



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102159249 A

(43) 申请公布日 2011.08.17

(21) 申请号 200980136089.1

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2009.09.16

A61K 47/48 (2006.01)

(30) 优先权数据

A61P 25/04 (2006.01)

61/192,247 2008.09.16 US

A61P 25/36 (2006.01)

12/558,395 2009.09.11 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2011.03.16

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2009/005174 2009.09.16

(87) PCT申请的公布数据

W02010/033195 EN 2010.03.25

(71) 申请人 尼克塔治疗公司

地址 美国加利福尼亚

(72) 发明人 C·S·诸得-菲斯伯恩 T·A·瑞丽

A·扎卡利斯 H·瓜萨哈尼

(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 2 页 说明书 51 页 附图 18 页

(54) 发明名称

具有低滥用潜在性的聚乙二醇化阿片样物质

(57) 摘要

本发明提供了共价地结合到水溶性低聚物上的阿片样物质促效剂及其用途,该阿片样物质促效剂具有降低的对于药物滥用的潜在性。本发明的这些化合物相对于这些单独的阿片样物质促效剂而言,具有改变的药物代谢动力学特征曲线,但不经受实体改动的风险,该实体改动允许与某些可替代的递送配制品相关联的阿片样物质促效剂相关联的回收和滥用。

1. 一种具有以下化学式的化合物：

OP-X-POLY

其中 OP 是一种阿片样物质化合物, X 是一种连接物, 并且 POLY 是一种小的水溶性低聚物。

2. 根据权利要求 1 所述的化合物, 其中 OP 是选自下组, 其组成为: 芬太尼、氢吗啡酮、美沙酮、吗啡、可待因、羟考酮、以及羟吗啡酮。

3. 根据权利要求 1 或权利要求 2 所述的化合物, 其中 X 是一种稳定的连接物。

4. 根据权利要求 3 所述的化合物, 其中 POLY 是一种小的 PEG 部分。

5. 根据权利要求 4 所述的化合物, 其中该 PEG 部分由 1-5 个乙二醇亚单位组成。

6. 根据权利要求 4 所述的化合物, 其中该 PEG 部分由 1-3 个乙二醇亚单位组成。

7. 根据权利要求 3 所述的化合物, 该化合物具有约 1.0 到约 3.5 的 logP。

8. 根据权利要求 3 所述的化合物, 其中该化合物具有比 OP 的 logP 更负约 0.5 单位的 logP。

9. 根据权利要求 3 所述的化合物, 其中 OP-X-POLY 结合到一种 OP 靶标受体上, 该靶标受体是 OP 以其非偶联的形式所结合到的相同的靶标受体。

10. 根据权利要求 9 所述的化合物, 该化合物相对于 OP 对其靶标受体的亲和性, 呈现出小于约 10 倍的 OP-X-POLY 对于该 OP 靶标受体的亲和性的损失。

11. 根据权利要求 9 所述的化合物, 其中相对于 OP 对其靶标受体的亲和性, OP-X-POLY 对于该 OP 靶标受体的亲和性的减少不大于约 20%。

12. 根据权利要求 3 所述的化合物, 其中相对于非偶联的 OP 的生物活性, OP-X-POLY 保留至少 10% 的生物活性。

13. 根据权利要求 12 所述的化合物, 其中相对于非偶联的 OP 的生物活性, OP-X-POLY 保留至少 50% 的生物活性。

14. 根据权利要求 3 所述的化合物, 其中相对于非偶联的 OP 的生物活性, OP-X-POLY 在生物活性上呈现小于约 10 倍的下降。

15. 根据权利要求 1 所述的化合物, 其中该化合物的分子量是小于 1000 道尔顿。

16. 根据权利要求 1 所述的化合物, 其中 X-POLY 的分子量是小于 1000 道尔顿。

17. 根据上述权利要求中任何一项或多项所述的化合物, 具有小于仅有 OP 的血脑屏障穿过速率的一个血脑屏障穿过速率。

18. 根据权利要求 17 所述的化合物, 具有小于仅有 OP 的速率至少 50% 的一个血脑屏障穿过速率。

19. 根据权利要求 17 所述的化合物, 具有小于仅有 OP 的速率至少 75% 的一个血脑屏障穿过速率。

20. 根据权利要求 3 所述的化合物, 具有小于仅有 OP 的血脑屏障穿过速率至少 10 倍的一个血脑屏障穿过速率。

21. 如权利要求 1 或 2 所述的化合物, 其中 X 是一种生理学上可断裂的连接物。

22. 根据权利要求 21 所述的化合物, 其中 POLY 是一种小的 PEG 部分, 该 PEG 部分由至少 6 个聚乙二醇亚单位组成。

23. 根据权利要求 21 所述的化合物, 其中相对于非偶联的 OP 的生物活性, OP-X-POLY

在生物活性上呈现大于约 10 倍的下降。

24. 根据权利要求 21 所述的化合物,其中 OP-X-POLY 保留小于 5%的非偶联的 OP 的生物活性。

25. 根据权利要求 24 所述的化合物,其中 OP-X-POLY 保留小于 2%的非偶联的 OP 的生物活性。

26. 根据权利要求 21 所述的化合物,该化合物相对于 OP 对该相同的 OP 靶标受体的亲和性,具有至少约 10 倍的对其靶标受体的亲和性的损失。

27. 一种组合物,该组合物包括根据权利要求 1 至 26 中任何一项所述的化合物以及一种药学上可接受的赋形剂或载体。

28. 一种治疗需要阿片样物质疗法的患者的方法,该方法包括给予一个有效量的如权利要求 1 到 26 中任何一项所述的一种化合物。

29. 一种减少阿片样物质化合物的滥用潜在性的方法,该方法包括将该化合物偶联到一种小的水溶性低聚物上以形成如权利要求 1 到 26 中任何一项所述的一种化合物。

30. 一种减少阿片样物质化合物的成瘾特性的方法,该方法包括将该阿片样物质促效剂偶联到一种小的水溶性低聚物上以形成如权利要求 1 到 26 中任何一项所述的一种化合物。

31. 一种减小但没有实质性消除一种阿片样物质化合物的血脑屏障穿过速率的方法,该方法包括将该化合物偶联到一种小的水溶性低聚物上。

32. 一种药物前体,该药物前体包括经由一个共价键可逆地附接到一个能释放的部分上的一种 μ 、 κ 、或 δ 阿片样物质促效剂,其中将一个给定摩尔量值的该药物前体给予一位患者呈现出该 μ 、 κ 、或 δ 阿片样物质促效剂在该哺乳动物的中枢神经系统中的一个蓄积率和一个 $C_{\text{最大}}$,该蓄积率和 $C_{\text{最大}}$ 小于假如该 μ 、 κ 、或 δ 阿片样物质促效剂没有作为一种药物前体的部分给药时一个等摩尔量值的该 μ 、 κ 、或 δ 阿片样物质促效剂的蓄积率和 $C_{\text{最大}}$ 。

33. 如权利要求 1 到 26 中任何一项所述的一种化合物用于治疗一位需要阿片样物质疗法的患者的用途。

34. 如权利要求 1 到 26 中任何一项所述的一种化合物用于制造一种药物以减少阿片样物质化合物 OP 的滥用潜在性的用途。

35. 一种包括经由一个共价键可逆地附接到一个能释放的部分上的一种 μ 、 κ 、或 δ 阿片样物质促效剂的药物前体用于在向其给予了一个给定摩尔量值的前药的一种哺乳动物的中枢神经系统中实现该 μ 、 κ 、或 δ 阿片样物质促效剂的一个蓄积率和一个 $C_{\text{最大}}$ 的用途,该蓄积率和 $C_{\text{最大}}$ 小于在当以非药物前体形式对该哺乳动物给药时一个等摩尔量值的该 μ 、 κ 、或 δ 阿片样物质促效剂的蓄积率和 $C_{\text{最大}}$ 。

具有低滥用潜在性的聚乙二醇化阿片样物质

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求于 2008 年 9 月 16 日提交的美国临时专利申请号 61/192, 247、以及于 2009 年 9 月 11 日提交的美国申请号 12/558, 395 的优先权, 通过引用将其披露内容以全文结合在此。

技术领域

[0003] 除其他之外, 本发明涉及共价地结合到一种水溶性低聚物上的阿片样物质促效剂 (即阿片样物质促效剂低聚物偶联物) 及其相关的用途, 除其他特性和优点之外, 这些偶联物具有降低的对于药物滥用的潜在性。

[0004] 背景

[0005] 很早就已经使用阿片样物质促效剂 (如吗啡) 来治疗遭受疼痛的患者。阿片样物质促效剂通过与阿片受体的交互作用而发挥它们的镇痛及其他药理学效应, 这些阿片受体有三个主要类别: μ (μ) 受体、 κ (κ) 受体、以及 δ (δ) 受体。虽然阿片样物质促效剂在其他的阿片受体下 (特别是在增加的浓度下) 典型地具有促效剂活性, 许多临床上使用的阿片样物质促效剂对于 μ 受体是有相对选择性的。

[0006] 阿片样物质 (至少部分地) 通过选择性抑制神经递质 (如乙酰胆碱、新肾上腺素、多巴胺、5-羟色胺、以及 P 物质) 的释放而发挥它们的效应。

[0007] 药理学上, 阿片样物质促效剂代表在疼痛的处理中所采用的一种重要的药剂类别。阿片样物质促效剂目前被用于镇痛, 然而, 包含相当大的成瘾特性, 这使它们在治疗实践中的使用变得复杂并且受到限制。源自于阿片样物质滥用的医学上、社会上以及经济上的复杂性对医师在开处方将阿片样物质用于慢性疼痛的能力上强加了严苛的限制。

[0008] 典型的阿片样物质快速通过血液 - 大脑 - 屏障 (BBB) 并且快速达到峰值浓度 (涉及阿片样物质滥用者所经历的“高度”)。有证据表明: 可以通过一种改变了的药物代谢动力学曲线而获得降低的成瘾特性, 该曲线将以一个恒定的低浓度将阿片样物质递送到脑, 从而避免传统递送方式的浓度峰值 (该浓度峰值是阿片样物质促效剂的成瘾潜在性的基础)。Balster and Schuster, *J Exp Anal Behav* 20:119-129(1973); Panlilio and Schindler, *Psychopharmacology* 150:61-66(2000); Winger 等, *J Pharmacol Exp Ther* 301:690-697(2002); Ko 等, *J Pharmacol Exp Ther* 301:698-704; Abreu 等, *Psychopharmacologia* 154:76-84(2001)。在这方面的研发努力已经主要集中在可替代的递送策略上, 如口服给予延迟释放片剂以及经皮贴剂。这些的目的是将一种恒定低浓度的药物供应到该循环中, 但通过以下事实而变得复杂, 即: 它们可以通过压碎或切碎而被物理地破坏, 从而使得该药物能够进入并且然后直接被注入该循环中以给出所希望的对于成瘾行为的药物代谢动力学曲线。

[0009] 因此在本领域中对于超过目前可供使用的用于镇痛的阿片样物质的、具有低成瘾性以及伴随的低滥用潜在性的阿片样物质促效剂存在一种需求。具体地讲, 对于对阿片样物质促效剂的改性存在一种需求, 从而改变该分子本身以及减慢血脑屏障的渗透这样使得

该药物的直接注入不会立即提供构成该成瘾“急需”基础的中枢神经系统的渗透量。本发明寻求通过提供共价地结合到水溶性低聚物上的多种阿片样物质促效剂而解决这个和其他需求,这些阿片样物质促效剂保留它们的镇痛特性但具有降低的对于药物滥用的潜在性。

[0010] 发明概述

[0011] 因此在一个方面,在此提供了一种具有化学式 OP-X-POLY 的阿片样物质化合物,其中 OP 是一种阿片样物质化合物, X 是一种连接物,并且 POLY 是一种小的水溶性低聚物。

[0012] 在一个相关的实施方案中,提供了一种组合物,该组合物包括具有化学式 OP-X-POLY 的一种化合物(其中 OP、X、以及 POLY 是如以上定义的)以及一种药学上可接受的赋形剂或载体。

[0013] 在另一个方面,提供了一种治疗需要阿片样物质疗法的患者的方法,该方法包括给予一个有效量的具有化学式 OP-X-POLY 的一种化合物。

[0014] 在又另一个方面,所提供的是一种降低阿片样物质化合物的滥用潜在性的方法,该方法包括将该化合物偶联到一种小的水溶性低聚物上。

[0015] 在一个此外的方面,所提供的是一种降低阿片样物质促效剂的成瘾特性的方法,该方法包括将该阿片样物质促效剂偶联到一种小的水溶性低聚物上。

[0016] 在另一个方面,所提供的是一种减小但没有实质性消除一种阿片样物质化合物的血脑屏障穿过速率的方法,该方法包括将该化合物偶联到一种小的水溶性低聚物上。

[0017] 在又另一个方面,所提供的是一种药物前体,该阿片样物质化合物前体包括经由一个共价键可逆地附接到一个能释放的水溶性低聚物部分上的一种 μ 、 κ 、或 δ 阿片样物质促效剂,其中将一个给定摩尔量值的该前体给予一位患者呈现出该 μ 、 κ 、或 δ 阿片样物质促效剂在该哺乳动物的中枢神经系统中的一个蓄积率和一个 $C_{\text{最大}}$,该蓄积率和 $C_{\text{最大}}$ 小于假如该 μ 、 κ 、或 δ 阿片样物质促效剂没有作为一种药物前体的部分给药时一个等摩尔量值的该 μ 、 κ 、或 δ 阿片样物质促效剂的蓄积率和 $C_{\text{最大}}$ 。

[0018] 当结合以下详细描述来阅读时,本发明的其他目的、方面、实施方案以及特征将变得更加充分明显。

[0019] 附图简要说明

[0020] 图 1 是一个曲线图,显示了不同 PEG_{低聚物}-纳布啡偶联物的脑:血浆比率,如在实例 8 中所更加详细说明的。该曲线图证明 PEG 偶联物导致纳布啡在脑:血浆比率上的一种下降。

[0021] 图 2 是一个曲线图,显示了在研究组中相对小鼠的总数 (n) 的扭体百分数对比在一个镇痛测定中所给予的 mPEG_n-O-吗啡偶联物的剂量,用于评估在小鼠中内脏疼痛的减少或预防的程度,如在实例 13 中所详细说明。将吗啡用作一种对照;还给予了非偶联的母体分子硫酸吗啡来提供一个另外的参考点。对属于以下偶联系列:mPEG_{2-7,9}-O-吗啡的偶联物进行了评估。

[0022] 图 3 是一个曲线图,显示了在研究组中相对小鼠的总数 (n) 的扭体百分数对比在一个镇痛测定中所给予的 mPEG_n-O-氢可酮偶联物的剂量,用于评估在小鼠中内脏疼痛的减少或预防的程度,如在实例 13 中所详细说明。将吗啡用作一种对照;还给予了非偶联的母体分子、羟考酮以提供一个另外的参考点。对属于以下偶联系列:mPEG_{1-4,6,7,9}-O-氢可酮的偶联物进行了评估。

[0023] 图 4 是一个曲线图,显示了在研究组中相对小鼠的总数 (n) 的扭体百分数对比在一个镇痛测定中所给予的 $mPEG_n-O-$ 可待因偶联物的剂量,用于评估在小鼠中内脏疼痛的减少或预防的程度,如在实例 13 中所详细说明。将吗啡用作一种对照;还给予了非偶联的母体分子、羟考酮以提供一个另外的参考点。对属于以下偶联系列: $mPEG_{3-7,9}-O-$ 可待因的偶联物进行了评估。

[0024] 图 5 至图 7 是表明对小鼠进行一种热板潜伏期镇痛测定的结果的绘图,如在实例 14 中所详细说明。确切地说,这些图对应于示出了以秒计的潜伏期(舔足趾的时间)对比化合物剂量的曲线图。图 5 提供了对于 $mPEG_{1-5}-O-$ 氢可酮偶联物连同非偶联的母体分子的结果;图 6 提供了对于 $mPEG_{1-5}-O-$ 吗啡偶联物连同非偶联的母体分子的结果;并且图 7 提供了对于 $mPEG_{2-5,9}-O-$ 可待因偶联物连同母体分子的结果。一个数据点旁边的一个星号的存在表明,对比 ANOVA/Dunnett's 盐水, $p < 0.05$ 。

[0025] 图 8 显示了对于这些化合物羟考酮 ($mPEG_0-$ 羟考酮)、 $mPEG_1-O-$ 氢可酮、 $mPEG_2-O-$ 氢可酮、 $mPEG_3-O-$ 氢可酮、 $mPEG_4-O-$ 氢可酮、 $mPEG_5-O-$ 氢可酮、 $mPEG_6-O-$ 氢可酮、 $mPEG_7-O-$ 氢可酮、以及 $mPEG_9-O-$ 氢可酮在如实例 16 中所说明对大鼠进行 1.0mg/kg 的静脉内给药之后的平均 (+SD) 血浆浓度-时间曲线。

[0026] 图 9 显示了对于这些化合物羟考酮 ($mPEG_0-$ 羟考酮)、 $mPEG_1-O-$ 氢可酮、 $mPEG_2-O-$ 氢可酮、 $mPEG_3-O-$ 氢可酮、 $mPEG_4-O-$ 氢可酮、 $mPEG_5-O-$ 氢可酮、 $mPEG_6-O-$ 氢可酮、 $mPEG_7-O-$ 氢可酮、以及 $mPEG_9-O-$ 氢可酮在如实例 16 中所说明对大鼠进行 5.0mg/kg 的口服给药的平均 (+SD) 血浆浓度-时间曲线。

[0027] 图 10 显示了对于这些化合物吗啡 ($mPEG_0-$ 吗啡)、以及 $mPEG_{1-7,9}-O-$ 吗啡偶联物在如实例 17 中所说明对大鼠进行 1.0mg/kg 的静脉内给药后的平均 (+SD) 血浆浓度-时间曲线。

[0028] 图 11 显示了对于这些化合物吗啡 ($mPEG_0-$ 吗啡)、以及 $mPEG_{1-7,9}-O-$ 吗啡偶联物在如实例 17 中所说明对大鼠进行 5.0mg/kg 的口服给药后的平均 (+SD) 血浆浓度-时间曲线。

[0029] 图 12 显示了对于这些化合物可待因 ($mPEG_0-$ 可待因)、以及 $mPEG_{1-7,9}-O-$ 可待因偶联物在如实例 18 中所说明对大鼠进行 1.0mg/kg 的静脉内给药后的平均 (+SD) 血浆浓度-时间曲线。

[0030] 图 13 显示了对于这些化合物可待因 ($mPEG_0-$ 可待因)、以及 $mPEG_{1-7,9}-O-$ 可待因偶联物在如实例 18 中所说明对大鼠进行 5.0mg/kg 的口服给药之后的平均 (+SD) 血浆浓度-时间曲线。

[0031] 图 14A、图 14B、以及图 14C 展示了对应的不同低聚物 $mPEG_n-O-$ 吗啡、 $mPEG_n-O-$ 可待因、以及 $mPEG_n-O-$ 氢可酮偶联物在如实例 21 中所说明对大鼠进行 IV(静脉内)给药之后的脑:血浆比率。在每个图中提供了阿替洛尔的脑:血浆比率作为一种用于比较的基础。

[0032] 图 15A 至图 15H 展示了吗啡和不同 $mPEG_n-O-$ 吗啡偶联物如在实例 22 中所说明对大鼠进行 IV 给药之后随着时间的脑和血浆浓度。图 15A(吗啡, $n = 0$);图 15B($n = 1$);图 15C($n = 2$);图 15D($n = 3$);图 15E($n = 4$);图 15F($n = 5$);图 15G($n = 6$);图 15H($n = 7$)。

[0033] 图 16A 至图 16H 展示了可待因和不同 $mPEG_n-O-$ 可待因偶联物如在实例 22 中所说明对大鼠进行 IV 给药之后随着时间的脑和血浆浓度。图 16A(可待因, $n = 0$);图 16B($n = 1$);图 16C($n = 2$);图 16D($n = 3$);图 16E($n = 4$);图 16F($n = 5$);图 16G($n = 6$);图 16H($n = 7$)。

= 1) ;图 16C(n = 2) ;图 16D(n = 3) ;图 16E(n = 4) ;图 16F(n = 5) ;图 16G(n = 6) ;图 16H(n = 7)。

[0034] 图 17A 至图 17H 展示了羟考酮和不同 mPEG_n-O- 羟考酮偶联物如在实例 22 中所说明对大鼠进行 IV 给药之后随着时间的脑和血浆浓度。图 17A(羟考酮, n = 0) ;图 17B(n = 1) ;图 17C(n = 2) ;图 17D(n = 3) ;图 17E(n = 4) ;图 17F(n = 5) ;图 17G(n = 6) ;图 17H(n = 7)。

[0035] 图 18A 至图 18C 展示了某些示例性的 PEG_{低聚物}-阿片样物质偶联物与对照化合物安替比林以及非偶联的阿片样物质相比的脑渗透率 (Kin 值), 如在实例 3 中所详细说明的。具体地说, 图 18A 展示了对于 mPEG_n-O- 吗啡偶联物 (其中 n = 1、2、3、以及 7) 与对照化合物吗啡以及安替比林相比较的结果。图 18B 展示了对于 mPEG_n-O- 可待因偶联物 (其中 n = 2、3、以及 7) 与对照化合物可待因以及安替比林相比较的结果。图 18C 展示了对于 mPEG_n-O- 氢可酮偶联物 (其中 n = 1、2、3、以及 7) 与对照化合物羟考酮以及安替比林相比较的结果。

[0036] 图 19 提供了一个曲线图, 该曲线图展示了对于 mPEG_n-O- 吗啡、mPEG_n-O- 可待因、以及 mPEG_n-O- 氢可酮偶联物的脑渗透率 Kin 对比 PEG 低聚物尺寸, 如在实例 3 中所详细说明。

[0037] 发明详细说明

[0038] 定义

[0039] 如在本说明书中所使用的, 单数形式“一个 (a/an)”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。

[0040] 在对本发明进行说明并且提出权利要求时, 以下术语将根据以下描述的定义进行使用。

[0041] 术语“阿片样物质化合物”和“阿片样物质促效剂”在此广义上用于指一种有机的、无机的、或有机金属的化合物, 典型地具有小于约 1000 道尔顿 (并且典型地小于 500 道尔顿) 的分子量并且具有如一种 μ 、 δ 、和 / 或 κ 促效剂的某种程度的活性。阿片样物质促效剂包括低聚肽及其他具有小于约 1500 的分子量的生物分子。

[0042] 在此使用的术语“间隔基部分”、“连接”、以及“连接物”是指一种原子或任选的被用于连接多个互连部分 (如一种聚合物区段的末端和一种阿片样物质化合物或一种阿片样物质化合物的一种亲电体或亲核体) 的一个原子集合。该间隔基部分可以是水解方面稳定的或者可能包括一个生理学上可水解的或者酶可降解的连接。除非上下文另外清楚地指明, 一种间隔基部分可任选地存在于一种化合物 (例如、所提供的偶联物, 这些偶联物包括可以直接或间接地通过一个间隔基部分而附接的一种水溶性低聚物和一种阿片样物质化合物) 的任何两个成分之间。

[0043] “水溶性低聚物”是指一种非肽的低聚物, 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了同一溶液在过滤后所透射的光的量的至少 75%、更优选至少 95%。然而最优选地, 水溶性低聚物在水中是至少 95% (按重量计) 可溶的或在水中是完全可溶的。对于“非肽的”, 当一种低聚物具有小于 35% (按重量计) 的氨基酸残基时它是非肽的。

[0044] 术语“单体”、“单体亚单位”以及“单体单元”在此可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中的一种。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。该水溶性低聚物典型地包括一种或多种连续附连的单体以形成一个单体链。该低聚物可以从一种单一的单体类型（即，是均-低聚的）或两种或三种单体类型（即，是共-低聚的）形成。

[0045] “低聚物”是具有从约 2 至约 50 个单体、优选从约 2 至约 30 个单体的分子。低聚物的构造可以改变。用于本发明的具体的低聚物包括在以下更详细描述的具有多种几何形状的（例如直链、支链或叉状的）那些。

[0046] 如在此所使用的，“PEG”或“聚乙二醇”是指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”（又称为低聚乙二醇）是一种其中基本上所有（并且更优选所有）单体的亚单位是氧化乙烯亚单位的一种物质。然而，该低聚物可以包含明显的封端帽部分或官能团（例如用于偶联）。典型地，用于本发明的 PEG 低聚物将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（例如在合成转化的过程中）。对于 PEG 低聚物，“n”从大约 2 到 50、优选地从大约 2 到大约 30 变化，并且该总体 PEG 的端基和构造可以变化。当 PEG 进一步包括一个官能团 A 用于连接至例如一种阿片样物质化合物时，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 ($-\text{O}-\text{O}-$ ，一种过氧化物连接) 或 (ii) 一个氮-氧键 ($\text{N}-\text{O}$ 、 $\text{O}-\text{N}$)。

[0047] 一种“封端基团”总体上是附接在一种 PEG 低聚物的末端氧上的一种非反应性的含碳基团。示例性的封端基团包括 C_{1-5} 烷基（如甲基、乙基以及苄基），连同芳基、杂芳基、环、杂环，以及类似物。为了本发明的目的，这些优选的封端基团具有相对低的分子量，如甲基或乙基。该封端基团还可以包括一个可检出的标记物。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、比色标记（例如染料）、金属离子、以及放射性部分。

[0048] 提到一种低聚物的几何形状或总体结构，“分支的”是指具有两个或多个聚合物（代表从一个分支点延伸出的离生的“多个臂”）的一种低聚物。

[0049] 对于一种低聚物的几何形状或总体结构，“叉状的”是指具有从一个分支点延伸出的两个或多个官能团（典型地经由一个或多个原子）的一种低聚物。

[0050] 一个“分支点”是指包括一个或多个原子的一个分支点，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。

[0051] 术语“反应性的”或“活化的”是指一种官能团，该官能团在常规的有机合成的条件下容易地或以一个实际的速率进行反应。这与不反应的或要求强催化剂或不实际的反应条件而进行反应的那些基团（即，“不反应的”或“惰性的”基团）不同。

[0052] 对于在一个反应混合物中存在的一种官能团，“不容易反应的”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。

[0053] “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。该保护基将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

条件以及在分子中另外的反应性或保护性基团的存在而改变。可以受保护的官能团包括, 作为举例: 羧酸基团、氨基、羟基、硫醇基、羰基以及类似物。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; 对于氨基是氨基甲酸酯(例如叔丁氧基羰基)以及酰胺; 对于羟基是醚类以及酯类; 对于硫醇基是硫醚类以及硫酯类; 对于羰基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*, 第三版, Wiley, New York, 1999 中, 以及其中引用的参考文件。

[0054] 处于“保护形式”的官能团是指带有一个保护基的官能团。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。

[0055] 一种“生理学上可断裂的”键是一种可水解的键或一种酶可降解的连接。一个“可水解的”或“可降解的”键是在普通生理条件下与水反应(即, 被水解)的一个相对不稳定的键。一个键在普通生理条件下在水中水解的倾向将不仅取决于连接两个中心原子连接的总体类型, 而且还取决于附接在这些中心原子上的取代基。此类键总体上是可由本领域的那些技术人员可认识到的。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、以及碳酸酯类。

[0056] 一种“酶可降解的连接”是指在普通的生理条件下经受被一种或多种酶所降解的一种连接。

[0057] “可释放地附接”, 例如关于一种阿片样物质化合物可释放地附接到一种水溶性低聚物, 是指一种阿片样物质化合物, 该阿片样物质化合物经由一种连接物共价地附接, 该连接物包括如在此所披露的一种生理学上可断裂的或可降解的(包括酶性的)连接, 其中一旦降解(例如通过水解), 该阿片样物质化合物就被释放。如此释放的阿片样物质化合物将典型地与未改性的阿片样物质化合物对应, 或可能有轻微地改变, 例如拥有大约 8 个原子的一种短的有机标签, 例如, 典型地起因于不直接与该阿片样物质化合物邻接的水溶性低聚物连接物的一部分的裂解。优选地, 该未改性的阿片样物质化合物被释放。

[0058] 一种“稳定的”连接或键是指一种化学的部分或键, 典型地是一个共价键, 该共价键在水中是基本上稳定的, 即, 在普通的生理条件下经过延长的时段不以任何可观的程度经历水解。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普通生理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] 在描述在一种给定的组合物中的低聚物的一致性的背景中, “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% 或更高是所给定量中最优选的。

[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数目的单体, 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, 基本上包括具有一个单个的并且可定义数目的单体而不是若干不同数目的单体(即具有三种或更多种不同低聚物尺寸的低聚物组合物)。一

种单分散低聚物组合物具有 1.0005 或更少的一个 MW/Mn 值,并且更优选为 1.0000 的 MW/Mn 值。引申开来,由单分散偶联物构成的一种组合物是指在组合物中的所有偶联物基本上都具有一个单一并且可定义数目(作为一个整数)的单体而不是一个分布并且将具有为 1.0005 的 MW/Mn 值并且若该低聚物没有附接到阿片样物质促效剂的残基上,则更优选 MW/Mn 的值为 1.0000。然而包括单分散偶联物的一种组合物可以包括一种或多种非偶联的物质,例如溶剂、试剂、赋形剂等等。

[0061] 提及一种低聚物组合物时,“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单体的两个可定义的并且不同的数目(作为整数)的其中之一而不是一个分布,并且其分子量分布当作为数目分数对比分子量而作图时,显示出两个单独的可识别的峰。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,包括双峰偶联物的一种组合物的意思是基本上在该组合物中的所有偶联物的所有低聚物都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应当具有 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,并且若该低聚物没有附接到阿片样物质促效剂的残基上,则最优选 1.0000 的 MW/Mn 值。然而由双峰偶联物构成的一种组合物可以包括一种或多种非偶联的物质,例如溶剂、试剂、赋形剂等等。

[0062] 一种“生物膜”是典型地由作为对至少某些外来实体或另外地所不希望的材料起屏障作用的专门的细胞或组织组成的任何膜。如在此使用的,一种“生物膜”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、直肠粘膜等。在某些背景下术语“生物膜”不包括与中央胃肠道(例如胃和小肠)相连的那些膜。例如,在一些情况下,对于本发明的一种化合物可能希望的是具有一种有限的穿过血脑屏障的能力,又希望该同一种化合物穿过中央胃肠道。

[0063] 如在此使用的,一种“生物膜穿过速率”提供了对一种化合物穿过一种生物膜(如与血脑屏障相联的膜)的能力的量度。可以使用多种方法来评定一种分子穿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(例如,血-脑脊液屏障、血-胎盘屏障、血-乳屏障、肠内屏障等)穿过速率的方法在本领域中是已知的,将其描述于此和/或相关文献中,和/或可以由本领域普通技术人员确定。

[0064] “烷基”是指一个烃链,典型地在长度上范围从大约 1 至 20 个原子。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,当提及三个或多个碳原子时,“烷基”包括环烷基。一种“链烯基”基团是具有 2 至 20 个碳原子的一种烷基,具有至少一个碳-碳双键。

[0065] 术语“取代的烷基”或“取代的 C_{q-r} 烷基”,其中 q 和 r 是标识该烷基中所包含的碳原子范围的整数,表示由一个、两个、或三个卤(例如 F、Cl、Br、I)、三氟甲基、羟基、C₁₋₇ 烷基(如甲基、乙基、正丙基、异丙基、丁基、叔丁基、等等)、C₁₋₇ 烷氧基、C₁₋₇ 酰氧基、C₃₋₇ 杂环、氨基、苯氧基、硝基、羧基、酰基、氰基取代的以上这些烷基。这些被取代的烷基可以用相同

或用不同的取代基被取代一次、两次、或三次。

[0066] “低级烷基”是指含有从 1 至 6 个碳原子的烷基,并且可以是直链或支链的,如以下例子:甲基、乙基、正丁基、异丁基、叔丁基。“低级链烯基”是指具有至少一个碳-碳双键的具有 2 至 6 个碳原子的一种低级烷基。

[0067] “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典型地是非反应性的那些基团。

[0068] “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、苜基等),优选 C₁-C₇。

[0069] “药学上可接受的赋形剂”或“药学上可接受的载体”是指那些可以包含在本发明的组合物中以便提供一种组合物的组分,所提供的该组合物具有一种超过缺乏该组分的一种组合物的优点(例如,更适于对一位患者给药)并且这被公认为不会对患者引起显著不利的毒理学作用。

[0070] 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、并四苯基、以及类似物。“取代的苯基”以及“取代的芳基”对应地表示用一个、两个、三个、四个或五个((例如,1-2,1-3 或 1-4)取代基所取代的一个苯基团以及芳基团,这些取代基是选自卤素(F、Cl、Br、I)、羟基、羧基、氰基、硝基、烷基(例如 C₁₋₆ 烷基)、烷氧基(例如 C₁₋₆ 烷氧基)、苜氧基、羧基、芳基等等。

[0071] 一种“含芳香化合物的部分”是包含至少芳基以及可任选地一个或多个原子的一个原子集合。在此说明了适当的含芳香化合物的部分。

[0072] 为了简明性,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描述为“芳基”的情形下,本领域的普通技术人员会理解到,术语“芳基”是指对应的二价部分,亚芳基)。所有原子都应理解为对于键的形成而言具有它们正常的化合价数(即,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,来指在血流或在靶组织中提供一个所希望水平的活性试剂和/或偶联物的阈值水平而需要的、在一种组合物中存在的水溶性低聚物阿片样物质化合物偶联物的量。精确的量将取决于诸多因素,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、患者的考虑因素等,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”是指患有有一种可以通过给予在此描述的一种偶联物（典型地但不是必需的处于一种水溶性低聚物阿片样物质化合物偶联物的形式）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] “可任选的”或“可任选地”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] 除非上下文清楚地指出，否则，当术语“大约”在一个数值之前时，该数值应被理解是指所陈述的数值以及还有 \pm 所陈述的数值的 10%。

[0079] 水溶性低聚物阿片样物质偶联物

[0080] 如以上所指示，本披露是针对（除其他之外）具有以下化学式的化合物：

[0081] OP-X-POLY

[0082] 其中 OP 是一种阿片样物质化合物，X 是一种连接物，并且 POLY 是一种小的水溶性低聚物。在制备并且表征这些受试偶联物时，诸位发明人已经发现：一种阿片样物质化合物与一种小的水溶性低聚物的衍生作用减小了该阿片样物质化合物向脑的递送速度。基于该阿片样物质促效剂分子本身的共价改性，在此所说明的这些偶联物代表超过现有技术的阿片样物质促效剂配制品抗滥用的一种改进。即，与小的水溶性低聚物偶联的阿片样物质化合物拥有改变的代谢动力学特征曲线，但经受实体改动 (physical tampering) 的风险，实体改动允许与某些替代物递送配制品（如经皮贴剂）相关的快速起作用的阿片样物质化合物的回收和滥用。

[0083] 阿片样物质

[0084] 因此，OP 可以是任何阿片样物质化合物，包括与 μ (μ)、 κ (κ)、或 δ (δ) 阿片受体反应的任何化合物、或其任何组合。在一个实施方案中，该阿片样物质对于该 μ (μ) 阿片受体是选择性的。在另一个实施方案中，该阿片样物质对于该 κ (κ) 阿片受体是选择性的。在一个此外的实施方案中，该阿片样物质对于该 δ (δ) 阿片受体是选择性的。适合使用的阿片样物质可以是天然发生的、半-合成的或合成的分子。

[0085] 可以使用的阿片样物质化合物包括但不限于：醋托啡、醋氢可待因、乙酰基双氢可待因酮、乙酰基吗啡酮、阿芬太尼、烯丙罗定、阿法罗定、阿尼利定、苯吗啡、贝齐米特、biphalin、丁丙诺啡、布托啡诺、氯尼他秦、可待因、地素吗啡、右吗拉胺、地佐辛、地恩丙胺、二醋吗啡 (diamorphone)、双氢可待因、双氢吗啡、地美沙朵、地美庚醇、二甲噻丁、吗苯丁酯、地匹哌酮、强啡肽（包括 dynorphin A 和 dynorphin B）、内啡肽（包括 β -内啡肽和 α/β -新-内啡肽）、脑啡肽（包括 Met-脑啡肽和 Leu-脑啡肽）、依他佐辛、依索庚嗪、乙甲噻丁、乙基吗啡、依托尼秦、埃托啡、二氢埃托啡、芬太尼及衍生物、海洛英、氢可酮、氢吗啡酮、羟哌替啶、异美沙酮、凯托米酮、左吗南、左芬啡烷、洛芬太尼、哌替啶、美普他酚、美他佐辛、美沙酮、美托酮、吗啡、麦罗啡、那碎因、尼可吗啡、去甲左啡诺、去甲美沙酮、烯丙吗啡、纳布啡、去甲吗啡、诺匹哌酮、阿片、羟考酮、羟吗啡酮、阿片全碱、喷他佐辛、苯吗庚酮、非诺啡烷、非那佐辛、苯哌利定、匹米诺定、哌替米特、普罗庚嗪、二甲哌替啶、丙哌利定、右丙氧芬、舒芬太尼、替利定、以及曲马多。

[0086] 在某些实施方案中，该阿片样物质促效剂是选自下组，其组成为：氢可酮、吗啡、氢吗啡酮、羟考酮、可待因、左吗南、哌替啶、美沙酮、羟吗啡酮、丁丙诺啡、芬太尼、地匹哌酮、海洛英、曲马多、纳布啡、埃托啡、二氢埃托啡、布托啡诺、以及左吗南。

[0087] 在其他实施方案中,该阿片样物质促效剂是选自下组,其组成为:芬太尼、氢吗啡酮、美沙酮、吗啡、可待因、羟考酮、以及羟吗啡酮。

[0088] 还可以使用任何具有阿片样物质促效剂活性的其他阿片样物质化合物。在此所说明的用于确定一种给定的化合物(无论该化合物是否处于偶联的形式)是否可以作为一种阿片受体上的促效剂的测定在本领域中是已知的。

[0089] 在一些情况下,阿片样物质促效剂可以从商业来源获得。另外,可以使用有机化学合成的标准技术合成阿片样物质促效剂。在文献中以及例如在美国专利号 2,628,962、2,654,756、2,649,454 以及 2,806,033 中说明了用于制备阿片样物质促效剂的合成方法。

[0090] 这些(以及其他)阿片样物质促效剂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)一种水溶性低聚物上。

[0091] 在本发明中有用的阿片样物质化合物总体上具有小于大约 1500Da(道尔顿)、以及甚至更典型地小于大约 1000Da 的分子量。阿片样物质化合物的示例性的分子量包括以下分子量:小于约 950Da;小于约 900Da;小于约 850Da;小于约 800Da;小于约 750Da;小于约 700Da;小于约 650Da;小于约 600Da;小于约 550Da;小于约 500Da;小于约 450Da;小于约 400Da;小于约 350Da;以及小于约 300Da。

[0092] 在本发明中使用的阿片样物质化合物若是手性的话可以是处于一种消旋混合物或一种任选活化的形式,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,该阿片样物质化合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阿片样物质化合物可以处于其常规的活性形式或可以具有某种程度的改性。例如,一种阿片样物质化合物在共价地附接到一种低聚物上之前或之后可以具有附接到其上的一种靶向剂、标签或转载体。可替代地,该阿片样物质化合物可以具有附接到其上的一个亲脂性部分,如一个磷脂(例如,二硬脂酰磷脂酰乙醇胺或“DSPE”、二肉豆蔻酰磷脂酰乙醇胺或“DPPE”等)或一种小的脂肪酸。然而,在一些情况下,优选的是该阿片样物质化合物不包括到一个亲脂性部分上的附接。

[0093] 用于偶联到一种水溶性低聚物上的阿片样物质促效剂具有适合于共价地附接到该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,“柄(handle)”)。此外,可以通过引入一个反应性基团对该阿片样物质促效剂进行改性,优选地通过将其存在的官能团中的一个转化成一个适合于在该低聚物 and 该阿片样物质化合物之间形成稳定的共价连接的官能团。

[0094] 水溶性低聚物

[0095] 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;磷脂、噁唑啉、氨基酸、碳水化合物类,如单糖、糖化物、或甘露醇;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。

[0096] 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均-低聚物。通常(尽管并非必须是必须的),没有共价地附接到一种阿片样物质化合物上的低聚物的这个末端(或这些末端)被帽化以使其为非反应性的。可替代的,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或者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一种阿片样物质化合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)。

[0097] 该水溶性低聚物(例如处于在此提供的多种结构的“POLY”)可以具有多种几何形状中的任何一种。例如,它可以是直链的、支链的、或叉状的。最典型地,该水溶性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)作为一种说明性的低聚物,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低聚物。

[0098] 该水溶性低聚物的分子量(排除该连接物部分)在某些实施方案中总体上是相对低的。例如,该水溶性低聚物的分子量典型地是低于大约 2200 道尔顿,并且更典型地处于大约 1500 道尔顿或以下。在某些其他实施方案中,该水溶性低聚物的分子量可以低于 800 道尔顿。

[0099] 在某些实施方案中,该水溶性低聚物的分子量的示例性值包含小于或等于约 500 道尔顿、或小于或等于约 420 道尔顿、或小于或等于约 370 道尔顿、或小于或等于约 370 道尔顿、或小于或等于约 325 道尔顿、小于或等于约 280 道尔顿、小于或等于约 235 道尔顿、或小于或等于约 200 道尔顿、小于或等于约 175 道尔顿、或小于或等于约 150 道尔顿、或小于或等于约 135 道尔顿、小于或等于约 90 道尔顿、或小于或等于约 60 道尔顿、或甚至小于或等于约 45 道尔顿。

[0100] 在其他实施方案中,该水溶性低聚物的分子量的示例性值(排除该连接物部分)包括:低于约 1500 道尔顿;低于约 1450 道尔顿;低于约 1400 道尔顿;低于约 1350 道尔顿;低于约 1300 道尔顿;低于约 1250 道尔顿;低于约 1200 道尔顿;低于约 1150 道尔顿;低于约 1100 道尔顿;低于约 1050 道尔顿;低于约 1000 道尔顿;低于约 950 道尔顿;低于约 900 道尔顿;低于约 850 道尔顿;低于约 800 道尔顿;低于约 750 道尔顿;低于约 700 道尔顿;低于约 650 道尔顿;低于约 600 道尔顿;低于约 550 道尔顿;低于约 500 道尔顿;低于约 450 道尔顿;低于约 400 道尔顿;以及低于约 350 道尔顿;但在每种情况下均高于约 250 道尔顿。

[0101] 在某些其他实施方案中,将该阿片样物质共价地附接到一种水溶性聚合物(即具有超过 50 个重复亚单位的部分)上而非键合到一种低聚物上。例如,该水溶性聚合物的分子量(排除该连接部分)可以是低于约 80,000 道尔顿;低于约 70,000 道尔顿;低于约 60,000 道尔顿;低于约 50,000 道尔顿;低于约 40,000 道尔顿;低于约 30,000 道尔顿;低于约 20,000 道尔顿;低于约 10,000 道尔顿;低于约 8,000 道尔顿;低于约 6,000 道尔顿;低于约 4,000 道尔顿;低于约 3,000 道尔顿;以及低于约 2,000 道尔顿;但在每种情况下均高于约 250 道尔顿。

[0102] 在某些实施方案中,该水溶性低聚物(排除该连接物)的分子量的示例性范围包括:从约 45 至约 225 道尔顿;从约 45 至约 175 道尔顿;从约 45 至约 135 道尔顿;从约 45 至约 90 道尔顿;从约 90 至约 225 道尔顿;从约 90 至约 175 道尔顿;从约 90 至约 135 道尔顿;从约 135 至 225 道尔顿;从约 135 至 175 道尔顿;以及从约 175 至约 225 道尔顿。

[0103] 在其他替代实施方案中,该水溶性低聚物(排除该连接物)的分子量的示例性范围包括:从约 250 至约 1500 道尔顿;从约 250 至约 1200 道尔顿;从约 250 至约 800 道尔顿;从约 250 至约 500 道尔顿;从约 250 至约 400 道尔顿;从约 250 至约 500 道尔顿;从约 250 至约 1000 道尔顿;以及从约 250 至约 500 道尔顿。

[0104] 在其他涉及水溶性聚合物键合的阿片样物质的实施方案中,该水溶性聚合物(排除该连接物)的分子量的示例性范围包括:从约 2,000 至约 80,000 道尔顿;从约 2,000 至约 70,000 道尔顿;从约 2,000 至约 60,000 道尔顿;从约 2,000 至约 50,000 道尔顿;从约 2,000 至约 40,000 道尔顿;从约 2,000 至约 30,000 道尔顿;从约 2,000 至约 20,000 道尔顿;从约 2,000 至约 10,000 道尔顿;从约 2,000 至约 8,000 道尔顿;从约 2,000 至约 6,000 道尔顿;从约 2,000 至约 4,000 道尔顿;从约 2,000 至约 3,000 道尔顿;从约 10,000 至约 80,000 道尔顿;从约 10,000 至约 60,000 道尔顿;从约 10,000 至约 40,000 道尔顿;从约 30,000 至约 80,000 道尔顿;从约 30,000 至约 60,000 道尔顿;从约 40,000 至约 80,000 道尔顿;以及从约 60,000 至约 80,000 道尔顿。

[0105] 在该水溶性低聚物中的单体数目可以在约 1 与约 1825(包含)之间,包括在这个范围之内全部整数值。

[0106] 优选地,在一些实施方案中,在该水溶性低聚物中的单体的数目落入以下包括端值的范围中的一个或多个之内:在 1 与 5 之间(即,是选自 1、2、3、4、以及 5);在 1 与 4 之间(即可以是 1、2、3、或 4);在 1 与 3 之间(即选自 1、2、或 3);在 1 与 2 之间(即可以是 1 或 2);在 2 与 5 之间(即可以是选自 2、3、4、与 5);在 2 与 4 之间(即是选自 2、3、以及 4);在 2 与 3 之间(即是 2 或 3);在 3 与 5 之间(即是 3、4 或 5);在 3 与 4 之间(即是 3 或 4);以及在 4 与 5 之间(即是 4 或 5)。在一个确切的例子中,在该低聚物(以及该对应的偶联物)中的串联的单体的数目是选自 1、2、3、4、或 5。因此,例如,在该水溶性低聚物包含 $\text{CH}_3-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n-$ 时,“n”可以是 1、2、3、4、或 5 的整数。

[0107] 优选地,在其他实施方案中,在该水溶性低聚物中的单体的数目落入以下包括端值的范围中的一个或多个之内:在 6 与 30 之间(即,是选自 6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、以及 30);在 6 与 25 之间(即,是选自 6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、以及 25);在 6 与 20 之间(即,是选自 6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、以及 20);在 6 与 15 之间(是选自 6、7、8、9、10、11、12、13、14、15);在 6 与 10 之间(即,是选自 6、7、8、9、以及 10);在 10 与 25 之间(即,是选自 10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、以及 25);以及在 15 与 20 之间(即,是选自 15、16、17、18、19、以及 20)。在某些例子中,在该低聚物(以及对应的偶联物)中的串联的单体的数目是 6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、或 25 之一。因此,例如,当该水溶性低聚物包含 $\text{CH}_3-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n-$ 时,“n”可以是 6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、或 25 的整数。

[0108] 在某些其他实施方案中,在该水溶性低聚物中的单体的数目落入以下包含范围中的一个或多个之内:在 35 与 1825 之间;在 100 与 1800 之间;在 200 与 1600 之间;在 400 与 1400 之间;在 600 与 1200 之间;在 800 与 1000 之间;在 35 与 1000 之间;在 35 与 600 之间;在 35 与 400 之间;在 35 与 200 之间;在 35 与 100 之间;在 1000 与 1825 之间;在 1200 与 1825 之间;在 1400 与 1825 之间;以及在 1600 与 1825 之间。

[0109] 当该水溶性低聚物具有 1、2、3、4、或 5 个单体时,这些值所对应的甲氧基封端的低聚(氧化烯)具有分别为约 75、119、163、207、以及 251 道尔顿的分子量。当该低聚物具有 6、7、8、9、10、11、12、13、14、或 15 个单体时,这些值所对应的甲氧基封端的低聚(氧化烯)具有分别为约 295、339、383、427、471、515、559、603、647、以及 691 道尔顿的分子量。

[0110] 当该水溶性低聚物附接到该阿片样物质促效剂(与分步加入一个或多个单体以将该低聚物有效地“种”在该阿片样物质促效剂上)时,优选地是包含该活化形式的水溶性低聚物的组合物是单分散的。然而在那些例子中,在使用一种双峰组合物时,该组合物会具有以如上数目的单体中的任何两个为中心的一个双峰分布。理想地,在双峰分布中各峰的多分散性指数 M_w/M_n 是 1.01 或更小,并且甚至更优选是 1.001 或更小,并且甚至更优选 1.0005 或更小。最优选各峰具有值为 1.0000 的 M_w/M_n 。例如,一种双峰低聚物可以具有以下示例性的单体亚单位组合中的任何一种: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。

[0111] 在一些情况下,包含一种活化形式的水溶性低聚物的组合物将是三峰或甚至四峰的,具有如上所描述的单体单元范围。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物来制备以获得所希望的特征曲线的低聚物(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)、或可替代地,可以从一种多分散低聚物的柱色谱法通过回收“中心馏分”而获得,以获得在所希望的以及限定的分子量范围内的多种低聚物的混合物。

[0112] 优选的是该水溶性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。水溶性低聚物可以如以下描述的来制备:Chen and Baker, J. Org. Chem., 6870-6873(1999)、WO 02/098949、以及美国专利申请公布 2005/0136031。

[0113] 间隔基 / 连接物部分

[0114] 当存在时,该间隔基部分(通过它将该水溶性低聚物附接到阿片样物质促效剂上)可以是一个单键、一个单个原子(如一个氧原子或一个硫原子)、两个原子或许多个原子。特别是“X”可以代表在 OP 与 POLY 之间的一个共价键,或者可替代的它可以代表在 OP 和 / 或单独的 POLY 上不存在的化学的部分。一个间隔基部分在性质上典型地但是并非必须是直链的。在某些实施方案中,该间隔基部分“X”优选地是水解稳定的,并且还优选地是酶解稳定的。在其他实施方案中,该间隔基部分“X”优选是生理学上可断裂的,即水解可断裂的或酶可降解的。优选地,该间隔基部分“X”是具有小于约 12 个原子、并且优选地小于大约 10 个原子、以及甚至更优选地小于大约 8 个原子、以及甚至更优选地小于大约 5 个原子的链长的一个部分,由此长度是指在一个单一链中原子的数目,不计算取代基。例如,一个脲连接例如 $R_{\text{低聚物}}-\text{NH}-(\text{C}=\text{O})-\text{NH}-R'_{\text{OP}}$, 被认为具有 3 个原子的链长度 $(-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-\text{NH}-)$ 。在所选择的实施方案中,该间隔基部分的连接不包括额外的间隔基。

[0115] 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。官能团典型地被用于形成这些连接。该间隔基部分还可以较为不优选地包括间隔基团(或是与其邻近的或是在其侧面),如以下进一步描述的。

[0116] 更确切地说,在所选择的实施方案中,间隔基部分 X 可以是以下各项中的任何一个:“-”(即在该阿片样物质促效剂的残基与该水溶性低聚物之间的一个共价键,该共价键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-、-CH₂-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-、-CH-CH₂-CH₂-CH₂-O-、-C(O)-NH-CH₂-、-C(O)-NH-CH₂-CH₂-、-CH₂-C(O)-NH-CH₂-、-CH₂-CH₂-C(O)-NH-、-C(O)-NH-CH₂-CH₂-CH₂-、-CH₂-C(O)-NH-CH₂-CH₂-、-CH₂-CH₂-C(O)-NH-CH₂-、-CH₂-CH₂-CH₂-C(O)-NH-、-C(O)-NH-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-、-CH₂-C(O)-NH-CH₂-CH₂-CH₂-、-CH₂-CH₂-C(O)-NH-CH₂-CH₂-、-CH₂-CH₂-CH₂-C(O)-NH-、-NH-C(O)-CH₂-、-CH₂-NH-C(O)-CH₂-、-CH₂-CH₂-NH-C(O)-CH₂-、-NH-C(O)-CH₂-CH₂-、-CH₂-NH-C(O)-CH₂-CH₂-、-C(O)-NH-CH₂-、-O-C(O)-NH-CH₂-CH₂-、-NH-CH₂-、-NH-CH₂-CH₂-、-CH₂-NH-CH₂-、-CH₂-CH₂-NH-CH₂-、-C(O)-CH₂-、-C(O)-CH₂-CH₂-、-CH₂-C(O)-CH₂-、-CH₂-CH₂-C(O)-CH₂-、-CH₂-CH₂-C(O)-、-CH₂-CH₂-CH₂-C(O)-NH-CH₂-CH₂-NH-、-CH₂-CH₂-CH₂-C(O)-NH-CH₂-CH₂-NH-C(O)-、-CH₂-CH₂-CH₂-C(O)-NH-CH₂-CH₂-NH-C(O)-、二价环烷基、-N(R⁶)-,其中 R⁶ 是 H 或选自下组的一种有机的基团,该组的组成为:烷基、取代的烷基、链烯基、取代的链烯基、炔基、取代的炔基、芳基和取代的芳基。

[0117] 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间隔基部分,并且该原子团是与该低聚物的一个单体相同的,这样使得该基团将仅代表该低聚物链的一个延伸。

[0118] 偶联

[0119] 在该水溶性低聚物与该阿片样物质化合物之间的连接“X”典型地是通过在该低聚物的终端上的一种官能团(或当希望将该低聚物“种”在该阿片样物质促效剂上时的一个或多个单体)与在该阿片样物质促效剂内对应的官能团的反应而形成的。例如,低聚物上的氨基可以与阿片样物质化合物上的羧酸或活化的羧酸衍生物(或反之亦然)进行反应来产生一个酰胺连接。可替代地,在低聚物上的胺与该阿片样物质化合物上的活化的碳酸酯(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。在低聚物上的胺与阿片样物质化合物上的异氰酸酯(R-N=C=O)的反应(或反之亦然)形成了一种脲连接(R-NH-(C=O)-NH-R')。此外,低聚物上的醇(烷氧化物)与阿片样物质化合物中的烷基卤或卤化物基团(或反之亦然)的反应形成了一种醚连接。在又另一种偶联方法中,具有醛官能团的阿片样物质化合物通过还原胺化作用偶联到一个低聚物氨基团上,从而导致了在该低聚物 and 该阿片样物质化合物之间形成一个仲胺连接。

[0120] 一种特别优选的水溶性低聚物是带有醛官能团的低聚物。在此方面,该低聚物具有以下结构:CH₃O-(CH₂-CH₂-O)_n-(CH₂)_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 1、2、3、4、7、8、9、以及 10, 并且优选的 (p) 值是 2、3 和 4。另外, 对于该 $-C(O)H$ 部分的 α 碳原子可以可任选地用烷基取代。

[0121] 典型地将不带有官能团的水溶性低聚物的端位进行封端以便使它为反应性的。当该低聚物在端位确实包括一个另外的官能团而并非旨在用于形成一个偶联物时, 该基团被选择为使得它在形成该连接“X”的条件下是非反应性的, 或者在形成“X”连接的过程中将其进行保护。

[0122] 如以上所说明的, 该水溶性低聚物在偶联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阿片样物质化合物上, 这取决于包含在该阿片样物质化合物中或向其中引入的反应性基团。在该低聚物中或阿片样物质化合物中可以存在的亲核基团的实例包括羟基、胺、肼 ($-NHNH_2$)、酰肼 ($-C(O)NHNH_2$)、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阿片样物质化合物将具有一个游离的羟基、氨基、硫、醛、酮、或羧基。

[0123] 在该低聚物或该阿片样物质化合物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、碳酸酯、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)。

[0124] 还包括在内的是若干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)。

[0125] 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 $-(CO)O-N[(CO)-]_2$ 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 $-(CH_2)_{2-3}C(=O)O-Q$ 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。

[0126] 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。

[0127] 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。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（例如以上在低聚物上所注意到的那些）和阿片样物质化合物的反应被用来制备本发明的偶联物。

[0128] 在本发明的某些实施方案中,优选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 ($R-N=C=O$) 与羟基或氨基的基团进行反应而分别形成氨基甲酸酯 ($RNH-C(O)-OR'$) 或脲 ($RNH-C(O)-NHR'$) 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）。

[0129] 在本发明的其他实施方案中,优选的是有利于形成一种生理学上可断裂的连接的反应。该能释放的连接可以、但不必导致该水溶性低聚物（以及任何间隔基部分）在活体内（以及在某些情况下在体外）与该阿片样物质化合物相分离而没有留下该水溶性低聚物的任何片段（和/或任何间隔基部分或连接）附接在该阿片样物质化合物上。示例性的能释放的连接包括碳酸酯、羧化物酯、磷酸酯、硫醇酯、酸酐类、缩醛类、缩酮类、酰氧基烷基醚、亚胺类、某些氨基甲酸酯类、以及原酸酯类。这类连接可以容易地使用在本领域中所采用的常见的偶联方法通过该阿片样物质化合物和/或该聚合物试剂的反应而形成。可水解的连接经常很容易地通过一种适当活化的低聚物与包含在该阿片样物质化合物之内的一种未改性的官能团的反应而形成。

[0130] 在一些情况下,该阿片样物质促效剂可以不具有适合于偶联的官能团。在这种情况下,有可能对“原始的”阿片样物质促效剂进行改性这样使得它确实具有所希望的官能团。例如,如果该阿片样物质促效剂具有一个酰胺基,但是所希望的是一个胺基,则有可能将该酰胺基通过霍夫曼重排、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）改性为一个胺基。

[0131] 有可能制备带有羧基的阿片样物质促效剂的一种偶联物,其中将带有羧基的阿片样物质促效剂偶联到一种氨基封端的低聚乙二醇上,以提供一种偶联物,该偶联物具有将该阿片样物质促效剂共价地连接到该低聚物上的一个酰胺基。这可以（例如）通过将带有羧基的阿片样物质促效剂与氨基封端的低聚乙二醇在一种无水的有机溶剂中、在一种偶联剂（如二环己基碳二亚胺或“DCC”）的存在下合并而进行。

[0132] 此外,有可能制备带有羟基的阿片样物质促效剂的一种偶联物,其中将该带有羟基的阿片样物质促效剂偶联至一种低聚乙二醇卤化物以产生一个醚（-O-）连接的阿片样物质化合物偶联物。这可以（例如）通过使用氢化钠使该羟基去质子、随后与卤化物封端的低聚乙二醇进行反应而进行。

[0133] 在另一个实例中,有可能制备一种阿片样物质促效剂的偶联物,该阿片样物质促效剂带有一个酮基,同过首先将该酮基进行还原以形成对应的羟基。其后,该阿片样物质促效剂现在带有如在此所说明的可以被偶联的羟基。

[0134] 在仍有另一种情况下,有可能制备带有胺基的阿片样物质促效剂的一种偶联物。

在一种方法中,将带有胺基的阿片样物质促效剂以及一种带有醛的低聚物溶解在适当的缓冲剂中,在这之后加入一种合适的还原剂(例如 NaCNBH_3)。还原之后,结果是形成了在含有胺基的阿片样物质促效剂的胺基和带有醛的低聚物的羰基碳之间的一个胺连接。

[0135] 在用于制备带有胺基的阿片样物质促效剂的一种偶联物的另一种方法中,将一种带有羧酸的低聚物与该带有胺基的阿片样物质促效剂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的阿片样物质促效剂的胺基和带有羧酸的低聚物的羰基之间的一个酰胺连接。

[0136] 血脑屏障的穿过

[0137] 在本发明的某些实施方案中, X 优选是一种稳定的连接物。依照本发明,已经发现某些阿片样物质化合物经由一种稳定的连接而结合到小的水溶性低聚物上,同时保留穿过血脑屏障的能力,在相对于该非偶联阿片样物质化合物的一种减小的 BBB 穿过速率下也是这样。不希望被任何具体的理论所束缚,人们相信该减小的 BBB 膜穿过速率是该分子相对于该非偶联的阿片样物质化合物的内在 BBB 渗透性上的改变的一个直接函数。又不希望被任何具体的理论所束缚,人们推测由于该 BBB 的缓慢穿过,避免了与非偶联的阿片样物质促效剂以及高成瘾性的基础相关联的快速峰浓度,这类阿片样物质化合物具有低的成瘾特性。另外,由于该阿片样物质在活体内的一种改变的组织分布或对周围阿片受体的减小的活性,本发明的这些化合物可以呈现出相对于该非偶联的阿片样物质而言一种改进的副作用特征曲线。

[0138] 这样,根据本发明的这些实施方案,可以使用阿片样物质化合物、连接物、以及水溶性低聚物的任何组合,前体是该偶联物能够穿过 BBB。优选地,该偶联物以相对于该非偶联的阿片样物质促效剂而言减小的速率穿过 BBB。在一个优选的实施方案中,该水溶性低聚物是一个 PEG 部分。典型地、该 PEG 部分是由 1-3(即 1、2、或 3)个聚乙二醇单位组成的一种小的单体 PEG。在其他实施方案中,该 PEG 部分可以有 4 或 5 个聚乙二醇单位。

[0139] 关于血脑屏障(“BBB”),这一屏障限制药物从血液运送到脑。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。脑微血管(它占 BBB 总表面积的大于 95%)代表大多数的溶质和药物进入中枢神经系统的主要途径。

[0140] 如本领域中普通技术人员将理解的:分子大小、亲油性、以及 Pgp 相互作用是在影响给定分子的内在 BBB 渗透性的主要参数之中。就是说,在进行组合时,这些因素控制一种给定的分子是否穿过 BBB,以及如果穿过,是以何种速率。

[0141] 由于在 BBB 之内小的孔径大小,分子大小在确定一种给定的分子是否将穿过该 BBB 时起重要作用。非常大的分子(例如具有 5,000 道尔顿分子量的分子)不会穿过 BBB,而小分子更有可能渗透过 BBB。然而,其他的因素也在穿过 BBB 时起作用。安替比林以及阿替洛尔两者都是小分子药物;安替比林容易穿过 BBB,而阿替洛尔的通过是非常受限制的、或实际上是不存在的。安替比林是对于高 BBB 渗透的一种行业标准;阿替洛尔是对于低 BBB 渗透的一种行业标准。参见,例如 Summerfield et al., JPharmacol Exp Ther 322: 205-213(2007)。因此,根据本发明,其中 X 是一种稳定的连接物,总体上预计到具有 1-3 个聚乙二醇单位的阿片样物质偶联物可以穿过该 BBB。在某些情况下,当该内在的 BBB 渗透特性整体而言合适时,特别是具有 4 或 5 个聚乙二醇单位的阿片样物质偶联物也可以穿过 BBB。

[0142] 亲油性也是 BBB 渗透中的一个因素。亲油性可以表示为 $\log P$ (分配系数) 或在有些情况下 $\log D$ (分布系数)。该 $\log P$ (或 $\log D$) 对于一种给定的分子可以通过本领域普通技术人员容易地评定。 $\log P$ 的值可以是一个负数 (更亲水的分子) 或一个正数 (更疏水的分子)。如在此使用的, 当提及 $\log P$ 时, “更负的” 是指在该方向上 (在该 $\log P$ 标度上) 从正到负 $\log P$ 移动 (例如 2.0 的 $\log P$ 比 4.0 的 $\log P$ 是“更负”的, -2.0 的 $\log P$ 比 -1.0 的 $\log P$ 是“更负的”)。具有负 $\log P$ 的分子 (亲水的分子) 总体上不透过该 BBB。在某些实施方案中, 本发明的阿片样物质偶联物具有在大约 0 与大约 4.0 之间的 $\log P$ 。优选地, 本发明的阿片样物质偶联物具有在大约 1.0 与大约 3.5 之间的 $\log P$ 。在某些实施方案中, 本发明的偶联物具有大约 4.0、大约 3.5、大约 3.0、大约 2.5、大约 2.0、大约 1.5、大约 1.0、大约 0.5、或大约 0 的 $\log P$, 或它们可以具有在大约 0 到大约 3.5、大约 0 到大约 3.0、大约 0 到大约 2.0、大约 0 到大约 1.0、大约 1.0 到大约 4.0、大约 1.0 到大约 3.0、大约 1.0 到大约 2.0、大约 2.0 到大约 4.0、大约 2.0 到大约 3.5、大约 2.0 到大约 3.0、大约 3.0 到大约 4.0、或大约 3.0 到大约 3.5 范围内的 $\log P$ 。

[0143] 跨越该 BBB 的渗透性还取决于 P-糖蛋白、或 PgP、在该 BBB 上高度表达的一种 ATP-依赖性外排转运蛋白。本领域普通技术人员可以使用在体外的方法容易地确定一种化合物是否是对于 PgP 而言的一种底物。用于 PgP 的底物的化合物在体外将不会在活体内透过该 BBB。相反地, 若该化合物满足如在此论述的以及如本领域普通技术人员已知的其他标准, PgP 的不良底物 (如在体外所评定) 通常很可能展现出 BBB 在活体内的渗透性。参见例如 Tsuji, *NeuroRx* 2 :54-62 (2005) 以及 Rubin and Staddon, *Annu. Rev. Neurosci.* 22 : 11-28 (1999)。

[0144] 在某些实施方案中, 可以根据阿片样物质偶联物的所希望的药物代谢动力学特征曲线来选择水溶性低聚物。换言之, 该阿片样物质化合物与一种水溶性低聚物的偶联将导致在 BBB 膜穿过速率上的净减小, 然而该速率上的减小可能取决于所使用的该低聚物的大小而变化。总体上, 当希望在 BBB 穿过速率上有最小的减小时, 可以使用一种较小的低聚物; 其中希望在 BBB 穿过速率上有更广泛的减小时, 可以使用一种较大的低聚物。在某些实施方案中, 可以同时给予两种或更多种不同阿片样物质偶联物的组合, 其中每种偶联物具有不同大小的水溶性低聚物部分, 并且其中由于不同的低聚物大小每种偶联物的 BBB 穿过速率是不同的。以此方式, 该阿片样物质化合物的 BBB 穿过的速率以及持续时间可以通过同时给予具有不同药物代谢动力学特征曲线的多种偶联物而确切地控制。

[0145] 对于其穿过血脑屏障能力的程度不容易获知的化合物, 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”模型) 而确定。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脉管中剩余的化合物。(此类分析可以例如由合同研究组织例如 Absorption Systems, Exton, PA 进行)。更确切地说地, 在 RBP 模式中, 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) 的一种生理缓冲液以约 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 (LC/MS/MS) 来分析化合物浓度。可替代地, 血脑屏障渗透性可以基于对化合物的分子极性表面积 (“PSA”) 的计算来估计, 该分子极性表面积被

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; 以及 Kelder, J., et al., Pharm. Res. 1999, 16, 1514-1519 中找到。

[0146] 在其中 X 是一种稳定的连接物的那些实施方案中, 该阿片样物质偶联物的分子量优选地是小于 2000 道尔顿、并且更优选小于 1000 道尔顿。在其他实施方案中, 该偶联物的分子量是小于 950 道尔顿; 小于 900 道尔顿; 小于 850 道尔顿; 小于 800 道尔顿; 小于 750 道尔顿; 小于 700 道尔顿; 小于 650 道尔顿; 小于 600 道尔顿; 小于 550 道尔顿; 小于 500 道尔顿; 小于 450 道尔顿; 或小于 400 道尔顿。

[0147] 在某些其中 X 是一种稳定的连接物的实施方案中, 该 X-POLY (即该水溶性低聚物与该连接物 (当存在时) 的组合) 的分子量优选地是小于 2000 道尔顿。在一些实施方案中, 该阿片样物质偶联物的分子量优选地小于 1000 道尔顿。在其他实施方案中, 该偶联物的分子量是小于 950 道尔顿; 小于 900 道尔顿; 小于 850 道尔顿; 小于 800 道尔顿; 小于 750 道尔顿; 小于 700 道尔顿; 小于 650 道尔顿; 小于 600 道尔顿; 小于 550 道尔顿; 小于 500 道尔顿; 小于 450 道尔顿; 小于 400 道尔顿; 小于 350 道尔顿; 小于 300 道尔顿; 小于 250 道尔顿; 小于 200 道尔顿; 小于 150 道尔顿; 小于 100 道尔顿; 或小于 50 道尔顿。

[0148] 其中 X 是一种稳定的连接物, 该偶联物 (即 OP-X-POLY) 优选是比该非偶联的阿片样物质化合物 (即 OP) 更不疏水的。换言之, 该偶联物的 logP 优选地是比该非偶联的阿片样物质化合物的 logP 更负的。在一个实施方案中, 该偶联物的 logP 比该非偶联的阿片样物质化合物的 logP 更负大约 0.5 单位。在其他实施方案中, 该偶联物的 logP 是比该非偶联的阿片样物质化合物的 logP 更负大约 4.0 单位、更负大约 3.5 单位、更负大约 3.0 单位、更负大约 2.5 单位、更负大约 2.0 单位、更负大约 1.5 单位、更负大约 1.0 单位、更负大约 0.9 单位、更负大约 0.8 单位、更负大约 0.7 单位、更负大约 0.6 单位、更负大约 0.4 单位、更负大约 0.3 单位、更负大约 0.2 单位、或更负大约 0.1 单位。在某些实施方案中, 该偶联物的 logP 是比该非偶联的阿片样物质化合物的 logP 更负大约 0.1 单位到 4.0 单位、更负大约 0.1 单位到大约 3.5 单位、更负大约 0.1 单位到大约 3.0 单位、更负大约 0.1 单位到大约 2.5 单位、更负大约 0.1 单位到大约 2.0 单位、更负大约 0.1 单位到大约 1.5 单位、更负大约 0.1 单位到大约 1.0 单位、更负大约 0.1 单位到大约 0.5 单位、更负大约 0.5 单位到大约 4.0 单位、更负大约 0.5 单位到大约 3.5 单位、更负大约 0.5 单位到大约 3.0 单位、更负大约 0.5 单位到大约 2.5 单位、更负大约 0.5 单位到大约 2.0 单位、更负大约 0.5 单位到大约 1.5 单位、更负大约 0.5 单位到大约 1.0 单位、更负大约 1.0 单位到大约 4.0 单位、更负大约 1.0 单位到大约 3.5 单位、更负大约 1.0 单位到大约 3.0 单位、更负大约 1.0 单位到大约 2.5 单位、更负大约 1.0 单位到大约 2.0 单位、更负大约 1.0 单位到大约 1.5 单位、更负大约 1.5 单位到大约 4.0 单位、更负大约 1.5 单位到大约 3.5 单位、更负大约 1.5 单位到大约 3.0 单位、更负大约 1.5 单位到大约 2.5 单位、更负大约 1.5 单位到大约 2.0 单位、更负大约 2.0 单位到大约 4.0 单位、更负大约 2.0 单位到大约 3.5 单位、更负大约 2.0 单位到大约 3.0 单位、更负大约 2.0 单位到大约 2.5 单位、更负大约 2.5 单位到大约 4.0 单位、更负大约 2.5 单位到大约 3.5 单位、更负大约 2.5 单位到大约 3.0 单位、更负大约 3.0 单位到大约 4.0 单位、更负大约 3.0 单位到大约 3.5 单位、或更负大约 3.5 单位到大约 4.0 单位。

在一些具体实施方案中,该偶联物的 logP 与该非偶联的阿片样物质化合物的 logP 是相同的或是更正的。

[0149] 受体结合以及其他特征

[0150] 当 X 是一种稳定的连接物时,本发明的偶联物优选地保留对于其一个或多个靶标受体适当的亲合性,以及引申而言在脑内的一种适当的浓度和效力。优选地,将该水溶性低聚物偶联到该阿片样物质上的方式是使得该偶联阿片样物质结合(至少部分地)到该非偶联的阿片样物质化合物所结合到的这个或这些相同的受体上。为了确定该阿片样物质促效剂或一种阿片样物质促效剂与一种水溶性聚合物的偶联物是否如同 μ 、 κ 、或 δ 阿片样物质促效剂一样具有活性,例如,有可能对此种化合物进行试验。例如,可以在异源表达该重组体人类 μ 、 κ 、或 δ 阿片受体的 CHO 细胞中使用一种放射性配体结合测定。简言之,将细胞置于 24 孔板中并且用测定缓冲液洗涤。在一种适当浓度的放射性配体的存在下,在用渐增浓度的阿片样物质偶联物赋予的粘合的全部细胞上进行竞争结合测定。 $[^3\text{H}]$ 纳洛酮、 $[^3\text{H}]$ 二丙诺啡以及 $[^3\text{H}]$ DPDPE 对应地被用作针对 μ 、 κ 以及 δ 受体的竞争放射性配体。孵育之后,将细胞进行洗涤、用 NaOH 溶解并且使用闪烁计数器测量结合放射活性。

[0151] 在某些实施方案中,本发明的这些偶联物的 K_i 值落在 0.1 到 900nM 的范围内,优选落在 0.1 到 300nM 的范围内,并且更优选落在 0.1 和 50nM 的范围内。在其中 X 是一种稳定的连接物的一个优选的实施方案中,该偶联的阿片样物质化合物(即 OP-X-POLY 的 OP)的亲合性相对于 OP 对其一个或多个靶标受体的亲合性没有损失,并且在一些实施方案中该偶联阿片样物质化合物的亲合性可以大于 OP 对其一个或多个靶标受体的亲合性。在其中 X 是一种稳定的连接物的一个优选的实施方案中,该偶联阿片样物质化合物(即 OP-X-POLY 的 OP)的亲合性相对于 OP 对其一个或多个靶标受体的亲合性减小到最低,并且在一些情况下甚至可以显示在亲合性上的增加或在亲合性上没有变化。优选地,相对于该未偶联的阿片样物质化合物对其一个或多个靶标受体的亲合性,该偶联的阿片样物质化合物有小于约 2 倍的亲和性的损失。在某些实施方案中,相对于该未偶联的阿片样物质化合物对其一个或多个靶标受体的亲合性,该偶联的阿片样物质化合物的亲合性优选地有小于约 5 倍的损失、小于约 10 倍的损失、小于约 20 倍的损失、小于约 30 倍的损失、小于约 40 倍的损失、小于约 50 倍的损失、小于约 60 倍的损失、小于约 70 倍的损失、小于约 80 倍的损失、小于约 90 倍的损失、或小于约 100 倍的损失。

[0152] 在其中 X 是一种稳定的连接物的某些其他实施方案中,相对于该未偶联的阿片样物质化合物对其一个或多个靶标受体的亲合性,该偶联的阿片样物质化合物的亲和性的减少优选小于 20%。在一些实施方案中,相对于该未偶联的阿片样物质化合物,该偶联的阿片样物质化合物的亲和性的减少小于 10%、小于 30%、小于 40%、小于 50%、小于 60%、小于 70%、小于 80%、小于 90%、或小于 95%。

[0153] 在其中 X 是一种稳定的连接物的某些实施方案中,该偶联物的 BBB 穿过速率、或渗透性小于单用 OP 的穿过速率。优选地,该穿过速率是小于单用 OP 的穿过速率至少约 50%。在某些其他实施方案中,相对于单用 OP 的穿过速率,该偶联物的 BBB 穿过速率存在至少约 10% 的减少、至少约 15% 的减少、至少约 20% 的减少、至少约 25% 的减少、至少约 30% 的减少、至少约 35% 的减少、至少约 40% 的减少、至少约 45% 的减少、至少约 55% 的减少、至少约 60% 的减少、至少约 65% 的减少、至少约 70% 的减少、至少约 75% 的减少、至少约 80% 的

减少、至少约 85% 的减少、至少约 90% 的减少、至少约 95% 的减少、或至少约 99% 的减少。在其他实施方案中,本发明的这些偶联物可以展示(相对于单用 OP 的穿过速率)该偶联物的 BBB 穿过速率 10-99% 的减少、10-50% 的减少、50-99% 的减少、50-60% 的减少、60-70% 的减少、70-80% 的减少、80-90% 的减少、或 90-99% 的减少。

[0154] 本发明的这些偶联物(其中 X 是一种稳定的连接物)可以展示(相对于单用 OP 的穿过速率)在 BBB 穿过速率上 1 到 100 倍的减小。在某些实施方案中,相对于该未偶联的阿片样物质化合物的 BBB 穿过速率,该偶联的阿片样物质化合物的 BBB 穿过速率可以有至少约 2 倍的损失、至少约 5 倍的损失、至少约 10 倍的损失、至少约 20 倍的损失、至少约 30 倍的损失、至少约 40 倍的损失、至少约 50 倍的损失、至少约 60 倍的损失、至少约 70 倍的损失、至少约 80 倍的损失、至少约 90 倍的损失、或至少约 100 倍的损失。

[0155] 本发明的这些偶联物(其中 X 是一种稳定的连接物)的 BBB 穿过速率还可以相对于安替比林(高渗透标准)和/或阿替洛尔(低渗透标准)的 BBB 穿过速率而估量。本领域普通技术人员将会理解的是,任何提及相对于安替比林和/或阿替洛尔的 BBB 穿过速率的本发明的这些偶联物的 BBB 穿过速率之处所暗含的是在相同的测定中在相同的条件之下评估的穿过速率。因此在某些实施方案中,相对于安替比林的 BBB 穿过速率,本发明的这些偶联物可以展示至少约 2 倍、至少约 5 倍、至少约 10 倍、至少约 20 倍、至少约 30 倍、至少约 40 倍、至少约 50 倍、至少约 60 倍、至少约 70 倍、至少约 80 倍、至少约 90 倍、或至少约 100 倍更低的 BBB 穿过速率。在其他实施方案中,本发明的这些偶联物相对于阿替洛尔的 BBB 穿过速率,本发明的这些偶联物可以展示至少约 2 倍、至少约 5 倍、至少约 10 倍、至少约 20 倍、至少约 30 倍、至少约 40 倍、至少约 50 倍、至少约 60 倍、至少约 70 倍、至少约 80 倍、至少约 90 倍、或至少约 100 倍更高的 BBB 穿过速率。

[0156] 其中 X 是一种稳定的连接物时,该偶联物(即 OP-X-POLY)相对于该未偶联的阿片样物质化合物(即 OP)可以保留全部或部分阿片样物质促效剂生物活性。优选地,该偶联物相对于该未偶联的阿片样物质化合物保留全部的阿片样物质促效剂生物活性,或在一些情况下,甚至比该未偶联的阿片样物质化合物更有活性。优选地,相对于该未偶联的阿片样物质化合物,本发明的这些偶联物可以展示小于约 2 倍的降低、小于约 5 倍的降低、小于约 10 倍的降低、小于约 20 倍的降低、小于约 30 倍的降低、小于约 40 倍的降低、小于约 50 倍的降低、小于约 60 倍的降低、小于约 70 倍的降低、小于约 80 倍的降低、小于约 90 倍的降低、或小于约 100 倍的降低。在一些实施方案中,相对于该未偶联的阿片样物质化合物,该偶联的阿片样物质化合物保留至少 1%、至少 2%、至少 3%、至少 4%、至少 5%、至少 6%、至少 7%、至少 8%、至少 9%、至少 10%、至少 20%、至少 30%、至少 40%、至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、或至少 95% 的阿片样物质促效剂的生物活性。

[0157] 本领域普通技术人员将会理解的是在此叙述的这些值是示例性和非限制性的,并且一种阿片样物质促效剂与一种水溶性低聚物的某些偶联物可能超出在此叙述的范围而仍保持在本发明的精神和范围之内。可以将偶联物作为一种对于本领域普通技术人员的常规实验物质而制备并且测试。具体而言,可以按如上所描述的对通过一种稳定的连接而结合到一种水溶性低聚物上的阿片样物质促效剂关于血脑屏障的渗透进行测试。因此,本领域普通技术人员可以容易地确定一种偶联物是否能够穿过该 BBB。

[0158] 虽然认为已经对本发明的这些实施方案的偶联物的所有范围进行了描述,可以按如下确定一个最佳大小的低聚物。

[0159] 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通过稳定的连接偶联到该阿片样物质促效剂上。其次,对在体外的保留活性进行分析。接着,使用一种合适的模式确定该偶联物穿过血脑屏障的能力并且与未改性的母体阿片样物质化合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)穿过速率减小到一个适当的程度,则之后进一步评估该偶联物的生物活性。优选地,根据本发明的化合物相对于该母体阿片样物质化合物的生物活性维持了显著程度的生物活性,即,大于母体阿片样物质化合物生物活性的约 30%,或甚至更优选大于母体阿片样物质化合物生物活性的约 50%。优选地,该阿片样物质促效剂是口服可生物利用的。

[0160] 使用具有相同的单体类型但是具有不同的亚单位数目的低聚物将以上步骤重复一次或多次并且将结果进行比较。

[0161] 然后对于每一种其穿过血脑屏障的能力与非偶联的阿片样物质促效剂相比被适当减小的偶联物,对其口服生物利用度进行评估。基于这些结果,也就是说,基于在一个给定的阿片样物质促效剂的一个给定的位置或位点处具有不同大小的低聚物的偶联物与该阿片样物质促效剂的比较,有可能确定该低聚物对于提供一种偶联物最有效的大小,该偶联物在生物膜穿过中适当的减小、口服生物利用度以及生物活性之间具有一种最佳的平衡。该低聚物的小尺寸使得此种筛余物是可行的并且允许人们有效地定制所得偶联物的特性。通过在低聚物的大小上做出小的、渐增的改变并且使用一种实验设计方法,人们可以有效地识别出在生物膜穿过速率上的减小、生物活性、以及口服生物利用度上具有一种有利的平衡的偶联物。在一些情况下,在此所描述的一种低聚物的附接是对于实际增加该阿片样物质促效剂的口服生物利用度是有效的。

[0162] 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度,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偶联物给予一位患者并且周期性地血和/或尿的取样来获得必要的清除特征曲线。对于每种接受测试的偶联物,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偶联物。

[0163] 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度有用。

[0164] 在本发明的某些其他实施方案中, X 优选地是一种生理学上可断裂的连接物。根据本发明,已经发现经由一种稳定的连接结合到小的水溶性低聚物上的某些阿片样物质化合物不能以其偶联的形式穿过 BBB,并且由于该阿片样物质化合物从该水溶性低聚物上缓慢的生理学的裂解而因此展示出净减小的 BBB 膜穿过速率。具体而言,可以根据该未偶联的阿片样物质化合物的所希望的药物代谢动力学特征曲线来选择 X。换言之,该阿片样物质化合物与一种水溶性低聚物的偶联将在 BBB 膜穿过速率上导致一种净减小,然而该速率的减小可以取决于所使用的连接物而变化。当希望在 BBB 穿过速率上有最小减小时, X 可以是一种快速降解的连接物;当希望在 BBB 穿过速率上有广泛的减小时, X 可以是一种更缓慢降解的连接物。在某些实施方案中,可以同时给予两个或多个不同阿片样物质偶联物

的组合,其中每种偶联物具有不同的连接物 X,并且其中每种 X 的降解速率是不同的。换言之,对于每种不同的偶联物,该阿片样物质化合物将会以不同的速率从该水溶性低聚物上裂解,从而导致不同的净 BBB 膜穿过速率。可以通过使用具有两个或更多个阿片样物质附着位点的多功能水溶性低聚物(其中每种阿片样物质通过具有变化的降解速率的连接物而连接到该水溶性低聚物上)来实现一种类似的效应。以此方式,该阿片样物质化合物的 BBB 穿过速率以及持续时间可以通过同时给予具有不同的药物代谢动力学特征曲线的多种偶联物而确切地控制。

[0165] 不希望被任何具体的理论所束缚,人们推测由于 BBB 的净缓慢穿过(由于给予该偶联物之后缓慢的生理学裂解),这类阿片样物质化合物具有低的成瘾特性,从而避免了与非偶联的阿片样物质促效剂以及高成瘾性的基础相关联的快速峰浓度。仍旧不希望被任何具体的理论所束缚,人们相信本发明的这些阿片样物质偶联物在血浆中循环,并且在活体内以取决于所使用的具体的可断裂的连接物(以及对于酶可降解连接物,酶浓度以及亲和性)的一个速率裂解,这样使得由于裂解的缓慢速率在外周循环的非偶联阿片样物质的浓度总体上是非常低的。一旦裂解已经发生,该非偶联的阿片样物质可以前行至脑而跨越 BBB;通过裂解该非偶联的阿片样物质的缓释导致该非偶联的阿片样物质到脑的一个净缓慢递送。另外,由于该阿片样物质在活体内的一种改变的组织分布以及在周围的改变的受体相互作用,本发明的化合物相对于该非偶联的阿片样物质呈现出一种改进的副作用特征曲线。

[0166] 此外,根据本发明的这些实施方案,可以使用阿片样物质化合物、连接物、以及水溶性低聚物的任何组合,前体是该偶联物不能够穿过 BBB 或仅有一小部分偶联物(优选小于所给予的 5%)能够穿过 BBB。优选地,该偶联物不能够穿过 BBB。更优选地,由于偶联物的生理学裂解,该分子的阿片样物质部分相对于该非偶联的阿片样物质促效剂以一种净降低速率穿过 BBB。在一个优选的实施方案中,该水溶性低聚物是一个 PEG 部分。在这些实施方案的某些之中,该 PEG 部分是由至少 6 个聚乙二醇单位、优选 6-35 个聚乙二醇单位组成的一种小的单体 PEG。在一些情况下,该 PEG 部分可以有 6-1825 个聚乙二醇单位。

[0167] 当 X 是一种生理学上可断裂的连接物时,该偶联物(即 OP-X-POLY)可能是或可能不是生物活性。优选地,该偶联物不是生物活性的。尽管如此,当在活体内对需要它的一个哺乳动物受试者给药时,由于随给药之后该阿片样物质化合物从该偶联物的释放,这样的偶联物仍是有效的。优选地,相对于未偶联的阿片样物质化合物,本发明的偶联物在生物活性上呈现出大于约 10 倍的下降、大于约 20 倍的下降、大于约 30 倍的下降、大于约 40 倍的下降、大于约 50 倍的下降、大于约 60 倍的下降、大于约 70 倍的下降、大于约 80 倍的下降、大于约 90 倍的下降、大于约 95 倍的下降、大于约 97 倍的下降、或大于约 100 倍的下降。在一些实施方案中,相对于该未偶联的阿片样物质化合物,该偶联的阿片样物质化合物保留小于 1%、小于 2%、小于 3%、小于 4%、小于 5%、小于 10%、小于 15%、小于 20%、小于 25%、小于 30%、小于 35%、小于 40%、小于 50%、小于 60%、小于 70%、小于 80%、或小于 90% 的阿片样物质促效剂生物活性。

[0168] 在其中 X 是一种生理学上可断裂的连接物的其他实施方案中,相对于 OP 对其靶标受体的亲和性,OP-X-POLY 对于该 OP 靶标受体的亲和性实质上是减小的。优选地,相对于该未偶联的阿片样物质化合物对其一个或多个靶标受体的亲合性,该偶联的阿片样物质化

合物有至少约 2 倍的亲和性的损失。在某些实施方案中,相对于该未偶联的阿片样物质化合物对其一个或多个靶标受体的亲合性,该偶联的阿片样物质化合物的亲合性优选地有至少约 5 倍的损失、至少约 10 倍的损失、至少约 20 倍的损失、至少约 30 倍的损失、至少约 40 倍的损失、至少约 50 倍的损失、至少约 60 倍的损失、至少约 70 倍的损失、至少约 80 倍的损失、至少约 90 倍的损失、或至少约 100 倍的损失。

[0169] 在某些其中 X 是一种生理学上可断裂的连接物的其他实施方案中,相对于该未偶联的阿片样物质化合物对其一个或多个靶标受体的亲合性,优选地该偶联的阿片样物质化合物的亲和性上的减小是至少 20%。在一些实施方案中,相对于该未偶联的阿片样物质化合物,该偶联的阿片样物质化合物的亲和性上的减小是至少 10%、至少 30%、至少 40%、至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 80%、至少 90%、或至少 95%。

[0170] 如之前指出的,在某些其中 X 是一种生理学上可断裂的连接物的实施方案中,该偶联物没有生物活性。这样的一种偶联物代表一种药物前体,其中该化合物在给药时是无活性的,并且在给药之后经由生理过程变得有活性。因此,在某些实施方案中,本发明提供了一种药物前体,该药物前体包括经由一个共价键可逆地附接到一个能释放的部分上的一种阿片样物质促效剂,其中向一位患者给予的一个给定的摩尔量值的药物前体呈现出在该哺乳动物的中枢神经系统中与当该阿片样物质促效剂没有作为一种药物前体的部分给药时一个等摩尔量值的该阿片样物质促效剂的蓄积率和 $C_{\text{最大}}$ 更小的一个蓄积率和 $C_{\text{最大}}$ 。该可释放的部分可以是一种水溶性低聚物,优选为聚乙烯二醇低聚物。该促效剂可以是一种 μ 、 κ 、或 δ 阿片样物质促效剂。

[0171] 在本发明的某些其他实施方案中, X 优选地是生理学上可断裂的连接物并且 POLY 是由 1 至 5 个(即 1、2、3、4、或 5 个)聚乙二醇单位、优选 1 至 3 个(即 1、2、或 3 个)聚乙二醇单位组成的一种小的单体 PEG。这类化合物足够小至穿过血脑屏障,但相对于该非偶联的阿片样物质化合物以一种减小的膜穿过速率如此进行,并且像这样,具有如上述论述的低成瘾特性。优选地, X 被选择为在穿过该 BBB 之后提供该连接物的裂解以及该阿片样物质化合物的释放。可替代地,该连接物的裂解在穿过该 BBB 之前以及之后都可以发生;以此方式,该阿片样物质化合物穿过 BBB 的速率以及持续时间可以被确切地控制。

[0172] 药用组合物

[0173] 在此外的实施方案中,本发明提供了包括在此披露的 OP-X-POLY 化合物以及一种药学上可接受的赋形剂、或载体的一种组合物。总的来说,该偶联物本身将处于一种固体形式(例如,沉淀物),它能够与可以处于固体或液体形式的合适的药物赋形剂相结合。

[0174] 示例性的赋形剂包括但不限于来自下组的那些,该组的组成为: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。

[0175] 一种碳水化合物,例如糖、衍生的糖(例如糖醇、醛糖酸)、酯化的糖、和/或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、木糖醇、麦芽糖醇、乳糖醇、木糖醇、山梨糖醇(葡糖醇)、吡喃糖基山梨糖醇(pyranosylsorbitol)、肌醇、以及类似物。

[0176] 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。

[0177] 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。

[0178] 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,由此防止该偶联物或该制剂的其他组分的变坏。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。

[0179] 表面活性剂可以作为赋形剂存在。示例性的表面活性剂包括:聚山梨酸酯类,如“吐温 20”和“吐温 80”;以及普流尼克,如 F68 和 F88(二者都是从 BASF, Mount Olive, New Jersey 可获得的);脱水山梨糖醇酯类;类脂,如磷脂如卵磷脂及其他磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺(虽然优选不处于脂质体形式);脂肪酸和脂肪酸酯类;类固醇,如胆固醇;以及螯合剂,如 EDTA、锌及其他这类适当的阳离子。

[0180] 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。可以使用的酸的非限制性实例包括选自下组的那些酸,该组的组成为: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,该组的组成为: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。

[0181] 在该组合物中的偶联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偶联物而实验性地进行确定,以便确定哪一个量产生临床层上所希望的终点。

[0182] 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的,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。

[0183] 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%,更优选按赋形剂的重量计从约 15% -95% 的量存在,其中浓度最优选是小于按重量计 30%。

[0184] 这些以上药用赋形剂连同其他的赋形剂以及涉及药物组合物的总体传授内容一起被描述于“Remington: The Science & Practice of Pharmacy”, 19th ed., Williams & Williams, (1995), the “Physician’s Desk Reference”, 52nd ed., Medical Economics, Montvale, NJ (1998), 以及 Kibbe, A. H., Handbook of Pharmaceutical Excipients, 3rd Edition, American Pharmaceutical Association, Washington, D. C., 2000。

[0185] 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、酏剂、糖浆、锭剂、经皮贴剂、喷雾剂、栓剂以及粉末。

[0186] 口服剂形对于经口是活性的那些偶联物是优选的,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制品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。

[0187] 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偶联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。除了偶联物之外,这些片剂以及胶囊形片剂将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、表面活性剂、着色剂、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帽化(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)。

[0188] 胶囊也是优选的口服剂型,在这种情况下该含偶联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例如使用明胶的带子或类似物而密封的。

[0189] 包括处于基本干燥的形式的肠胃外的配方(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)连同准备注射用的配制品,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。

[0190] 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。

[0191] 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。

[0192] 该偶联物还可以使用常规的经皮贴剂或其他经皮递送系统通过皮肤来给药,其中该偶联物包含在一个层叠的结构中,该结构作为药物递送装置而贴附在皮肤上。在这样一种结构中,该偶联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。

[0193] 该偶联物还可以被配制成一种栓剂用于直肠给药。就栓剂而言,该偶联物与一种

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;合并入该偶联物(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。

[0194] 给药

[0195] 本发明还提供了将如在此提供的偶联物给予患有对使用偶联物进行治疗有响应的病症的一位患者的方法。该方法包括总体上经口给予一种治疗有效量的偶联物(优选作为一种药物制剂的一部分来提供)。还考虑了其他给药模式,例如肺的、鼻的、口腔的、直肠的、舌下的、经皮的、以及肠胃外的。如在此使用的术语“胃肠外的”包括皮下的、静脉内的、动脉内的、腹膜内的、心内的、鞘内的、以及肌肉注射连同输注法注射。

[0196] 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(例如聚合物),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)。

[0197] 给药的方法可以用来治疗通过给予具体的偶联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偶联物可以有效地治疗的那些病症。待给予的实际剂量可以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、以及有待给予的偶联物而改变。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。

[0198] 任何给出的偶联物的单位计量(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,这取决于临床层医生的判断、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。

[0199] 给予本发明的这些偶联物的一个优点是获得了该阿片样物质促效剂向脑的递送速度下降,因此避免与非偶联阿片样物质促效剂以及高成瘾的基础相关联的快速峰值浓度。此外,基于该阿片样物质促效剂分子的共价改性,本发明的这些化合物不经受实体改动的风险,实体改动允许与某些替代物递送形式(旨在提供在活体内一种降低的 BBB 穿过速率)相关的快速起作用的阿片样物质化合物的回收和滥用。这样,本发明的化合物具有低成瘾性、抗滥用的特性。这些偶联物的所希望的药物代谢动力学特性可以通过选择低聚物分子大小、连接、以及共价附接到该阿片样物质化合物的位置来调整。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。

[0200] 用途

[0201] 因此,本发明提供了一种治疗需要阿片样物质疗法的患者的方法,该方法包括给

予一个有效量的具有如在此以上披露的化学式 OP-X-POLY 的一种化合物。优选地,本发明进一步提供了一种降低阿片样物质化合物的滥用潜在性的方法,该方法包括将该化合物偶联到一种小的水溶性低聚物上。优选地,该偶联物具有如在此描述的化学式 OP-X-POLY。

[0202] 在一个此外的实施方案中,本发明提供的是一种降低阿片样物质促效剂的成瘾特性的方法,该方法包括将该阿片样物质促效剂偶联到一种小的水溶性低聚物上。优选地,该偶联物具有如在此描述的化学式 OP-X-POLY。

[0203] 在另一个实施方案中,所提供的是一种减小但没有实质性消除一种阿片样物质化合物的血脑屏障穿过速率的方法,该方法包括将该化合物偶联到一种小的水溶性低聚物上。优选地,该偶联物具有如在此描述的化学式 OP-X-POLY。

[0204] 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。

[0205] 实例

[0206] 在所附的实例中涉及的所有化学试剂,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。

[0207] 实例 1

[0208] logP 值的确定

[0209] LogP 和 LogD 提供了一种化合物的亲油性的量度,这样使得一个更高的或更正的值代表一种更疏水的化合物,而一个更低的或更负的值代表一种更亲水的化合物。测试化合物的 LogP(辛醇:异丙醇/水分配系数)是用一种 Sirius GLpKa 仪器(Sirius Analytical Instruments, Ltd, East Sussex, UK)使用一种电位滴定法测量的。将在 DMSO 中的 0.1M 测试化合物溶液的一个 50 μ l 的等分部分置入一个滴定小瓶中。测定是在 25°C 下进行的。将已测量体积的辛醇自动加入该样品中,在此以后将已测量体积的异丙醇水加入该仪器。通过自动加入 0.5M HCl,将该溶液的 pH 调节到 2。自动地进行用 0.5M KOH 进行的滴定,直到达到 pH 值为 12。为进行第二以及第三滴定,将一个额外体积的辛醇自动递送到该滴定小瓶。将这三次滴定的数据集在 RefinementPro 中结合以产生一个多重集。在不同 pH 值下,Log(D) 是通过软件自动计算的。

[0210] 将 LogP 与 LogD 值用于预测或评估一种分子与其亲油性(如横贯薄膜的能力)相关的特性。

[0211] 实例 2

[0212] 对于 PgP 的转运测定

[0213] P-糖蛋白、PgP 是在身体内不同细胞中表达的一种外排转运蛋白,并且在血脑屏障上高度表达。作为对于 PgP 底物的多种分子显示差的渗透进入、或外排出组织(其中表达了 PgP)。

[0214] PgP 对净转运的贡献是在过量表达 PgP 的 MDCKII 细胞(MDR-MDCKII)中测量的。为了转运研究,使 MDR-MDCKII 和 MDCKII 细胞在可渗透的插入物上生长(3-4 天)直到形成致密的单层为止,如通过经上皮的测量方法而测量。在 Krebs 缓冲液中以 10 μ M 将多种测试化合物加入到这些 MDCKII 细胞的顶端或基底外侧并且允许在 37°C 下孵育。在两个方向上测量了化合物的转运:在母体以及过表达 MDR 的细胞二者中顶端的-基底外侧(A-B)以

及基底外侧-顶端 (B-A)。在时间点 0、30、60、90、120 以及 180 分钟将多个等分部分从该顶端和基底外侧的隔室退出。通过 LC-MS/MS 对样品进行分析测试化合物。将该通量计算为累积浓度对比时间的曲线图的线性部分的斜率。将表观渗透率计算为 $P_{app} = \text{Flux}/C_0 \cdot A$, 其中 C_0 是所使用的测试化合物 ($10 \mu\text{M}$) 的初始浓度并且 A 是该插入物的表面面积。将外排比率计算为 $P_{app}(B-A)/P_{app}(A-B)$ 。在 MDCKII-MDR1 细胞中与母体 MDCKII 细胞中该外排比率是大于 2 时 (即 $(\text{MDCKII-MDR1})/\text{外排比率}(\text{MDCKII 细胞}) \geq 2$), 表明 Pgp 介导的外排机制的参与。

[0215] 将 Pgp 相互作用数据用于预测或评估一种分子的涉及其 Pgp 状况的特性, 如横贯膜或进入隔室 (如 CNS, 其中 Pgp 是高度表达的) 的能力。

[0216] 实例 3

[0217] 原位大鼠脑灌注

[0218] 该原位灌注实验测量多种化合物穿过一种血脑屏障模型的相对渗透率。阿片样物质到大鼠脑中的原位灌注如在 Summerfield et al., JPharmacol Exp Ther 322: 205-213(2007) 中所描述的而进行。

[0219] 将成年雄性 Sprague Dawley 大鼠用于该研究。将大鼠麻醉并且用外科手术将导管插入左侧颈总动脉用于灌注。将多种测试化合物以在 KrebsRinger 灌注缓冲液 (pH 7.4) 中 $5-50 \mu\text{M}$ 的浓度进行灌注。将阿替洛尔和安替比林包括在内, 对应地作为低的和中等的渗透标志物。在 30 秒灌注结束时, 将这些脑移出, 将左侧脑半球切除并且匀浆。使用 LC-MS/MS 对于测试化合物提取和分析研究。将该测试化合物的脑渗透性如下式进行计算:

[0220] $P = K_{in}/S$,

[0221] 其中 P 是以 cm/s 的渗透性, K_{in} 是单向的传送常数 ($\text{ml}/\text{分钟}/\text{克}$), 并且 S 是脑血管空间的网眼区域。

[0222] 如在原位脑灌注实验中确定的相对渗透性提供了关于化合物从外周进入中枢神经系统所处的速率的信息。它被用来表征并且比较对于一种给定的阿片样物质化合物而言与一种水溶性低聚物偶联而减慢 BBB 的渗透所达到的程度。

[0223] 以下这些实验的进行旨在确定某些示例性的低聚物 PEG-阿片样物质的脑渗透速率:

[0224] 在雄性 Sprague-Dawley 大鼠中使用原位脑灌注模型来评估吗啡、可待因、氧化酮以及它们对应的 PEG 偶联物的脑渗透潜在性。在实例 10、11 以及 12 中描述了该偶联物的合成。将大鼠麻醉并且将插管植入左侧颈动脉。将支流动脉结扎、并且在脑灌注之前将心脏性的供应切断。使用单时间点法进行灌注。对每个动物用一种测试化合物 ($10 \mu\text{M}$) 以及对对照化合物 ($5 \mu\text{M}$ 安替比林和 $50 \mu\text{M}$ 阿替洛尔) 进行共灌注。通过一个灌注泵使在 Krebs' s Ringer 缓冲液中的这些化合物经由左侧颈外动脉灌注进该动物中, 持续 30 秒。灌注 30 秒之后, 停止泵送、并且将脑立即从颅骨移出。将脑纵向切成两半。将各个左半球置于一个冷藏管中, 在干冰上冷冻, 并且在 -60°C 到 -80°C 下冷冻储存直到分析时为止。

[0225] 为了进行生物分析, 将各个左脑半球解冻、称重并且通过超声在 20% 甲醇中匀浆。使用预先证实的分析法通过 LC-MS/MS 分析测定测试和对照化合物的浓度。

[0226] 使用以下对于该单点灌注测定的方程式将对于该测试以及对照化合物的脑渗透结果表示为单向的脑传送常数 $K_{in}(\text{mL}/\text{g}/\text{分钟})$:

[0227] $K_{in} = [C_{br}/C_{pf}]/t$, 其中:

[0228] C_{br}/C_{pf} 是外观脑分布容积 (mL/g 的脑组织)。

[0229] C_{br} 是药物在脑组织中的浓度 (每克脑组织 pmol 的药物)。

[0230] C_{pf} 是该药物在灌注液体中的浓度 (pmol/ml 的灌注液)。

[0231] t 是净灌注时间 (分钟)。

[0232] 为从脑浓度值中排除包含在毛细血管空间中的药物, 在每个动物中将阿替洛尔的外观脑分布容积从药物数值中减去。若在对阿替洛尔的脑分布容积进行校正之后, 该测试化合物的浓度是一个负值, 则将 K_{in} 值报告为零。

[0233] 继灌注之后, 用阿替洛尔 (不渗透过脑) 的一种化合物标记的血管空间, 没有超过 $20 \mu\text{l/g}$ 的脑组织。这些结果表明了在灌注期间保存了血脑屏障特性。对于吗啡、可待因、和羟考酮的 K_{in} 值如图 18A 至图 C 和图 19 所示。对于母体吗啡、可待因以及羟考酮化合物而言的 K_{in} 值大约是安替比林的 K_{in} 值的 14%、40% 以及 60%, 安替比林是具有高脑渗透潜在性的阳性对照。PEG 偶联导致在可待因以及羟考酮偶联物的脑进入速率上的一个大小 - 依赖性的降低。PEG-7 可待因和 PEG-7- 羟考酮的脑进入率是 < 它们的对应的母体化合物的 1%。然而, PEG-1、PEG-2 吗啡的 K_{in} 值大于母体吗啡, 并且在 PEG-3- 吗啡的情况下与母体相等。PEG-7- 吗啡的 K_{in} 值显著地低于 (< 4%) 母体吗啡的值。

[0234] 实例 4

[0235] 在全细胞中阿片受体结合测定

[0236] 受体结合亲和性被用作该化合物的内在生物活性上的一种量度。在异源表达该重组体人类 μ 、 δ 或 κ 阿片受体的 CHO 细胞中使用一种放射性配体结合测定来测量这些阿片样物质偶联物 (或仅阿片样物质) 的受体结合亲和性。将细胞以一种 $0.2-0.3 \times 10^6$ 细胞 / 孔的密度置于 24 孔板中并且用包含 50mM Tris.HCl 和 5mM MgCl_2 的测定缓冲液 (pH7.4) 洗涤。在一种适当浓度的放射性配体的存在下, 对于用渐增浓度的阿片样物质偶联物孵育的粘附的全细胞进行竞争结合测定。使用 $0.5\text{nM} [^3\text{H}]$ 纳洛酮、 $0.5\text{nM} [^3\text{H}]$ 二丙诺啡以及 $0.5\text{nM} [^3\text{H}]$ DPDPE 对应地被用作对于 μ 、 κ 以及 δ 受体的竞争放射性配体。在各个浓度下使用三倍的孔在室温下进行孵育, 持续 2 小时。孵育结束时, 用 50mM Tris HCl (pH 8.0) 洗涤细胞、用 NaOH 溶解并且使用闪烁计数器测量结合放射性。

[0237] 通过减去在 50-100X 过量的冷配体存在下 cpm 结合来确定特异性结合。使用 GraphPad Prism 4.0 分析结合数据测定并且通过来自剂量响应曲线的非线性回归产生 IC_{50} 。使用 Cheng Prusoff 方程使用来自如下饱和等温线的 K_d 值计算 K_i 值: $K_i = \text{IC}_{50} / (1 + [\text{配体}] / K_d)$ 。

[0238] 将 K_i 值用作该化合物的结合亲和性的指标并且可以与其他阿片样物质促效剂的结合亲和性进行比较。它还被用作效力的一种标志物并且允许评估一种给定的化合物提供有效的镇痛的可能性。

[0239] 实例 5

[0240] 全细胞中的 cAMP 测量

[0241] 将对毛喉素 - 刺激的 cAMP 产生的抑制用作阿片样物质在试管内的生物活性的一种量度。将异源表达重组体人类 μ 、 δ 、或 κ 阿片受体的任何一个的 CHO 细胞以 $0.2-0.3 \times 10^6$ 细胞 / 孔置于 24 孔板中并且用 PBS+1mM IBMX (异丁基甲基黄嘌呤) 洗涤。

通过加入 10 μ M 毛喉素 10 分钟之后,使细胞在一式三份的孔中与渐增浓度的阿片样物质偶联物孵育。随后与毛喉素孵育 10 分钟,使细胞裂解并且使用一种可商购的竞争免疫测定试剂盒 (**Catchpoint**[®]-Molecular Devices) 测量细胞中的 cAMP。将该荧光信号标定为针对 cAMP 的一种标准曲线并且将数据表示为 cAMP 的摩尔数 /10⁶ 细胞。通过使用非-线性回归 (Graph PadPrism) (其中“剂量”是所使用的阿片样物质偶联物的浓度) 分析该剂量-响应曲线,对于每种阿片样物质偶联物计算 IC₅₀ 值。

[0242] 该 cAMP 被用于提供一种阿片样物质化合物在受体结合时诱导功能应答的能力的一个量度,并且了提供该化合物镇痛潜力的进一步的指示。它还使得能够与其他阿片样物质在相对功效上作比较。

[0243] 实例 6

[0244] 大鼠痛觉缺失模型

[0245] 将电热板撤回试验用作阿片样物质在体内的生物活性的一种量度。这种实验使用一种标准电热板撤回试验,其中在给予一种测试化合物后测量从热刺激撤回的潜伏期。将化合物给予该动物并且在 30 分钟之后向足跖提供一种热刺激。将足跖撤回在吗啡存在下的潜伏期用作完全镇痛的量度,而将在盐水存在下的潜伏期用作没有镇痛的一种阴性对照。通过测量与一种阴性对照 (盐水) 相比较的撤回时间评估该测试化合物的促效剂效果。

[0246] 实例 7

[0247] 成瘾潜力的猴模型

[0248] 可以通过使用在本领域中已知的松鼠猴模型评定阿片样物质化合物与本发明的阿片样物质偶联物的成瘾潜力。Bergman and Paronis, *Mol Interventions*, 6: 273-83 (2006)。

[0249] 实例 8

[0250] PEG- 纳布啡偶联物在活体内的脑渗透

[0251] 在大鼠中使用脑: 血浆比率测量 PEG- 纳布啡偶联物穿过血脑屏障 (BBB) 并且进入 CNS 的能力。简言之,将 25mg/kg 的纳布啡、PEG- 纳布啡偶联物或阿替洛尔静脉内注入大鼠体内。注入一小时之后,将该动物处死并且收集血浆和脑,并且立即冰冻。提取组织和血浆之后,用 LC/MS/MS 测量这些化合物在脑和血浆中的浓度。将该脑: 血浆比率计算为在脑和血浆中测量的浓度比率。将阿替洛尔 (它不穿过 BBB) 用作脑组织的血管污染的一种量度。

[0252] 图 1 显示 PEG- 纳布啡偶联物的脑: 血浆浓度比率。纳布啡的脑: 血浆比率是 2.86 : 1,这表明在脑中的纳布啡浓度与在血浆隔室中相比大接近 3 倍。PEG- 偶联显著地减少了进入 CNS 的纳布啡,如通过更低的 PEG- 纳布啡偶联物的脑: 血浆比率所证明。与 3 个 PEG 单位偶联使脑: 血浆比率降低到 0.23 : 1,这表明在脑中的 6-O-mPEG₃- 纳布啡浓度比在血浆隔室中的小接近 4 倍。因为 6-O-mPEG₆- 纳布啡和 6-O-mPEG₉- 纳布啡 (对应地 6 个 PEG 单位和 9 个 PEG 单位) 的脑: 血浆比率没有显著地不同于该血管标志物阿替洛尔,所以它们被显著地从 CNS 中排除。

[0253] 表 1 脑: 血浆比率

[0254]

分子	脑：血浆比率
纳布啡	2.86
6-O-mPEG ₃ -纳布啡	0.23
6-O-mPEG ₆ -纳布啡	0.11
6-O-mPEG ₉ -纳布啡	0.10
阿替洛尔	0.11

[0255] 实例 9

[0256] 制备 mPEG_n-OMs (mPEG_n-O- 甲磺酸盐) :

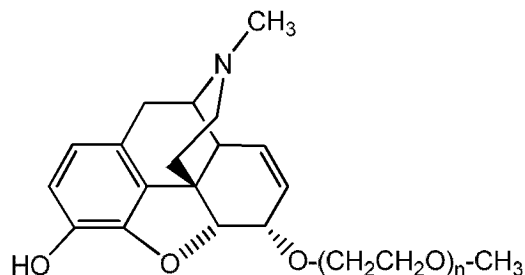
[0257] 在一个 40mL 的小玻璃管中将 HO-CH₂CH₂OCH₂CH₂-OH (1.2ml, 10mmol) 与 DIEA (N, N- 二异丙基乙胺, 5.2mL, 30mmol, 3 当量) 混合, 将生成的均相的无色混合物冷却到 0°C, 并且经 4 分钟通过注射器缓慢加入 MsCl (1.55mL, 20mmol, 2 当量), 伴随强烈搅拌。一加入后则产生一种双相性的混合物: 底部的黄色固体和澄清的上清液。移除该冰浴, 并且使反应升温至室温过夜。在这一点将它溶解在水中, 用 CHCl₃ (3×50mL) 萃取, 并且用 0.1M HCl/ 盐水混合物 (2×50mL) 提取、随后用 50mL 盐水洗涤。将有机层经 MgSO₄ 干燥、将其过滤, 以给出一种黄色溶液, 并且将其蒸发以给出一种棕色油 (2.14g)。¹H NMR 证实产物身份 3.3 (1H NMR δ 3.1 (s, 3H), 3.3 (s, 3H), 3.5-3.55 (m, 2H), 3.6-3.65 (m, 2H), 3.7-3.75 (m, 2H), 4.3-4.35 (m, 2H) ppm)。

[0258] 以相似的方式制造所有其他的 PEG_n-OMs' s (n = 3, 4, 5, 6, 7 和 9) 并且在各自的情况下提供最终的化合物, 作为棕色油分离出。质谱和质子 NMR 数据 (未显示) 证实所希望的 OMs 聚乙二醇化的产物的形成。

[0259] 实例 10

[0260] 制备 mPEG_n-O- 吗啡偶联物

[0261]



[0262] 以下内容说明了使用可商购的硫酸吗啡水合物制备游离碱 (一般程序)。

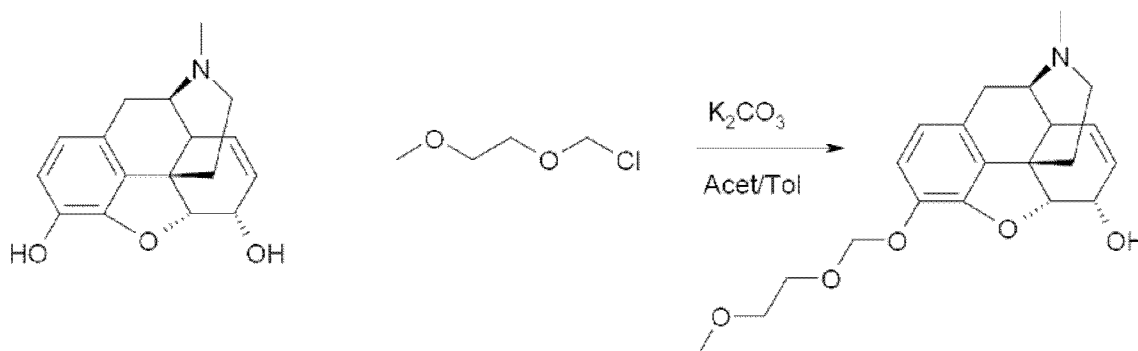
[0263] 使硫酸吗啡 (来自 Spectrum, 美国药典级, 510mg) 溶解在水 (70ml) 中。然后使用水性 K₂CO₃ 将该溶液碱化到 pH 10 以给出一种白色悬浮液。向这种白色悬浮液中加入 DCM (二氯甲烷, 50ml), 但不能溶解该固体。用 1M HCl 将该混合物制成酸性的以产生澄清的双相性的溶液。将该有机相分离, 并且使用如上相同的 K₂CO₃ 小心地使该水相达到 pH 9.30 (通过一种 pH 计监测)。再次产生一种白色悬浮液。用 DCM (5×25ml) 萃取该非均匀

混合物并且一种不能溶解的白色固体污染了该有机层的和水层二者。将有机层经 MgSO_4 干燥、进行过滤并且旋转蒸发以产生 160mg 的吗啡游离碱（回收率为 56%）。使用 MeOH 从该滤饼中没有回收得到另外的产物，但通过用 EtOAc $2 \times 50\text{ml}$ 萃取从该水相回收了另外 100mg，从而给出 260mg (68%) 的合并产率。

[0264] 吗啡游离碱的 MEM 保护

[0265] 对于用保护基 β -甲氧基乙氧基甲酯（“MEM”）保护吗啡游离碱的一般方法用图解示出如下。

[0266]

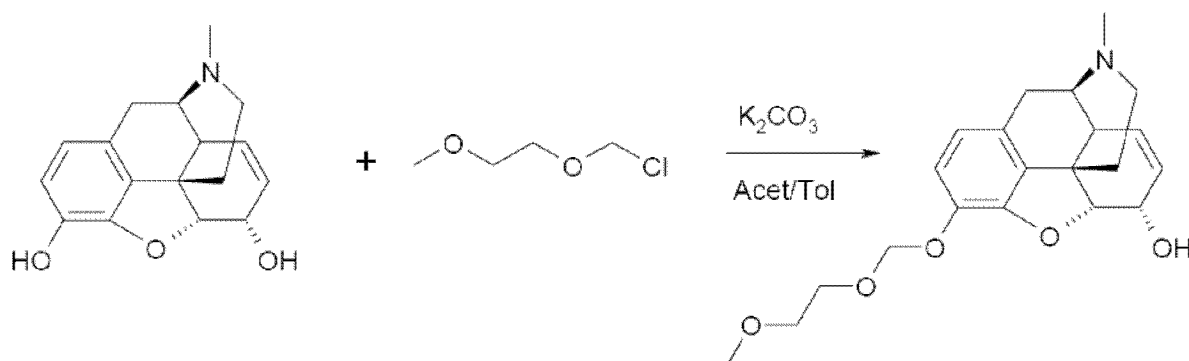


[0267] 将游离碱吗啡 (160mg、0.56mmol) 溶解在 20ml 的丙酮 / 甲苯 (2/1 混合物) 中。向产生的溶液中加入 K_2CO_3 (209mg、1.51mmol、2.7 当量)，随后加入 MEMCl (96 μl 、0.84mmol、1.5 当量)，并且将产生的不均匀混合物在室温下搅拌过夜。在室温下五小时以后，通过 LC-MS 确认该反应完成。在标准六分钟梯度运行条件下（标准 6 分钟、OnyxMonoLyth C18 柱、 $50 \times 4.6\text{mm}$ ；0% 到 100% 乙腈 0.1% TFA 在水中 0.1% TFA，1.5ml/分钟；检测：UV254、ELSD、MS；引用对于 UV254 检测器的保留时间、相对于 UV ELSD 具有大约 0.09 分钟延迟并且 MS 具有大约 0.04 分钟延迟）吗啡游离碱保留时间是 1.09 分钟；产物的保留时间是 1.54 分钟（标准 6 分钟）、主要杂质是 1.79 分钟。将所产生的反应混合物蒸发至干燥，溶解在水中、用 EtOAc (3x, 用盐水洗涤合并的有机层，经过 MgSO_4 干燥、过滤并且旋转蒸发) 萃取以给出 160mg (77%) 的所希望的产物，为一种无色油。通过 UV254 估计产品纯度是大约 80%。

[0268] 硫酸吗啡的直接 MEM 保护（总体程序）

[0269] 对于用保护基 β -甲氧基乙氧基甲酯（“MEM”）保护硫酸吗啡的一般方法用图解示出如下。虽然没有在以下方案中明确显示，吗啡实际上是硫酸吗啡水合物、吗啡 $\cdot 0.5\text{H}_2\text{SO}_4 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$ 。

[0270]



[0271] 在室温下，向在 10ml 的 2 : 1 丙酮 : 甲苯溶剂混合物中的 103mg 的硫酸吗啡水

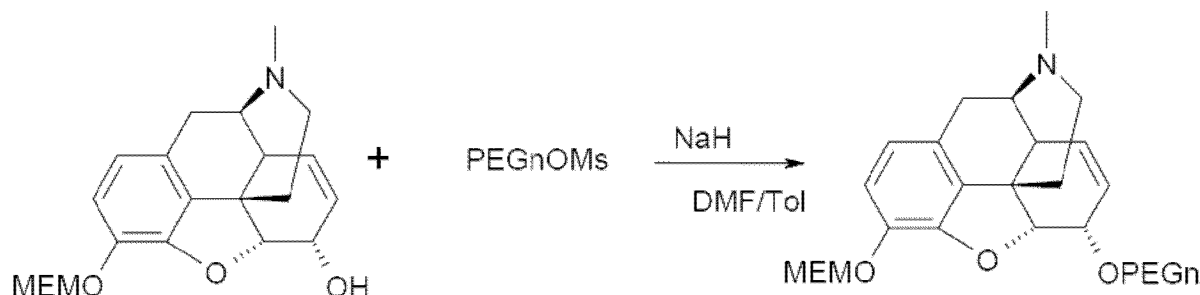
合物 (0.26mmol) 的悬浮液加入 135mg (1mmol、3.7 当量) 的 K_2CO_3 , 并且在室温下将该悬浮液搅拌 25 分钟。向所产生的悬浮液中加入 $60 \mu l$ (0.52mmol) 的 MEMCl 并且允许该混合物在室温下反应。在以下时间点以后采样: 一小时 (38% 额定的转化、附加峰在 1.69 分钟和 2.28 分钟处)、三小时 (40% 额定的转化、附加峰在 1.72 分钟 ($M+1 = 493.2$) 处)、四个半小时 (56% 额定的转化、附加峰在 1.73 分钟处)、以及二十三个小时 (> 99% 额定的转化、附加峰在 1.79 分钟处、在 UV_{254} 高度中有大约 23% 的产物峰); 其后用 MeOH 使该反应骤冷、蒸发、用 EtOAc 萃取以给出 160mg 的澄清的油。

[0272] 用 2g (5.3mmol) 的硫酸吗啡水合物、2.2g (16mmol、3 当量) 的 K_2CO_3 、在 100ml 的溶剂混合物中 1.2ml (10.5mmol、2 当量) 的 MEMCl 开始重复相同的反应。在以下时间点采样: 发生以后两个小时 (61% 额定的转化、额外的峰在 1.72 分钟处 ($M+1 = 492.8$))、在一天以后 (80% 额定的转化、额外的峰在 1.73 分钟处)、在三天以后 (85% 额定的转化、仅有小杂质、12 分钟梯度运行)、以及六天以后 (91% 的转化); 其后, 使该反应骤冷、蒸发、用 EtOAc 萃取、在 combi-flash 上使用 40g 的柱、DCM:MeOH 0% 到 30% 的流动相进行纯化。识别了三个峰 (而不是两个), 收集其中的中央峰, 1.15g (58% 产率) 的淡黄色油、 UV_{254} 纯度大约为 87%。

[0273] MEM-保护的啡的偶联, 以提供一种 MEM-保护的啡偶联物

[0274] 对于与一种水溶性低聚物偶联 MEM-保护的啡以提供一种 MEM-保护的啡 PEG-偶联低聚物的一般方法图解示出如下。

[0275]

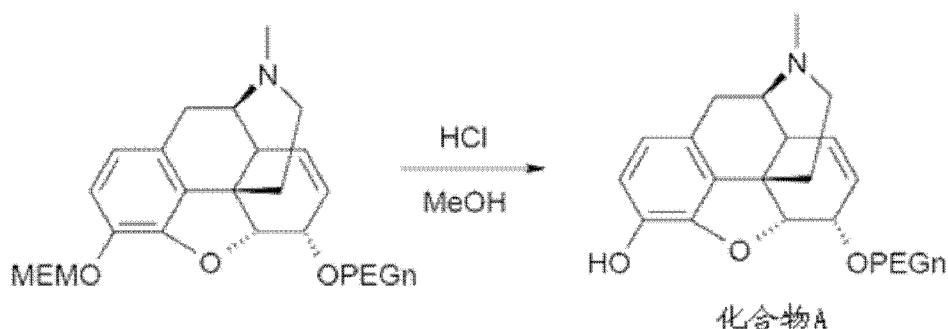


[0276] 向甲苯 /DMF (2 : 1 混合物、总共 10 体积) 的溶液注入 MEM-啡游离碱, 随后是 NaH (4-6 当量), 然后是之前制备的 PEGnOMs (1.2-1.4 当量)。将该反应混合物加热到 $55^\circ C - 75^\circ C$ 并且搅拌直到通过 LC-MS 分析 (取决于 PEG 链长, 12-40 小时) 证实反应完成为止。用甲醇 (5 体积) 对该反应混合物进行骤冷并且将该反应混合物在真空中蒸干。将该残余物重新溶解在甲醇中 (3 体积) 并且使用一种 Combiflash 系统进行色谱分析 (0-40% MeOH/DCM)。收集包含大量产物的多个部分、将其合并并且蒸发到干燥。然后通过 RP-HPLC 将这种材料纯化以给出作为黄色至橙色油的产品。

[0277] MEM-保护的啡偶联物的脱保护以提供一种啡偶联物

[0278] 将 MEM-保护的啡偶联物进行脱保护以提供一种啡偶联物的一般方法图解示出如下。

[0279]



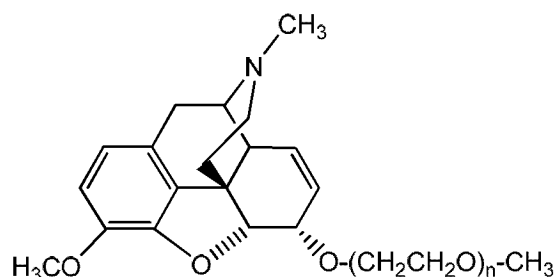
[0280] 向 MEM- 保护的啡啡偶联物 TFA 盐悬浮在 DCM(8 体积) 中的一种溶液中注入 6 体积的在二乙醚中的 2M HCl。将该反应混合物在室温下搅拌两小时, 并且然后在减压下蒸干。将该油质的残余物溶解在 MeOH(8 体积) 中、通过玻璃棉过滤、并且然后在减压下使之蒸发从而以定量产率给出一种浓的橙色至黄色的油。通过这种方法制成的化合物包括: α -6-mPEG₃-O- 啡啡 (化合物 A, n = 3) 217mg 的 HCl 盐 97% 纯的 (通过 UV254 为 95%; 通过 ELSD 为 98%); α -6-mPEG₄-O- 啡啡 (化合物 A, n = 4) 275mg 的 HCl 盐 98% 纯的 (按 UV254 为 97%; 按 ELSD 为 98%); α -6-mPEG₅-O- 啡啡 (化合物 A, n = 6) 310mg 的 HCl 盐 98% 纯的 (通过 UV254 为 98%; 通过 ELSD 为 99%);

[0281] α -6-mPEG₇-O- 啡啡 (化合物 A, n = 7) 541mg 的 HCl 盐 96% 纯的 (通过 UV254 为 93%; 通过 ELSD 为 99%); 以及 α -6-mPEG₉-O- 啡啡 (化合物 A, n = 9) 466mg 的 HCl 盐 98% 纯的 (通过 UV254 为 97%; 通过 ELSD 为 99%)。另外, 具有一个单一 PEG 单体附接的啡啡偶联物、 α -6-mPEG₁-O- 啡啡 (化合物 A, n = 1)、124mg 的 HCl 盐、97% 纯的 (通过 UV₂₅₄ 为 95% 纯的; 通过 ELSD 为 98%); 连同类似制备的 α -6-mPEG₂-O- 啡啡 (化合物 A, n = 2)、485mg 的 HCl 盐、97% 纯的 (通过 UV₂₅₄ 为 95% 纯的; 通过 ELSD 为 98%)。

[0282] 实例 11

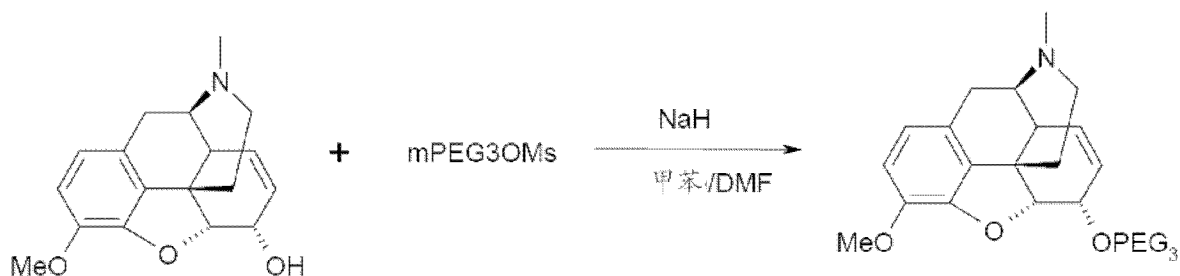
[0283] 制备 mPEG_n-O- 可待因偶联物

[0284]



[0285] 用于将可待因与一种水溶性低聚物 (使用 mPEG₃OMs 作为一种代表性的低聚物) 的活化的磺酸酯进行偶联以提供一种可待因偶联物的一般方法图解示出如下。

[0286]



[0287] 将可待因 (30mg、0.1mmol) 溶解在甲苯 /DMF(75 : 1) 的溶剂混合物中, 随后加入 HO-CH₂CH₂OCH₂CH₂OCH₂CH₂OM(44ml、2 当量) 以及 NaH(在矿物油中的 60% 悬浮液、24mg、6 当量)。将生成的均匀黄色溶液加热到 45℃。在一个小时以后, 该反应显示出 11% 的转化 (额外的峰在 2.71 分钟处, 运行 12 分钟), 在十八小时以后, 该反应显示出 7% 的转化 (额外的峰在 3.30 分钟处, 运行 12 分钟)、并且在 24 小时以后, 该反应显示出 24% 的转化 (多个额外的峰、最高的两个是 1.11 分钟和 2.79 分钟)。在这一点上, 加入一种额外的 16mg 的 NaH 并且加热持续六小时, 在此以后, 加入一种额外的 16mg 的 NaH, 随后持续加热超过六十六小时。此后, 没有起始材料剩余, 并且分析揭示出多个额外的峰、最高的两个对应于 2.79 分钟和 3 分钟 (在至少 7 个峰值之中产物峰是第二高的)。

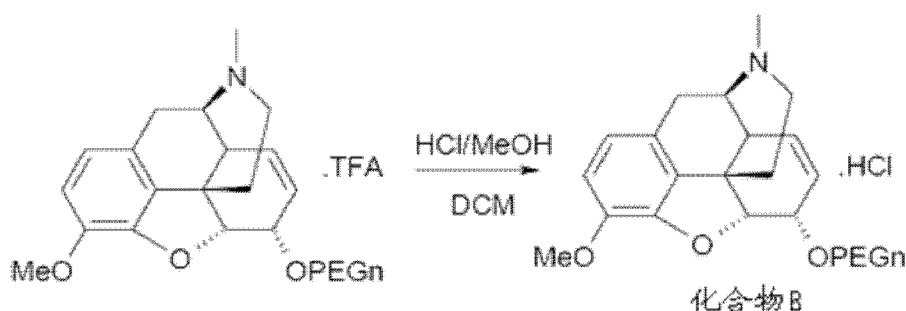
[0288] 使用 10 倍规模重复这一合成, 其中使用 30ml 的溶剂混合物。在十八小时以后, 分析揭示 71% 的额定转化, 其中在 UV 中具有附加峰 (在 3.17 分钟处有一个高峰以及多个小峰; 其中所希望的峰在 UV 中对应于 3.43 分钟)。其后, 加入 80mg (2mmol) 的 NaH, 随后持续加热。在三小时以后, 分析揭示 85% 的额定转化 (若干额外的峰, 主要为 3.17 分钟处)。将所产生的反应混合物用水稀释, 用 EtOAc (3x, 将合并的有机层用盐水洗涤, 经过 MgSO₄ 干燥、将其过滤并且旋转蒸发) 萃取以给出黄色的油 (在 LC-MS 中没有 sm, 按 ELSD 为 90% 纯的, 按 UV 为 50% 纯的 - 主要杂质在 3.2 分钟处)。将该粗制品溶解在 DCM 中, 敷到一个小柱筒 (cartridge) (填有 230-400 筛目的 SiO₂) 上、将其干燥、在一个 Combi-flash 上经由一种 4g 预充的柱筒用溶剂 A = DCM 以及溶剂 B = MeOH (B 的梯度为 0 到 30%) 进行洗脱。分析揭示了两个对称性差的峰: 一个小的前峰和一个较大的带尾部的峰。将 LC-MS 用于对各部分进行分析, 其中没有一个被识别为包含纯产物。那些包含任何产品 (tt#22-30) 的合并部分继溶剂蒸发之后产生了 150mg (34% 的产率) 的不纯产物 (通过 UV 254 在 3.35 分钟处的 LC-MS 纯度, 其中大约 25% 代表 12 分钟运行过程的 3.11 分钟、3.92 分钟、4.32 分钟、5.61 分钟处的主要杂质)。通过 HPLC 进行的第二纯化 (溶剂 A = 水、0.1% TFA; 溶剂 B = 乙腈、0.1% TFA) 使用一种梯度对应于 15% -60% 的 B (70 分钟、10ml/分钟) 导致与相邻峰的不良分离。仅有两个部分是足够干净的并且给出 21mg 的 TFA 盐 (> 95% 纯的、4.7% 的产率)。在包含所希望产物的部分之前或之后的三个额外的部分 (总共六个额外的部分) 都进行合并, 以作为 TFA 盐给出 70mg 的约 50% 纯的产物。

[0289] 使用这种相同的方法, 使用这些以上列出的 NaH 条件制成环氧乙烷单元的数目 (n = 4、5、6、7、和 9) 不同的其他的偶联物。

[0290] 可待因 - 低聚物偶联物的 TFA 盐向可待因 - 低聚物的 HCl 盐的转化。

[0291] 用于将可待因 - 低聚物 TFA 盐转化为可待因 - 低聚物 HCl 盐的一般方法图解示出如下。

[0292]



[0293] 向可待因-低聚物偶联物的 TFA 盐悬浮在 DCM(8 体积)中的一种溶液中注入 6 体积的在二乙醚中的 2M HCl。允许将该反应混合物在室温下搅拌两小时,并且然后在减压下蒸干。将该油质残余物溶解在 MeOH(8 体积)中、通过玻璃棉过滤、然后在减压下使之蒸发从而以定量产率给出一种浓的橙色至黄色的油。遵循该一般程序,合成了以下化合物:
 α -6-mPEG₃-O-可待因(化合物 B, n = 3) 235mg 的 HCl 盐、98% 纯的;

[0294] α -6-mPEG₄-O-可待因(化合物 B, n = 4) 524mg 的 HCl 盐、98% 纯的;

[0295] α -6-mPEG₅-O-可待因(化合物 B, n = 5) 185mg 的 HCl 盐、98% 纯的 + 119mg 的 HCl 盐 97% 纯的; α -6-mPEG₆-O-可待因(化合物 B, n = 6) 214mg 的 HCl 盐、97% 纯的;

[0296] α -6-mPEG₇-O-可待因(化合物 B, n = 7) 182mg 的 HCl 盐、98% 纯的;

[0297] α -6-mPEG₉-O-可待因(化合物 B, n = 9) 221mg 的 HCl 盐、97% 纯的;

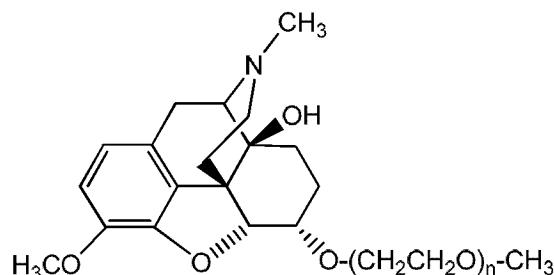
[0298] α -6-mPEG₁-O-可待因(化合物 B, n = 1) 63mg 的 HCl 盐、90% 纯的;

[0299] 以及 α -6-mPEG₂-O-可待因(化合物 B, n = 2) 178mg 的 HCl 盐、90% 纯的。

[0300] 实例 12

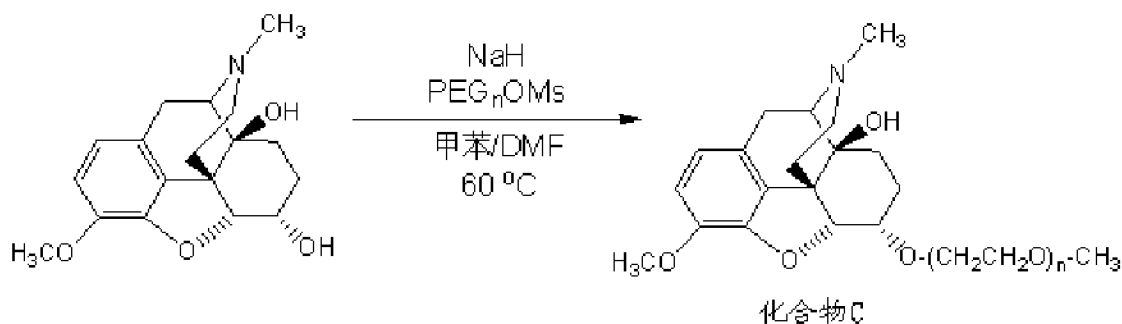
[0301] 制备 mPEG_n-O-氢可酮偶联物

[0302]



[0303] 用于将氢可酮与一种水溶性低聚物(使用“mPEG₃OMs”作为一种代表性低聚物)的活化舒砒那酯进行偶联以提供一种氢可酮偶联物的一般方法图解示出如下。

[0304]



[0305] 羟考酮还原为 α -6-氢可酮 :

[0306] 向羟考酮游离碱在干燥 THF 中的溶液在氮下在 -20°C 下冷却,经 15 分钟加入三-仲-丁基硼氢化钾的一种 1.0M 的 THF 溶液。将该溶液在 -20°C 下搅拌 1.5 小时,然后缓慢加入水(10mL)。在 -20°C 下将该反应混合物再搅拌 10 小时,并且然后允许将其加温到室温。将全部溶剂在减压下去除,并且将 CH_2Cl_2 加入剩余的残余物中。用 0.1N HCl/NaCl 水溶液萃取该 CH_2Cl_2 相,然后用 CH_2Cl_2 洗涤合并的 0.1N HCl 溶液萃取物,然后加入 Na_2CO_3 调整 pH = 8。用 CH_2Cl_2 萃取该溶液。使该 CH_2Cl_2 萃取物经无水 Na_2SO_4 干燥。将溶剂在减压下去除之后,获得所希望的 α -6-HO-3-氢可酮。

[0307] mPEG_nOMs 偶联到 α -6-氢可酮 :向甲苯/DMF(2 : 1 混合物、共 10 体积)的溶液中

注入氢可酮(如在以上段落列出的而制备),随后是NaH(4当量),并且然后是mPEG_nOMs(1.3当量)。将该反应混合物加热到60°C-80°C并且搅拌直到通过LC-MS分析(取决于PEG链长,12-40小时)证实反应完成为止。用甲醇(5体积)将该反应混合物猝灭并且将该反应混合物在真空中蒸干。将该残余物重新溶解在甲醇(3体积)中并且使用一种Combiflash进行色谱分析(0%-40%MeOH/DCM)。收集包含大量产物的多个部分、将其合并,并且蒸干。然后通过RP-HPLC将这种材料纯化以给出终产品,为黄色至橙色的油。

[0308] 氢可酮偶联物 TFA 盐向氢可酮偶联物 HCl 盐的转化

[0309] 向氢可酮偶联物 TFA 盐悬浮在 DCM(8 体积)中的一种溶液中注入 6 体积的在二乙醚中的 2M HCl。允许将该反应混合物在室温下搅拌两小时,并且之后在减压下蒸干。将该油质的残余物溶解在 MeOH(8 体积)中、通过玻璃棉过滤、并且之后在减压下使之蒸发从而以定量产率给出一种浓的橙色至黄色的油。遵循这种一般程序,合成了以下化合物: α-6-mPEG₃-O-羟考酮(aka α-6-mPEG₃-O-氢可酮)(化合物 C, n = 3) 242mg 的 HCl 盐、96% 纯的; α-6-mPEG₄-O-羟考酮(aka α-6-mPEG₄-O-氢可酮)(化合物 C, n = 4) 776mg 的 HCl 盐、94% 纯的; α-6-mPEG₅-O-羟考酮(aka α-6-mPEG₅-O-氢可酮)(化合物 C, n = 5) 172mg 的 HCl 盐、93% 纯的; α-6-mPEG₆-O-羟考酮(aka α-6-mPEG₆-O-氢可酮)(化合物 C, n = 6) 557mg 的 HCl 盐、98% 纯的; α-6-mPEG₇-O-羟考酮(aka α-6-mPEG₇-O-氢可酮)(化合物 C, n = 7) 695mg 的 HCl 盐、94% 纯的; 以及 α-6-mPEG₉-O-羟考酮(aka α-6-mPEG₉-O-氢可酮)(化合物 C, n = 9) 435mg 的 HCl 盐 95% 纯的。类似地制备了以下这些化合物: α-6-mPEG₁-O-羟考酮(aka α-6-mPEG₁-O-氢可酮)(化合物 C, n = 1) 431mg 的 HCl 盐、99% 纯的; 以及 α-6-mPEG₂-O-羟考酮(aka α-6-mPEG₂-O-氢可酮)(化合物 C, n = 2) 454mg HCl 盐、98% 纯的。

[0310] 实例 13

[0311] 活体内镇痛测定:苯基醌扭体

[0312] 使用一种镇痛测定确定示例性的 PEG-低聚物-阿片样物质促效剂偶联物是否属于下列偶联物系列:mPEG_{2-7,9}-O-吗啡、mPEG_{3-7,9}-O-可待因、以及 mPEG_{1-4,6,7,9}-O-氢可酮在小鼠中对于减少和/或预防内脏痛中是有效的。

[0313] 该测定使用了 CD-1 雄性小鼠(每组 5-8 只小鼠),在研究当天每只小鼠大约为 0.020-0.030kg。根据标准的科学试验计划对小鼠进行处理。在将该苯基醌(PQ)溶液给药之前的三十分钟,对小鼠给予一个单一“预处理”剂量的一种缺乏水溶性非肽低聚物的共价附接的化合物(即非-PEG低聚物-改进的母体分子)、一种对应的包括共价地附接在一种水溶性非肽低聚物上的化合物的型式(即,该偶联物)、或对照溶液(IV、SC、IP 或口服)。对各动物给出一种皮下注射的一种刺激物(苯基醌、PQ),该刺激物诱导“扭体”,“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。对各动物给出一种皮下注射的 PQ(1mg/kg PQ, 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,并且对观察它们的行为。在‘预处理’后的 35 至 45 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 0.1mg/kg 以及 100mg/kg(n = 5-10 动物/剂量)之间的范围进行给药。

[0314] 这些结果显示于图 2(mPEG_{2-7,9}-O-吗啡和对照)、图 3(mPEG_{1-4,6,7,9}-O-氢可酮和对照)、以及图 4(mPEG_{3-7,9}-O-可待因和对照)。ED50 值在以下表 2 和表 3 中提供。

[0315] 表 2. 对于 mPEG_n-O- 吗啡系列的 ED₅₀ 值

[0316]

	吗啡	PEG 2	PEG 3	PEG 4	PEG 5	PEG 6	PEG 7	PEG 9
ED₅₀ (mg/kg)	0.3693	2.512	13.58	3.281	13.4	n/a	n/a	n/a

[0317] 表 3. 对于 mPEG_n-O- 氢可酮系列的 ED₅₀ 值

[0318]

	羟考酮	PEG 1	PEG 2	PEG 3	PEG 4	PEG 6	PEG 7	PEG 9
ED₅₀ (mg/kg)	0.6186	6.064	n/a	n/a	17.31	n/a	n/a	n/a

[0319] 实例 14

[0320] 活体内的镇痛剂测定 : 热板潜伏试验

[0321] 将一种热板潜伏期镇痛试验用来确定示例性的 PEG- 低聚物 - 阿片样物质促效剂偶联物 (属于下列偶联物系列 : mPEG₁₋₅-O- 吗啡、mPEG₁₋₅-O- 氢可酮、以及 mPEG_{2-5,9}-O- 可待因) 是否在小鼠中对于减少和 / 或预防内脏痛中是有效的。

[0322] 该测试使用了 CD-1 雄性小鼠 (每组 10 只), 在研究当天每只小鼠是大约 0.028-0.031kg。根据标准的科学试验计划对小鼠进行处理。在该热板试验之前的三十分鐘, 对小鼠给予一个单一“预处理”剂量的一种化合物 (缺乏一种水溶性非肽低聚物 (未改性的母体分子) 的共价附接)、一种包括共价地附接在一种水溶性非肽低聚物上的化合物的对应的型式 (即该偶联物)、或对照溶液 (SC)。将该热板温度设置在 55±1°C, 在该实验开始之前用一个表面温度计校准。在“预处理”之后三十分鐘, 将各小鼠放置在热板上, 并且记录舔足趾的潜伏期, 到最接近的 0.1 秒。若在 30 秒之内没有发生舔足, 则将该小鼠移出。在热板试验以后立即将一个测温探头插入直肠中 17mm, 并且在温度计稳定后 (大约 10 秒) 读取体温到最接近的 0.1°C。这些动物使用一次。每个测试物品以 0.3mg/kg 以及 30mg/kg (n = 5-10 动物 / 剂量) 之间的范围进行给药。

[0323] 结果如图 5 所示 (氢可酮系列)、图 6 (吗啡系列) 以及图 7 (可待因)。曲线图说明潜伏期 (到舔足趾时的时间, 按秒计) 对比按 mg/kg 给药的化合物的剂量。

[0324] 实例 15

[0325] 在雄性 Sprague-Dawley 大鼠 - 研究设计中静脉注射 (IV) 和口服

[0326] (PO) 给药后 PEG_{低聚物}- 阿片样物质化合物的药物代谢动力学。

[0327] 将具有留置的颈静脉和颈动脉导管 (JVC/CAC) (Charles River Labs, Hollister, CA) 一百七十五 (175) 只成年雄性 Sprague-Dawley 大鼠用于该研究。每组 3 只大鼠。使全部动物禁食过夜。在给药之前对这些大鼠称重, 将这些尾部以及笼卡片做标记用于识别并且计算这些剂量。用 3.0-5.0% 异氟烷诱导并且维持麻醉。将 JVC 和 CAC 外置, 用 HEP/ 盐水冲洗 (10IU/mL HEP/mL 盐水)、塞住、并且标记, 以识别该颈静脉和颈动脉。从 JVC 中收集预剂量样品。在全部动物已经从麻醉恢复并且对这些预剂量样品进行处理时, 对用于静脉内的组的这些动物使用含有该适当的测试物品的一个 1mL 的注射器经由 JVC 静脉内 (IV)

给药,将该导管的死体积用 0.9%的盐水冲洗以确保这些动物接收到正确的剂量,并且对口服组的动物经由强饲法进行口服处理。

[0328] 一个单一 IV 剂量之后,经由该颈动脉导管在以下时间点收集血样:0(如上所说明给药前收集的)、2、10、30、60、90、120、以及 240 分钟,并且在口服给药之后,在以下时间点收集血样:0(如以上所说明的给药前收集的),15、30、60、120、240、和 480 分钟并且如在该科学试验计划中所说明的进行处理。在最后的收集时间点之后使动物安乐死。

[0329] 使用 LC-MS/MS 方法对这些血浆样品进行 Bioanalytical 分析。

[0330] 药物代谢动力学分析:使用 WinNonlin(版本 5.2, Mountain View, CA-94014) 进行 PK 分析。在生成表和 PK 分析之前,将低于 LLOQ 的血浆中的浓度用零替换。使用每个动物的血浆浓度 - 时间曲线估计以下 PK 参数:

[0331] C_0 对时间“零”的外推浓度

[0332] $C_{\text{最大}}$ 最大(峰)浓度

[0333] $AUC_{\text{总}}$ 在浓度 - 时间之下从零到最后浓度值的时间的区域

[0334] $t_{1/2(z)}$ 最终消除半衰期

[0335] AUC_{inf} 在浓度 - 时间之下从零到无限时间的区域

[0336] $T_{\text{最大}}$ 给药之后达到最大或峰浓度的时间

[0337] CL 总的体内清除率

[0338] V_z 基于末期的分布体积

[0339] V_{ss} 处于稳态的分布体积

[0340] $MRT_{\text{最后}}$ 到最后可观察的浓度的平均停留时间

[0341] F 生物利用度

[0342] 使用平均剂量 - 标准化的 $AUC_{\text{总}}$ 的数据对于以下化合物估计口服的生物利用度,其中仅对 IV 或 PO 组之一的 $n = 3$ / 组具有报告的数据。

[0343] 实例 16

[0344] 制备 mPEG_n-O- 氢可酮偶联物的 IV 和 PO 药物代谢动力学

[0345] 在 Sprague-Dawley 大鼠中如在以上实例 15 中所说明的进行药物代谢动力学研究。给予的化合物是 mPEG_n-O- 氢可酮偶联物(其中 $n = 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7$ 以及 9) 以及母体化合物羟考酮。目标是确定通过静脉内和口服二者所给予的母体化合物及其不同低聚物偶联物的药物代谢动力学。

[0346] 对于羟考酮、mPEG₀- 羟考酮、mPEG₁-O- 氢可酮、mPEG₂-O- 氢可酮、mPEG₃-O- 氢可酮、mPEG₄-O- 氢可酮、mPEG₅-O- 氢可酮、mPEG₆-O- 氢可酮、mPEG₇-O- 氢可酮、以及 mPEG₉-O- 氢可酮经 IV(1mg/kg) 和 PO(5mg/kg) 递送之后血浆 PK 参数的概述如下表、表 4 和表 5 所示。

[0347] 基于对于 IV 给药观察到的数据(表 4), mPEG₉-O- 氢可酮似乎达到更高的血浆浓度,其中在给予母体羟考酮以后观察到为对应的平均 $t_{1/2}$ 值的 3 倍的平均 $t_{1/2}$ 值。

[0348] 图 8 显示了对于如上说明的 IV- 给予的多种 mPEG_n-O- 氢可酮化合物连同对于羟考酮本身当以 1.0mg/kg 的浓度给予时的平均血浆浓度 - 时间曲线。

[0349] 基于对于口服给药所观察到的数据(表 5), 与母体分子羟考酮相比较, mPEG₅-O- 氢可酮、mPEG₆-O- 氢可酮、以及 mPEG₇-O- 氢可酮似乎达到在血浆中更高的平均暴露(大约 3 到 8 倍)。

[0350] 图 9 显示了对于如上说明的多种 mPEG_n-O- 氢可酮化合物连同对于羟考酮当以 5.0mg/kg 的浓度口服给予大鼠时的平均血浆浓度 - 时间曲线。

[0351] 表 4. 静脉内给予大鼠的多种 mPEG_n-O- 氢可酮偶联物的 PK 参数对比 (平均值 ± SD)

[0352]

PEG 长度	C _{max} (ng/mL)	T _{1/2(α)} 分钟	AUC _{0-∞} (分钟·ng/mL)	AUC _{inf} (分钟·ng/mL)	MRT _{0-∞} 分钟	CL (mL/分钟/kg)	V _s (L/kg)
0	495±56.0	47.0±3.99	12800±1090	13000±1070	37.0±1.28	77.1±6.26	3.17±0.293
1	425±41.3	47.2±6.37	9890±1320	10100±1440	38.7±4.54	100±13.4	4.31±0.222
2	513±48.8	44.6±1.80	12000±1610	12200±1650	37.0±2.60	83.3±10.8	3.36±0.298
3	746±2.08	48.5±7.83	13800±1050	14000±1010	32.5±1.92	71.7±4.99	2.62±0.206
4	537±31.0	43.6±3.27	11500±783	11600±827	35.6±2.88	86.5±6.36	3.34±0.113
5	622±39.7	62.1±3.85	16900±1800	17700±1990	46.2±1.86	57.0±6.07	3.30±0.184
6	445±83.6	62.2±5.17	12600±2370	13100±2390	47.7±1.41	77.9±14.4	4.68±0.938
7	489±26.5	87.0±3.25	14300±583	15800±728	54.3±0.372	63.3±2.99	5.31±0.139
9	955±149	143±14.3	16600±2190	21000±4230	52.7±4.04	48.9±9.41	6.35±0.349

[0353] 表 5. 口服给予 Sprague Dawley 大鼠的多种 mPEG_n-O- 氢可酮偶联物的 PK 参数对比 (平均值 ± SD)

[0354]

PEG-长度	C _{max} (ng/mL)	T _{1/2(α)} 分钟	AUC _{0-∞} (分钟·ng/mL)	AUC _{inf} (分钟·ng/mL)	T _{max} 分钟	MRT _{0-∞} 分钟	F%
0	25.5±1.86	NC	4520±1660	NC	15.0	179±17.4	7.1
1	14.3±6.43	57.7*	1050±205	1150*	15.0	66.8±23.8	2.1
2	99.4±47.3	48.5±12.0	5910±2690	5830±2600	15.0	55.4±14.7	9.4
3	44.5±29.4	65.6*	3620±1910	4210*	15.0	84.7±17.0	5.3
4	55.8±4.69	70.3*	6340±1810	5280*	15.0	96.6±33.6	11.0
5	178±14.7	75.8±1.08	32800±2020	33300±2090	15.0	124±4.84	37.6
6	171±76.6	85.4±7.83	35100±10100	36200±10200	120	154±6.46	55.3
7	114±38.0	115±29.2	20400±3670	22200±2900	120	178±6.09	28.1
9	27.6±19.6	106(n=1)	7620±4510	13500(n=1)	120	203±43.8	9.2

[0355] * :n = 2, NC :未计算。将 T_{max} 报告为平均值。

[0356] 为总结这些结果,具有不同的低聚物的 PEG- 长度 (PEG1 到 PEG9) 的聚乙二醇化氢可酮的静脉内给药与羟考酮相比导致了可变的血浆浓度以及暴露。具有链长 3、5、7 以及 9 的 PEG 显示出较高的平均暴露 (AUC), 而 PEG6 显示出可比的平均暴露 (AUC) 并且具有链长 1、2 或 4 的 PEG 显示出稍微更低的平均暴露 (AUC)。具有大于 5 的 PEG 长度的这些化合物显示出随着 PEG 长度的增加更低的清除率、在稳态下更高的分布体积、增大的消除半衰期值的倾向。

[0357] 除共价地附接到 PEG1 以及 PEG3 上的氢可酮之外,具有不同的低聚物 PEG- 长度 (PEG1 到 PEG9) 的聚乙二醇化氢可酮的口服给药引起血浆暴露上的改进。对于共价地附接到 mPEG6 (55.3%) 上的氢可酮口服的生物利用度最高。随后对应地是 mPEG5- 氢可酮以及 mPEG7- 氢可酮,分别为 37.6%和 28.1%。这些消除半衰期值显示出一种随 PEG- 长度增加而增加的倾向。

[0358] 实例 17

[0359] mPEG_n-O- 吗啡偶联物的 IV 和 PO 药物代谢动力学

[0360] 在 Sprague-Dawley 大鼠中如在以上实例 15 中所说明的进行药物代谢动力学研究。所给予的化合物是 mPEG_n-O- 吗啡偶联物 (其中 n = 1、2、3、4、5、6、7 以及 9) 连同该母体化合物吗啡。目标是确定通过静脉内和口服二者给予的母体化合物及其不同的偶联低聚物的药物代谢动力学。

[0361] 对于吗啡、mPEG₁-O- 吗啡、mPEG₂-O- 吗啡、mPEG₃-O- 吗啡、mPEG₄-O- 吗啡、mPEG₅-O- 吗啡、mPEG₆-O- 吗啡、mPEG₇-O- 吗啡、mPEG₉-O- 吗啡经 IV (1mg/kg) 和 PO (5mg/kg) 途径之后血浆 PK 参数的概述对应地在表 6 和表 7 中示出。

[0362] 对于静脉内的组:图 10 显示对于以上 mPEG_n-O- 吗啡偶联物在以 1.0mg/kg 静脉内给予大鼠后的平均血浆浓度-时间曲线。对于每个动物似乎存在一个与 mPEG₂-O- 吗啡的血浆曲线不一致的界外 (outlier) 数据,并且将它们从 PK 分析中除去。

[0363] 基于观察到的数据 (表 6), mPEG₉-O- 吗啡似乎达到了更高的血浆浓度,其中在给予母体吗啡以后观察到为对应的 t_{1/2} 值的 4 倍的一个平均 t_{1/2} 值。

[0364] 表 6. 静脉内给予大鼠的多种 mPEG_n-O- 吗啡偶联物的 PK 参数对比

[0365]

PEG- 长度	C _{pk} (ng/mL)	T _{1/2β} 分钟	AUC _{0-∞} (分钟·ng/mL)	AUC _{inf} (分钟·ng/mL)	MRT _{0-∞} 分钟	CL (mL/分钟/kg)	V _s (L/kg)
0	132 ± 5.86	51.1 ± 20.8	2730 ± 276	2760 ± 218	28.5 ± 6.79	364 ± 27.5	14.9 ± 4.0
1	483 ± 37.1	40.0 ± 2.58	11400 ± 1230	11500 ± 1260	29.8 ± 5.05	87.8 ± 9.40	2.75 ± 0.236
2	378 ± 48.8	38.1 ± 8.03	7510 ± 106	7410 ± 404	26.4 ± 5.90	135 ± 7.60	4.2 ± 0.270
3	483 ± 81.0	45.0 ± 2.73	12700 ± 1950	12900 ± 1990	39.3 ± 1.69	78.5 ± 11.8	3.43 ± 0.616
4	622 ± 72.5	52.9 ± 6.50	14600 ± 1140	15000 ± 1270	40.1 ± 0.962	67.1 ± 5.58	3.17 ± 0.168
5	514 ± 38.6	68.4 ± 0.826	13200 ± 998	14000 ± 1050	49.7 ± 1.20	71.6 ± 5.17	4.74 ± 0.347
6	805 ± 30.6	93.7 ± 17.1	19000 ± 1430	21600 ± 2060	56.2 ± 3.84	46.6 ± 4.67	4.39 ± 0.630
7	1110 ± 123	111 ± 32.9	18100 ± 956	21200 ± 1990	49.6 ± 5.20	47.4 ± 4.21	4.76 ± 0.997
9	1840 ± 123	204 ± 28.3	23300 ± 1460	29000 ± 3240	34.2 ± 2.72	34.7 ± 3.64	4.52 ± 0.473

[0366] 对于口服组,图 11 显示对于以上描述的多种 mPEG_n-O- 吗啡偶联物在对大鼠进行口服给药 (5.0mg/kg) 以后的平均血浆浓度-时间曲线。

[0367] 基于所观察到的数据 (表 7), 与母体分子吗啡相比,在这些偶联物之中 mPEG₄-O- 吗啡似乎达到了最高的血浆浓度。

[0368] 表 7. 口服给予 Sprague Dawley 大鼠的多种 mPEG_n-O- 吗啡偶联物的 PK 参数对比 (平均值 ± SD)

[0369]

PEG-长度	C _{最大} (ng/mL)	T _{1/2(β)} 分钟	AUC _总 (分钟·ng/mL)	AUC _{inf} (分钟·ng/mL)	T _{最大} 分钟	MRT _总 分钟	F%
0	29.8±7.78	144±32.1	5510±667	7230±897	15.0	194±22.0	40.4 [±]
2	3.84*	104*	448*	778*	15.0*	60.7*	0.15
3	30.3±4.42	377*	4250±2140	8370*	15.0	151±69.4	9.0
4	87.1±53.6	191±104	15600±7690	18200±10300	30.0	149±26.7	22.1
5	35.6±19.8	247*	9190±5650	17400*	120	205±26.2	13.9
6	42.8±31.2	121*	8290±4970	10800*	120	177±29.4	8.7
7	9.38±0.883	236*	2210±221	2720*	60.0	187±32.0	2.4
9	7.15±3.34	363*	1360±311	2270*	15.0	166±26.0	1.2

[0370] 因为全部浓度都< LLOQ, 对于 mPEG₁- 吗啡没有报告 PK 参数。* n = 2。

[0371] 总之, 对于 IV 数据, 具有不同的 PEG- 长度 (PEG1 到 PEG9) 的低聚物聚乙二醇化吗啡的给药与吗啡本身相比导致了更高的血浆浓度以及暴露 (AUC)。随着 PEG- 长度向前增加 5 在平均 AUC 上存在一种清楚的增加趋势, 其中对于 PEG9- 吗啡化合物, 与非偶联吗啡相比较, 平均 AUC 要高 10 倍。平均半衰期和平均停留时间也随 PEG- 长度增加而增加。较低的平均清除率值与所观察到的较高的平均 AUC 值相一致。

[0372] 对于稳态所估计的平均分布体积伴随单一 PEG 的引入立即降低 5 倍并且达到在 PEG- 长度 5 下的一个恒定值。总的来说, 聚乙二醇化作用似乎增加了该消除 t_{1/2} 并且降低了吗啡的组织分布。

[0373] 基于这些口服数据, 具有不同的 PEG- 长度 (PEG1 到 PEG9) 的聚乙二醇化吗啡的给药与吗啡相比引起了口服生物利用度的减少。该生物利用度的减少似乎与这些 PEG- 偶联物的吸收组分而非代谢组分有关。在这些 PEG- 偶联物之中, 具有 PEG- 长度 4 的偶联物显示出最大 F- 值 (22.1%), 而具有更短的或更长的 PEG- 长度的偶联物显示出清楚吸收损失的倾向。

[0374] 在这项研究中, 在 7.5mg/kg 下吗啡 F % 值比文献值 (15 %) 高 3 倍 (J. Pharmacokinet. Biopharm. 1978, 6 :505-19)。这种更高暴露的原因仍是未知的。

[0375] 实例 18

[0376] mPEG_n-O- 可待因偶联物的 IV 和 PO 药物代谢动力学

[0377] 在 Sprague-Dawley 大鼠中如在以上实例 15 中所说明的进行药物代谢动力学研究。所给予的化合物是 mPEG_n-O- 可待因偶联物 (其中 n = 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 以及 9) 以及该母体化合物可待因 (n = 0)。目标是确定通过静脉内和口服二者所给予的母体化合物 (即可待因) 及其不同偶联低聚物的药物代谢动力学。

[0378] 对于可待因、mPEG₁-O- 可待因、mPEG₂-O- 可待因、mPEG₃-O- 可待因、mPEG₄-O- 可待因、mPEG₅-O- 可待因、mPEG₆-O- 可待因、mPEG₇-O- 可待因、以及 mPEG₉-O- 可待因经 IV (1mg/kg) 和 PO (5mg/kg) 途径之后血浆 PK 参数的概述对应地在表 8 和表 9 中示出。

[0379] 对于 IV 组: 图 12 显示对于母体分子可待因以及对于如上描述的多种 mPEG_n-O- 可待因偶联物在静脉内给药后的平均血浆浓度 - 时间曲线。

[0380] 基于所观察到的数据（表 8），所测试的偶联物中 mPEG₉-0- 可待因似乎达到了更高的血浆浓度，其中在母体分子可待因给药以后观察到为对应的 $t_{1/2}$ 值的大约 2.5 倍的平均 $t_{1/2}$ 值。

[0381] 表 8. 静脉内给予大鼠的可待因及其多种低聚物 PEG 偶联物的 PK 参数对比
[0382]

PEG-长度	C _{最大} (ng/mL)	T _{1/2(β)} 分钟	AUC _总 (分钟·ng/mL)	AUC _{inf} (分钟·ng/mL)	MRT _{最后} 分钟	CL (mg/kg)	V _{ss} (L/kg)
0	469 ± 20.4	42.1 ± 3.15	11000 ± 1600	11400 ± 2070	40.2 ± 9.08	89.7 ± 15.3	4.14 ± 0.700
1	723 ± 31.2	42.1 ± 4.84	15500 ± 2020	15700 ± 2130	32.2 ± 4.59	64.6 ± 8.75	2.22 ± 0.899
2	685 ± 41.0	35.3 ± 2.78	14500 ± 1590	14600 ± 1590	31.5 ± 2.96	69.0 ± 7.57	2.25 ± 0.166
3	732 ± 27.1	39.4 ± 1.49	17300 ± 1520	17400 ± 1550	33.8 ± 2.40	57.7 ± 4.89	2.07 ± 0.127
4	746 ± 70.0	57.1 ± 43.8	15200 ± 2160	15400 ± 2240	27.5 ± 4.55	65.9 ± 10.4	2.30 ± 0.720
5	533 ± 38.9	42.7 ± 3.56	11500 ± 878	11700 ± 913	31.8 ± 1.53	86.2 ± 7.04	2.95 ± 0.157
6	1780 ± 149	58.0 ± 4.79	45600 ± 2020	47100 ± 2000	41.7 ± 3.08	21.3 ± 0.876	1.08 ± 0.143
7	443 ± 43.3	74.5 ± 5.76	12700 ± 481	13700 ± 320	50.7 ± 2.07	73.1 ± 1.73	5.20 ± 0.596
9	730 ± 68.0	109 ± 1.80	17800 ± 2310	20800 ± 2840	57.2 ± 2.46	48.6 ± 6.74	5.18 ± 0.538

[0383] 将 T_{最大} 报告为平均值。* :n = 2。

[0384] 对于口服组，图 13 显示了对于母体分子（可待因）对比多种 mPEG_n- 可待因偶联物在向大鼠口服（5.0mg/kg）给药以后的平均血浆浓度 - 时间曲线。

[0385] 基于所观察到的数据（表 9），与母体分子可待因相比较，在这些测试的偶联物之中该 PEG-6 化合物（mPEG₆- 可待因）似乎达到了最高的血浆浓度（高于平均 AUC_总 52 倍）。

[0386] 表 9. 口服给予 Sprague Dawley 大鼠的可待因与不同 mPEG_n-0- 可待因偶联物的 PK 参数对比（平均值 ± SD）

[0387]

PEG-长度	C _{最大} (ng/mL)	T _{1/2(β)} 分钟	AUC _总 (分钟·ng/mL)	AUC _{inf} (分钟·ng/mL)	T _{最大} 分钟	MRT _{最后} 分钟	F%
0	6.24 ± 2.51	80.8 [#]	328 ± 216	431 [#]	15.0	33.2 ± 12.9	0.60
2	3.47 ± 0.606	97.6 ± 28.4	351 ± 195	419 ± 226	15.0	62.0 ± 27.4	0.57
3	25.0 ± 6.59	125 ± 64.6	1920 ± 245	2080 ± 498	15.0	71.0 ± 9.16	2.39
4	31.1 ± 13.1	118 ± 60.0	2530 ± 682	2670 ± 870	15.0	83.8 ± 22.5	3.47
5	48.7 ± 10.8	125 ± 63.7	5510 ± 963	5890 ± 1470	15.0	108 ± 35.4	10.1
6	617 ± 56.4	126 ± 54.1	70500 ± 12300	74500 ± 10000	15.0	119 ± 11.1	31.6
7	76.6 ± 12.8	97.6*	17100 ± 4220	16000*	120	171 ± 21.7	26.9
9	31.5 ± 8.43	143*	7320 ± 3330	6840*	15.0	179 ± 21.6	8.22

[0388] 因为浓度为 LLOQ，对于 NKT-10479 没有报告 PK 参数。

[0389] n = 1, * :n = 2。将 T_{最大} 报告为平均值。

[0390] 总之，对于 IV 数据，具有不同的低聚物 PEG- 长度（PEG1 到 PEG9）的聚乙二醇化可待因仅轻微改进了暴露（平均 AUC）并且对于 PEG-6 偶联物观察到了中等程度的改进（大

约 4 倍)。对于这种 PEG- 偶联物而言清除率和分布体积二者都减少了 4 倍。具有 PEG- 长度 7 和 9 的偶联物显示出较长的平均 $t_{1/2}$ 值,然而,对于 PEG 7- 和 PEG 9- 可待因偶联物平均清除率和平均分布体积 (V_{ss}) 两者都有减少。

[0391] 对于口服的数据,对于可待因口服的生物利用度是非常低的 ($F = 0.52\%$)。口服的生物利用度似乎伴随 PEG- 长度从 2 向前增加而增加,对于具有 PEG- 长度 6 的可待因偶联物达到最大 32% 的生物利用度,其后渐减。总体上,平均 $t_{1/2}$ 和平均停留时间值随 PEG- 长度而增加。在全部测试化合物之中,在达到峰值浓度的时间上没有差别 ($T_{最大} = 15$ 分钟),这提示吸收是迅速的并且该吸收速率没有改变。

[0392] 实例 19

[0393] 在试管中 mPEG_n-O- 阿片样物质偶联物与阿片受体的结合

[0394] 以类似于实例 4 中所说明的方式在体外对于从 CHO 细胞 (异源表达克隆的人类 μ 、 κ 或 δ 阿片受体) 制备的膜制品测量了不同 PEG- 阿片样物质偶联物 (mPEG_n-O- 吗啡、mPEG_n-O- 可待因、以及 mPEG_n-O- 氢可酮) 的结合亲合性。使用闪烁亲近测定法 (SPA) 测量了放射性配体置换。

[0395] 简言之,将这些测试化合物的系列稀释物置于一个 96- 孔板中,向其中加入 SPA 珠粒、膜以及放射性配体。对于每一种阿片受体亚型而言的测定条件如以下表 10 中所说明。将这些板在室温下孵育 8 小时 - 过夜、以 1000rpm 旋转以使这些 SPA 珠粒成粒,并且使用 **TopCount®** 酶标仪闪烁计数器测量放射性。通过减去在过量冷配体的存在下测量的非特异性结合,计算了在每种测试化合物浓度下的特异性结合。通过特异性结合对比浓度曲线的非 - 线性回归获得 IC_{50} 值并且使用 K_d 值计算 K_i 值,对于每批次的膜制品已对 K_d 值进行了实验性的预确定。

[0396] 表 10. 对于阿片受体结合测定的测定条件。

[0397]

实验性的变量	μ 阿片受体	κ 阿片受体	δ 阿片受体
SPA 珠粒	PVT-WGA PEI A 型 (GE Healthcare, Cat#RPNQ0003)	PVT-WGA (GE Healthcare, Cat#RPNQ0001)	PVT-WGA PEI B 型 (GE Healthcare, Cat#RPNQ0004)
放射性配体; 浓度:	DAMGO, [酪氨酰基-3,5-3H(N)]- (Perkin Elmer, Cat#NET-902); 6 nM	U-69,593, [苯基-3,4-3H]- (Perkin Elmer, Cat#NET-952); 10 nM	纳曲唑, [5',7'-3H]- (Perkin Elmer, Cat#NET-1065); 3 nM
非特异性结合对照	CTAP	<i>nor</i> -Binaltorphimine (<i>nor</i> -BNI)	SNC80
缓冲液	50 mM Tris-HCl, pH 7.5 5 mM MgCl ₂ ; 1 mM EDTA	50 mM Tris-HCl, pH 7.5 5 mM MgCl ₂	50 mM Tris-HCl, pH 7.5 5 mM MgCl ₂
受体和来源	在 CHO-K1 宿主细胞膜中表达的重组人类 μ 阿片受体 (Perkin Elmer, Cat#ES-542-M)	在 Chem-1 宿主细胞膜中表达的重组人类 κ 阿片受体 (Millipore, Cat#HTS095M)	在 Chem-1 宿主细胞膜中表达的重组人类 δ 阿片受体 (Millipore, Cat#HTS100M)

[0398] 该吗啡、可待因、以及氢可酮的 PEG 偶联低聚物的结合亲合性如表 11 中所示。总体而言,所有这些偶联物都显示了对该 μ -阿片受体可测量的结合,这与这些母体分子的已知药理学一致。对于一种给定的 PEG 大小, μ -阿片样物质结合亲合性的排列顺序为 PEG-吗啡 > PEG-氢可酮 > PEG-可待因。与非偶联的母体分子相比,增加 PEG 大小导致所有 PEG 偶联物对该 μ 阿片受体的结合亲合性的一种渐进性的下降。然而,这些 PEG-吗啡偶联物仍保留一种高的结合亲合性,即在母体吗啡的结合亲合性的 15 倍之内。PEG-氢可酮的 μ -阿片样物质结合亲合性比 PEG-吗啡偶联物的 μ -阿片样物质结合亲合性低 20-50 倍。可待因及其 PEG 偶联物以非常低的亲合性结合到该 μ 阿片受体上。PEG-吗啡偶联物还结合到该 κ 和 δ 阿片受体上;选择性的排列顺序是 $\mu > \kappa > \delta$ 。可待因和氢可酮偶联物对 κ 和 δ 阿片受体的结合亲合性显著地低于在 μ 阿片受体上的结合亲合性。

[0399] 表 11. PEG-阿片样物质偶联物对阿片受体的结合亲和性

化合物	K _i (nM)		
	μ 阿片受体	κ 阿片受体	δ 阿片受体
吗啡	8.44	118.38	4,297
α-6-mPEG ₁ -O-吗啡	15.72	444.54	2,723
α-6-mPEG ₂ -O-吗啡	21.97	404.33	2,601
α-6-mPEG ₃ -O-吗啡	50.66	575.98	6,176
α-6-mPEG ₄ -O-吗啡	23.11	438.88	3,358
α-6-mPEG ₅ -O-吗啡	39.40	557.54	2,763
α-6-mPEG ₆ -O-吗啡	72.98	773.56	2,595
α-6-mPEG ₇ -O-吗啡	56.86	669.56	2,587
α-6-mPEG ₉ -O-吗啡	111.05	1253.71	5,783
[0400] 羟考酮	133.48	N/A	N/A
α-6-mPEG ₁ -O-羟考酮	653.90	N/A	N/A
α-6-mPEG ₂ -O-羟考酮	631.76	N/A	N/A
α-6-mPEG ₃ -O-羟考酮	775.19	N/A	N/A
α-6-mPEG ₄ -O-羟考酮	892.70	N/A	N/A
α-6-mPEG ₅ -O-羟考酮	1862.14	N/A	N/A
α-6-mPEG ₆ -O-羟考酮	1898.30	N/A	N/A
α-6-mPEG ₇ -O-羟考酮	1607.19	N/A	N/A
α-6-mPEG ₉ -O-羟考酮:	3616.60	N/A	N/A
可待因	1,953	28,067	N/A
α-6-mPEG ₁ -O-可待因	1821.51	54669.89	N/A
α-6-mPEG ₂ -O-可待因	1383.07	22603.05	N/A
α-6-mPEG ₃ -O-可待因	4260.21	36539.78	N/A
[0401] α-6-mPEG ₄ -O-可待因	2891.36	96978.61	N/A
α-6-mPEG ₅ -O-可待因	2427.13	59138.22	N/A
α-6-mPEG ₆ -O-可待因	14202.77	> 160,000	N/A
α-6-mPEG ₇ -O-可待因	9963.93	108317.50	N/A
α-6-mPEG ₉ -O-可待因	9975.84	72246.23	N/A

[0402] N/A 表明,因为在测试化合物的最高浓度下没有获得结合的 50%抑制,所以不能计算出 K_i 值。

[0403] 实例 20

[0404] 在试管中 mPEG_n-O-阿片样物质偶联物抑制 cAMP 形成的效力

[0405] 通过在类似于在实例 5 中所说明的方式受体激活之后这些不同的 PEG-阿片样物质偶联物抑制 cAMP 形成的能力而测量它们的效力。在异源表达克隆的人类 μ、κ、或 δ

阿片受体的 CHO 细胞中进行研究。使用一种 cAMP HiRange 同源时间分辨荧光测定 (HTRF 测定) (基于一种竞争免疫测定原理) (Cisbio, Cat. #62AM6PEC) 来测量 cAMP。

[0406] 简言之,在包含 0.5mM 异丁基 - 甲基黄嘌呤 (IBMX) 的缓冲液中制备表达 μ 、 κ 或 δ 阿片受体的细胞悬浮液。在室温下将细胞与不同浓度的 PEG- 阿片样物质偶联物以及 3 μ M 毛喉素孵育 30 分钟。遵循一种两步测定科学试验计划按照制造商的说明书检出 cAMP, 并且用以下设置测量时间分辨的荧光: 330nm 激发; 620nm 和 665nm 发射; 380nm 分色镜。将 665nm/620nm 之比表示为 $\delta F\%$, 并且与测试化合物相关的数据表示为在没有毛喉素的孔中平均最大响应的百分比。对于每种化合物从浓度对比最大应答的一个 S 形的剂量 - 响应曲线图计算 EC_{50} 值。为确定这些化合物是否在该系统中表现为完全或部分促效剂,将在最高的测试化合物浓度下的最大响应与通过已知的完全促效剂产生的相比较。

[0407] 在全部细胞中用于抑制 cAMP 形成的 EC_{50} 值如表 12 中所示。虽然效力不同,但吗啡、可待因以及氢可酮的低聚物 PEG 偶联物对 μ 阿片受体是完全促效剂。吗啡及其偶联物是测试的这三个系列的阿片样物质中最有效力的,而 PEG 氢可酮和 PEG 可待因偶联物显示显著更低的效力。随着 PEG 大小增加,观察到了 PEG- 吗啡偶联物的效力的渐进性的下降,然而,这些偶联物仍将 μ - 促效剂的效力保留至母体的 40 倍之内。与对 μ 阿片受体的作用相对比,吗啡以及 PEG- 吗啡偶联物对 κ 阿片受体表现为微弱的部分促效剂,产生最大可能应答的 47-87%。因为在所测试的浓度范围内 (高达 500 μ M) 不能产生完整的剂量 - 响应曲线,对 κ 和 δ 阿片受体不能计算可待因和氢可酮偶联物的 EC_{50} 值。

[0408] 总的说来,受体结合以及功能活性的这些结果表明这些 PEG- 阿片样物质是在体外的 μ 促效剂。

[0409] 表 12. PEG- 阿片样物质偶联物在体外的效力

[0410]

化合物	μ 阿片受体		κ 阿片受体		δ 阿片受体
	EC ₅₀ , nM	% 最大效力	EC ₅₀ , nM	% 最大效力	
吗啡	28.5	102	624	69	N/A
α -6-mPEG ₁ -O-吗啡	85.0	91	1,189	81	N/A
α -6-mPEG ₂ -O-吗啡	93.3	91	641	87	N/A
α -6-mPEG ₃ -O-吗啡	270	100	4,198	82	N/A
α -6-mPEG ₄ -O-吗啡	128	100	3,092	77	N/A
α -6-mPEG ₅ -O-吗啡	157	95	2,295	71	N/A
α -6-mPEG ₆ -O-吗啡	415	98	3,933	62	N/A
α -6-mPEG ₇ -O-吗啡	508	90	4,237	57	N/A
α -6-mPEG ₉ -O-吗啡	1,061	87	4,417	47	N/A
羟考酮	478	95	N/A	N/A	N/A
氢可酮	3,162		N/A	N/A	
α -6-mPEG ₁ -O-氢可酮	3,841	102	N/A	N/A	N/A
α -6-mPEG ₂ -O-氢可酮	5,005	101	N/A	N/A	N/A
α -6-mPEG ₃ -O-氢可酮	2,827	108	N/A	N/A	N/A
α -6-mPEG ₄ -O-氢可酮	3,715	109	N/A	N/A	N/A

[0411]

α -6-mPEG ₅ -O-氢可酮	5,037	108	N/A	N/A	N/A
α -6-mPEG ₆ -O-氢可酮	12,519	102	N/A	N/A	N/A
α -6-mPEG ₇ -O-氢可酮	7,448	101	N/A	N/A	N/A
α -6-mPEG ₉ -O-氢可酮	17,948	95	N/A	N/A	N/A
可待因	10,418	81	N/A	3	N/A
α -6-mPEG ₁ -O-可待因	8,574	80	N/A	51	N/A
α -6-mPEG ₂ -O-可待因	5,145	75	40,103	59	N/A
α -6-mPEG ₃ -O-可待因	19,740	91	N/A	49	N/A
α -6-mPEG ₄ -O-可待因	22,083	99	N/A	61	N/A
α -6-mPEG ₅ -O-可待因	23,235	95	N/A	60	N/A
α -6-mPEG ₆ -O-可待因	97,381	80	N/A	21	N/A
α -6-mPEG ₇ -O-可待因	44,729	75	N/A	48	N/A
α -6-mPEG ₉ -O-可待因	48,242	80	N/A	61	N/A

[0412] 实例 21

[0413] mPEG_n-O-阿片样物质偶联物的脑：血浆比率

[0414] 通过在 IV 给药之后在大鼠中测量脑：血浆比率来评估低聚物 mPEG-O-吗啡、mPEG-O-可待因以及 mPEG-O-氢可酮偶联物穿过血脑屏障 (BBB) 以及进入 CNS (中枢神经系统) 的能力。

[0415] 简言之,对多组 3 只大鼠静脉内 (i. v) 注射 5mg/kg 的吗啡、mPEG_n-O-吗啡偶联物、可待因以及 m-PEG_n-O-可待因偶联物中的每一种。将 PEG-2,3 以及 4-羟考酮偶联物以 10mg/kg 进行 i. v. 给药并且将羟考酮和其他 PEG 大小的羟考酮偶联物以 1mg/kg (i. v.) 给药。必须将这些羟考酮偶联物的剂量调整到允许在脑组织中检出足够的浓度。将阿替洛尔 (它并不跨越 BBB) 用作脑组织的血管污染的一种量度并且以 10mg/kg 的浓度对一个单独组的大鼠给药。注射一小时之后,将这些动物处死并且收集血浆和脑并立即冰冻。在提取组织和血浆之后,用 LC-MS/MS 测量这些化合物在脑和血浆中的浓度。将该脑：血浆比率计算为在脑和血浆中测得的浓度比率。这些结果在图 16A 至图 16C 中示出。

[0416] 图 14A、16B、以及 16C 对应地显示了不同低聚物 mPEG_n-O-吗啡、mPEG_n-O-可待因以及 PEG_n-O-氢可酮偶联物的脑：血浆比率。在各图中示出了阿替洛尔的脑：血浆比率以提供一种用于比较的基础。与它们的对应的非偶联的母体分子 (在氢可酮的情况下它是羟考酮) 相比,PEG-偶联导致在所有偶联物的脑：血浆比率上的下降。仅 PEG-1-吗啡显示出比其母体 (吗啡) 更大的一种脑：血浆比率。

[0417] 实例 22

[0418] 不同示例性 mPEG_n-O-阿片样物质偶联物的脑和血浆浓度的时间 - 过程

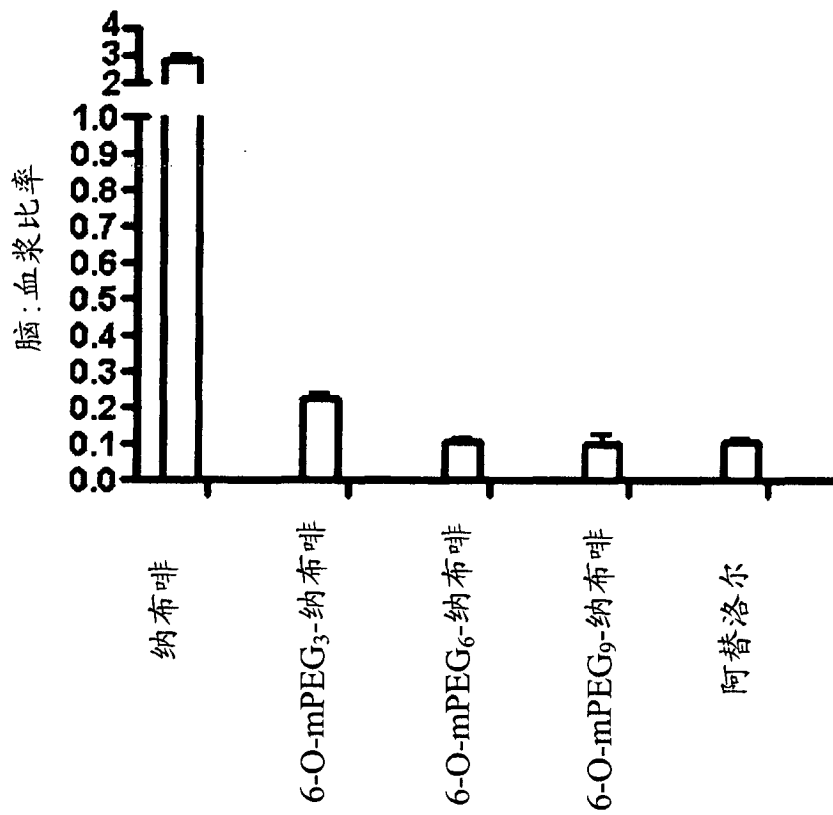
[0419] 进行多次实验以确定不同低聚物 PEG-阿片样物质偶联物 IV 给药后在脑和血浆中随时间的浓度。

[0420] 该实验研究法和所使用的浓度与被用于如在实例 21 中所说明的单时间点实验的那些浓度相同,然而,在多个不同的时间的点收获了脑和血浆。

[0421] 以 10mg/kg iv 给予所有 PEG-氢可酮偶联物,而以 1mg/kg iv 给予羟考酮母体。对所给予的这些不同 PEG-阿片样物质偶联物的脑和血浆浓度对比时间的数据如在图 15A 至图 15H(吗啡系列)图 16A 至图 16H(可待因系列)、以及图 17A 至图 17H(羟考酮/氢可酮系列)中所示。

[0422] 这些数据证明了在最早的时间点(即 iv 注射之后 10 分钟)处对于所有母体分子以及低聚物 PEG-偶联物都发生了脑浓度的最大增加。PEG 偶联导致了脑浓度上的显著降低,并且用较大的 PEG 偶联物(\geq PEG-4),随着时间的过去,脑浓度保持为相对低的并且稳定的。

不同PEG-纳布啡偶联物的脑:血浆比率



分子	脑:血浆比率
纳布啡	2.86
6-O-mPEG ₃ -纳布啡	0.23
6-O-mPEG ₆ -纳布啡	0.11
6-O-mPEG ₉ -纳布啡	0.10
阿替洛尔	0.11

图 1

吗啡系列苯基醮扭体

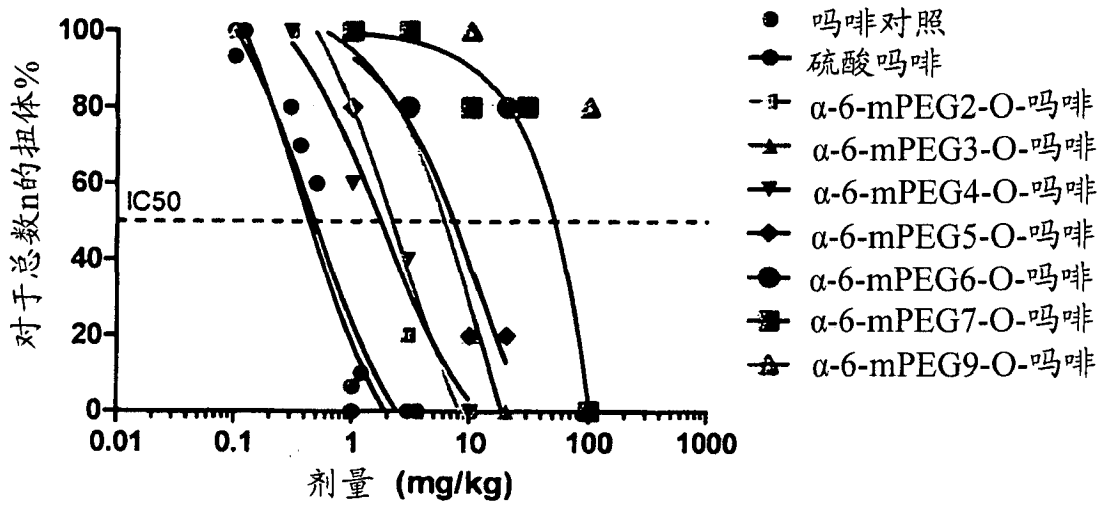


图 2

氢可酮系列苯基醮扭体

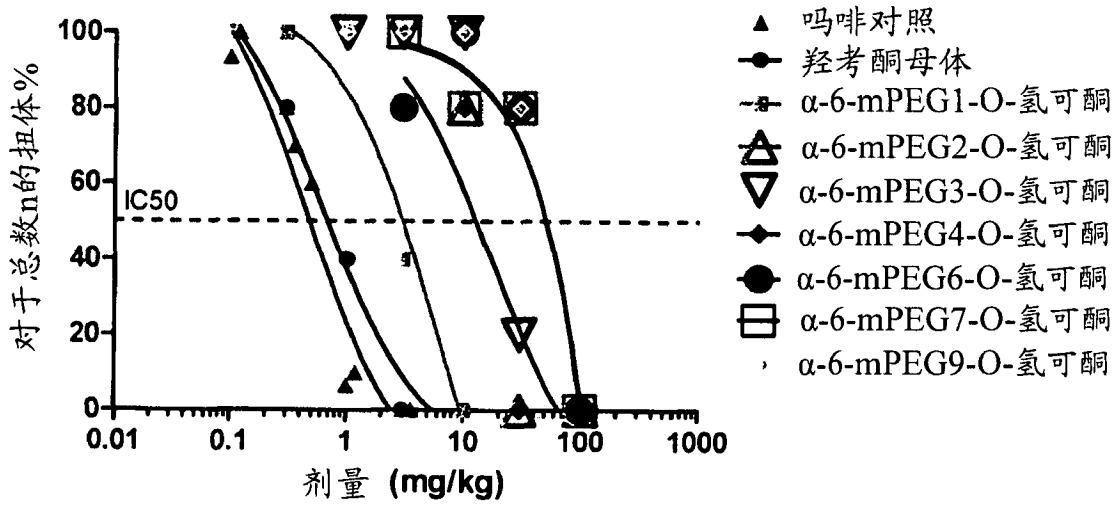


图 3

可待因系列苯基醮扭体

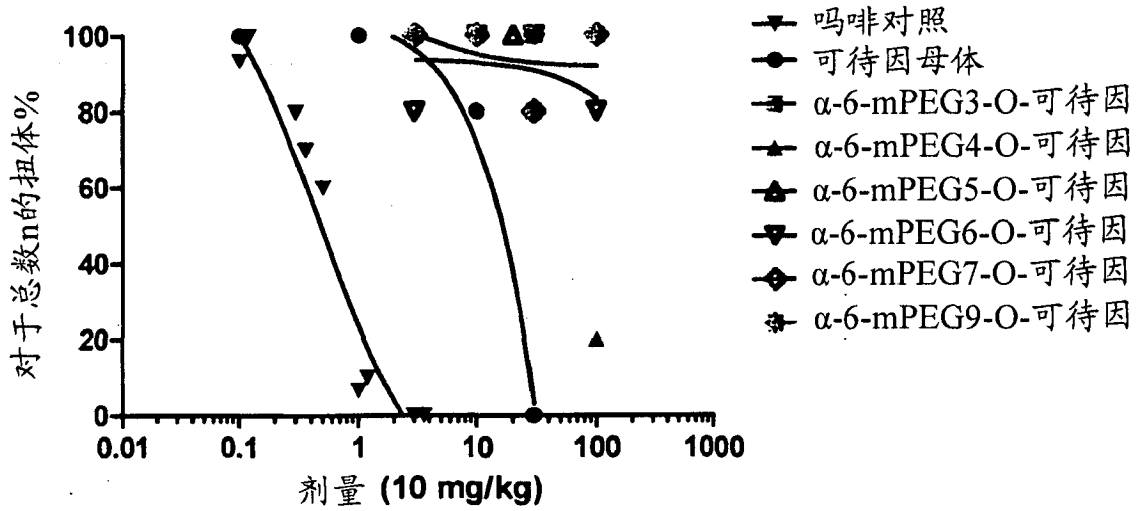
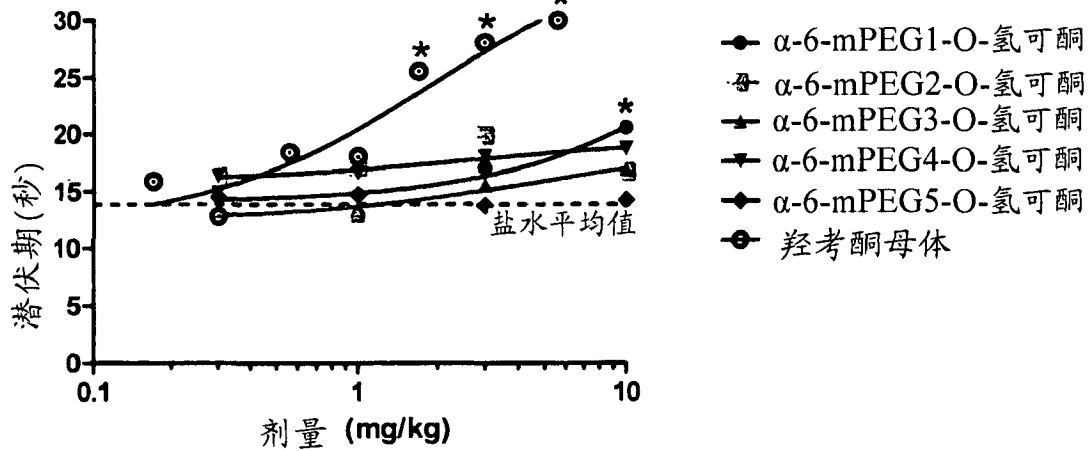


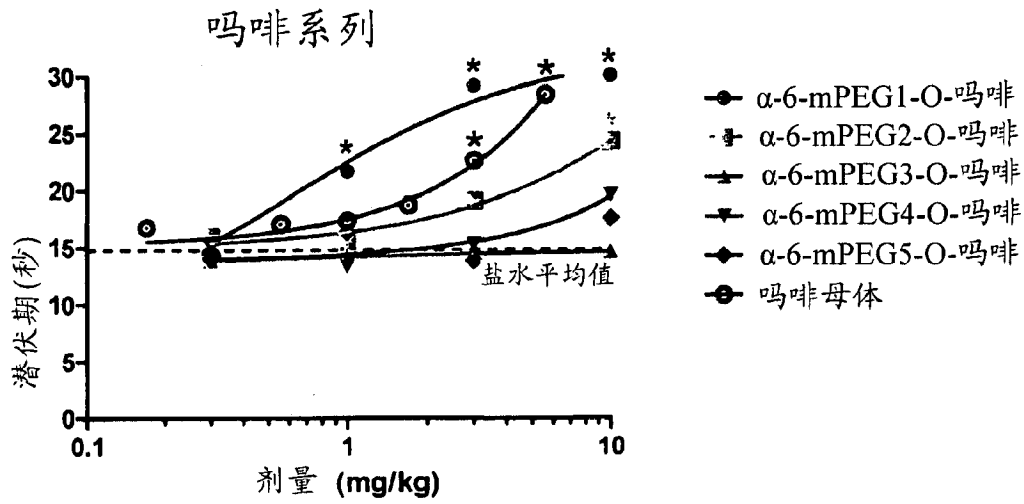
图 4

羟考酮系列



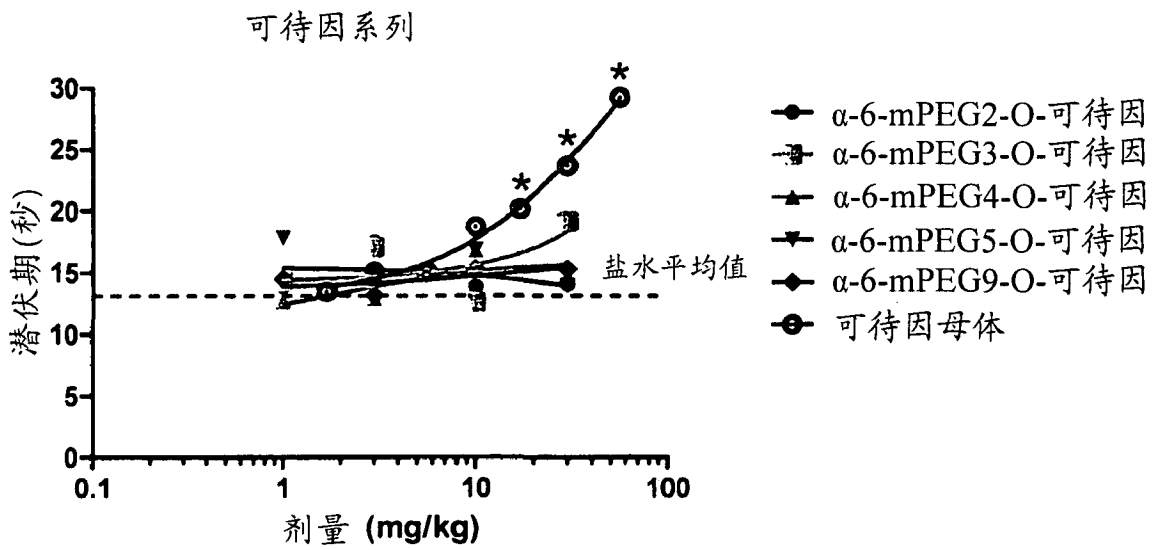
*表明对比ANOVA/Dunnett's的盐水, $p < .05$

图 5



*表明对比ANOVA/Dunnett's的盐水, $p < .05$

图6



*表明对比ANOVA/Dunnett's的盐水, $p < .05$

图7

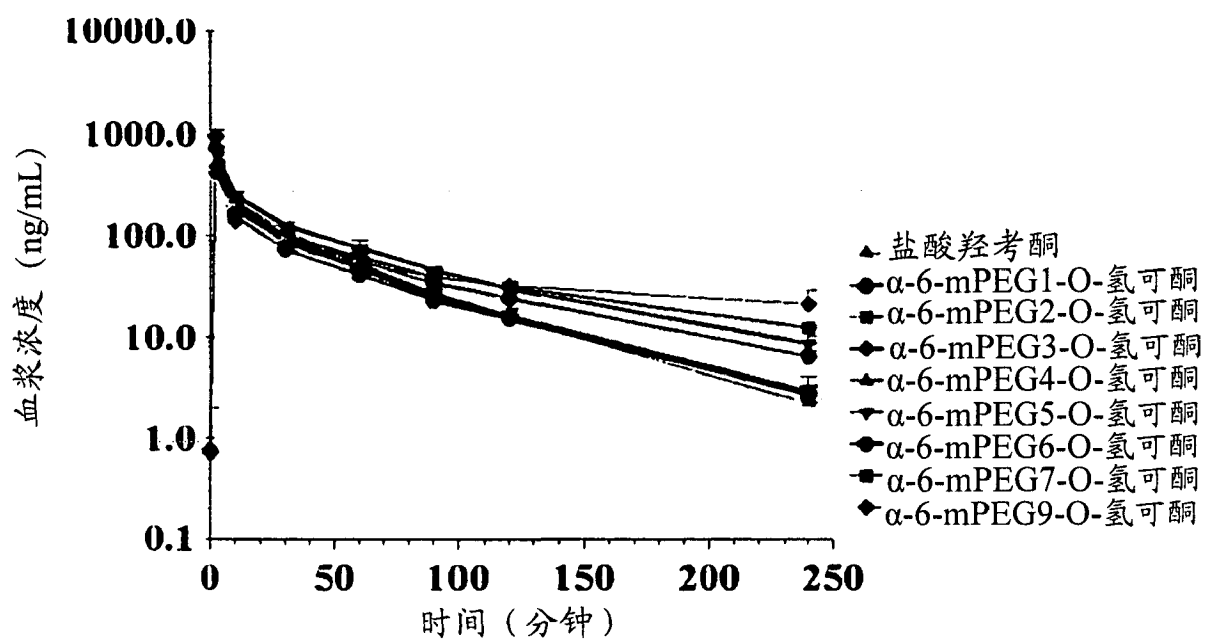


图 8

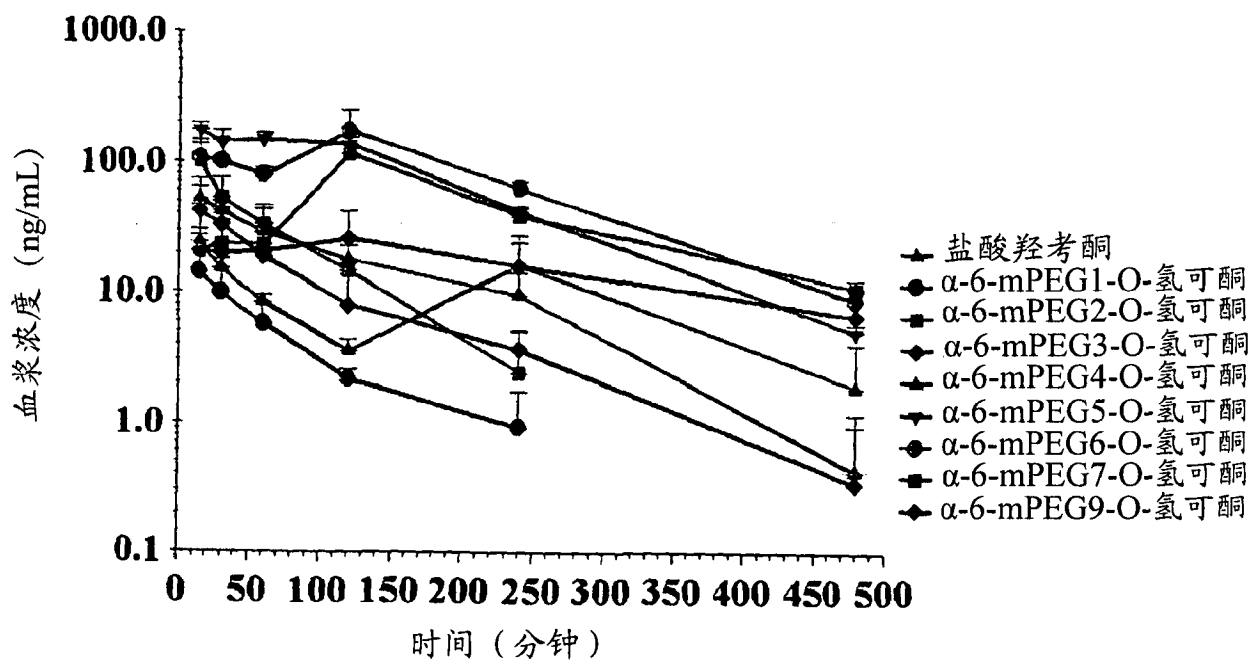


图 9

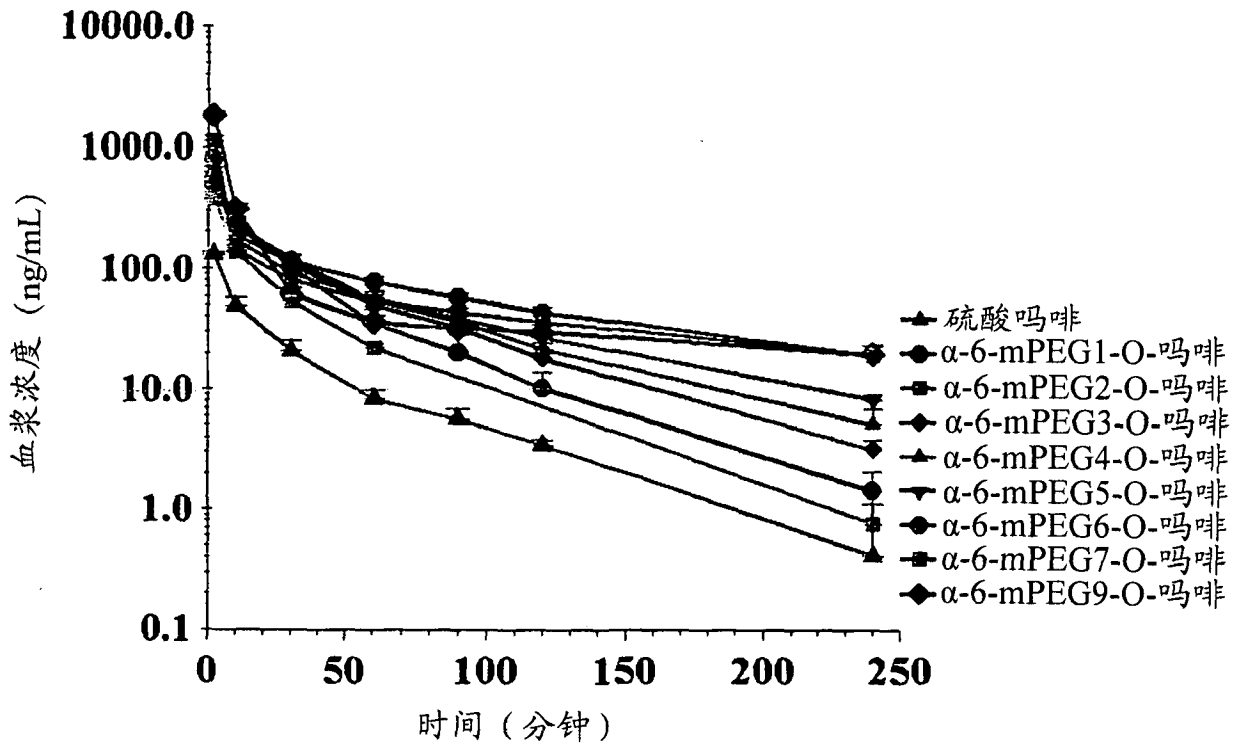


图 10

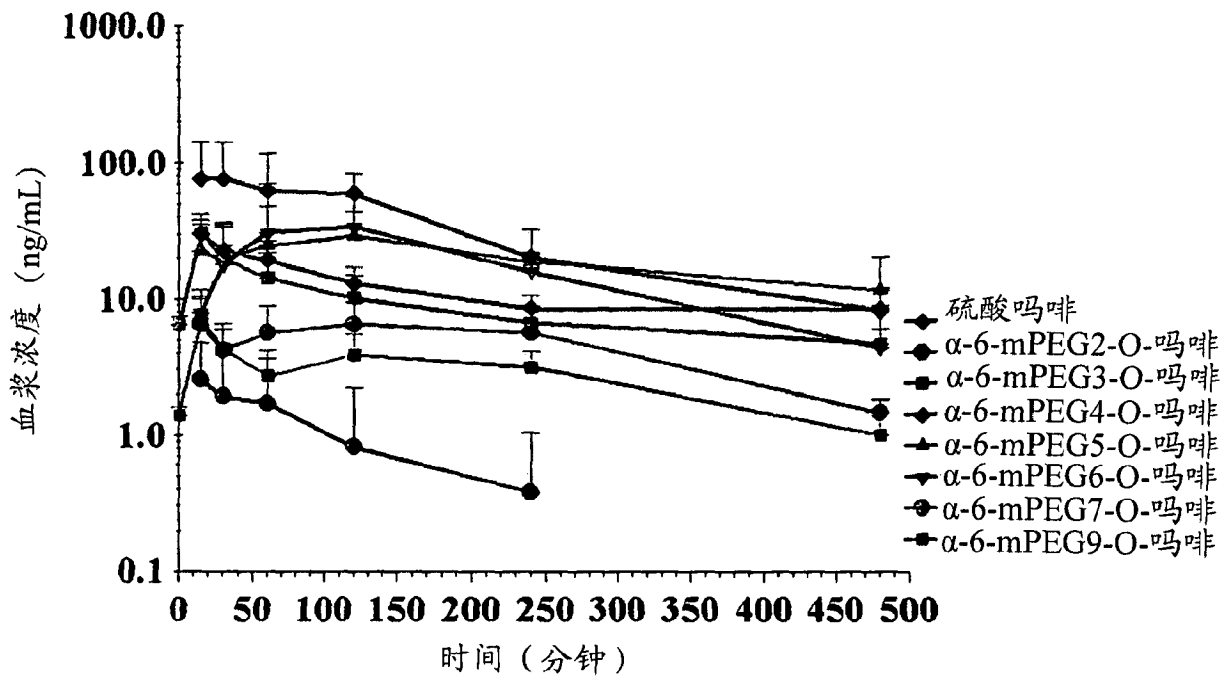


图 11

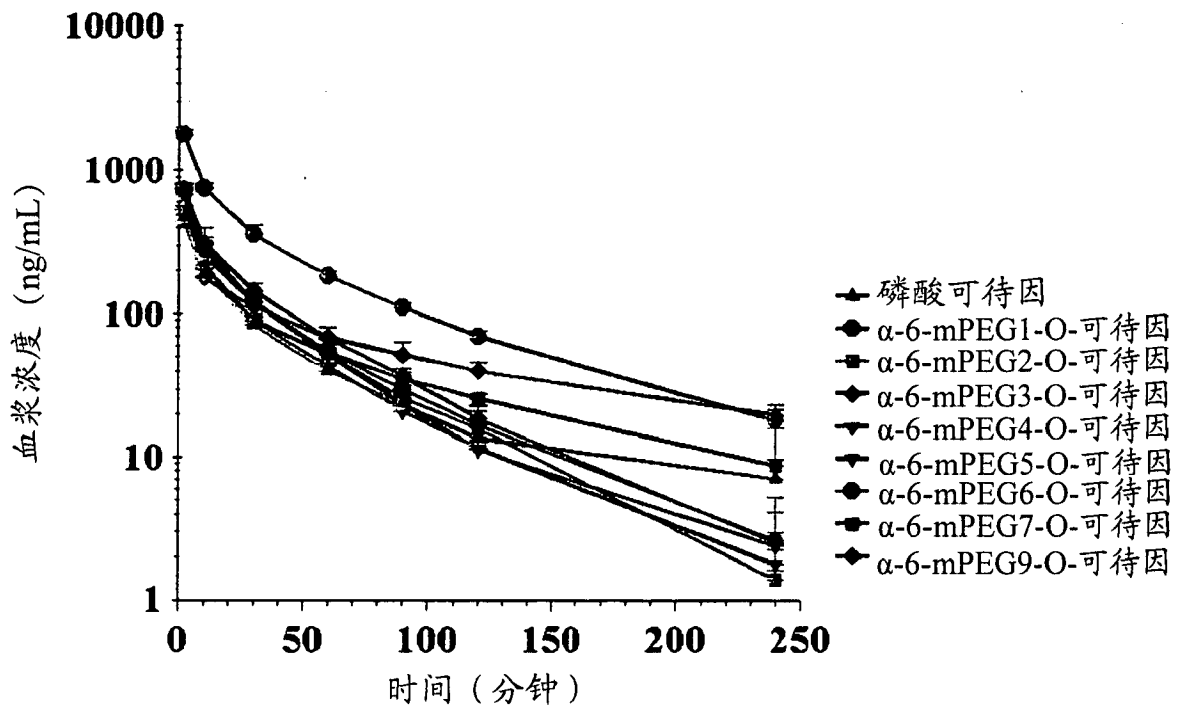


图 12

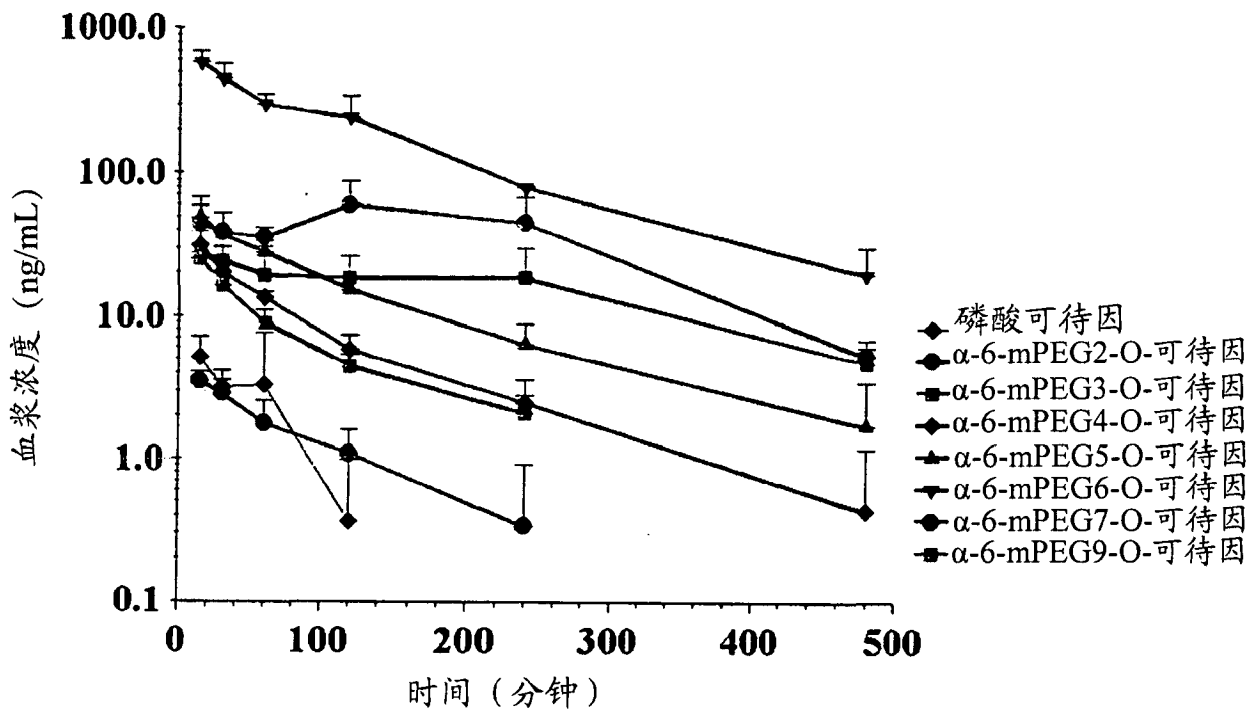
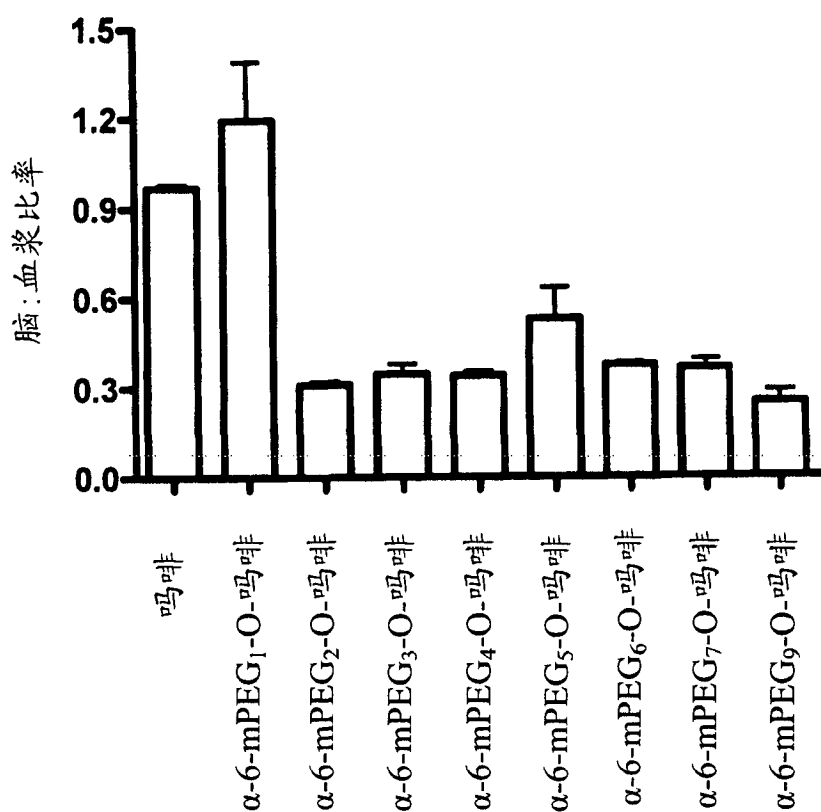
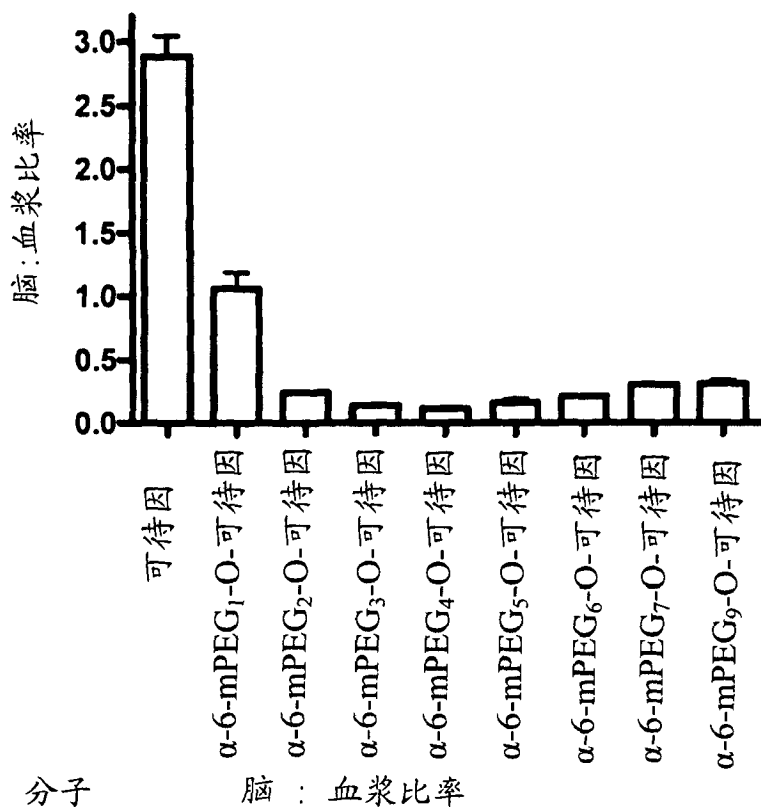


图 13



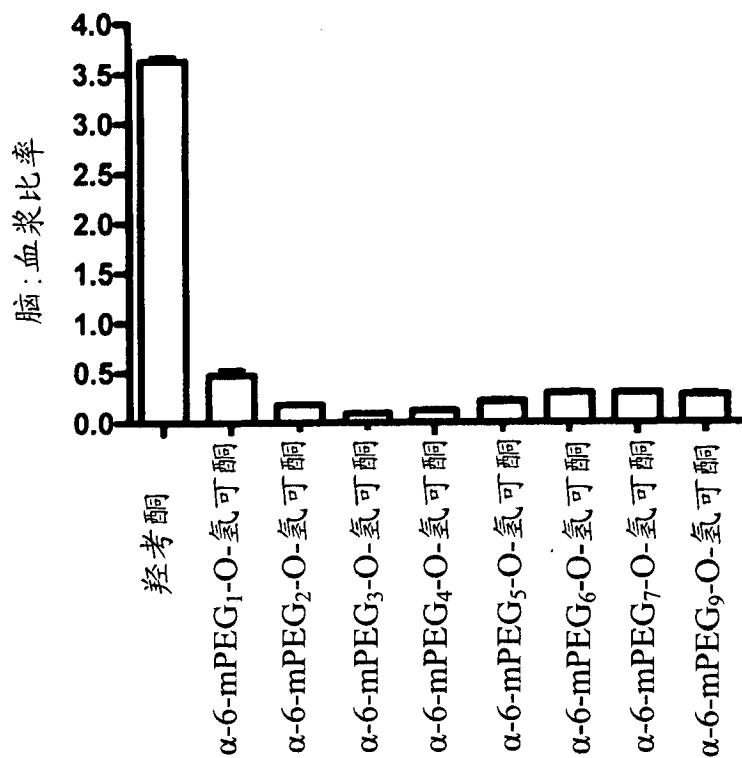
	A / B			C / D		
	平均值	SD	N	平均值	SD	N
吗啡	0.97	0.019	3			
α -6-mPEG ₁ -O-吗啡	1.19	0.341	3			
α -6-mPEG ₁ -O-吗啡	0.31	0.019	3			
α -6-mPEG ₁ -O-吗啡	0.35	0.057	3			
α -6-mPEG ₁ -O-吗啡	0.34	0.023	3			
α -6-mPEG ₁ -O-吗啡	0.53	0.179	3			
α -6-mPEG ₁ -O-吗啡	0.37	0.016	3			
α -6-mPEG ₁ -O-吗啡	0.36	0.050	3			
α -6-mPEG ₁ -O-吗啡	0.25	0.067	3			
阿替洛尔				0.060	0.008	3

图 14A



	A/B			C/D		
	平均值	SD	N	平均值	SD	N
可待因	2.88	0.276	3			
α-6-mPEG ₁ -O-可待因	1.06	0.214	3			
α-6-mPEG ₂ -O-可待因	0.24	0.014	3			
α-6-mPEG ₃ -O-可待因	0.14	0.011	3			
α-6-mPEG ₄ -O-可待因	0.12	0.009	3			
α-6-mPEG ₅ -O-可待因	0.16	0.049	3			
α-6-mPEG ₆ -O-可待因	0.21	0.006	3			
α-6-mPEG ₇ -O-可待因	0.30	0.017	3			
α-6-mPEG ₉ -O-可待因	0.31	0.047	3			
阿替洛尔				0.060	0.013	3

图 14B



分子 脑 : 血浆比率

	A / B			C / D		
	平均值	SD	N	平均值	SD	N
羟考酮	3.63	0.073	3			
α-6-mPEG ₁ -O-氢可酮	0.47	0.108	3			
α-6-mPEG ₂ -O-氢可酮	0.18	0.008	3			
α-6-mPEG ₃ -O-氢可酮	0.10	0.006	3			
α-6-mPEG ₄ -O-氢可酮	0.12	0.028	3			
α-6-mPEG ₅ -O-氢可酮	0.21	0.029	3			
α-6-mPEG ₆ -O-氢可酮	0.29	0.026	3			
α-6-mPEG ₇ -O-氢可酮	0.29	0.020	3			
α-6-mPEG ₉ -O-氢可酮	0.27	0.039	3			
阿替洛尔				0.059	0.015	3

图 14C

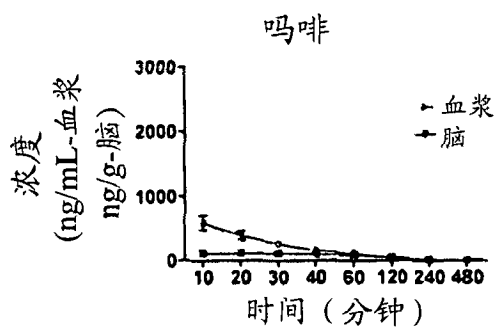


图 15A(上)

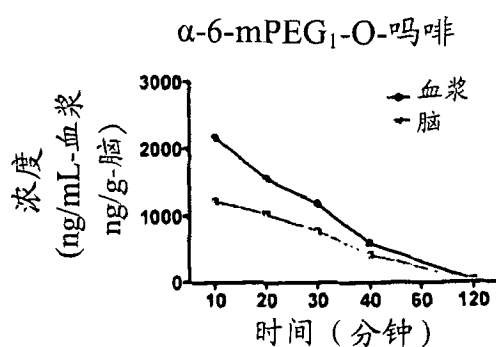


图 15A(上, PEG1)

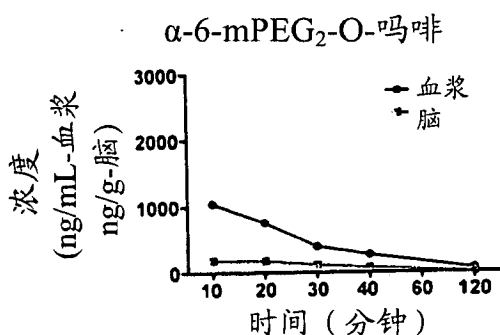


图 15C(下, PEG2)

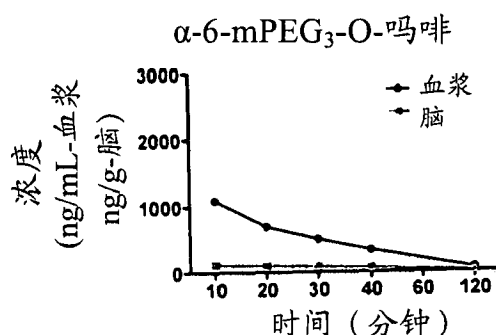


图 15D(下, PEG3)

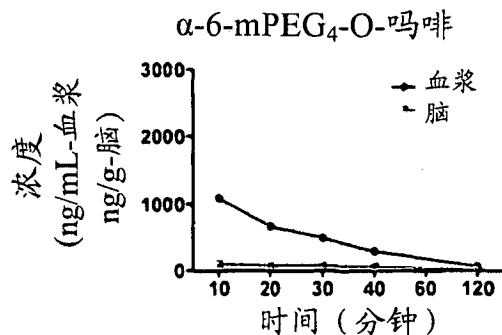


图 15E(上, PEG4)

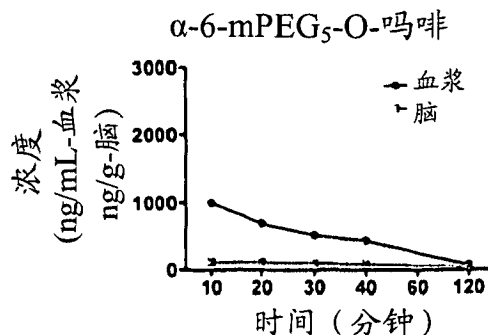


图 15F(上, PEG5)

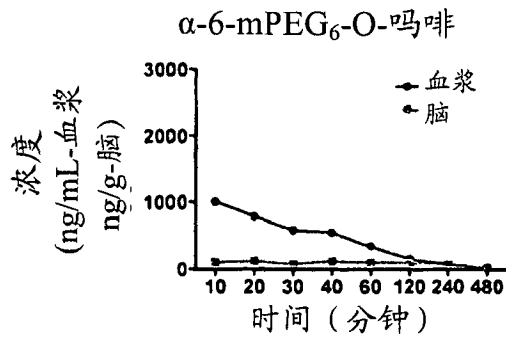


图 15G(下, PEG6)

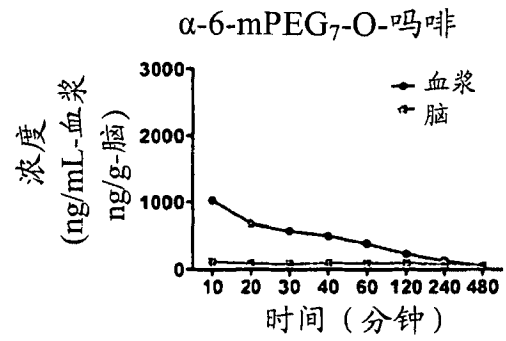


图 15H(下, PEG7)

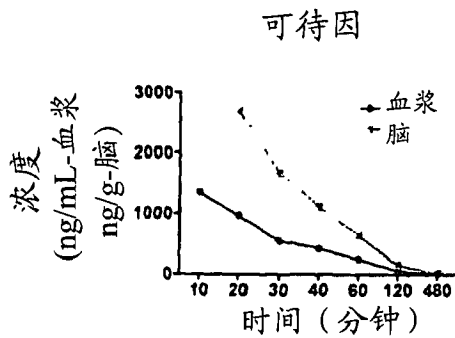


图 16A(上)

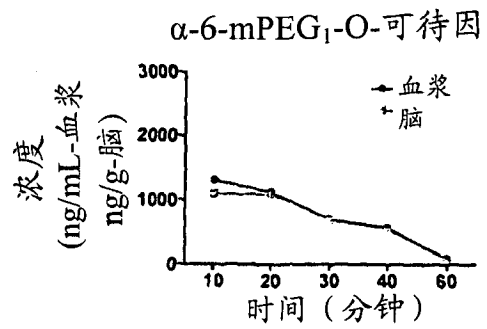


图 16A(上, PEG1)

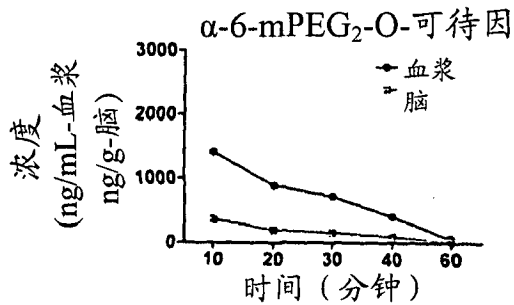


图 16C(下, PEG2)

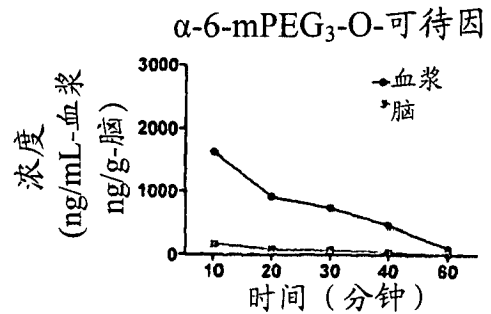


图 16D(下, PEG3)

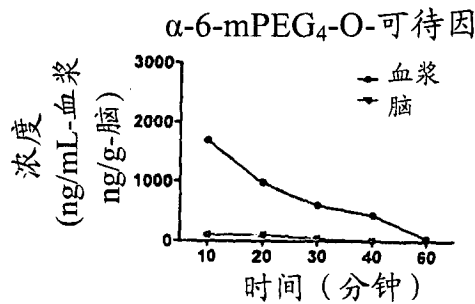


图 16E(上, PEG4)

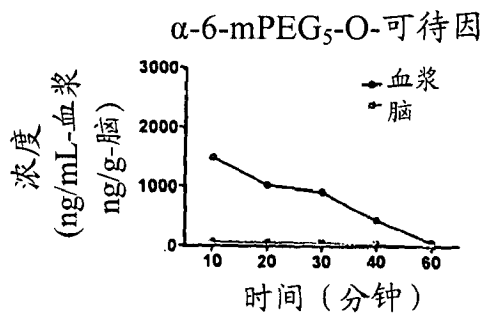


图 16F (上, PEG5)

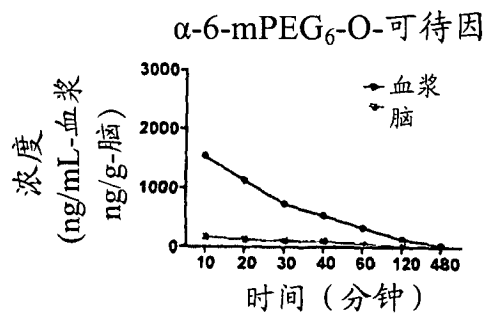


图 16G (下, PEG6)

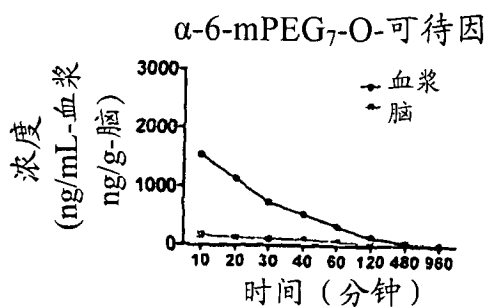


图 16H (下, PEG7)

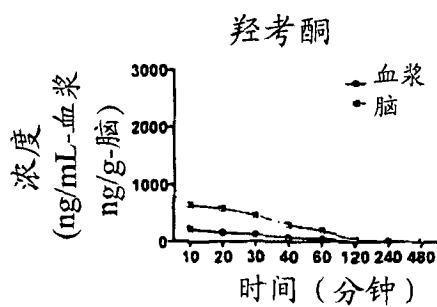


图 17A (上)

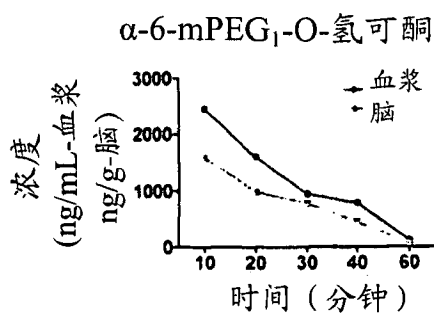


图 17A (上, PEG1)

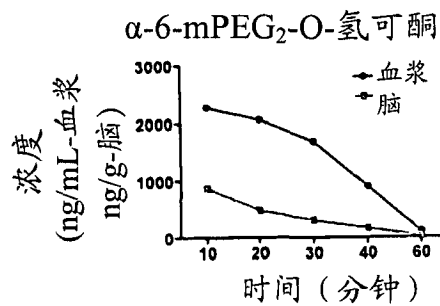


图 17C (下, PEG2)

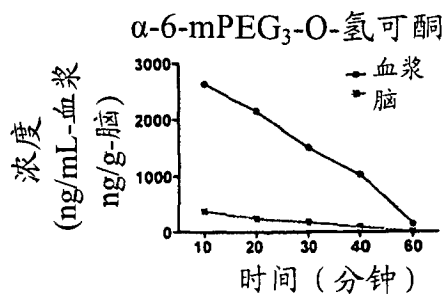


图 17D (下, PEG3)

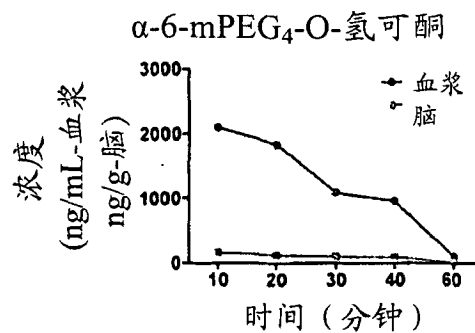


图 17E (上, PEG4)

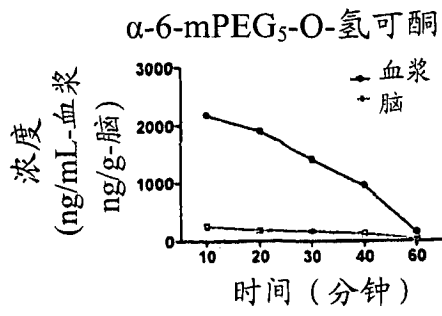


图 17F(上, PEG5)

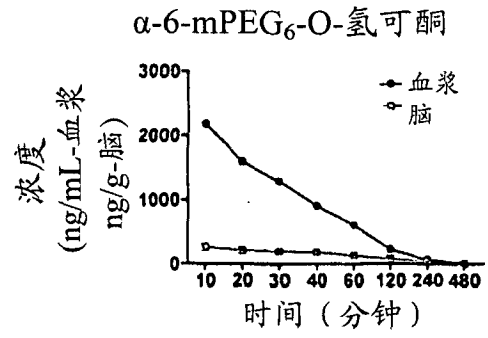


图 17G(下, PEG6)

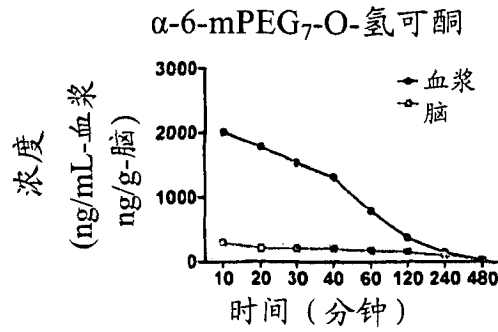


图 17H(下, PEG7)

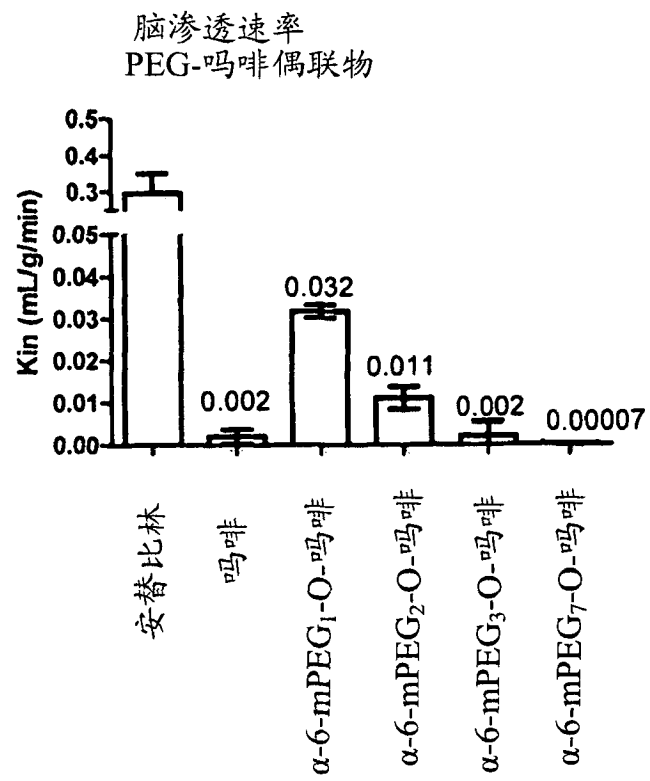


图 18A

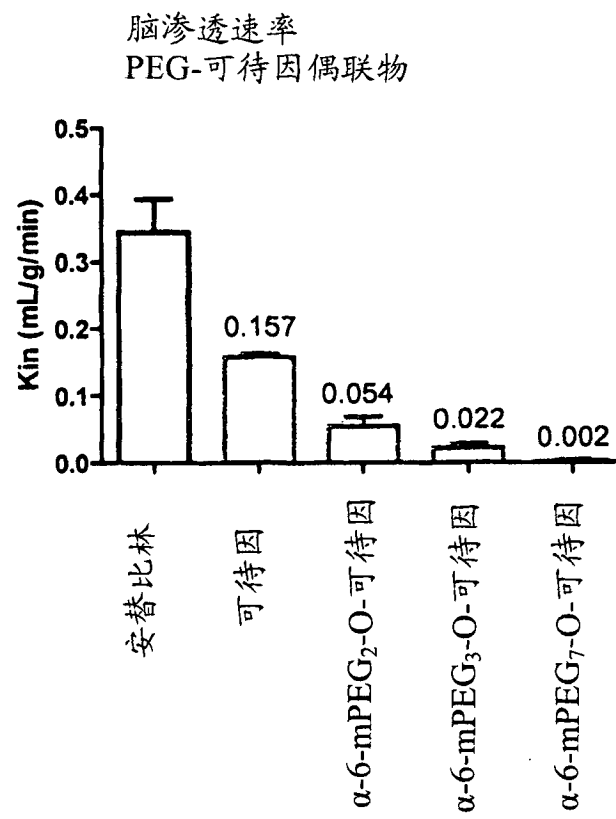


图 18B

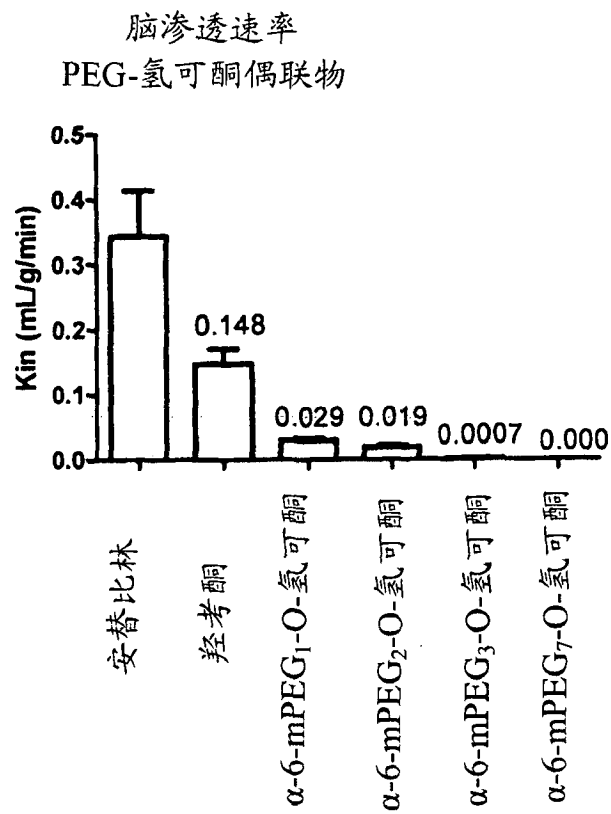
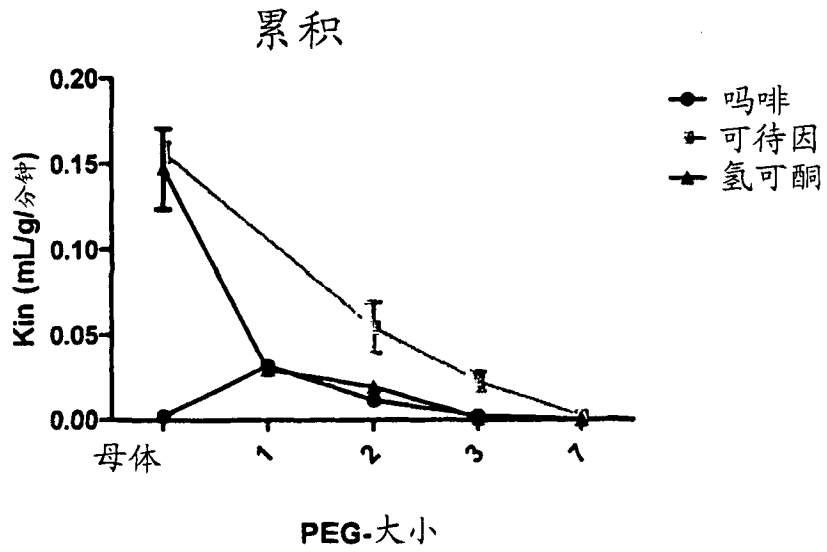


图 18C



Kin上的倍数变化对比母体						
	吗啡		可待因		氢可酮	
	平均值	SEM	平均值	SEM	平均值	SEM
母体	1.000	0.707	1.000	0.029	1.000	0.130
1	15.833	7.929			0.199	0.022
2	5.500	2.854	0.343	0.055	0.129	0.018
3	1.000	1.118	0.142	0.021	0.005	0.005
7	0.033	0.037	0.011	0.011	0.000	

图 19