовать для получения спирта фумагиллола, который, в свою очередь, можно превратить в различные производные, включающие в себя карбамоилфумагиллол, М.М. 325. Синтез и получение карбамоилфумагиллола и некоторых его производных с малыми молекулами описаны в патенте США № 5166172.

Считается, что фумагиллин и родственные соединения оказывают биологические действия посредством ингибирования MetAP2. Этот фермент удаляет N-концевой метионин из образующихся клеточных белков. (См. Tucker, L.A., et al. "Ectopic Expression of Methionine Aminopeptidase-2 Causes Cell Transformation and Stimulates Proliferation", *Oncogene* 27, 3967 (2008)).

Карбамоилфумагиллол и его производные, а также другие ингибиторы MetAP2 проявляют терапевтическую эффективность в доклинических и клинических исследованиях. Эти соединения ингибируют пролиферацию и ангиогенез клеток, как описано в патенте США № 5166172. Аналоги или производные фумагиллина, такие как SKD-732 и PI-2458, хорошо изучены в различных системах, как подробно описано в публикации Bernier et al., "Fumagillin class inhibitors of methionine aminopeptidase-2" *Drugs of the Future* 30(5): 497-508, 2005.

Действия фумагиллина и его аналогов против ожирения хорошо известны. Rupnick и др. в публикации "Adipose tissue mass can be

regulated through the vasculature" PNAS 99, 10730-10735, 2002 описывают потерю массы у ob/ob-мышей при введении ежедневных доз TNP-470 в диапазоне от 2,5 мг/кг до 10 мг/кг. Brakenhielm описывает профилактику ожирения при дозах TNP-470 15 или 20 мг/кг, вводимых через день, в публикации "The Angiogenesis Inhibitor, TNP-470, Prevents Diet-Induced and Genetic Obesity in Mice", *Circulation Research* 94: 1579-1588, 2004. Kim и др. в публикации "Assessment of the anti-obesity effects of the TNP-470 analog, CKD-732", *J Molecular Endocrinology* 38, 455-465, 2007, описывают потерю массы у мышей C57BL/6J и крыс SD при дозах 5 мг/кг/день. Lijnen и др. в публикации "Fumagillin reduces adipose tissue formation in murine models of nutritionally induced obesity", *Obesity* 12, 2241-2246, 2010 описывают пероральную доставку 1 мг/кг фумагиллина ежедневно, приводящую к потере массы у мышей C57BL/6.

Одно из этих производных, хлорацетилкарбамоилфумагиллол (TNP-470), было тщательно изучено. (См Н. Mann-Steinberg, et al., "TNP-470: The Resurrection of the First Synthetic Angiogenesis Inhibitor", Chapter 35 in Folkman and Figg, *Angiogenesis: An Integrative Approach from Science to Medicine*, Springer NY (2008).) TNP-470 показал активность против многих видов рака, включая рак легких, рак шейки матки, рак яичника, рак молочной железы и рак толстой кишки. Вследствие ограничивающей дозы нейротоксичности, TNP-470 испытывали с применением многих схем приема лекарственных средств, но эти попытки ограничения его токсичности не увенчались успехом. Таким образом, было обнаружено, что TNP-470 является слишком токсичным для применения его для человека. TNP-470 имеет короткий период полувыведения, и требуется длительное внутривенное введение для его терапевтического применения. Метаболит TNP-470, карбамоилфумагиллол, имеет период полувыведения у человека 12 минут. (См. Herbst et al., "Safety and Pharmacokinetic Effects of TNP-470, an Angiogenesis inhibitor, Combined with Paclitaxel in Patients with Solid Tumors: Evidence For Activity in Non-Small-Cell Lung Cancer", *Journal of Clinical Oncology* 20(22) 4440-4447 (2002). Кроме того, фумагиллин и его производные

являются гидрофобными и поэтому их трудно изготовить в составе препарата.

Несмотря на известную пригодность производных фумагиллина, они не были успешно использованы в качестве средств для лечения вследствие неспособности преодоления проблем низкой растворимости в воде, низких величин периода полувыведения и нейротоксических побочных действий этих соединений. Было показано, что TNP-470 в комбинации с паклитакселом имеет MTD 60 мг/м² при введении дозы три раза в неделю на основании ранее наблюдаемых, ограничивающих дозы нейropsychиатрических токсичностей, Herbst et al., "Safety and pharmacokinetic effects of TNP-470, an angiogenesis inhibitor, combined with paclitaxel in patients with solid tumors: evidence for activity in non-small-cell lung Cancer", Journal of clinical Oncology 20, 4440-4447, 2002. Подобным же образом, Shin и др. в публикации "A Phase 1 pharmacokinetic and pharmacodynamics study of CKD-732, an antiangiogenic agent, in patients with refractory solid cancer", Investigational New Drugs 28, 650-658, 2010, сообщили, что MTD CKD-732 была 15 мг/м²/день при схеме введения дозы в каждый четвертый день вследствие спутанности сознания и бессонницы. Таким образом, соединения настоящего изобретения являются более сильнодействующими, обладают пониженной токсичностью (являются менее нейротоксичными), повышенной растворимостью в воде, являются более стабильными и/или имеют более длинный период полувыведения (период полувыведения из сыворотки крови), чем известные в настоящее время производные фумагиллина.

Фраза "пониженная токсичность", используемая в контексте, имеет свое обычное значение, понимаемое специалистом в данной области техники. Только в качестве примера и никоим образом не в качестве ограничения значения термина, введение конъюгата аналога фумагиллина вызывает меньше побочных действий в тестах открытых полей на мышах, по сравнению с введением только аналога фумагиллина.

Фраза "улучшенная растворимость в воде", имеет свое обычное значение, понимаемое специалистами в данной области. Только в

качестве примера и никоим образом не в качестве ограничения значения термина, приведенное ниже описание этого термина является информативным: повышенное количество аналога фумагиллина будет растворяться в воде в результате его ковалентного включения в конъюгат по сравнению с количеством неконъюгированного аналога фумагиллина, которое будет растворяться в воде как таковой.

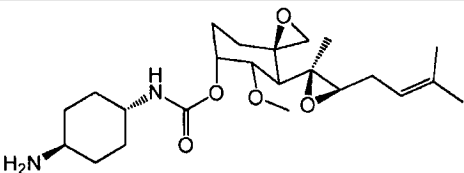
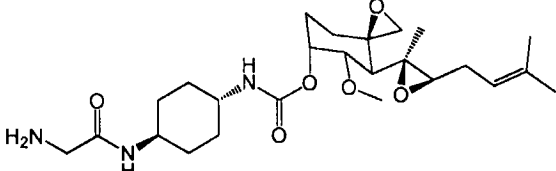
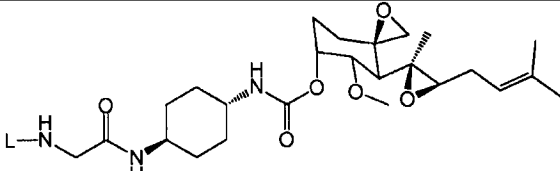
Фраза "более длительный период полувыведения" имеет свое обычное значение, понимаемое специалистом в данной области техники. Только в качестве примера и никоим образом не в качестве ограничения значения термина, следующее описание этого термина является информативным: наблюдается любое заметное увеличение продолжительности времени, требуемого для деактивации конъюгата фумагиллина либо *in vivo*, либо *in vitro*, по сравнению с периодом полувыведения аналога фумагиллина как такового либо *in vivo*, либо *in vitro*.

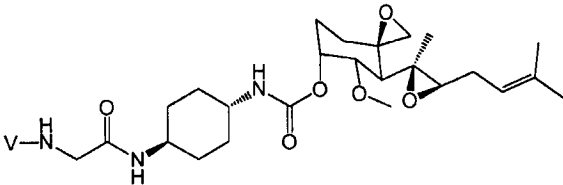
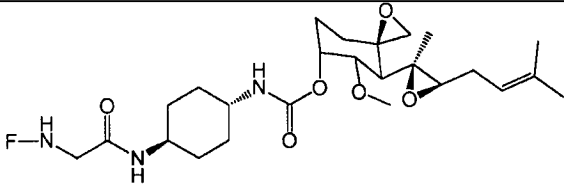
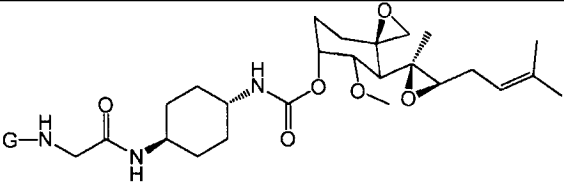
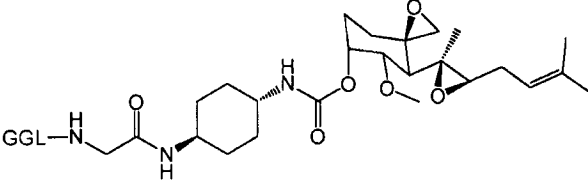
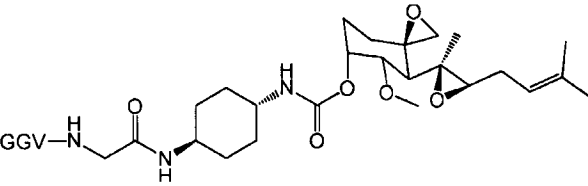
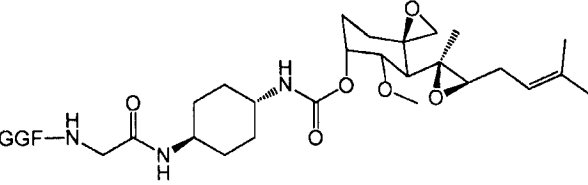
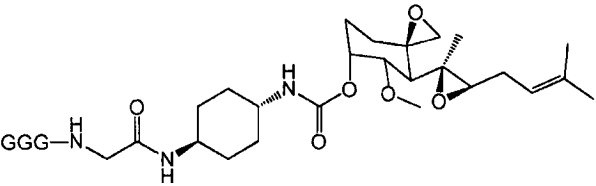
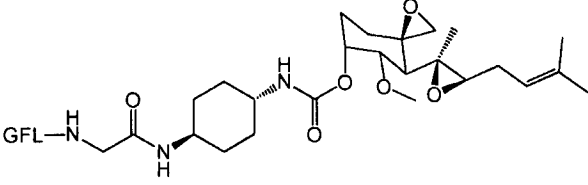
Без связи с какой-либо теорией, неферментативные действия MetAP2 для подавления активности внеклеточных, регулируемых сигналом киназ 1 и 2 (ERK1/2), могут быть важными, так как может быть связывание фактора эукариотического иницирования, eIF, посредством MetAP2. Клеточные ответы на ингибирование MetAP2, отражающие потенциальные, связанные с ERK процессы, могут включать в себя подавление активности белка, связывающего стеринный регуляторный элемент (SREBP), что приводит к пониженному биосинтезу липидов и холестерина. Интересно, что изменения в картинах экспрессии генов в печеночной и жировой ткани после пролонгированного (приблизительно 9 месяцев) воздействия фумагиллина, предполагают, что ингибирование MetAP2 также может изменять относительный избыток факторов, принимающих участие в воспалении, согласованный с пониженными ERK-зависимыми клеточными процессами. Предполагаемый механизм ингибирования MetAP2, ведущий к мобилизации жирового депо и катаболизму свободных жирных кислот в качестве источника энергии организмом, поддерживается изменениями в содержании β -гидроксибутирата, адипонектина, лептина и FGF21 плазмы, наблюдаемыми в предыдущих

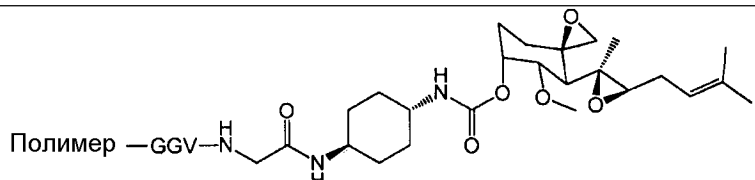
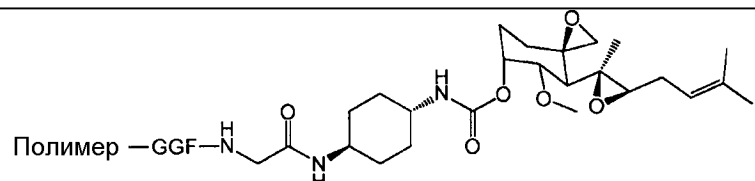
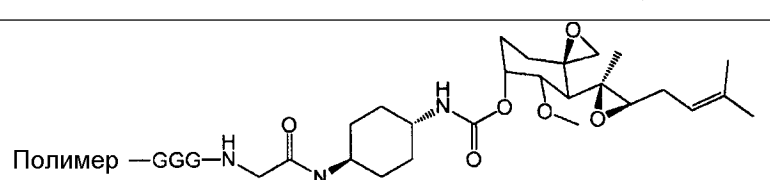
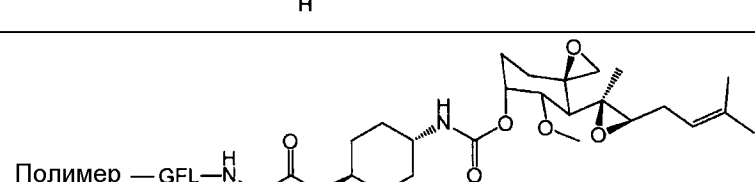
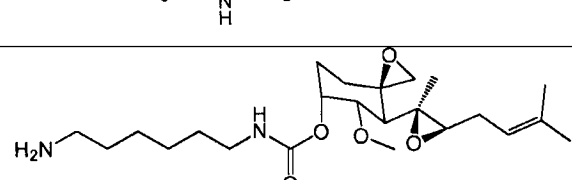
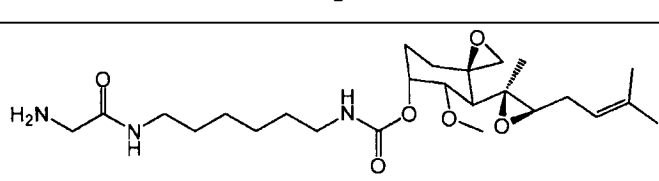
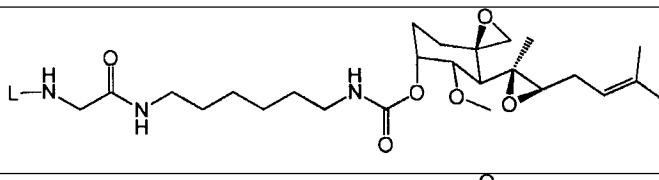
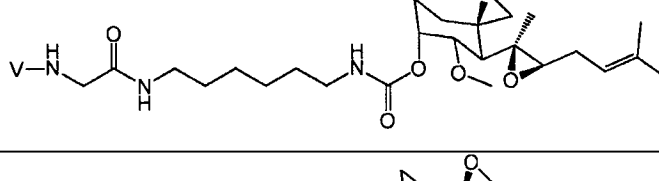
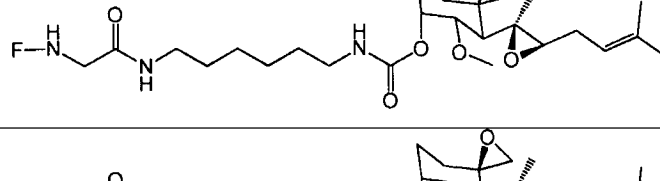
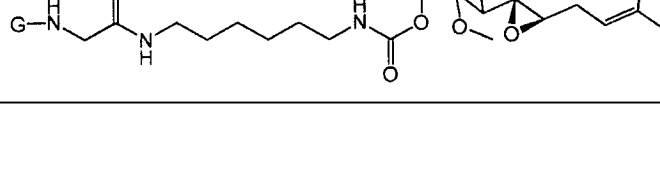
исследованиях. Повышение уровней ключевых катаболических гормонов адипонектина и FGF21, в сочетании с появлением кетоновых тел (β -гидроксibuтират), позволяет предложить, что ингибирование MetAP2 конъюгированным или модифицированным фумагиллином, фумагиллолом или его аналогом, производным, солью или эфиром, соединениями настоящего изобретение стимулирует расход энергии, утилизацию жиров и экскрецию липидов. Уменьшение содержание лептина, наблюдаемое в предыдущих исследованиях и в исследованиях, представленных в настоящем контексте, также согласуется с уменьшением общей жировой ткани и отрицательным энергетическим балансом. Возможно также, что конъюгированный или модифицированный фумагиллин, фумагиллол или его аналог, производное, соль или эфир, соединения настоящего изобретения образуют ковалентную связь с MetAP2, тем самым необратимо ингибируя и "заглушая" существующий фермент до тех пор, пока вновь продуцированный пул MetAP2 не генерируется в тканях-мишенях (например, печени и жировой ткани).

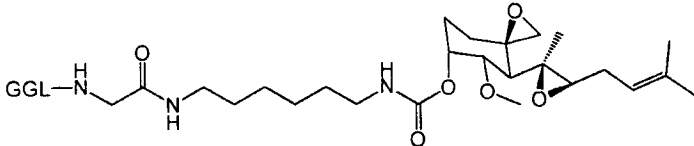
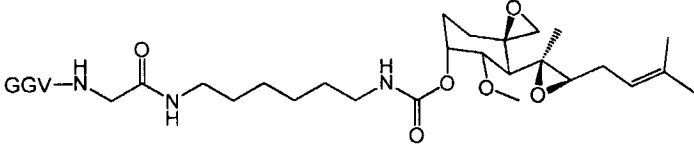
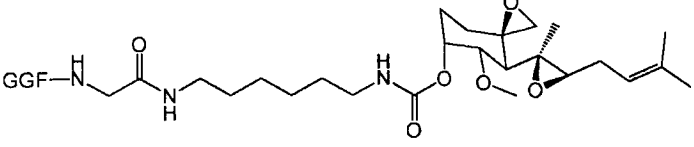
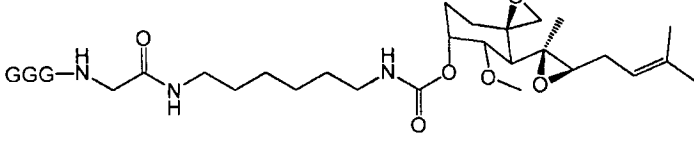
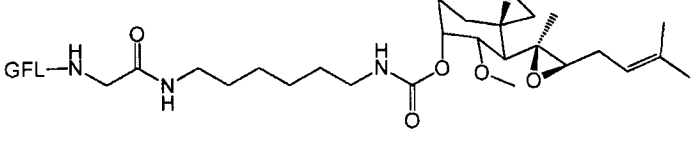
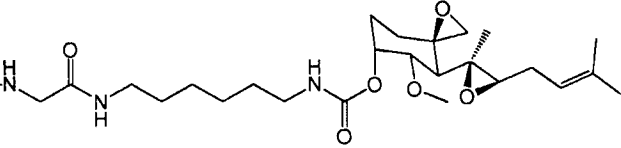
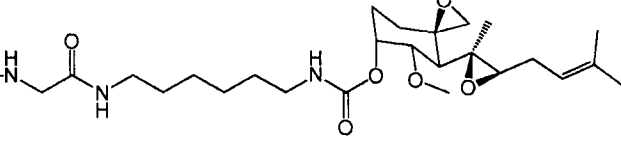
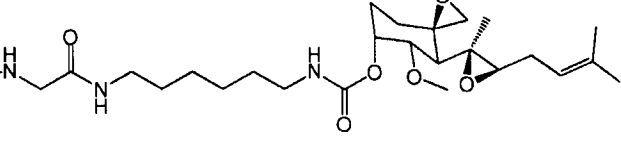
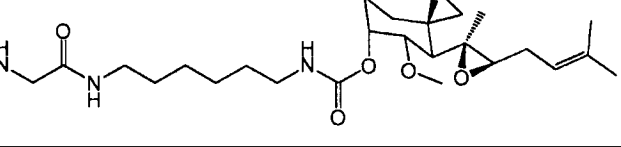
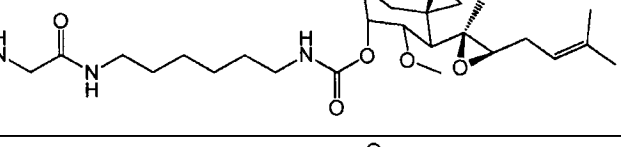
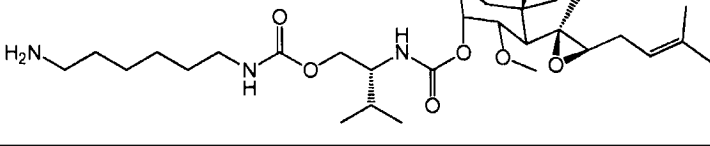
В некоторых вариантах осуществления конъюгированный или модифицированный фумагиллин, фумагиллол или его аналог, производное, соль или эфир, соединения настоящего изобретения, например, имеют следующие формулы, показанные в таблице 1.

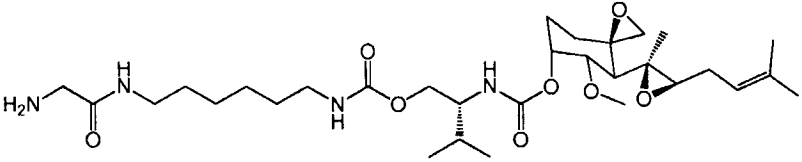
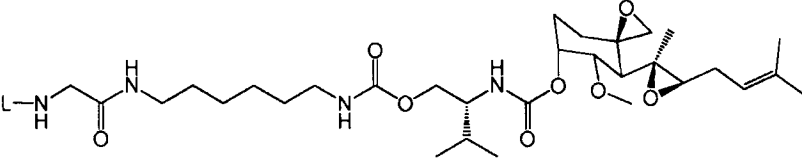
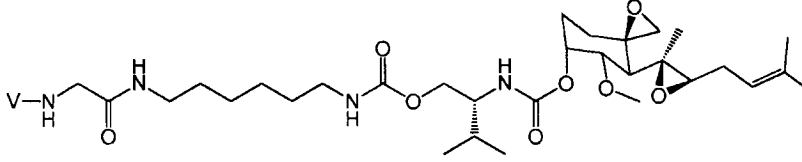
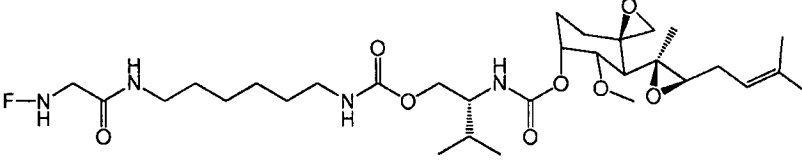
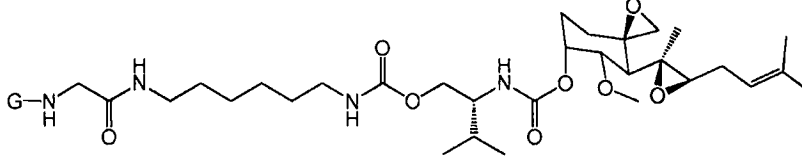
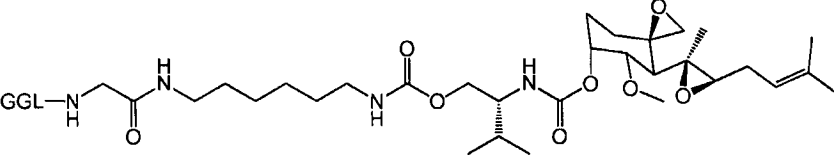
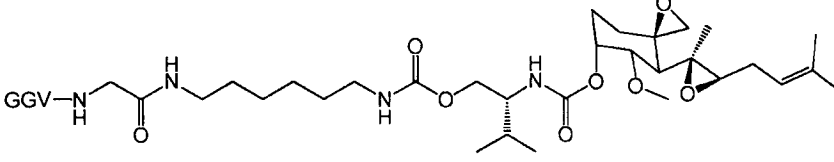
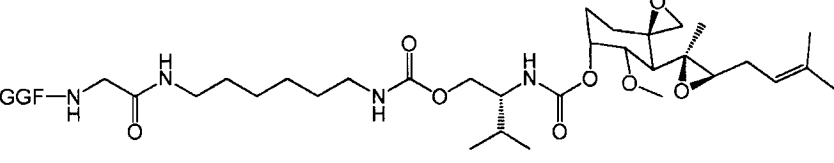
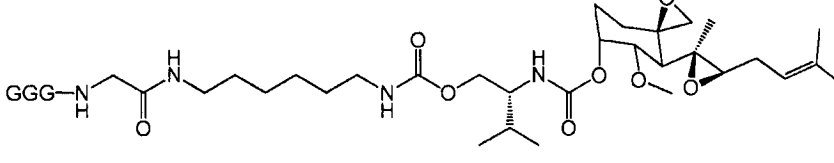
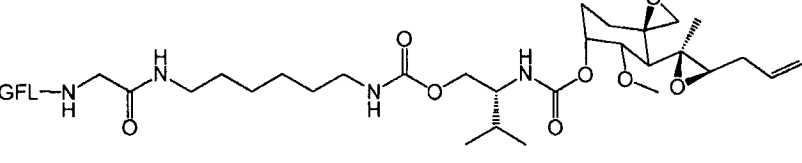
Таблица 1

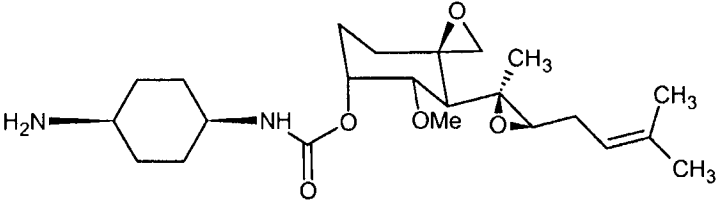
Номер соединения	Химическая структура
1	
2	
3	

4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	
11	
12	Полимер — GGL—NH—CH ₂ —C(=O)—NH—[cyclohexane ring]—NH—C(=O)—O—[polycyclic ether structure]

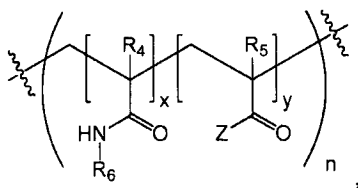
13	Полимер —GGV—NH—CH₂—C(=O)—NH—C₆H₁₀—NH—C(=O)—O—C₁₀H₁₅O₅—CH₂CH=CHCH₃ 
14	Полимер —GGF—NH—CH₂—C(=O)—NH—C₆H₁₀—NH—C(=O)—O—C₁₀H₁₅O₅—CH₂CH=CHCH₃ 
15	Полимер —GGG—NH—CH₂—C(=O)—NH—C₆H₁₀—NH—C(=O)—O—C₁₀H₁₅O₅—CH₂CH=CHCH₃ 
16	Полимер —GFL—NH—CH₂—C(=O)—NH—C₆H₁₀—NH—C(=O)—O—C₁₀H₁₅O₅—CH₂CH=CHCH₃ 
17	H₂N—CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂—NH—C(=O)—O—C₁₀H₁₅O₅—CH₂CH=CHCH₃ 
18	H₂N—CH₂—C(=O)—NH—CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂—NH—C(=O)—O—C₁₀H₁₅O₅—CH₂CH=CHCH₃ 
19	L—NH—CH₂—C(=O)—NH—CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂—NH—C(=O)—O—C₁₀H₁₅O₅—CH₂CH=CHCH₃ 
20	V—NH—CH₂—C(=O)—NH—CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂—NH—C(=O)—O—C₁₀H₁₅O₅—CH₂CH=CHCH₃ 
21	F—NH—CH₂—C(=O)—NH—CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂—NH—C(=O)—O—C₁₀H₁₅O₅—CH₂CH=CHCH₃ 
22	G—NH—CH₂—C(=O)—NH—CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂—NH—C(=O)—O—C₁₀H₁₅O₅—CH₂CH=CHCH₃ 

23	
24	
25	
26	
27	
28	Полимер —GGL— 
29	Полимер —GGV— 
30	Полимер —GGF— 
31	Полимер —GGG— 
32	Полимер —GFL— 
33	

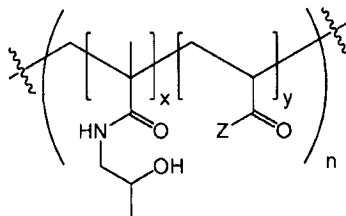
34	
35	
36	
37	
38	
39	
40	
41	
42	
43	

44	Полимер —GGL—NH—CH₂—C(=O)—NH—(CH₂)₆—NH—C(=O)—O—CH₂—CH(CH₃)—NH—C(=O)—O—[C₁₂H₁₇O₅]
45	Полимер —GGV—NH—CH₂—C(=O)—NH—(CH₂)₆—NH—C(=O)—O—CH₂—CH(CH₃)—NH—C(=O)—O—[C₁₂H₁₇O₅]
46	Полимер —GGF—NH—CH₂—C(=O)—NH—(CH₂)₆—NH—C(=O)—O—CH₂—CH(CH₃)—NH—C(=O)—O—[C₁₂H₁₇O₅]
47	Полимер —GGG—NH—CH₂—C(=O)—NH—(CH₂)₆—NH—C(=O)—O—CH₂—CH(CH₃)—NH—C(=O)—O—[C₁₂H₁₇O₅]
48	Полимер —GFL—NH—CH₂—C(=O)—NH—(CH₂)₆—NH—C(=O)—O—CH₂—CH(CH₃)—NH—C(=O)—O—[C₁₂H₁₇O₅]
49	

* где полимер имеет структуру:



и предпочтительно структуру:



Для целей настоящего изобретения химические элементы обозначаются согласно периодической таблице элементов, версия, CAS, Handbook of Chemistry and Physics, 67th Ed., 1986-87, inside cover.

Термин "алкил" относится к радикалу полностью насыщенной разветвленной или неразветвленной углеродной цепи, имеющей указанное число атомов углерода, или вплоть до 30 атомов углерода, если число атомов не указывается. Например, термин "низший алкил" относится к алкилу, имеющему от 1 до 10 атомов углерода, такому как метил, этил, пропил, бутил, пентил, гексил, гептил и октил, и алкилам, которые являются позиционными изомерами этих алкилов. Алкил, содержащий от 10 до 30 атомов углерода, включает в себя децил, ундецил, додецил, тридецил, тетрадецил, пентадецил, гексадецил, гептадецил, октадецил, нонадецил, эйкозил, гениекозил, докозил, трикозил и тетракозил. В некоторых вариантах осуществления алкил с неразветвленной цепью или разветвленной цепью имеет 30 или меньше атомов углерода в его главной цепи (например, C_1 - C_{30} для неразветвленных цепей, C_3 - C_{30} для разветвленных цепей) и более предпочтительно 20 или меньше. Подобным же образом, некоторые циклоалкилы имеют 3-10 атомов углерода в их циклической структуре и могут иметь 5, 6, или 7 атомов углерода в циклической структуре.

Если число атомов углерода не указано иначе, термин "низший алкил", применяемый в контексте, означает алкильную группу, определяемую выше, но имеющую от одного до десяти атомов углерода или от одного до шести атомов углерода в основной цепи, такой как метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, изобутил, втор-бутил и трет-бутил. Аналогично этому, "низший алкенил" и "низший алкинил" имеют аналогичные длины цепей. На всем протяжении заявки некоторые алкильные группы являются низшими алкилами. В некоторых вариантах осуществления заместитель, обозначенный в контексте как алкил, представляет собой низший алкил.

Термин "карбоцикл", применяемый в контексте, относится к ароматическому или неароматическому кольцу, в котором каждый атом кольца является атомом углерода.

Термин "арил", используемый в контексте, включает в себя 5-, 6- и 7-членные моноциклические ароматические группы, которые могут содержать от нуля до четырех гетероатомов, например, бензол, пиррол, фуран, тиофен, имидазол, оксазол, тиазол,

триазол, пиразол, пиридин, пиразин, пиридазин и пиримидин и тому подобное. Эти арильные группы, имеющие гетероатомы в циклической структуре, можно также называть "арильными гетероциклами" или "гетероароматическими циклами". Ароматическое кольцо может быть замещено в одном или нескольких положениях кольца такими заместителями, какие описаны выше, например, галогеном, азидом, алкилом, аралкилом, алкенилом, алкинилом, циклоалкилом, гидроксилом, алкоксилем, аминами, нитро, сульфгидрилом, имином, амидом, фосфонатом, фосфинатом, карбонилем, карбоксилем, силилом, простым эфиром, алкилтиом, сульфонилем, сульфонамидом, кетоном, альдегидом, сложным эфиром, гетероциклилом, ароматическими или гетероароматическими остатками, $-\text{CF}_3$, $-\text{CN}$, или т.д. Термин "арил" включает в себя также полициклические системы, имеющие два или более колец, у которых два или более атомов углерода являются общими для двух сопряженных колец (кольца являются "конденсированными кольцами"), у которых по меньшей мере одно из колец является ароматическим, другими кольцами могут быть, например, циклоалкилы, циклоалкенилы, циклоалкинилы, арилы и/или гетероциклилы.

Термин "алкенил" относится к радикалу любой разветвленной или неразветвленной ненасыщенной углеродной цепи, имеющей указанное число атомов углерода или до 26 атомов углерода, если не указывается никакое ограничение для числа атомов углерода, и имеющей одну или несколько двойных связей. Примерами алкенила с числом атомов углерода от 6 до 26, являются гексенил, гептенил, октенил, ноненил, деценил, ундеценил, додеценил, тридеценил, тетрадеценил, пентадеценил, гексадеценил, гептадеценил, октадеценил, нонадеценил, эйкозенил, генэйкозоенил, докозенил, трикозенил и тетракозенил в их различных изомерных формах, у которых ненасыщенная связь (и) может быть расположена в любом положении радикала и может иметь либо (Z)-, либо (E)-конфигурацию относительно двойной связи (ей).

Термин "алкинил" относится к углеводородным радикалам диапазона алкенила, но имеющим одну или несколько тройных связей в радикале.

Термины "алкоксил" или "алкокси", используемые в контексте,

относятся к алкильной группе, имеющей значения, указанные выше, и имеющей присоединенный к ней кислородный радикал. Репрезентативные алкоксигруппы включают в себя метокси, этокси, пропокси, трет-бутокси и тому подобное. Термин "простой эфир" образуют два углеводорода, ковалентно связанные атомом кислорода. Соответственно этому, заместитель алкила, который превращает этот алкил в простой эфир, являющийся алкоксилем или похожий на алкоксил, который может быть представлен одной из групп $-O\text{-алкил}$, $-O\text{-алкенил}$, $-O\text{-алкинил}$, $-O-(CH_2)_m-R_1$, где m и R_1 имеют значения, указанные ниже.

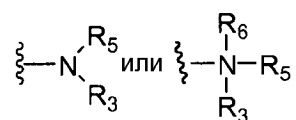
Термины "гетероциклил" или "гетероциклическая группа" относятся к 3-10-членным циклическим структурам, более предпочтительно 3 -7-членным кольцам, структуры колец которых включают в себя от одного до четырех гетероатомов. Гетероциклы могут быть также полициклами. Гетероциклические группы включают в себя, например, тиофен, тиантрен, фуран, пиран, изобензофуран, хромен, ксантен, феноксатин, пиррол, имидазол, пиразол, изотиазол, изоксазол, пиридин, пиразин, пиримидин, пиридазин, индолизин, изоиндол, индол, индазол, пурин, хинолизин, изохинолин, хинолин, фталазин, нафтиридин, хиноксалин, хиназолин, циннолин, птеридин, карбазол, карболин, фенантридин, акридин, пиримидин, фенантролин, феназин, фенарсазин, фенотиазин, фуразан, феноксазин, пирролидин, оксолан, тиолан, оксазол, пиперидин, пиперазин, морфолин, лактоны, лактамы, такие как азетидиноны и пирролидиноны, сультамы, сультамы и тому подобное. Гетероциклическое кольцо может быть замещено в одном или нескольких положениях такими заместителями, какие описаны выше, как, например, галоген, алкил, аралкил, алкенил, алкинил, циклоалкил, гидроксил, амино, нитро, сульфгидрил, имино, амидо, фосфат, фосфонат, фосфинат, карбонил, карбоксил, силил, сульфоамид, сульфенил, простой эфир, алкилтио, сульфенил, кетон, альдегид, сложный эфир, гетероциклил, ароматический или гетероароматический остаток, $-CF_3$, $-CN$ или тому подобное.

Термин "алкилтио" относится к алкильной группе, определяемой выше, имеющей присоединенный к ней радикал серы. В некоторых вариантах осуществления остаток "алкилтио" представлен

одним из остатков $-(S)-\text{алкил}$, $-(S)-\text{алкенил}$, $-(S)-\text{алкинил}$ и $-(S)-(\text{CH}_2)_m-\text{R}_1$, где m и R_1 имеют значения, указанные ниже. Репрезентативные алкилтиогруппы включают в себя метилтио, этилтио и тому подобное.

Применяемый в настоящем описании термин "нитро" означает $-\text{NO}_2$; термин "галоген" означает F , Cl , Br или I ; термин "сульфгидрил" означает $-\text{SH}$; термин "гидроксил" означает $-\text{OH}$ и термин "сульфонил" означает $-\text{SO}_2-$.

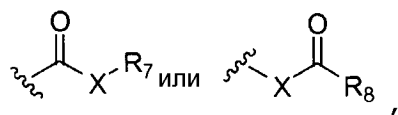
Термины "амин" и "амино" являются признанными в данной области терминами и относятся как к незамещенным, так и замещенным аминам, например, остатку, который можно представить общими формулами:



в которых каждый из R_3 , R_5 и R_6 независимо представляет собой водород, алкил, алкенил, $-(\text{CH}_2)_m-\text{R}_1$ или R_3 и R_5 , взятые вместе с N -атомом, к которому они присоединены, представляют собой гетероцикл, имеющий от 4 до 8 атомов в структуре кольца, R_1 представляет собой алкенил, арил, циклоалкил, циклоалкенил, гетероциклил или полициклил и m равно нулю или целому числу в диапазоне 1-8. В некоторых вариантах осуществления только один из R_3 и R_5 может быть карбонилем, например, R_3 , R_5 и атом азота вместе не образуют имид. В некоторых вариантах осуществления каждый из R_3 и R_5 (и необязательно R_6) независимо представляет собой водород, алкил, алкенил или $-(\text{CH}_2)_m-\text{R}_1$. Таким образом, термин "алкиламин", применяемый в контексте, означает аминогруппу, определяемую выше, имеющую замещенный или незамещенный алкил, присоединенный к ней, т.е. по меньшей мере один из R_3 и R_5 представляет собой алкильную группу. В некоторых вариантах осуществления, аминогруппа или алкиламин является основным, это означает, что он имеет $\text{pR}_a \geq 7,00$. Протонированные формы этих функциональных групп имеют pK_a s относительно воды выше 7,00.

Термин "карбонил" ($\text{C}(\text{O})$) является признанным в данной области термином и включает в себя такие остатки, которые можно

представить общей формулой:

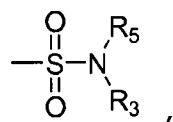


в которых X представляет собой связь или кислород, или серу, R₇ представляет собой водород, алкил, алкенил, -(CH₂)_m-R₁ или его фармацевтически приемлемую соль, R₈ представляет собой водород, алкил, алкенил или -(CH₂)_m-R₁, где m и R₁ имеют значения, указанные выше. Когда X представляет собой кислород и R₇ или R₈ не является водородом, формула представляет собой "сложный эфир". Когда X представляет собой атом кислорода и R₇ имеет значения, указанные выше, остаток называют в контексте карбоксильной группой, и в частности, когда R₇ представляет собой водород, формула представляет собой "карбоновую кислоту". Когда X представляет собой атом кислорода и R₈ представляет собой водород, формула представляет собой "формиат". Вообще, когда атом кислорода приведенной выше формулы заменен атомом серы, формула представляет собой "тиокарбонильную" группу. Когда X представляет собой атом серы и R₇ или R₈ не является водородом, формула представляет собой "сложную тиоэфирную" группу. Когда X представляет собой серу и R₇ представляет собой водород, формула представляет собой группу "тиокарбоновой кислоты". Когда X представляет собой серу и R₈ представляет собой водород, формула представляет собой "тиоформиатную" группу. С другой стороны, когда X представляет собой связь и R₇ не является водородом, вышеприведенная формула представляет собой "кетоновую" группу. Когда X представляет собой связь и R₇ представляет собой водород, вышеприведенная формула представляет собой "альдегидную" группу.

Предполагается, что применяемый в контексте термин "замещенный", включает в себя все допустимые заместители органических соединений. В широком аспекте допустимые заместители включают в себя ациклические и циклические, разветвленные и неразветвленные, карбоциклические и гетероциклические, ароматические и неароматические заместители органических соединений. Иллюстративные заместители включают в себя, например, заместители, которые описаны в контексте выше.

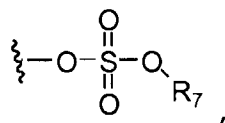
Допустимыми заместителями могут быть один или несколько заместителей, и они могут быть одинаковыми или разными для соответствующих органических соединений. Для целей настоящего изобретения гетероатомы, такие как азот, могут иметь водородные заместители и/или любые допустимые заместители органических соединений, описанные в контексте, которые удовлетворяют валентностям гетероатомов. Предполагается, что данное изобретение не ограничивается никоим образом допустимыми заместителями органических соединений. Должно быть понятно, что термин "замещение" или "замещенный" включает в себя явное условие, что такое замещение находится в соответствии с допустимой валентностью замещенного атома и заместителя и что замещение приводит к стабильному соединению, например, соединению, которое самопроизвольно не подвергается превращению, такому как перегруппировка, циклизация, элиминирование и т.д.

Термин "сульфамоил" является признанным в данной области и включает в себя остаток, который можно представить общей формулой:



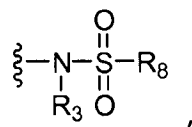
в которой R₃ и R₅ имеют значения, указанные выше.

Термин "сульфат" является признанным в данной области и включает в себя остаток, который можно представить общей формулой:



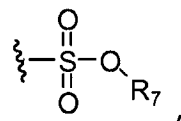
в которой R₇ имеет значения, указанные выше.

Термин "сульфамидо" является признанным в данной области и включает в себя остаток, который можно представить общей формулой:



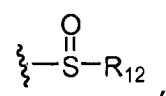
в которой R₂ и R₄ имеют значения, указанные выше.

Термин "сульфонат" является признанным в данной области и включает в себя остаток, который можно представить общей формулой:



в которой R_7 представляет собой пару электронов, водород, алкил, циклоалкил или арил.

Термины "сульфоксидо" или "сульфинил", применяемые в контексте, относятся к остатку, который можно представить общей формулой:



в которой R_{12} выбран из группы, состоящей из водорода, алкила, алкенила, алкинила, циклоалкила, гетероциклила, аралкила или арила.

Аналогичные замещения могут быть образованы для алкенильных и алкинильных групп для получения, например, аминоалкенилов, аминоалкинилов, амидоалкенилов, амидоалкинилов, иминоалкенилов, иминоалкинилов, тиаалкенилов, тиаалкинилов, карбонилзамещенных алкенилов или алкинилов.

Имеется в виду, что применяемое в контексте определение каждого обозначения, например, алкила, m, n и т.д., когда оно встречается более чем один раз в любой структуре, является независимым от его определения в другом месте той же структуры.

Предполагается, что термин "аминокислота" включает в себя все соединения, независимо от того, являются ли они природными или синтетическими, которые содержат как в функциональную аминогруппу, так и функциональную группу кислоты, в том числе аналоги и производные аминокислот. В некоторых вариантах осуществления аминокислоты, рассматриваемые в настоящем изобретении, являются природными аминокислотами, найденными в белках, или существующими в природе анаболическими или катаболическими продуктами таких аминокислот, которые содержат аминогруппы и карбоксильные группы. Природные аминокислоты обозначают во всех случаях общепринятыми трехбуквенными и/или

однобуквенными аббревиатурами, соответствующими тривиальному названию аминокислоты согласно нижеследующему списку. Такие аббревиатуры признаются в области пептидов и рекомендуются комиссией IUPAC-IUB для биохимической номенклатуры.

Термин "аминокислотный остаток" означает аминокислоту. В целом, аббревиатуры, применяемые в настоящем контексте для обозначения природных аминокислот, основаны на рекомендациях комиссии IUPAC-IUB по биохимической номенклатуре (см. *Biochemistry* (1972) 11:1726-1732). Например, Met, Ile, Leu, Ala и Gly представляют собой "остатки" метионина, изолейцина, лейцина, аланина и глицина, соответственно. Термин остаток означает радикал, полученный из соответствующей α -аминокислоты элиминированием OH-части карбоксильной группы и атома H α -аминогруппы.

Термин "боковая цепь аминокислоты" означает часть аминокислотного остатка за исключением главной цепи, как указано K.D. Kopple, "Peptides and Amino Acids", W.A. Benjamin Inc., New York and Amsterdam, 1966, pages 2 and 33; примерами таких боковых цепей обычных аминокислот являются $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SCH}_3$ (боковая цепь метионина), $-\text{CH}_2(\text{CH}_3)-\text{CH}_2\text{CH}_3$ (боковая цепь изолейцина), $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ (боковая цепь лейцина) или H- (боковая цепь глицина). Эти боковые цепи являются "подвесками" у α -атома углерода главной цепи.

Термин "пептид", применяемый в контексте, относится к последовательности аминокислотных остатков, соединенных вместе пептидными связями или модифицированными пептидными связями. Предполагается, что термин "пептид" включает в себя аналоги пептидов, производные пептидов, пептидомиметики и пептидные варианты. Должно быть понятно, что термин "пептид" включает в себя пептиды любой длины. Пептидные последовательности, представленные в контексте, написаны в соответствии с общепринятой договоренностью, в результате которой N-концевая аминокислота находится слева, а C-концевая аминокислота находится справа (например, $\text{H}_2\text{N-AA}_1\text{-AA}_2\text{-AA}_3\text{-AA}_4\text{-AA}_5\text{-AA}_6\text{-CO}_2\text{H}$).

Некоторые соединения настоящего изобретения могут существовать в индивидуальных геометрических или стереоизомерных

формах. Настоящее изобретение рассматривает все такие соединения, включающие в себя цис- и транс-изомеры, R- и S-энантиомеры, диастереомеры, (D)-изомеры, (L)-изомеры, их рацемические смеси и другие их смеси, включаемые в объем настоящего изобретения. Дополнительные асимметричные атомы углерода могут присутствовать в заместителе, таком как алкильная группа. Предполагается, что все такие изомеры, а также их смеси включаются в данное изобретение. Любое представление конкретного изомера является просто репрезентативным (например, указанный в качестве примера транс-изомер включает в себя также цис-изомер).

Если, например, нужен конкретный энантиомер соединения настоящего изобретения, его можно получить асимметричным синтезом или превращением соединения в производное реакцией с хиральным вспомогательным агентом, затем разделением полученной смеси диастереомеров и отщеплением вспомогательной группы для получения, чистого требуемого энантиомера. Альтернативно, когда молекула содержит основную функциональную группу, такую как аминогруппа, или кислотную функциональную группу, такую как карбоксил, диастереомерные соли получают реакцией с подходящей оптически активной кислотой или основанием с последующим разделением таким образом образованных диастереомеров фракционной кристаллизацией или хроматографическим способом, хорошо известными в данной области, и затем выделением чистого энантиомера.

Синтез соединений изобретения

Синтетические способы данного изобретения могут быть пригодными для разных функциональных групп, поэтому можно применять различные замещенные исходные соединения. Такие способы обычно обеспечивают получение желаемого конечного соединения в конце или вблизи окончания всего способа получения, хотя в некоторых случаях может быть желательно дальнейшее превращение соединения в его фармацевтически приемлемую соль, сложный эфир или пролекарство.

Соединения настоящего изобретения можно получить различными путями с использованием коммерчески доступных исходных веществ, соединений, известных в литературе, или из легко получаемых

промежуточных соединений, с применением стандартных синтетических способов и процедур, которые либо известны специалистам в данной области, либо будут очевидны специалистам в данной области в свете излагаемого в контексте материала. Стандартные синтетические методы и процедуры для получения органических молекул и превращений или обработок функциональных групп можно получить из соответствующей научной литературы или из стандартных учебников в данной области. Хотя и не ограниченные каким-либо одним или несколькими источниками, классические учебники, такие как Smith, M.B., March, J. *March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure*, 5th edition, John Wiley & Sons: New York, 2001; и Greene, T.W., Wuts, P.G.M., *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3rd edition, John Wiley & Sons: New York, 1999, включенные в контекст в качестве ссылки, являются применимыми и признанными эталонными учебниками органического синтеза, известными специалистам в данной области. Нижеследующие описания синтетических методов предназначены для иллюстрации, но не для ограничения общих процедур для получения соединений настоящего изобретения.

Соединения настоящего изобретения можно удобно получить различными методами, известными специалистам в данной области. Соединения настоящего изобретения можно получить согласно схемам и примерам, представленным в контексте, из коммерчески доступных исходных веществ или исходных веществ, которые можно получить с применением процедур, описанных в литературе. Соединения настоящего изобретения и их синтез дополнительно описаны в публикациях РСТ №№ WO 2011/150088 и WO 2011/150022. Каждая из этих публикаций включена в качестве ссылки во всей ее полноте для всех целей.

Фармацевтические композиции

Настоящее изобретение относится также к фармацевтическим композициям, содержащим соединение настоящего изобретения или его фармацевтически приемлемые соли, сольваты, диастереомеры и полиморфы и фармацевтически приемлемый носитель или наполнитель.

Предполагается, что применяемый в контексте термин

"фармацевтически приемлемый наполнитель" или "фармацевтически приемлемый носитель", включает в себя любые и все растворители, дисперсионные среды, покрытия, антибактериальные и противогрибковые агенты, изотонические и задерживающие всасывание агенты и тому подобное, совместимые с фармацевтическим введением. Подходящие носители описываются в самом последнем издании Remington's Pharmaceutical Sciences, стандартном ссылочном тексте в данной области. Предпочтительные примеры таких носителей или разбавителей включают в себя, но не ограничиваются ими, воду, физиологический раствор, растворы Рингера, раствор декстрозы и 5% сывороточный альбумин человека.

Фармацевтически приемлемые носители включают в себя твердые носители, такие как лактоза, сульфат кальция, сахароза, тальк, желатин, агар, пектин, аравийская камедь, стеарат магния, стеариновая кислота и тому подобное. Репрезентативные жидкие носители включают в себя сироп, арахисовое масло, оливковое масло, воду и тому подобное. Аналогично этому, носитель или разбавитель может включать в себя вещество для задержки времени высвобождения, известное в данной области, такое как глицерилмоностеарат или глицерилдистеарат, отдельно или вместе с воском, этилцеллюлоза, гидроксипропилметилцеллюлоза, метилметакрилат и тому подобное. Другие наполнители, эксципиенты, корригенты и другие добавки, такие как добавки, известные в данной области, также можно включать в фармацевтическую композицию согласно настоящему изобретению. Можно также применять липосомы и неводные наполнители, такие как нелетучие масла. Использование таких сред и агентов для фармацевтически активных веществ хорошо известно в данной области. Рассматривается применение обычной среды или агента в композициях изобретения, за исключением любой обычной среды или агента, который является несовместимым с активным соединением. Дополнительные активные соединения можно также включать в композиции. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит ДМСО.

Термин "фармацевтически приемлемые соли" относится к относительно нетоксичным аддитивным солям соединения(ий) с

неорганическими и органическими кислотами. Эти соли можно получить *in situ* во время конечного выделения и очистки соединения(ий) или отдельно реакцией очищенного соединения(ий) в форме свободного основания с подходящей органической или неорганической кислотой и выделением таким образом образованной соли. Репрезентативные соли включают в себя гидробромидные, гидрохлоридные, сульфатные, бисульфатные, фосфатные, нитратные, ацетатные, валератные, олеатные, пальмитатные, стеаратные, лауратные, бензоатные, лактатные, фосфатные, тозилатные, цитратные, малеатные, фумаратные, сукцинатные, тартратные, нафтилатные, мезилатные, глюкогептонатные, лактобионатные и лаурилсульфонатные соли и тому подобное. Репрезентативные соли щелочных или щелочноземельных металлов включают в себя соли лития, натрия, калия, кальция, магния и алюминия и тому подобное. Репрезентативные органические амины, применимые для получения основно-аддитивных солей, включают в себя этиламин, диэтиламин, этилендиамин, этаноламин, диэтаноламин, пиперазин и т.д. (См., например, Berge et al. (1977) "Pharmaceutical Salts", J. Pharm. Sci. 66:1-19).

Выражение "фармацевтически приемлемый" используют в контексте для обозначения лигандов, веществ, композиций и/или лекарственных форм, которые, в пределах погрешности медицинской оценки, пригодны для использования в контакте с тканями человека и животных, по существу являются непирогенными, не обладают чрезмерной токсичностью, раздражением, аллергическими реакциями или не связаны с другими проблемами или осложнениями и имеют приемлемое отношение польза/риск.

Применяемый в контексте термин "метаболит" означает продукт метаболизма соединения настоящего изобретения или его фармацевтически приемлемых солей, сольватов, диастереомеров и полиморфов, который проявляет *in vivo* активность, подобную активности соединений настоящего изобретения или его фармацевтически приемлемых солей, сольватов, диастереомеров и полиморфов.

Применяемый в контексте термин "пролекарство" означает соединение настоящего изобретения или его фармацевтически

приемлемые соли, сольваты, диастереомеры и полиморфы, ковалентно связанные с одним или несколькими про-остатками, такими как аминокислотный остаток или другой остаток, способствующий растворению в воде. Соединение настоящего изобретения или его фармацевтически приемлемые соли, сольваты, диастереомеры и полиморфы можно освободить от про-остатка посредством механизмов гидролитического, окислительного и/или ферментативного освобождения. В одном варианте осуществления композиция пролекарства настоящего изобретения имеет дополнительное преимущество, которое проявляется в повышенной растворимости в воде, повышенной стабильности и улучшенных фармакокинетических профилях. Про-остаток можно выбрать для достижения желательных характеристик пролекарства. Например, про-остаток, такой как аминокислотный остаток или другой остаток, способствующий растворению в воде, такой как фосфат в R4, можно выбрать на основе растворимости, стабильности, биологической доступности и/или доставки *in vivo* или поглощения. Примеры пролекарств включают в себя, но не ограничиваются ими, сложные эфиры (например, ацетатные, диалкиламиноацетатные, формиатные, фосфатные, сульфатные и бензоатные производные) и карбаматы (например, N,N-диметиламинокарбонил) гидроксильных функциональных групп, сложные эфиры (например, этиловые эфиры, эфиры морфолиноэтанола) карбоксильных функциональных групп, N-ацилпроизводные (например, N-ацетил), N-основания Манниха, основания Шиффа и енамины функциональных аминогрупп, оксимы, ацетали, кетали и енольные эфиры кетоновых и альдегидных функциональных групп в соединениях изобретения и т.п., см. Bundegaard, H., *Design of Prodrugs*, p 1-92, Elsevier, New York-Oxford (1985).

Методы лечения

Настоящее изобретение относится к способам индуцирования или вызывания потери массы тела у субъекта, нуждающегося в этом, содержащим введение субъекту по меньшей мере одного соединения настоящего изобретения в терапевтически эффективном количестве для индуцирования или вызывания потери массы тела. В некоторых вариантах осуществления субъект имеет избыточную массу или

страдает ожирением. В некоторых вариантах осуществления индуцированием или вызыванием потери массы тела является увеличение потери массы тела.

Настоящее изобретение относится также к способам предотвращения или задержки увеличения массы тела у субъекта при риске такого увеличения, содержащим введение субъекту по меньшей мере одного соединения настоящего изобретения в терапевтически эффективном количестве для предотвращения или задержки увеличения массы тела. В некоторых вариантах осуществления субъект имеет риск стать субъектом с избыточной массой тела или страдать ожирением.

Настоящее изобретение относится к способам лечения ожирения у субъекта, нуждающегося в этом, содержащим введение субъекту по меньшей мере одного соединения настоящего изобретения в терапевтически эффективном количестве для лечения или уменьшения интенсивности симптомов ожирения.

Настоящее изобретение относится также к способам предотвращения или задержки развития ожирения у субъекта при риске этого, содержащим введение субъекту по меньшей мере одного соединения настоящего изобретения в терапевтически эффективном количестве для предотвращения или задержки развития ожирения.

Настоящее изобретение относится к способам лечения метаболического синдрома или одного, или нескольких его компонентов у субъекта, нуждающегося в этом, содержащим введение субъекту по меньшей мере одного соединения настоящего изобретения в терапевтически эффективном количестве для лечения или уменьшения интенсивности симптомов метаболического синдрома или одного, или нескольких его компонентов.

Настоящее изобретение относится также к способам предотвращения или задержки развития метаболического синдрома или одного, или нескольких его компонентов у субъекта при риске этого, содержащим введение субъекту по меньшей мере одного соединения настоящего изобретения в терапевтически эффективном количестве для предотвращения или задержки развития метаболического синдрома или одного, или нескольких его компонентов.

Настоящее изобретение относится также к способам уменьшения массы тела у субъекта, нуждающегося в этом, содержащим введение субъекту по меньшей мере одного соединения настоящего изобретения в терапевтически эффективном количестве для уменьшения массы тела. В некоторых вариантах осуществления субъект имеет избыточную массу или страдает ожирением. В некоторых вариантах осуществления субъект нуждается в уменьшении избыточной жировой ткани.

Ожирение и избыточная масса относятся к избытку жира у субъекта относительно обезжиренной массы тела. Накопление избыточного жира связано с увеличением размера (гипертрофией или стеатозом), а также числа (гиперплазия) клеток жировых тканей. Ожирение может быть обусловлено любой причиной, независимо от того, является ли оно генетическим, (например, синдром Прадера-Вилли) или вызванным внешними условиями (энвайроментальным). Ожирение различным образом измеряют в терминах абсолютной массы, отношения масса:высота, степени избыточного жира тела, распределения висцерального и подкожного жира и социальных и эстетических норм. Обычным показателем жира тела является индекс массы тела (BMI). BMI относится к отношению массы тела (выраженной в килограммах) к квадрату роста (выраженному в метрах). Индекс массы тела можно точно вычислить с использованием формулы: единицы измерения SI: BMI = масса (кг) / (рост² (м²) или единицы измерения US: BMI = (масса (фунт) * 703) / (рост² (дюйм²)).

Как описано в контексте, "избыточная масса" относится к состоянию, при котором в других отношениях здоровый взрослый человек имеет BMI от 25 кг/м² до 29,9 кг/м². Описываемый в контексте термин "страдающий ожирением" или "ожирение" относится к состоянию, при котором в других отношениях здоровый взрослый человек имеет BMI 30 кг/м² или более. Ожирение имеет несколько подкатегорий. Взрослого человека, который имеет BMI 35 кг/м² или больше, называют человеком, страдающим "патологическим ожирением" или человеком с "патологическим ожирением". Взрослого человека, который имеет BMI ≥40-44,9 кг/м², и/или взрослого

человека, который имеет индекс массы тела 35 кг/м^2 или больше и по меньшей мере одно связанное с ожирением состояние здоровья называют человеком, страдающим «болезненным ожирением», или человеком с "болезненным ожирением". Взрослого человека, который имеет BMI 45 кг/м^2 или больше, называют человеком, "страдающим чрезмерным ожирением", или человеком с "чрезмерным ожирением". Для детей определения избыточной массы и ожирения учитывают возрастные и гендерные влияния на массу жира тела.

Различные страны могут определять ожирение и избыточную массу посредством разных BMI . Имеется в виду, что термин "ожирение" имеет определения во всех странах. Например, повышенные риски, связанные с ожирением, имеют место при более низком индексе массы тела (BMI) в Азии. В азиатских странах, в том числе Японии, "ожирение" относится к состоянию, при котором субъект по меньшей мере с одним индуцированным ожирением или связанным с ожирением сопутствующим заболеванием, которое требует снижения массы тела или симптомы которого можно улучшить снижением массы тела, имеет BMI больше или равный $25,0 \text{ кг/м}^2$. Этнические жители Южной и Центральной Америки имеют тенденцию при классификации быть отнесенными ближе к азиатам, чем к европейцам или североамериканцам.

BMI не объясняет тот факт, что избыток жировой ткани может иметь место избирательно в различных частях тела, и развитие жировой ткани может быть более опасным для здоровья в некоторых частях тела, а не в других частях тела. Например, "центральное ожирение", обычно ассоциируемое с телом "формы яблока", является результатом избыточного ожирения, особенно в области живота, в том числе образования жира живота и висцерального жира, и обуславливает более высокий риск сопутствующего заболевания, чем "периферическое ожирение", которое обычно ассоциируется с "грушевидной формой" тела, являющейся результатом избыточного ожирения, особенно на бедрах. Измерение отношения размеров талии/бедер (WHR) можно применять в качестве индикатора центрального ожирения. Минимальное значение WHR , характерное для центрального ожирения, устанавливали различными способами, и взрослые люди с центральным ожирением обычно имеют WHR

приблизительно 0,85 или больше для женщин и приблизительно 0,9 или больше для мужчин.

Оценку заболевания осуществляют с помощью стандартных методов, известных в данной области, например, мониторингом соответствующего маркера(ов). Например, для оценки ожирения можно проводить мониторинг следующих маркеров: массы тела, BMI, изучения телосложения, распределения жира тела, распределения центрального жира, потребления пищи или калорий, поведенческого измерения голода и насыщения, интенсивности обмена веществ и связанных с ожирением сопутствующих заболеваний.

Методы определения того, имеет ли объект избыточную массу или ожирение, которые вычисляют отношение избыточной жировой ткани к обезжиренной массе тела, могут включать определение телосложения субъекта. Телосложение можно определить измерением толщины подкожного жира в нескольких местах тела, таких как брюшная область, подлопаточная область, руки, ягодицы и бедра. Эти измерения затем используются для оценки общего жира тела с пределом погрешности аппроксимативно четыре процента. Другим методом является анализ биоэлектрического импеданса (BIA), в котором используют сопротивление электрической потока при прохождении через тело для оценки жира тела. В другом методе используют большой резервуар с водой для измерения плавучести тела. Увеличение жира тела приведет к большей его плавучести, в то время как более высокая мышечная масса обуславливает тенденцию к погружению. Другим методом является двухэнергетическая рентгеновская абсорбциометрия с веерным пучком (DEXA). DEXA позволяет неинвазивно определять телосложение, особенно массу общего жира тела и/или регионального жира. Для неинвазивного определения телосложения можно также применять МРТ.

Что касается всех описанных в контексте способов, ссылка на соединения настоящего изобретения включает в себя также композиции, такие как фармацевтические композиции, описываемые в контексте и содержащие одно или несколько этих соединений. Эти композиции могут дополнительно содержать подходящие наполнители, такие как фармацевтически приемлемые наполнители, включающие в

себя буферы, которые хорошо известны в данной области. Способ лечения настоящего изобретения можно применять отдельно или в сочетании с другими традиционными методами лечения.

Субъект, нуждающийся в лечении, предлагаемым настоящим изобретением, может также иметь (т.е. у него диагностировано или у него имеется) по меньшей мере одно индуцированное ожирением или связанное с ожирением сопутствующее заболевание, т.е. заболевания и другие неблагоприятные состояния, связанные с избыточной массой или ожирением, или обостренные или спровоцированные избыточной массой или ожирением. В других вариантах осуществления субъект может иметь по меньшей мере два вызванных ожирением или связанных с ожирением сопутствующих заболевания.

Вызванные ожирением или связанные с ожирением сопутствующие заболевания включают в себя, но не ограничиваются ими, диабет, инсулиннезависимый сахарный диабет типа II, нарушенную толерантность к глюкозе, нарушенное содержание глюкозы в крови натощак, патологическое изменение содержания сахара в крови, повышенные концентрации инсулина в плазме, синдром инсулинорезистентности, гиперлипидемию, дислипидемию, повышенное содержание свободных жирных кислот, гипертензию, гиперурикемию, подагру, заболевание коронарной артерии, заболевание сердца, инфаркт миокарда, стенокардию, болезнь микрососудов, апноэ во сне, обструктивное апноэ во сне, синдром Пиквика, ожирение печени; инфаркт головного мозга, инсульт, тромбоз сосудов головного мозга, респираторные осложнения, желчно-каменная болезнь, заболевание желчного пузыря, заболевание почек, желудочно-пищеводный рефлюкс, стрессовое недержание мочи, атеросклероз, болезнь сердца, аномальные ритмы сердца, сердечные аритмии, транзиторную ишемическую атаку, ортопедические нарушения, остеоартрит, деформирующий артрит, прострел, расстройство менструального цикла, гормональный дисбаланс, эндокринопатию и бесплодие. В частности, сопутствующие заболевания включают в себя гипертензию, гиперлипидемию, дислипидемию, непереносимость глюкозы, сердечнососудистое заболевание, апноэ во сне, сахарный диабет и другие состояния,

связанные с ожирением.

Настоящее изобретение относится в дополнение к лечению ожирения или индуцированию, вызыванию или увеличению потери массы тела (снижение массы) у субъекта, нуждающегося в этом, методам лечения одного или нескольких таких индуцированных ожирением или связанных с ожирением сопутствующих заболеваний у субъекта, страдающего указанными сопутствующими заболеваниями, содержащим введение субъекту по меньшей мере одного соединения настоящего изобретения в терапевтически эффективном количестве для лечения или уменьшения интенсивности симптомов ожирения или уменьшения массы тела и лечения или уменьшения интенсивности симптомов одного или нескольких индуцированных ожирением или связанных с ожирением сопутствующих заболеваний.

Настоящее изобретение относится к способам лечения метаболических нарушений или метаболического синдрома у субъекта, нуждающегося в этом, где указанный синдром характеризуется группой метаболических факторов риска, включающих в себя: 1) абдоминальное ожирение (избыточная жировая ткань в животе и вокруг живота); 2) атерогенную дислипидемию (высокий уровень триглицеридов, низкий уровень холестерина HDL и высокий уровень холестерина LDL или низкое отношение HDL:LDL); 3) повышенное кровяное давление; 4) инсулинорезистентность или непереносимость глюкозы; 5) протромботическое состояние (например, высокое содержание фибриногена или ингибитора-1 активатора плазминогена в крови); 6) провоспалительное состояние (например, повышенное содержание CRP в крови); и 7), преддиабет или сахарный диабет 2 типа. Настоящее изобретение можно применять для лечения только метаболического заболевания(ий) или в сочетании с лечением ожирения или индуцированием, вызыванием или увеличением потери массы тела.

Настоящее изобретение относится также, в дополнение к лечению ожирения или индуцированию, вызыванию или увеличению потери массы тела у субъекта, нуждающегося в этом, к способам лечения, ослабления или уменьшения интенсивности симптома одного или нескольких кардиометаболических факторов риска, выбранных из (без ограничения указанным) группы, состоящая из уровней

триглицеридов плазмы, уровней LDL-холестерина, уровней С-реактивного белка (CRP) и кровяного давления (систолического и/или диастолического) у субъекта, имеющего указанные факторы риска, включающим в себя введение субъекту по меньшей мере одного соединения настоящего изобретения в терапевтически эффективном количестве для лечения или уменьшения интенсивности симптомов ожирения или уменьшения массы тела, и лечения или уменьшения интенсивности симптомов одного или нескольких факторов риска.

Соединение настоящего изобретения или его фармацевтически приемлемую соль, пролекарство, метаболит, аналог или производное, можно вводить в сочетании со вторым активным агентом. Второй активный агент может быть также конъюгирован с полимером.

Рассматриваемые вторые активные агенты включают в себя агенты, вводимые для лечения сахарного диабета 2 типа, такие как сульфонилмочевины (например, хлорпропамид, глипизид, глибурид, глимепирид); меглитиниды (например, репаглинид и натеглинид); бигуаниды (например, метформин); тиазолидиндионы (розиглитазон, троглитазон и пиоглитазон); подобные глюкагону миметики пептида 1 (например эксенатид и лираглутид); ингибиторы сопереносчика натрия-глюкозы (например, дапаглифлозин), ингибиторы дипептидилпептидазы 4 (например, глиптины), ингибиторы переносчика связанной натрий-глюкозы, ингибиторы ренина и ингибиторы альфа-глюкозидазы (например, акарбоза и меглитол), и/или агенты, вводимые для лечения сердечных нарушений и состояний, таких как гипертензия, дислипидемия, ишемическая болезнь сердца, кардиомиопатии, инфаркт миокарда, инсульт, венозная тромбоэмболическая болезнь и легочная гипертензия, которые были связаны с избыточной массой тела или ожирением, например, хлорталидон; гидрохлоротиазид; индапамид, метолазон; петлевые диуретики (например, буметанид, этакриновая кислота, фуросемид, лазикс, торсемид); агенты, предотвращающие вывод калия из организма (например, амилорида гидрохлорид, спиронолактон и триамтерен); агенты для периферической нервной системы (например, резерпин); альфа-агонисты для центральной

нервной системы (например, клонидина гидрохлорид, гуанабензацетат, гуанфацина гидрохлорид и метилдопа); альфа-блокаторы (например, доксазозина мезилат, празозина гидрохлорид и теразозина гидрохлорид); бета-блокаторы (например, ацебутолол, атенолол, бетаксолол, низопролола фумарат, картеолола гидрохлорид, метопролола тартрат, метопролола сукцинат, надолол, пенбутолола сульфат, пиндолол, пропранолола гидрохлорид и тимолола малеат); сочетание альфа- и бета-блокаторов (например, карведилол и лабеталола гидрохлорид); вазодилататоры прямого действия (например, гидралазина гидрохлорид и миноксидил); антагонисты кальция (например, дилтиазема гидрохлорид и верапамила гидрохлорид); дигидропиридины (например, амлодипина безилат, фелодипин, исрадипин, никардипин, нифедипин и низолдипин); ингибиторы АСЕ (беназеприла гидрохлорид, каптоприл, эналаприла малеат, фозиноприл натрий, лизиноприл, моэксиприл, хинаприла гидрохлорид, рамиприл, трандолаприл); блокаторы рецептора ангиотензина II (например лозартан калий, валсартан и ирбесартан) и их комбинации, а также статины, такие как мевастатин, ловастатин, правастатин, симвастатин, велостатин, дигидрокомпактин, флувастатин, аторвастатин, далвастатин, карвастатин, крилвастатин, бевастатин, цефвастатин, розувастатин, питавастантин и гленвастатин, обычно для лечения дислипидемии.

Другие вторые активные агенты, которые можно вводить совместно (например, последовательно или одновременно), включают в себя агенты, который вводят для лечения ишемической болезни сердца, включая статины, нитраты (например, изосорбида динитрат и изосорбида моонитрат), бета-блокаторы и антагонисты кальциевых каналов, агенты, которые вводят для лечения кардиомиопатии, в том числе инотропные агенты (например, дигоксин), диуретики (например, фуросемид), ингибиторы АСЕ, антагонисты кальция, антиаритмических агенты (например, сотолол, амиодарон и дизопирамид) и бета-блокаторы, агенты, которые вводят для лечения инфаркта миокарда, включая ингибиторы АСЕ, блокаторы рецептора ангиотензина II, вазодилататоры прямого действия, бета-блокаторы, антиаритмические агенты и

тромболитические средства (например, альтеплаза, ретаплаза, тенектеплаза, анистреплаза и урокиназа), агенты, которые вводят для лечения инсультов, включающие в себя антитромбоцитарные агенты (например, аспирин, клопидогрел, дипиридамо́л и тиклопидин), антикоагулянты (например, гепарин) и тромболитические агенты, агенты, которые вводят для лечения венозной тромбоэмболии, включая агенты, препятствующие склеиванию тромбоцитов, антикоагулянты и тромболитические агенты, агенты, которые вводят для лечения легочной гипертензии, включающие в себя инотропные агенты, антикоагулянты, диуретики, калий (например, K-dur), сосудорасширяющие средства (например, нифедипин и дилтиазем), бозентан, эпопростенол и силденафил, агенты, которые вводят для лечения астмы, включающие в себя бронхолитики, противовоспалительные агенты, блокаторы лейкотриена и агенты анти-IgE. Конкретные агенты для лечения астмы включают в себя зафирлукаст, флунисолид, триамцинолон, беклометазон, тербуталин, флутиказон, формотерол, беклометазон, салметерол, теофиллин и хопенекс, агенты, которые вводят для лечения апноэ во сне, включают в себя модафинил и амфетамины, агенты, которые вводят для лечения безалкогольного жирового перерождения печени, включающие в себя антиоксиданты (например, витамины E и C), сенситизаторы инсулина (метформин, пиоглитазон, розиглитазон и бетаин), гепатопротекторы и агенты, снижающие содержание липидов, агенты, которые вводят для лечения остеоартрита держащих массу суставов, включающие в себя ацетаминофен, нестероидные противовоспалительные агенты (например, ибупрофен, этодолак, оксaproзин, напроксен, диклофенак, и набуметон), ингибиторы COX-2 (например, целекоксиб), стероиды, добавки (например, глюкозамин и хондроитина сульфат) и искусственную суставную жидкость, агенты, которые вводят для лечения синдрома Прадера-Вилли, включающие в себя гормон роста человека (HGH), соматропин, и агенты для потери массы тела (например, орлистат, сибутрамин, метамфетамин, ионамин, фентермин, бупропион, диэтилпропион, фендиметразин, бензфетермин и топамакс), агенты, которые вводят для лечения синдрома поликистозных яичников, включающие в себя

сенситизаторы инсулина, комбинации синтетического эстрогена и прогестерона, спиронолактон, эфлорнитин и кломифен, агенты, которые вводят для лечения эректильной дисфункции, включающие в себя ингибиторы фосфодиэстеразы (например, тадалафил, силденафил цитрат и варденафил), аналоги простагландина Е (например, алпростадил), алкалоиды (например, йохимбин) и тестостерон, агенты, которые вводят для лечения бесплодия, включающие в себя кломифен, кломифена цитрат, бромокриптин, гонадотропинвысвобождающий гормон гипоталамуса (GnRH), агонисты GnRH, антагонисты GnRH, тамоксифен/нолвадекс, гонадотропины, хорионический гонадотропин человека (HCG), климактерический гонадотропин человека (HmG), прогестерон, рекомбинантный фолликулостимулирующий гормон (FSH), урофоллитропин, гепарин, фоллитропин альфа и фоллитропин бета, агенты, которые вводят для лечения родовых осложнений, включающие в себя бупивакаина гидрохлорид, динопростон PGE₂, меперидин HCl, ферро-фолик-500/иберет-фолик-500, меперидин, метилэргоновина малеат, ропивакаина HCl, налбуфина HCl, оксиморфона HCl, окситоцин, динопростон, ритодрин, скополамина гидробромид, суфентанила цитрат, и средство, стимулирующее родовую деятельность, агенты, которые вводят для лечения депрессии, включающие в себя ингибиторы обратного захвата серотонина (например, флуоксетин, эсциталопрам, циталопрам, пароксетин, сертралин и венлафаксин); трициклические антидепрессанты (например, амитриптилин, амоксапин, кломипрамин, дезипрамин, дозулепина гидрохлорид, доксепин, имипрамин, иприндол, лофепрамин, нортриптилин, опипрамол, протриптилин и тримипрамин); ингибиторы моноаминоксидазы (например, изокарбоксазид, моклобемид, фенелзин, транилципромин, селегилин, разагилин, ниламид, ипрониазид, ипроклозид, толосатон, линезолид, диенолид, кавалирон, дезметоксиангонин и декстроамфетамин); психостимуляторы (например, амфетамин, метамфетамин, метилфенидат и ареколин); антипсихотические средства (например, бутирофеноны, фенотиазины, тioxантены, клозапин, оланзапин, рисперидон, кветиапин, zipразидон, амисульприд, палиперидон, симбиакс, тетрабеназин и каннабидиол) и

стабилизаторы настроения (например, карбонат лития, вальпроевая кислота, дивалпроекс натрий, валпроат натрия, ламотригин, карбамазепин, габапентин, окскарбазепин и топирамат), агенты, которые вводят для лечения тревоги, включающие в себя ингибиторы обратного захвата серотонина, стабилизаторы настроения, бензодиазепины (например, алпразолам, клоназепам, диазепам и лоразепам), трициклические антидепрессанты, ингибиторы моноаминоксидазы, и бета-блокаторы, и другие агенты для потери массы тела, включающие в себя серотонин и ингибиторы норадренергического обратного захвата; ингибиторы норадренергического обратного захвата; селективные ингибиторы обратного захвата серотонина и ингибиторы кишечной липазы. Конкретные агенты для потери массы тела включают в себя орлистат, сибутрамин, метамфетамин, ионамин, фентермин, бупропион, диэтилпропион, фендиметразин, бензфетермин и топамакс.

Настоящее изобретение относится также к способам уменьшения адипоцитов у субъекта, нуждающегося в этом, содержащим введение субъекту по меньшей мере одного соединения настоящего изобретения в терапевтически эффективном количестве для уменьшения адипоцитов или жировой ткани. Настоящее изобретение относится также к способам предотвращения увеличения адипоцитов у субъекта с риском этого, содержащим введение субъекту по меньшей мере одного соединения настоящего изобретения в терапевтически эффективном количестве для предотвращения увеличения адипоцитов. Уменьшение адипоцитов означает уменьшение числа или уменьшение размера (содержания жира) адипоцитов. Предотвращение увеличения адипоцитов означает уменьшение или поддержание числа, или уменьшение или поддержание размера адипоцитов. В некоторых вариантах осуществления введение соединений настоящего изобретения сжимает (сморщивает) адипоциты у субъекта, нуждающегося в этом. Жировая ткань может быть белой жировой тканью или коричневой жировой тканью.

Настоящее изобретение относится также к способам уменьшения потребления пищи субъектом, который нуждается в таком уменьшении, содержащим введение субъекту по меньшей мере одного

соединения настоящего изобретению в терапевтически эффективном количестве для уменьшения потребления пищи.

Уменьшение потребления пищи означает уменьшение ежедневного рациона питания. Уменьшение ежедневного рациона может быть от приблизительно 5% уменьшения до приблизительно 50% уменьшения (например, приблизительно 5%, приблизительно 10%, приблизительно 20%, приблизительно 30%, приблизительно 40% или приблизительно 50%). На основании ежедневного рациона с 2000 ккал уменьшение составляет от приблизительно 100 ккал до приблизительно 1000 ккал в день (например, приблизительно 100 ккал, приблизительно 200 ккал, приблизительно 400 ккал, приблизительно 600 ккал, приблизительно 800 ккал или приблизительно 1000 ккал).

Настоящее изобретение относится также к способам ослабления чувства голода у субъекта, который нуждается в таком ослаблении, содержащим введение субъекту по меньшей мере одного соединения настоящего изобретения в терапевтически эффективном количестве для ослабления чувства голода. Субъект может также уменьшить потребления пищи.

Чувство голода можно оценить в голодном состоянии с применением 10-точечной визуальной аналоговой шкалы (VAS), которую успешно применяют при изучении аппетита. См. Flint et al. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* 24(1): 38-48, 2000. В частности, субъектов просят оценить их общее чувство голода в течение предыдущих 2 дней по шкале 1-10, где точка 10 была состоянием чрезвычайного голода, и точка 1 была состоянием совсем без чувства голода.

Способы настоящего изобретения могут также уменьшить окружность талии у субъекта, нуждающегося в этом. Окружность талии оценивают с помощью ленты измерения, расположенной вокруг живота на 1 см выше подвздошного гребня. Субъекты настоящего изобретения могут иметь уменьшение окружности талии от приблизительно 2,54 см (1 дюйм) до приблизительно 50,80 см (20 дюймов) (например, 2,54, 5,06, 7,62, 10,16, 12,70, 15,24, 17,78, 20,32, 22,86, 25,40, 27,94, 30,48, 33,02, 35,56, 38,10, 40,64, 43,18, 45,72, 48,26 или 50,80 см или 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 дюймов,

соответственно) .

В способах настоящего изобретения введение соединений приводит к уменьшению жира тела и существенному сохранению мышечной массы у указанного пациента. В некоторых вариантах осуществления после введения соединения окисление жиров у пациента увеличивается по сравнению с пациентом, имеющим только ограниченный прием пищи. Например, в контексте предложен способ уменьшения жира тела у пациента, нуждающегося в этом. Такой пациент может сохранять значительно больше мышечной массы по сравнению с уменьшением жира тела у пациента, потребляющего только ограниченное количество пищи.

Настоящее изобретение относится также к способам улучшения результата хирургической операции у субъекта, нуждающегося в этом, содержащим введение субъекту перед хирургической операцией по меньшей мере одного соединения настоящего изобретения в терапевтически эффективном количестве для улучшения результата хирургической операции. В некоторых вариантах осуществления введение уменьшает жир печени и/или брюшной полости указанного пациента и улучшает результат хирургической операции. В некоторых вариантах осуществления хирургическая операция не является экстренной хирургической операцией. Такие хирургические операции могут включать в себя операции бариатрической хирургии, сердечнососудистой хирургии, абдоминальной хирургии или ортопедической хирургии.

Термин "пациент" или "субъект", указываемый в контексте, может означать либо человека, либо субъекта, не являющегося человеком. В некоторых вариантах осуществления субъект является позвоночным животным. В некоторых вариантах осуществления позвоночное животное является млекопитающим. Термин млекопитающие включает в себя также, но не ограничивается указанным, сельскохозяйственных животных, спортивных животных, приматов (включая человека), лошадей, собак, кошек, мышей и крыс. В некоторых вариантах осуществления млекопитающим является человек.

Применяемое в контексте выражение "субъект, нуждающийся в этом", означает субъект, который имеет избыточную массу или

страдает ожирением (который может иметь или может не иметь одно или несколько сопутствующих заболеваний), или субъект, имеющий повышенный риск иметь избыточную массу или развития ожирения относительно популяции в целом. В некоторых аспектах субъектом, нуждающимся в этом, является страдающий ожирением пациент, имеющий BMI 30 кг/м² или более. В некоторых аспектах изобретения субъектом, который нуждается в этом, является субъект, который имеет избыточную массу или страдает ожирением, или имеет повышенный риск иметь избыточную массу или развития ожирения по сравнению с популяцией в целом, который не страдает этим или у которого не диагностировано заболевание, выбранное из группы, состоящей из рака, гиперпролиферативного нарушения, ретинальной неоваскуляризации вследствие макулярной дегенерации, псориаза и пиогенной гранулемы, ревматоидного, иммунного и дегенеративного артрита.

Термин "профилактическое или терапевтическое" лечение является признаваемым в данной области термином и включает в себя введение хозяину одной или нескольких рассматриваемых композиций. Если ее вводят до клинического проявления нежелательного состояния (например, заболевания или другого нежелательного состояния животного-хозяина), то лечение является профилактическим (т.е. оно защищает хозяина от развития нежелательного состояния), тогда как, если ее вводят после проявления нежелательных состояния, лечение является терапевтическим (т.е. оно предназначено для уменьшения, облегчения или стабилизации интенсивности симптомов существующего нежелательного состояния или его побочных действий).

Применяемый в контексте термин "лечение" является подходом для достижения полезных или желаемых клинических результатов. Для целей настоящего изобретения полезные или желаемые клинические результаты включают в себя, но не ограничиваются ими, один или несколько из следующих результатов: улучшение, уменьшение тяжести, ослабление одного или нескольких симптомов, связанных с заболеванием. При ожирении полезные или желаемые клинические результаты включают в себя любой один или несколько

из следующих результатов: снижение или сохранение массы тела; регулирование (в том числе снижение) потребления пищи или потребления калорий; увеличение скорости обмена веществ или ингибирование снижения скорости обмена веществ и улучшение, уменьшение тяжести и/или ослабление любого из нарушений, связанных с ожирением, такого как сахарный диабет, инсулиннезависимый сахарный диабет, гипергликемия, низкая толерантность к глюкозе, инсулинорезистентность, липидное нарушение, дислипидемия, гиперлипидемия, гипертриглицеридемия, гиперхолестеринемия, ожирение брюшной полости, расстройство пищевого поведения, метаболический синдром, гипертензия, остеоартрит, инфаркт миокарда, жировое перерождение печени, стеатогепатит, неалкогольный стеатогепатит (NASH), неалкогольное жировое перерождение печени (NAFLD), инсульт и другие ассоциированные заболевания; улучшение качества жизни людей, страдающих ожирением, и/или продление продолжительности жизни.

Применяемый в контексте термин "задержка" развития ожирения означает откладывание, препятствование, замедление, торможение, стабилизация и/или отстранивание развития болезни. Эта задержка может иметь различные интервалы времени в зависимости от истории болезни и/или подвергаемого лечению индивидуума. Как очевидно специалисту в данной области, достаточная или значительная задержка может фактически включать в себя предотвращение, поскольку у индивидуума заболевание не развивается. Например, одним результатом задержки развитие может быть снижение массы тела субъекта при риске ожирения относительно массы тела этого субъекта непосредственно перед введением композиций, описанных в контексте. Другим результатом задержки развития может быть предотвращение возвращения массы тела, которая была ранее потеряна в результате ограничения рациона питания, физических упражнений или фармакотерапии. Другим результатом задержки развития может быть предотвращение появления ожирения, если лечение проводят до появления ожирения у субъекта при риске ожирения. Другим результатом задерживания развитие может быть уменьшение возможности появления и/или тяжести связанных с ожирением нарушений, если лечение проводят до начала появления

ожирения у субъекта при риске ожирения.

Индивидуум "с риском" ожирения может иметь или может не иметь выявляемое заболевание и может иметь или может не иметь указанное выявляемое заболевание до лечения методами, описанными в контексте. Выражение "при риске" означает, что индивидуум имеет один или несколько так называемых факторов риска, которые являются измеряемыми параметрами, которые коррелируют с развитием ожирения. Индивидуум, имеющий один или несколько из этих факторов риска, имеет более высокую вероятность ожирения, чем индивидуум без этого фактора(ов) риска. Эти факторы риска включают в себя, но не ограничиваются ими, возраст, рацион питания, отсутствие физической активности, метаболический синдром, семейную историю ожирения, этническую принадлежность, наследственные синдромы, историю предыдущего заболевания (например, нарушение пищевого поведения, метаболический синдром и ожирение), наличие предшествующего заболевания (например, избыточная масса). Например, говоря по-другому, здоровый индивидуум с BMI от 25,0 до менее 30,0 кг/м² или индивидуум по меньшей мере с одним сопутствующим заболеванием и с BMI от 25,0 кг/м² до менее 27,0 кг/м² имеют риск появления ожирения.

"Развитие" ожирения означает начало и/или прогрессирование заболевания у индивидуума (которое может быть другим вариантом изобретения). Развитие ожирения может быть выявляемым с помощью стандартных клинических методов, описываемых в контексте. Однако развитие относится также к прогрессированию заболевания, которое может быть первоначально невыявляемым. Для целей настоящего изобретения прогрессирование относится к биологическому течению патологического состояния, в этом случае определяемому оценкой роста и массы для вычисления BMI, измерением окружности талии, установлением сопутствующих заболеваний, а также началом и/или обострением осложнений при ожирении, таких как атеросклероз, диабет типа II, поликистоз яичников, сердечнососудистые заболевания, остеоартрит, дерматологические нарушения, гипертензия, инсулинорезистентность, гиперхолестеринемия, гипертриглицеридемия и желчнокаменная болезнь. Различные такие диагностические тесты хорошо известны в данной области техники.

Термин "развитие" включает в себя появление, повторение и начало развития. Используемый в контексте термин "начало" или "появление" ожирения включает в себя начало первого появления и/или повторение.

Применяемое в контексте выражение "регулирование массы тела" или "улучшение массы тела" относится к уменьшению или поддержанию массы тела у индивидуума (по сравнению с уровнем массы перед лечением). В некоторых вариантах осуществления массу тела обычно поддерживают в пределах нормального диапазона. Массу тела можно уменьшить уменьшением потребления калорий и/или уменьшением накопления жира тела. В некоторых вариантах осуществления массу тела индивидуума снижают по меньшей мере приблизительно на 3%, 4%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40% или 50% по сравнению с уровнем перед лечением.

Применяемое в контексте выражение "регулирование потребления пищи" относится к снижению или поддержанию потребления пищи индивидуумом (по сравнению с уровнем перед лечением). В некоторых вариантах осуществления потребление пищи обычно поддерживают в пределах нормы. В некоторых вариантах осуществления потребление пищи индивидуумом снижают приблизительно на 3%, 4%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, или 50% по сравнению с уровнем перед лечением.

Термин "терапевтически эффективное количество" соединения при использовании его при лечении, относится к количеству соединения в препарате, которое при введении как части требуемой схемы приема лекарственного средства (млекопитающему, предпочтительно человеку) ослабляет симптом, улучшает состояние или замедляет или предотвращает наступление болезненных состояний согласно клинически приемлемым стандартам для нарушения или состояния, подвергаемого лечению, или для косметической цели, например, при приемлемом отношении польза/риск, применимом для любого лечения лекарственным средством. Термин "терапевтически эффективное количество" является синонимом термину "эффективная доза".

Применяемый в контексте термин "эффективная доза" или "эффективное количество" лекарственного средства, соединения или

фармацевтической композиции является количеством, достаточным для достижения целебных или желательных результатов. Для

профилактического применения, целебные или желательные результаты включают в себя такие результаты, как устранение или снижение риска, уменьшение тяжести или задержка начала заболевания, в том числе биохимических, гистологических и/или поведенческих симптомов заболевания, его осложнений и промежуточных патологических фенотипов, присутствующих во время развития заболевания. Для терапевтического применения целебные или желательные результаты включают в себя такие клинические результаты, как снижение интенсивности, продолжительности или частоты приступов заболевания и уменьшение интенсивности одного или нескольких симптомов, являющихся результатом заболевания (биохимических, гистологических и/или поведенческих симптомов), включающих его осложнения и промежуточные патологические фенотипы, присутствующие в процессе развития заболевания, повышение качества жизни людей, страдающих таким заболеванием, уменьшение дозы других лекарственных средств, требуемых для лечения этого заболевания, повышение действия другого лекарственного средства и/или замедление прогрессирования заболевания пациентов. Эффективную дозу можно ввести одним или несколькими введениями. Для целей настоящего изобретения эффективная доза лекарственного средства, соединения или фармацевтической композиции является количеством, достаточным для достижения профилактического или терапевтического лечения либо непосредственно, либо опосредованно. Как понятно из клинического контекста, эффективная доза лекарственного средства, соединения или фармацевтической композиции может или не может быть получена в сочетании с другим лекарственным средством, соединением или фармацевтической композицией. Таким образом, "эффективную дозу" можно рассматривать в контексте введения одного или нескольких терапевтических агентов, и можно считать, что один агент вводится в эффективном количестве, если желательный результат может быть достигнут или достигается в сочетании его с одним или несколькими другими агентами. Например, эффективное количество соединения настоящего

изобретения для лечения ожирения является количеством, достаточным для лечения или уменьшения интенсивности одного или нескольких симптомов, связанных с ожирением. Термин "эффективное количество" означает количество, достаточное для того, чтобы привести к одному или нескольким из следующих результатов (которые могут также соответствовать различным вариантам осуществления настоящего изобретения): уменьшению массы, восстановлению нормальной массы или регулированию массы тела, уменьшению потребления, восстановлению нормального потребления пищи или регулированию потребления пищи, увеличению интенсивности обмена веществ, ослаблению одного или нескольких симптомов, являющихся результатом заболеваний, связанных с ожирением, повышению качества жизни людей, страдающих ожирением, и/или удлинению продолжительности жизни.

При лечении субъекта одним или несколькими соединениями, описанными в контексте, доза вводимого соединения(ий) будет изменяться в зависимости от таких факторов, как возраст, масса, рост, пол, общее состояние здоровья, предыдущая история болезни, прогрессирование заболевания, путь введения, препарат и тому подобное.

Дозировку соединения настоящего изобретения можно определять эмпирически для индивидуумов, которым соединение вводят один или несколько раз. Индивидуумам соединения настоящего изобретения вводят в приращаемых дозах. Для оценки эффективности соединения настоящего изобретения можно проводить мониторинг маркеров патологического состояния. Специалисту в данной области техники должно быть, очевидно, что дозировка будет изменяться в зависимости от индивидуума, стадии заболевания (например, стадии ожирения), и применяемых прошлых и одновременных лечений.

Токсичность и терапевтическую эффективность соединений настоящего изобретения можно определять стандартными фармацевтическими процедурами с участием экспериментальных животных. Токсические дозы можно определять, как максимально переносимые дозы (MTD) или альтернативно LD50 (дозы, летальные для 50% популяции). Эффективные дозы можно определять, как ED50

(доза, терапевтически эффективная для 50% популяции) или дозу, необходимую для обеспечения некоторой средней величины изменения у животного (например, дозу, необходимую для обеспечения среднего снижения систолического кровяного давления на 10 мм Hg в группе субъектов).

Идеально эффективные и токсические дозы можно определять для индивидуумов одного и того же вида. Однако, если их определяют для разных видов, можно применять аллометрическое масштабирование для перевода эффективной или токсической дозы для другого вида. Отношение доз между токсическим и терапевтическим действиями является терапевтическим индексом, и его можно выразить как отношение LD50/ED50. При сравнении мышей с крысами обычно применяют общепринятый коэффициент масштабирования (пропорциональности) 2; подсчитано, что доза крысы составляет половину дозы мышей. Таким образом, если токсическая доза для крысы составляет 100 мг/кг и эффективная доза для мыши составляет 1 мг/кг, терапевтический индекс для крысы можно вычислить как эффективную дозу для крысы, равную 1 мг/кг/2 или 0,5 мг/кг, а терапевтический индекс составляет 200. FDA определяет лекарственное средство, как имеющее узкий терапевтический диапазон, если (а) имеется менее чем 2-кратное различие между средней летальной и средней эффективной дозой, или (б) имеется менее чем 2-кратное различие между минимальными токсичными и минимальными эффективными концентрациями в крови.

Предпочтительными являются соединения настоящего изобретения, которые имеют высокие терапевтические индексы.

Хотя можно применять соединения настоящего изобретения, которые проявляют токсические побочные действия, следует применять меры для разработки системы доставки, которая "нацеленно" направляет такие соединения настоящего изобретения к месту пораженной ткани, чтобы свести к минимуму возможное повреждение неинфицированных клеток и тем самым уменьшить побочные действия.

Данные, полученные из исследований на животных, можно применять для определения диапазона доз, применяемого для людей. Доза таких соединений настоящего изобретения находится

предпочтительно в пределах диапазона циркулирующих концентраций, которые включают в себя диапазон эффективных доз с небольшой токсичностью или совсем без токсичности. Дозировка может изменяться в пределах этого диапазона в зависимости от используемой лекарственной формы и применяемого пути введения. Для соединений настоящего изобретения с М.М. меньше 1000, терапевтически эффективную дозу можно оценить первоначально из анализов на клеточных культурах, хотя животные модели могут, обеспечит более точную оценку дозы для конъюгатов, в случае которых требуется расщепления связи (линкера) для высвобождения активного остатка. Такую информацию можно использовать для более точного определения доз, применимых для людей. В данной области хорошо известно, что конъюгация с полимером “разбавляет” (т.е. снижает) активность активного остатка (полимер является разбавителем). Это видно на примере модели дозирования мыши противораковыми лекарственными средствами, показанном в следующей таблице.

Исходное лекарственное средство	Доза лекарственного средства (мг/кг)	Конъюгат	Доза конъюгата (мг/кг)
TNP-470	30 (qod)	XMT-1107	800
Доцетаксил	12 (Q4d)	Опаксио	480
CPT-11	20 (q2d)	EZN-2208	145 (q2d)
Доксорубицин	5 (q4d)	PK1	62 (q7d)
Карбоплатин	60 (Qd)	AP-5356	2200

Таким образом, вполне понятно, что конъюгирование с полимером увеличивает клинические дозы, при этом терапевтический индекс не улучшается. Это видно на примере модели дозирования человека противораковыми лекарственными средствами, показанном в следующей таблице.

Исходное лекарственное средство	Доза лекарственного средства (мг/кг)	Конъюгат	Доза конъюгата (мг/м ²)
TNP-470	180	XMT-1107	tbd
Паклитаксил	175	Опаксио	473
CPT-11	125	EZN-2208	260
Доксорубицин	78	PK1	280
Оксалиплатин	85	AP-5346	6400

Конъюгат с полимером и модифицированные соединения настоящего изобретения неожиданно обеспечивают превосходную эффективность и более низкую токсичность по сравнению с неконъюгированным и/или немодифицированным исходным лекарственным средством/активным остатком.

Например, конъюгаты фумагиллола и модифицированные производные фумагиллола настоящего изобретения неожиданно превосходят малые молекулы фумагиллола, поскольку они обеспечивают повышенное снижение массы у мышей DIO при эквивалентных молярных дозах. Соединения настоящего изобретения можно применять при более низких молярных дозах и с менее частым введением доз для обеспечения эквивалентной потери массы. Более низкие молярные дозы и пониженная частота введения дозы уменьшает системное воздействие лекарственного средства и системную токсичность лекарственного средства. Кроме того, конъюгаты фумагиллола и модифицированные производные фумагиллола настоящего изобретения обеспечивают следующее действие, аналогичное действию малых молекул фумагиллола: предпочтительную потерю жира у мышей DIO и снижение потребления пищи.

Традиционные конъюгаты с полимерами ослабляют активность, увеличивают дозы в 5-20 раз и обеспечивают небольшое изменение терапевтического индекса (<2х). В противоположность этому, конъюгаты с полимером соединений настоящего изобретения удивительно и неожиданно обеспечивают повышенный терапевтический индекс (улучшение величины на порядок) и демонстрируют повышенную активность при пониженной дозе.

В способах настоящего изобретения конъюгаты с полимером сопряженных соединения настоящего изобретения неожиданно демонстрируют менее частое введение дозы (например, q4d, введение дозы в каждый четвертый день, q7d, введение дозы в каждый седьмой день, q8d, введение дозы в каждый восьмой день), дозы, которые меньше по меньшей мере на 84 мол.% эквивалента фумагиллола, пониженная AUC (площадь под кривой) в нецелевых компартментах, тогда как терапевтический индекс повышается (> 10x).

В другом варианте осуществления, представленном в контексте, указываются эффективные дозы, например, суточная доза соединения настоящего изобретения. Например, в контексте представлены методы, которые включают в себя введение доз соединения настоящего изобретения, которые эффективны для снижения массы тела. Например, предполагаемая дозировка соединения настоящего изобретения в способах, описанных в контексте, может включать в себя введение дозы, независимо от массы тела, приблизительно 200 мг/день, приблизительно 80 мг/день, приблизительно 40 мг/день, приблизительно 20 мг/день, приблизительно 10 мг/день, приблизительно 5 мг/день, приблизительно 3 мг/день, приблизительно 2 мг/день, приблизительно 1 мг/день, приблизительно 0,5 мг/день, приблизительно 0,2 мг/день, приблизительно 0,05 мг/день, приблизительно 0,01 мг/день или приблизительно 0,001 мг/день.

Эффективное количество лекарственного средства для потери массы у пациента может также быть дозой на основе массы тела или площади поверхности от приблизительно 0,0001 мг/кг до приблизительно 5 мг/кг массы тела в день. Например, предполагаемая доза может быть от приблизительно 0,001 до 5 мг/кг массы тела в день, приблизительно от 0,001 мг/кг до 1 мг/кг массы тела в день, приблизительно от 0,001 мг/кг до 0,1 мг/кг массы тела в день, приблизительно от 0,001 до 0,010 мг/кг массы тела в день или приблизительно 0,007 мг/ кг массы тела в день.

Соединения настоящего изобретения можно вводить в количестве, достаточном для уменьшения массы тела пациента от

приблизительно 0,5 кг/неделю до приблизительно 1 кг/неделю (или от приблизительно 0,5% массы тела в неделю до приблизительно 1% массы тела в неделю). В некоторых вариантах осуществления еженедельное снижение массы тела происходит в течение всего времени лечения.

Введения соединения настоящего изобретения согласно способу настоящего изобретения может быть непрерывным или прерывистым, в зависимости, например, от физиологического состояния реципиента, независимо от того, является ли цель введения терапевтической или профилактической, и других факторов, известных квалифицированным практикам. Введение соединения настоящего изобретения может быть по существу непрерывным на протяжении заранее выбранного периода времени или может быть последовательным введением доз через определенные промежутки времени.

В случае многократных введений в течение нескольких дней или дольше, в зависимости от состояния, лечение продолжают до желаемого подавления симптомов заболевания или до достижения достаточных терапевтических уровней. Например, предполагается введение доз от одного до пяти раз в неделю. В некоторых вариантах осуществления соединения настоящего изобретения вводят приблизительно каждый четвертый день. Другие схемы приема лекарственного средства включают в себя схему с введением 1-5 раз в неделю, каждые три или четыре дня, или реже. В некоторых вариантах осуществления соединения настоящего изобретения вводят приблизительно один раз в неделю, один раз в каждые две недели или приблизительно 1-4 раз в месяц, в зависимости от продолжительности реакции на введение лекарственного средства. Можно применять прерывистую схему приема лекарственных средств с чередующимися дозами через промежутки времени от 2 дней до 7 дней или даже 14 дней. В некоторых вариантах осуществления лечение можно начинать с суточной дозы и затем перейти к еженедельной дозе, даже ежемесячной дозе. Развитие этой терапии легко контролируют общепринятыми методами и анализами или измерением MetAP2, как описано в патенте США N 6548477.

Частоту введения можно определять и корректировать на

протяжении курса терапии. Например, частоту введения можно определять или корректировать в зависимости от типа и тяжести подвергаемого лечению заболевания, независимо от того, вводят ли агент для профилактических или терапевтических целей, предыдущей терапии, истории болезни пациента и реакции на агент и указания лечащего врача. Обычно клиницист будет вводить соединение настоящего изобретения до тех пор, пока не будет достигнута доза, которая позволяет достигать желаемый результат.

Лечение можно продолжить в течение такого длительного или такого короткого периода времени, который является желательным. Подходящим периодом лечения может быть, например, по меньшей мере приблизительно одна неделя, по меньшей мере приблизительно четыре недели, по меньшей мере приблизительно один месяц, по меньшей мере приблизительно шесть месяцев, по меньшей мере приблизительно 1 год, по меньшей мере приблизительно 2 года или неограниченно долго. Период лечения можно ограничить, когда достигается желаемый результат, например, целевая потеря массы тела. Например, когда была достигнута потеря приблизительно 5% массы тела, приблизительно 10% массы тела, приблизительно 20% массы тела, приблизительно 30% массы тела или более. Схема лечения может включать в себя корректирующую фазу, в течение которой соединение настоящего изобретения вводят в дозированном количестве или при частоте введения дозы, достаточных для обеспечения снижения избыточного ожирения, последующую поддерживающую фазу, в течение которой вводят более низкую дозу соединения или применяют уменьшенную частоту дозирования, достаточные для предотвращения повторного развития избыточного ожирения.

Соединения или их фармацевтически приемлемые соли, сложные эфиры или пролекарства (или их фармацевтические композиции) можно вводить любым способом, известным в данной области. Например, соединения или композиции настоящего изобретению вводят пероральным, интраназальным, трансдермальным, локальным, легочным, ингаляционным, трансбуккальным, подъязычным, внутрибрюшинным, подкожным, внутримышечным, внутривенным, ректальным, внутривентральным, подоболочечным и парентеральным

способом. Введение может быть системным, например, внутривенным введением или локализованным введением. В некоторых вариантах осуществления путь введения может быть внутривенным, внутримышечным, подкожным, внутрикожным, внутрибрюшинным, внутриоболочечным, внутриплевральным, внутриматочным, ректальным, вагинальным, местным и т.д. В некоторых вариантах осуществления соединение вводят подкожно.

В одном аспекте соединения настоящего изобретения или их фармацевтически приемлемые соли, сольваты, диастереомеры и полиморфы вводят в подходящей лекарственной форме или в препарате, полученном комбинированием терапевтически эффективного количества (например, эффективного уровня, достаточного для достижения желаемого терапевтического действия) соединения настоящего изобретения или его фармацевтически приемлемых солей, сольватов, диастереомеров, и полиморфов (в качестве активного ингредиента) со стандартными фармацевтическими носителями или разбавителями согласно обычным процедурам (т.е. процедурам получения фармацевтической композиции настоящего изобретения). Эти процедуры могут включать в себя при необходимости смешивание, гранулирование и прессование или растворение ингредиентов для получения желаемого препарата.

Парентеральные лекарственные формы можно получить любым способом, известным в данной области. Например, стерильные инъеклируемые водные или масляные суспензии можно получить согласно способу, известному в данной области техники, с использованием подходящих диспергирующих или смачивающих агентов и суспендирующих агентов.

Пероральные лекарственные формы, такие как капсулы, таблетки, пилюли, порошки и гранулы, можно получить с применением любого подходящего способа, известного в настоящей области техники. Например, соединения настоящего изобретения можно смешать с интросолюбибельными веществами и прессовать в таблетки. Альтернативно, композиции изобретения вводят в жевательные таблетки, измельчаемые таблетки, таблетки, которые быстро растворяются в полости рта или жидкость для промывания

полости рта.

Для введения в легкие (например, для внутрибронхиального введения) соединения настоящего изобретения можно изготовить с обычными наполнителями для получения вводимой ингаляцией композиции в виде тонкоизмельченного порошка или распыляемой жидкости. Для глазного введения соединения настоящего изобретения можно изготавливать с обычными наполнителями, например, в виде глазных капель или глазного имплантата. Среди наполнителей, применимых в глазных каплях, имеются загущающие или гелеобразующие агенты для минимизации потери вследствие слезотечения посредством повышения удерживания в глазах.

Жидкие лекарственные формы для перорального или другого введения включают в себя, но не ограничиваются указанным, фармацевтически приемлемые эмульсии, микроэмульсии, растворы, суспензии, сиропы и эликсиры. Кроме активного агента(ов) жидкие лекарственные формы могут содержать инертные разбавители, обычно используемые в данной области, такие как, например, вода или другие растворители, солюбилизующие агенты и эмульгаторы, такие как этиловый спирт, изопропиловый спирт, этилкарбонат, этилацетат, бензиловый спирт, бензилбензоат, пропиленгликоль, 1,3-бутиленгликоль, диметилформамид, масла (в частности, хлопковое, арахисовое, кукурузное, зародышевое, оливковое, касторовое и кунжутное масла), глицерин, тетрагидрофурфуриловый спирт, полиэтиленгликоли и эфиры жирных кислот и сорбитана и их смеси. Глазные, пероральные или другие системно вводимые композиции кроме инертных разбавителей могут также включать в себя адъюванты, такие как смачивающие агенты и эмульгирующие, и суспендирующие агенты.

Для введения жидких препаратов применимы коммерчески доступные распылители, в том числе струйные распылители и ультразвуковые распылители. Жидкие препараты можно распылять непосредственно и лиофилизированный порошок можно распылять после пересоздания. Альтернативно, соединения настоящего изобретения можно распылять при помощи фторуглеродного состава и ингалятора с измерением доз или вдыхать в виде лиофилизированного и размолотого порошка.

Лекарственные формы для местного или чрескожного введения фармацевтической композиции изобретения могут включать в себя мази, пасты, кремы, лосьоны, гели, порошки, растворы, спреи, ингаляторы или пластыри. Активное вещество смешивают в стерильных условиях с фармацевтически приемлемым носителем и любыми необходимыми консервантами или буферами, которые могут требоваться. Например, чрескожные пути введения достигаются с применением водных капель, аэрозоля, эмульсии или крема.

Чрескожные пластыри могут иметь дополнительное преимущество в обеспечении регулируемой доставки активных ингредиентов в организме. Такие лекарственные формы можно изготовить растворением или диспергированием соединения в подходящей среде. Усилители абсорбции также можно применять для увеличения потока соединения, проходящего через кожу. Скорость можно регулировать либо применением регулирующей скорости мембраны или диспергированием соединения в полимерной матрице или геле.

Композициями для ректального или вагинального введения могут быть суппозитории, которые можно получить смешиванием соединений настоящего изобретения с подходящими, не раздражающими эксципиентами или носителями, такими как масло-какао, полиэтиленгликоль или воск для суппозитория, которые являются твердыми при температуре окружающей среды, но жидкими при температуре тела и, следовательно, плавятся в прямой кишке или вагинальной полости и высвобождают активный агент(ы). Альтернативно, рассматриваемые препараты можно вводить выпуском из просвета эндоскопа после вставки эндоскопа в прямую кишку субъекта.

Специалист в данной области техники может обратиться к общим справочным текстам для изучения подробных описаний известных способов, обсуждаемых в контексте, или эквивалентных способов. Эти тексты включают в себя публикацию Ausubel *et al.*, *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley and Sons, Inc. (2005); Sambrook *et al.*, *Molecular Cloning, A Laboratory Manual* (3d ed.), Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, New York (2000); Coligan *et al.*, *Current Protocols in Immunology*, John Wiley & Sons, N.Y.; Enna *et al.*, *Current*

Protocols in Pharmacology, John Wiley & Sons, N.Y.; Fingl et al., *The Pharmacological Basis of Therapeutics* (1975), *Remington's Pharmaceutical Sciences*, Mack Publishing Co., Easton, PA, 18th edition (1990). Эти тексты, конечно, могут также упоминаться в создании или с помощью аспекта изобретения.

Примеры

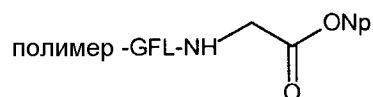
Ниже приведены примеры для дальнейшей иллюстрации различных отличительных признаков настоящего изобретения. Примеры иллюстрируют также применимую методологию для практического осуществления изобретения. Эти примеры не ограничивают заявленное изобретение.

Общие процедуры

Проточную тангенциальную фильтрацию (TFF) применяли для очистки полимерных продуктов изобретения. TFF выполняли с применением капсулы Pall Minimate™ и системы Minimate™ TFF согласно инструкциям изготовителя. Для очистки применяли либо капсулу Minimate TFF с мембраной Omega 5кДа (5K), либо капсулу Minimate TFF с картриджем мембраны Omega 10кДа (10K). Во всех случаях просачиваемую через фильтр часть выгружали и удерживаемую часть лиофилизировали, получая при этом полимерный продукт. Структуры продуктов подтверждали ¹H ЯМР, малые молекулы характеризовали также МС. Массы полимеров, указанные в примерах, не корректировали на содержание воды.

Карбамоилфумагиллол и хлорацетилкарбамоилфумагиллол можно получить согласно способам, описанным в патенте США № 5166172 (Kishimoto, et al., который включен в контекст в качестве ссылки), *p*-нитрофенилфумагил-6-илкарбонат можно получить согласно опубликованным процедурам. (см. Han, C. et al. *Biorg. Med. Chem. Lett.* 2000, 10, 39-43). MA-GFLG-ONp можно получить согласно способам, описанным в патенте США № 5258453 (Коресек et al., включен в контекст в качестве ссылки).

Синтез поли(HPMA-co-MA-GFLG-ONp)]



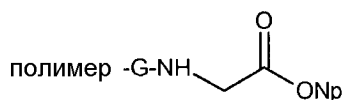
Смесь гидроксипропилметакриламида (HPMA, 22,16 г, 155

ммоль), N-метакрил-gly-phe-leu-gly-п-нитрофенилового эфира (МА-GFLG-ONp, 10,00 г, 17,19 ммоль), AIBN (1,484 г, 9,037 ммоль) и ацетона (225 г) дегазировали (замораживали, откачивали, размораживали, 4 цикла). Полученную реакционную смесь перемешивали при 50°C в течение 48 часов, затем охлаждали до комнатной температуры. Желаемый продукт очищали растиранием с ацетоном, затем сушили в вакууме, получая при этом 17,6 г поли(HPMA-co-MA-GFLG-ONp) в виде белого твердого вещества. Структуру подтверждали ^1H ЯМР и показали, что продукт не содержит существенные примеси (например, п-нитрофенол). Данные УФ-поглощения показали, что сополимер содержал 0,47 ммоль п-нитрофенилового эфира на грамм полимера. Соплимер этого примера использовали в большинстве последующих примеров. Широкий диапазон сополимеров на основе различных мономеров и/или отношений мономеров можно получить по этой процедуре регулированием стехиометрии и/или с использованием различных мономеров.

Синтез поли(HPMA-co-MA-GFLG-OH)

Поли(HPMA-co-MA-GFLG-ONp) (700 мг) добавляли порциями к 0,1 М раствору NaOH (11,3 мл) при 0°C. Желтую реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение 0,5 часа, затем при комнатной температуре в течение 4 часов. Половину раствора подкисляли 0,1 М HCl до pH = 6. Водную фазу экстрагировали этилацетатом для удаления избыточного п-нитрофенола. Водную фазу лиофилизировали, получая при этом поли(HPMA-co-MA-GFLG-OH) в виде бесцветного твердого вещества (360 мг).

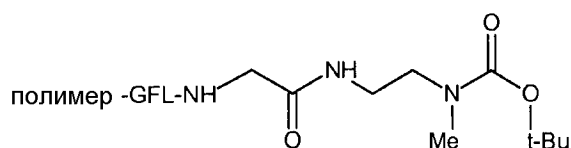
Синтез поли(HPMA-co-MA-GG-ONp)



Через смесь гидроксипропилметакриламида (HPMA, 82,5 г), N-метакрил-gly-gly п-нитрофенилового эфира (МА-GG-ONp, 16,8 г), AIBN (5,7 г) и ацетона (875 г) барботировали аргон в течение 90 мин. Полученную реакционную смесь перемешивали при 50°C в течение 48 часов, затем охлаждали до комнатной температуры. Желаемый продукт очищали растиранием с ацетоном, затем сушили в вакууме,

получая при этом 69,3 г поли(HPMA-co-MA-GG-ONp) в виде белого твердого вещества. Структуру подтверждали ^1H ЯМР и показали, что продукт свободен от значительных примесей (например, п-нитрофенола). Количество п-нитрофенилового эфира на грамм полимера можно определить УФ-поглощением. Широкий диапазон сополимеров на основе различных мономеров и/или отношений мономеров можно получить по данной процедуре регулированием стехиометрии и/или применением различных мономеров.

Синтез поли(HPMA-co-MA-GFLG-NHCH₂CH₂N(Me)BOC) и общая процедура А



Раствор поли(HPMA-co-MA-GFLG-ONp) (1,0 г, 0,534 ммоль) в ДМФА (6 мл) и H₂O (10 мл) добавляли по каплям в течение 15-минутного интервала к раствору трет-бутил-N-(2-аминоэтил)-N-метилкарбамата (0,20 г, 1,15 ммоль) в воде (20 мл) при 0°C. Реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение 15 минут, затем нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 12 часов. Растворители выпаривали при пониженном давлении. Полученный остаток растворяли в воде (50 мл), pH регулировали приблизительно до 8,0 0,1 М раствором NaOH. Раствор фильтровали через фильтр VacuCar, затем очищали с помощью TFF (10 K). Раствор, содержащий полимер, промывали (как часть процесса TFF) 25 mM раствором NaCl (800 мл) для удаления п-нитрофенола, pH раствора регулировали приблизительно до 4 с 0,1 М HCl и затем промывали (как часть процесса TFF) водой (400 мл). Раствор полимера лиофилизировали для отделения соединения поли(HPMA-co-MA-GFLG-NHCH₂CH₂N(Me)BOC) в виде бледно-желтого твердого вещества (720 мг, 71%).

Синтез Fmoc-Phe-Gly-NH-(CH₂)₆NH-Boc

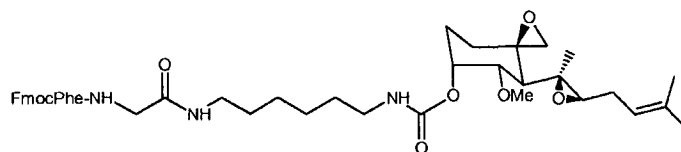
К раствору Fmoc-Phe-Gly-OH (0,66 г) в безводном ТГФ (20 мл) при 0°C в атмосфере N₂ добавляли N,N'-дициклогексилкарбодиимид (0,307 г) и гидрат 1-гидроксibenзотриазола (0,201 г). После перемешивания в течение 15 мин добавляли N-Boc-1,6-диаминогексан

(0,322 г). Реакционной смеси давали возможность нагреться до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. Твердые вещества отделяли фильтрованием и промывали EtOAc. Фильтрат и промывные воды затем концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали колоночной флэш-хроматографией (от 0 до 10% MeOH в CH₂Cl₂), получая при этом Fmoc-Phe-Gly-NH(CH₂)₆NH-Boc в виде белого твердого вещества (0,9 г).

Синтез Fmoc-Phe-Gly-NH(CH₂)₆NH₂·TFA

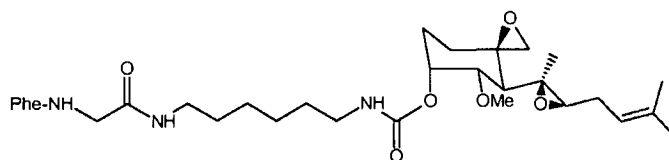
Fmoc-Phe-Gly-NH-(CH₂)₆NH-Boc (0,7 г) растворяли в CH₂Cl₂ (4 мл) при 0°C в атмосфере N₂ и затем добавляли трифторуксусную кислоту (TFA) (4 мл). Реакционной смеси давали возможность нагреться до комнатной температуры и перемешивали в течение 2 часов в атмосфере N₂. Растворители удаляли при пониженном давлении, и остаток сушили в высоком вакууме, получая при этом 0,71 г Fmoc-Phe-Gly-NH(CH₂)₆NH₂·TFA. Этот неочищенный продукт применяли для получения без дополнительной очистки.

Синтез Fmoc-Phe-Gly-NH(CH₂)₆NH-CO-фумагиллола



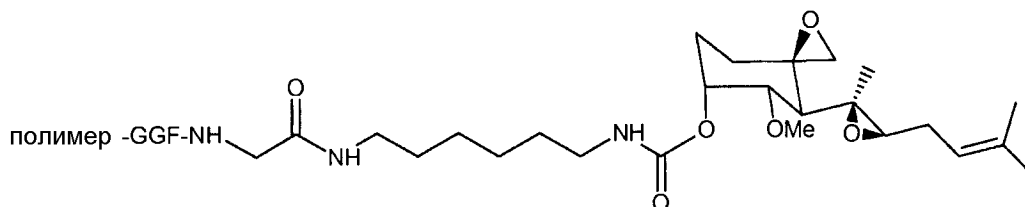
При 0°C к раствору соединения Fmoc-Phe-Gly-NH(CH₂)₆NH₂·TFA (0,71 г) в безводном CH₂Cl₂ (20 мл) и ДМФА (1 мл) в атмосфере N₂ добавляли нитрофенилфумагилл-6-илкарбонат (0,536 г). Затем добавляли диизопропилэтиламин (DIPEA) (0,74 мл). Реакционную смесь оставляли нагреваться до комнатной температуры и затем перемешивали в течение ночи при такой же температуре. Растворители удаляли при пониженном давлении и полученный остаток растворяли в EtOAc (70 мл). Раствор в EtOAc промывали водой и насыщенным раствором соли. Этилацетатный раствор затем сушили над MgSO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной флэш-хроматографией (от 0 до 10% MeOH в CH₂Cl₂), получая при этом Fmoc-Phe-Gly-NH-(CH₂)₆NH-CO-фумагиллол в виде не совсем белого твердого вещества (0,81 г).

Синтез H-Phe-Gly-NH(CH₂)₆NH-CO-фумагиллола

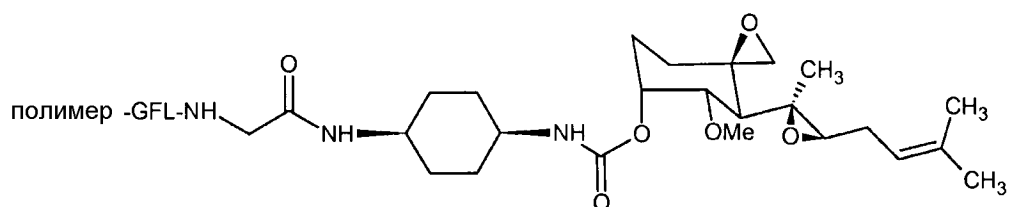


При 0°C к раствору соединения Fmoc-Phe-Gly-NH(CH₂)₆NH-CO-фумагиллол (0,80 г) в безводном CH₂Cl₂ (20 мл) и в атмосфере N₂ добавляли DBU (0,15 г). Реакционную смесь оставляли для нагревания до комнатной температуры. Растворитель удаляли при пониженном давлении и полученный остаток очищали колоночной флэш-хроматографией (от 0 до 10% MeOH в CH₂Cl₂), получая при этом H-Phe-Gly-NH(CH₂)₆NH-CO-фумагиллол в виде бледно-желтой смолы (0,45 г, 76%).

Синтез поли[HPMA-co-MA-GGFG-N-(6-аминогексил)карбамоилфумагиллолла] и общая процедура В



К раствору поли(HPMA-co-MA-GG-ONp) (0,68 г) в безводном ДМФА (12 мл) при 0°C и в атмосфере N₂ добавляли H-Phe-Gly-NH(CH₂)₆NHCO-фумагиллол (0,45 г) в безводном ДМФА (5 мл) с последующим добавлением диизопропилэтиламина (DIPEA) (0,25 мл). Реакционной смеси давали возможность нагреться до комнатной температуры и после перемешивания в течение ночи в атмосфере N₂ добавляли 3-амино-1-пропанол (0,032 г). Смесь перемешивали в течение дополнительного часа. Растворитель удаляли при пониженном давлении и полученный остаток растворяли в 300 мл дистиллированной воды и экстрагировали EtOAc (4 раза). Насыщенный водный раствор NaCl (50 мл) использовали для облегчения разделения фаз. Следы EtOAc удаляли из раствора полимера перемешиванием в потоке газообразного азота. Раствор полимера фильтровали через фильтр vacu car (pH=5,56), концентрировали до 30 мл с помощью TFF с капсулой 10K и промывали водой (700 мл) с помощью TFF. Полимер затем лиофилизировали, получая при этом желаемый конъюгат полимера с поли[HPMA-co-MA-GGFG-N-(6-аминогексил)карбамоилфумагиллолом] в

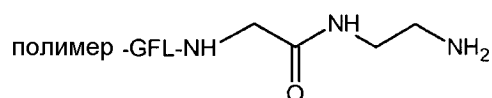


Общая процедура С с применением цис-1,4-диаминоциклогексана (0,914 г) и поли(HPMA-со-МА-GFLG-ONp) (1,5 г) получали поли[HPMA-со-МА-GFLG-N-(цис-4-аминоциклогексиламин·HCl)] в виде не совсем белого твердого вещества (1,08 г).

Синтез проводили общей процедурой F с применением поли[HPMA-со-МА-GFLG-N-(цис-4-аминоциклогексиламин·HCl)] (0,98 г), *p*-нитрофенилфумагилл-6-илкарбоната (0,465 г) и DIEA (0,268 г) в 16 мл ДМФА. Растворитель выпаривали, и раствор разбавляли водой. Водную фазу (всего 500 мл) экстрагировали этилацетатом (всего 80 мл) и очищали фильтром TFF с применением дополнительно 350 мл воды. Оставшуюся часть разбавляли водой, экстрагировали этилацетатом и лиофилизировали, получая при этом поли[HPMA-со-МА-GFLG-N-(цис-4-аминоциклогексил) карбамоилфумагиллола] в виде светло-розового твердого вещества (0,79 г).

^1H ЯМР (ДМСО- d_6): δ 7,90–8,35 (м, 4H, амид-NH), 7,0–7,70 (м, 25H, фенилаланин и амид-NH), 5,26 (м, H-5-Fum), 5,18 (ушир. т, алкен-Fum), 4,60–4,90 (м, 14H), 4,50–4,60 (м, 1H, альфа-протон фенилаланина), 4,10–4,30 (м, 1H, альфа-протон лейцина), 3,40–3,80 (м, 21H), 3,26 (с, 3H, OMe-Fum), 2,80–3,10 (м, 31H), 2,17 (м, 2H, аллил-Fum), 0,37–2,0 [м, 166H {1,69 (с, 3H, Fum-Me), 1,59 (с, 3H, Fum-Me), 1,07 (с, 3H, Fum-Me)}].

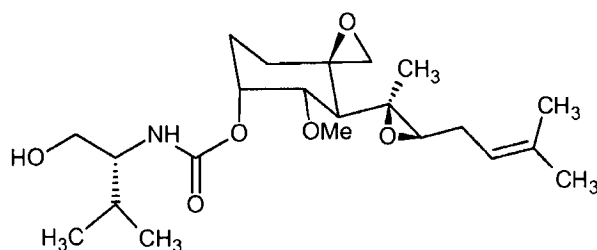
Синтез поли(HPMA-со-МА-GFLG-NHCH₂CH₂NH₂ HCl) и общая процедура С реакции диаминов с поли(HPMA-со-МА-GFLG-ONp)



pH раствора этилендиамина (0,33 г, 5,49 ммоль) в воде (20 мл) 11,7 регулировали до pH 9,1 добавлением 37% водного HCl (17–18 капель). Раствор охлаждали на бане со льдом и к нему добавляли по каплям поли(HPMA-со-МА-GFLG-ONp) (1,03 г) в ДМФА (6 мл) в течение 20 мин при поддержании температуры ниже 4°C. Раствор перемешивали 20 минут при 4°C, 50 мин при комнатной

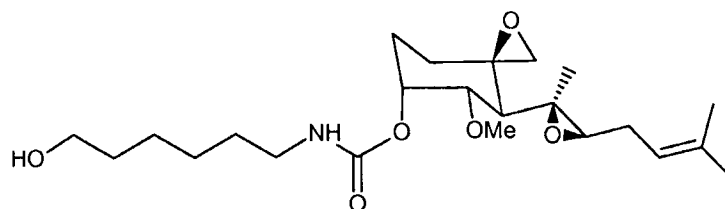
температуре, получая при этом лимонно-желтый раствор, pH 8,1. Раствор упаривали при 40°C. Добавляли H₂O (3×10 мл) и упаривали. Продукт разбавляли водой (60 мл), pH раствора регулировали NaOH до pH 8,0. Раствор фильтровали через фильтр VacuCar и очищали TFF следующим образом. Раствор полимера сначала промывали 25 мМ раствором NaCl (800 мл) для удаления п-нитрофенола. Раствор промывали водой (400 мл), затем pH раствора регулировали до pH 4 с помощью 0,1 М HCl. Оставшуюся часть TFF собирали и фильтр промывали 2×10 мл воды. Объединяли оставшуюся часть и промывные воды, получая раствор полимера, который лиофилизировали для выделения соединения поли(HPMA-co-MA-GFLG-NHCH₂CH₂NH₂ HCl) в виде бледно-желтого твердого вещества (0,71 г, 72%).

Синтез N-[(2R)-1-гидрокси-2-метилбутан-2-ил]карбамоилфумагиллола и общая процедура D



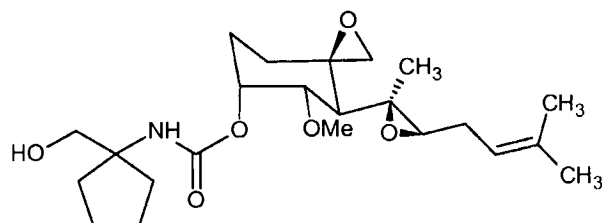
Раствор p-нитрофенилфумагилл-6-илкарбоната (400 мг, 0,89 ммоль) и (R)-2-амино-3-метил-1-бутанола (280 мг, 2,71 ммоль) перемешивали в этаноле (10 мл) при комнатной температуре в течение 12 часов. Желтый раствор концентрировали и остаток очищали флэш-хроматографией (метанол/метиленхлорид), получая при этом N-[(2R)-1-гидрокси-2-метилбутан-2-ил]карбамоилфумагиллол (340 мг, 0,83 ммоль) в виде бесцветного масла.

Синтез N-(6-гидроксигексил)карбамоилфумагиллола



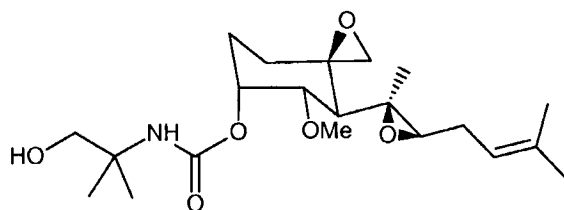
Реакцию проводили по общей процедуре D с применением p-нитрофенилфумагилл-6-икарбоната (150 мг) в этаноле (10 мл) и 6-аминогексанола (48 мг). Продукт выделяли в виде бесцветного масла (110 мг, 78%).

Синтез *N*-[1-(гидроксиметил)циклопентил]карбамоилфумагиллола



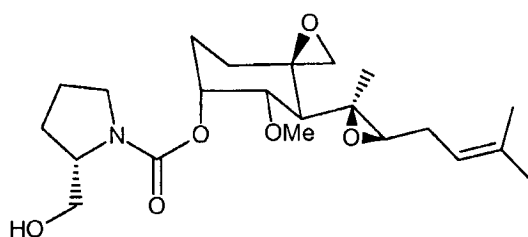
Реакцию проводили по общей процедуре D с применением *p*-нитрофенилфумагилл-6-илкарбоната (100 мг) в этаноле (3 мл) и ТГФ (1 мл) и циклолейцинола (52 мг), получая при этом *N*-[1-(гидроксиметил)циклопентил]карбамоилфумагиллол в виде масла (50 мг).

Синтез *N*-(1-гидрокси-2-метилпропан-2-ил)карбамоилфумагиллола



Реакцию проводили по общей процедуре D с применением *p*-нитрофенилфумагилл-6-илкарбоната (100 мг) в этаноле (3 мл) и ТГФ (2 мл) и 2-амино-2-метилпропанола (40 мг), получая при этом *N*-(1-гидрокси-2-метилпропан-2-ил)карбамоилфумагиллол в виде масла (37 мг).

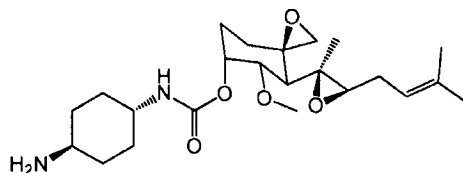
Синтез фумагилл-6-ил-(2*S*)-2-(гидроксиметил)пирролидин-1-карбоксилата



Синтез проводили по общей процедуре D. *S*-Пролинол (68 мг, 0,67 ммоль) подвергали реакции с *p*-нитрофенилфумагилл-6-илкарбонатом (150 мг, 0,335 ммоль) в этаноле (4 мл). Продукт очищали флэш-хроматографией (метанол/метиленхлорид), получая при этом фумагилл-6-ил-(2*S*)-2-(гидроксиметил)пирролидин-1-карбоксилат в виде белой пены (81 мг, 63%).

Синтез *N*-(6-аминогексил)карбамоилфумагиллола

Синтез фумагилл-6-ил-[транс-(4-аминоциклогексил)] карбамата



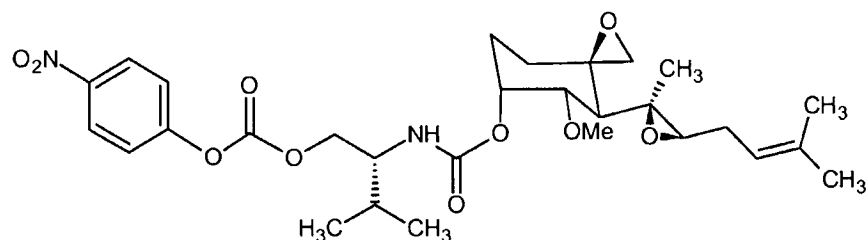
К раствору транс-1,4-диаминоциклогексана (1,3 г) в метаноле (80 мл) при 0-5°C добавляли в течение 30 мин раствор фумагиллол-6-ил-4-нитрофенилкарбоната (1,0 г) в метаноле (20 мл,) и CH_2Cl_2 (20 мл) и затем перемешивали в течение 30 минут. После концентрирования до 20 мл на роторном испарителе и разбавления этилацетатом (75 мл) органический слой промывали водой (30 мл), 0,1 N NaOH (30 мл), водой и насыщенным раствором соли (30 мл), сушили (MgSO_4) и концентрировали при пониженном давлении, получая при этом 0,78 г твердого вещества. Его растворяли в этаноле (80 мл) и добавляли DL-винную кислоту (127 мг). Спустя 1 час происходило образование раствора, который выдерживали в течение ночи перед концентрированием при пониженном давлении для удаления практически всего этанола. Добавляли МТВЕ (100 мл) и

концентрировали с последующим добавлением МТВЕ (30 мл). Твердые вещества собирали фильтрованием и промывали МТВЕ (2×10 мл) и сушили в вакууме, получая при этом полутартрат фумагилл-6-ил-[транс-(4-аминоциклогексил)]карбамата (0,73 г); т.пл. 180-185°C.

Синтез поли[HPMA-co-MA-GFLG-NH(CH₂)₆NH₂·HCl]

Синтез проводили по общей процедуре С с применением 1,6-диаминогексана (621 мг, 5,36 ммоль) и поли-(HPMA-co-MA-GFLG-ONp) (1,0 г). Неочищенный продукт очищали TFF (5 К) с применением водного NaCl (25 mM) и затем подкисляли до pH 4,0 0,1 М HCl и далее очищали TFF с водой, получая при этом поли[HPMA-co-MA-GFLG-NH(CH₂)₆NH₂ HCl] в виде не совсем белого твердого вещества (860 мг).

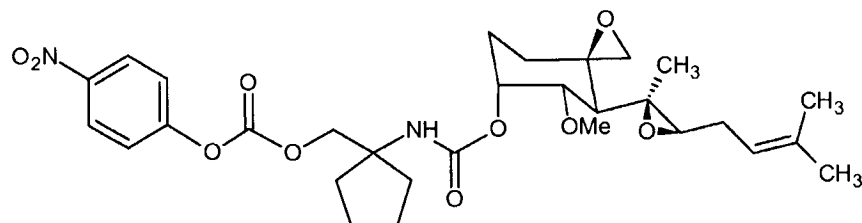
Синтез п-нитрофенил-N-[(2R)-1-гидрокси-2-метилбутан-2-ил]карбамоилфумагиллол-6-илкарбоната и общая процедура E



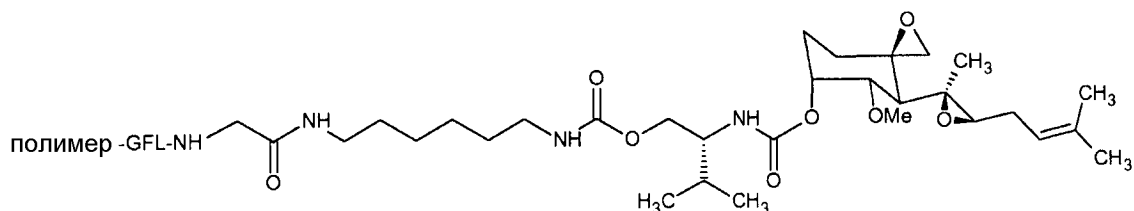
К раствору спирта N-[(2R)-1-гидрокси-2-метилбутан-2-ил]карбамоилфумагиллола (1,11 г) в метиленхлориде при 0°C в атмосфере N₂ добавляли DMAP (660 мг, 5,40 ммоль) с последующим добавлением порциями п-нитрофенилхлорформиата (810 мг). Реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение 1 часа. Растворитель выпаривали, и полученный остаток растворяли в EtOAc и промывали водой, насыщенным раствором соли и сушили (Na₂SO₄). Выпаривание этилацетата давало неочищенный продукт, который очищали флэш-хроматографией (диоксид кремния, элюирование 100% гексаном и затем 2-30% EtOAc). Фракции, содержащие чистый продукт, объединяли и упаривали, выделяя при этом N-(2R)-1-(п-нитрофенилкарбонилгидрокси-2-метилбутан-2-ил]карбамоилфумагиллол (1,25 г, 80%) в виде белого твердого вещества.

Синтез N-[1-(п-нитрофеноксикарбонилгидроксиметил)-2-метилпропан-2-ил]карбамоилфумагиллола

Синтез N-[1-(п-нитрофеноксикарбонилгидроксиметил)-
циклопентил] карбамоилфумагиллола



Синтез поли[HPMA-co-MA-GFLG-NH(CH₂)₆NH-карбамоил-[1-гидрокси-3-метилбутан-2-ил] карбамоилфумагиллола] и общая процедура F

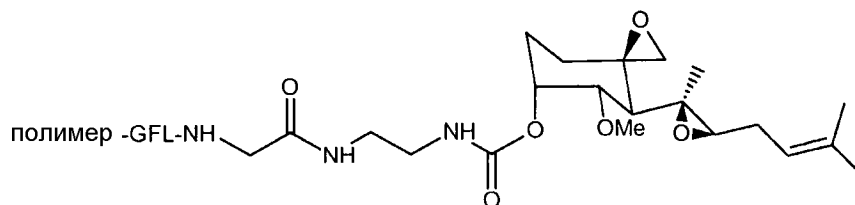


К раствору полимера (400 мг) и п-нитрофенил-N-[(2R)-1-гидрокси-3-метилбутан-2-ил] карбамоилфумагилл-6-илкарбоната (240 мг) в ДМФА (8 мл) при 0°C по каплям добавляли DIEA (0,11 г).

Раствор перемешивали при 0°C в течение одного часа и оставляли для нагревания до комнатной температуры. После 3 дней растворитель выпаривали и добавляли воду (80 мл). Водную фазу экстрагировали этилацетатом (всего 500 мл) до тех пор, пока не было обнаружено отсутствие исходного карбоната методом МС. Водную фазу очищали TFF (10 К) и удержанную часть лиофилизировали, получая при этом конъюгат в виде белого твердого вещества (380 мг, 77%).

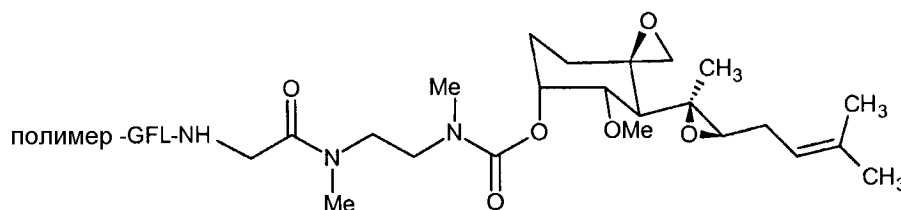
^1H ЯМР (DMSO-d_6): δ 8,25 (ушир. с, 2H, амид-NH), 8,0 (ушир. с, 1H, амид-NH), 7,70 (ушир. с, 2H, амид-NH), 7,10-7,30 (м, 15H, фенилаланин и амид-NH), 7,10 (ушир. т, 1H, NH-Fum), 6,92 (ушир. д, 1H, NH-Fum), 5,26 (м, H-5-Fum), 5,18 (ушир. т, алкен-Fum), 4,50-4,80 (м, 1H, альфа-протон фенилаланина), 4,0-4,21 (м, 1H, альфа протон лейцина), 3,50-3,84 (м, 19H), 3,29 (с, 3H, OMe-Fum), 2,80-3,10 (м, 28H), 2,51 (д, 1H, $J=4,4$ Гц, H-2-Fum), 2,19 (м, 2H, аллил-Fum), 0,82-1,92 (м, 131H), 1,84 (м, 2H, Fum), 1,72 (с, 3H, Fum-Me), 1,60 (с, 3H, Fum-Me), 1,09 (с, 3H, Fum-Me), 0,84 (дд, 6H, Fum-изопропил).

Синтез *поли[HPMA-co-MA-GFLG-N-(2-аминоэтил) карбамоилфумагиллола]*



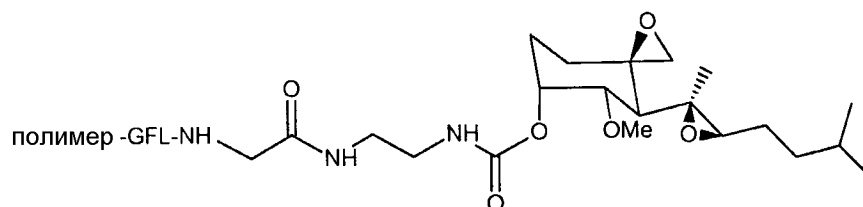
По общей процедуре F проводили реакцию поли(HPMA-co-MA-GFLG-NHCH₂CH₂NH₂·HCl) (200 мг), п-нитрофенилфумагилл-6-илкарбоната (100 мг) и DIEA (57 мг) в ДМФА (10 мл). Продукт очищали TFF (10 К) с водой и лиофилизировали, получая при этом конъюгат в виде бледно-желтого твердого вещества (160 мг).

Синтез *поли[HPMA-co-MA-GFLG-N(Me)-(2-метиламиноэтил) карбамоилфумагиллола]*



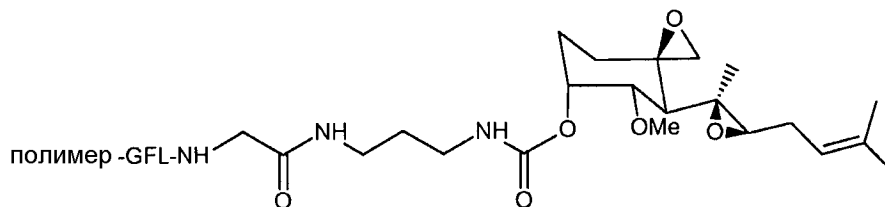
По общей процедуре F проводили реакцию поли(HPMA-со-MA-GFLG-N(Me)CH₂CH₂NHMe·HCl) (200 мг), п-нитрофенилфумагилл-6-илкарбоната (100 мг) и DIEA (57 мг) в ДМФА (5 мл). Продукт очищали TFF (10 К) с водой и лиофилизовали, получая при этом конъюгат в виде не совсем белого твердого вещества (180 мг).

Синтез поли(HPMA-со-MA-GFLG-N-(2-аминоэтил) карбамоилдигидрофумагиллола



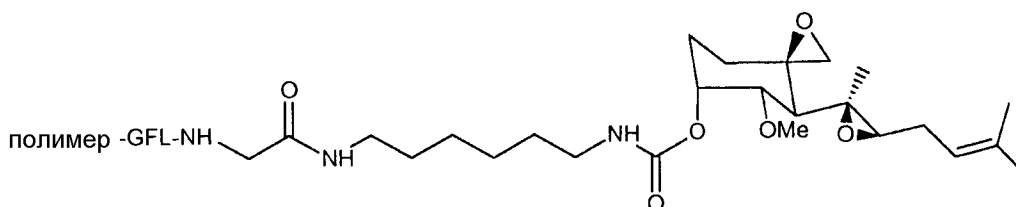
По общей процедуре F проводили реакцию поли(HPMA-со-MA-GFLG-NHCH₂CH₂NH₂·HCl) (200 мг), п-нитрофенилдигидрофумагилл-6-илкарбоната (200 мг) и DIEA (57 мг) в ДМФА (10 мл). Продукт очищали TFF (10 К) с водой (150 мл) и лиофилизовали, получая при этом поли(HPMA-со-MA-GFLG-N-(2-аминоэтил) карбамоилдигидрофумагиллол в виде бледно-желтого твердого вещества (160 мг).

Синтез поли[HPMA-со-MA-GFLG-N-(3-аминопропил) карбамоилфумагиллола]



По общей процедуре F проводили реакцию поли(HPMA-со-MA-GFLG-NHCH₂CH₂CH₂NH₂·HCl) (220 мг), п-нитрофенилфумагилл-6-илкарбоната (110 мг) и DIEA (63 мг) в ДМФА (6 мл). Растворитель выпаривали и полученный раствор разбавляли водой. Водную фазу экстрагировали этилацетатом и очищали TFF с применением 350 мл воды. Удержанную часть лиофилизовали, получая при этом поли[HPMA-со-MA-GFLG-N-(3-аминопропил) карбамоилфумагиллол] в виде светло-розового порошка (200 мг).

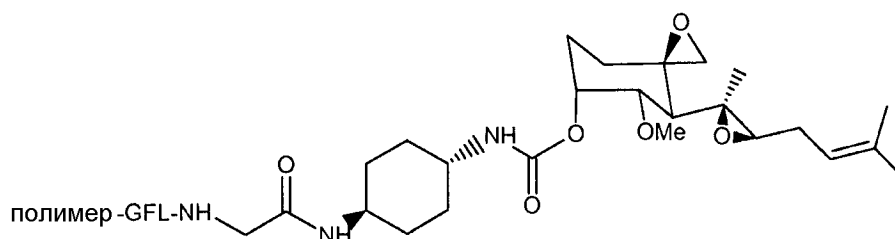
Синтез поли[HPMA-со-MA-GFLG-N-(6-аминогексил) карбамоилфумагиллола]



По общей процедуре F проводили реакцию поли[HPMA-со-MA-GFLG-N-(транс-4-аминоциклогексиламин·HCl)] (1,0 г), п-нитрофенилфумагилл-6-илкарбоната (0,48 г) и DIEA (0,27 г) в ДМФА (25 мл). Растворитель выпаривали и раствор разбавляли водой. Водную фазу (300 мл) экстрагировали этилацетатом (всего 700 мл) и очищали TFF с применением дополнительных 350 мл воды. Оставшуюся часть лиофилизovali, получая при этом поли[HPMA-со-MA-GFLG-N-(4-аминоциклогексил) карбамоилфумагиллол] в виде светло-розового твердого вещества (0,9 г).

^1H ЯМР (DMSO- d_6): δ 8,10-8,35 (м, 3H, амид-NH), 7,90-8,10 (м, амид-NH), 7,05-7,32 (м, 22H, амид-NH) 5,27 (м, H-5-Fum), 5,18 (ушир. т, алкен-Fum), 4,60-4,90 (м, 14H), 4,50-4,60 (м, 1H, альфа-протон фенилаланина), 4,10-4,30 (м, 1H, альфа-протон лейцина), 3,40-3,80 (м, 21H), 3,27 (с, 3H, OMe-Fum), 2,80-3,20 (м, 33H), 2,56 (д, 1H, H = 3,90 Гц, H-2-Fum), 2,18 (м, 2H, аллил-Fum), 0,37-2,0 [м, 147H), {1,70 (с, 3H, Fum-Me), 1,60 (с, 3H, Fum-Me), 1,07 (с, 3H, Fum-Me).

Синтез поли[HPMA-со-MA-GFLG-N-(транс-4-аминоциклогексил) карбамоилфумагиллола]

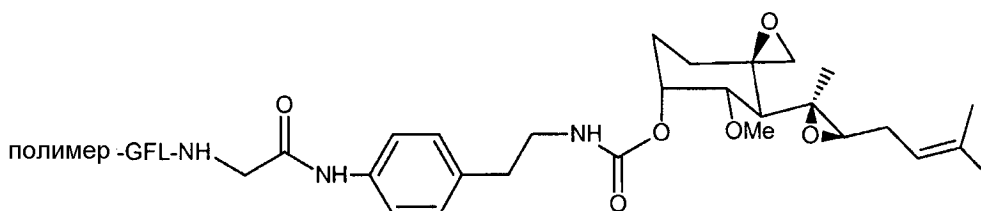


По общей процедуре F проводили реакцию поли[HPMA-со-MA-GFLG-N-(транс-4-аминоциклогексиламин·HCl)] (1,0 г), п-нитрофенилфумагилл-6-илкарбоната (0,48 г) и DIEA (0,27 г) в 25 мл ДМФА. Растворитель выпаривали и раствор разбавляли водой. Водную фазу (300 мл) экстрагировали этилацетатом (всего 700 мл) и очищали TFF с применением дополнительных 350 мл воды. Осадок лиофилизovali, получая при этом поли[HPMA-со-MA-GFLG-N-(3-

аминогексил) карбамоилфумагиллол] в виде светло-розового твердого вещества (0,9 г).

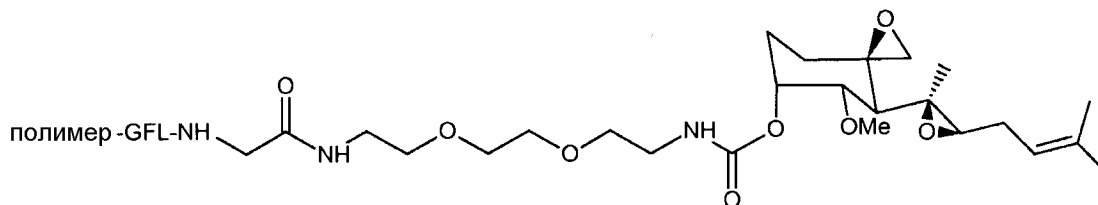
^1H ЯМР (DMSO-d_6): δ 7,90–8,35 (м, 4Н, амид-NH), 7,0–7,70 (м, 25Н, фенилаланин и амид-NH), 5,26 (м, Н-5-Fum), 5,18 (ушир. т, алкен-Fum), 4,60–4,90 (м, 14Н), 4,50–4,60 (м, 1Н, альфа-протон фенилаланина), 4,10–4,30 (м, 1Н, альфа-протон лейцина), 3,40–3,80 (м, 21Н), 3,26 (с, 3Н, OMe-Fum), 2,80–3,10 (м, 31Н), 2,17 (м, 2Н, аллил-Fum), 0,37–2,0 (м, 166Н), 1,69 (с, 3Н, Fum-Me), 1,59 (с, 3Н, Fum-Me), 1,07 (с, 3Н, Fum-Me).

Синтез поли[HPMA-co-MA-GFLG-N-[2-(4-аминофенил)этил]карбамоилфумагиллола]



К суспензии поли[HPMA-co-MA-GFLG-OH] (200 мг), N-[2-(4-аминофенил)этил]карбамоилфумагиллола] (100 мг) и DIEA (75 мг) в ДМФА (6 мл) при 0°C добавляли порциями EDCI (всего 44 мг). Раствор оставляли для нагревания до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. Растворитель выпаривали, остаток суспендировали в воде и суспензию экстрагировали EtOAc (7 раз, всего 250 мл). Водную фазу очищали TFF (10 К) с использованием воды (350 мл). Удержанную часть лиофилизировали, получая при этом полимер в виде белого пушистого твердого вещества (170 мг).

Синтез поли[HPMA-co-MA-GFLG-NH-2-[(2-(2-аминоэтокси)этокси)этил]карбамоилфумагиллола]

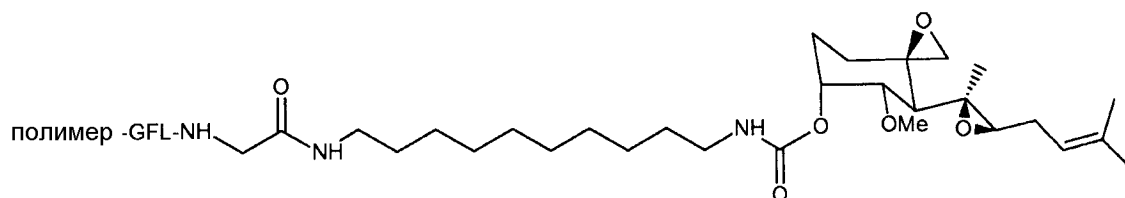


К раствору 2,2'-(этилендиокси)бис(этиламина) (0,79 г, 5,34 ммоль) в дистиллированной воде (20 мл) при 0°C (pH=11,56) добавляли конц. раствор HCl до тех пор, пока значение pH не было 9,01 (измеряли pH-метром). Поли(HPMA-co-MA-GFLG-ONp) (1,0 г, 0,534 ммоль) в ДМФА (6 мл) и H₂O (10 мл) добавляли по каплям к

раствору, содержащему амин, в течение периода 15 минут и реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение 15 минут. Реакционную смесь затем оставляли для нагревания до комнатной температуры и перемешивали в течение 2 часов. Измеряли pH раствора, доводили его значение до 8,15. Реакционную смесь разбавляли дистиллированной водой (300 мл) и фильтровали через фильтр VascuCar, реакционную колбу промывали водой (100 мл). Раствор полимера концентрировали до 40 мл TFF (10 K) и промывали 25 mM NaCl (800 мл) для удаления п-нитрофенола, pH затем регулировали до 4 при помощи 0,1 M HCl и, наконец, промывали водой (400 мл). Раствор чистого полимера лиофилизировали для выделения поли[HPMA-co-MA-GFLG-NH-2-[2-(2-аминоэтокси)этокси]этиламин·HCl] в виде розового твердого вещества (800 мг, 78%).

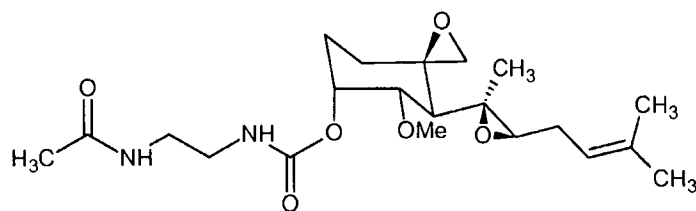
К смеси p-нитрофенилфумагилл-6-илкарбоната (93 мг, 0,208 ммоль) и поли[HPMA-co-MA-GFLG-N-2-[2-(2-аминоэтокси)]этокси]этиламин·HCl] (200 мг, 0,104 ммоль) в безводном ДМФА (5 мл) при 0°C в атмосфере N₂ добавляли DIEA (57 мг, 0,416 ммоль). Реакционной смеси давали возможность нагреться до комнатной температуры и перемешивали в течение 12 часов. Растворитель удаляли при пониженном давлении и полученный остаток суспендировали в воде (30 мл) и экстрагировали EtOAc (водную и органическую фазы образованной эмульсии разделяли с использованием центрифуги) для удаления избытка п-нитрофенилфумагилл-6-илкарбоната и п-нитрофенола. Азот пропускали через водный раствор для удаления следов EtOAc и раствор очищали с использованием TFF (5K) промыванием водой (150 мл) для удаления гидрохлорид DIEA. Раствор полимера лиофилизировали, получая при этом желаемый полимерный конъюгат поли[HPMA-co-MA-GFLG-N-2-[2-(2-аминоэтокси)этоксиэтил]карбамоилфумагиллола] (220 мг, 95%) в виде не совсем белого твердого вещества.

Синтез поли[HPMA-co-MA-GFLG-NH-(6-аминодецил)карбамоилфумагиллола]



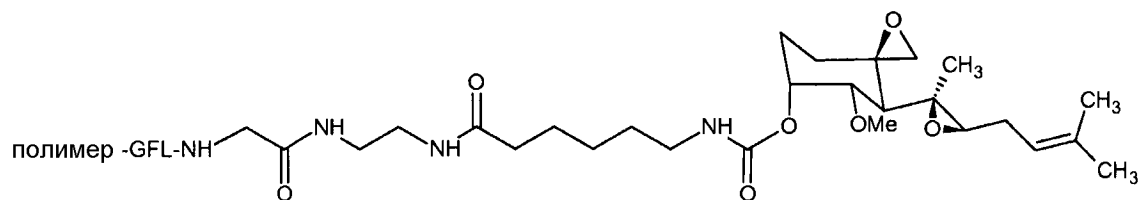
К смеси *p*-нитрофенилфумагилл-6-илкарбоната (300 мг, 0,67 ммоль) и поли[HPMA-co-MA-GFLG-N-10-[дециламин·HCl] (300 мг, 0,15 ммоль, получен аналогично способу примера 33, за исключением того, что 1,10-диаминодекан применяли в качестве амина) в безводном ДМФА (6 мл) при 0°C в атмосфере N₂ добавляли DIEA (83 мг, 0,64 ммоль). Реакционную смесь оставляли для нагревания до комнатной температуры и перемешивали в течение 12 часов. Растворитель удаляли при пониженном давлении и полученный остаток суспендировали в воде (30 мл) и экстрагировали EtOAc (водную и органическую фазы образованной эмульсии разделяли с помощью центрифуги) для удаления избытка *p*-нитрофенилфумагилл-6-илкарбоната и *p*-нитрофенола. Азот пропускали через водный раствор для удаления следов EtOAc. Неочищенный водный раствор очищали с применением TFF (10K) с промыванием водой (150 мл) для удаления гидрохлорида DIEA. Раствор полимера лиофилизировали, получая при этом желаемый полимерный конъюгат поли[HPMA-co-MA-GFLG-NH-(10-аминодецил)карбамоилфумагиллола] (300 мг, 87%) в виде не совсем белого твердого вещества.

Синтез N-(2-ацетамидоэтил)карбамоилфумагиллола



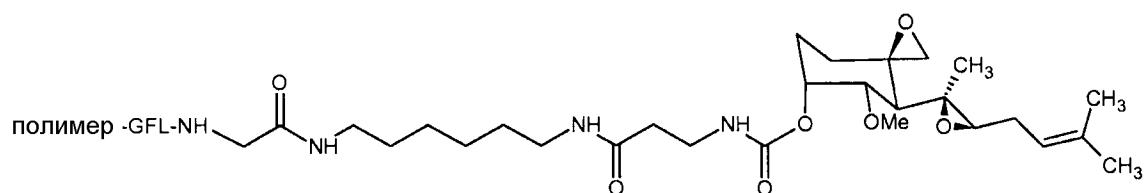
К раствору *p*-нитрофенилфумагилл-6-илкарбоната (200 мг) в этаноле (5 мл) при 0°C добавляли *N*-(2-аминоэтил)ацетамид (0,132 мл). Раствор перемешивали при 0°C в течение одного часа и в течение ночи при комнатной температуре. Реакционную смесь разбавляли этилацетатом, промывали водой. Водную фазу снова экстрагировали этилацетатом и объединенные органические фазы сушили (MgSO₄). Сырой продукт очищают флэш-хроматографией. Продукт был желтым твердым веществом (120 мг).

Синтез соединения следующей формулы



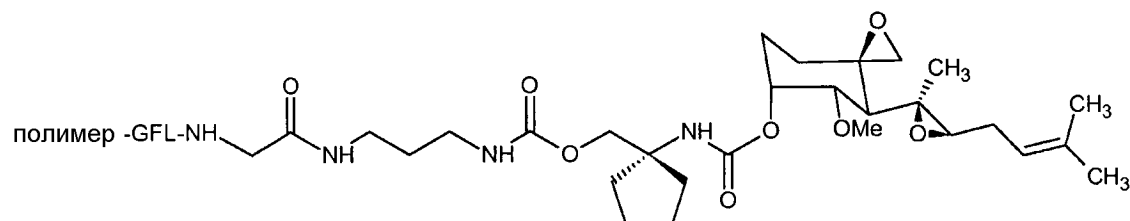
К раствору поли(HPMA-co-MA-GFLG-NHCH₂CH₂NH₂·HCl) (200 мг) и N-(5-карбоксипентил) карбамоилфумагиллола (96 мг) в ДМФА (6 мл) при 0°C добавляли DIEA (104 мг) с последующим добавлением гидрохлорида N-(3-диметиламинопропил)-N'-этилкарбодиимида (42 мг). Раствор оставляли для нагревания до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. Растворитель выпаривали и остаток растворяли в воде (50 мл) и экстрагировали этилацетатом (200 мл). Водную фазу очищали TFF с водой (450 мл). Удержанную часть лиофилизовали, получая при этом полимер (200 мг) в виде бледно-желтого твердого вещества.

Синтез соединения следующей формулы



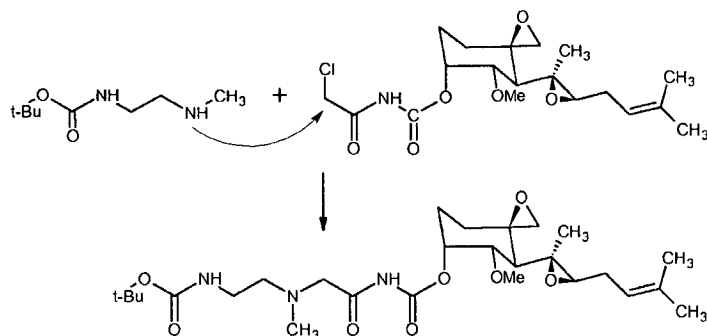
К раствору поли[HPMA-co-MA-GFLG-N(CH₂)₆NH₂·HCl] (216 мг), 2-карбоксиэтилкарбамоилфумагиллола (91 мг) в ДМФА (8 мл) при 0°C добавляли DIEA (118 мг) с последующим добавлением гидрохлорида N-(3-диметиламинопропил)-N'-этилкарбодиимида (88 мг). Раствор оставляли для нагревания до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. Растворитель выпаривали и остаток растворяли в воде (50 мл) и экстрагировали этилацетатом (200 мл). Водную фазу очищали TFF (10 К) с водой (1 л). Удержанную часть лиофилизовали, получая при этом полимер (170 мг) в виде бледно-желтого твердого вещества.

Синтез соединения следующей формулы



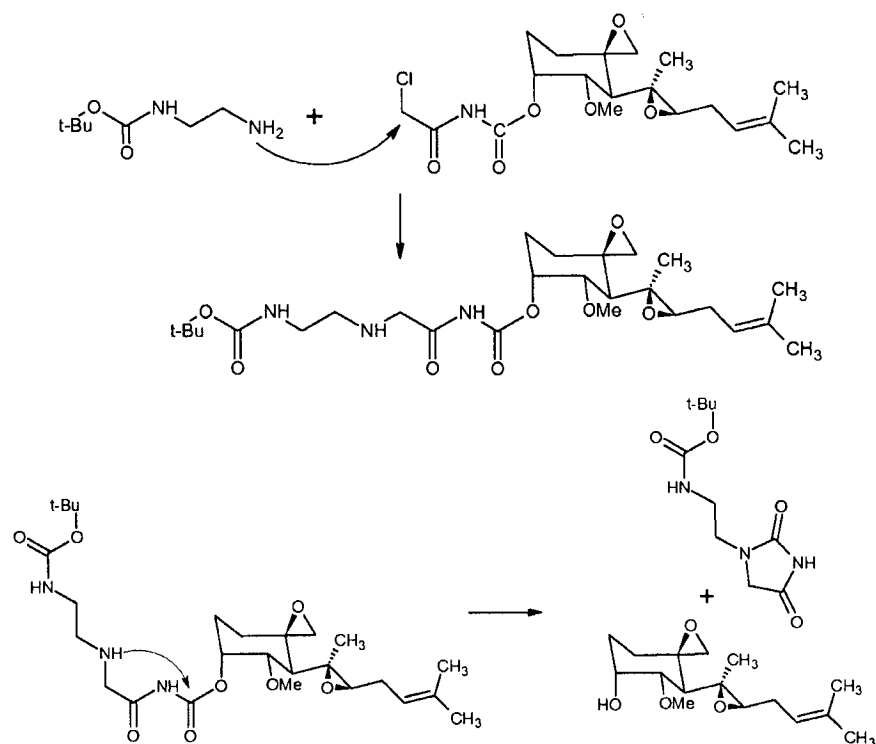
По общей процедуре F проводили реакцию поли(HPMA-co-MA-GFLG-NHCH₂CH₂CH₂NH₂·HCl) (220 мг) и карбоната (пример 24, 100 мг) в ДМФА (6 мл) с DIEA (63 мг). Реакционную смесь экстрагировали этилацетатом. После очистки TFF (10 K) с применением воды и лиофилизации продукт выделяли в виде светло-розового порошка (140 мг).

ВосNHCH₂CH₂N(Me)CH₂C(O)NHC(O)₂-фумагилл-6-ил (алкилирование N-BOC-N'-метилэтилендиамина хлорацетилкарбамоилфумагиллолом)



Раствор TNP-470 (0,2 г) и DIEA (0,105 г) в ДМФА (3 мл) охлаждали до 0°C. Добавляли раствор трет-бутил-N-[2-(метиламино)этил]карбамата (0,105 г) в ДМФА (3 мл) и смесь перемешивают в течение 3 часов при 0°C и затем в течение ночи. Реакционную смесь разбавляли этилацетатом и экстрагировали водой. Водную фазу снова экстрагировали этилацетатом и объединенные органические фазы экстрагировали насыщенным раствором соли, сушили (MgSO₄) и выпаривали, получая при этом масло. Очистка хроматографией на силикагеле (метанол/метиленхлорид) и выпаривание фракций продукта давали ВосNHCH₂CH₂N(Me)CH₂C(O)NHC(O)₂-фумагилл-6-ил в виде белой пены (0,16 г, 60%).

Реакция трет-бутил-N-[2-аминоэтил]карбамата с хлорацетилкарбамоилфумагиллолом



Аликвоту 1 М раствора Вос-этилендиамина в ДМФА в количестве 30 мкл добавляли к ДМФА (270 мкл). Раствор охлаждали до 0°C и по каплям добавляли раствор TNP-470 (48 мг) в ДМФА (600 мкл) в течение 2 минут. Мониторинг реакции проводили с помощью ЖХ/МС. Наибольшее количество требуемого продукта алкилирования было 34%. Получали также карбамоилфумагиллол. Отношение целевого продукта к карбамоилфумагиллолу было от 1,0 до 0,4. Попытка выделения целевого продукта привела к выделению гидантоина и фумагиллола. Таким образом, целевой продукт не может быть выделен из-за скорости его разложения. Таким образом, TNP-470 не может быть алкилирован согласно описанному способу.

Тестирование in vivo мышей DIO C57B16 - изменения массы, потребления корма, телосложения

Самцов мышей C57B16 (N=6) возраста тринадцать недель со средней массой 34 г вволю кормили кормом TD.06414 с высоким содержанием жира, 60% калорий которого составлял жир (корм Harlan). В 1 день исследования животных рандомизировали на группы таким образом, чтобы средняя масса мыши каждой группы была 33,9 г. Мышам вводили либо забуференный фосфатом раствор (наполнитель), TNP-470 или соединением 16 (спинальное, подкожное введение). Введение продолжали в течение 31 дня при дозах и по

схеме применения, показанной ниже в таблице. Животных взвешивали каждый день. Потребление корма измеряли еженедельно. На 33 день выполняли макроскопическую патологию для определения телосложения.

На фиг.1 сравнивается потеря массы тела у страдающей ожирением мыши DIO после введения конъюгата фумагиллола соединения настоящего изобретения (соединения 16) или TNP-470 (синтетический аналог фумагиллина) при различных дозах/схемах введения, как показано в таблице 2.

Таблица 2

Масса тела 33 день	Доза мг/кг/день	Доза*	Схема введения	Лекарствен- ное средство
39,5	0	0	Qod	Наполнитель
34,1	0,5	1,12	Qod	TNP-470
30,4	0,5	0,18	Qod	Соединение 16
27,4	1,5	0,56	Q4d	Соединение 16

* Ежедневная доза фумагиллола в мкмоль/кг

Результаты на фиг.1 показывают увеличение массы в контрольной группе наполнителя на 16% и уменьшение массы на 19% при введении соединения 16 по схеме введения q4d. Введение соединения 16 вызывает как терапевтическое, так и профилактическое действия. В частности, соединение 16 индуцирует или увеличивает потерю массы тела, а также предотвращает увеличение массы. Соединение 16 превосходит TNP-470 по степени потери массы. Соединение 16 превосходит TNP-470 в том, что уменьшаются дозы фумагиллола.

Таблица 3 сравнивает состав жира тела у страдающей ожирением DIO мыши после лечения соединением 16 или TNP-470 при различных дозах/схемах введения, описанных в контексте. Анализ проводили на 33 день макроскопической патологии. Общее содержание жира в процентах от массы тела в группе, получавшей наполнитель, было 13,2%, тогда как общее содержание жира в

группах, обработанных соединением 16, было 8,2% (1 мг/кг, qod) или 5,6% (6 мг/кг q4d).

Таблица 3

Масса в граммах, средние значения групп

	Масса тела	Общий жир	Эпидермальный жир	Паховый жир	Забрюшинный жир	Печень
Наполнитель	39,6	5,24	2,21	1,93	1,10	1,46
TNP, qod	34,1	3,55	1,54	1,21	0,80	1,15
Соед. 16 1мг/кг qod	30,4	2,52	1,18	0,92	0,42	1,0
Соед. 16 6 мг/кг q4d	27,4	1,55	0,78	0,53	0,23	1,17

На фигуре 2 представлено сравнение среднего суточного потребления корма мышью DIO после лечения ее соединением 16 или TNP-470 при различных дозах/схемах введения. Результаты на фигуре 2 показывают снижение потребления корма после обработки соединением 16, и соединение 16 вызывает большее снижение потребления корма, чем TNP-470.

На фигуре 3 представлено сравнение телосложения (содержание жира в зависимости от массы тела) у страдающей ожирением мыши DIO после лечения соединением 16 или TNP-470 при различных дозах/схемах введения. Результаты на фигуре 3 показывают, что количественная потеря массы тела напрямую коррелирует с потерей жира.

Тестирование in vivo мышей DIO C57B16 -- изменения массы тела, потребление корма, толерантность к глюкозе и реакция телосложения на дозу

Самцов мышей C57B16 (N=6) возраста пятнадцать недель со средней массой 42 г вволю кормили кормом TD.06414 с высоким содержанием жиров, 60% калорий которого составляли калории жира (корм Harlan). В 1 день исследования животным вводили либо забуференный фосфатом раствор (наполнитель) или соединением 16 при различных дозах (спинальное, подкожное введение). Лечение продолжали в течение 29 дней при дозах и по схемах введения, показанных ниже в таблице. Животных взвешивали каждый день.

Потребление корма измеряли еженедельно. На 24 день (мышам совсем недавно вводили соединение 16, на 21 день) в течение ночи голодавшим мышам проводили тестирование на толерантность к IP-глюкозе (GTT), введенной внутривбрюшинно, в группе, получавшей наполнитель, и четырех группах, получающих соединение 16. Каждое животное взвешивали и собирали величины измерения глюкозы как базовой линии в голодном состоянии. Каждому животному вводили дозу декстрозы 1 грамм на килограмм массы в виде 25% раствора внутривбрюшинной инъекцией. Уровни глюкозы в крови измеряли через 15 минут, 30 минут, 60 минут, 90 минут и 120 минут после внутривбрюшинного введения глюкозы (образцы крови отбирали из хвостовой вены с помощью системы мониторинга глюкозы в крови AlphaTRAK (включающей в себя глюкометр и тест-полосок) от Abbott Laboratories, (North Chicago, Illinois, USA). Система AlphaTRAK показала результаты между 20 и 750 мг/дл (1,1-41,7 ммоль/л). На 32 день (мышам совсем недавно вводили дозы, в 29 день) животных, которые голодали в течение трех часов, взвешивали, отбирали у них кровь пункцией сердца и выполняли макроскопическую патологию для определения телосложения. Анализ крови проводили лаборатории Idexx. Содержание глюкозы в крови было 278, 290, 265, 259 и 227 мг/дл для доз 0, 0,2, 0,6, 2,0 и 6,0 соответственно. BUN был 21,8, 22,0, 19,7, 15,3 и 16,5 для доз 0, 0,2, 0,6, 2,0 и 6,0 соответственно.

В таблице 4 показан уровень глюкозы в крови как функция времени и дозы соединения 16. Таблица 4 показывает, что более высокие дозы соединения 16 приводят к более низким уровням глюкозы в крови даже при самой низкой дозе 0,2 мг/кг; эти результаты показаны на фигуре 4.

Таблица 4

Среднее содержание глюкозы в крови в группах

Доза мг/кг	Средняя масса тела (г)	Среднее содержание глюкозы в крови в мг/дл±СКО					
		Голодание	15 мин	30 мин	60 мин	90 мин	120 мин
Наполнитель	43,0	226±22,9	502±30,3	621±38,4*	580±48,7*	459±54,0	297±33,7
0,2	43,4	254±5,8	505±33,9	446±20,5	456±25,9	341±15,5	241±16,8

0,6	40,9	206±14,9	442±50,0	441±35,54	388±56,7	302±43,3	192±12,9
2,0	36,8	198±11,6	388±20,7	361±24,3	327±26,7	244±24,0	166±6,4
6,0	33,0	185±6,5	473±39,1	355±23,8	324±19,1	240±6,7	177±9,3

* одна мышь в каждой группе имела содержание глюкозы в крови >750 мг/дл; обработанная мышь имела 750 мг/дл

В таблице 5 показано, что увеличение доз соединения 16 приводит к значительному увеличению потери массы при дозах более 0,2 мг/кг, схема q4d. В таблице 6 показано, что дозы 2 мг/кг, схема q4d, и 6 мг/кг, схема q4d, были связаны со значительным уменьшением потребления корма относительно контрольных групп с наполнителем и что потребление корма является доза-зависимым. После дней 9-29 еженедельное потребление корма в группе 2 мг/кг было 90% группы наполнителя, тогда как потребление корма в группе 6 мг/кг группы была 75% группы наполнителя.

Таблица 5

Массы тела в день 32

Доза мг/кг	Масса тела группы (г)± СКО	Изменение массы от 1 дня	фумагиллол*
Наполнитель - 0	45,7±1,12	+8,3%	0,00
0,2	46,5±0,65	+10,5%	0,02
0,6	43,3±0,42	+2,9%	0,06
2,0	38,8±0,70	-7,4%	0,18
6,0	33,6±0,72	-20,0%	0,54

* микромоли/кг/день; схема дозирования q4d

Таблица 6

Недельное потребление корма, среднее значение группы

	День 1-8	День 9-15	День 15-22	День 22-29
Группа	Корм (г)	Корм (г)	Корм (г)	Корм (г)
Наполнитель	22,4	23,3	22,4	21,5
0,2 мг/кг	25,8	22,6	20,3	19,7
0,6 мг/кг	19,5	21,5	20,2	18,4
2 мг/кг	14,3	22,2	19,9	18,5
6 мг/кг	9,0	17,5	17,8	16,1

В таблице 7 показано, что жировая ткань теряется предпочтительнее других тканей, у мышей в контрольной группе содержание жира составляет приблизительно 13%, в то время как у

мышей в группе 2 мг/кг с q4d и группе 6 мг/кг с q4d она составляет 11% и 10%, соответственно.

Таблица 7

Средние массы тканей групп на 32 день

Доза мг/кг	Средняя масса тела (г)	Общая средняя масса жира	Средние массы ткани (г)				% Жира от массы тела
			Эпид. жир	Пах. жир	Забрюш. Жир	Печень	
0,0	45,70	5,88	1,88	2,65	1,35	2,00	12,9%
0,2	46,50	6,02	2,01	2,54	1,48	2,06	13,0%
0,6	43,32	6,01	2,24	2,51	1,26	1,75	13,9%
2,0	38,82	4,42	1,72	1,81	0,89	1,44	11,4%
6,0	33,60	3,25	1,11	1,54	0,60	1,30	9,7%

Результаты на фигуре 5 показывают увеличение потери массы тела после обработки соединением 16 в дозах, превышающих или равных 0,6 мг/кг, при применении схемы введения q4d. Потеря массы является доза-зависимой, более высокие дозы вызывают большую потерю массы тела.

Результаты в таблице 8 показывают снижения содержания холестерина, триглицеридов, HDL, LDL и отношения HDL/LDL, связанные с увеличением дозы соединения 16. Эти результаты изображаются на фигуре 6.

Таблица 8

Липиды в крови на 32 день

Доза мг/кг	ХОЛЕСТЕРИН мг/дл	ТРИГЛИЦИРИД мг/дл	ХОЛЕСТЕРИН HLD мг/дл	LDL мг/дл	Отношение HDL/LDL
0	244±12,6	140±7,7	112±4,0	24±2,2	4,8±0,4
0,2	253±8,4	158±10,9	117±2,7	24±1,1	4,9±0,2
0,6	210±3,7	116±3,1	106±1,2	20±0,3	5,4±0,1
2	149±4,7	95±8,7	92±2,6	10±0,5	9,0±0,4
6	109±2,6	81±13,6	72±1,3	8±0,5	9,0±0,5

Величины указываются с поправкой ± СКО

Результаты в таблице 9 показывают благоприятные изменения в содержании щелочной фосфатазы, SGPT, SGOT и CPK, связанные с

увеличением дозы соединения 16.

Таблица 9

Анализ ферментов крови

Доза мг/кг	ЩЕЛОЧНАЯ ФОСФОТАЗА	SGPT (ALT)	SGOT (AST)	CPK
0	61±1,2	74±11,2	72±5,4	34±2,5
0,2	51±3,2	79±16,8	77±10,1	74±18,5
0,6	44±1,4	50±2,3	57±2,4	66±11,3
2	43±2,4	35±3,1	53±3,7	68±17,8
6	36±0,9	42±5,9	59±2,2	84±13,3

Пример

Самцов мышей C57B16 (N=6) возраста пятнадцать недель со средней массой 42 г вволю кормили кормом TD.06414 с высоким содержанием жиров, 60% калорий которого составляли калории жира (корм Harlan). В день 1 исследования животных обрабатывали по схеме q4d либо забуференным фосфатном солевым раствором (наполнителем) или соединениями 16, 28, 29 или 30 с дозой 2 мг/кг или соединением 31 с дозой 6 мг/кг (спинальное, подкожное введение). Животных взвешивали каждый второй день. На фигуре 10 показано сравнение потери массы у страдающей ожирением мыши DIO после лечения в течение 23 дней различными конъюгатами настоящего изобретения. Результаты на фигуре 10 показывают, что изменения только в связи (линкера) приводят к изменениям в степени потери массы.

Пример

Самцов крыс Sprague Dawley (n=3) возраста от девяти до десяти недель со средней массой 300 г кормили без ограничения стандартным кормом грызунов (PharmaServ lab diet 5001). Фигура 7 - крыс обрабатывали соединением 16 либо в количестве 100 мг/кг, либо 200 мг/кг (внутривенно, в хвостовую вену) на 1, 8, 15, 22 и 29 день. Крыс взвешивали периодически и брали образец крови на 10 день, на 17 день, на 24 день. Для сбора коллекции крови у живых крыс их анестезировали ингаляционной смесью 4% изофлурана и 1,5% кислорода, затем кровь отбирали посредством пунктирования ретроорбитального сплетения в объеме по меньшей мере 1 мл. На 31 день животных взвешивали, кровь отбирали сердечной пункцией и проводили макроскопическую патологии с целью определения

телосложения. В пределах ограничений сравнений до нормальных диапазонов и данных до введения доз, клинические показатели альбумина, отношения альбумин/глобулин, щелочности, фосфатазы, ALT (SGPT), AST (SGOT), бикарбоната, прямого билирубина, непрямого билирубина, общего билирубина, BUN, отношения BUN/креатинин, кальция, хлорида, холестерина, СК, креатинина, глобулина, глюкозы, фосфора, калия, натрия, отношения натрий/калий, общего белка были незаметными. Кроме потери массы и других показателей, указанных в контексте, оказалось, что животные были вполне нормальными и не проявляли никаких признаков нейротоксичности, таких как атаксия, дезориентации, тремор или конвульсия. Результаты на фигуре 7 показывают, что соединение 16 является переносимым при высоких дозах и схеме приема лекарственных средств q7d.

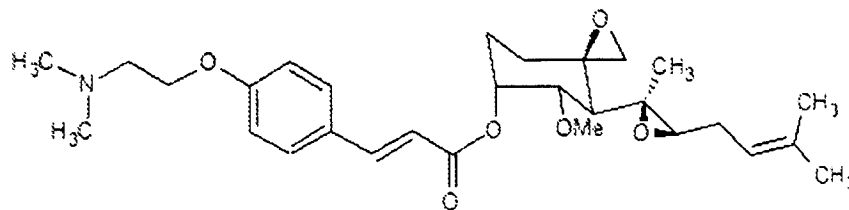
Пример

Самцам крыс Sprague Dawley (n=3, средняя масса 350 г) внутривенно вводили один болюс с любым веществом из наполнителя, соединения 1 (30 мг/кг) или соединения 16 (200 мг/кг). Образцы крови отбирали посредством пункции подкожной вены через 0, 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 8, 24 и 48 часов. Аликвоту каждой пробы разбавляли метанолом, содержащим пропранолол в качестве внутреннего стандарта, и анализировали способом ЖХ/МС/МС с более низким пределом количественного определения 2,5 нМ. В случае введения либо соединения 1, либо соединения 16 анализируемым веществом было соединение 1. Период полураспада малой молекулы соединения 1 находится в диапазоне 10-15 минут; Стах приблизительно составляет 15 мкМ и имеется при T₀. Для полимерного конъюгата, соединения 16, освобожденная малая молекулы имеет Стах приблизительно 0,3 мкМ приблизительно через 3 часа и период конечного полувыведения 10 часов. Эти результаты показаны на фигуре 9.

Пример тестирования in vivo крыс DIO Levin - изменения массы, потребление корма, телосложение, реакция на схему применения лекарственного средства, уровни лептина

Было проведено исследование для оценки относительной эффективности полимерного конъюгата фумагиллола, соединения 16,

и производных фумагиллола с малыми молекулами, соединения 1 и СКД-732 (также известного как белораниб и ZGN-433). СКД-732, указываемый в контексте, является полутартратной солью следующей структуры:



Соединение 1 также тестировали в форме полутартратной соли.

Тестируемые соединения вводили подкожно каждый 4 день по схеме применения лекарственного средства (q4d) модели крысы (DIO) Levin-DS с индуцированным кормом ожирением. Эффективность соединения 16 также оценивали при еженедельной схеме введения лекарственного средства (q7d). Включали кормовое влияние (стандартный корм, лабораторный корм 5001; 3,4 ккал/г) для сравнения с лекарственными влияниями. После наступления возраста трех недель самцы крыс получали сколько угодно гранул корма Harlan TD.06414, 60% калорий которого составляют калории жира, 21% калории углевода; 5,1 ккал/г. Перед введением доз крыс разделяли на группы из трех животных со средней массой тела 595 гм. Крысам вводили забуференный фосфатом раствор (наполнитель), соединение 16, соединение 1 или СКД-732 (спинальное, подкожное введение). Соединение 16 растворяли в наполнителе, соединение 1 в форме полутартрата и СКД-732 в форме полутартрата растворяли в этаноле перед разбавлением наполнителем. Все дозы вводили в объеме 5,0 мл/кг. Лечение продолжалось в течение 68 дней в дозах и по схемам, показанных ниже в таблице 10. Поскольку молекулярная масса СКД-732 на 15% больше, чем молекулярная масса соединения 1, вводили дозу СКД-732 1,15 мг/кг, тогда как доза соединения 1 была 1 мг/кг с целью сравнения их на молярной основе. В день 1 первой дозы крысы были возраста 14 недель. Кроме того, в день 1 крыс группы 2 переводили с корма с высоким содержанием жиров на стандартный корм; остальным группам сохраняли корм с высоким содержанием жира на протяжении всего исследования.

Таблица 10

№ группы	Соединение тестирования	Число крыс	Путь введения	Корм	Частота дозирования	Объем дозы (мл/кг)	Конц. (мг/мл)	Доза (мг/кг)
1	Наполнитель	3	Подкожн.	60% жира	q4d	5,0	0	0
2	Наполнитель	3	Подкожн.	0% жира	q 4d	5,0	0	0
3	Соед. 16	3	Подкожн.	60% жира	q4d	5,0	0,067	0,3
4	Соед. 16	3	Подкожн.	60% жира	q4d	5,0	0,2	1,0
5	Соед. 16	3	Подкожн.	60% жира	q4d	5,0	0,6	3,0
6	Соед. 16	3	Подкожн.	60% жира	q4d	5,0	1,2	6,0
7	Соед. 1	3	Подкожн.	60% жира	q4d	5,0	0,2	1,0
8	Соед. 1	3	Подкожн.	60% жира	q4d	5,0	0,6	3,0
9	СКД-732	3	Подкожн.	60% жира	q4d	5,0	0,23	1,15

Животных взвешивали каждый день. Потребление корма измеряли еженедельно. На протяжении всего исследования приблизительно еженедельно отбирали образцы крови для биохимической оценки, включая определение глюкозы и инсулина. На 48 день всех крыс, которые 4 часа голодали, подвергали испытанию на толерантность к глюкозе (OGTT), вводимой перорально. Животным вводили дозу (перорально, PO) 8 мл/кг 25% раствора глюкозы (2 г/кг). На 68 день проводили макроскопическую патологию для определения телосложения.

На фигуре 11 показано изменение массы тела в зависимости от дня исследования для каждой группы. Значительное уменьшение массы тела было показано в группах, которым вводили дозы полимерного конъюгата по схеме введения как Q4D, так и Q7D. Лечение соединением 16 с дозой 3 мг/кг (Q4D) или с дозой 6 мг/кг (Q7D) показали более высокую потерю массы тела, чем изменение

при кормлении стандартным кормом. В конце исследования соединение 16 при применении дозы 3 мг/кг и схемы введения лекарственного средства Q4D показало снижения массы тела на 22,1% по сравнению с введением носителя в качестве контроля и на 6,2% более низкую массу тела, чем масса тела крыс при кормлении стандартным кормом. Спустя приблизительно десять недель лечение соединением 16 при применении дозы 6 мг/кг и схемы Q7D показало массу тела, сравнимую с лечением дозой 3 мг/кг по схеме Q4D. Соединение 1 при применении дозы 1 мг/кг и CDK-732 при применении дозы 1.15 мг/кг по схеме Q4D показали уменьшение массы на 3,9% или 3,2% ниже, чем масса тела при введении наполнителя. Доза соединения 1 3 мг/кг при введении по схеме Q4D показала 8,9% снижения массы тела по сравнению с введением наполнителя. Полимерные конъюгаты содержали приблизительно 1/6 часть активного производного фумагиллола по массе.

На фигуре 12 показана конечная масса тела на 68 день для всех групп как функция среднего ежедневного воздействия фумагиллола. Две группы, как наполнителя, так и стандартного корма, не подвергали воздействию фумагиллола. Соединение 16 показало более высокую потерю массы при значительно более низком воздействии фумагиллола по сравнению с соединением 1 или SKD-732 по такой же схеме введения, как и полимерный конъюгат. Всем группам вводили дозы по схеме введения q4D, за исключением соединения 16, которое вводили с дозой 6 мг/кг по схеме Q7D.

Таблица 11

Средние значения конечной массы тела (г) группы (n=3) крыс
DIO в зависимости от дозы фумагиллола

Потеря массы тела в зависимости от воздействия спустя 68 дней после введения				
Группа	Доза, мг/кг	Схема введения	мкМ фумагиллола кг/день	Конечная масса тела (г)
Наполнитель HF	0	q4d	0	742,3
Стандартный корм	0	q4d	0	645,0
Соед. 16	0,3	q4d	25	727,3

Соед. 16	1,0	q4d	83	668,6
Соед. 16	3,0	q4d	250	604,7
Соед. 16	6,0	Q7d	286	596,7
Соед. 1	1,0	q4d	500	717,3
Соед. 1	3,0	q4d	1500	684,0
СКД-732	1,15	q4d	500	714,0

На фигуре 13 показано снижение уровня инсулина в сыворотке крови у самцов крыс Levin DIO при потреблении корма с 60% жира и введении доз соединений настоящего изобретения по схеме введения q4d (3 мг/кг) и q7d (6 мг/кг) по сравнению с группами потребления стандартного корма и введения наполнителя.

Таблица 12

Среднее содержание инсулина у крыс DIO (n=3) в зависимости от времени

Среднее содержание инсулина (нг/мл) у самцов крыс Levin DIO					
	До введения дозы	День 7	День 15	День 23	День 48
Наполнитель	1,74	2,66	3,37	3,15	3,00
Стандартный корм	1,96	1,68	1,40	1,78	1,51
Соед. 16, 0,3 мг/кг	1,76	2,27	1,65	1,66	1,70
Соед. 16, 0,6 мг/кг	2,95	2,09	1,38	1,72	1,91
Соед. 16, 3 мг/кг	1,49	0,66	0,54	1,26	1,08
Соед. 16, 6 мг, q7d	3,06	1,96	1,00	1,11	1,32
Соед. 1, 1 мг/кг	1,92	1,83	1,39	1,20	1,75
Соед. 1, 3 мг/кг	2,10	1,35	1,68	1,27	1,40
СКД-732, 1,15 мг/кг	2,58	2,08	1,91	1,60	1,56

В таблице 12 показаны изменения в уровнях инсулина крыс натошак для каждой группы. Все группы (за исключением контрольной группы с наполнителем) показали уменьшенные уровни инсулина, демонстрируя тем самым, что соединения настоящего изобретения снижают уровень инсулина при схеме с нечастым введением дозы.

На фигуре 14 показаны результаты тестирования на толерантность к вводимой перорально глюкозе (OGTT) при уровнях инсулина у крыс, получавших соединения настоящего изобретения по

схемам q4d и q7d, по сравнению с группами, потребляющими стандартный корм и получающими наполнитель. Потребление стандартного корма также приводило к снижению уровней инсулина. Уровни инсулина, поддерживаемые пониженными в сравнении с уровнями инсулина при введении наполнителя в присутствии аномально высоких уровней глюкозы, указывают на то, что более низкие уровни инсулина были необходимы для снижения уровня глюкозы в крови (см. фигуру 15), что позволяет предположить улучшенную/восстановленную чувствительность к инсулину.

На фигуре 15 показаны пониженные уровни глюкозы в зависимости от времени для различных лечений после перорального введения глюкозы.

Таблица 13

Уровни глюкозы в крови после тестирования толерантности к перорально введенной глюкозе (OGTT) у крыс DIO при потреблении корма с высоким, 60% содержанием жиров

Содержание глюкозы (мг/мл) в крови у самцов крыс Levin DIO во время введения глюкозы								
Группа	Время	до OGTT	15	30	60	90	120	Мол. масса (г)
Наполнитель HF		126	158	153	163	160	132	702
Стандартный корм		110	147	145	134	124	129	617
Соед. 16, 0,3 мг/кг		121	156	145	157	149	147	697
Соед. 16, 0,6 мг/кг		121	150	148	149	143	150	662
Соед. 16, 3 мг/кг		120	157	144	140	127	129	582
Соед. 16, 6 мг, q7d		128	161	141	145	145	138	604
Соед. 1, 1 мг/кг		124	156	142	152	151	142	686
Соед. 1, 3 мг/кг		123	175	171	149	147	129	668
СКD-732, 1,15 мг/кг		123	174	171	158	153	144	686

На фигуре 16 показано произведение величины содержания глюкозы (мМ/л) x величину содержания инсулина (мкЕ/мл)/22,5 у самцов крыс DIO Levin как допустимая величина чувствительности к инсулину (Matthews et al., Diabetologia (1985) 28, 412±419; Pickavance et al., British Journal of Pharmacology (1999) 128,

1570±1576) .

Таблица 14

Вычисление HOMA-ir для крыс DIO

HOMA-ir (чувствительность к инсулину)			
	Перед дозированием	15 мин	30 мин
Наполнитель HF	26,7	73,6	24,3
Стандартная диета	11,7	36,5	11,7
Соед. 16, 0,3 мг/кг	14,6	40,1	10,8
Соед. 16, 1 мг/кг	16,4	50,1	18,1
Соед. 16, 3 мг/кг	9,2	13,7	4,6
Соед. 16, 6 мг/кг, q7d	12,0	37,2	3,5
Соед. 1, 1 мг/кг	15,4	42,7	21,2
Соед. 1, 3 мг/кг	12,2	29,2	9,5
СКД-732, 1,15 мг/кг	13,6	49,0	35,9

Гормон лептин адипоцитов является известным супрессором аппетита. Известно, что лептинорезистентность (аномально высокие уровни независимо от потребления корма) встречается у пациентов и животных с кормовым ожирением (Levin et al., Am J. Physiol. Regul Integr Comp Physiol. 2002 Oct; 283(4):R941-8). Низкие уровни лептина связаны с кормовой гиперфагией (Sindelar et al., 1999, Enriori et al., 2006). Потребление пищи измеряли еженедельно. Уровни лептина сыворотки измеряли в день 29 и наносили на график в зависимости от потребления корма в течение недели, содержащей день 29. Животные при потреблении стандартного корма характеризовались гиперфагией и обнаруживали значительно большее потребление корма в зависимости от уровней лептина, чем при лечении соединениями настоящего изобретения. Лечение соединением 1 не привело к значительным снижениям уровней лептина. На фигуре 17 показано еженедельное потребление корма в граммах для каждой группы. Группа стандартного корма показала значительное увеличение потребления корма после перехода от корма с высоким содержанием жиров к стандартному корму. Известно, что гиперфагия имеет место для поддержания уровня потребления калорий.

Потребление корма

<u>Группа среднего потребления корма</u>										
	День 1-8	День 9-15	День 16-23	День 24-30	День 31-36	День 37-43	День 44-50	День 51-57	День 58-63	День 63-68
Доза группа	Корм (г)	Корм	Еда (г)	Еда (г)	Еда (г)	Еда (г)	Еда (г)	Еда (г)	Еда (г)	Еда (г)
Наполнитель	119,7	136,8	146,9	113,8	124,0	129,4	120,9	131,8	117,9	99,0
Станд. корм	108,3	158,6	201,7	174,6	194,8	201,8	25,4	208,3	201,1	120,6
Соед. 16, 0,3 мг/кг	126,2	125,9	128,2	129,3	122,4	131,9	135,6	134,5	134,2	57,6
Соед. 16, 0,6 мг/кг	121,2	101,0	109,7	122,1	125,8	116,6	118,2	123,1	130,7	45,9
Соед. 16, 3 мг/кг	97,3	63,2	123,4	108,7	102,6	105,5	129,9	115,2	128,0	43,3
Соед. 16, 6 мг, q7d	105,2	48,3	43,9	139,8	117,4	126,3	81,2	107,5	107,7	19,8
Соед. 1, 1 мг/кг	128,6	109,3	121,1	145,9	144,6	141,7	122,4	147,7	140,7	55,1
Соед. 1,3 мг/кг	123,6	98,9	110,1	149,3	138,8	130,9	94,7	116,2	124,9	49,8
СКД-732, 1,15 мг/кг	131,8	110,5	108,7	133,9	153,9	148,7	112,3	135,0	125,5	61,9

На фигуре 18 показаны изменения уровней лептина от базовой линии у самцов крыс DIO Levin, которым дают корм с высоким содержанием жиров и обрабатывают конъюгатами настоящего изобретения или дают стандартный корм. Зависимую от дозы реакцию наблюдали при изменении уровней лептина от базовой линии для соединения 16.

Таблица 16

Изменения в уровнях лептина от базовой линии

Уровни лептина, день 29, изменение от базовой линии			
Группа	% изменения	До введения дозы	29 День
Наполнитель HF	5,3%	4,43	4,67
Стандартный корм	-63,9%	3,33	1,20
Соед. 16, 0,3 мг/кг	30,3%	2,53	3,30
Соед. 16, 1 мг/кг	-2,9%	4,67	4,53
Соед. 16, 3 мг/кг	-4,0%	2,47	1,36
Соед. 16, 6 мг, q7d	-49,2%	3,93	2,00
Соед. 1, 1 мг/кг	-1,3%	2,50	2,47
Соед. 1, 3 мг/кг	11,3%	3,23	3,60
СКД-732, 1,15 мг/кг	-3,0%	4,43	4,30

Пример: тестирование in vivo мышей DIO -- изменения массы, потребление корма, схема введения-ответ на дозу

Самцов мышей C57B1/6 (N=9/группу) возраста 21 неделя со средней массой тела 46,8 г вволю кормили кормом с высоким содержанием жиров, 60% ккал которого обеспечивают жиры. Животным вводили дозу согласно схеме, указанной ниже в таблице 17.

Таблица 17

Группа	Обработка веществом	Доза	Наполнитель	Частота
		мг/кг	PBS	q4d
1	Наполнитель-1	0	PBS	q4d
2	Полимер	12	PBS	q4d
3	Соединение 16	2	PBS	q4d

4	Соединение 16	6	PBS	q4d
5	Соединение 16	12	PBS	q8d*
6	СКД-732	1	Наполнитель-2	qod
7	Наполнитель-2	0	Наполнитель-2	qod
8	СКД-732	2	Наполнитель-2	q4d
9	Наполнитель-2	0	Наполнитель-2	q4d

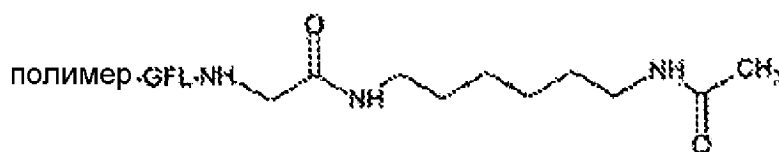
*наполнитель-1 при другом q4d

Введение дозы соединения проводили во время между 9 и 10 час дня дозирования. Группы 6 и 7 получали всего 17 доз. Группы со схемой введения q4d (1, 2, 3, 4, 8, 9) получали всего 9 доз. Группа с q8d (5) получала всего 5 доз лекарственного средства. Массу тела и потребление пищи измеряли каждый второй день. Уровень глюкозы в крови измеряли у сытых мышей на 7 день, 0 день, 7 день, 14 день, день 21 и день 28 в 9:00 дня (глюкозу крови измеряли перед введением дозы в дни дозирования). Глюкозу крови измеряли глюкометром. Проводили тест на толерантность к глюкозе, введенной внутрибрюшинным путем (ipGTT, 6 часов голодания).

Исследование прекращали на 34 день. Ткани печени и эпидидимальные белые жировые ткани (eWAT) собирали, взвешивали и хранили при -80°C . Сыворотки собирали для определения: AST, ALT, ALP, СК, BUN, креатинина, кальция, калия, натрия, хлорида, общего белка, альбумина, общего билирубина, глюкозы, триглицеридов и холестерина. Содержание инсулина в образцах измеряли с помощью коммерческого набора.

Полимер, указываемый в этом примере, относится к поли[HPMA-co-MA-GFLG-N-(6-аминогексил)ацетамиду, полимеру, который не содержит фумагиллол. Синтез поли[HPMA-co-MA-GFLG-N-(6-аминогексил)ацетамида описывается в WO/2011/150022, которая включена в контекст в качестве ссылки во всей ее полноте.

Структура поли[HPMA-co-MA-GFLG-N-(6-аминогексил)ацетамида]



На основании фигуры 19 можно сделать удивительный и

неожиданный вывод о том, что доза 12 мг/кг, введенная по схеме Q8D, приводила к более высокой потере начальной массы тела, чем доза 6 мг/кг, введенная по схеме Q4D. К окончанию исследования группа со схемой введения Q8D перестала терять массу, в то время, как оказалось, группа с введением 6 мг/кг продолжала терять массу тела. Полимер, который не содержит фумагиллол, показывает изменения массы, подобные наполнителю.

На фигуре 20 показано, что доза малой молекулы SKD-732 (соединение В), введенная по схеме Q2D (Q0D), показала лучшую реакцию, чем такая же средняя суточная доза той же малой молекулы, введенная по схеме Q4D. Как и ожидалось, малые молекулы показывают лучшие реакции при более частом введении дозы.

На фигуре 21 показано уменьшение потребления корма для соединений настоящего изобретения. Следует отметить первоначальное, значительное снижение потребления пищи для группы с введением дозы 12 мг/кг по схеме Q8D и последующее восстановление потребления с последующей картиной циклов снижения-восстановления потребления.

На фигуре 22 показаны значительно сниженные уровни инсулина во время ipGTT у самцов мышей C57B16, которым дают корм с высоким содержанием жиров. Соединения настоящего изобретению значительно уменьшают количество инсулина, экскретированного В-клетками в присутствии повышенного уровня глюкозы, что указывает на пониженную резистентность и повышенную чувствительность к инсулину. Следует отметить, что в анализах натощак инсулин был также понижен у мышей для всех групп соединения 16.

На фигуре 23 показаны изменения в общей AUC (площадь под кривой) инсулина у самцов мышей C57B16, которых кормили кормом с высоким содержанием жиров, во время введения глюкозы в зависимости от группы обработки.

На фигуре 24 показано снижение уровня глюкозы в крови по сравнению с группами наполнителя и полимера на всем протяжении периода обработки.

На фигуре 25 показано произведение величины содержания

глюкозы (мг/дл) × величину содержания инсулина (мкЕ/мл)/405 (Akagiri et al., A Mouse Model of Metabolic Syndrome, J. Clin. Biochem. Nutr., 42, 150-157, March 2008) или величина измерения НОМА-ir, которая является признанной величиной измерения инсулинорезистентности и прогностического фактора сердечнососудистого заболевания (Bonora et al., Diabetes Care, 2002, 25, 1135-1141).

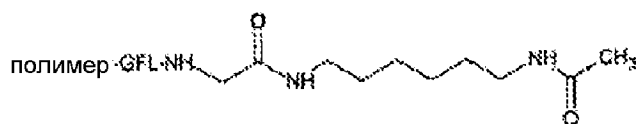
Таблица 18

Данные, применяемые для вычисления НОМА-ir

ipGTT	Инсулин (мкЕ/мл)		Глюкоза (мг/дл)	
	0 мин	15 мин	0 мин	15 мин
Наполнитель Q4D	205,0	263,4	239,2	482,0
Наполнитель 12 мг/кг, Q4D	291,9	299,4	215,6	525,9
Соед. 16, 2 мг/кг	104,6	133,4	182,8	488,6
Соед. 16, 6 мг/кг	53,2	64,3	179,8	557,3
Соед. 16, 12 мг/кг	75,9	96,0	204,	553,1
Наполнитель, Q2D (этанол)	264,7	241,8	218,0	521,9
Наполнитель, Q2D (этанол)	249,4	264,9	231,0	493,6
СКД-732, 1 мг/кг, Q2D	54,8	89,3	161,3	469,2
СКД-732, 2 мг/кг, Q2D	99,8	118,3	182,6	498,6

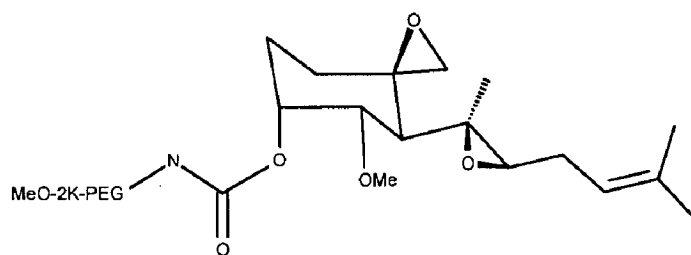
Пример эффективности различных соединений в мышинной модели DIO

Самцов мышей C57B16 (N=6) вволю кормили кормом TD.06414 с высоким содержанием жиров, 60% Ккал которого обеспечивают жиры (корм Harlan). В день 1 исследования животных разделяли на группы таким образом, чтобы средняя масса мыши в каждой группе была 47 г. Мышей обрабатывали либо забуференным фосфатом солевым раствором (наполнитель), либо соединениями, перечисленными в таблице 19, растворенными в наполнителе (спинальное, подкожное введение). Обработку продолжали в течение 26 дней при дозах и по схеме, указанными ниже в таблице 19. Полимер, указываемый в этом примере, относится к поли[HPMA-co-MA-GFLG-N- (6-аминогексил)ацетамиду, полимеру, который не содержит фумагиллол.

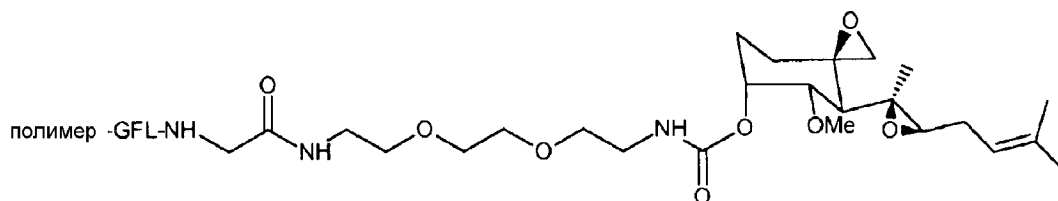


Соединение цис-16 является соединением 16, у которого 1,4-диаминоциклогексан имеет цис-конфигурацию, а не транс-конфигурации, как показано для соединения 16.

Соединение aa является продуктом реакции ПЭГ-амин с концевой метоксигруппой и молекулярной массой 2 КДа и п-нитрофенилфумагилл-6-илкарбоната



Соединение bb представляет собой соединение формулы:



Синтез поли[HPMA-co-MA-GFLG-NH-2-[(2-(2-аминоэтоксид)этоксид)этил]карбамоилфумагиллола] описан в WO/2011/150022, которая включена в контекст в качестве ссылки во всей ее полноте.

Таблица 19

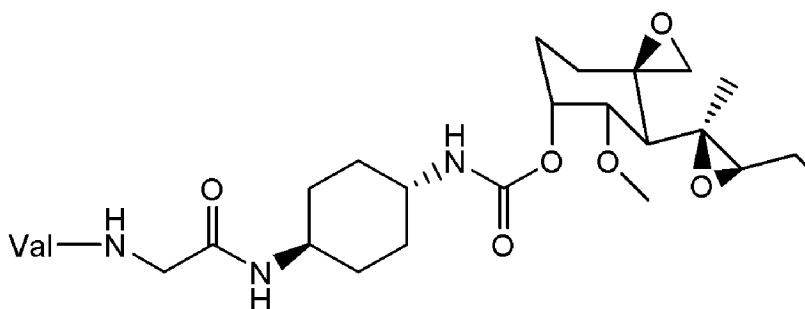
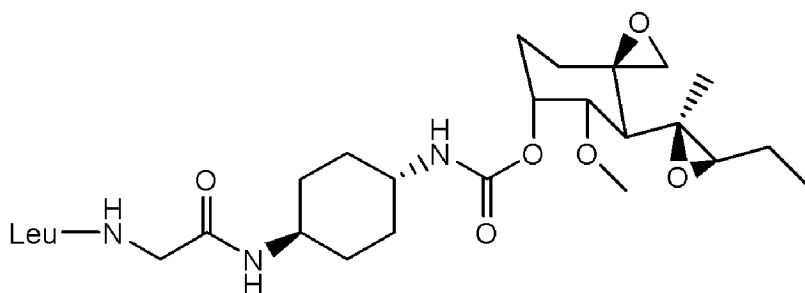
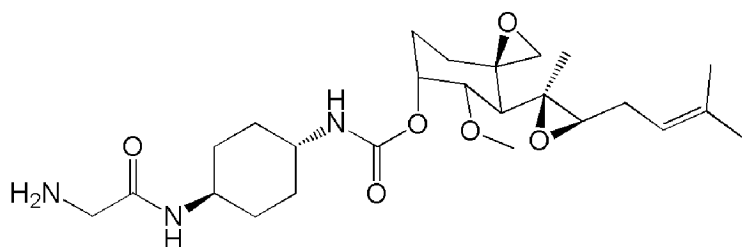
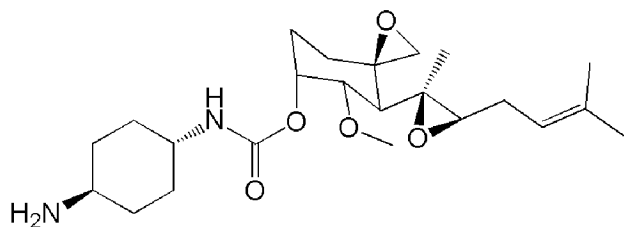
Масса тела модели мыши DIO в зависимости от времени

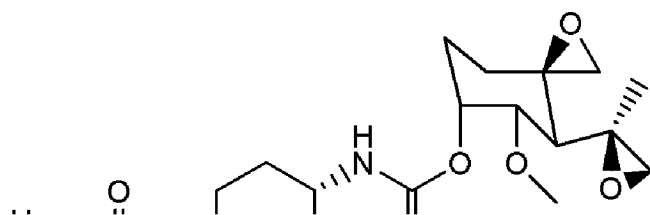
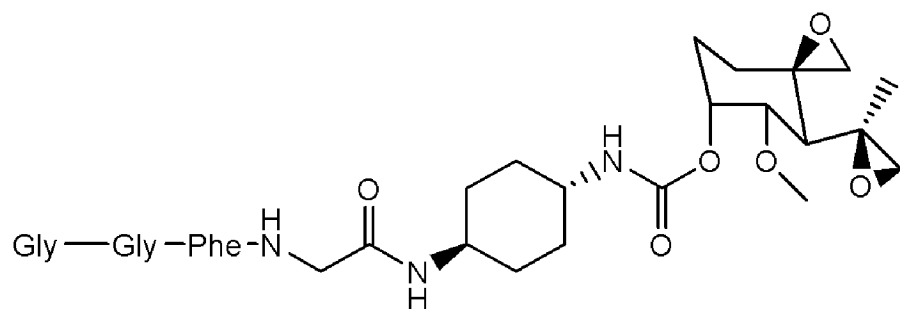
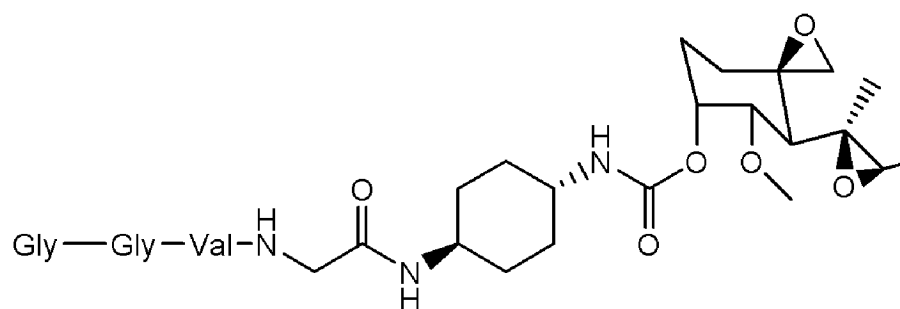
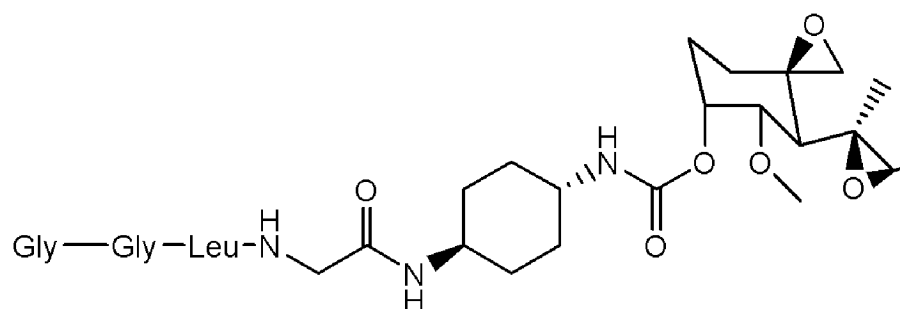
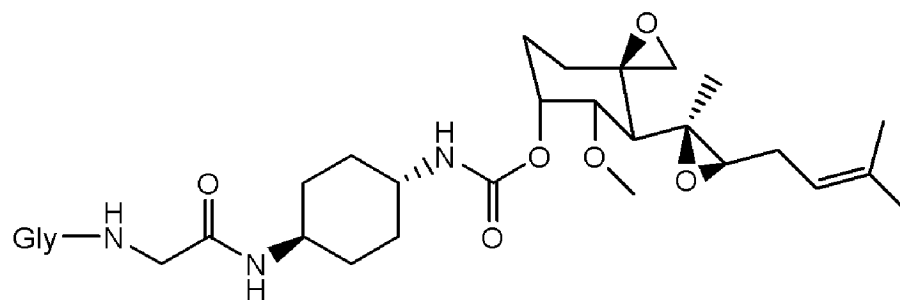
Группа	Доза (q4d)	Схема	Средняя масса тела мыши группы в день анализа (г)					Изменение массы тела в зависимос- ти от наполнителя
	мг/кг		1	7	15	21	26	
Наполни- тель	0	q4d	47,0	45,0	45,8	46,1	46,1	0,0%
Соедине- ние 16	2	q4d	47,0	43,4	43,2	42,0	41,7	-9,6%

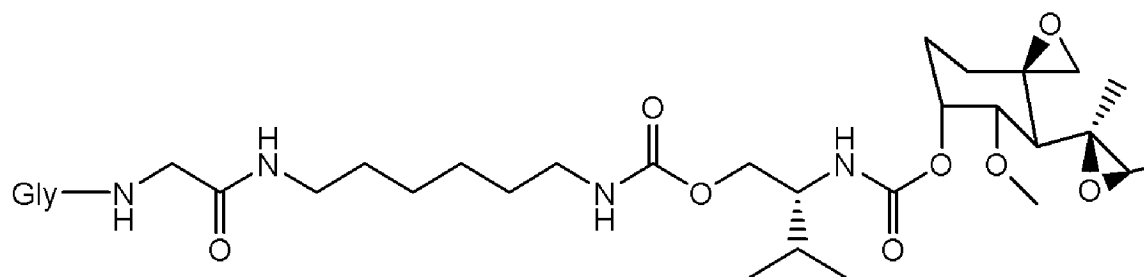
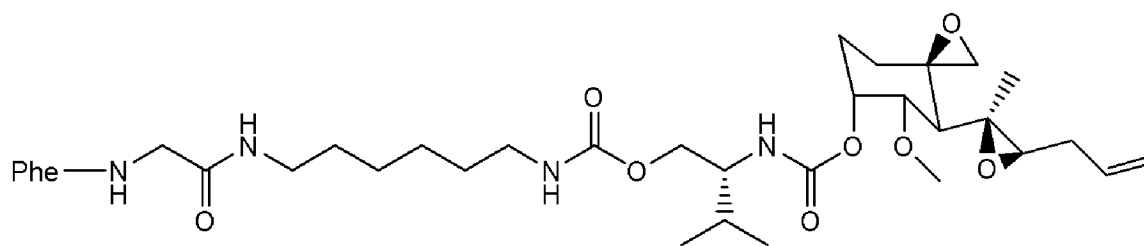
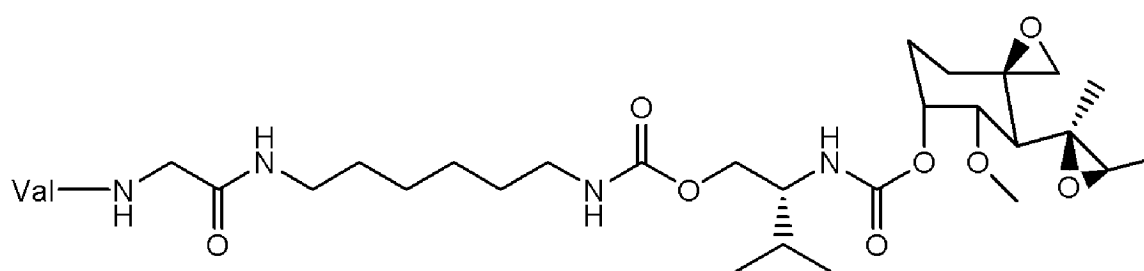
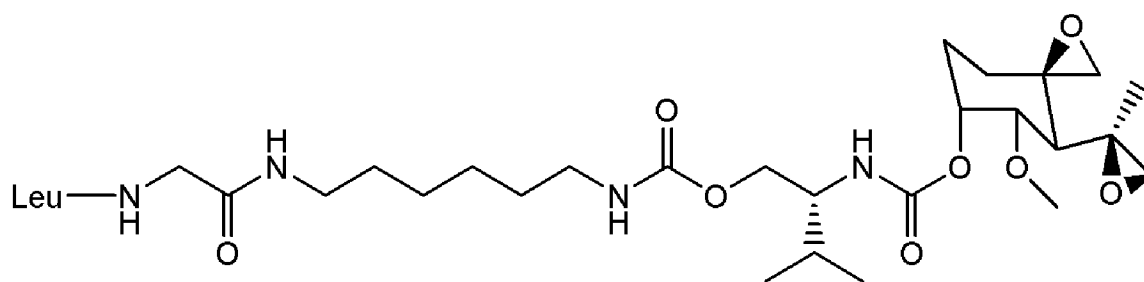
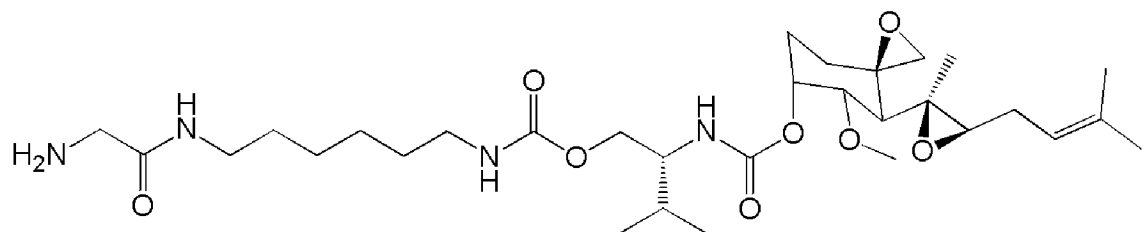
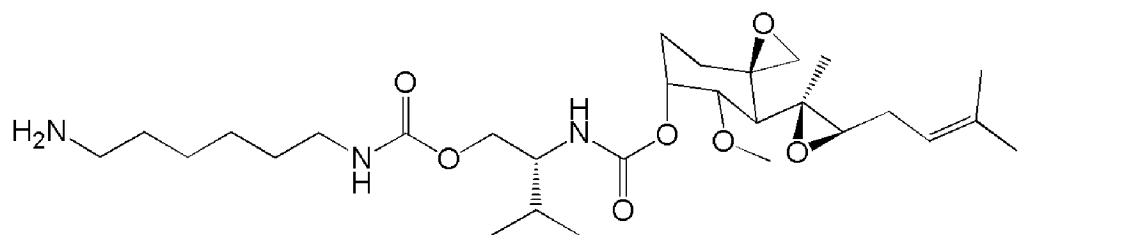
Соедине- ние 16, q8d	12	q4d	47,0	41,3	38,3	36,2	38,0	-17,5%
Соедине- ние 32	2	q4d	47,0	42,0	40,6	41,6	40,5	-12,1%
Соедине- ние 38	2	q4d	47,0	44,3	43,8	42,9	43,6	-5,5%
Полимер	12	q4d	47,0	44,8	46,1	46,3	46,5	0,8%0%
Соедине- ние cis- 16	2	q4d	47,0	42,7	42,6	40,9	40,6	-12,0
Соедине- ние aa	2	q4d	47,0	44,3	45,2	45,4	45,8	-0,8%
Соедине- ние bb	2	q4d	47,0	43,6	43,9	42,2	42,5	-7,8%

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Применение соединения для улучшения или восстановления чувствительности к инсулину у пациента, нуждающегося в этом, где пациент имеет избыточный вес или страдает ожирением, и где соединение или его фармацевтически приемлемую соль выбирают из группы, состоящей из:





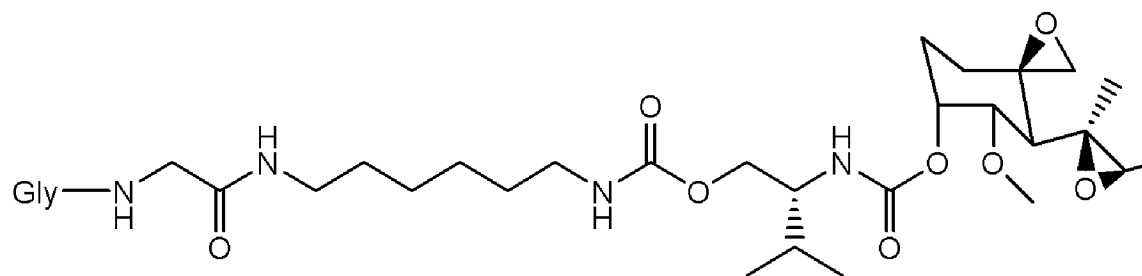
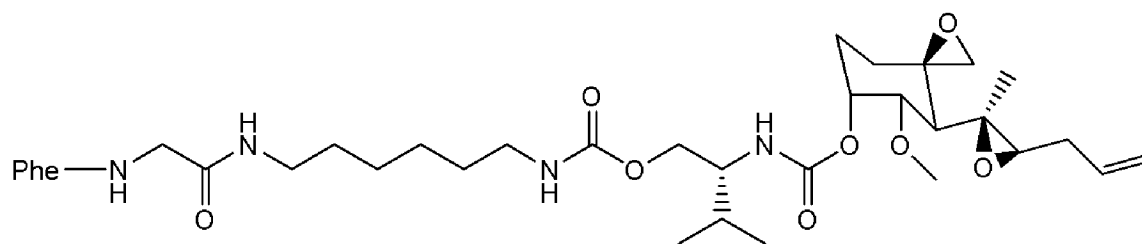
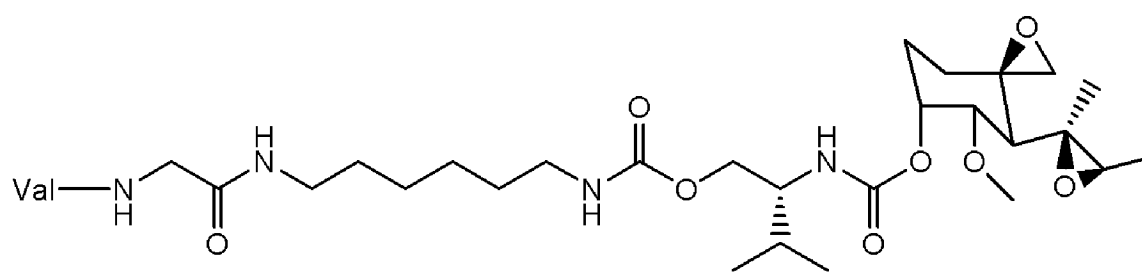
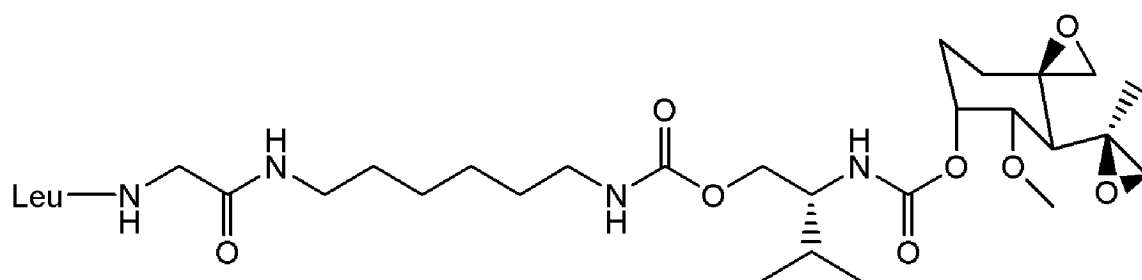
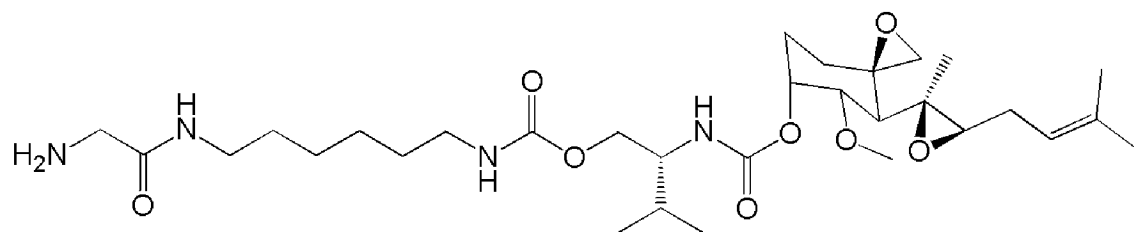
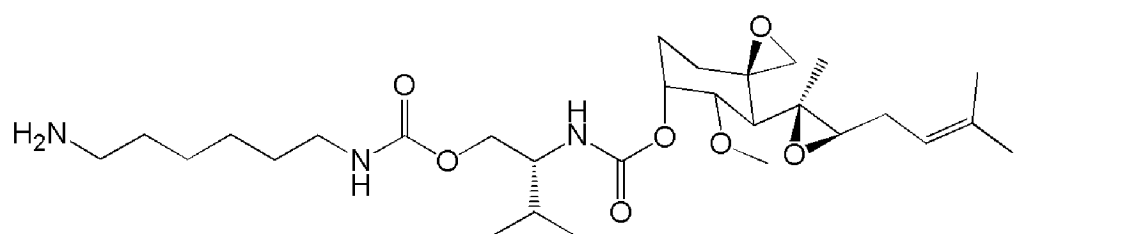


H

=O

H



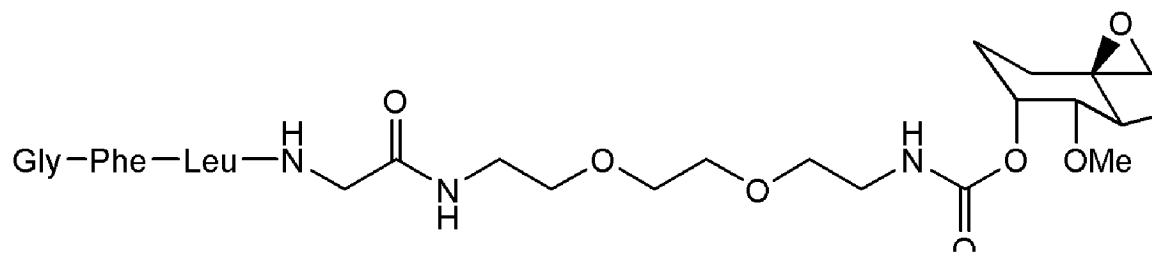
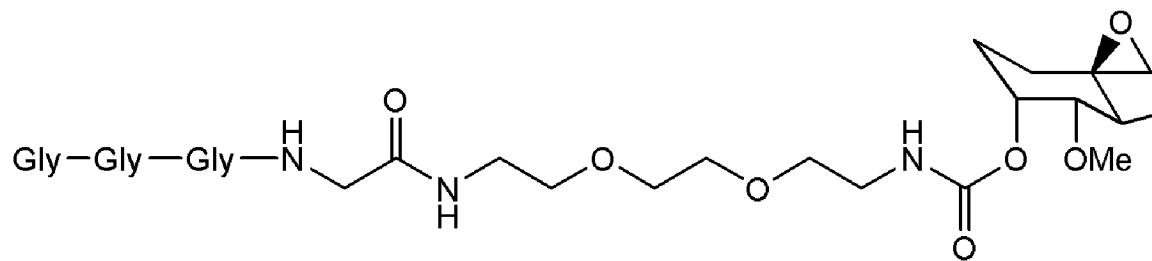
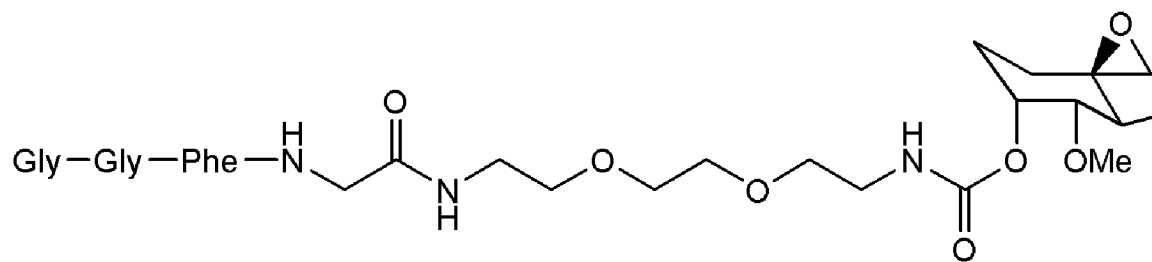
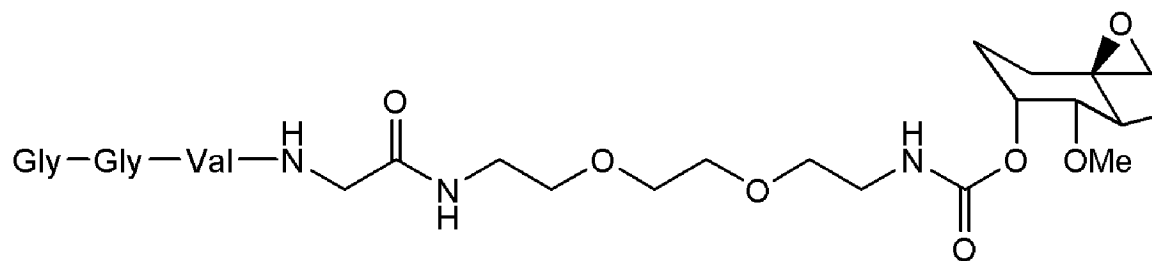
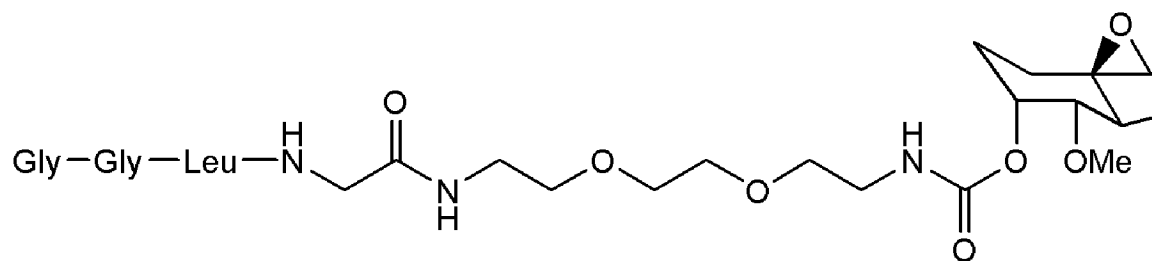
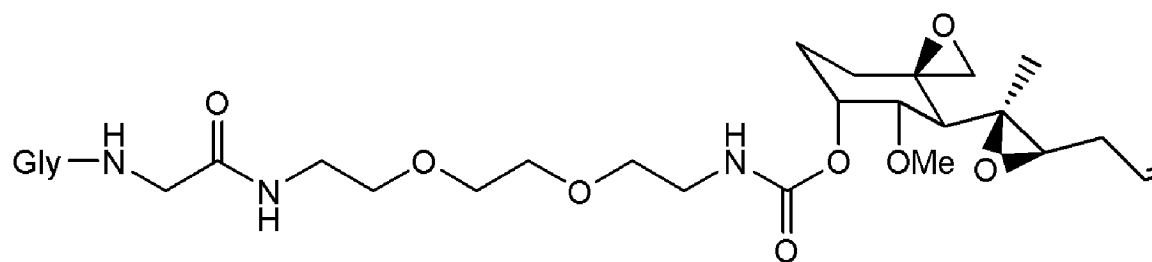


H

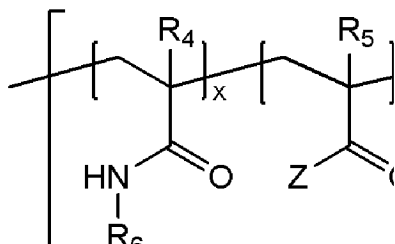
O

H





2. Применение соединения формулы



или его фармацевтически приемлемой соли для улучшения или восстановления чувствительности к инсулину у пациента, нуждающегося в этом, где пациент имеет избыточный вес или страдает ожирением; и

где в каждом случае, независимо

R_4 представляет собой H или C_1 - C_6 алкил;

R_5 представляет собой H или C_1 - C_6 алкил;

R_6 представляет собой C_2 - C_6 гидроксипалкил;

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

AA_1 представляет глицин, аланин или $H_2N(CH_2)_mCO_2H$, где m равно 2, 3, 4 или 5;

AA_2 представляет собой связь или аланин, цистеин, аспарагиновую кислоту, глутаминовую кислоту, фенилаланин, глицин, гистидин, изолейцин, лизин, лейцин, метионин, аспарагин, пролин, глутамин, аргинин, серин, треонин, валин, триптофан или тирозин;

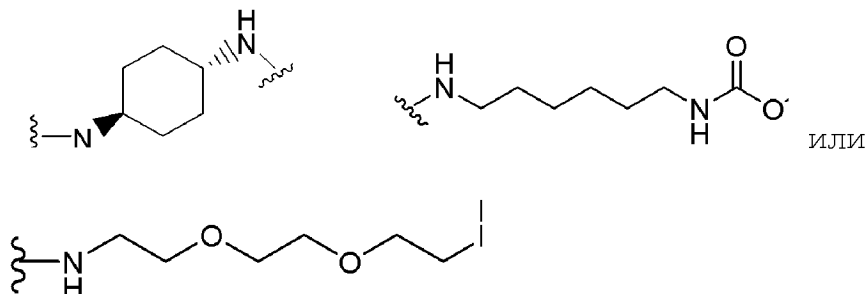
AA_3 представляет собой связь или аланин, цистеин, аспарагиновую кислоту, глутаминовую кислоту, фенилаланин, глицин, гистидин, изолейцин, лизин, лейцин, метионин, аспарагин, пролин, глутамин, аргинин, серин, треонин, валин, триптофан или тирозин;

AA_4 представляет собой связь или аланин, цистеин, аспарагиновую кислоту, глутаминовую кислоту, фенилаланин, глицин, гистидин, изолейцин, лизин, лейцин, метионин, аспарагин, пролин, глутамин, аргинин, серин, треонин, валин, триптофан или тирозин;

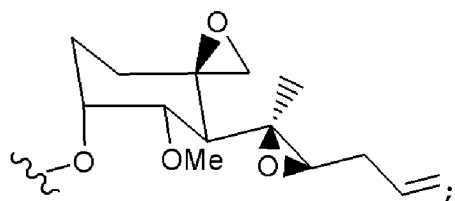
AA_5 представляет собой связь или глицин, валин, тирозин, триптофан, фенилаланин, метионин, лейцин, изолейцин или аспарагин;

AA₆ представляет собой связь или аланин, аспарагин, цитруллин, глутамин, глицин, лейцин, метионин, фенилаланин, серин, треонин, триптофан, тирозин, валин или $\text{H}_2\text{N}(\text{CH}_2)_m\text{CO}_2\text{H}$, где m равно 2, 3, 4 или 5;

Q-X-Y представляет собой



W представляет собой



x равно числу в диапазоне от 1 до 450;

y равно числу в диапазоне от 1 до 30; и

n равно числу в диапазоне от 1 до 50.

3. Применение по п.2, где R_4 представляет собой метил.

4. Применение по п.2, где R_5 представляет собой метил.

5. Применение по п.2, где R_6 представляет собой 2-гидроксипропил.

6. Применение по п.2, где AA₁ представляет собой глицин, AA₂, AA₃, AA₄, AA₅ и AA₆ представляют собой связи.

7. Применение по п.2, где AA₁ представляет собой глицин, AA₂, AA₃, AA₄ и AA₅ представляют собой связи, и AA₆ представляет собой глицин.

8. Применение по п.2, где AA₁ представляет собой глицин, AA₂ представляет собой связь, AA₃ представляет собой связь, AA₄ представляет собой глицин, AA₅ представляет собой лейцин и AA₆ представляет собой глицин.

9. Применение по п.2, где AA₁ представляет собой глицин, AA₂ представляет собой связь, AA₃ представляет собой связь, AA₄

представляет собой глицин, AA₅ представляет собой валин и AA₆ представляет собой глицин.

10. Применение по п.2, где AA₁ представляет собой глицин, AA₂ представляет собой связь, AA₃ представляет собой связь, AA₄ представляет собой глицин, AA₅ представляет собой фенилаланин и AA₆ представляет собой глицин.

11. Применение по п.2, где AA₁ представляет собой глицин, AA₂ представляет собой связь, AA₃ представляет собой связь, AA₄ представляет собой фенилаланин, AA₅ представляет собой лейцин и AA₆ представляет собой глицин.

12. Применение по п.2, где каждый из AA₁ , AA₄ , AA₅ и AA₆ представляет собой глицин, AA₂ представляет собой связь и AA₃ представляет собой связь.

13. Применение по п.2, где отношение x к y находится в интервале от 20:1 до 4:1, предпочтительно 11:1.

14. Применение по п. 1 или 2, где индекс массы тела (ИМТ) у пациента составляет от 25 кг/м² до 29,9 кг/м²; 30 кг/м² или более; 35 кг/м² или более; или 40 кг/м² или более.

15. Применение по п. 1 или 2, где пациент имеет по меньшей мере одно сопутствующее заболевание, индуцируемое ожирением или связанное с ожирением, выбранное из группы, состоящей из диабета, нарушения толерантности к глюкозе, нарушения содержания глюкозы натощак, повышенных концентраций инсулина в плазме, синдрома резистентности к инсулину, гиперлипидемии, дислипидемии, гипертензии, гиперурикемии, подагры, заболевания коронарной артерии, заболевания инфаркта миокарда сердца, стенокардии, апноэ во сне, обструктивного апноэ во сне, синдрома Пиквика, ожирения печени, инфаркта головного мозга, инсульта, тромбоза сосудов головного мозга, респираторных осложнений, заболевания желчного пузыря, заболевания почек, желудочно-пищеводного рефлюкса, стрессового недержания мочи, атеросклероза, болезни сердца, аномальных ритмов сердца, сердечной аритмии, транзиторной ишемической атаки, ортопедических нарушений, остеоартрита, деформирующего артрита, люмбаго, расстройства менструального цикла, эндокринопатии, гормональных дисбалансов и бесплодия.

16. Применение по п. 1 или 2, где соединение дополнительно применяют для лечения, уменьшения или улучшения одного или нескольких кардиометаболических факторов риска у указанного пациента, и кардиометаболических факторов риска выбирают из уровней триглицеридов плазмы, уровней LDL-холестерина, уровней С-реактивного белка (CRP), систолического кровяного давления и диастолического кровяного давления.

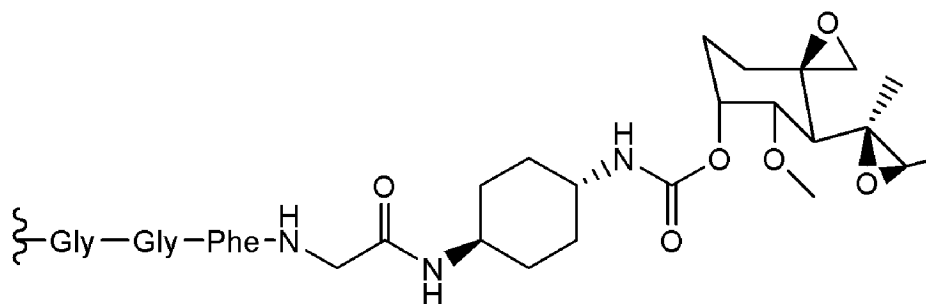
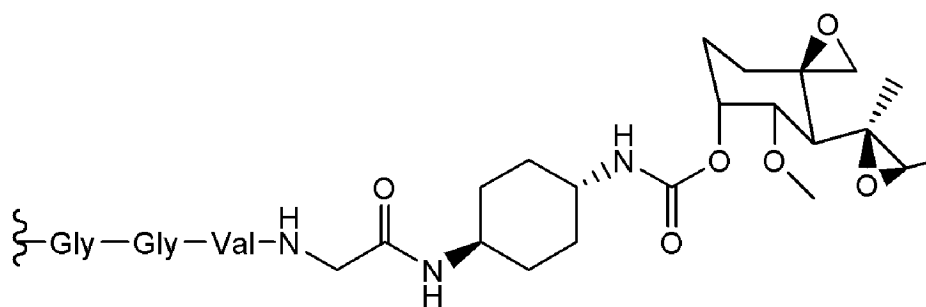
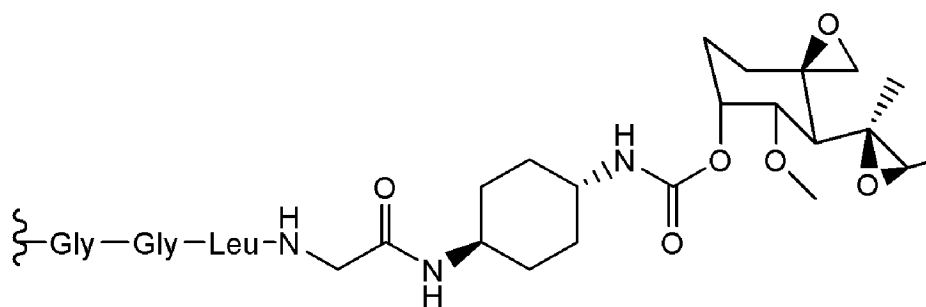
17. Применение по п. 1 или 2, где соединение вводят в терапевтически эффективном количестве, которое составляет от 0,0001 до 5 мг/кг массы тела в день или от 0,001 до 1 мг/кг массы тела в день.

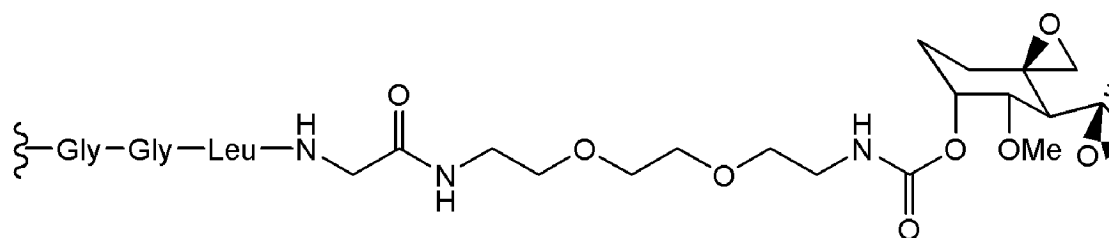
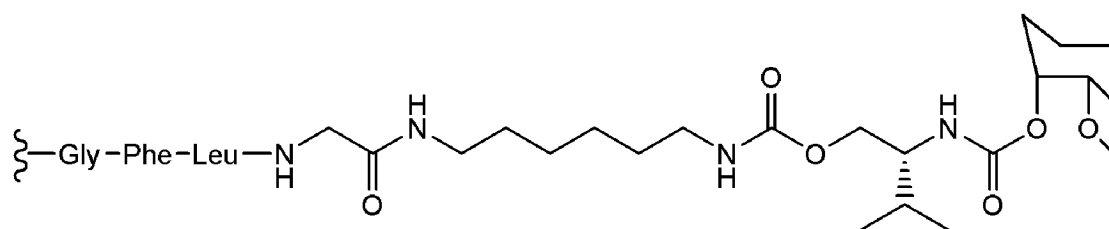
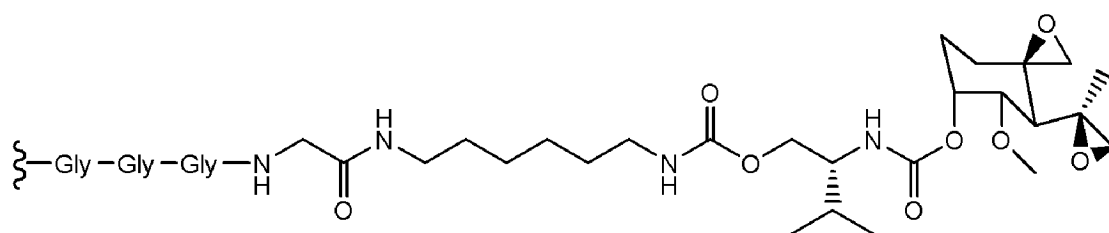
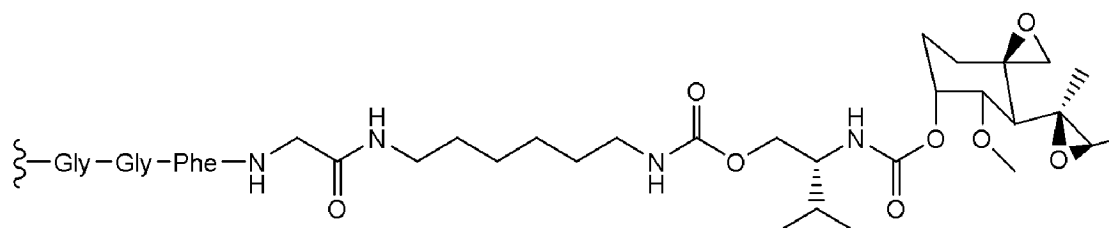
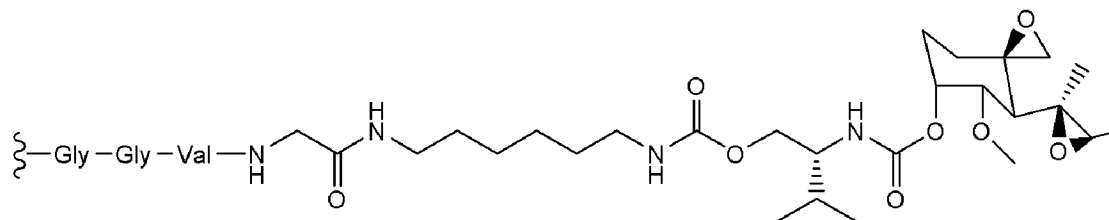
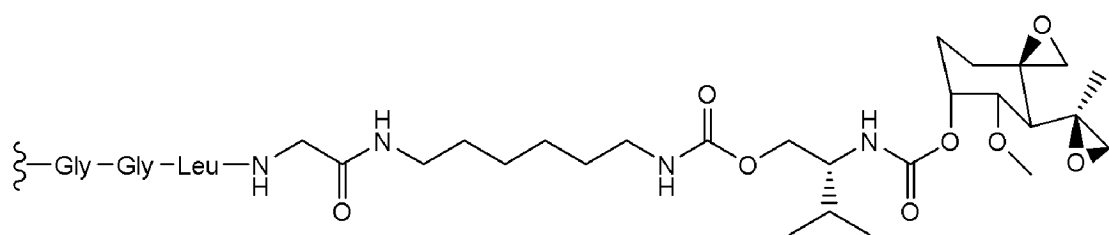
18. Применение по п. 1 или 2, где указанное соединение вводят от 1 до 5 раз в неделю, предпочтительно для введения каждые две недели, более предпочтительно для введения по схеме введения q4d или наиболее предпочтительно по схеме введения дозы q7d.

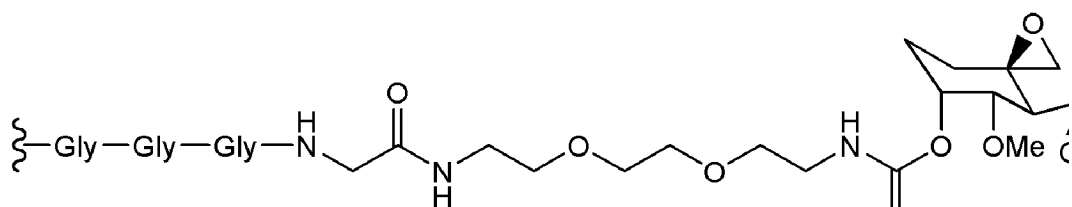
19. Применение по п. 1 или 2, где указанное соединение вводят парентерально или подкожно.

20. Применение по п. 1 или 2, где указанное соединение предоставлено в виде фармацевтической композиции, содержащей указанное соединение и фармацевтически приемлемый носитель.

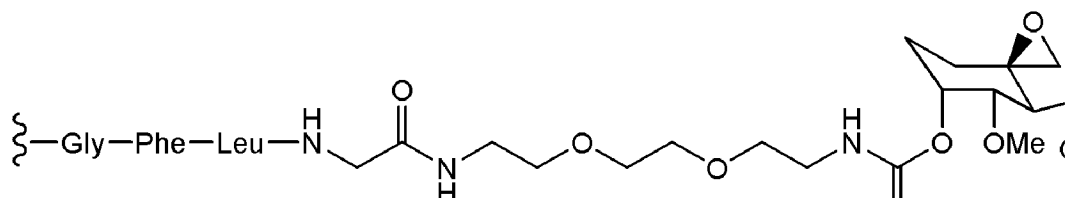
21. Применение по п.2, где Z представляет собой:



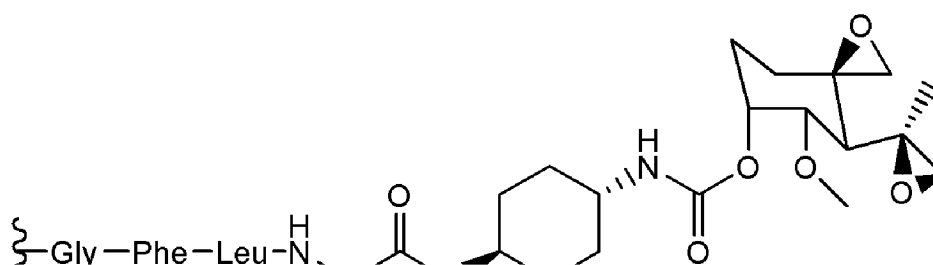




и



22. Применение по п.2, где Z представляет собой



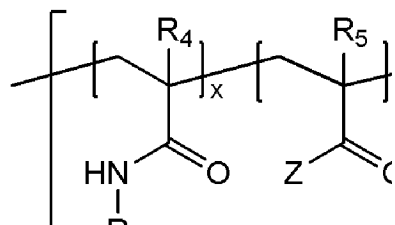
23. Применение по п.2, где соединение имеет молекулярную массу менее 60 кДа.

24. Применение по п.15, где диабет представляет собой инсулиннезависимый сахарный диабет типа II.

25. Применение по п.15, где апноэ во сне представляет собой обструктивное апноэ во сне.

26. Применение по п.15, где заболевание желчного пузыря представляет собой желчнокаменную болезнь.

27. Применение соединения формулы



или его фармацевтически приемлемой соли для улучшения или восстановления чувствительности к инсулину у пациента, нуждающегося в этом, где пациент имеет избыточный вес или страдает ожирением;

где в каждом случае, независимо

R₄ представляет собой H или C₁-C₆алкил;

R_5 представляет собой H или C_1 - C_6 алкил;

R_6 представляет собой C_2 - C_6 гидроксипалкил;

Z представляет собой $HN-AA_2-AA_3-AA_4-AA_5-AA_6-C(O)-W$;

AA_2 представляет собой связь или аланин, цистеин, аспарагиновую кислоту, глутаминовую кислоту, фенилаланин, глицин, гистидин, изолейцин, лизин, лейцин, метионин, аспарагин, пролин, глутамин, аргинин, серин, треонин, валин, триптофан или тирозин;

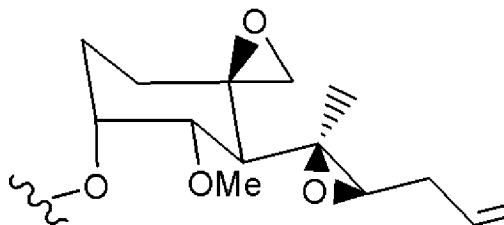
AA_3 представляет собой связь или аланин, цистеин, аспарагиновую кислоту, глутаминовую кислоту, фенилаланин, глицин, гистидин, изолейцин, лизин, лейцин, метионин, аспарагин, пролин, глутамин, аргинин, серин, треонин, валин, триптофан или тирозин;

AA_4 представляет собой связь или аланин, цистеин, аспарагиновую кислоту, глутаминовую кислоту, фенилаланин, глицин, гистидин, изолейцин, лизин, лейцин, метионин, аспарагин, пролин, глутамин, аргинин, серин, треонин, валин, триптофан или тирозин;

AA_5 представляет собой связь, аланин, цистеин, глицин, изолейцин, лейцин, метионин, фенилаланин, валин или триптофан;

AA_6 представляет собой аланин, аспарагин, цитруллин, глутамин, глицин, лейцин, метионин, фенилаланин, серин, треонин, триптофан, тирозин, валин или $H_2N(CH_2)_mCO_2H$, где m равно 2, 3, 4 или 5;

W представляет собой



x равно числу в диапазоне от 1 до 450;

y равно числу в диапазоне от 1 до 30; и

n равно числу в диапазоне от 1 до 50.

28. Применение по п.27, где каждый AA_2 , AA_3 , AA_4 и AA_5 представляет собой связь.

29. Применение по п.27, где каждый AA_2 , AA_3 и AA_4 представляет собой связь.

30. Применение по п.27, где каждый AA_2 , AA_3 и AA_4 представляет собой связь, AA_5 представляет собой лейцин и AA_6 представляет собой глицин.

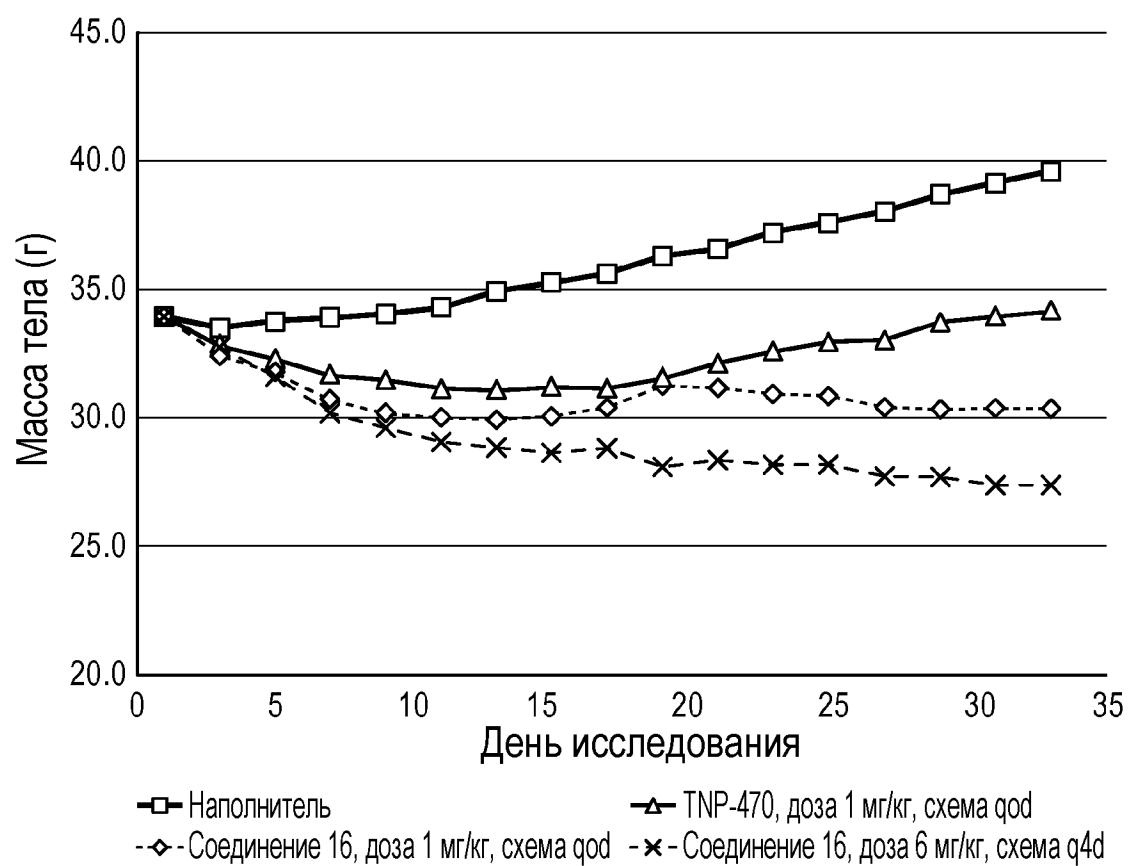
31. Применение по п.27, где каждый AA_2 , AA_3 и AA_4 представляет собой связь, AA_5 представляет собой валин и AA_6 представляет собой глицин.

32. Применение по п.27, где каждый AA_2 , AA_3 и AA_4 представляет собой связь, AA_5 представляет собой фенилаланин и AA_6 представляет собой глицин.

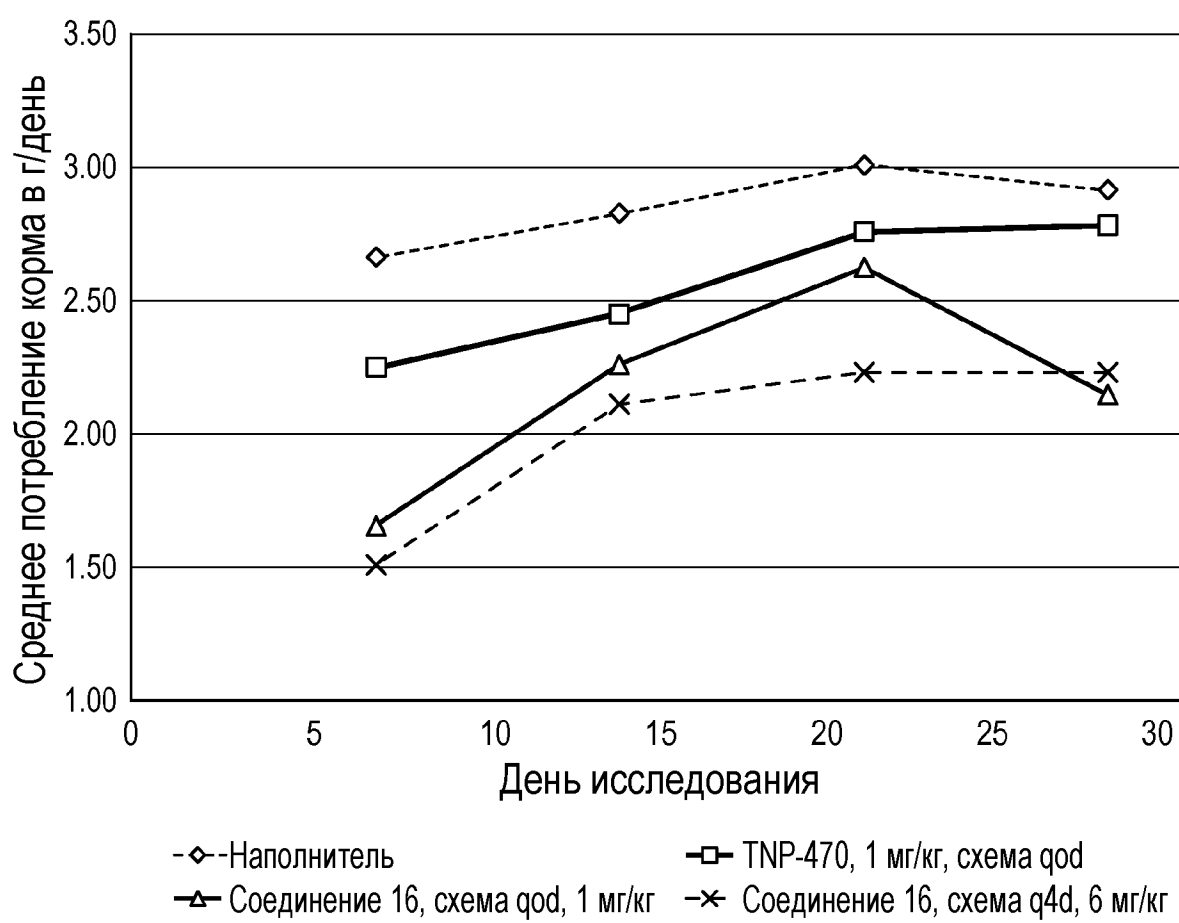
33. Применение по п.27, где AA_2 представляет собой связь.

По доверенности

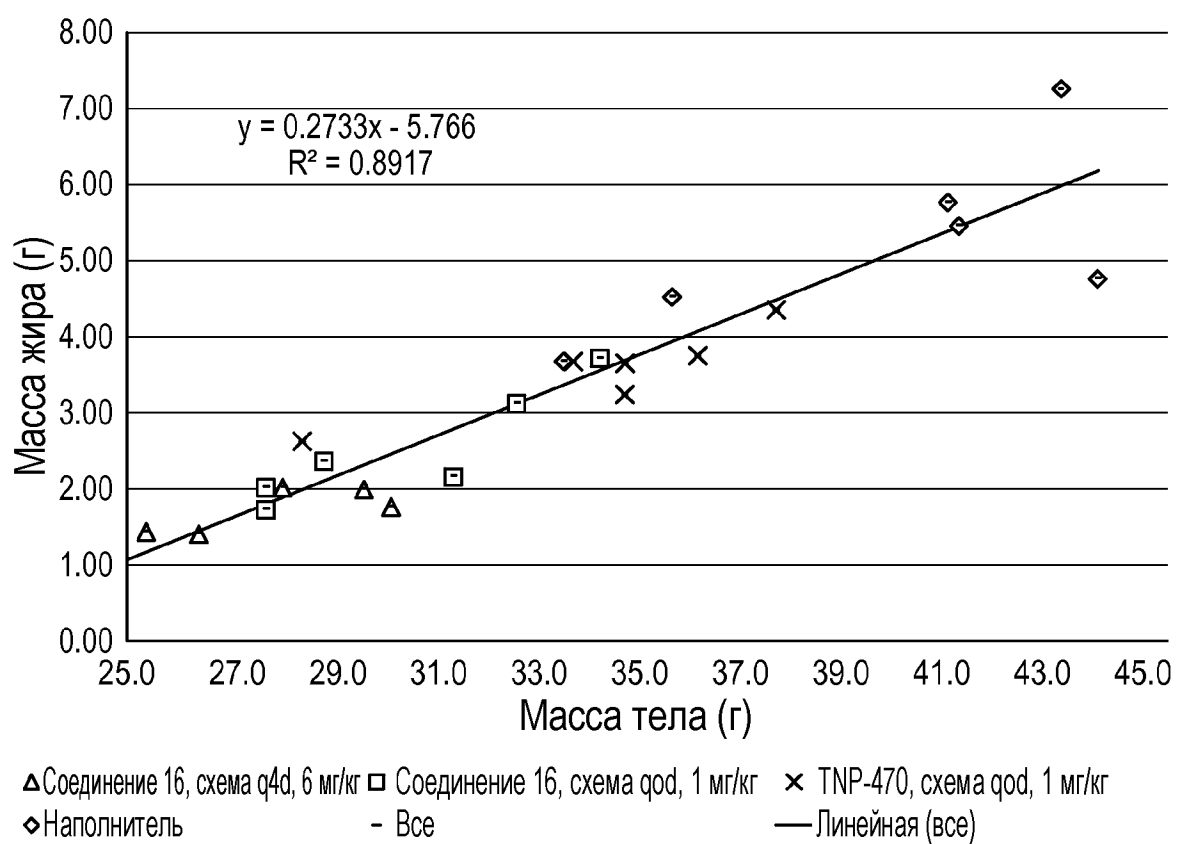
ФИГ. 1



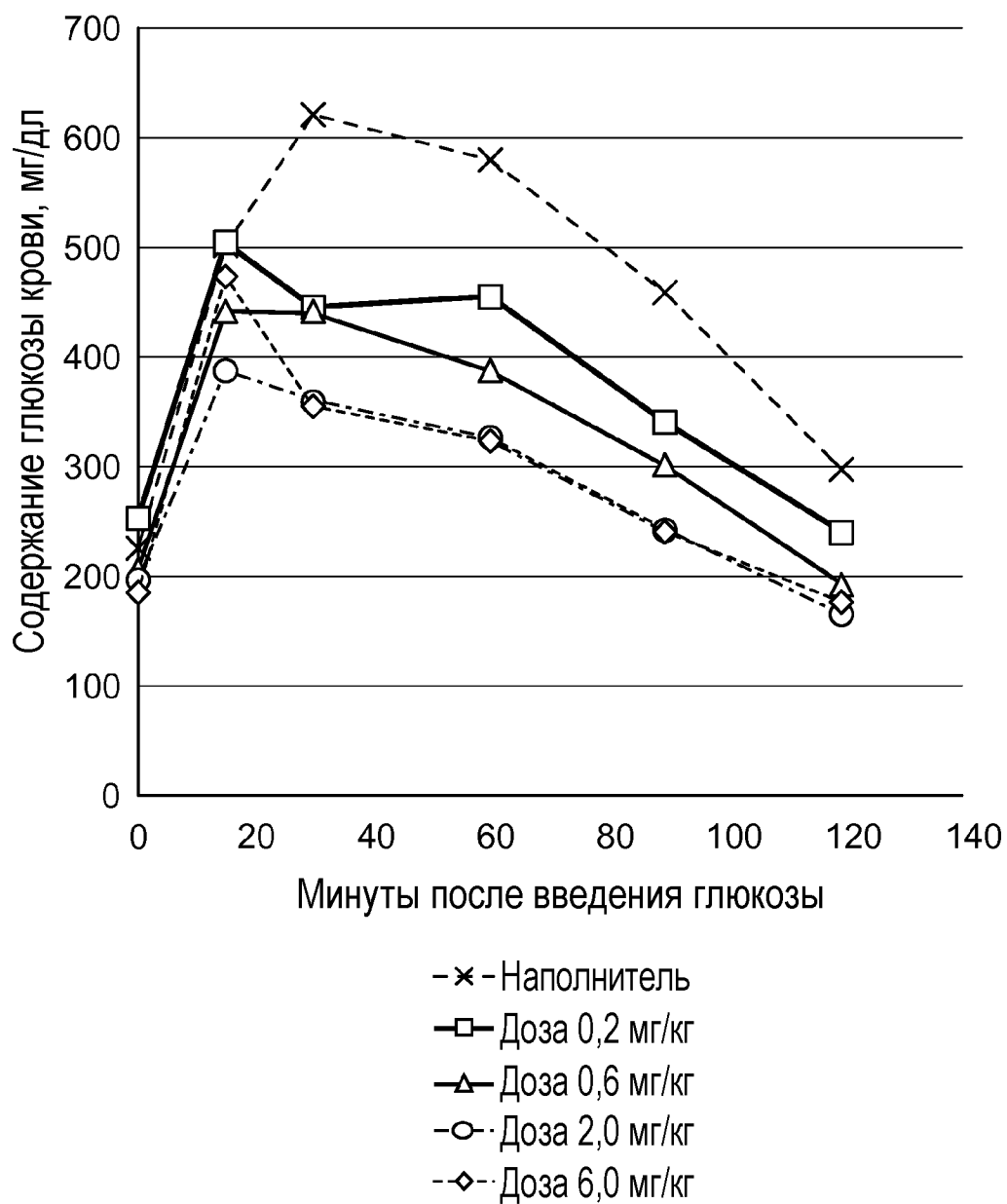
ФИГ. 2



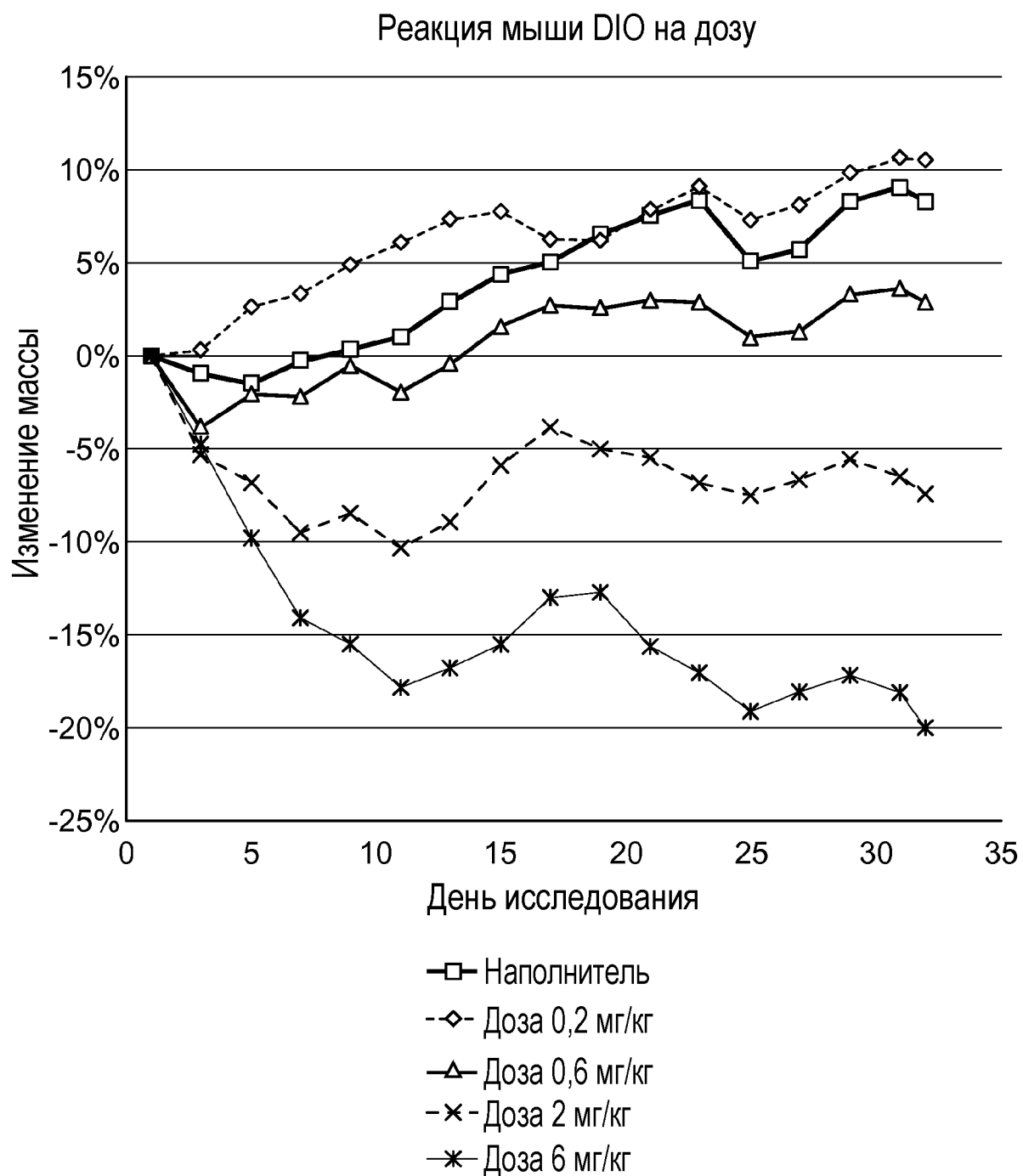
ФИГ. 3



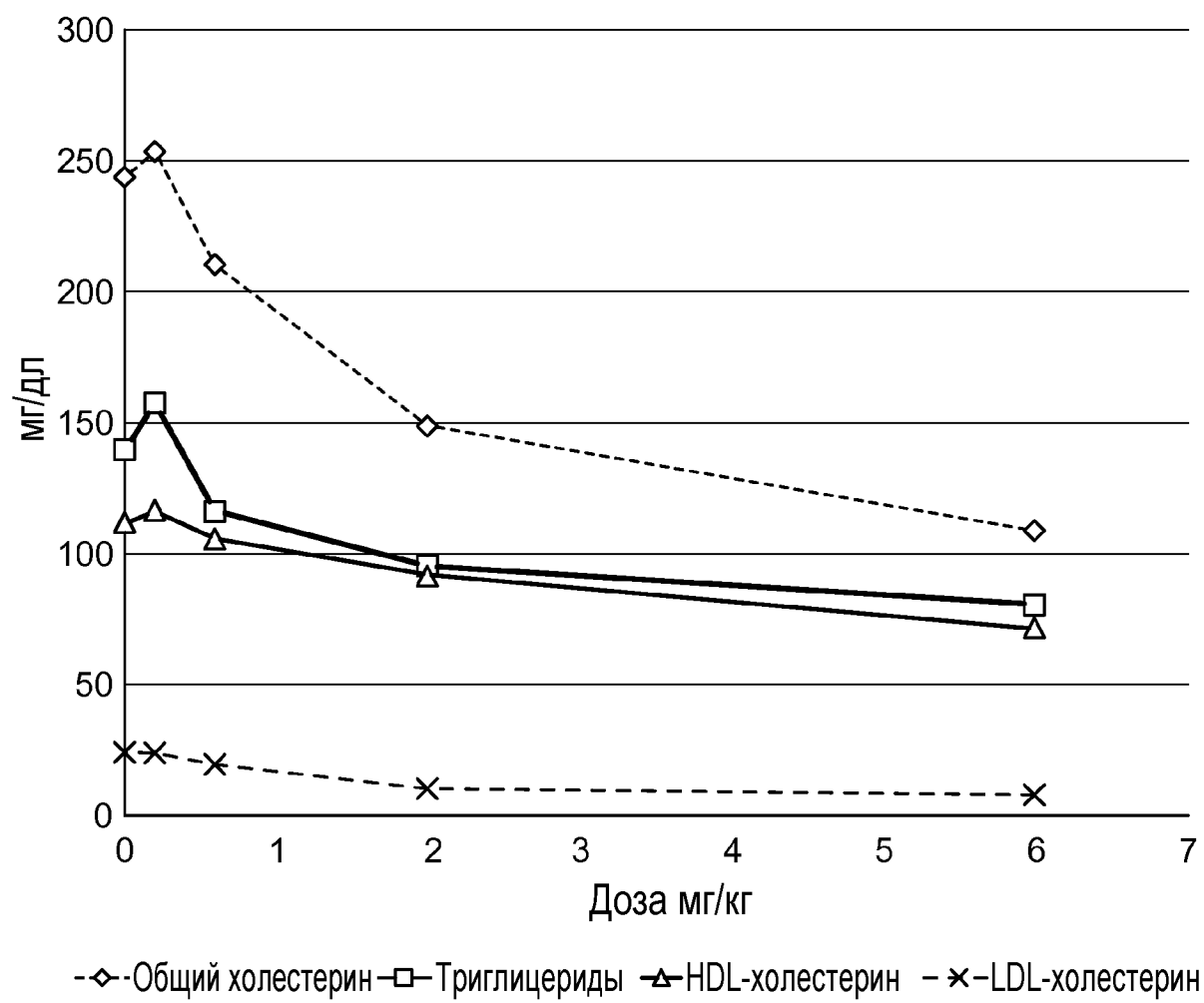
ФИГ. 4



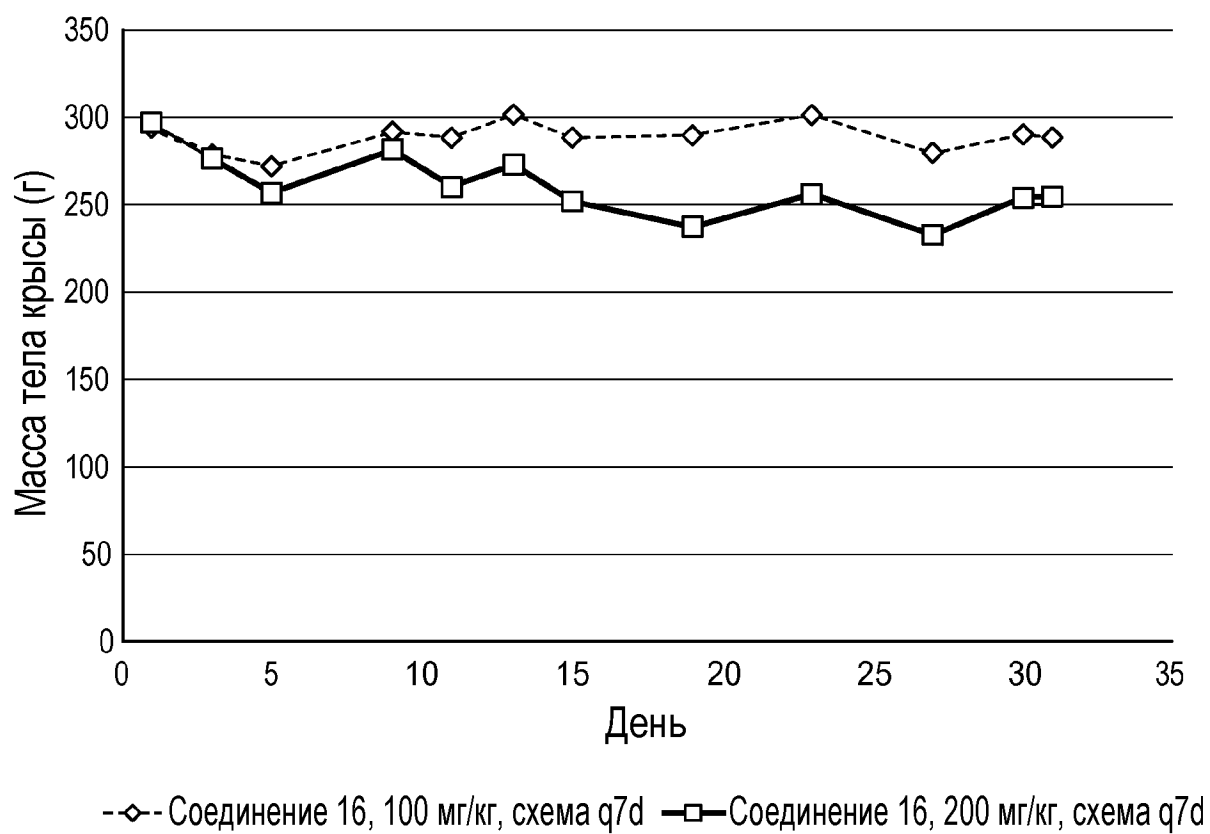
ФИГ. 5



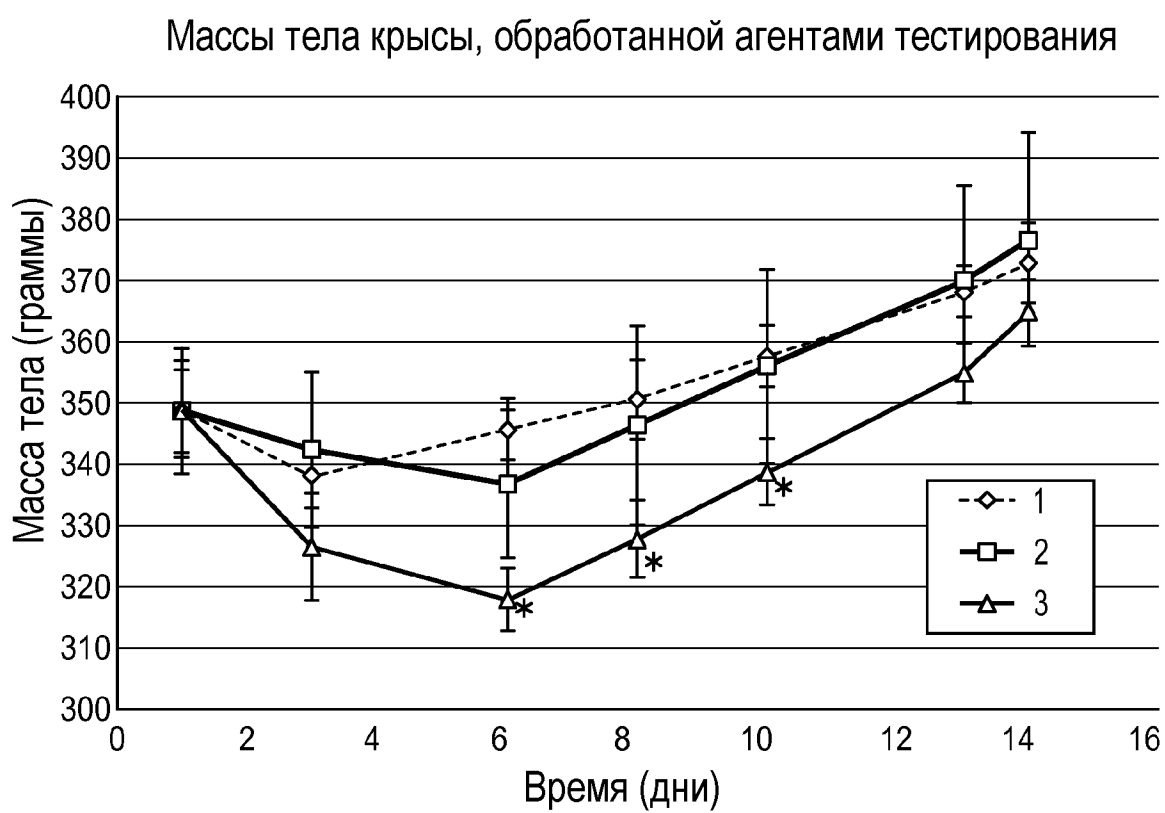
ФИГ. 6



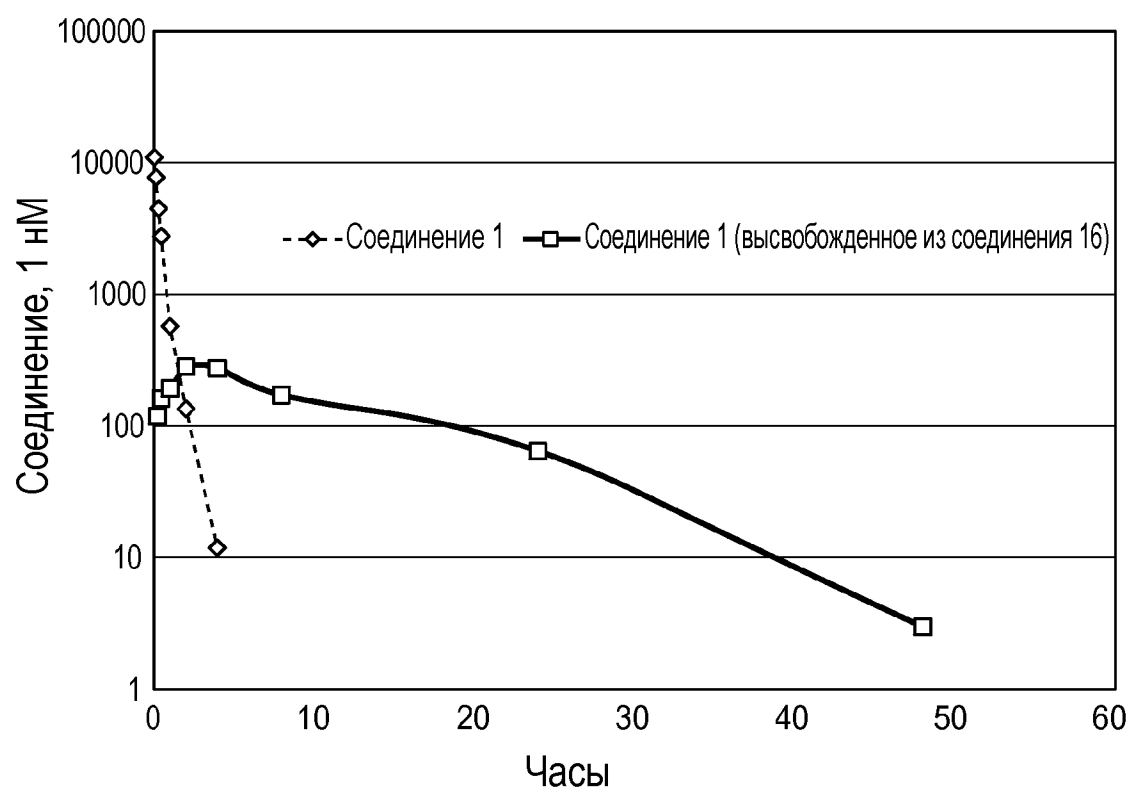
ФИГ. 7



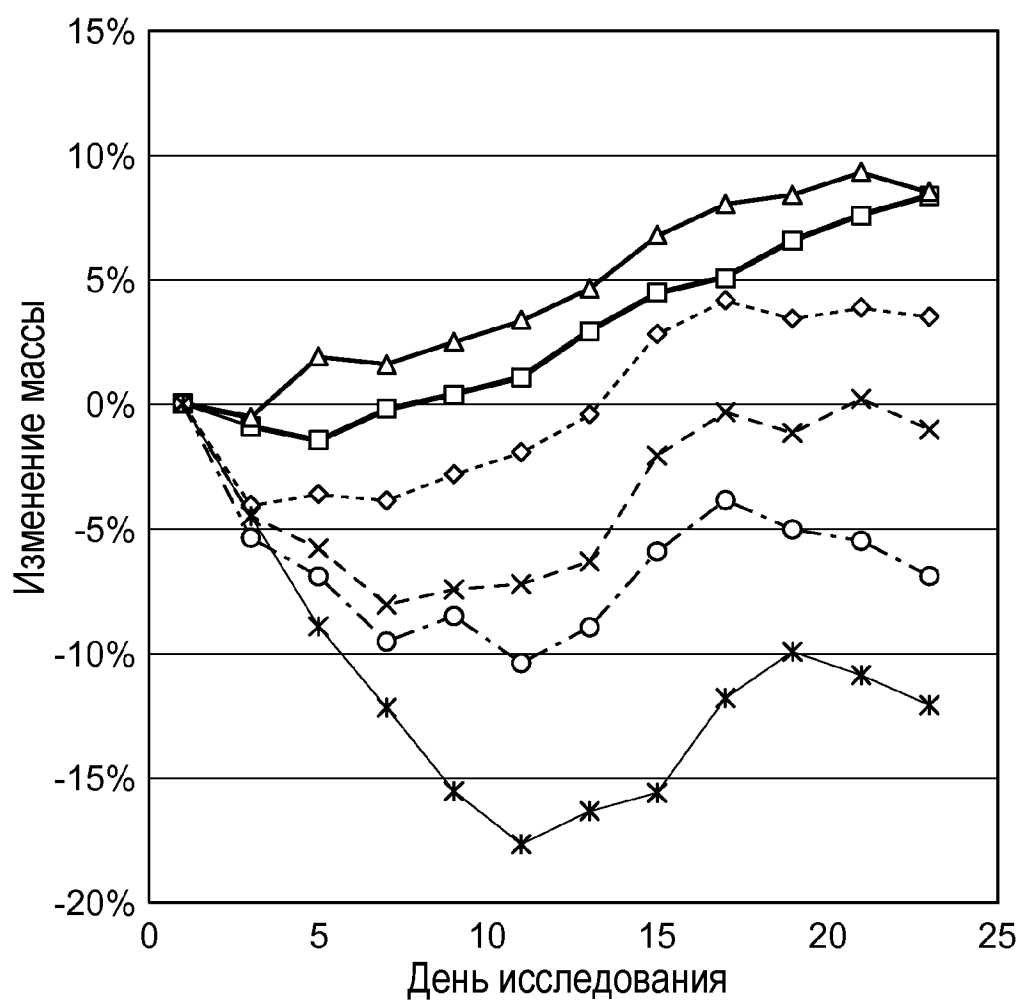
ФИГ. 8



ФИГ. 9

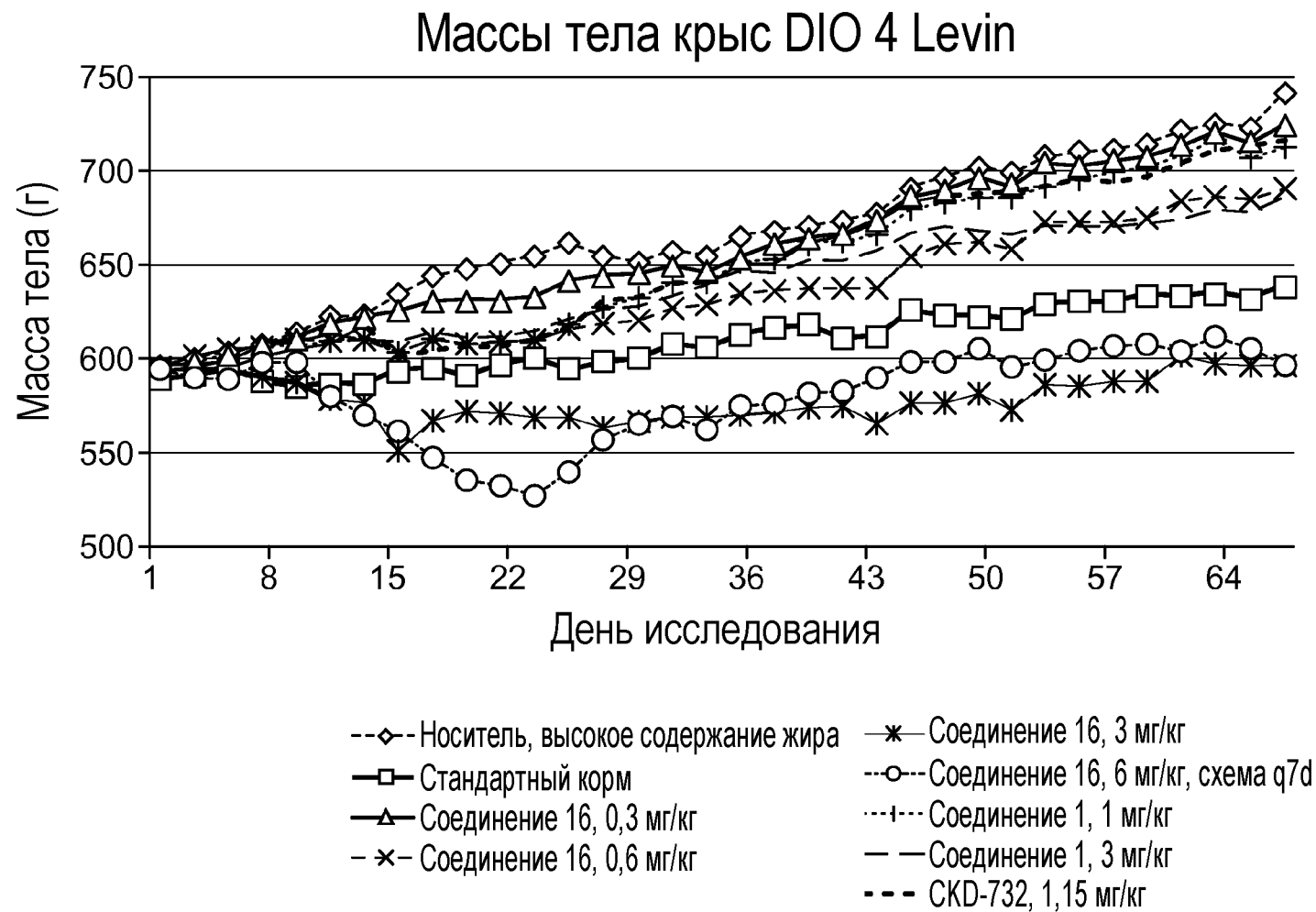


ФИГ. 10

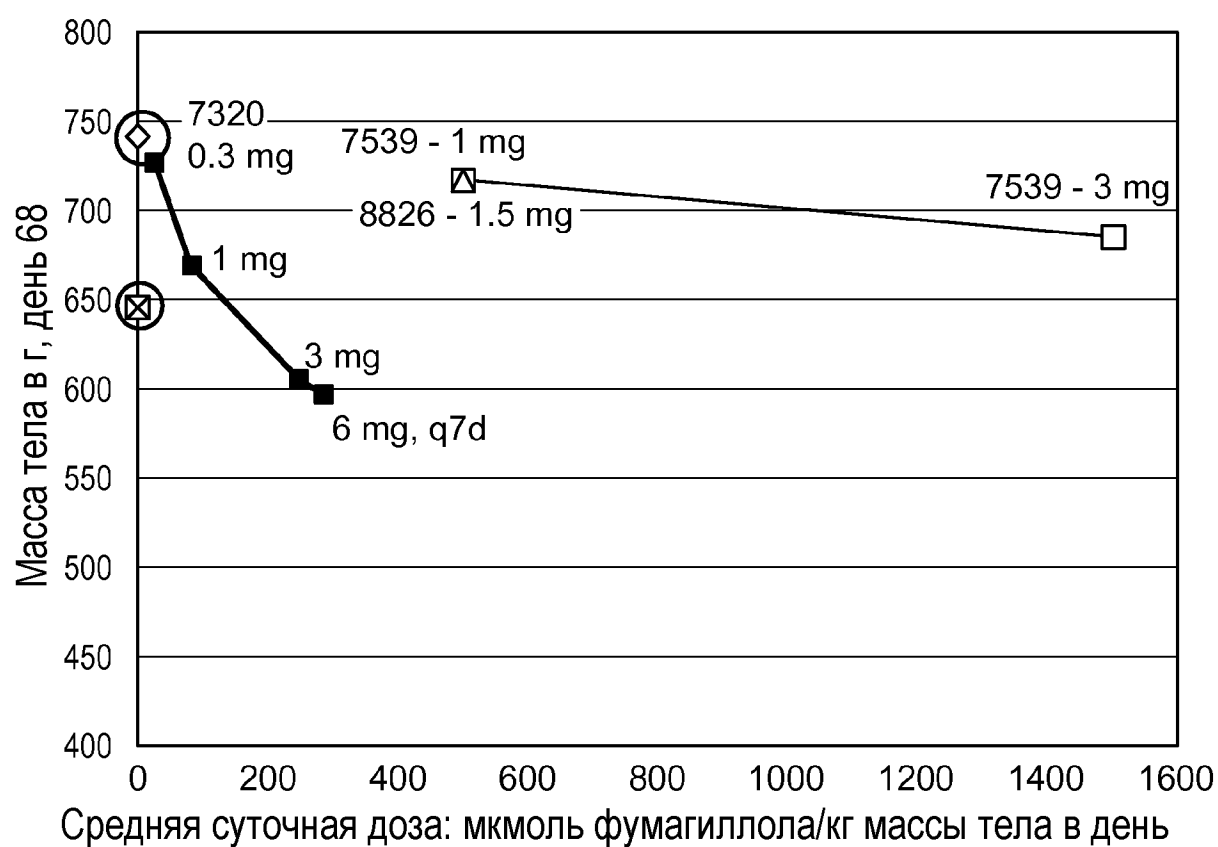


- Vehicle
- ◇-- Соединение 28 @ 2 мг/кг
- △— Соединение 29 @ 2 мг/кг
- ×- Соединение 30 @ 2 мг/кг
- Соединение 16 @ 2 мг/кг
- *- Соединение 31 @ 2 мг/кг

ФИГ. 11

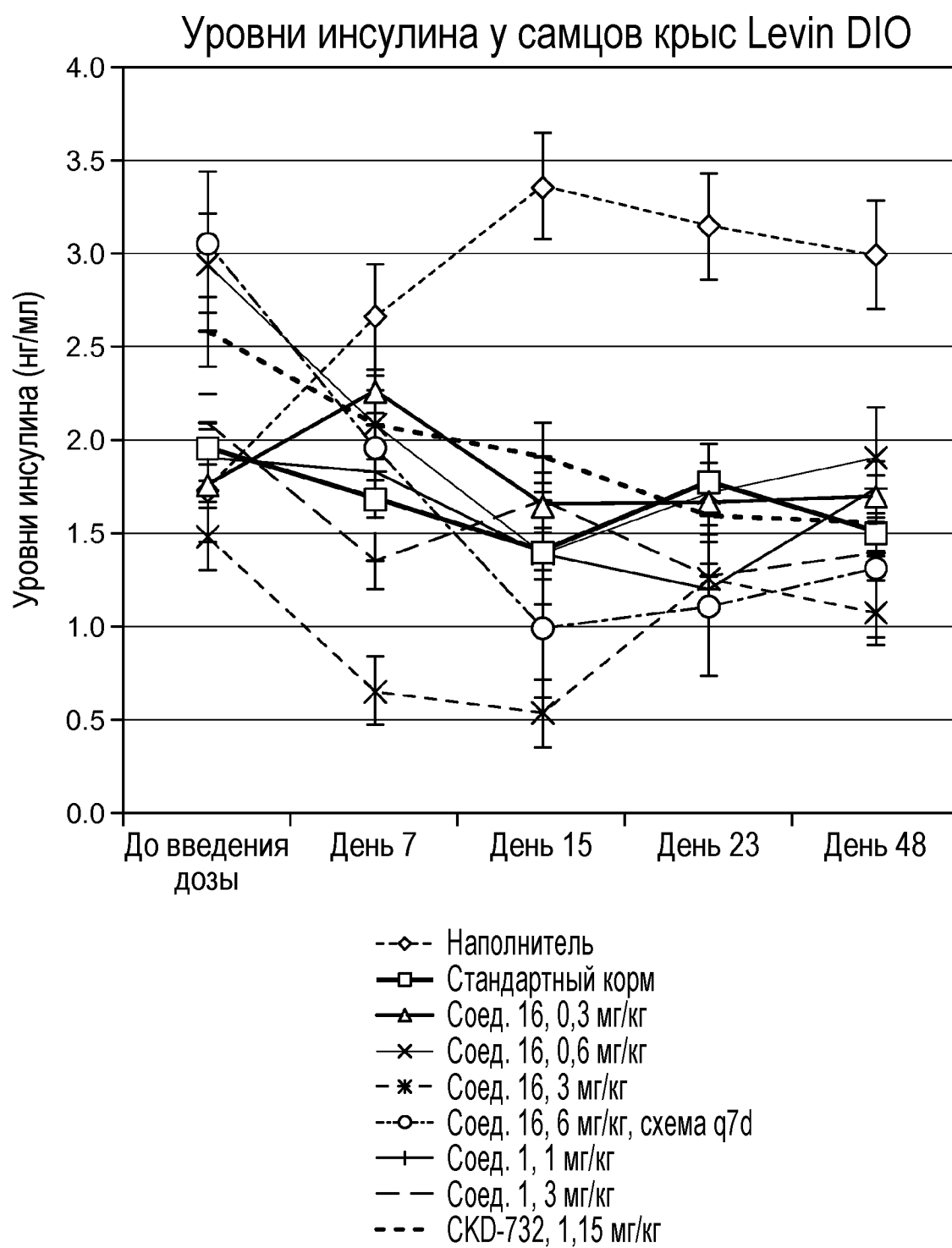


ФИГ. 12

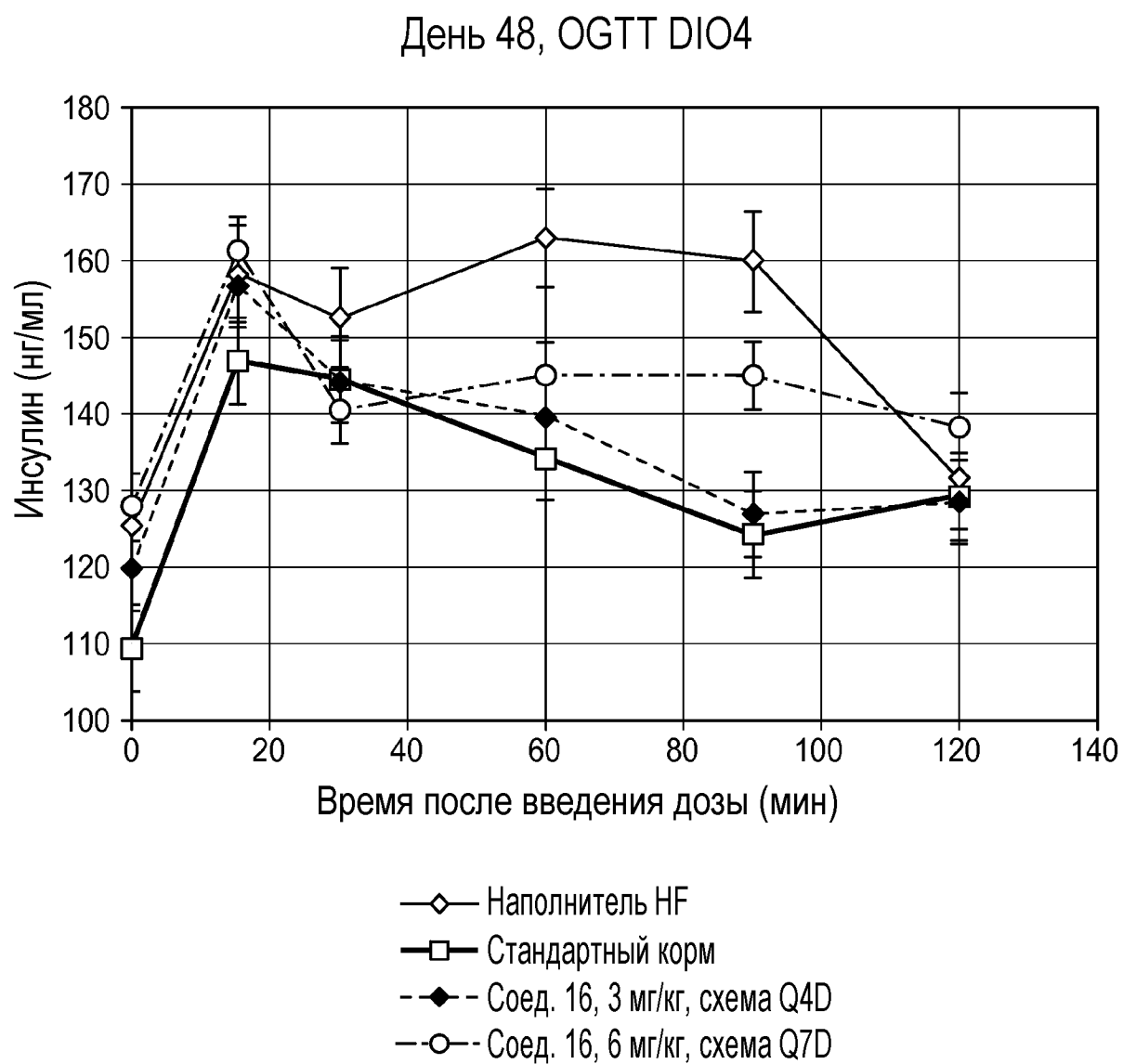


- ◇— Наполнитель HF
- Наполнитель, стандартный корм
- SDX-7320
- SDX-7539
- △— SDX-8826

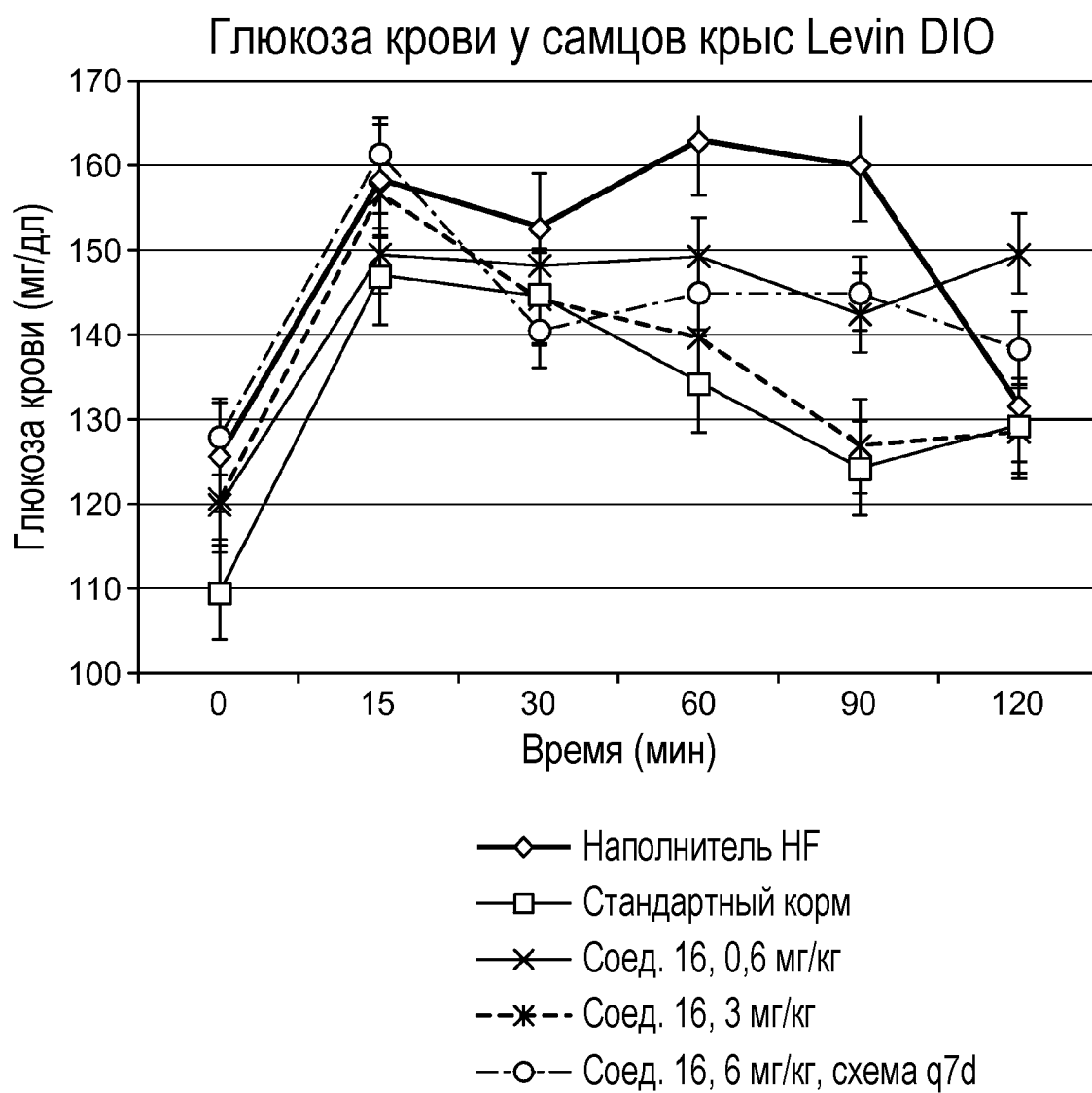
ФИГ. 13



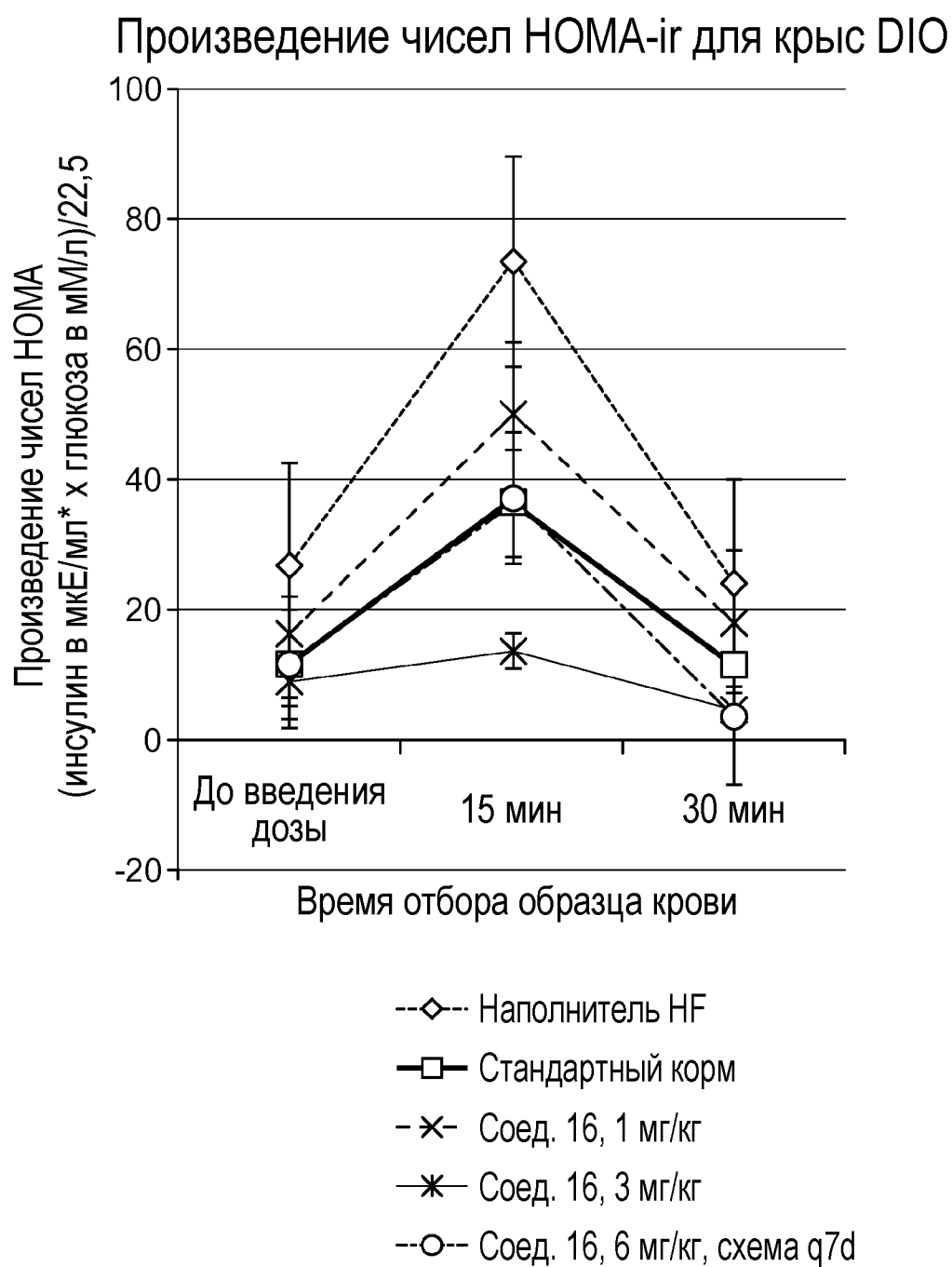
ФИГ. 14



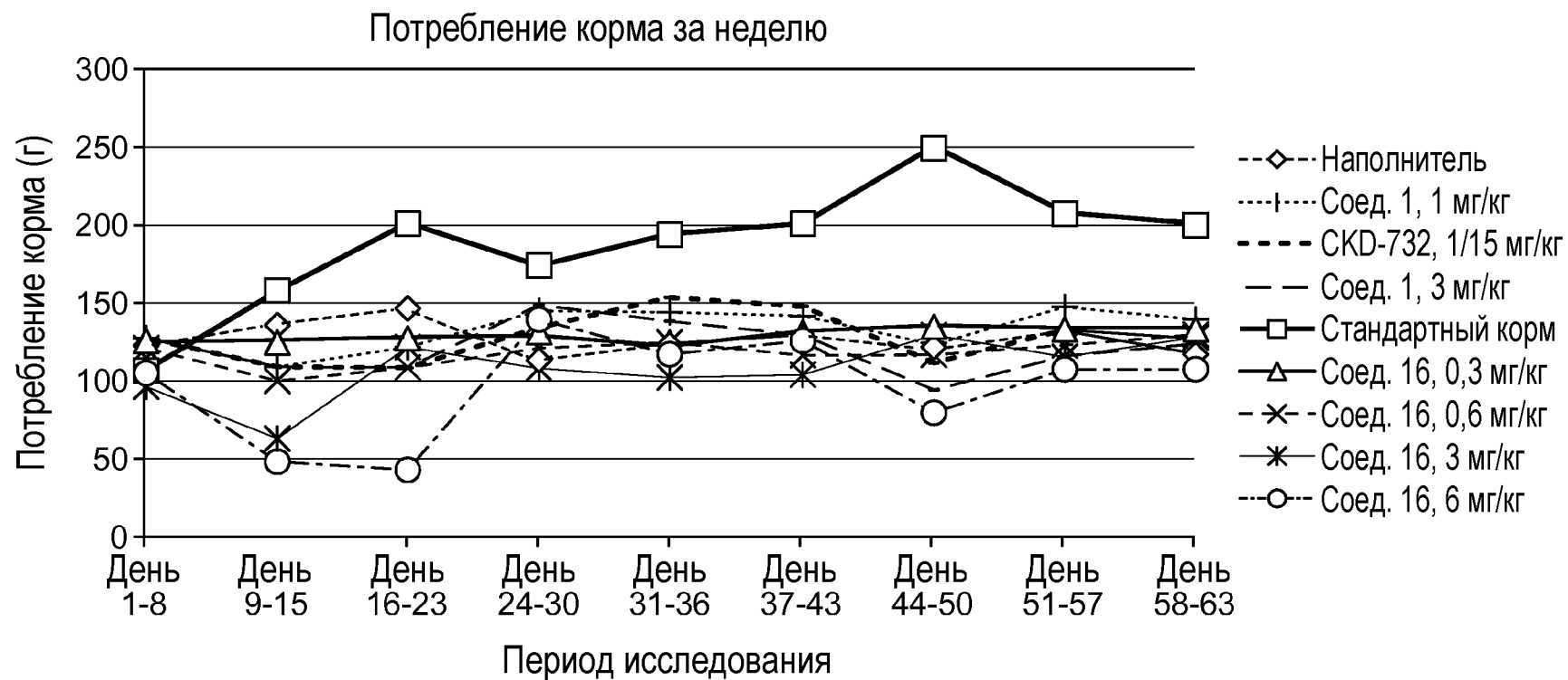
ФИГ. 15



ФИГ. 16



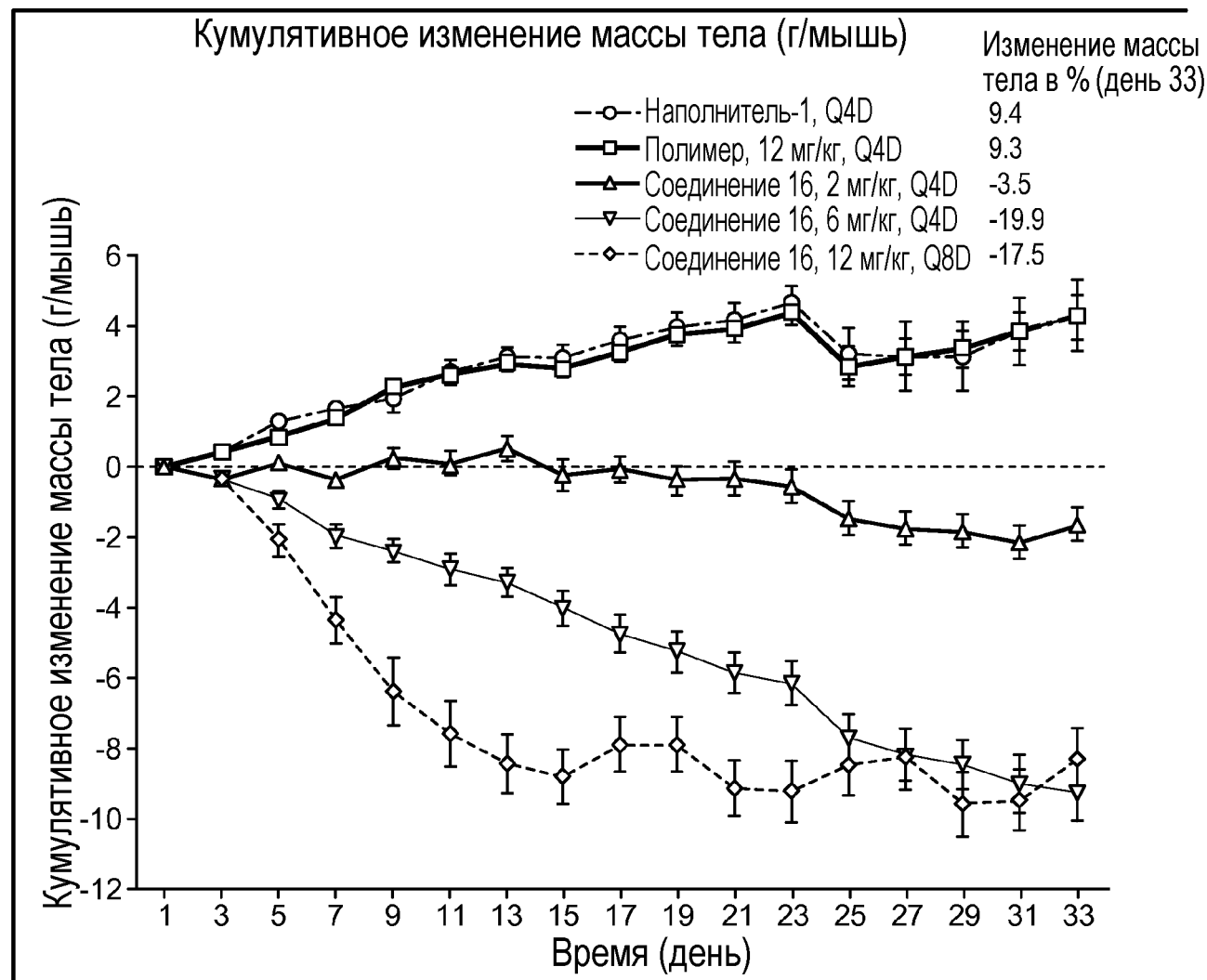
ФИГ. 17



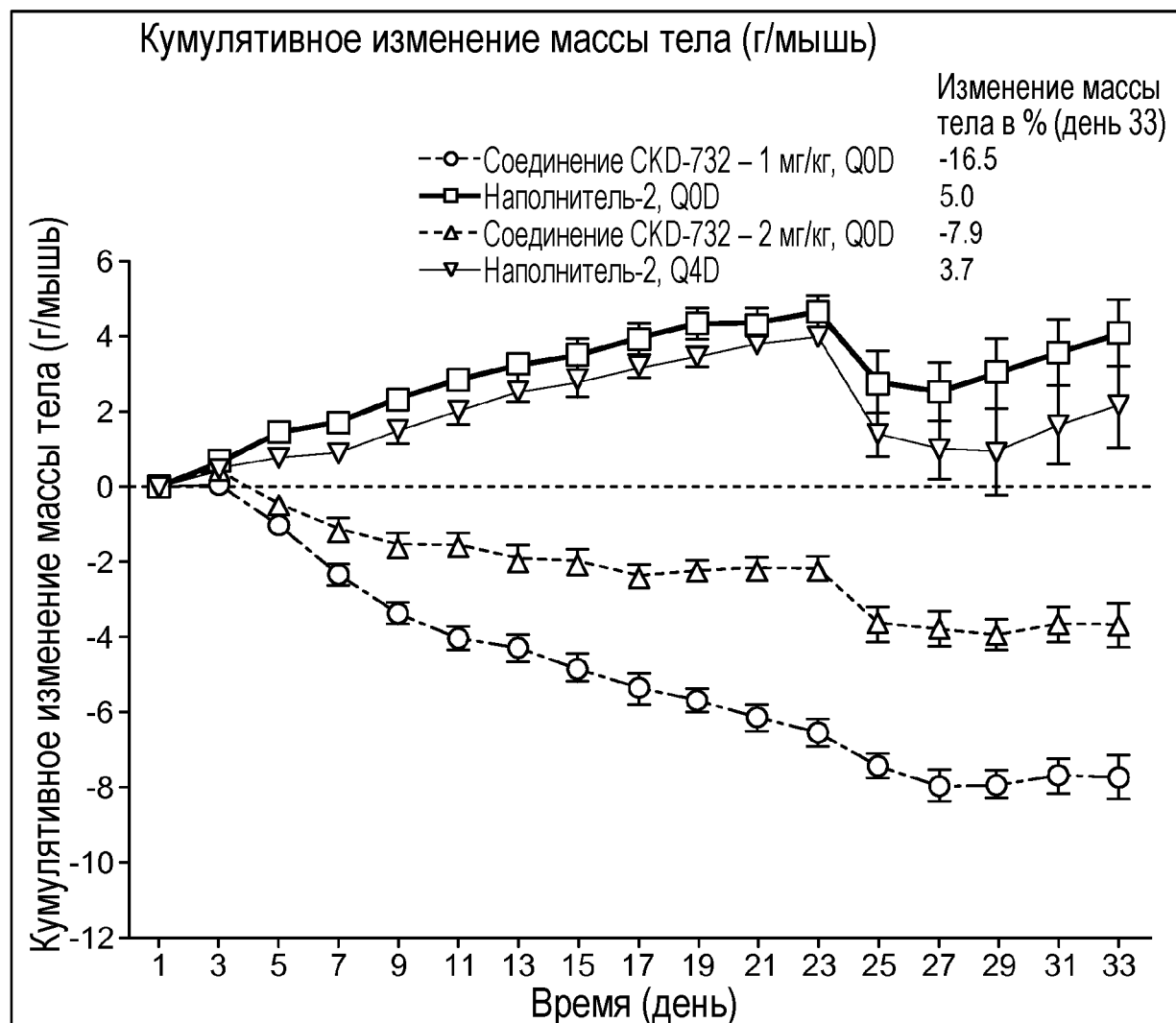
ФИГ. 18



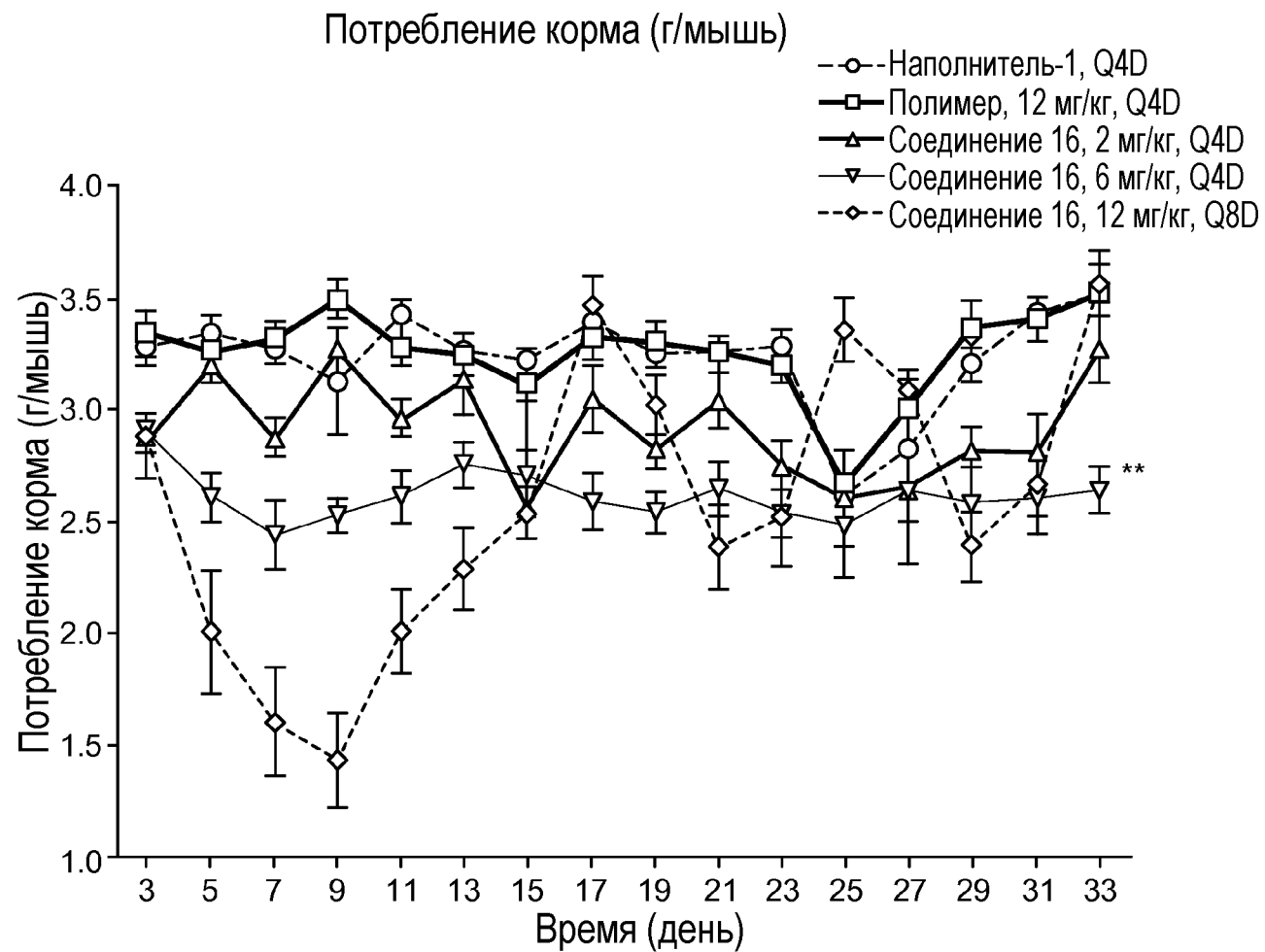
ФИГ. 19



ФИГ. 20

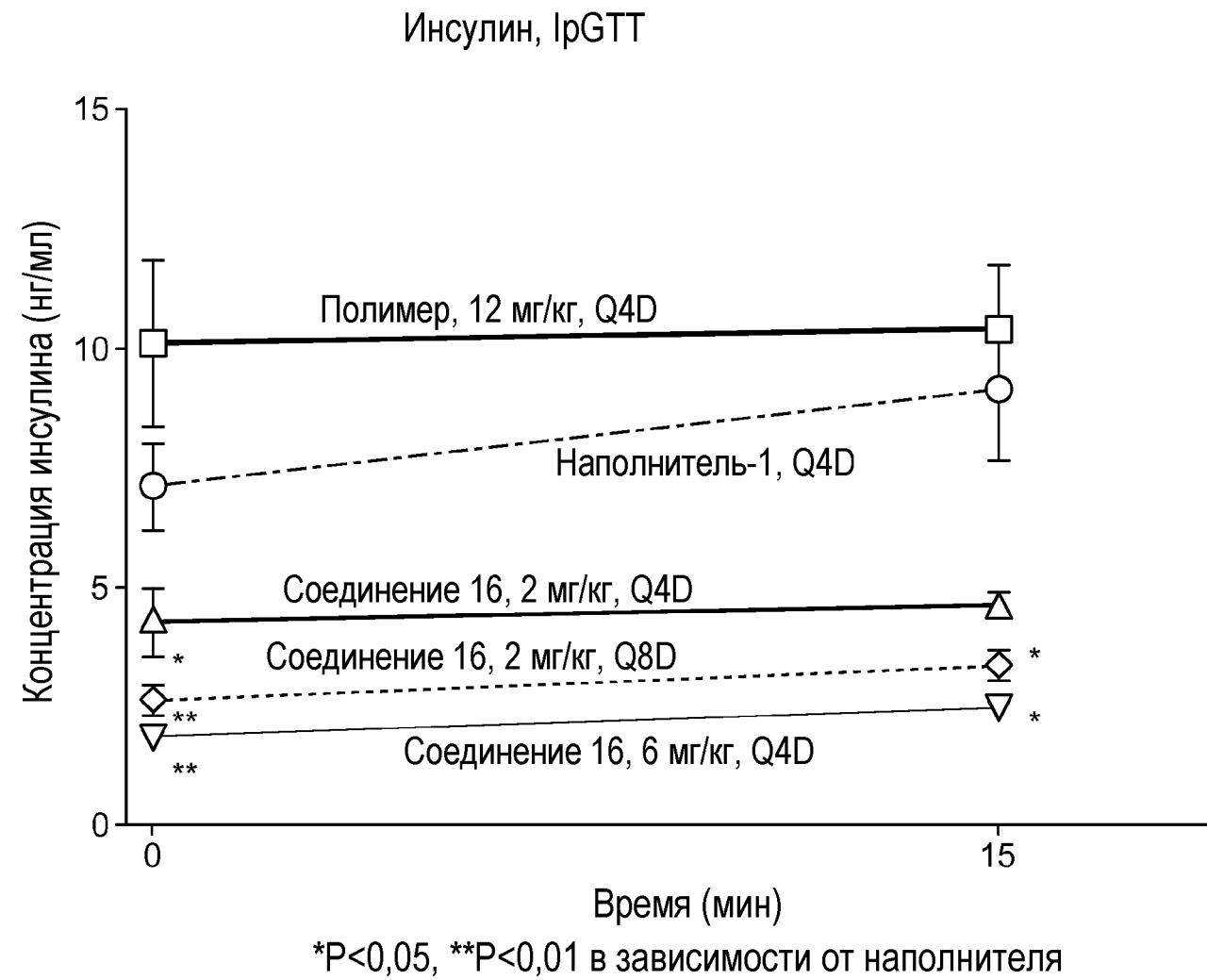


ФИГ. 21

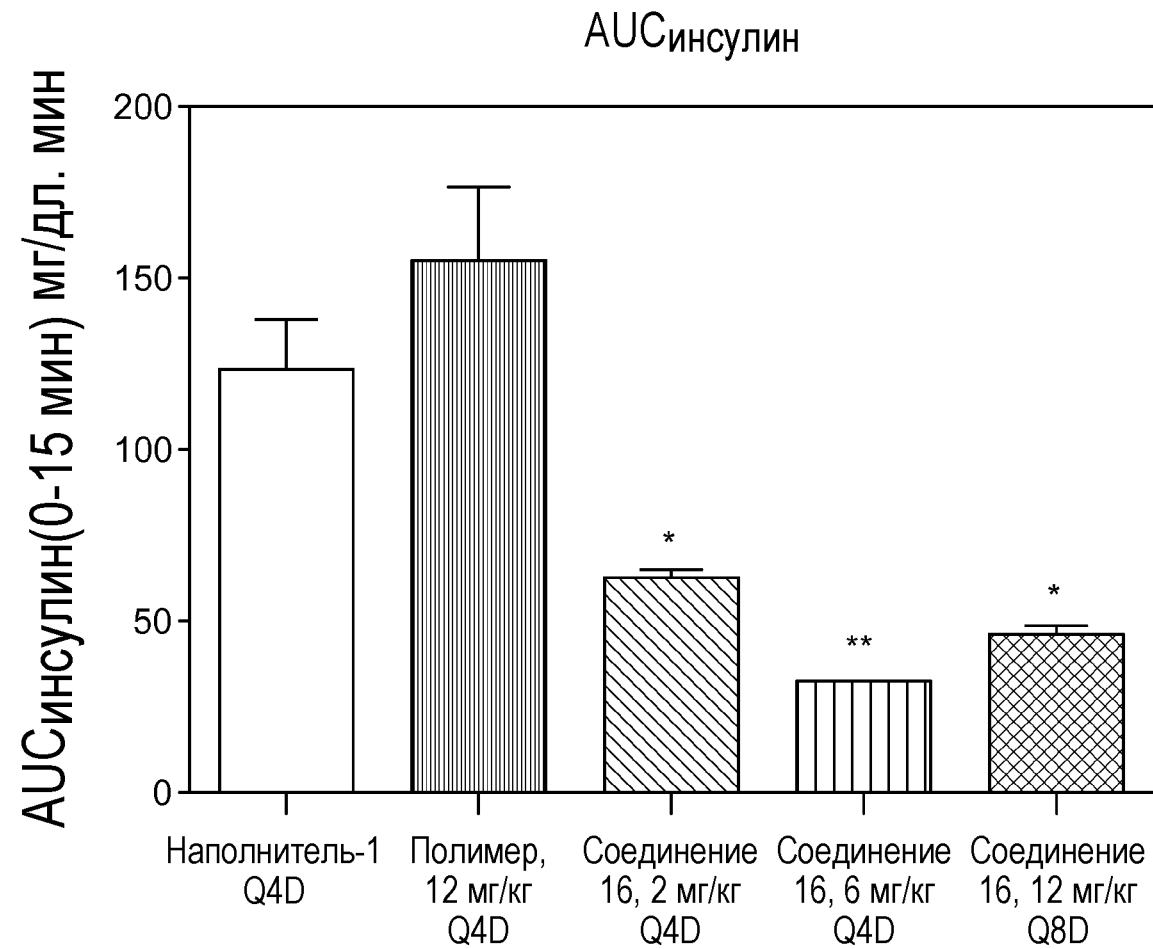


** $P < 0,01$ в зависимости от наполнителя в день 33

ФИГ. 22

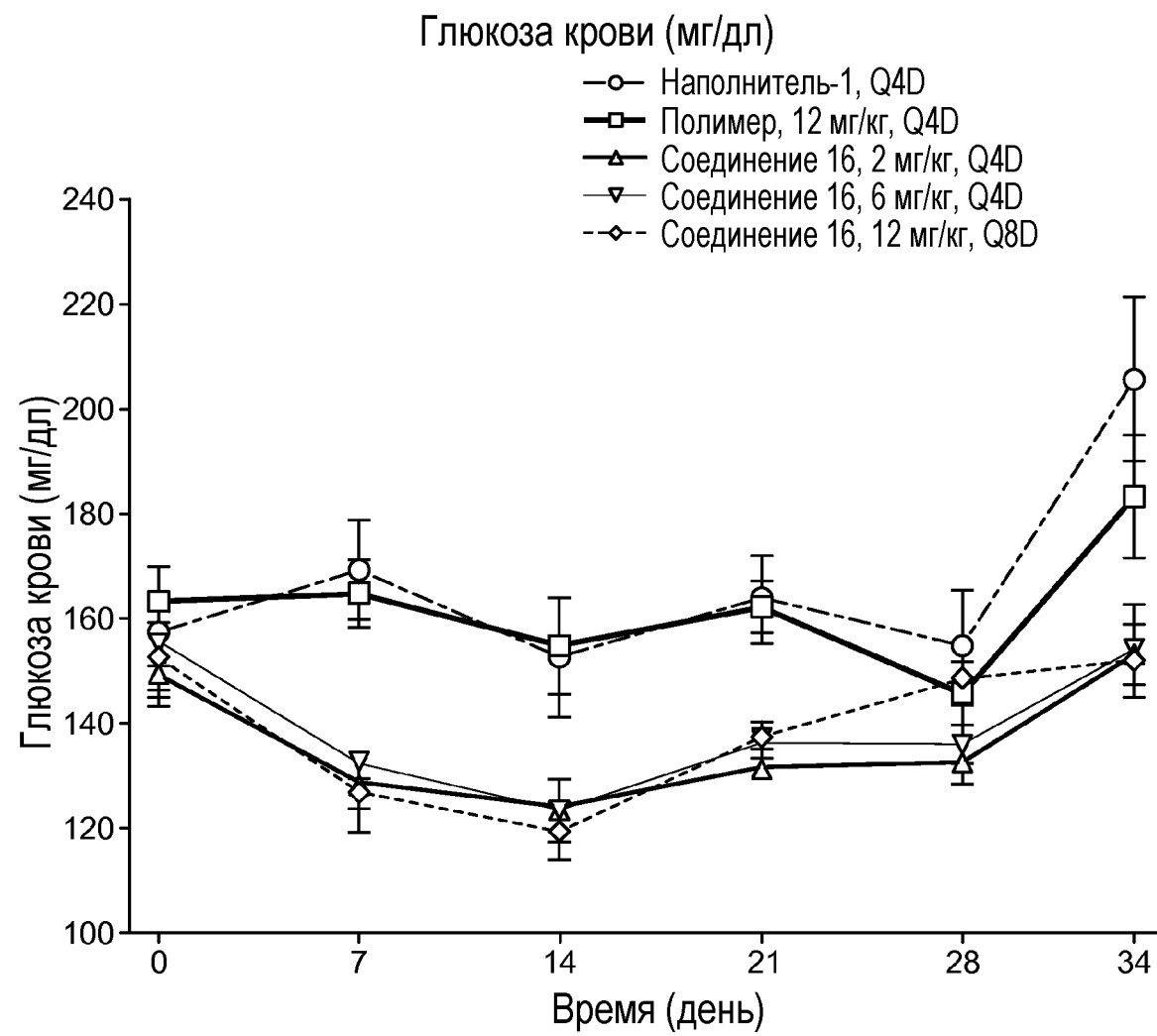


ФИГ. 23



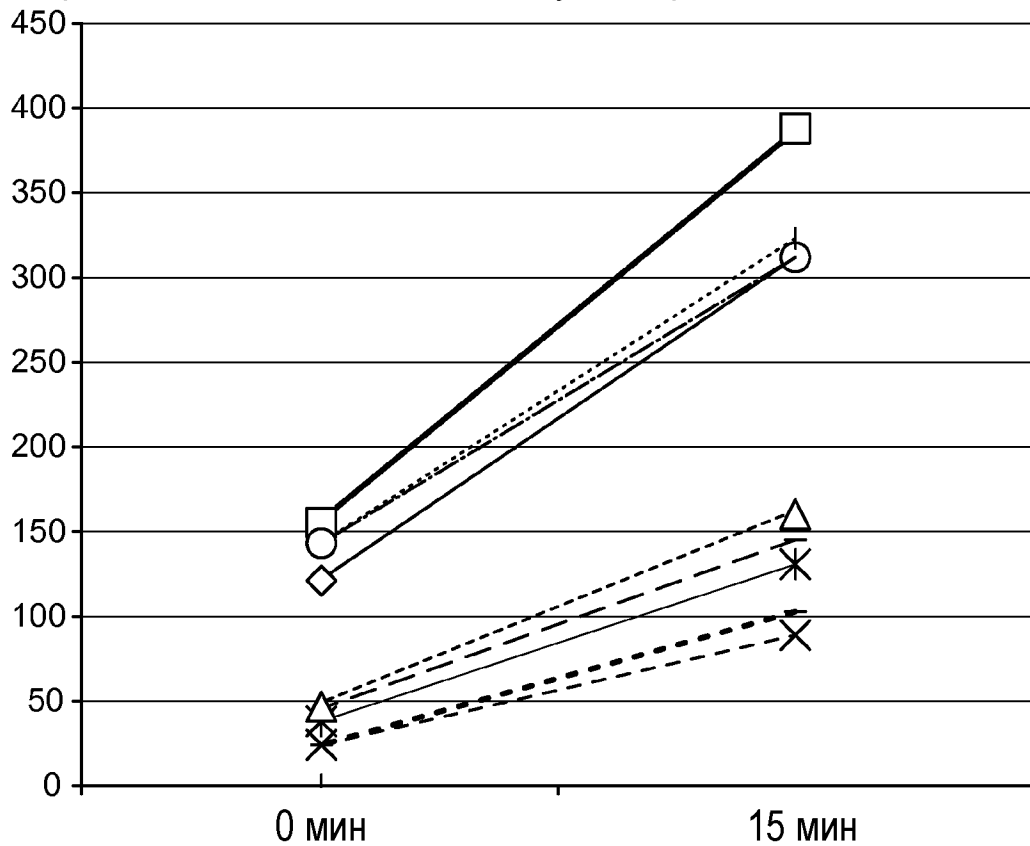
*P<0,05, **P<0,01 в зависимости от наполнителя

ФИГ. 24



ФИГ. 25

Произведение чисел НОМА у самцов мышей C57B16 D10



- ◇— Наполнитель Q4D
- Наполнитель, 12 мг/кг, Q4D
- △--- Соед. 16, 2 мг/кг
- ×-- Соед. 16, 6 мг/кг
- *— Соед. 16, 12 мг/кг, Q8D
- Наполнитель, Q2D (этанол)
-+..... Наполнитель, Q4D (этанол)
- - - - - СКД-732, 1 мг/кг, Q2D
- - - - - СКД-732, 2 мг/кг, Q4D