



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101878042 A

(43) 申请公布日 2010. 11. 03

(21) 申请号 200880118154. 3

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2008. 11. 28

A61K 47/48(2006. 01)

(30) 优先权数据

61/004, 483 2007. 11. 28 US

61/191, 635 2008. 09. 10 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2010. 05. 28

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2008/013221 2008. 11. 28

(87) PCT申请的公布数据

W02009/073154 EN 2009. 06. 11

(71) 申请人 尼克塔治疗公司

地址 美国加利福尼亚

(72) 发明人 张文 顾叙元 S·阿尔鲁姆斯

J·里吉斯-索希尔

(74) 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专

利商标事务所 11038

代理人 袁志明

权利要求书 9 页 说明书 45 页 附图 4 页

(54) 发明名称

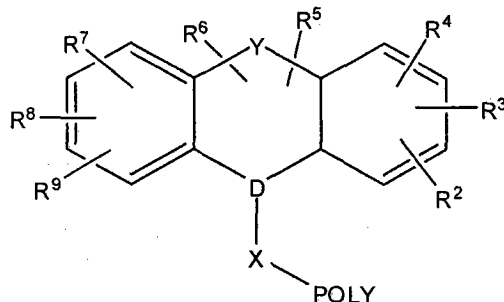
低聚物-三环共轭物

(57) 摘要

本发明提供了通过一种水溶性低聚物的共价附接进行化学改性的小分子药物。当通过多种给药途径中的任何一种给药时,本发明的共轭物呈现出与未附接到水溶性低聚物上的小分子药物的特征相比不同的特征。

1. 一种化合物,包括通过一个稳定的或可降解的连接而附接到一种水溶性、非肽的低聚物上的一个三环化合物残基。

2. 如权利要求 1 所述的化合物,具有以下结构:



化学式 I-C

其中:

D 是 C 或 N;

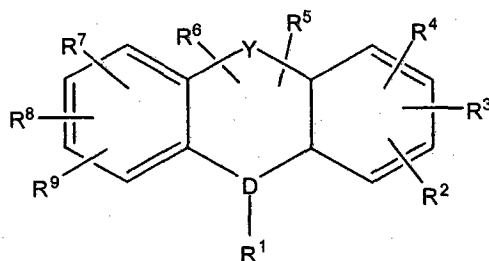
Y 是选自下组,其构成为: $-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}=\text{CH}-$,

$-\text{CH}_2-\text{S}-$ 、 $\text{CH}_2-\text{O}-$ 、 $\text{CH}_2-\text{NH}-$ 、 $-\text{S}-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{O}-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{NH}-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{HN}-$ 、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{N}=\text{C}-$ 、 $-\text{C}=\text{N}-$ 、和 $-\text{S}-$,它们是未取代的或任选地取代的;

X 是一个间隔部分;并且

POLY 是一种水溶性、非肽的低聚物。

3. 如权利要求 2 所述的化合物,其中该三环化合物残基是具有以下化学式的三环化合物的一个残基:



化学式 I

其中:

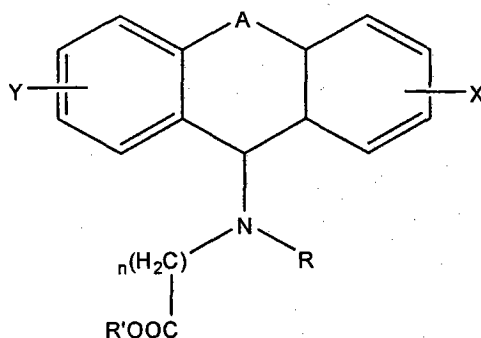
D 和 R^1 作为整体是选自下组,其构成为: $-\text{HC}-R^1$ 、 $-\text{C}=\text{R}^1$ 、和 $-\text{HN}-R^1$;

R^1 是选自下组,其构成为:烷基、氨基、酰基氨基、酰基、酰氨基、芳氧基、烷氨基、具有 2 到 4 个碳原子(包括端值)的二烷基氨基、哌啶基、吡咯烷基、N-(低级烷基)-2-哌啶基、吗啉基、1-哌嗪基、4-(低级烷基)-1-哌嗪基、4-(羟基-低级烷基)-1-哌嗪基、和 4-(甲氧基-低级烷基)-1-哌嗪基,它们是未取代的或任选地取代的;

Y 是选自下组,其构成为: $-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}=\text{CH}-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{S}-$ 、 $\text{CH}_2-\text{O}-$ 、 $\text{CH}_2-\text{NH}-$ 、 $-\text{S}-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{O}-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{NH}-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{HN}-$ 、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{N}=\text{C}-$ 、 $-\text{C}=\text{N}-$ 、和 $-\text{S}-$,它们是未取代的或任选地取代的;并且

R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 中的一个或多个各自独立地选自下组,其构成为:零、氢、卤素、氰基、羟基、羧基、酮基、硫酮基、氨基、酰基氨基、酰基、酰氨基、芳氧基、烷基、链烯基、炔基、杂烷基、卤烷基、烷氧基、二氧基、芳基、杂芳基、环烷基、以及杂环烷基,它们是未取代的或任选地取代的。

4. 如权利要求 3 所述的化合物,其中该三环化合物残基是具有以下化学式的三环化合物的一个残基:



其中:

A 是选自以下基团的一个桥: $-(CH_2)_m-$ 、和 $-CH=CH-$, 其中:

m 是从 1 至 3(包括端值)的一个整数,

X 和 Y 是选自下组,其构成为氢以及卤素,该卤素选自氟、氯以及溴;

R 和 R' 是选自下组,其构成为:氢以及具有从一至五个(包括端值)碳原子的低级烷基;并且

n 是从 1 至 12(包括端值)的一个整数。

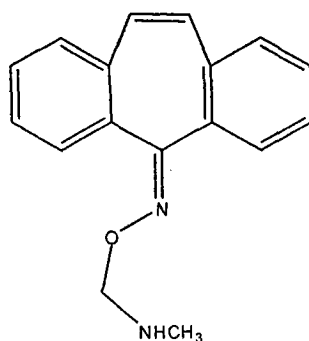
5. 如权利要求 3 所述的化合物,其中该三环化合物残基是具有以下化学式的三环化合物的一个残基:(3'-二甲氨基亚丙基)-二苯并(a,d)-环庚并-1,4-二烯 N-氧化物。

6. 如权利要求 3 所述的化合物,其中该三环化合物残基是具有以下化学式的三环化合物的一个残基,该化学式选自下组,其构成为:2-氯-11-(1-哌嗪基)二苯并(b,f)[1,4]氧-氮杂**萘**、2-氯-11-(1-哌嗪基)二苯并(b,f)[1,4]氧-氮杂**萘**盐酸盐、2-氯-11-(1-哌嗪基)二苯并(b,f)[1,4]氧-氮杂**萘**富马酸盐、2-氯-11-(1-哌嗪基)二苯并(b,f)[1,4]氧-氮杂**萘**硫酸盐、和 2-氯-11-(1-哌嗪基)二苯并(b,f)[1,4]氧-氮杂**萘**二庚酸盐。

7. 如权利要求 3 所述的化合物,其中该三环化合物残基是具有以下化学式的三环化合物的一个残基:5-(3'-二甲氨基-2'-甲基丙基)二苯并[a,d][1,4]-环庚二烯。

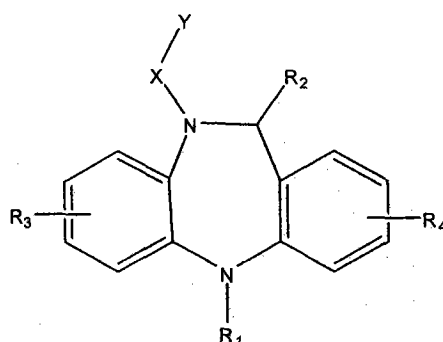
8. 如权利要求 3 所述的化合物,其中该三环化合物残基是具有以下化学式的一个三环化合物的残基,该化学式选自下组,其构成为:3-氯-5-(γ-二甲基氨基-丙基)-亚氨基二苯、3-氯-5-(γ-二甲基氨基-丙基)-亚氨基二苯的一种药学上可接受的酸加成盐、和 3-氯-5-(γ-二甲基氨基-丙基)-亚氨基二苯盐酸盐。

9. 如权利要求 3 所述的化合物,其中该三环化合物残基是具有以下化学式的一种三环化合物的一个残基:



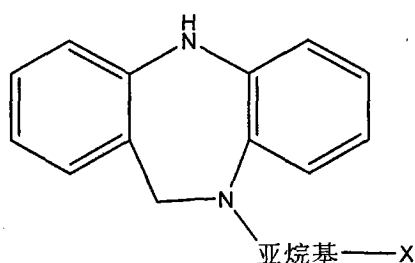
10. 如权利要求 3 所述的化合物,其中该三环化合物残基是具有以下化学式的一种三环化合物的一个残基,该化学式选自下组,其构成为:5-(γ -甲氨基-丙基)-亚氨基二苄以及它的无毒的加成盐类,N-(3-甲氨基丙基)-亚氨基二苄,以及 N-(3-甲氨基丙基)-亚氨基二苄盐酸盐。

11. 如权利要求 3 所述的化合物,其中该三环化合物残基是具有以下化学式的一种三环化合物的一个残基,该化学式选自下组,其构成为:具有以下化学式的 10-(碱性取代的)-10,11-二氢-5H-二苯并[b,e][1,4]二氮杂**葑**:



其中 X 代表具有 2 和 3 之间(包括端值)的碳原子的亚烷基;Y 是构成如下的类别中的一员:具有 2 和 4 之间(包括端值)的碳原子的二烷基氨基、吡咯烷基、哌啶基、以及吗啉基;R₁ 和 R₂ 可互换地代表构成如下的类别中的一员:氢、甲基、以及乙基;并且 R₃ 和 R₄ 可互换地代表构成如下的类别中的一员:氢、氯、甲基、乙基、甲氧基以及乙氧基。

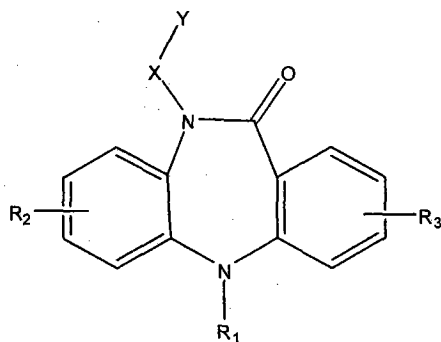
12. 如权利要求 3 所述的化合物,其中该三环化合物残基是具有以下化学式的三环化合物的一个残基:



其中亚烷基具有 2 至 4 个(包括端值)碳,并且至少两个碳将 X 与该杂环的核分开;X 是选自下组,其构成为:2 至 4 个碳的二烷基氨基、吡咯烷基、哌啶基以及吗啉基;并且每个 Y 独立地选自下组,其构成为:氢、氯、甲基、甲氧基以及乙氧基。

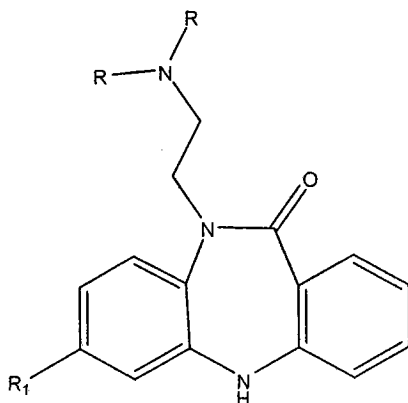
13. 如权利要求 3 所述的化合物,其中该三环化合物残基是一种三环化合物的一个残

基,该残基选自下组,其构成为:具有以下化学式的取代的 5H-二苯并[b,e][1,4]二氮杂萘衍生物:



其中 R_1 是选自由氢、甲基以及乙基构成的类别; $-X-Y$ 是一个碱性基团,其中 X 是含有 2 和 3 之间(包括端值)的碳原子的烃链,并且 Y 是选自以下类别,其构成为:具有 2 和 4 之间(包括端值)的碳原子的二烷基胺基、哌啶基、吡咯烷基、 N -(低级烷基)-2-哌啶基、吗啉基、1-哌嗪基、4-(低级烷基)-1-哌嗪基、4-(羟基-低级烷基)-1-哌嗪基、和 4-(甲氧基-低级烷基)-1-哌嗪基并且 R_2 和 R_3 是选自以下类别,其构成为:氢、氯、甲基、乙基、甲氧基、乙氧基、三氟甲基、甲基巯基、以及乙基巯基。

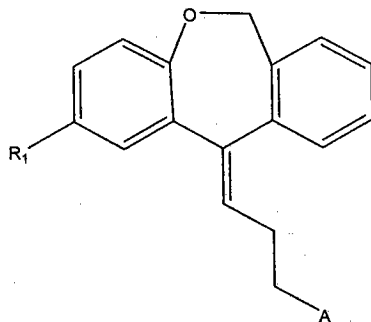
14. 如权利要求 3 所述的化合物,其中该三环化合物残基是具有以下化学式的三环化合物的一个残基:



其中 R 是选自 CH_3 和 C_2H_5 构成的组的一员,并且 R_1 是选自下组的一员,该组的构成为 Cl 、 CH_3 、 CF_3 、和 C_2H_5 。

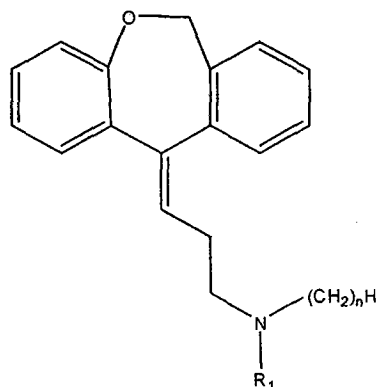
15. 如权利要求 3 所述的化合物,其中该三环化合物残基是具有以下化学式的三环化合物的一个残基:11-(3-二甲氨基亚丙基)-6,11-二氢-二苯并-(b,e)噻庚英。

16. 如权利要求 3 所述的化合物,其中该三环化合物残基是具有以下化学式的三环化合物的一个残基:



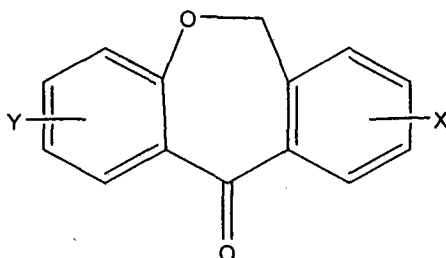
R_1 是选自下组的一员,该组的构成为氢以及卤素,并且 A 是 4-(β -羟乙基-哌啶基)。

17. 如权利要求 3 所述的化合物,其中该三环化合物残基是具有以下化学式的三环化合物的一个残基:



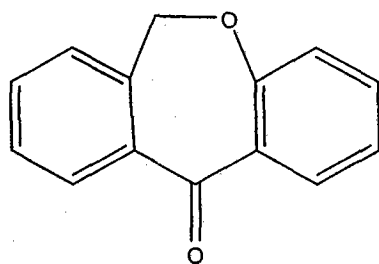
其中 n 是从 0 至 1 的整数并且 R_1 是具有从 1 至 4 个碳原子的烷基。

18. 如权利要求 3 所述的化合物,其中该三环化合物残基是具有以下化学式的三环化合物的一个残基:

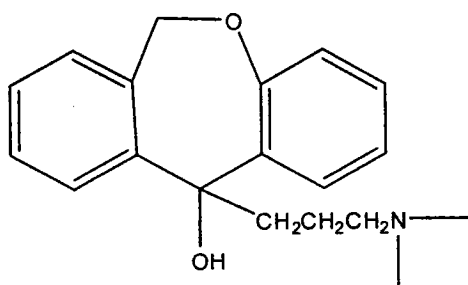


其中 X 和 Y 各自独立地选自下组,其构成为:氢、具有从 1 至 4 个碳原子的烷基、具有从 1 至 4 个碳原子的烷氧基、具有从 1 至 4 个碳原子的硫代烷氧基、氯、氟、三氟甲基、具有从 1 至 4 个碳原子的酰基、以及具有从 1 至 8 个碳原子的二烷基亚磺酰氨基。

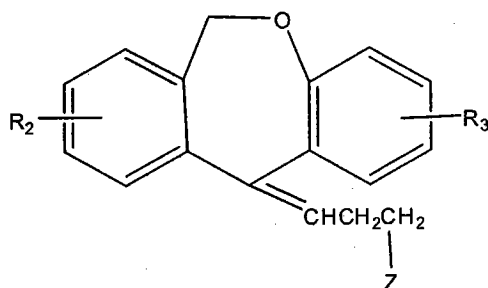
19. 如权利要求 3 所述的化合物,其中该三环化合物残基是具有以下化学式的三环化合物的一个残基:



20. 如权利要求 3 所述的化合物,其中该三环化合物残基是具有以下化学式的三环化合物的一个残基:

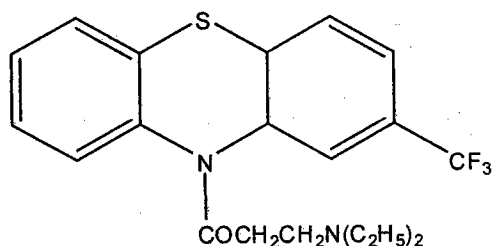


21. 如权利要求 3 所述的化合物,其中该三环化合物残基是具有以下化学式的三环化合物的一个残基:

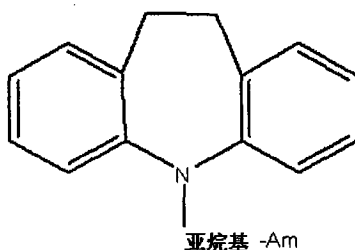


其中 R_2 和 R_3 各自是选自下组的一员,该组的构成为氢、氟、氯、低级烷基、低级烷氧基、低级烷硫基、以及三氟甲基,并且 Z 是一个二-低级-烷氨基。

22. 如权利要求 3 所述的化合物,其中该三环化合物残基是具有以下化学式的三环化合物的一个残基:

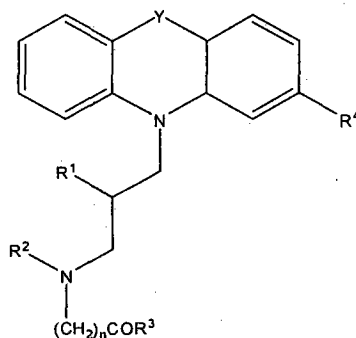


23. 如权利要求 3 所述的化合物,其中该三环化合物残基是具有以下化学式的三环化合物的一个残基:



其中亚烷基代表具有 2-3 个碳原子的一个亚烷基链并且 Am 代表选自下组的一员,该组的构成为:一个低分子二烷基氨基基团、N- 哌啶基-、N- 吗啉基-、和 N- 吡咯烷基的基团。

24. 如权利要求 3 所述的化合物,其中该三环化合物残基是具有以下化学式的三环化合物的一个残基:



Y 是选自下组,其构成为 CH_2-CH_2 和 $CH=CH$;

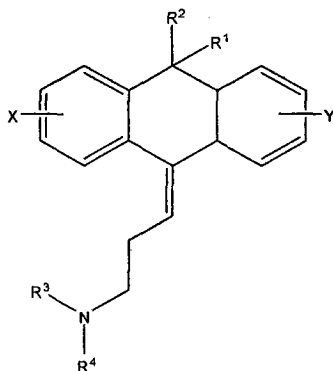
R^1 是选自下组,其构成为 H 和 CH_3 ;

R^2 代表具有最大 4 个碳原子的一个烷基基团；

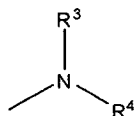
n 是选自下组，其构成为：1、2、和 3；

R^3 是选自下组，其构成为：苯基以及被最多三个取代基取代的苯基，这些取代基选自下组，其构成为：F、Cl、OH、 CF_3 ，连同含有最多 4 个碳原子的烷基和烷氧基；以及在 3,4- 位上具有一个取代基的一个苯基基团，该取代基选自下组，其构成为：亚烷基二氧基（具有最多 6 个碳原子）、环烷基二氧基（具有最多 6 个碳原子）以及乙二氧基； R^4 是选自下组，其构成为：H、F、Cl、 OCH_3 、 CF_3 、和 $SO_2N(CH_3)_2$ 。

25. 如权利要求 3 所述的化合物，其中该三环化合物残基是具有以下化学式的三环化合物的一个残基：

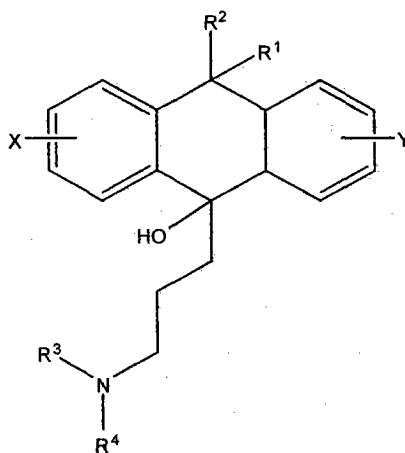


其中 R^1 和 R^2 各自是一个低级烷基基团； X 是选自下组，其构成为：氢、卤素、低级烷基以及低级烷氧基； Y 是选自下组，其构成为氢和卤素；并且

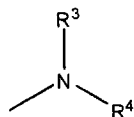


是选自下组，其构成为：二 - 低级 - 烷氨基、苄基 - 低级 - 烷氨基、以及杂环胺的基团，所述杂环胺是选自下组，其构成为：吡咯烷、哌啶、吗啉、硫代吗啉、 N^1 - 低级 - 烷基哌嗪、以及上述各项的 C- 低级烷基衍生物。

26. 如权利要求 3 所述的化合物，其中该三环化合物残基是具有以下化学式的三环化合物的一个残基：

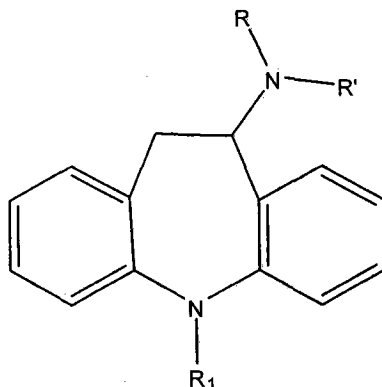


其中 R^1 和 R^2 各自是一个低级烷基基团； X 是选自下组，其构成为：氢、卤素、低级烷基以及低级烷氧基； Y 是选自下组，其构成为氢和卤素；并且



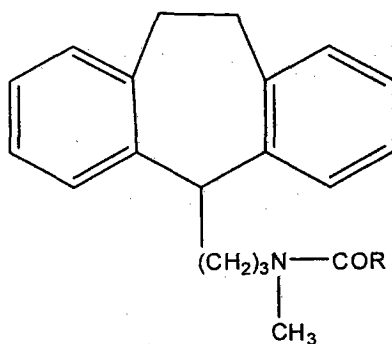
是选自下组,其构成为:二-低级-烷基-胺基、苄基-低级-烷基-胺基、以及具有一个饱和的五元环的一个杂环胺的基团,具有一个饱和的六元环的一个杂环胺的基团,所述杂环胺是选自下组,其构成为:吡咯烷、哌啶、吗啉、硫代吗啉、N¹-低级烷基哌嗪、以及上述各项的C-低级烷基衍生物。

27. 如权利要求 3 所述的化合物,其中该三环化合物残基是具有以下化学式的三环化合物的一个残基:



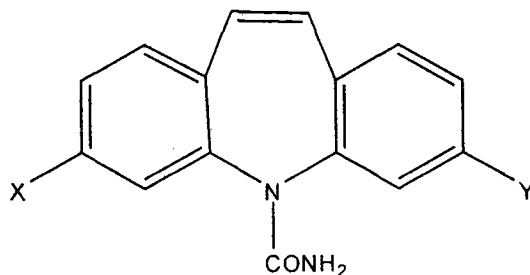
其中 R 和 R' 是相同或不同的并且各自代表氢或具有一至五个碳原子的烷基,并且 R₁ 是氢、具有一至五个碳原子的烷基、或苄基。

28. 如权利要求 3 所述的化合物,其中该三环化合物残基是具有以下化学式的三环化合物的一个残基:



其中 R 是选自下组,其构成为:氢、低级烷基、苄基以及苄基。

29. 如权利要求 3 所述的化合物,其中该三环化合物残基是具有以下化学式的三环化合物的一个残基:



其中 X 和 Y 各自代表选自下组的一员,该组的构成为氢以及卤素。

30. 如权利要求 1 所述的化合物,其中该三环化合物残基是一个三环化合物的残基,它选自下组,其构成为:安咪奈丁、阿米替林、氧阿米替林、阿莫沙平、布替林、氯米帕明(clomiprimine)、地美替林、地昔帕明、二苯西平、二甲他林、度琉平、多塞平、氟西嗪、丙米嗪、N-氧化丙米嗪、洛非帕明、美利曲辛、美他帕明、去甲替林、奥匹哌醇、丙吡西平、普罗替林、奎纽帕明、噻奈普汀、曲米帕明以及卡马西平。

31. 如权利要求 1 至 30 中任一项所述的化合物,其中该水溶性、非肽的低聚物是聚(氧化烯)。

32. 如权利要求 31 所述的化合物,其中该聚(氧化烯)是聚(氧化乙烯)。

33. 如以上权利要求中任一项所述的化合物,其中水溶性、非肽的低聚物是由 1 和 30 之间个单体构成的。

34. 如权利要求 33 所述的化合物,其中该水溶性、非肽的低聚物是由 1 和 10 之间个单体构成的。

35. 如权利要求 31 所述的化合物,其中该聚(氧化烯)包括一种烷氧基或羟基封端的部分。

36. 如以上权利要求中任一项所述的化合物,其中,一种单一的水溶性、非肽的低聚物被附接到该三环化合物的残基上。

37. 如以上权利要求中任一项所述的化合物,其中,大于一种的水溶性、非肽的低聚物被附接到该三环化合物的残基上。

38. 如以上权利要求中任一项所述的化合物,其中该三环化合物残基是通过一个稳定的连接共价地附接的。

39. 如以上权利要求中任一项所述的化合物,其中该三环化合物残基是通过一个可降解的连接共价地附接的。

40. 如以上权利要求中任一项所述的化合物,其中该连接是一个醚连接。

41. 如以上权利要求中任一项所述的化合物,其中该连接是一个酯连接。

42. 一种组合物,该组合物包括一种化合物以及任选地一种药学上可接受的赋形剂,该化合物包括通过一个稳定的或可降解的连接共价地附接到一种水溶性的并且非肽的低聚物上的一个三环化合物残基。

43. 一种物质的组合物,该组合物包括一种化合物,该化合物包括通过一个稳定的或可降解的连接共价地附接到一种水溶性、非肽的低聚物上的一个三环化合物残基,其中该化合物是以一种剂型存在。

44. 一种方法,该方法包括将一种水溶性、非肽的低聚物附接到一种三环的化合物上。

45. 一种治疗方法,包括将一种化合物给予对其有需要的一个受试者,该化合物包括通过一个稳定的或可降解的连接共价地附接到一种水溶性、非肽的低聚物上的一个三环化合物残基。

低聚物 - 三环共轭物

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请根据 35U. S. C. § 119(e) 要求了以下申请的优先权:2007 年 11 月 28 日提交的美国临时申请序列号 61/004, 483, 2008 年 9 月 10 日提交的美国临时申请号 61/191, 635, 并且两者通过引用以其整体结合在此。

发明领域

[0003] 本发明包括(除其他之外)化学改性的三环化合物,它们具有某些优于缺少化学改性的三环化合物的优点。在此所描述的化学改性的三环化合物涉及和/或具有在药物发现、药物治疗、生理学、有机化学以及聚合物化学领域(除其他之外)的应用。

[0004] 发明背景

[0005] 临床抑郁症(还称为严重抑郁性紊乱或单相性精神障碍)是一种通常的精神性障碍,其特征是一种持续性情绪低落、对惯常活动丧失兴趣以及减少的体验快乐的能力。

[0006] 尽管术语“抑郁”通常用来描述当一个人感到“心情沮丧”时的一种暂时性的情绪低落,但临床抑郁症却是一种严重的疾病,它涉及身体、情绪以及思想,并且不能简单地在意愿上或愿望性地消失。它经常是一种致残的疾病,该疾病影响一个人的工作、家庭以及学校生活,睡眠以及饮食习惯,总体健康状况以及享受生活的能力。临床抑郁症的病程广泛地不同:抑郁可以是一生中一次的事件或有数次复发,它可以逐渐地或突然地发生,并且持续几个月或者是一种一生的障碍。患有抑郁症是自杀的一个主要的危险度因素,此外,患有抑郁症的人比其他原因遭受更高的死亡率。临床抑郁症通常通过心理疗法、抗抑郁药或两者的组合来进行处理。

[0007] 神经病变是一种或多种末梢神经的一种疾病。神经损伤的四种主要形式是多发性神经病、自主神经病变、单一神经病变、以及多发性单神经炎。一种更常见的形式是末梢多发性神经病变,它主要影响脚和腿。还存在其他不太常见的神经病变形式,例如肠的神经病变。

[0008] 除了糖尿病(即,糖尿病性神经病变)之外,神经病变的常见原因是带状疱疹感染、HIV-AIDS、毒素、酒精中毒、慢性创伤(例如重复性运动紊乱)或急性创伤(包括手术)、神经毒性以及自身免疫病症,例如乳糜泻。神经性疼痛在癌症中作为一种癌症在外周神经(例如受肿瘤压缩)的直接结果、作为许多化疗药物的副作用、作为电击伤的结果是常见的。在许多情况下,神经病变是“自发性的”,意味着未找到原因。

[0009] 神经性的疼痛通常理解为一种稳定的灼烧和/或“针扎和针刺”和/或“电休克”的感觉和/或擦痒。差别是由于以下事实:“普通”的疼痛仅仅刺激疼痛神经,而神经病变经常导致在同一区域的疼痛以及非疼痛(接触、温暖、冷却)感觉神经的刺激,从而产生了脊髓以及脑不会正常预期接收的信号。

[0010] 神经性疼痛可能难以治疗。一个随机对照试验的系统性评论发现,最好的治疗物是三环化合物类、抗惊厥药、以及辣椒辣素。三环的抗抑郁药用在众多应用中,主要是指用于治疗临床抑郁症、神经病性疼痛、夜尿症以及 ADHD,但是它们还成功地用于头痛(包括偏

头痛)、焦虑、失眠、戒烟、神经性贪食症、过敏性肠综合症、昏睡病、病理性哭笑、持续性打嗝、间质性膀胱炎以及食肉毒鱼类中毒以及作为精神分裂症的一种辅助剂。

[0011] 总体上认为三环的抗抑郁药通过抑制神经递质、去甲肾上腺素、多巴胺或 5-羟色胺的再吸收或通过神经细胞起作用。三环化合物还对毒蕈碱的以及组胺 H1 至 H4 受体具有不同程度的亲和性。虽然去甲肾上腺素和多巴胺总体上认为是刺激性的神经递质、三环的抗抑郁药还增加了对 H1 组胺的作用并且因此大多数具有镇静作用并且还可以作为抗组胺的化合物有用。

[0012] 抗抑郁药以及抗惊厥药的应用一直受对于中央神经系统潜在的不利作用所影响,例如恶梦、困倦、视力模糊、胃肠蠕动和分泌的减少、排尿困难、体温过高以及口干。作为结果,若与它们的使用有关的这些和 / 或其他副作用可以减少的话,则使用三环化合物的药物治疗法将得以改进。因此,对于发展新颖的三环的化合物仍存在着一个很大的未满足的需要。

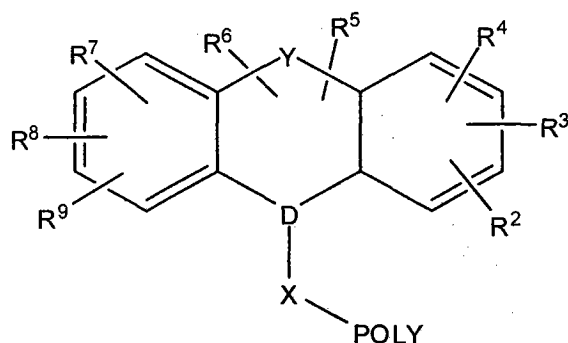
[0013] 本发明寻求着手解决本领域中的这些以及其他需要。

发明内容

[0014] 在本发明的一个或多个实施方案中,提供了一种化合物,该化合物包括通过一个稳定的或可降解的连接共价地附接到一种水溶性、非肽的低聚物上的一个三环的残基。

[0015] 本发明的示例性的化合物包括具有以下结构的那些:

[0016]



化学式 I-C

[0017] 其中:

[0018] D 是 C 或 N;

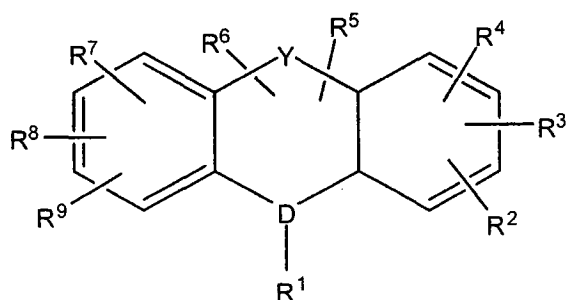
[0019] Y 是选自下组,其构成为: $-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}=\text{CH}-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{S}-$ 、 $\text{CH}_2-\text{O}-$ 、 $\text{CH}_2-\text{NH}-$ 、 $-\text{S}-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{O}-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{NH}-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{HN}-$ 、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{N}=\text{C}-$ 、 $-\text{C}=\text{N}-$ 、和 $-\text{S}-$, 它们是未取代的或任性地取代的;

[0020] X 是一个间隔部分;并且

[0021] POLY 是一种水溶性、非肽的低聚物。

[0022] “三环残基”是具有一种三环化合物的结构的一种化合物,它通过一个或多个键的存在进行改变,这些键起到附接(直接地或间接地)一个或多个水溶性、非肽的低聚物的作用。示例性的三环化合物具有包括在此定义为化学式 I 的结构中的至少之一的一个结构:

[0023]



化学式 I

[0024] 其中：

[0025] D 和 R¹ 作为整体是选自下组，其构成为： $-\text{HC}-\text{R}^1$ 、 $-\text{C}=\text{R}^1$ 、和 $-\text{HN}-\text{R}^1$ ；

[0026] R¹ 是选自下组，其构成为：烷基、氨基、酰基氨基、酰基、酰氨基、芳氧基、烷氨基、具有约 2 到 4 个（包括端值）碳原子的二烷基氨基、哌啶基、吡咯烷基、N-(低级烷基)-2-哌啶基、吗啉基、1-哌嗪基、4-(低级烷基)-1-哌嗪基、4-(羟基-低级烷基)-1-哌嗪基、和 4-(甲氧基-低级烷基)-1-哌嗪基，它们是未取代的或任选地取代的；

[0027] Y 是选自下组，其构成为： $-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}=\text{CH}-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{S}-$ 、 $\text{CH}_2-\text{O}-$ 、 $\text{CH}_2-\text{NH}-$ 、 $-\text{S}-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{O}-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{NH}-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{HN}-$ 、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{N}=\text{C}-$ 、 $-\text{C}=\text{N}-$ 、和 $-\text{S}-$ ，它们是未取代的或任选地取代的；并且

[0028] R²、R³、R⁴、R⁵、R⁶、R⁷、R⁸、R⁹ 中的一个或多个各自独立地选自下组，其构成为：零、氢、卤素、氰基、羟基、羧基、酮基、硫酮基、氨基、酰基氨基、酰基、酰氨基、芳氧基、烷基、链烯基、炔基、杂烷基、卤烷基、烷氧基、二氧基、芳基、杂芳基、环烷基、以及杂环烷基，它们是未取代的或任选地取代的。

[0029] 在本发明的一个或多个实施方案中，提供了包括一种化合物的一种组合物，该化合物包括一个三环残基，以及任选地一种药学上可接受的赋形剂，该残基通过一个稳定的或可降解的连接共价地附接到一种水溶性、非肽的低聚物上。

[0030] 在本发明的一个或多个实施方案中，提供了包括一种化合物的一种剂型，该化合物包括一个三环残基，该残基通过一个稳定的或可降解的连接共价地附接到一种水溶性、非肽的低聚物上，其中该化合物是以一种剂型存在。

[0031] 在本发明的一个或多个实施方案中，提供了一种方法，该方法包括将一个水溶性、非肽的低聚物共价地附接到一种三环的化合物上。

[0032] 在本发明的一个或多个实施方案中，提供了一种方法，该方法包括给予一种化合物，该化合物包括通过一个稳定的或可降解的连接共价地附接到一种水溶性、非肽的低聚物上的一个三环的残基。

[0033] 当结合以下详细描述来阅读时，本发明的其他目的、方面、实施方案以及特征对于本领域的普通技术人员将是非常明显的。

[0034] 附图简要说明

[0035] 图 1 示出了卡马西平以及其共轭物对钠电流在 0.1Hz (A) 对比在 3Hz (B) 下在分离的人体心房肌细胞中的阻断作用。数据是平均 \pm SEM。

[0036] 图 2 示出了卡马西平以及其共轭物对钠电流在 0.1Hz (A) 对比在 3Hz (B) 下在分离的大鼠背根神经节细胞中的阻断作用。数据是平均 \pm SEM。

[0037] 图 3 示出了对于卡马西平以及其共轭物以 100 μM 在 0.1Hz (A) 和 3Hz (B) 下在分

离的心脏以及神经元细胞中的钠电流阻断的平均百分比(±SEM)。

[0038] 图 4 示出了地昔帕明及其共轭物对大鼠前脑薄膜中的去甲肾上腺素转运蛋白特异性结 & 的平均(±SEM) 百分比。

[0039] 图 5 示出了试验化合物对抗标准的镇痛剂吗啡的镇痛活性。

[0040] 发明详细描述

[0041] 如在本说明书中所使用的,单数形式“一个”、“一种”以及“该”除非另外在上下文中清楚地说明,否则包括复数个指代物。

[0042] 在对本发明进行说明并且提出权利要求时,以下术语根据以下描述的定义使用。

[0043] “水溶性、非肽的低聚物”是指一种低聚物,它在水中在室温下是至少 35% (按重量计) 可溶的,优选大于 70% (按重量计) 并且更优选大于 95% (按重量计) 是可溶的。典型地,一种“水溶性的”低聚物的未过滤的水性制剂透射光的量是过滤后同一溶液透射量的至少 75%、更优选至少 95%。然而最优选地,水溶性的低聚物在水中是至少 95% (按重量计) 可溶的或在水中时完全可溶的。对于“非肽的”,当一种低聚物具有小于 35% (按重量计) 的氨基酸残基时,则它是非肽的。

[0044] 术语“单体”、“单体亚单元”以及“单体单元”在此互换地使用并且是指一种聚合物或低聚物的基本结构单元的一种。在一种均低聚物的情况下,一个单一的重复结构单元形成了低聚物。在一种共低聚物的情况下,两种或多种结构单元进行重复(以一种模式或者是随机地)以形成低聚物。与本发明相关而使用的优选的低聚物是均-低聚物。该水溶性、非肽的低聚物典型地包括一种或多种连续相连的单体以形成一个单体链。该低聚物可以自一种单一的单体类型(即,是均聚-低聚物)或两种或三种单体类型(即,共-低聚物)形成。

[0045] “低聚物”是具有从约 1 至约 30 个单体的分子。用于本发明的具体的低聚物包括在以下更详细说明的具有多种几何形状(例如直链、支链或叉状的)的那些。

[0046] 如在此所使用的“PEG”或“聚乙二醇”意思是包括任何水溶性的聚(氧化乙烯)。除非另外说明,一种“PEG 低聚物”一种低聚乙二醇是一种其中基本上所有(优选所有)单体的亚单元是氧化乙烯亚单元的物质,尽管该低聚物可以包括明显的封端部分或官能团(例如用于共轭)。用于本发明的 PEG 低聚物包括以下两种结构中的一种,“ $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n-$ ”或“ $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{n-1}\text{CH}_2\text{CH}_2-$ ”,这取决于这个或这些末端氧是否被取代,例如在合成转化过程中。如以上所说明的,对于 PEG 低聚物,变量“n”在从约 1 至 30 的范围,优选从约 2 至约 30,并且这些端基以及整个 PEG 的结构可以变化。当 PEG 进一步包括一个官能团 A 用于连接至例如一种小分子药物时,该官能团当共价地附接到一种 PEG 低聚物上时不会导致形成 (i) 一个氧-氧键(-O-O-,一种过氧化物连接)或 (ii) 一个氮-氧键(N-O、O-N)。

[0047] 在此使用的“封端的”以及“末端帽化的”可以互换使用来指具有一个封端的部分的一种聚合物的末端或端点。典型地,尽管不是必须的,该封端部分包括一个羟基或 C_{1-20} 烷氧基,更优选一个 C_{1-10} 烷氧基,并且仍然更优选一个 C_{1-5} 烷氧基。因此,封端部分的例子包括烷氧基(例如,甲氧基、乙氧基以及苄氧基),连同芳基、杂芳基、环、杂环,以及类似物。应记住的是,在聚合物中该封端的部分可以包括一或多个末端单体的原子[例如在 $\text{CH}_3\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n-$ 和 $\text{CH}_3(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n-$ 中的封端部分“甲氧基”]。此外,可以设想到以上物质各自的饱和、不饱和、取代以及未取代的形式。此外,该封端基团还可以是一种硅烷。该封端

基团还可以有利地包括一个可检出的标记物。当该聚合物具有包括一个可检出标记物的封端基团时,该聚合物所偶联至的聚合物和 / 或部分 (例如活化剂) 的量或位置可以使用合适的检测器来确定。此类标记物包括,但不限于:荧光增光剂、化学发光剂、在酶标记中所使用的部分、比色物 (例如染料)、金属离子、放射性部分、金颗粒、量子点以及类似物。合适的检测器包括光度计、膜、分光计以及类似物。该封端基团还可以有利地包括一种磷脂。当该聚合物具有一个包括一种磷脂的封端的基团时,赋予了该聚合物以及产生的共轭物多种独特的特性。示例性的磷脂包括但不限于选自称为磷脂酰胆碱的磷脂类别中的那些。具体的磷脂包括但不限于选自下组的那些,该组的构成为:二月桂酰磷脂酰胆碱、二油烯基磷脂酰胆碱、二棕榈酰磷脂酰胆碱、二硬脂酰磷脂酰胆碱、山嵛酰基磷脂酰胆碱、花生酰基磷脂酰胆碱以及卵磷脂。

[0048] 在此使用术语“靶向部分”来指帮助本发明的共轭物定位于一个靶向区域的一种分子结构,例如帮助进入、渗透或穿透一个细胞或结合一个受体。优选地,该靶向部分包括维生素、辅因子、抗体、抗原、受体、DNA、RNA、唾液酸化 Lewis X 抗原、透明质酸、糖类、细胞专一性凝集素、类固醇或类固醇衍生物、RGD 肽、细胞渗透或细胞靶向部分、细胞表面受体的配体、血清组分、或针对不同细胞内或细胞外受体的组合的分子。该靶向部分还可以包括一种类脂或一种磷脂。示例性的磷脂包括但不限于磷脂酰胆碱类、磷脂酰丝氨酸、磷脂酰肌醇、磷脂酰甘油以及磷脂酰乙醇胺。这些类脂可以处于微胶粒或脂质体以及类似物。该靶向部分可以包括一个可检出的标记物或替代地一个可检出的标记物可以作为一个靶向部分起作用。当该共轭物具有包括一个可检出标记物的靶向基团时,该聚合物所偶联的聚合物和 / 或部分 (例如活化剂) 的量和 / 或分布 / 位置可以使用合适的检测器来确定。此类标记物包括,但不限于荧光增光剂、化学发光剂、在酶标记中所使用的部分、比色物 (例如染料)、金属离子、放射性部分、金颗粒、量子点以及类似物。

[0049] 提到一种低聚物的几何形状或总体结构,“支化的”是指从一个分枝点上具有两个或多个聚合物“臂”的低聚物。

[0050] 对于一种低聚物的几何形状或总体结构“叉状的”是指具有两个或多个官能团从一个分枝点上延伸 (典型地通过一个或多个原子) 的低聚物。

[0051] 一个“分支点”是指包括一个或多个原子的一个分叉点,在该点上一种低聚物从一个直链结构上分枝或分叉成一个或多个另外的臂。

[0052] 术语“反应性的”或“活化的”是指一种官能团,它容易地或以一个实际的速度在常规的有机合成的条件下进行反应。这与不反应或要求强催化剂或不实际的反应条件下而进行反应 (即,“不反应的”或“惰性的”基团) 的那些基团不同。

[0053] 对于在一个反应混合物中存在的一种官能团,“不迅速反应的”表示该基团在对于在该反应混合物中产生一种所希望的反应有效的条件下仍然是大部分完整的。

[0054] “保护基”是防止或阻止分子中一个具体的化学反应性官能团在某一反应条件下的反应的一个部分。该保护基可以取决于受保护的化学反应基团的类型连同有待使用的反应条件以及在分子中存在的另外的反应性的或保护性基团而改变。可以受保护的官能团包括,作为举例:羧酸基团、氨基基团、羟基基团、硫醇基团、羰基基团以及类似物。针对羧酸的代表性保护基包括酯类 (例如一种对甲氧基苄基酯)、酰胺类以及酰肼类;对于氨基基团是氨基甲酸酯 (例如叔丁氧基羰基) 以及酰胺;对于羟基基团是醚类以及酯类;对于硫醇基

团是硫醚类以及硫酸酯类；对于羰基基团是缩醛类以及缩酮类；以及类似物。此类保护基对于本领域技术人员是已知的并且描述于，例如 T. W. Greene 和 G. M. Wuts, *Protecting Groups in Organic Synthesis*, Third Edition, Wiley, New York, 1999 中，并且通过引用结合在此。

[0055] 处于“保护形式”的官能团是指带有一个保护基团的一个官能团。如在此使用的，术语“官能团”或它们的任何同义词包括它们的受保护的形式。

[0056] 一个“生理学上可切割的”或“可水解的”或“可降解的”键是与水在生理学条件下进行反应（即，被水解）的一个相对不稳定的键。一个键在水中水解的倾向可以不仅取决于连接两个中心原子的连接的一般类型而且还取决于附接到这些中心原子上的取代基。适当的水解不稳定的或弱的连接包括但不限于羧酸酯、磷酸酯、酸酐、缩醛类、缩酮类、酰氧基烷基醚、亚胺类、原酸酯类、肽类、寡核苷酸类、硫代酯类、硫醚类以及碳酸酯类。

[0057] 一个“酶可降解的连接”是指经受一种或多种酶降解的一个连接。

[0058] 一个“稳定的”连接或键是指在水中基本上稳定的一个键，典型地是一个共价键，也就是说，经一个延长的时间段在生理学条件下不会经历任何可观程度的水解。水解稳定的连接的实例包括但不限于以下各项：碳-碳键（例如在一个脂肪链中）、醚类、酰胺类、氨基甲酸酯类、胺类以及类似物。总的来说，一个稳定的连接是在生理学条件下呈现出小于约 1% 至 2% / 天的水解速率的一种连接。代表性的化学键的水解速率可以在大多数标准的化学教科书中找到。

[0059] “基本上”或“实质上”意思是几乎全部地或完全地，例如 95% 或更高，更优选 97% 或更高，仍然更优选 98% 或更高，甚至更优选 99% 或更高，还仍然更优选 99.9% 或更高，其中 99.99% 或更高是所给出的一些量中最优选的。

[0060] “单分散”是指一种低聚物组合物，其中基本上该组合物中所有的低聚物都具有良好定义的单一的分子量以及定义的单体数目，如由色谱法或质谱法所确定的。单分散低聚物组合物在某种意义上是纯的，即，基本上具有一个单个的或可定义的数目（作为一个整数）的单体而不是一个大的分布。一种单分散低聚物组合物具有 1.0005 或更少的一个 MW/Mn 值，并且更优选 1.0000 的 MW/Mn。引申开来，包括单分散共轭物的一个组合物是指在组合物的所有共轭物中基本上所有低聚物都具有一个单一的并且可定义的数目（作为一个整数）的单体而不是一个大的分布并且具有的 MW/Mn 为 1.0005 并且更优选 MW/Mn 为 1.0000，（如果该低聚物没有附接到从一种小分子药物中衍生的部分）。然而包括单分散共轭物的一种组合物可以包括一种或多种不共轭的物质，例如溶剂、试剂、赋形剂等等。

[0061] 对于一种低聚物组合物，“双峰的”是指一种低聚物组合物，其中该组合物中基本上所有的低聚物都具有一种或两种可定义的并且不同数目（作为整数）的单体而不是一个大的分布，并且其分子量分布当作为对于分子量的分数作图时，显示出两个分开的可辨别的峰。优选地，对于在此描述的一种双峰低聚物组合物，每个峰总体上是对其平均值对称的，尽管这两个峰的大小可以不同。理想地，在双峰分布中每个峰的多分散性指数 Mw/Mn 是 1.01 或更小，更优选 1.001 或更小，并且甚至更优选 1.0005 或更小，并且最优选 Mw/Mn 值为 1.0000。引申开来，包括双峰共轭物的一个组合物的意思是基本上在组合物中的所有共轭物的所有低聚物具有一个或两个可定义并且不同数目（作为一个整数）的单体而不是一个大的分布并且具有 1.01 或更小的 Mw/Mn 值并且更优选 1.001 或更小的 Mw/Mn，并且甚至更

优选 1.0005 或更少,并且最优选 1.0000 的 MW/Mn 值(如果该低聚物未被附接到衍生自一种小分子药物的部分)。然而包括双峰共轭物的一种组合物可以包括一种或多种不共轭的物质,例如溶剂、试剂、赋形剂等等。

[0062] 一种“三环化合物”是指一种有机、无机或有机金属化合物,典型地具有小于约 1000 道尔顿的一个分子量并且具有如在此描述三环治疗剂的某种程度的活性。

[0063] 一种“生物膜”是由作为对至少某些外来实体或另外地所不希望的材料屏障起作用的细胞或组织组成的任何膜。如在此使用的,一种“双峰膜”包括与生理学保护屏障相连的那些膜,这些屏障包括例如:血脑屏障(BBB)、血-脑脊液屏障、血-胎盘屏障、血-乳屏障、血-睾丸屏障、以及粘膜屏障(包括阴道粘膜、尿道粘膜、肛门粘膜、口腔粘膜、舌下粘膜以及直肠粘膜)。-除非上下文中另外清楚地表述,否则术语“生物膜”不包括与中央胃肠道(例如胃以及小肠)相连的那些膜。

[0064] 一种“生物膜跨过速度”提供了一种化合物跨过一种生物膜(例如血脑屏障(BBB))的能力的一个量度。可以使用多种方法来评定一种分子跨过任何给定的生物膜的运输。评定与任何给定的生物屏障相关的生物膜跨过速度的方法(例如,血-脑脊液屏障、血-胎盘屏障、血-乳屏障、肠内屏障以及类似物)描述于此和/或在相关文献中和/或可以由本领域普通技术人员确定。

[0065] 对于本发明,一种“降低的代谢速度”是指一种水溶性的低聚物小分子药物共轭物的代谢速度相对于没有附接到水溶性低聚物(即,该小分子药物本身)或一个参比标准材料上的小分子药物的代谢速度的可测量的降低。在“降低的首过代谢速度”的具体情况下,要求同样的“降低的代谢速度”,除小分子药物(或参比标准材料)以及对应的共轭物是可口服之外。口服给药的药物通过胃肠道吸收到门脉循环中并且可以在达到大循环之前通过肝脏。因为肝脏是药物代谢或生物转化的主要位置,一个基本量的药物可以在其达到大循环之前进行代谢。首过代谢的程度,以及因此它们的任何降低,可以通过多种不同的方法进行测量。例如,动物血液样品可以按定时的间隔来收集并且通过液相色谱法/质谱法对血浆或血清分析代谢物水平。其他用于测量与首过代谢相关的“降低的代谢速度”的技术以及其他代谢过程是已知的,描述在此和/或相关的文献中,和/或可以由本领域普通技术人员测定。优选地,本发明的一种共轭物可以提供代谢降低的降低的速度,该速率满足以下值中的至少一个:至少约 30%;至少约 40%;至少约 50%;至少约 60%;至少约 70%;至少约 80%;以及至少约 90%。“口服生物可利用的”一种化合物(例如一种小分子药物或它的共轭物)是优选地当口服时具有大于 25%并且更优选大于 70%的生物利用率的一种化合物,其中一种化合物的生物利用率是以未代谢的形式达到大循环的所服用药物的分数。

[0066] “烷基”是指在长度上具有范围从约 1 至 20 个原子的烃链。此类烃链优选但并非必须是饱和的并且可以是支链的或直链的,尽管典型地直链是优选的。示例性的烷基基团包括甲基、乙基、丙基、丁基、戊基、2-甲基丁基、2-乙基丙基、3-甲基戊基以及类似物。如在此使用的,当涉及三个或多个碳原子时,“烷基”包括环烷基。

[0067] “低级烷基”是指包括从 1 至 6 个碳原子的烷基基团,并且可以是直链或支链的,如下例子:甲基、乙基、正丁基、异丁基、叔丁基。

[0068] “非干扰性取代基”是当在分子中存在时,与其他包含在该分子中的官能团是典型地非反应性的那些基团。

[0069] “烷氧基”是指一个 -O-R 基团,其中 R 是烷基或取代的烷基,优选 C₁-C₂₀ 烷基(例如甲氧基、乙氧基、丙氧基等),优选 C₁-C₇ 烷基。

[0070] “药学上可接受的赋形剂”或“药学上可接受的载体”是指可以在本发明的组合物中包括而不会引起对患者的显著不利的毒性作用的组分。

[0071] 术语“芳基”是指具有高达 14 个碳原子的芳香族基团。芳基包括苯基、萘基、联苯基、菲基、蒽基以及类似物。“取代的苯基”以及“取代的芳基”表示一个苯基基团以及芳基基团,它们相应地用一个、两个、三个、四个或五个((例如,1-2,1-3 或 1-4) 取代基来取代,这些取代基是选自卤素(F、Cl、Br、I)、羟基、氰基、硝基、烷基(例如 C₁₋₆ 烷基)、烷氧基(例如 C₁₋₆ 烷氧基)、苄氧基、羧基、芳基等等。

[0072] 对化学部分(chemical moieties)进行了定义并且贯穿全文主要是指单价的化学部分(例如烷基、芳基等)。尽管如此,此类术语在本领域的普通技术人员清楚的适当的结构情形下还用来传达对应的多价的部分。例如,尽管一个“烷基”部分总体上是指一个单价基团(例如,CH₃-CH₂-),在某些情形下,一个二价的连接部分可以是“烷基”,在这种情况下,本领域的普通技术人员会理解到,该烷基是一个二价基团(例如 -CH₂-CH₂-),它等效于术语“亚烷基”。(类似地,在其中要求一个二价部分并且作为“芳基”而说明的情形下,本领域的普通技术人员会理解到,术语“芳基”是指对应的多价部分,亚芳基)。所有原子都应理解为对于键的形成具有它们正常的化合价数(即,对于 H 为 1,对于碳为 4,对于 N 为 3,对于 O 为 2、并且对于 S 为 2、4 或 6,这取决于 S 的氧化态)。

[0073] “药理学上有效的量”、“生理学上有效的量”以及“治疗上有效的量”在此互换地使用,来指在血液或在靶组织中提供一个所希望水平的活性试剂和 / 或共轭物所需要的在一种组合物中存在的水溶性低聚物小分子药物共轭物的量。精确的量可以取决于多个因素,例如具体的活性试剂、组合物的组分以及物理特征、既定的患者群、患者的考虑因素,并且可以容易地由本领域的普通技术人员基于在此提供的以及在相关文献中可得的信息来确定。

[0074] 一种“双官能的”低聚物是其中(典型地在其端位)包括两个官能团的一种低聚物。当这些官能团相同时,则认为该低聚物是同双官能的。当这些官能团不同时,认为该低聚物是杂双官能的。

[0075] 在此描述的一种碱性反应物或一种酸性反应物包括中性的、带电荷的以及它们的任何对应的盐的形式。

[0076] 术语“患者”是指一位患有有一种可以通过给予在此描述的一种共轭物来防止或治疗的病症或有该病症的倾向的一个活生物体,并且包括人和动物两者。

[0077] “任选的”或“任选地”意思是随后描述的情形可以但是并非必须发生,这样该说明包括其中该情形发生的情况以及该情形不发生的情况。

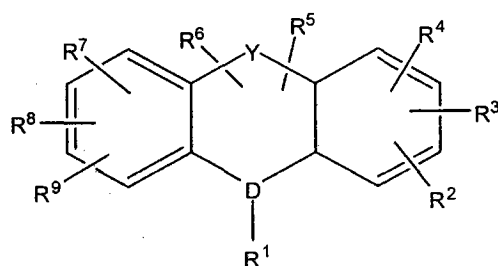
[0078] “零”表示缺失一个取代基。因此,当一个基团是零时,该取代基作为在所得结构中的一个化学键或氢在该结构中存在。

[0079] 如以上所说明的,本发明是针对(除其他之外)一种化合物,该化合物包括通过一个稳定的或可降解的连接共价地附接到一种水溶性、非肽的低聚物上的一个三环残基。

[0080] 在本发明的一个或多个实施方案中,提供了一种化合物,该化合物包括通过一个稳定的或可降解的连接共价地附接到一种水溶性、非肽的低聚物上的一个三环的残基:其

中该三环化合物具有以下化学式所包括的一种结构：

[0081]



化学式 I

[0082] 其中：

[0083] D 和 R¹ 作为整体是选自下组，其构成为： $-\text{HC}-\text{R}^1$ 、 $-\text{C}=\text{R}^1$ 、和 $-\text{HN}-\text{R}^1$

[0084] R¹ 是选自下组，其构成为：烷基、氨基、酰基氨基、酰基、酰氨基、芳氧基、烷氨基、具有 2 到 4 个碳原子（包括端值）的二烷氨基、哌啶基、吡咯烷基、N-(低级烷基)-2-哌啶基、吗啉基、1-哌嗪基、4-(低级烷基)-1-哌嗪基、4-(羟基-低级烷基)-1-哌嗪基、和 4-(甲氧基-低级烷基)-1-哌嗪基，它们是未取代的或任选地取代的；

[0085] Y 是选自下组，其构成为： $-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}=\text{CH}-$ ，

[0086] $-\text{CH}_2-\text{S}-$ 、 $\text{CH}_2-\text{O}-$ 、 $\text{CH}_2-\text{NH}-$ 、 $-\text{S}-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{O}-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{NH}-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{HN}-$ 、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{N}=\text{C}-$ 、 $-\text{C}=\text{N}-$ 、和 $-\text{S}-$ ，它们是未取代的或任选地取代的；并且

[0087] R²、R³、R⁴、R⁵、R⁶、R⁷、R⁸、R⁹ 中的一个或多个各自独立地选自下组，其构成为：零、氢、卤素、氰基、羟基、羧基、酮基、硫酮基、氨基、酰基氨基、酰基、酰氨基、芳氧基、烷基、链烯基、炔基、杂烷基、卤烷基、烷氧基、二氧基、芳基、杂芳基、环烷基、以及杂环烷基，它们是未取代的或任选地取代的。

[0088] 具体的三环化合物的实例包括选自下组的那些，该组的构成为：安咪奈丁、阿米替林、氧阿米替林、阿莫沙平、布替林、氯米帕明 (clomiprimine)、地美替林、地昔帕明、二苯西平、二甲他林、度硫平、多塞平、氟西嗪、丙米嗪、N-氧化丙米嗪、洛非帕明、美利曲辛、美他帕明、去甲替林、奥匹哌醇、丙吡西平、普罗替林、奎纽帕明、噻奈普汀、曲米帕明以及卡马西平。

[0089] 所相信的是，本发明的化合物的一个优点是它们保持某种程度的三环化合物活性而同时呈现出代谢降低的能力。尽管不希望受理论的限制，所相信的是在此描述的含三环残基以及低聚物的化合物（与无低聚物的“初始的”三环结构相比）是不那么迅速代谢的，因为低聚物作为降低化合物与可以代谢三环化合物的物质的总体亲和性而起作用。此外（并且再次地，不希望受理论的限制），由该低聚物引入的额外的大小，与无低聚物的“初始”三环结构相比，降低了该化合物跨过血脑屏障的能力。尽管在该三环化合物的残基与该低聚物之间的连接是可降解的，该化合物仍然提供了多个优点（例如避免初始吸收时的首过代谢）。

[0090] 使用不连续的低聚物（例如与相对不纯的组合物不同，来自低聚物的单分散或双峰组合物）来形成含低聚物的化合物可以有利地改变与对应的小分子药物相关的某些特性。例如，本发明的一种化合物当通过合适的给药途径（如肠胃外、口服、经皮的、口腔的、肺部的或鼻的途径）给药时呈现出降低的跨过血脑屏障的渗透。优选的是本发明的化合物

呈现出减缓的、最小的或实际上没有跨过该血脑屏障，而仍然跨过了胃肠 (GI) 的壁并且进入大循环中 (若既定的是口服递送的话)。此外，本发明的化合物与不含所有低聚物的化合物的生物活性以及生物利用率相比，保持了一定程度的生物活性连同生物利用率。

[0091] 对于血脑屏障 (“BBB”)，该屏障限制了药物自血液到脑的运输。该屏障由通过紧密连接而结合的独特的内皮细胞的一个连续层构成。包括大于 BBB 总表面积的 95% 的脑微血管代表大多数的溶质和药物进入中央神经系统的主要途径。

[0092] 对于其跨过血脑屏障能力的程度不是现成已知的化合物，此种能力可以使用一种合适的动物模型 (例如在此描述的原位大鼠脑灌注 (“RBP”) 模式) 来确定。简单地说，RBP 技术涉及颈动脉套管插入术，随后用一种化合物溶液在受控的条件下进行灌注，随后是一个洗涤阶段来除去在血管中余下的化合物。(此类分析可以例如由合同研究组织例如 Absorption Systems, Exton, PA 进行)。在 RBP 模式的一个实例中，将一个套管置于左侧颈动脉并且将侧枝进行结扎。在一个单向灌注实验中，将含有被分析物 (典型地但是并非必须以 5 微摩尔的浓度水平) 的一个生理缓冲液以约 10mL/ 分钟的流速进行灌注。30 秒之后，灌注停止并且将脑血管内含物用不含化合物的缓冲液洗掉，再持续 30 秒。然后将脑组织除去并且通过液相色谱法与串联质谱法检测来分析化合物浓度 (LC/MS/MS)。替代地，血脑屏障渗透性可以基于化合物的分子极性表面积 (“PSA”) 的计算来估计，它被定义为在一个分子中极性原子 (通常是氧、氮以及附接的氢) 的表面贡献的总数。PSA 已经显示出与化合物传输特性 (例如血脑屏障传输) 相关。确定化合物的 PSA 的方法可以在例如 Ertl, P., et al., J. Med. Chem. 2000, 43, 3714-3717; and Kelder, J., et al., Pharm. Res. 1999, 16, 1514-1519 中找到。

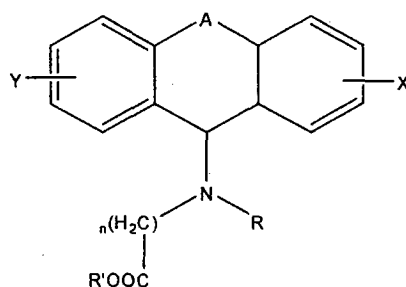
[0093] 对于血脑屏障，水溶性的非肽低聚物小分子药物共轭物呈现出一个血脑屏障跨过速度，该速度与没有附接到该水溶性的非肽低聚物上的小分子药物的跨过速度相比有所降低。当与没有附接到水溶性低聚物上的小分子药物的血脑屏障跨过速度相比时，对于在此描述的化合物的血脑屏障跨过速度中的示例性的降低包括以下降低：至少约 5%；至少约 10%；至少约 25%；至少约 30%；至少约 40%；至少约 50%；至少约 60%；至少约 70%；至少约 80%；或至少约 90%。对于本发明的共轭物的优选的血脑屏障跨过速度降低是至少约 20%。

[0094] 如以上所说明的，本发明的化合物包括一个三环残基。确定一种所给出的化合物 (不管该化合物是否包括一种水溶性的非肽的低聚物) 是否可以作为一种抗抑郁剂、抗惊厥药或作为一种镇痛剂起作用的测定在以下进行描述。

[0095] 对于在以下段落中所使用的关于化学式的变量、符号以及标号与其他段落不相关。因此，在每个段落中的符号以及标号的定义通常仅限于该段落并且除非另外说明，不应该用来解释其他段落。

[0096] 在本发明的一个或多个实施方案中，提供了一种化合物，该化合物包括通过一个稳定的或可降解的连接共价地附接到一种水溶性、非肽的低聚物上的一个三环的残基：其中该三环化合物具有由以下化学式所包括的一种结构：

[0097]



[0098] 其中：

[0099] A 是选自以下基团的一个桥： $-(\text{CH}_2)_m-$ 、和 $-\text{CH}=\text{CH}-$ ，其中：

[0100] m 是从 1 至 3（包括端值）的一个整数，

[0101] X 和 Y 是选自下组，其构成为氢以及卤素，该卤素选自氟、氯以及溴；

[0102] R 和 R' 是选自下组，其构成为：氢以及具有从一至五个（包括端值）碳原子的低级烷基；并且

[0103] n 是从 1 至 12（包括端值）的一个整数，

[0104] 在本发明的一个或多个实施方案中，提供了一种化合物，该化合物包括通过一个稳定的或可降解的连接共价地附接到一种水溶性、非肽的低聚物上的一个三环的残基：其中该三环化合物具有由以下化学式所包括的一种结构： $(3'-\text{二甲氨基亚丙基})-\text{二苯并}(a, d)-\text{环庚并}-1,4-\text{二烯 N-氧化物}$ 和或它们的盐酸加成盐。

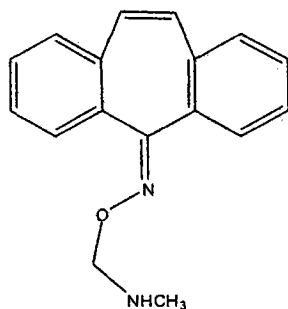
[0105] 在本发明的一个或多个实施方案中，提供了一种化合物，该化合物包括通过一个稳定的或可降解的连接共价地附接到一种水溶性、非肽的低聚物上的一个三环的残基：其中该三环化合物具有由以下化学式所包括的一种结构：选自下组的一个化学式，该组的构成为 $2-\text{氯}-11-(1-\text{哌嗪基})-\text{二苯并}(b, f)[1,4]-\text{氧}-\text{氮杂萘}$ 、 $2-\text{氯}-11-(1-\text{哌嗪基})-\text{二苯并}(b, f)[1,4]-\text{氧}-\text{氮杂萘}$ 盐酸盐、 $2-\text{氯}-11-(1-\text{哌嗪基})-\text{二苯并}(b, f)[1,4]-\text{氧}-\text{氮杂萘}$ 富马酸盐、 $2-\text{氯}-11-(1-\text{哌嗪基})-\text{二苯并}(b, f)[1,4]-\text{氧}-\text{氮杂萘}$ 硫酸盐、和 $2-\text{氯}-11-(1-\text{哌嗪基})-\text{二苯并}(b, f)[1,4]-\text{氧}-\text{氮杂萘}$ 二庚酸盐。

[0106] 在本发明的一个或多个实施方案中，提供了一种化合物，该化合物包括通过一个稳定的或可降解的连接共价地附接到一种水溶性、非肽的低聚物上的一个三环的残基：其中该三环化合物具有由以下化学式所包括的一种结构： $5-(3'-\text{二甲氨基}-2'-\text{甲基丙基})-\text{二苯并}[a, d][1,4]-\text{环庚二烯}$ 。

[0107] 在本发明的一个或多个实施方案中，提供了一种化合物，该化合物包括通过一个稳定的或可降解的连接共价地附接到一种水溶性、非肽的低聚物上的一个三环的残基：其中该三环化合物具有由以下化学式所包括的一种结构：选自下组的一个化学式，该组的构成为： $3-\text{氯}-5-(\gamma-\text{二甲基氨基}-\text{丙基})-\text{亚氨基二苄}$ 、 $3-\text{氯}-5-(\gamma-\text{二甲基氨基}-\text{丙基})-\text{亚氨基二苄}$ 的一种药学上可接受的酸加成盐、和 $3-\text{氯}-5-(\gamma-\text{二甲基氨基}-\text{丙基})-\text{亚氨基二苄}$ 盐酸盐。

[0108] 在本发明的一个或多个实施方案中，提供了一种化合物，该化合物包括通过一个稳定的或可降解的连接共价地附接到一种水溶性、非肽的低聚物上的一个三环的残基：其中该三环化合物具有由以下化学式所包括的一种结构：选自下组的一个化学式，该组的构成为

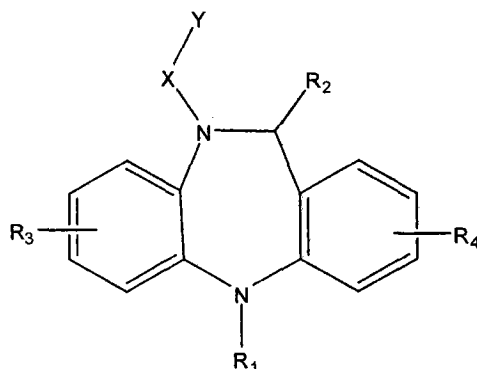
[0109]



[0110] 在本发明的一个或多个实施方案中,提供了一种化合物,该化合物包括通过一个稳定的或可降解的连接共价地附接到一种水溶性、非肽的低聚物上的一个三环的残基:其中该三环化合物具有由以下化学式所包括的一种结构:选自下组的一个化学式,该组的构成为5-(γ -甲氨基-丙基)-亚氨基二苄以及它的无毒的加成盐类,N-(3-甲氨基丙基)-亚氨基二苄,以及N-(3-甲氨基丙基)-亚氨基二苄盐酸盐。

[0111] 在本发明的一个或多个实施方案中,提供了一种化合物,该化合物包括通过一个稳定的或可降解的连接共价地附接到一种水溶性、非肽的低聚物上的一个三环的残基:其中该三环化合物是选自下组的一种化合物,该组的构成为具有以下化学式的10-(碱性取代的)-10,11-二氢-5H-二苯并[b,e][1,4]二氮杂革:

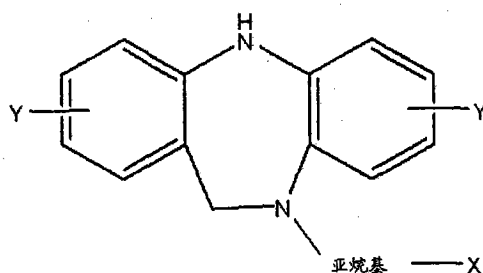
[0112]



[0113] 其中X代表具有2和3之间(包括端值)的碳原子的亚烷基;Y是构成如下的类别中的一员:具有2和4之间(包括端值)的碳原子的二烷基氨基、吡咯烷基、哌啶基、以及吗啉基; R_1 和 R_2 可互换地代表构成如下的类别中的一员:氢、甲基、以及乙基;并且 R_3 和 R_4 可互换地代表构成如下的类别中的一员:氢、氯、甲基、乙基、甲氧基、以及乙氧基。

[0114] 在本发明的一个或多个实施方案中,提供了一种化合物,该化合物包括通过一个稳定的或可降解的连接共价地附接到一种水溶性、非肽的低聚物上的一个三环的残基:其中该三环残基选自具有以下化学式的化合物所构成的组:

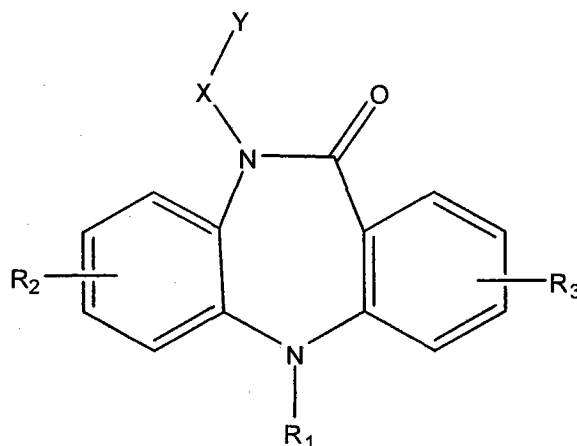
[0115]



[0116] 其中亚烷基具有 2 至 4 个（包括端值）碳，并且至少两个碳将 X 与该杂环的核分开；X 是选自下组，其构成为：2 至 4 个碳的二烷基氨基、吡咯烷基、哌啶基以及吗啉基；并且每个 Y 独立地选自下组，其构成为：氢、氯、甲基、甲氧基以及乙氧基。

[0117] 在本发明的一个或多个实施方案中，提供了一种化合物，该化合物包括通过一个稳定的或可降解的连接共价地附接到一种水溶性、非肽的低聚物上的一个三环的残基：其中该三环化合物是选自下组的一种化合物，该组的构成为：具有以下化学式的取代的 5H-二苯并 [b, e][1,4] 二氮杂~~草~~衍生物：

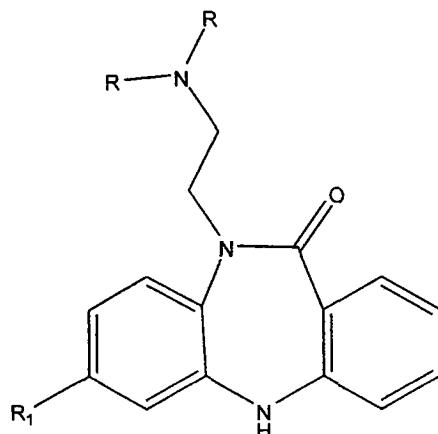
[0118]



[0119] 其中 R₁ 是选自由氢、甲基以及乙基构成的类别；-X-Y 是一个碱性基团，其中 X 是含有 2 和 3 之间（包括端值）的碳原子的烃链，并且 Y 是选自以下类别，其构成为：具有 2 和 4 之间（包括端值）的碳原子的二烷基氨基、哌啶基、吡咯烷基、N-(低级烷基)-2-哌啶基、吗啉基、1-哌嗪基、4-(低级烷基)-1-哌嗪基、4-(羟基-低级烷基)-1-哌嗪基、和 4-(甲氧基-低级烷基)-1-哌嗪基并且 R₂ 和 R₃ 是选自以下类别，其构成为：氢、氯、甲基、乙基、甲氧基、乙氧基、三氟甲基、甲基巯基、以及乙基巯基。

[0120] 在本发明的一个或多个实施方案中，提供了一种化合物，该化合物包括通过一个稳定的或可降解的连接共价地附接到一种水溶性、非肽的低聚物上的一个三环的残基：其中该三环化合物具有由以下化学式所包括的一种结构：

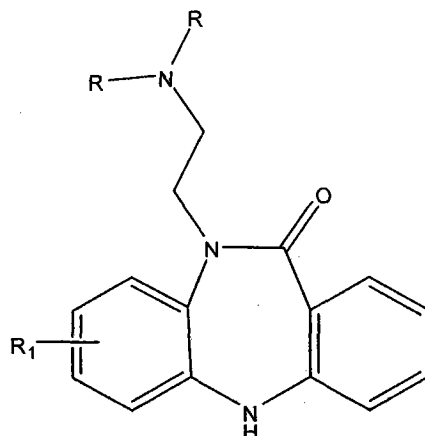
[0121]



[0122] 其中 R 是选自 CH_3 和 C_2H_5 构成的组的一员, 并且 R_1 是选自下组的一员, 该组的构成为 Cl 、 CH_3 、 CF_3 、和 C_2H_5 。

[0123] 在本发明的一个或多个实施方案中, 提供了一种化合物, 该化合物包括通过一个稳定的或可降解的连接共价地附接到一种水溶性、非肽的低聚物上的一个三环的残基: 其中该三环化合物具有由以下化学式所包括的一种结构:

[0124]

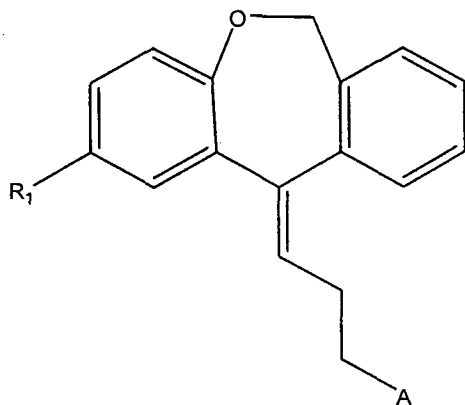


[0125] 其中 R 是选自 CH_3 和 C_2H_5 构成的组的一员, 并且 R_1 是选自下组的一员, 该组的构成为 H 、 Cl 、 CH_3 、 CF_3 、和 C_2H_5 。

[0126] 在本发明的一个或多个实施方案中, 提供了一种化合物, 该化合物包括通过一个稳定的或可降解的连接共价地附接到一种水溶性、非肽的低聚物上的一个三环的残基: 其中该三环化合物具有由以下化学式所包括的一种结构: 11-(3-二甲氨基亚丙基)-6,11-二氢-二苯并-(b, e) 噻庚英。

[0127] 在本发明的一个或多个实施方案中, 提供了一种化合物, 该化合物包括通过一个稳定的或可降解的连接共价地附接到一种水溶性、非肽的低聚物上的一个三环的残基: 其中该三环化合物具有由以下化学式所包括的一种结构:

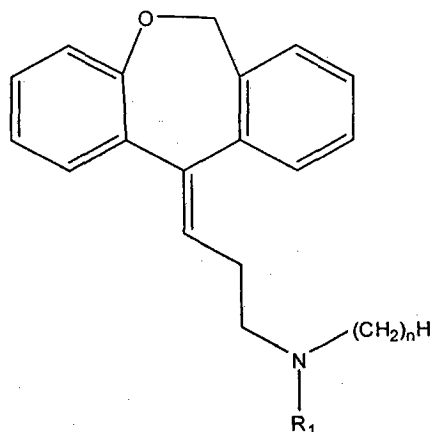
[0128]



[0129] R_1 是选自下组的一员, 该组的构成为氢以及卤素并且 A 是 4-(β 羟乙基 - 哌啶基)。

[0130] 在本发明的一个或多个实施方案中, 提供了一种化合物, 该化合物包括通过一个稳定的或可降解的连接共价地附接到一种水溶性、非肽的低聚物上的一个三环的残基: 其中该三环化合物具有由以下化学式所包括的一种结构:

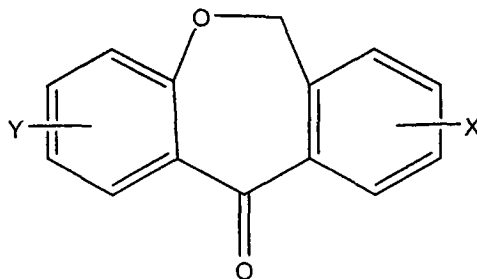
[0131]



[0132] 其中 n 是从 0 至 1 的整数并且 R_1 是具有从 1 至 4 个碳原子的烷基。

[0133] 在本发明的一个或多个实施方案中, 提供了一种化合物, 该化合物包括通过一个稳定的或可降解的连接共价地附接到一种水溶性、非肽的低聚物上的一个三环的残基: 其中该三环化合物具有由以下化学式所包括的一种结构:

[0134]

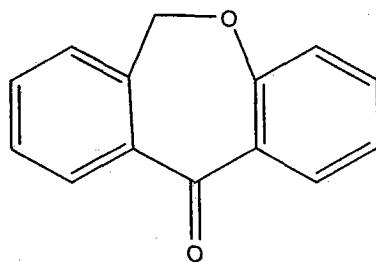


[0135] 其中 X 和 Y 各自独立地选自下组, 其构成为: 氢、具有从 1 至 4 个碳原子的烷基、具有从 1 至 4 个碳原子的烷氧基、具有从 1 至 4 个碳原子的硫代烷氧基、氯、氟、三氟甲基、具有从 1 至 4 个碳原子的酰基以及具有从 1 至 8 个碳原子的二烷基亚磺酰氨基。

[0136] 在本发明的一个或多个实施方案中, 提供了一种化合物, 该化合物包括通过一个

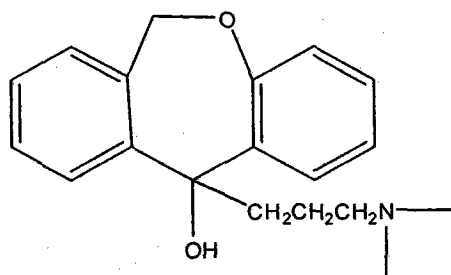
稳定的或可降解的连接共价地附接到一种水溶性、非肽的低聚物上的一个三环的残基：其中该三环化合物具有由以下化学式所包括的一种结构：

[0137]



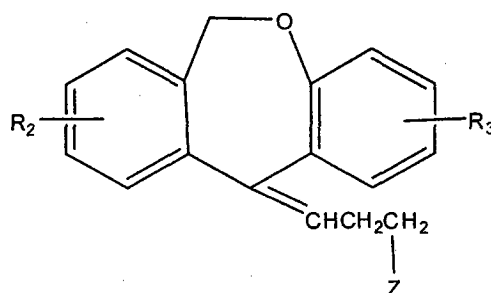
[0138] 在本发明的一个或多个实施方案中，提供了一种化合物，该化合物包括通过一个稳定的或可降解的连接共价地附接到一种水溶性、非肽的低聚物上的一个三环的残基：其中该三环化合物具有由以下化学式所包括的一种结构：

[0139]



[0140] 在本发明的一个或多个实施方案中，提供了一种化合物，该化合物包括通过一个稳定的或可降解的连接共价地附接到一种水溶性、非肽的低聚物上的一个三环的残基：其中该三环化合物具有由以下化学式所包括的一种结构：

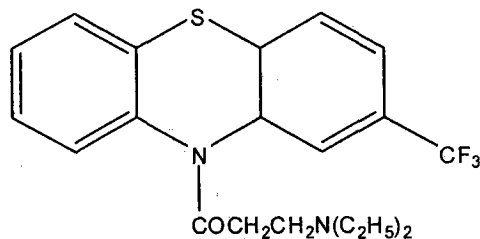
[0141]



[0142] 其中 R_2 和 R_3 各自是选自下组的一员，该组的构成为氢、氟、氯、低级烷基、低级烷氧基、低级烷硫基、以及三氟甲基并且 Z 是一个二-低级-烷氨基。

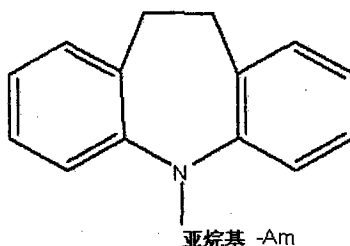
[0143] 在本发明的一个或多个实施方案中，提供了一种化合物，该化合物包括通过一个稳定的或可降解的连接共价地附接到一种水溶性、非肽的低聚物上的一个三环的残基：其中该三环化合物具有由以下化学式所包括的一种结构：

[0144]



[0145] 在本发明的一个或多个实施方案中,提供了一种化合物,该化合物包括通过一个稳定的或可降解的连接共价地附接到一种水溶性、非肽的低聚物上的一个三环的残基:其中该三环化合物是选自下组,其构成为:一种游离碱以及其水溶性酸加成盐,所述游离碱具有以下化学式:

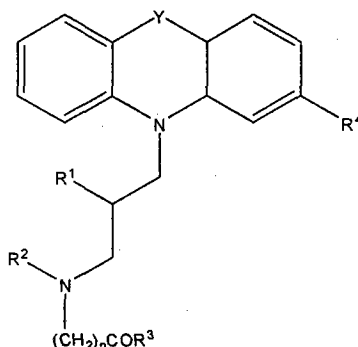
[0146]



[0147] 其中亚烷基代表具有 2-3 个碳原子的一个亚烷基链并且 Am 代表选自下组的一员,该组的构成为:一个低分子二烷基氨基基团、N-哌啶基-、N-吗啉基-、和 N-吡咯烷基的基团。

[0148] 在本发明的一个或多个实施方案中,提供了一种化合物,该化合物包括通过一个稳定的或可降解的连接共价地附接到一种水溶性、非肽的低聚物上的一个三环的残基:其中该三环化合物具有由以下化学式所包括的一种结构:

[0149]



[0150] Y 是选自下组,其构成为: $\text{CH}_2\text{-CH}_2$ 和 $\text{CH}=\text{CH}$;

[0151] R^1 是选自下组,其构成为: H 和 CH_3 ;

[0152] R^2 代表具有最大 4 个碳原子的一个烷基基团;

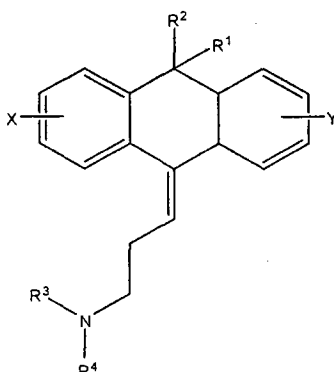
[0153] n 是选自下组,其构成为: 1、2、和 3;

[0154] R^3 是选自下组,其构成为: 苯基以及被最多三个取代基取代的苯基,这些取代基选自下组,其构成为: F 、 Cl 、 OH 、 CF_3 , 连同含有最多 4 个碳原子的烷基和烷氧基; 以及在 3,4-位上具有一个取代基的一个苯基基团,该取代基选自下组,其构成为: 亚烷基二氧基(具有最多 6 个碳原子)、环烷基二氧基(具有最多 6 个碳原子)以及乙二氧基;

[0155] R^4 是选自下组,其构成为: H 、 F 、 Cl 、 OCH_3 、 CF_3 、和 $\text{SO}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 。

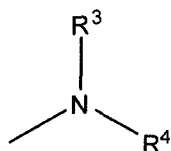
[0156] 在本发明的一个或多个实施方案中,提供了一种化合物,该化合物包括通过一个稳定的或可降解的连接共价地附接到一种水溶性、非肽的低聚物上的一个三环的残基:其中该三环化合物具有由以下化学式所包括的一种结构:

[0157]



[0158] 其中 R¹ 和 R² 各自是一个低级烷基基团;X 是选自下组,其构成为:氢、卤素、低级烷基以及低级烷氧基;Y 是选自下组,其构成为氢和卤素;并且

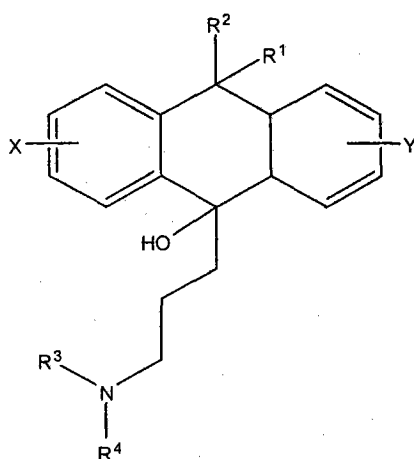
[0159]



[0160] 是选自下组,其构成为:二-低级-烷基氨基、苄基-低级-烷基氨基、以及杂环胺的基团,所述杂环胺是选自下组,其构成为:吡咯烷、哌啶、吗啉、硫代吗啉、N¹-低级-烷基哌啶、以及上述各项的 C-低级烷基衍生物。

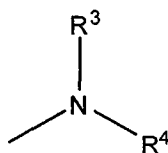
[0161] 在本发明的一个或多个实施方案中,提供了一种化合物,该化合物包括通过一个稳定的或可降解的连接共价地附接到一种水溶性、非肽的低聚物上的一个三环的残基:其中该三环化合物具有由以下化学式所包括的一种结构:

[0162]



[0163] 其中 R¹ 和 R² 各自是一个低级烷基基团;X 是选自下组,其构成为:氢、卤素、低级烷基以及低级烷氧基;Y 是选自下组,其构成为氢和卤素;并且

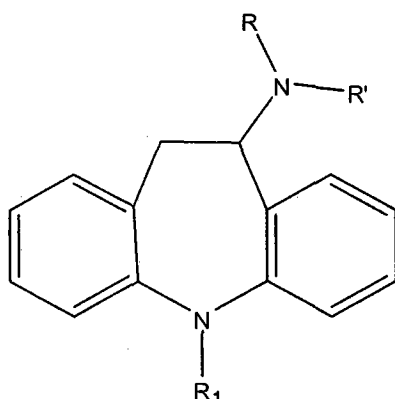
[0164]



[0165] 是选自下组,其构成为:二-低级-烷基-苄基-低级-烷基-以及具有一个饱和的五元环的一个杂环胺的基团,具有一个饱和的六元环的一个杂环胺的基团,所述杂环胺是选自下组,其构成为:吡咯烷、哌啶、吗啉、硫代吗啉、N¹-低级烷基哌嗪、以及上述各项的C-低级烷基衍生物。

[0166] 在本发明的一个或多个实施方案中,提供了一种化合物,该化合物包括通过一个稳定的或可降解的连接共价地附接到一种水溶性、非肽的低聚物上的一个三环的残基:其中该三环化合物具有以下化学式:

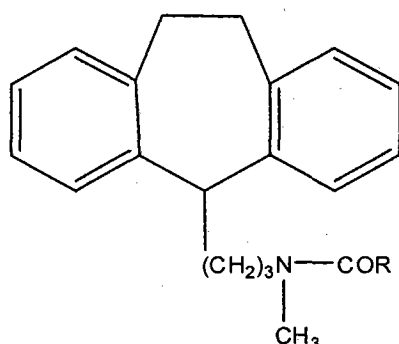
[0167]



[0168] 其中 R 和 R' 是相同或不同的并且各自代表氢或具有一至五个碳原子的烷基,并且 R₁ 是氢、具有一至五个碳原子的烷基、或苄基。

[0169] 在本发明的一个或多个实施方案中,提供了一种化合物,该化合物包括通过一个稳定的或可降解的连接共价地附接到一种水溶性、非肽的低聚物上的一个三环的残基:其中该三环化合物具有以下化学式:

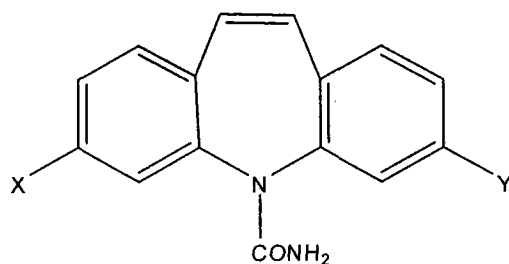
[0170]



[0171] 其中 R 是选自下组,其构成为:氢、低级烷基、苯基以及苄基。

[0172] 在本发明的一个或多个实施方案中,提供了一种化合物,该化合物包括通过一个稳定的或可降解的连接共价地附接到一种水溶性、非肽的低聚物上的一个三环的残基:其中该三环化合物具有以下化学式:

[0173]



[0174] 其中 X 和 Y 各自代表选自下组的一员,该组的构成为氢以及卤素。

[0175] 在一些例子中,三环化合物可以自商业来源获得。此外,三环化合物可以通过化学合成得到。三环化合物的实例连同用于制备三环化合物的方法描述于以下文献中,并且在例如 DE2030492A1、DE2030492A、DE2030492B2、DE2030492C3、GB1191800A、US2554736、US2948718、US3177209、US3205264、US3244748、US3271451、US3299139、US3312689、US3409640、US3419547、US3438981、US3442949、US3454554、US3467650、US3527766、US3574852、US3622565、US3637660、US3663696、US3758528、US3963778 中。这些(以及其他)三环化合物各自可以共价地附接到(或者直接地或者通过一个或多个原子)一种水溶性的并且非肽的低聚物上。

[0176] 小分子药物的示例性的分子量包括以下分子量:小于约 950;小于约 900;小于约 850;小于约 800;小于约 750;小于约 700;小于约 650;小于约 600;小于约 550;小于约 500;小于约 450;小于约 400;小于约 350;以及小于约 300。

[0177] 在本发明中使用的小分子药物若是手性的话可以是处于一种消旋混合物或任选地活化的形式,例如一种单旋光的对映异构体或任何组合或比率的对映异构体(即,非消旋(scalemic)混合物)。此外,该小分子药物可以具有一种或多种几何异构体。关于几何异构体,一种组合物可以包括一种单几何异构体或两种或多种几何异构体的一种混合物。用在本发明中的一种小分子药物可以处于常规的活性形式或可以具有某种程度的改性。例如,一种小分子药物可以在共价地附接到一种低聚物上之前或之后具有附接到其上的一种靶向剂、标签或转载蛋白。作为替代方案,该小分子药物可以具有附接到其上的一个亲脂性部分,例如一个磷脂(例如,二硬脂酰磷脂酰乙醇胺或“DSPE”、二棕榈酰磷脂酰乙醇胺或“DPPE”,等等)或一种小的脂肪酸。然而,在某些情况下,优选的是该小分子药物部分不包括到一个亲脂性部分上的附接。偶联到一种水溶性、非肽的低聚物上的三环化合物具有适合于共价地附接到低聚物上的一个游离的羟基、羧基、硫、氨基的基团、或类似物(即,“手柄”)。此外,该三环化合物可以通过引入一个反应性基团进行改性,优选地通过将其所存在的官能团中的一个转化为一个适合于在该低聚物 and 该药物之间形成稳定的共价连接的官能团。两种方法均在实验部分进行说明。

[0178] 因此,每种低聚物包括高达三种不同的单体类型,这些类型选自下组,其构成为:氧化烯,例如氧化乙烯或氧化丙烯;烯醇,例如乙烯醇、1-丙烯醇或 2-丙烯醇;乙烯基吡咯烷酮,羟烷基甲基丙烯酰胺或甲基丙烯酸羟烷酯,其中烷基优选是甲基、 α -羟酸,例如乳酸或乙醇酸;磷腈、噁唑啉、氨基酸、碳水化合物类,如单糖、糖醇,如甘露醇;以及 N-丙烯酰吗啉。优选的单体类型包括氧化烯、烯醇、羟烷基甲基丙烯酰胺或甲基丙烯酸酯、N-丙烯酰吗啉以及 α -羟酸。优选地,每种低聚物独立地是两种选自该组的单体类型的一个共低聚物,或更优选是选自该组的单体类型的一种均-低聚物。

[0179] 在一个共-低聚物中的两种单体类型可以是相同的单体类型,例如两种氧化烯,例如氧化乙烯和氧化丙烯。优选地,该低聚物是氧化乙烯的一种共-低聚物。通常,尽管并非必须的,没有共价地附接到一种小分子上的低聚物的这个或这些末端被帽化以使其呈非反应性的。作为替代方案,该末端可以包括一个反应性基团。当该末端是一个反应性基团时,该反应性基团被选择为使得它在最终低聚物形成的条件下或在低聚物共价地附接到小分子药物上的过程中是非反应性的,或者必要时将它加以保护。一种常见的端基官能团是羟基或-OH(特别是对于低聚氧化烯而言)。

[0180] 该水溶性、非肽的低聚物(例如在此提供的处于不同结构的“POLY”)可以具有任何数目的不同几何形状。例如,该水溶性、非肽的低聚物可以是直链的、支链的或叉状的。最典型地,该水溶性、非肽的低聚物是直链的或是支链的,例如具有一个分枝点。尽管在此多数讨论是集中于聚(氧化烯)作为一种例证性的低聚物,但是在此呈现的讨论和结构可以容易地延伸到包括以上描述的任何水溶性、非肽的低聚物。

[0181] 该水溶性、非肽的低聚物的分子量(排除连接物部分)总体上是相对低的。该水溶性聚合物的分子量的示例性值包括:低于约1500;低于约1450;低于约1400;低于约1350;低于约1300;低于约1250;低于约1200;低于约1150;低于约1100;低于约1050;低于约1000;低于约950;低于约900;低于约850;低于约800;低于约750;低于约700;低于约650;低于约600;低于约550;低于约500;低于约450;低于约400;低于约350;低于约300;低于约250;低于约200;以及低于约100道尔顿。

[0182] 水溶性、非肽的低聚物(排除连接物)的分子量的示例性范围包括:从约100至约1400道尔顿;从约100至约1200道尔顿;从约100至约800道尔顿;从约100至约500道尔顿;从约100至约400道尔顿;从约200至约500道尔顿;从约200至约400道尔顿;从约75至1000道尔顿;以及从约75至约750道尔顿。

[0183] 优选地,在水溶性、非肽的低聚物中的单体的数目落入以下范围中的一个或多个之内:在约1和约30之间(包括端值);在约1和约25之间;在约1和约20之间;在约1和约15之间;在约1和约12之间;在约1和约10之间。在某些情况下,在该低聚物(以及对应的共轭物)中的串联的单体数目是1、2、3、4、5、6、7、或8之一。在另外的实施方案中,该低聚物(以及对应的共轭物)包括9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、或20个单体。在还有另外的实施方案中,该低聚物(以及对应的共轭物)具有21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个串联的单体。因此,例如当该水溶性的并且非肽的聚合物包括 $\text{CH}_3-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n-$ 时,“n”是一个整数,它可以是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30,并且可以落入以下一个或多个范围之内:在约1和约25之间;在约1和约20之间;在约1和约15之间;在约1和约12之间;在约1和约10之间。

[0184] 当该水溶性、非肽的低聚物具有1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个单体时,它们的值对应一个甲氧基封端的低聚(氧化烯),它们分别具有约75、119、163、207、251、295、339、383、427、和471道尔顿的分子量。当该低聚物具有11、12、13、14、or 15个单体时,这些值所对应的甲氧基封端的低聚(氧化烯)具有对应于约515、559、603、647、和691道尔顿的分子量。

[0185] 当该水溶性、非肽的低聚物附接到该三环化合物(与分步加入一种或多种以在该

三环化合物上有效地使低聚物“生长”不同), 优选的是该含有一种被活化的形式的水溶性、非肽的低聚物的组合物是单分散的。然而在那些情况下, 其中在使用一种双峰组合物时, 该组合物会具有以任何两个以上数目的单体为中心的一个双峰分布。例如, 一种双峰低聚物可以具有以下示例性的单体亚单元组合中的任何一种: 1-2、1-3、1-4、1-5、1-6、1-7、1-8、1-9、1-10、等等; 2-3、2-4、2-5、2-6、2-7、2-8、2-9、2-10、等等; 3-4、3-5、3-6、3-7、3-8、3-9、3-10、等等; 4-5、4-6、4-7、4-8、4-9、4-10、等等; 5-6、5-7、5-8、5-9、5-10、等等; 6-7、6-8、6-9、6-10、等等; 7-8、7-9、7-10、等等; 以及 8-9、8-10、等等。

[0186] 在一些情况下, 包括一种活化形式的水溶性、非肽的低聚物的组合物是三峰或者是四峰的, 具有如上所描述的一系列单体单元。具有良好定义的低聚物混合物的低聚物组合物(即, 双峰的、三峰的、四峰的, 等等)可以通过混合纯化的单分散低聚来制备以获得所希望特征曲线的低聚物(仅在单体数目上不同的两种低聚物的一个混合物是双峰的; 仅在单体数目上不同的三种低聚物的一个混合物是三峰的; 仅在单体数目上不同的四种低聚物的一个混合物是四峰的)或替代地, 可以从一种多分散低聚物的柱色谱法通过回收“中间部分”来获得, 以便以一个所希望的并且定义的分子量范围获得低聚物的一个混合物。

[0187] 优选的是该水溶性、非肽的低聚物从优选是单分子或单分散的一种组合物中获得。即, 在该组合物中的低聚物具有同样不连续的分子量的值而不是分子量的分布。一些单分散低聚物可以从商业来源购买, 例如自 Sigma-Aldrich 可得的那些, 或者可替代地, 可以直接从可商购的起始材料例如 Sigma-Aldrich 制备。水溶性、非肽的低聚物可以如以下描述的来制备: Chen Y., Baker, G. L., J. Org. Chem., 6870-6873 (1999), WO 02/098949, and U. S. Patent Application Publication 2005/0136031。

[0188] 当存在时, 该间隔基部分(通过它将水溶性的、非肽聚合物附接到三环化合物上)可以是一个单键、一个单个原子, 例如一个氧原子或一个硫原子, 两个原子或多个原子。一个间隔基部分在性质上典型地但是并非必须是直链的。该间隔基部分“X”是水解稳定的, 并且还优选地是酶稳定的。优选地, 该间隔基“X”是具有的链长度小于约 12 个原子, 优选小于约 10 个原子, 并且甚至更优选小于约 8 个原子并且甚至更优选小于约 5 个原子的一个部分, 其中长度是指在一个单链中原子的数目, 不计算取代基。例如, 一个脲连接例如 $R_{\text{低聚物}}-\text{NH}-(\text{C}=\text{O})-\text{NH}-R'_{\text{药物}}$, 被认为是具有 3 个原子的链长 $(-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-\text{NH}-)$ 。在所选择的实施方案中, 该连接不包括另外的间隔基。

[0189] 在一些情况下, 该间隔基部分“X”包括醚、酰胺、氨基甲酸酯、酰胺、硫醚、脲或一个碳碳键。典型地使用如以下所讨论和说明的那些官能团来形成这些连接。该间隔基部分还可以较为不优选地包括其他原子(或是与其邻近的或是在其侧面), 如另外在以下所描述。

[0190] 更确切地说, 在所选择的实施方案中, 本发明的间隔基部分 X 可以是以下各项中的任何一个: “-”(即, 在该三环的残基以及该水溶性、非肽的低聚物之间的一个共价键, 它可以是稳定的或可降解的)、-O-、-NH-、-S-、-C(O)-、-C(O)O-、-OC(O)-、-CH₂-C(O)O-、-CH₂-OC(O)-、-C(O)O-CH₂-、-OC(O)-CH₂-、C(O)-NH、NH-C(O)-NH、O-C(O)-NH、-C(S)-、-CH₂-、-CH₂-CH₂-、-CH₂-CH₂-CH₂-、-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-、-O-CH₂-、-CH₂-O-、-O-CH₂-CH₂-、-CH₂-O-CH₂-、-C(H₂)-CH₂-O-、-O-CH₂-CH₂-CH₂-、-CH₂-O-CH₂-CH₂-、-CH₂-CH₂-O-CH₂-、-CH₂-CH₂-CH₂-O-、-O-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-、-CH₂-O-CH₂-CH₂-CH₂-、-CH₂-CH₂-O-CH₂-CH₂-、-CH₂-CH₂-CH₂-O-CH₂-、-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-

$O-$ 、 $-C(O)-NH-CH_2-$ 、 $-C(O)-NH-CH_2-CH_2-$ 、 $-CH_2-C(O)-NH-CH_2-$ 、 $-CH_2-CH_2-C(O)-NH-$ 、 $-C(O)-NH-CH_2-CH_2-CH_2-$ 、 $-CH_2-C(O)-NH-CH_2-CH_2-$ 、 $-CH_2-CH_2-C(O)-NH-CH_2-$ 、 $-CH_2-CH_2-CH_2-C(O)-NH-$ 、 $-C(O)-NH-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-$ 、 $-CH_2-C(O)-NH-CH_2-CH_2-CH_2-$ 、 $-CH_2-CH_2-C(O)-NH-CH_2-CH_2-$ 、 $-CH_2-CH_2-CH_2-C(O)-NH-CH_2-$ 、 $-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-C(O)-NH-CH_2-$ 、 $-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-C(O)-NH-$ 、 $-NH-C(O)-CH_2-$ 、 $-CH_2-NH-C(O)-CH_2-$ 、 $-CH_2-CH_2-NH-C(O)-CH_2-$ 、 $-NH-C(O)-CH_2-CH_2-$ 、 $-CH_2-NH-C(O)-CH_2-CH_2-$ 、 $-C(O)-NH-CH_2-$ 、 $-C(O)-NH-CH_2-CH_2-$ 、 $-O-C(O)-NH-CH_2-$ 、 $-O-C(O)-NH-CH_2-CH_2-$ 、 $-NH-CH_2-$ 、 $-NH-CH_2-CH_2-$ 、 $-CH_2-NH-CH_2-$ 、 $-CH_2-CH_2-NH-CH_2-$ 、 $-C(O)-CH_2-$ 、 $-C(O)-CH_2-CH_2-$ 、 $-CH_2-C(O)-CH_2-$ 、 $-CH_2-CH_2-C(O)-CH_2-$ 、 $-CH_2-CH_2-C(O)-$ 、 $-CH_2-CH_2-CH_2-C(O)-NH-CH_2-CH_2-NH-$ 、 $-CH_2-CH_2-CH_2-C(O)-NH-CH_2-CH_2-NH-C(O)-$ 、 $-CH_2-CH_2-CH_2-C(O)-NH-CH_2-CH_2-NH-C(O)-CH_2-$ 、二价的环烷基、 $-N(R^6)-$ ， R^6 是 H 或一个有机基团，该基团选自下组，其构成为：烷基、取代的烷基、链烯基、取代的链烯基、炔基、取代的炔基、芳基以及取代的芳基。另外的间隔基部分包括酰基氨基、酰基、芳氧基、含有在 1 和 5 之间（包括端值）的碳原子的亚烷基桥、烷氨基、具有约 2 至 4 个（包括端值）的碳原子的二烷氨基、哌啶基、吡咯烷基、N-(低级烷基)-2-哌啶基、吗啉基、1-哌嗪基、4-(低级烷基)-1-哌嗪基、4-(羟基-低级烷基)-1-哌嗪基、和 4-(甲氧基-低级烷基)-1-哌嗪基。

[0191] 然而为了本发明的目的，一个原子团当它直接与一个低聚物区段相邻时不应认为是一个连接，并且该原子团是与该低聚物的一个单体相同的，这样该基团将仅仅代表该低聚物链的一个延伸。

[0192] 在该水溶性、非肽的低聚物与该小分子之间的连接“X”典型地是通过在该低聚物的末端的一个官能团（或当希望该低聚物“生长到”该三环化合物上时新生的低聚物）与在该三环化合物中的一个对应的官能团进行反应而形成的。说明性的反应简要地描述如下。例如，低聚物上的一个氨基基团可以与小分子上的一个羧酸或一个活化的羧酸衍生物（或者反之亦然）进行反应来产生一个酰胺连接。可替代地，在低聚物上的一种胺与药物上的一个活化的碳酸酯（例如琥珀酰亚胺基或苯并三唑基的碳酸酯）或反之亦然的反应形成了一种氨基甲酸酯连接。低聚物上的一个胺与药物上的一个异氰酸酯（ $R-N=C=O$ ）的反应（或反之亦然）形成了一个脲连接（ $R-NH-(C=O)-NH-R'$ ）。此外，低聚物上的一个醇（烷氧化物）与药物中的一个烷基卤或卤化物基团（反之亦然）的反应形成了一个醚连接。在又一个偶联方法中，具有醛官能团的一个小分子通过还原胺化作用偶联到一个低聚物氨基基团上，从而导致了在该低聚物和小分子之间形成一个仲胺连接。

[0193] 一种特别优选的水溶性、非肽的低聚物是带有醛官能团的一种低聚物。在此方面，该低聚物具有以下结构： $CH_3O-(CH_2-CH_2-O)_n-(CH_2)_p-C(O)H$ 其中 (n) 是 1、2、3、4、5、6、7、8、9 和 10 之一并且 (p) 是 1、2、3、4、5、6 和 7 之一。优选的 (n) 值包括 3、5 和 7 并且优选的 (p) 值是 2、3 和 4。

[0194] 将不带有官能团的水溶性、非肽的低聚物的端位进行封端以便使它为非活性的。当该低聚物在端位包括一个另外的官能团而并非旨在用于形成一个共轭物时，该基团被选择为使得它在形成该连接“X”的条件下是非活性的，或者在形成“X”连接的过程中将其进行保护。

[0195] 如以上所说明的，该水溶性、非肽的低聚物在共轭之前包括至少一个官能团。该官能团典型地包括一个亲电子的或亲核的基团用于共价地附接到一种小分子上，这取决于包

含在或引入到该小分子中的反应性基团。在该低聚物中或小分子中可以存在的亲核基团的实例包括羟基、胺、肼 ($-\text{NHNH}_2$)、酰肼 ($-\text{C}(\text{O})\text{NHNH}_2$) 以及硫醇。优选的亲核体包括胺、肼、酰肼、以及硫醇,特别是胺。共价地附接到一种低聚物上的大多数的小分子药物将具有一个游离的羟基、氨基、硫、醛、酮、或羧基的基团。

[0196] 在该低聚物或该小分子中可以存在的亲电子的官能团的实例包括羧酸、羧酸酯、特别是酰亚胺酯类、原酸酯、碳酸盐、异氰酸酯、异硫氰酸酯、醛、酮、硫酮、链烯基、丙烯酸酯、甲基丙烯酸酯、丙烯酰胺、砜、马来酰亚胺、二硫化物、碘、环氧、磺酸酯、硫代磺酸酯、硅烷、烷氧基硅烷以及卤代硅烷。这些基团的更确切的实例包括琥珀酰亚胺基酯或碳酸酯,咪唑基酯或碳酸酯、苯并三唑酯或碳酸酯、乙烯基砜、氯乙基砜、乙烯基吡啶、吡啶基二硫化物、碘乙酰胺、乙二醛、二酮、甲磺酸酯、甲苯磺酸酯、以及三氟乙磺酸酯 (2,2,2-三氟乙磺酸酯)。

[0197] 还包括在内的是这些基团的硫类似物,例如硫酮、硫酮水合物、硫缩酮、2-噻唑烷硫酮等,连同以上部分中任何一个的水合物或受保护的衍生物(例如,醛水合物、半缩醛、乙缩醛、酮水合物、半缩酮、缩酮、硫缩酮、硫缩醛)。

[0198] 一种羧酸的“活化的”衍生物是指容易与亲核体反应的一种羧酸衍生物,它总体上比未衍生的羧酸容易得多。活化的羧酸包括例如酰基卤(例如酰基氯)、酸酐、碳酸酯以及酯类。此类酯包括具有通用形式 $-(\text{CO})\text{O}-\text{N}[(\text{CO})-]_2$ 的酰亚胺酯;例如 N-羟基琥珀酰亚胺基(NHS)酯或 N-羟基邻苯二甲酰亚胺基酯。还优选的是咪唑基酯类以及苯并三唑酯类。特别优选的是活化的丙酸或丁酸的酯类,如在共有的美国专利号 5,672,662 中所描述的。这些包括形式为 $-(\text{CH}_2)_{2-3}\text{C}(=\text{O})\text{O}-\text{Q}$ 的基团,其中 Q 优先选自 N-琥珀酰亚胺、N-硫代琥珀酰亚胺、N-邻苯二甲酰亚胺、N-戊二酰亚胺、N-四氢邻苯二甲酰亚胺、N-降冰片烯-2,3-二羧酰亚胺、苯并三唑、7-氮杂苯并三唑、以及咪唑。

[0199] 其他优选的亲电子的基团包括琥珀酰亚胺碳酸酯、马来酰亚胺、苯并三唑碳酸酯、缩水甘油醚、咪唑基碳酸酯、对硝基苯基碳酸酯、丙烯酸酯、三氟乙磺酸酯、醛、以及正吡啶二硫化物。

[0200] 这些亲电子的基团与亲核体(例如,羟基、硫或氨基的基团)进行反应以产生不同的键类型。优选用于本发明的是有利于形成一种水解稳定的连接的反应。例如,羧酸类以及它们的活化的衍生物(它们包括原酸酯类、琥珀酰亚胺基酯类、咪唑基酯类、以及苯并三唑酯类)与以上类型的亲核体进行反应来对应地形成酯类、硫代酯类以及酰胺类,其中酰胺是最水解稳定的。碳酸酯类,包括琥珀酰亚胺基、咪唑基、以及苯并三唑的碳酸酯类与氨基进行反应形成氨基甲酸酯。异氰酸酯 ($\text{R}-\text{N}=\text{C}=\text{O}$) 与羟基或氨基的基团进行反应而分别形成氨基甲酸酯 ($\text{RNH}-\text{C}(\text{O})-\text{OR}'$) 或脲 ($\text{RNH}-\text{C}(\text{O})-\text{NHR}'$) 的连接。醛、酮、乙二醛、二酮以及它们的水合物或醇加合物(即,醛水合物、半缩醛、缩醛、酮水合物、半缩酮、以及缩酮)优选地与酰胺进行反应,随后将产生的亚胺进行还原(如果希望的话)来提供一个胺连接(还原胺化)。

[0201] 一些亲电子的官能团包括亲电子的双键,亲核基团(例如硫醇)可以加成到这些双键上以形成(例如)硫醚键。这些基团包括马来酰亚胺、乙烯基砜类、乙烯基吡啶、丙烯酸酯类、甲基丙烯酸酯类以及丙烯酰胺类。其他基团包括可以被一个亲核体代换的离去基团;这些包括氯乙基砜,吡啶基二硫化物(它包括一个可切割的 S-S 键)、碘乙酰胺、甲磺酸

酯、甲苯磺酸酯、硫代磺酸酯以及三氟乙磺酸酯。环氧化物通过用一个亲核体的开环反应进行反应以形成（例如）一个醚或胺的键。涉及补充性反应基团（例如对以上低聚物所注意到的那些）和小分子的反应被用来制备本发明的共轭物。

[0202] 在一些情况下，该三环化合物可以不具有适合于共轭的一个官能团。在这种情况下，有可能对“初始的”三环化合物进行改性（或“官能化”）这样，它确实具有了适合于共轭的一个官能团。例如，如果该三环化合物具有一个酰胺基团，但是所希望的是一个胺基团，则有可能将该酰胺基团通过霍夫曼重排、克尔蒂斯重排（一旦酰胺被转化成一种叠氮化物）、或罗森重排（一旦酰胺被转化成羟基酰胺，随后使用甲苯-2-磺酰氯/碱进行处理）改性成一个胺基团。

[0203] 有可能制备带有一个羧基基团的小分子三环化合物的一种共轭物，其中将带有羧基基团的小分子三环化合物偶联到一个氨基封端的低聚乙二醇上，以提供一个共轭物，该共轭物具有将该小分子三环化合物共价地连接到该低聚物上的一个酰胺基团。这可以例如将带有羧基的小分子三环化合物与氨基封端的低聚乙二醇在一种偶联剂（例如二环己基碳二亚胺或“DCC”）的存在下在一种无水有机溶剂中结合来进行。

[0204] 此外，有可能制备带有一个羟基基团的小分子三环化合物的一种共轭物，其中该带有羟基基团的小分子三环化合物被偶联至一种低聚乙二醇卤化物来产生一个醚（-O-）连接的小分子共轭物。这可以例如通过使用氢氧化钠使该羟基基团去质子、随后与卤化物封端的低聚乙二醇进行反应来进行。

[0205] 此外，有可能制备带有一个羟基基团的小分子三环部分的一种共轭物（例如像，具有在化学式 I 中所包括的结构三环部分），其中该带有羟基基团的小分子三环部分被偶联到带有一个卤代甲酸酯基团 [例如， $\text{CH}_3(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OC}(\text{O})-$ 卤素，其中该卤素是氯、溴、碘] 的一种低聚乙二醇上，以产生一种碳酸酯 [-O-C(O)-O-] 连接的小分子共轭物。这可以例如通过将一个小分子三环部分与带有一个卤代甲酸酯基团的一种低聚乙二醇在一种亲核体催化剂（例如 4-二甲基氨基吡啶或“DMAP”）的存在下进行结合来进行，以便从而产生对应的碳酸酯连接的共轭物。

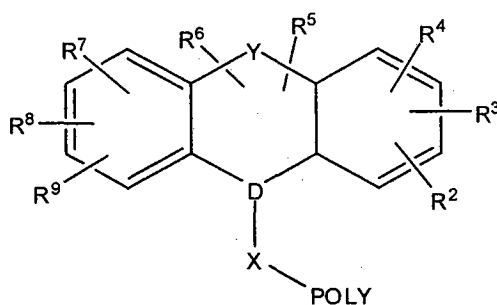
[0206] 在另一个实施方案中，有可能通过首先将该酮基团进行还原以形成相应的羟基来制备一种带有一个酮基团的小分子三环化合物的一种共轭物。因此，现在带有羟基的小分子三环化合物可以如在此所描述进行偶联。

[0207] 在仍有另一种情况下，有可能制备带有一个胺基团的小分子三环化合物的一种共轭物。在一种方法中，将带有一个胺基团的小分子三环化合物以及一种带有醛的低聚物溶解在适当的缓冲溶液中，在这之后加入一种合适的还原剂（例如 NaCNBH_3 ）。还原之后，结果是形成了在带有胺基团的小分子三环化合物的胺基团和带有醛的低聚物的羰基碳之间的一个胺连接。

[0208] 在用于制备带有一个胺基团的小分子三环化合物的一种共轭物的另一种方法中，将一种带有羧酸的低聚物与带有胺基团的小分子三环化合物典型地在一种偶联剂（例如，DCC）的存在下进行结合。结果是形成了在带有胺基团的小分子三环化合物的胺基团和带有羧酸的低聚物的羰基之间的一个酰胺连接。

[0209] 本发明的示例性的化合物包括具有以下结构的那些：

[0210]



化学式 I-C

[0211] 其中：

[0212] D 是 C 或 N；

[0213] Y 是选自下组，其构成为： $-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}=\text{CH}-$ ，

[0214] $-\text{CH}_2-\text{S}-$ 、 $\text{CH}_2-\text{O}-$ 、 $\text{CH}_2-\text{NH}-$ 、 $-\text{S}-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{O}-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{NH}-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{HN}-$ 、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{N}=\text{C}-$ 、 $-\text{C}=\text{N}-$ 、和 $-\text{S}-$ ，它们是未取代的或任选地取代的；

[0215] X 是一个间隔部分；并且

[0216] POLY 是一种水溶性、非肽的低聚物。

[0217] 本发明的共轭物可以呈现出一种降低的血脑屏障跨过速度。此外，这些共轭物保持了至少约 5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、或更高的未改性的母体小分子药物的生物活性。

[0218] 虽然认为所有范围的在此披露的共轭物的行为均如所描述的，可以按如下鉴定一个最佳大小的低聚物。

[0219] 首先，将自一个单分散或双峰的水溶性低聚物获得的一种低聚物共轭到该小分子药物上。优选地，该药物是口服可生物利用的，并且其本身呈现出了一个不可忽略的血脑屏障跨过速度。接着，使用一种合适的模式确定该共轭物跨过血脑屏障的能力并且与未改性的母体药物的这一能力进行比较。如果结果是有利的，也就是说如果（例如）跨过速度显著地降低，则之后进一步评估该共轭物的生物活性。优选地，根据本发明的化合物相对于该母体药物维持了显著程度的生物活性，即，大于母体药物的生物活性的约 30%，或甚至更优选大于母体药物的生物活性的约 50%。

[0220] 以上步骤使用具有相同的单体类型但是具有不同的亚单元数目的低聚物重复一次或多次并且将结果进行比较。

[0221] 然后对于每一种其跨过血脑屏障的能力与不共轭的小分子药物相比降低的共轭物，对其口服的生物利用率进行评估。基于这些结果，也就是说，基于具有不同大小的低聚物的共轭物与在该小分子内的一个给定的位置或位点的一个给定的小分子进行比较，有可能确定该低聚物最有效地提供一种共轭物的大小，该共轭物在生物膜跨过、口服生物利用率以及生物活性之间具有一个最佳的平衡。该低聚物的小尺寸使得此种筛余物能实行并且允许人们有效地为所得共轭物的特性进行定制。通过在低聚物的大小上进行小的、增加的改变并且使用一种实验性设计方法，人们可以有效地识别在生物膜跨过速度降低、生物活性和口服生物利用率上具有一种有利的平衡的一种共轭物。在一些情况下，在此所描述的一种低聚物的衔接是对实际地增加药物的口服生物利用率有效的。

[0222] 例如，本领域的普通技术人员使用常规实验可以确定一个最合适的分子大小以及连接来改进口服生物利用率，这是通过首先制备一系列的具有不同重量和官能团的低聚物

并且然后通过将该共轭物给予一位患者并且周期性地对血和 / 或尿样的取样来获得必要的清除特征曲线。对于每种受试的共轭物,一旦得到了一系列的清除特征曲线,就可以识别出一种合适的共轭物。

[0223] 动物模型(啮齿类以及犬类)也可以用来研究口服药物的输送。此外,非体内的方法包括啮齿动物肠外翻离体组织以及 Caco-2 细胞单层组织培养模型。这些模型对于预测口服药物生物利用率有用。

[0224] 为了确定该三环化合物或一种三环化合物与一种水溶性的、非肽聚合物的共轭物是否具有作为一种三环化合物治疗物的活性,有可能对此种化合物进行试验。这些三环化合物在哺乳动物和鸟类中具有镇静、催眠、抗焦虑、镇定、抗惊厥以及肌肉弛缓的作用。它们在哺乳动物中还表现出抗抑郁以及镇痛作用。

[0225] 使用不同的细胞系对受体的体外结合研究在医药工业已经成为惯例。

[0226] 镇静作用:烟囱试验:该试验确定了小鼠在 30 秒内倒退并且从一个垂直玻璃圆筒中出来的能力。以一个有效的剂量,50%的小鼠将不能做出该活动(ED_{50})。

[0227] 盘子试验:当没有处理时,在 Petri 培养皿中(10cm 直径,5cm 高,部分地嵌入木刨花中)的小鼠在非常短的时间爬出来。在该盘子中保持了大于 3 分钟的小鼠表明是镇静的。 ED_{50} 等于处于 50%的小鼠仍然在盘子中时的试验化合物的剂量。

[0228] 轴架试验:未经处理的小鼠在小于 1 分钟内离开轴架爬到标准鼠箱的地板上。经镇静的小鼠会在该轴架上停留超过 1 分钟。 ED_{50} (腹膜内给药)通过鉴定引起 50%的小鼠停留在轴架上的化合物的量来确定。

[0229] 尼古丁拮抗作用试验:对 6 个一组的小鼠注射试验化合物。三十分钟之后,对包括对照小鼠(未处理的)的小鼠注射尼古丁水杨酸盐(2mg/kg)。对照小鼠显示出过度刺激,即,(1)奔跑惊厥,接着(2)强直性伸肌发作,接着(3)死亡。 ED_{50} (腹膜内给药)通过鉴定引起 50%的小鼠不显示过度刺激的化合物的量来确定。

[0230] 对土的宁(作为硫酸盐)的拮抗作用:该试验包括将该试验化合物口服给予小鼠,并且 30 分钟之后向腹膜内给予 3mg/kg 土的宁硫酸盐。4 小时之后的幸存者反应了该化合物作为肌肉弛缓物以及镇痉药的活性。

[0231] 一种抗抑郁剂的主要作用是使抑郁的人恢复到正常状态。这应该与精神兴奋剂(例如在正常人产生过度刺激的安非他明)仔细区分。

[0232] 有多种不同的方法一直被并且仍在被用来评估抗抑郁剂的活性。总体来说这些方法涉及对一种镇静剂例如利血平或丁苯那嗪的拮抗作用或某种化合物(即,育亨宾或 3,4-二羟基苯丙氨酸)毒性的一种协同增加以及新的化合物的药物作用与其他已知的抗抑郁药的比较。单一的试验不能独自地确定一种新的化合物是否是一种抗抑郁剂,但是不同试验证实的特征曲线将确立该抗抑郁剂的作用(如果存在的话)。以下描述了多种此类的试验。

[0233] 使用氧化震颤素的降温试验:[1-(4-吡咯烷基-2-丁炔基)-2-吡咯烷酮]。氧化震颤素(连同阿扑吗啡以及丁苯那嗪)在小鼠中产生了降温反应。这种反应分别受抗胆碱能的以及抗抑郁药例如阿托品以及丙米嗪的阻挡。对小鼠向腹膜内注射 1mg 的氧化震颤素。在服药之前以及服药 30 分钟之后经直肠使用一个电子温度计对体温的降低进行测量。对照小鼠(仅氧化震颤素)以及处理的小鼠(氧化震颤素以及试验化合物)之间约四摄氏

度的差异被用来表明试验化合物的拮抗作用。

[0234] 育亨宾聚集毒性的增强:对小鼠注射抗抑郁药并且 30 分钟之后注射在含盐溶液中的 30mg 的盐酸育亨宾。两个小时之后,确定 LD₅₀。正常情况下没有小鼠被 30mg 的育亨宾杀死。如果育亨宾是在一种抗抑郁药的存在下给药的话,则观察到了育亨宾毒性的增加。确定试验化合物的 ED₅₀ 值。

[0235] 阿扑吗啡咬啮感的增强:在经皮下注射盐酸阿扑吗啡 10mg/kg 之前一小时,对小鼠向腹膜内给予试验化合物。然后将小鼠置于在底部衬有一种玻璃纸背衬的吸水纸的一个塑料盒(6" x11" x5")中。30min 结束时对纸的破坏程度从零至 4 进行评分。评分 3 和 4 表示该化合物在本试验中是阿扑吗啡的增效剂。

[0236] 为了确定该三环衍生物本身或三环的或其衍生物的共轭物是否具有活性(例如镇痛活性),有可能对此种化合物进行试验。例如,可以典型地将感兴趣的化合物给予一只小鼠并且对镇痛进行评估,如描述于:Kolesnikov et al. (1999) J. Pharmacol. Exp. Ther. 290 :247-252。简言之,将尾(2-3cm)的末梢部分浸入一种含有所感兴趣的化合物的 DMSO 溶液中持续指定的时间,典型地是两分钟。测试在浸入该处理溶液的尾的部分上进行,因为以这种方式所给予的试剂的镇痛作用受到暴露的尾的部分所限制。抗伤害或镇痛被定义为对于一种单个动物的甩尾潜伏期是其基准潜伏期的两倍或更大。基准潜伏期典型地是在从 2.5 至 3.0 秒的范围内,其中最大中断潜伏期为 10 秒,以使镇痛的动物中的组织损伤最小。可以确定 ED₅₀ 值。

[0237] 在用于评估该三环的衍生物本身或三环化合物与一种它的衍生物的共轭物的镇痛活性的另一种方法中,可以进行一个“扭体试验”。简言之,对于一个小鼠给予(i. p.) 0.7%的乙酸溶液并且记录十分钟内的扭体反应的数目。此后,将待试验的化合物给予[例如通过注射(例如皮下注射)]该小鼠并且使用以下公式作为抑制百分比对抗伤害进行定量: %抑制 = [(对照反应 - 试验反应) / 对照反应] x 100。

[0238] 本发明还包括在此提供的一个共轭物与一种药物赋形剂相组合的药物制剂。总的来说,该共轭物本身将处于一种固体形成(例如,沉淀物),它能与可以处于固体或液体形式的合适的药物赋形剂相结合。

[0239] 示例性的赋形剂包括但不限于来自下组的那些,该组的构成为:碳水化合物、无机盐类、抗微生物剂、抗氧化剂类、表面活性剂类、缓冲液类、酸类、碱类以及它们的组合。

[0240] 一种碳水化合物,例如糖、一种衍生的糖(例如糖醇、醛糖酸)、一种酯化的糖、和/或一种糖聚合物可以作为一种赋形剂存在。具体的碳水化合物赋形剂包括,例如:单糖类,例如果糖、麦芽糖、半乳糖、葡萄糖、D-甘露糖、山梨糖以及类似物;二糖类,例如乳糖、蔗糖、海藻糖、纤维二糖、以及类似物;多糖类,例如棉白糖、松三糖、麦芽糊精、葡聚糖、淀粉、以及类似物;以及糖醇类,例如甘露醇、麦芽糖醇、乳糖醇、木糖醇、山梨糖醇、肌醇、以及类似物。

[0241] 该赋形剂还可以包括无机盐或缓冲液,例如柠檬酸、氯化钠、氯化钾、硫酸钠、硝酸钾、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、以及它们的组合。

[0242] 该制剂还可以包括一种抗微生物剂用于防止或阻止微生物生长。适合于本发明的抗微生物剂的非限制性的例子包括氯化苄烷铵、苄索氯铵、苯甲醇、西吡氯铵、三氯叔丁醇、苯酚、苯乙醇、硝酸苯汞、硫柳汞(thimersol)、以及它们的组合。

[0243] 在该制剂中还可以存在一种抗氧化剂。抗氧化剂类被用来防止氧化反应,由此防止该共轭物或该制剂的其他组分的退化。用于本发明的合适的抗氧化剂包括例如抗坏血酸棕榈酸酯、丁羟茴醚、丁羟甲苯、次磷酸、单硫代甘油、没食子酸丙酯、亚硫酸氢钠、甲醛次硫酸钠、焦亚硫酸钠、以及它们的组合。

[0244] 一种表面活性剂可以作为一种赋形剂存在。示例性的表面活性剂包括:聚山梨醇酯类,例如“吐温 20”和“吐温 80”以及普流尼克例如 F68 和 F88(两者均是自 BASF、Mount Olive、NJ 可得的);山梨聚糖酯类;类脂,例如磷脂,例如卵磷脂以及其他磷脂酰胆碱酶,磷脂酰乙醇胺,脂肪酸以及脂肪酸酯;类固醇,例如胆固醇;以及螯合剂,例如 EDTA、锌以及其他此类合适的阳离子。

[0245] 药学上可接受的酸或碱可以作为一种赋形剂在本发明的制剂中存在。可以在本发明中使用的酸的非限制性实例包括选自下组的那些酸,该组的构成为:盐酸、乙酸、磷酸、柠檬酸、马来酸、乳酸、甲酸、三氯乙酸、硝酸、高氯酸、磷酸、硫酸、富马酸、以及它们的组合。合适的碱的例子包括但不限于选自下组的碱,该组的构成为:氢氧化钠、乙酸钠、氢氧化铵、氢氧化钾、乙酸铵、乙酸钾、磷酸钠、磷酸钾、柠檬酸钠、富马酸钠、硫酸钠、硫酸钾、富马酸钾,以及它们的组合。

[0246] 在该组合物中的共轭物的量将取决于多个因素而改变,但是当该组合物在一个单位剂量的容器中存储时它最佳地将是一个治疗上有效的剂量。治疗上有效的剂量可以通过重复地给予渐增量的共轭物实验性地进行确定以便确定哪一个量产生临床上所希望的终点。

[0247] 在组合物中任何单独的赋形剂的量都将取决于该赋形剂的活性以及该组合物的具体需要而改变。典型地,任何单独的赋形剂的最佳量都是通过常规实验来确定,即通过制备含有不同量的赋形剂(范围是从低至高)的组合物、检查稳定性以及其他参数、并且然后确定获得最佳的性能而没有显著不良作用时所处的范围。

[0248] 然而,总的来说,赋形剂将在该组合物中以按重量计约 1%至约 99%、优选按重量计从约 5% -98%,更优选按重量计从约 15% -95%的赋形剂的量存在,其中浓度最优选是小于按重量计 30%。

[0249] 这些上述的药物赋形剂连同其他赋形剂以及有关药物组合物的总体传授内容描述于:“Remington:The Science & Practice of Pharmacy”,19th ed.,Williams & Williams,(1995),the“Physician's Desk Reference”,52nd ed.,Medical Economics, Montvale, NJ(1998),and Kibbe, A. H., Handbook of Pharmaceutical Excipients, 3rd Edition, American Pharmaceutical Association, Washington, D. C., 2000。

[0250] 这些药物组合物可以采取任何数目的形式并且本发明在此方面不受限制。示例性的制剂最优选地是处于适合于口服给药的形式,例如片剂、胶囊形片剂、胶囊、软胶囊、含片、分散体、悬浮体、溶液、酞剂、糖浆、锭剂、经皮贴剂、喷雾剂、栓剂以及粉末。

[0251] 口服剂形对于经口是活性的那些共轭物是优选的,并且包括片剂、胶囊形片剂、胶囊、软胶囊、悬浮体、溶液、酞剂、以及糖浆,并且还可以包括任选胶囊化的多种颗粒、珠粒、粉末或丸剂。此种剂型是使用药物配方的领域中已知的常规方法来制备的并且描述于相关的文件中。

[0252] 片剂和胶囊形片剂,例如,可以使用标准的片剂处理程序和设备来生产。当制备含

有在此描述的共轭物的片剂或胶囊形片剂时,直接的压缩以及造粒技术是优选的。除了共轭物之外,这些片剂以及胶囊形片剂总体上包括非活性的药学上可接受的载体材料,例如粘合剂、润滑剂、崩解剂、填充剂、稳定剂、表面稳定剂、着色剂、流平剂以及类似物。粘合剂被用来赋予一个片剂粘合的性质并且以此确保该片剂仍是完整的。合适的粘合剂材料包括但不限于淀粉(包括玉米淀粉以及预胶凝淀粉)、明胶、糖类(包括蔗糖、葡萄糖、右旋糖、以及乳糖)、聚乙二醇、蜡类、以及天然的以及合成的胶质,例如阿拉伯胶海藻酸钠、聚乙烯吡咯酮、纤维素聚合物(包括羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、甲基纤维素、微晶纤维素、乙基纤维素、羟乙基纤维素、以及类似物)以及硅酸镁铝。润滑剂被用来促进片剂的制造,从而促进粉末流动并且当防止排压时颗粒加帽(即,颗粒破损)。有用的润滑剂是硬脂酸镁、硬脂酸钙以及硬脂酸。崩解剂被用来促进片剂的崩解,并且总体上是淀粉、粘土、纤维素、褐藻胶、胶质或交联的聚合物。填充剂包括(例如)材料类,例如二氧化硅、二氧化钛、氧化铝、滑石、高岭土、粉状纤维素、以及微晶纤维素,连同水溶性的材料类,例如甘露醇、尿素、蔗糖、乳糖、右旋糖、氯化钠以及山梨糖醇。正如在本领域中所熟知的,稳定剂被用来抑制或延缓药物的分解反应(包括例如氧化反应)。

[0253] 胶囊也是优选的口服剂型,在这种情况下该含共轭物的组合物可以被包胶囊成一种液体或凝胶的形式(例如在软胶囊的情况下)或固体的形式(包括颗粒,例如粒料、珠粒、粉末或球粒)。合适的胶囊包括硬和软胶囊,并且总体上由明胶、淀粉或一种纤维材料制成。两片的硬质明胶胶囊优选是被密封,例如使用明胶的带子或类似物。

[0254] 包括处于基本干燥的形式(典型地作为一种冻干物或沉淀物,它可以处于一种粉末或饼的形式)连同用于注射的配制品,它们典型地是液体并且要求有将该干燥形式的肠胃外的配制品进行复水的步骤。用于将固体组合物在注射之前进行复水的合适的稀释剂的实例包括抑菌性注射用水、在水中的5%的右旋糖、磷酸盐缓冲盐水、林格氏溶液、盐水、无菌水、去离子水以及它们的组合。

[0255] 在一些情况下,旨在用于肠胃外给药的组合物可以采取非水溶液、悬浮液、或乳液的形式,各自典型地是无菌的。无水溶剂或载体的例子是丙二醇、聚乙二醇、植物油,例如橄榄油以及玉米油、明胶、以及可注射的有机酯类,例如油酸乙酯。

[0256] 在此描述的肠胃外的配方还可以包括辅助剂类,例如保存、湿润、乳化以及分散的试剂。通过掺入一种杀菌剂、过滤通过一个细菌不通过的滤器、辐射或加热将这些配制品灭菌。

[0257] 该共轭物还可以通过皮肤使用常规的经皮贴剂或其他经皮递送系统来给药,其中该共轭物包含在一个层叠的结构中,该结构作为药物递送的装置贴附在皮肤上。在这样一种结构中,该共轭物包含在位于上背衬层之下的一个层(或“存储体”)中。该层叠的结构可以包含一个单个的存储体,或者它可以包含多个存储体。

[0258] 该共轭物还可以被配制成一种栓剂用于直肠给药。就栓剂而言,该共轭物与一种栓剂基体材料相混合,该材料是(例如一种在室温下仍为固体但是在体温下软化、熔融或溶解的赋形剂)例如可可黄油(可可豆油)、聚乙二醇、甘油化的明胶、脂肪酸、以及它们的组合。栓剂可以(例如)进行以下步骤(不必为所示出的顺序)来进行制备:将该栓剂基体材料熔融以形成一种熔体;合并入该共轭物(在该栓剂基体材料熔融之前或之后);将该熔体倒入一个模具中;冷却该熔体(例如将含熔体的模具放置在室温环境中)以便由此形

成栓剂；并且从该模具中移除这些栓剂。

[0259] 本发明还提供了将如在此提供的共轭物给予患有对使用共轭物进行治疗有响应的一种病的一位患者的方法。该方法包括总体上经口给予一种治疗有效量的共轭物（优选作为一种药物制剂的部分来提供）。还考虑了其他给药模式，例如肺部、鼻、口腔、直肠、舌下、经皮、以及肠胃外。如在此所使用的，术语“肠胃外”包括皮下、静脉内、动脉内、腹膜内、心内、鞘内、以及肌内注射，连同输注注射。

[0260] 在其中使用肠胃外给药的情况下，可能必须的是使用比以上描述的那些多少更大的低聚物，其中分子量的范围是从约 500 至 30K 道尔顿（例如具有的分子量约为：500、1000、2000、2500、3000、5000、7500、10000、15000、20000、25000、30000 或甚至更高）

[0261] 给药的方法可以用来治疗通过给予具体的共轭物可以得到治疗或防止的任何病症。本领域的普通技术人员理解一种具体的共轭物可以有效地治疗的那些病症。待给予的实际剂量可以改变，这取决于受试者的年龄、重量以及总体病症，连同待处理的病症的严重程度，健康专家的判断、以及有待给予的共轭物。治疗有效的量对于本领域普通技术人员是已知的和 / 或描述于相关的文件和文献中。总体来说，一个治疗上有效的量的范围是从约 0.001mg 至 1000mg，优选它的剂量是从 0.01mg/ 天至 750mg/ 天，并且更优选它的剂量是从 0.10mg/ 天至 500mg/ 天。

[0262] 任何给出的共轭物的单位计量（再次，优选地作为一种药物制剂的一部分来提供）可以按不同的给药方案来确定，这取决于临床医生的判断、患者的需要，等等。具体的剂量方案对于本领域普通技术人员是已知的或可以使用常规的方法在实验上进行确定。示例性的剂量方案包括但不限于一天给药五次、一天四次、一天三次、一天两次或一天一次、一周三次、一周两次、一周一次、一个月两次、一个月一次、以及它们的任何组合。一旦达到临床终点，则停止该组合物的给药。

[0263] 给予本发明的共轭物的一个优点在于：可以实现相对于母体药物的首过代谢的降低。这样一个结果对于许多口服给药的药物是有利的，这些药物基本上是通过穿越肠而代谢的。以这种方式，共轭物的清除可以通过选择低聚物分子大小、连接、以及提供所希望的清除特性的共价衔接的位置来调整。本领域的普通技术人员可以基于在此的传授内容确定低聚物的理想的分子大小。对于一个共轭物，与对应的非共轭的小药物分子相比，优选的首过代谢的降低包括：至少约 10%、至少约 20%、至少约 30%、至少约 40%、至少约 50%、至少约 60%、至少约 70%、至少约 80%、以及至少约 90%。

[0264] 因此，本发明提供了用于降低一种活化剂的代谢的一种方法。该方法包括以下步骤：提供单分散或双峰的共轭物，每种共轭物包括一个部分，该部分衍生自通过一个稳定的连接共价地附接到一种水溶性的低聚物上的一种小分子药物，其中所述共轭物与没有连接到该水溶性的低聚物上的小分子的代谢速度相比，显示出降低速度的代谢；并且将该共轭物给予一位患者。典型地，给药是通过一种给药类型进行，该类型选自构成如下的组：口服给药、经皮给药、口腔给药、转化粘液质给药、经阴道给药、直肠给药、肠胃外给药、以及肺部给药。

[0265] 虽然对于降低多种类型的代谢（包括阶段 I 以及阶段 II 的代谢都可以被降低）是有用的，但是当小分子药物是通过肝酶（例如一种或多种细胞色素 P450 同种型）和 / 或一种或多种肠酶代谢时，这些共轭物是特别有用的。

[0266] 在此引用的所有文章、书籍、专利、专利公布、以及其他的出版物均通过引用以其整体结合在此。在本说明书的传授内容与通过引用而结合的技术不一致的情况下，本说明书中的传授内容应优先。

[0267] 实验

[0268] 应理解的是，虽然已经对本发明连同某些优选的并且具体的实施方案进行了描述，以上的说明连同以下实例旨在说明而非限制本发明的范围。在本发明的范围之内内的其他方面、优点以及变更对于本发明所涉及的本领域的普通技术人员而言将是清楚的。

[0269] 在所附的实例中涉及的所有非-PEG 的化学试剂，除非另外说明，否则都是可商购的。PEG-链节的制备描述于例如美国专利申请公开号 2005/0136031 中。

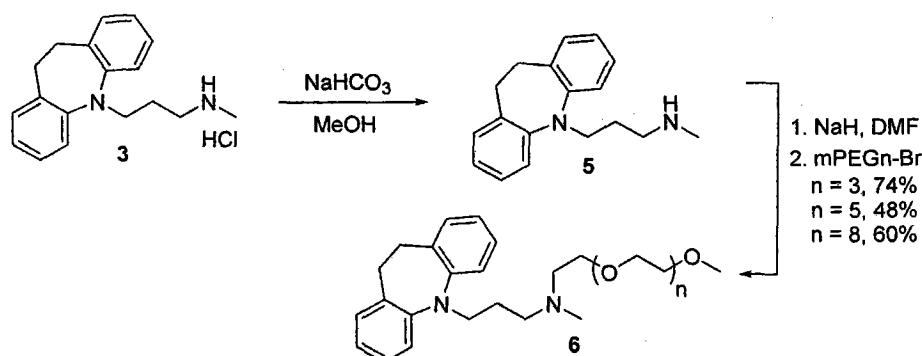
[0270] 所有的 ^1H NMR (核磁共振) 数据均是通过 NMR 光谱仪产生。

[0271] 某些化合物连同这些化合物的来源的清单在以下提供。

[0272] 实例 1

[0273] 地昔帕明小 PEG 共轭衍生物

[0274]



[0275] 地昔帕明、亚氨基二苄、氢化钠 (NaH)、1-溴-3-氯丙烷、氨基锂 (LiNH_2) 自 Sigma-Aldrich (St Louis, MO) 购买。DCM 是从 CaH_2 蒸馏而得。DMF (无水)、甲苯 (无水)、以及其他有机溶剂按它们购买的样子来使用。

[0276] 将地昔帕明 (2.00g, 6.60mmol) 溶解在甲醇 (40mL) 以及饱和 NaHCO_3 (80mL) 中。将反应在室温下保持 30 分钟并且溶液 pH 是 > 10 。在减压下除去甲醇之后，将该水溶液用 DCM (50mL+25mLx2) 萃取。将合并的有机相用 Na_2SO_4 干燥、过滤、并且在减压下除去溶剂。将产生的残余物通过真空干燥固化过夜并且获得一种淡黄色样品 (1.79g, $> 100\%$ 产率)。

[0277] 将以上游离的地昔帕明 (170mg, 0.64mmol) 溶解在 DMF (3.2mL) 中。加入 NaH (46mg, 1.92mmol, 3eq) 并且将反应在室温下保持 5 分钟。加入 $\text{mPEG}_3\text{-Br}$ (283 μL , 1.28mmol, 2eq) 并且允许将反应搅拌过夜 (16h)。一旦获得澄清的溶液，则将该反应用 NH_4Cl (50mL) 淬灭并且用 DCM (15mLx3) 萃取。将有机相合并，并且用 Na_2SO_4 干燥。过滤之后，将 DCM 蒸发掉并且将 DMF 在高真空下旋蒸。将产生的残余物装入一个 Biotage 12M 柱中并且用 DCM 中 2-20% 的甲醇在 15CV 之内进行纯化。在 254nm 下对产物进行监控并且收集 (194.7mg, 74% 产率)。还收集了产物与起始材料的一个混合物并且将其保存。

[0278] $\text{mPEG}_5\text{-Br}$ 和 $\text{mPEG}_8\text{-Br}$ 被用于使用类似程序的其他的地昔帕明衍生物的合成。产品的质量使用 NMR、分析 HPLC 进行表征并且用 LC-MS/MALDI 识别。

[0279] 地昔帕明 (5) : ^1H NMR (300MHz, CDCl_3) δ 1.77 (2H, q, $J = 6.9\text{Hz}$), 2.37 (3H, s),

2.61(2H, t, J = 6.9Hz), 3.16(3H, s), 3.79(2H, t, J = 6.9Hz), 6.91(2H, dt, J = 2.1, 7.5Hz), 7.07-7.12(6H, m)。

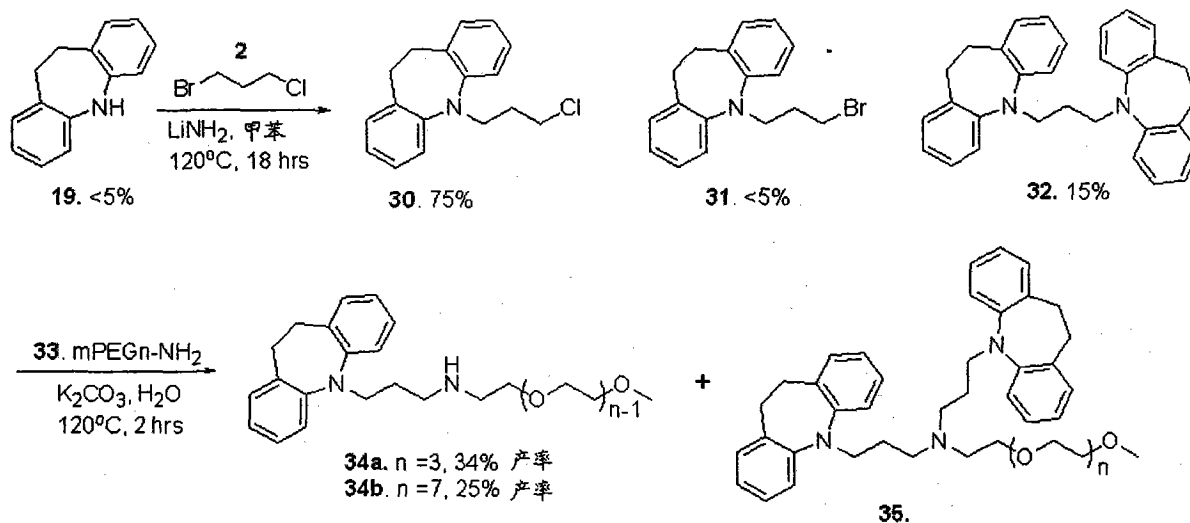
[0280] mPEG₃-地昔帕明 (6^a) (n = 3) :R_f = 0.36(DCM : MeOH = 10 : 1), RP-HPLC(betasil C18, 0.5mL/min, 10-80% ACN in 10min) 6.49min, MALDI(MH⁺) 413.3; ¹H NMR(300MHz, CDCl₃) δ 1.73(2H, bs), 2.19(3H, bs), 2.44(2H, bs), 2.51(2H, bs), 3.15(4H, s), 3.37(3H, s), 3.51-3.66(10H, m), 3.76(2H, t, J = 6.6Hz), 6.90(2H, dt, J = 1.2, 7.5Hz), 7.06-7.15(6H, m)。

[0281] mPEG₅-地昔帕明 (6b) (n = 5) :R_f = 0.34(DCM : MeOH = 10 : 1), RP-HPLC(betasil C18, 0.5mL/min, 10-80 % ACN in 10min) 8.31min, MALDI(MNa⁺) 523.3; ¹H NMR(300MHz, CDCl₃) δ 1.74(2H, bs), 2.18(3H, bs), 2.43(2H, bs), 2.50(2H, bs), 3.15(4H, s), 3.38(3H, s), 3.49-3.66(18H, m), 3.76(2H, t, J = 6.6Hz), 6.90(2H, dt, J = 1.2, 7.5Hz), 7.06-7.15(6H, m)。

[0282] mPEG₈-地昔帕明 (6c) (n = 8) :R_f = 0.32(DCM : MeOH = 10 : 1), RP-HPLC(betasil C18, 0.5mL/min, 10-80 % ACN in 10min) 8.35min, MALDI(MNa⁺) 655.5; ¹H NMR(300MHz, CDCl₃) δ 1.74(2H, bs), 2.18(3H, bs), 2.43(2H, bs), 2.51(2H, bs), 3.15(4H, s), 3.37(3H, s), 3.38(3H, s), 3.52-3.66(30H, m), 3.76(2H, t, J = 6.6Hz), 6.90(2H, dt, J = 1.2, 7.5Hz), 7.06-7.15(6H, m)。

[0283] 仲胺衍生物的总体合成

[0284]



[0285] 在一个MCE微波反应管中,将亚氨基二苄(1.95g、10mmol)悬浮在甲苯(10mL)中。在N₂下将该溶液进行保护。加入1-溴-3-氯丙烷(1.48mL、15mmol)之后,该溶液在室温下变澄清。然后加入LiNH₂(276mg、12mmol)并且将试管密封。微波反应在120°C下进行18hrs。反应使用饱和的NaHCO₃水溶液淬灭并且用EtOAc(50mLx2)萃取。将合并的有机相用MgSO₄干燥,并且在减压下除去溶剂。产生的残余物装入一个Biotage 25M柱中并且用1-6%的甲醇在己烷中用多于15CV进行洗脱。然后使用纯的样品部分进行NMR,并且将所有其他部分的混合物合并。在高真空下干燥过夜之后,收集浅黄色产品(2.57g,95%的产率)。

[0286] mPEG₇-地昔帕明:将以上的亚氨基二苄的烷基化产物混合物(325mg、1.2mmol)与mPEG₇-NH₂(340 μL、1.0mmol)一起加入一个微波反应管中。加入K₂CO₃(207mg、1.5mmol)

与 H₂O(1mL)。将起始材料悬浮在水相的顶层,因为在加热发生之前难以搅拌。微波反应在 120℃ 继续进行 2hrs。该反应通过 TLC 监测 mPEG-NH₂ 的消失。该反应然后使用 NaHCO₃ 水溶液稀释并且用 DCM(10mLx3) 萃取。将合并的有机相用 MgSO₄ 干燥,将其过滤,并且在减压下除去溶剂。将产生的残余物装入一个 Biotage 25M 柱中并且用 2-18% 的甲醇在 DCM 中用多于 20CV 进行纯化。过夜干燥之后,收集无色的产物 (193mg、34% 的产率)。所希望的产物通过 NMR 和 LC-MS 鉴定并且分析 -HPLC 表明纯度是大于 98%。

[0287] mPEG₃-地昔帕明:反应以一种与以上类似的方式进行。然而,该产物混合物包含一个单烷基化产物与二烷基化产物之比几乎为 1 : 1 的产物,这些产物通过 TLC 不能分离。通过 Biotage 快速色谱法的纯化 (12M 反相柱, 25-100% CAN 在 16CV 内) 产生了所希望的、所具有纯度大于 98% 的产物 (187mg、25% 的产率)。

[0288] 5-(3-氯-丙)-10,11-二氢-5H-二苯并[b,f]氮杂**萘** (30): R_f = 0.22 (Hex : EtOAc = 16 : 1), RP-HPLC (betasil C18, 0.5mL/min, 10-80 % ACN in 10min) 9.55min, LC-MS (ESI, MH⁺) 272.2; ¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ 2.04 (2H, q, J = 6.6Hz), 3.16 (4H, s), 3.57 (2H, t, J = 6.3Hz), 3.90 (2H, t, J = 6.3Hz), 6.93 (2H, dt, J = 1.2, 6.9Hz), 7.07-7.16 (6H, m)。

[0289] N-mPEG₃-3-(10,11-二氢-二苯并[b,f]氮杂**萘**-5-基)-丙胺 (34a): R_f = 0.43 (DCM : MeOH = 10 : 1), RP-HPLC (betasil C18, 0.5mL/min, 10-80 % ACN in 10min) 6.49min, LC-MS (ESI, MH⁺) 399.3; ¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ 2.05-2.13 (2H, m), 3.05 (4H, bs), 3.15 (4H, s), 3.31 (3H, s), 3.43-3.52 (6H, m), 3.60-3.64 (2H, m), 3.76 (2H, t, J = 6.0Hz), 3.85 (2H, t, J = 6.0Hz), 6.94 (2H, t, J = 7.4Hz), 7.04-7.17 (6H, m)。

[0290] N-mPEG₇-3-(10,11-二氢-二苯并[b,f]氮杂**萘**-5-基)-丙胺 (34b): R_f = 0.45 (DCM : MeOH = 10 : 1), RP-HPLC (betasil C18, 0.5mL/min, 10-80 % ACN in 10min) 6.39min, LC-MS (ESI, MH⁺) 575.4; ¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ 1.92-1.96 (2H, m), 2.81-2.88 (4H, m), 3.14 (4H, s), 3.36 (3H, s), 3.51-3.67 (26H, m), 3.81 (2H, t, J = 6.3Hz), 6.91 (2H, t, J = 7.2Hz), 7.05-7.14 (6H, m)。

[0291] pKa 和 LogP 的测定:

[0292]

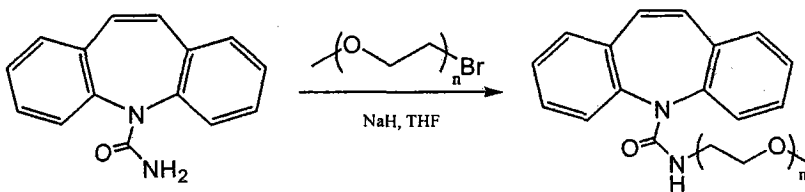
分子	pKa	LogP
地昔帕明	9.72	3.32
mPEG ₃ -N-地昔帕明	8.47	3.41
mPEG ₅ -N-地昔帕明	8.55	3.11
mPEG ₈ -N-地昔帕明	8.66	2.77
mPEG ₃ -NH-地昔帕明	8.96	3.14

分子	pKa	LogP
mPEG ₇ -NH- 地昔帕明	8.94	2.5

[0293] 实例 2

[0294] mPEG-n- 卡马西平的合成

[0295]



n = 3、5、7

[0296] 将卡马西平 (118mg、0.5mmol) 溶解在 5ml THF 中并且将 NaH (60%、60mg、1.5mmol) 加入到该溶液中。在加入 mPEG_n-Br [n = 3、5、7] (0.6mmol) 之前, 将混合物搅拌 5min。将产生的混合物在室温下搅拌 14h。然后除去固体并且加入 150ml 的二氯甲烷。有机相用 H₂O (2×150mL) 洗涤, 用 Na₂SO₄ 干燥并且将溶剂在减压下除去。粗产品使用柱色谱纯化 (Biotage 快速色谱法系统, [A :MeOH、1-4% (20CV)、4-6% (10CV)、B :DCM])。所希望的产物作为粘性油获得 (产率 :60-80%)。

[0297] mPEG₃-N- 卡马西平 ¹H NMR (300MHz、CDCl₃) : δ 7.48-7.31 (m, 8H), 6.92 (s, 2H), 3.59 (m, 2H), 3.53 (m, 6H), 3.46 (m, 2H), 3.38 (s, 3H), 3.34 (m, 2H)。LC-MS :383.2 (M+H)⁺。

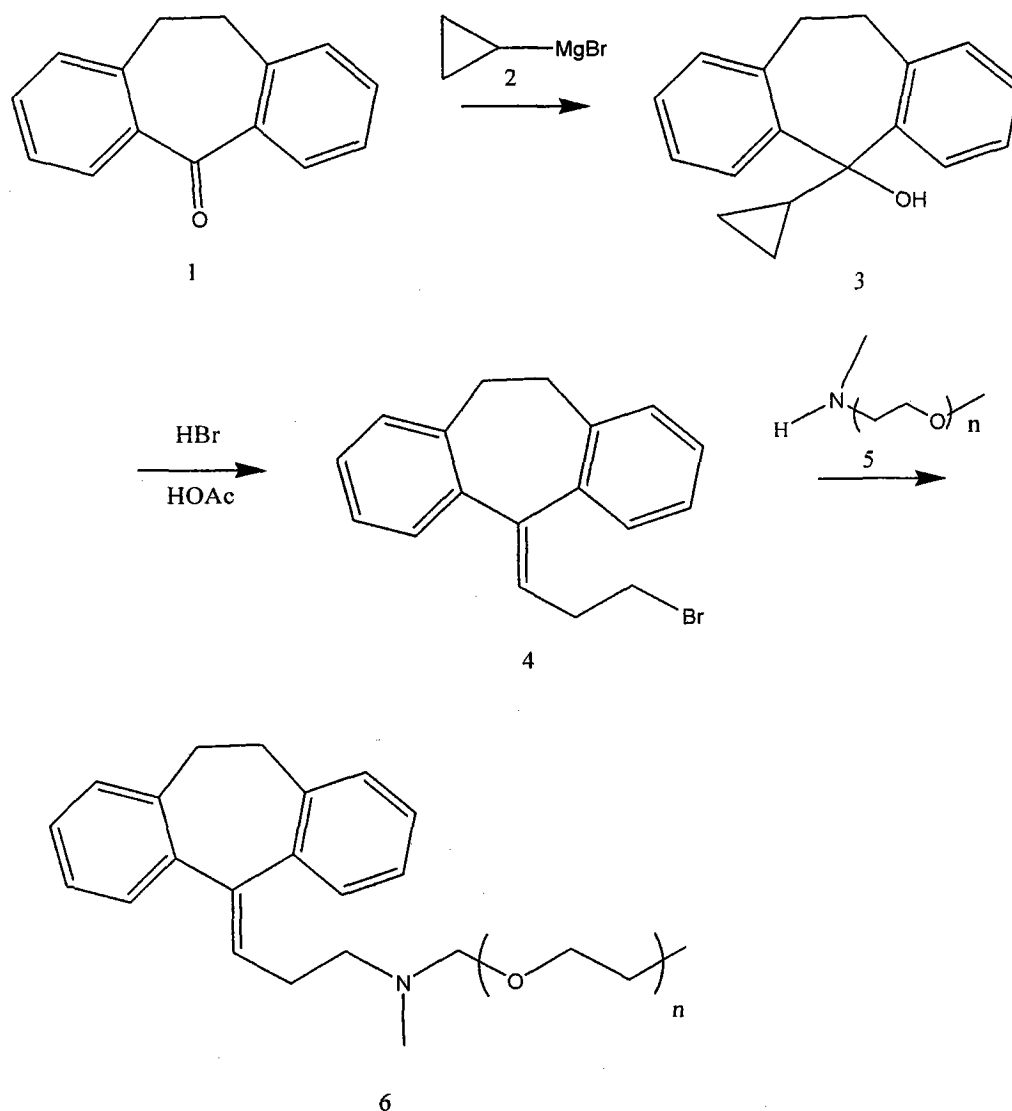
[0298] mPEG₅-N- 卡马西平 ¹H NMR (300MHz、CDCl₃) : δ 7.48-7.31 (m, 8H), 6.92 (s, 2H), 3.66-3.54 (m, 16H), 3.45 (m, 2H), 3.38 (s, 3H), 3.33 (m, 2H)。LC-MS :471.2 (M+H)⁺。

[0299] mPEG₇-N- 卡马西平 ¹H NMR (300MHz、CDCl₃) : δ 7.48-7.31 (m, 8H), 6.92 (s, 2H), 3.66-3.55 (m, 18H), 3.54-3.51 (m, 6H), 3.44 (m, 2H), 3.38 (s, 3H), 3.31 (m, 2H)。LC-MS :559.3 (M+H)⁺。

[0300] 实例 3

[0301] 合成 mPEG_n-N- 阿米替林共轭物

[0302]



[0303] 合成 5-环丙基-10,11-二氢-5H-二苯并[a,d]环庚烯-5-醇 (3) :

[0304] 在装有搅拌器的一个三颈圆底烧瓶中加入 (0.243g, 0.009mol) 的镁屑以及 2.5mL 的干 THF。将反应搅拌以允许金属溶解。在这一点上将温度升高到 60°C 并且滴加入环丙基溴 (1.21g, 0.010mol)。允许反应混合物在 70°C 回流 1.5h 并且然后降低到 60°C。然后滴加入 (1.04g, 0.005mol) 的 10,11-二氢-二苯并[a,d]环庚烯-5-酮。一旦加入, 溶液颜色变成紫色。加入完成之后将温度升高到 70°C。将反应再回流 2h 并且使用 HPLC 来检测反应进展。加入氯化铵 /H₂O (7.5mL) 以淬灭该反应并且将该烧瓶置于一个冰浴中。将产生的溶液进行过滤并且将滤液转移到一个 250-mL 的添加有 DCM (100mL) 的分液漏斗中。然后最后加入 NaCl/H₂O 溶液 (80mL)。将有机相除去并且用 Na₂SO₄ 干燥 2h。将溶剂在减压下除去并且将产物在真空下干燥过夜。¹H NMR 和 LC/MS 证实了该产物。(产率约 52%)

[0305] 合成 5-(3-溴-亚丙基)-10,11-二氢-5H-二苯并[a,d]环庚烯 (4) : 在一个 100-mL 的圆底烧瓶中加入 5-环丙基-10,11-二氢-5H-二苯并[a,d]环庚烯-5-醇 (0.130g, 0.0006mol) 与 1mL 的乙酸。在反应混合物冷冻到 10°C 的时刻允许将该固体溶解。然后向该烧瓶中加入一个 33% 的盐酸溶液 (0.5mL 的盐酸以及 0.5mL 的乙酸; 总计 1mL)。允许将反应再搅拌 30min, 同时将反应通过 HPLC 进行监控。然后将反应混合物转移到一个分液漏斗中并且加入 DCM (100mL)。收集有机层并且用 H₂O (1x100mL) 洗涤并且用 Na₂SO₄ 干

燥 2hrs。产生的产物用 MeOH/DCM(Biotage 25M 柱) 通过硅胶快速柱色谱法进行纯化。产物通过 ^1H NMR 来证实。(产率约 62%)

[0306] 合成 mPEG_n-N-阿米替林 (6): 在一个 100-mL 圆底烧瓶中加入 (0.120g、0.0004mol) 的 5-(3-溴-亚丙基)-10,11-二氢-5H-二苯并[a,d]环庚烯与丙酮 (1mL) 直至固体完全溶解。然后加入 (0.137g、0.0008mol) 的 PEG_n-甲基胺。加入 K₂CO₃ (0.267g、0.002mol) 与丙酮 (5mL)。将该反应混合物加热至 70°C 回流。8h 之后通过 HPLC 检测反应完全。冷却之后向该烧瓶中加入 DCM(100mL) 并且将产生的溶液置于一个分液漏斗中。除去有机层并且用 NaCl/H₂O 溶液 (1x100mL) 洗涤并且用 Na₂SO₄ 干燥 2hrs。产生的产物用 MeOH/DCM(Biotage 25M 柱) 通过硅胶快速柱色谱法进行纯化以获得所希望的产物。(产率约 13-20%)

[0307] mPEG₃-N-阿米替林: ^1H -NMR(300MHz, DMSO-d₆) δ 7.24-7.02(m, 8H), 5.79(t, 1H), 3.50-3.41(m, 10H), 3.18(s, 3H), 2.75(br, 4H), 2.41-2.55(m, 5H), 2.13(br, 2H), 2.04(s, 3H); LC-MS: 计算 409.4; 发现 410.4(MH⁺)。

[0308] mPEG₅-N-阿米替林: ^1H -NMR(500MHz, DMSO-d₆) ; δ 7.22-7.14(m, 8H), 5.85(t, 1H), 3.50-3.45(m, 20H), 3.23(s, 3H), 2.90(br, 4H), 2.51-2.50(m, 5H), 2.41(br, 2H), 2.01(s, 3H); LC-MS: 计算 497.4; 发现 498.4(MH⁺)。

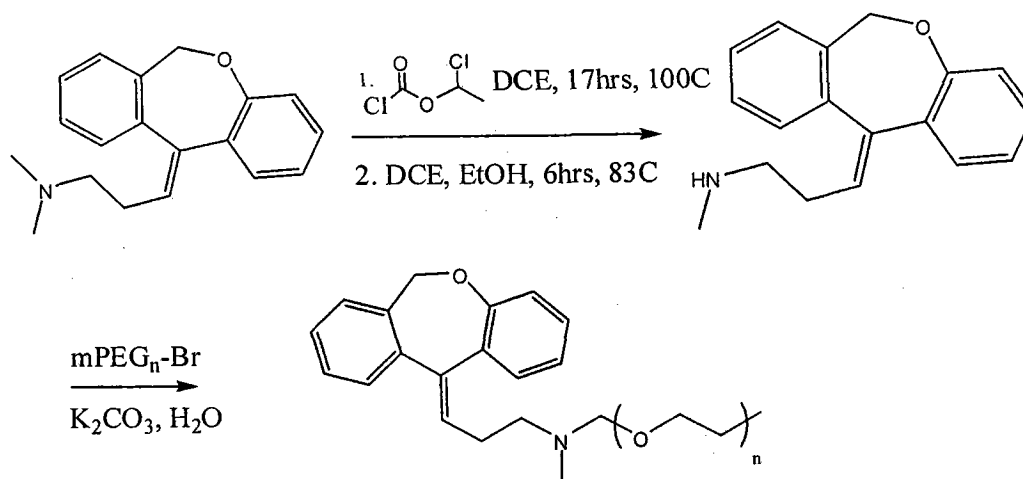
[0309] mPEG₆-N-阿米替林: ^1H -NMR(500MHz, DMSO-d₆) ; δ 7.21-7.12(m, 8H), 5.82(t, 1H), 3.51-3.43(m, 24H), 3.23(s, 3H), 2.90(br, 4H), 2.51-2.50(m, 5H), 2.41(br, 2H), 2.07(s, 3H); LC-MS: 计算 541.4; 发现 542.3(MH⁺)。

[0310] mPEG₇-N-阿米替林: ^1H -NMR(500MHz, DMSO-d₆) ; δ 7.35-7.15(m, 8H), 5.90(t, 1H), 3.51-3.29(m, 28H), 3.23(s, 3H), 2.86(br, 4H) 2.79-2.42(m, 5H), 2.36(br, 2H), 2.10(s, 3H); LC-MS: 计算 585.4; 发现 586.3(MH⁺)。

[0311] 实例 4

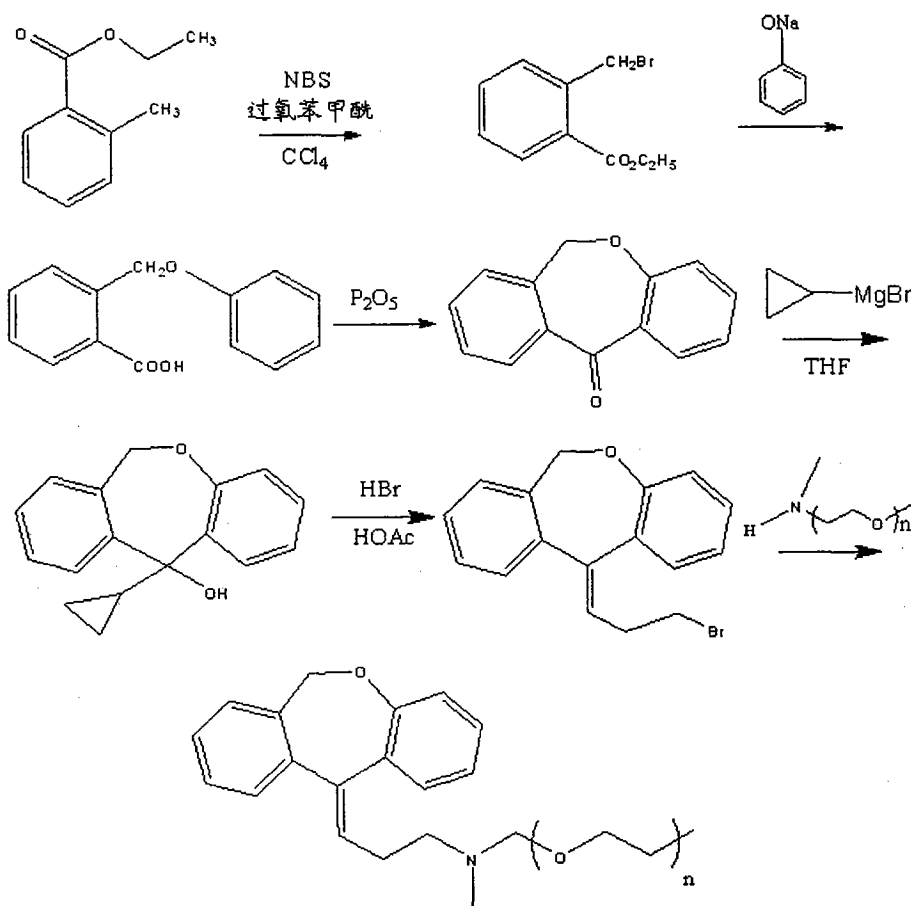
[0312] PEG-多塞平的合成:

[0313]



[0314] PEG-多塞平的合成 (另一种方法):

[0315]



[0316] 实例 5

[0317] 组胺受体结合测定

[0318] 使用放射性配体结合测定在由 CHO 细胞（这些细胞表达了重组人类 H1、H2、H3 或 H4 组胺受体）制备的膜中对阿米替林以及四种 mPEG 共轭物的受体结合亲和力进行评估。

[0319] 在可变浓度的试验化合物的存在下通过用一种固定浓度的放射性配体孵育膜来进行竞争结合实验。所使用的放射性配体对于每种受体亚型是特异的，并且测定条件说明于表 2 中。孵育之后，将这些膜洗涤并且测量结合的放射性活性。在过量未经标记的配体的存在下对非特异性结合进行测量；将该值从总结合中减去，得到在每个试验化合物浓度下的特异性结合。

[0320] IC₅₀ 值获自剂量反应曲线的非线性回归分析，并且仅对于在所测试的最高浓度下显示出大于 50% 结合抑制的那些化合物进行计算。使用 Cheng Prusoff 校正获得 K_i，该校正使用了在相同的测定条件下预先确定的实验性 K_d 值。

[0321] 阿米替林以及 mPEG-阿米替林共轭物的结合亲和力示于表 1。阿米替林以及 PEG-阿米替林共轭物展示出结合 H1 受体的高亲和力。PEG 共轭导致了在结合亲和力上小于 20 倍的降低，并且这一作用是依赖于 PEG 大小的。

[0322] 对于所测试的全部分子，在 H2 受体上的结合亲和力比在 H1 受体上的结合亲和力低几乎 3 个数量级。mPEG 共轭物还在 H2 受体上产生了结合亲和力的降低，并且这一作用也是依赖于 PEG 大小的。

[0323] 对于在 H2 受体上的 mPEG-6 和 mPEG-7 阿米替林，不能确定 K_i 值，因为在所测试的

最高浓度下不能观察到大于 50% 的抑制。在 H2 受体上的结合亲和力的损失（大于 63 倍，对比母体）大于在 H1 受体上的结合亲和力的损失（小于 23 倍，对比母体），提示 mPEG 共轭物增加了 H1 : H2 受体的选择性，使这些 mPEG- 阿米替林共轭物对 H1 受体更具有选择性。在所测试的最高浓度下没有检测到对 H3 和 H4 受体的可测量的结合。对阿米替林以及 mPEG- 阿米替林共轭物的受体结合选择性是 H1 >>> H2 > H3 = H4。

[0324] 表 1. 结合亲和力总结

[0325]

试验化合物	MW (Da)	H1 受体		H2 受体		H1:H2 选择性
		Ki (nM)	超过母体的变化倍数	Ki (nM)	超过母体的变化倍数	
阿米替林	313.9	0.324	1	208	1	642
mPEG3-N- 阿米替林	409.0	1.81	6	3010	14	1663
mPEG5-N- 阿米替林	497.0	3.57	11	13100	63	3670

[0326]

试验化合物	MW (Da)	H1 受体		H2 受体		H1:H2 选择性
		Ki (nM)	超过母体的变化倍数	Ki (nM)	超过母体的变化倍数	
阿米替林						
mPEG6-N- 阿米替林	541.0	6.13	19	没有获得	-	-
mPEG7-N- 阿米替林	585.0	7.44	23	没有获得	-	-

[0327] 不能确定在 H3 和 H4 受体上的 K_i 值，因为在所测试的最高浓度下获得了小于 50% 的放射性配体结合的抑制。

[0328] 表 2. 测定条件

[0329] 受体来源：表达单个的组胺 H1、H2、H3、或 H4 受体的人类重组 CHO 或 CHO K1 细胞。

[0330]

受体	放射性配体	非特异性结合	方法	试验浓度
组胺 H1	[³ H]-吡拉明 (1.2nM)	吡拉明 (1 μM)	将 50mM Tris-HCl (pH 7.4)、2mM MgCl ₂ 、100 mM NaCl 和 250mM 蔗糖在 25°C 下反应 3h。	0.01、0.1、0.3、 1.3、10、30、 100nM、3、30 μM
组胺 H2	[¹²⁵ I]-Aminopotentidine (0.1 nM)	硫替丁 (3 μM)	将 50mM 的磷酸盐 (酯) (pH 7.4) 在 25°C 下反应 2h。	0.01、0.1、0.3、 1.3、10、30、 100nM、3、30 μM
组胺 H3	[³ H]-R(-)-α-甲基-组胺	R(-)-α-甲基-组胺	将 50mM Tris-HCl (pH 7.4)、5mM MgCl ₂ 、0.04%	0.01、0.1、0.3、 1.3、10、30、
受体	放射性配体	非特异性结合	方法	试验浓度
	(3nM)	(1 μM)	BSA 在 25°C 下反应 1.5h。	100nM、3、30 μM
组胺 H4	[³ H]-组胺 (8.2nM)	组胺 (1 μM)	将 50mM Tris-HCl (pH 7.4)、1.25mM EDTA 在 25°C 下反应 1.5h。	0.01、0.1、0.3、 1.3、10、30、 100nM、3、30 μM

[0331]

[0332] 实例 6

[0333] 钠通道测定

[0334] 在体外评估了卡马西平以及它的三个共轭物对钠通道的作用以便在分离的心脏

细胞（人类心房肌细胞）以及神经元细胞（大鼠背根神经节）中使用全细胞膜片钳法来确定它们的阻断特性。

[0335] 人类肌细胞获自人类右心耳的样品，它是在手术过程中从经受心肺分流术的患者获得的。该程序产生了杆状的、离子耐受的细胞，这些细胞在分离之后 24 小时使用 (Crumb et al., 1995, *Am J Physiol* 268 :H1335-H1342)。

[0336] 背根神经节神经元是从出生后 14-18 天的大鼠制备的 (Blair and Bean, 2002, *J Neurosci* 22 :10277-10290)。用异氟醚将动物麻醉、断头并且将神经节去除。对神经节片进行处理以产生单个的细胞，这些细胞在分离后 48 小时内使用。

[0337] 在 $23 \pm 1^\circ\text{C}$ 下在高倍可见放大倍率下采用精密的显微操作来进行全细胞膜片钳技术以测量钠电流。将玻璃移液管火琢以产生直径为 $1-4 \mu\text{m}$ 的尖端。将充满了电解质“内部”溶液 ((mM) : 115CsF、20CsCl、10NaF、10HEPES、5EGTA 的一种组合物；用 CsOH 将 pH 调节至 7.2) 的移液管的尖端置于一个细胞中。将该细胞置于一个液浴“外部”溶液（由以下各项构成 (mM) : 115TMA 氯化物、10NaCl、5CsCl、1.8CaCl₂、1.2MgCl₂、10HEPES、11 右旋糖，用 TMA-OH 将 pH 调节至 7.4) 中。当充满内部溶液时，移液管尖端的电阻大约是 1.0 至 2.0 MΩ。然后，对该移液管内部进行抽吸以便将细胞膜密封到该尖端上。然后，另一个抽吸脉冲打破了该膜，建立了进入该细胞内部的电入口。然后，细胞内部由充满了片移液管的溶液变得透析。

[0338] 在细胞膜破裂之后（进入全细胞模式），当用内部溶液对该细胞进行透析并且在 1Hz 下搏动（3-5 分钟）时，允许电流动力学以及幅值稳定（将由在 0.1Hz 下给出的一系列电压脉冲所引发的电流进行叠加）。使用从 -120mV 的保持电位至 -20mV (40ms 脉冲宽度) 的一个电压脉冲来测量钠电流 (I_{Na})。对于 I_{Na} 测量峰内向电流。检测了 0.1 和 3Hz 的起搏频率。将浓度为 0.1、1、3、10、30、以及 $100 \mu\text{M}$ 的试验物品以一种累积的方式加到一个细胞中。所有化合物的母液是在 DMSO 中以 10mM 的浓度来制备的。为了对细胞灵敏度进行测试，在暴露于测试物品之后加入 $1 \mu\text{M}$ TTX (河豚毒素)。将 2 个心肌细胞暴露至 TTX 产生了 47.2% 以及 56.8% 的 I_{Na} 的降低。将 2 个神经元细胞暴露于 TTX 产生了 93.2% 以及 96.8% 的 I_{Na} 的降低。

[0339] 使用片夹钳放大器 (Axopatch 1-B, Axon Instruments) 记录电流和电压。电压钳脉冲的产生以及数据的获取是由使用电生理学软件 (pCLAMP version 9.2, Axon Instruments, now MDS, Sunnyvale, CA) 的计算机来控制的。数据被呈现为电流幅值的 % 降低，被测量为相对于引入试验物品之前的电流幅值（对照）、在试验物品的存在下达到一个稳态效果之后的电流降低。每个细胞充当其自身的对照物。

[0340] 针对心脏和神经元的 I_{Na} ，使用 GraphPad's Prism 5.01 软件，从剂量反应曲线的非线性回归分析中获得大概的 IC_{50} 值（表 3）。可替代地，针对在所测试的最高浓度下 ($100 \mu\text{M}$) 的平均百分比抑制 $\pm \text{SEM}$ 来分析这些数据，其中不能获得大于 50% 抑制的 I_{Na} 。

[0341] 针对心脏和神经元的钠通道速率依赖性抑制来测试卡马西平及其 PEG 共轭物。所有的 PEG 共轭物在心脏（图 1）和神经元（图 2）的钠通道上都具有与母体化合物相类似的活性。在测定条件下，当使用高达 $100 \mu\text{M}$ 的浓度时，所有试验物品产生了钠通道的不完全阻断并且不能获得可信赖的 IC_{50} 。所有试验物品显示出相比于心脏 I_{Na} 更低的针对神经元 I_{Na} 的亲合性（图 3）；母体化合物的反应与已出版的报告相一致，这表明卡马西平具有相比于心脏 I_{Na} 更低的针对神经元 I_{Na} 的亲合性。这些数据提示 PEG 共轭不会改变母体卡马西平

在心脏和神经元的钠通道上的固有药理学。

[0342]

表 3. 卡马西平系列的钠通道阻断作用的总结

试验化合物	MW (Da)	心脏 I _{Na}				神经元 I _{Na}			
		在 0.1 Hz (M)下的 IC ₅₀	相对于母体的变化倍数	在 3 Hz (M)下的 IC ₅₀	相对于母体的变化倍数	在 0.1 Hz (M)下的 IC ₅₀	相对于母体的变化倍数	在 3 Hz (M)下的 IC ₅₀	相对于母体的变化倍数
卡马西平	236.3	1.6E-04	1.0	1.45E-0	1.0	1.02E-04	1.0	1.14E-04	1.0
mPEG3-N-卡马西平	382.5	4.6E-04	2.8	2.14E-0	1.5	1.42E-04	1.4	5.78E-04	5.1
mPEG5-N-卡马西平	470.6	6.1E-05	0.4	5.20E-0	0.4	N/A	N/A	N/A	N/A
mPEG7-N-卡马西平	558.7	3.8E-04	2.4	1.69E-0	1.2	1.44E-04	1.4	1.63E-04	1.4

IC₅₀ 值是大概的，因为在所测试的最高浓度下没有获得大于 50% 的抑制。

N/A = 基于多个数据点没有产生曲线。

[0343] 实例 7

[0344] 去甲肾上腺素转运蛋白结合测定

[0345] 使用放射性配体结合测定在从大鼠前脑（它表达了去甲肾上腺素转运蛋白）制备的膜中对地昔帕明及五种 PEG 共轭物的结合亲和力进行评估。

[0346] 竞争结合实验是通过在不同的试验化合物浓度（对于母体和 PEG 共轭物分别是 0.1nM 至 3 μ M 以及 3nM 至 100 μ M）的存在下用 1.0nM 放射性配体、 ^3H -尼索西汀孵育膜来进行的。该反应在 0-4 $^{\circ}\text{C}$ 下在 50mM Tris-HCl (pH 7.4)、300mM NaCl、5mM KCl 进行了 4 小时。孵育之后，将这些膜洗涤，并且对结合的放射活性进行测量。在作为冷配体的过量地昔帕明 (1.0 μ M) 的存在下对非特异性结合进行测量；将该值从总结合中减去，得到在每种试验化合物浓度下的特异性结合。

[0347] IC_{50} 值获自剂量反应曲线（图 4）的非直线回归分析，并且对在所测试的最高浓度下显示出大于 50% 的结合抑制的那些化合物进行计算。使用 Cheng Prusoff 校正获得 K_i ，该校正使用了在这些测定条件下预先确定的实验性 K_d 值。

[0348] 地昔帕明以及 mPEG-地昔帕明共轭物的结合亲和力示于表 4。相对于地昔帕明，PEG-地昔帕明共轭物展示了对去甲肾上腺素转运蛋白的更低的亲和力。PEG 共轭产生了在结合亲和力上高于 739 倍的降低，并且这种作用依赖于结合位点处的化学性。

[0349] 与母体相比，在类似的 PEG 大小（相对于母体分别是 739 至 1058 倍以及 2972 至 3336 倍）下，对于 mPEG-N-共轭物的结合亲和力损失小于对于 mPEG-NH-共轭物的结合亲和力损失。

[0350] 表 4. 对去甲肾上腺素转运蛋白的结合亲和性的总结。

[0351]

试验化合物	MW (Da)	K_i (μ M)	相对于母体的变化倍数
地昔帕明	302.9	0.002	1
mPEG3-N-地昔帕明	412.6	2.11	1058
mPEG5-N-地昔帕明	500.7	1.83	920
mPEG8-N-地昔帕明	632.8	1.47	739
mPEG3-NH-地昔帕明	398.26	6.65	3336
mPEG7-NH-地昔帕明	574.36	5.92	2972

[0352] 实例 8

[0353] 毒蕈碱受体结合测定

[0354] 使用放射性配体结合测定在从 CHO 细胞（这些细胞表达了重组人类 M1、M2、M3、M4 或 M5 毒蕈碱乙酰胆碱受体）制备的膜中对阿米替林以及四种阿米替林-PEG 共轭物的受体结合亲和力进行评估。竞争结合实验是通过在可变浓度的试验化合物的存在下用一个固定浓度的放射性配体孵育膜来进行的。将 0.8nM 的 ^3H -N-甲基东莨菪碱用作所有受体亚型的放射性配体。在 25 $^{\circ}\text{C}$ 下在含有 50mM Tris HCl、10mM MgCl_2 、以及 1mM EDTA 的缓冲液中进行

孵育,持续 2 小时。孵育之后,对这些膜进行洗涤,对结合的放射性进行测量。在作为冷配体的过量阿托品的存在下测量非特异性结合;将该值从总结合中减去,得到在每个试验化合物浓度下的特异性结合。 IC_{50} 值获自剂量反应曲线的非直线回归分析,并且仅对在所测试的最高浓度下显示出大于 50% 的结合抑制的那些化合物进行计算。使用 Cheng Prusoff 校正获得 K_i ,该校正使用了在那些测定条件下预先确定的实验性 K_d 值。

[0355] 阿米替林以及 PEG 共轭物在五种毒蕈碱受体亚型上的结合亲和力示于表 1。阿米替林展示出对所有毒蕈碱受体亚型的高结合亲和力(其中 K_i 值在从大约 10 至 90nM 的范围内),并且展示出对任何毒蕈碱受体亚型的很小的选择性。相比之下,这些 PEG 共轭物在所有亚型上展示出结合亲和力的显著降低,在任何具体的受体亚型的 K_i 降低了 10-100 倍。在一些情况下,在所测试的最高浓度下不能获得放射性配体结合的显著性抑制并且因此数据显示为“没有显著性结合”。这些数据提示 PEG 共轭显著地降低了阿米替林对毒蕈碱乙酰胆碱受体的结合亲和力。

[0356]

分子	Ki (nM)				
	M1	M2	M3	M4	M5
阿米替林	9.83	87.1	35.4	23.9	17
mPEG-3-阿米替林	无显著性结合	无显著性结合	无显著性结合	无显著性结合	无显著性结合
mPEG-5-阿米替林	无显著性结合	无显著性结合	无显著性结合	无显著性结合	无显著性结合
mPEG-6-阿米替林	869	1170	无显著性结合	无显著性结合	无显著性结合
mPEG-7-阿米替林	无显著性结合	1140	无显著性结合	无显著性结合	无显著性结合

[0357] 实例 9

[0358] 镇痛测定

[0359] 镇痛测定用来确定一种给定的化合物是否可以降低和/或防止小鼠的内脏疼痛。

[0360] 该测定使用了 CD-1 雄性小鼠(每组 5-8 只),在研究当天每只小鼠是大约 0.015-0.030kg。根据标准的科学试验计划对小鼠进行处理。

[0361] 在给予乙酸溶液之前三十分钟,给予小鼠一个单“预处理”剂量的一种化合物(该化合物缺少与一种水溶性、非肽的低聚物的共价附连)、一种对应形式(包括共价地附连到一种水溶性、非肽的低聚物上的化合物)、或对照溶液(IV、SC、IP 或口服)。给予该动物一种引发“扭体”的刺激物(乙酸)的 IP 注射液,这种扭体可以包括:腹部收缩、躯干的扭曲和翻转、拱背以及后肢伸长。给予小鼠 0.5%乙酸溶液的一个单 IP 注射液(0.1mL/10g 体重)。注射之后,将这些动物放回它们的观察围封物内,并且对它们的行为进行观察。在注射后的 0 至 20 分钟之间,对收缩进行计数。这些动物使用一次。每个测试物品以 1、3 以及 10mg/kg(n = 5 动物 / 剂量)进行给药。

[0362] 图 5 示出了该测试化合物对抗标准的镇痛药吗啡的镇痛活性。

卡马西平及其结合物对钠电流在0.1 Hz (A) 对比在3 Hz (B) 下在分离的人体心房肌细胞中的阻断作用。数据是平均± SEM。

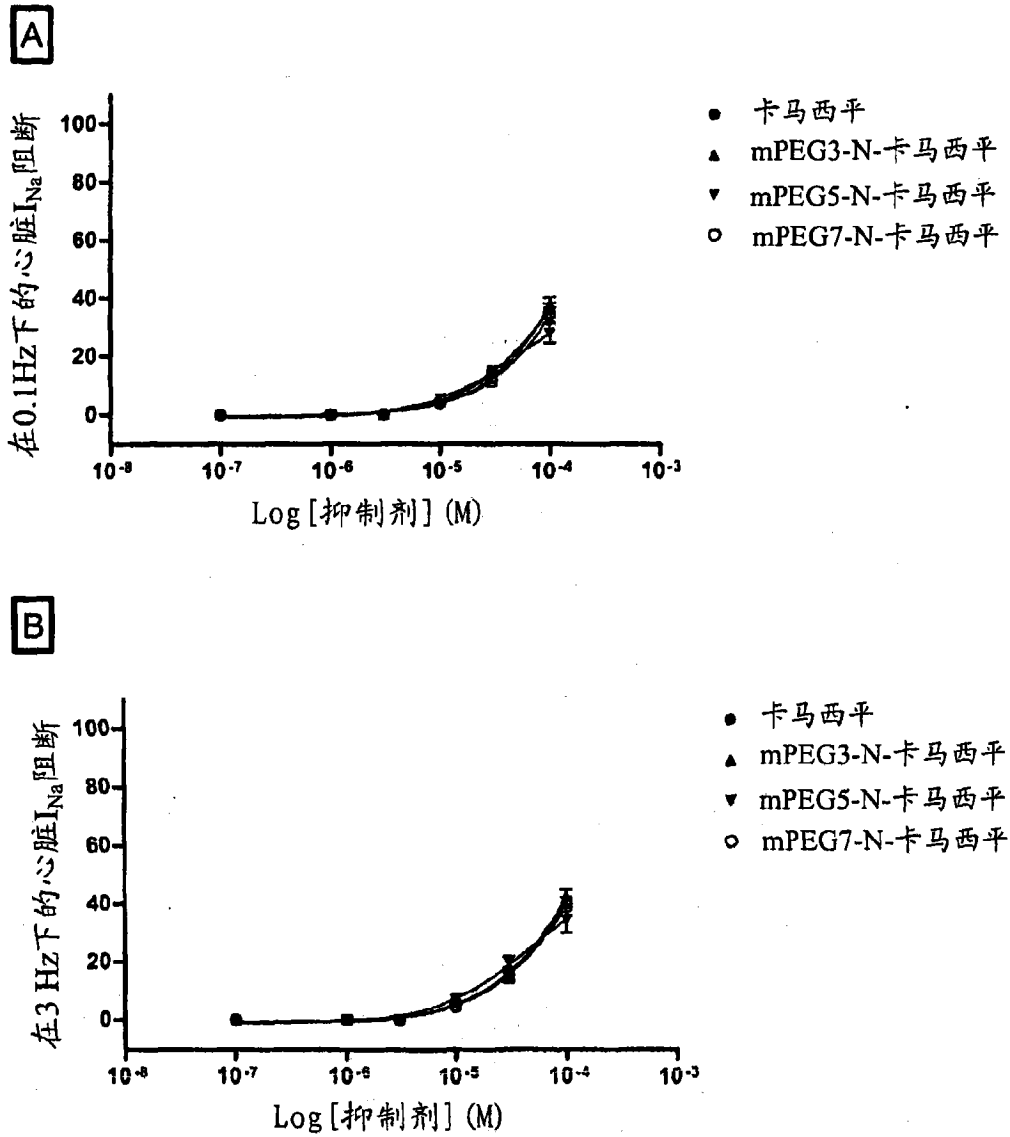


图 1

卡马西平及其结合物对钠电流在0.1 Hz (A)对比3 Hz (B)下在分离的大鼠背根神经节细胞中的阻断作用。数据是平均± SEM。

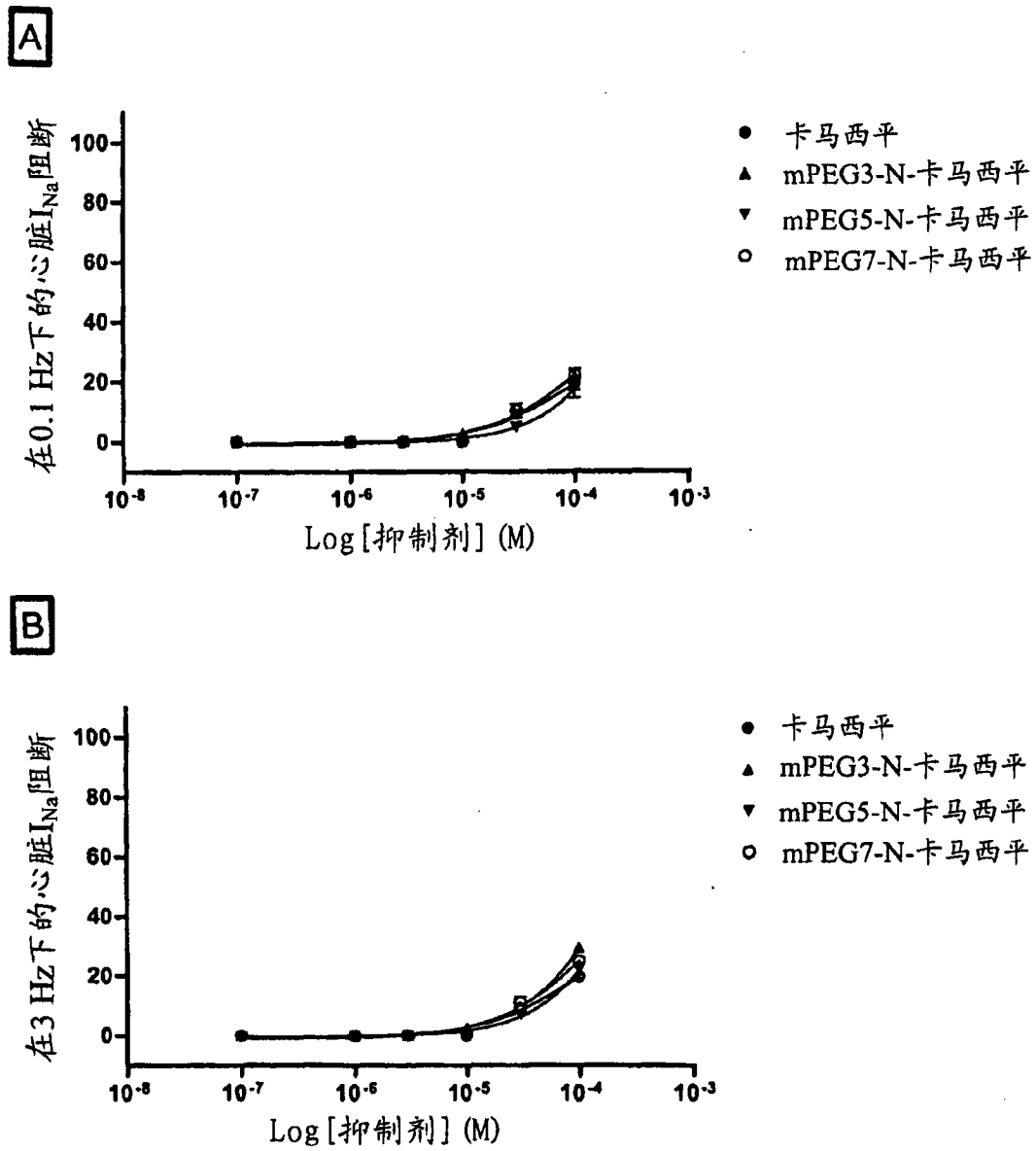


图 2

对于卡马西平及其结合物以100 μM 在0.1 Hz (A)和3 Hz (B)下在分离出的心脏以及神经元细胞中的钠电流阻断的平均 (\pm SEM) 百分比。

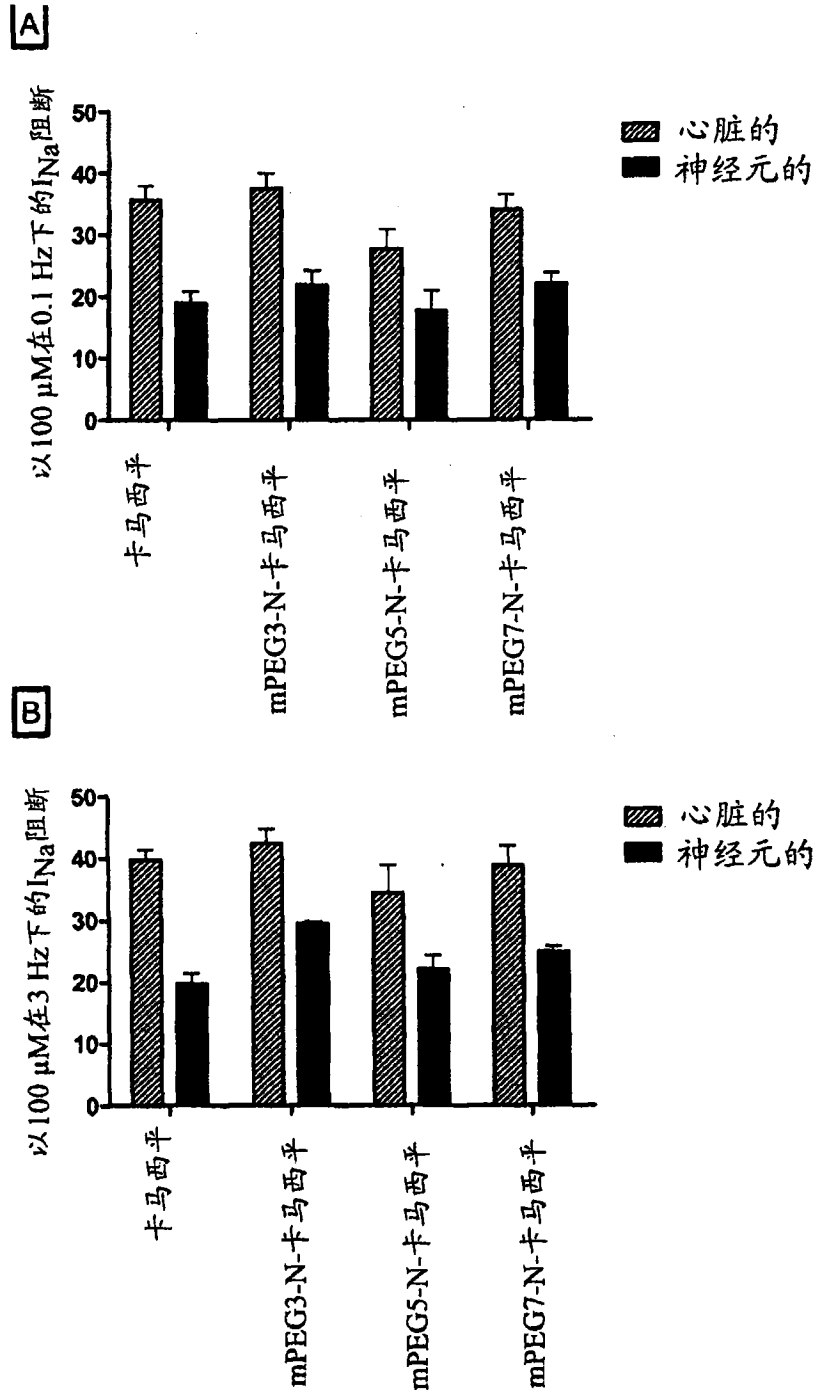
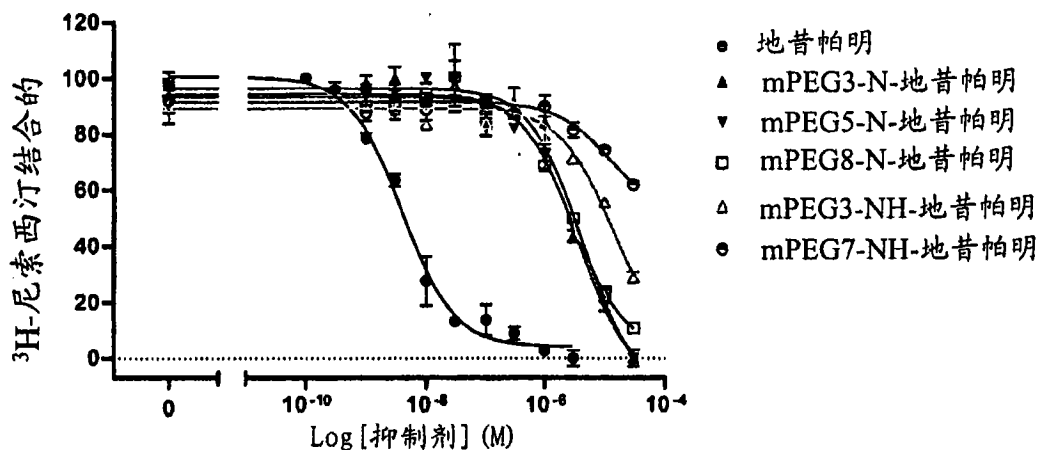


图 3

去地昔帕明及其结合物对大鼠前脑薄膜中的去甲肾上腺素转运蛋白特异性结合的平均 (\pm SEM) 百分比。



[配体]: 1.0e-6
Kd: 9.0e-10

图 4

试验化合物对抗标准镇痛剂吗啡的镇痛活性。

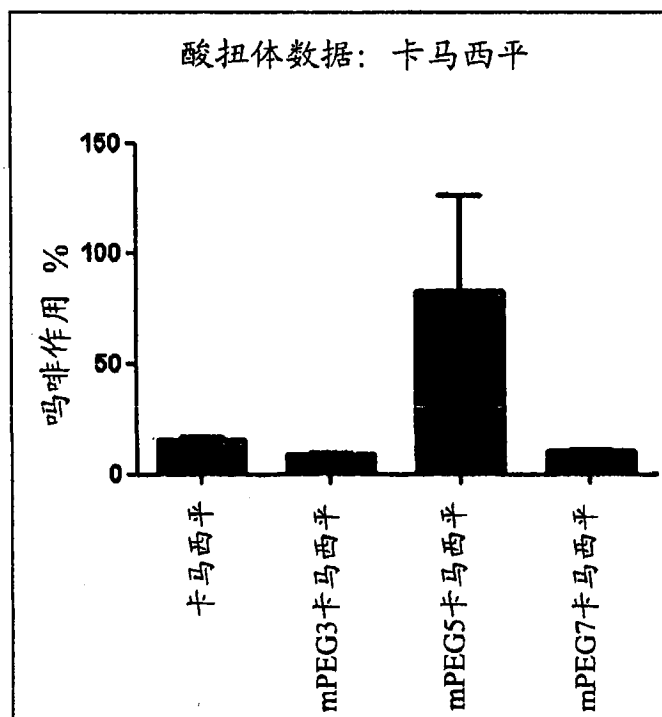


图 5