



**(19) 대한민국특허청(KR)**  
**(12) 등록특허공보(B1)**

(45) 공고일자 2016년09월28일  
 (11) 등록번호 10-1660996  
 (24) 등록일자 2016년09월22일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
*A61K 47/48* (2006.01) *A61K 47/30* (2006.01)
- (21) 출원번호 10-2011-7004392
- (22) 출원일자(국제) 2009년09월16일  
 심사청구일자 2014년09월05일
- (85) 번역문제출일자 2011년02월25일
- (65) 공개번호 10-2011-0058783
- (43) 공개일자 2011년06월01일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2009/005174
- (87) 국제공개번호 WO 2010/033195  
 국제공개일자 2010년03월25일
- (30) 우선권주장  
 12/558,395 2009년09월11일 미국(US)  
 61/192,247 2008년09월16일 미국(US)
- (56) 선행기술조사문헌  
 EP1782834 A2  
 WO2003032990 A2  
 WO2005058367 A2  
 WO2000009073 A2

- (73) 특허권자  
**넥타르 테라퓨틱스**  
 미국 94158 캘리포니아주 샌프란시스코 사우스 미  
 션 베이 블러바드 455 스위트 100
- (72) 발명자  
**जूड-피쉬번 씨 사이먼**  
 미국 94062 캘리포니아주 레드우드 시티 엘우드  
 스트리트 186  
**라일리 티모시 에이**  
 미국 35824 앨라배마주 헨츠빌 모닝워크 레인 211  
 (뒷면에 계속)
- (74) 대리인  
**특허법인코리아나**

전체 청구항 수 : 총 12 항

심사관 : 이재정

(54) 발명의 명칭 **남용에 대한 낮은 잠재성을 갖는 폐길화 오피오이드**

**(57) 요약**

본 발명은 물질 남용에 대한 감소된 잠재성을 갖는 수용성 올리고머에 공유 결합된 오피오이드 작용제 및 그의 용도를 제공한다. 본 발명의 화합물은 오피오이드 작용제 단독에 대하여 변경된 약동학 프로파일을 갖지만, 소정의 대체 전달 제형과 관련된 오피오이드 작용제의 회복 및 남용을 가능하게 하는 신체적 탬퍼링(physical tampering)의 위험에 처해지지 않는다.

(72) 발명자

**자카리아스 알베르토**

미국 94619 캘리포니아주 오클랜드 킴벌린 하이츠  
드라이브 95

**구르사하니 헤마**

미국 94404 캘리포니아주 포스터 시티 크리소폴리스  
스 드라이브 833

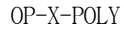
---

**명세서**

**청구범위**

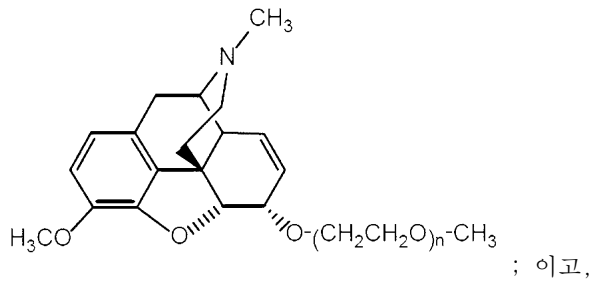
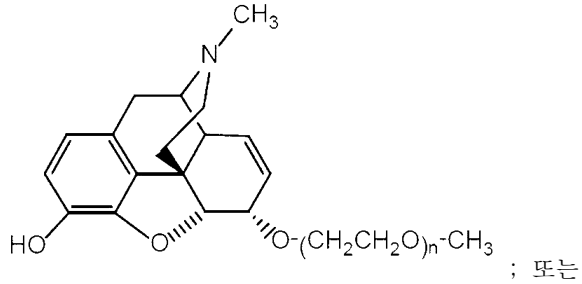
**청구항 1**

하기 화학식의 화합물로서:



[여기서, OP는 오피오이드 화합물이고, X는 링커(linker)이며, POLY는 작은 수용성 올리고머임],

하기의 화학식을 갖는 화합물:



n 은 1 내지 9 의 정수임.

**청구항 2**

제 1 항에 있어서, n 이 1 인 화합물.

**청구항 3**

제 1 항에 있어서, n 이 2 인 화합물.

**청구항 4**

제 1 항에 있어서, n 이 3 인 화합물.

**청구항 5**

제 1 항에 있어서, n 이 4 인 화합물.

**청구항 6**

제 1 항에 있어서, n 이 5 인 화합물.

**청구항 7**

제 1 항에 있어서, n 이 6 인 화합물.

**청구항 8**

제 1 항에 있어서, n 이 7 인 화합물.

**청구항 9**

제 1 항에 있어서,  $n$  이 8 인 화합물.

**청구항 10**

제 1 항에 있어서,  $n$  이 9 인 화합물.

**청구항 11**

삭제

**청구항 12**

삭제

**청구항 13**

삭제

**청구항 14**

삭제

**청구항 15**

삭제

**청구항 16**

삭제

**청구항 17**

삭제

**청구항 18**

삭제

**청구항 19**

삭제

**청구항 20**

삭제

**청구항 21**

삭제

**청구항 22**

삭제

**청구항 23**

삭제

**청구항 24**

삭제

**청구항 25**

삭제

**청구항 26**

삭제

**청구항 27**

제 1 항 내지 제 10 항 중 어느 한 항의 화합물 및 약제학적으로 허용되는 부형제 또는 담체를 포함하는, 통증의 감소 또는 예방용 조성물.

**청구항 28**

오피오이드 치료를 필요로 하는 환자를 치료하기 위한 제 1 항 내지 제 10 항 중 어느 한 항의 화합물의 유효량을 포함하는, 통증의 감소 또는 예방용 조성물.

**청구항 29**

삭제

**청구항 30**

삭제

**청구항 31**

삭제

**청구항 32**

삭제

**청구항 33**

삭제

**청구항 34**

삭제

**청구항 35**

삭제

**발명의 설명**

**기술 분야**

[0001] 관련 출원과의 상호 참조

[0002] 본 출원은 2008년 9월 16일자로 출원된 미국 가특허 출원 제61/192,247호 및 2009년 9월 11일자로 출원된 미국 특허 출원 제12/558,395호에 대한 우선권을 주장하며, 이들의 개시 내용은 본 명세서에 전체적으로 참조로 포함된다.

[0003] 기술분야

[0004] 특히, 본 발명은 수용성 올리고머에 공유 결합되는 오피오이드 작용제(즉, 오피오이드 작용제 올리고머 접합체)로서, 상기 접합체가 다른 특징 및 이점 중에서도 특히, 물질 남용에 대한 감소된 잠재성을 갖는 오피오이드 작용제 및 그의 관련 용도에 관한 것이다.

**배경 기술**

- [0005] 오피오이드 작용제, 예를 들어 모르핀은 통증으로 고생하는 환자들을 치료하는 데 오랫동안 사용되어 왔다. 오피오이드 작용제는 오피오이드 수용체와의 상호작용을 통하여 그들의 진통 효과 및 다른 약리학적 효과를 발휘하는데, 이러한 오피오이드 수용체에는 3가지 주요 부류가 있다: 뮤( $\mu$ ) 수용체, 카파( $\kappa$ ) 수용체, 및 델타( $\delta$ ) 수용체. 임상적으로 사용되는 오피오이드 작용제의 다수는 뮤 수용체에 대해 비교적 선택적이지만, 오피오이드 작용제는 전형적으로 (특히 증가된 농도에서) 다른 오피오이드 수용체에서 작용제 활성을 갖는다.
- [0006] 오피오이드는 신경전달물질, 예를 들어 아세틸콜린, 노르에피네프린, 도파민, 세로토닌, 및 물질 P의 방출을 선택적으로 억제함으로써 그 효과를 적어도 일부 발휘한다.
- [0007] 약리학적으로, 오피오이드 작용제는 통증의 관리에 사용되는 작용제들의 중요한 부류를 나타낸다. 그러나, 현재 진통에 사용되는 오피오이드 작용제는 상당한 중독 특성을 함유하는데, 이러한 중독 특성은 치료 행위에서의 그들의 사용을 복잡하게 만들고 제한시킨다. 오피오이드 남용으로부터 야기되는 의학적, 사회적 및 재정적 문제는 의사들이 만성 통증에 사용하기 위하여 오피오이드를 처방하는 권한에 대하여 심각한 제약을 부과한다.
- [0008] 전형적인 오피오이드는 혈액-뇌-장벽(blood-brain-barrier, BBB)을 빠르게 통과하며, 오피오이드 남용자에 의해 경험되는 “황홀경(highs)” 과 관련된 피크 농도에 빠르게 도달한다. 증거는 오피오이드를 일정한 저농도에서 뇌로 전달하여, 오피오이드 작용제의 중독 잠재성의 기저가 되는 전통적인 전달 방식의 농도의 피크를 피하게 될 변경된 약동학 프로파일을 통하여 감소된 중독 특성이 달성될 수 있음을 나타낸다. 문헌[Balster and Schuster, *J Exp Anal Behav* 20:119-129 (1973)]; 문헌[Panlilio and Schindler, *Psychopharmacology* 150:61-66 (2000)]; 문헌[Winger et al., *J Pharmacol Exp Ther* 301:690-697 (2002)]; 문헌[Ko et al., *J Pharmacol Exp Ther* 301:698-704]; 문헌[Abreu et al., *Psychopharmacologia* 154:76-84 (2001)]. 이에 관하여 개발 노력은 경구 투여되는 지연 방출 정제 및 경피 패치와 같은 대체 전달 전략에 주로 초점을 맞춰 왔다. 이들은 일정한 저농도의 약물을 순환에 공급하려는 것을 도모하지만, 그들이 으스스하거나 잘게 잘려짐으로써 물리적으로 붕괴되어, 약물에 접근될 수 있게 하고, 이어서 순환 내로 직접 주입되어 중독 행위에 요구되는 약동학 프로파일을 제공할 수 있다는 사실에 의해 복잡해진다.
- [0009] 따라서, 진통에 사용되는 현재 입수가 가능한 오피오이드에 비하여 낮은 중독 특성과 이에 수반되는 낮은 남용 잠재성을 갖는 오피오이드 작용제에 대한 필요성이 당업계에 존재한다. 특히, 오피오이드 작용제에 대하여, 그 분자 자체를 변경시키고 약물의 직접 주입이 중독 “황홀감(rush)” 의 기저가 되는 즉각적인 중추 신경계 침투를 제공하지 않도록 혈액-뇌-장벽의 침투를 느리게 하는 개질에 대한 필요성이 존재한다. 본 발명은 진통 특성은 유지하지만 물질 남용에 대한 감소된 잠재성을 갖는, 수용성 올리고머에 공유 결합된 오피오이드 작용제를 제공함으로써 이러한 필요성 및 다른 필요성에 대처하고자 한다.

**발명의 내용**

**과제의 해결 수단**

- [0010] 따라서, 일 태양으로, 본 명세서에서는 화학식 OP-X-POLY의 화합물이 제공되며, 여기서 OP는 오피오이드 화합물이고, X는 링커(linker)이며, POLY는 작은 수용성 올리고머이다.
- [0011] 관련 실시 형태에서, 화학식 OP-X-POLY의 화합물(여기서, OP, X 및 POLY는 상기에 정의된 바와 같음) 및 약제학적으로 허용되는 부형제 또는 담체를 포함하는 조성물이 제공된다.
- [0012] 다른 태양에서, 화학식 OP-X-POLY의 화합물의 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 오피오이드 치료를 필요로 하는 환자를 치료하는 방법이 제공된다.
- [0013] 또 다른 태양에서, 오피오이드 화합물을 작은 수용성 올리고머에 접합시키는 것을 포함하는, 오피오이드 화합물의 남용 잠재성을 감소시키는 방법이 제공된다.
- [0014] 추가의 태양에서, 오피오이드 작용제를 작은 수용성 올리고머에 접합시키는 것을 포함하는, 오피오이드 작용제의 중독 특성을 감소시키는 방법이 제공된다.

- [0015] 다른 태양에서, 오피오이드 화합물을 작은 수용성 올리고머에 접합시키는 것을 포함하는, 오피오이드 화합물의 혈액-뇌 장벽 횡단 속도를 감소시키지만 사실상 없애지는 않는 방법이 제공된다.
- [0016] 또 다른 태양에서, 방출가능한 수용성 올리고머 부분에 공유 결합을 통하여 가역적으로 부착된 뮤, 카파, 또는 델타 오피오이드 작용제를 포함하는 전구약물로서, 환자에게 투여되는 주어진 물량의 전구약물이 포유류의 중추 신경계에서의 뮤, 카파, 또는 델타 오피오이드 작용제의 축적 속도 및 C<sub>max</sub>가, 뮤, 카파, 또는 델타 오피오이드 작용제가 전구약물의 일부로서 투여되지 않은 등물량의 뮤, 카파, 또는 델타 오피오이드 작용제의 축적 속도 및 C<sub>max</sub> 미만을 나타내는 전구약물이 제공된다.
- [0017] 본 발명의 이들 및 다른 목적, 태양, 실시 형태 및 특징이 하기의 상세한 설명과 함께 이해될 때 보다 충분히 명백해질 것이다.

**도면의 간단한 설명**

- [0018] 도 1은 실시예 8에 보다 상세히 설명된, 다양한 PEG<sub>oligo</sub>-날부핀 접합체들의 뇌:혈장 비를 나타낸 그래프이다. 이 도표는 PEG 접합체가 날부핀의 뇌:혈장 비를 감소시킨다는 것을 입증한다.
- 도 2는 실시예 13에서 상세히 설명된, 마우스에서 내장 통증의 감소 또는 예방의 정도를 평가하기 위한 진통 검사(analgesic assay)에서 투여되는 mPEG<sub>n</sub>-O-모르핀 접합체의 용량 대비 연구 집단 내의 마우스의 총 마리수 n당 % 통감(percent writhing)을 나타낸 그래프이다. 모르핀이 대조로서 사용되었으며; 비접합된 부모 분자, 모르핀 설페이트를 또한 투여하여 추가적인 기준점을 제공하였다. 다음의 접합체 시리즈: mPEG<sub>2-7,9</sub>-O-모르핀에 속하는 접합체들을 평가하였다.
- 도 3은 실시예 13에서 상세히 설명된, 마우스에서 내장 통증의 감소 또는 예방의 정도를 평가하기 위한 진통 검사에서 투여되는 mPEG<sub>n</sub>-O-하이드록시코돈 접합체의 용량 대비 연구 집단 내의 마우스의 총 마리수 n당 % 통감을 나타내는 그래프이다. 모르핀이 대조로서 사용되었으며; 비접합된 부모 분자, 옥시코돈을 또한 투여하여 추가적인 기준점을 제공하였다. 다음의 접합체 시리즈: mPEG<sub>1-4, 6, 7, 9</sub>-O-하이드록시코돈에 속하는 접합체들을 평가하였다.
- 도 4는 실시예 13에서 상세히 설명된, 마우스에서 내장 통증의 감소 또는 예방의 정도를 평가하기 위한 진통 검사에서 투여되는 mPEG<sub>n</sub>-O-코데인 접합체의 용량 대비 연구 집단 내의 마우스의 총 마리수 n당 % 통감을 나타내는 그래프이다. 모르핀이 대조로서 사용되었으며; 비접합된 부모 분자, 코데인을 또한 투여하여 추가적인 기준점을 제공하였다. 다음의 접합체 시리즈: mPEG<sub>3-7, 9</sub>-O-코데인에 속하는 접합체들을 평가하였다.
- 도 5 내지 도 7은 실시예 14에 상세히 설명된, 마우스에서의 핫 플레이트 잠시 진통 검사(hot plate latency analgesic assay)의 결과를 나타낸 도표이다. 구체적으로, 이들 도면은 화합물의 용량 대비 잠시(뒷발을 핥기까지의 시간)(단위 초)를 나타내는 그래프에 상응한다. 도 5는 mPEG<sub>1-5</sub>-O-하이드록시코돈 접합체뿐만 아니라 비접합된 부모 분자에 대한 결과를 제공하고; 도 6은 mPEG<sub>1-5</sub>-O-모르핀 접합체뿐만 아니라 비접합된 부모 분자에 대한 결과를 제공하며; 도 7은 mPEG<sub>2-5, 9</sub>-O-코데인 접합체뿐만 아니라 부모 분자에 대한 결과를 제공한다. 데이터 포인트에 의한 별표(\*)의 존재는 ANOVA/Dunnett's에 의해 식염수 대비 p < 0.05임을 나타낸다.
- 도 8은 실시예 16에 설명된, 화합물들, 즉 옥시코돈(mPEG<sub>0</sub>-옥시코돈), mPEG<sub>1</sub>-O-하이드록시코돈, mPEG<sub>2</sub>-O-하이드록시코돈, mPEG<sub>3</sub>-O-하이드록시코돈, mPEG<sub>4</sub>-O-하이드록시코돈, mPEG<sub>5</sub>-O-하이드록시코돈, mPEG<sub>6</sub>-O-하이드록시코돈, mPEG<sub>7</sub>-O-하이드록시코돈, 및 mPEG<sub>9</sub>-O-하이드록시코돈을 래트에 1.0mg/kg 정맥내 투여한 후의 이들 화합물에 대한 평균(+SD) 혈장 농도-시간 프로파일을 나타낸다.
- 도 9는 실시예 16에 설명된, 화합물들, 즉 옥시코돈(mPEG<sub>0</sub>-옥시코돈), mPEG<sub>1</sub>-O-하이드록시코돈, mPEG<sub>2</sub>-O-하이드록시코돈, mPEG<sub>3</sub>-O-하이드록시코돈, mPEG<sub>4</sub>-O-하이드록시코돈, mPEG<sub>5</sub>-O-하이드록시코돈, mPEG<sub>6</sub>-O-하이드록시코돈, mPEG<sub>7</sub>-O-하이드록시코돈, 및 mPEG<sub>9</sub>-O-하이드록시코돈을 래트에 5.0mg/kg 경구 투여한 후의 이들 화합물에 대한 평균(+SD) 혈장 농도-시간 프로파일을 나타낸다.

도 10은 실시예 17에 상세히 설명된, 화합물들, 즉 모르핀(mPEG<sub>0</sub>-모르핀), 및 mPEG<sub>1-7, 9-0</sub>-모르핀 접합체를 래트에 1.0mg/kg 정맥내 투여한 후의 이들 화합물에 대한 평균(+SD) 혈장 농도-시간 프로파일을 나타낸다.

도 11은 실시예 17에 설명된, 화합물들, 즉 모르핀(mPEG<sub>0</sub>-모르핀), 및 mPEG<sub>1-7, 9-0</sub>-모르핀 접합체를 래트에 5.0mg/kg 경구 투여한 후의 이들 화합물에 대한 평균(+SD) 혈장 농도-시간 프로파일을 나타낸다.

도 12는 실시예 18에 상세히 설명된, 화합물들, 즉 코데인(mPEG<sub>0</sub>-코데인), 및 mPEG<sub>1-7, 9-0</sub>-코데인 접합체를 래트에 1.0mg/kg 정맥내 투여한 후의 이들 화합물에 대한 평균(+SD) 혈장 농도-시간 프로파일을 나타낸다.

도 13은 실시예 18에 설명된, 화합물들, 즉 코데인(mPEG<sub>0</sub>-코데인), 및 mPEG<sub>1-7, 9-0</sub>-코데인 접합체를 래트에 5.0mg/kg 경구 투여한 후의 이들 화합물에 대한 평균(+SD) 혈장 농도-시간 프로파일을 나타낸다.

도 14a, 도 14b 및 도 14c는 실시예 21에 설명된, 다양한 올리고머 mPEG<sub>n</sub>-O-모르핀 접합체, 올리고머 mPEG<sub>n</sub>-O-코데인 접합체 및 올리고머 mPEG<sub>n</sub>-O-하이드록시코돈 접합체를 래트에 IV 투여한 후의 이들의 뇌:혈장 비를 개별적으로 나타낸다. 각각의 도면에서 비교를 위한 기초로서 아테놀롤의 뇌:혈장 비가 제공된다.

도 15a 내지 도 15h는 실시예 22에 설명된, 모르핀 및 다양한 mPEG<sub>n</sub>-O-모르핀 접합체들을 래트에 IV 투여한 후의 시간 경과에 따른 이들의 뇌 농도 및 혈장 농도를 나타낸다. 도 15a(모르핀, n=0); 도 15b(n=1); 도 15c(n=2); 도 15d(n=3); 도 15e(n=4); 도 15f(n=5); 도 15g(n=6); 도 15h(n=7).

도 16a 내지 도 16h는 실시예 22에 설명된, 코데인 및 다양한 mPEG<sub>n</sub>-O-코데인 접합체들을 래트에 IV 투여한 후의 시간 경과에 따른 이들의 뇌 농도 및 혈장 농도를 나타낸다. 도 16a(코데인, n=0); 도 16b(n=1); 도 16c(n=2); 도 16d(n=3); 도 16e(n=4); 도 16f(n=5); 도 16g(n=6); 도 16h(n=7).

도 17a 내지 도 17h는 실시예 22에 설명된, 옥시코돈 및 다양한 mPEG<sub>n</sub>-O-하이드록시코돈 접합체들을 래트에 IV 투여한 후의 시간 경과에 따른 이들의 뇌 농도 및 혈장 농도를 나타낸다. 도 17a(옥시코돈, n=0); 도 17b(n=1); 도 17c(n=2); 도 17d(n=3); 도 17e(n=4); 도 17f(n=5); 도 17g(n=6); 도 17h(n=7).

도 18a 내지 도 18c는 실시예 3에 상세히 설명된, 대조 화합물들, 즉 안티피린 및 비접합된 오피오이드와 비교하여 소정의 예시적인 PEG<sub>olig</sub>-오피오이드 접합체의 뇌 침투 속도(Kin 값)를 나타낸다. 구체적으로, 도 18a는 대조 화합물들, 모르핀 및 안티피린과 비교하여 mPEG<sub>n</sub>-O-모르핀 접합체(여기서, n= 1, 2, 3, 및 7)에 대한 결과를 나타낸다. 도 18b는 대조 화합물들, 즉 코데인 및 안티피린과 비교하여 mPEG<sub>n</sub>-O-코데인 접합체(여기서, n= 2, 3, 및 7)에 대한 결과를 나타낸다. 도 18c는 대조 화합물들, 즉 옥시코돈 및 안티피린과 비교하여 mPEG<sub>n</sub>-O-하이드록시코돈 접합체(여기서, n= 1, 2, 3, 및 7)에 대한 결과를 나타낸다.

도 19는 실시예 3에 상세히 설명된, mPEG<sub>n</sub>-O-모르핀 접합체, mPEG<sub>n</sub>-O-코데인 접합체, 및 mPEG<sub>n</sub>-O-하이드록시코돈 접합체에 대하여 PEG 올리고머 크기 대비 뇌 침투 속도 Kin을 나타내는 그래프를 제공한다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0019] 정의
- [0020] 본 명세서에 사용될 때, 단수형("a", "an" 및 "the")은 그 내용이 명백히 달리 지시하지 않는 한 복수 지시 대상을 포함한다.
- [0021] 본 발명을 설명하고 청구함에 있어서, 하기의 용어가 후술되는 정의에 따라 사용될 것이다.
- [0022] 용어 “오피오이드 화합물” 및 “오피오이드 작용제”는 본 명세서에서 전형적으로 분자량이 약 1000달톤 미만 (및 전형적으로 500달톤 미만)이고, 뮤, 델타 및/또는 카파 작용제로서 어느 정도의 활성을 갖는 유기, 무기, 또는 유기금속 화합물을 지칭하는 데 널리 사용된다. 오피오이드 작용제는 분자량이 약 1500 미만인 올리고펩티드 및 다른 생체분자들을 포함한다.
- [0023] 용어 “스페이서 부분”, “결합(linkage)” 및 “링커”는 본 명세서에서 오피오이드 화합물 또는 오피오이드 화합물의 친전자성 물질 또는 친핵성 물질 및 중합체 단편의 말단과 같은 상호접속 부분들을 연결하는 데 선택적으로 사용되는 원자 또는 원자들의 집합체를 지칭하는 데 사용된다. 스페이서 부분은 가수분해적으로 안정할

수도 있거나, 생리학적으로 가수분해가능한 결합 또는 효소적으로 분해가능한 결합을 포함할 수도 있다. 그 내용이 명백히 달리 지시하지 않는 한, 스페이서 부분은 선택적으로 화합물(예를 들어, 오피오이드 화합물 및 스페이서 부분을 통하여 직접적으로 또는 간접적으로 부착될 수 있는 수용성 올리고머를 포함하는 제곱되는 접합체)의 임의의 두 원소들 사이에 존재한다.

[0024] "수용성 올리고머"는 실온의 물에서 적어도 35%(중량 기준)의 용해성, 바람직하게는 70%(중량 기준) 초과, 그리고 더 바람직하게는 95%(중량 기준) 초과 용해성을 나타내는 비펩티드성 올리고머를 나타낸다. 전형적으로, "수용성" 올리고머의 여과되지 않은 수성 제제는 여과 후 동일한 용액에 의해 전달된 광의 양의 적어도 75%, 더 바람직하게는 적어도 95%를 전달한다. 그러나, 수용성 올리고머는 물에서 적어도 95%(중량 기준)의 용해성을 나타내거나 또는 물에 완전히 용해되는 것이 가장 바람직하다. "비펩티드성"인 것에 관해서, 올리고머는 35%(중량 기준) 미만의 아미노산 잔기를 가질 때 비펩티드성이다.

[0025] 용어 "단량체", "단량체 하위단위(monomeric subunit)" 및 "단량체 단위(monomeric unit)"는 본 명세서에서 상호교환적으로 사용되며, 중합체 또는 올리고머의 기본 구조 단위 중 하나를 지칭한다. 단일 올리고머(homooligomer)의 경우, 단일 반복 구조 단위가 올리고머를 형성한다. 공올리고머(co-oligomer)의 경우, 둘 이상의 구조 단위가 (패턴으로 또는 랜덤하게) 반복되어 올리고머를 형성한다. 본 발명에 관련하여 사용되는 바람직한 올리고머는 단일 올리고머이다. 전형적으로, 수용성 올리고머는, 연속적으로 부착되어 단량체 사슬을 형성하는 하나 이상의 단량체를 포함한다. 이러한 올리고머는 단일 단량체 유형으로부터 형성될 수 있거나(즉, 단일 올리고머임), 또는 2가지 또는 3가지의 단량체 유형으로부터 형성될 수 있다(즉, 공올리고머임).

[0026] "올리고머"는 약 2 내지 약 50개의 단량체, 바람직하게는 약 2 내지 약 30개의 단량체를 갖는 분자이다. 올리고머의 구조는 다양할 수 있다. 본 발명에 사용되는 특정 올리고머는 하기에 보다 상세히 설명될, 선형, 분지형, 또는 포크형(forked)과 같은 다양한 기하형상을 갖는 것들을 포함한다.

[0027] 본 명세서에 사용될 때, "PEG" 또는 "폴리에틸렌 글리콜"은 임의의 수용성 폴리(에틸렌 옥사이드)를 포함하는 것으로 의미된다. 달리 지시되지 않는 한, "PEG 올리고머"(올리고에틸렌 글리콜이라고도 불림)는 사실상 모든(그리고 더 바람직하게는 모든) 단량체 하위단위가 에틸렌 옥사이드 하위단위인 것이다. 그러나 이 올리고머는, 예를 들어 접합을 위하여, 구별되는 말단 캐핑 부분(end capping moiety) 또는 작용기를 함유할 수 있다. 전형적으로, 본 발명에 사용되는 PEG 올리고머는 예를 들어 합성 변환 동안 말단 산소(들)가 치환되어 있는지의 여부에 따라 2개의 하기 구조 중 하나를 포함할 것이다:  $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n-$  또는  $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{n-1}\text{CH}_2\text{CH}_2-$ . PEG 올리고머에 있어서, "n" 은 약 2부터 50까지, 바람직하게는 약 2부터 약 30까지 다양하며, 전체 PEG의 말단기 및 구조는 변할 수 있다. PEG가, 예를 들어 오피오이드 화합물에의 결합을 위하여 작용기 A를 추가로 포함할 때, 이러한 작용기는 PEG 올리고머에 공유 부착될 때 (i) 산소-산소 결합(-O-O-, 퍼옥사이드 결합), 또는 (ii) 질소-산소 결합(N-O, O-N)의 형성으로 이어지지 않는다.

[0028] "말단 캐핑 기"는 일반적으로 PEG 올리고머의 말단 산소에 부착되는 비반응성 탄소 함유 기이다. 예시적인 말단 캐핑 기에는 C<sub>1-5</sub> 알킬 기, 예를 들어 메틸, 에틸 및 벤질뿐만 아니라, 아릴, 헤테로아릴, 사이클로, 헤테로 사이클로 등도 포함된다. 본 발명의 목적을 위하여, 바람직한 캐핑 기는 상대적으로 낮은 분자량을 가지며, 예를 들어 메틸 또는 에틸이다. 말단 캐핑 기는 또한 검출가능한 표지(label)를 포함할 수 있다. 그러한 표지에는 제한 없이, 형광제(fluorescer), 화학발광제(chemiluminescer), 효소 표지화에 사용되는 부분, 비색분석 표지(예를 들어, 염료), 금속 이온, 및 방사성 부분 등을 포함한다.

[0029] 올리고머의 기하형상 또는 전체 구조와 관련하여 "분지형"은 분지점(branch point)으로부터 연장되는 구별되는 "팔(arm)"을 나타내는 둘 이상의 중합체를 갖는 올리고머를 지칭한다.

[0030] 올리고머의 기하형상 또는 전체 구조와 관련하여 "포크형"은 분지점으로부터 연장되는 둘 이상의 작용기(전형적으로는 하나 이상의 원자)를 갖는 올리고머를 지칭한다.

[0031] "분지점"은 올리고머가 선형 구조로부터 분지하거나 갈라져(fork) 하나 이상의 추가의 팔로 되는, 하나 이상의 원자를 포함하는 분기점(bifurcation point)을 지칭한다.

[0032] 용어 "반응성" 또는 "활성화된"은 유기 합성의 종래의 조건 하에서 용이하게 또는 현실적인 속도로 반응하는 작용기를 지칭한다. 이는 반응하지 않거나 또는 반응하기 위해서 강한 촉매 또는 비현실적인 반응 조건을 필요로 하는 기(즉, "비반응성" 또는 "불활성" 기)와 대조적이다.

[0033] 반응 혼합물 내의 분자 상에 존재하는 작용기와 관련하여 "용이하게 반응하지 않는"은 반응 혼합물에서 원하는

반응을 생성하기에 효과적인 조건 하에서 그 기가 대체로 온전하게 유지됨을 나타낸다.

- [0034] "보호기"는 소정의 반응 조건 하에서 분자 내의 특정한 화학적으로 반응성인 작용기의 반응을 방지하거나 차단하는 부분이다. 이 보호기는 보호되는 화학적으로 반응성인 기의 유형뿐만 아니라 이용되는 반응 조건 및 분자 내의 추가의 반응성 기 또는 보호기의 존재에 따라서도 달라질 것이다. 보호될 수 있는 작용기는, 예로서, 카르복실산 기, 아미노 기, 하이드록실 기, 티올 기, 카르보닐 기 등을 포함한다. 카르복실산의 대표적인 보호기는 에스테르(예를 들어, *p*-메톡시벤질 에스테르), 아마이드 및 히드라지드를; 아미노 기에 대해서는, 카르바메이트(예를 들어, *tert*-부톡시카르보닐) 및 아마이드를; 하이드록실 기에 대해서는, 에테르 및 에스테르를; 티올 기에 대해서는, 티오에테르 및 티오에스테르를; 카르보닐 기에 대해서는, 아세탈 및 케탈 등을 포함한다. 그러한 보호기는 당업자에게 잘 알려져 있으며, 예를 들어 문헌[T.W. Greene and G.M. Wuts, *Protecting Groups in Organic Synthesis*, Third Edition, Wiley, New York, 1999] 및 거기에 인용된 참조문헌에 기재되어 있다.
- [0035] "보호된 형태"의 작용기는 보호기를 갖는 작용기를 지칭한다. 본 명세서에 사용될 때, 용어 "작용기" 또는 그의 임의의 동의어는 그의 보호된 형태를 포함한다.
- [0036] "생리학적으로 절단가능한" 결합은 가수분해가능한 결합 또는 효소적으로 분해가능한 결합이다. "가수분해가능한" 또는 "분해가능한" 결합은 통상의 생리학적 조건 하에서 물과 반응하는(즉, 가수분해되는) 상대적으로 불안정한 결합이다. 결합이 통상의 생리학적 조건 하에서 물에서 가수분해되려는 경향은 2개의 중심 원자를 연결시키는 결합의 일반적 유형뿐만 아니라 이들 중심 원자에 부착된 치환기에도 좌우될 수 있다. 그러한 결합은 일반적으로 당업자에 의해 인식가능하다. 적절한 가수분해적으로 불안정하거나 약한 결합은 카르복실레이트 에스테르, 포스페이트 에스테르, 무수물, 아세탈, 케탈, 아실옥시알킬 에테르, 이민, 오르토에스테르, 펩티드, 올리고뉴클레오티드, 티오에스테르, 및 카르보네이트를 포함하지만 이로 한정되지 않는다.
- [0037] "효소적으로 분해가능한 결합"은 통상의 생리학적 조건 하에서 하나 이상의 효소에 의해 분해에 처해지게 되는 결합을 의미한다.
- [0038] 예를 들어, 수용성 올리고머에 방출가능하게 부착된 오피오이드 화합물과 관련하여 "방출가능하게 부착된"은 본 명세서에 개시된 생리학적으로 절단가능한 또는 분해가능한(효소적으로를 포함함) 결합을 포함하는 링커를 통하여 공유 부착된 오피오이드 화합물을 지칭하며, 여기서 (예를 들어, 가수분해에 의해) 분해시, 오피오이드 화합물이 방출된다. 이렇게 해서 방출된 오피오이드 화합물은 전형적으로 비개질된 오피오이드 화합물에 상응할 것이며, 또는 이는 약간 변경되어, 예를 들어 약 8개의 원자의 짧은 유기 태그를 가질 수 있는데, 이 유기 태그는 예를 들어 전형적으로 오피오이드 화합물에 곧바로 인접하지 않은 수용성 올리고머 링커의 일부의 절단으로부터 생성된다. 바람직하게는, 비개질된 오피오이드 화합물이 방출된다.
- [0039] "안정한" 결합(linkage 또는 bond)은 통상의 생리학적 조건 하에서 연장된 시간에 걸쳐 임의의 상당한 정도로 물에 사실상 안정한, 즉 가수분해를 겪지 않는 화학 부분 또는 결합, 전형적으로는 공유 결합을 지칭한다. 가수분해적으로 안정한 결합의 예는 탄소-탄소 결합(예를 들어, 지방족 사슬 내의), 에테르, 아마이드, 우레탄, 아민 등을 포함하지만 이로 한정되지 않는다. 일반적으로, 안정한 결합은 통상의 생리학적 조건 하에서 하루당 약 1 내지 2% 미만의 가수분해 속도를 나타내는 것이다. 대표적인 화학 결합의 가수분해 속도는 대부분의 표준 화학 교재에서 찾아볼 수 있다.
- [0040] 주어진 조성물 내의 올리고머의 컨시스턴시에 대한 설명과 관련하여, "사실상" 또는 "본질적으로"는 거의 전적으로 또는 완전히, 예를 들어 어떤 주어진 양의 95% 이상, 더 바람직하게는 97% 이상, 훨씬 더 바람직하게는 98% 이상, 더욱 더 바람직하게는 99% 이상, 더 훨씬 더 바람직하게는 99.9% 이상을 의미하며, 99.99% 이상이 가장 바람직하다.
- [0041] "단분산"은 조성물 내의 올리고머의 사실상 전부가 크로마토그래피 또는 질량 분석법에 의해 측정될 때, 명확한 단일 분자량 및 규정된 수의 단량체를 갖는 올리고머 조성물을 지칭한다. 단분산 올리고머 조성물은 어떤 의미에서 순수한데, 즉, 몇몇 상이한 수의 단량체들(즉, 셋 이상의 상이한 올리고머 크기를 갖는 올리고머 조성물) 보다는 단 하나의 규정가능한 수의 단량체를 갖는 분자를 사실상 포함한다. 단분산 올리고머 조성물은 MW/Mn 값이 1.0005 이하, 그리고 더 바람직하게는, MW/Mn 값이 1.0000이다. 더 나아가, 단분산 접합체로 구성된 조성물은 조성물 내의 모든 접합체의 사실상 모든 올리고머가 분포라기보다는 (정수로서의) 단 하나의 규정가능한 수의 단량체를 가지며, 올리고머가 오피오이드 작용제의 잔기에 부착되지 않았다면, MW/Mn 값이 1.0005, 그리고 더 바람직하게는 MW/Mn 값이 1.0000이 될 것임을 의미한다. 그러나, 단분산 접합체로 구성된 조성물은 용매, 시약, 부형제 등과 같은 하나 이상의 비접합체 물질을 포함할 수 있다.

- [0042] 올리고머 조성물과 관련하여 "이봉성(bimodal)"은 조성물 내의 사실상 모든 올리고머가 분포라기보다는 단량체의 (정수로서의) 2개의 규정가능하고 상이한 수 중 하나를 가지며, 그의 분자량 분포가 수분율(number fraction) 대 분자량으로서 그려질 때, 2개의 분리된 식별가능한 피크로서 나타나는 올리고머 조성물을 지칭한다. 바람직하게는, 본 명세서에 개시된 이봉성 올리고머 조성물의 경우, 각각의 피크는 그의 평균 주위에서 일반적으로 대칭이지만, 2개의 피크의 크기는 상이할 수 있다. 이상적으로는, 이봉성 분포 내의 각각의 피크의 다분산 지수 Mw/Mn은, 1.01 이하, 더 바람직하게는 1.001 이하, 그리고 더욱 더 바람직하게는 1.0005 이하, 그리고 가장 바람직하게는 Mw/Mn 값은 1.0000이다. 더 나아가, 이봉성 접합체로 구성된 조성물은 조성물 내의 모든 접합체의 사실상 모든 올리고머가 큰 분포라기보다는 단량체의 (정수로서의) 2개의 규정가능하고 상이한 수 중 하나를 가지며, 올리고머가 오피오이드 작용제의 잔기에 부착되지 않았다면, Mw/Mn 값이 1.01 이하, 더 바람직하게는 1.001 이하, 그리고 더욱 더 바람직하게는 1.0005 이하, 그리고 가장 바람직하게는 Mw/Mn 값이 1.0000이 될 것임을 의미한다. 그러나, 이봉성 접합체로 이루어진 조성물은 용매, 시약, 부형제 등과 같은 하나 이상의 비접합체 물질을 포함할 수 있다.
- [0043] "생체막"은, 전형적으로, 적어도 약간의 외래 실체 또는 아니면 바람직하지 않은 물질에 대한 장벽으로서의 역할을 하는 특수화된 세포 또는 조직으로 만들어진 임의의 막이다. 본 명세서에 사용될 때, "생체막"은 생리학적으로 보호 장벽과 관련된 막들을 포함하며, 이러한 막은, 예를 들어 혈액-뇌 장벽(BBB); 혈액-뇌척수액 장벽; 혈액-태반 장벽; 혈액-젖 장벽; 혈액-고환 장벽; 및 질점막, 요도 점막, 향문 점막, 볼점막, 설하 점막, 직장 점막 등을 포함한 점막 장벽을 포함한다. 소정의 내용에서, 용어 "생체막"은 중간 위장관(예를 들어, 위 및 소장)과 관련된 막들은 포함하지 않는다. 예를 들어, 일부 경우에, 본 발명의 화합물의 경우 혈액-뇌 장벽의 횡단에 대하여 제한된 능력을 갖는 것이 바람직할 수 있지만, 그럼에도 여전히 동일한 화합물이 중간 위장관을 횡단하는 것이 바람직할 수 있다.
- [0044] 본 명세서에 사용될 때, "생체막 횡단 속도(crossing rate)"는 생체막(예를 들어, 혈액-뇌 장벽과 관련된 막)을 횡단하는 화합물의 능력의 척도를 제공한다. 임의의 주어진 생체막을 횡단하는 분자의 수송을 평가하기 위해서 다양한 방법이 사용될 수 있다. 임의의 주어진 생체 장벽(예를 들어, 혈액-뇌척수액 장벽, 혈액-태반 장벽, 혈액-젖 장벽, 장관 장벽 등)과 관련된 생체막 횡단 속도를 평가하는 방법은 당업계에 알려져 있으며, 본 명세서 및/또는 관련 문헌에 기재되어 있고/있거나 당업자에 의해 측정될 수 있다.
- [0045] "알킬"은, 전형적으로 길이로 약 1 내지 20개의 원자 범위의 탄화수소 사슬을 지칭한다. 그러한 탄화수소 사슬은 반드시 아니지만 바람직하게는 포화되며, 분지형 또는 직쇄일 수 있지만, 전형적으로는 직쇄가 바람직하다. 예시적인 알킬 기는 메틸, 에틸, 프로필, 부틸, 펜틸, 2-메틸부틸, 2-에틸프로필, 3-메틸펜틸 등을 포함한다. 본 명세서에 사용될 때, "알킬"은 3개 이상의 탄소 원자가 언급될 때 사이클로알킬을 포함한다. "알케닐" 기는 적어도 하나의 탄소-탄소 이중 결합을 갖는 2 내지 20개의 탄소 원자의 알킬이다.
- [0046] 용어 "치환된 알킬" 또는 "치환된 C<sub>q-r</sub> 알킬"(여기서, q 및 r은 알킬 기에 포함된 탄소 원자수의 범위를 나타내는 정수임)은 1, 2 또는 3개의 할로(예를 들어, F, Cl, Br, I), 트리플루오로메틸, 하이드록시, C<sub>1-7</sub> 알킬(예를 들어, 메틸, 에틸, n-프로필, 이소프로필, 부틸, t-부틸 등), C<sub>1-7</sub> 알콕시, C<sub>1-7</sub> 아실옥시, C<sub>3-7</sub> 복소환식, 아미노, 페녹시, 니트로, 카르복시, 아실, 시아노로 치환된 상기 알킬 기를 나타낸다. 치환된 알킬 기는 동일하거나 상이한 치환기로 1, 2 또는 3회 치환될 수 있다.
- [0047] "저급 알킬"은 1 내지 6개의 탄소 원자를 포함하는 알킬 기를 지칭하며, 메틸, 에틸, n-부틸, i-부틸, t-부틸에 의해 예시되는 바와 같이, 직쇄 또는 분지형일 수 있다. "저급 알케닐"은 적어도 하나의 탄소-탄소 이중 결합을 갖는 2 내지 6개의 탄소 원자의 저급 알킬 기를 지칭한다.
- [0048] "비방해 치환기"는 분자 내에 존재할 때, 분자 내에 포함된 다른 작용기와 전형적으로 비반응성인 기들이다.
- [0049] "알콕시"는 -O-R 기를 지칭하며, 여기서 R은 알킬 또는 치환된 알킬, 바람직하게는 C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub> 알킬(예를 들어, 메톡시, 에톡시, 프로필옥시, 벤질 등), 바람직하게는 C<sub>1</sub>-C<sub>7</sub>이다.
- [0050] "약제학적으로 허용되는 부형제" 또는 "약제학적으로 허용되는 담체"는 환자에게 상당한 유해 독성학적 효과를 야기시키지 않는 것으로 인식되고, 이 성분이 결합된 조성물에 비하여 이점(예를 들어, 환자에의 투여에 더 적합함)을 갖는 조성물을 제공하기 위하여 본 발명의 조성물 내에 포함될 수 있는 성분을 지칭한다.
- [0051] 용어 "아릴"은 최대 14개의 탄소 원자를 갖는 방향족 기를 의미한다. 아릴 기는 페닐, 나프틸, 바이페닐, 페난트레닐, 나프타세닐 등을 포함한다. "치환된 페닐" 및 "치환된 아릴"은 할로(F, Cl, Br, I), 하이드록시, 시아

노, 니트로, 알킬(예를 들어, C<sub>1-6</sub> 알킬), 알콕시(예를 들어, C<sub>1-6</sub> 알콕시), 벤질옥시, 카복시기, 아릴 등으로부터 선택되는 1, 2, 3, 4 또는 5개(예를 들어, 1 내지 2개, 1 내지 3개 또는 1 내지 4개의 치환기)로 치환된 페닐기 및 아릴기를 각각 나타낸다.

[0052] “방향족 함유 부분”은 적어도 아릴 및 선택적으로 하나 이상의 원자를 함유하는 원자들의 집합체이다. 적합한 방향족 함유 부분은 본 명세서에 설명되어 있다.

[0053] 간단하게 하기 위하여, 화학 부분은 본 명세서 전체에 걸쳐 주로 1가 화학 부분(예를 들어, 알킬, 아릴 등)으로서 정의되고 지칭된다. 그럼에도 불구하고, 그러한 용어는 또한 당업자에게 분명한 적절한 구조적 상황 하에서 상응하는 다가 부분을 전하는 데에도 사용된다. 예를 들어, “알킬” 부분은 일반적으로 1가 라디칼(예를 들어, CH<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub>-)을 지칭하지만, 소정의 상황에서는 2가 결합 부분이 “알킬”일 수 있으며, 이 경우에 당업자는 이 알킬이 2가 라디칼(예를 들어, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-)이라는 것을 이해할 것이며, 이는 용어 “알킬렌”과 등가이다. (유사하게, 2가 부분이 필요하고 “아릴”인 것으로서 언급되는 상황에서, 당업자는 용어 “아릴”이 상응하는 2가 부분인 아릴렌을 지칭한다는 것을 이해할 것이다.) 모든 원자는 결합 형성을 위하여 그의 정상 원자가수(즉, 탄소에 대해서는 4, N에 대해서는 3, O에 대해서는 2, 및 S에 대해서는, S의 산화 상태에 따라 2, 4, 또는 6)를 갖는 것으로 이해된다.

[0054] “약리학적 유효량”, “생리학적 유효량” 및 “치료학적 유효량”은 본 명세서에서 상호교환적으로 사용되어 혈류 중 또는 표적 조직 내 역치 수준의 활성제 및/또는 접합체를 제공하는 데 필요한, 조성물에 존재하는 수용성 올리고머-오피오이드 화합물 접합체의 양을 의미한다. 정확한 양은 다수의 인자, 예를 들어 특정 활성제, 조성물의 성분 및 물리적 특성, 의도되는 환자 집단, 환자 고려사항 등에 좌우될 것이며, 본 명세서에 제공되고 관련 문헌에서 이용가능한 정보에 기초하여 당업자에 의해 용이하게 결정될 수 있다.

[0055] “2작용성” 올리고머는 2개의 작용기가 포함된, 전형적으로는 2개의 작용기가 말단에 있는 올리고머이다. 이들 작용기가 동일할 때, 이 올리고머는 동종 2작용성(homodifunctional)이라고 한다. 이들 작용기가 상이할 때, 이 올리고머는 이종 2작용성(heterobifunctional)이라고 한다.

[0056] 본 명세서에 기재된 염기성 반응물 또는 산성 반응물은 천연 형태, 하전된 형태, 그리고 이의 임의의 상응하는 염 형태를 포함한다.

[0057] 용어 “환자”는, 반드시 아니지만 전형적으로 수용성 올리고머-오피오이드 화합물 접합체의 형태의 본 명세서에 개시된 접합체의 투여에 의해 예방 또는 치료될 수 있는 상태를 앓고 있거나 또는 그러한 상태로 되기 쉬운 살아있는 유기체를 지칭하며, 사람 및 동물 둘 모두를 포함한다.

[0058] “선택적인” 또는 “선택적으로”는 이어서 기재되는 상황이 반드시 아니지만 일어날 필요가 있을 수 있어, 그 기체가 그 상황이 일어나는 경우 및 그것이 일어나지 않는 경우를 포함하게 함을 의미한다.

[0059] 그 내용이 명백히 달리 지시하지 않는 한, 용어 “약”이 수치 값 앞에 올 때, 그 수치 값은 언급된 수치 값 및 또한 언급된 수치 값의 ±10%를 의미하는 것으로 이해된다.

[0060] **수용성 올리고머 오피오이드 접합체**

[0061] 위에 나타낸 바와 같이, 본 발명은 (특히) 하기 화학식의 화합물에 관한 것이다:

[0062] OP-X-POLY

[0063] 여기서, OP는 오피오이드 화합물이고, X는 링커이며, POLY는 작은 수용성 올리고머이다. 대상 접합체를 제조하고 특성화함에 있어서, 본 발명자들은 작은 수용성 올리고머에 의한 오피오이드 화합물의 유도체화가 뇌로의 오피오이드 화합물의 전달 속도를 감소시킴을 알아내었다. 오피오이드 작용제 분자 그 자체의 공유 개질에 기초하여, 본 명세서에 개시된 접합체는 선행 기술의 남용 방지 오피오이드 작용제 제형에 비하여 개선을 나타낸다. 다시 말해, 작은 수용성 올리고머와 접합된 오피오이드 화합물은 변경된 약동학 프로파일을 갖지만, 경피 패치와 같은 소정의 대체 전달 제형과 관련된 속효성(rapid acting) 오피오이드 화합물의 회복 및 남용을 가능하게 하는 신체적 탬퍼링(physical tampering)의 위험에 처해지지 않는다.

[0064] 오피오이드

[0065] 따라서, OP는 뮤( $\mu$ ), 카파( $\kappa$ ), 또는 델타( $\delta$ ) 오피오이드 수용체와 상호작용하는 임의의 화합물, 또는 임의의

이들의 조합을 포함한, 임의의 오피오이드 화합물일 수 있다. 일 실시 형태에서, 오피오이드는 뮤( $\mu$ ) 오피오이드 수용체에 대해 선택적이다. 다른 실시 형태에서, 오피오이드는 카파( $\kappa$ ) 오피오이드 수용체에 대해 선택적이다. 추가의 실시 형태에서, 오피오이드는 델타( $\delta$ ) 오피오이드 수용체에 대해 선택적이다. 사용하기에 적합한 오피오이드는 천연적으로 발생하는 분자, 반합성 분자 또는 합성 분자일 수 있다.

- [0066] 사용될 수 있는 오피오이드 화합물은 아세토르핀, 아세틸디하이드로코데인, 아세틸디하이드로코데이논, 아세틸 모르피논, 알펜타닐, 알틸프로딘, 알파프로딘, 아닐레리딘, 벤질 모르핀, 벤지트라미드, 비팔린, 부프레노르핀, 부토르파놀, 클로니타젠, 코데인, 테소모르핀, 텍스트로모라미드, 데조신, 디암프로미드, 디아모르폰, 디하이드로코데인, 디하이드로모르핀, 디메녹사돌, 디메페프타놀, 디메틸티암부텐, 디옥사페틸 부티레이트, 디피파논, 디노르핀(디노르핀 A 및 디노르핀 B를 포함함), 엔도르핀(베타-엔도르핀 및  $\alpha/\beta$ -네오-엔도르핀을 포함함), 엔케팔린(Met-엔케팔린 및 Leu-엔케팔린을 포함함), 엡타조신, 에토헤타진, 에틸메틸티암부텐, 에틸모르핀, 에토니타젠, 에토르핀, 디하이드로에토르핀, 펜타닐 및 유도체, 헤로인, 하이드로코돈, 하이드로모르폰, 하이드록시페티딘, 이소메타돈, 케토베미돈, 레보르파놀, 레보페나실모르핀, 로펜타닐, 메페리딘, 펩타지놀, 메타조신, 메타돈, 메토폰, 모르핀, 미로핀, 나르세인, 니코모르핀, 노르레보르파놀, 노르메타돈, 날로르핀, 날부핀, 노르모르핀, 노르피파논, 오피움, 옥시코돈, 옥시모르폰, 파파베레툼, 펜타조신, 페나독손, 페노모르핀, 페나조신, 페노페리딘, 피미노딘, 피리트라미드, 프로펩타진, 프로메돌, 프로페리딘, 프로폭시펜, 서펜타닐, 틸리딘, 및 트라마돌을 포함하지만 이로 한정되지 않는다.
- [0067] 소정 실시 형태에서, 오피오이드 작용제는 하이드로코돈, 모르핀, 하이드로모르폰, 옥시코돈, 코데인, 레보르파놀, 메페리딘, 메타돈, 옥시모르폰, 부프레노르핀, 펜타닐, 디피파논, 헤로인, 트라마돌, 날부핀, 에토르핀, 디하이드로에토르핀, 부토르파놀, 및 레보르파놀로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0068] 다른 실시 형태에서, 오피오이드 작용제는 펜타닐, 하이드로모르폰, 메타돈, 모르핀, 코데인, 옥시코돈, 및 옥시모르폰으로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0069] 오피오이드 작용제 활성을 갖는 임의의 다른 오피오이드 화합물이 또한 사용될 수 있다. 주어진 화합물(화합물이 접합된 형태인지 아닌지에 관계없이)이 오피오이드 수용체에 대하여 작용제로서 작용할 수 있는지를 결정하기 위한 검정이 본 명세서에 기재되어 있으며 당업계에 알려져 있다.
- [0070] 일부 경우에, 오피오이드 작용제는 상업적 공급원으로부터 획득될 수 있다. 추가적으로, 오피오이드 작용제는 합성 유기 화학의 표준 기술을 사용하여 합성될 수 있다. 오피오이드 작용제를 제조하기 위한 합성 접근법이 예를 들어, 미국 특허 제2,628,962호, 제2,654,756호, 제2,649,454호, 및 제2,806,033호와 같은 문헌에 개시되어 있다.
- [0071] 이들(및 다른) 오피오이드 작용제 각각은 (직접적으로 또는 하나 이상의 원자를 통해) 수용성 올리고머에 공유 부착될 수 있다.
- [0072] 본 발명에 유용한 오피오이드 화합물은 일반적으로 분자량이 약 1500Da(달톤) 미만, 그리고 더욱 더 전형적으로는 약 1000Da 미만이다. 오피오이드 화합물의 예시적인 분자량은 약 950Da 미만; 약 900Da 미만; 약 850Da 미만; 약 800Da 미만; 약 750Da 미만; 약 700Da 미만; 약 650Da 미만; 약 600Da 미만; 약 550Da 미만; 약 500Da 미만; 약 450Da 미만; 약 400Da 미만; 약 350Da 미만; 및 약 300Da 미만의 분자량을 포함한다.
- [0073] 본 발명에 사용되는 오피오이드 화합물은, 키랄일 경우, 라세미 혼합물이나, 또는 광학적으로 활성인 형태, 예를 들어 단일의 광학적으로 활성인 거울상 이성체, 또는 임의의 조합 또는 비의 거울상 이성체들(즉, 비라세미(scalemic) 혼합물)로 존재할 수 있다. 추가적으로, 오피오이드 화합물은 하나 이상의 기하학적 이성체를 가질 수 있다. 기하학적 이성체에 관하여, 조성물은 단일의 기하학적 이성체 또는 둘 이상의 기하학적 이성체들의 혼합물을 포함할 수 있다. 본 발명에 사용하기 위한 오피오이드 화합물은 그의 통상적인 활성 형태로 존재할 수 있거나, 또는 어느 정도의 개질을 가질 수 있다. 예를 들어, 오피오이드 화합물은, 수용성 올리고머의 공유 부착 전이나 후에, 거기에 부착된 표적화제, 태그, 또는 수송체를 가질 수 있다. 대안적으로, 오피오이드 화합물은 거기에 부착된 친유성 부분, 예를 들어 인지질(예를 들어, 디스테아로일포스파티딜에탄올아민 또는 "DSPE", 디팔미토일포스파티딜에탄올아민 또는 "DPPE" 등) 또는 작은 지방산을 가질 수 있다. 그러나 일부 경우에는, 오피오이드 화합물이 친유성 부분의 부착을 포함하지 않는 것이 바람직하다.
- [0074] 수용성 올리고머에 커플링하기 위한 오피오이드 작용제는 당해 올리고머에의 공유 부착에 적합한 자유 하이드록실, 카르복실, 티오, 아미노 기 등(즉, "헵들")을 갖는다. 추가적으로, 오피오이드 작용제는 반응성 기의 도입에 의해, 바람직하게는 존재하는 그의 작용기들 중 하나를 올리고머와 오피오이드 화합물 사이에 안정한 공유

결합을 형성하기에 적합한 작용기로 전환시킴으로써 개질될 수 있다.

[0075] 수용성 올리고머

[0076] 따라서, 각각의 올리고머는 알킬렌 옥사이드, 예를 들어 에틸렌 옥사이드 또는 프로필렌 옥사이드; 올레핀계 알코올, 예를 들어 비닐 알코올, 1-프로펜올 또는 2-프로펜올; 비닐 피롤리돈; 하이드록시알킬 메타크릴아미드 또는 하이드록시알킬 메타크릴레이트(여기서, 알킬은 바람직하게 메틸임);  $\alpha$ -하이드록시산, 예를 들어 락트산 또는 글리콜산; 포스파젠, 옥사졸린, 아미노산, 탄수화물, 예를 들어 단당류, 사카라이드 또는 만니톨; 및 N-아크릴로일모르폴린으로 이루어진 군으로부터 선택되는 최대 3가지 상이한 단량체 유형으로 구성된다. 바람직한 단량체 유형은 알킬렌 옥사이드, 올레핀계 알코올, 하이드록시알킬 메타크릴아미드 또는 메타크릴레이트, N-아크릴로일모르폴린, 및  $\alpha$ -하이드록시산을 포함한다. 바람직하게, 각각의 올리고머는 독립적으로, 이 군으로부터 선택되는 2가지 단량체 유형의 공올리고머이며, 더 바람직하게는, 이 군으로부터 선택되는 하나의 단량체 유형의 단일 올리고머이다.

[0077] 공올리고머 내의 2가지 단량체 유형은 동일한 단량체 유형, 예를 들어 에틸렌 옥사이드 및 프로필렌 옥사이드와 같은 2가지 알킬렌 옥사이드일 수 있다. 바람직하게, 올리고머는 에틸렌 옥사이드의 단일 올리고머이다. 반드시 는 아니지만 통상적으로는 오피오이드 화합물에 공유 부착되지 않은 올리고머의 말단(또는 말단들)은 캐핑(capping)되어 그것이 비반응성이 되게 한다. 대안적으로, 이 말단은 반응성 기를 포함할 수 있다. 말단이 반응성 기일 때, 이 반응성 기는 최종 올리고머의 형성 조건 하에서 또는 올리고머가 오피오이드 화합물에 공유 부착되는 동안 비반응성이 되는 것으로 또는 필요한 만큼 보호되는 것으로 선택된다. 하나의 공통 말단 작용기는, 특히 올리고에틸렌 옥사이드에 대한 하이드록실 또는 -OH이다.

[0078] 수용성 올리고머(예를 들어, 본 명세서에 제공되는 구조의 "POLY")는 다수의 상이한 기하형상 중 임의의 것을 가질 수 있다. 예를 들어, 그것은 선형, 분지형, 또는 포크형일 수 있다. 가장 전형적으로는, 수용성 올리고머는 선형이거나, 또는 예를 들어 하나의 분지점을 갖는 분지형이다. 본 명세서의 논의의 대부분이 예시적인 올리고머로서의 폴리(에틸렌 옥사이드)에 초점이 맞추어져 있지만, 본 명세서에 제시되는 논의 및 구조는 용이하게 확장되어 상기에 기재된 수용성 올리고머들 중 임의의 것을 포함할 수 있다.

[0079] 소정 실시 형태에서 링커 부분을 제외한 수용성 올리고머의 분자량은 일반적으로 상대적으로 낮다. 예를 들어, 수용성 올리고머의 분자량은 전형적으로 약 2200달톤 미만, 그리고 더 전형적으로는 약 1500달톤 이하이다. 소정의 다른 실시 형태에서, 수용성 올리고머의 분자량은 800달톤 미만일 수 있다.

[0080] 소정 실시 형태에서, 수용성 올리고머의 분자량의 예시적인 값은 약 500달톤 이하, 또는 약 420달톤 이하, 또는 약 370달톤 이하, 또는 약 325달톤 이하, 약 280달톤 이하, 약 235달톤 이하, 또는 약 200달톤 이하, 약 175달톤 이하, 또는 약 150달톤 이하, 또는 약 135달톤 이하, 약 90달톤 이하, 또는 약 60달톤 이하, 또는 심지어 약 45달톤 이하를 포함한다.

[0081] 다른 실시 형태에서, 링커 부분을 제외한 수용성 올리고머의 분자량의 예시적인 값은 약 1500달톤 미만; 약 1450달톤 미만; 약 1400달톤 미만; 약 1350달톤 미만; 약 1300달톤 미만; 약 1250달톤 미만; 약 1200달톤 미만; 약 1150달톤 미만; 약 1100달톤 미만; 약 1050달톤 미만; 약 1000달톤 미만; 약 950달톤 미만; 약 900달톤 미만; 약 850달톤 미만; 약 800달톤 미만; 약 750달톤 미만; 약 700달톤 미만; 약 650달톤 미만; 약 600달톤 미만; 약 550달톤 미만; 약 500달톤 미만; 약 450달톤 미만; 약 400달톤 미만; 및 약 350달톤 미만을 포함하지만; 각각의 경우에 약 250달톤 초과이다.

[0082] 소정의 다른 실시 형태에서, 올리고머에 결합되기보다는, 오피오이드는 수용성 중합체, 즉 50개 초과 반복 단위위를 갖는 부분에 공유 부착된다. 예를 들어, 링커 부분을 제외한 수용성 중합체의 분자량은 약 80,000달톤 미만; 약 70,000달톤 미만; 약 60,000달톤 미만; 약 50,000달톤 미만; 약 40,000달톤 미만; 약 30,000달톤 미만; 약 20,000달톤 미만; 약 10,000달톤 미만; 약 8,000달톤 미만; 약 6,000달톤 미만; 약 4,000달톤 미만; 약 3,000달톤 미만; 및 약 2,000달톤 미만일 수 있지만; 각각의 경우에 약 250달톤 초과이다.

[0083] 소정 실시 형태에서, (링커를 제외한) 수용성 올리고머의 분자량의 예시적인 범위는 약 45 내지 약 225달톤; 약 45 내지 약 175달톤; 약 45 내지 약 135달톤; 약 45 내지 약 90달톤; 약 90 내지 약 225달톤; 약 90 내지 약 175달톤; 약 90 내지 약 135달톤; 약 135 내지 약 225달톤; 약 135 내지 약 175달톤; 및 약 175 내지 약 225달톤을 포함한다.

[0084] 다른 대안적인 실시 형태에서, (링커를 제외한) 수용성 올리고머의 분자량의 예시적인 범위는 약 250 내지 약 1500달톤; 약 250 내지 약 1200달톤; 약 250 내지 약 800달톤; 약 250 내지 약 500달톤; 약 250 내지 약 400달

톤; 약 250 내지 약 500달톤; 약 250 내지 약 1000달톤; 및 약 250 내지 약 500달톤을 포함한다.

- [0085] 수용성 중합체 결합 오피오이드와 관련된 다른 실시 형태에서, (링커를 제외한) 수용성 중합체의 분자량의 예시적인 범위는 약 2,000 내지 약 80,000달톤; 약 2,000 내지 약 70,000달톤; 약 2,000 내지 약 60,000달톤; 약 2,000 내지 약 50,000달톤; 약 2,000 내지 약 40,000달톤; 약 2,000 내지 약 30,000달톤; 약 2,000 내지 약 20,000달톤; 약 2,000 내지 약 10,000달톤; 약 2,000 내지 약 8,000달톤; 약 2,000 내지 약 6,000달톤; 약 2,000 내지 약 4,000달톤; 약 2,000 내지 약 3,000달톤; 약 10,000 내지 약 80,000달톤; 약 10,000 내지 약 60,000달톤; 약 10,000 내지 약 40,000달톤; 약 30,000 내지 약 80,000달톤; 약 30,000 내지 약 60,000달톤; 약 40,000 내지 약 80,000달톤; 및 약 60,000 내지 약 80,000달톤을 포함한다.
- [0086] 수용성 올리고머의 단량체의 개수는 약 1 내지 약 1825(포함함)일 수 있으며, 이 범위 내의 모든 정수 값을 포함한다.
- [0087] 바람직하게는, 일부 실시 형태에서, 수용성 올리고머의 단량체의 개수는 하기의 포함 범위 중 하나 이상의 범위 내에 속한다: 1 내지 5(즉, 1, 2, 3, 4, 및 5로부터 선택됨); 1 내지 4(즉, 1, 2, 3, 또는 4일 수 있음); 1 내지 3(즉, 1, 2, 또는 3으로부터 선택됨); 1 내지 2(즉, 1 또는 2일 수 있음); 2 내지 5(즉, 2, 3, 4, 및 5로부터 선택될 수 있음); 2 내지 4(즉, 2, 3, 및 4로부터 선택됨); 2 내지 3(즉, 2 또는 3임); 3 내지 5(즉, 3, 4 또는 5임); 3 내지 4(즉, 3 또는 4임); 및 4 내지 5(즉, 4 또는 5임). 특정 예에서, 올리고머(및 상응하는 접합체) 내의 연속된 단량체의 개수는 1, 2, 3, 4, 또는 5로부터 선택된다. 따라서, 예를 들어, 수용성 올리고머가  $\text{CH}_3-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n-$ 을 포함할 때, "n"은 1, 2, 3, 4, 또는 5일 수 있는 정수이다.
- [0088] 바람직하게는, 다른 실시 형태에서, 수용성 올리고머의 단량체의 개수는 하기의 포함 범위 중 하나 이상의 범위 내에 속한다: 6 내지 30(즉, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 및 30으로부터 선택됨); 6 내지 25(즉, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 및 25로부터 선택됨); 6 내지 20(즉, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 및 20으로부터 선택됨); 6 내지 15(6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15로부터 선택됨); 6 내지 10(즉, 6, 7, 8, 9, 및 10으로부터 선택됨); 10 내지 25(즉, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 및 25로부터 선택됨); 및 15 내지 20(즉, 15, 16, 17, 18, 19, 및 20으로부터 선택됨). 소정 예에서, 올리고머(및 상응하는 접합체) 내의 연속된 단량체의 개수는 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 또는 25 중 하나이다. 따라서, 예를 들어, 수용성 올리고머가  $\text{CH}_3-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n-$ 을 포함할 때, "n"은 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 또는 25일 수 있는 정수이다.
- [0089] 소정의 다른 실시 형태에서, 수용성 올리고머의 단량체의 개수는 하기의 포함 범위 중 하나 이상의 범위 내에 속한다: 35 내지 1825; 100 내지 1800; 200 내지 1600; 400 내지 1400; 600 내지 1200; 800 내지 1000; 35 내지 1000; 35 내지 600; 35 내지 400; 35 내지 200; 35 내지 100; 1000 내지 1825; 1200 내지 1825; 1400 내지 1825; 및 1600 내지 1825.
- [0090] 수용성 올리고머가 1, 2, 3, 4, 또는 5개의 단량체를 가질 때, 이들 값은 분자량이 각각 약 75, 119, 163, 207, 및 251달톤인 메톡시 말단이 캐핑된 올리고(에틸렌 옥사이드)에 상응한다. 올리고머가 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 또는 15개의 단량체를 가질 때, 이들 값은 분자량이 각각 약 295, 339, 383, 427, 471, 515, 559, 603, 647, 및 691달톤인 메톡시 말단이 캐핑된 올리고(에틸렌 옥사이드)에 상응한다.
- [0091] (하나 이상의 단량체를 단계적 부가시켜, 올리고머를 오피오이드 작용제 상에 효과적으로 "성장"시키는 것과는 대조적으로) 수용성 올리고머가 오피오이드 작용제에 부착될 때, 수용성 올리고머의 활성화된 형태를 함유하는 조성물은 단분산되는 것이 바람직하다. 그러나 이봉성 조성물이 이용되는 경우에, 조성물은 상기 단량체의 개수 중 약 임의의 2개를 중심으로 한 이봉성 분포를 가질 것이다. 이상적으로, 이봉성 분포 내의 각각의 피크의 다분산 지수 Mw/Mn은 1.01 이하이고, 더욱 더 바람직하게는, 1.001 이하이고, 더욱 더 바람직하게는 1.0005 이하이다. 가장 바람직하게, 각각의 피크는 Mw/Mn 값이 1.0000이다. 예를 들어, 이봉성 올리고머는 단량체 하위단위들의 하기의 예시적인 조합 중 임의의 하나를 가질 수 있다: 1 내지 2, 1 내지 3, 1 내지 4, 1 내지 5, 1 내지 6, 1 내지 7, 1 내지 8, 1 내지 9, 1 내지 10개 등; 2내지 3, 2 내지 4, 2 내지 5, 2 내지 6, 2 내지 7, 2 내지 8, 2 내지 9, 2 내지 10개 등; 3 내지 4, 3 내지 5, 3 내지 6, 3 내지 7, 3 내지 8, 3 내지 9, 3 내지 10개 등; 4 내지 5, 4 내지 6, 4 내지 7, 4 내지 8, 4 내지 9, 4 내지 10개 등; 5 내지 6, 5 내지 7, 5 내지 8, 5 내지 9, 5 내지 10개 등; 6 내지 7, 6 내지 8, 6 내지 9, 6 내지 10개 등; 7 내지 8, 7 내지 9, 7 내지 10 등; 및

8 내지 9, 8 내지 10개 등.

[0092] 일부 경우에, 수용성 올리고머의 활성화된 형태를 함유하는 조성물은 삼봉성(trimodal) 또는 심지어 사봉성(tetramodal)이 될 것이며, 앞서 기재된 단량체 단위의 범위를 갖는다. 올리고머들의 명확한 혼합물(즉, 이봉성, 삼봉성, 사봉성 등임)을 갖는 올리고머 조성물은 정제된 단분산 올리고머들을 혼합하여 올리고머의 원하는 프로파일(단지 단량체 개수만이 상이한 2가지 올리고머의 혼합물은 이봉성이고; 단지 단량체 개수만이 상이한 3가지 올리고머의 혼합물은 삼봉성이며; 단지 단량체 개수만이 상이한 4가지 올리고머의 혼합물은 사봉성임)을 획득함으로써 제조될 수 있거나, 또는 대안적으로, 다분산 올리고머의 컬럼 크로마토그래피로부터 "중심 절단부(center cut)"를 회수하여 올리고머들의 혼합물을 원하는 규정된 분자량 범위로 획득함으로써 획득될 수 있다.

[0093] 수용성 올리고머는, 바람직하게 단분자 또는 단분산인 조성물로부터 획득되는 것이 바람직하다. 즉, 조성물 내의 올리고머는 분자량의 분포라기보다는 동일한 이산 분자량 값을 갖는다. 일부 단분산 올리고머는 시그마-알드리치(Sigma-Aldrich)로부터 입수가 가능한 것들과 같이 상업적 공급원으로부터 구매될 수 있거나, 또는 대안적으로, 시그마-알드리치와 같은 구매가능한 출발 재료로부터 직접 제조될 수 있다. 수용성 올리고머는 문헌[Chen and Baker, *J. Org. Chem.* 6870-6873 (1999)], 국제특허 공개 WO 제02/098949호, 및 미국 특허 출원 공개 제2005/0136031호에 개시된 바와 같이 제조될 수 있다.

[0094] 스페이스/링크 부분

[0095] 존재할 때, 스페이스 부분(이를 통해 수용성 올리고머가 오피오이드 작용제에 부착됨)은 단일 결합, 단일 원자, 예를 들어 수소 원자 또는 황 원자, 2개의 원자, 또는 다수의 원자일 수 있다. 특히, "X"는 OP와 POLY 사이의 공유 결합을 나타낼 수 있거나, 또는 대안적으로 그것은 OP 및/또는 POLY 단독 상에 존재하지 않는 화학 부분을 나타낼 수 있다. 스페이스 부분은 반드시 아니지만 전형적으로 본래 선형이다. 소정 실시 형태에서, 스페이스 부분 "X"는 바람직하게 가수분해적으로 안정하고, 바람직하게는 효소적으로도 안정하다. 다른 실시 형태에서, 스페이스 부분 "X"는 바람직하게 생리학적으로 절단가능하며, 즉 가수분해적으로 절단가능하거나 효소적으로 분해가능하다. 바람직하게, 스페이스 부분 "X"는 약 12개 미만의 원자, 그리고 바람직하게는 약 10개 미만의 원자, 그리고 더욱 더 바람직하게는 약 8개 미만의 원자, 그리고 더욱 더 바람직하게는 약 5개 미만의 원자의 사슬 길이를 갖는 것이며, 여기서 길이는 치환기를 세지 않은 단일 사슬 내의 원자의 개수를 의미한다. 예를 들어, 이것, 즉 R<sub>올리고머</sub>-NH-(C=O)-NH-R'<sub>OP</sub>와 같은 우레아 결합은 3개의 원자(-NH-C(O)-NH-)의 사슬 길이를 갖는 것으로 여겨진다. 선택되는 실시 형태에서, 스페이스 부분 결합은 추가의 스페이스 기를 포함하지 않는다.

[0096] 일부 경우에, 스페이스 부분 "X"는 에테르, 아마이드, 우레탄, 아민, 티오에테르, 우레아, 또는 탄소-탄소 결합을 포함한다. 작용기가 전형적으로 결합을 형성하는 데 사용된다. 스페이스 부분은 덜 바람직하게 추가로 후술되는 바와 같이, 스페이스 기를 포함할 수도(또는 이들에 인접하거나 또는 이들 옆에 배치될 수도) 있다.

[0097] 더 구체적으로는, 선택되는 실시 형태에서, 스페이스 부분 X는 하기의 것들 중 임의의 것일 수 있다: "-"(즉, 오피오이드 작용제의 잔기와 수용성 올리고머 사이의 안정하거나 또는 분해가능할 수 있는 공유 결합), -O-, -NH-, -S-, -C(O)-, -C(O)O-, -OC(O)-, -CH<sub>2</sub>-C(O)O-, -CH<sub>2</sub>-OC(O)-, -C(O)O-CH<sub>2</sub>-, -OC(O)-CH<sub>2</sub>-, C(O)-NH, NH-C(O)-NH, O-C(O)-NH, -C(S)-, -CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-, -O-CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>-O-, -O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-, -O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-, -O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-, -C(O)-NH-CH<sub>2</sub>-, -C(O)-NH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>-C(O)-NH-CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-C(O)-NH-, -C(O)-NH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>-C(O)-NH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-C(O)-NH-CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-C(O)-NH-, -C(O)-NH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>-C(O)-NH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-C(O)-NH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-C(O)-NH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-C(O)-NH-, -NH-C(O)-CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>-NH-C(O)-CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH-C(O)-CH<sub>2</sub>-, -NH-C(O)-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>-NH-C(O)-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH-C(O)-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH-C(O)-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-, -C(O)-NH-CH<sub>2</sub>-, -C(O)-NH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-, -NH-CH<sub>2</sub>-, -NH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>-NH-CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH-CH<sub>2</sub>-, -C(O)-CH<sub>2</sub>-, -C(O)-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>-C(O)-CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-C(O)-CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-C(O)-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-C(O)-, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-C(O)-NH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH-, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-C(O)-NH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH-C(O)-, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-C(O)-NH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH-C(O)-CH<sub>2</sub>-, 2가 사이클로알킬 기, -N(R<sup>6</sup>)- (여기서, R<sup>6</sup>은 H이거나 또는

알킬, 치환된 알킬, 알케닐, 치환된 알케닐, 알키닐, 치환된 알키닐, 아릴 및 치환된 아릴로 이루어진 군으로부터 선택되는 유기 라디칼임).

[0098] 그러나 본 발명의 목적을 위하여, 원자단은 그것이 올리고머 단편에 곧바로 인접할 때에는 스페이서 부분으로 여겨지지 않으며, 이러한 원자단은 올리고머의 단량체와 동일하여 원자단은 그저 올리고머 사슬의 확장만을 나타내게 할 뿐이다.

[0099] **접합**

[0100] 수용성 올리고머와 오피오이드 화합물 사이의 결합 "X"는 전형적으로 올리고머(또는 오피오이드 작용제 상에 올리고머를 "성장"시키는 것을 원할 때에는 하나 이상의 단량체)의 말단 상의 작용기와 오피오이드 작용제 내의 상응하는 작용기의 반응에 의해 형성된다. 예를 들어, 올리고머 상의 아미노 기는 오피오이드 화합물 상의 카르복실산 또는 활성화된 카르복실산 유도체와 반응하거나, 또는 그 반대로 하여, 아마이드 결합을 생성할 수 있다. 대안적으로, 올리고머 상의 아민과 오피오이드 화합물 상의 활성화된 카르보네이트(예를 들어, 석신이미딜 또는 벤조트리아질 카르보네이트)의 반응이나 또는 그 반대의 반응은 카르바메이트 결합을 형성한다. 올리고머 상의 아민과 오피오이드 화합물 상의 이소시아네이트(R-N=C=O)의 반응이나 또는 그 반대의 반응은 우레아 결합(R-NH-(C=O)-NH-R')을 형성한다. 또한, 올리고머 상의 알코올(알콕사이드) 기와 오피오이드 화합물 내의 알킬 할라이드 또는 할라이드 기의 반응이나 또는 그 반대의 반응은 에테르 결합을 형성한다. 또 다른 커플링 접근법에서는, 알데히드 작용을 갖는 오피오이드 화합물이 환원적 아미노화에 의해 올리고머 아미노 기에 커플링되어, 그 결과 올리고머와 오피오이드 화합물 사이에 2차 아민 결합을 형성하게 된다.

[0101] 특히 바람직한 수용성 올리고머는 알데히드 작용기를 갖는 올리고머이다. 이에 관하여, 이 올리고머는 하기의 구조를 가질 것이다:  $\text{CH}_3\text{O}-(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O})_n-(\text{CH}_2)_p-\text{C}(\text{O})\text{H}$ (여기서, (n)은 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 및 10 중 하나이고, (p)는 1, 2, 3, 4, 5, 6 및 7 중 하나임). 바람직한 (n) 값은 1, 2, 3, 4, 7, 8, 9, 및 10을 포함하고, 바람직한 (p) 값은 2, 3 및 4를 포함한다. 추가적으로, -C(O)H 부분에 대한 탄소 원자 알파는 선택적으로 알킬로 치환될 수 있다.

[0102] 전형적으로, 작용기를 갖지 않는 수용성 올리고머의 말단은 케핑되어 그것이 비반응성이 되게 할 수 있다. 이 올리고머가 접합체의 형성을 위해 의도되는 것 이외의 말단에서 추가의 작용기를 포함할 때, 그 기는 결합 "X"의 형성 조건 하에서 비반응성이 되는 것으로 선택되거나 또는 그것은 결합 "X"의 형성 동안 보호되는 것으로 선택된다.

[0103] 상기에 언급된 바와 같이, 수용성 올리고머는 접합 전에 적어도 하나의 작용기를 포함한다. 전형적으로 이 작용기는 오피오이드 화합물 내에 포함되거나 또는 오피오이드 화합물 내로 도입된 반응성 기에 따라, 오피오이드 화합물내의 공유 부착을 위한 친전자성 또는 친핵성 기를 포함한다. 올리고머 또는 오피오이드 화합물 중 어느 하나에 존재할 수 있는 친핵성 기의 예는 하이드록실, 아민, 히드라진(-NHNH<sub>2</sub>), 히드라지드(-C(O)NHNH<sub>2</sub>), 및 티올을 포함한다. 바람직한 친핵성 물질은 아민, 히드라진, 히드라지드, 및 티올, 특히 아민을 포함한다. 올리고머에의 공유 부착을 위한 대부분의 오피오이드 화합물은 자유 하이드록실, 아미노, 티오, 알데히드, 케톤, 또는 카르복실 기를 가질 것이다.

[0104] 올리고머 또는 오피오이드 화합물 중 어느 하나에 존재할 수 있는 친전자성 작용기의 예는 카르복실산, 카르복실 에스테르, 특히 이미드 에스테르, 오르토에스테르, 카르보네이트, 이소시아네이트, 이소티오시아네이트, 알데히드, 케톤, 티온, 알케닐, 아크릴레이트, 메타크릴레이트, 아크릴아미드, 설펜, 말레이미드, 디설파이드, 요오도, 에폭시, 설포네이트, 티오설포네이트, 실란, 알콕시실란, 및 할로실란을 포함한다. 이들 기의 보다 구체적인 예는 석신이미딜 에스테르 또는 카르보네이트, 이미다졸릴 에스테르 또는 카르보네이트, 벤조트리아졸 에스테르 또는 카르보네이트, 비닐 설펜, 클로로에틸설펜, 비닐피리딘, 피리딜 디설파이드, 요오도아세트아미드, 글리옥살, 디온(dione), 메실레이트, 토실레이트, 및 트레실레이트(2,2,2-트리플루오로에탄설포네이트)를 포함한다.

[0105] 또한, 이들 기 중 몇몇의 황 유사체, 예를 들어 티온, 티온 수화물, 티오케탈, 2-티아졸리딘 티온 등뿐만 아니라 수화물 또는 상기 부분들 중 임의의 것의 보호된 유도체(예를 들어, 알데히드 수화물, 헤미아세탈, 아세탈, 케톤 수화물, 헤미케탈, 케탈, 티오케탈, 티오아세탈)가 포함된다.

[0106] 카르복실산의 "활성화된 유도체"는 친핵성 물질과 용이하게 반응하는, 일반적으로 비유도체화된 카르복실산보다 훨씬 더 용이하게 반응하는 카르복실산 유도체를 지칭한다. 활성화된 카르복실산은, 예를 들어 산 할라이드(예

를 들어, 산 클로라이드), 무수물, 카르보네이트, 및 에스테르를 포함한다. 그러한 에스테르는 일반적 형태  $-(CO)O-N[(CO)-]_2$ 의 이미드 에스테르; 예를 들어, N-하이드록시석신이미딜(NHS) 에스테르 또는 N-하이드록시프탈이미딜 에스테르를 포함한다. 또한, 이미다졸릴 에스테르 및 벤조트리아졸 에스테르가 바람직하다. 공동소유된 미국 특허 제5,672,662호에 개시된 활성화된 프로피온산 또는 부탄산 에스테르가 특히 바람직하다. 이들은 형태  $-(CH_2)_{2-3}C(=O)O-Q$ 의 기를 포함하며, 여기서 Q는 바람직하게 N-석신이미드, N-설포석신이미드, N-프탈이미드, N-글루타르이미드, N-테트라하이드로프탈이미드, N-노르보르넨-2,3-디카르복스이미드, 벤조트리아졸, 7-아자벤조트리아졸, 및 이미다졸로부터 선택된다.

[0107] 다른 바람직한 친전자성 기는 석신이미딜 카르보네이트, 말레이미드, 벤조트리아졸 카르보네이트, 글리시딜 에테르, 이미다졸릴 카르보네이트, p-니트로페닐 카르보네이트, 아크릴레이트, 트레실레이트, 알데히드, 및 오르토퍼리딜 디설파이드를 포함한다.

[0108] 이들 친전자성 기는 친핵성 물질, 예를 들어 하이드록시, 티오, 또는 아미노 기와의 반응에 처해져 다양한 결합 유형을 생성한다. 이들 친전자성 작용기 중 몇몇은 티올과 같은 친핵성 기가 부가될 수 있는 친전자성 이중 결합을 포함하여, 예를 들어 티오에테르 결합을 형성하게 된다. 이들 기는 말레이미드, 비닐 설펜, 비닐 피리딘, 아크릴레이트, 메타크릴레이트, 및 아크릴아미드를 포함한다. 다른 기는 친핵성 물질에 의해 치환될 수 있는 이탈기를 포함하며; 이는 클로로에틸 설펜, 피리딜 디설파이드(이는 절단가능한 S-S 결합을 포함함), 요오도아세트아미드, 메실레이트, 토실레이트, 티오설포네이트, 및 트레실레이트를 포함한다. 에폭사이드는 친핵성 물질에 의한 개환에 의해 반응하여, 예를 들어 에테르 또는 아민 결합을 형성한다. 올리고머 및 오피오이드 화합물 상에 상기에 기재된 것들과 같은 상보적인 반응성 기를 포함하는 반응들은 본 발명의 접합체를 제조하는 데 이용된다.

[0109] 본 발명의 소정 실시 형태에서, 가수분해적으로 안정한 결합의 형성에 유리한 반응이 바람직하다. 예를 들어, 카르복실산 및, 오르토포에스테르, 석신이미딜 에스테르, 이미다졸릴 에스테르, 및 벤조트리아졸 에스테르를 포함한 그의 활성화된 유도체는 상기 유형의 친핵성 물질과 반응하여 각각 에스테르, 티오에스테르, 및 아미드를 형성하며, 이들 중 아미드가 가장 가수분해적으로 안정하다. 석신이미딜, 이미다졸릴, 및 벤조트리아졸 카르보네이트를 포함한 카르보네이트는 아미노 기와 반응하여 카르바메이트를 형성하게 된다. 이소시아네이트( $R-N=C=O$ )는 하이드록실 또는 아미노 기와 반응하여 각각 카르바메이트( $RNH-C(O)-OR'$ ) 또는 우레아( $RNH-C(O)-NHR'$ ) 결합을 형성하게 된다. 알데히드, 케톤, 글리옥살, 디온 및 그들의 수화물 또는 알코올 부가물(즉, 알데히드 수화물, 헤미아세탈, 아세탈, 케톤 수화물, 헤미케탈, 및 케탈)은 바람직하게 아민과 반응되고, 이어서 원한다면, 생성되는 이민을 환원시켜 아민 결합을 생성하게 된다(환원적 아미노화).

[0110] 본 발명의 다른 실시 형태에서, 생리학적으로 절단가능한 결합의 형성에 유리한 반응이 바람직하다. 방출가능한 결합은, 반드시 아니지만, 오피오이드 화합물에 부착된 수용성 올리고머의 임의의 단편(및/또는 임의의 스페이서 부분 또는 링커)을 이탈시킴 없이 생체내에서(그리고 일부 경우에는 시험관내에서) 오피오이드 화합물로부터 떨어지는 수용성 올리고머(및 임의의 스페이서 부분)를 생성할 수 있다. 예시적인 방출가능한 결합은 카르보네이트, 카르복실레이트 에스테르, 포스페이트 에스테르, 티오에스테르, 무수물, 아세탈, 케탈, 아실옥시알킬 에테르, 이민, 소정의 카르바메이트, 및 오르토포에스테르를 포함한다. 그러한 결합은 당업계에서 일반적으로 사용되는 커플링 방법을 사용하여 오피오이드 화합물 및/또는 중합체 시약의 반응에 의해 용이하게 형성될 수 있다. 가수분해가능한 결합은 흔히 적합하게 활성화된 올리고머와, 오피오이드 화합물 내에 포함된 비개질된 작용기의 반응에 의해 용이하게 형성된다.

[0111] 일부 경우에, 오피오이드 작용제는 접합에 적합한 작용기를 갖지 않을 수 있다. 이 경우에는, "원래의(original)" 오피오이드 작용제를 개질하여 그것이 원하는 작용기를 갖게 하는 것이 가능하다. 예를 들어, 오피오이드 작용제가 아미드 기를 갖지만, 아민 기가 요구된다면, 호프만 전위, 커티스 전위(일단 아미드가 아지드로 전환됨) 또는 로슨 전위(일단 아미드가 하이드록사아미드로 전환된 후, 툴릴렌-2-설포닐 클로라이드/염기로 처리됨)에 의해 아미드 기를 아민 기로 개질하는 것이 가능하다.

[0112] 카르복실 기를 갖는 오피오이드 작용제의 접합체를 제조하는 것이 가능한데, 여기서 카르복실 기 함유 오피오이드 작용제는 아미노 종결 올리고머 에틸렌 글리콜에 커플링되어 오피오이드 작용제를 올리고머에 공유 결합시키는 아미드 기를 갖는 접합체를 생성하게 된다. 이는, 예를 들어 카르복실 기 함유 오피오이드 작용제를 무수 유기 용매 중의 커플링 시약(예를 들어, 디사이클로헥실카르보디이미드 또는 "DCC")의 존재 하에서 아미노 종결 올리고머 에틸렌 글리콜과 조합시킴으로써 수행될 수 있다.

- [0113] 또한, 하이드록실 기를 갖는 오피오이드 작용제의 접합체를 제조하는 것이 가능한데, 여기서 하이드록실 기 함유 오피오이드 작용제는 올리고머 에틸렌 글리콜 할라이드에 커플링되어 에테르(-O-) 결합된 오피오이드 화합물 접합체를 생성하게 된다. 이는, 예를 들어 수소화나트륨을 사용하여 하이드록실 기를 탈양성자화하고, 이어서 할라이드 종결 올리고머 에틸렌 글리콜과 반응시킴으로써 수행될 수 있다.
- [0114] 다른 예로, 먼저 케톤 기를 환원시켜 상응하는 하이드록실 기를 형성함으로써 케톤 기를 갖는 오피오이드 작용제의 접합체를 제조하는 것이 가능하다. 이후, 이제 하이드록실 기를 갖는 오피오이드 작용제가 본 명세서에 기재된 바와 같이 커플링될 수 있다.
- [0115] 또 다른 경우로, 아민 기를 갖는 오피오이드 작용제의 접합체를 제조하는 것이 가능하다. 한 가지 접근법에서는, 아민 기 함유 오피오이드 작용제 및 알데히드 함유 올리고머가 적합한 완충액에 용해되고, 이후, 적합한 환원제(예를 들어, NaCNBH<sub>3</sub>)가 첨가된다. 환원 후, 그 결과는 아민 기 함유 오피오이드 작용제의 아민 기와 알데히드 함유 올리고머의 카르보닐 탄소 사이에 형성된 아민 결합이다.
- [0116] 아민 기를 갖는 오피오이드 작용제의 접합체를 제조하기 위한 다른 접근법에서는, 카르복실산 함유 올리고머 및 아민 기 함유 오피오이드 작용제가 전형적으로는 커플링 시약(예를 들어, DCC)의 존재 하에서 조합된다. 그 결과는 아민 기 함유 오피오이드 작용제의 아민 기와 카르복실산 함유 올리고머의 카르보닐 사이에 형성된 아마이드 결합이다.
- [0117] 혈액-뇌 장벽 횡단
- [0118] 본 발명의 소정 실시 형태에서, X는 바람직하게 안정한 링커이다. 본 발명에 따라, 안정한 결합을 통하여 작은 수용성 올리고머에 결합된 소정의 오피오이드 화합물이, 혈액-뇌 장벽을 횡단하는 능력을 유지하지만, 비접합된 오피오이드 화합물에 비하여 감소된 BBB 횡단 속도로 유지한다는 것이 밝혀졌다. 임의의 특정 이론에 의해 구애되고자 함이 없이, 감소된 BBB 막 횡단 속도는 비접합된 오피오이드 화합물에 대하여 당해 분자의 고유 BBB 투과도 특성의 변화의 직접 함수(direct function)인 것으로 여겨진다. 역시 임의의 특정 이론에 의해 구애되고자 함이 없이, 그러한 오피오이드 접합체는 BBB의 느린 횡단으로 인해 낮은 중독 특성을 가져서, 비접합된 오피오이드 작용제와 관련된 빠른 피크 농도 및 근본적인 중독 황홀경을 피하는 것으로 추정된다. 추가적으로, 본 발명의 화합물은 생체내에서의 오피오이드의 변경된 조직 분포 또는 말초 오피오이드 수용체에서의 감소된 활성으로 인해 비접합된 오피오이드에 비하여 개선된 부작용 프로파일을 나타낼 수 있다.
- [0119] 따라서, 본 발명의 이들 실시 형태에 따라, 접합체가 BBB를 횡단할 수 있다면, 오피오이드 화합물, 링커, 및 수용성 올리고머의 임의의 조합이 사용될 수 있다. 바람직하게, 접합체는 비접합된 오피오이드 작용제에 비하여 감소된 속도로 BBB를 횡단한다. 바람직한 실시 형태에서, 수용성 올리고머는 PEG 부분이다. 전형적으로, PEG 부분은 1 내지 3개(즉, 1개, 2개, 또는 3개)의 폴리에틸렌 글리콜 단위로 이루어진 작은 단량체 PEG이다. 다른 실시 형태에서, PEG 부분은 4 또는 5개의 폴리에틸렌 글리콜 단위일 수 있다.
- [0120] 혈액-뇌 장벽("BBB")에 관하여, 이 장벽은 혈액으로부터 뇌로의 약물의 수송을 제한한다. 이 장벽은 밀착 결합(tight junction)에 의해 결합된 독특한 내피 세포들의 연속층으로 이루어진다. BBB의 총 표면적의 95%를 초과하는 뇌 모세혈관은 대부분의 용질 및 약물이 중추 신경계로 진입하기 위한 주요 경로를 나타낸다.
- [0121] 당업자에 의해 이해될 바와 같이, 분자 크기, 친유성, 및 Pgp 상호작용이 주어진 분자의 고유 BBB 투과도 특성에 영향을 주는 주요 파라미터들 중에 있다. 즉, 이들 인자들은, 이들이 조합하여 취해질 때, 주어진 분자가 BBB를 통과할지, 그리고 만약 그렇다면, 어떤 속도로 통과할지를 제어한다.
- [0122] BBB 내의 작은 기공 크기로 인해, 분자 크기는 주어진 분자가 BBB를 통과할 것인지의 여부를 결정하는 데 중요한 역할을 한다. 매우 큰 분자, 예를 들어 분자량이 5,000달톤인 분자는 BBB를 횡단하지 못할 것이며, 반면 소분자는 BBB를 투과할 가능성이 더 높다. 그러나, 다른 인자들이 또한 BBB 횡단에서 역할을 한다. 안티피린 및 아테놀롤은 둘다 소분자 약물이지만, 안티피린은 용이하게 횡단하는 반면, 아테놀롤의 통과는 매우 제한되거나, 효과적으로 존재하지 않는다. 안티피린은 높은 BBB 투과를 위한 업계 표준물질이며, 아테놀롤은 BBB의 낮은 투과를 위한 업계 표준물질이다. 예를 들어, 문헌[Summerfield et al., *J Pharmacol Exp Ther* 322:205-213 (2007)]을 참조한다. 따라서, 본 발명에 따라, X가 안정한 링커일 경우, 1 내지 3개의 폴리에틸렌 글리콜 단위를 갖는 오피오이드 접합체는 일반적으로 BBB를 횡단할 것으로 예측될 수 있다. 소정의 상황에서, 전체로서 고유 BBB 투과도 특성이 적합할 경우, 4 또는 5개의 폴리에틸렌 글리콜 단위를 갖는 특정 오피오이드 접합체가 또한 BBB를 횡단할 수 있다.

- [0123] 친유성이 또한 BBB 투과에 있어서 인자이다. 친유성은 logP(분배 계수)로, 또는 일부 경우에는 logD(분포 계수)로 표현될 수 있다. 주어진 분자에 대한 logP(또는 logD)는 당업자에 의해 용이하게 평가될 수 있다. logP에 대한 값은 음수(보다 친수성인 분자) 또는 양수(보다 소수성인 분자)일 수 있다. 본 명세서에서 사용될 때, logP에 대해 언급할 때, “더 음”은 logP 스케일 상에서 양의 logP에서 음의 logP의 방향으로 움직이는 것을 의미한다(예를 들어, 2.0의 logP는 4.0의 logP보다 “더 음”이며, -2.0의 logP는 -1.0의 logP보다 “더 음”이다). 음의 logP(친수성 분자)를 갖는 분자는 일반적으로 BBB를 투과하지 않는다. 소정 실시 형태에서, 본 발명의 오피오이드 접합체는 logP가 약 0 내지 약 4.0이다. 바람직하게, 본 발명의 오피오이드 접합체는 logP가 약 1.0 내지 약 3.5이다. 소정 실시 형태에서, 본 발명의 접합체는 logP가 약 4.0, 약 3.5, 약 3.0, 약 2.5, 약 2.0, 약 1.5, 약 1.0, 약 0.5, 또는 약 0이거나, 그것은 logP가 약 0 내지 약 3.5, 약 0 내지 약 3.0, 약 0 내지 약 2.0, 약 0 내지 약 1.0, 약 1.0 내지 약 4.0, 약 1.0 내지 약 3.0, 약 1.0 내지 약 2.0, 약 2.0 내지 약 4.0, 약 2.0 내지 약 3.5, 약 2.0 내지 약 3.0, 약 3.0 내지 약 4.0, 또는 약 3.0 내지 약 3.5의 범위일 수 있다.
- [0124] BBB를 횡단하는 투과성은 또한 BBB에서 고도로 발현되는 ATP-의존성 유출 수송물질인 P-당단백질, 또는 PgP 에 좌우된다. 당업자는 시험관내 방법을 사용하여 화합물이 PgP에 대한 기질인지의 여부를 용이하게 결정할 수 있다. 시험관내에서 PgP에 대하여 기질인 화합물은 생체내에서 BBB를 투과하지 않을 가능성이 높을 것이다. 대조적으로, 시험관내에서 평가될 때 PgP에 대하여 불량한 기질은, 당해 화합물이 본 명세서에 논의되고 당업자에게 알려진 다른 기준을 충족한다면, 일반적으로 BBB의 생체내 투과성을 나타낼 가능성이 높다. 예를 들어, 문헌 [Tsuji, *NeuroRx* 2:54-62 (2005)] 및 문헌 [Rubin and Staddon, *Annu. Rev. Neurosci.* 22:11-28 (1999)]을 참조한다.
- [0125] 소정 실시 형태에서, 수용성 올리고머는 오피오이드 접합체의 원하는 약동학 프로파일에 따라 선택될 수 있다. 다시 말해, 수용성 올리고머에의 오피오이드 화합물의 접합체는 BBB 막 횡단 속도의 순 감소(net reduction)를 가져오겠지만, 속도의 감소는 사용되는 올리고머의 크기에 따라 달라질 수 있다. 일반적으로, BBB 횡단 속도의 최소한의 감소가 요구될 경우, 보다 작은 올리고머가 사용될 수 있으며, BBB 횡단 속도의 보다 대폭적인 감소가 요구될 경우, 보다 큰 올리고머가 사용될 수 있다. 소정 실시 형태에서, 둘 이상의 상이한 오피오이드 접합체의 조합이 동시에 투여될 수 있는데, 여기서 각각의 접합체는 상이한 크기의 수용성 올리고머 부분을 가지며, 각각의 접합체에 대한 BBB 횡단의 속도가 상이한 올리고머 크기로 인해 상이하다. 이런 방식으로, 오피오이드 화합물의 BBB 횡단의 속도 및 지속시간이 다양한 약동학 프로파일을 갖는 다수의 접합체의 동시 투여를 통하여 구체적으로 제어될 수 있다.
- [0126] 화합물에 대한 그의 혈액-뇌 장벽 횡단 능력의 정도는 용이하게 알려져 있지 않으며, 그러한 능력은 동일계내 (*in situ*) 래트 뇌 관류(rat brain perfusion, "RBP") 모델과 같은 적합한 동물 모델을 사용하여 측정될 수 있다. 간단히 말하면, RBP 기술은 경동맥(carotid artery)의 캐놀러 삽입에 이어, 제어된 조건 하에서 화합물 용액을 관류시킨 후, 세척 단계(wash out phase)를 거쳐 혈관 공간 내에 남아 있는 화합물을 제거하는 것을 포함한다. (그러한 분석은, 예를 들어 미국 펜실베이니아주 액톤 소재의 어브썬션 시스템즈(Absorption Systems)와 같은 계약연구조직(contract research organization)에 의해 수행될 수 있다.) 보다 구체적으로는, RBP 모델에서, 캐놀러는 왼쪽 경동맥에 유치되고, 측지(side branch)들은 묶여진다. (반드시는 아니지만 전형적으로 5 마이크로몰 농도 수준의) 피분석물을 함유하는 생리학적 완충액이 단회 통과 관류 실험에서 약 10mL/분의 유량으로 관류된다. 30초 후, 관류를 정지하고, 뇌 혈관 내용물이 화합물 무함유 완충액으로 추가 30초 동안 세척된다. 이어서, 뇌 조직을 꺼내고, 탠덤(tandem) 질량 분석 검출을 갖는 액체 크로마토그래프(LC/MS/MS)를 통해 화합물 농도에 대하여 분석한다. 대안적으로, 화합물의 분자 극성 표면적(polar surface area, "PSA")의 계산에 기초하여 혈액-뇌 장벽 투과도가 개산될 수 있는데, 이 극성 표면적은 분자 내 극성 원자(통상적으로는 산소, 질소 및 부착된 수소)의 표면 기여의 합계로서 정의된다. PSA는 혈액-뇌 장벽 수송과 같은 화합물 수송 특성과 상관하는 것으로 밝혀져 왔다. 화합물의 PSA를 측정하는 방법은, 예를 들어 문헌[Ertl, P., *et al.*, *J. Med. Chem.* 2000, **43**, 3714-3717]; 및 문헌[Kelder, J., *et al.*, *Pharm. Res.* 1999, **16**, 1514-1519]에서 찾아볼 수 있다.
- [0127] X가 안정한 링커인 실시 형태에서, 오피오이드 접합체의 분자량은 바람직하게 2000달톤 미만, 그리고 더 바람직하게는 1000달톤 미만이다. 다른 실시 형태에서, 접합체의 분자량은 950달톤 미만, 900달톤 미만, 850달톤 미만, 800달톤 미만, 750달톤 미만, 700달톤 미만, 650달톤 미만, 600달톤 미만, 550달톤 미만, 500달톤 미만, 450달톤 미만, 또는 400달톤 미만이다.
- [0128] X가 안정한 링커인 소정 실시 형태에서, X-POLY(즉, 존재할 경우 링커와 조합된 수용성 올리고머)의 분자량은

바람직하게 2000달톤 미만이다. 일부 실시 형태에서, 오피오이드 접합체의 분자량은 바람직하게 1000달톤 미만이다. 다른 실시 형태에서, 접합체의 분자량은 950달톤 미만, 900달톤 미만, 850달톤 미만, 800달톤 미만, 750달톤 미만, 700달톤 미만, 650달톤 미만, 600달톤 미만, 550달톤 미만, 500달톤 미만, 450달톤 미만, 400달톤 미만, 350달톤 미만, 300달톤 미만, 250달톤 미만, 200달톤 미만, 150달톤 미만, 100달톤 미만, 또는 50달톤 미만이다.

[0129] X가 안정한 링커일 경우, 접합체(즉, OP-X-POLY)는 바람직하게 비접합된 오피오이드 화합물(즉, OP)보다 덜 소수성이다. 다시 말해, 접합체의 logP는 바람직하게 비접합된 오피오이드 화합물의 logP보다 더 음이다. 일 실시 형태에서, 접합체의 logP는 비접합된 오피오이드 화합물의 것보다 약 0.5 단위가 더 음이다. 다른 실시 형태에서, 접합체의 logP는 비접합된 오피오이드 화합물보다 약 4.0 단위가 더 음이거나, 약 3.5 단위가 더 음이거나, 약 3.0 단위가 더 음이거나, 약 2.5 단위가 더 음이거나, 약 2.0 단위가 더 음이거나, 약 1.5 단위가 더 음이거나, 약 1.0 단위가 더 음이거나, 약 0.9 단위가 더 음이거나, 약 0.8 단위가 더 음이거나, 약 0.7 단위가 더 음이거나, 약 0.6 단위가 더 음이거나, 약 0.4 단위가 더 음이거나, 약 0.3 단위가 더 음이거나, 약 0.2 단위가 더 음이거나, 약 0.1 단위가 더 음이다. 소정 실시 형태에서, 접합체의 logP는 비접합된 오피오이드 화합물보다 약 0.1 단위 내지 약 4.0 단위가 더 음이거나, 약 0.1 단위 내지 약 3.5 단위가 더 음이거나, 약 0.1 단위 내지 약 3.0 단위가 더 음이거나, 약 0.1 단위 내지 약 2.5 단위가 더 음이거나, 약 0.1 단위 내지 약 2.0 단위가 더 음이거나, 약 0.1 단위 내지 약 1.5 단위가 더 음이거나, 약 0.1 단위 내지 약 1.0 단위가 더 음이거나, 약 0.1 단위 내지 약 0.5 단위가 더 음이거나, 약 0.5 단위 내지 약 4.0 단위가 더 음이거나, 약 0.5 단위 내지 약 3.5 단위가 더 음이거나, 약 0.5 단위 내지 약 3.0 단위가 더 음이거나, 약 0.5 단위 내지 약 2.5 단위가 더 음이거나, 약 0.5 단위 내지 약 2.0 단위가 더 음이거나, 약 0.5 단위 내지 약 1.5 단위가 더 음이거나, 약 0.5 단위 내지 약 1.0 단위가 더 음이거나, 약 1.0 단위 내지 약 4.0 단위가 더 음이거나, 약 1.0 단위 내지 약 3.5 단위가 더 음이거나, 약 1.0 단위 내지 약 3.0 단위가 더 음이거나, 약 1.0 단위 내지 약 2.5 단위가 더 음이거나, 약 1.0 단위 내지 약 2.0 단위가 더 음이거나, 약 1.0 단위 내지 약 1.5 단위가 더 음이거나, 약 1.5 단위 내지 약 4.0 단위가 더 음이거나, 약 1.5 단위 내지 약 3.5 단위가 더 음이거나, 약 1.5 단위 내지 약 3.0 단위가 더 음이거나, 약 1.5 단위 내지 약 2.5 단위가 더 음이거나, 약 1.5 단위 내지 약 2.0 단위가 더 음이거나, 약 2.0 단위 내지 약 4.0 단위가 더 음이거나, 약 2.0 단위 내지 약 3.5 단위가 더 음이거나, 약 2.0 단위 내지 약 3.0 단위가 더 음이거나, 약 2.0 단위 내지 약 2.5 단위가 더 음이거나, 약 2.5 단위 내지 약 4.0 단위가 더 음이거나, 약 2.5 단위 내지 약 3.5 단위가 더 음이거나, 약 2.5 단위 내지 약 3.0 단위가 더 음이거나, 약 3.0 단위 내지 약 4.0 단위가 더 음이거나, 약 3.0 단위 내지 약 3.5 단위가 더 음이거나, 약 3.5 단위 내지 약 4.0 단위가 더 음이다. 일부 특정 실시 형태에서, 접합체의 logP는 비접합된 오피오이드 화합물의 logP와 동일하거나 그보다 더 양이다.

[0130] 수용체 결합 및 다른 특징

[0131] X가 안정한 링커일 경우, 본 발명의 접합체는 바람직하게 그의 표적 수용체(들)에 대하여 적합한 친화성을 유지하며, 더 나아가 뇌 속에서 적합한 농도 및 효능을 유지한다. 바람직하게, 수용성 올리고머는 접합된 오피오이드가 비접합된 오피오이드 화합물이 결합되는 것과 동일한 수용체(들)에 적어도 일부 결합되도록 하는 방법으로 오피오이드에 접합된다. 오피오이드 작용제 또는 오피오이드 작용제와 수용성 올리고머의 접합체가, 예를 들어 뮤, 카파, 또는 델타 오피오이드 수용체 작용제로서의 활성을 갖는지의 여부를 결정하기 위하여, 그러한 화합물을 시험하는 것이 가능하다. 예를 들어, 재조합 사람 뮤, 카파, 또는 델타 오피오이드 수용체를 이중 발현시키는 CHO 세포에서의 방사성 리간드 결합 검정이 사용될 수 있다. 간단히 말하면, 세포가 24-웰 플레이트 내에서 평판 배양되고 검정 완충액으로 세척된다. 경쟁 결합 검정이 적절한 농도의 방사성 리간드의 존재 하에서 오피오이드 접합체의 증가하는 농도들에 따라 인큐베이션된 접착성 전 세포(adherent whole cell)에 대해 수행된다. [<sup>3</sup>H]날록손, [<sup>3</sup>H]디프레노르핀 및 [<sup>3</sup>H]DPDPE가 각각 뮤, 카파 및 델타 수용체에 대한 경쟁 방사성 리간드로서 사용된다. 인큐베이션 후, 세포가 세척되고, NaOH에 의해 가용화되고, 결합된 방사능이 섬광 계수기를 사용하여 측정된다.

[0132] 소정 실시 형태에서, 본 발명의 접합체의 Ki 값은 0.1 내지 900nM의 범위, 바람직하게는 0.1 내지 300nM의 범위, 그리고 더 바람직하게는 0.1 내지 50nM의 범위에 속한다. X가 안정한 링커인 바람직한 실시 형태에서, OP의 그의 표적 수용체(들)에 대한 친화성에 대하여 접합된 오피오이드 화합물(즉, OP-X-POLY의 OP)의 친화성의 손실이 없으며, 일부 실시 형태에서, 접합된 오피오이드 화합물의 친화성은 OP의 그의 표적 수용체(들)에 대한 친화성보다 더 클 수 있다. X가 안정한 링커인 바람직한 실시 형태에서, 접합된 오피오이드 화합물(즉, OP-X-POLY의 OP)의 친화성은 OP의 그의 표적 수용체(들)에 대한 친화성에 대하여 최소한으로 감소되며, 일부 경우에

심지어는 친화성의 증가를 나타내거나 또는 친화성 변화를 나타내지 않을 수도 있다. 바람직하게는, 비접합된 오피오이드 화합물의 그의 표적 수용체(들)에 대한 친화성에 대하여 접합된 오피오이드 화합물의 친화성의 손실이 약 2배 미만이다. 소정 실시 형태에서, 바람직하게는 비접합된 오피오이드 화합물의 그의 표적 수용체(들)에 대한 친화성에 대하여 접합된 오피오이드 화합물의 친화성의 손실이 약 5배 미만, 약 10배 미만, 약 20배 미만, 약 30배 미만, 약 40배 미만, 약 50배 미만, 약 60배 미만, 약 70배 미만, 약 80배 미만, 약 90배 미만, 또는 약 100배 미만이다.

[0133] X가 안정한 링커인 소정의 다른 실시 형태에서, 바람직하게는 비접합된 오피오이드 화합물의 그의 표적 수용체(들)에 대한 친화성에 대하여 접합된 오피오이드 화합물의 친화성의 감소는 20% 미만이다. 일부 실시 형태에서, 비접합된 오피오이드 화합물에 대하여 접합된 오피오이드 화합물의 친화성의 감소는 10% 미만, 30% 미만, 40% 미만, 50% 미만, 60% 미만, 70% 미만, 80% 미만, 90% 미만, 또는 95% 미만이다.

[0134] X가 안정한 링커인 소정 실시 형태에서, BBB를 횡단하는 속도, 또는 접합체의 투과율은 OP 단독의 횡단 속도 미만이다. 바람직하게는, 횡단 속도는 OP 단독의 속도의 적어도 약 50% 미만이다. 소정의 다른 실시 형태에서, OP 단독의 횡단 속도에 대하여 접합체의 BBB 횡단 속도의 감소가 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 또는 적어도 약 99%이다. 다른 실시 형태에서, 본 발명의 접합체는 OP 단독의 횡단 속도에 대하여 접합체의 BBB 횡단 속도의 감소가 10 내지 99%, 10 내지 50%, 50 내지 99%, 50 내지 60%, 60 내지 70%, 70 내지 80%, 80 내지 90%, 또는 90 내지 99%를 나타낼 수 있다.

[0135] X가 안정한 링커인 본 발명의 접합체는 OP 단독의 횡단 속도에 대하여 BBB 횡단 속도에서 1 내지 100배의 감소를 나타낼 수 있다. 소정 실시 형태에서, 비접합된 오피오이드 화합물의 BBB 횡단 속도에 대하여 접합된 오피오이드 화합물의 BBB 횡단 속도의 손실이 적어도 약 2배, 적어도 약 5배, 적어도 약 10배, 적어도 약 20배, 적어도 약 30배, 적어도 약 40배, 적어도 약 50배, 적어도 약 60배, 적어도 약 70배, 적어도 약 80배, 적어도 약 90배, 또는 적어도 약 100배일 수 있다.

[0136] X가 안정한 링커인 본 발명의 접합체의 BBB 횡단 속도는 또한 안티피린(높은 투과 표준물질) 및/또는 아테놀롤(낮은 투과 표준물질)의 BBB 횡단 속도에 대하여 살펴볼 수 있다. 안티피린 및/또는 아테놀롤의 BBB 횡단 속도에 대하여 본 발명의 접합체의 BBB 횡단 속도에 대한 임의의 언급에서는 이들 속도가 동일한 조건 하에서 동일한 검정으로 평가되었다는 것이 암시되어 있음이 당업자에 의해 이해될 것이다. 따라서, 소정 실시 형태에서, 본 발명의 접합체는 안티피린의 BBB 횡단 속도에 대하여 적어도 약 2배 더 낮거나, 적어도 약 5배 더 낮거나, 적어도 약 10배 더 낮거나, 적어도 약 20배 더 낮거나, 적어도 약 30배 더 낮거나, 적어도 약 40배 더 낮거나, 적어도 약 50배 더 낮거나, 적어도 약 60배 더 낮거나, 적어도 약 70배 더 낮거나, 적어도 약 80배 더 낮거나, 적어도 약 90배 더 낮거나, 적어도 약 100배 더 낮은 속도의 BBB 횡단 속도를 나타낼 수 있다. 다른 실시 형태에서, 본 발명의 접합체는 아테놀롤의 BBB 횡단 속도에 대하여 적어도 약 2배 더 크거나, 적어도 약 5배 더 크거나, 적어도 약 10배 더 크거나, 적어도 약 20배 더 크거나, 적어도 약 30배 더 크거나, 적어도 약 40배 더 크거나, 적어도 약 50배 더 크거나, 적어도 약 60배 더 크거나, 적어도 약 70배 더 크거나, 적어도 약 80배 더 크거나, 적어도 약 90배 더 크거나, 적어도 약 100배 더 큰 속도의 BBB 횡단 속도를 나타낼 수 있다.

[0137] X가 안정한 링커일 경우, 접합체(즉, OP-X-POLY)는 비접합된 오피오이드 화합물(즉, OP)에 대하여 오피오이드 작용제 생체활성의 전부 또는 일부를 유지할 수 있다. 바람직하게, 접합체는 비접합된 오피오이드 화합물에 대하여 오피오이드 작용제 생체활성 전부를 유지하거나, 일부 상황에서는, 비접합된 오피오이드 화합물보다 더욱 더 활성이다. 바람직하게, 본 발명의 접합체는 비접합된 오피오이드 화합물에 대하여 생체활성의 감소가 약 2배 미만, 약 5배 미만, 약 10배 미만, 약 20배 미만, 약 30배 미만, 약 40배 미만, 약 50배 미만, 약 60배 미만, 약 70배 미만, 약 80배 미만, 약 90배 미만, 또는 약 100배 미만을 나타낸다. 일부 실시 형태에서, 접합된 오피오이드 화합물은 비접합된 오피오이드 화합물에 대하여 적어도 1%, 적어도 2%, 적어도 3%, 적어도 4%, 적어도 5%, 적어도 6%, 적어도 7%, 적어도 8%, 적어도 9%, 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 또는 적어도 95%의 오피오이드 작용제 생체활성을 유지한다.

[0138] 본 명세서에 나열된 값들은 예시적이고 비제한적이며, 오피오이드 작용제와 수용성 올리고머의 소정의 접합체가 본 명세서에 열거된 범위 밖에 속하면서도 여전히 본 발명의 사상 및 범주 내에 유지될 수 있음이 당업자에 의해 이해될 것이다. 접합체는 당업자에게 일상 실험으로서 제조되고 시험될 수 있다. 특히, 안정한 결합을 통하

여 수용성 올리고머에 결합된 오피오이드 작용제는 전술된 혈액-뇌 장벽의 침투에 대하여 시험될 수 있다. 따라서, 당업자는 접합체가 BBB를 횡단할 수 있는지의 여부를 용이하게 확인할 수 있다.

- [0139] 본 발명의 이들 실시 형태의 접합체의 전 범주가 기재되어 있는 것으로 여겨지지만, 최적 크기의 올리고머가 하기와 같이 결정될 수 있다.
- [0140] 먼저, 단분산 또는 이분성의 수용성 올리고머로부터 획득된 올리고머가 안정한 결합을 통하여 오피오이드 작용제에 접합된다. 다음에, 활성의 시험관내 유지가 분석된다. 이어서, 적절한 모델을 사용하여 혈액-뇌 장벽을 횡단하는 접합체의 능력을 측정하고, 비개질된 부모 오피오이드 화합물의 것과 비교한다. 그 결과가 순조롭다면, 즉, 만약, 예를 들어 횡단 속도가 적절한 정도로 감소된다면, 이어서 접합체의 생체활성이 추가로 평가된다. 바람직하게, 본 발명에 따른 화합물은 부모 오피오이드 화합물에 비하여 상당한 정도의 생체활성을 유지하며, 즉 부모 오피오이드 화합물의 생체활성의 약 30% 초과, 또는 더욱 더 바람직하게는, 부모 오피오이드 화합물의 생체활성의 약 50% 초과를 유지한다. 바람직하게, 오피오이드 작용제는 경구로 생체이용가능하다.
- [0141] 동일한 단량체 유형이지만 하위단위의 개수가 상이한 올리고머들을 사용하여 상기 단계들을 1회 이상 반복하고, 그 결과를 비교한다.
- [0142] 각각의 접합체에 대하여, 혈액-뇌 장벽을 횡단하는 능력이 비접합된 오피오이드 작용제와 비교하여 적절하게 감소되는 경우, 이어 경구 생체이용률이 평가된다. 이들 결과에 기초하여, 즉 오피오이드 작용제 내의 주어진 위치 또는 장소에서 소정의 오피오이드 작용제에 대하여 변하는 크기의 올리고머들의 접합체들의 비교에 기초하여, 생체막 횡단, 경구 생체이용률, 및 생체활성의 적절한 감소 사이에 최적의 균형을 갖는 접합체를 제공하는 데 가장 효과적인 올리고머의 크기를 결정하는 것이 가능하다. 이들 올리고머의 작은 크기가 그러한 스크리닝을 실현가능하게 하며, 생성되는 접합체의 특성을 효과적으로 조정할 수 있게 한다. 올리고머 크기에서 작은 증분 변화(small, incremental change)를 만들고 실험적 설계 접근법을 이용함으로써, 생체막 횡단 속도, 생체활성, 및 경구 생체이용률의 감소의 유리한 균형을 갖는 접합체를 효과적으로 식별할 수 있다. 일부 경우에, 본 명세서에 개시된 올리고머의 부착이 오피오이드 작용제의 경구 생체이용률을 실제로 증가시키는 데 효과적이다.
- [0143] 예를 들어, 당업자는 일상 실험을 이용하여, 먼저 상이한 중량 및 작용기를 갖는 일련의 올리고머들을 제조하고, 이어서 접합체를 환자에 투여함으로써 필요한 클리어런스 프로파일들을 획득하고 주기적으로 혈액 및 /또는 요소 샘플을 채취함으로써 경구 생체이용률을 개선하기 위한 최적의 분자 크기 및 결합을 결정할 수 있다. 일단 각각의 시험된 접합체에 대하여 일련의 클리어런스 프로파일들이 획득되었다면, 적합한 접합체가 식별될 수 있다.
- [0144] 경구 약물 수송을 연구하기 위해서 동물 모델(설치류 및 개)이 또한 사용될 수 있다. 추가적으로, 비생체내 방법은 설치류의 외빈된 장관의 절제된 조직(rodent everted gut excised tissue) 및 Caco-2 세포 단층 조직 배양 모델을 포함한다. 이들 모델은 경구 약물 생체이용률을 예측하는 데 유용하다.
- [0145] 본 발명의 소정의 다른 실시 형태에서, X는 바람직하게 생리학적으로 절단가능한 링커이다. 본 발명에 따르면, 절단가능한 결합을 통하여 작은 수용성 올리고머에 결합된 소정의 오피오이드 화합물은 그의 접합된 형태로 BBB를 횡단할 수 없으며, 따라서 수용성 올리고머로부터 오피오이드 화합물의 느린 생리학적 절단으로 인해 BBB 막 횡단 속도의 순 감소를 나타냄이 밝혀졌다. 특히, X는 비접합된 오피오이드 화합물의 원하는 약동학 프로파일에 따라 선택될 수 있다. 다시 말해, 수용성 올리고머에의 오피오이드 화합물의 접합은 BBB 막 횡단 속도의 순 감소를 가져오겠지만, 속도의 감소는 사용되는 링커에 따라 달라질 수 있다. BBB 횡단 속도의 최소한의 감소가 요구될 경우, X는 빠르게 분해되는 링커일 수 있으며, BBB 횡단 속도의 대폭적인 감소가 요구될 경우, X는 보다 느리게 분해되는 링커일 수 있다. 소정 실시 형태에서, 둘 이상의 상이한 오피오이드 접합체의 조합이 동시에 투여될 수 있는데, 여기서 각각의 접합체는 상이한 링커 X를 가지며, 각각의 X의 분해 속도는 상이하다. 다시 말해, 각각의 상이한 접합체에 대하여, 오피오이드 화합물이 수용성 올리고머로부터 상이한 속도로 절단될 것이며, 그 결과 상이한 순 BBB 막 횡단 속도를 가져올 것이다. 유사한 효과가 둘 이상의 오피오이드 부착 부위를 갖는 다작용성 수용성 올리고머의 사용을 통하여 달성될 수 있는데, 이때 각각의 오피오이드는 다양한 분해 속도를 갖는 링커들을 통하여 그 수용성 올리고머에 결합된다. 이러한 방법으로, 오피오이드 화합물의 BBB 횡단의 속도 및 지속시간이 다양한 약동학 프로파일을 갖는 다수의 접합체의 동시 투여를 통하여 구체적으로 제어될 수 있다.
- [0146] 임의의 특정 이론에 의해 구애되고자 함이 없이, 그러한 오피오이드 접합체는 (접합체의 투여 후 느린 생리학적

절단으로 인한) BBB의 순 느린 횡단으로 인해 낮은 증독 특성을 가져서, 비접합된 오피오이드 작용제와 관련된 빠른 피크 농도 및 근본적인 증독 항홍경을 피하는 것으로 추정된다. 역시, 임의의 특정 이론에 의해 구해되고 자 함이 없이, 본 발명의 오피오이드 접합체는 혈장에서 순환하며, 사용되는 특정 절단가능한 링커(그리고, 효소적으로 분해가능한 링커에 대해서는, 효소 농도 및 친화성)에 의존하는 속도로 생체내에서 절단되어, 말초에서 순환하는 비접합된 오피오이드의 농도가 느린 절단 속도로 인해 일반적으로 매우 낮게 되도록 하는 것으로 여겨진다. 일단 절단이 일어나면, 비접합된 오피오이드는 뇌로 이동하여 BBB를 횡단할 수 있으며, 절단을 통한 비접합된 오피오이드의 느린 방출은 뇌로의 비접합된 오피오이드의 순 느린 전달을 가져온다. 추가적으로, 본 발명의 화합물은 생체내에서의 오피오이드의 변경된 조직 분포 및 말초에서의 변경된 수용체 상호작용으로 인해 비접합된 오피오이드에 비하여 개선된 부작용 프로파일을 나타낸다.

[0147] 더욱이, 본 발명의 이들 실시 형태에 따라, 접합체가 BBB를 횡단할 수 없거나, 또는 접합체의 단지 작은 부분만이, 바람직하게는 투여되는 것의 5% 미만이 BBB를 횡단할 수 있다면, 오피오이드 화합물, 링커, 및 수용성 올리고머의 임의의 조합이 사용될 수 있다. 바람직하게, 접합체는 BBB를 통과할 수 없다. 더 바람직하게는, 분자의 오피오이드 부분이, 접합체의 생리학적 절단으로 인해, 비접합된 오피오이드 작용제에 대하여 순 감소된 속도로 BBB를 횡단한다. 바람직한 실시 형태에서, 수용성 올리고머는 PEG 부분이다. 소정의 이들 실시 형태에서, PEG 부분은 적어도 6개의 폴리에틸렌 글리콜 단위, 바람직하게는 6 내지 35개의 폴리에틸렌 글리콜 단위로 이루어진 작은 단량체 PEG이다. 일부 경우에, PEG 부분은 6 내지 1825개의 폴리에틸렌 글리콜 단위일 수 있다.

[0148] X가 생리학적으로 절단가능한 링커일 경우, 접합체(즉, OP-X-POLY)는 생체활성일 수도 있거나 아닐 수도 있다. 바람직하게, 접합체는 생체활성이 아니다. 그러한 접합체는 그럼에도 불구하고 이를 필요로 하는 포유류 대상에 생체내에서 투여될 때, 투여 후에 접합체로부터의 오피오이드 화합물의 방출로 인해 효과적이다. 바람직하게, 본 발명의 접합체는 비접합된 오피오이드 화합물에 대하여 생체 활성의 감소가 약 10배 초과, 약 20배 초과, 약 30배 초과, 약 40배 초과, 약 50배 초과, 약 60배 초과, 약 70배 초과, 약 80배 초과, 약 90배 초과, 약 95배 초과, 약 97배 초과, 또는 약 100배 초과를 나타낸다. 일부 실시 형태에서, 접합된 오피오이드 화합물은 비접합된 오피오이드 화합물에 대하여 1% 미만, 2% 미만, 3% 미만, 4% 미만, 5% 미만, 10% 미만, 15% 미만, 20% 미만, 25% 미만, 30% 미만, 35% 미만, 40% 미만, 50% 미만, 60% 미만, 70% 미만, 80% 미만 또는 90% 미만의 오피오이드 작용제 생체활성을 유지한다.

[0149] X가 생리학적으로 절단가능한 링커인 다른 실시 형태에서, OP-X-POLY의 OP 표적 수용체에 대한 친화성은 OP의 그의 표적 수용체에 대한 친화성에 대하여 사실상 감소된다. 바람직하게는, 비접합된 오피오이드 화합물의 그의 표적 수용체(들)에 대한 친화성에 대하여 접합된 오피오이드 화합물의 친화성의 손실이 적어도 약 2배이다. 소정 실시 형태에서, 바람직하게는 비접합된 오피오이드 화합물의 그의 표적 수용체(들)에 대한 친화성에 대하여 접합된 오피오이드 화합물의 친화성의 손실이 적어도 약 5배, 적어도 약 10배, 적어도 약 20배, 적어도 약 30배, 적어도 약 40배, 적어도 약 50배, 적어도 약 60배, 적어도 약 70배, 적어도 약 80배, 적어도 약 90배, 또는 적어도 약 100배이다.

[0150] X가 생리학적으로 절단가능한 링커인 소정의 다른 실시 형태에서, 바람직하게는 비접합된 오피오이드 화합물의 그의 표적 수용체(들)에 대한 친화성에 대하여 접합된 오피오이드 화합물의 친화성의 감소가 적어도 20%이다. 일부 실시 형태에서, 비접합된 오피오이드 화합물에 대하여 접합된 오피오이드 화합물의 친화성의 감소가 적어도 10%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 또는 적어도 95%이다.

[0151] 이미 기재된 바와 같이, X가 생리학적으로 절단가능한 링커인 소정 실시 형태에서, 접합체는 생체활성이 아니다. 그러한 접합체는 투여된 화합물이 불활성이며, 투여 후에 생리학적 과정을 통하여 활성으로 되는 전구 약물을 나타낸다. 따라서, 소정 실시 형태에서, 본 발명은 공유 결합을 통하여 방출가능한 부분에 가역적으로 부착된 오피오이드 작용제를 포함하는 전구약물로서, 환자에게 투여되는 주어진 몰량의 전구약물이, 포유류의 중추 신경계에서의 오피오이드 작용제의 축적 속도 및  $C_{max}$ 가, 오피오이드 작용제가 전구약물의 일부로서 투여되지 않은 등몰량의 오피오이드 작용제의 축적 속도 및  $C_{max}$  미만을 나타내는 전구약물을 제공한다. 방출가능한 부분은 수용성 올리고머, 바람직하게는 폴리에틸렌 글리콜 올리고머일 수 있다. 이 작용제는 뮤, 카파, 또는 델타 오피오이드 작용제일 수 있다.

[0152] 본 발명의 소정의 다른 실시 형태에서, X는 바람직하게 생리학적으로 절단가능한 링커이며, POLY는 1 내지 5개(즉, 1, 2, 3, 4, 또는 5개)의 폴리에틸렌 글리콜 단위, 바람직하게는 1 내지 3개(즉, 1, 2, 또는 3개)의 폴리에틸렌 글리콜 단위로 이루어진 작은 단량체 PEG이다. 그러한 화합물은 혈액-뇌 장벽을 횡단하기에 충분히 작지

만, 비접합된 오피오이드 화합물에 대하여 감소된 막 횡단 속도로 횡단하며, 그렇기 때문에, 앞서 논의된 낮은 증독 특성을 갖는다. 바람직하게, X는 BBB를 횡단한 후에 링커의 절단 및 오피오이드 화합물의 방출을 제공하도록 선택된다. 대안적으로, 링커의 절단이 BBB를 횡단하기 전과 후 둘 모두에서 일어날 수 있으며; 이 방법으로 오피오이드 화합물의 BBB 횡단의 속도 및 지속시간이 구체적으로 제어될 수 있다.

[0153] 약제학적 조성물

[0154] 추가의 실시 형태에서, 본 발명은 본 명세서에 개시된 OP-X-POLY 화합물 및 약제학적으로 허용되는 부형제 또는 담체를 포함하는 조성물을 제공한다. 일반적으로, 접합체 그 자체는 고체 형태(예를 들어, 침전물)일 것이며, 이는 고체 또는 액체 형태일 수 있는 적합한 약제학적 부형제와 조합될 수 있다.

[0155] 예시적인 부형제는 제한 없이, 탄수화물, 무기 염, 항미생물제, 항산화제, 계면활성제, 완충제, 산, 염기, 및 그 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것들을 포함한다.

[0156] 탄수화물, 예를 들어 당, 알디톨, 알도산, 에스테르화 당과 같은 유도체화 당, 및/또는 당 중합체가 부형제로 존재할 수 있다. 특정 탄수화물 부형제는, 예를 들어 단당류, 예를 들어 프룩토오스, 말토오스, 갈락토오스, 글루코오스, D-만노오스, 소르보오스 등; 이당류, 예를 들어 락토오스, 수크로오스, 트레할로오스, 셀로비오스 등; 다당류, 예를 들어 라피노오스, 멜레지토오스, 말토덱스트린, 텍스트란, 전분 등; 및 알디톨, 예를 들어 만니톨, 자일리톨, 말티톨, 락티톨, 소르비톨(글루시톨), 피라노실 소르비톨, 마이오이노시톨 등을 포함한다.

[0157] 부형제는 또한 무기 염 또는 완충제, 예를 들어 시트르산, 염화나트륨, 염화칼륨, 황산나트륨, 질산칼륨, 인산나트륨(1염기성), 인산나트륨(2염기성), 및 그 조합을 포함할 수 있다.

[0158] 제제는 또한 미생물 성장을 방지하거나 중단시키기 위해서 항미생물제를 포함할 수 있다. 본 발명에 적합한 항미생물제의 비제한적인 예는 벤즈알코늄 클로라이드, 벤즈에토늄 클로라이드, 벤질 알코올, 세틸피리디늄 클로라이드, 클로로부탄올, 페놀, 페닐에틸 알코올, 질산페닐수은, 트리메르졸, 및 그 조합을 포함한다.

[0159] 항산화제 역시 제제에 존재할 수 있다. 항산화제는 산화를 방지하고, 이로써 접합체 또는 제제의 다른 성분들의 열화를 방지하기 위해서 사용된다. 본 발명에 사용하기에 적합한 항산화제는, 예를 들어 아스코르빌 팔미테이트, 부틸화 하이드록시아니솔, 부틸화 하이드록시톨루엔, 차아인산, 모노티오글리세롤, 프로필 갈레이트, 중아황산나트륨, 나트륨 포름알데히드 설폭실레이트, 메타중아황산나트륨, 및 그 조합을 포함한다.

[0160] 계면활성제가 부형제로서 존재할 수 있다. 예시적인 계면활성제는 폴리소르베이트, 예를 들어 "트윈(Tween) 20" 및 "트윈 80", 및 플루로닉, 예를 들어 F68 및 F88(이 둘 모두는 미국 뉴저지주 마운트 올리브 소재의 바스프(BASF)로부터 입수가가능함); 소르비탄 에스테르; 지질, 예를 들어 레시틴 및 다른 포스포티딜콜린, 포스포티딜에탄올아민과 같은 인지질(그러나 바람직하게는 리포솜 형태가 아님), 지방산 및 지방 에스테르; 스테로이드, 예를 들어 콜레스테롤; 및 킬레이팅제, 예를 들어 EDTA, 아연 및 다른 그러한 적합한 양이온을 포함한다.

[0161] 약제학적으로 허용되는 산 또는 염기가 제제에 부형제로서 존재할 수 있다. 사용될 수 있는 산의 비제한적인 예는 염산, 아세트산, 인산, 시트르산, 말산, 락트산, 포름산, 트리클로로아세트산, 질산, 과염소산, 인산, 황산, 푸마르산, 및 그 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 산을 포함한다. 적합한 염기의 예는 제한 없이, 수산화나트륨, 아세트산나트륨, 수산화암모늄, 수산화칼륨, 아세트산암모늄, 아세트산칼륨, 인산나트륨, 인산칼륨, 시트르산나트륨, 포름산나트륨, 황산나트륨, 황산칼륨, 푸마르산칼륨, 및 그 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는 염기를 포함한다.

[0162] 조성물 내의 접합체의 양은 다수의 인자에 따라 달라지겠지만, 최적으로는 조성물이 단위 용량 용기에 저장될 때 치료학적 유효 용량일 것이다. 치료학적 유효 용량은 양이 임상적으로 요구되는 종점(endpoint)을 생성하는지의 여부를 결정하기 위해서 접합체의 증가하는 양들의 반복 투여에 의해 실험적으로 결정될 수 있다.

[0163] 조성물 내의 임의의 개별 부형제의 양은 당해 부형제의 활성 및 조성물의 특정 요구에 따라 달라질 것이다. 전형적으로, 임의의 개별 부형제의 최적량은 임상 실험을 통해, 즉 (낮은 양으로부터 높은 양에 이르는) 부형제의 변화하는 양들을 함유하는 조성물을 제조하고, 안정성 및 다른 파라미터를 검사하고, 이어서 상당한 부작용 없이 최적 효능이 얻어지는 범위를 결정함으로써 결정된다.

[0164] 그러나 일반적으로, 부형제는 약 1 내지 약 99 중량%, 바람직하게는 약 5 내지 98 중량%, 더 바람직하게는 약 15 내지 95 중량%의 부형제의 양으로 조성물에 존재할 것이며, 30 중량% 미만의 농도가 가장 바람직하다.

[0165] 이들 상기 약제학적 부형제와 함께 다른 부형제 및 약제학적 조성물에 관한 일반적 교시 내용이 문헌

["Remington: The Science & Practice of Pharmacy", 19<sup>th</sup> ed., Williams & Williams, (1995)], 문헌[the "Physician's Desk Reference", 52<sup>nd</sup> ed., Medical Economics, Montvale, NJ (1998)], 및 문헌[Kibbe, A.H., Handbook of Pharmaceutical Excipients, 3<sup>rd</sup> Edition, American Pharmaceutical Association, Washington, D.C., 2000]에 기재되어 있다.

- [0166] 약제학적 조성물은 임의의 수의 형태를 취할 수 있으며, 본 발명은 이에 관하여 제한되지 않는다. 예시적인 제제는 가장 바람직하게 정제, 당의정, 캡슐, 젤 캡, 트로키제, 분산액, 현탁액, 용액제, 엘릭서제, 시럽, 로젠지제, 경피 패치, 분무제, 좌제, 및 분말제와 같은 경구 투여에 적합한 형태이다.
- [0167] 경구 투여형이 경구 활성인 접합체에 바람직하며, 경구 투여형은 정제, 당의정, 캡슐, 젤 캡, 현탁액, 용액제, 엘릭서제, 및 시럽을 포함하며 또한, 선택적으로 캡슐화되는, 복수의 과립, 비드, 분말 또는 펠릿을 포함할 수 있다. 그러한 투여형은 약제 제형 분야에 있는 자에게 알려져 있고 적절한 교재에 기재되어 있는 종래의 방법을 사용하여 제조된다.
- [0168] 예를 들어, 정제 및 당의정은 표준 정제 가공 절차 및 설비를 사용하여 제조될 수 있다. 본 명세서에 개시된 접합체를 함유하는 정제 또는 당의정을 제조할 때에는, 직접 압축 및 과립화 기술이 바람직하다. 접합체에 더하여, 정제 및 당의정은 일반적으로 불활성이며 약제학적으로 허용되는 담체 재료, 예를 들어 결합제, 윤활제, 붕해제, 충전제, 안정제, 계면활성제, 착색제 등을 함유할 것이다. 결합제는 정제에 응집 특성을 부여하고, 따라서 정제가 온전한 상태로 유지함을 확보하기 위해 사용된다. 적합한 결합제 재료는 전분(옥수수 전분 및 사전 젤라틴화된 전분을 포함함), 젤라틴, 당(수크로오스, 글루코오스, 텍스트로오스 및 락토오스를 포함함), 폴리에틸렌 글리콜, 왁스, 및 천연 및 합성 고무, 예를 들어 아카시아 나트륨 알기네이트, 폴리비닐피롤리돈, 셀룰로오스 중합체(하이드록시프로필 셀룰로오스, 하이드록시프로필 메틸셀룰로오스, 메틸 셀룰로오스, 미세결정질 셀룰로오스, 에틸 셀룰로오스, 하이드록시에틸 셀룰로오스 등을 포함함), 및 비검(Veegum)을 포함하지만 이로 한정되지 않는다. 윤활제는 정제 제조를 용이하게 하여, 압력이 해제될 때 입자 캐핑(즉, 입자 파쇄)을 방지하고 분말 유동을 촉진시키기 위해서 사용된다. 유용한 윤활제는 스테아르산마그네슘, 스테아르산칼슘, 및 스테아르산이다. 붕해제는 정제의 붕해를 용이하게 하기 위해서 사용되며, 일반적으로 전분, 점토, 셀룰로오스, 알긴, 고무, 또는 가교결합된 중합체이다. 충전제는, 예를 들어 이산화규소, 이산화티타늄, 알루미늄, 활석, 카올린, 분말형 셀룰로오스, 및 미세결정질 셀룰로오스와 같은 재료뿐만 아니라, 만니톨, 우레아, 수크로오스, 락토오스, 텍스트로오스, 염화나트륨, 및 소르비톨과 같은 용해성 재료도 포함한다. 안정제는 당업계에 잘 알려진 바와 같이, 예로서 산화 반응을 포함한 약물 분해 반응을 억제하거나 지연시키기 위해서 사용된다.
- [0169] 캡슐이 또한 바람직한 경구 투여형이며, 이 경우에, 접합체 함유 조성물은 액체 또는 젤(예를 들어, 젤 캡의 경우)이나 또는 고체(과립, 비드, 분말 또는 펠릿과 같은 미립자를 포함함)의 형태로 캡슐화될 수 있다. 적합한 캡슐은 경질 및 연질 캡슐을 포함하며, 일반적으로 젤라틴, 전분, 또는 셀룰로오스 물질로 만들어진다. 2피스 경질 젤라틴 캡슐은 바람직하게, 젤라틴 밴드 등과 같은 것으로 밀봉된다.
- [0170] 전형적으로 액체인 주사용으로 제조된 제형뿐만 아니라, (전형적으로 분말 또는 케이크의 형태일 수 있는 동결 건조물 또는 침전물로서의) 사실상 건조된 형태의 비경구 제형도 포함하며, 비경구 제형의 건조된 형태를 재구성하는 단계를 필요로 한다. 주사 전에 고체 조성물을 재구성하기에 적합한 희석제의 예는 정균 주사용수(bacteriostatic water for injection), 물 중 텍스트로오스 5%, 인산염 완충 식염수, 링거 용액, 식염수, 멸균수, 탈이온수, 및 그 조합을 포함한다.
- [0171] 일부 경우에, 비경구 투여용으로 의도되는 조성물은 비수성 용액, 현탁액, 또는 에멀전의 형태를 취할 수 있으며, 각각은 전형적으로 멸균 상태이다. 비수성 용매 또는 비휘발의 예는 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 식물성 오일, 예를 들어 올리브유 및 옥수수유, 젤라틴, 및 주사가 가능한 유기 에스테르, 예를 들어 에틸 올레에이트이다.
- [0172] 본 명세서에 개시된 비경구 제형은 또한 방부제, 습윤제, 유화제, 및 분산제와 같은 보조제를 함유할 수 있다. 이 제형은 멸균제의 혼입, 박테리아 유지 필터(bacteria-retaining filter)를 통한 여과, 조사(irradiation), 또는 열에 의해 멸균 상태로 만들어진다.
- [0173] 접합체는 또한 종래의 경피 패치 또는 다른 경피 전달 시스템을 사용하여 피부를 통해 투여될 수 있는데, 여기서 접합체는, 피부에 부착되어 약물 전달 장치로서의 역할을 하는 라미네이팅된 구조 내에 함유되어 있다. 그런 구조에서, 접합체는 상부 배낭층 아래에 놓여 있는 "저장소(reservoir)"나 또는 층 내에 함유된다. 라미네이팅

된 구조는 단일 저장소를 함유할 수 있거나, 또는 그것은 다중 저장소를 함유할 수 있다.

[0174] 접합체는 또한 직장내 투여를 위한 좌제로 제형화될 수 있다. 좌제에 관하여, 접합체는 (예를 들어, 실온에서는 고체로 유지되지만 체온에서는 연화되거나, 용융되거나 또는 용해되는 부형제인) 코코아 버터(테오브로마유), 폴리에틸렌 글리콜, 글리세린화 젤라틴, 지방산, 및 그 조합과 같은 좌제 베이스 재료와 혼합된다. 좌제는, 예를 들어 하기의 단계를 (반드시는 아니지만 제시된 순서대로) 수행함으로써 제조될 수 있다: 좌제 베이스 재료를 용융시켜 용융물을 형성하는 단계; (좌제 베이스 재료의 용융 단계 전이나 후에) 접합체를 혼입시키는 단계; 용융물을 금형 내로 붓는 단계; 용융물을 냉각시켜 (예를 들어, 용융물이 들어 있는 금형을 실온 환경에 두어) 이로써 좌제를 형성하는 단계; 및 좌제를 금형으로부터 꺼내는 단계.

[0175] 투여

[0176] 본 발명은 또한 본 명세서에 제공된 접합체를, 당해 접합체에 의한 치료에 반응하는 질환을 앓고 있는 환자에게 투여하는 방법을 제공한다. 이 방법은 (바람직하게 억제학적 제제의 일부로서 제공된) 접합체의 치료학적 유효량을, 일반적으로 경구 투여하는 것을 포함한다. 다른 투여 방식도 고려되는데, 예를 들어, 경피, 비강내, 구강내, 직장내, 설하, 경피, 및 비경구 투여가 있다. 본 명세서에 사용될 때, 용어 "비경구"는 피하, 정맥내, 동맥내, 복강내, 심장내, 수강내, 및 근육내 주사뿐만 아니라 점적 주사도 포함한다.

[0177] 비경구 투여가 이용되는 경우, 분자량이 약 500 내지 30k달톤의 범위(예를 들어, 분자량이 약 500, 1000, 2000, 2500, 3000, 5000, 7500, 10000, 15000, 20000, 25000, 30000 또는 심지어 그 이상임)로, 앞서 기재된 것들보다 다소 더 큰 올리고머(예를 들어, 중합체)를 이용하는 것이 필요할 수 있다.

[0178] 이러한 투여 방법은 특정 접합체의 투여에 의해 개선 또는 예방될 수 있는 임의의 질환을 치료하는 데 사용될 수 있다. 당업자는 특정 접합체가 어떤 질환을 효과적으로 치료할 수 있는지를 이해한다. 투여될 실제의 용량은 대상의 연령, 체중, 및 일반적 건강 상태뿐만 아니라 치료되는 상태의 중증도, 전문의의 판단, 및 투여되는 접합체에 따라라도 달라질 것이다. 치료학적 유효량은 당업자에게 알려져 있고/있거나 적절한 참조 교재 및 문헌에 기재되어 있다. 일반적으로, 치료학적 유효량은 약 0.001mg 내지 1000mg의 범위일 것이며, 바람직하게는 용량으로 0.01mg/일 내지 750mg/일, 그리고 더 바람직하게는 용량으로 0.10mg/일 내지 500mg/일이다.

[0179] (역시, 바람직하게는 억제학적 제제의 일부로서 제공된) 임의의 주어진 접합체의 단위 용량은 임상학의 판단, 환자의 요구 등에 따라 다양한 투약 스케줄로 투여될 수 있다. 구체적인 투약 스케줄은 당업자에게 알려져 있거나 또는 일상 방법을 사용하여 실험적으로 결정될 수 있다. 예시적인 투약 스케줄은 제한 없이, 일일 5회, 일일 4회, 일일 3회, 일일 2회, 일일 1회, 주 3회, 주 2회, 주 1회, 월 2회, 월 1회의 투여, 및 임의의 이들의 조합을 포함한다. 일단 임상 중점이 달성되었다면, 조성물의 투약이 중단된다.

[0180] 본 발명의 접합체를 투여하는 한 가지 이점은 뇌로의 오피오이드 작용제의 전달 속도의 감소가 달성되고, 이로써 비접합된 오피오이드 작용제와 관련된 빠른 피크 농도 및 근본적인 중독 황홀감을 피하게 된다는 것이다. 더욱이, 오피오이드 작용제 분자의 공유 개질에 기초하여, 본 발명의 접합체는 생체내에서 감소된 BBB 횡단 속도를 제공하도록 의도된 소정의 대체 전달 형태와 관련된 속효성 오피오이드 화합물의 회복 및 남용을 가능하게 하는 신체적 탭퍼링의 위험에 처해지지 않는다. 그렇기 때문에, 본 발명의 화합물은 낮은 중독, 남용 방지 특성을 갖는다. 올리고머 분자 크기, 결합, 및 오피오이드 화합물과의 공유 부착의 위치를 선택함으로써 접합체의 원하는 약동학 특성이 조절될 수 있다. 당업자는 본 명세서의 교시 내용을 기초로 하여 올리고머의 이상적인 분자 크기를 결정할 수 있다.

[0181] 용도

[0182] 따라서, 본 발명은 본 명세서에서 상기에 개시된 화학식 OP-X-POLY를 갖는 화합물의 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 오피오이드 치료를 필요로 하는 환자를 치료하는 방법을 제공한다. 바람직하게, 본 발명은 오피오이드 화합물을 작은 수용성 올리고머에 접합시키는 것을 포함하는, 오피오이드 화합물의 남용 잠재성을 감소시키는 방법을 추가로 제공한다. 바람직하게, 접합체는 본 명세서에 기재된 화학식 OP-X-POLY를 갖는다.

[0183] 추가의 실시 형태에서, 본 발명은 오피오이드 작용제를 작은 수용성 올리고머에 접합시키는 것을 포함하는, 오피오이드 작용제의 중독 특성을 감소시키는 방법을 제공한다. 바람직하게, 접합체는 본 명세서에 기재된 화학식 OP-X-POLY를 갖는다.

[0184] 다른 실시 형태에서, 오피오이드 화합물을 작은 수용성 올리고머에 접합시키는 것을 포함하는, 오피오이드 화합물의 혈액-뇌 장벽 횡단 속도를 감소시키지만, 사실상 없애지는 않는 방법이 제공된다. 바람직하게, 접합체는

본 명세서에 기재된 화학식 OP-X-POLY를 갖는다.

- [0185] 본 발명이 소정의 바람직하고 특정한 실시 형태와 함께 설명되어 있지만, 이러한 설명뿐만 아니라 후술되는 실시예에는 예시하고자 하는 것이며 본 발명의 범주를 제한하고자 하는 것이 아님이 이해되어야 한다. 본 발명의 범주 내의 다른 태양, 이점 및 변경이 당업자에게 명백할 것이다.
- [0186] [실시예]
- [0187] 첨부된 실시예에서 언급되는 모든 화학 시약은 달리 지시되지 않는 한 구매가능하다. PEG머(PEG-mer)의 제조는, 예를 들어 미국 특허 출원 공개 제2005/0136031호에 기재되어 있다.
- [0188] **실시예 1**
- [0189] **logP 값의 결정**
- [0190] Log P 및 Log D는 화합물의 친유성의 척도를 제공하며, 더 높거나 더 많은 양의 값은 더 소수성인 화합물을 나타내며, 반면 더 낮거나 더 많은 음의 값은 더 친수성인 화합물을 나타낸다. 시험 화합물의 LogP(옥탄올:이소프로판올/물 분배 계수)는 시리우스(Sirius) GLpKa 기기(시리우스 어널리티컬 인스트루먼트즈, 리미티드(Sirius Analytical Instruments, Ltd), 영국 이스트 섉섹스 소재)를 이용한 전위차 적정 방법을 사용하여 측정된다. DMSO 중 0.1M 시험 화합물 용액의 50  $\mu$ L 분취액을 적정 바이알 내에 놓는다. 검정을 25°C에서 수행한다. 측정된 부피의 옥탄올을 샘플에 자동으로 첨가하고, 이후 기기가 측정된 부피의 이소프로판올 물을 가한다. 0.5M HCl을 자동으로 첨가함으로써 용액의 pH를 2로 조절한다. pH 값이 12에 도달할 때까지 0.5M KOH에 의한 적정을 자동으로 수행한다. 제 2 및 제3 적정을 수행하기 위하여, 추가의 옥탄올 부피를 적정 바이알로 자동으로 전달한다. 3회의 적정에 대한 데이터 세트들을 리파인먼트프로(RefinementPro)에서 조합하여 멀티세트를 생성한다. 다양한 pH 값에서의 Log(D)를 소프트웨어에 의해 자동으로 계산한다.
- [0191] Log P 및 Log D 값은 막을 횡단하는 능력과 같은 분자의 친유성과 관련된 분자의 특성을 예측하거나 평가하는데 사용된다.
- [0192] **실시예 2**
- [0193] **PgP에 대한 수송 검정**
- [0194] P-당단백질, PgP는 체내의 다양한 세포에서 발견되고, 혈액-뇌 장벽에서 고도로 발견되는 유출 수송물질이다. PgP에 대한 기질이 되는 분자는 PgP가 발견되는 조직 내로의 불량한 침투, 또는 조직으로부터의 유출을 나타낸다.
- [0195] PgP를 과도발현하는 MDCKII 세포(MDR-MDCKII)에서 순 수송(net transport)에 대한 PgP의 기여를 측정한다. 수송 연구를 위하여, 경상피 측정에 의해 측정될 때 밀착 단층이 형성될 때까지, MDR-MDCKII 및 MDCKII 세포를 투과성 삼입물 상에서 성장시킨다(3 내지 4일). 크랩스 완충액 중의 시험 화합물을 MDCKII 세포의 정단 쪽 또는 기저외측 쪽에 10  $\mu$ M로 첨가하고, 37°C에서 인큐베이션되게 한다. 두 방향에서 화합물의 수송을 측정한다: 부모 세포 및 MDR 과도발현 세포 둘 모두에서 정단-기저외측(A-B) 및 기저외측-정단(B-A). 0, 30, 60, 90, 120 및 180분째에, 정단 구획 및 기저외측 구획으로부터 분취액을 인출한다. LC-MS/MS에 의해 시험 화합물에 대하여 샘플을 분석한다. 누적 농도 대 시간 도표의 직선부의 기울기로서 플럭스를 계산한다. 겉보기 투과도를  $P_{app} = \text{플럭스}/C_0 \cdot A$ 로서 계산하며, 여기서  $C_0$ 는 사용되는 시험 화합물의 초기 농도(10  $\mu$ M)이고, A는 삼입물의 표면적이다.  $P_{app}(B-A)/P_{app}(A-B)$ 의 비로서 유출비를 계산한다. MDCKII-MDRI 세포에서의 유출 대 부모 MDCKII 세포에서의 유출의 비가 2 이상일 때, 즉 유출비(MDCKII-MDRI)/유출비(MDCKII 세포)  $\geq 2$ 일 때, PgP 매개된 유출 메커니즘의 관여가 지시된다.
- [0196] 막을 횡단하거나 PgP가 고도로 발견되는 CNS와 같은 구획으로 들어가는 능력과 같은 분자의 PgP 상태와 관련된 분자의 특성을 예측하거나 평가하는 데 PgP 상호작용 데이터를 사용한다.

- [0197] **실시예 3**
- [0198] **동일계내 래트 뇌 관류**
- [0199] 동일계내 관류 실험은 혈액-뇌 장벽의 모델을 가로지르는 화합물의 상대 투과도를 측정한다. 문헌[Summerfield et al., *J Pharmacol Exp Ther* 322: 205-213 (2007)]에 기재된 바와 같이 래트 뇌 내로의 오피오이드의 동일계내 관류를 수행한다.
- [0200] 이 연구를 위하여 성체 수컷 스프라그-돌리 래트를 사용한다. 래트를 마취시키고, 관류를 위하여 좌측경동맥에 외과적으로 캐놀러를 삽입한다. 시험 화합물을 크랩스 링거 관류 완충액(pH 7.4) 중 5 내지 50 μM의 농도로 관류시킨다. 아테놀롤 및 안티피린을 낮은 투과도 마커 및 중간 투과도 마커로서 각각 포함시킨다. 30초 관류의 종료 시점에서, 뇌를 꺼내고, 좌뇌 반구를 절제하고 균질화한다. LC-MS/MS를 사용하여 시험 화합물을 추출하고 분석한다. 시험 화합물의 뇌 투과도를 다음과 같이 계산한다:
- [0201]  $P = K_{in}/S$ ,
- [0202] 여기서, P는 투과도(단위: cm/s)이며,  $K_{in}$ 은 단방향 수송 상수(ml/분/g)이고, S는 뇌 혈관 공간의 내강 면적이다.
- [0203] 동일계내 뇌 관류 실험에서 측정된 상대 투과도는 화합물이 말초로부터 중추 신경계로 들어가는 속도에 관한 정보를 제공한다. 그것은 수용성 올리고머와의 접합이 주어진 오피오이드 화합물에 대하여 BBB의 침투를 느리게 하는 정도를 특성화하고 비교하는 데 사용된다.
- [0204] 소정의 예시적인 올리고머 PEG-오피오이드의 뇌 침투 속도를 측정하기 위하여 하기의 실험을 수행하였다:
- [0205] 동일계내 뇌 관류 모델을 사용하여 수컷 스프라그-돌리 래트에서 뇌 침투 잠재성 모르핀, 코데인, 옥시돈 및 그들 각각의 PEG 접합체를 평가하였다. 이들 접합체의 합성은 실시예 10, 실시예 11 및 실시예 12에 기재되어 있다. 래트를 마취시키고, 캐놀러를 좌측경동맥 내로 삽입하였다. 지동맥들을 묶고, 뇌 관류 전에 심장 공급을 차단시켰다. 단일 시점 방법(single time-point method)을 사용하여 관류를 수행하였다. 각각의 동물을 시험 화합물(10 μM) 및 대조 화합물(5 μM 안티피린 및 50 μM 아테놀롤)로 공-관류(co-perfuse)시켰다. 크랩스 링거 완충액 중 이들 화합물을 주입 펌프에 의해 30초 동안 좌외경동맥을 통하여 동물 내로 주입하였다. 30초의 관류 후, 펌프를 정지시키고, 두개골로부터 뇌를 즉시 꺼내었다. 뇌를 종방향으로 반으로 절단하였다. 각각의 좌반구를 냉각관 내에 넣고, 드라이 아이스 상에서 동결시키고, 분석할 때까지 -60℃ 내지 -80℃에서 냉동 저장하였다.
- [0206] 생체분석을 위하여, 각각의 좌뇌 반구를 해동시키고, 칭량하고, 20% 메탄올 중에서 음파 처리에 의해 균질화하였다. 사전-확증된 분석 방법들을 사용하여 LC-MS/MS 분석에 의해 시험 화합물 및 대조 화합물의 농도를 측정하였다.
- [0207] 시험 화합물 및 대조 화합물의 뇌 관류에 대한 결과가 단일점 관류 검정(single-point perfusion assay)에 대한 다음 식을 사용하여 단방향 뇌 수송 상수  $K_{in}$ (mL/g/분)로서 제시되어 있다:
- [0208]  $K_{in} = [C_{br}/C_{pf}] / t$ ,
- [0209] 여기서,
- [0210]  $C_{br}/C_{pf}$ 는 겔보기 뇌 분포 부피이다(mL/g 뇌 조직).
- [0211]  $C_{br}$ 은 뇌 조직 내의 약물의 농도이다(pmol 약물/g 뇌 조직).
- [0212]  $C_{pf}$ 는 관류 유체에서의 약물 농도이다(pmol/mL 관류액).
- [0213] t는 순 관류 시간이다(분).
- [0214] 뇌 농도 값으로부터 모세혈관 공간 내에 들어있는 약물을 제외시키기 위하여, 아테놀롤의 겔보기 뇌 분포 부피를 각각의 동물의 약물 값에서 뺐다. 아테놀롤의 뇌 분포 부피에 대한 보정 후 시험 화합물의 농도가 음의 값이었다면,  $K_{in}$  값을 0으로 보고한다.
- [0215] 관류 후, 뇌에 침투하지 않는 화합물인 아테놀롤에 의해 마킹된 혈관 공간은 20 μL/g 뇌 조직을 초과하지 않았다. 이들 결과는 관류 동안 유지된 혈액-뇌 장벽 특성을 나타낸다. 모르핀, 코데인 및 옥시코돈에 대한  $K_{in}$  값이 도 18a 내지 도 18c 및 도 19에 나타나 있다. 부모 모르핀, 코데인 및 옥시코돈 화합물에 대한  $K_{in}$  값은 높은 뇌 침투 잠재성을 갖는 양성 대조인 안티피린의  $K_{in}$  값의 약 14%, 40% 및 60%이었다. PEG 접합은 코데인 접

합체 및 옥시코돈 접합체의 뇌 진입의 속도에 있어서 추가의 크기 의존성 감소를 가져왔다. PEG-7-코데인 및 PEG-7-옥시코돈의 뇌 진입의 속도는 그들 각각의 부모 화합물의 1% 미만이었다. 그러나, PEG-1, PEG-2 모르핀의  $K_{in}$  값은 부모 모르핀보다 더 컸으며, PEG-3-모르핀의 경우에는 부모와 동가이었다. PEG-7-모르핀의  $K_{in}$  값은 부모 모르핀의 것보다 상당히 더 낮았다(4% 미만).

[0216] **실시예 4**

[0217] **전 세포에서 오피오이드 수용체 결합 검정**

[0218] 화합물의 고유 생체활성의 척도로서 수용체 결합 친화성을 사용한다. 오피오이드 접합체(또는 오피오이드 단독)의 수용체 결합 친화성은 재조합 사람  $\mu$ , 델타 또는 카파 오피오이드 수용체를 이종 발현시키는 CHO 세포에서 방사성 리간드 결합 검정을 사용하여 측정한다. 세포를 24-웰 플레이트 내에서 0.2 내지  $0.3 \times 10^6$  세포수/웰의 밀도로 평판 배양하고, 50mM 트리스(Tris).HCl 및 5mM  $MgCl_2$ (pH 7.4)를 함유한 검정 완충액으로 세척한다. 적절한 농도의 방사성 리간드의 존재 하에서 오피오이드 접합체의 증가하는 농도들에 따라 인큐베이션된 접착성 전 세포에 대해 경쟁 결합 검정을 수행한다. 0.5nM [ $^3H$ ]날록손, 0.5nM [ $^3H$ ]디프레노르핀 및 0.5nM [ $^3H$ ]DPDPE를 각각  $\mu$ , 카파 및 델타 수용체에 대한 경쟁 방사성 리간드로서 사용한다. 각각의 농도에서 삼중(triplicate) 웰을 사용하여 실온에서 2시간 동안 인큐베이션을 수행한다. 인큐베이션의 종료 시점에서, 세포를 50mM 트리스 HCl(pH 8.0)로 세척하고, NaOH에 의해 가수화하고, 결합된 방사능을 섬광 계수기를 사용하여 측정한다.

[0219] 50 내지 100배 초과와 차가운 리간드(cold ligand)의 존재 하에서 결합된 cpm을 뺀으로써 특이적 결합을 측정한다. 그래프패드 프리즘(GraphPad Prism) 4.0을 사용하여 결합 데이터 검정을 분석하고, 용량-반응 곡선으로부터 비선형 회귀에 의해  $IC_{50}$ 을 생성한다. 다음과 같이 포화 등온으로부터의  $K_d$  값을 사용하여 쉹 프루소프 식(Cheng Prusoff equation)을 사용하여  $K_i$  값을 계산한다:  $K_i = IC_{50}/(1 + [리간드]/K_d)$ .

[0220] 화합물의 결합 친화성의 지표로서  $K_i$  값을 사용하며,  $K_i$  값을 다른 오피오이드 작용제들의 결합 친화성과 비교할 수 있다. 그것은 또한 효능에 대한 마커로서 사용되며, 주어진 화합물의 가능성(likelihood)의 평가를 가능하게 하여 효과적인 진통을 제공한다.

[0221] **실시예 5**

[0222] **전 세포에서 cAMP 측정**

[0223] 포르스콜린-자극성(forskolin-stimulated) cAMP 생성의 억제가 오피오이드의 시험관내 생체활성의 척도로서 사용된다. 재조합 사람  $\mu$ , 델타 또는 카파 오피오이드 수용체 중 임의의 하나를 이종 발현시키는 CHO 세포를 24-웰 플레이트 내에서 0.2 내지  $0.3 \times 10^6$  세포수/웰로 평판 배양하고, PBS + 1mM IBMX(이소부틸 메틸 잔틴)으로 세척한다. 삼중 웰 내의 세포를 오피오이드 접합체의 증가하는 농도들에 따라 인큐베이션하고, 이어서 10분 후에 10  $\mu$ M 포르스콜린을 첨가한다. 10분 동안 포르스콜린과 함께 인큐베이션한 후, 세포를 용해시키고, 구매가능한 경쟁 면역검정 키트(캐치포인트(Catchpoint)®- 모레쿨러 디바이시스(Molecular Devices))를 사용하여 세포 내 cAMP를 측정한다. 형광 신호를 cAMP의 표준 곡선에 대하여 교정하고, 데이터를 cAMP의 몰수/ $10^6$  세포수로서 표현한다. 비선형 회귀를 이용한 용량-반응 곡선의 분석에 의해 각각의 오피오이드 접합체에 대하여  $IC_{50}$  값을 계산하며(그래프 패드 프리즘), 여기서 “용량”은 사용되는 오피오이드 접합체의 농도이다.

[0224] 수용체 결합시 기능적 반응을 유도하는 오피오이드 화합물의 능력의 척도를 제공하고 당해 화합물의 진통 잠재성의 추가의 표시를 제공하기 위하여 cAMP 검정을 사용한다. 이는 또한 상대 효능에 대해 다른 오피오이드들과의 비교를 가능하게 한다.

[0225] **실시예 6**

[0226] **진통의 래트 모델**

[0227] 오피오이드의 생체내 생체활성의 척도로서 핫플레이트 회피 검정(hotplate withdrawal assay)을 사용한다. 이

실험은 시험 화합물의 투여 후 열 자극으로부터의 회피의 잠시(latency)를 측정하는 표준 핫플레이트 회피 검정을 사용한다. 화합물을 동물에 투여하고, 30분 후, 뒷발에 열 자극을 제공한다. 모르핀의 존재 하에서의 뒷발 회피에 대한 잠시를 완전 진통(full analgesia)의 척도로서 사용하고, 한편 식염수의 존재 하에서의 잠시를 무진통(no analgesia)에 대한 음성 대조로서 사용한다. 음성 대조(식염수)와 비교하여 회피까지의 시간을 측정함으로써 시험 화합물의 작용제 효과를 평가한다.

[0228] **실시예 7**

[0229] **중독 잠재성의 원숭이 모델**

[0230] 당업계에서 알려진 다람쥐 원숭이 모델의 사용을 통하여 오피오이드 화합물 및 본 발명의 오피오이드 접합체의 중독 잠재성을 평가할 수 있다. 문헌[Bergman and Paronis, *Mol Interventions*, 6:273-83 (2006)].

[0231] **실시예 8**

[0232] **PEG-달부핀 접합체의 생체내 뇌 침투**

[0233] 혈액-뇌 장벽(BBB)을 횡단하고 CNS로 들어가는 PEG-달부핀 접합체의 능력을 래트에서 뇌:혈장 비를 사용하여 평가하였다. 간단히 말하면, 래트에 25mg/kg의 달부핀, PEG-달부핀 접합체 또는 아테놀롤을 정맥내 주사하였다. 주사 후 1시간째에, 동물을 희생시키고 혈장 및 뇌를 수집하여 즉시 동결시켰다. 조직 및 혈장 추출 후, LC-MS/MS를 사용하여 뇌 및 혈장 내의 화합물의 농도를 측정하였다. 뇌 및 혈장에서 측정된 농도의 비로서 뇌:혈장 비를 계산하였다. BBB를 횡단하지 않는 아테놀롤을 뇌 조직의 혈관 오염의 척도로서 사용하였다.

[0234] 도 1은 PEG-달부핀 접합체들의 뇌:혈장 농도의 비를 나타낸다. 달부핀의 뇌:혈장 비는 2.86:1이었으며, 이는 혈장 구획과 비교하여 뇌에서의 달부핀의 농도가 거의 3배 더 큼을 나타낸다. PEG 접합은 PEG-달부핀 접합체들의 더 낮은 뇌:혈장 비에 의해 입증된 바와 같이 CNS 내로의 달부핀의 진입을 상당히 감소시켰다. 3개의 PEG 단위와의 접합은 뇌:혈장 비를 0.23:1로 감소시켰으며, 이는 뇌에서의 6-O-mPEG<sub>3</sub>-달부핀의 농도가 혈장에서의 것보다 약 4배 더 적음을 나타낸다. 6-O-mPEG<sub>6</sub>-달부핀 및 6-O-mPEG<sub>9</sub>-달부핀(각각 6개의 PEG 단위 및 9개의 PEG 단위)은 그들의 뇌:혈장 비가 혈관 마커인 아테놀롤과 크게 상이하지 않았으므로, CNS로부터 상당히 배제되었다.

**표 1**

뇌:혈장 비

분자	뇌: 혈장 비
달부핀	2.86
6-O-mPEG <sub>3</sub> -달부핀	0.23
6-O-mPEG <sub>6</sub> -달부핀	0.11
6-O-mPEG <sub>9</sub> -달부핀	0.10
아테놀롤	0.11

[0236] **실시예 9**

[0237] **mPEG<sub>n</sub>-OMs(mPEG<sub>n</sub>-O-메실레이트)의 제조**

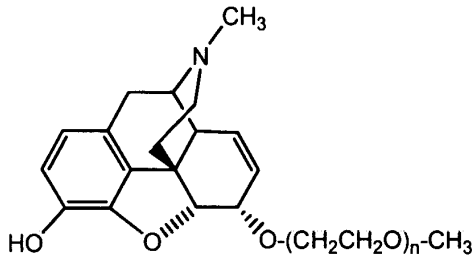
[0238] 40mL 유리 바이알 내에서 HO-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-OH(1.2mL, 10mmol) 및 DIEA(N,N-디이소프로필에틸아민, 5.2mL, 30mmol, 3 당량)를 혼합하고, 생성된 균질한 무색 혼합물을 0°C로 냉각시키고, MsCl(1.55mL, 20mmol, 2 당량)을 격렬하게 교반하면서 4분에 걸쳐 시린지를 통하여 서서히 첨가하였다. 첨가시 2상 혼합물이 생성되었다: 바닥 상의 황색 고형물 및 투명한 상청액. 빙욕을 제거하고, 반응물을 하룻밤 실온으로 가온되게 하였다. 이 시점에서, 그것을 물에 용해시키고, CHCl<sub>3</sub>(3 x 50mL)로 추출하고, 0.1M HCl/염수 혼합물 2 x 50mL에 이어 염수 50mL로 세척하였다. 유기층을 MgSO<sub>4</sub>에서 건조시키고, 여과하여 황색 용액을 생성하고, 증발시켜 갈색 오일(2.14g)을

생성하였다. <sup>1</sup>H NMR은 생성물 식별 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) ppm임을 확인시켜 준다.

[0239] 유사한 방식으로 모든 다른 PEG<sub>n</sub>-OMs(n = 3, 4, 5, 6, 7 및 9)를 제조하였으며, 각각의 경우에 갈색 오일로서 단리된 최종 화합물을 수득하였다. 질량 스펙트럼 및 양성자 NMR 데이터(도시되지 않음)는 원하는 OMs 페길화(PEGylated) 생성물의 형성을 확인시켜 주었다.

[0240] **실시예 10**

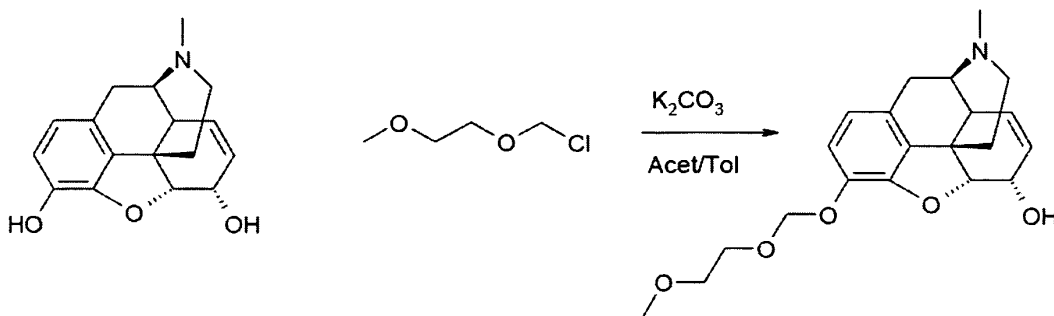
[0241] **mPEG<sub>n</sub>-O-모르핀 접합체의 제조**



[0242] 다음은 구매가능한 모르핀 설페이트 수화물을 사용한 유리 염기의 제조를 설명한다(일반적 절차).  
 [0243] 스펙트럼(Spectrum)으로부터의 모르핀 설페이트 USP(510mg)를 물(70ml)에 용해시켰다. 이 용액을 수성 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>를 사용하여 pH 10으로 염기성화하여 백색 현탁액을 생성하였다. 백색 현탁액에 DCM(디클로로메탄, 50ml)을 첨가하였지만, 이 고형물을 용해시키는 데 실패하였다. 이 혼합물을 1M HCl로 산성으로 만들어서 투명한 2상 용액을 생성하였다. 유기상을 분리해내고, 상기에서와 동일한 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>의 용액을 사용하여 수상을 주의깊게 pH 9.30(pH 미터에 의해 모니터링됨)이 되게 하였다. 백색 현탁액이 다시 생성되었다. 이 불균질 혼합물을 DCM(5 x 25ml)으로 추출하였으며, 불용성 백색 고형물이 유기층 및 수층 둘 모두를 오염시켰다. 유기층을 MgSO<sub>4</sub>로 건조시키고, 여과시키고, 회전 증발시켜 160mg의 모르핀 유리 염기(56% 회수율)를 생성하였다. MeOH를 사용하여 여과 케이크로부터 추가의 생성물이 회수되지 않았지만, 수상으로부터 2 x 50ml의 EtOAc에 의한 추출에 의해 추가 100mg을 회수하여 260mg(68%)의 합계 수율을 제공하였다.

[0244] **모르핀 유리 염기의 MEM 보호**

[0245] 보호기 β-메톡시에톡시메틸 에스테르("MEM")로 모르핀의 유리 염기를 보호하기 위한 일반적 접근법이 하기에 개략적으로 나타나 있다.

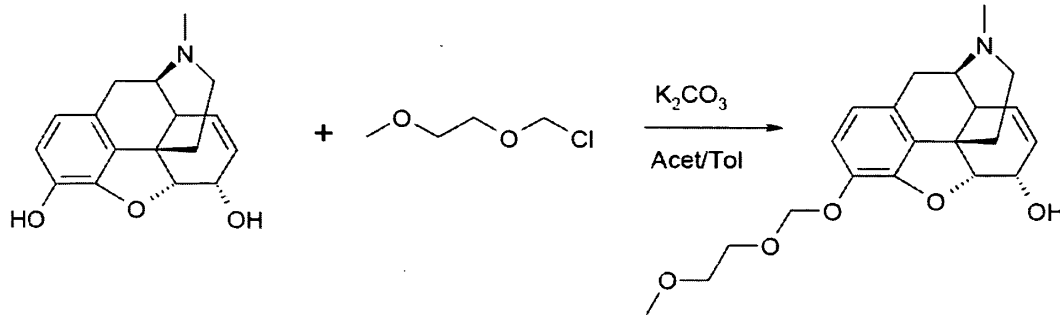


[0247] 유리 염기 모르핀(160mg, 0.56mmol)을 20ml의 아세톤/톨루엔(2/1 혼합물)에 용해시켰다. 생성된 혼합물에 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(209mg, 1.51mmol, 2.7 당량)에 이어 MEMCl(96 μl, 0.84mmol, 1.5 당량)을 첨가하고, 생성된 불균질 혼합물을 실온에서 하룻밤 교반하였다. 실온에서 5시간 후, LC-MS에 의해 반응이 완료된 것으로 여겨졌다. 표준 6분 구배 실행(gradient run) 조건(표준 6분, 옌스 모놀리스(Onyx Monolith) C18 컬럼, 50 x 4.6mm; 물 0.1% TFA 중 0 내지 100% 아세트니트릴 0.1% TFA, 1.5ml/분; 검출: UV<sub>254</sub>, ELSD, MS; 체류 시간은 UV<sub>254</sub> 검출기에 대하여 매겨지고, UV에 대하여 ELSD는 약 0.09분의 지연을 갖고, MS는 약 0.04분의 지연을 갖는다) 하에서의 모르핀 유

리 염기 체류 시간은 1.09분이었으며; 생성물에 대한 체류 시간은 1.54분(표준 6분)이었으며, 주요 불순물은 1.79분이었다. 반응 혼합물을 증발 건조시키고, 물에 용해시키고, EtOAc로 추출하여(3x, 합한 유기층을 염수로 세척하고, MgSO<sub>4</sub>에서 건조시키고, 여과시키고, 회전 증발시켜) 무색 오일로서 160mg(77%)의 원하는 생성물을 생성하였다. 생성물 순도는 UV<sub>254</sub>에 의해 약 80%인 것으로 계산되었다.

[0249] 모르핀 설페이트의 직접 MEM 보호(일반적 절차)

[0250] 보호기 β-메톡시에톡시메틸 에스테르("MEM")로 모르핀 설페이트를 보호하기 위한 일반적 접근법이 하기에 개략적으로 나타나 있다. 하기의 반응 도식에 명백히 나타나 있지는 않지만, 모르핀은 실제로 모르핀 설페이트 수화물, 모르핀.0.5 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.2.5 H<sub>2</sub>O이다.



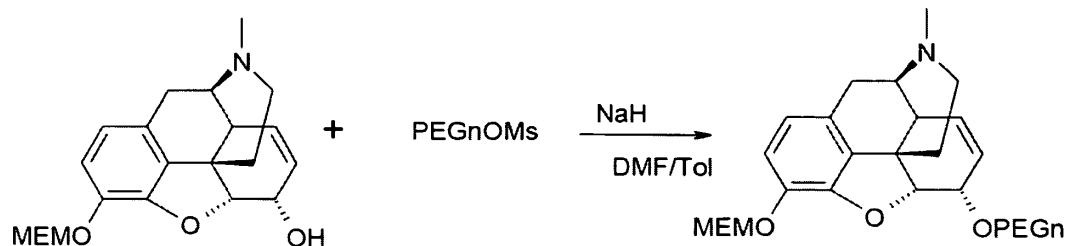
[0251]

[0252] 10ml의 2:1 아세톤:톨루엔 용매 혼합물 중 103mg의 모르핀 설페이트 수화물(0.26mmol)의 현탁액에 135mg(1mmol, 3.7 당량)의 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>를 첨가하고, 이 현탁액을 실온에서 25분 동안 교반하였다. 생성된 현탁액에 60 μl(0.52mmol)의 MEMCl을 첨가하고, 이 혼합물을 실온에서 반응되게 하였다. 그것을 1시간 후에(38% 공칭 전환율, 1.69분 및 2.28분에서 추가의 피크), 3시간 후에(40% 공칭 전환율, 1.72분에서 추가의 피크(M+1=493.2)), 4시간 30분 후에(56% 공칭 전환율, 1.73분에서 추가의 피크), 그리고 23시간 후에(99% 초과 공칭 전환율, 1.79분에서 추가의 피크 - UV<sub>254</sub>에서의 높이로 생성물 피크의 약 23%) 샘플링하였으며; 이후, 반응을 MeOH로 급랭시키고, 증발시키고, EtOAc로 추출하여 160mg의 투명한 오일을 생성하였다.

[0253] 100ml의 용매 혼합물 중 2g(5.3mmol)의 모르핀 설페이트 수화물, 2.2g(16mmol, 3 당량)의 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 1.2ml(10.5mmol, 2 당량)의 MEMCl로 출발하여 동일 반응을 반복하였다. 2시간 후에(61% 공칭 전환율, 1.72분에서 추가의 피크(M+1=492.8)), 1일 후에(80% 공칭 전환율, 1.73분에서 추가의 피크), 3일 후에(85% 공칭 전환율, 소량의 불순물, 12분 구배 실행), 그리고 6일 후에(91% 전환율) 샘플링이 일어났으며; 이후, 반응을 급랭시키고, 증발시키고, EtOAc로 추출하고, 40g 컬럼, DCM:MeOH 0 내지 30% 이동상을 사용하여 콤비-플래시(combi-flash) 상에서 정제하였다. (2개 대신에) 3개의 피크가 식별되었으며, 여기서 중간 피크를 수집하였으며, 1.15g(58% 수율)의 담황색 오일, UV<sub>254</sub> 순도 약 87%이었다.

[0254] MEM 보호 모르핀 접합체를 제공하기 위한 MEM 보호 모르핀의 접합

[0255] MEM 보호 모르핀을 수용성 올리고머와 접합시켜 MEM 보호 모르핀 PEG-올리고머 접합체를 제공하기 위한 일반적 접근법이 하기에 개략적으로 나타나 있다.



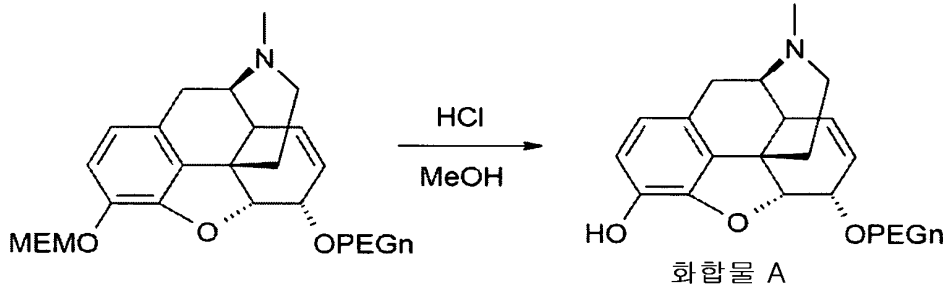
[0256]

[0257] 톨루엔/DMF의 용액(2:1 혼합물, 총 10부피)에 MEM-모르핀 유리 염기에 이어 NaH(4 내지 6 당량)를 충전시키고 나서, 앞서 제조된 PEG<sub>n</sub>OMs(1.2 내지 1.4 당량)를 충전시켰다. 반응 혼합물을 55 내지 75°C로 가열하고, LC-MS 분석에 의해 반응 완료가 확인될 때까지 교반하였다(PEG 사슬 길이에 따라 12 내지 40시간). 반응 혼합물을 메탄올(5부피)로 급랭시키고, 이 반응 혼합물을 진공 중에서 증발 건조시켰다. 잔류물을 메탄올(3부피)에 재용해

시키고, 콤비플래시 시스템(0 내지 40% MeOH/DCM)을 사용하여 크로마토그래피 분석하였다. 대량의 생성물을 함유하는 분획들을 수집하고, 합하고, 증발 건조시켰다. 이어서, 이 물질을 RP-HPLC로 정제하여 황색 내지 오렌지색 오일로서 생성물을 생성하였다.

[0258] 모르핀 접합체를 제공하기 위한 MEM 보호 모르핀 접합체의 탈보호

[0259] 모르핀 접합체를 제공하기 위하여 MEM 보호 모르핀 접합체를 탈보호하기 위한 일반적 접근법이 하기에 개략적으로 나타나 있다.

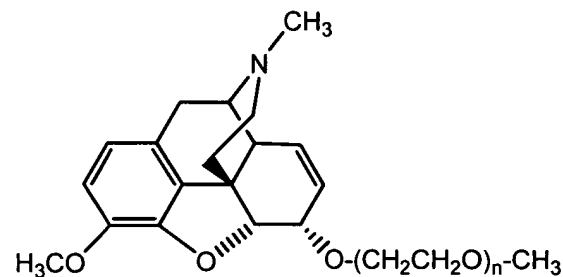


[0260]

[0261] DCM(8부피) 중에 현탁된 MEM 보호 모르핀 접합체 TFA 염의 용액에 디에틸 에테르 중 6부피의 2M HCl을 충전시켰다. 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반되게 하고, 이어서 감압 하에서 증발 건조시켰다. 유성 잔류물을 MeOH(8부피)에 용해시키고, 글래스울을 통해 여과시키고, 이어서 감압 하에서 증발시켜 정량적 수율로 농후한 오렌지색 내지 황색 오일을 생성하였다. 이 방법에 의해 제조된 화합물들은 하기를 포함한다: α-6-mPEG<sub>3</sub>-O-모르핀(화합물 A, n=3) 217mg의 HCl 염 97% 순도(UV<sub>254</sub>에 의하면 95%; ELSD에 의하면 98%); α-6-mPEG<sub>4</sub>-O-모르핀(화합물 A, n=4) 275mg의 HCl 염 98% 순도(UV<sub>254</sub>에 의하면 97%; ELSD에 의하면 98%); α-6-mPEG<sub>5</sub>-O-모르핀(화합물 A, n=5) 177mg의 HCl 염 95% 순도(UV<sub>254</sub>에 의하면 93%; ELSD에 의하면 98%); α-6-mPEG<sub>6</sub>-O-모르핀(화합물 A, n=6) 310mg의 HCl 염 98% 순도(UV<sub>254</sub>에 의하면 98%; ELSD에 의하면 99%); α-6-mPEG<sub>7</sub>-O-모르핀(화합물 A, n=7) 541mg의 HCl 염 96% 순도(UV<sub>254</sub>에 의하면 93%; ELSD에 의하면 99%); 및 α-6-mPEG<sub>9</sub>-O-모르핀(화합물 A, n=9) 466mg의 HCl 염 98% 순도(UV<sub>254</sub>에 의하면 97%; ELSD에 의하면 99%). 추가적으로, 단일 PEG 단량체가 부착된 모르핀 접합체, α-6-mPEG<sub>1</sub>-O-모르핀(화합물 A, n=1), 124mg의 HCl 염, 97% 순도(UV<sub>254</sub>에 의하면 95% 순도; ELSD에 의하면 98% 순도)뿐만 아니라 α-6-mPEG<sub>2</sub>-O-모르핀(화합물 A, n=2), 485mg의 HCl 염, 97% 순도(UV<sub>254</sub>에 의하면 95% 순도; ELSD에 의하면 98% 순도)를 유사하게 제조하였다.

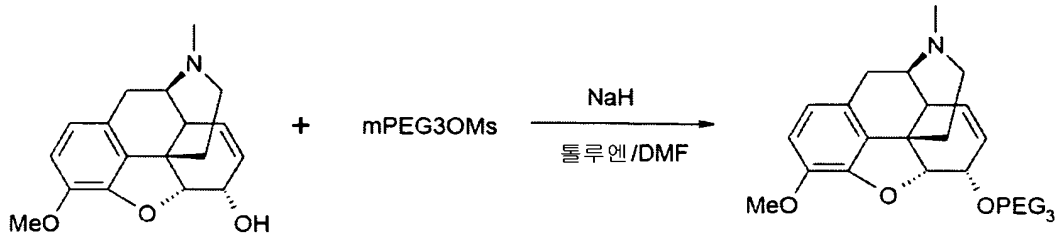
[0262] 실시예 11

[0263] mPEG<sub>n</sub>-O-코데인 접합체의 제조



[0264]

[0265] 코데인을 (대표적인 올리고머로서 mPEG<sub>3</sub>OMs를 사용한) 수용성 올리고머의 활성화된 설포네이트 에스테르와 접합시켜 코데인 접합체를 제공하기 위한 일반적 접근법이 하기에 개략적으로 나타나 있다.



[0266]

[0267]

코데인(30mg, 0.1mmol)을 톨루엔/DMF(75:1) 용매 혼합물에 용해시키고, 이어서 HO-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OMs(44ml, 2 당량) 및 NaH(광유 중 60% 현탁액, 24mg, 6 당량)를 첨가하였다. 생성된 균질한 황색 용액을 45°C로 가열하였다. 1시간 후에, 반응은 11% 전환율을 나타내었으며(2.71분에 추가의 피크, 12분 실행), 18시간 후에, 반응은 7% 전환율을 나타내었으며(3.30분에 추가의 피크, 12분 실행), 24시간 후에, 반응은 24% 전환율을 나타내었다(다수의 추가의 피크, 가장 큰 2개의 피크는 1.11분 및 2.79분임). 이 시점에서, 추가 16mg의 NaH를 첨가하고, 6시간 동안 가열을 계속하였으며, 이후, 추가 16mg의 NaH를 첨가하고, 이어서 66시간에 걸쳐 가열을 계속하였다. 이후, 출발 재료가 남아 있지 않았으며, 분석은 많은 추가의 피크를 보여주었으며, 가장 큰 2개의 피크는 2.79분 및 3분에 대응하였다(생성물 피크는 적어도 7개의 피크 중에서 두 번째로 크다).

[0268]

10배 규모를 사용하여 이 합성을 반복하였는데, 이 규모에서는 30ml의 용매 혼합물을 사용하였다. 18시간 후, 분석은 UV에서의 추가의 피크(3.17 분에 하나의 큰 피크 및 많은 작은 피크들; 여기서, 원하는 피크는 UV에서 3.43분에 대응하였음)와 함께 71% 공칭 전환율을 보여주었다. 이후, 80mg(2mmol)의 NaH를 첨가하고, 이어서 가열을 계속하였다. 3시간 후, 분석은 85% 공칭 전환율을 보여주었다(수 개의 추가의 피크, 주 피크는 3.17분). 반응 혼합물을 물로 희석하고, EtOAc로 추출하여(3x, 합한 유기층을 염수로 세척하고, MgSO<sub>4</sub>에서 건조시키고, 여과시키고, 회전 증발시켜) 황색 오일을 생성하였다(LC-MS에서 sm 없음, ELSD에 의하면 90% 순도, UV에 의하면 50% 순도 - 3.2분에 주요 불순물). 조 생성물(crude product)을 DCM에 용해시키고, 230 내지 400메시 SiO<sub>2</sub>로 충전된 소형 카트리지에 적용하고, 건조시키고, 용매 A = DCM 및 용매 B = MeOH, 구배 0 내지 30%의 B로 사전 충전된 4g의 컬럼 카트리지를 통하여 콤비-플래시 상에서 용출시켰다. 분석은 불량한 대칭으로 2개의 피크를 보여주었다: 작은 선도 피크 및 꼬리를 갖는 더 큰 피크. LC-MS를 사용하여 분획들을 분석하였는데, 여기서 어떠한 것들도 순수한 생성물을 함유하는 것으로 확인되지 않았다. 임의의 생성물(tt#22 내지30)을 함유한 합한 분획들은 용매 증발 후, 150mg(34% 수율)의 불순한 생성물을 생성하였다(UV<sub>254</sub>에 의하면 3.35분에 LC-MS 순도, 여기서 약 25%는 12분 실행의 3.11분, 3.92분, 4.32분, 5.61분에 주요 불순물을 나타내었다). 15 내지 60% B에 대응하는 구배, 70분, 10ml/분을 이용하는 HPLC(용매 A = 물, 0.1% TFA; 용매 B = 아세트니트릴, 0.1% TFA)에 의한 제2 정제는 인접한 피크들로부터의 불량한 분리를 가져왔다. 단지 2개의 분획만이 충분히 깨끗하였으며, 21mg의 TFA 염(95% 초과 순도, 4.7% 수율)을 생성하였다. (총 6개의 추가의 분획에 대하여) 원하는 생성물 함유 분획들 전과 후 둘 모두의 3개의 추가의 분획들을 합하여 TFA 염으로서 70mg의 약 50% 순도의 생성물을 생성하였다.

[0269]

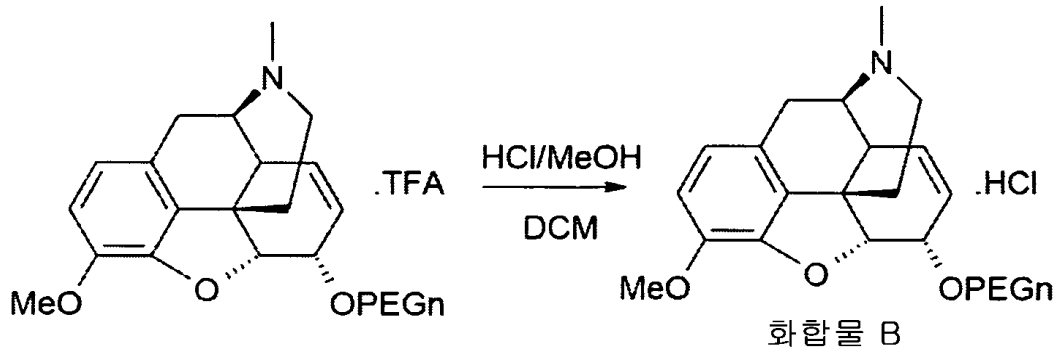
이와 동일한 접근법을 사용하여, 에틸렌 옥사이드 단위의 개수(n= 4, 5, 6, 7, 및 9)가 상이한 다른 접합체를 상기에 개략적으로 설명된 이들 NaH 조건을 사용하여 제조하였다.

[0270]

코데인-올리고머 접합체 TFA 염의 코데인-올리고머 HCl 염으로의 전환

[0271]

코데인-올리고머 TFA 염을 코데인-올리고머 HCl 염으로 전환시키기 위한 일반적 접근법이 하기에 개략적으로 나타나 있다.



[0272]

[0273]

DCM(8부피) 중에 현탁된 코데인-올리고머 접합체 TFA 염의 용액에 디에틸 에테르 중 6부피의 2M HCl을 충전시켰다. 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반되게 하고, 이어서 감압 하에서 증발 건조시켰다. 유성 잔류물을 MeOH(8부피)에 용해시키고, 글래스울을 통해 여과시키고, 이어서 감압 하에서 증발시켜 정량적 수율로 농후한 오렌지색 내지 황색 오일을 생성하였다. 이 일반적 절차에 따라, 하기의 화합물들을 합성하였다:  $\alpha$ -6-mPEG<sub>3</sub>-O-코데인(화합물 B, n=3) 235mg의 HCl 염, 98% 순도;  $\alpha$ -6-mPEG<sub>4</sub>-O-코데인(화합물 B, n=4) 524mg의 HCl 염, 98% 순도;  $\alpha$ -6-mPEG<sub>5</sub>-O-코데인(화합물 B, n=5) 185mg의 HCl 염, 98% 순도 + 119mg의 HCl 염 97% 순도;  $\alpha$ -6-mPEG<sub>6</sub>-O-코데인(화합물 B, n=6) 214mg의 HCl 염, 97% 순도;  $\alpha$ -6-mPEG<sub>7</sub>-O-코데인(화합물 B, n=7) 182mg의 HCl 염, 98% 순도;  $\alpha$ -6-mPEG<sub>9</sub>-O-코데인(화합물 B, n=9) 221mg의 HCl 염, 97% 순도;  $\alpha$ -6-mPEG<sub>1</sub>-O-코데인(화합물 B, n=1) 63mg의 HCl 염, 90% 순도; 및  $\alpha$ -6-mPEG<sub>2</sub>-O-코데인(화합물 B, n=2) 178mg의 HCl 염, 90% 순도.

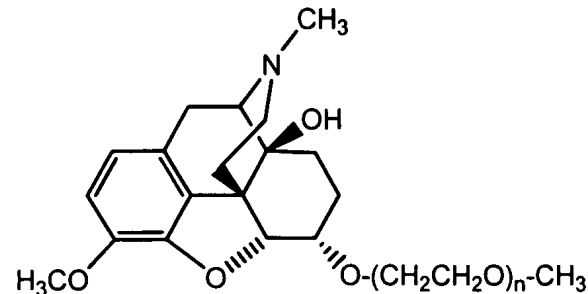
[0274]

**실시예 12**

[0275]

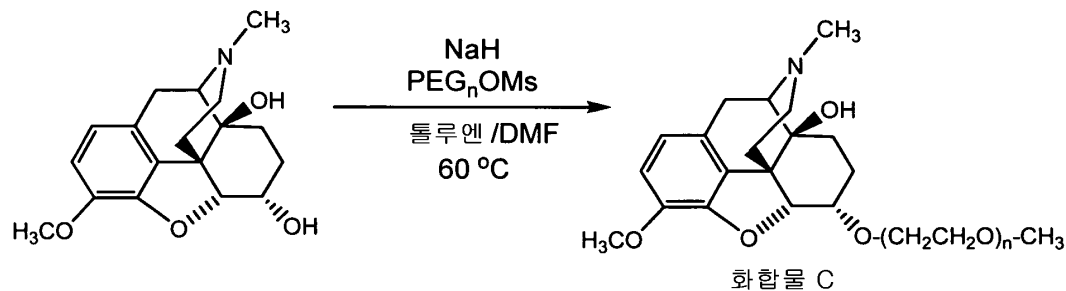
**mPEG<sub>n</sub>-O-하이드록시코돈 접합체의 제조**

[0276]



[0277]

하이드록시코돈을 (대표적인 올리고머로서 "mPEG<sub>n</sub>OMs"를 사용한) 수용성 올리고머의 활성화된 설포네이트 에스테르와 접합시켜 하이드록시코돈 접합체를 제공하기 위한 일반적 접근법이 하기에 개략적으로 나타나 있다.



[0278]

[0279]

옥시코돈의  $\alpha$ -6-하이드록시코돈으로의 환원

[0280]

-20°C로 냉각된 질소 하에서 건조 THF 중 옥시코돈 유리 염기의 용액에 15분에 걸쳐 칼륨 트리-*sec*-부틸보로하이드라이드의 1.0M THF 용액을 첨가하였다. 이 용액을 질소 하에서 1.5시간 동안 -20°C에서 교반하고, 이어서 물(10mL)을 서서히 첨가하였다. 반응 혼합물을 -20°C에서 추가 10분 동안 교반하고, 이어서 실온으로 가온되게

하였다. 모든 용매를 감압 하에서 제거하고, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>를 남아 있는 잔류물에 첨가하였다. CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 상을 0.1N HCl/NaCl 수용액으로 추출하고, 합한 0.1N HCl 용액 추출물을 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>로 세척하고, 이어서 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>를 첨가하여 pH = 8로 조정하였다. 이 용액을 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>로 추출하였다. CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 추출물을 무수 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>에서 건조시켰다. 감압 하에서 용매를 제거한 후, 원하는 α-6-HO-3-하이드록시코돈을 생성하였다.

[0281] mPEG<sub>n</sub>OMs의 α-6-하이드록시코돈에의 접합: 톨루엔/DMF(2:1 혼합물, 총 10 부피)의 용액에 (앞의 단락에서 기재된 바와 같이 제조된) 하이드록시코돈에 이어 NaH(4 당량)를 충전시키고 나서 mPEG<sub>n</sub>OMs(1.3 당량)를 충전시켰다. 반응 혼합물을 60 내지 80℃로 가열하고, LC-MS 분석에 의해 반응 완료가 확인될 때까지 교반하였다(PEG 사슬 길이에 따라 12 내지 40시간). 반응 혼합물을 메탄올(5부피)로 급랭시키고, 반응 혼합물을 진공 중에서 증발 건조시켰다. 잔류물을 메탄올(3부피)에 재용해시키고, 콤비플래시(0 내지 40% MeOH/DCM)를 사용하여 크로마토그래피 분석하였다. 대량의 생성물을 함유한 분획들을 수집하고, 합하여 증발 건조시켰다. 이어서, 이 물질을 RP-HPLC에 의해 정제하여 황색 내지 오렌지색 오일로서 최종 생성물을 생성하였다.

[0282] 하이드록시코돈 접합체 TFA 염의 하이드록시코돈 접합체 HCl 염으로의 전환

[0283] DCM(8부피) 중에 현탁된 하이드록시코돈 접합체 TFA 염의 용액에 디에틸 에테르 중 6부피의 2M HCl을 충전시켰다. 반응 혼합물을 실온에서 2시간 동안 교반되게 하고, 이어서 감압 하에서 증발 건조시켰다. 유상 잔류물을 MeOH(8부피)에 용해시키고, 글래스울을 통하여 여과시키고, 이어서 감압 하에서 증발시켜 정량적 수율로 농후한 오렌지색 내지 황색의 오일을 생성하였다. 이 일반적 절차 후, 하기의 화합물들을 합성하였다: α-6-mPEG<sub>3</sub>-O-옥시코돈(aka α-6-mPEG<sub>3</sub>-O-하이드록시코돈)(화합물 C, n=3) 242mg의 HCl 염, 96% 순도; α-6-mPEG<sub>4</sub>-O-옥시코돈(aka α-6-mPEG<sub>4</sub>-O-하이드록시코돈)(화합물 C, n=4) 776mg의 HCl 염, 94% 순도; α-6-mPEG<sub>5</sub>-O-옥시코돈(aka α-6-mPEG<sub>5</sub>-O-하이드록시코돈)(화합물 C, n=5) 172mg의 HCl 염, 93% 순도; α-6-mPEG<sub>6</sub>-O-옥시코돈(aka α-6-mPEG<sub>6</sub>-O-하이드록시코돈)(화합물 C, n=6) 557mg의 HCl 염, 98% 순도; α-6-mPEG<sub>7</sub>-O-옥시코돈(aka α-6-mPEG<sub>7</sub>-O-하이드록시코돈)(화합물 C, n=7) 695mg의 HCl 염, 94% 순도; 및 α-6-mPEG<sub>9</sub>-O-옥시코돈(aka α-6-mPEG<sub>9</sub>-O-하이드록시코돈)(화합물 C, n=9) 435mg의 HCl 염 95% 순도. 하기의 화합물들, α-6-mPEG<sub>1</sub>-O-옥시코돈(aka α-6-mPEG<sub>1</sub>-O-하이드록시코돈)(화합물 C, n=1) 431mg의 HCl 염 99% 순도; 및 α-6-mPEG<sub>2</sub>-O-옥시코돈(aka α-6-mPEG<sub>2</sub>-O-하이드록시코돈)(화합물 C, n=2) 454mg HCl 염, 98% 순도를 유사하게 제조하였다.

[0284] 실시예 13

[0285] 생체내 진통 검정: 페닐퀸논 통감

[0286] 하기의 접합체 시리즈: mPEG<sub>2-7,9</sub>-O-모르핀, mPEG<sub>3-7,9</sub>-O-코데인, 및 mPEG<sub>1-4,6,7,9</sub>-O-하이드록시코돈에 속하는 예시적인 PEG-올리고머-오피오이드 작용제 접합체가 마우스의 내장 통증을 감소 및/또는 예방하는 데 효과적인지의 여부를 결정하기 위하여 진통 검정을 사용하였다.

[0287] 이 검정은 CD-1 수컷 마우스(집단당 5 내지 8마리의 마우스)를 이용하였으며, 각각의 마우스는 연구 당일에 약 0.020 내지 0.030kg이었다. 마우스를 표준 프로토콜에 따라 처리하였다. 수용성이며 비펩티드성인 올리고머의 공유 부착이 걸여된 화합물(즉, 비-PEG 올리고머-개질된 부모 분자), 수용성이며 비펩티드성인 올리고머에 공유 부착된 화합물을 포함하는 상응하는 변형물(version)(즉, 접합체), 또는 대조 용액의 단회 “사전처리” 용량을 페닐퀸논(PQ) 용액을 투여하기 30분 전에 (IV, SC, IP 또는 경구로) 마우스에 제공하였다. 각각의 동물에 “통감”을 유도하는 자극제(페닐퀸논, PQ)의 IP 주사를 제공하였으며, 이러한 통감은 복부 수축, 몸통 뒤틀림 및 회전, 등 구부림, 및 뒷다리 뻗음을 포함할 수 있다. 각각의 동물에 PQ의 IP 주사를 제공하였다(1mg/kg PQ, 0.1mL/10g 체중). 주사 후, 동물들을 그들의 관찰 밀폐공간으로 되돌려보내고, 그들의 행동을 관찰하였다. “사전처리” 후 35분 내지 45분에 수축을 세었다. 동물들은 한번 사용하였다. 각각의 시험 품목은 0.1 내지 100mg/kg의 범위로 투여하였다(n=5 내지 10마리의 동물/용량).

[0288] 결과가 도 2(mPEG<sub>2-7,9</sub>-O-모르핀 및 대조), 도 3(mPEG<sub>1-4,6,7,9</sub>-O-하이드록시코돈 및 대조), 및 도 4(mPEG<sub>3-7,9</sub>-O-코데인 및 대조)에 나타나 있다. ED<sub>50</sub> 값이 하기 표 2 및 표 3에 제공되어 있다.

**표 2**

mPEG<sub>n</sub>-O-모르핀 시리즈에 대한 ED<sub>50</sub> 값

	모르핀	PEG 2	PEG 3	PEG 4	PEG 5	PEG 6	PEG 7	PEG 9
ED <sub>50</sub> (mg/kg)	0.3693	2.512	13.58	3.281	13.4	n/a	n/a	n/a

**표 3**

mPEG<sub>n</sub>-O-하이드록시코돈 시리즈에 대한 ED<sub>50</sub> 값

	옥시코돈	PEG 1	PEG 2	PEG 3	PEG 4	PEG 6	PEG 7	PEG 9
ED <sub>50</sub> (mg/kg)	0.6186	6.064	n/a	n/a	17.31	n/a	n/a	n/a

[0291] **실시예 14**

[0292] **생체내 진통 검정: 핫플레이트 잠시 검정**

[0293] 하기의 접합체 시리즈: mPEG<sub>1-5</sub>-O-모르핀, mPEG<sub>1-5</sub>-O-하이드록시코돈, 및 mPEG<sub>2-5, 9</sub>-O-코데인에 속하는 예시적인 PEG-올리고머-오피오이드 작용제 접합체가 마우스의 내장 통증을 감소 및/또는 예방하는 데 효과적인지의 여부를 결정하기 위하여 핫플레이트 잠시 진통 검정을 사용하였다.

[0294] 이 검정은 CD-1 수컷 마우스(집단당 10마리의 마우스)를 이용하였으며, 각각의 마우스는 연구 당일에 약 0.028 내지 0.031kg이었다. 마우스를 표준 프로토콜에 따라 처리하였다. 수용성이며 비펩티드성인 올리고머의 공유 부착이 결여된 화합물(비개질된 부모 분자), 수용성이며 비펩티드성인 올리고머에 공유 부착된 화합물을 포함하는 상응하는 변형물(즉, 접합체), 또는 대조 용액의 단회 “사전처리” 용량을 핫플레이트 시험 30분 전에 (SC로) 마우스에 제공하였다. 핫플레이트 온도를 55 ± 1°C로 설정하였으며, 실험의 개시 전에 표면 온도계를 사용하여 교정하였다. “사전처리” 30분 후에, 각각의 마우스를 핫플레이트 상에 놓고, 뒷발을 핏기까지의 잠시를 0.1초 단위까지 기록하였다. 만약 30초 이내에 핏기가 일어나지 않았다면, 마우스를 치웠다. 핫플레이트 시험 직후에, 온도 프로브를 직장 내로 17mm 삽입하였으며, 미터가 안정화되었을 때(약 10초) 체온을 0.1°C 단위까지 읽었다. 동물들은 한번 사용하였다. 각각의 시험 품목은 0.3 내지 30mg/kg의 범위로 투여하였다(n=5 내지 10마리의 동물/용량).

[0295] 결과가 도 5(하이드록시코돈 시리즈), 도 6(모르핀 시리즈) 및 도 7(코데인)에 나타나 있다. 도표는 투여되는 화합물의 용량(단위: mg/kg) 대비 잠시(뒷발을 핏기까지의 시간, 단위: 초)를 보여준다.

[0296] **실시예 15**

[0297] **수컷 스프라그-돌리 래트에서 정맥내(IV) 및 경구(PO) 투여 후의 PEG<sub>oligo</sub>-오피오이드 화합물의 약동학 - 연구 설계**

[0298] 유치 경정맥 카테터 및 경동맥 카테터(JVC/CAC)를 갖는 175마리의 성체 수컷 스프라그-돌리 래트(샤를스 리버 랩스(Charles River Labs), 미국 캘리포니아주 홀리스터 소재)를 이 연구에 이용하였다. 3마리의 래트/집단이 있었다. 모든 동물들을 하룻밤 절식시켰다. 투여하기 전에 래트들의 체중을 재고, 식별을 위하여 꼬리 및 케이지 카드에 라벨을 붙이고, 용량을 계산하였다. 마취를 유도하고, 3.0 내지 5.0%의 이소플루란으로 유지하였다. JVC 및 CAC를 외부에 위치시키고, HEP/식염수(10 IU/mL HEP/mL 식염수)로 플러싱하고, 플러징하고, 경정맥 및 경동맥을 식별하기 위하여 라벨을 붙였다. 투여 전(predose) 샘플을 JVC로부터 수집하였다. 모든 동물들이 마취로부터 회복되고, 이들의 투여 전 샘플을 가공하였을 때, 정맥내 집단을 위한 동물들에 적절한 시험 품목이 들어있는 1mL 시린지를 사용하여 JVC를 통하여 정맥내(IV) 투여하였으며, 카테터의 무용 부피(dead volume)를 0.9% 식염수로 플러싱하여 동물들이 올바른 용량을 투여받음을 확실히 하였으며, 경구 집단 동물들은 위관 영양(gavage)을 통하여 경구 처리하였다.

- [0299] 경동맥 카테터를 통하여, 단회 IV 투여 후, 혈액 샘플을 0(투여 전은 전술된 바와 같이 수집됨), 2, 10, 30, 60, 90, 120, 및 240분째에 수집하고, 경구 투여 후, 혈액 샘플을 0(투여 전은 전술된 바와 같이 수집됨), 15, 30, 60, 120, 240 및 480분째에 수집하고, 프로토콜에 기술된 바와 같이 가공하였다. 마지막 수집 시점 후, 동물들을 안락사시켰다.
- [0300] LC-MS/MS 방법을 사용하여 혈장 샘플의 생체분석적 분석을 수행하였다.
- [0301] 약동학 분석: 윈논린(WinNonlin, 버전 5.2, 미국 캘리포니아주 94014 마운틴 뷰(Mountain View) 소재)을 사용하여 PK 분석을 수행하였다. 표 및 PK 분석을 생성하기 전에 LLOQ 미만인 혈장에서의 농도는 0으로 대체하였다. 각각의 동물의 혈장 농도-시간 프로파일을 사용하여 다음의 PK 파라미터를 계산하였다:
- [0302]  $C_0$  시간 “0” 으로 외삽된 농도
- [0303]  $C_{max}$  최대(피크) 농도
- [0304]  $AUC_{a11}$  0부터 마지막 농도 값의 시간까지의 농도-시간 아래의 면적
- [0305]  $T_{1/2(z)}$  종말 제거 반감기(terminal elimination half-life)
- [0306]  $AUC_{inf}$  0으로부터 무한 시간까지의 농도-시간 아래의 면적
- [0307]  $T_{max}$  투여 후 최대 또는 피크 농도에 도달하기까지의 시간
- [0308] CL 전신 청소율
- [0309]  $V_z$  종말상(terminal phase)을 기준으로 한 분포의 부피
- [0310]  $V_{ss}$  정상 상태에서의 분포의 부피
- [0311]  $MRT_{last}$  마지막 관찰가능한 농도까지의 평균 체류 시간
- [0312] F 생체이용률
- [0313] 화합물들에 대하여 평균 용량-정규화된  $AUC_{a11}$  데이터를 사용하여 경구 생체이용률을 계산하였는데, 여기서 IV 집단 또는 PO 집단 중 하나는 단지 n=3 미만/집단에 대하여 보고된 데이터를 가졌다.
- [0314] **실시예 16**
- [0315] **mPEG<sub>n</sub>-0-하이드록시코돈 접합체의 IV 및 PO 약동학**
- [0316] 상기 실시예 15에 기재된 바와 같이 스프라그-돌리 래트에서 약동학 연구를 수행하였다. 투여된 화합물은 n=1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 및 9인 mPEG<sub>n</sub>-0-하이드록시코돈 접합체들뿐만 아니라, 부모 화합물인 옥시코돈이었다. 이의 목적은 정맥내 및 경구 투여된 부모 화합물 및 그의 다양한 올리고머 접합체들의 약동학을 결정하는 것이었다.
- [0317] 옥시코돈, mPEG<sub>0</sub>-옥시코돈, mPEG<sub>1</sub>-0-하이드록시코돈, mPEG<sub>2</sub>-0-하이드록시코돈, mPEG<sub>3</sub>-0-하이드록시코돈, mPEG<sub>4</sub>-0-하이드록시코돈, mPEG<sub>5</sub>-0-하이드록시코돈, mPEG<sub>6</sub>-0-하이드록시코돈, mPEG<sub>7</sub>-0-하이드록시코돈, 및 mPEG<sub>9</sub>-0-하이드록시코돈에 대한 IV(1mg/kg) 및 PO(5mg/kg) 전달 후의 혈장 PK 파라미터의 요약이 하기의 표 4 및 표 5에 나타나 있다.
- [0318] IV 투여에 대하여 관찰된 데이터(표 4)에 기초하여, mPEG<sub>9</sub>-0-하이드록시코돈은 평균  $t_{1/2}$  값이 부모 옥시코돈이 투여된 후에 관찰된 상응하는 평균  $t_{1/2}$ 의 3배로 보다 높은 혈장 농도를 달성하는 것으로 나타났다.
- [0319] 도 8은 1.0mg/kg의 농도로 투여될 때, 전술된 IV-투여된 mPEG<sub>n</sub>-0-하이드록시코돈 화합물들뿐만 아니라 옥시코돈 그 자체에 대한 평균 혈장 농도-시간 프로파일을 나타낸다.

[0320] 경구 투여에 대하여 관찰된 데이터(표 5)에 기초하여, mPEG<sub>5</sub>-0-하이드록시코돈, mPEG<sub>6</sub>-0-하이드록시코돈, 및 mPEG<sub>7</sub>-0-하이드록시코돈은 부모 분자인 옥시코돈과 비교할 때 혈장에서 더 높은 평균 노출(약 3 내지 8배)을 달성하는 것으로 나타났다.

[0321] 도 9는 5.0mg/kg의 농도로 래트에게 경구 투여될 때, 전술된 mPEG<sub>n</sub>-0-하이드록시코돈 화합물들뿐만 아니라 옥시코돈에 대한 평균 혈장 농도-시간 프로파일을 나타낸다.

**표 4**

[0322] 래트에게 정맥내 투여된 mPEG<sub>n</sub>-0-하이드록시코돈 접합체들의 비교 PK 파라미터(평균 ± SD)

PEG-길이	C <sub>max</sub> (ng/mL)	T <sub>1/2</sub> (z) 분	AUC <sub>all</sub> (분.ng /mL)	AUC <sub>inf</sub> (분.ng /mL)	MRT <sub>last</sub> 분	CL (mL/분/kg)	V <sub>ss</sub> (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

**표 5**

[0323] 스프라그-돌리 래트에게 경구 투여된 mPEG<sub>n</sub>-0-하이드록시코돈 접합체들의 비교 PK 파라미터(평균 ± SD)

PEG-길이	C <sub>max</sub> (ng/mL)	T <sub>1/2</sub> (z) 분	AUC <sub>all</sub> (분.ng /mL)	AUC <sub>inf</sub> (분.ng /mL)	T <sub>max</sub> * 분	MRT <sub>last</sub> 분	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

[0324] \*: n=2, NC: 계산되지 않음. T<sub>max</sub>는 중앙값으로 보고되어 있다.

[0325] 결과를 요약하기 위하여, 다양한 올리고머 PEG-길이(PEG1 내지 PEG9)를 갖는 폐길화 하이드록시코돈의 정맥내 투여는 옥시코돈과 비교할 때 가변적인 혈장 농도 및 노출을 가져왔다. 사슬 길이가 3, 5, 7 및 9인 PEG들은 더 높은 평균 노출(AUC)을 보여주었으며, 한편 PEG6은 필적할 만한 평균 노출(AUC)을 보여주었으며, 사슬 길이가 1, 2 또는 4인 PEG들은 약간 더 낮은 평균 노출(AUC)을 보여주었다. PEG 길이가 5보다 더 큰 화합물들은 증가하는 PEG 길이에 따라 더 낮은 청소율, 정상 상태에서의 더 높은 분포 부피, 제거 반감기 값의 증가의 경향을 보여주었다.

[0326] 다양한 올리고머 PEG-길이(PEG1 내지 PEG9)를 갖는 폐길화 하이드록시코돈의 경구 투여는 PEG1 및 PEG3에 공유 부착된 하이드록시코돈을 제외하고는 혈장 노출에 있어서 개선을 가져왔다. 경구 생체이용률은 mPEG6에 공유 부착된 하이드록시코돈에 대하여 최고였으며(55.3%), mPEG5-하이드록시코돈 및 mPEG7-하이드록시코돈이 각각 37.6% 및 28.1%로 그 뒤를 이었다. 제거 반감기 값은 PEG-길이의 증가와 함께 증가하는 경향을 보여주었다.

[0327] **실시예 17**

[0328] **mPEG<sub>n</sub>-O-모르핀 접합체의 IV 및 PO 약동학**

[0329] 상기 실시예 15에 기재된 바와 같이 스프라그-돌리 래트에서 약동학 연구를 수행하였다. 투여된 화합물은 n=1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 및 9인 mPEG<sub>n</sub>-O-모르핀 접합체들뿐만 아니라, 부모 화합물인 모르핀이었다. 이의 목적은 정맥내 및 경구 투여된 부모 화합물 및 그의 다양한 올리고머 접합체들의 약동학을 결정하는 것이었다.

[0330] 모르핀, mPEG<sub>1</sub>-O-모르핀, mPEG<sub>2</sub>-O-모르핀, mPEG<sub>3</sub>-O-모르핀, mPEG<sub>4</sub>-O-모르핀, mPEG<sub>5</sub>-O-모르핀, mPEG<sub>6</sub>-O-모르핀, mPEG<sub>7</sub>-O-모르핀, mPEG<sub>9</sub>-O-모르핀에 대한 IV(1mg/kg) 및 PO(5mg/kg) 경로 후의 혈장 PK 파라미터의 요약이 표 6 및 표 7에 각각 나타나 있다.

[0331] 정맥내 집단에 대해서, 도 10은 래트에게 1.0mg/kg 정맥내 투여 후, 상기의 mPEG<sub>n</sub>-O-모르핀 접합체들의 평균 혈장 농도-시간 프로파일을 나타낸다. 각각의 동물에서 mPEG<sub>2</sub>-O-모르핀의 혈장 프로파일과의 일관성이 없는 하나의 이상치 데이터(one outlier datum)가 있는 것으로 나타났으며, PK 분석으로부터 배제시켰다.

[0332] 관찰된 데이터(표 6)에 기초하여, mPEG<sub>9</sub>-O-모르핀은 평균 t<sub>1/2</sub> 값이 부모 모르핀이 투여된 후에 관찰된 상응하는 t<sub>1/2</sub> 값의 4배로 보다 높은 혈장 농도를 달성하는 것으로 나타났다.

**표 6**

[0333] 래트에게 정맥내 투여된 mPEG<sub>n</sub>-O-모르핀 접합체들의 비교 PK 파라미터

PE G- 길이	C <sub>max</sub> (ng/mL)	T <sub>1/2(z)</sub> 분	AUC <sub>all</sub> (분.ng /mL)	AUC <sub>inf</sub> (분.ng /mL)	MRT <sub>last</sub> 분	CL (mL/분/kg)	V <sub>ss</sub> (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

[0334] 경구 집단에 대해서, 도 11은 래트에게 경구 투여(5.0mg/kg) 후, 전술된 mPEG<sub>n</sub>-O-모르핀 접합체들에 대한 평균 혈장 농도-시간 프로파일을 나타낸다.

[0335] 관찰된 데이터(표 7)에 기초하여, mPEG<sub>4</sub>-O-모르핀은 부모 분자인 모르핀과 비교할 때, 시험된 접합체들 중에서 최고의 혈장 농도를 달성하는 것으로 나타났다.

**표 7**

[0336] 스프라그-돌리 래트에게 경구 투여된 mPEG<sub>n</sub>-O-모르핀 접합체들의 비교 PK 파라미터(평균 ± SD)

PEG-길이	C <sub>max</sub> (ng/mL)	T <sub>1/2(z)</sub> 분	AUC <sub>all</sub> (분.ng /mL)	AUC <sub>inf</sub> (분.ng /mL)	T <sub>max</sub> 분	MRT <sub>last</sub> 분	F%
0	29.8 ± 7.78	144 ± 32.1	5510 ± 667	7230 ± 897	15.0	194 ± 22.0	40.4 <sup>‡</sup>
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

[0337] mPEG<sub>1</sub>-모르핀에 대해서는 PK 파라미터가 보고되어 있지 않은데, 그 이유는 모든 농도가 LLOQ 미만이었기 때문이었다. \*n=2

[0338] 요약하면, IV 데이터의 경우, 다양한 PEG-길이(PEG1 내지 PEG9)를 갖는 올리고머 폐길화 모르핀의 투여는 모르핀 그 자체와 비교할 때, 더 높은 혈장 농도 및 노출(AUC)을 가져왔다. 5 이후의 PEG-길이의 증가에 따른 평균 AUC의 증가의 경향은 명백하였으며, 이때 PEG9-모르핀 화합물의 경우 비접합된 모르핀과 비교할 때 평균 AUC가 10배 더 높았다. 평균 반감기 및 평균 체류 시간이 또한 PEG-길이의 증가에 따라 증가하였다. 더 낮은 평균 청소율 값은 관찰된 더 높은 평균 AUC 값과의 일관성이 있었다.

[0339] 정상 상태에 대하여 개선된 평균 분포 부피가 단일 PEG의 도입으로 곧바로 5배로 감소되었으며, PEG-길이 5에서 일정값에 도달하였다. 전체적으로, 폐길화는 제거 t<sub>1/2</sub>를 증가시키고 모르핀의 조직 분포를 낮추는 것으로 나타났다.

[0340] 경구 데이터에 기초하여, 다양한 PEG-길이(PEG1 내지 PEG9)를 갖는 폐길화 모르핀 접합체들의 투여는 모르핀과 비교하여 경구 생체이용률의 감소를 가져왔다. 생체이용률의 감소는 이들 PEG-접합체에 대한 대사 성분보다는 흡수 성분과 관련된 것으로 나타났다. PEG-접합체 중에서, PEG-길이 4인 접합체는 최대 F-값(22.1%)을 보여주었으며, 더 짧거나 더 긴 PEG-길이를 갖는 접합체는 흡수 손실의 명백한 경향을 보여주었다.

[0341] 이 연구에서, 모르핀 F% 값은 7.5mg/kg에서 15%라는 문헌 값보다 3배 더 높았다(문헌[J. Pharmacokinet. Biopharm. 1978, 6:505-19]). 이렇게 더 높은 노출에 대한 이유는 알려져 있지 않다.

[0342] **실시예 18**

[0343] **mPEG<sub>n</sub>-O-코데인 접합체의 IV 및 PO 약동학**

[0344] 상기 실시예 15에 기재된 바와 같이 스프라그-돌리 래트에서 약동학 연구를 수행하였다. 투여된 화합물은 n=1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 및 9인 mPEG<sub>n</sub>-O-코데인 접합체들뿐만 아니라, 부모 화합물인 코데인(n=0)이었다. 이의 목적은 정맥내 및 경구 투여된 부모 화합물, 즉 코데인, 및 그의 다양한 올리고머 접합체들의 약동학을 결정하는 것이었다.

[0345] 코데인, mPEG<sub>1</sub>-O-코데인, mPEG<sub>2</sub>-O-코데인, mPEG<sub>3</sub>-O-코데인, mPEG<sub>4</sub>-O-코데인, mPEG<sub>5</sub>-O-코데인, mPEG<sub>6</sub>-O-코데인, mPEG<sub>7</sub>-O-코데인, mPEG<sub>9</sub>-O-코데인에 대한 IV(1mg/kg) 및 PO(5mg/kg) 경로 후의 혈장 PK 파라미터의 요약이 표 8 및 표 9에 각각 나타나 있다.

[0346] IV 집단에 대해서, 도 12는 정맥내 투여 후, 부모 분자인 코데인뿐만 아니라 전술된 mPEG<sub>n</sub>-O-코데인 접합체에 대한 평균 혈장 농도-시간 프로파일을 나타낸다.

[0347] 관찰된 데이터(표 8)에 기초하여, mPEG<sub>6</sub>-O-코데인은 평균 t<sub>1/2</sub> 값이 부모 분자인 코데인의 투여 후에 관찰된 상응

하는  $t_{1/2}$  값의 약 2.5배로 시험된 접합체들 중에서 보다 높은 혈장 농도를 달성하는 것으로 나타났다.

**표 8**

[0348] 래트에게 정맥내 투여된 코데인 및 그의 올리고머 PEG 접합체들의 비교 PK 파라미터

PEG-길이	$C_{max}$ (ng/mL)	$T_{1/2(z)}$ 분	$AUC_{all}$ (분.ng /mL)	$AUC_{inf}$ (분.ng /mL)	$MRT_{last}$ 분	CL (mL/분/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

[0349]  $T_{max}$ 는 중앙값으로 보고되어 있다. \*: n=2.

[0350] 경구 집단에 대해서, 도 13은 래트에게 경구 투여(5.0mg/kg) 후, 부모 분자인 코데인 대 mPEG<sub>n</sub>-코데인 접합체들에 대한 평균 혈장 농도-시간 프로파일을 나타낸다.

[0351] 관찰된 데이터(표 9)에 기초하여, PEG-6 화합물, mPEG<sub>6</sub>-코데인은 부모 분자인 코데인으로서 시험된 접합체들 중에서 최고 혈장 농도(평균  $AUC_{all}$ 보다 52배 더 높음)를 달성하는 것으로 나타났다.

**표 9**

[0352] 스프라그-돌리 래트에게 경구 투여된 코데인 및 다양한 mPEG<sub>n</sub>-코데인 접합체들의 비교 PK 파라미터(평균 ± SD)

PEG-길이	$C_{max}$ (ng/mL)	$T_{1/2(z)}$ 분	$AUC_{all}$ (분.ng /mL)	$AUC_{inf}$ (분.ng /mL)	$T_{max}$ 분	$MRT_{last}$ 분	F%
0	6.24 ± 2.51	80.8 <sup>#</sup>	328 ± 216	431 <sup>#</sup>	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

[0353] NKT-10479에 대해서는 PK 파라미터가 보고되어 있지 않은데, 그 이유는 농도가 LLOQ이었기 때문이다.

[0354] <sup>#</sup>: n=1, \*: n=2.  $T_{max}$ 는 중앙값으로 보고되어 있다.

[0355] 요약하면, IV 데이터의 경우, 다양한 올리고머 PEG-길이(PEG1 내지 PEG9)를 갖는 코데인의 폐길화는 노출(평균 AUC)을 단지 약간만 개선하였으며, 중간의 개선(약 4배)이 PEG-6 접합체에 대하여 관찰되었다. 청소율 및 분포 부피 둘 모두가 이 PEG-접합체에 대하여 4배로 감소되었다. PEG-길이 7 및 9인 접합체는 더 긴 평균  $t_{1/2}$  값을 보여주었지만, PEG7- 및 PEG9-코데인 접합체 둘 모두에 대하여 평균 청소율 및 평균 분포 부피( $V_{ss}$ )가 감소되었다.

[0356] 경구 데이터의 경우, 코데인에 대한 경구 생체이용률은 매우 낮았다( $F=0.52\%$ ). 경구 생체이용률은 2 이후로부터 PEG-길이의 증가에 따라 증가하다가, PEG-길이 6을 갖는 코데인 접합체에 대하여 32% 생체이용률로 최대에 도달하였다가, 이후에 감소하는 것으로 나타났다. 일반적으로, 평균  $t_{1/2}$  및 평균 체류 값은 PEG-길이에 따라 증가하였다. 시험된 모든 화합물 간에 피크 농도에 도달하기까지의 시간( $T_{max} = 15$ 분)에 있어서 차이가 없었으며, 이는 흡수가 빨랐으며, 흡수 속도가 변경되지 않았음을 시사한다.

[0357] **실시예 19**

[0358] **mPEG<sub>n</sub>-O-오피오이드 접합체의 오피오이드 수용체에의 시험관내 결합**

[0359] 다양한 PEG-오피오이드 접합체들(mPEG<sub>n</sub>-O-모르핀, mPEG<sub>n</sub>-O-코데인, 및 mPEG<sub>n</sub>-O-하이드록시코돈)의 결합 친화성을 실시예 4에 기재된 것과 유사한 방법으로 클로닝된 사람 뮤, 카파 또는 델타 오피오이드 수용체를 이중 발현하는 CHO 세포로부터 제조되는 막 제조에서 시험관내 측정하였다. 섬광 근접 검정(scintillation proximity assay, SPA)을 사용하여 방사성 리간드 치환을 측정하였다.

[0360] 간단히 말하면, 시험 화합물의 일련의 희석액들을 96웰 플레이트 내에 넣고, 여기에 SPA 비드, 막 및 방사성 리간드를 첨가하였다. 각각의 오피오이드 수용체 아형에 대한 검정 조건이 하기 표 10에 기재되어 있다. 이들 플레이트를 8시간-하룻밤 동안 실온에서 인큐베이션하고, 1000rpm으로 회전시켜 SPA 비드를 펠릿화하였으며, 탑카운트(TopCount)® 마이크로플레이트 섬광 계수기를 사용하여 방사능을 측정하였다. 과잉의 차가운 리간드의 존재 하에서 측정된 비특이적 결합을 뺀으로써, 시험 화합물의 각각의 농도에서의 특이적 결합을 계산하였다. 특이적 결합 대 농도 곡선의 비선형 회귀에 의해 IC<sub>50</sub> 값을 구하였으며, 각각의 많은 막 제조에 대하여 실험적으로 사전 결정된 Kd 값을 사용하여 Ki 값을 계산하였다.

**표 10**

오피오이드 수용체 결합 검정에 대한 검정 조건

[0361]

실험 변수	뮤 오피오이드 수용체	카파 오피오이드 수용체	델타 오피오이드 수용체
SPA 비드	PVT-WGA PEI 타입 A(지이 헬스케어(GE Healthcare), 카탈로그 번호 RPNQ0003)	PVT-WGA(지이 헬스케어, 카탈로그 번호 RPNQ0001)	PVT-WGA PEI 타입 B(지이 헬스케어, 카탈로그 번호 RPNQ0004)
방사성 리간드; 농도	DAMGO, [티로실-3,5-3H(N)]-(피킨 엘머(Perkin Elmer), 카탈로그 번호 NET-902); 6nM	U-69,593, [페닐-3,4-3H]-(피킨 엘머, 카탈로그 번호 NET-952); 10nM	날트린돌, [5',7'-3H]-(피킨 엘머, 카탈로그 번호 NET-1065); 3nM
비특이적 결합 대조	CTAP	<i>nor</i> -비날토르피민( <i>nor</i> -BNI)	SNC80
완충액	50mM 트리스-HCl, pH 7.5 5mM MgCl <sub>2</sub> ; 1mM EDTA	50mM 트리스-HCl, pH 7.5 5mM MgCl <sub>2</sub>	50mM 트리스-HCl, pH 7.5 5mM MgCl <sub>2</sub>
수용체 및 공급원	CHO-K1 숙주 세포막에서 발현된 재조합 사람 뮤 오피오이드 수용체(피킨 엘머, 카탈로그 번호 ES-542-M)	Chem-1 숙주 세포막에서 발현된 재조합 사람 카파 오피오이드 수용체(밀리포어(Millipore), 카탈로그 번호 HTS095M)	Chem-1 숙주 세포막에서 발현된 재조합 사람 델타 오피오이드 수용체(밀리포어, 카탈로그 번호 HTS100M)

[0362]

모르핀, 코데인 및 하이드록시코돈의 올리고머 PEG 접합체들의 결합 친화성이 표 11에 나타나 있다. 전체적으로, 이들 모든 접합체는 뮤-오피오이드 수용체에 대하여 측정가능한 결합을 나타내었으며, 이는 이들 부모 분자에 대하여 알려진 약리학과의 일관성이 있다. 주어진 PEG 크기에 대하여, 뮤-오피오이드 결합 친화성의 순위는 PEG-모르핀 > PEG-하이드록시코돈 > PEG-코데인이었다. 증가하는 PEG 크기는 비접합된 부모 분자와 비교하여 뮤 오피오이드 수용체에 대한 모든 PEG 접합체의 결합 친화성에 있어서 점진적인 감소를 가져왔다. 그러나, PEG-모르핀 접합체는 여전히 부모 모르핀의 15배 내에 있는 높은 결합 친화성을 유지하였다. PEG-하이드록시코돈의 뮤-오피오이드 결합 친화성은 PEG-모르핀 접합체의 것들보다 20 내지 50배 더 낮았다. 코데인 및 그의 PEG 접합체는 매우 낮은 친화성으로 뮤 오피오이드 수용체에 결합하였다. PEG-모르핀 접합체는 또한 카파 및 델타 오피오이드 수용체에 결합하였으며, 선택성의 순위는 뮤 > 카파 > 델타이었다. 카파 및 델타 오피오이드 수용체에 대한 코데인 접합체 및 하이드록시코돈 접합체의 결합 친화성은 뮤-오피오이드 수용체에서의 것보다 상당히 더 낮았다.

표 11

[0363]

오피오이드 수용체들에 대한 PEG-오피오이드 접합체들의 결합 친화성

화합물	Ki (nM)		
	뮤 오피오이드 수용체	카파 오피오이드 수용체	델타 오피오이드 수용체
모르핀	8.44	118.38	4,297
α-6-mPEG <sub>1</sub> -0-모르핀	15.72	444.54	2,723
α-6-mPEG <sub>2</sub> -0-모르핀	21.97	404.33	2,601
α-6-mPEG <sub>3</sub> -0-모르핀	50.66	575.98	6,176
α-6-mPEG <sub>4</sub> -0-모르핀	23.11	438.88	3,358
α-6-mPEG <sub>5</sub> -0-모르핀	39.40	557.54	2,763
α-6-mPEG <sub>6</sub> -0-모르핀	72.98	773.56	2,595
α-6-mPEG <sub>7</sub> -0-모르핀	56.86	669.56	2,587
α-6-mPEG <sub>9</sub> -0-모르핀	111.05	1253.71	5,783
옥시코돈	133.48	N/A	N/A
α-6-mPEG <sub>1</sub> -0-하이드록시코돈	653.90	N/A	N/A
α-6-mPEG <sub>2</sub> -0-하이드록시코돈	631.76	N/A	N/A
α-6-mPEG <sub>3</sub> -0-하이드록시코돈	775.19	N/A	N/A
α-6-mPEG <sub>4</sub> -0-하이드록시코돈	892.70	N/A	N/A
α-6-mPEG <sub>5</sub> -0-하이드록시코돈	1862.14	N/A	N/A
α-6-mPEG <sub>6</sub> -0-하이드록시코돈	1898.30	N/A	N/A
α-6-mPEG <sub>7</sub> -0-하이드록시코돈	1607.19	N/A	N/A
α-6-mPEG <sub>9</sub> -0-하이드록시코돈	3616.60	N/A	N/A
코데인	1,953	28,067	N/A
α-6-mPEG <sub>1</sub> -0-코데인	1821.51	54669.89	N/A
α-6-mPEG <sub>2</sub> -0-코데인	1383.07	22603.05	N/A
α-6-mPEG <sub>3</sub> -0-코데인	4260.21	36539.78	N/A
α-6-mPEG <sub>4</sub> -0-코데인	2891.36	96978.61	N/A
α-6-mPEG <sub>5</sub> -0-코데인	2427.13	59138.22	N/A
α-6-mPEG <sub>6</sub> -0-코데인	14202.77	>160,000	N/A
α-6-mPEG <sub>7</sub> -0-코데인	9963.93	108317.50	N/A
α-6-mPEG <sub>9</sub> -0-코데인	9975.84	72246.23	N/A

[0364]

N/A는 시험된 화합물의 최고 농도에서 결합의 50% 억제에 달성되지 않았기 때문에 Ki 값을 계산할 수 없었음을 나타낸다.

[0365] 실시예 20

[0366] cAMP 형성을 억제하기 위한 mPEG<sub>n</sub>-O-오피오이드 접합체의 시험관내 효능

[0367] 실시예 5에 기재된 것과 유사한 방법으로 수용체 활성화 후의 cAMP 형성을 억제하는 능력에 의해 다양한 PEG-오피오이드 접합체의 효능을 측정하였다. 연구는 클로닝된 사람 뮤, 카파 또는 델타 오피오이드 수용체를 이중 발현하는 CHO 세포에서 수행하였다. 경쟁 면역검정 원리에 기초한 cAMP 하이레인지(HiRange) 균일 시간-분해 형광 검정(homogenous time-resolved fluorescence assay, HTRF Assay)(시스바이오(Cisbio), 카탈로그 번호 62AM6PEC)을 사용하여 cAMP를 측정하였다.

[0368] 간단히 말하면, 뮤, 카파 또는 델타 오피오이드 수용체 중 어느 하나를 발현하는 세포의 현탁액을 0.5mM 이소부틸-메틸 잔틴(IBMx)을 함유하는 완충액에서 제조하였다. 실온에서 30분 동안 다양한 농도의 PEG-오피오이드 접합체 및 3 μM 포르스콜린과 함께 세포를 인큐베이션하였다. 제조업자의 사용설명서에 따라 2단계 검정 프로토콜 후에 cAMP를 검출하고, 다음의 설정으로 시간 분해 형광을 측정하였다: 330nm 여기(excitation); 620nm 및 665nm 방출; 380nm 다이크로익 미러(dichroic mirror). 665nm/620nm 비는 델타 F%로 표현되며, 시험 화합물 관련 데이터는 포르스콜린이 없는 웰에서의 평균 최대 반응의 백분율로 표현된다. 농도 대 최대 반응의 S자형 용량-반응 도표로부터 각각의 화합물에 대하여 EC<sub>50</sub> 값을 계산하였다. 화합물이 당해 시스템에서 완전 작용제 또는 부분 작용제로서 거동했는지를 결정하기 위하여, 화합물의 최고 시험 농도에서의 최대 반응을 알려진 완전 작용제에 의해 생성된 것과 비교하였다.

[0369] 전 세포에서 cAMP 형성의 억제에 대한 EC<sub>50</sub> 값이 표 12에 나타나 있다. 모르핀, 코데인 및 하이드록시코돈의 유효 리고며 PEG 접합체들은, 비록 다양한 효능을 가질지라도 뮤 오피오이드 수용체에서 완전 작용제이었다. 모르핀 및 그의 접합체는 시험된 3가지 일련의 오피오이드 중 가장 강력하였으며, 한편 PEG 하이드록시코돈 접합체 및 PEG 코데인 접합체는 상당히 더 낮은 효능을 나타내었다. 증가되는 PEG 크기에 따라 PEG-모르핀 접합체의 효능의 점진적인 감소가 관찰되었지만, 이들 접합체는 부모의 40배 내로 뮤-작용제 효력을 유지하였다. 뮤 오피오이드 수용체에서의 효과와 대조적으로, 모르핀 및 PEG-모르핀 접합체는 카파 오피오이드 수용체에서 약한 부분 작용제로서 거동하여 최대 가능한 반응의 47 내지 87%를 생성하였다. 시험된 농도들의 범위(최대 500 μM)로는 완전한 용량-반응 곡선을 생성할 수 없었기 때문에, 코데인 접합체 및 하이드록시코돈 접합체에 대하여 카파 및 델타 오피오이드 수용체에서의 EC<sub>50</sub> 값을 계산할 수 없었다.

[0370] 전체적으로, 수용체 결합 및 기능 활성의 결과는 PEG-오피오이드가 시험관내에서 뮤 작용제임을 나타낸다.

표 12

[0371] PEG-오피오이드 접합체들의 시험관내 효능

화합물	뮤 오피오이드 수용체		카파 오피오이드 수용체		델타 오피오이드 수용체
	EC <sub>50</sub> , nM	% 최대 효과	EC <sub>50</sub> , nM	% 최대 효과	
모르핀	28.5	102	624	69	N/A
α-6-mPEG <sub>1</sub> -O-모르핀	85.0	91	1,189	81	N/A
α-6-mPEG <sub>2</sub> -O-모르핀	93.3	91	641	87	N/A
α-6-mPEG <sub>3</sub> -O-모르핀	270	100	4,198	82	N/A
α-6-mPEG <sub>4</sub> -O-모르핀	128	100	3,092	77	N/A
α-6-mPEG <sub>5</sub> -O-모르핀	157	95	2,295	71	N/A
α-6-mPEG <sub>6</sub> -O-모르핀	415	98	3,933	62	N/A
α-6-mPEG <sub>7</sub> -O-모르핀	508	90	4,237	57	N/A
α-6-mPEG <sub>9</sub> -O-모르핀	1,061	87	4,417	47	N/A
옥시코돈	478	95	N/A	N/A	N/A
하이드록시코돈	3,162		N/A	N/A	

$\alpha$ -6-mPEG <sub>1</sub> -O-하이드록시코돈	3,841	102	N/A	N/A	N/A
$\alpha$ -6-mPEG <sub>2</sub> -O-하이드록시코돈	5,005	101	N/A	N/A	N/A
$\alpha$ -6-mPEG <sub>3</sub> -O-하이드록시코돈	2,827	108	N/A	N/A	N/A
$\alpha$ -6-mPEG <sub>4</sub> -O-하이드록시코돈	3,715	109	N/A	N/A	N/A
$\alpha$ -6-mPEG <sub>5</sub> -O-하이드록시코돈	5,037	108	N/A	N/A	N/A
$\alpha$ -6-mPEG <sub>6</sub> -O-하이드록시코돈	12,519	102	N/A	N/A	N/A
$\alpha$ -6-mPEG <sub>7</sub> -O-하이드록시코돈	7,448	101	N/A	N/A	N/A
$\alpha$ -6-mPEG <sub>9</sub> -O-하이드록시코돈	17,948	95	N/A	N/A	N/A
코데인	10,418	81	N/A	3	N/A
$\alpha$ -6-mPEG <sub>1</sub> -O-코데인	8,574	80	N/A	51	N/A
$\alpha$ -6-mPEG <sub>2</sub> -O-코데인	5,145	75	40, 103	59	N/A
$\alpha$ -6-mPEG <sub>3</sub> -O-코데인	19,740	91	N/A	49	N/A
$\alpha$ -6-mPEG <sub>4</sub> -O-코데인	22,083	99	N/A	61	N/A
$\alpha$ -6-mPEG <sub>5</sub> -O-코데인	23,235	95	N/A	60	N/A
$\alpha$ -6-mPEG <sub>6</sub> -O-코데인	97,381	80	N/A	21	N/A
$\alpha$ -6-mPEG <sub>7</sub> -O-코데인	44,729	75	N/A	48	N/A
$\alpha$ -6-mPEG <sub>9</sub> -O-코데인	48,242	80	N/A	61	N/A

[0372] **실시예 21**

[0373] **mPEG<sub>n</sub>-O-오피오이드 접합체의 뇌:혈장 비**

[0374] IV 투여 후, 래트에서의 뇌:혈장 비를 측정함으로써, 혈액-뇌 장벽(BBB)을 횡단하고 CNS(중추 신경계)로 들어가는 올리고머 mPEG-O-모르핀 접합체, 올리고머 mPEG-O-코데인 접합체 및 올리고머 mPEG-O-하이드록시코돈 접합체의 능력을 평가하였다.

[0375] 간단히 말하면, 3마리의 래트의 집단들에 모르핀, mPEG<sub>n</sub>-O-모르핀 접합체, 코데인 및 m-PEG<sub>n</sub>-O-코데인 접합체 각각을 5mg/kg 정맥내(i.v) 주사하였다. PEG-2,3 및 4-옥시코돈 접합체를 10mg/kg i.v.로 투여하고, 옥시코돈 및 나머지 다른 PEG 크기의 옥시코돈 접합체들을 1mg/kg(i.v)으로 투여하였다. 뇌 조직에서 충분한 농도의 검출이 가능하도록 옥시코돈 접합체들의 용량을 조정해야만 하였다. BBB를 횡단하지 않는 아테놀롤을 뇌 조직의 혈관 오염의 척도로서 사용하였으며, 별도의 래트 집단에 10mg/kg의 농도로 투여하였다. 주사 1시간 후, 동물들을 희생시켰으며, 혈장 및 뇌를 수집하고 즉시 동결시켰다. 조직 및 혈장 추출 후, LC-MS/MS를 사용하여 뇌 및 혈장에서의 화합물의 농도를 측정하였다. 뇌 및 혈장에서 측정된 농도의 비로서 뇌:혈장 비를 계산하였다. 결과도 16a 내지 도 16c에 나타나 있다.

[0376] 도 14a, 도 16b 및 도 16c는 다양한 올리고머 mPEG<sub>n</sub>-O-모르핀 접합체, 올리고머 mPEG<sub>n</sub>-O-코데인 접합체, 및 올리고머 PEG<sub>n</sub>-O-하이드록시코돈 접합체의 뇌:혈장 비를 각각 나타낸다. 아테놀롤의 뇌:혈장 비는 각각의 도면에서 비교를 위한 기초를 제공하는 것으로 나타나 있다. PEG-접합은 각각의 비접합된 부모 분자(하이드록시코돈의 경우에는 옥시코돈임)와 비교하여 모든 접합체의 뇌:혈장 비의 감소를 가져온다. 단지 PEG-1-모르핀만이 그의 부모인 모르핀보다 더 큰 뇌:혈장 비를 나타내었다.

[0377] **실시예 22**

[0378] 다양한 예시적인 mPEG<sub>n</sub>-O-오피오이드 접합체의 뇌 농도 및 혈장 농도의 시간-경과

[0379] IV 투여 후 시간 경과에 따른 뇌 및 혈장에서의 다양한 올리고머 PEG-오피오이드 접합체들의 농도를 결정하기 위하여 실험을 수행하였다.

[0380] 사용된 실험 방법론 및 농도는 실시예 21에 기재된 단일 시점 실험에 대하여 사용된 것과 동일하지만, 다양한 상이한 시점들에서 뇌 및 혈장을 수집하였다.

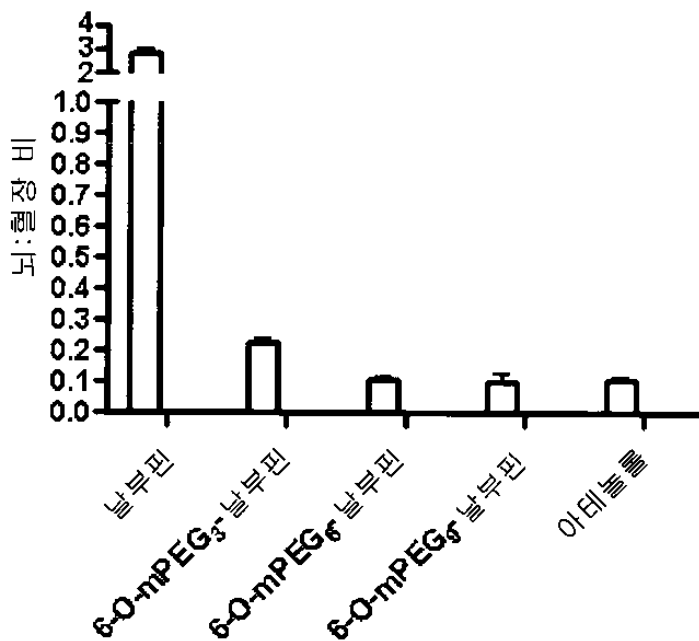
[0381] 모든 PEG-하이드록시코돈 접합체들을 10mg/kg iv로 투여하였으며, 한편 옥시코돈 부모를 1mg/kg iv로 투여하였다. 투여된 다양한 PEG-오피오이드 접합체들에 대한 시간 대비 뇌 농도 및 혈장 농도에 대한 데이터가 도 15a 내지 도 15h(모르핀 시리즈), 도 16a 내지 도 16h(코데인 시리즈), 및 도 17a 내지 도 17h(옥시코돈/하이드록시코돈 시리즈)에 나타나 있다.

[0382] 데이터는 모든 부모 분자 및 올리고머 PEG-컨쥬게이트들에 대한 뇌 농도의 최대 증가가 iv 주사 후 가장 초기 시점, 즉 10분에 일어남을 보여준다. PEG 접합은 뇌 농도에 있어서의 상당한 감소를 가져오며, 더 큰 PEG 접합체들(PEG-4 이상)의 경우, 뇌 농도는 시간 경과에 따라 상대적으로 낮게 그리고 안정적인 상태로 유지된다.

도면

도면1

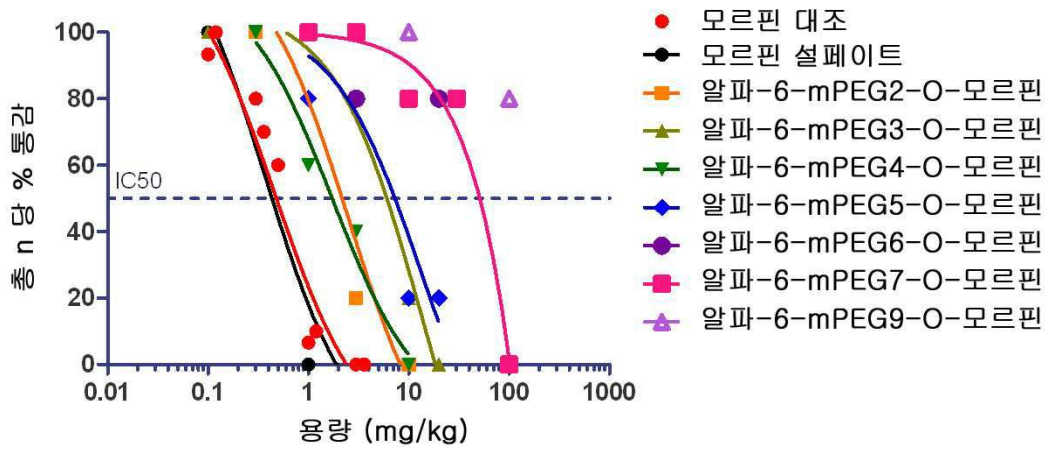
PEG-날부핀의 뇌:혈장 비



분자	뇌:혈장 비
날부핀	2.86
6-O-mPEG <sub>3</sub> -날부핀	0.23
6-O-mPEG <sub>6</sub> -날부핀	0.11
6-O-mPEG <sub>9</sub> -날부핀	0.10
아테놀롤	0.11

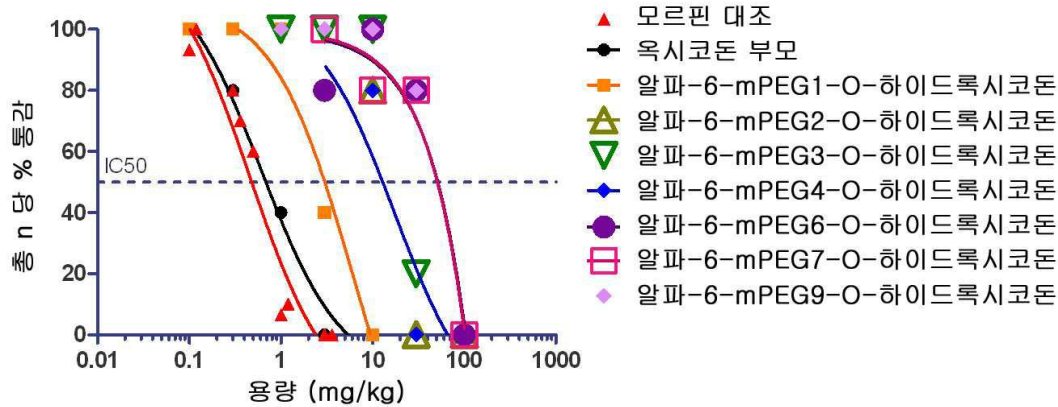
도면2

모르핀 시리즈 페닐케논 통감



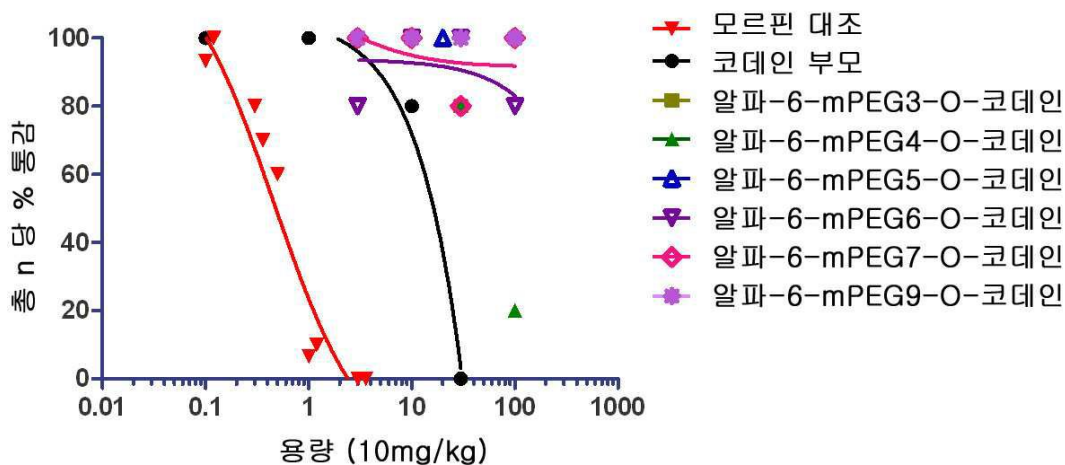
도면3

하이드록시코돈 시리즈 페닐케논 통감

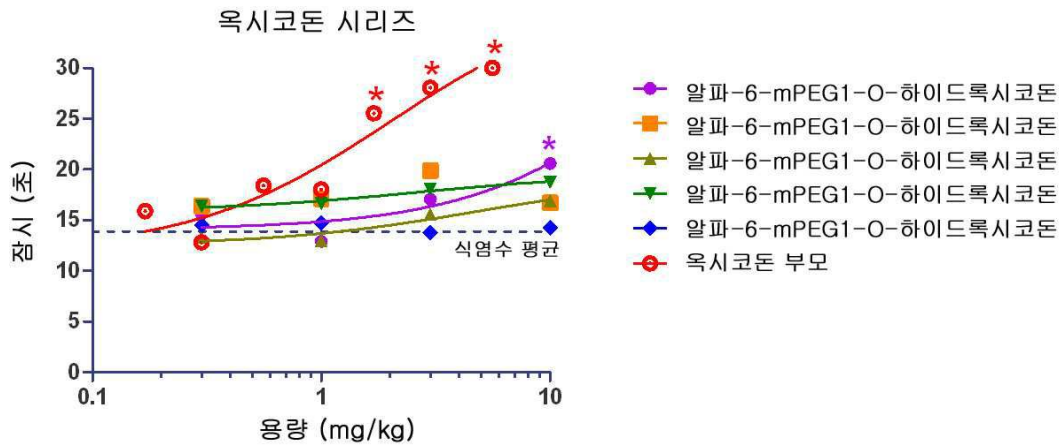


도면4

코데인 시리즈 페닐케논 통감

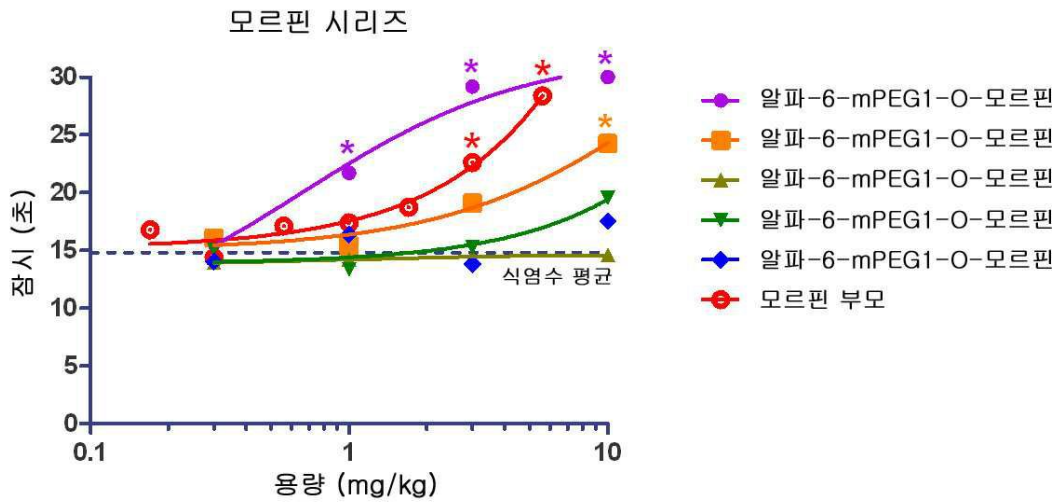


도면5



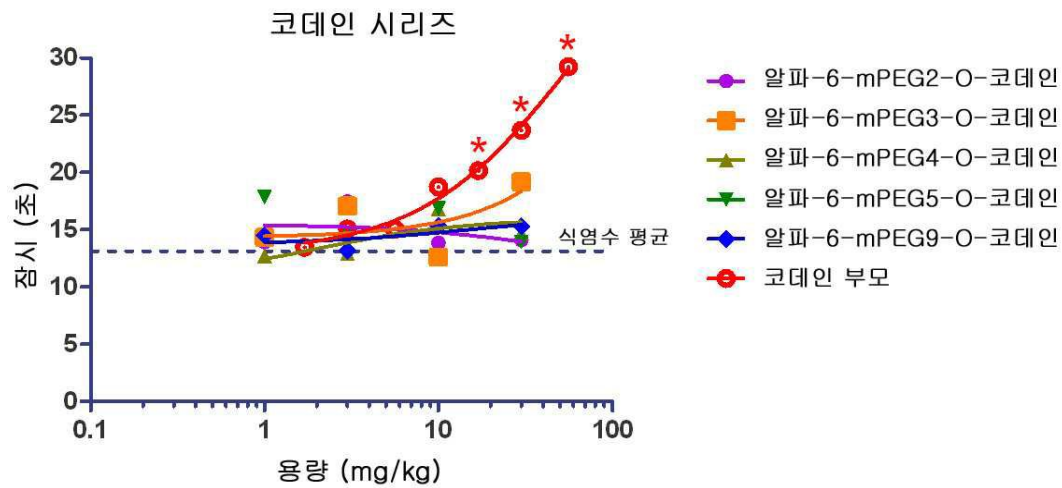
\*는 ANOVA/Dunnett's에 의해 식염수 대비 p<0.05임을 나타낸다.

도면6



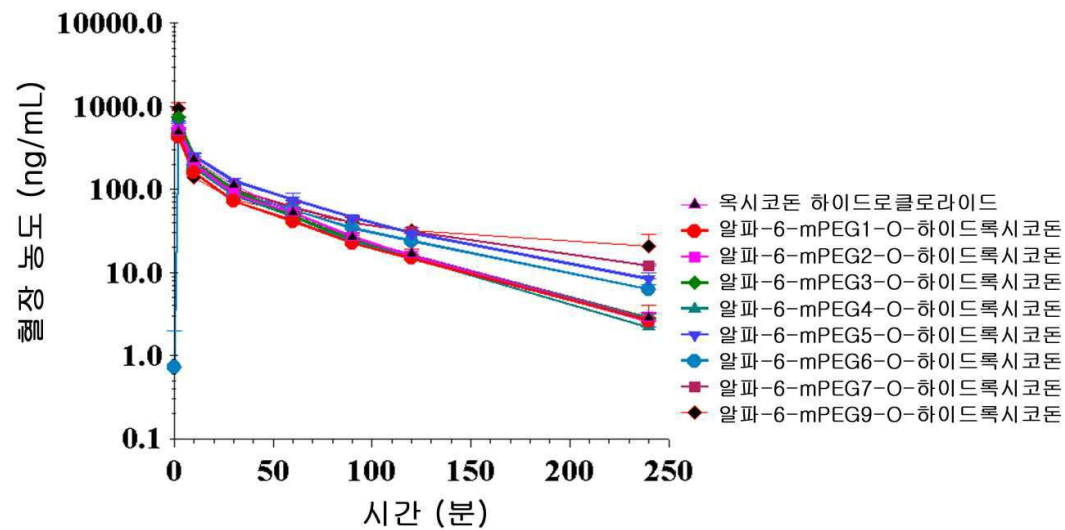
\*는 ANOVA/Dunnett's에 의해 식염수 대비 p<0.05임을 나타낸다.

도면7

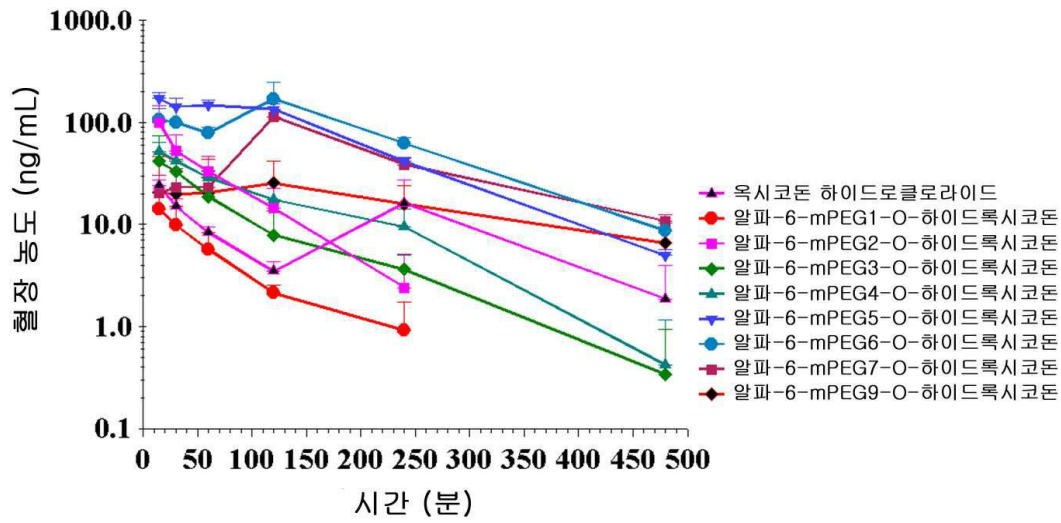


\*는 ANOVA/Dunnett's에 의해 식염수 대비 p<0.05임을 나타낸다.

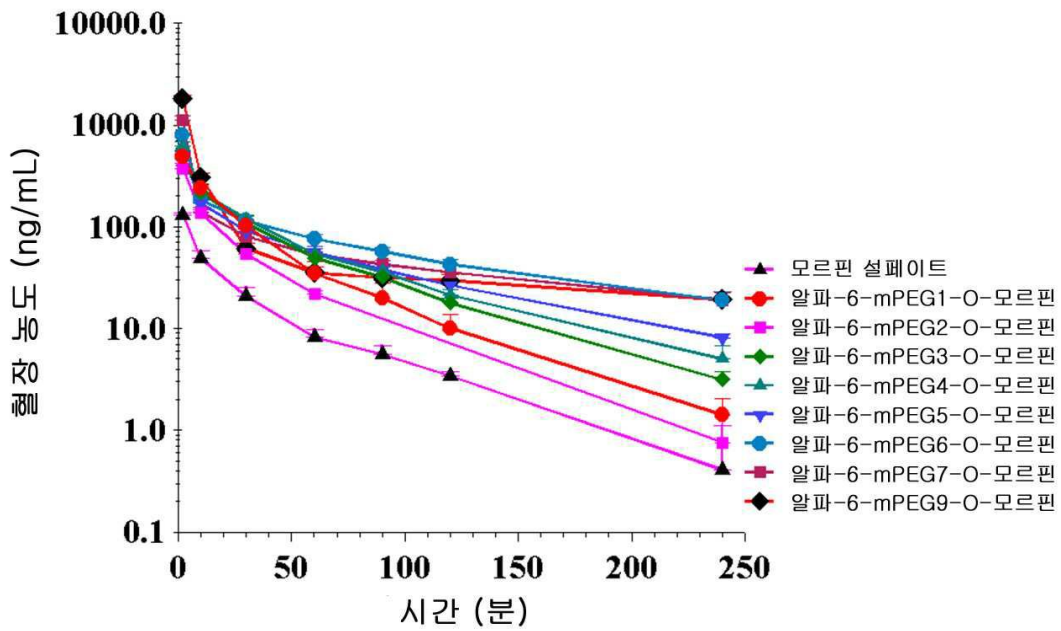
도면8



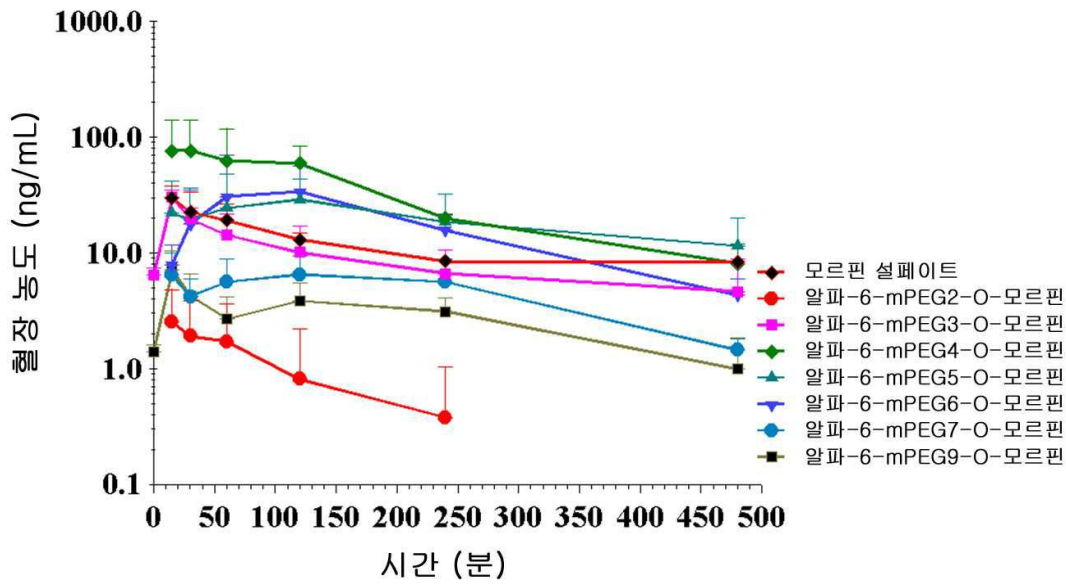
도면9



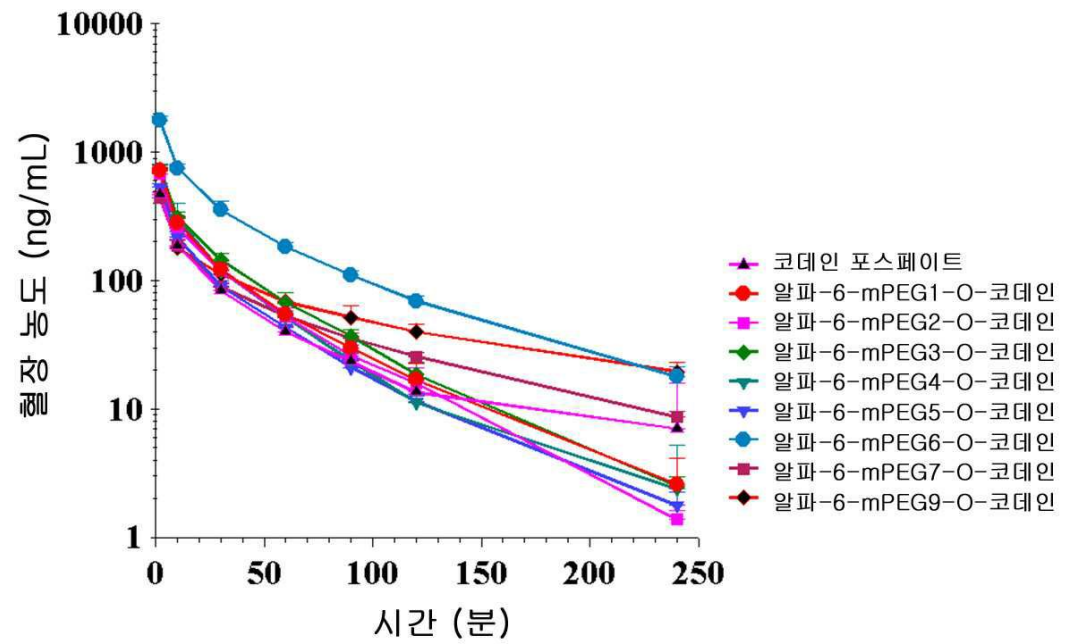
도면10



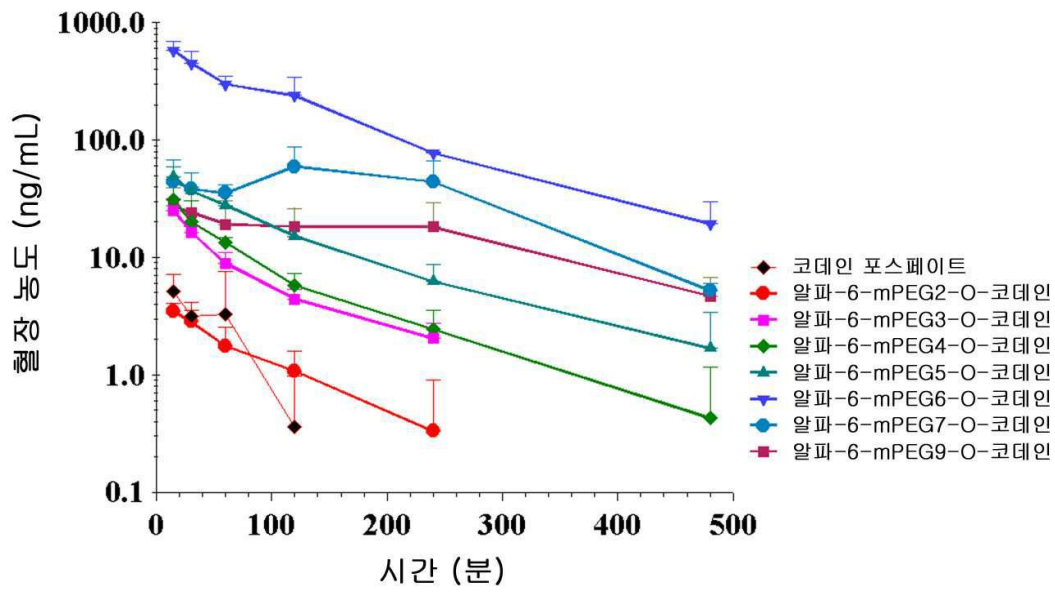
도면11



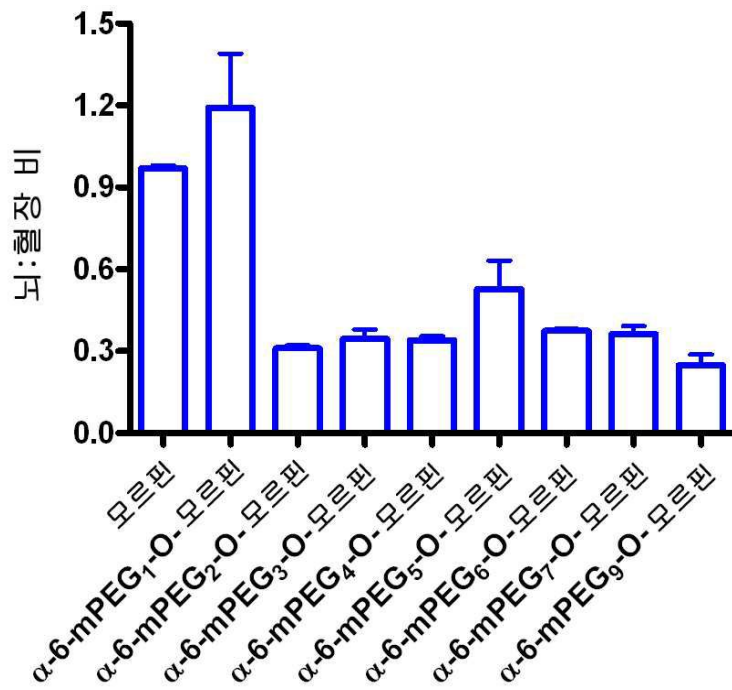
도면12



도면13

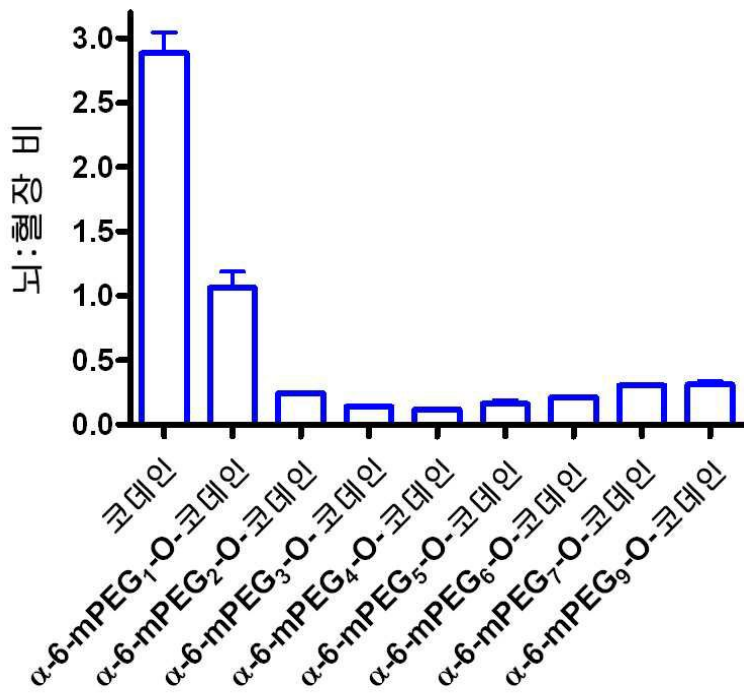


도면14a



	A / B			C / D		
	평균	SD	N	평균	SD	N
모르핀	0.97	0.019	3			
$\alpha$ -6-mPEG <sub>1</sub> -O-모르핀	1.19	0.341	3			
$\alpha$ -6-mPEG <sub>2</sub> -O-모르핀	0.31	0.019	3			
$\alpha$ -6-mPEG <sub>3</sub> -O-모르핀	0.35	0.057	3			
$\alpha$ -6-mPEG <sub>4</sub> -O-모르핀	0.34	0.023	3			
$\alpha$ -6-mPEG <sub>5</sub> -O-모르핀	0.53	0.179	3			
$\alpha$ -6-mPEG <sub>6</sub> -O-모르핀	0.37	0.016	3			
$\alpha$ -6-mPEG <sub>7</sub> -O-모르핀	0.36	0.050	3			
$\alpha$ -6-mPEG <sub>9</sub> -O-모르핀	0.25	0.067	3			
아테놀롤				0.060	0.008	3

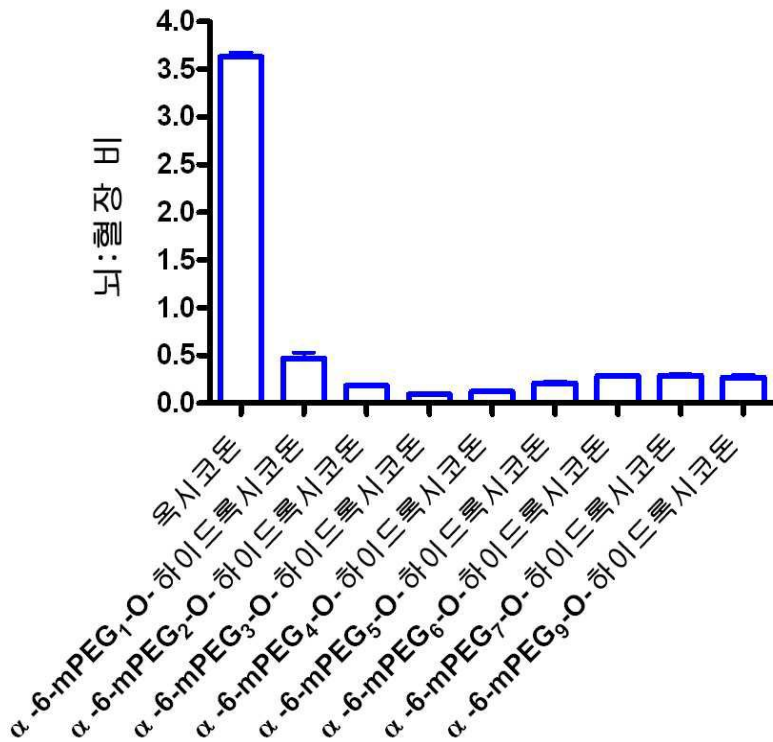
도면14b



분자            뇌:혈장 비

	A / B			C / D		
	평균	SD	N	평균	SD	N
코데인	2.88	0.276	3			
α-6-mPEG <sub>1</sub> -O- 코데인	1.06	0.214	3			
α-6-mPEG <sub>2</sub> -O- 코데인	0.24	0.014	3			
α-6-mPEG <sub>3</sub> -O- 코데인	0.14	0.011	3			
α-6-mPEG <sub>4</sub> -O- 코데인	0.12	0.009	3			
α-6-mPEG <sub>5</sub> -O- 코데인	0.16	0.049	3			
α-6-mPEG <sub>6</sub> -O- 코데인	0.21	0.006	3			
α-6-mPEG <sub>7</sub> -O- 코데인	0.30	0.017	3			
α-6-mPEG <sub>9</sub> -O- 코데인	0.31	0.047	3			
아테놀롤				0.060	0.013	3

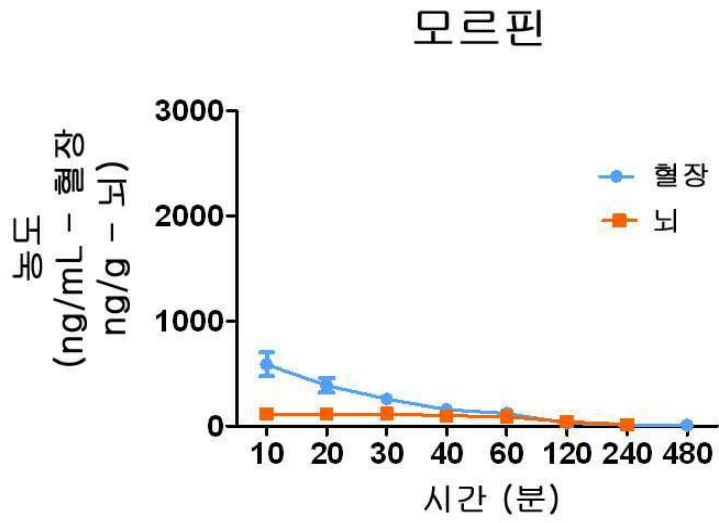
도면14c



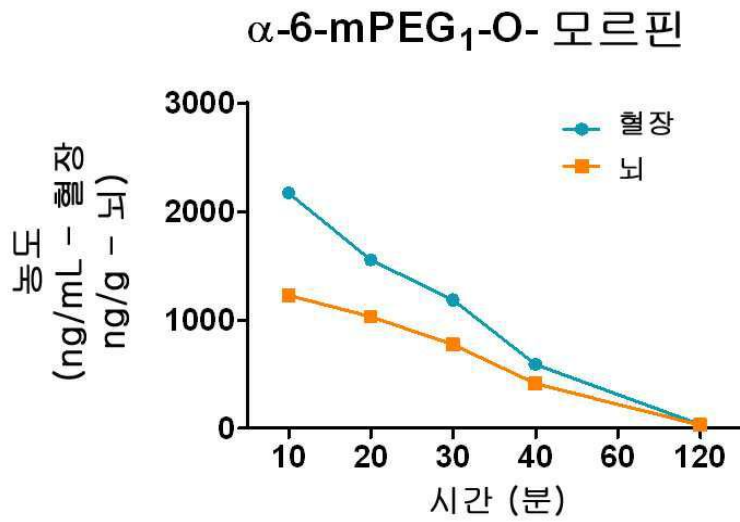
분자 뇌:혈장 비

	A / B			C / D		
	평균	SD	N	평균	SD	N
옥시코돈	3.63	0.073	3			
α-6-mPEG <sub>1</sub> -O-하이드록시코돈	0.47	0.108	3			
α-6-mPEG <sub>2</sub> -O-하이드록시코돈	0.18	0.008	3			
α-6-mPEG <sub>3</sub> -O-하이드록시코돈	0.10	0.006	3			
α-6-mPEG <sub>4</sub> -O-하이드록시코돈	0.12	0.028	3			
α-6-mPEG <sub>5</sub> -O-하이드록시코돈	0.21	0.029	3			
α-6-mPEG <sub>6</sub> -O-하이드록시코돈	0.29	0.026	3			
α-6-mPEG <sub>7</sub> -O-하이드록시코돈	0.29	0.020	3			
α-6-mPEG <sub>9</sub> -O-하이드록시코돈	0.27	0.039	3			
아테놀롤				0.059	0.015	3

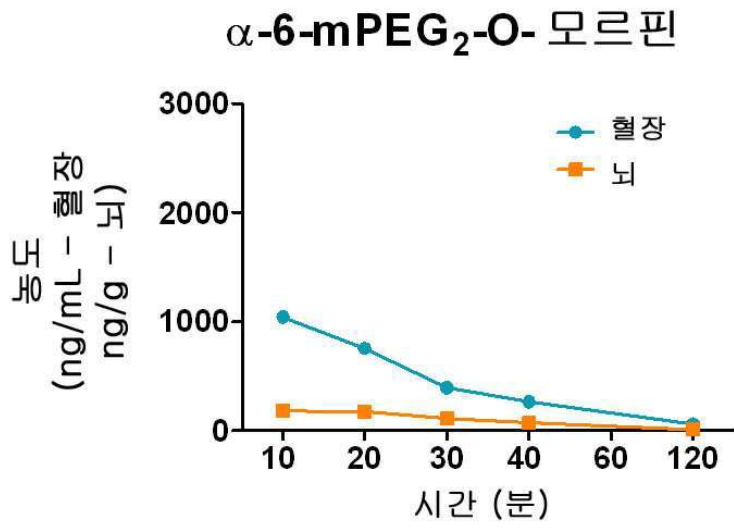
도면15a



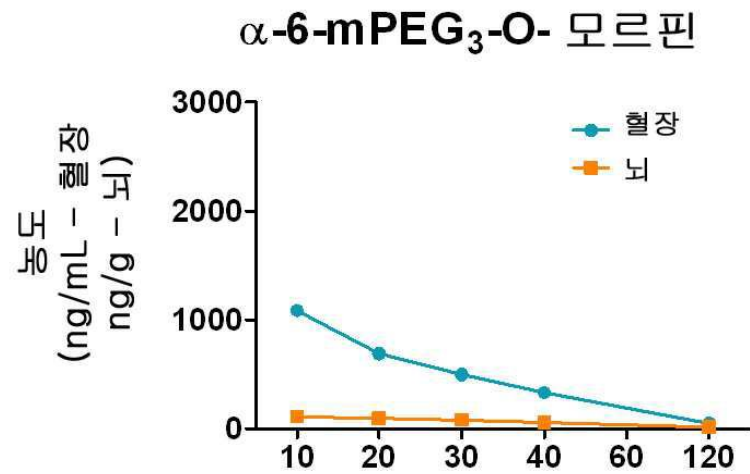
도면15b



도면15c

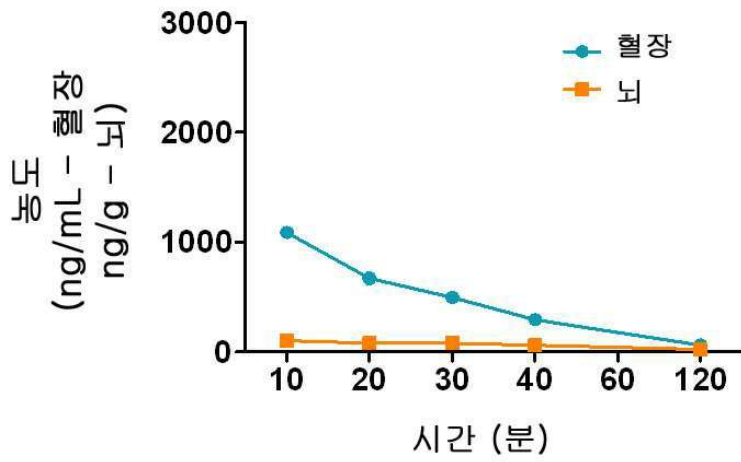


도면15d



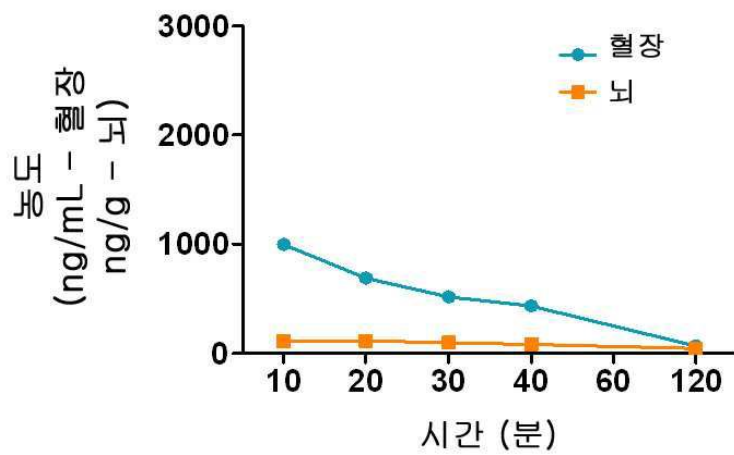
도면15e

$\alpha$ -6-mPEG<sub>4</sub>-O- 모르핀



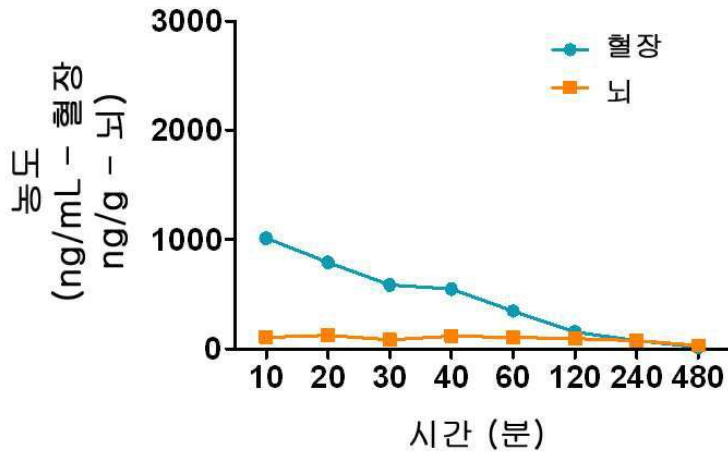
도면15f

$\alpha$ -6-mPEG<sub>5</sub>-O- 모르핀



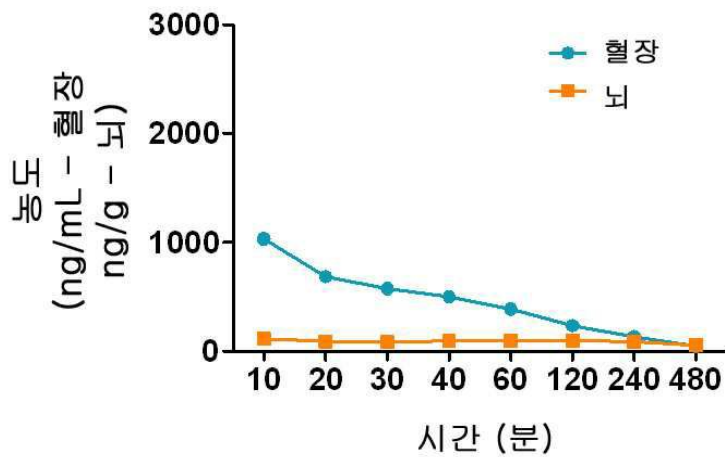
도면15g

$\alpha$ -6-mPEG<sub>6</sub>-O- 모르핀



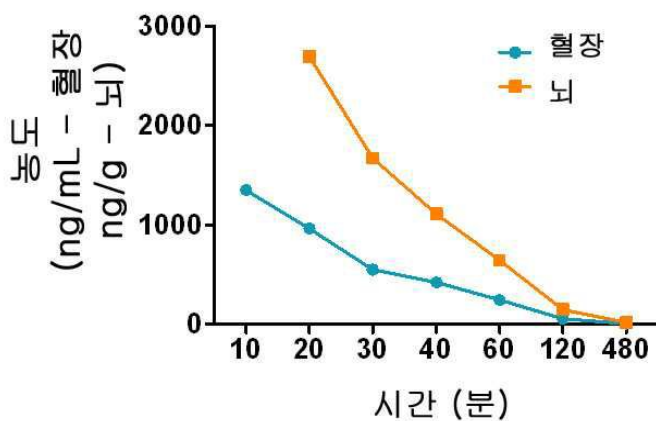
도면15h

$\alpha$ -6-mPEG<sub>7</sub>-O- 모르핀

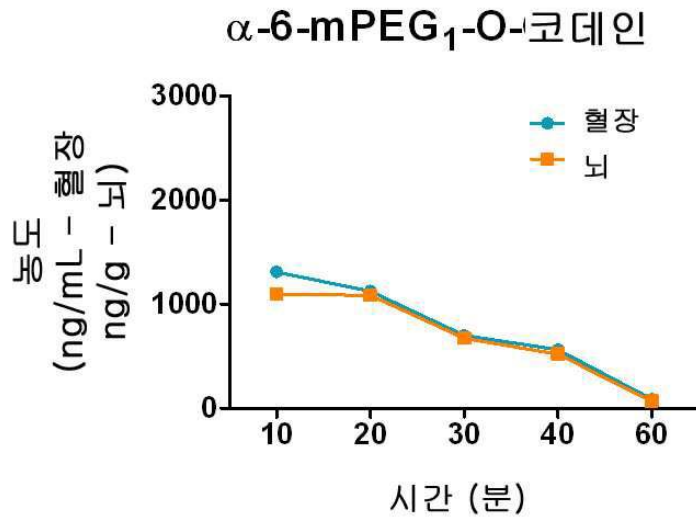


도면16a

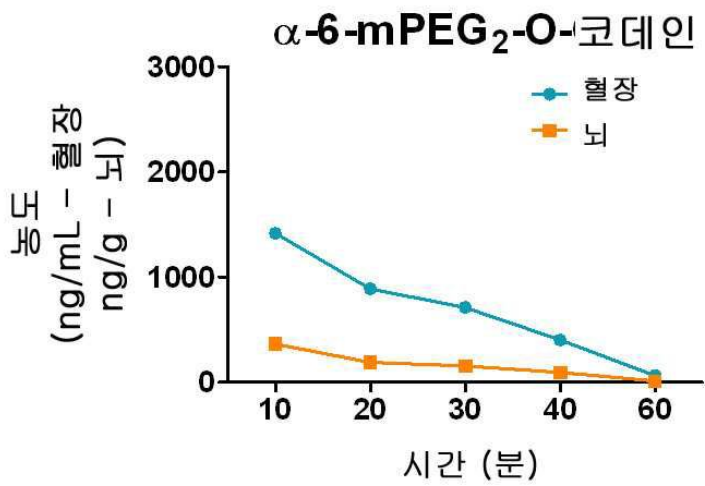
코데인



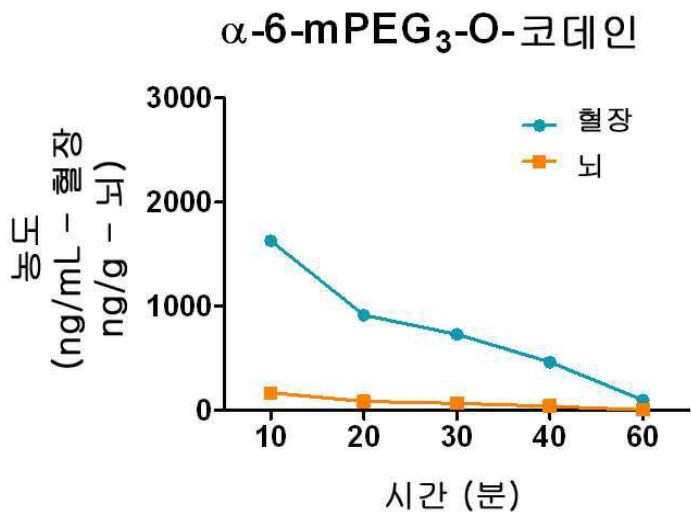
도면16b



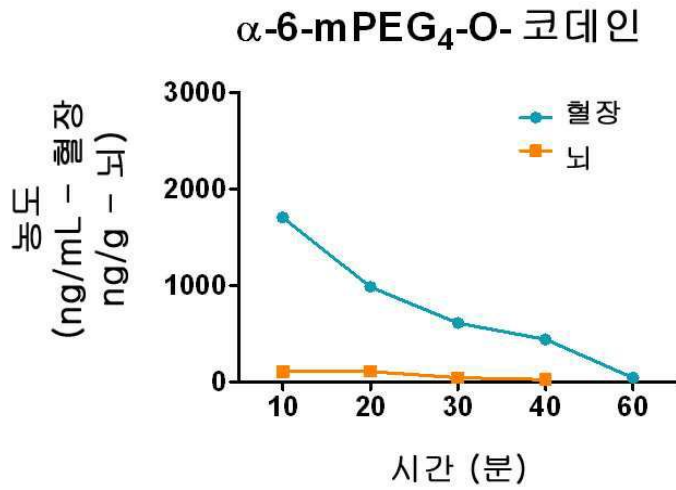
도면16c



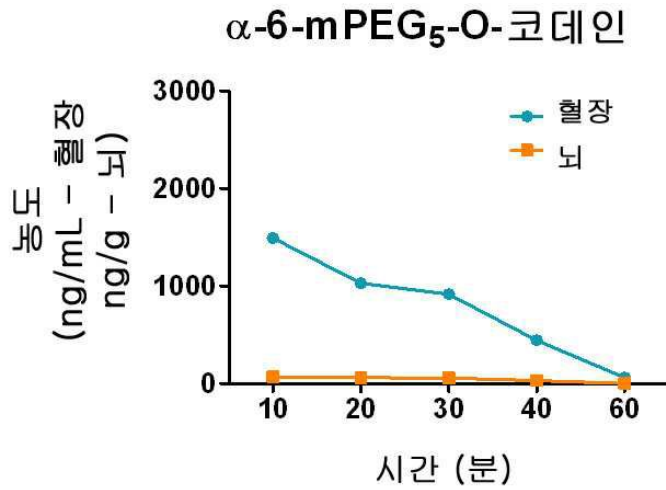
도면16d



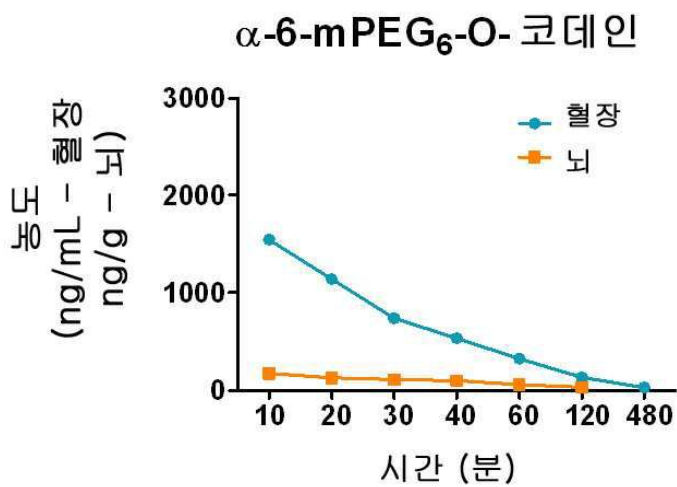
도면16e



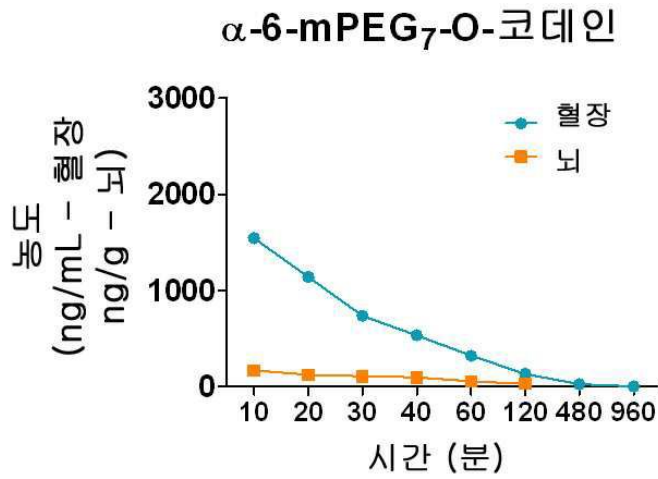
도면16f



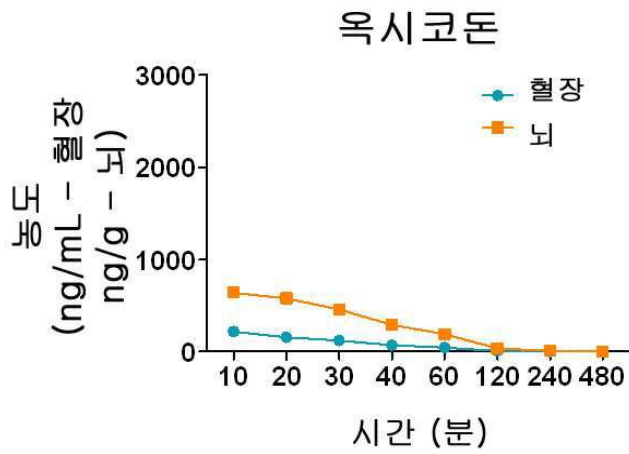
도면16g



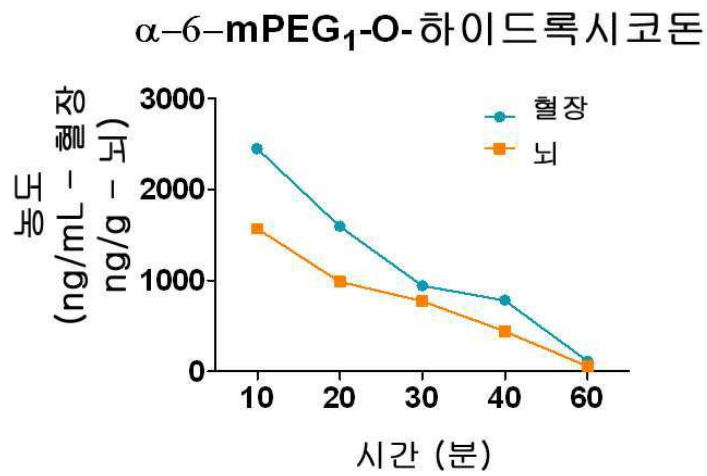
도면16h



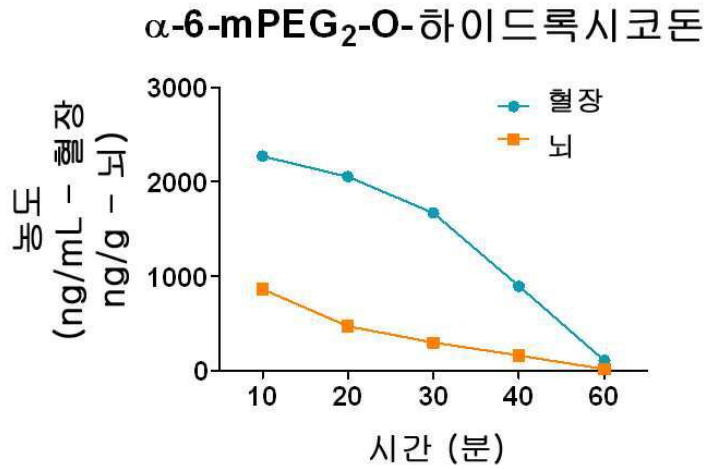
도면17a



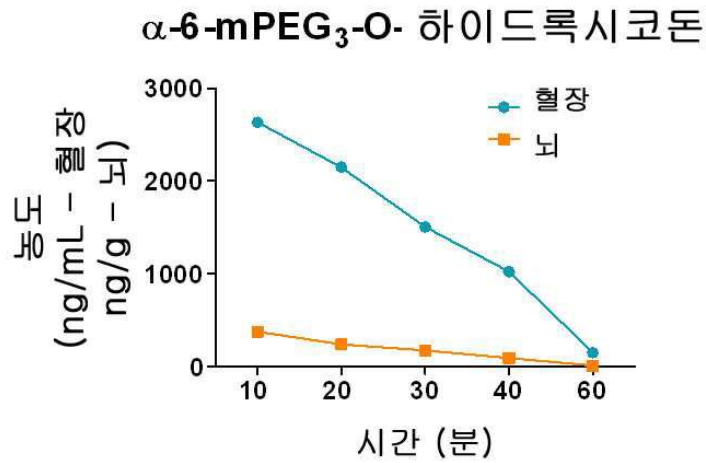
도면17b



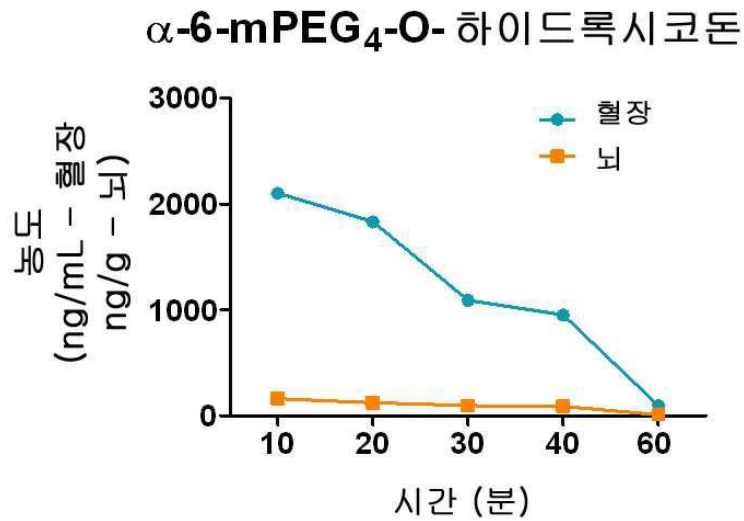
도면17c



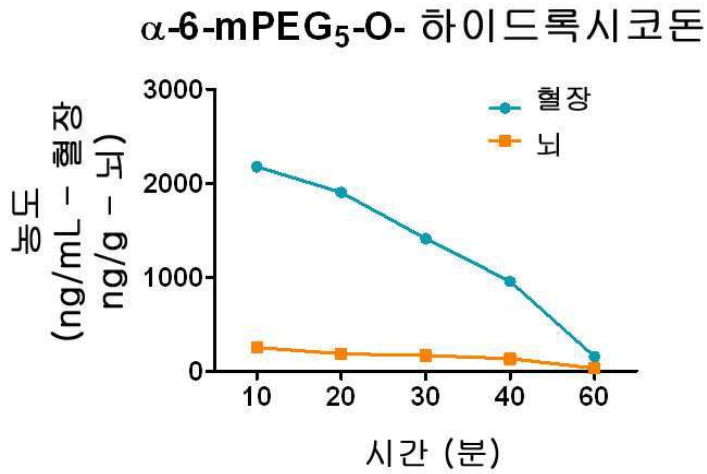
도면17d



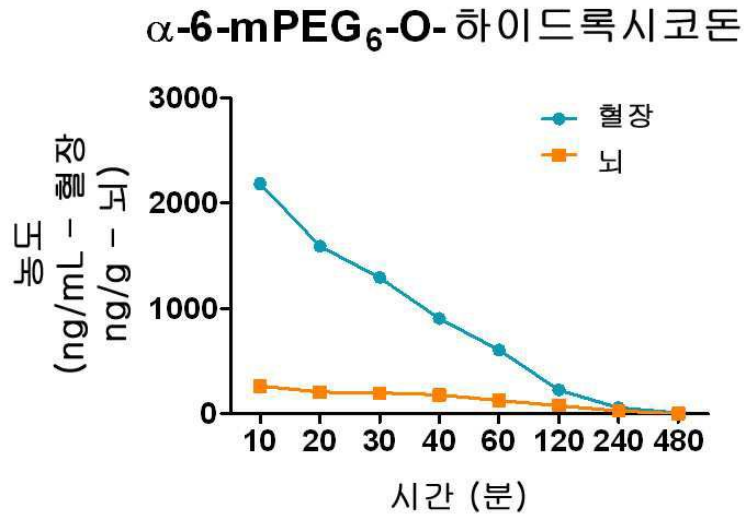
도면17e



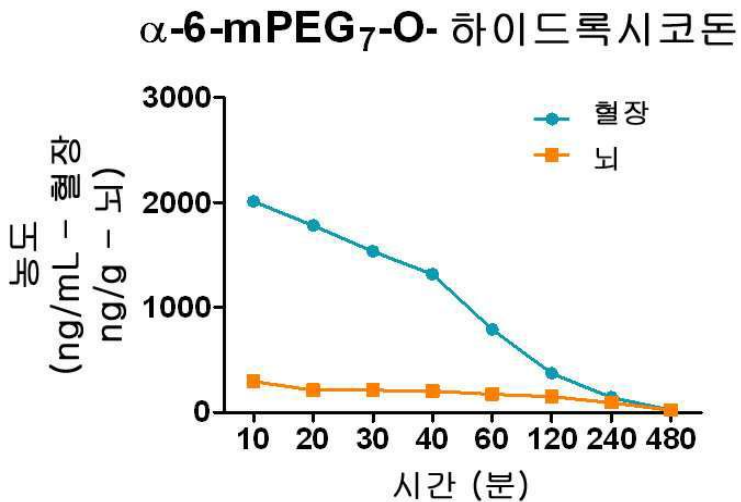
도면17f



도면17g

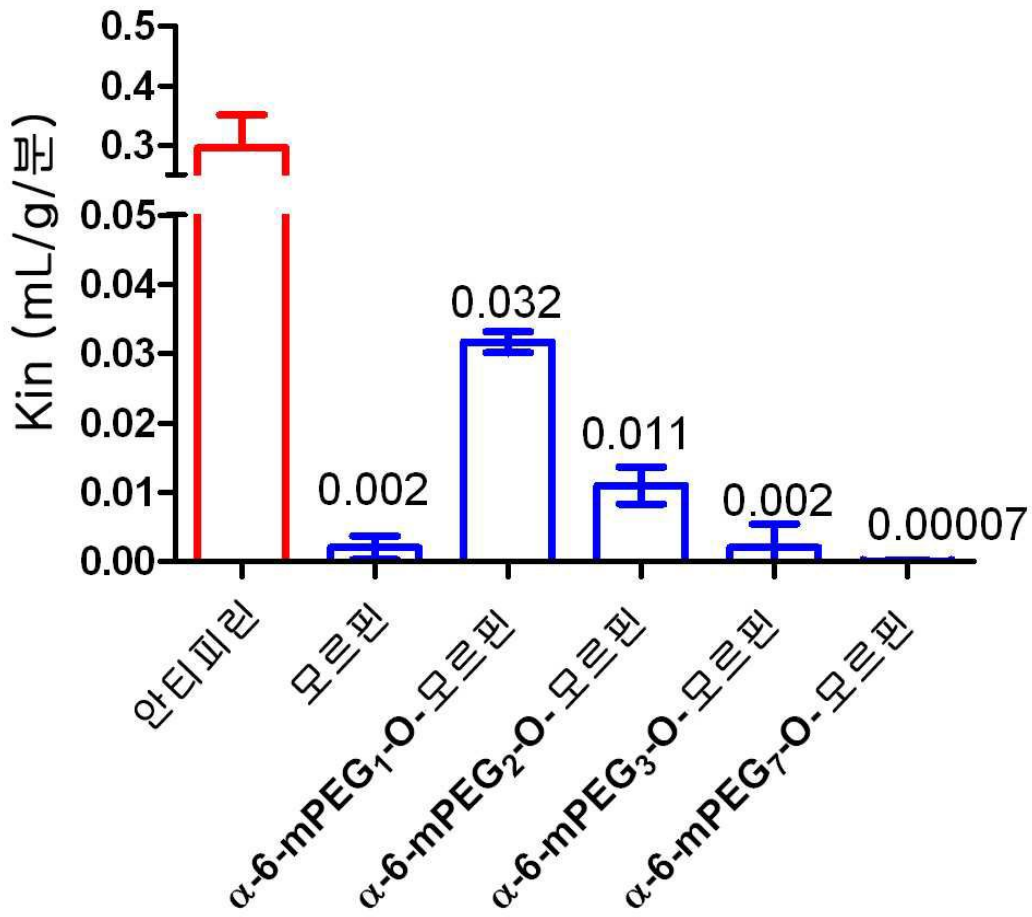


도면17h



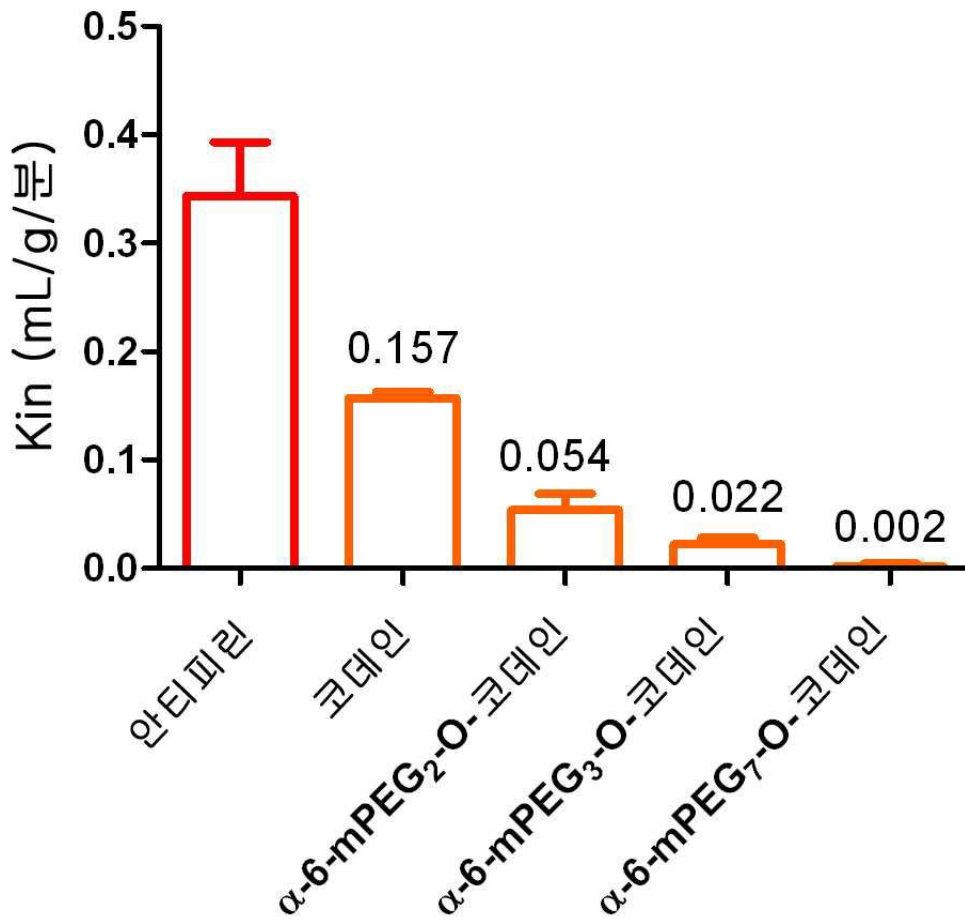
도면18a

PEG-모르핀 접합체의 뇌 침투 속도



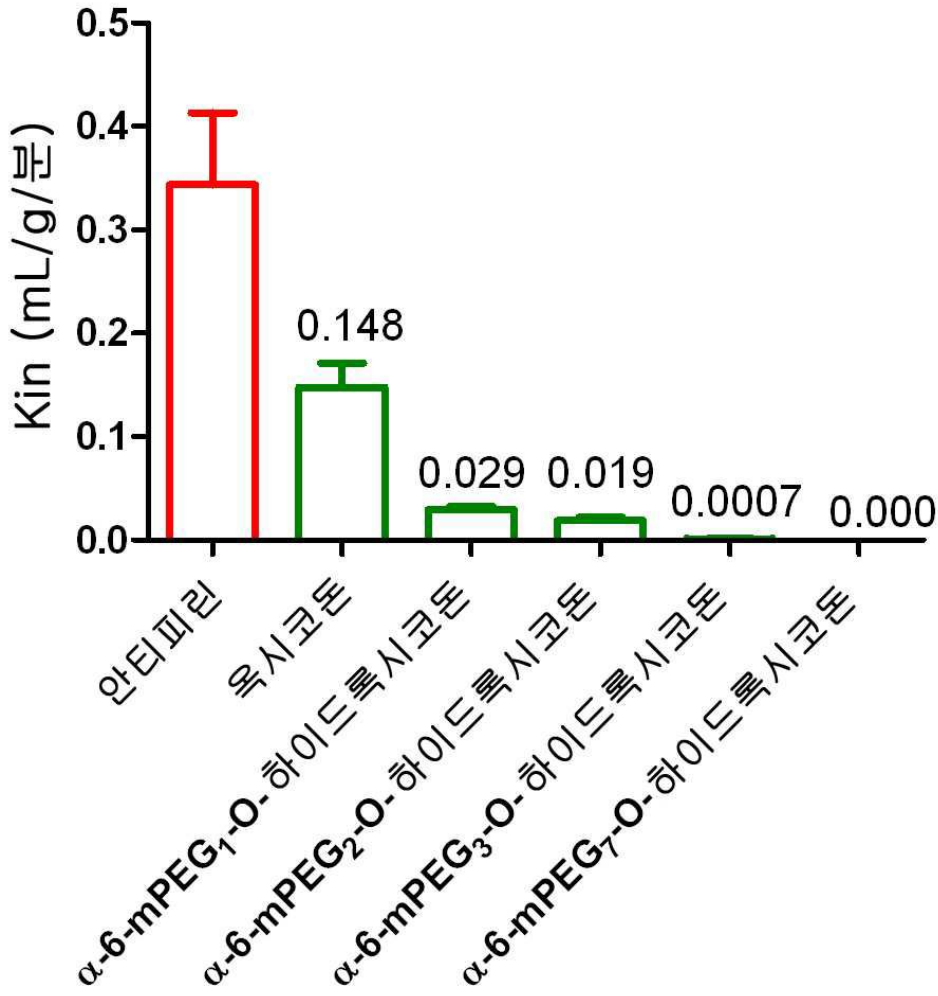
도면18b

### PEG-코데인 접합체의 뇌 침투 속도

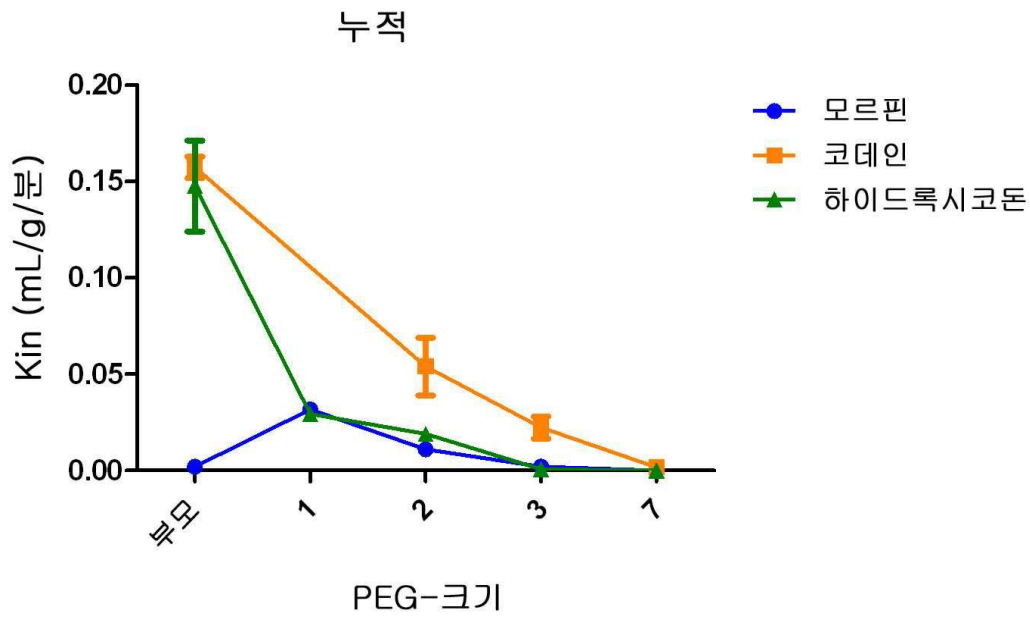


도면18c

PEG-하이드록시코돈 접합체의 뇌 침투 속도



도면19



부모 대비 Kin의 배수 변화 (fold change)						
	모르핀		코데인		하이드록시코돈	
	평균	SEM	평균	SEM	평균	SEM
부모	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	