



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101715437 B

(45) 授权公告日 2013. 06. 12

(21) 申请号 200880015392. 1

A61K 31/05(2006. 01)

(22) 申请日 2008. 05. 08

A61P 25/20(2006. 01)

(30) 优先权数据

60/928, 327 2007. 05. 09 US

60/928, 429 2007. 05. 09 US

60/928, 296 2007. 05. 09 US

(56) 对比文件

US 2747982 A, 1956. 05. 29, 全文.

KRASOWSKI MATTHEW D ET AL. genetal
anesthetic potencies of a series of
propofol analogs correlate with potency
for potentiation of gamma-aminobutyric
acid (gaba) current at the gaba receptor
but not with lipid solubility. 《JOURNAL OF
PHARMACOLOGY AND EXPERIMENTAL THERAPEUTICS,
AMERICAN SOCIETY FOR PHARMACOLOGY AND
EXPERRIMENTAL THERAPEUTICS》. 2001, 第 297 卷
(第 1 期), 338-351.

(85) PCT申请进入国家阶段日

2009. 11. 09

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2008/063082 2008. 05. 08

(87) PCT申请的公布数据

WO2008/141097 EN 2008. 11. 20

(73) 专利权人 特色疗法股份有限公司

地址 美国特拉华州

审查员 罗玲

(72) 发明人 T·E·詹金斯

(74) 专利代理机构 上海专利商标事务所有限公

司 31100

代理人 陈文青 张静

(51) Int. Cl.

C07C 37/055(2006. 01)

C07C 39/06(2006. 01)

C07C 27/44(2006. 01)

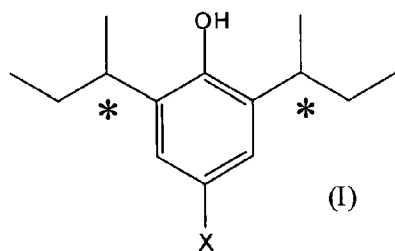
权利要求书1页 说明书23页 附图2页

(54) 发明名称

立体异构异丙酚治疗性化合物

(57) 摘要

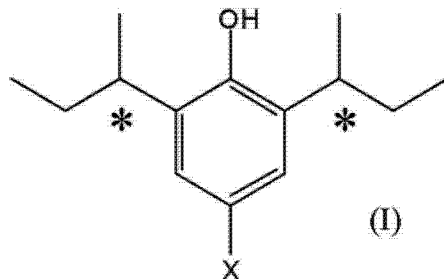
用作麻醉剂的式(I)所示(-)-立体
异构体或其药学上可接受的盐或前药:



式中 X 是 H 或 F。

(I)

1. 一种式 (I) 所示 (-)- 立体异构体或其盐：



式中 X 是 H。

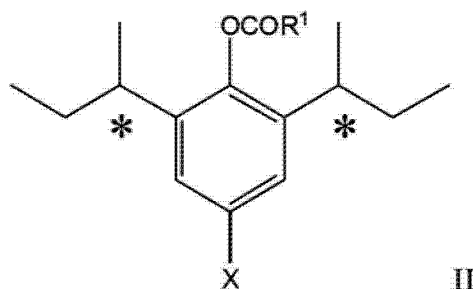
2. 如权利要求 1 所述的化合物, 其特征在于, 所述化合物是式 (I) 所示 (-)- 立体异构体或其药学上可接受的盐。

3. 一种药物组合物, 它包含权利要求 2 所述的化合物和药学上可接受的载体。

4. 如权利要求 3 所述的药物组合物, 其特征在于, 所述药物组合物配制成用于静脉内给药。

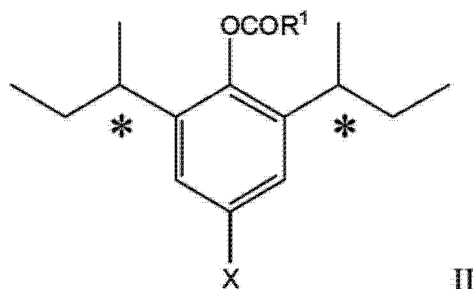
5. 如权利要求 4 所述的药物组合物, 其特征在于, 所述药物组合物配制成脂质乳剂。

6. 一种制备式 (I) 所示 (-) 立体异构体或其盐的方法, 包括水解式 II 所示氨基甲酸 (-)-2, 6- 二 - 仲丁基苯基酯非对映体



式中 R¹ 表示手性氨基, X 是 H, 然后如果需要的话, 形成游离酚或其盐。

7. 一种式 II 所示氨基甲酸 (-)-2, 6- 二 - 仲丁基苯基酯非对映体



式中 R¹ 表示手性氨基, X 是 H。

8. 如权利要求 7 所述的非对映体, 其特征在于, R¹ 表示 (R)-1- 芳基乙基氨基。

9. 如权利要求 2 所述的化合物在制备诱导或维持动物的全身麻醉的药物中的应用。

10. 如权利要求 2 所述的化合物在制备用于促进动物的镇静作用的药物中的应用。

11. 如权利要求 6 所述的方法, 其中所述的盐是药学上可接受的盐。

12. 如权利要求 2 所述的化合物在制备促进动物止吐作用的药物中的应用。

13. 如权利要求 2 所述的化合物在制备治疗动物偏头痛的药物中的应用。

14. 如权利要求 2 所述的化合物在制备治疗动物恶心或呕吐的药物中的应用。

立体异构异丙酚治疗性化合物

[0001] 发明背景

[0002] 本申请要求 2007 年 5 月 9 日提交的美国临时专利申请号 60/928,327 ;2007 年 5 月 9 日提交的美国临时专利申请号 60/928,429 和 2007 年 5 月 9 日提交的美国临时专利申请号 60/928,296 的优先权。

[0003] 异丙酚 (Propofol) (2,6-二异丙基苯酚) 是广泛用于诱导和维持全身麻醉、病危患者镇静和程序性镇静 (例如,内窥镜检查) 的静脉内镇静剂 / 催眠剂。参见 Langly, M. S. 和 Heel, R. C. *Drugs*, 1988, 35, 334-372。异丙酚在水中仅微溶,目前投入市场的类似于胃肠外营养法所用液体制剂的液体乳剂基于 10% 大豆油。

[0004] 异丙酚是激活中枢神经系统中多种 GABA_A 受体亚型的 GABA_A 激动剂,这些亚型是运送氯离子经过细胞膜的离子通道。虽然异丙酚是非手性的,但许多二烷基苯酚的外消旋混合物是已知的 GABA_A 受体激动剂 (James 等, *J. Med. Chem.* 23, 1350, 1980 ;Krasowski 等, *J. Pharmacol. & Exp. Therapeutics* 297, 338, 2001)。James 等报道发现异丙酚的综合分布 (overall profile) 优于评估的其它类似物。

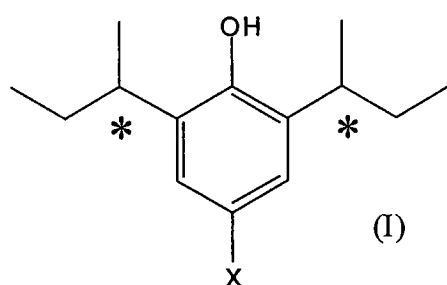
[0005] 异丙酚因其优秀的药代动力学、药效学、显现 (emergence) 和恢复分布,而为许多临床医师所优选。然而,治疗剂量或接近治疗剂量产生的不良副作用 (例如,呼吸抑制、ICU 综合征、注射疼痛和血液动力学效应 (hemodynamic effect)) 限制其在多种临床情况中的应用。尤其关注的是血液动力学效应。给予异丙酚,特别是推注 (bolus) 形式常降低血压但心率没有补偿性增加。因为异丙酚的不良和可能有害的血液动力学结果,各种临床情况与其应用不相容。这些情况的例子包括心血管疾病,例如冠状动脉疾病、心肌病、缺血性心脏病、瓣膜性心脏病和先天性心脏病。因为异丙酚的血液动力学特性,慢性高血压、脑血管疾病、脑损伤和年老使其应用困难或成问题。包括出血性休克、低血容量休克或败血症性休克在内的急性失血、脱水或严重感染的患者在利用异丙酚时可能受到过多伤害。异丙酚的血液动力学特性可限制其应用于接受其它药物或治疗,例如脊髓麻醉、硬膜外麻醉或血管活性药物的患者。

[0006] 发明概述

[0007] 本发明提供与异丙酚相比,显示药理学活性相似或提高并且血液动力学分布改善的治疗性化合物。

[0008] 因此,在一个实施方式中,本发明提供式 (I) 所示 (-)- 立体异构体或其盐或前药:

[0009]



[0010] 式中 X 是 H 或 F。

[0011] 本发明还提供包含式 (I) 所示 (-)- 立体异构体或其药学上可接受的盐或前药和药学上可接受的载体的药物组合物。

[0012] 本发明还提供治疗动物的以下疾病的方法, 包括给予该动物有效量的式 (I) 所示 (-)- 立体异构体或其药学上可接受的盐或前药, 所述疾病是: 恶心、呕吐、偏头痛、神经系统的神经变性疾病 (例如, 弗里德赖希病、帕金森病、阿尔茨海默病、亨廷顿病、肌萎缩性侧索硬化、多发性硬化症 (MS)、皮克病等)、中枢神经系统外伤 (例如, 头颅骨折及其导致的水肿、脑震荡、挫伤、脑出血、剪切损伤、硬膜下和硬膜外血肿、和脊髓损伤 (例如, 因脊髓压缩或弯曲导致的机械性损伤))、癫痫 (例如, 癫痫性发作) 或与自由基相关的疾病 (例如, 缺血性再灌注损伤、炎性疾病、全身性红斑狼疮、心肌梗塞、中风、创伤性出血、白内障形成、葡萄膜炎、肺气肿、胃溃疡、瘤形成、辐射病, 等)。

[0013] 本发明还提供诱导和维持动物全身麻醉的方法, 包括给予该动物有效量的式 (I) 所示 (-)- 立体异构体或其药学上可接受的盐或前药。

[0014] 本发明还提供促进动物镇静的的方法, 包括给予该动物有效量的式 (I) 所示 (-)- 立体异构体或其药学上可接受的盐或前药。

[0015] 本发明还提供治疗动物偏头痛的方法, 包括给予该动物有效量的式 (I) 所示 (-)- 立体异构体或其药学上可接受的盐或前药。

[0016] 本发明还提供治疗动物失眠的方法, 包括给予该动物有效量的式 (I) 所示 (-)- 立体异构体或其药学上可接受的盐或前药。

[0017] 本发明还提供促进动物的抗焦虑效应的方法, 包括给予该动物有效量的式 (I) 所示 (-)- 立体异构体或其药学上可接受的盐或前药。

[0018] 本发明还提供治疗动物的成瘾戒断的方法, 包括给予该动物有效量的式 (I) 所示 (-)- 立体异构体或其药学上可接受的盐或前药。

[0019] 本发明还提供促进动物的止吐作用的方法, 包括给予该动物有效量的式 (I) 所示 (-)- 立体异构体或其药学上可接受的盐或前药。

[0020] 本发明还提供使 GABA 受体激动 (agonizing) 的方法, 包括将受体 (体内或体外) 与有效量的式 (I) 所示 (-)- 立体异构体或其药学上可接受的盐或前药接触。

[0021] 本发明还提供使动物的 GABA 受体激动的方法, 包括给予该动物有效量的式 (I) 所示 (-)- 立体异构体或其药学上可接受的盐或前药。

[0022] 本发明还提供用于医学治疗的式 (I) 所示 (-)- 立体异构体或其药学上可接受的盐或前药。

[0023] 本发明还提供式 (I) 所示 (-)- 立体异构体或其药学上可接受的盐或前药在制备治疗动物的以下疾病的药物中的应用: 恶心、呕吐、偏头痛、神经系统的神经变性疾病 (例如, 弗里德赖希病、帕金森病、阿尔茨海默病、亨廷顿病、肌萎缩性侧索硬化 (ALS)、多发性硬化症 (MS)、皮克病等)、中枢神经系统外伤 (例如, 头颅骨折及其导致的水肿、脑震荡、挫伤、脑出血、剪切损伤、硬膜下和硬膜外血肿、和脊髓损伤 (例如, 因脊髓压缩或弯曲导致的机械性损伤))、癫痫 (例如, 癫痫性发作) 或与自由基相关的疾病 (例如, 缺血性再灌注损伤、炎性疾病、全身性红斑狼疮、心肌梗塞、中风、创伤性出血、白内障形成、葡萄膜炎、肺气肿、胃溃疡、瘤形成、辐射病, 等)。

[0024] 本发明还提供式 (I) 所示 (-)- 立体异构体或其药学上可接受的盐或前药在制备用于诱导和维持动物全身麻醉的药物中的应用。

[0025] 本发明还提供式 (I) 所示 (-)- 立体异构体或其药学上可接受的盐或前药在制备用于促进动物镇静的药物中的应用。

[0026] 本发明还提供式 (I) 所示 (-)- 立体异构体或其药学上可接受的盐或前药在制备用于治疗动物偏头痛的药物中的应用。

[0027] 本发明还提供式 (I) 所示 (-)- 立体异构体或其药学上可接受的盐或前药在制备用于治疗动物失眠的药物中的应用。

[0028] 本发明还提供式 (I) 所示 (-)- 立体异构体或其药学上可接受的盐或前药在制备促进动物的抗焦虑效应的药物中的应用。

[0029] 本发明还提供式 (I) 所示 (-)- 立体异构体或其药学上可接受的盐或前药在制备用于治疗动物的成瘾戒断的药物中的应用。

[0030] 本发明还提供式 (I) 所示 (-)- 立体异构体或其药学上可接受的盐或前药在制备促进动物的止吐效应的药物中的应用。

[0031] 本发明还提供式 (I) 所示 (-)- 立体异构体或其药学上可接受的盐或前药在制备用于使动物的 GABA 受体激动的药物中的应用。

[0032] 本发明还提供可用于制备式 (I) 所示 (-)- 立体异构体或其盐或前药的本文公开的中间体和合成方法。

[0033] 附图简述

[0034] 图 1 显示了与异丙酚相比,静脉内输注式 (I) 所示 (-) 立体异构体后对猪的平均动脉血压 (mm Hg) 的作用,式中 X 是 H。

[0035] 图 2 显示了与异丙酚相比,静脉内输注式 (I) 所示 (-) 立体异构体后对猪的心率 (跳 / 分钟) 的作用,式中 X 是 H。

[0036] 图 2 显示了与异丙酚相比,静脉内输注式 (I) 所示 (-) 立体异构体后对猪的心输出量 (升 / 分钟,或 L/min) 的作用,式中 X 是 H。

[0037] 发明详述

[0038] 本发明提供上文定义的 (I) 所示 (-) 立体异构体或其盐或前药。

[0039] 这种立体异构体的绝对构型已测定为 (R, R)。

[0040] 在一个实施方式中, X 是 H。当 X 是 H 时,该立体异构体还可使用其名称 (R, R)-2,6-二-仲丁基苯酚指代。

[0041] 与异丙酚相比,发现 (R, R)-2,6-二-仲丁基苯酚作为麻醉剂显示出意料提高的整体活性分布。更具体地说,发现该化合物对于麻醉活性能产生更强的作用,显示更高的治疗指数并维持相当的药代动力学分布,例如表现出相似的清除率。该化合物对平均动脉压、心率和 / 或心输出量的影响也较低。此外,据信临床试验显示该化合物在注射时的疼痛低于异丙酚。异丙酚相关的注射疼痛与异丙酚在其液体乳剂载体的水相中的浓度相关。配制成相同的液体乳剂时,发现 (R, R)-2,6-二-仲丁基苯酚的水相浓度明显低于 (超过 90%) 异丙酚。

[0042] 与异丙酚相比,还出乎意料地发现 (R, R)-2,6-二-仲丁基苯酚的另两种异构体, (S, S) 或 (+) 和 (内消旋) 立体异构体显示改善的血液动力学分布以及相似或改善的药理

学活性。然而，(R,R)-2,6-二-仲丁基苯酚作为麻醉剂的改善的整体活性分布是这种二烷基苯酚的此种异构体独一无二的。

[0043] 因此，本发明化合物尤其可用于在患者中诱导或维持全身麻醉或促进镇静。它们尤其可用于麻醉对血液动力学效应的敏感性升高的患者。这种患者包括患有心血管疾病，例如冠状动脉疾病、心肌病、缺血性心脏病、瓣膜性心脏病和先天性心脏病的患者；患有慢性高血压、脑血管疾病或脑损伤的患者；年老的患者（例如，50、60、70 或 80 岁以上）；具有包括出血性休克、低血容量休克或败血症性休克在内的急性失血、脱水或严重感染的患者；和接受脊髓麻醉、硬膜外麻醉或血管活性药物的患者；参见，例如 Reich DL 等，2005，AnesthAnalg 101,622。例如，患者可以是根据美国麻醉学家协会 (American Society of Anesthesiologists) (ASA) 身体状态至少为 3 的患者。本发明还考虑因注射疼痛而将本发明化合物给予未经术前用药的患者。

[0044] 本文所用的术语“药学上可接受的载体 (carrier)”包括稀释剂、辅剂、赋形剂或载体 (vehicles)。

[0045] 术语“动物”包括哺乳动物，例如人、陪伴动物、动物园动物和家畜。

[0046] 术语“治疗”疾病或病症包括 1) 改善疾病或病症（即，阻止或减缓疾病或病症或其至少一种临床症状的发展），2) 改善至少一种物理参数，该参数可能患者不能辨别，3) 在物理上（例如，稳定可辨别的症状）、生理上（例如，稳定物理参数）或同时在物理和生理上抑制疾病或病症，或 4) 延迟疾病或病症的发作。

[0047] 可通过本领域技术人员熟知的常规分析方法测定本文所述化合物和前药的立体异构纯度。例如，可利用手性 NMR 移位试剂、利用手性柱的气相色谱分析、利用手性柱的高压液相色谱分析、旋光分析、同位素稀释、量热法、酶促方法、在手性凝胶上进行毛细管电泳、通过与手性试剂反应形成非对映体衍生物和通过已知分析方法的常规分析来测定特定立体异构体的立体化学纯度。或者，可利用已知立体化学富集的起始材料合成来确定本文所述化合物的立体化学纯度。证明立体化学均一性的其它分析方法是本领域已知的。

[0048] 本发明提供非外消旋（即，对映体富集的）形式的式 (I) 所示立体异构体或其盐或前药，式 (I) 中的手性中心以“*”标出。因此，本发明包括富集混合物中的式 (I) 所示立体异构体，所述混合物含有不超过 45% 的式 (I) 所示化合物的其它对映体或非对映体或其盐或前药。以下实施例 1 中分离的 (-)-对映体是本发明一种具体的立体异构体。在本发明的一些实施方式中，富集混合物含有不超过约 40%、35%、30%、25%、20%、15%、10%、5%、4%、3%、2% 或 1% 的式 (I) 所示化合物的其它对映体或非对映体或其盐或前药。在本发明的另一实施方式中，富集混合物含有低于约 1% 的式 (I) 所示化合物的其它对映体或非对映体或其盐或前药。

[0049] 制备式 (I) 所示化合物的方法

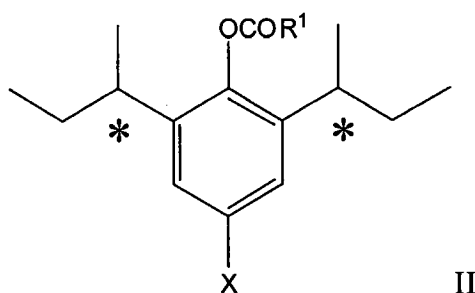
[0050] 式 (I) 所示化合物通常可通过至少三种不同的方法制备。在一种方法中，采用常规有机合成方法制备，或从商业来源购得外消旋和 / 或非对映体混合物，采用本领域技术人员已知的方法，例如分步结晶、用手性柱分离（参见以下实施例 1）、形成它们的衍生物并分离或动力学拆分等，来拆分该混合物，从而提供基本上纯的式 (I) 所示立体异构体或式 (I) 所示化合物的立体异构富集混合物。或者，可采用不对称合成来制备式 (I) 所示化合物。可利用已知的手性前体，采用已知方法制备基本上纯的式 (I) 所示立体异构体

或式 (I) 所示化合物的立体异构富集混合物。其它方法包括,采用例如,对映选择性氢化(enantioselectivehydrogenation)、对映选择性还原、对映选择性碳-碳键形成、外消旋乙酸盐的酶促切割等制备手性中间体,随后采用有机合成的常规方法转化成式 (I) 所示化合物。

[0051] 在一种方法中,可利用手性异氰酸酯制备式 (I) 所示立体异构体从而形成氨基甲酸酯非对映体的混合物,水解氨基甲酸酯残基后该混合物可分离产生式 (I) 所示的所需非对映体。

[0052] 因此,按照另一方面,本发明提供制备式 (I) 所示 (-) 立体异构体或其盐或前药的方法,包括水解式 II 所示氨基甲酸 (-)-2,6-二-仲丁基苯基酯非对映体

[0053]



II

[0054] 式中 R^1 表示手性氨基,然后(如果需要)形成游离酚或其盐(例如药学上可接受的盐)或前药。

[0055] 可将氨基甲酸酯与碱,例如碱金属氢氧化物,如氢氧化钾或氢氧化钠反应来实现水解,从而得到式 (I) 所示 (-) 立体异构体的盐,例如碱金属盐。可用酸,例如盐酸处理该盐获得游离酚。手性氨基可以是,例如手性 1-芳基乙基氨基,例如 (R)-1-芳基乙基氨基,如 (R)-1-苯基乙基氨基。

[0056] 可将相应 2,6-二-仲丁基苯酚的外消旋混合物与手性异氰酸酯反应而获得包含氨基甲酸 (-)-2,6-二-仲丁基苯基酯非对映体的非对映体混合物,并分离相应的式 II 所示氨基甲酸 (-)-2,6-二-仲丁基苯基酯非对映体来制备氨基甲酸酯起始物质。

[0057] 手性异氰酸酯可以是,例如手性 1-芳基乙基异氰酸酯,如 (R)-1-芳基乙基异氰酸酯,如 (R)-(+)-1-苯基乙基异氰酸酯。所得产物是相应的 1-芳基乙基氨基甲酸 2-仲丁基-6-异丙基苯基酯非对映体的混合物。可利用层析,例如二氧化硅作为固定相,或通过结晶分离所需的非对映体。

[0058] 与利用其它手性酰化或磺化试剂,例如手性羧酸或手性磺酸相比,出乎意料地发现在上述方法中利用 R-(+)-1-苯基乙基异氰酸酯可异常好地分离 2,6-二-仲丁基苯酚的立体异构体。

[0059] 本发明的其它实施方式提供了制备式 (I) 所示立体异构体或其盐的方法。

[0060] 盐

[0061] 如果化合物的酸性足够,可将式 (I) 所示化合物的盐用作分离或纯化式 (I) 所示化合物或其富集混合物的中间体。此外,将式 (I) 所示化合物作为药学上可接受的盐给予亦是合适的。药学上可接受的盐的例子包括采用本领域熟知的标准方法获得的盐,例如将酸性足够的式 (I) 所示化合物与提供生理学可接受的阳离子的合适碱反应。例如,可以获得碱金属(例如,钠、钾或锂)或碱土金属(例如,钙)盐。

[0062] 药物组合物

[0063] 本文公开的**药物组合物**包含本文公开的式 (I) 所示化合物与合适量的药学上可接受的载体,只要能提供适合给予患者的形式。可将式 (I) 所示化合物配制成**药物组合物**并给予患者,配制成适于所选给药途径,例如口服、胃肠外、静脉内、肌肉内、局部或皮下等的各种形式。

[0064] 因此,可将式 (I) 所示化合物与药学上可接受的载体,例如惰性稀释剂或可食用载体组合而全身性给予。这些组合物和制品可含有至少 0.1% 活性化合物。组合物和制剂的百分比当然可以不同,以给定单位剂型的重量计,所述百分比宜占所述剂型重量的约 0.1% - 约 60%。这种治疗有用的组合物中活性化合物的含量应能获得有效剂量水平。

[0065] 本文所述的式 (I) 所示化合物通常配制成适于静脉内给药的**药物组合物**。式 (I) 所示化合物可相对不溶于水。因此,对于静脉内给药,通常利用一种或多种水不混溶的溶剂和一种或多种乳化剂或表面活性剂,在水性介质中配制式 (I) 所示化合物。各制剂可包含一种或多种额外的组分,例如稳定剂、张力调节剂、调节 pH 的碱或酸和增溶剂。这些制剂还可任选含有防腐剂,例如乙二胺四乙酸 (EDTA) 或焦亚硫酸钠。美国专利号 5,908,869、5,714,520、5,731,356 和 5,731,355 描述了含有可与本文所述化合物联用的防腐剂,例如 EDTA 的有用水包油乳液。

[0066] 本文所述**药物组合物**可利用各种水不混溶性溶剂。水不混溶性溶剂可以是植物油,例如大豆油、红花油、棉籽油、玉米油、葵花子油、花生油、蓖麻油或橄榄油。或者,水不混溶性溶剂可以是中等或长链脂肪酸的酯,例如单酸甘油酯、甘油二酯或甘油三酯,中等和长链脂肪酸组合的酯或化学修饰或制造的材料,例如油酸乙酯、肉豆蔻酸异丙酯、棕榈酸异丙酯 (isopropyl palmitate)、甘油酯、聚氧烷基或氢化蓖麻油。水不混溶性溶剂还可以是海洋动物油,例如鳕鱼肝油或另一种源自鱼的油。其它合适的溶剂包括分馏的油,例如分馏的椰油或修饰的大豆油。水不混溶性溶剂可包括“结构化脂质 (structured lipid)” (参见,例如《脂质生物技术》(Lipid Biotechnology), T. M. Kuo 和 H. W. Gardner (编), MD 公司 (Marcel Dekker, Inc). 纽约,纽约州)。许多结构化脂质可从例如丹麦哥本哈根的丹尼斯克公司 (Danisco A/S) 和俄亥俄州奥斯特朗德的 SJ 脂质公司 (S&J Lipids, Ostrander, OH) 等商业供应商处购得。

[0067] 本文所述的**药物组合物**还可含有乳化剂。合适的乳化剂包括合成的非离子型乳化剂,例如乙氧基化醚、乙氧基化酯、聚氧丙烯 - 聚氧乙烯嵌段共聚物和磷脂。还可利用天然产生的磷脂,例如鸡蛋或大豆磷脂,和修饰或人工制造的磷脂或它们的混合物。在一些实施方式中,乳化剂是鸡蛋磷脂和大豆磷脂。卵黄磷脂包含磷脂酰胆碱、卵磷脂和磷脂酰乙醇胺。

[0068] 本文所述的**药物制剂**可包含含有约 0.1% - 约 5% (w/w) 的式 (I) 化合物、约 5 - 约 25% (w/w) 水不混溶性溶剂和约 40% - 约 90% (w/w) 水的脂质乳液。优选制剂包含约 0.5% - 约 2% (w/w) 的式 (I) 所示化合物。在一个实施方式中,药物制剂包含约 0.5% - 约 5% (w/w) 的式 (I) 所示化合物和约 0% - 约 50% (w/w) 的水不混溶性溶剂。

[0069] 本文所述的**药物制剂**还可包含稳定剂。阴离子型稳定剂包括,例如磷脂酰乙醇胺,与聚乙二醇偶联 (PEG-PE) 和磷脂酰甘油,一具体例子是二肉豆蔻酰磷脂酰甘油 (dimyristolphosphatidylglycerol) (DMPG)。其它稳定剂包括但不限于:油酸及其钠盐、

胆酸和脱氧胆酸及它们各自的盐、阳离子脂质,例如硬脂酰胺和油酰胺及 3-[3-[N-(N', N' - 二甲基氨基乙烷) 氨基甲酰基] 胆固醇 (DC-Chol)。

[0070] 可通过加入合适的张力调节剂而将本文所述的药物组合物制成与血液等渗。甘油是最常用的张力调节剂。其它张力调节剂包括木糖醇、甘露醇和山梨醇。通常将药物组合物配制成生理中性 pH, 一般为 6.0-8.5 的范围。可通过加入碱, 例如 NaOH 或 NaHCO₃, 或在某些情况中加入酸, 如 HCl 来调节 pH。

[0071] 可用药学上安全的油-水乳液或其它类似的油-水乳液配制式 (I) 所示化合物, 所述乳液包含植物油、磷脂乳化剂, 通常是鸡蛋卵磷脂或大豆卵磷脂, 和张力调节剂, 例如伊利诺斯州北芝加哥的阿伯特实验室 (Abbott Laboratories, North Chicago, IL) 的 **Liposyn® II** 和 **Liposyn® III** 和瑞典乌普萨拉的 FK 公司 (Fresenius Kabi AB, Uppsala, Sweden) 的 **Intralipid®**。

[0072] 还可在甘油三酯中配制式 (I) 所示化合物, 所述甘油三酯包括至少一种中等链长 (C₆-C₁₂) 脂肪酸的酯。在一些实施方式中, 所述甘油三酯是 C₈-C₁₀ 脂肪酸的酯。适合配制式 (I) 所示化合物的甘油三酯包括但不限于: 德国维滕的 CC 公司 (Condea Chemie GmbH (Witten, Germany)) 的 **Miglyol®**。例如, 可用 **Miglyol® 810** 或 **812** (辛酸 (C₁₀) / 癸酸 (C₈) 甘油酯) 配制式 (I) 所示化合物。

[0073] 此外, 可将本文所述的式 (I) 所示化合物类似地配制成异丙酚药物组合物, 例如美国专利号 4,056,635、4,452,817 和 4,798,846 所述的。

[0074] 用于本发明的其它合适的制剂可见, 例如《雷明顿药物科学》(Remington's Pharmaceutical Sciences), 费城, 宾夕法尼亚州, 第 19 版 (1995)。

[0075] 治疗性 / 保护性给药和剂量

[0076] 可将式 (I) 所示化合物和 / 或其药物组合物单独或与包含本文公开的化合物和 / 或其药物组合物的其它药剂组合给予。可给予或应用本文公开的化合物本身, 或作为药物组合物给予或应用。具体的药物组合物依赖于技术人员熟知的所需给药模式。

[0077] 可通过静脉内推注注射、连续静脉内输注、口服片剂、口服胶囊、口服溶液、肌肉内注射、皮下注射、透皮吸收、含服吸收、鼻内吸收、吸入、舌下、脑内、阴道内、经直肠、局部 (特别是给予耳朵、鼻子、眼睛或皮肤) 或本领域技术人员已知的任何其它方便的方法将本文公开的化合物和 / 或其药物组合物给予个体。在一些实施方式中, 通过包括口服缓释剂型在内的缓释剂型递送本文公开的化合物和 / 或其药物组合物。给药可以是全身性或局部的。已知各种递送系统 (例如, 包裹在脂质体中、微粒、微胶囊、胶囊、“患者控制的镇痛”药物递送系统等等) 可用于递送本文公开的化合物和 / 或其药物组合物。

[0078] 可通过本领域已知的标准临床技术测定本文公开的化合物和 / 或其药物组合物的有效量。本文公开的化合物和 / 或其药物组合物的给予量当然取决于所治疗的对象、该对象的体重、该对象的年龄、该对象的状况、化合物的所需疗效、给药方式和开处方医师的判断等因素。例如, 为产生全身麻醉, 式 (I) 所示 (R, R) 或 (-) 立体异构体的剂量水平可以为约 1- 约 10mg/kg。优选的诱导剂量为约 1- 约 2.5mg/kg。优选的维持剂量为约 1- 约 15mg/kg/ 小时。产生镇静作用的优选剂量为约 0.3- 约 6mg/kg/ 小时。

[0079] 组合治疗

[0080] 在某些实施方式中, 本文公开的化合物和 / 或其药物组合物可与至少一种其它治

疗剂用于组合治疗。本文公开的化合物和 / 或其药物组合物及治疗剂可加和起作用,或者更优选起协同作用。在一些实施方式中,本文公开的化合物和 / 或其药物组合物可与另一治疗剂同时给予,所述另一治疗剂是例如:其它镇静催眠剂(如,依托咪酯、硫喷妥钠、咪达唑仑、右美托咪定、氯胺酮),麻醉剂(如,地氟烷、七氟烷、异氟烷、一氧化二氮)、镇痛剂(如,阿片类,如瑞芬太尼、吗啡、哌替啶、氢吗啡酮、美沙酮、芬太尼、舒芬太尼或阿芬他尼、或非阿片类镇痛剂,如酮咯酸、加巴喷丁(gabapentin)、利多卡因或氯胺酮)、麻痹剂,例如罗库溴铵、顺-阿屈库铵、维库溴铵或泮库溴铵,止吐药(如,昂丹司琼、多拉司琼、氟哌利多),心血管药剂(如,美托洛尔、普萘洛尔、艾司洛尔、可乐定、苯福林、麻黄碱、肾上腺素、去甲肾上腺素、多巴胺、地尔硫卓、阿托品、甘罗溴铵、赖诺普利、硝化甘油、硝普钠、地高辛、米利酮)、类固醇类(如,地塞米松、氢化可的松(hydrocortisone)、甲基氢化泼尼松)、抗感染药剂(如,头孢唑啉、万古霉素)、利尿剂(如,呋塞米、氢氯噻嗪、螺内酯)、情绪调节药(如,氟西汀、阿立哌唑)或刺激剂,如尼古丁或野靛碱。

[0081] 例如,可将本文公开的化合物和 / 或其药物组合物与其它治疗剂一起给予。在其它实施方式中,可在给予其它治疗剂之前或之后给予本文公开的化合物和 / 或其药物组合物。

[0082] 前药

[0083] 本文所用的术语“前药”指可经体内代谢或转化从而提供式(I)所示化合物的化合物。前药通常包括为提供相应化合物而通过修饰式(I)所示化合物的酚基团来制备的化合物,所述相应化合物经体内代谢或转化能提供式(I)所示化合物。酚类化合物的前药以及它们的制备方法已有报道。例如,参见美国专利申请公布号 20070015716、20060287525、20060205969、20060041011、20050239725 和 20050107385。

[0084] 以下公布的国际专利申请和公布的美国专利申请以及下列其它出版物描述了其它合适的前药基团:WO 2005023204;US 2005107385;US2005004381;WO 2004092187;WO 2004032971;US 2006100163;WO2006033911;WO 2004033424;US 2005267169;WO2003086413;US2002370213;WO 2003057153;US 2001342755;US 2002099013;WO2002034237;US 2004127397;WO 2002013810;WO 2000048572;US2006166903;WO 200008033;US 2001025035;WO 9958555;和 US199875356;Krasowski, M. D. “药物研究中的最新观点”(Current Opinion in Investigational Drugs)(“汤普森科学”(Thompson Scientific))(2005)6(1),90-98;Fechner, J. 等, Anesthesiology, 2004, 101, 3, 626-639;Altomare C. 等, European Journal of Pharmaceutical Sciences;2003, 20, 1, 17-26;Sagara, Y. 等, Journal of Neurochemistry;1999;73, 6, 2524-2530 和 Trapani, G. 等, International Journal of Pharmaceuticals, 1998, 175, 2, 195-204。

[0085] 如上所述,还发现与异丙酚相比,2,6-二-仲丁基苯酚的另两种异构体,式(I)所示(S,S)或(+)和(内消旋)异构体显示改善的血液动力学分布以及类似或改善的药理学活性。因此,本发明还提供用作麻醉剂的各种异构体,它们的对-氟衍生物和药学上可接受的盐、其前药及其药物组合物。

[0086] 可按照制备相应的(R,R)或(-)立体异构体的所述通用方法分别制备式(I)所示(S,S)或(+)和(内消旋)立体异构体、它们的盐和前药。例如,可通过手性相层析(chiral phase chromatography)将立体异构体与外消旋化合物分离,如本文实施例2所述。现已发

现优选通过以下方法制备 2,6-二-仲丁基苯酚的 (S,S) 或 (+) 立体异构体,即,将相应 2,6-二-仲丁基苯酚的外消旋混合物与酰卤(例如,芳酰卤,如苯甲酰氯)反应获得碳酸酯非对映体的混合物,水解碳酸酯残基后分离该混合物以获得式 (I) 所示需要的非对映体。下文实施例 5a 描述了这种方法的一个例子。

[0087] 对于 (R,R) 或 (-) 立体异构体,式 (I) 所示 (S,S) 或 (+) 和 (内消旋) 立体异构体可存在、配制并给予本文所述并举例的患者。对于 (S,S) 或 (+) 立体异构体,产生全身麻醉的剂量水平可以是约 1-约 12mg/kg。优选的诱导剂量为约 1.2-约 4mg/kg。优选的维持剂量为约 1.5-约 30mg/kg/小时。产生镇静作用的优选剂量为约 0.5-约 12mg/kg/小时。对于 (内消旋) 立体异构体,产生全身麻醉的剂量水平可以是约 1-约 10mg/kg。优选的诱导剂量为约 1-约 3mg/kg。优选的维持剂量为约 1-约 20mg/kg/小时。产生镇静作用的优选剂量为约 0.3-约 8mg/kg/小时。

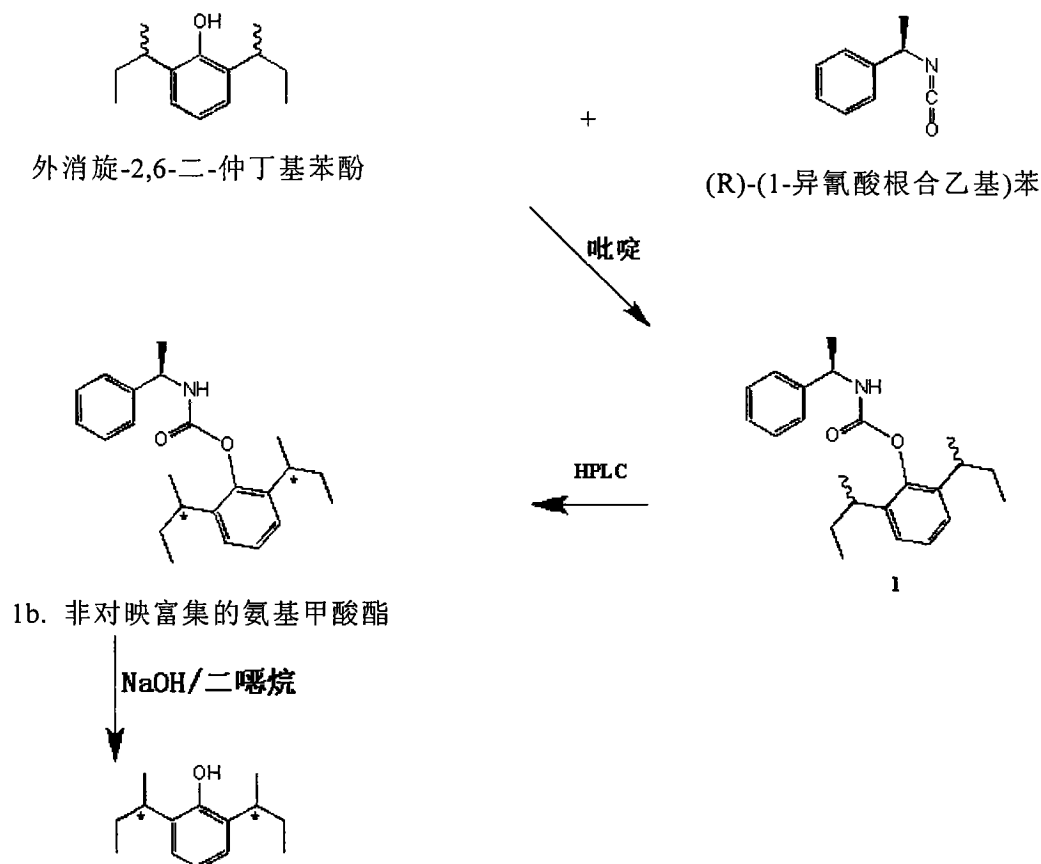
[0088] 可利用本领域熟知的标准药理学模型测定本发明化合物产生镇静或催眠作用的能力。可利用本领域熟知的标准药理学模型测定本发明化合物的血液动力学分布。

[0089] 现在通过以下非限制性实施例说明本发明。

[0090] 实施例 1.

[0091] 通过 HPLC 分离 2,6-二-仲丁基苯酚的非对映氨基甲酸酯来分离式 (I) 所示化合物的立体异构体

[0092]



[0093] 2. 式 (I) (-)-2,6-二-仲丁基苯酚的立体异构体

[0094] 合成 R-(+)-1-苯基-乙基)-氨基甲酸 2,6-二-仲丁基苯基酯 (1): 将 2,6-二-仲丁基苯酚 (2.06g, 10mmol)、R-(+)-1-苯基乙基异氰酸酯 (1.47g, 10mmol) 和 4-(二甲基氨

基)吡啶(0.06g,0.5mmol)的混合物在10ml干燥吡啶中于100℃加热过夜。蒸发反应混合物,用乙酸乙酯(75ml)和1M HCl水溶液(100ml)处理得到的残留物。用1M HCl水溶液(2x100mL)、盐水(100ml)洗涤有机层两次,无水MgSO₄干燥。蒸发溶剂得到氨基甲酸酯(1)(3g,85%)。

[0095] 分离R-(+)-1-苯基-乙基)-氨基甲酸2,6-二-仲丁基苯基酯的非对映体(1b):用HPLC硅胶柱(250x41.5mm)、吸附剂Si-60A 10mm进行HPLC分离。梯度:己烷-乙酸乙酯0-10%,72分钟;流速50ml/分钟;用10ml己烷加载1g(1)。收集含氨基甲酸酯的所需异构体(1b)的组分并蒸发(0.18g,72%)。

[0096] 通过手性色谱分析光学纯度:用CHIRALCEL OD-H柱(4.6x250mm)以恒溶剂模式分析2,6-二-仲丁基苯酚,流动相-正己烷;流速-1ml/分钟,20分钟;270nm检测。样品溶解于己烷。100℃将氨基甲酸酯在二噁烷:1MNaOH水溶液的1:1混合物中初步水解成2,6-二-仲丁基苯酚,1-2分钟。用醚萃取2,6-二-仲丁基苯酚。蒸发醚层,将残留的油状物溶解于正己烷中。

[0097] 合成(-)-2,6-二-仲丁基苯酚(2):将R-(+)-1-苯基-乙基)-氨基甲酸(-)-2,6-二-仲丁基苯基酯(1b)(4.1g,11.6mmol)溶解于100ml二噁烷:1MNaOH水溶液的1:1混合物中。70℃,搅拌反应混合物15分钟。减压除去挥发物质至约50-70ml体积。用1M HCl将pH调节至3-4。用醚(3x50ml)萃取苯酚,1M HCl、盐水洗涤,无水MgSO₄干燥。蒸发得到粗制黄色油状物(2.4g,约100%)。进行真空蒸馏(120-125℃/约5mm)(2.1g,89%)。

旋光度: $\alpha_D^{20} = -14.11^\circ$ (c = 2, 戊烷)。

[0098] 实施例2:

[0099] 直接分离2,6-二-仲丁基苯酚的立体异构体

[0100] 通过手性HPLC分离2,6-二-仲丁基苯酚的立体异构体混合物。将2,6-二-仲丁基苯酚(1mg/ml, HPLC级正己烷)注射到手性HPLC柱(戴瑟尔公司(Daicel, Inc.), CHIRALCEL OD-H 20x250mm, 5um)上。室温下,用HPLC级正己烷作为流动相,采用恒溶剂梯度进行分离,流速为10ml/分钟。在270nm检测峰。2,6-二-仲丁基苯酚显示1:2:1比例的3个峰,对应于对映体1(所需的立体异构体)、(内消旋)-2,6-二-仲丁基苯酚和对映体2。将分离的对映体1(1mg/ml)HPLC级正己烷并注射到手性HPLC柱(戴瑟尔公司, CHIRALCEL OD-H 4.6x250mm, 5um)上,室温下,用HPLC级正己烷作为流动相,采用恒溶剂梯度运行,流速为0.7ml/分钟。在270nm检测峰,显示异构体的保留时间为17.1分钟,纯度>99%。旋光度: $\alpha_D^{20} = -11.91^\circ$ 。按照与对映体1相同的分析方法,对映体2显示异构体的保留时间为19.6分钟,纯度>95%,(内消旋)-2,6-二-仲丁基苯酚显示异构体的保留时间为18.8分钟,纯度>96%。

[0101] 实施例3 制剂

[0102] 以下说明了含有式(I)所示化合物的治疗用代表性剂型。

[0103]

成分	批重量	w/w%
大豆油	70g	11.71

大豆磷脂 (脂质 S-75)	8.4g	1.41
式 (I) 所示化合物	3.5g	0.59
甘油	15.75g	2.64
乙二胺四乙酸钠	0.035g	0.01
氢氧化钠 (调节 pH)		
部分合计	97.685	
注射用无菌水	500ml	83.66
总计	597.685	100

[0104] 实施例 4 制剂

[0105] 以下说明了含有式 (I) 所示化合物的治疗用代表性剂型。

[0106]

成分	批重量	w/w%
大豆油	70g	11.66
大豆磷脂 (脂质 S-75)	8.4g	1.40
式 (I) 所示化合物	6.0g	1.00
甘油	15.75g	2.62
乙二胺四乙酸钠	0.035g	0.01
氢氧化钠 (调节 pH)		
部分合计	100.185	
注射用无菌水	500ml	83.31
总计	600.185	100

[0107] 实施例 5. 采用层析分离氨基甲酸酯非对映体来制备 (R, R)-二-仲丁基苯酚

[0108] a) (R)-(+) -1- 苯基 - 乙基)- 氨基甲酸 -2,6- 二 - 仲丁基苯基酯

[0109] 利用 5 毫升 (ml 或 mL) 甲苯, 用旋转蒸发仪 (55°C, 48 托) 将二 - 仲丁基苯酚 (购自 AAK 科学公司 (Acros&AK Scientific)) (5 克 (g), 21.1 毫摩尔 (mmol)) 共沸干燥, 然后装入配有磁力搅拌器、回流冷凝器、热电偶和氮气 (N₂) 入口的 100-ml 三颈烧瓶。加入甲苯

(10ml) 和 4-二甲基氨基吡啶 (0.085g, 0.7mmol)。最后引入 (R)-(+)-1-苯基乙基异氰酸酯 (3.5g, 3.65ml, 23.63mmol)。90℃, 在 N₂ 下用加热套加热得到的清澈黄色混合物并在该温度下继续搅拌, 同时借助高压液相 (HPLC) 监测反应进程。HPLC 判断反应完成后 (18-24 小时), 用旋转蒸发仪 (50-55℃ / 45-50 托) 浓缩反应混合物获得半固体 (约 9.4g), 将其溶解于热的 2-丙醇 (18ml)。将溶液回复至室温, 加入纯 (R)-(+)-1-苯基-乙基)-氨基甲酸-2,6-二-仲丁基苯基酯作为晶种, 置于冰箱 (4℃) 中 24-36 小时以便发生缓慢结晶。用过滤漏斗冷过滤沉淀的黄色固体并干燥 1-2 小时。第一批产品重 2.8g (37.5% 产率), 通过 HPLC 分析发现纯度大于 (>) 95 面积百分比 (A%)。用旋转蒸发仪将母液浓缩至原始体积的约 2/3 (蒸馏掉 4ml 2-丙醇), 然后冷却至 0-5℃, 6-8 小时。用过滤漏斗冷过滤第二批产品干燥得到额外的 2.6g (34.9% 产率) 产品, HPLC 发现纯度约 88A%。

[0110] b) (R, R, R)-1-苯基乙基氨基甲酸-2,6-二-仲丁基苯基酯

[0111] 给 Agilent HPLC 系统安装二极管阵列检测器, 给 0.46cm ID x 25cm 长 10mm KROMASIL 硅胶柱加载 714mg 外消旋 R-(+)-1-苯基-乙基)-氨基甲酸-2,6-二-仲丁基苯基酯, 所述酯溶解于 10ml 己烷 / 乙酸乙酯 (98 : 2) 从而获得 71.4g/l 加料溶液。25℃, 用己烷 / 乙酸乙酯 (98 : 2) 以 2ml / 分钟洗脱样品。收集含有 (R, R, R)-1-苯基乙基氨基甲酸-2,6-二-仲丁基苯基酯的部分, 在 < 55℃ 下减压蒸发。在最高加载量, 收集的 (R, R, R)-立体异构体的手性纯度为 98.7% 非对映过量 (de), 总产率为 53%。

[0112] c) (R, R)-二-仲丁基苯酚

[0113] 向装有磁力搅拌器、回流冷凝器、热电偶和 N₂ 入口的 100-ml 三颈烧瓶中加入四氢呋喃 (THF) (9ml)、(R, R, R)-1-苯基乙基氨基甲酸-2,6-二-仲丁基苯基酯 (1g, 2.8mmol) 和 1.0M 氢氧化钠 (11.4ml, 11.4mmol)。55-60℃, 在 N₂ 下利用加热套加热得到的清澈混合物, 该温度下继续搅拌, 同时通过 HPLC 监测反应进程。HPLC 判断反应完成后 (6-8 小时), 将反应混合物冷却至 15℃, 过滤除去沉淀的脲。用冷 THF (5ml) 洗涤滤饼。合并滤液和洗涤液, 用 3.0M 盐酸 (HCl) (3.5ml) 酸化至 pH 2-3。搅拌 10 分钟 (min) 后, 加入醚 (10ml), 然后剧烈搅拌该混合物 15 分钟, 随后分层。用 3.0M HCl (3ml)、盐水 (5ml) 洗涤有机层, 硫酸镁 (MgSO₄) 干燥, 过滤除去干燥剂, 然后用旋转蒸发仪浓缩得到半固体黄色残留物, 将该残留物与甲基叔丁基醚 (MTBE) (3ml) 搅拌 15 分钟, 然后过滤。用 MTBE (2ml) 洗涤滤饼。合并滤液和洗涤液, 然后用旋转蒸发仪浓缩得到黄色油状的标题化合物 (0.6g, 100% 粗产率), HPLC 发现其纯度大于 93A%。发现 ¹H NMR (DMSO-d₆) 与结构一致。

[0114] 实施例 5a. 采用层析分离碳酸酯非对映体来制备 (S, S)-二-仲丁基苯酚

[0115] a) 2,6-二-仲丁基苯酚苯甲酰基酯

[0116] 利用甲苯, 用旋转蒸发仪 (55℃, 48 托) 干燥二-仲丁基苯酚 (购自 AAK 科学公司), 然后装入配有磁力搅拌器、回流冷凝器、热电偶和氮气 (N₂) 入口的 100-毫升 (ml 或 mL) 三颈烧瓶。加入甲苯和 4-二甲基氨基吡啶, 然后加入苯甲酰氯。90℃, 在 N₂ 下利用加热套加热得到的混合物, 该温度下继续搅拌, 同时通过高效液相色谱 (HPLC) 监测反应进程。HPLC 判断反应完成后, 用旋转蒸发仪 (50-55℃ / 45-50 托) 浓缩反应混合物得到半固体。

[0117] b) (S, S)-2,6-二-仲丁基苯酚苯甲酰基酯

[0118] 给 Agilent HPLC 系统安装二极管阵列检测器, 给 0.46cm ID x 25cm 长 10mm KROMASIL 硅胶柱加载 2,6-二-仲丁基苯酚苯甲酰基酯, 所述酯溶解于己烷 / 乙酸乙酯

(98 : 2) 从而获得加料溶液。25℃, 用己烷 / 乙酸乙酯 (98 : 2) 洗脱样品。收集含有 (S, S)-2,6-二-仲丁基苯酚苯甲酰基酯的部分, 在 < 55℃ 下减压蒸发得到稀的油状物。

[0119] c) (S, S)-二-仲丁基苯酚

[0120] 向装有磁力搅拌器、回流冷凝器、热电偶和 N₂ 入口的 100-ml 三颈烧瓶中加入四氢呋喃 (THF)、(S, S)-2,6-二-仲丁基苯酚苯甲酰基酯和 1.0M 氢氧化钠。55-60℃, 在 N₂ 下利用加热套加热得到的混合物, 该温度下继续搅拌, 同时通过 HPLC 监测反应进程。HPLC 判断反应完成后, 将反应混合物冷却至 15℃, 过滤除去沉淀的脲。用冷 THF 洗涤滤饼。合并滤液和洗涤液, 用 3.0M 盐酸 (HCl) 酸化至 pH 2-3。搅拌 10 分钟后, 加入醚, 剧烈搅拌得到的混合物 15 分钟, 随后分层。用 3.0M HCl、盐水洗涤有机层, 硫酸镁 (MgSO₄) 干燥, 过滤除去干燥剂, 然后用旋转蒸发仪浓缩得到残留物, 将该残留物与甲基叔丁基醚 (MTBE) 搅拌 15 分钟, 然后过滤。用 MTBE (2ml) 洗涤滤饼。合并滤液和洗涤液, 然后用旋转蒸发仪浓缩得到标题化合物。

[0121] 生物测试

[0122] 在以下实施例所述测试中评估 (R, R)-二-仲丁基苯酚相比于异丙酚的药理学分布。在这些实施例中, (R, R)-二-仲丁基苯酚称为化合物 1。

[0123] 实施例 6. 大鼠海马脑切片试验

[0124] 采用大鼠海马脑切片电生理学试验检验和比较了化合物 1 与异丙酚增强 g-氨基丁酸受体 A 亚型 (GABA_A 受体) 激动剂作用的能力。

[0125] 如实施例 5 所述制备的化合物 1 和异丙酚各检验了 5 个浓度: 0.1、1、3、10 和 30 微摩尔 (μM)。用盐水稀释各自用 DMSO 配制的 100 毫摩尔 (mM) 异丙酚和 100mM 化合物 1 的储备液从而得到各自的浓度; 含有 0.03% DMSO 的 30 μM 样品; 含有最多 0.1% DMSO 的溶液对脑切片试验的影响最明显。采用类似于 Casasola 等, 2002, Epilepsy Research 47, 257 所述的方法测定 EC₅₀ 和 EC₂₀ 值, 改进之处如下所述。

[0126] 如下所示制备大鼠海马切片: 用异氟烷麻醉雄性 Wistar 大鼠 (100-125g) 并去头处死, 快速取出脑, 收集、封闭并用电子显微镜科学公司的自动切片机 (OTS-4000, Electron Microscope Sciences) 切割成 400 微米 (μm) 横切片。将切片转移至温暖 (33℃) 的浸没组织记录室, 该室以 2.5-3ml/分钟灌注改进的人工脑脊液 (120mM 氯化钠, 3.5mM 氯化钾, 2.5mM 氯化钙, 1.3mM 氯化镁, 1.25mM 磷酸钠, 26mM 碳酸钠, 10mM 葡萄糖, 95% 氧饱和, pH 7.4)。海马切片在该记录室中平衡至少 1 小时。

[0127] 如下所示进行电生理学检验: 给玻璃棒电极 (顶圆直径 1-2 μm) 注入 3M 氯化钠 (NaCl), 将其置于海马切片的 CA1 锥体细胞层中。将罗德斯医学供应公司的 25 μM 同心双极刺激电极 (SNE-100, Rhodes Medical Supply) 置于 CA1 区域的辐射层中以刺激夏夫并行 / 接合途径 (Schaffer collateral/commissural pathway)。用加利福尼亚州桑尼维尔 AIMD 公司 (Axon Instruments, Molecular Devices, Sunnyvale, CA) 的 Axoprobe-1A 记录 CA1 锥体细胞的群体反应。利用阿克星仪器公司 (Axon Instruments) 的 pCLAMP 8.2 获取数据, 利用阿克星仪器公司的 Clampfit 作分析。刺激由 GM 仪器公司 (Grass Medical Instruments) 的 Grass S11 刺激器的单方形波脉冲 (0.3 毫秒 (msec) 持续时间) 构成, 在整个实验期间每 20 秒递送。调整刺激强度以激发最高反应的 80-90%。检测各刺激的群体反应的峰间幅度作为细胞兴奋性的标志。

[0128] 各自在 EC20 的蝇蕈醇 ($2\mu\text{M}$) 存在下,从最低到最高浓度顺序灌注各海马切片的改进人工脑脊液配制的化合物 1 和异丙酚。化合物 1 或异丙酚施加后,各自检测 4-7 分钟中各浓度的作用,发现在该时间内的反应变化稳定。只有化合物 1 或异丙酚不足以抑制 CA1 群体尖峰幅度时 ($< 90\%$ 抑制),才施加化合物 1 或异丙酚后施加蝇蕈醇 ($10\mu\text{M}$) 以验证制品的灵敏度。记录结束时施加 GABA_A 受体通道拮抗剂木防己苦毒素 ($50\mu\text{M}$) 以证实反应是由 GABA_A 受体介导的。

[0129] 用微软公司的 Clampfit 和 Excel 获取并分析数据,报道为平均值和各数值。通过检测共同施加蝇蕈醇 (EC20) 和化合物 1 或异丙酚前 (对照) 和后的 CA1 群体尖峰的幅度获得群体效应的程度 (%) (按照对照标准化差异并乘以 100 以获得效应百分比)。

[0130] 数据证明化合物 1 在大鼠海马脑切片中是 GABA_A 受体激动剂作用的强增效剂,其 EC50 为 $2.5\mu\text{M}$ 。异丙酚的 EC50 为 $4.8\mu\text{M}$ 。因此,在海马脑切片试验中化合物 1 的性质类似于异丙酚,完全增强 GABA_A 受体的蝇蕈醇 - 介导反应。

[0131] 实施例 7. 靶标特异性研究

[0132] 检验并比较了化合物 1 和异丙酚与各种生物靶标相互作用的能力。

[0133] 由美国华盛顿州雷蒙德的克雷普公司 (Cerep, Inc., Redmond, WA, USA) 在其“多样性分布图”中进行如实施例 5 所述制备的化合物 1 和异丙酚的药理学序型分析 (pharmacological profiling),所述分布图是 71 种受体 (59 种肽、非肽或核受体;7 种离子通道;5 种胺转运蛋白) 和 16 种酶的标准分布图。各自测试 $10\mu\text{M}$ (治疗相关浓度) 的化合物 1 和异丙酚。

[0134] 对于检验的 71 种受体和 16 种酶,结果表明化合物的性质类似物异丙酚。例如,在检测苦毒宁 (木防己苦毒素的活性化合物) 结合从大鼠大脑皮层分离的氯化物通道的试验中化合物 1 和异丙酚各自显示最大效应 (抑制对照结合大于 30%)。该 g-氨基丁酸 (GABA) 配体门控离子通道是异丙酚作用的中心靶标。此外,化合物 1 和异丙酚各自显示只对测试的 16 种酶中的一种:磷酸二酯酶 (PDE2) 的对照结合抑制大于 20% 。未观察到对 $\alpha 2$ 、NMDA、PCP、苯并二氮杂~~革~~或阿片受体有明显作用。

[0135] 实施例 8. 注射痛 - 水相浓度

[0136] 注射痛是异丙酚给药的常见问题,据认为是由脂质乳剂水相中的异丙酚导致的 (参见,例如 Klement W 等,1991, Br J Anaesth 67,281)。几项研究报道了与 DIPRIVAN 的水相中异丙酚的含量相比,当异丙酚的水相浓度降低时注射疼痛显著降低 (参见,例如 Doenicke AW 等,1996, Anesth Analg 82,472;Ueki R 等,2007, J Anesth 21,325)。

[0137] 测定了化合物 1 在脂质乳液制剂的水相中的浓度 (水相浓度)。该水相浓度与配制成相同制剂的异丙酚的浓度和美国特拉华州威尔明顿的 AZ 公司 (AstraZeneca, Wilmington, DE, USA) 的 **DIPRIVAN®** 的浓度相比较。

[0138] 按照实施例 4 配制百分之一 (1%) 的化合物 1 制剂,如实施例 5 所述制备化合物 1。以相同方式配制 1% 异丙酚制剂。所用的 DIPRIVAN (1% 异丙酚可注射乳剂) 购自 AZ 公司。

[0139] 采用 Teagarden DL 等,1988, Pharmaceutical Research 5,482 所述的超滤方法测定化合物 1 和异丙酚的水相浓度。简言之,将 1% 化合物 1 制剂的 4 份 0.4-ml 样品, 1% 异丙酚制剂的 4 份 0.4-ml 样品和 DIPRIVAN 的 2 份 0.4 样品置于马萨诸塞州比尔里卡的米

利波尔公司 (Millipore, Billerica, MA) 的 Ultrafree®-MC 微量离心过滤器中, 以 5000rpm 微量离心 15 分钟分离水相和脂相。按照化合物 1 和异丙酚的标准曲线, 利用百里酚作为内标, 通过液质联用 (LC/MS/MS) 定量测定化合物 1 和异丙酚在各自水相中的浓度 (分析由爱达荷州莫斯科的 AA 公司 (Alturas Analytics Inc., Moscow, ID) 进行)。

[0140] 1% 化合物 1 制剂中化合物 1 的水相浓度为 $0.38 \pm 0.02 \mu\text{g/mL}$ 。1% 异丙酚制剂中异丙酚的水相浓度为 $6.28 \pm 0.41 \mu\text{g/mL}$ 。DIPRIVAN 中异丙酚的水相浓度为 $4.1 \mu\text{g/mL}$ 。

[0141] 这些结果证明与相同制剂中的异丙酚相比, 化合物 1 的水相浓度降低 94%, 与 DIPRIVAN 中的异丙酚相比, 化合物 1 的水相浓度降低 91%。

[0142] 实施例 9. 药代动力学研究

[0143] 用家猪进行药代动力学 (PK) 研究来评估化合物 1 和药效学作用, 并将这种作用与异丙酚比较。

[0144] 通过 20- 分钟静脉内 (IV) 输注, 将如实施例 5 所述制备并按照实施例 4 配制的 1% 化合物制剂以 0.380mg/kg/分钟 (7.6mg/kg 总剂量) 给予 6 只猪, 以 0.456mg/kg/分钟 (9.12mg/kg 总剂量) 给予 1 只猪。比较化合物 1 的血浆浓度与通过类似方案产生的历史异丙酚数据, 在该方案中通过 10- 分钟静脉 (IV) 输注, 以 0.750mg/kg/分钟 (7.5mg/kg 总剂量) 将 1% 异丙酚制剂 (与化合物 1 相同的方式配制) 给予 5 只猪。

[0145] 该项研究的数据表明化合物 1 在猪模型中表现出与异丙酚相似的药代动力学分布。3- 区室模型最好地描述了化合物 1 和异丙酚数据。与异丙酚类似, 化合物 1 的清除率超过估计的肝血流量。化合物 1 还显示在猪中的代谢途径类似于异丙酚在人中的: 1- 位葡萄糖苷酸化而 4- 位经水解, 然后葡萄糖醛酸苷与硫酸根偶联。用狗进行剂量- 渐升研究显示化合物 1 和异丙酚的清除血浆浓度相似, 表明在该物种中的清除率也相似。

[0146] 实施例 10. 大鼠中的麻醉作用

[0147] 在大鼠中研究了与异丙酚相比, 静脉推注注射化合物 1 的麻醉剂量响应。

[0148] 利用有效的全身麻醉啮齿类模型 (参见 Hill-Venning C 等, 1996, Neuropharmacology 35, 1209; Lingamaneni R 等, 2001, Anesthesiology 94, 1050) 检测麻醉的发作和持续时间, 通过翻正反射丧失 (LORR) 和恢复时间 (从翻正反射恢复到大鼠能正常抓住和爬上钢架及行走的时间间隔) 显示。还检测了实现 LORR 的最低剂量和最大耐受剂量 (MTD)。

[0149] 在给予下述剂量所需的时间内, 通过静脉推注输注, 将如实施例 5 所述制备并按照实施例 4 配制的 1% 化合物制剂或 DIPRIVAN 以 2.5mL/分钟 给予每剂量组 6 只雄性 Sprague-Dawley 大鼠 (200-300g)。通过测定导致 50% 的大鼠丧失翻正反射所需剂量 (HD50) 和产生 7 分钟麻醉所需剂量 (HD7 分钟) 来评估相对效力。化合物 1 的研究剂量范围是 1.9、2.3、3.0、7.0、13.7、14.0 和 15.2mg/kg , DIPRIVAN 的剂量范围是 3.5、4.0、7.0 和 14.0mg/kg 。

[0150] 结果表明静脉推注给予化合物 1 在大鼠中产生剂量依赖性麻醉持续时间。当给予以下剂量的各药物时, LORR 在 15 秒内发作, 化合物 1 的剂量是至少 3.0mg/kg , 异丙酚的剂量是至少 7.0mg/kg 。化合物 1 在 1.9mg/kg 时不产生 LORR, 但在测试的所有其它剂量均产生 LORR。异丙酚以 3.5mg/kg 测试时, 6 只大鼠中有 4 只未产生 LORR, 但在测试的所有其它剂量均产生 LORR。表 1 比较了化合物 1 和异丙酚的 HD50、HD7 分钟、MTD 和治疗指数 (TI);

本文定义为 MTD 与 HD7 分钟之比) 结果。给予 14mg/kg DIPRIVAN 时,一只大鼠死亡。给予 15.2mg/kg 化合物 1 时,两只大鼠死亡。除高剂量化合物 1 外(其也产生延长的 LORR),恢复时间显示与剂量关系不大。

[0151] 表 1. 比较通过静脉推注给予大鼠的化合物 1 和异丙酚的 HD50、HD7 分钟、MTD 和 TI 结果。

[0152]

	异丙酚	化合物 1
HD50	3.8mg/kg	2.1mg/kg
HD7 分钟	7.0mg/kg	2.3mg/kg
MTD	< 14mg/kg	14mg/kg
TI	< 2	6.1

[0153] 总之,与异丙酚相比,化合物 1 在低于异丙酚的剂量显示效力,还显示了较高的 MTD 和改善的 TI。

[0154] 还在该测试中评估了按照实施例 2 制备的 (S,S)-2,6-二-仲丁基苯酚,测试剂量为 2、3、4、5、6、28、35、42、49 和 56mg/kg。表 1a 显示了该化合物的 HD50、HD7 分钟、MTD 和 TI 结果。给予 49mg/kg 的 (S,S)-2,6-二-仲丁基苯酚时,6 只大鼠中有 1 只死亡。

[0155] 表 1a. 通过静脉推注给予大鼠的 (S,S)-2,6-二-仲丁基苯酚的 HD50、HD7 分钟、MTD 和 TI 结果

[0156]

	(S, S)
HD50	4mg/kg
HD7 分钟	5.2mg/kg
MTD	42mg/kg
TI	8.1

[0157] 在另一研究中,以相同剂量和制剂给予大鼠 7mg/kg 的克莱姆夫 (cremaphor) 配制的 1% 化合物 1 或异丙酚, (S,S)-2-6-二-仲丁基苯酚或或 (内消旋)-2-6-二-仲丁基苯酚 (按照实施例 2 制备)。结果如表 1b 所示。给予 21mg/kg 克莱姆夫配制的 1% (内消旋)-2-6-二-仲丁基苯酚的 6 只大鼠中有 1 只死亡;然而,其余 5 只大鼠显示 34 分钟麻醉。

[0158] 表 1b. 比较通过静脉推注给予大鼠 7mg/kg 的化合物 1、异丙酚、(S,S)-2-6-二-仲丁基苯酚和 (内消旋)-2-6-二-仲丁基苯酚的麻醉持续时间 (睡眠时间)

[0159]

	睡眠时间
异丙酚	7.1 分钟
化合物 1	23 分钟
(S, S)	6.3 分钟
(内消旋)	12.7 分钟

[0160] 总之, (S, S)-2-6-二-仲丁基苯酚的效力类似于异丙酚。与异丙酚相比, (内消旋)-2,6-二-仲丁基苯酚的效力提高。与异丙酚相比, 两种立体异构体均表现出改善的 MTD 和治疗指数。

[0161] 实施例 11. 小猎犬中的麻醉和血液动力学效应

[0162] 在狗中进行剂量-渐增研究以显示与异丙酚相比, 静脉推注给予化合物 1 的麻醉和血液动力学效应。

[0163] 就静脉推注给予化合物 1 或异丙酚的麻醉和血液动力学效应的诱导、持续时间、深度和质量而言, 该项研究的终点是剂量关系。利用如实施例 5 所述制备和按照实施例 4 配制的 1% 化合物 1 制剂以及相同方式配制的 1% 异丙酚制剂。

[0164] 用双光谱指数 (Bispectral Index) (BIS) 检测麻醉深度的脑电图 (EEG) 测量值, 其是用于检测麻醉药物对脑的作用和追踪镇静或麻醉水平改变的几种系统之一。BIS 是分析 EEG 的数据的数学算法, 输出的是 100 (完全有意识) 到 0 (等电位 EEG) 的单个数字。其它评估包括镇静评分、临床观察、血压、心电图 (ECG) 和氧饱和度。

[0165] 给小猎犬 (雄性, 2-4 岁, 8-10kg) 植入血管通路端口 (vascular access port)。进行植入手术之时, 给犬剃头, 标出放置 EEG 电极之处并注射 **BOTOX®** (加利福尼亚州埃尔文的爱乐冈公司 (Allergan, Inc., Irvine, CA) ; 肉毒杆菌毒素 A 型纯化的神经毒素复合物); 在额部通过 5 次肌肉内 (IM) 注射给予每只犬总共 40 单位。预计这几次注射能抑制肌肉运动和 BIS 信号的肌电图 (EMG) 干扰。

[0166] 该项研究是交叉设计。各只犬以至少 30 分钟为间隔 (或直至犬清醒) 接受 2-4 次渐增静脉推注剂量 (在 60 秒时间内注射) 的化合物 1 或异丙酚, 直至获得 MTD。MTD 定义为将平均动脉血压 (MAP) 降低 50% 或降低至小于 50 毫升汞柱 (mmHg 或 mm Hg) 的剂量。所有动物接受补充的氧气, 如果需要, 呼吸暂停 4 分钟后接受通气支持。

[0167] 通过评估是否存在睫毛反射、对眉间轻扣或听觉刺激、捏足趾的反应和呼吸来测定麻醉深度。存在各迹象评分为 1, 不存在各迹象评分为 0。因而能计算剂量间在 30 分钟期间多个时间点的累积镇静评分 (5 = 清醒, 0 = 呼吸暂停 / 深度麻醉)。通过记录诱导的平顺程度、定量测定肌肉专利和不随意运动是否存在来评估麻醉的质量。在各剂量的整个观察期, 不随意运动的事件 (例如, 显现期间) 评分为存在或不存在。依次采用对时间和剂量作用的多重比较作了布氏校正 (Bonferroni correction) 的 2- 向 ANOVA 和 t- 检验分析 BIS 和血液动力学效应。

[0168] A. 麻醉作用

[0169] 表 2 显示了通过静脉推注给予的化合物 1 和异丙酚在非故意自发呼吸小猎犬中实

现剂量相关麻醉 (3.3-30mg/kg/ 剂量 ; 每种剂量 1-10 犬) 的能力。给予 15mg/kg 异丙酚的 3 只犬中的 2 只达到 15mg/kg 的 MTD。因此只有 1 只犬给予 30mg/kg 异丙酚剂量。

[0170] 表 2. 静脉推注给予犬的化合物 1 和异丙酚的剂量 - 相关麻醉持续时间 (睡眠时间)

[0171]

剂量	异丙酚	化合物 1
5mg/kg	13 分钟	24 分钟
10mg/kg	28 分钟	43 分钟
15mg/kg	43 分钟	77 分钟
30mg/kg	69 分钟	105 分钟

[0172] 数据还表明所有剂量的化合物 1 和异丙酚在 1 分钟内诱导麻醉。化合物 1 的麻醉持续时间 (由睡眠时间检测) 在所有剂量均长于异丙酚。累积镇静评分大致显示 5mg/kg 以上的异丙酚和化合物 1 的终点麻醉深度。给予 10mg/kg 化合物 1 或 10mg/kg 或 15mg/kg 异丙酚的犬的 BIS 值之间没有显著差异。化合物 1 在至少 15mg/kg 的剂量对 BIS 产生更大影响, 但这些剂量非常高, 可能在临床上不相关。化合物 1 的麻醉质量 (诱导的平顺程度、定量测定肌肉张力、不所有运动是否存在) 类似于异丙酚。

[0173] 该测试中还评估了按照实施例 2 制备的 (S, S)-2,6- 二 - 仲丁基苯酚和 (内消旋) 2,6- 二 - 仲丁基苯酚。表 2a 显示这些化合物的剂量相关麻醉持续时间 (睡眠时间)。

[0174] 表 2a. 静脉推注给予犬后 (S, S)-2,6- 二 - 仲丁基苯酚和 (内消旋) 2,6- 二 - 仲丁基苯酚的剂量相关麻醉持续时间 (睡眠时间)

[0175]

剂量	(S, S)	(内消旋)
5mg/kg	8 分钟	25 分钟
10mg/kg	24 分钟	36 分钟
15mg/kg	50 分钟	55 分钟
30mg/kg	50 分钟	58 分钟

[0176] 数据还表明所有剂量的 (S, S)-2,6- 二 - 仲丁基苯酚和 (内消旋) 2,6- 二 - 仲丁基苯酚在 1 分钟内诱导麻醉。(S, S)-2,6- 二 - 仲丁基苯酚的麻醉持续时间 (由睡眠时间检测) 类似于异丙酚, 长于 (内消旋) 2,6- 二 - 仲丁基苯酚。(S, S)-2,6- 二 - 仲丁基苯酚的麻醉质量类似于异丙酚, 但差于 (内消旋) 2,6- 二 - 仲丁基苯酚。

[0177] B. 血液动力学效应: 血压

[0178] 记录基线、1、2、4、8、15、20 和 30 分钟的血液动力学数据, 例如平均动脉压 (MAP)。将化合物 1 分别以 5、10、15 和 30mg/kg 给予 3、6、6 和 6 只犬。将异丙酚分别以相同剂量给

予 3、5、5 和 1 只犬。只有 1 只犬接受 30mg/kg 异丙酚,因为在两只犬中 MTD 标准达到 15mg/kg。依次采用为多重比较作了布氏校正的 2- 向 ANOVA 和 t- 检验分析数据。

[0179] 数据比较表明异丙酚对 MAP 产生的影响明显高于化合物 1。表 3 提供了将推注 IM 给予 10、15 或 30mg/kg 化合物 1 后 4 分钟偏离基线的平均动脉压百分比 (MAP%) 改变与相同剂量异丙酚产生的 MAP% 改变作比较的例子。

[0180] 表 3. 静脉推注给予犬化合物 1 或异丙酚后 4 分钟时偏离基线的剂量相关平均动脉压改变 (检测为 MAP%)

[0181]

剂量	异丙酚	化合物 1
10mg/kg	-22%	+11%
15mg/kg	-32%	-25%
30mg/kg	-66% *	-41%

[0182] * 由于 2 只犬达到 15mg/kg 异丙酚的 MTD 标准,故只对 1 只犬测试了 30mg/kg 异丙酚。

[0183] 该测试中还评估了按照实施例 2 制备的 (S, S)-2,6- 二 - 仲丁基苯酚和 (内消旋) 2,6- 二 - 仲丁基苯酚。比较数据表明异丙酚对 MAP 产生的影响明显高于 (S, S)-2,6- 二 - 仲丁基苯酚或 (内消旋) 2,6- 二 - 仲丁基苯酚。表 3a 提供了比较 4 分钟时偏离基线的 MAP% 改变的例子。

[0184] 表 3a. 静脉推注给予犬 (S, S)-2,6- 二 - 仲丁基苯酚和 (内消旋) 2,6- 二 - 仲丁基苯酚后 4 分钟时偏离基线的剂量相关平均动脉压改变 (检测为 MAP%)

[0185]

剂量	(S, S)	(内消旋)
10mg/kg	+7%	+5%
15mg/kg	+5%	+15%
30mg/kg	0%	-16%

[0186] 实施例 12. 混血犬中的麻醉和血液动力学效应

[0187] 本项研究比较了给予化合物 1 或异丙酚的长期测量 (chronically instrumented) 混血犬中总静脉内麻醉的作用。评估包括血液动力学性能参数,例如血压、心率和心输出量以及临床化学参数和 EEG 分析。

[0188] 在成年 (至少 9 月龄 ;约 20-40kg) 混血犬中比较如实施例 5 所述制备并按照实施例 4 配制的 1% 化合物制剂和 DIPRIVAN (1% 异丙酚可注射乳剂)。

[0189] 通过静脉 (IV) 对 7mg/kg DIPRIVAN 诱导犬进行全身麻醉,犬作气管插管和机械通气。利用 2.2% 呼气末 (end-tidal) 七氟烷 - 氧气维持全身麻醉。在第五左肋间隙进

行开胸术,将肝素填充的导管置于邻近胸降主动脉(加利福尼亚州奥克斯纳德古尔德公司(Gould, Oxnard, CA)的P50压力传感器)和右侧及左侧心房以提供静脉(IV)入口。将超声过渡时间流量探头(ultrasonic transit-time flow probe)(T108, Transonic Systems, Ithaca, NY)置于胸升主动脉(ascending thoracic aorta)附近。将加利福尼亚州圣迭戈TS技术公司(Triton Surgical Technologies, San Diego, CA)的HDP-20-3.5型20kHz多普勒流量探头置于冠状动脉左前降支附近。将6个德克萨斯州休斯顿哈特利公司(Hartley, Houston, TX)的MHz超声微测距仪晶体植入下心内膜(subendocardium)。将加利福尼亚州帕萨迪纳的考宁堡仪器公司的高保真微压计(P7, Konigsberg Instruments, Pasadena, CA)插入左心室。将加利福尼亚州海尔兹堡体内公制系统公司的液压血管封闭器(hydraulic vascular occluder, In Vivo Metric Systems, Healdsburg, CA)置于胸腔段下腔静脉附近。仪器外置,分层闭合胸壁并排空气胸。实验前犬至少恢复7天并使之适应在恢复期间站在网兜(sling)中。

[0190] 犬禁食过夜。将有意识的犬置于网兜内,插入针状电极以记录Lead IIECG。安置头皮电极以3种双极记录构造(bipolar recording configuration)记录EEG(MP150,加利福尼亚州戈拉塔BS公司(Biopac Systems, Goleta, CA)),所述构造取样额部、颞、顶骨和枕骨区域。然后犬接受500ml静脉推注生理盐水,随后在实验期间以3ml/kg/小时(每只犬60-120ml/小时)的速度静脉(IV)输注生理盐水。让犬稳定30分钟。实验期间不断记录EEG。动脉血气和化学检测包括pH、 pO_2 、 sO_2 、 pCO_2 、 tCO_2 、碳酸盐、钾、钠和碱过量,利用血气和化学分析仪(ABL-505,辐射计,哥本哈根)在采血后立即检测。血液临床化学检测包括白蛋白、白蛋白/球蛋白比、碱性磷酸酶、ALT(SGPT)、AST(SGOT)、碳酸氢盐、直接胆红素、BUN、BUN/肌酸酐比、钙、氯化物、胆固醇、CK、肌酸酐、球蛋白、葡萄糖、磷、钾、钠、钠/钾比和总蛋白。稳定后,记录EEG、血液动力学ECG和血气的基线测量值。已知血液样品的PK和临床化学性质,产生压力容量环并记录数据。

[0191] 基线检测后,犬立即在1分钟期间接受4mg/kg(1只犬)或5mg/kg(6只犬)静脉推注剂量的化合物1或7mg/kg静脉推注剂量的异丙酚(7只犬)以诱导全身麻醉。诱导后,给犬作气管插管,在随后的药物输注和恢复期间用50%氧气-氮气作机械通气。接受化合物1推注的犬在推注剂量结束后4分钟开始以分步交叉方式给予化合物1,连续4次15-分钟静脉输注,速度为0.25、0.5、1.0和2.0mg/kg/分钟;相同的方案用于接受异丙酚推注的犬,除了以相同速度和时间输注异丙酚。连续监测MAP,在任何时间如果MAP降低到50mmHg以下或者如果心率增加到200跳/分钟以上,则终止给药。一只犬在1.0mg/kg/分钟化合物1输注期间结束时,其它两只犬在2.0mg/kg/分钟化合物1输注期间停止给药。每次15-分钟输注结束时,记录EEG、血液动力学、ECG和血气测量值,抽取血液样品作PK分析,产生压力容量环并记录数据。给药后,让犬恢复。当临床观察的主观解读表明从全身麻醉中充分恢复时,停止通气并作气管插管。标出气管插管的时间。最后输注结束后30分钟时,记录EEG、血液动力学、ECG和血气测量值,抽取血液样品作PK分析,产生压力容量环并记录数据。采用液相层析(LC)和串联质谱(MS/MS)(在阿特拉斯分析公司(Alturas Analytics)进行)测定犬血浆中化合物1和异丙酚的浓度,估计5种代谢物(1种氧化的、3种葡萄糖醛酸苷偶联的和1种硫酸根偶联的)的浓度。

[0192] 结果表明动脉血气和临床化学数据稳定。EEG分析显示剂量-相关的镇静-催眠

作用并且没有癫痫或前癫痫活性的证据。所有犬以相似速度从全身麻醉中恢复而无论它们是否给予了化合物 1 或异丙酚。检测血浆中 1- 位置和 4- 位置的化合物 1 和葡萄糖醛酸苷代谢物。血浆浓度与药物给予方案一致。

[0193] 在该模型中,在治疗相关剂量下,EEG 结果显示与异丙酚相比,化合物 1 的麻醉强度效力更大。化合物 1 和异丙酚的 MAP 和心率之间没有统计学显著的差异。异丙酚治疗的犬中心输出量明显从基线降低;相反,化合物 1- 治疗的犬显示心输出量没有统计学显著的降低。

[0194] 实施例 13. 猪中的麻醉和血液动力学效应

[0195] 在麻醉通气的猪中比较化合物 1 和异丙酚的麻醉和血液动力学效应,所述猪静脉输注了如实施例 5 所述制备并根据实施例 4 配制的 1% 化合物 1 制剂或 DIPRIVAN (1% 异丙酚可注射乳剂)。评估包括采用 BIS 的麻醉深度 EEG 测量值、药代动力学、血压、ECG、心率、心输出量、体温和氧饱和度。

[0196] 对两种性别商品化农场喂养的猪(平均重 33.6kg)进行实验。用异氟烷诱导麻醉。从耳静脉获得血管内入口。给每只猪插管并作机械通气。利用安置在舌头上的连续脉冲量氧计(continuous pulse oximetry)监测组织氧合作用。利用检测氧、二氧化碳和强效吸入剂浓度的吸入/呼出气体分析仪监测通气。视需要调节通气装置以维持稳态。

[0197] 用异氟烷和输注双哌雄双酯(10mg/小时)实现连续水平的麻醉。整个研究期间监测 ECG。经插管的左股动脉监测动脉血压。每 5 秒收集 MAP、收缩动脉压和舒张动脉压及心率。用肺动脉导管插入颈内静脉以便通过热稀释法估计心输出量和血液温度。体温维持于 37°C。在额-枕区域上利用粘合剂电极阵列(美国马萨诸塞州诺伍德的方面医学公司(Aspect Medical, Norwood, MA, USA))进行 EEG 的仪器监测。

[0198] 实验设计包括 30 分钟稳定期,然后静脉输注化合物 1 (0.384mg/kg/分钟 x20 分钟)或异丙酚(0.750mg/kg/分钟 x10 分钟)。每次输注后有 180 分钟的清除期。在输注前,输注化合物 1 或异丙酚期间每 2 分钟和在清除期以频繁间隔获取血液动力学测量值和用于药代动力学分析的血液样品。之前测定了化合物 1 和异丙酚的输注时间和速度以产生输注期间 BIS 的最大降低(< 10)。在化合物 1 或异丙酚输注前、输注期间和输注后每小时基线检测用于测定 pH、pO₂、pCO₂、葡萄糖、钾和乳酸盐(lactate)的动脉血液样品。

[0199] 采用不成对双截尾斯氏 t 检验(unpaired two-tailed Student t test)比较多几个时间点的各组的代谢和血液动力学参数。为说明多重比较并维持 I 型误差的概率低于 0.05,小于 0.025 的 P 值认为是显著的。

[0200] A. 麻醉作用

[0201] 静脉输注 14.7 ± 3.8 分钟 $384 \mu\text{g/kg/分钟}$ 化合物 1 和 9.4 ± 1.9 分钟 $750 \mu\text{g/kg/分钟}$ 异丙酚分别产生 BIS 的最大抑制(< 10)。对 EEG 的作用可逆转并在 60 分钟内回复至基线。达到最大药效学作用(E_{max})所需的化合物 1 的曲线下面积(AUC)明显小于异丙酚的(分别为 51.5 ± 15.5 与 $108.7 \pm 24.3 \mu\text{g-分钟/mL}$)。总之,数据表明化合物 1 比异丙酚更强效。

[0202] B. 血液动力学效应

[0203] 以一定间隔检测化合物 1 (0.384mg/kg/分钟,5 只猪)和异丙酚(0.750mg/kg/分钟,6 只猪)的静脉输注和清除期间的平均动脉压和心率。结果分别示于图 1 和 2。图 3 比

较了化合物 1 与异丙酚产生的心输出量。获取输注化合物 1 的猪的动脉血气样品,并分析血气和血清化学值;表 4 报道了平均值。

[0204] 表 4. 动脉血气和血清化学平均值

[0205]

分钟	pH	pCO ₂	pO ₂	ABEc	钾	葡萄糖	乳酸盐
0	7.4861	38.8	390	5.6	3.80	99.6	1.43
4	7.5027	37.2	410	5.8	3.71	102.9	1.24
20	7.5066	36.8	419	5.7	3.84	102.0	1.20
80	7.4943	37.5	402	5.4	4.00	99.7	1.01
140	7.4803	37.2	399	4.1	4.10	100.7	0.95
200	7.4641	37.6	356	3.2	4.06	102.4	0.96

[0206] ABEc 指酸碱过量,校正的。

[0207] 基线 MAP 和 HR 值在化合物 1 和异丙酚之间没有差异。两种化合物均降低 MAP,但异丙酚导致 MAP 降低 (66 ± 4) 明显高于化合物 1 导致的 (106 ± 3) ($p < 0.001$)。用异丙酚检测的最低 HR (88 ± 6 bpm) 明显低于用化合物 1 时检测的最低 HR (129 ± 6 bpm) ($p < 0.5$)。停止输注化合物 1 或异丙酚后 MAP 和 HR 均回复至基线。与异丙酚相比,化合物 1 导致的心输出量降低没有显著差别。

[0208] 表 4 表明所有的动脉血气或血清化学值均在正常限度范围内:化合物 1 未产生任何显著的代谢改变,例如代谢性酸中毒或乳酸盐增加。

[0209] 实施例 14. 止吐活性

[0210] 用雪貂测试化合物 1 与异丙酚相比的止吐潜力。

[0211] 将在颈静脉中装有血管通路端口的重 1.0–1.5kg 的雄性谱系雪貂饲养在 12/12- 小时白昼 / 黑夜周期,温度受控的环境中,随意进食和饮水。在每一研究日,给药前 1 小时给予雪貂食物。给药后立即撤去食物和水。通过静脉 (IV) 输注给予雪貂如实施例 5 所述制备并按照实施例 4 配制的 1% 化合物 1 制剂或 DIPRIVAN;参见,例如 Wynn RL 等, 1993, Eur J Pharmacol 241, 42 (雪貂中的 DIPRIVAN 给药) (re DIPRIVAN administration in ferrets)。给予化合物 1 或 DIPRIVAN 后,将动物置于清洁、透明的笼子中 (有盖) 并且不使其受限制,由不知所给予具体治疗的观察者观察 45 分钟。

[0212] 雪貂呕吐的特征在于有节奏的腹部收缩伴有口腔排来自胃肠道的固体或液体物质 (即,呕吐) 或伴有不包括吐出物质的运动 (即,恶心)。当恶心和 / 或呕吐之间的间隔超过 5 秒,认为恶心和 / 或呕吐事件是不同的事件。

[0213] 如下所示,在每种药物 6 只雪貂中研究化合物 1 或异丙酚的催吐活性 (pro-emetic activity):通过吸入异氟烷麻醉雪貂。通过静脉输注 15 分钟 (1mg/kg/ 分钟) 给予化合物

1 或异丙酚。输注终止后,连续观察雪貂 45 分钟,计数呕吐和恶心的次数。

[0214] 如下所示,在每种药物 6 只雪貂中研究化合物 1 或异丙酚的止吐活性:用异氟烷麻醉雪貂,通过 15 分钟的静脉输注给予化合物 1 或异丙酚。输注终止后,皮下给予 0.5mg/kg 硫酸吗啉,如上所述监测雪貂 45 分钟。另外 6 只雪貂只皮下给予 0.5mg/kg 硫酸吗啉。

[0215] 单用硫酸吗啉 (0.5mg/kg) 在雪貂中是催吐的,产生 15 次呕吐和 157 次恶心。单独或在有吗啉存在下给予时,化合物 1 不产生任何呕吐或恶心事件。接受异丙酚和硫酸吗啉的雪貂显示 3 次呕吐和 47 次恶心。因此,聚集物 1 和异丙酚均降低了有吗啉存在下的呕吐和恶心发生率。

[0216] 如同单独通过引用纳入一样,所有出版物、专利和专利文件均通过引用纳入本文。参考各种具体和优选的实施方式及技术描述了本发明。然而,应该知道可作出许多改变和改进而仍维持在本发明的构思和范围内。

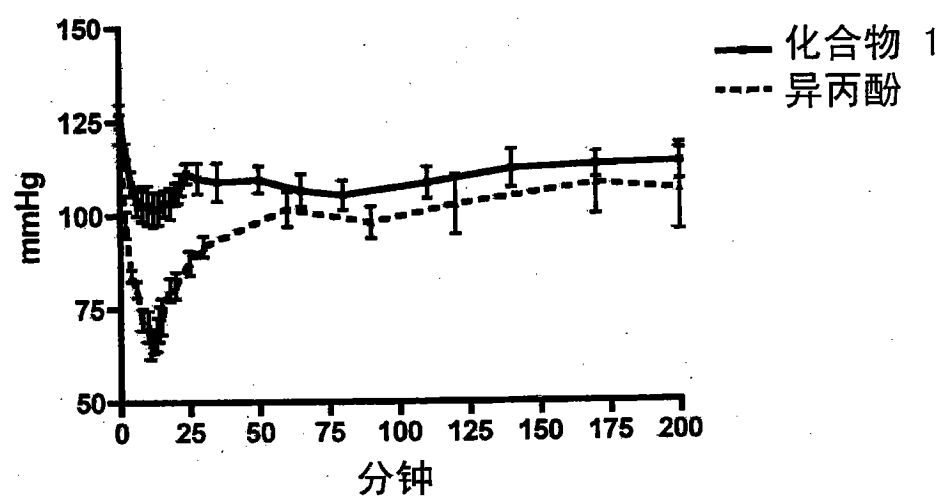


图 1

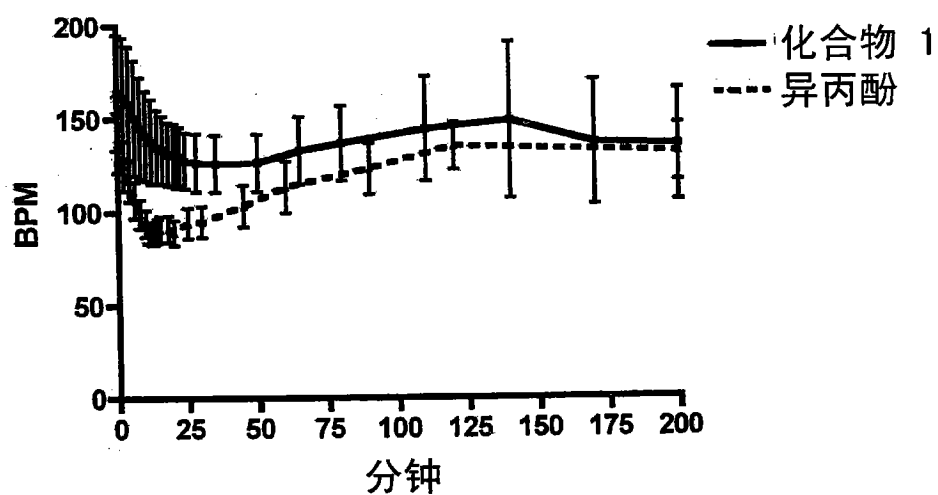


图 2

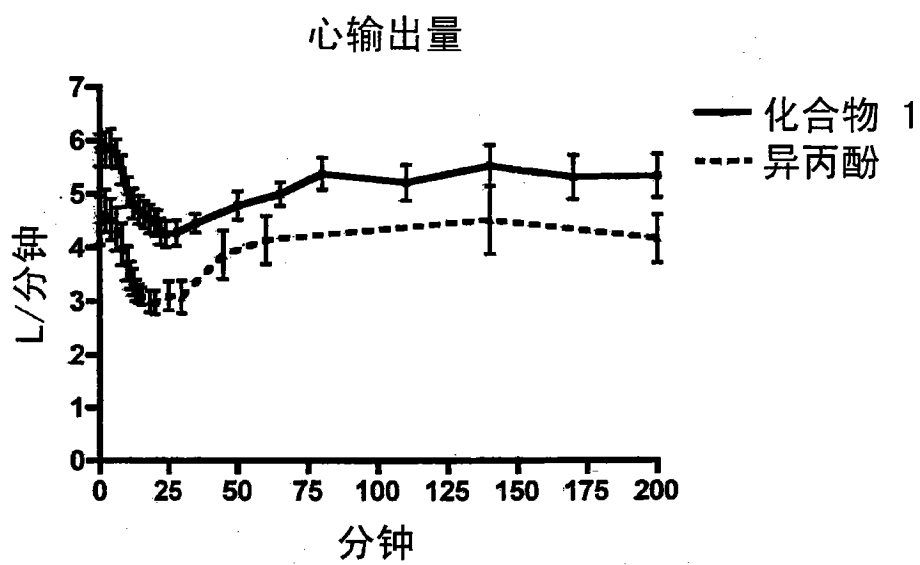


图 3