

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl<sup>7</sup>

A61K 31/00



# [12] 发明专利说明书

A61K 31/195 A61K 31/19

A61K 31/165 A61K 31/135

A61K 31/22 A61K 31/35

A61K 31/445 A61K 31/16

A61P 25/34

[21] ZL 专利号 99811762.5

[45] 授权公告日 2004 年 10 月 27 日

[11] 授权公告号 CN 1172663C

[22] 申请日 1999.8.5 [21] 申请号 99811762.5

[30] 优先权

[32] 1998.8.5 [33] US [31] 09/129,253

[32] 1998.11.9 [33] US [31] 09/189,166

[32] 1998.12.11 [33] US [31] 09/209,952

[86] 国际申请 PCT/US1999/017220 1999.8.5

[87] 国际公布 WO2000/007583 英 2000.2.17

[85] 进入国家阶段日期 2001.4.5

[71] 专利权人 布鲁克哈文科学协会

地址 美国纽约州

[72] 发明人 史蒂芬·L·笛威

乔纳森·D·布鲁迪

小查尔斯·R·阿西比

审查员 卢立明

[74] 专利代理机构 北京康信知识产权代理有限责  
任公司

代理人 余刚

权利要求书 4 页 说明书 69 页 附图 11 页

[54] 发明名称  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸在制备  
治疗尼古丁成瘾的药剂中的应用

[57] 摘要

本发明提供一种方法，用来改变哺乳动物由于对毒品成瘾而引发的与成瘾有关的行为。此方法包括：给予该哺乳动物有效剂量的  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸，或其药用盐，或其对映结构体，或其外消旋混合物，而其有效剂量足以减少、抑制、或者消除对毒品的渴求及使用。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

1.  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸或其药用盐在制备用于治疗哺乳动物尼古丁成瘾的药剂中的应用。
2. 根据权利要求 1 所述的应用, 其中所述的药剂包含剂量为 15mg/kg 至 2g/kg 的  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸或其药用盐。
3. 根据权利要求 1 所述的应用, 其中所述的药剂包含剂量 15mg/kg 至 600mg/kg 的  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸或其药用盐。
4. 根据权利要求 1 所述的应用, 其中所述的药剂包含剂量 150mg/kg 至 300mg/kg 的  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸或其药用盐。
5. 根据权利要求 1 所述的应用, 其中所述的药剂包含剂量 75mg/kg 至 150mg/kg 的  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸或其药用盐。
6. 根据权利要求 1 所述的应用, 其中所述的哺乳动物为灵长类动物。
7. 根据权利要求 1 所述的应用, 其中所述药剂没有  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸所引起的厌恶和欲望反应。
8. 根据权利要求 1 所述的应用, 其中所述尼古丁成瘾包括与成瘾有关的行为。
9. 根据权利要求 1 所述的应用, 其中所述的与成瘾有关的行为为条件位置优选。

10.  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸或其药用盐在制备一种药剂中的应用，所述的药剂用于减弱、抑制、或消除哺乳动物中尼古丁的报偿/激励效应。
11. 根据权利要求 10 所述的应用，其中所述的药剂包含剂量为 15mg/kg 至 2g/kg 的  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸或其药用盐。
12. 根据权利要求 10 所述的应用，其中所述药剂包含剂量 15mg/kg 至 600mg/kg 的  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸或其药用盐。
13. 根据权利要求 10 所述的应用，其中所述的药剂包含剂量 150mg/kg 至 300mg/kg 的  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸或其药用盐。
14. 根据权利要求 10 所述的应用，其中所述的药剂包含剂量 75mg/kg 至 150mg/kg 的  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸或其药用盐。
15. 根据权利要求 10 所述的应用，其中所述的哺乳动物为灵长类动物。
16. 根据权利要求 10 所述的应用，其中所述尼古丁的报偿/激励效应是在所述的哺乳动物的运动功能没有改变的条件下被减弱、抑制、或消除的。
17. 根据权利要求 10 所述的应用，其中所述尼古丁的报偿/激励效应是在所述的哺乳动物不存在由食物所导致的报偿/激励效应的改变的条件下被减弱、抑制、或消除的。
18.  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸或其药用盐在制备一种药剂中的应用，所述的药剂用于减弱、抑制、或消除哺乳动物中尼古丁的依赖性。

19. 根据权利要求 18 所述的应用, 其中所述的药剂包含剂量为 15mg/kg 至 2g/kg 的  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸或其药用盐。
20. 根据权利要求 18 所述的应用, 其中所述药剂包含剂量 15mg/kg 至 600mg/kg 的  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸或其药用盐。
21. 根据权利要求 18 所述的应用, 其中所述的药剂包含剂量 150mg/kg 至 300mg/kg 的  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸或其药用盐。
22. 根据权利要求 18 所述的应用, 其中所述的药剂包含剂量 75mg/kg 至 150mg/kg 的  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸或其药用盐。
23. 根据权利要求 18 所述的应用, 其中所述的哺乳动物为灵长类动物。
24. 根据权利要求 18 所述的应用, 其中所述减弱、抑制、或消除哺乳动物中尼古丁的依赖特性是在没有  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸所引起的厌恶和欲望反应的情况下发生的。
25. 根据权利要求 18 所述的应用, 其中所述哺乳动物中尼古丁的依赖特性是在所述的哺乳动物的运动功能没有改变的条件下被减弱、抑制、或消除的。
26.  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸或其药用盐在制备一种药剂中的应用, 所述的药剂用于减弱、抑制、或消除哺乳动物中由于停止或戒除尼古丁而产生的症状。
27. 根据权利要求 26 所述的应用, 其中所述的药剂包含剂量为 15mg/kg 至 2g/kg 的  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸或其药用盐。
28. 根据权利要求 26 所述的应用, 其中所述药剂包含剂量 15mg/kg 至 600mg/kg 的  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸或其药用盐。

- 
29. 根据权利要求 26 所述的应用，其中所述的药剂包含剂量 150mg/kg 至 300mg/kg 的  $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸或其药用盐。
  30. 根据权利要求 26 所述的应用，其中所述的药剂包含剂量 75mg/kg 至 150mg/kg 的  $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸或其药用盐。
  31. 根据权利要求 26 所述的应用，其中所述的哺乳动物为灵长类动物。
  32. 根据权利要求 26 所述的应用，其中所述的症状是在没有厌恶的情况下被减弱、抑制、或消除的。

## $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸在制备治疗尼古丁成瘾的 药剂中的应用

本申请是对如下专利的部分继续：美国专利申请序列号 09/209,952，1998 年 12 月 11 日申请；美国专利申请序列号 09/189,166，1998 年 11 月 9 日申请；美国专利申请序列号 09/129,253，1998 年 8 月 5 日申请。以上三项专利均见本文索引。

本发明受美国政府资助。合同由美国能源部生物与环境研究办公室（USDOE/OBER DE-AC02-98CH10886）与国立精神卫生研究所（NIMH MH49165 及 NIMH R2955155）及国立药物滥用研究所(Y1-DA7047-01)签订。美国政府拥有本发明的部分发明权。

### 与本发明相关的背景技术

本发明涉及使用  $\gamma$ -氨基丁酸转氨酶的不可逆抑制剂，用于治疗成瘾、以及与成瘾有关的行为的调节。成瘾，例如吸毒，以及由此而引起与成瘾相关的行为，已酿成十分严重的社会和经济问题。此类问题日益泛滥，从而造成灾难性的后果。

合法及非法物质的使用均可导致成瘾。尼古丁、可卡因、安非他明、脱氧麻黄碱、乙醇、海洛因、吗啡以及其他可致瘾的物质都极易得到，因此经常为美国人口中的相当大一部分人所使用。

许多毒品是天然存在的。例如，可卡因是一种天然存在的非安非他明类兴奋剂，来源于植物古柯 (*Erythroylon coca*) 的叶子。古柯叶中仅含有约一半的 1% 纯古柯碱。在咀嚼时，仅有相对适量的可卡因被释放出来，胃肠道吸收亦缓慢。当然，这也可以解释，为什么咀嚼古柯叶的习俗在拉丁美洲地区从未造成公共健康问题。然而古柯碱本身的滥用却使问题发生了急剧变化。

已经证实，尼古丁、可卡因、安非他明、脱氧麻黄碱、乙醇、海洛因、吗啡等可成瘾药物，能够在某些情况下直接地，在某些情况下间接地，在某些情况下甚至跨突触地提高前脑内中端脑报偿/强化通路中的多巴胺 (DA) 水平。

一般认为，该过程可使脑内报偿作用增强，从而产生吸毒者所谓的“高潮”状态。这些多巴胺系统功能的改变已经在对毒品的渴求以及正在戒毒的吸毒者吸毒习惯的复发中得到体现。例如，可卡因可以通过与 DA 载体 (DAT) 结合，阻碍 DA 向突触前末梢的再摄取而作用于 DA 系统。

已有足够的证据证明，尼古丁、可卡因、安非他明、脱氧麻黄碱、乙醇、海洛因、吗啡以及其他可成瘾物质的成瘾性，是与中枢神经系统报偿/强化通路的再摄取过程被阻断相联系的。例如，啮齿类动物的报偿和渴求效应，是与可卡因所引起的细胞外 DA 浓度增加相关的。在人类，<sup>11</sup>C-可卡因的药物动力学结合图显示，经同位素标记的可卡因，其摄取量是与吸毒者所自诉的“高潮”状态直接相关的。此外，将有可卡因毒瘾的人暴露在与可卡因有关的环境提示下，吸毒者可以感受到，对可卡因的极度饥渴是可被 DA 受体拮抗剂氟哌啶醇拮抗的。基于以上所假定的可卡因的成瘾性与前脑 DA 报偿/强化通路之间的关联，人们已经提出了很多针对可卡因成瘾的药物治疗策略。

过去所提出的治疗策略之一便是直接针对 DAT, 以一种高亲和力的可卡因类似物来阻断可卡因的结合。另一种治疗策略是利用 DA 激动剂或者拮抗剂, 直接调节突触 DA。而另一种治疗策略则是特异性地针对一种功能上有关联、但生化上不同的神经递质系统, 通过间接的或者跨突触的方法, 调节突触 DA 浓度。

在逐渐减低可卡因吸毒者对可卡因的依赖方面, 已有许多药物被研制出来。某些治疗性药物是依据“DA 衰竭假说”设计的。早已证实, 可卡因可阻断 DA 的再摄取, 使突触 DA 的浓度急剧升高。然而, 在有可卡因存在时, 突触 DA 可代谢成 3-甲氧基酪胺而被排泄掉。突触处 DA 的耗损迫使身体增加 DA 合成。这可由使用可卡因后, 酪氨酸羟化酶的活性增加而得到证实。当前体的供给耗尽时, 便产生了 DA 缺乏。沿着这一假说, 人们尝试使用溴麦角隐亭, 一种 DA 受体激动剂。另一种方法是使用金刚烷胺, 一种 DA 释放剂。而另一种方法仍以 DA 衰竭假说为基础, 提供一种 DA 前体, 如左旋多巴。

并不提倡以激动剂作为治疗剂。某一激动剂可能作用于好几种受体, 或者不同细胞上的类似受体, 而并不是某一特定受体或是希望刺激的细胞。正如对一种药物会产生耐受性一样(通过受体数目的变化或者受体对药物亲和力的变化), 对激动剂也会产生耐受。例如, 激动剂溴麦角隐亭的一个特殊问题便是它会产生药物依赖。因此, 过去所用的治疗策略并没有解决病人对可卡因的饥渴。而且, 使用象溴麦角隐亭这样的激动剂, 可导致病人由渴求一种药物转变为渴求另一种药物。

另一种经常被滥用的药物是尼古丁。尼古丁碱存在于香烟以及其它吸用或者咀嚼的烟草制品中。已经证实, 尼古丁可导致多种疾病, 包括癌症、心脏病、呼吸系统疾病以及其他病症。吸烟是导致这些疾病、尤其是心脏病的一个危险因素。



目前已开展了声势浩大的反吸烟和反尼古丁的斗争，而人们亦普遍意识到，戒烟会带来各种不适的撤退症状，包括易怒、焦躁、好动、注意力分散、头晕、失眠、颤抖、食欲和体重增加、以及对香烟的欲望增强。

尼古丁的成瘾性已被证实与报偿/强化作用、及其对脑内报偿通路 DA 神经元的作用有关 (Nisell et al. 1995; Pontieri, et al., 1996)。例如，快速、有系统地给予尼古丁及其它几种毒品，可使伏隔核 (NACC, 报偿系统的重要组分之一) 中的细胞外 DA 水平增高。(Damsma et al., 1989; Di Chiara and Imperato, 1988; Imperato et al., 1986; Nisell et al., 1994a, 1995; Pontieri et al., 1996)。同样，将尼古丁注入啮齿类动物的腹盖区可导致 NACC 中的 DA 水平显著升高。

已有报道指，有几种药物对治疗尼古丁依赖有效。其中便包括尼古丁替代疗法，如尼古丁口香糖、经皮尼古丁贴片、鼻喷剂、尼古丁吸入剂、以及丁氨苯丙酮（最先用于戒烟治疗的非尼古丁类药物，Henningfield, 1995; Hurt, et al., 1997）等。

不幸的是，尼古丁替代疗法涉及使用尼古丁本身，因此经常导致尼古丁撤退症状以及随后发生的恢复使用烟草产品。因此，需要找到一种副作用较小的疗法，能够缓解尼古丁撤退症状，包括对尼古丁的长期渴求。

另一种为人所熟知的易成瘾物质为麻醉性止痛剂，例如吗啡、海洛因，以及其它天然或半合成的鸦片肽。鸦片肽的滥用可引发耐受和药物依赖。停用鸦片肽后所引起的撤退症状的强弱取决于很多因素，包括所用鸦片肽的剂量，鸦片肽对中枢神经系统持续作用的强弱，长期使用持续时间的长短，以及鸦片肽从受体上清除出去的效率。撤退症状包括渴望毒品、焦虑、烦躁不安、哈欠、多汗、流泪、流鼻涕、多动、易醒、易怒、瞳孔放大、骨

骼、后背和肌肉疼痛、立毛、冷热寒战、恶心、呕吐、腹泻、消瘦、发烧、血压升高、心率及呼吸频率增加、肌肉抽动、以及下肢末梢的踢腿动作。

与注射鸦片肽有关的医学并发症包括中枢神经系统的一系列病理改变，如苍白球的退行性变，脊髓灰质坏死，横向脊髓炎，弱视，神经丛炎，周围神经病，帕金森氏症，智力障碍，人格改变，以及肌肉和末梢神经的病理改变。皮肤和系统器官的感染也很普遍，包括葡萄球菌肺炎，结核，心内膜炎，败血病，病毒性肝炎，爱滋病，疟疾，破伤风，骨髓炎等。由于过量用药、药物引起的感染、自杀、以及杀人等因素，鸦片肽类吸毒者的预期寿命已显著降低。

治疗鸦片肽依赖的药物包括美沙酮（亦为鸦片肽），以及鸦片肽拮抗剂，主要是纳洛酮、环丙甲羟二羟吗啡酮。已证实，可乐宁能抑制鸦片肽撤退反应中的某些因素，但却有低血压和镇静的副作用，有时甚至非常严重。具有行为调节治疗作用的心理治疗和训练经常作为附加疗法，与药物联合使用。需要有一种疗法，副作用较轻，又能缓解鸦片肽上瘾和撤退症状。

酒精大概是有史以来使用得最普遍、遭滥用最广泛的镇静剂，亦是致病和致死的一个首要因素。重复摄入大量的酒精可以影响机体的几乎每一个器官，尤其是胃肠道、心血管系统、以及中枢和周围神经系统。胃肠道的影晌包括胃炎、胃溃疡、十二指肠溃疡、肝硬化、胰腺炎等。此外，食道、胃、以及消化道其它部分的癌症发病率也升高。心血管系统的影响包括高血压、心肌病以及其它肌病、甘油三酯和低密度脂蛋白胆固醇水平显著升高等。这些心血管效应使得患心脏病的危险性大幅增高。周围神经病的存在可能表现为肌肉乏力、感觉异常、以及末梢感觉的减低。中枢神经系统的影响包括认知障碍、严重的记忆损伤、小脑的退

行性变、以及酒精所诱导的持续性健忘症，后者形成新记忆的能力严重受损。一般来说，这些症状与维生素缺乏，尤其是B族维生素缺乏有关。

患有酒精依赖或上瘾的人表现出如下症状和体征：消化不良，恶心，胀气，食道静脉曲张，痔疮，颤抖，步态不稳，失眠，勃起障碍，睾丸变小，因睾酮水平降低而导致的女性化倾向，自发流产，以及胎儿酒精综合症。与戒酒或酒精撤退效应有关的症状包括恶心，呕吐，胃炎，呕血，口干，皮肤鼓泡，以及末梢水肿。

常用的治疗酒精上瘾和撤退症状的方法是使用温和的镇静剂，如利眠宁。一般来说，维生素、尤其是B族维生素也同时使用。硫酸镁和/或葡萄糖也可随意加用。医生可根据自己的意愿对恶心、呕吐和腹泻施以对症治疗。戒酒硫也可用于维持戒酒状态的辅助治疗。如果在使用戒酒硫时又饮酒，由于乙醛聚积，可引起恶心和低血压。需要有一种疗法，副作用又小，又能缓解酒精上瘾和撤退症状。

最近，已有报道指，多种毒品或混合毒品正在以惊人的速度增长。例如，可卡因和海洛因常一起被使用，称为“快球”。出现这种情况的原因是毒品的协同效应，从而增加使用者的欣快感。

因而，仍然需要找到一种治疗吸毒成瘾的新方法，能够通过改变毒品在中枢神经系统的药理作用，而缓解患者对毒品的饥渴感。同时也需要能有一种新方法，治疗混合吸毒。

## 发明简述

针对以上所述的需求，本发明提供了一种方法，用于治疗成瘾，并改变与成瘾有关的行为。对象为患有成瘾的哺乳类动物，如灵长类。方法为给予该动物一有效剂量的药学合成物或药剂，包括  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸 (GVG)。GVG 的量约为 15mg/kg 至 2mg/kg 不等，较佳剂量约为 100mg/kg 至 600mg/kg，最佳剂量约为 150mg/kg 至 300mg/kg。

通过某一适宜的实施例，本发明提供了一种方法，用来消除尼古丁的成瘾效应，方法为给予哺乳动物有效剂量的、包括 GVG 在内的合成物或药剂。当用于治疗尼古丁成瘾时，药学合成物或药剂中的 GVG 的量约为 15mg/kg 至 2g/kg。较佳剂量约为 75mg/kg 至 150mg/kg，最佳剂量约为 18mg/kg 至 20mg/kg。

在另一实施例中，本发明可提供一种方法，改变对毒品成瘾的哺乳动物中与成瘾有关的行为。方法包括：给予该哺乳动物一有效剂量的 GVG，或其药用盐，而其有效剂量可消弱毒品所引起的报偿/激励效应。毒品选自由神经兴奋剂、麻醉性镇痛剂、酒精、尼古丁及其组和物所组成的组中，而实验是在该动物体内不存在由食物引起的报偿/激励效应的情况下进行的。

GVG 的剂量约为 15mg/kg 至 2mg/kg，较佳剂量约为 15mg/kg 至 600mg/kg，最佳剂量约为 150mg/kg 至 600mg/kg。

作为本发明的结果之一，减少成瘾和改变与成瘾有关的行为的方法基于一种药物成分或药剂，其本身并不致瘾，却在改善病人的成瘾和成瘾行为方面极其有效。本发明所使用的药物成分或药剂有利于抑制或消除吸毒者由于吸毒而产生的对毒品的强烈渴望。而且，对与吸毒有关行为的消除是在没有由 GVG 引起的厌恶或欲望反应的条件下发生的。此外，对与毒品依赖有关的行

为特征减少或消除是在灵长类的运动功能不发生改变的情况下发生的。

在另一实施例中，本发明可提供一种方法，改变对毒品成瘾的哺乳动物的与成瘾有关的行为。方法包括：给予该哺乳动物一有效剂量的 GVG，或其药用盐，或其对映结构体，或其外消旋混合物，而其有效剂量足以减少、抑制、或者消除对毒品的渴求和毒品使用。

在本发明的另一有代表性的实施例中，方法包括改变对毒品成瘾的哺乳动物与成瘾有关的行为。方法包含给予该哺乳动物一有效剂量的合成物或药剂，该合成物或药剂可提高中枢神经系统  $\gamma$ -氨基丁酸 (GABA) 水平，而其有效剂量足以减少、抑制、或消除与对毒品的渴求和使用相关的行为。

在另一有代表性的实施例下，本发明可提供一种方法，改变对联合毒品成瘾的哺乳动物的成瘾有关的行为。方法包括：给予该哺乳动物一有效剂量的 GVG，或其药用盐，或其对映结构体，或其外消旋混合物，而其有效剂量足以减少、抑制、或者消除与对联合毒品的渴求和使用相关的行为。

在另一实施例中，本发明可提供一种方法，治疗哺乳动物的毒品成瘾。方法包括：给予该哺乳动物一有效剂量的 GVG，或其药用盐，或其对映结构体，或其外消旋混合物。

而在另一实施例中，本发明可提供一种方法，预防毒品成瘾。方法包括：给予该哺乳动物一有效剂量的 GVG，或其药用盐，或其对映结构体，或其外消旋混合物。

本发明对以往技术的其它改进，可以在以下说明中得到证实。以下说明对本发明的适宜表现形式作了详述。然而以下说明

却无意限制本发明的使用范围，而只想提供一个当前适宜的实施例的工作范例。本发明的使用范围将在随附的权利要求中得以显现。

### 附图简要描述

图 1 用可卡因处理的三组动物，其分布体积 (DV) 的百分比变化。

图 2 非人灵长类大脑在纹状体水平的跨轴参量 DV 比率图象。

图 3A、图 3B 图表显示，与盐水对照相比，GVG 对运动行为的影响。

图 4 图表显示 GVG 对尼古丁诱导的细胞外 DA 的影响。

图 5A、图 5B 图表显示，在可自由移动的大鼠中，尼古丁和 GVG 对 NACC 中细胞外 DA 水平的影响。

图 6 图表显示，在可自由移动的大鼠中，脱氧麻黄碱对 NACC 中细胞外 DA 水平的影响。

图 7 图表显示，在可自由移动的大鼠中，GVG 对脱氧麻黄碱所诱导的 NACC 中细胞外 DA 水平变化的影响。

图 8 图表显示，在可自由移动的大鼠中，GVG 对酒精诱导的 NACC 中细胞外 DA 水平变化的影响。

图 9 图表显示，在可自由移动的大鼠中，GVG 对可卡因诱导、海洛因诱导、以及可卡因-海洛因联合诱导的 NACC 中细胞外 DA 水平变化的影响。

## 发明详述

本发明提供了一种高度有效的方法，用于治疗成瘾以及改变对毒品成瘾的如灵长类等哺乳类动物与成瘾有关的行为。

在此，与成瘾有关的行为指的是由于强迫性的药物使用而导致的行爲，其特征为对该药物明显的、完全的依赖。此行为的症候为：(i) 无法抵抗地参与到毒品使用中，(ii) 对毒品来源的保护，(iii) 停药后复发的可能性很高。

例如，可卡因使用者可经历三个阶段的毒品效应。第一阶段为急速陶醉，又称“狂欢”，表现为欣快感，以焦虑感减低为特征，自信增强，性欲增强，也许会有性行为上的轻举妄动，不负责任地消费，以及由于粗心而导致事故发生。第二阶段称为“坠毁”，欣快感消失，代之以焦虑、疲乏、易怒、以及抑郁。有些吸毒者已经在这一阶段自杀。第三阶段为“心理快感缺乏”，在这一阶段，吸毒者无法从日常活动中获得快感，而强烈渴望可卡因的欣快效应，从而导致再次使用这一毒品。可参见 Gawin 与 Kleber 所著《可卡因撤退的医学管理》，6-8 页，APT 基金会出版。与可卡因使用者一样，成瘾有关的行为都涉及这三个阶段的毒品效应。

## 毒品

毒品包括（但不限于）神经兴奋剂、麻醉性镇痛剂、酒精、以及可致瘾的生物碱，例如尼古丁或其混合物。神经兴奋剂的例子包括（但不限于）安非他明、右旋安非他明、脱氧麻黄碱、苯甲吗啉、二乙胺苯丙酮、苯哌啶醋酸甲酯、可卡因及其药用盐。

麻醉性镇痛剂的特殊例子包括 alfentanyl、安那度、氨下度冷丁、bezitramide、可待因、二氢可待因、苯乙哌啶、乙基吗啡、

芬太奴、海洛因、二氢可待因酮、二氢吗啡酮、异美沙酮、levomethorphan、利富吩、metazocine、美沙酮、麦托朋、吗啡、鸦片提取物、鸦片液提取物、鸦片粉、颗粒状鸦片、粗鸦片、鸦片酊、14-羟基二氢可待因酮、氧吗啡酮、陪替丁、苯唑星、去痛定、消旋甲吗南、消旋-n-甲基-3-羟基吗啡烷、蒂巴因以及它们的药用盐。

毒品还包括中枢神经系统镇静剂，如巴比妥酸盐、利眠宁，以及酒精类，如乙醇、甲醇、异丙醇等。

本发明所提供的方法可用于治疗对联合毒品成瘾的哺乳动物。例如，该动物可能对乙醇和可卡因成瘾，在这种情况下，本发明通过给予有效剂量的 GVG，尤其适于改变该动物与成瘾有关的行为。

这里所使用的联合毒品包括以上所讨论的神经兴奋药、麻醉性镇痛剂、酒精、以及可致瘾的生物碱的联合。例如，联合毒品包括可卡因、尼古丁、脱氧麻黄碱、乙醇、吗啡和海洛因。最经常被滥用的联合毒品是可卡因和海洛因。

使用联合毒品时可观察到协同现象。例如，当把海洛因（一种间接 DA 释放剂）和可卡因（一种 DA 再摄取抑制剂）一起给予啮齿类时，可观察到大脑 NAc 处 DA 水平的协同升高。例如，协同作用可能表现在：脑内 DA 水平上升的程度比单独使用任一毒品都要高。更适宜的情况是，在可卡因和海洛因联合使用时，相较于单独使用任何一种毒品，大脑 Nac 中 DA 水平可增高约 500%至 1000%。

强迫性毒品使用包括三个独立成分：耐受，心理依赖，以及生理依赖。耐受会产生一种需求：在几次施用毒品后，需要增加毒品剂量，才能达到和以前同样强度的效果。生理依赖是反复使



用毒品后产生的适应状态，表现为吸毒中断时强烈的身体不适。心理依赖的特征为对毒品强烈的欲望、渴望和使用，而吸毒者感觉这种效应对他的健康是必需的。参见索引所附 Feldman, R.S. 与 Quenzer, L.F. 所著《神经心理药理学基础》408-422 页（Sinaur Associates 公司 1984 年出版）。根据前述定义，在此所述的“依赖特征”包括所有与强迫性毒品使用有关、能够被宿主的生化成分、生理和心理特性所影响的特征。

如上面所述，毒品或联合毒品的强迫性使用可以导致欣快状态，随后出现对欣快状态的渴望阶段，从而导致毒品或联合毒品的使用。在此所述的毒品的“报偿/激励效应”指的是：任何能够产生心理快感缺乏或者提高后天学会的的反应的可能性的刺激（在此为一种毒品）。这与“加强”是同义的。对实验动物来说，通过使用据信可测量报偿的方法，能够认为一种刺激是否具有报偿性。所用方法为测量一种刺激能否产生接近反应（又称欲望反应），还是撤退反应，即动物对刺激进行躲避，又叫厌恶反应。条件位置优选（CPP）是一测量接近（欲望）反应或撤退（厌恶）反应的参量。人们可以推断，报偿刺激可以导致接近行为。事实上，报偿的定义之一即可引发接近行为的刺激。更进一步来说，报偿的结果是增加与报偿有关的刺激的激励特性。

报偿也可以通过确定一种报偿的获得是否与一特殊反应相一致而测量，进而增加该反应在相似条件下重复出现的可能，即强化参量。例如，一只老鼠以一固定次数击压一小棒以获取可卡因注射，这便是一个强化效应的例子。另一种测量报偿效应的方法是，通过与中性环境刺激的多重刺激，确定一种刺激（如一种毒品）是否能使以前为中性的环境刺激引发原来只与毒品有关的行为效应。这便是条件强化。CPP 可被视为条件强化的一种形式。

一种毒品（或其它刺激）的激励动机值可以用条件位置优选（CPP）来估算。以可卡因、尼古丁、海洛因、吗啡、脱氧麻黄碱、乙醇、或其它毒品或其组合物来说，动物在一种没有毒品的状态下接受测试，以决定相较于从前曾接受盐水的环境，它们是否更倾向于从前曾接受毒品的环境。在 CPP 模式中，动物在一截然不同的环境下接受一毒品，而在另一环境下接受合适的载体。CPP 模式在评价实验动物对毒品的激励动机效应时被广泛使用（Van Der Kooy, 1995）。随后进行条件化或与毒品配对，如果该动物，在无毒品情况下，持续选择从前与毒品相关的环境，那么我们可以推论说：毒品的欲望值已经被编码入大脑，而且在无毒品存在时仍可被取得。CPP 反映在，相较于注射载体对照的动物，动物在有与毒品有关的刺激存在的环境中花费的时间更长。它也可以用来估算对联合毒品的成瘾性。

有人提出，由于人类对毒品的渴求通常是由从前与吸毒有关的感觉刺激所引起的，象 CPP 这样的条件化模式可以用作实验动物渴求反应的模型。

在此所述的的对某一毒品或联合毒品的渴求，指的是强烈希望主动使用曾经被哺乳动物使用过的毒品。哺乳动物不需要用毒品来防止撤退症状。

毒品，如可卡因、尼古丁、脱氧麻黄碱、吗啡、海洛因、乙醇或其它毒品等，其成瘾性与它们对中枢神经系统强化/报偿通路中中端脑 DA 的药理作用相联系。这些通路中的 DA 能传导系统是受  $\gamma$ -氨基丁酸（GABA）调节的。

例如，可卡因、尼古丁、脱氧麻黄碱、吗啡、海洛因和乙醇可抑制单胺类的突触前再摄取。中皮质边缘系 DA 系统中的 DA 能神经元，其细胞体存在于腹盖区（VTA），主要向伏隔核（NACC）处投射。该神经元据认为参与可卡因、尼古丁、脱氧麻黄碱、吗

啡、海洛因或乙醇的强化效应。对腹盖区报偿中枢进行电刺激，可提高 NACC 中细胞外 DA 水平，而 NACC 中 6-羟-多巴胺的损害可消除可卡因、尼古丁、脱氧麻黄碱、吗啡、海洛因或乙醇的主动使用。体内微透析研究证实，可卡因、尼古丁、脱氧麻黄碱、吗啡、海洛因和乙醇可增加 NACC 中细胞外 DA 水平。

NACC 和腹苍白球处的  $\gamma$ -氨基丁酸 (GABA) 能神经元向腹盖区的 DA 神经元投射。药理和电生理研究显示，这些投射是抑制性的。腹盖区 DA 神经元的抑制与 GABAB 受体刺激的结果类似。此外，向腹盖区显微注射氯苯氨丁酸，通过这些受体亚型的作用，能够减少 NACC 中 DA 的浓度。总而言之，很明显，GABA 的药理学使用可以通过调节腹盖区 DA 神经元而影响 NACC 处 DA 水平。

### $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸

$\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸 (GVG) 是一种选择性的、不可逆的 GABA 转氨酶 (GABA-T) 抑制剂，而后者已知可以增强 GABA 能的抑制。已知 GVG 可通过使脑内内源性细胞外 GABA 水平出现一剂量依赖的、长时间的升高，而改变可卡因的生化效应。

GVG 成分为  $C_6H_{11}NO_2$ ，或 4-氨基-5-己酸，商品名为 Vigabatrin，由 Hoechst Marion Roussel 药厂生产，可自美国俄亥俄州辛西那提市 Marion Merrell Dow 药厂购得。GVG 不与任何受体或再摄取复合物结合，但可通过选择性地、不可逆地抑制 GABA 转氨酶 (GABA-T，通常对 GABA 进行分解代谢的酶类) 的活性而提高内源性细胞内 GABA 水平。

此处所指的 GVG 包括外消旋化合物或混合物，其中包括等量的 S (+)- $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸，和 R (-)- $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸。GVG 的这一外消旋化合物商品名为 Vigabatrin，由 Hoechst

Marion Roussel 药厂生产，可自美国俄亥俄州辛西那提市 Marion Merrell Dow 药厂购得。

GVG 含有不对称的碳原子，因此能够以对映结构体的形式存在。本发明包含 GVG 的任何对映结构体形式，包括 GVG 的外消旋酸盐或外消旋混合物。在某些情况下，使用某一对映结构体，可能比使用其它对映结构体或外消旋酸盐或外消旋混合物，在即刻发明的方法中具有更大的优势（比如功效更好）。这种优势可由对工艺熟悉的人很快确定。

例如，对映结构体 S (+) -  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸在提高内源性细胞内 GABA 水平方面比 R (-) -  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸更有效。

不同对映结构体可由手性起始材料合成，外消旋酸盐也可通过在化学上早已成熟的传统方法加以解决，方法包括非对映盐的手性层析、分馏结晶以及类似方法等等。

### $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸的使用

在活体 (*in vivo*) 哺乳类动物中，GVG 或其药用盐可以系统地经胃肠外或肠道途径给入，其中也包括经控制的释放给药系统。例如，GVG 可以很容易地经静脉或经腹腔给入，而后者是较好的给药途径。静脉内或腹腔给药可以通过将 GVG 与一适宜的药物载体或赋形剂相混合而完成。操作者对此已很明了。

我们也尝试过经口或肠道给药。片剂、胶囊、药丸、锭剂、保健药、悬剂、糖浆、薄饼、口香糖、及其它的配方形式都能够被用来给予 GVG 或其药用盐。

在此，药用盐指的是那些可形成盐的酸和碱，它们本身并不显著提高化合物的毒性。适宜的盐的例子包括矿物酸盐，如盐酸、

碘氢、氢溴酸、磷酸、偏磷酸、硝酸、硫酸盐，以及有机酸盐，如酒石酸、醋酸、柠檬酸、苹果酸、安息香酸、乙二醇、葡萄糖酸、古洛糖酸、琥珀酸、芳香磺基即 p- 甲苯亚磺酸等有机酸的盐。

在此，有效剂量指的是能够达到改变哺乳动物成瘾相关行为的特异效果的有效剂量。这一剂量能够减少或缓解一种或多种由于终止或停用神经兴奋剂、麻醉性镇痛剂、酒精、尼古丁或其联合而导致的症状或体征。然而，应该强调的是，本发明并不限于任一特殊剂量。

GVG 的使用剂量最好只有很少、或者根本没有副作用。例如，使用量可约为 15mg/kg 至 2g/kg，或者约为 15 mg/kg 至 600 mg/kg。

例如，在治疗可卡因成瘾时，GVG 的使用量约为 15 mg/kg 至 2g/kg，较佳剂量约为 100 mg/kg 至 300 mg/kg，或从约 15 mg/kg 至约 600 mg/kg，而最佳剂量约为 150 mg/kg 至 300 mg/kg，或从约 75 mg/kg 至约 150 mg/kg。

又例如，在治疗尼古丁成瘾时，GVG 的使用量约为 15 mg/kg 至 2g/kg，或从约 15 mg/kg 至约 600 mg/kg，较佳剂量约为 100 mg/kg 至 300 mg/kg，或从约 150 mg/kg 至约 300 mg/kg，而最佳剂量约为 18mg/kg 至 20 mg/kg，或从约 75 mg/kg 至约 150 mg/kg。

例如，在治疗脱氧麻黄碱成瘾时，GVG 在哺乳动物体内的用量约为 15 mg/kg 至 2g/kg，较佳剂量约为 100 mg/kg 至 300 mg/kg，或从约 15 mg/kg 至约 600 mg/kg，而最佳剂量约为 150mg/kg 至 300 mg/kg，或从约 75 mg/kg 至约 150 mg/kg。

当哺乳动物对联合毒品成瘾，如对可卡因和海洛因上瘾时，GVG 在哺乳动物体内的用量约为 15 mg/kg 至 2g/kg，较佳剂量约

为 100 mg/kg 至 300 mg/kg，或从约 15mg/kg 至约 600 mg/kg，而最佳剂量约为 150mg/kg 至 300 mg/kg，或从约 75 mg/kg 至约 150 mg/kg。

哺乳动物包括，如：人、狒狒及其它灵长类、以及宠物动物（如狗、猫）、实验动物（如大鼠、小鼠）及家畜（如马、羊、母牛）等。

$\gamma$ -乙基- $\gamma$ -氨基丁酸（GVG）是一种选择性的、不可逆的 GABA 转氨酶（GABA-T）抑制剂，而后者可以增强 GABA 能的抑制。已知，GVG 可通过使细胞外内源性脑 GABA 水平出现一剂量依赖性的、长时间的升高，而改变可卡因的生化效应。

已知可卡因及其它毒品可以增加 NACC 中细胞外 DA 水平，而 GABA 可在同一核中抑制 DA 活性。据此，我们证实， $\gamma$ -乙基- $\gamma$ -氨基丁酸可削弱可卡因、尼古丁、脱氧麻黄碱、及乙醇诱导的细胞外 DA 变化。在一个例子中，我们在自由移动的动物体内进行了体内微透析研究。研究显示了急性  $\gamma$ -乙基- $\gamma$ -氨基丁酸使用（单一注射）和慢性使用（11 天）对可卡因诱导的 NACC 中细胞外 DA 浓度升高的影响。尤可参见 Morgan, A.E., et al. “脑内 GABA 水平的药理性增高对可卡因诱导的细胞外多巴胺水平变化的影响” *Synapse* 28:60-65(1998)。文章内容已完全体现在本文中。

我们意外发现，摄入  $\gamma$ -乙基- $\gamma$ -氨基丁酸可改变行为，尤其是与成瘾有关的、由吸毒所导致的生化改变密切相关的行为。例如，正离子发射断层（PET）技术显示，灵长类动物（狒狒）脑中， $\gamma$ -乙基- $\gamma$ -氨基丁酸可显著削弱由可卡因诱导的新纹状体突触 DA 水平增高， $\gamma$ -乙基- $\gamma$ -氨基丁酸亦消除可卡因诱导的条件位置优选（CPP）的表达和获得。然而它对食物所引起的报偿效应和可卡因向大脑运动活动的传递却无效。这些发现显示，一种

药理学策略可能对治疗可卡因成瘾有效，该策略针对 GABA 能神经递质系统，该系统不同于中端脑中的 DA 报偿/强化系统，但与其在功能上有关联。然而，这一新方法却没有用一种直接的 GABA 激动剂来针对 GABA 受体复合物，却使用了  $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸，利用了可提高内源性 GABA 水平的不可逆酶抑制剂的长效作用，而避免了 GABA 激动剂由于直接作用于受体本身而带来的成瘾性。

即使本例子中使用了  $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸，对这一领域有充分认识的人们应该了解，已知的其它合成物或药剂也可以加强 GABA 能系统的活性，或者在中枢神经系统中提高细胞外内源性 GABA 水平。

这些合成物或药剂包括那些可增强中枢神经系统 GABA 产生或释放的药物。这些药物包括（但不限于）：gabapentin、丙戊酸、progabide、 $\gamma$ -羟基丁酸、fengabine、十六基 GABA、topiramate、tiagabine、acamprosate（同型-钙-乙酰牛磺酸）或其药用盐、或其对映结构体、或其外消旋混合物。

本发明包含 gabapentin、丙戊酸、progabide、 $\gamma$ -羟基丁酸、fengabine、十六基 GABA、topiramate、tiagabine、acamprosate 的任何对映结构体形式，包括其外消旋酸盐或外消旋混合物。

如前所述，在某些情况下，使用某一对映结构体，可能比使用其它对映结构体或外消旋酸盐或外消旋混合物，在即刻发明的方法中具有更大的优势（比如功效更好）。这种优势可由对工艺熟悉的人很快确定。

本发明所采用的合成物或药剂包括 GABA 的前体药物，或者在化学结构中以 GABA 作为组分的药物。在中枢神经系统中，这些前体药物经代谢、酶解、或非酶解的途径生物转化成或切割成

GABA，从而具有药理活性。GABA 前体药物的例子之一便是 progabide，它在通过血脑屏障后，可增加内源性中枢神经系统 GABA 水平。

如前所述， $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸 (GVG) 是一种选择性的、不可逆的 GABA 转氨酶 (GABA-T) 抑制剂，而后者可以增强 GABA 能的抑制。其它可抑制中枢神经系统 GABA 再摄取的合成物或药剂也包含在本发明中。GABA 再摄取抑制剂的例子之一便是 tiagabine。

本发明所使用的方法可用于增强 GABA 能系统的活性，或提高中枢神经系统细胞外内源性 GABA 的水平。在此，增强或提高内源性中枢神经系统 GABA 水平的定义为：在哺乳动物活体内，较之正常水平，能大幅提高或上调 GABA 水平。在较适宜的条件下，内源性中枢神经系统 GABA 水平能比正常水平升高至少约 10% 至 600%。

如前所述，在此所述的的有效剂量指的是能够达到改变哺乳动物与成瘾有关的行为的特异结果的有效剂量。这一剂量能够加以减少或者缓解由于终止或停用神经兴奋剂、麻醉性镇痛剂、酒精、尼古丁或其组合物而导致的一种或多种症状或体征。然而，应该强调的是，本发明并不限于任一特殊剂量。

例如，给予哺乳动物的有效 gabapentin 剂量约为 500mg 至 2g/天。Gabapentin 的商品名为 Neurontin，可自美国 Parke-Davis 药厂获得。

例如，给予哺乳动物的丙戊酸，其较适宜的有效剂量约为 5mg/kg 至 100 mg/kg/天。丙戊酸商品名为 Depakene，可自美国 Abbott 药厂获得。



例如, 给予哺乳动物的 topiramate, 其较适宜的有效剂量约为 50mg 至 1g/天。Topiramate 商品名为 Topamax, 可自美国 McNeil 药厂获得。给予哺乳动物的 progabide, 其较适宜的有效剂量约为 250mg 至 2g/天。Progabide 商品名为 Gabrene, 可自法国 Synthelabo 药厂获得。progabide 的化学式为 C<sub>17</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>。

给予哺乳动物的 fengabine, 其较适宜的有效剂量约为 250mg 至 4g/天。fengabine 的商品名为 SL79229, 可自法国 Synthelabo 药厂获得。fengabine 的化学式为 C<sub>17</sub>H<sub>17</sub>C<sub>12</sub>NO。

给予哺乳动物的  $\gamma$ -羟基丁酸, 其较适宜的有效剂量约为 5mg/kg 至 100mg/kg/天。 $\gamma$ -羟基丁酸可自 Sigma 化学试剂公司获得。 $\gamma$ -羟基丁酸的化学式为 C<sub>4</sub>H<sub>7</sub>O<sub>3</sub>Na。

本发明的详细内容以下述优选实施例的方式得以充分阐明。发明的完整范围见所附的权利要求。

### 优选实施例的详细描述

以下所述的优选实施例是为了说明和描述本发明的最佳模式。本发明的范围绝不仅限于在此所列举的例子中。

## 材料与方法

### 1. 灵长类 PET 研究

所有研究均使用二十只成年雌性狒狒 (*papio anubis*, 体重 13-18kg)。用以前描述过的方法合成碳-11 标记的奎丙灵 (Volkow, et al., 1994)。奎丙灵早已被证实对突触 DA 变化敏感。整个研究中均取动脉血样, 对选中的血浆样品进行分析, 以测量未经改变的放射性标记物碳-11 的存在。在同位素注射的间隔期, 不将动物从构架台上移开。将兴趣部位 (ROI) 直接描绘在 PET 图上。

简言之，在有纹状体出现的每一跨轴切片上，都将双侧纹状体的轮廓描绘出来。小脑 ROI 在小脑蚓状体水平跨过中线描画出来。然后，把头一个实验中得到的 ROI 直接拷贝到从第二个实验所获得的相应切片上。通过检查第二次扫描上的 ROI 位置，如果需要的话，只需调整 ROI 的位置即可。这种多平面的分析方法可以减少由于动物在扫描间隔期在构架台移动而造成的结果差异。

早先，为了对[11C]- 奎丙灵数据进行动力学分析，发展出了一种测量分布体积 (DV) 的绘图方法。DV 比率测定是衡量奎丙灵摄取的重复性最好的方法。比率是一受体丰富区 (纹状体) 的 DV 与一非受体区 (小脑) DV 的比率。游离受体的浓度与 DV 比率等于 1 成正比。动物制备方法已有详述 (Dewey, et al., 1992)。

设计统计分析是为了测试如下假说：(1) 对于放射性示踪物碳-11 来说，可卡因刺激造成的差异大于测试间差异。(使用同一动物，在相同实验条件下进行。)(2) 刺激条件彼此不同。显著结果只能从纹状体、以及纹状体对小脑的比率中得到，却无法在小脑中得到。这一事实表明，干涉的效果仅限于特异的结合成分，而不作用于非特异结合成分。 $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸不影响放射性示踪物的区域性分布或其代谢率。

## 2. 可卡因诱导的啮齿类条件位置优选

所有啮齿类试验均使用雄性 Sprague-Dawley 大鼠 (体重 200-225g, Taconic 农场, Germantown, NY)。在试验开始之前，至少用 5 天时间让动物熟悉动物房的环境。我们使用的是以前描述过的条件位置优选 (CPP) 室 (Lepore et al., 1995)，但例外的是，我们并没有采用一只完全白色的屋子和一只黑色屋子，而是一只完全浅蓝色、带有不锈钢地面的屋子，而第二只屋子为淡兰色，带有水平的黑色条纹 (2.5 厘米宽)，间距 3.8 厘米，地面为光滑的树脂玻璃。在所有用  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸进行的 CPP 研究中，

盐水体积为 1ml/kg, 可卡因剂量为 20mg/kg。盐水、可卡因和  $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸全都是经腹腔 (i.p.) 注射。为了取得获得相而进行的条件化过程由 12 个部分构成, 连续 12 天进行。

CPP 配对为: 1) 盐水/盐水, 2) 盐水/可卡因, 3)  $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸/盐水, 4) 盐水/可卡因和  $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸。将每组动物随机分配给 2x2 因子设计, 一个因子为配对室, 另一因子为条件化的次序。接受盐水或可卡因的动物在注射后被关入适当的隔离间 30 分钟。在进行盐水或可卡因注射前 3 小时进行  $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸注射, 随后将动物关入适当的室内。之所以这样做, 是因为已经证实, GABA 水平在使用  $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸后 3-4 小时达到最高。

在测试进行当天 (第 12 天), 既不给药也不给盐水。允许动物在两室之间自由移动 15 分钟。用与记时器电耦合的自动红外线光束来记录动物在每一室中所花费的时间。为了测量可卡因对 CPP 作用的表达相, 如获得相研究中所述, 先使动物习惯并对可卡因产生条件化, 但在进行条件化的那些天里, 进行表达相研究的动物均不给注射  $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸。在测试日 (第 12 天), 进行表达相测试的动物与进行获得相测试的动物不同, 前者要在被放进装置和被允许在两个室中自由出入 15 分钟之前 2.5 小时, 接受盐水或  $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸。

### 3. 啮齿类由食物诱导的条件位置优选

为了在啮齿类中检测由食物诱导的 CPP, 在 CPP 程序的整个 12 个部分内, 四组大鼠被允许自由接近食物。CPP 过程的 12 个部分与可卡因诱导的 CPP 研究中使用的过程完全相同, 唯一不同的是刺激物是食物、而非可卡因。第一组给予盐水, 第二组经腹腔给予 150mg/kg  $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸, 第三组给予盐水, 第四组在向其暴露食物和向 CPP 盒的一边进行 CPP 配对之前, 经腹

腔给予 300mg/kg  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸。在 4 个让动物对食物进行习惯的部分中，在测试室的适当小室，让四组动物均对 Froot Loops 产生习惯，这是一种水果味的早餐谷物，对试验大鼠非常有吸引力。在进行最后一次 CPP 配对后 24 小时，将动物放在室内，既不给予毒品也不给予盐水（或食物）（使动物无法得到），让动物在 CPP 装置内自由移动 15 分钟。用自动装置记录动物在配对室和非配对室中所花费的时间。

#### 4. 啮齿类运动功能的测定

每天试验前都抚弄动物 5 分钟，持续 1 周，以减少动物因抚弄造成的紧张。在实验日，在实验前 2.5 小时，经腹腔注射  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸（150mg/kg 或 300mg/kg）或盐水（1ml/kg 或 0.5ml/kg）。每次试验前 1 小时，将动物运至测试地点。注射  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸或盐水后 2.5 小时，将动物放在行为测试箱中，以 10 分钟的时间间隔记录动物的运动活动，共持续 90 分钟，使用为光束活动系统（Photobeam Activity System）设计的硬件，将数据记录在 PC-AT 计算机上。运动测试箱本身为 41.3x41.3x30.5cm 大小的透明丙烯酸箱。用来监测运动活动的电子系统（光束活动系统，San Diego 仪器公司，San Diego, California）带有 16 支红外线光束，在箱内从左向右投射；另有 16 支光束，从前向后投射。所有的红外光束均距地面约 0.39cm 高。

#### 5. 啮齿类动物的强直性昏厥研究

经腹腔注射 150mg/kg  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸、经腹腔注射 300mg/kg  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸或盐水（1ml/kg, ip, 0.9%盐水）后，使用木棍实验测试强直性昏厥的程度。实验前 3 天，将雄性 Sprague-Dawley 大鼠在短暂抚弄后，运至测试室中，使动物对环境适应。在测试日，给予动物（n=10/处理组）盐水或  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -

氨基丁酸，注射后 60、120、240 分钟测定强直性昏厥的程度。实验者对每只动物所接受过的处理并不知情。棍子为木质的，直径 1.2cm，从地面至木棍上方的距离为 10cm。每次测试时，都将动物的前爪轻搭在木棍上，测定动物将两只前爪都放回至地面所需要的时间。

## 6. 啮齿类和灵长类<sup>[11C]</sup>-可卡因研究

将动物 (n=10) 分成两组。第一组，在经腹腔注射<sup>[11C]</sup>-可卡因前 3 小时，经腹腔注射盐水 (1ml/kg)。第二组，在经腹腔注射<sup>[11C]</sup>-可卡因前 3 小时，经腹腔注射  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸 (300mg/kg)。注射<sup>[11C]</sup>-可卡因 10 分钟后将动物杀死。取出大脑，计算其放射性。在另外两次灵长类 PET 研究中，在用标记可卡因进行基线扫描后，立即给予  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸 (300mg/kg)。大约 3 小时后，再次给予标记可卡因，将动物扫描 60 分钟。

## 7. 啮齿类微透析研究

所有动物均使用 IACUC 认可的实验程序，并严格遵循 NIH 指导方针。成年雄性 Sprague-Dawley 大鼠(体重 200-300g, Taconic 农场)在 12: 12 的明/暗条件下，饲养在动物饲养设施中。动物分成 6 组 (n=5-9)，研究开始前至少 4 天，将动物麻醉，以趋实体的方式将硅化的指引套管植入右侧 NACC (位于前囟前方 2.0mm、侧方 1.0mm，皮质表面腹侧 7.0mm)。将微透析探针 (2.0mm，生物分析系统公司，BAS，West Lafayette, IN) 置入引导套管内，使用 CMA/100 微灌流泵 (BAS)，以 2.0  $\mu$ l/分钟的流速，将人工脑脊液 (ACSF, 155.0mM  $\text{Na}^+$ , 1.1 mM  $\text{Ca}^{2+}$ , 2.9 mM  $\text{K}^+$ , 132.76 mM  $\text{Cl}^-$ , 0.83 mM  $\text{Mg}^{2+}$ ) 注入探针。将动物放在碗中，插入探针，用 ACSF 灌流过夜。在实验当天，最少要注射 3 个样品，以确定基线稳定性。收集样品 20 分钟，在线内注射 (CMA/160, BAS)。3 个稳定样品的平均多巴胺浓度定为对照 (100%)，所有

随后处理值都换算成对照值的百分比。一旦建立起稳定的基线，便经腹腔 (i.p.) 注射尼古丁。高压液相层析 (HPLC) 系统由一个 BAS 逆相柱 (3.0 $\mu$  C-18)、一个 BAS LC-4C 电化学传感器 (带有一个双/玻璃碳电极，电压设为 650mV)、一台使用商业软件包 (Chromograph 生物分析系统公司) 的计算机用于在线分析数据，以及一个双笔图表记录仪组成。动态相 (流速 1.0ml/分钟) 由 7.0% 甲醇、50mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>、1.0 mM 辛基硫酸钠、0.1 mM EDNA、pH 4.0 组成。多巴胺洗脱 7.5 分钟。实验完成后，将动物去头，切取冰冻切片，以证实探针位置。

与多巴胺浓度的定量估计相平行的是用红外线运动感受器同时将这些动物对使用兴奋剂的运动反应进行定量。这一红外线光学接近度检测仪可监测作为自由运动系统的一有机组分的万向节臂的活动。监测仪的数位输出与一 IBM 个人计算机界面相交，将数位输出程序化，以计算臂的正向和负向偏斜。用透析样品中使用过的同一时效取样方法将数据进行收集和汇总。然后，将运动活动用每个样品间歇的偏斜数来表示。

## 实施例 1

### 非人灵长类 (狒狒) 的研究

在此例中，按照与”材料与方法”中第 1 部分所描述的过程相一致的方法，为 20 只非人灵长类注射两次 [<sup>11</sup>C]-奎丙灵。第一次注射用作基线，第二次注射在可卡因或安慰剂注射之后进行。下面表 1 中第 1 组所示的用来测定测试间差异性的灵长类 (n=7) 在第二次放射性示踪物注射前先注射了安慰剂 (0.9% 盐水, 1ml/kg), 以确定这一成像方法的测试间差异性。

表I. 分组与实验条件

组	药物条件
1	对照 (测试间差异性)
2	可卡因处理
3	$\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸/可卡因处理

所有其余的灵长类 (n=13) 均在第二次 [ $^{11}\text{C}$ ]-奎丙灵注射前 5 分钟或 30 分钟时, 接受系统的盐酸可卡因注射 (0.5, 1.0 或 2.0mg/kg)。在这 13 只动物中, 5 只在注射可卡因 3 小时前, 接受  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸 (300mg/kg, 静脉给药) 注射。

不同的可卡因剂量和可卡因预处理时间间隔并未使可卡因对分布体积 (DV) 的影响发生显著变化。这与我们的预期相符。动物单独用可卡因处理 (n=8), 相对于  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸/可卡因共同处理 (n=5), 其 DV 比率变化的平均百分比分别见图 1 的组 2 与组 3。

作为一种竞争性拮抗剂, [ $^{11}\text{C}$ ]-奎丙灵的结合依赖于突触间隙中的 DA 浓度。也就是说, 突触 DA 浓度降低, [ $^{11}\text{C}$ ]-奎丙灵结合增加。反之, 突触 DA 浓度增加, [ $^{11}\text{C}$ ]-奎丙灵结合减少。如图 1 所示, 对组 1 来说, 这一成像方法的测试间差异性小于 7%。这些 PET 测量的差异性与从前在灵长类中用 [ $^{11}\text{C}$ ]-奎丙灵得到的数值相一致。在组 2 中, 可卡因可使平均 DV 比值降低超过 30% ( $p < 0.0002$ , Student 双尾 t 检验, 图 1)。这些数据与同时进行的 PET 和微透析研究相一致, 在这些研究中, 安非他明刺激可升高细胞外 DA 浓度, 降低 [ $^{11}\text{C}$ ]-奎丙灵在灵长类脑中的结合。此外, 这些结果与最近一份报告的结果相类似, 这份报告检测了在人身上可卡因刺激对标记奎丙灵的结合的影响。最后, 这些数据与我们自己所做的微透析研究 (Morgan 与 Dewey, 1998) 以及我们用安非他明、GBR 12909、四苯唑啉、利他林、和 [ $^{11}\text{C}$ ]-奎丙灵所进

行的灵长类和人 PET 研究 (Dewey et al, 1993; Volkow, et al, 1994) 是相一致的。组 1 和 3 的值在统计学上并没有显著差异 ( $p>0.1$ , Student 双尾 t 检验)。然而,  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸预处理却可显著阻断可卡因诱导的降低, 如图 1 中组 2 的 DV 比值所示 (组 2,  $p<0.002$ , Student 双尾 t 检验)。这些差异在图 2 所示的 DV 比率参量图中表现得相当明显。图 2 显示了非人灵长类脑纹状体水平跨轴参量 DV 比率图像。阴影指出了受体有效性的强度。与基线值 (左上端) 比较, 可卡因减少受体有效性 (右上端)。然而, 当用  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸预处理时, 与基线值 (左下端) 比较, 可卡因不影响受体有效性 (右下端)。

## 实施例 2

### 啮齿类中可卡因诱导的条件位置优选研究

此例依“材料与方法”中第 2 部分所概括的步骤进行。可卡因产生一剂量依赖的 CPP 反应, 最可靠和最强的反应发生在 20mg/kg 时, 如下面表 2 所示。

表II 对可卡因的条件位置优选

可卡因 (mg/kg)	室中花费的时间 (分钟)	
	配对	非配对 <sup>1</sup>
0	7.4±0.3	7.6±0.3
5.0	8.2±0.4	6.8±0.5
10.0	9.6±0.5 <sup>2</sup>	5.4±0.3
20.0	11.8±0.4 <sup>3</sup>	3.2±0.4 <sup>4</sup>

<sup>1</sup> 受监测动物仅注射盐水。

<sup>2</sup> 显著大于 0 和 5mg/kg 剂量的可卡因,  $p<0.05$ , 差异分析 (ANOVA) 和 Student-Newman-Keuls 检验。

<sup>3</sup> 显著大于 0.5 和 10mg/kg 剂量的可卡因,  $p<0.05$ , ANOVA 和 Student-Newman-Keuls 检验。

<sup>4</sup> 显著小于 0.5 和 10mg/kg 剂量的可卡因,  $p<0.01$ , ANOVA 和 Student-Newman-Keuls 检验。

我们因而选择了 20mg/kg 的可卡因剂量, 以此检测注射  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸对可卡因诱导的 CPP 获得和表达相的影响。结



果清楚地显示, 112、150 和 300mg/kg, 而非 75mg/kg 的  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸 (GVG), 可以阻断可卡因诱导的 CPP 的获得和表达。尤见下面表 3-10。

表III GVG 和盐水对可卡因诱导的 CPP 获得的影响

处理配对 <sup>1</sup>	室中花费的时间 (分钟)	
	配对	非配对 <sup>2</sup>
盐水/盐水	7.3±0.5	7.7±0.6
盐水/可卡因	11.1±0.3 <sup>4</sup>	3.9±0.4
75mg/kgGVG <sup>3</sup> /盐水	7.3±0.5	7.7±0.6
75mg/kgGVG <sup>3</sup> /可卡因	9.1±1.1	5.9±1.2

- 1 每一值代表在每一室中花费的平均分钟数±S.E.M.(n=8-10)。
- 2 受监测动物仅注射盐水。
- 3 动物在接受盐水或可卡因(20mg/kg)2.5 小时前接受 GVG 或盐水。
- 4 显著大于所有处理组,  $p < 0.05$ , ANOVA 和 Newman-Keuls 检验。
- 5 显著小于所有处理组,  $p < 0.01$ , ANOVA 和 Newman-Keuls 检验。

表IV

处理配对 <sup>1</sup>	室中花费的时间 (分钟)	
	配对	非配对 <sup>2</sup>
盐水/盐水	7.2±0.5	7.8±0.4
盐水/可卡因	11.8±0.5 <sup>4</sup>	3.2±0.5
112mg/kgGVG <sup>3</sup> /盐水	7.6±0.6	7.4±0.6
112mg/kgGVG <sup>3</sup> /可卡因	8.2±0.5	6.8±0.5

- 1 每一值代表在每一室中花费的平均分钟数±S.E.M.(n=8-10)
- 2 受监测动物仅注射盐水。
- 3 动物在接受盐水或可卡因(20mg/kg)2.5 小时前接受 GVG 或盐水。
- 4 显著大于所有处理组,  $p < 0.05$ , ANOVA 和 Newman-Keuls 检验。
- 5 显著小于所有处理组,  $p < 0.01$ , ANOVA 和 Newman-Keuls 检验。

表V

处理配对 <sup>1</sup>	室中花费的时间(分钟)	
	配对	非配对 <sup>2</sup>
盐水/盐水	7.4±0.3	7.6±0.4
盐水/可卡因	11.6±0.5 <sup>4</sup>	3.4±0.4 <sup>5</sup>
150mg/kgGVG <sup>3</sup> /盐水	7.8±0.6	7.2±0.6
150mg/kgGVG <sup>3</sup> /可卡因	7.9±0.8	7.1±0.8

1 每一值代表在每一室中花费的平均分钟数±S.E.M.(n=8-10)。

2 受监测动物仅注射盐水。

3 动物在接受盐水或可卡因(20mg/kg)2.5小时前接受GVG或盐水。

4 显著大于所有处理组,  $p < 0.05$ , ANOVA 和 Newman-Keuls 检验。

5 显著小于所有处理组,  $p < 0.01$ , ANOVA 和 Newman-Keuls 检验。

表VI

处理配对 <sup>1</sup>	室中花费的时间(分钟)	
	配对	非配对 <sup>2</sup>
盐水/盐水	7.7±0.3	7.3±0.3
盐水/可卡因	11.2±0.6 <sup>4</sup>	.8±0.5 <sup>5</sup>
300mg/kgGVG <sup>3</sup> /盐水	7.2±0.4	7.8±0.4
300mg/kgGVG <sup>3</sup> /可卡因	7.6±0.7	7.2±0.7

1 每一值代表在每一室中花费的平均分钟数±S.E.M.(n=8-10)

2 受监测动物仅注射盐水。

3 动物在接受盐水或可卡因(20mg/kg)2.5小时前接受GVG或盐水。

4 显著大于所有处理组,  $p < 0.05$ , ANOVA 和 Newman-Keuls 检验。

5 显著小于所有处理组,  $p < 0.01$ , ANOVA 和 Newman-Keuls 检验。

表VII GVG 和盐水对可卡因诱导的条件位置优选表达的影响

处理配对 <sup>1</sup>	测试日所给的药物	室中花费的时间(分钟)	
		配对	非配对 <sup>2</sup>
盐水/盐水	盐水	7.5±0.4 <sup>1</sup>	7.5±0.4
盐水/盐水	GVG, 75mg/kg	7.5±0.3	7.5±0.3
盐水/可卡因	盐水	11.8±0.5 <sup>3</sup>	3.2±0.5
盐水/可卡因	GVG, 75mg/kg	10.6±0.6 <sup>3</sup>	4.4±0.9
盐水/盐水	盐水	7.8±0.5 <sup>1</sup>	7.2±0.6

1 每一值代表在每一室中花费的平均分钟数±S.E.M.(n=10)。

2 受监测动物仅注射盐水。

3 显著大于所有其它处理配对,  $p < 0.01$ , ANOVA 和 Student Newman-Keuls 检验。

表VIII

处理配对 <sup>1</sup>	测试日所给的药物	室中花费的时间(分钟)	
		配对	非配对 <sup>2</sup>
盐水/盐水	盐水	7.1±0.5	7.9±0.5
盐水/盐水	GVG,112mg/kg	7.2±0.3	7.8±0.3
盐水/可卡因	盐水	12.2±0.6 <sup>3</sup>	2.8±0.5
盐水/可卡因	GVG,112mg/kg	8.1±0.7	6.9±0.6

1 每一值代表在每一室中花费的平均分钟数±S.E.M.(n=10)

2 受监测动物仅注射盐水。

3 显著大于所有其它处理配对,  $p < 0.01$ , ANOVA 和 Student Newman-Keuls 检验。

表IX

处理配对 <sup>1</sup>	测试日所给的药物	室中花费的时间 (分钟)	
		配对	非配对 <sup>2</sup>
盐水/盐水	盐水	7.2±0.2 <sup>1</sup>	7.8±0.2
盐水/盐水	GVG,150mg/kg	7.7±0.2	7.3±1.1
盐水/可卡因	盐水	11.1±0.5 <sup>3</sup>	3.9±0.4 <sup>4</sup>
盐水/可卡因	GVG,150mg/kg	7.9±0.3	7.1±0.3

1 每一值代表在每一室中花费的平均分钟数±S.E.M.(n=10)

2 受监测动物仅注射盐水。

3 显著大于所有其它处理配对,  $p < 0.01$ , ANOVA 和 Student Newman-Keuls 检验。

4 显著小于所有其它处理配对,  $p < 0.01$ , ANOVA 和 Student Newman-Keuls 检验。

表X

处理配对 <sup>1</sup>	测试日所给的药物	室中花费的时间 (分钟)	
		配对	非配对 <sup>2</sup>
盐水/盐水	盐水	7.8±0.5 <sup>1</sup>	7.2±0.6
盐水/盐水	GVG,300mg/kg	7.3±0.4	7.7±0.3
盐水/可卡因	盐水	12.5±0.8 <sup>3</sup>	2.5±0.6 <sup>4</sup>
盐水/可卡因	GVG,300mg/kg	7.9±0.5	7.1±0.6

1 每一值代表在每一室中花费的平均分钟数±S.E.M.(n=10)。

2 受监测动物仅注射盐水。

3 显著大于所有其它处理配对,  $p < 0.05$ , ANOVA 和 Student Newman-Keuls 检验。

4 显著小于所有其它处理配对,  $p < 0.05$ , ANOVA 和 Student Newman-Keuls 检验。

$\gamma$ -乙基- $\gamma$ -氨基丁酸 (GVG) 本身既不产生 CPP, 也不产生条件化的厌恶反应。可再次参见表 3-10。

### 实施例 3

#### 啮齿类中食物诱导的条件位置优选研究

此实施例依“材料与方法”中第 3 部分所概括的步骤进行。下面表 11 中所列的结果显示,食物可诱导激励或报偿效应。例如,所有的配对值都显示,啮齿类在有食物的室中花费的时间较多。

表XI GVG (150, 300mg/kg, 腹腔注射)  
对食物诱导的条件位置优选的影响

处理配对 <sup>1</sup>	室中花费的时间 (分钟)	
	配对	非配对 <sup>2</sup>
盐水/盐水	7.3±0.6	7.7±0.6
GVG/盐水	7.5±0.7	7.5±0.7
盐水/食物	9.3±0.7	5.7±0.7
GVG (150mg/kg) /食物	9.4±0.4	5.6±0.5
GVG (300mg/kg) /食物	9.0±0.5	6.0±0.5

1 每一值代表在每一室中花费的平均分钟数±S.E.M.

2 受监测动物仅注射盐水。

虽然给予 150 或 300mg/kg GVG 对上面表 3-10 所示的 CPP 试验中可卡因引起的激励动机效应有减弱效果,但并不能影响对食物的 CPP 反应。如表 11 所示。

#### 对实施例 1、2、3 中获得的试验结果的讨论

在前述 PET 研究中,我们表明,单独使用  $\gamma$ -乙基- $\gamma$ -氨基丁酸 (GVG) 可降低细胞外 DA 浓度,从而导致灵长类脑中 [11C]-奎丙灵结合的增加 (Dewey, et al, 1992)。在本发明的 PET 研究中,很明显,表 1、第 3 组中观察到的可卡因效应的减弱,是

以在使用可卡因前， $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸（GVG）诱导的细胞外 DA 水平的降低为基础的。然而，从表面上看，组 1 和组 3 得到相同的结果，再加上我们从前单独使用  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸时所得到的结果（Dewey, et al, 1992），这些都显示，在本发明中，即使使用了  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸，可卡因仍可提高细胞外 DA 水平，只是提高的程度仅达基线。

然而，基于在此所述的 CPP 数据，这种可卡因诱导的向基线的回复，很显然并不足以产生激励动机效应。我们的结果显示，可卡因可产生 CPP 反应。相反，媒介物配对并不引起 CPP 反应，显示动物并不表现出对某一室的偏好，也就是说，设施本身不存在偏向性。此外，对可卡因的 CPP 反应是剂量依赖的，最可靠和最强的反应发生在可卡因剂量为 20mg/kg 时。

给予 112, 150 和 300mg/kg、而非 75mg/kg  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸时，可阻断由可卡因引起的 CPP 反应的获得和表达。相反，当  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸与盐水配对时，并不能产生 CPP 或厌恶反应。这显示， $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸对可卡因 CPP 效应的阻断作用，与  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸本身所引起的厌恶或欲望反应并不相关。我们在实施例 2 中陈述的结果显示，食物可以引起激励或报偿效应。虽然给予 150 或 300mg/kg  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸可以减弱可卡因的激励效应，但却不能影响对食物的 CPP 反应。这一结果显示， $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸可特异性地减弱可卡因的报偿/激励效应。

#### **实施例 4**

##### **在实验啮齿类中进行的运动活动和强直性昏厥研究**

此实施例依“材料与方法”中第 4 和第 5 部分所概括的步骤进行。即使已经普遍认为，CPP 模式在激励动机效应上与运动效

应有所区别,我们仍然评估了  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸对大鼠运动和强直性昏厥的影响。我们发现,用 150mg/kg 或 300mg/kg 的  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸剂量进行预处理,与用盐水进行预处理的对照相比较,对运动活动并没有影响,如图 3a 和 3b 所示。此外,以 150mg/kg 或 300mg/kg 的  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸剂量进行预处理,并不能在大鼠中诱导强直性昏厥。使用 300mg/kg  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸后的强直性昏厥,其持续时间为  $1.1 \pm 0.4$  秒 ( $n=10$ ),与用盐水进行处理的大鼠的  $1.1 \pm 0.3$  秒 ( $n=10$ ) 并没有显著区别。“n”代表受测试的啮齿类动物数目。

## 实施例 5

### 啮齿类和灵长类动物中的 $^{11}\text{C}$ -可卡因水平

此实施例依“材料与方法”中第 4 和第 5 部分所概括的步骤进行。为了对  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸可能通过影响可卡因向脑部的渗入而对可卡因的作用进行削弱的可能性进行评估,我们检测了盐水和  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸对完整大鼠和灵长类脑部  $^{11}\text{C}$ -可卡因水平的影响。在啮齿类中,经腹腔给予盐水和 300mg/kg  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸后的脑内  $^{11}\text{C}$ -可卡因水平分别为  $0.110 \pm 0.03$  和  $0.091 \pm 0.02$ ,这在统计学上并没有明显差异。在灵长类中,标记可卡因的药代动力学图无论在绝对摄取还是在清除上都与基线扫描没有明显区别。

## 实施例 6

在此实施例中, $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸对尼古丁诱导的细胞外多巴胺浓度变化的影响是在自由移动的大鼠身上测量的。实验遵循“材料与方法”中第 7 部分所概括的方法。

每次处理配对都测试了总共 8 只大鼠。动物在 8 天的时间里共接受了 4 次处理配对,每天 1 次处理配对。动物在接受 0.4mg/kg 尼古丁 2.5 小时前接受 75mg/kg 的  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸。在第 1 天,先给予动物 GVG,然后给予尼古丁,然后放置在合适的室中。在第 2 天,先给予动物  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸,然后给予盐水,然后放置在合适的室中。第 1 天和第 2 天的步骤又另外重复 3 次。最后一次处理配对进行完以后 24 小时,允许动物自由接近整个行为测试装置 15 分钟,用一自动装置记录在配对处理室和非配对处理室中各自所花费的时间。经腹腔给予 75mg/kg  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸,其对尼古丁引起的 CPP 获得的影响,在此例中通过大鼠加以检测,其效果见下面表XII。

表XII 75mg/kg 腹腔注射 GVG 对(-)-尼古丁  
起条件位置优选的获得的影响

处理配对	室中花费的时间(分钟) <sup>1</sup>	
	配对	非配对 <sup>2</sup>
尼古丁 0.4mg/kg, s.c./媒介物 <sup>3</sup>	9.4±0.5	5.6±0.5
75mg/kgGVG/尼古丁 0.4mg/kg,s.c.	6.4±0.3 <sup>4</sup>	8.6±0.3 <sup>5</sup>

1 每一值代表在每一室中花费的平均分钟数±S.E.M.

2 受监测动物仅注射盐水。

3 媒介物为 1ml/kg 剂量的 0.9%NaCl 或盐溶液。

4 显著低于尼古丁/媒介物配对,  $p < 0.01$ , ANOVA 和 Student-Newman-Keuls 检验。

5 显著高于尼古丁/媒介物配对,  $p < 0.01$ , ANOVA 和 Student-Newman-Keuls 检验。

与表XII中概括的试验相类似的一个试验,其结果见图 4。图 4 显示,在自由运动的大鼠中, $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸(150mg/kg)可阻断由尼古丁诱导的多巴胺浓度的升高。开放圆圈为对照动物。闭合圆圈为使用尼古丁 2.5 小时前用  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸处理的动物。



## 比较例

### 氯苯氨丁酸对可卡因使用的影晌

我们在例 1、2、3 中获得的结果是与从前研究的结果相类似的。这些研究显示，GABA 能功能的提高，可减弱可卡因或其它毒品的报偿/强化作用。例如，已经显示，使用渐进比率模式时，在雄性 Wistar 大鼠中，选择性 GABAB 激动剂氯苯氨丁酸虽然不影响可卡因摄取的速度，却可产生一剂量依赖的静脉内 (iv) 注射可卡因的临界点的降低。这些结果显示，氯苯氨丁酸可削弱可卡因的强化效应，因为临界点降低代表主动使用可卡因动机的降低。

有人假设，GABAA 受体功能的提高可以削弱可卡因的主动使用，正如 GABAA 受体复合物的正性变构调节剂利眠宁和阿普唑仑可以减少可卡因主动使用率一样。然而，这一效应很可能与每一单位剂量可卡因的强化效应值的升高有关，因为利眠宁可依比率逐渐提高可卡因主动使用的临界点。

来自同一实验室的最新研究也支持用氯苯氨丁酸进行的研究的结果。这一实验室的研究显示，对大鼠进行急性氯苯氨丁酸预处理 (1.25-5mg/kg, 腹腔注射)，在一不连续的试验模式中，可抑制可卡因的主动使用至少 4 小时。将氯苯氨丁酸显微注射入大鼠侧下丘脑的腹盖区，与一刺激电极同侧，可导致速度-电流强度曲线的右移，显示氯苯氨丁酸可降低电刺激的报偿值。然而，氯苯氨丁酸并不影响用电流对脑部而进行刺激的报偿或非强化表现水平的最大反应速度，显示氯苯氨丁酸的作用与运动表现/灵巧度的改变没有关系。

最近的一项研究显示，在雄性 F344 大鼠中， $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸可产生一剂量依赖的脑内刺激报偿域值的升高 (Kushner et

al, 1997b), 而对运动表现并没有显著影响。经腹腔给予 2.5 和 5mg/kg 可卡因, 可降低脑内刺激报偿域值, 而这一作用被 400mg/kg 剂量的  $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸强烈拮抗。

最后, 将氯苯氨丁酸(0.1-1nmol)显微注射入腹盖区, 可强烈削弱由吗啡(8mg/kg)引起的 CPP 反应, 而这一效应可被 GABAB 拮抗剂 2-羟-saclofen 拮抗。因而, 即使使用了不同的模式以对报偿/强化效应进行评估, 这些研究仍显示, GABAB 受体的激活可降低可卡因、吗啡、和脑部电刺激报偿的欲望值。

GABA 的模拟化合物 progabide 可通过代谢成 GABA 而提高 GABA 的水平, 它本身并不能产生条件位置优选或厌恶反应。从前, 已有报道指, 用 progabide 预处理, 不能影响对腹腔注射 1.5mg/kg 安非他明的 CPP 反应。然而, 很难将这一结果与本发明进行比较, 因为在大鼠品系、GABA 能化合物、引起 CPP 的药物上都有所不同。应该注意, progabide 仅存在了 35 分钟。由于已经表明, 系统使用 progabide 之后脑内 GABA 水平的最大增高出现在注射后 4-6 小时, 在测定安非他明诱导的 CPP 期间, GABA 水平并非达到最高。

由于这些证据显示, 在中边缘系中增强多巴胺能的功能, 可以在介导可卡因的报偿/强化效应中发挥作用, 因此,  $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸对可卡因引起的 CPP 反应的消除也许与多巴胺能活动/功能的改变有关。我们进行的体内微透析研究支持这一假说。这些研究显示, 快速(300 和 500mg/kg, 腹腔注射)或重复给予(100, 300 和 500mg/kg, 腹腔注射)  $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸, 对腹腔注射 20mg/kg 可卡因造成的 NACC 和纹状体中细胞外 DA 水平的增高, 可产生一显著的剂量依赖性减少 (Dewey, et al, 1998)。同时, 使用  $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸后 DA 受体敏感性的改变不太可能是它对可卡因作用进行削弱的原因, 因为, 已知, 重复使用  $\gamma$

-乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸并不能改变大鼠纹状体 D1 或 D2 受体的敏感性。然而，在  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸对其它 DA 受体（D3, D4 和 D5）的影响方面，并不存在任何证据。另一方面，可能可卡因可以改变 GABAB 受体的功能，因而有可能改变如 DA 等神经递质的释放，而这一作用可被  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸通过升高 GABA 水平、继而刺激 GABAB 受体而拮抗。

在大鼠脑切片中，已经观察到，重复使用可卡因可降低突触前 GABAB 自主受体和异受体对侧隔核神经元的有效性。这可能导致一非抑制性作用，使神经递质的释放增强。氯苯氨丁酸也可能会削弱 DA 的作用，而这将削弱可卡因的作用。Lacey 等人的发现（1988）间接支持这一点，他们的研究显示，大鼠黑质致密带神经元的细胞内记录中，DA 产生的外向电流被氯苯氨丁酸所产生的最大电流所封闭。

对本结果可能有几种解释。首先，有可能  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸能增强可卡因的代谢，从而降低到达脑部的可卡因的量，继而降低它的神经化学效应，最终降低它的行为作用。然而，这是不太可能的，因为用  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸（300mg/kg）预处理的大鼠或灵长类，其脑部 11C-可卡因水平并没有受到显著影响。此外，可卡因主要通过血浆胆碱酯酶代谢，而  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸主要以原型通过尿液排泄，因此不太可能发生药代动力学相互作用。

有报道指，可提高 GABA 能功能的药物会导致镇静和共济失调。因此，有理由推测，通过产生这种相反的行为效果， $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸可能会非特异性地拮抗可卡因的作用。然而，本研究中的结果显示， $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸并不能产生强直性昏厥或显著改变运动功能，这使得这一假说站不住脚了。此外，前面所讨论的例子表明， $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸并不产生条件位置厌恶反

应，显示它对可卡因作用的拮抗并不是一种平衡性的厌恶反应的结果。还有， $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸自己并不能引起 CPP 反应，这显示它并不能将动物的喜好从可卡因配对的环境转移到  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸配对的环境中来。

已经显示，给予  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸可以影响大鼠的取食。基于此，有可能  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸可以降低或减弱自然报偿的享受值、以及可卡因引起的享受值。然而，本研究显示，150 或 300mg/kg  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸都不能改变对食物的 CPP。

有证据显示，条件位置优选 (CPP) 模式中的行为对受试强化物的情感和记忆改善特性都有依赖。因此，有人会说， $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸对可卡因诱导的 CPP 表达和获得的阻断，是  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸干扰可卡因诱导的正向激励价值与适宜刺激之间的联系的结果，而这种干扰是通过干扰记忆实现的。确实，已知某些可增强 GABA 能功能的药物可损害记忆。然而， $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸并不影响对食物的位置条件化，显示这一假设无法解释  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸在 CPP 模式中对可卡因作用的拮抗。

已经发现，112, 150 和 300mg/kg 剂量的  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸可以拮抗可卡因诱导的 CPP 的获得和表达。相反， $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸并不引发 CPP 或条件化的位置厌恶反应，显示  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸并不通过单纯产生 CPP 反应或者通过产生厌恶效果而削弱 CPP 来拮抗可卡因的作用。此外， $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸并不引发强直性昏厥，也不改变食物的激励值。有证据指，与可卡因相关的刺激或暗示可以在已经戒毒的可卡因上瘾者中恢复对毒品的索求行为以及对毒品的渴望，从而导致毒瘾复发。在没有可卡因的条件下测定的对可卡因的 CPP 的表达可被  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸拮抗。这些结果显示，可卡因上瘾者所感受到的对毒品的渴望可被  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸所削弱。

NACC 中多巴胺能的传导特异性地包含在可卡因的强化特性之中。在上面所讨论的 PET 研究中，检测是在纹状体而非 NACC 中进行的。即使纹状体中的 DA 神经传导并没有包含在可卡因的报偿与强化效应中，但在这两个区域里，可卡因对细胞外 DA 水平的影响在定量上是相似的。此外，我们的体内微透析研究显示，在这两个区域中， $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸可将可卡因诱导的细胞外 DA 水平的升高削弱到类似程度。(Dewey et al, 1997; Morgan and Dewey, 1998)

本发明使用了两个不同种的啮齿类和灵长类，以进行成像和行为试验。然而，在这两个种中，中皮质边缘 DA 系统在神经解剖和神经生理上是同源的。此外，应用体内微透析技术测定的可卡因对细胞外 DA 的生化效应在这两个种中是类似的，而啮齿类和灵长类都可以主动使用可卡因。(Morgan, et al, 1998)

基于本发明的试验结果，有人提出，CPP 模式中行为的阻断除了由于在中皮质边缘 DA 系统中  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸诱导的 GABA 能抑制作用的增强之外，还由于对可卡因脑内 DA 效应的削弱。

通过不可逆地抑制 GABA-T， $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸在概念上具有阻断可卡因对脑 DA 的激励动机和生化效应的优势。这使得相对缓慢的该酶的从头合成步骤成为逆转对可卡因效应的抑制中的速度决定步骤。最近一份可卡因吸毒者的病例报告显示，gabapentin（一种抗惊厥药物）也可以通过不明机制增强 GABA 能的传导，削弱可卡因的戒断症状和对可卡因的渴望。汇总起来，这些数据显示，选择性地针对 GABA 能系统的药物有利于治疗可卡因上瘾。更明确地说， $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸诱导的 GABA-T 的抑制，可导致细胞外脑 GABA 水平的升高，这预示着一个治疗可卡因成瘾的有效药物以及新策略的形成。

## 实施例 7

感受性增强的现象实际上在所有毒品中都可以观察到。人们认为，感受性增强在致瘾的病因学上发挥一定作用。在此例中，我们在 10 只自由移动的大鼠身上，测量了在可卡因致敏处理之后，盐水和腹腔注射 150mg/kg  $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸对可卡因诱导的典型行为的表达的影响。

经腹腔给予动物 15mg/kg 可卡因，然后在标准运动笼中测定典型行为。连续 6 天，动物在它们自己的笼子中接受了一天一次的 15mg/kg 腹腔注射可卡因。8 天以后，再用 15mg/kg 腹腔注射可卡因来刺激动物，并测量典型行为。我们使用了一个 5 分制的评价表，以对典型行为进行评估。评价者对每只动物所接受过的处理是不知情的。我们注意到，在可卡因刺激前 2.5 小时使用  $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸，当腹腔注射  $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸剂量为 150mg/kg 时，可消除可卡因诱导的感受性增强的表达。结果见下面表 XIII。

表 XIII 在可卡因致敏处理之后，盐水和腹腔注射 150mg/kg GVG 对可卡因诱导的典型行为的表达的影响

第 1 天的典型行为评分	进行典型行为评分 2 小时前所做的处理	第 15 天的典型行为评分
2.5±0.4	经腹腔注射 0.9%NaCl 1ml/kg	4.1±0.5*
2.9±0.4	经腹腔注射 GVG 150mg/kg	2.3±0.6

\*显著高于第 1 天， $p < 0.05$ , Student 检验。

我们设计了下一个试验，以确定  $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸对尼古丁诱导的 NACC 中 DA 水平升高的影响，以及  $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸对此生化效应相关的行为的影响。明确地说，我们通过以下步骤达到上述目的：1) 使用体内微透析方法，在自由移动

的活动物身上或在经长期尼古丁处理的动物身上测量  $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸和尼古丁对细胞外 NACC 中 DA 水平的影 响; 2) 使用正离子发散断层 (PET), 在经麻醉的雌性狒狒身上, 测量  $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸对纹状体中尼古丁诱导的 [ $^{11}\text{C}$ ]-奎丙灵结合的降低的影响。3) 检测  $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸对尼古丁诱导的 CPP 的影响。

## **实施例 8**

### **GVG 对尼古丁诱导的 NACC 中 DA 升高的影响**

#### **1. 啮齿类微透析研究**

在本例中, 使用尼古丁作为毒品。在第 1 组动物中, 腹腔注射  $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸 (75, 90, 100 或 150mg/kg) 后 2.5 小时, 给予尼古丁 (0.4mg/kg, sc)。在另外一个系列的试验中 (第 2 组), 动物用尼古丁 (0.4mg/kg, sc, 每天两次) 处理 21 天。在实验那天, 尼古丁 (0.4mg/kg, sc) 刺激前 2.5、12 或 24 小时, 给予  $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸 (100mg/kg)。在所有试验中, 进行试验的前一天晚上, 都将动物放在微透析碗中, 通过微透析探针, 以 2.0 $\mu\text{l}$ /分钟的流速, 用人工脑脊液 (ACSF) 进行灌注。每次试验完毕时, 将动物杀死, 取出大脑, 切片, 以证实探针位置。

在第 1 组动物中, 使用尼古丁 80 分钟后, NACC 中细胞外 DA 浓度提高大约 100% (图 5A)。也就是说, DA 水平升高至基线的大约 200%。使用尼古丁大约 160 分钟后, DA 回到基线水平。如图 5A 所示,  $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸可以剂量依赖的方式抑制这一 DA 水平的升高。在 75mg/kg 时,  $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸对尼古丁诱导的 DA 水平升高没有影响; 而在 90mg/kg 时,  $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸抑制 DA 的升高大约 50%; 在 100mg/kg 时, 它可完全消除任何 DA 升高。最高剂量 150mg/kg 也可以完全消除尼古丁

的效应（数据在此并未显示）。尤其应该注意的是，我们发现，在三种较高剂量（90，100，或 150mg/kg）时，在使用尼古丁之前， $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸就可降低基础 DA 水平。最低剂量（75mg/kg）对基础 DA 水平没有影响，继而对尼古丁升高 NACC 中细胞外 DA 水平的能力也没有影响。

在第 2 组动物中，在相同时间段内，尼古丁可提高 NACC 中细胞外 DA 水平，提高的程度与第 1 组动物中得到的相同（约高出基线 100%，图 5B）。与我们在第 1 组中的结果类似，当在使用尼古丁前 2.5 小时使用  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸时， $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸（100mg/kg）可完全消除尼古丁诱导的细胞外 DA 水平的升高。然而，使用尼古丁刺激前 12 小时给予  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸，尼古丁可将细胞外 DA 水平升高至基线值以上约 25%（图 5B）。第 2 组中，在尼古丁刺激前 24 小时接受  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸的动物，其细胞外 DA 水平增高至与对照动物的测量值相类似的数值（图 5B）。与我们从前的结果相一致（Dewey, et al, 1997），在 2.5 小时的预处理间歇内， $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸并不能改变总体的运动活动。然而，无论动物接受的  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸剂量如何，尼古丁在所有动物中都可以增加总体的运动活动。

## 实施例 9

### 2. 啮齿类中尼古丁诱导的 CPP

#### 对 CPP 设施的描述

CPP 设施完全用树脂玻璃制造，唯一例外的是其中一间配对室的地面是用不锈钢板制造的，板上带有孔（直径 0.5mm），从孔边缘到孔边缘的间隔为 0.5mm。两个配对室在视觉和触觉暗示上有所不同。一个室是完全淡蓝色的，带有不锈钢地面。第二个室是淡蓝色的，带有水平的黑色条纹（2.5cm 宽），条纹间隔 3.8cm，



地面为光滑的树脂玻璃。两个配对室之间用第三条、中性的连接通道（10x 14 x 36 cm）加以分隔，通道带有透明的树脂玻璃墙壁和树脂玻璃地面。将视觉和触觉暗示加以平衡，以使动物在条件化前并不表现出显著的对某一方的偏好。

### **GVG 对啮齿类 CPP 表达的影响**

条件化步骤包含 20 个部分，在 20 多天内连续进行。前 3 个部分是习惯化部分，在此期间，动物每天被抚弄 5 分钟，然后暴露在测试室的视觉和声音条件下。随后进行 16 个部分的 8 次配对，1 组为媒介物/媒介物（腹腔注射 0.9% 1ml/kg 盐水，n=10 只动物），7 组为盐水-尼古丁（0.4mg/kg s.c），每组 10 只动物。每一测试组中的动物，一半在暴露在蓝色室之前接受尼古丁，另一半在暴露在蓝色和黑色条纹室之前接受盐水。接受媒介物或尼古丁的动物在注射后，被限制在适宜的空间内 30 分钟，用闸形的树脂玻璃门来防止其进入室内其它地方。最后部分（第 20 天）为测试部分，动物在实验前 30 分钟，接受如下处理之一：1）盐水，或 2） $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸（18.75, 37.5, 75 或 150 mg/kg 经腹腔注射）。两间配对室的入口都打开了，允许动物在 3 个室中自由移动 15 分钟。使用与计时器电耦合的自动红外线光束，以记录动物在每个室中花费的时间。

### **$\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸对 CPP 获得的影响**

用上述方法使动物习惯化。动物在接受尼古丁前 2.5 小时，给予动物盐水或  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸（37.5 和 75 mg/kg，腹腔注射）。继而将动物放入合适的室中 30 分钟。16 天内的 8 次配对均重复此步骤。测试那天，将动物放入 CPP 装置中，允许动物自由进入所有 CPP 室，记录在室中花费的时间。

给予盐水并不能产生对某一室的偏好。然而，尼古丁（0.4 mg/kg, sc）却产生一统计学上有显著意义的、可靠的 CPP 反应，动物在配对（尼古丁）侧花费 9.6±0.6 分钟，而在非配对侧（盐水）花费 5.4±0.6 分钟。（表XIV和XV）。对表达数据的统计分析显示了处理效果（ $F(5, 50) = 21.6, p < 0.001$ ）。Post hoc 分析显示， $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸在剂量为 18.75, 37.5, 75.0, 或 150mg/kg 时，可以消除尼古丁诱导的 CPP 的表达相，而盐水却不能（表XIV）。

对获得相数据的分析显示了处理效果（ $F(3, 32) = 11.8, p < 0.05$ ）。Post hoc 分析显示， $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸（37.5 mg/kg）不能显著阻断尼古丁诱导的 CPP 的获得（表XV）。相反，在剂量为 75mg/kg 时， $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸能显著阻断尼古丁诱导的 CPP 的获得相（表XV）。

表XIV 盐水和 GVG 对 0.4mg/kg sc (-)尼古丁引起的条件位置优选反应的表达的影响

处理配对	测试日给药	室中花费的时间（分钟）	
		配对	非配对
盐水/盐水	盐水 <sup>2</sup>	7.4±0.3 <sup>1</sup>	7.6±0.3
盐水/尼古丁	盐水	9.6±0.6	5.4±0.6
盐水/尼古丁	GVG, 18.75mg/kg <sup>3</sup>	7.5±0.7*	7.5±0.7
盐水/尼古丁	GVG, 37.5mg/kg	6.8±1.0**	8.2±1.0
盐水/尼古丁	GVG, 75mg/kg	6.4±0.3**	8.6±0.3
盐水/尼古丁	GVG, 150mg/kg	5.0±0.9**	10.0±0.9

1 每一值代表在每一室中花费的平均分钟数±S.E.M.。每次处理配对总共检测 8-10 只大鼠。在测试日之前，所有动物接受 8 次尼古丁和盐水配对。在测试日，动物在被放入 CPP 装置之前 2.5 小时时，接受盐水或 GVG。

2 盐水为 0.9% 盐水，1ml/kg 剂量，sc。

- \* 显著小于盐水/尼古丁配对组在测试日用盐水得到的结果,  $p < 0.05$ , ANOVA 和 Student-Newman-Keuls 检测。
- \*\* 显著小于盐水/尼古丁配对组在测试日用盐水得到的结果,  $p < 0.01$ , ANOVA 和 Student-Newman-Keuls 检测。

表XV 盐水和 GVG 对 0.4mg/kg sc (-)-尼古丁引起的  
条件位置优选反应的获得的影响

处理配对	室中花费的时间 (分钟)	
	配对	非配对
盐水/盐水 <sup>2</sup>	7.3±0.3 <sup>1</sup>	7.7±0.3
盐水/尼古丁	9.6±0.6 <sup>1</sup>	5.4±0.6
尼古丁/GVG, 37.5 mg/kg 腹腔注射	8.8±0.5	6.2±0.5
尼古丁/GVG, 75 mg/kg 腹腔注射	6.9±0.9*	8.1±0.9

- 1 每一值代表在每一室中花费的平均分钟数±S.E.M.。每次处理配对总共检测 8-10 只大鼠。动物用盐水或者腹腔注射 37.5 或 75mg/kg GVG 进行预处理, 2.5 小时后, 每只动物接受 0.4mg/kg sc 尼古丁, 唯一例外的是一个组, 该组接受盐水、然后进行盐水处理 (盐水/盐水配对)。每只动物进行 8 次配对。
- 2 盐水为 0.9% 盐水, 1ml/kg 剂量, sc。
- \* 显著小于盐水/尼古丁配对组在测试日用盐水得到的结果,  $p < 0.05$ , ANOVA 和 Student-Newman-Keuls 检测。

### 灵长类 PET 研究

在所有成像研究和 <sup>11</sup>C 标记的奎丙灵 (<sup>11</sup>C-奎丙灵) 研究中, 均使用成年雌性狒狒 (n=16) (*Papio anubis*, 体重 13-18kg)。如表XVI中所详述的, 将动物分成 5 组。对照组动物 (组 1) 在没有任何药物干扰的情况下接受两次 <sup>11</sup>C-奎丙灵注射, 以决定试验中的测试间差异性。这些数据以前也已发表过 (Dewey et al, 1998)。第 2 组动物在接受第二次 <sup>11</sup>C-奎丙灵注射前 2.5 小时, 只接受  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸 (300mg/kg)。与第 1 组动物一样, 这些数据以前也已发表过 (Dewey et al, 1992)。第 2 组动物在接受第二次 <sup>11</sup>C-奎丙灵注射前 30 分钟, 只接受尼古丁 (总量为 0.3mg,

约合 0.02mg/kg)。在  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸/尼古丁联合研究中，在使用尼古丁之前 2.5 小时，静脉给予  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸，剂量为 100mg/kg (第 4 组) 或 300mg/kg (第 5 组)。在第二次注射  $^{11}\text{C}$ -奎丙灵之前 30 分钟，给予尼古丁 (总量 0.3mg，静脉注射)。整个试验中均取动脉血样，选取血浆样本，以分析未经改变的  $^{11}\text{C}$ -奎丙灵的存在。在同位素注射的间隔期，并不将动物从实验台上移下来。使用从前详细描述过的 Logan 方法以进行数据分析 (Logan, et al, 1990)。

每一灵长类 (n=16) 接受两次  $^{11}\text{C}$ -奎丙灵注射。第 2 次注射是在注射  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸、注射尼古丁或二者都注射之后进行，而第 1 次注射作为第 2 次注射的基线。用来测定测试间差异性的灵长类 (n=7, 第 1 组, 表XVI) 在第 2 次同位素示踪物注射前 30 分钟接受安慰剂注射 (0.9% 盐水, 1ml/kg), 以确定该方法的测试间差异性。所有余下的灵长类 (n=9) 都在第 2 次  $^{11}\text{C}$ -奎丙灵注射前, 接受了系统的  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸注射、尼古丁注射、或二者都注射。

如从前所报道的 (Dewey, et al, 1998), 在灵长类纹状体中, 标记奎丙灵平均分布体积 (DV) 比率的测试间差异性稍高于 7% (表XVII)。使用  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸 (300mg/kg, 第 2 组) 可显著提高平均 DV 比率, 提高程度为 18% (表XVII)。这些数据与微透析研究的结果是一致的。微透析研究显示, 在自由移动的动物中,  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸可剂量依赖性地降低细胞外 DA 水平。然而, 使用尼古丁 (第 3 组) 却可产生与  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸相反的效果, 即显著降低平均 DV 比率, 降低值为 12% (表XVII)。这又一次与我们的微透析数据相一致, 我们的微透析数据显示, 在自由移动的动物中, 尼古丁可升高细胞外 DA 水平。当连续使用时,  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸 (100mg/kg, 第 4 组) 可消除单独由尼古丁 (第 3 组) 所引起的平均 DV 比率的降低。在

这一  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸剂量, 平均 DV 比率与第 1 组动物中所得到的测试间差异值 (9%, 表XVII) 是类似的。然而, 当所给予的剂量为 300mg/kg (第 5 组) 时, 标记奎丙灵的平均 DV 比率显著高于测试间差异值 (高出测试间差异值 15%), 而且事实上, 与只接受  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸的第 2 组动物所得到的数值相似 (表XVII)。

我们注意到, 使用  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸、使用尼古丁、或二者都使用既不改变标记奎丙灵的系统代谢率, 也不改变放射性示踪物的区域性分布。从每次试验中回收的放射性示踪物的量是微乎其微的。

表XVI 灵长类动物 PET 研究分组

组	条件
1	测试间差异 (无刺激)
2	GVG (300mg/kg)
3	尼古丁 (0.3mg)
4	GVG (100mg/kg), 尼古丁 (0.3mg)
5	GVG (300mg/kg), 尼古丁 (0.3mg)

表XVII 毒品刺激对平均 DV 比率的影响

组	平均 DV 比率的变化 (%)
1	7.16±1.2
2	18.8±3.2
3	-12.3±2.6
4	9.45±2.1
5	15.1±2.8

### 对实施例 9 中获得的试验结果的讨论

在此例中，我们表明，在自由移动的动物中，使用尼古丁（0.4 mg/kg sc）后大约 80 分钟，尼古丁可将 NACC 中 DA 提高 100%（即基线以上 200%）。从前所进行的微透析研究报告说，使用 0.6 或 0.8mg/kg (sc)尼古丁，可将 NACC 中细胞外 DA 水平分别升高 220%和 179%（Di Chiara 和 Imperato, 1988; Imperato et al, 1986; Brazell et al, 1990）。即便不具有直接的可比性，很明显，我们的结果仍然与这些早先的结果相符。而且，在我们的试验中，将动物长期暴露在尼古丁中，尼古丁刺激可使 NACC 中细胞外 DA 水平升高 90%。这一结果是与从前的数据相一致的。从前的数据显示，长期使用尼古丁并不对急性尼古丁刺激产生耐受或感受性增强（Damsma et al, 1989）。

至于我们用  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸获得的结果，我们表明，在活的或用尼古丁长期处理的动物中， $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸可剂量依赖性地抑制尼古丁诱导的 NACC 中 DA 水平的升高。这是对 GVG 该作用的首次报道。尼古丁可将细胞外 DA 水平提高将近 200%；而在  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸剂量为 75mg/kg 时， $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸对此却无效。 $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸剂量为 90mg/kg 时，可产生将近 50%的抑制效果。在我们所检测的两个最高剂量（100 和 150mg/kg）时， $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸可完全消除尼古

丁诱导的 NACC 中细胞外 DA 水平的升高。此前,我们已经证实,急性注射  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸 (300mg/kg, 腹腔注射) 可使可卡因诱导的 NACC 中 DA 水平的升高减少 25% (Dewey et al, 1998)。然而,以类似剂量的 GVG 进行慢性处理,却可产生更大的抑制效果 (Morgan 和 Dewey, 1998)。综合起来,这些数据显示,能够显著削弱毒品诱导的 NACC 中 DA 水平的升高的必需 GVG 剂量不仅依赖于所使用的刺激毒品 (如可卡因, 尼古丁), 还依赖于所使用的刺激毒品的剂量。

当前数据进一步表明,  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸的有效性与其剂量依赖的、能够在药物刺激前降低基础 DA 浓度的能力有关。例如, 75mg/kg 的剂量对基础 DA 水平和尼古丁诱导的 DA 水平升高都无效。然而, 当剂量为 90mg/kg 时,  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸可降低基础 DA 水平、使 DA 水平降低 50%; 当  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸剂量为 100mg/kg 时, 可消除尼古丁的影响。因此, 看起来, 对尼古丁或可卡因诱导的 NACC 中 DA 水平升高的剂量依赖性削弱, 是由于  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸预先对基础 DA 浓度的降低、继而升高内源性 GABA 所致。这与那些显示 GABA 能功能的提高可以降低 NACC 中 DA 水平的数据是一致的。

我们将从前用  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸和可卡因进行的工作进行了扩展, 检测了在用尼古丁慢性处理 21 天的动物中,  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸对尼古丁诱导的 NACC 中 DA 水平的升高的影响的时间过程。在给予尼古丁之前 2.5 小时给予 100mg/kg 的  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸,  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸可完全消除毒品诱导的 NACC 中 DA 水平的升高。然而, 当毒品刺激之前 12 小时给予同一  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸剂量时, 尼古丁可将细胞外 DA 水平提高约 25%。

当在尼古丁刺激之前 24 小时给予同一剂量的  $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸时， $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸对尼古丁诱导的 NACC 中 DA 水平的升高没有影响。很明显，我们的微透析和行为数据显示，依靠提高  $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸浓度的方法，即便在对 GABA-T 的抑制中出现很少的改变，也能在对尼古丁诱导的 NACC 中 DA 水平的升高和 CPP 反应产生抑制中发挥很大的效果。

当我们考虑到 GABA-T 的合成速率、 $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸在啮齿类脑中的半衰期、对 GABA 效应的持续时间、以及在此所详述的具有陡峭坡度的剂量反应曲线时，这些数据便显得格外有意思了。从前的研究显示，GABA-T 在啮齿类脑中的生物半衰期为 3.4 天，而  $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸在脑中的半衰期约为 16 小时。此外，全脑中的 GABA 水平在急性给予  $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸之后 24 小时之后才开始降低 (Jung, et al, 1977)。给予一单一剂量的  $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸 24 小时后测量到的 GABA 水平不变，而在尼古丁刺激之后却可在同一时间点观察到正常的反应，这两者之间的不一致显示对中端脑中报偿通路的 GABA-能抑制也许并不是对全脑 GABA 水平的简单反应。也就是说，当在急性注射  $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸 24 小时后全脑 GABA 水平仍然显著增高时，在特定通路中的小的功能上的区别也许被这些整体上的测量方法所掩盖了。最后，可以想象得到，在 24 小时的过程中，GABA 受体已经对 GABA 失去敏感了，然而我们在 GABA 系统中却没有观察到任何可支持这一假说的证据。

在本研究中，我们证实，8 次盐水/尼古丁配对可产生一可靠的 CPP 反应。我们的结果与从前的研究结果是相一致的。从前的研究显示，尼古丁 (0.1-1.2mg/kg sc) 可在雄性 Sprague-Dawley 大鼠中产生对 CPP 反应的剂量依赖 (Fudala et al, 1985; Fudala 和 Iwamoto, 1986)。我们的研究还表明，Lewis 大鼠 (而非 F344 大鼠) 可在 10 次配对之后对尼古丁表现出 CPP 反应 (Horan et al,



1997)。然而，从前的一篇报道显示，在雄性、有罩盖的动物中，尼古丁-媒介物配对并不能引起 CPP 反应 (Clarke 与 Fibiger, 1987)。因此，看起来，尼古丁诱导的 CPP 可能是种属依赖的，虽然人们可能将这一点与所引用的研究中使用不同数量的配对这一事实混淆起来。本研究中所报道的尼古丁诱导的 CPP 反应是与尼古丁可对激励动机行为产生正向效果这一观念相一致的。

通过使用 CPP 模式，这一数据首次显示了  $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸可以阻断尼古丁的生化和行为效应。CPP 数据清楚地显示，即便剂量低至 18.75mg/kg， $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸仍可消除尼古丁诱导的 CPP 反应的表达。我们的数据还显示，在  $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸剂量为 75mg/kg 而非 37.5mg/kg 时， $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸可阻断尼古丁 CPP 反应的获得。基于这些剂量数据，用于治疗戒烟症状的  $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸剂量可为每日总量 250-500mg (而治疗癫痫的剂量则为 2-4g/天)，显著低于用于治疗癫痫的剂量。

$\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸对尼古丁诱导的 CPP 的影响不太可能与它自身产生报偿或厌恶效应有关；正如我们从前说明过的那样，单独使用  $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸 (75-300mg/kg，腹腔注射) 不产生 CPP 或厌恶反应 (Dewey et al, 1998)。而且，不太可能  $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸通过干扰记忆或运动功能而消除尼古丁在行为上的作用，因为  $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸的剂量在高达 300mg/kg 时，仍不对食物报偿或运动行为产生阻断 (Dewey et al, 1998)。

最后，已经证实， $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸并不被恒河猴主动使用，接受慢性  $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸治疗后停药的动物也不表现出戒断征象或症状 (Takada 和 Yanagita, 1997)。因此，与其它治疗某些毒瘾时所使用的药物 (如美沙酮、戒酒酮) 不同， $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸本身并不致瘾，也不产生显著的厌恶反应。

$\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸对尼古丁引起的 CPP 反应的获得的削弱，可以解释为对尼古丁正向激励价值的削弱。这些数据显示， $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸可降低动物在使用尼古丁后获得正向激励效应联系的可能性。有趣的是，我们的结果显示，阻断尼古丁产生的 CPP 反应的表达相的所需  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸剂量，是阻断 CPP 反应获得相所需剂量的 1/4。这一结果与我们从前的数据是一致的。我们从前的数据显示，需要用较高剂量的  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸才能阻断可卡因引起的 CPP 获得相，而表达相则否 (Dewey et al, 1998)。对这一区别该如何解释，目前尚不明了。因为  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸可削弱尼古丁 CPP 反应的表达，这显示在动物已经获得毒品的正向激励价值以后， $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸可减少动物对毒品的索求行为。

因此，我们的数据显示，与  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸对尼古丁的正向激励值或报偿作用的阻断相比较， $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸在对尼古丁的渴求感的阻断方面更加有效。最后，在所测试的最高剂量 150mg/kg 时， $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸在测试日产生一显著的厌恶反应 (表 XV)，其间，动物在配对 (尼古丁) 侧花费  $5.0 \pm 0.9$  分钟，而在非配对 (盐水) 侧花费  $10.0 \pm 0.9$  分钟。这些数据显示，可能存在一封顶效应，由于这一效应的作用， $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸在高剂量时可在用尼古丁处理、又在无毒品的条件下接受测试的动物身上引起厌恶反应。在为人体临床试验测试药物的剂量限制时，这些数据也许会有意义。

基于我们对 CPP 模式的了解，我们的数据支持以下结果。在 CPP 模式中，动物是在无毒品的条件下检测的，已确定它们会偏好一个从前曾接受尼古丁的环境，还是会偏好一个从前曾接受盐水的环境。如果动物在没有毒品的条件下，持续选择从前曾与尼古丁发生联系的环境，我们就可以推论说，动物已将尼古丁的欲望值编码在大脑中，而且在没有毒品的条件下，仍可获得此欲望

值 (Gardner, 1997)。确实, 在测试那天, 动物与毒品配对侧的接近和联系可以被解释为对毒品的索求行为。在本质上, 那些曾经是中性的、或者缺乏特色的环境刺激和其它暗示通过与尼古丁的反复配对而变得明显和具有特色起来。继而, 当动物再次暴露在这些暗示之中时, 便产生了 CPP 反应, 即这些暗示能引发毒品效应。因此, 与毒品相关的暗示能够产生巴甫洛夫式的条件反应。

这是很关键的, 因为人们已知, 除了药物性因素以外, 非药物性因素在介导致瘾毒品的激励价值时也发挥作用 (Jarvik 与 Henningfield, 1988)。事实上, 在临床上已经证实, 在戒毒的吸毒者中, 暴露在与从前毒品使用相关的刺激下, 可以导致毒瘾复发 (Childress et al, 1986a, b; Childress et al, 1988; Ehrman et al, 1992; O'Brien et al, 1992; Wikler, 1965)。因此, 这些数据显示, 由于  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸可阻断尼古丁诱导的 CPP 反应的表达, 因此  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸可阻断对尼古丁的渴望或索求行为。因此,  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸在对那些希望停止吸香烟的人进行治疗上是有效的。这些数据进一步显示,  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸在消除尼古丁 CPP 反应的表达上是有效的, 能够在面对与从前吸烟有关的环境线索时削弱对尼古丁的渴望。

我们在灵长类中得到的 PET 数据是与从前使用多种药物刺激得到的结果相一致的。这些结果显示,  $^{11}\text{C}$ -奎丙灵的结合对突触 DA 浓度的升高和降低都敏感 (Dewey, et al, 1993; Seeman, et al, 1989)。正如第 3 组动物中所明确显示的 (表 XVII), 在给予尼古丁以后, 平均 DV 比率相对于基线值持续下降。这种下降超过了标记奎丙灵的测试间差异, 并小于用 GBR-12909 (Dewey, et al, 1993) 或东莨菪碱 (Dewey, et al, 1993) 测量得到的下降值。在使用尼古丁前 2.5 小时的时候, 用 100mg/kg 剂量的  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸进行预处理, 可产生一与第 1 组动物相类似的平均 DV 比率 (表 XVII)。然而, 当  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸的剂量增

加到 300mg/kg 时，平均 DV 比率升高至与第 2 组动物相一致的值。这些数据显示，较低剂量的  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸可导致突触 DA 浓度的降低，这种降低值与尼古丁所产生的突触 DA 浓度的升高大体相等，而较高剂量  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸所产生的 DA 浓度的降低远远超出尼古丁升高 DA 的能力。我们的微透析研究也支持这些数据，即在自由移动的动物中，较高剂量的  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸可导致细胞外 DA 浓度较大程度的降低。

微透析和 PET 结果与 CPP 数据结合起来显示，NACC 一处 DA 浓度的增加便可以成为毒品成瘾倾向的基础。首先，这些数据与前面可卡因的数据结合起来显示，当所治疗的疾病被认为在本质上对神经递质特异时，仅使用体内微透析研究或内源性 DA 的 PET 测定，尚不足以肯定用于治疗疾病的药物的有效性。其次，微透析数据和 PET 数据都清楚地显示，在剂量为 100mg/kg 时， $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸可完全阻断尼古丁诱导的 NACC 中 DA 水平的升高，而剂量为 75mg/kg 时则无效。相反， $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸在剂量低至 18.75mg/kg 时，仍可完全消除尼古丁诱导的 CPP 的表达相，但消除 CPP 的获得相则需要 75mg/kg 的剂量。

基于用微透析数据建立的剂量-反应曲线，我们并不期望  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸在剂量为 18.75mg/kg 时能对尼古丁诱导的 NACC 中 DA 水平的升高产生任何影响。此外，使用可卡因可观察到相似效果，即：剂量为 300mg/kg 的  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸可将可卡因诱导的 NACC 中 DA 水平的升高降低 25%，而 150mg/kg 的剂量则可完全消除可卡因诱导的 CPP 的表达和获得 (Dewey, et al, 1997; 1998)。

总括起来，这些数据显示，至少有两种可能的、也许是结合起来的解释。首先，药物刺激后导致的不仅仅是 NACC 中的、而是各区域内不同的 DA 变化，可能是导致某一特定毒品的成瘾倾

向的原因。确实，已有报道指，各种可致瘾的毒品可以改变脑内除 NACC 以外的区域的 DA 水平，这些区域包括扁桃体、纹状体和额叶皮质等 (Hurd, et al, 1997; Dewey, et al, 1997; Di Chiara 和 Imperato, 1988; Marshall, et al, 1997)。其次，除 DA 以外的其它神经递质也可能在毒品的致瘾倾向中发挥关键作用。例如，缺乏 DA 和 5-羟色胺运载体的大鼠仍可保持对可卡因的 CPP 反应 (Sora, et al, 1998; Rocha, et al, 1998)。而且，已知如 5-HT、乙酰胆碱、脑啡肽、和谷氨酸等神经递质都在介导包括尼古丁在内的可致瘾毒品的效应中发挥作用 (Bardo, 1998; Gardner, 1997)。汇总起来，这些数据显示， $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸可通过改变 NACC 以外区域内的 DA 水平而抑制可卡因和尼古丁的效应。与此同时， $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸也许会抑制其它神经递质，这些神经递质或者直接调节 DA，或者本身就参与了对致瘾毒品的效应的介导。目前正在进一步研究，以评估  $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸对其它神经递质的多重效应。

此前，我们已经证实，将动物用选择性 GABA<sub>B</sub> 受体拮抗剂 SCH 50911 进行预处理，可完全消除  $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸所拥有的、对可卡因诱导的 NACC 中 DA 水平升高进行削弱的能力 (Bolser et al, 1995)，而 SCH 50911 在单独使用时并不显著改变 DA 水平。因此，已经表明， $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸可通过升高 GABA 水平而消除尼古丁的作用，这继而又刺激了 GABA<sub>B</sub> 受体。这与从前所得到的数据是一致的，这些数据显示，将氯苯氨丁酸 (一种选择性的 GABA<sub>B</sub> 激动剂) (Bowery 和 Pratt, 1992; Kerr et al, 1990) 注射入腹盖区中，可在动物中显著削弱由系统性使用吗啡而产生的 CPP 反应 (Tsuji et al, 1995)。此外，系统性地使用氯苯氨丁酸可渐进性的、在不连续的测试过程中削弱可卡因的主动使用 (Roberts et al, 1996, 1997)。

人们可以争辩说， $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸可削弱尼古丁的药物和行为作用，仅仅是通过改变有效进入脑内的可卡因的量，而达到这一点，或者是通过改变血脑屏障的通透性，或者是通过增加尼古丁的系统代谢率。这种可能性是非常小的。有以下几个原因。首先， $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸对 $^{11}\text{C}$ -可卡因经血脑屏障的运输没有影响； $^{11}\text{C}$ -可卡因是一种生物碱，早先已被证实可在啮齿类或灵长类脑中升高 NACC 处的 DA 水平。其次， $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸主要以未经变化的形式通过肾脏排泄（Grant 和 Heel, 1991; Porter 和 Meldrum, 1998），而尼古丁是通过肝脏中的酶代谢的。最后， $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸与肝微粒体酶并不发生作用（Grant 和 Heel, 1991; Porter 和 Meldrum, 1998），因而不会对这些酶发生诱导或抑制作用。

NACC 的大小远在我们的断层技术的分辨率之下，这使得对其的特异性分析超出了断层技术的能力之外。因此，我们的分析中包括了双侧纹状体以及小脑。Marshall 等人（1995）已经证实，尼古丁可均等地增加 NACC 和纹状体中的 DA 的量，而我们自己的微透析研究也显示， $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸也可在这两个区域内均等地降低 DA 浓度（Dewey, et al, 1997）。这些灵长类研究数据进一步支持使用这一成像技术，以评估在完整的、活的脑内进行药物刺激所得到的功能上的结果。

此外，这一医学成像技术还提供了一个独特的窗口，以使我们观察到在灵长类和人类大脑中功能上相关联的神经递质之间业已被证实存在着的相互作用。

我们对文献进行了详尽的检索，这些文献都支持这样一个基本原理，即：神经递质既与功能特异的神经解剖位点、也与区域特异的神经解剖位点发生作用。与这些文献结合起来，我们越来越清楚地看到，通过对这一基本的、经过完善论证的原理的更为

全面的认识，我们可以发展出一种针对脑部机能失调（包括对可卡因、尼古丁、海洛因、脱氧麻黄碱、及酒精成瘾）的新的治疗策略。即便某一单独的神经递质浓度的改变确实可以成为某一特定机能失调的病因学基础，但是很可能，疾病的进展和症状的发展，与其它和最初的靶目标在功能上相关的神经递质的代偿性或疾病诱导的变化，二者之间是相关联的。了解到这一点，我们已经发展了新的治疗策略，通过针对另一神经递质，而试图特异性地改变一种或多种神经递质。我们应用尼古丁、可卡因、脱氧麻黄碱、酒精和  $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸所获得结果，代表了治疗哺乳类对毒品成瘾的良好的应用前景。

### 实施例 10

#### GVG 对脱氧麻黄碱诱导的 NACC 中 DA 水平升高的影响

在此例中，我们在 6-8 只自由移动的大鼠身上，研究了  $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸（GVG）对脱氧麻黄碱诱导的 NACC 中 DA 浓度变化的影响。给予动物脱氧麻黄碱，剂量为 1.25mg/kg 腹腔注射，及 2.5mg/kg 腹腔注射。我们注意到，在使用 2.5mg/kg 脱氧麻黄碱 100 分钟以后，脱氧麻黄碱可升高 NACC 中细胞外 DA 浓度，升高程度为基线以上 2500%；而剂量为 1.25mg/kg 时，升高程度为基线以上 1500%（图 6）。使用脱氧麻黄碱大约 200 分钟以后，DA 回到基线水平。

当  $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸在使用脱氧麻黄碱之前使用时， $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸可剂量依赖性地抑制 DA 的升高，如图 7 所示。在剂量为 300mg/kg 时， $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸可抑制 DA 的升高约 38%，而在剂量为 600mg/kg 时，可抑制 DA 的升高约 58%。这些数据显示， $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸可抑制由脱氧麻黄碱引起的 NACC 中细胞外多巴胺浓度的升高。

因此，我们从上述数据中注意到，尼古丁、可卡因和脱氧麻黄碱在增加 NACC 中 DA 水平上的等级排列为：脱氧麻黄碱 (2500%)>可卡因(450%)>尼古丁(90%)，这与显著降低毒品诱导的 NACC 中 DA 浓度的升高所需的急性  $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸剂量大小的等级排列是相平行的。

### 实施例 11

#### GVG 对乙醇诱导的 NACC 中 DA 水平升高的影响

在此例中，我们在 6-8 只自由移动的大鼠身上，研究了  $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸 (GVG) 对乙醇诱导的 NACC 中多巴胺浓度变化的影响。给予动物乙醇，剂量为 1.0g/kg 腹腔注射。在使用乙醇 125 分钟以后，乙醇可升高 NACC 中细胞外 DA 浓度，升高程度为基线以上 200%。

当  $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸使用剂量为 300mg/kg 时，它可抑制 DA 的升高约 50% (图 8)。而且，当剂量为 100mg/kg 时，在自由移动的大鼠中， $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸可对酒精升高伏隔核中多巴胺浓度的能力产生显著抑制，抑制程度为 40% (数据在此没有显示)。这些数据显示， $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸可抑制乙醇引起的 NACC 中细胞外多巴胺浓度的升高。

### 实施例 12

#### GVG 对可卡因/海洛因诱导的 NACC 中 DA 水平升高的影响

在此例中，我们检测了在使用可卡因/海洛因 (快球) 刺激后， $\gamma$ -乙烷基- $\gamma$ -氨基丁酸 (GVG) 对 Nac 中 DA 浓度协同增高的影响。利用成年雄性 Sprague-Dawley 大鼠 (Taconic 农场) 进行了体内微透析研究，方法从前已详述 (Morgan 与 Dewey, 1998)。



可卡因是一种多巴胺再摄取抑制剂，使用剂量为 20mg/kg 腹腔注射，n=6-8；海洛因是一种间接的多巴胺释放剂，使用剂量为 0.5mg/kg 腹腔注射，n=6-8。为了在研究中检测可卡因/海洛因联合起来时的协同效应（n=6-8），两种毒品在每一单一毒品的检测中都使用相同剂量。单独使用可卡因，在注射 60 分钟以后，可使细胞外 DA 出现显著升高，升高幅度约为基线以上 380%。120 分钟以后 DA 回到基线水平。相反，使用海洛因 60 分钟以后，海洛因只将 Nac 中 DA 水平提高 70%，140 分钟以后返回到基线水平。然而，当联合使用时，使用 180 分钟以后，两种药物使 Nac 中 DA 产生 1000% 的升高，到达峰值以后 200 分钟仍未回到基线水平（图 9）。相较于单独使用可卡因或海洛因，这一升高是有显著意义的（ $P>0.001$ ）。

相较于成瘾效应来说，这种神经化学上的协同性不仅明显地表现在 Nac 中 DA 升高的幅度上，还表现在到达升高的高峰以及回复到基线所用的时间上。单独使用时，每一种毒品都可在进行刺激 60 分钟以后产生一 DA 水平的最大升高。然而，当联合使用时，达到最大升高所耗费的时间相较于单独使用每种毒品要多出 3 倍以上。此外，与单独使用每种毒品相比，回复到基线值也需要相对长的时间。这些结果显示，与单独使用每一毒品相比，将两种毒品联合使用时，欣快感的持续时间更长。

在反应值的绝对大小方面， $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸可完全消除联合毒品刺激所产生的协同效应。在联合毒品刺激之前 2.5 小时给予动物  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸（300mg/kg，腹腔注射），毒品刺激 180 分钟以后，Nac 中 DA 升高约 500%（图 9）。这一升高与单独使用可卡因或海洛因、以及联合使用可卡因/海洛因相比有显著差别。（三者 P 值分别为  $P>0.05$ ， $P>0.001$ ， $P>0.001$ ）。用  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸预处理后获得的数值与协同效应相比，类似于单独使用可卡因（380%）和海洛因（70%）时所获得的成瘾效应。

虽然  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸能在升高值的绝对大小上消除两种毒品的协同效应， $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸对这一反应的时效方面却没有影响。在注射  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸并随后进行可卡因/海洛因刺激后，在 180 分钟内，Nac 中 DA 达到一最高浓度，这与在毒品刺激前没有接受  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸的动物中所测量到的反应是一样的。

本例的结果显示， $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸可有效地减弱可卡因/海洛因联合刺激造成的 Nac 中 DA 的协同升高。与我们从前的研究结合起来，这一结果显示了  $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸在治疗多毒品滥用方面的有效性。

上面的例子显示，选择性地针对 GABA-能系统的药物有利于治疗毒品成瘾，这些毒品包括神经兴奋剂、麻醉性镇痛剂、酒精、尼古丁或其组合物。更加明确地说， $\gamma$ -乙烯基- $\gamma$ -氨基丁酸可诱导 GABA-T 的抑制，从而导致脑部细胞外 GABA 水平的升高，这代表了一种治疗可卡因、尼古丁、海洛因、脱氧麻黄碱、和乙醇成瘾的有效药物和新的治疗策略。

所以，虽然我们描述了到目前为止相信是对本发明较适宜的表现形式，但是对工艺熟悉的人仍可以意识到，可以研制出其他的和更多的表现形式，而不偏离本发明的精神；而且，我们的用意在于，将所有这些进一步的修改和改变包含在下面所陈述的权利要求的真实范围内。

## 参考文献

Bardo, M.T. (1998) Neuropharmacological mechanism of drug reward: beyond dopamine in the nucleus accumbens. *Crit. Rev. Neurobiol.*, 12: 37-67.

Bolser,D.C., Blythin, D.J., Chapman, R.W., Egan, R.W., Hey, J.A., Rizzo, C., Kuo S.-C., Kreutner, W.(1995) The pharmacology of SCH 50911: A novel, orally-active GABA-B receptor antagonist. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 274:1393-1398.

Bowery, N.G., Pratt, G.D.(1992) GABAB receptors as targets for drug action *Arzneim. Forsch.* ,42:215-223.

Brazell,M.P., Mitchell, S.N., Joseph, M.H., Gray, J.A.(1990) acute administration of nicotine increases the in vivo extracellular levels of dopamine, 3,4-dihydroxyphenylacetic acid and ascorbic acid preferentially in the nucleus accumbens of the rat: comparison with caudateputamen. *Neuropharmacology*, 29: 1177-1185.

Chesselet, M.-F.(1984) Presynaptic regulation of neurotransmitter release in the brain: Facts and hypothesis. *Neuroscience*, 12:347-375.

Childress, A.R., McLellan, A.T., O'Brien, C.P.(1988) The role of conditioning factors in the development of drug dependence. *Psychiatr. Clin. North amer.*, 9:413-426.

Childress, A.R., McLellan, A.T., Ehrman, R.N., O'Brien, C.P.(1986a) Extinction of conditioned responses in abstinent cocaine or opioid users. *NIDA Res. Monogr.*, 76:189-195.

Childress, A.R., McLellan, A.T., Ehrman, R.N., O'Brien, C.P.(1986b) Classically conditioned responses in abstinent cocaine or opioid users. *NIDA Res. Monogr.*, 76:24-43.

Clarke, P.B.S., Fibiger, H.C.(1987) apparent absence of nicotine-induced conditioned place preference. *Psychopharmacology*, 92:84-88.

Clarke, P.B.S., Fu,D.S., Jakubovic, A., Fibiger, H.C.(1988) Evidence that mesolimbic dopaminergic activation underlies the locomotor

stimulant action of nicotine in animals. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 246:701-708.

Damsma, G., Day, J., Fibiger, H.C.(1989) Lack of tolerance to nicotine-induced dopamine release in the nucleus accumbens. *Eur. J. Pharmacol*, 168: 363-368.

Dewey, S. L., Chaurasia, C.S., Chen, C., Volkow, N.D., Clarkson F.A., Porter, S. P., Straughter-Moore, R.M., Alexoff, D.L, Tedeschi, D., Russo, N.B., Fowler, J.S. and Brodie, J.D. GABAergic attenuation of cocaine-induced dopamine release and locomotor activity. *Synapse* 25: 393-398, 1997.

Dewey, S.L. Morgan, A.E., Ashby, Jr., C.R., Horan, B., Gardner, E.L., Logan, J., Volkow, N.D., Fowler, J.S., Kusher, S.A., Brodie, J. D.(1998) A novel strategy for the treatment of cocaine addiction. *Synapse*, 30:119-129.

Dewey, S.L., Smith, G.S., Logan, J., Brodie, J.D., Yu, D-W., Ferrieri, R.A., King, P.T., MacGregor, R.R., Martin, T.P., Wolf, A.P., Volkow, N.D., Fowler, J.S. GABAergic inhibition of endogenous dopamine release measured in vivo with <sup>11</sup>C-raclopride and position emission tomography. *J. Neuroscience* 12,3773-3780, 1992.

Dewey, S.L., Smith, G.S., Logan, J., Brodie, J.D., Fowler, J.S., Wolf, A.P. Striatal binding of the PET ligand <sup>11</sup>C-raclopride is altered by drugs that modify synaptic dopamine levels. *Synapse* 13, 350-356,(1993).

Dewey, S.L., Smith, G.S., Logan, J., Simkowitz, P., Brodie, J.D., Volkow, N.D., Fowler, J.S., Wolf, A.P.(1993) Effects of central cholinergic blockade on striatal dopamine release measured with position emission tomography(PET) in normal human subjects. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 90:11816-11820.

Di chiara, G., Imperato, A.(1988) drugs abused by humans preferentially increase synaptic dopamine concentrations in the mesolimbic system of freely moving animals. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85:5274-5278.

Ehrman, R.N., Robbins, S.J., Childress, A.R., O'Brien, C.P.(1992) Conditioned responses to cocaine-related stimuli in cocaine abuse patients. Psychopharmacology, 107:523-529.

Fudala, P.J., Iwamoto, E.T.(1986) Further studies on nicotine-induced conditioned place preference. Pharmacol Biochem Behav..25:1041-1049.

Fudala, P.J., Teoh, K.W., Iwamoto, E.T. (1985) Pharmacologic characterization of nicotine induced conditioned place preference. Pharmacol. Biochem Behav., 22: 237-241.

Gardner, E. L. (1997) Brain reward mechanisms in Substance Abuse: a comprehensive Textbook, 3<sup>rd</sup> end., eds. Lowinson J.H., Ruiz, P., Millmna, R.B.& Langrod,J.G.,51-85 (Williams and wilkins, Baltimore, MD, 1997).

Grant, S.M. and Heel, R.C. Bigabatin: A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic potential in epilepsy and disorders of motor control. Drugs, 41:889-926, 1991.

Henningfield, J.E. (1995) Nicotine medications for smoking cessation. New Eng. J. Med., 333:1196-1203.26

Henningfield, J.E., Goldberg. S.R. (1983) Control of behavior by intravenous nicotine injections inhuman subjects. Pharmacol. Biochem. Behav., 19:1021-1026.

Henningfield, J.E., London, E.D., Jaffe, J.H. (1997) nicotine reward: studies of abuse liability and physical dependence potential In: Brain Reward Systems and Abuse, ed. By J Engel and L, Oreland, New York, Raven Press, pp. 147-164.

Henningfield, J.E., Miyasato, K., D.R. Jasinski(1983) Cigarette smokers self-administer intravenous nicotine. Pharmacol. Biochem. Behav., 19: 887-890

Horan, P., Smith, M., Gardner, E. Lepore, M., Ashby, Jr. C.R. (1997) (-)-nicotine produces conditioned place preference in Lewis, but not Fischer 344 animals. Synapse, 26: 93-94.

Hurd, Y.L., McGregor, A., Ponten, M. (1997) In vivo amygdala dopamine levels modulate cocaine self-administration behavior in the rat: D1 dopamine receptor involvement. Eur. J. Neuroscience, 12:2541-2548.

Hurt, R.D. , Sachs, D.P., Glover, E.D., Offord, K.P., Johnston, J.A., Dale, L.C., Khayrallah, M.A., Schroeder, D.R., Glover, P.N., Sullivan, C.R., Croghan, I.T., Sullivan, P.M. (1997) A comparison of sustained-release bupropion and placebo for smoking cessation. N. Eng. J. Med., 237:1195-1202.

Imperato, A., Mulas, A., Di chiara, G. (1986) Nicotine preferentially stimulates dopamine release in the limbic system of the freely moving rat. Eur. J. Pharmacol, 132: 337-338.

Jarvik, M.E., Henningfield, J.E. (1988) Pharmacological treatment of tobacco dependence. Pharmacol. Biochem Behav., 30: 279-294.

Jung, M.J., Lippert, B., Metcalf, B.W., Bohlen, P., Schechter, P.J. (1977) Gamma-Vinyl GABA (4-amino-hex-5-enoic acid), a new selective irreversible inhibitor of GABA-T: effects on brain GABA metabolism in mice. J. Neurochem., 29: 787-802.

Kerr, D.I.B., Ong, J., Prager, R.H. (1990) GABAB receptor agonists and antagonists. In: GABAB receptors in Mammalian Function, Bowery, N.G., Bittiger, H. And Olpe, H.-R.(eds.)John Wiley and Sons, New York, pp. 29-45.

Kushner, S.A., Dewey, S.L., Kornetsky, C. Comparison of the effects of vigabatrin on cocaine self-administration and food reinforcement. Soc. Neuro. Abstr. 23: 1942 (1997a).

Kushner, S.A., Dewey, S.L., Kornetsky, C. The effects of gamma-vinyl GABA on cocaine-induced lowering of brain-stimulation reward thresholds. Psychopharmacology, 133,383-388,91997b).

Lacey, M.G., Mercuri, N.B.and North, A.N. On the potassium conductance increase activated by GABAB and dopamine D2 receptors in rat substantia nigra neurones. J. Physiol. 401: 437-453, 1988.

Logan, J., Fowler, J.S., Volkow, N.D., Wolf, A.P., Dewey, S.L., Schlyer, D.J., MacGregor, R.R., Hitzemann, R., Bendriem, B., Gatley, S.J., Christman, D.R. (1990)

Graphical analysis of reversible radioligand binding from time activity measurements applied to [N-<sup>11</sup>C-mehtyl]-(-)-cocaine PET studies in human subjects. J. Cereb. Blood Flow and Metab. 10: 740-747.

Marshall, D.L., Redfern, P.H., Wonnacott, S. (1997) Presynaptic nicotinic modulation of dopamine release in the three ascending pathways studied by in vivo microdialysis: comparison of naive and chronic nicotine-treated rats. J. Neurochem., 68:1511-1519.

Morgan, A.E., Dewey, S.L. Effects of pharmacologic increases in brain GABA levels on cocaine-induced changes in extracellular dopamine. *Synapse* 28, 60-65(1998).

Nisell, M., Nomikos, G.G., Svensson, T.H. (1994a) Systemic nicotine-induced dopamine release in the rat nucleus accumbens is regulated by nicotinic receptors in the ventral segmental area. *Synapse*, 16: 36-44.

Nisell, M., Nomikos, G.G., Svensson, T.H. (1994b) Infusion of nicotine in the ventral segmental area of the nucleus accumbens differentially affects accumbal dopamine release. *Pharmacol. Toxicol.*, 75: 348-352.

Nisell, M., Nomikos, G.G., Svensson, T.H. (1995) Nicotine dependence, midbrain dopamine systems and psychiatric disorders. *Pharmacol. Toxicol.*, 76: 157-162.

N.R. , Van der Kooy, G.F. & Wenger, J.R. cholecystinin produces conditioned place-aversion, not place-preferences, in food-deprived rats: evidence against involvement in satiety. *Life Sci.* 32, 2087-2093, (1989).

O'Brien, C.P., Childress, A.R., McLellan, A.T., Ehrman, R. (1992) A learning model of addiction,. In: *Addictive States*, O'Brien, C.P. and Jaffe, J.H.,(eds), Raven Press, New York, pp. 157-177.

Pontieri, F.E., Tanda, G., Orzi, F., Di Chiara, G. (1997) Effects of nicotine on the nucleus accumbens and similarity to those of addictive drugs. *Nature*, 382: 255-257.

Ponter, R.J., Meldrum, B.S.(1998) Antiepileptic drugs. In: *Basic and Clinical Pharmacology*, ed. By Katzung, B.G., Appelton and Lange, Stamford, CT, pp. 386-408.



Roberts, D.C., Andrews, M.M.(1997) Baclofen suppression of cocaine self-administration: demonstration using a discrete trials procedure. *Psychopharmacology*, 131: 271-277.

Roberts, D.C., Andrews, M.M.(1997) Baclofen suppression of cocaine self-administration: demonstration using a discrete trials procedure. *Psychopharmacology*, 131: 271-277.

Roberts, D.C., Andrew, M.M., Vickers, G.J. (1996) Baclofen attenuates the reinforcing effects of cocaine in animals. *Neuropsychopharmacology*, 15: 417-423.

Rocha, B.A., Searce-Levie, K., Lucas, J.J., Hiroi, N., Castanon, N., Crabbe, J.C., Nestler, E.J., Hen, R. (1998) Increased vulnerability to cocaine in mice lacking the serotonin-1B receptor, *Nature Neuroscience*, 393: 175-178.

Seeman, P., Guan, H.C., Niznik, H.B. (1989) Endogenous dopamine lowers the dopamine D2 receptor density as measured by [3H] raclopride: implications for positron emission tomography of the human brain. *Synapse*, 3: 96-97.

Sora, I., Wichems, S.I., Takahashi, C., Li, X.F., Zeng,Z., Revay, R., Lesch, K.P., Murphy, D.L., Uhl, D.R. (1998) cocaine reward models: conditioned place preference can be established in dopamine- and serotonin-transporter knockout mice. *Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A.*, 95: 7699-7704.

Takada, K., Yanagita, T.(1997) Drug dependence study on vigabatrin in rhesus monkeys and animals. *Arzneim-Forsch Drug Res.* 47: 1087-1095.

Tsuji M, Nakagawa Y, Ishibashi Y, Yoshii T, Takashima T, Shimada M, Suzuki T.(1995) Activation of ventral segmental GABA-B

receptors inhibits morphine-induced place preference in animals, *Eur. J. Pharmacol.*, 313: 169-173.

Valentine, J.D., Hokanson, J.S., Matta, S.G., Sharp, B.M.(1997) Self-administration in animals allowed unlimited access to nicotine. *Psychopharmacology*, 133: 300-304.

Van Der Kooy, K.(1987) In *Methods of assessing the Properties of Abused drugs*, M.A. Bozarth, Ed., Springer-Verlag, New York, pp. 229-241.

Volkow, N.D., Wang, G.J., Fowler, J.S., Logan, J., Schlyer, D., Hitzemann, R., Liberman, J., Angrist, B., Pappas, N., MacGregor, R., Burr, G., cooper, T., Wolf, A.P. Imaging endogenous dopamine competition with [<sup>11</sup>C] raclopride in the human brain. *Synapse*, 16, 255-262 (1994)

Wikler, A. (1965) conditioning factors in opiate addiction and relapse. In: *Narcotics*, Kassenbaum, G.G. and Wilner, D.I. (eds), McGraw-Hill, New York, pp85-100.

图 1

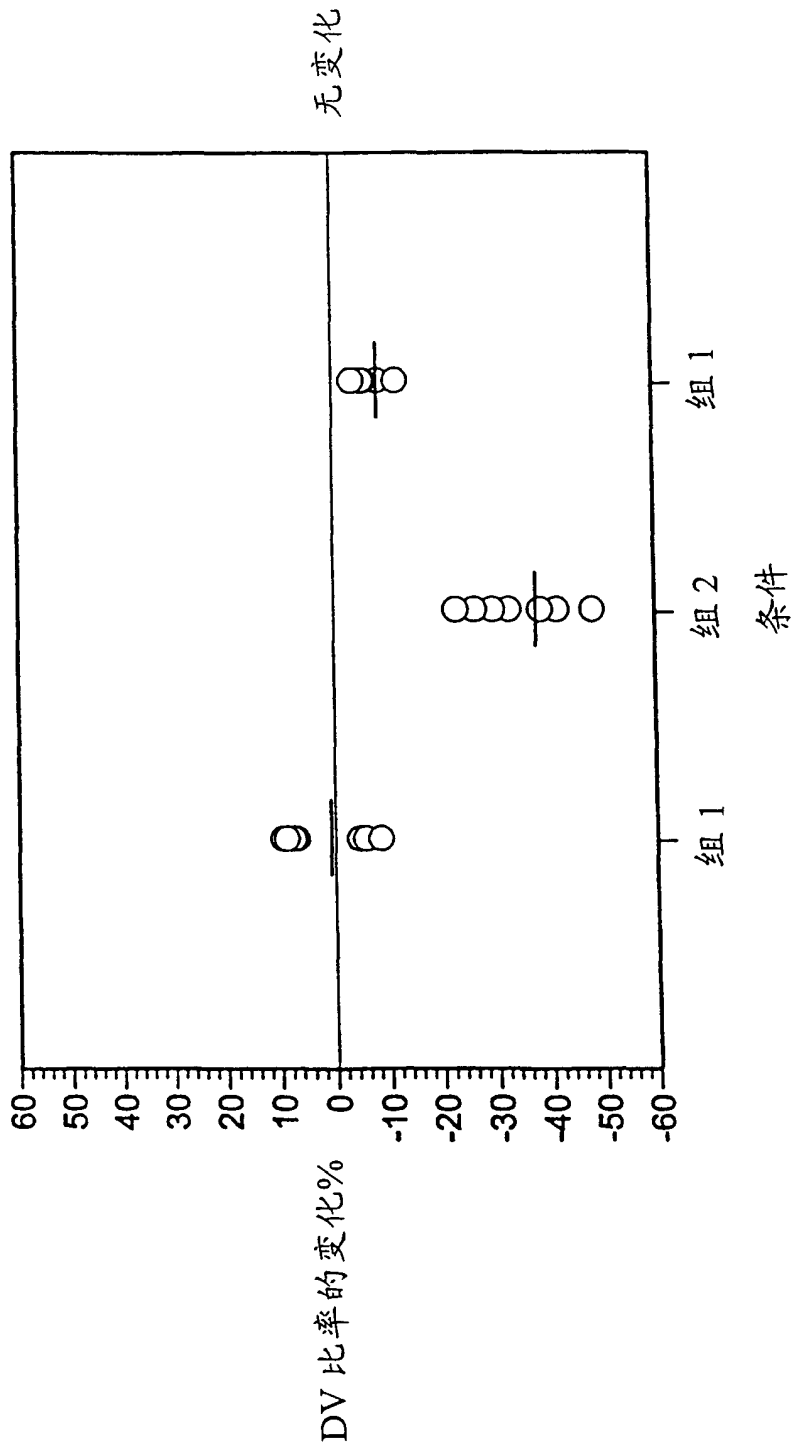


图 2 非人灵长类脑纹状体水平跨轴参量 DV 比率图像

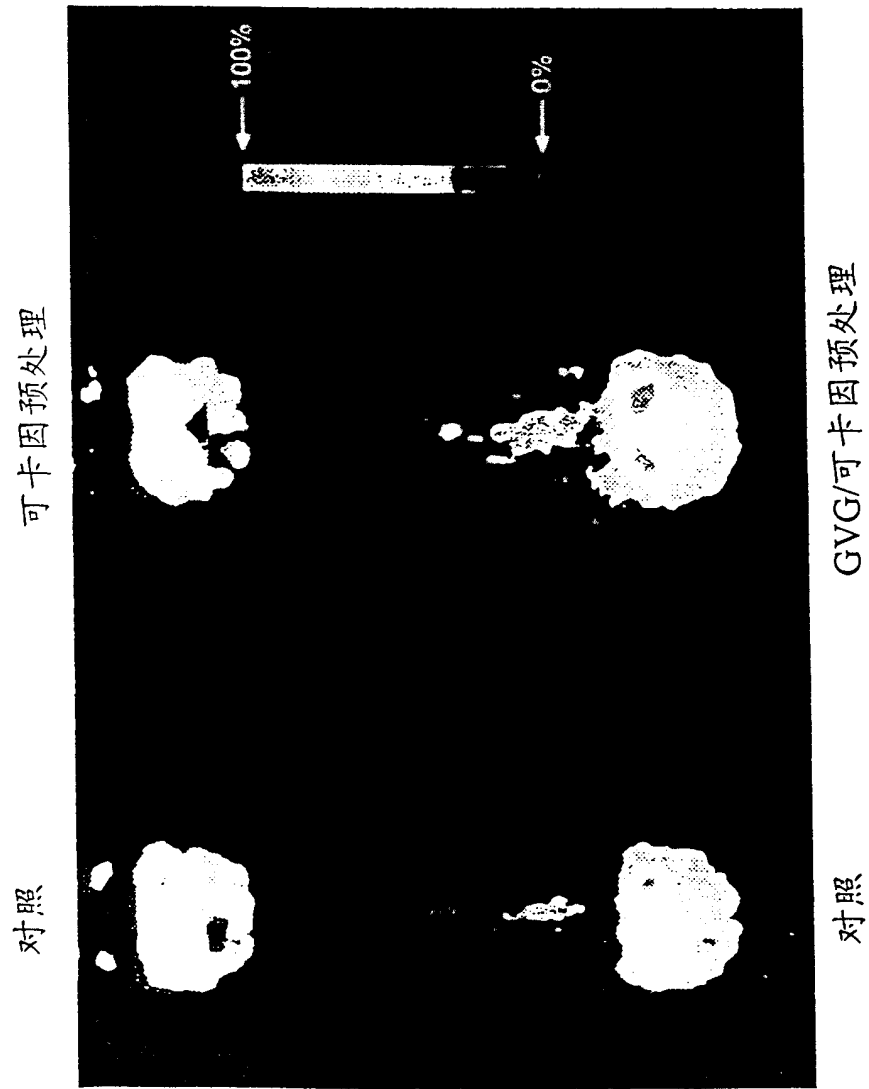


图 3A

GVG 或盐水对运动行为的影响

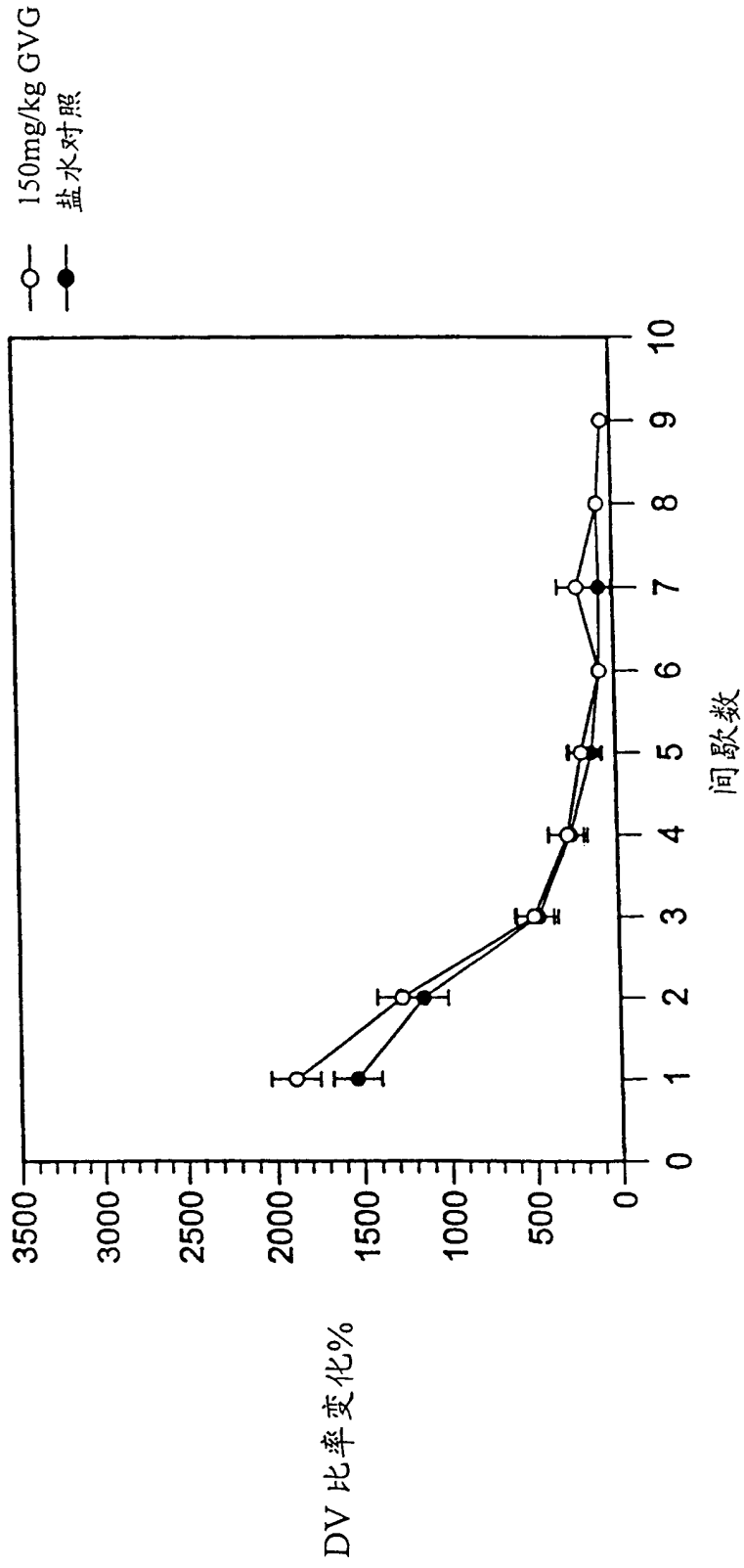


图 3B GVG 或盐水对运动行为的影响

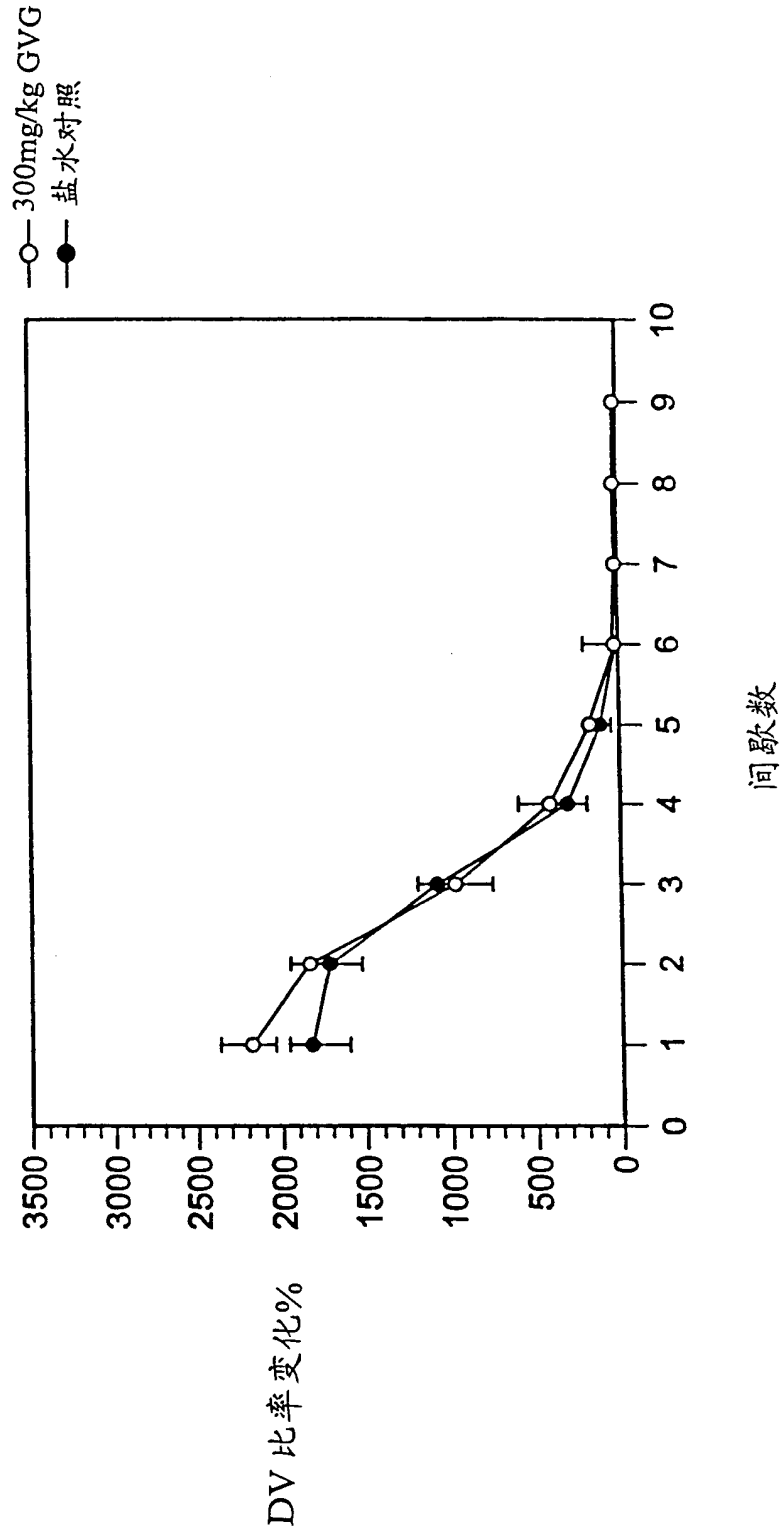


图 4 GVG 对尼古丁诱导的细胞外 DA 水平的影响

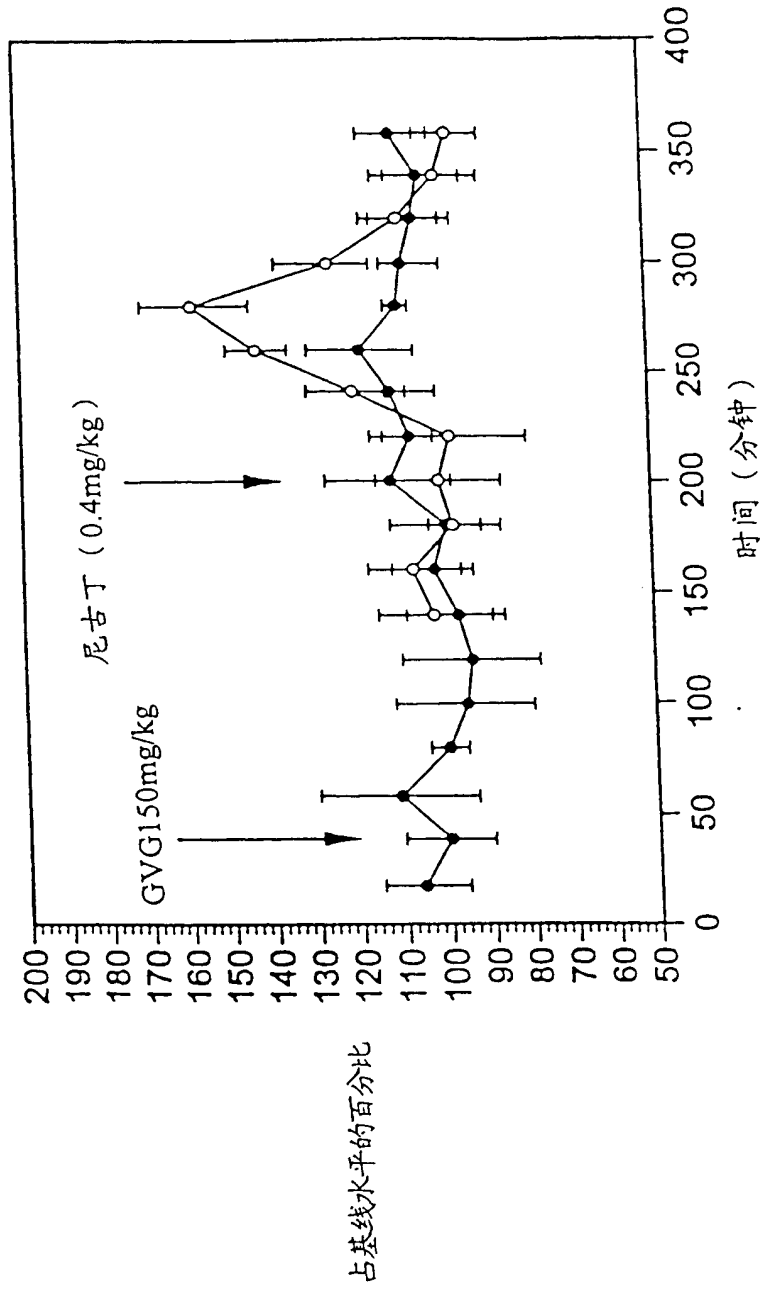


图 5A 在活的、可自由移动的大鼠中, (-)-尼古丁对 NACC 中  
细胞外 DA 水平的影响

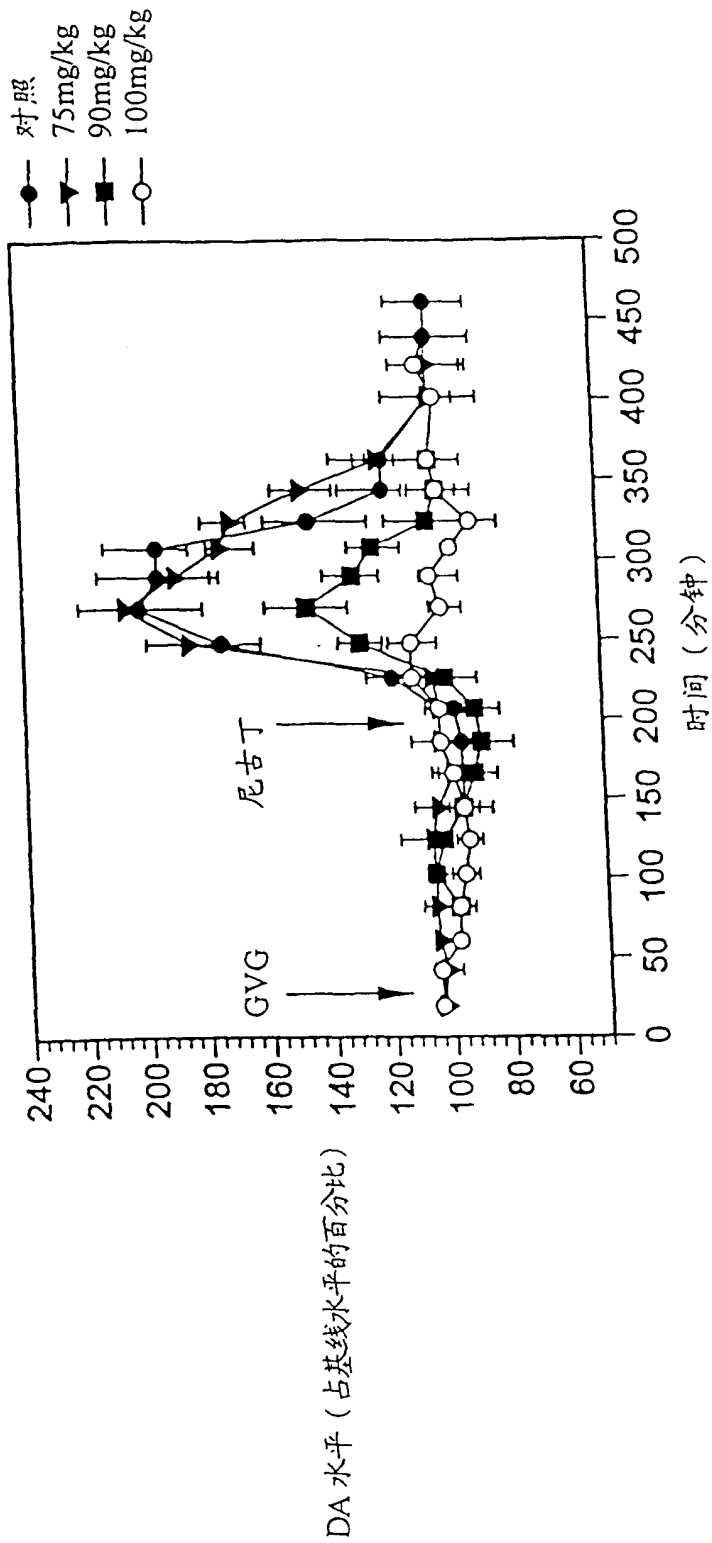




图 5B 在经慢性处理的、自由移动的大鼠中，(-)-尼古丁对 NACC 中  
细胞外 DA 浓度的影响

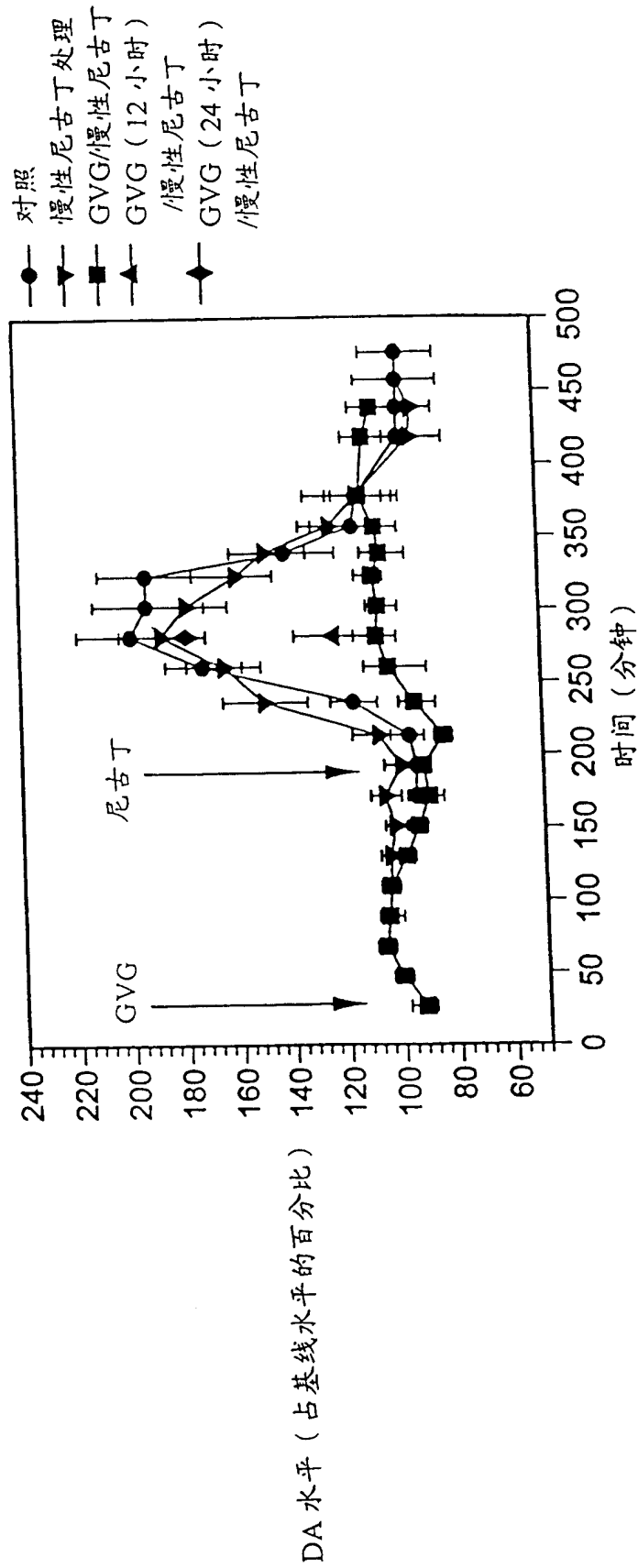


图 6 脱氧麻黄碱对 NAACC 中 DA 浓度的影响

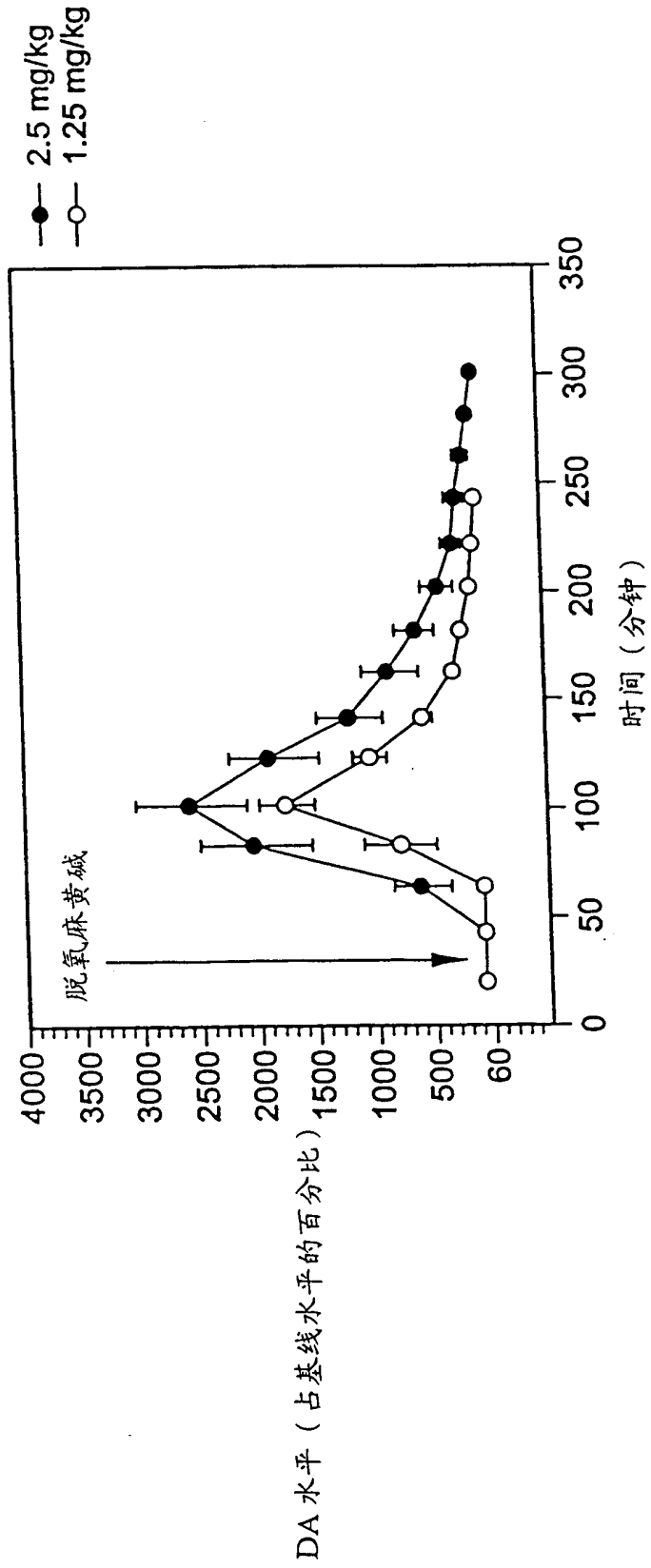


图7 GVG对脱氧麻黄碱诱导的NAACC中DA浓度变化的影响

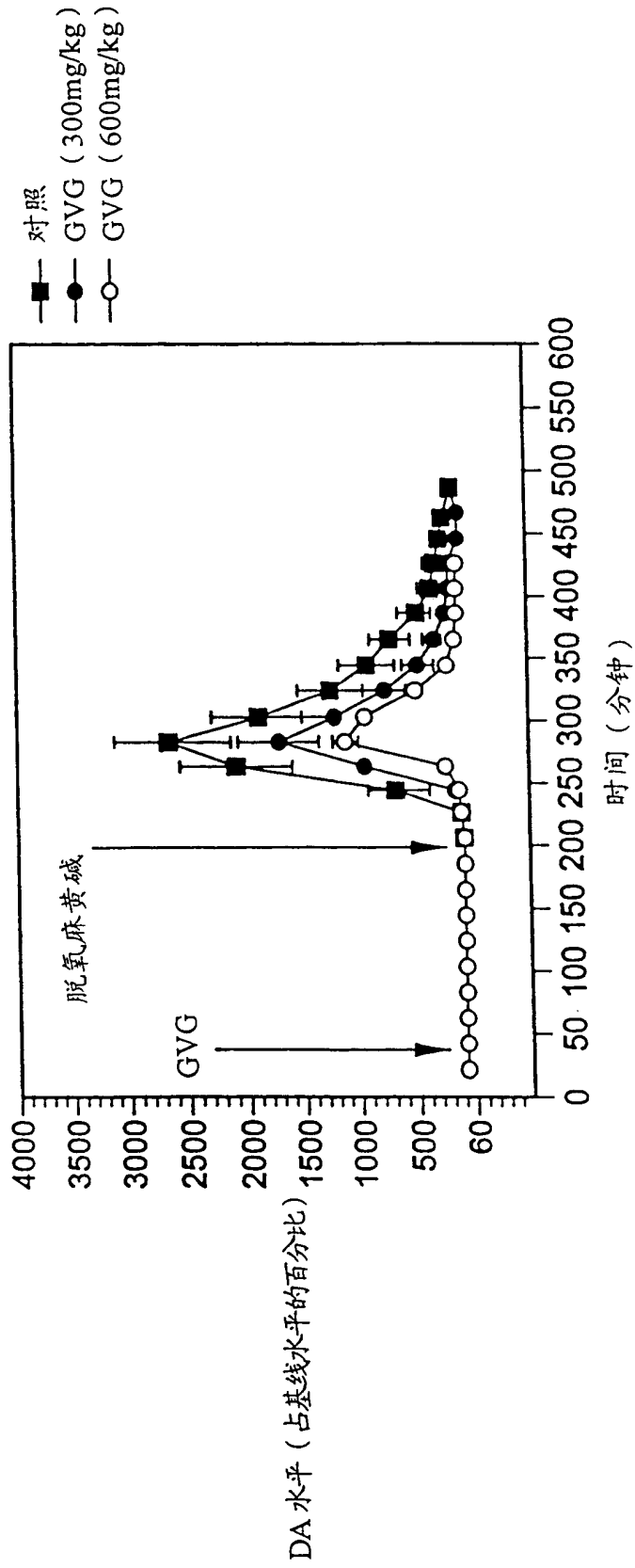


图 8 GVG 对酒精诱导的 NACC 中 DA 水平升高的影响

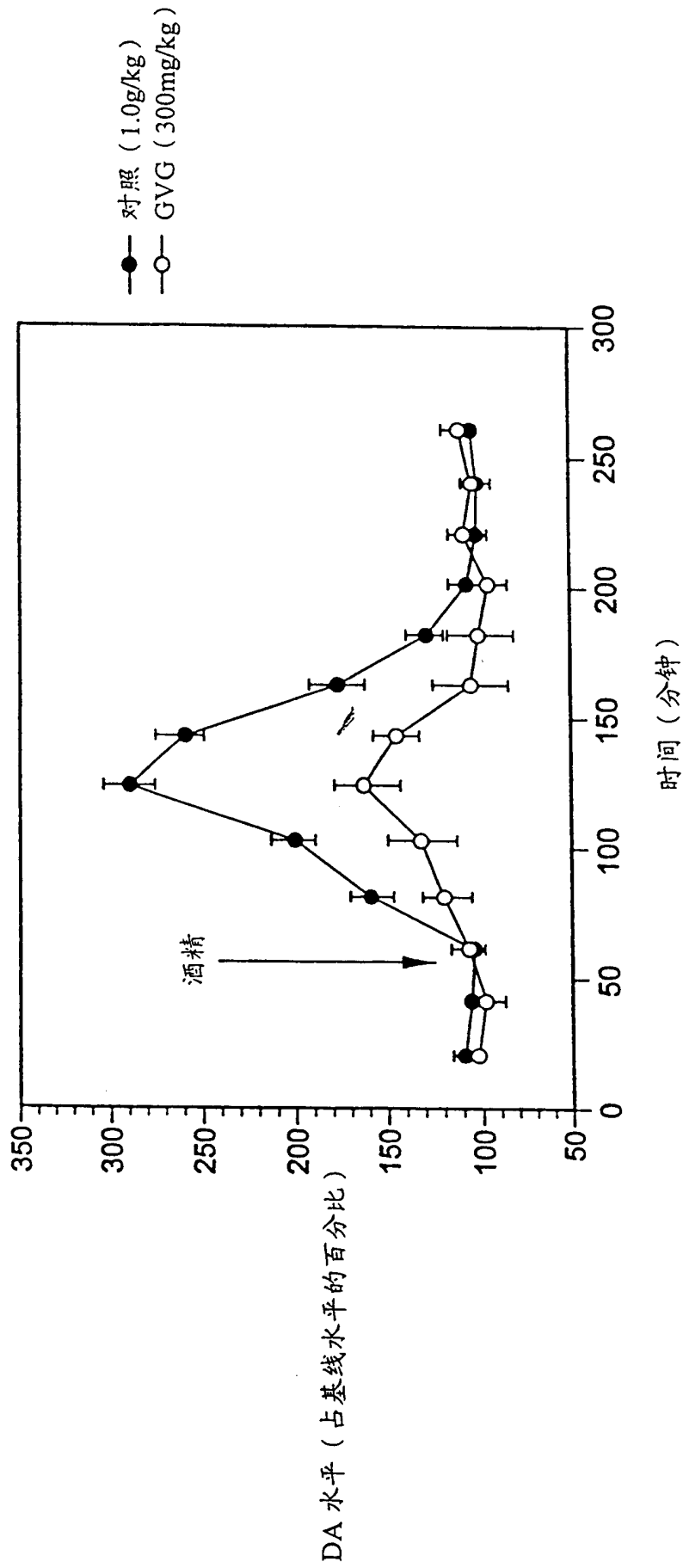


图 9

在自由移动的大鼠中进行的体内微透析研究

