

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **045828**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента

2023.12.28

(21) Номер заявки

201992065

(22) Дата подачи заявки

2014.04.09(51) Int. Cl. **A61K 47/50** (2017.01)**A61K 47/54** (2017.01)**A61K 47/65** (2017.01)**A61K 31/336** (2006.01)**A61K 31/77** (2006.01)**C07D 407/08** (2006.01)**C08F 22/22** (2006.01)**C07K 2/00** (2006.01)**A61P 5/50** (2006.01)**A61P 3/04** (2006.01)**A61P 3/08** (2006.01)**A61P 3/10** (2006.01)**(54) ИНГИБИТОРЫ МЕТАР2 И СПОСОБЫ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К ИНСУЛИНУ**(31) **61/810,468; 61/925,918**(32) **2013.04.10; 2014.01.10**(33) **US**(43) **2020.01.09**(62) **201591943; 2014.04.09**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:

СИНДЕВРКС, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:

**Петерсен Джон С., Шанахан Джеймс
(US)**

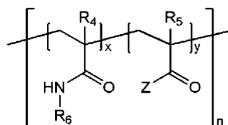
(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)(56) **US-A1-2011294952****WO-A1-2011150022**

Yoo Mee Kim et al.: "Assessment of the anti-obesity effects of the TNP-470 analog, CKD-732", JOURNAL OF MOLECULAR ENDOCRINOLOGY, vol. 38, 2007, pp. 455-465, стр. 461 колонка 2, строки 2-5 и 22-27 (Discussion).

WO-A2-2011127304**WO-A2-2010065877****WO-A1-2012122264**

(57) Изобретение относится к применению соединения формулы или его фармацевтически приемлемой соли



для улучшения или восстановления чувствительности к инсулину у пациента, нуждающегося в этом, когда пациент имеет избыточный вес или страдает ожирением. Значения радикалов и параметров, характеризующих соединение, определены в формуле изобретения. Настоящее изобретение также относится к применению конкретных соединений по указанному выше назначению. Соединения по настоящему изобретению или их фармацевтически приемлемые соли могут применяться в виде фармацевтической композиции, содержащей фармацевтически приемлемый носитель.

B1**045828****045828****B1**

Перекрестная ссылка на родственные заявки

Настоящая заявка испрашивает преимущество предварительной заявки на патент США № 61/810468, поданной 10 апреля 2013 г., и предварительной заявки на патент США № 61/925918, поданной 10 января 2014 г. 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 млн 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); Iribarren, et al., *J. Am. Coll. Cardiol.* 48:1800-1807 (2006)).

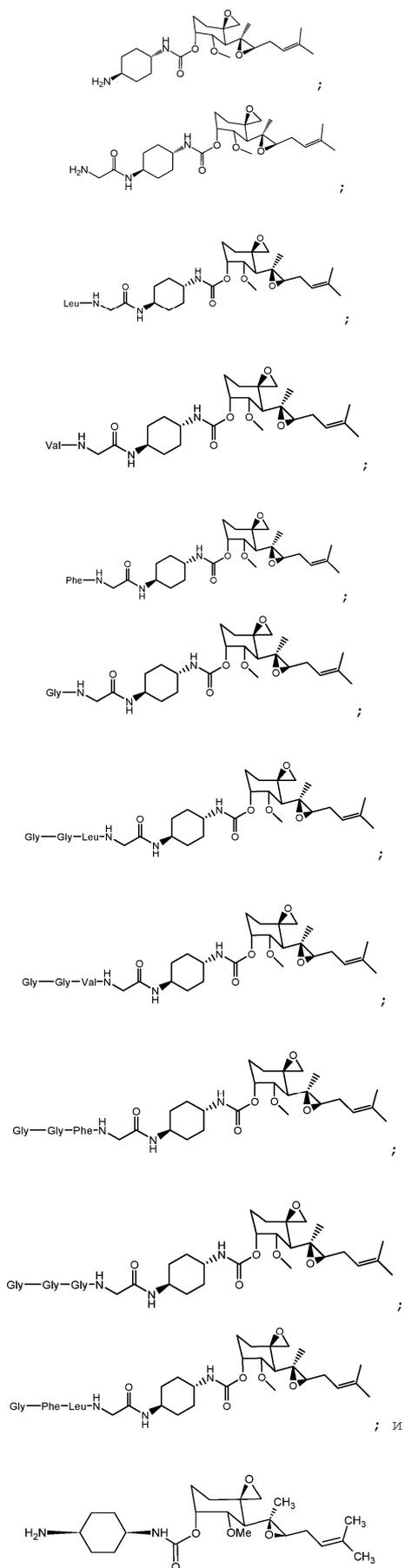
Кардиометаболический синдром включает в себя связанные с ожирением нарушения обмена веществ и атеросклероз.

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 г. 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 дефицита 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.

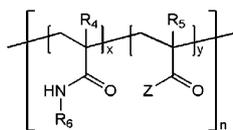
Сущность изобретения

Настоящее изобретение относится к применению 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

045828



Настоящее изобретение относится также к применению 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 гидроксиалкил;

Z представляет собой -NH-AA₁-AA₂-AA₃-AA₄-AA₅-AA₆-C(O)-Q-X-Y-C(O)-W;

AA₁ представляет глицин, аланин или $H_2N(CH_2)_mCO_2H$, где m равно 2, 3, 4 или 5;

AA₂ 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;

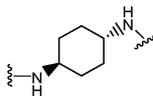
AA₃ представляет собой связь или аланин, цистеин, аспарагиновую кислоту, глутаминовую кислоту, фенилаланин, глицин, гистидин, изолейцин, лизин, лейцин, метионин, аспарагин, пролин, глутамин, аргинин, серин, треонин, валин, триптофан или тирозин;

AA₄ 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;

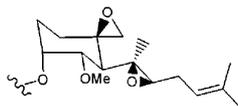
AA₅ представляет собой связь или глицин, валин, тирозин, триптофан, фенилаланин, метионин, лейцин, изолейцин или аспарагин;

AA₆ представляет собой связь или аланин, аспарагин, цитруллин, глутамин, глицин, лейцин, метионин, фенилаланин, серин, треонин, триптофан, тирозин, валин или $H_2N(CH_2)_mCO_2H$, 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;

n равно числу в диапазоне от 1 до 50; и соединение имеет молекулярную массу менее 60 кДа.

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 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

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

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

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

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

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

ства q4d.

Фиг. 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.

Фиг. 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.

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

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

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

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

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

Фиг. 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.

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

Фиг. 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.

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

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

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

Фиг. 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.

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

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

Фиг. 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.

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

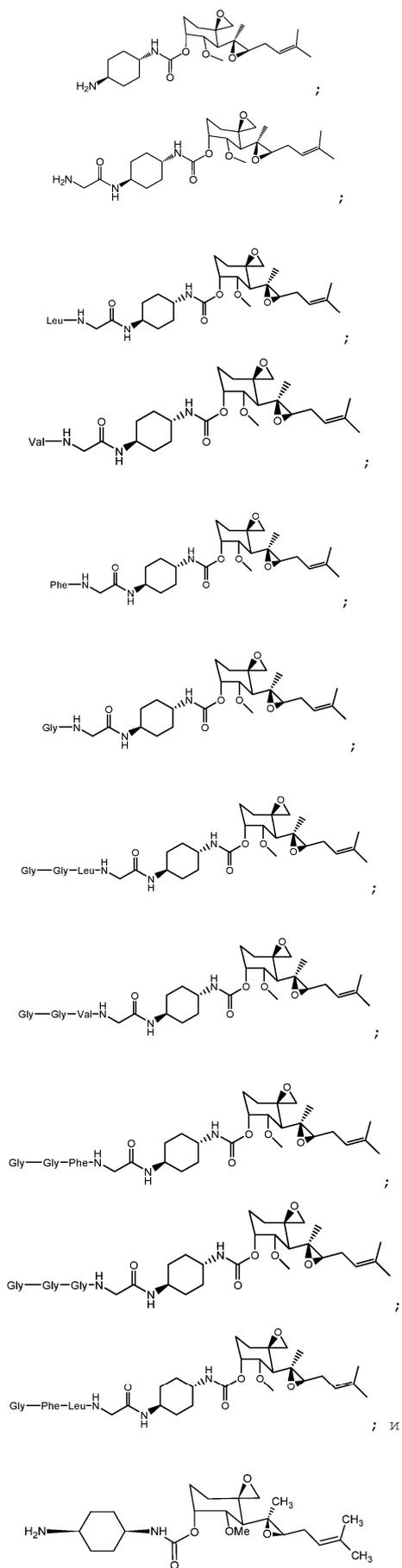
Фиг. 24 представляет собой график, показывающий уровни глюкозы в крови у самцов мышей C57B16, которым давали корм с высоким содержанием жиров, после введения различных соединений настоящего изобретения.

Фиг. 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.

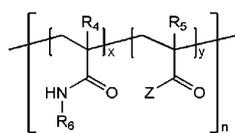
Подробное описание изобретения **Соединения настоящего изобретения**

Настоящее изобретение относится к применению 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

045828



Настоящее изобретение также относится к применению 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 гидроксиалкил;

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

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, серии, треонин, валин, триптофан или тирозин;

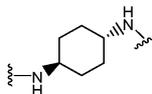
AA_3 представляет собой связь или аланин, цистеин, аспарагиновую кислоту, глутаминовую кислоту, фенилаланин, глицин, гистидин, изолейцин, лизин, лейцин, метионин, аспарагин, пролин, глутамин, аргинин, серии, треонин, валин, триптофан или тирозин;

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

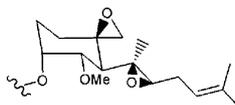
AA_5 представляет собой связь или глицин, валин, тирозин, триптофан, фенилаланин, метионин, лейцин, изолейцин или аспарагин;

AA_6 представляет собой связь или аланин, аспарагин, цитруллин, глутамин, глицин, лейцин, метионин, фенилаланин, серии, треонин, триптофан, тирозин, валин или $H_2N(CH_2)_mCO_2H$, 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;

n равно числу в диапазоне от 1 до 50; и

соединение имеет молекулярную массу менее 60 кДа.

В некоторых вариантах R_4 представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления R_5 представляет собой метил.

В некоторых вариантах осуществления R_6 представляет собой 2-гидроксипропил.

В некоторых вариантах осуществления AA_1 представляет собой глицин, AA_2 , AA_3 , AA_4 , AA_5 и AA_6 представляют собой связи.

В некоторых вариантах осуществления AA_1 представляет собой глицин, AA_2 , AA_3 , AA_4 и AA_5 представляют собой связи, и AA_6 представляет собой глицин.

В других вариантах осуществления отношение AA_1 представляет собой глицин, AA_2 представляет собой связь, AA_3 представляет собой связь, AA_4 представляет собой глицин, AA_5 представляет собой лейцин и AA_6 представляет собой глицин. В некоторых вариантах осуществления AA_1 представляет собой глицин, AA_2 представляет собой связь, AA_3 представляет собой связь, AA_4 представляет собой глицин, AA_5 представляет собой валин и AA_6 представляет собой глицин. В некоторых вариантах осуществления AA_1 представляет собой глицин, AA_2 представляет собой связь, AA_3 представляет собой связь, AA_4 представляет собой глицин, AA_5 представляет собой фенилаланин и AA_6 представляет собой глицин. В некоторых вариантах осуществления каждый из AA_1 , AA_4 , AA_5 и AA_6 представляет собой глицин, AA_2 представляет собой связь и AA_3 представляет собой связь.

В некоторых вариантах осуществления отношение x к y находится в интервале от 20:1 до 4:1, предпочтительно 11:1.

В некоторых вариантах осуществления индекс массы тела (ИМТ) у пациента составляет от 25 до 29,9 $кг/м^2$; 30 $кг/м^2$ или более; 35 $кг/м^2$ или более; или 40 $кг/м^2$ или более.

В некоторых вариантах осуществления пациент имеет по меньшей мере одно сопутствующее забо-

ление, 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, транзитной ишемической атаки, ортопедических нарушений, остеоартрита, деформирующего артрита, люмбаго, расстройства менструального цикла, эндокринопатии, гормональных дисбалансов и бесплодия.

В некоторых вариантах осуществления 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, диастолического кровяного давления, абдоминального ожирения тканей, уровней глюкозы натощак, уровней инсулина натощак, уровней фибриногена, уровней ингибитора активатора плазминогена-1 и уровней лептина.

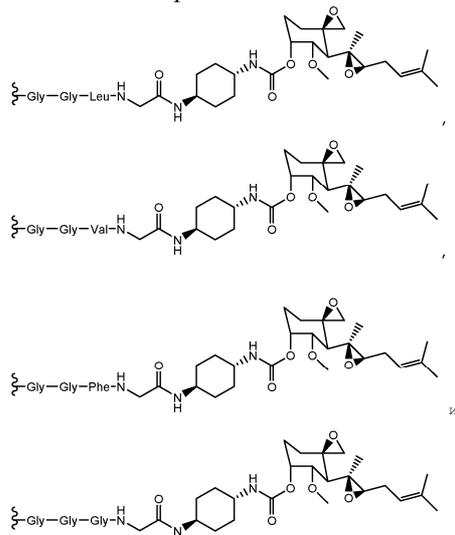
В некоторых вариантах осуществления соединение вводят в терапевтически эффективном количестве, которое составляет от 0,0001 до 5 мг/кг массы тела в день или от 0,001 до 1 мг/кг массы тела в день.

В некоторых вариантах осуществления 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.

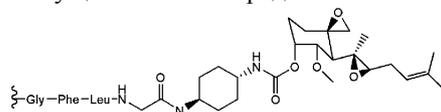
В некоторых вариантах осуществления заявленное соединение вводят парентерально или подкожно.

В некоторых вариантах осуществления заявленное соединение может быть предоставлено в виде фармацевтической композиции, содержащей фармацевтически приемлемый носитель.

В некоторых вариантах осуществления Z представляет собой



В предпочтительном варианте осуществления Z представляет собой



В некоторых вариантах осуществления диабет представляет собой инсулиннезависимый сахарный диабет типа II. В некоторых вариантах осуществления апноэ во сне представляет собой обструктивное апноэ во сне. В некоторых вариантах осуществления заболевание желчного пузыря представляет собой желчнокаменную болезнь.

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 насыщенного разветвленного или неразветвленного 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, генайкозил, 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, C₁-C₃₀ для неразветвленных цепей, C₃-C₃₀ 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.

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 -CH₂CH₂SCH₃ (боковая цепь метионина), -CH₂(CH₃)-CH₂CH₃ (боковая цепь изолейцина), CH₂CH(CH₃)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, пептидометики 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, H₂N-AA₁-AA₂-AA₃-AA₄-AA₅-AA₆-CO₂H).

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.

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 №№ W0 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 применению заявленных соединений или их фармацевтически приемлемых солей в виде фармацевтической композиции, содержащей 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, нафтиллатные, 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, диэтанолламин, 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.

Настоящее изобретение относится к применению соединения или его фармацевтически приемлемой соли для улучшения или восстановления чувствительности к инсулину у пациента, нуждающегося в этом, в случае когда пациент имеет избыточный вес или страдает ожирением.

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 килограм-

мах) к квадрату роста (выраженному в метрах). Индекс массы тела можно точно вычислить с использованием формулы: единицы измерения SI: $BMI = \text{масса(кг)} / (\text{рост}^2 \text{ (м}^2\text{)})$ или единицы измерения US: $BMI = (\text{масса (фунт)} * 703) / (\text{рост}^2 \text{ (дюйм}^2\text{)})$.

Как описано в контексте, "избыточная масса" относится к состоянию, при котором в других отношениях здоровый взрослый человек имеет BMI от 25 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/м² 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/м² или больше, называют человеком, "страдающим чрезмерным ожирением", или человеком с "чрезмерным ожирением". Для детей определения избыточной массы и ожирения учитывают возрастные и тендерные 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 кг/м². 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.

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.

Вызванные ожирением или связанные с ожирением сопутствующие заболевания сопутствующее заболевание, индуцируемое ожирением или связанное с ожирением, выбраны 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.

Настоящее изобретение относится также к применению соединения 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, диастолического кровяного давления, абдоминального ожирения тканей, уровней глюкозы натощак, уровней инсулина натощак, уровней фибриногена, уровней ингибитора активатора плазминогена-1 и уровней лептина.

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 granulемы, 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 состояний, 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.

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 индивидум с ВМІ от 25,0 до менее 30,0 кг/м² или индивидум по меньшей мере с одним сопутствующим заболеванием и с ВМІ от 25,0 до менее 27,0 кг/м² имеют риск появления ожирения.

"Развитие" ожирения означает начало и/или прогрессирование заболевания у индивидума (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 ВМІ, 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 индивидума (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 индивидума 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 индивидумом (по сравнению с уровнем перед лечением). В некоторых вариантах осуществления потребление пищи обычно поддерживают в пределах нормы. В некоторых вариантах осуществления потребление пищи индивидумом 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.

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.

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, показанными 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
СРТ-11	20 (q2d)	EZN-2208	145 (q2d)
Доксорубин	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, показанными в следующей таблице.

Исходное лекарственное средство	Доза лекарственного средства (мг/кг)	Конъюгат	Доза конъюгата (мг/м ²)
ТНР-470	180	ХМТ-1107	tbд
Паклитаксил	175	Опаксио	473
СРТ-11	125	ЕZN-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 D10 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 D10 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 (> 10х).

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 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 до 1 мг/кг массы тела в день, приблизительно от 0,001 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.

Введение 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 соединение 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 подвсегомого 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, или их фармацевтические композиции можно вводить любым способом, известным в данной области. Например, соединения или композиции настоящего изобретения вводят пероральным, интраназальным, трансдермальным, локальным, легочным, ингаляционным, трансбуккальным, подъязычным, внутрибрюшинным, подкожным, внутримышечным, внутривенным, ректальным, внутривенным, внутривенным введением или локализованным введением. Введение может быть системным, например, внутривенным введением или локализованным введением. В некоторых вариантах осуществления путь введения может быть внутривенным, внутримышечным, подкожным, внутрикожным, внутрибрюшинным, внутриболоочечным, внутривенным, внутримышечным, ректальным, вагинальным, местным и т.д. В некоторых вариантах осуществления соединения вводят подкожно.

В одном аспекте соединения настоящего изобретения или их фармацевтически приемлемые соли 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, (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 инъекционные 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 интросолубильными 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 компози-

ции 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, тетрагидрофуруриловый 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 адьюванты, 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 лиофилизованного 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 организм. 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.

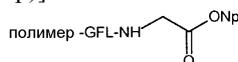
Общие процедуры

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 лиофилизовали, 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 (Korecek et al., включен в контекст в качестве ссылки).

Синтез поли(HPMA-co-MA-GFLG-ONp)]

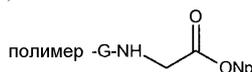


Смесь гидроксипропилметакриламида (HPMA, 22,16 г, 155 ммоль), *N*-метакрил-gly-phe-leu-gly-*p*-нитрофенилового эфира (MA-GFLG-ONp, 10,00 г, 17,19 ммоль), AIBN (1,484 г, 9,037 ммоль) и ацетона (225 г) дегазировали (замораживали, откачивали, размораживали, 4 цикла). Полученную реакционную смесь перемешивали при 50°C в течение 48 ч, 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, *p*-нитрофенол). Данные УФ-поглощения показали, что сополимер содержал 0,47 ммоль *p*-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)

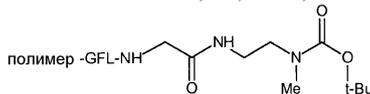
Поли(HPMA-co-MA-GFLG-ONp) (700 мг) добавляли порциями к 0,1 М раствору NaOH (11,3 мл) при 0°C. Желтую реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение 0,5 ч, затем при комнатной температуре в течение 4 ч. Половину раствора подкисляли 0,1 М HCl до pH = 6. Водную фазу экстрагировали этилацетатом для удаления избыточного *p*-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 *p*-нитрофенилового эфира (MA-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 ч, 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, *p*-нитрофенола). Количество *p*-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 A



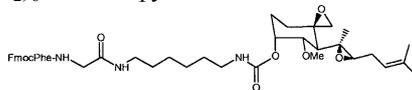
Раствор поли(HPMA-co-MA-GFLG-ONp) (1,0 г, 0,534 ммоль) в ДМФА (6 мл) и H₂O (10 мл) добавляли по каплям в течение 15-минутного интервала к раствору трет-бутил-*N*-(2-аминоэтил)-*N*-метилкарбамата (0,20 г, 1,15 ммоль) в воде (20 мл) при 0°C. Реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение 15 мин, затем нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 12 ч. 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 VascuCap, затем очищали с помощью TFF (10K). Раствор, содержащий полимер, промывали (как часть процесса TFF) 25 мМ раствором NaCl (800 мл) для удаления *p*-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'*-дихлорогексилкарбодимид (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

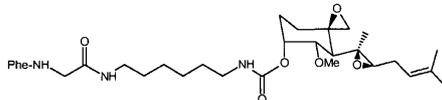
Fmoc-Phe-Gly-NH-(CH₂)₆NH-Вос (0,7 г) растворяли в CH₂Cl₂ (4 мл) при 0°C в атмосфере N₂ и затем добавляли трифторуксусную кислоту (TFA) (4 мл). Реакционной смеси давали возможность нагреться до комнатной температуры и перемешивали в течение 2 ч в атмосфере N₂. Растворители удаляли при пониженном давлении, 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



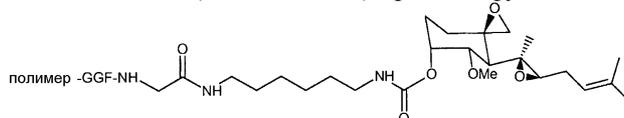
При 0°C к раствору соединения Fmoc-Phe-Gly-NH (CH₂)₆NH₂-TFA (0,71 г) в безводном CH₂Cl₂ (20 мл) и ДМФА (1 мл) в атмосфере N₂ добавляли нитрофенилфумагилл-6-илкарбонат (0,536 г). Затем добавляли диизопропилэтиламин (DIPEA) (0,74 мл). Реакционную смесь оставляли нагреваться до комнатной температуры и затем 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



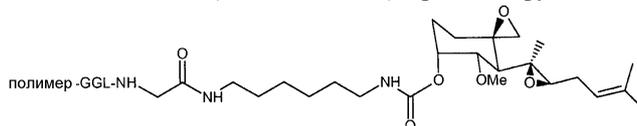
При 0°C к раствору соединения Fmoc-Phe-Gly-NH (CH₂)₆NH-CO-фумагиллол (0,80 г) в безводном CH₂Cl₂ (20 мл) и в атмосфере N₂ добавляли DBU (0,15 г). Реакционную смесь оставляли для нагревания до комнатной температуры. Растворитель удаляли при пониженном давлении и полученный остаток очищали колоночной флэш-хроматографией (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)карбамоилфумагиллола] и общая процедура В



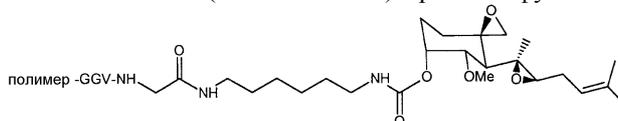
К раствору поли(HPMA-co-MA-GG-ONp) (0,68 г) в безводном ДМФА (12 мл) при 0°C и в атмосфере N₂ добавляли H-Phe-Gly-NH (CH₂)₆NHCO-фумагиллол (0,45 г) в безводном ДМФА (5 мл) с последующим добавлением диизопропилэтиламина (DIPEA) (0,25 мл). Реакционной смеси давали возможность нагреться до комнатной температуры 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 cap (pH=5,56), концентрировали до 30 мл с помощью TFF с капсулой 10К и промывали водой (700 мл) с помощью TFF. Полимер затем лиофилизовали, получая при этом желаемый конъюгат полимера с поли[HPMA-co-MA-GGFG-N-(6-аминогексил)карбамоилфумагиллолом] в виде светло-розовой пены (0,685 г). Содержание спироэпоксида измеряли реакцией с 2-меркаптопиримидином и определили, что оно составляло 0,4 ммоль/г.

Синтез поли[HPMA-co-MA-GGLG-N-(6-аминогексил)карбамоилфумагиллола]



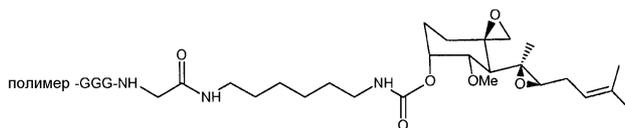
Используя стандартные методы, получали дипептид H-Leu-Gly-NH(CH₂)₆NHCO-Fum и сочетали его с поли(HPMA-co-MA-GG-ONp) с применением общей процедуры В.

Синтез поли[HPMA-co-MA-GGVG-N-(6-аминогексил)карбамоилфумагиллола]



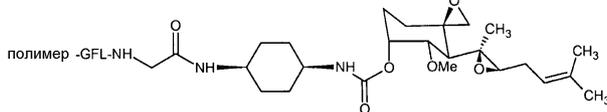
Используя стандартные методы, получали дипептид H-Val-Gly-NH(CH₂)₆NHCO-Fum и сочетали его с поли(HPMA-co-MA-GG-ONp) с применением общей процедуры В.

Синтез поли[HPMA-co-MA-GGGG-N-(6-аминогексил)карбамоилфумагиллола]



Используя стандартные методы, получали дипептид H-Gly-Gly-NH(CH₂)₆NHCO-Fum и сочетали его с поли(HPMA-co-MA-GG-ONp) с применением общей процедуры В.

Синтез поли[HPMA-co-MA-GFLG-N-(*cis*-4-аминоциклогексил)карбамоилфумагиллола] через получение поли[HPMA-co-MA-GFLG-N-(*cis*-4-аминогексиламин HCl)]

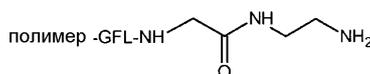


Общая процедура С с применением *cis*-1,4-диаминоциклогексана (0,914 г) и поли(HPMA-co-MA-GFLG-ONp) (1,5 г) получали поли[HPMA-co-MA-GFLG-N-(*cis*-4-аминоциклогексиламин-HCl)] в виде не совсем белого твердого вещества (1,08 г).

Синтез проводили общей процедурой F с применением поли[HPMA-co-MA-GFLG-N-(*cis*-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 лиофилизовали, получая при этом поли[HPMA-co-MA-GFLG-N-(*cis*-4-аминоциклогексил)карбамоилфумагиллола] в виде светлорозового твердого вещества (0,79 г).

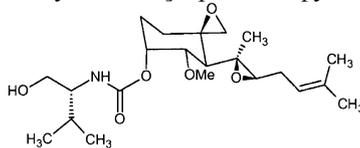
¹H ЯМР (DMCO-d₆): δ 7,90-8,35 (м, 4H, амид-NH), 7,0-7,70 (м, 25H, фенилаланин и амид-NH), 5,26 (м, H-5-Fum), 5,18 (ушир. т, алкен-Fum), 4,60-4,90 (м, 14H), 4,50-4,60 (м, 1H, альфа-протон фенилаланина), 4,10-4,30 (м, 1H, альфа-протон лейцина), 3,40-3,80 (м, 21H), 3,26 (с, 3H, OMe-Fum), 2,80-3,10 (м, 31H), 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-co-MA-GFLG-NHCH₂CH₂NH₂ HCl) и общая процедура С реакции диаминов с поли(HPMA-co-MA-GFLG-ONp)



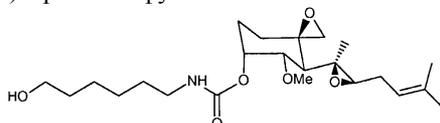
pH раствора этилендиамина (0,33 г, 5,49 ммоль) в воде (20 мл) 11,7 регулировали до pH 9,1 добавлением 37% водного HCl (17-18 капель). Раствор охлаждали на бане со льдом и к нему добавляли по каплям поли(HPMA-co-MA-GFLG-ONp) (1,03 г) в ДМФА (6 мл) в течение 20 мин при поддержании температуры ниже 4°C. Раствор перемешивали 20 мин 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 VacuSar и очищали TFF следующим образом. Раствор полимера сначала промывали 25 мМ раствором NaCl (800 мл) для удаления *p*-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 лиофилизовали 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 ч. Желтый раствор концентрировали и остаток очищали флэш-хроматографией (метанол/метилхлорид), получая при этом N-[(2R)-1-гидрокси-2-метилбутан-2-ил]карбамоилфумагиллол (340 мг, 0,83 ммоль) в виде бесцветного масла.

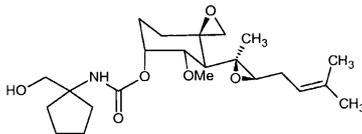
Синтез N-(6-гидроксигексил)карбамоилфумагиллола



Реакцию проводили по общей процедуре D с применением *p*-нитрофенилфумагилл-6-илкарбоната

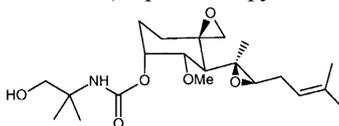
(150 мг) в этаноле (10 мл) и 6-аминогексанола (48 мг). Продукт выделяли в виде бесцветного масла (110 мг, 78%).

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



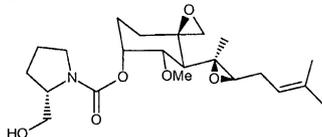
Реакцию проводили по общей процедуре D с применением п-нитрофенилфумагилл-6-илкарбоната (100 мг) в этаноле (3 мл) и ТГФ (1 мл) и циклолейцинола (52 мг), получая при этом N-[1-(гидроксиметил)циклопентил]карбамоилфумагиллол в виде масла (50 мг).

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



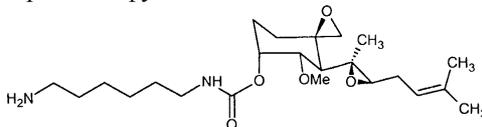
Реакцию проводили по общей процедуре D с применением п-нитрофенилфумагилл-6-илкарбоната (100 мг) в этаноле (3 мл) и ТГФ (2 мл) и 2-амино-2-метилпропанола (40 мг), получая при этом N-(1-гидрокси-2-метилпропан-2-ил)карбамоилфумагиллол в виде масла (37 мг).

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



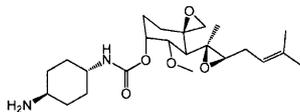
Синтез проводили по общей процедуре D. S-Пролинол (68 мг, 0,67 ммоль) подвергали реакции с п-нитрофенилфумагилл-6-илкарбонатом (150 мг, 0,335 ммоль) в этаноле (4 мл). Продукт очищали флэш-хроматографией (метанол/метиленхлорид), получая при этом фумагилл-6-ил-(2S)-2-(гидроксиметил)пирролидин-1-карбоксилат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

Синтез N-(6-аминогексил)карбамоилфумагиллола



Раствор 1,6-диаминогексана (0,13 г) в метаноле (8 мл) охлаждали до 0°C и к нему добавляли по каплям п-нитрофенилфумагилл-6-илкарбонат (0,13 г) в метаноле (2 мл). Растворитель удаляли приблизительно до 2 мл роторным испарителем. Добавляли этилацетат и органическую фазу промывали водой, 0,1 N NaOH, водой, насыщенным раствором соли и сушили сульфатом натрия. Растворитель выпаривали, и остаток растворяли в этаноле (15 мл). Добавляли DL-винную кислоту (16 мг), раствор выдерживали в течение ночи и затем упаривали приблизительно до 0,5 мл. Добавляли эфир и получали белое твердое вещество. Твердое вещество собирали фильтрованием, промывали эфиром и сушили, получая при этом тартратную соль N-(6-аминогексил)карбамоилфумагиллола (74 мг).

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

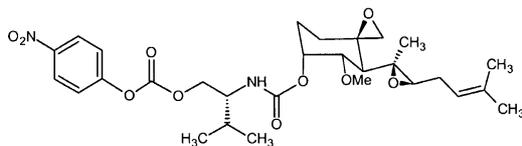


К раствору транс-1,4-диаминоциклогексана (1,3 г) в метаноле (80 мл) при 0-5°C добавляли в течение 30 мин раствор фумагиллол-6-ил-4-нитрофенилкарбоната (1,0 г) в метаноле (20 мл) и CH₂Cl₂ (20 мл) и затем перемешивали в течение 30 минут. После концентрирования до 20 мл на роторном испарителе и разбавления этилацетатом (75 мл) органический слой промывали водой (30 мл), 0,1 N NaOH (30 мл), водой и насыщенным раствором соли (30 мл), сушили (MgSO₄) 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 ч 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 (5K) с применением водного NaCl (25 mM) и затем подкисляли до pH 4,0 0,1 M 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).

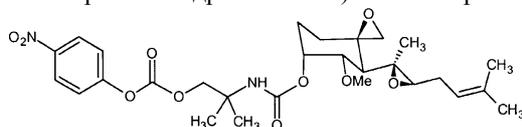
Синтез п-нитрофенил-N-[(2R)-1-гидрокси-2-метилбутан-2-ил]карбамоилфумагиллол-6-илкарбоната и общая процедура E



К раствору спирта N-[(2R)-1-гидрокси-2-метилбутан-2-ил]карбамоилфумагиллола (1,11 г) в метилхлориде при 0°C в атмосфере N₂ добавляли DMAP (660 мг, 5,40 ммоль) с последующим добавлением порциями п-нитрофенилхлорформиата (810 мг).

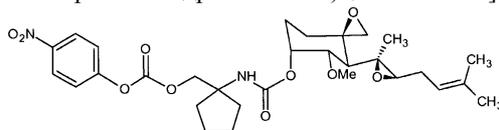
Реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение 1 ч. Растворитель выпаривали и полученный остаток растворяли в EtOAc и промывали водой, насыщенным раствором соли и сушили (Na₂SO₄). Выпаривание этилацетата давало неочищенный продукт, который очищали флэш-хроматографией (диоксид кремния, элюирование 100% 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-нитрофеноксикарбонилгидрокси-метил)-2-метилпропан-2-ил]карбамоилфумагиллола



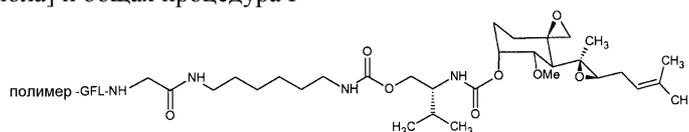
По общей процедуре E проводили реакцию диметилового спирта (60 мг), п-нитрофенилфумагиллол-6-илкарбоната (46 мг) и DMAP (37 мг) в метилхлориде (8 мл). Реакционную смесь разбавляли этилацетатом и промывали водой (3 раза) и затем насыщенным раствором соли. Органическую фазу сушили (Na₂SO₄) и упаривали до желтой пены (87 мг), которую применяли без дополнительной очистки.

Синтез N-[1-(п-нитрофеноксикарбонилгидрокси-метил)циклопентил]карбамоилфумагиллола



По общей процедуре E N-[1-(гидрокси-метил)циклопентил]карбамоилфумагиллол (продукта из примера 14, 74 мг), п-нитрофенилхлорформиат (53 мг) и DMAP (43 мг) подвергали реакции в метилхлориде (5 мл). После экстракционной обработки N-[1-(п-нитрофеноксикарбонилгидрокси-метил)циклопентил]карбамоилфумагиллол (100 мг) применяли без дополнительной очистки.

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

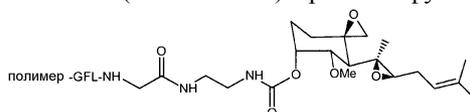


К раствору полимера (400 мг) и п-нитрофенил-N-[(2R)-1-гидрокси-3-метилбутан-2-ил]карбамоилфумагиллол-6-илкарбоната (240 мг) в ДМФА (8 мл) при 0°C по каплям добавляли DIEA (0,11 г).

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 (10К) и удержанную часть лиофилизировали, получая при этом конъюгат в виде белого твердого вещества (380 мг, 77%).

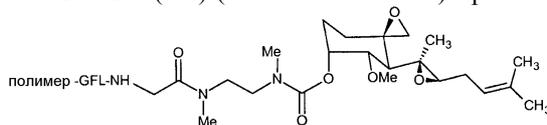
¹H ЯМР (DMCO-d₆): δ 8,25 (ушир. с, 2H, амид-NH), 8,0 (ушир. с, 1H, амид-NH), 7,70 (ушир. с, 2H, амид-NH), 7,10-7,30 (м, 15H, фенилаланин и амид-NH), 7,10 (ушир. т, 1H, NH-Fum), 6,92 (ушир. д, 1H, NH-Fum), 5,26 (м, H-5-Fum), 5,18 (ушир. т, алкен-Fum), 4,50-4,80 (м, 1H, альфа-протон фенилаланина), 4,0-4,21 (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]



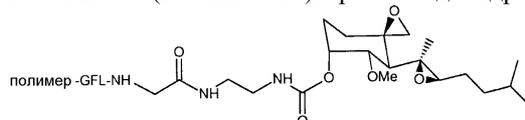
По общей процедуре F проводили реакцию поли(HPMA-co-MA-GFLG-NHCH₂CH₂NH₂-HCl) (200 мг), п-нитрофенилфумагилл-6-илкарбоната (100 мг) и DIEA (57 мг) в ДМФА (10 мл). Продукт очищали TFF (10К) с водой и лиофилизовали, получая при этом конъюгат в виде бледно-желтого твердого вещества (160 мг).

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



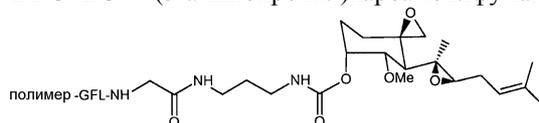
По общей процедуре F проводили реакцию поли(HPMA-co-MA-GFLG-N(Me)CH₂CH₂NHMe-HCl) (200 мг), п-нитрофенилфумагилл-6-илкарбоната (100 мг) и DIEA (57 мг) в ДМФА (5 мл). Продукт очищали TFF (10К) с водой и лиофилизовали, получая при этом конъюгат в виде не совсем белого твердого вещества (180 мг).

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



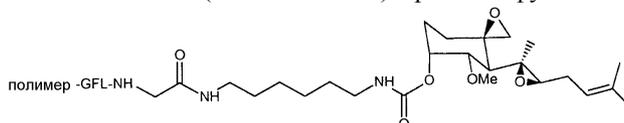
По общей процедуре F проводили реакцию поли(HPMA-co-MA-GFLG-NHCH₂CH₂NH₂-HCl) (200 мг), п-нитрофенилдигидрофумагилл-6-илкарбоната (200 мг) и DIEA (57 мг) в ДМФА (10 мл). Продукт очищали TFF (10К) с водой (150 мл) и лиофилизовали, получая при этом поли(HPMA-co-MA-GFLG-N-(2-аминоэтил)карбамоилдигидрофумагиллол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

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



По общей процедуре F проводили реакцию поли(HPMA-co-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-co-MA-GFLG-N-(3-аминопропил)карбамоилфумагиллол] в виде светло-розового порошка (200 мг).

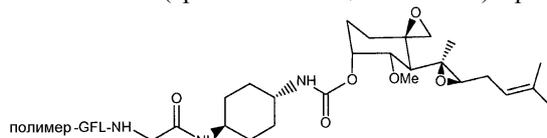
Синтез поли[HPMA-co-MA-GFLG-N-(6-аминогексил)карбамоилфумагиллола]



По общей процедуре F проводили реакцию поли[HPMA-co-MA-GFLG-N-(транс-4-аминоциклогексилламин-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 лиофилизовали, получая при этом поли[HPMA-co-MA-GFLG-N-(4-аминоциклогексил)карбамоилфумагиллол] в виде светло-розового твердого вещества (0,9 г).

¹H ЯМР (ДМСО-d₆): 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).

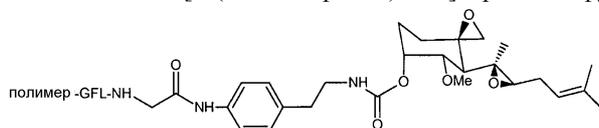
Синтез поли[HPMA-co-MA-GFLG-N-(транс-4-аминоциклогексил)карбамоилфумагиллола]



По общей процедуре F проводили реакцию поли[HPMA-co-MA-GFLG-N-(транс-4-аминоциклогексилламин-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 лиофилизовали, получая при этом поли[HPMA-co-MA-GFLG-N-(3-аминогексил)карбамоилфумагиллол] в виде светло-розового твердого вещества (0,9 г).

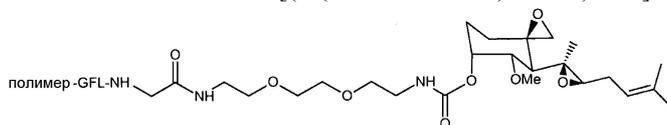
¹H ЯМР (DMCO-d₆): δ 7,90-8,35 (м, 4H, амид-NH) , 7,0-7,70 (м, 25H, фенилаланин и амид-NH), 5,26 (м, H-5-Fum), 5,18 (ушир. т, алкен-Fum), 4,60-4,90 (м, 14H), 4,50-4,60 (м, 1H, альфа-протон фенилаланина), 4,10-4,30 (м, 1H, альфа-протон лейцина), 3,40-3,80 (м, 21H) , 3,26 (с, 3H, OMe-Fum), 2,80-3,10 (м, 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-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 DMFA (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 (10K) с использованием воды (350 мл). Удержанную часть лиофилизвали, получая при этом полимер в виде белого пушистого твердого вещества (170 мг).

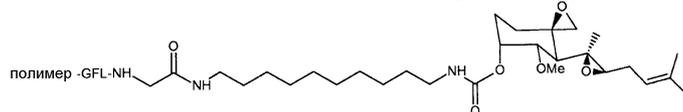
Синтез поли[HPMA-co-MA-GFLG-NH-2-[(2-(2-аминоэтокси)этокси)этил]карбамоилфумагиллола]



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 DMFA (6 мл) и H₂O (10 мл) добавляли по каплям к раствору, содержащему амин, в течение периода 15 мин и реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение 15 мин. Реакционную смесь затем оставляли для нагревания до комнатной температуры и перемешивали в течение 2 ч. Измеряли pH раствора, доводили его значение до 8,15. Реакционную смесь разбавляли дистиллированной водой (300 мл) и фильтровали через фильтр VacuCar, реакционную колбу промывали водой (100 мл). Раствор полимера концентрировали до 40 мл TFF (10K) 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 лиофилизвали 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 DMFA (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 ч. 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 лиофилизвали, 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.

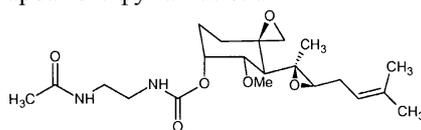
Синтез поли[HPMA-co-MA-GFLG-NH-(6-аминодецил)карбамоилфумагиллола]



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 DMFA (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 ч. 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 п-нитрофенилфумагилл-6-илкарбоната и п-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 лиофилизвали, получая при этом желаемый полимерный конъюгат поли[HPMA-co-MA-GFLG-NH-(10-аминодецил)карбамоилфумагил-

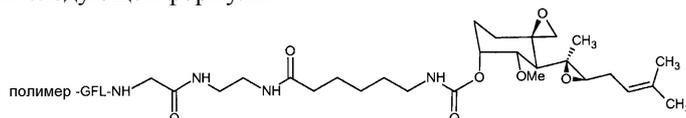
лола] (300 мг, 87%) в виде не совсем белого твердого вещества.

Синтез N-(2-ацетамидоэтил)карбамоилфумагиллола



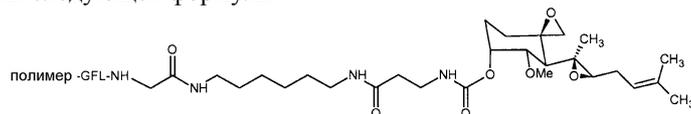
К раствору п-нитрофенилфумагилл-6-илкарбоната (200 мг) в этаноле (5 мл) при 0°C добавляли N-(2-аминоэтил)ацетамид (0,132 мл). Раствор перемешивали при 0°C в течение 1 ч и в течение ночи при комнатной температуре. Реакционную смесь разбавляли этилацетатом, промывали водой. Водную фазу снова экстрагировали этилацетатом и объединенные органические фазы сушили (MgSO₄). Сырой продукт очищают флэш-хроматографией. Продукт был желтым твердым веществом (120 мг).

Синтез соединения следующей формулы



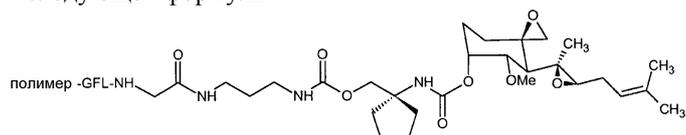
К раствору поли(HPMA-co-MA-GFLG-NHCH₂CH₂NH₂·HCl) (200 мг) и N-(5-карбокспентил)карбамоилфумагиллола (96 мг) в ДМФА (6 мл) при 0°C добавляли DIEA (104 мг) с последующим добавлением гидрохлорида N-(3-диметиламинопропил)-N'-этилкарбодиимида (42 мг). Раствор оставляли для нагревания до комнатной температуры 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 лиофилизировали, получая при этом полимер (200 мг) в виде бледно-желтого твердого вещества.

Синтез соединения следующей формулы



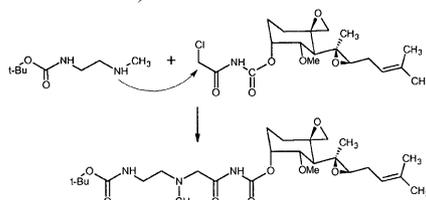
К раствору поли[HPMA-co-MA-GFLG-N(CH₂)₆NH₂·HCl] (216 мг), 2-карбоксиилкарбамоилфумагиллола (91 мг) в ДМФА (8 мл) при 0°C добавляли DIEA (118 мг) с последующим добавлением гидрохлорида N-(3-диметиламинопропил)-N'-этилкарбодиимида (88 мг). Раствор оставляли для нагревания до комнатной температуры и перемешивали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

Синтез соединения следующей формулы



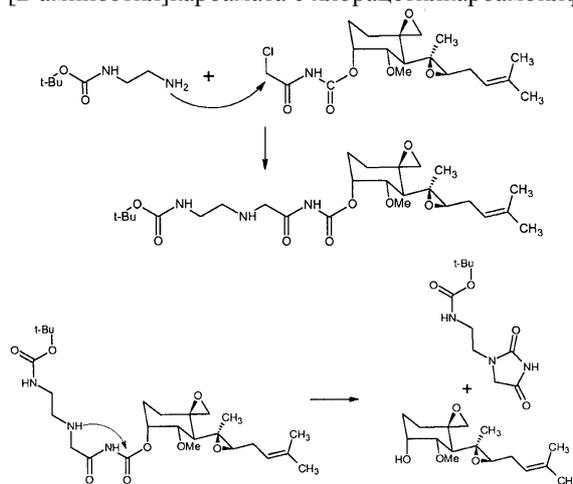
По общей процедуре F проводили реакцию поли(HPMA-co-MA-GFLG-NHCH₂CH₂CH₂NH₂·HCl) (220 мг) и карбоната (пример 24, 100 мг) в ДМФА (6 мл) с DIEA (63 мг). Реакционную смесь экстрагировали этилацетатом. После очистки TFF (10K) с применением воды и лиофилизации продукт выделяли в виде светло-розового порошка (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 перемешивали в течение 3 ч 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/метилхлорид) 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 мин. 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 табл. 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.

Табл. 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 фиг. 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 фиг. 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 фиг. 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 внутривенно, 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 г на килограмм массы в виде 25% раствора внутривенной инъекцией. Уровни глюкозы в крови измеряли через 15 мин, 30 мин, 60 мин, 90 мин и 120 мин после внутривенного 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 табл. 4 показан уровень глюкозы в крови как функция времени и дозы соединения 16. Табл. 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 фиг. 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 табл. 5 показано, что увеличение доз соединения 16 приводит к значительному увеличению потери массы при дозах более 0,2 мг/кг, схема q4d. В табл. 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 груп-

пе 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

Группа	День 1-8	День 9-15	День 15-22	День 22-29
	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 табл. 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	
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 фиг. 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 табл. 8 показывают снижения содержания холестерина, триглицеридов, HDL, LDL и отношения HDL/LDL, связанные с увеличением дозы соединения 16. Эти результаты изображаются на фиг. 6.

Таблица 8. Липиды в крови на 32 день

Доза мг/кг	ХОЛЕСТЕРИН мг/дл	ТРИГЛИЦИРИД мг/дл	ХОЛЕСТЕРИН		LDL мг/дл	Отношение HDL/LDL
			HDL мг/дл	HDL мг/дл		
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 табл. 9 показывают благоприятные изменения в содержании щелочной фосфатазы, SGPT, SGOT и СРК, связанные с увеличением дозы соединения 16.

Таблица 9. Анализ ферментов крови

Доза мг/кг	ЩЕЛОЧНАЯ ФОСФОТАЗА	SGPT	SGOT	СРК
		(ALT)	(AST)	
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 фиг. 10 показывают, что изменения только в связи (линкера) приводят к изменениям в степени потери массы.

Пример.

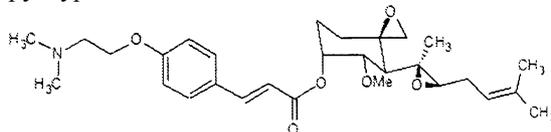
Самцов крыс Sprague Dawley (n=3) возраста от девяти до десяти недель со средней массой 300 г кормили без ограничения стандартным кормом грызунов (PharmaServ lab diet 5001). Фиг. 7 - крыс обрабатывали соединением 16 либо в количестве 100 мг/кг, либо 200 мг/кг (внутривенно, в хвостовую вену) на 1, 8, 15, 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 фиг. 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 ч. 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 мин; 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 ч и период конечного полувыведения 10 часов. Эти результаты показаны на фиг. 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 СКD-732 (также известного как белораниб и ZGN-433). СКD-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% калорий углевода; 5,1 ккал/г. Перед введением доз крыс разделяли на группы из трех животных со средней массой тела 595 г. Крысам вводили забуференный фосфатом раствор (наполнитель), соединение 16, соединение 1 или СКD-732 (спинальное, подкожное введение). Соединение 16 растворяли в наполнителе, соединение 1 в форме полутартрата и СКD-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 табл. 10. Поскольку молекулярная масса СКD-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 тестируемая	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	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 фиг. 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 СКД-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 фиг. 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 массу при значительно более низком воздействии фумагиллола по сравнению с соединением 1 или СКД-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 фиг. 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 табл. 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 изобретению снижают уровень инсулина при схеме с нечастым введением дозы.

На фиг. 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. фиг. 15), что позволяет предположить улучшенную/восстановленную чувствительность к инсулину.

На фиг. 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 фиг. 16 показано произведение величины содержания глюкозы (мМ/л) × 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
СКD-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 фиг. 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.

Таблица 15. Потребление корма

Группа среднего потребления корма										
	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 (г)	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
СКD-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 фиг. 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 табл. 17.

Таблица 17

Группа	Обработка веществом	Доза мг/кг	Наполнитель	Частота
			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

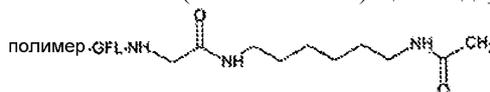
*наполнитель-1 при другом q4d

Введение дозы соединения проводили во время между 9 и 10 ч 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 внутривенным путем (ipGTT, 6 ч 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 фиг. 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 фиг. 20 показано, что доза малой молекулы СКД-732 (соединение В), введенная по схеме Q2D (QOD), показала лучшую реакцию, чем такая же средняя суточная доза той же малой молекулы, введен-

ная по схеме Q4D. Как и ожидалось, малые молекулы показывают лучшие реакции при более частом введении дозы.

На фиг. 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 фиг. 22 показаны значительно сниженные уровни инсулина во время ipGTT у самцов мышей C57B16, которым дают корм с высоким содержанием жиров. Соединения настоящего изобретения 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 фиг. 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 фиг. 24 показано снижение уровня глюкозы в крови по сравнению с группами наполнителя и полимера на всем протяжении периода обработки.

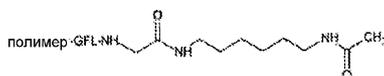
На фиг. 25 показано произведение величины содержания глюкозы (мг/дл) × величину содержания инсулина (мкЕ/мл)/405 (Akagiri et al., A Mouse Model of Metabolic Syndrome, J. Clin. Biochem. Nutr., 42, 150-157, March 2008) или величина измерения HOMA-ir, которая является признанной величиной измерения инсулинорезистентности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

Таблица 18. Данные, применяемые для вычисления HOMA-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	204,0	553,1
Наполнитель, Q2D (этанол)	264,7	241,8	218,0	521,9
Наполнитель, Q2D (этанол)	249,4	264,9	231,0	493,6
СКD-732, 1 мг/кг, Q2D	54,8	89,3	161,3	469,2
СКD-732, 2 мг/кг, Q2D	99,8	118,3	182,6	498,6

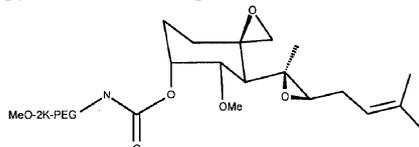
Пример эффективности различных соединений в мышинной модели DIO

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 табл. 19, растворенными в наполнителе (спинальное, подкожное введение). Обработку продолжали в течение 26 дней при дозах и по схеме, указанными ниже в табл. 19. Полимер, указываемый в этом примере, относится к поли[HPMA-co-MA-GFLG-N-(6-аминогексил)ацетамиду, полимеру, который не содержит фулагиллол.

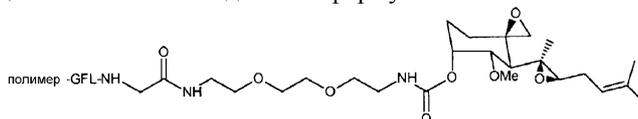


Соединение cis-16 является соединением 16, у которого 1,4-диаминоциклогексан имеет цис-конфигурацию, а не трансконфигурацию, как показано для соединения 16.

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



Соединение bb представляет собой соединение формулы



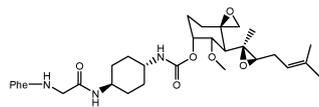
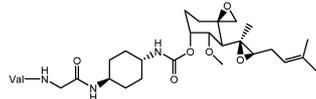
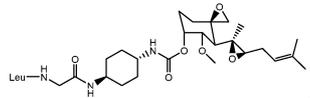
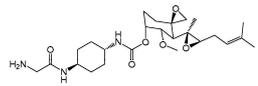
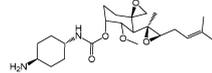
Синтез поли[HPMA-CO-MA-GFLG-NH-2-[(2-(2-аминоэтокси)этокси)этил]карбамоилфумагиллола] описан в WO/2011/150022, которая включена в контекст в качестве ссылки во всей ее полноте.

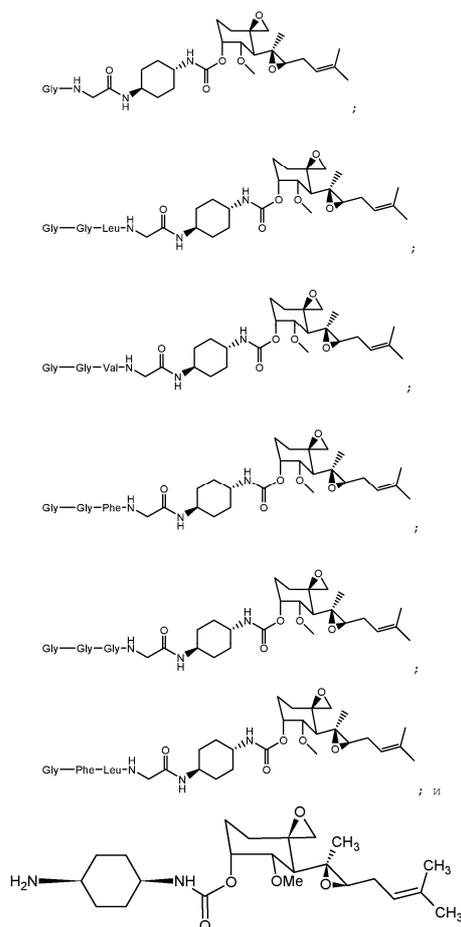
Таблица 19. Масса тела модели мыши DIO в зависимости от времени

Группа	Доза (q4d) мг/кг	Схема	Средняя масса тела мыши группы в день анализа (г)					Изменение массы тела в зависимости от наполнителя
			1	7	15	21	26	
Наполнитель	0	q4d	47,0	45,0	45,8	46,1	46,1	0,0%
Соединение 16	2	q4d	47,0	43,4	43,2	42,0	41,7	-9,6%
Соединение 16, q8d	12	q4d	47,0	41,3	38,3	36,2	38,0	-17,5%
Соединение 32	2	q4d	47,0	42,0	40,6	41,6	40,5	-12,1%
Соединение 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%
Соединение cis-16	2	q4d	47,0	42,7	42,6	40,9	40,6	-12,0
Соединение aa	2	q4d	47,0	44,3	45,2	45,4	45,8	-0,8%
Соединение bb	2	q4d	47,0	43,6	43,9	42,2	42,5	-7,8%

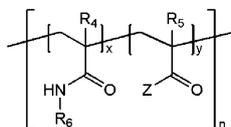
ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

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





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 гидроксиалкил;

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

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;

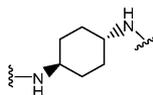
AA_3 представляет собой связь или аланин, цистеин, аспарагиновую кислоту, глутаминовую кислоту, фенилаланин, глицин, гистидин, изолейцин, лизин, лейцин, метионин, аспарагин, пролин, глутамин, аргинин, серин, треонин, валин, триптофан или тирозин;

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;

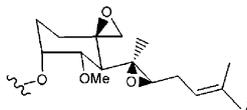
AA_5 представляет собой связь или глицин, валин, тирозин, триптофан, фенилаланин, метионин, лейцин, изолейцин или аспарагин;

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;

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;

p равно числу в диапазоне от 1 до 50 и

соединение имеет молекулярную массу менее 60 кДа.

3. Применение по п.2, где R₄ представляет собой метил.

4. Применение по п.2, где R₅ представляет собой метил.

5. Применение по п.2, где R₆ 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 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 кардиометаболические факторы риска выбирают из уровней триглицеридов плазмы, уровней LDL-холестерина, уровней С-реактивного белка (CRP), систолического кровяного давления, диастолического кровяного давления, абдоминального ожирения тканей, уровней глюкозы натощак, уровней инсулина натощак, уровней фибриногена, уровней ингибитора активатора плазминогена-1 и уровней лептина.

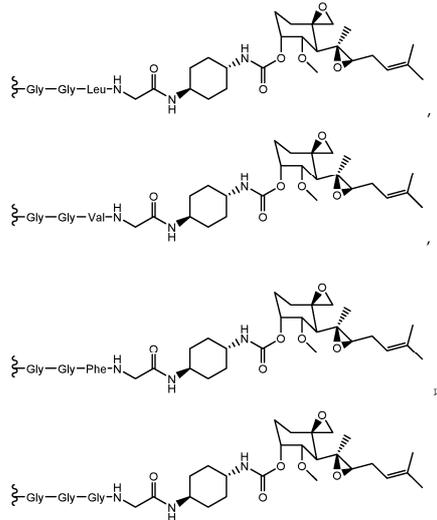
17. Применение по п.1 или 2, где соединение вводят в терапевтически эффективном количестве, которое составляет от 0,0001 до 5 мг/кг массы тела в день или от 0,001 до 1 мг/кг массы тела в день.

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.

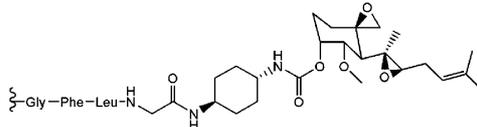
19. Применение по п.1 или 2, где указанное соединение вводят парентерально или подкожно.

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



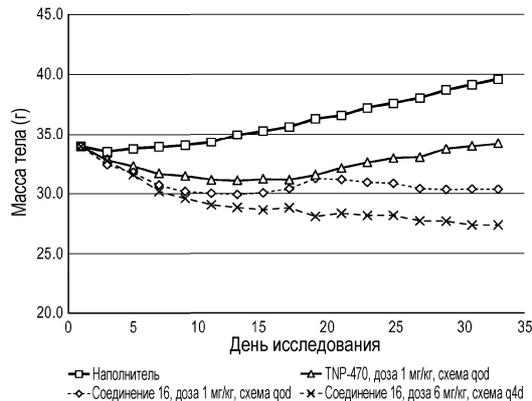
22. Применение по п.2, где Z представляет собой



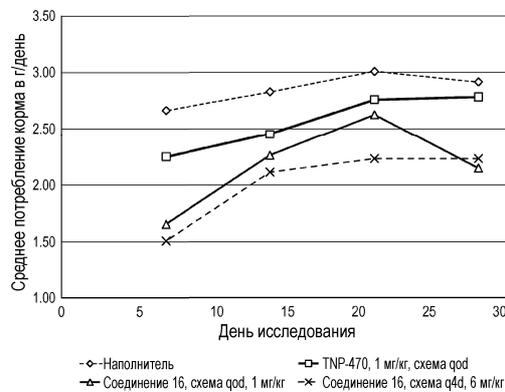
23. Применение по п.15, где диабет представляет собой инсулиннезависимый сахарный диабет типа II.

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

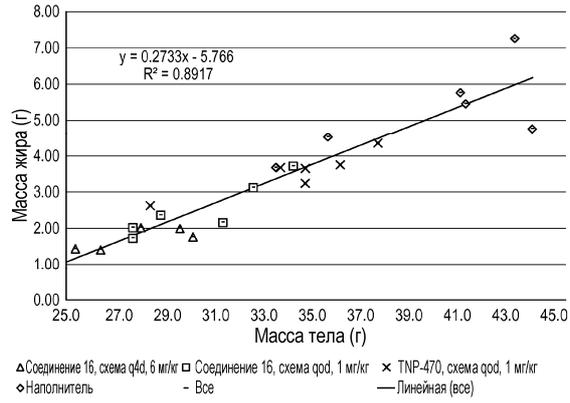
25. Применение по п.15, где заболевание желчного пузыря представляет собой желчнокаменную болезнь.



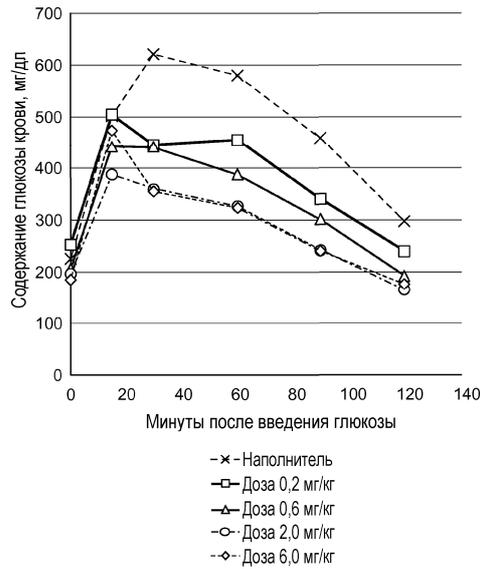
Фиг. 1



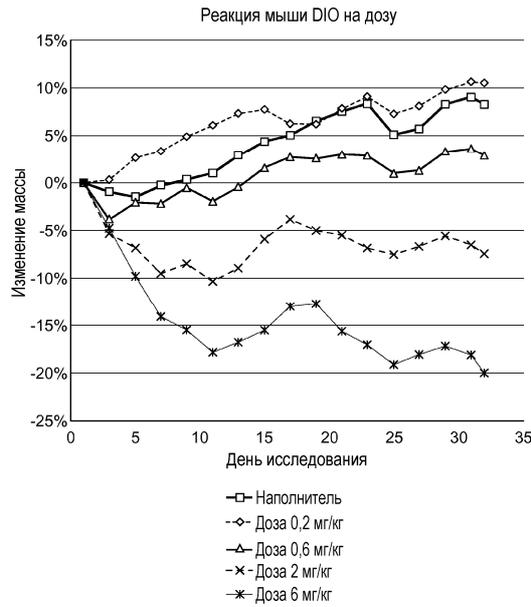
Фиг. 2



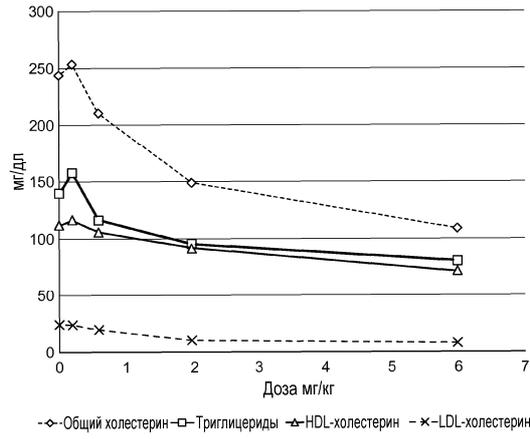
Фиг. 3



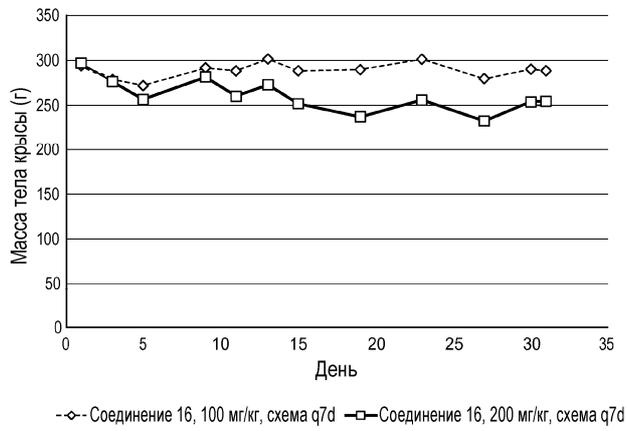
Фиг. 4



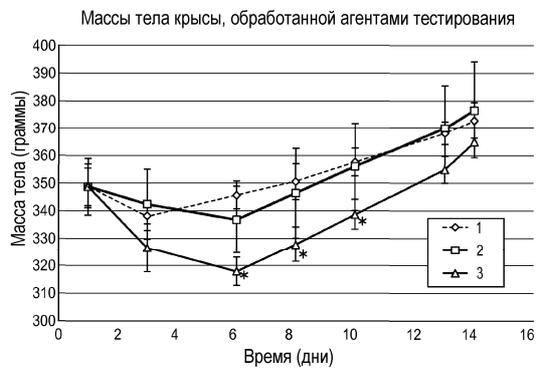
Фиг. 5



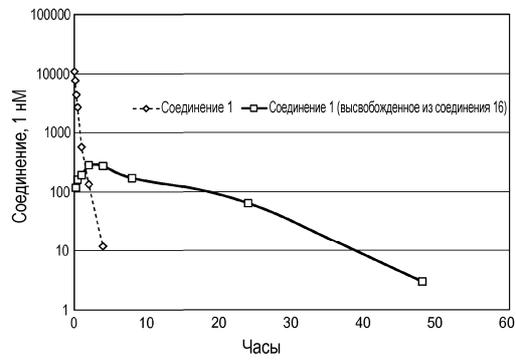
Фиг. 6



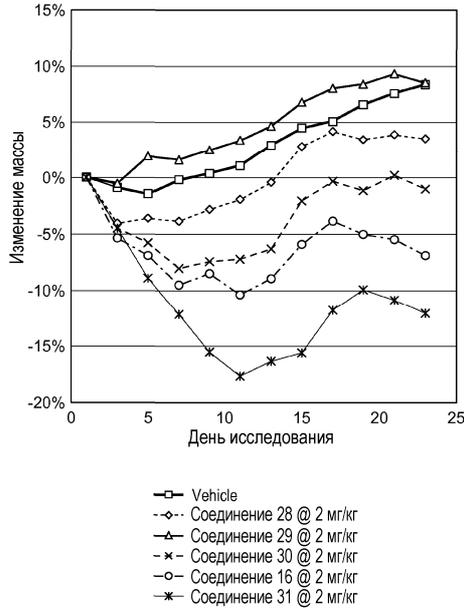
Фиг. 7



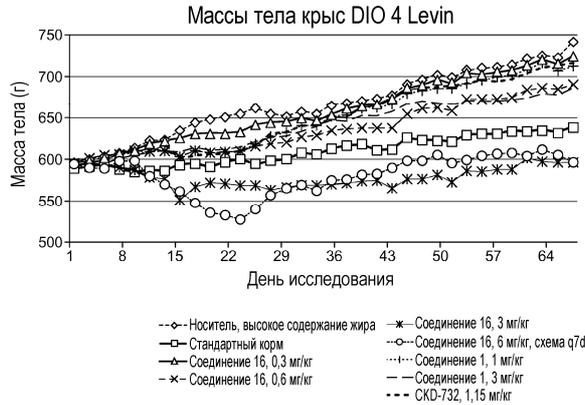
Фиг. 8



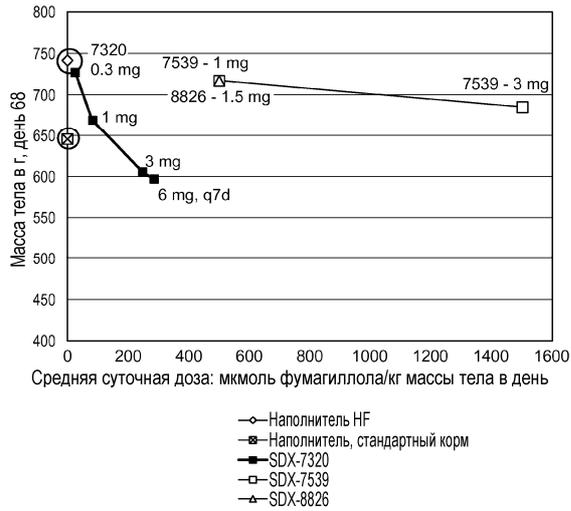
Фиг. 9



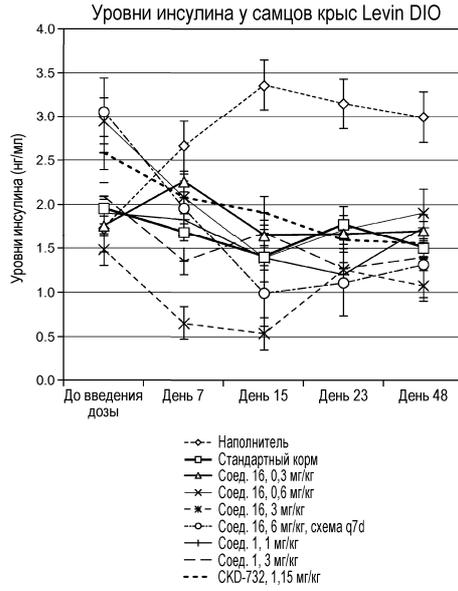
Фиг. 10



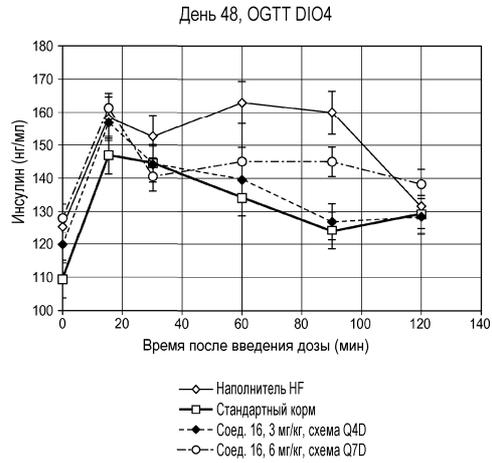
Фиг. 11



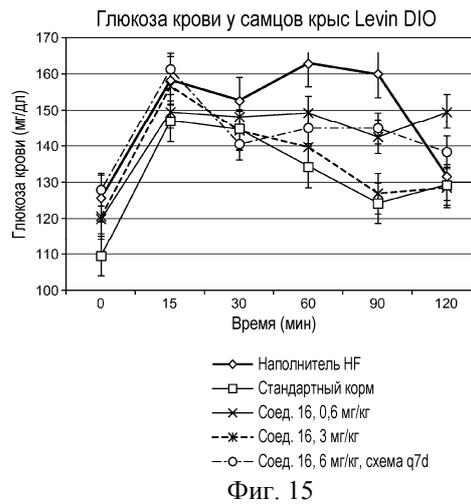
Фиг. 12



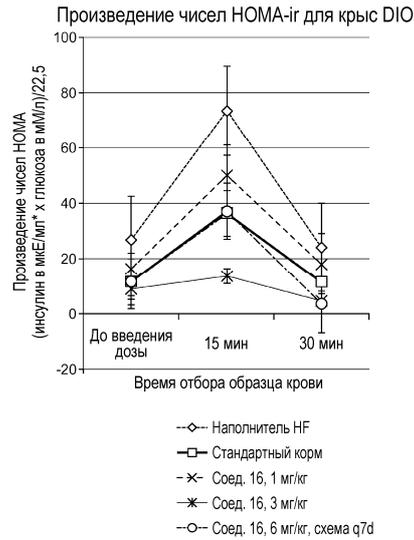
Фиг. 13



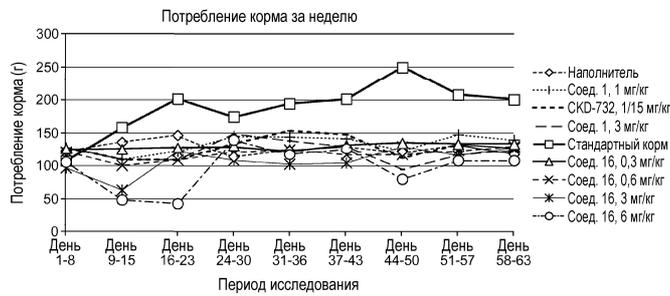
Фиг. 14



Фиг. 15



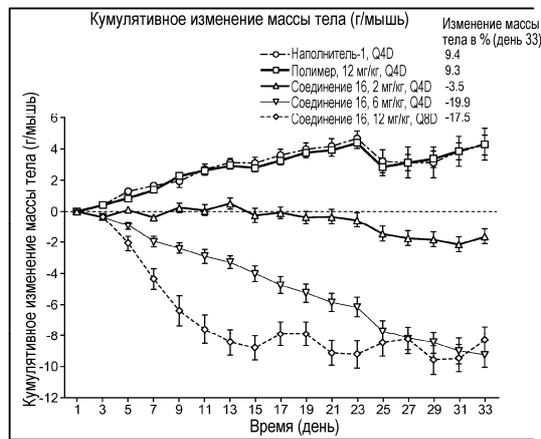
Фиг. 16



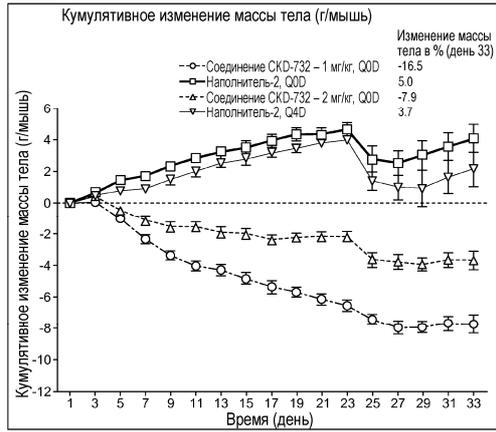
Фиг. 17



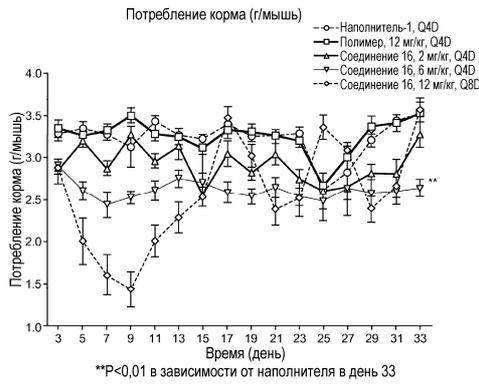
Фиг. 18



Фиг. 19

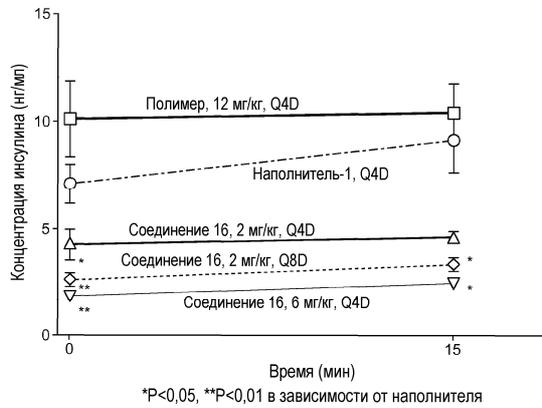


Фиг. 20



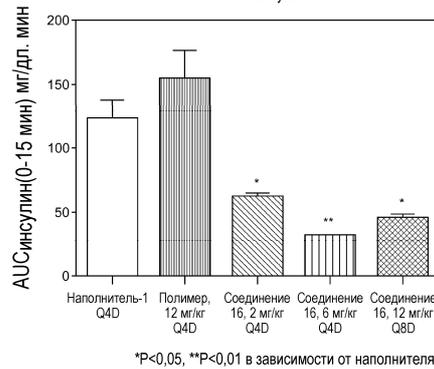
Фиг. 21

Инсулин, IpGTT

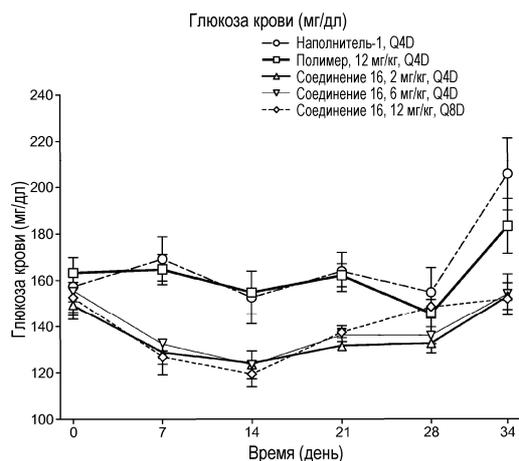


Фиг. 22

AУСинсулин

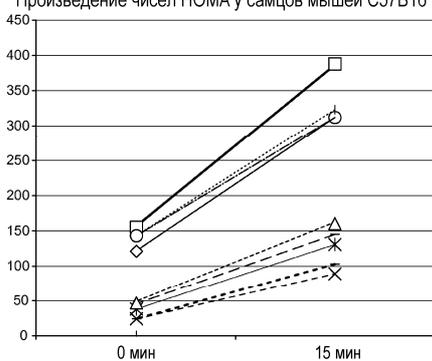


Фиг. 23



Фиг. 24

Произведение чисел НОМА у самцов мышей C57B16 D10



Фиг. 25

