



## (12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108778423 A

(43)申请公布日 2018.11.09

(21)申请号 201780015234.5

(22)申请日 2017.01.06

(30)优先权数据

62/276,691 2016.01.08 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2018.09.04

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2017/012452 2017.01.06

(87)PCT国际申请的公布数据

W02017/120417 EN 2017.07.13

(71)申请人 俄亥俄州国家创新基金会

地址 美国俄亥俄州

(72)发明人 沃尔夫冈·萨迪 约翰·奥伯迪克

(74)专利代理机构 北京银龙知识产权代理有限公司 11243

代理人 钟海胜 宋琴芝

(51)Int.Cl.

A61P 25/36(2006.01)

A61K 31/485(2006.01)

C07D 403/02(2006.01)

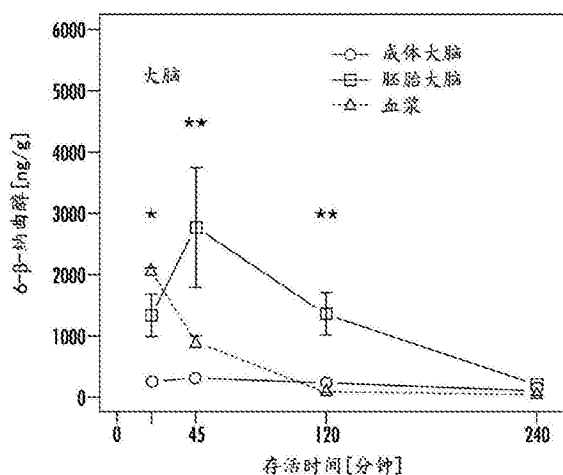
权利要求书2页 说明书18页 附图4页

### (54)发明名称

阿片类新生儿脱瘾综合征的治疗和预防

### (57)摘要

本发明公开了一种用于减少或预防药物依赖或阿片类耐受妊娠个体的胎儿阿片类依赖的方法。所述方法涉及以有效减少或预防胎儿阿片类依赖的量对所述妊娠个体施用包含阿片类拮抗剂的组合物,其中所述阿片类拮抗剂a)是可口服的或被全身递送并且到达所述妊娠个体的循环系统,b)基本上被血脑屏障排除在所述个体的大脑之外,并且c)渗透胎盘并且进入胎儿大脑。所述方法还包括以促使新生儿戒除继续阿片类维持的增大量对所述新生儿施用所述阿片类拮抗剂。



1. 一种用于减少或预防正在接受阿片类治疗或维持的药物依赖或阿片类耐受妊娠个体所怀胎儿的阿片类依赖的方法,所述方法包括以有效减少或预防所述胎儿的阿片类依赖的量对所述妊娠个体施用包含阿片类拮抗剂的组合物,其中所述阿片类拮抗剂到达所述妊娠个体的循环系统但基本上被血脑屏障排除在所述妊娠个体的大脑之外,并且其中所述阿片类拮抗剂渗透胎盘并且进入胎儿大脑。

2. 根据权利要求1所述的方法,其中所述阿片类拮抗剂包括6 $\beta$ -纳曲醇。

3. 根据权利要求1或2所述的方法,其中所述阿片类拮抗剂为中性拮抗剂并且不是反向激动剂。

4. 根据权利要求1至3中任一项所述的方法,其中所述阿片类拮抗剂不包括纳洛酮或纳曲酮。

5. 根据权利要求1至4中任一项所述的方法,其中所述阿片类拮抗剂以两个每日子剂量递送。

6. 根据权利要求1至5中任一项所述的方法,其中所述阿片类拮抗剂以约0.1mg至约100mg范围内的每日剂量递送。

7. 根据权利要求1至6中任一项所述的方法,其中所述组合物包括持续释放药物制剂。

8. 根据权利要求1至7中任一项所述的方法,其中所述阿片类拮抗剂为可口服的。

9. 根据权利要求1至8中任一项所述的方法,还包括对所述个体施用姑息治疗。

10. 根据权利要求1至9中任一项所述的方法,还包括对所述个体施用5-HT拮抗剂。

11. 根据权利要求10所述的方法,其中所述5-HT拮抗剂为昂丹司琼。

12. 一种用于治疗新生儿戒断或脱瘾综合征的方法,所述方法包括:

产前以有效减小或预防所述新生儿戒断或脱瘾综合征的量对药物依赖或阿片类耐受妊娠个体施用包含阿片类拮抗剂的第一组合物,其中所述阿片类拮抗剂到达所述妊娠个体的循环系统但基本上被血脑屏障排除在所述妊娠个体的大脑之外,并且其中所述阿片类拮抗剂渗透胎盘并且进入胎儿大脑;以及

产后以有效促使药物依赖或阿片类耐受婴幼儿个体戒除在观察到新生儿脱瘾综合征时继续施用的阿片类维持的增大量对所述婴幼儿个体施用包含所述阿片类的第二组合物。

13. 根据权利要求12所述的方法,其中所述阿片类拮抗剂包括6 $\beta$ -纳曲醇。

14. 根据权利要求12或13所述的方法,其中所述阿片类拮抗剂为中性拮抗剂并且不是反向激动剂。

15. 根据权利要求12至14中任一项所述的方法,其中所述阿片类拮抗剂不包括纳洛酮或纳曲酮。

16. 根据权利要求12至15中任一项所述的方法,其中所述阿片类拮抗剂以两个每日子剂量递送。

17. 根据权利要求12至16中任一项所述的方法,其中所述阿片类拮抗剂以约0.1mg至约100mg范围内的每日剂量递送。

18. 根据权利要求12至17中任一项所述的方法,其中所述阿片类拮抗剂包括在持续释放药物制剂中。

19. 根据权利要求12至18中任一项所述的方法,其中所述阿片类拮抗剂是可口服的。

20. 根据权利要求12至19中任一项所述的方法,还包括对所述妊娠个体和/或所述婴幼

几个体施用姑息治疗。

21. 根据权利要求12至20中任一项所述的方法,还包括对所述妊娠个体和/或所述婴幼儿个体施用5-HT拮抗剂。

22. 根据权利要求21所述的方法,其中所述5-HT拮抗剂为昂丹司琼。

## 阿片类新生儿脱瘾综合征的治疗和预防

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2016年1月8日提交的美国临时专利申请序列号62/276,691的权益,其公开内容明确地以引用方式并入本文。

### 技术领域

[0003] 本发明涉及用于阿片类新生儿脱瘾综合征的治疗和预防的化合物、组合和方法。

### 背景技术

[0004] 孕妇使用非法药物是日益严重的全国性问题,据估计,约16%的青少年孕妇和约7%的18至25周岁妇女存在这种现象(Patrick SW等人(2012年)JAMA第307卷:第1934至1940页)。据估计,截至2009年,出生时患有阿片类依赖(表现为新生儿脱瘾综合征(NAS))的婴幼儿的患病率已达到每千名新生儿3.39人(Patrick SW等人(2012年)JAMA第307卷:第1934至1940页)。此类新生儿中很大一部分的母亲正在医师的护理下接受管控的美沙酮或丁丙诺啡治疗(Patrick SW等人(2012年)JAMA第307卷:第1934至1940页;Jones HE等人(2010年)N Engl J Med.第363卷:第2320至2331页),这为采用可设计的产前治疗的引入提供了目标群体。NAS婴幼儿通常是早产的并且表现出一系列症状:体重不足、呼吸和喂食困难、易怒、喂食不耐受、呕吐和癫痫(Dryden,C等人(2009年)BJOG第116卷:第665-671页;Patrick SW等人(2012年)JAMA第307卷:第1934至1940页)。由于NAS需要长时间的强化护理保持时间并且可能对受影响儿童的长期认知、情感发展和社会发展造成影响,所以NAS给社会造成巨大的财政负担。针对患有NAS的新生儿的统一策略是口服美沙酮。尽管严格的基于方案的治疗是减少住院时间的关键因素(Hall ES等人(2014年)Pediatrics第134卷:e第527至534页),但是缺少管理治疗戒除策略的国家标准。现有策略的普遍目标是仅在新生儿已经出现依赖后缓解戒断反应,而缺少一开始就预防新生儿依赖发展的产前策略。

### 发明内容

[0005] 本文公开了减少或预防阿片类新生儿脱瘾综合征(NAS)的方法。在一个方面,本文公开了一种方法,该方法用于减少或预防正在接受阿片类治疗或维持的药物依赖或阿片类耐受妊娠个体所怀胎儿的阿片类依赖(以减少或预防新生儿脱瘾综合征(NAS))。该方法涉及以有效减少或预防胎儿阿片类依赖的量对妊娠个体施用包含阿片类拮抗剂的组合物,其中阿片类拮抗剂a)是可口服的并且到达妊娠个体的循环系统,b)基本上被血脑屏障排除在妊娠个体的大脑之外,并且c)渗透胎盘并且进入胎儿大脑。

[0006] 在一些实施方案中,阿片类拮抗剂被全身施用(例如,以持续释放制剂的形式皮下施用,或者透皮施用),同时,阿片类拮抗剂基本上被血脑屏障排除在个体的大脑之外,并且渗透胎盘并且进入胎儿大脑。

[0007] 在一些实施方案中,阿片类拮抗剂为中性拮抗剂并且不是反向激动剂。在特定的

实施方案中,阿片类拮抗剂包括6 $\beta$ -纳曲醇。在一些实施方案中,阿片类拮抗剂不包括纳洛酮或纳曲酮。

[0008] 在一些实施方案中,组合物包括持续释放药物制剂。在一些情况下,该方法还包括对个体施用姑息治疗。

[0009] 在一个另外的实施方案中,在新生儿(初生婴儿或婴幼儿)出生后,以有效促使新生儿戒除当观察到新生儿脱瘾综合征时继续施用的阿片类维持的增大的量继续阿片类拮抗剂治疗。

[0010] 本文还公开了用于治疗新生儿戒断或脱瘾综合征的方法,该方法包括:

[0011] 产前以有效治疗新生儿戒断或脱瘾综合征的量对药物依赖或阿片类耐受妊娠个体施用包含阿片类拮抗剂的第一组合物,其中阿片类拮抗剂到达妊娠个体的循环系统但基本上被血脑屏障排除在妊娠个体的大脑之外,并且其中阿片类拮抗剂渗透胎盘并且进入胎儿大脑;以及

[0012] 产后以有效促使婴幼儿戒除当观察到新生儿脱瘾综合征时继续施用的阿片类维持的增大的量对药物依赖或阿片类耐受婴幼儿个体施用包含阿片类拮抗剂的第二组合物。

[0013] 在附图和下面的描述中阐述了本发明的一个或多个实施方案的细节。根据下面的描述和附图以及权利要求,本发明的其他特征、目标和优点将显而易见。

## 附图说明

[0014] 图1A和图1B是示出作为存活时间(min)的函数的小鼠胚胎大脑和成体大脑(图1A)以及胚胎肝脏和成体肝脏(图1B)中的6 $\beta$ -纳曲醇水平的曲线图,其中胚胎中的6 $\beta$ -纳曲醇水平表示为(-□-),成体中的6 $\beta$ -纳曲醇水平表示为(-●-)。图1A示出了在单次药物注射后的四个不同存活时间处胚胎大脑和成体大脑中的6 $\beta$ -纳曲醇水平。图1B示出了在药物注射后的四个不同存活时间处胚胎肝脏和成体肝脏中的6 $\beta$ -纳曲醇水平。在图1A和图1B中,叠加成体血浆的曲线,以供与固体组织比较。图1A中的星号指示成体大脑与胚胎大脑在各个存活时间处的显著差异。\* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$ 。表1示出了样品的数目(n)。

[0015] 图2A和图2B是示出在小鼠的所有组织以及各发育阶段中6 $\beta$ -纳曲醇水平(ng/g)的柱形图。图2A示出了单次注射后在PD7、PD14、PD20、PD32和PD50处血浆、大脑和肝脏中的药物水平。添加来自图1的胚胎(ED17)和成体(>2个月)的数据,以用于比较。45分钟存活时间用于所有数据。对于PD7肝脏样品而言,需注意,截短数据柱以更好地示出所有组织中的药物水平的宽范围。ED17、PD7和PD14处的大部分组织中的药物水平显著高于PD20、PD35和PD50处的对应组织中的药物水平(通过t检验得到 $p < 0.05$ ;未在图中示出)。类似地,所有成体组织中的药物水平显著高于PD32处对应组织中的药物水平(通过t检验得到 $p < 0.05$ ;未在图中示出)。图2B示出了PD20和PD32在两个存活时间20分钟和45分钟处血浆、大脑和肝脏中药物水平的比较。添加来自图1的胚胎组织和成体组织的数据,以用于比较。图2A和图2B中的星号指示在特定年龄处血浆与大脑的差异;\* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$ 。对于PD7至PD50处的所有样品而言, $N = 2$ (PD7处的血浆除外; $n = 1$ );对于ED17和成体而言, $n$ 在图1和表1中示出。

[0016] 图3A至图3C示出了6 $\beta$ -纳曲醇预防小鼠中阿片类引发的戒断行为。图3A示出了6 $\beta$ -纳曲醇在与吗啡组合递送时预防依赖行为和戒断跳跃。在注射纳洛酮以引发戒断反应后立即开始对15分钟时段内的总跳跃数计数。使用与6 $\beta$ -纳曲醇的渐增相当的两种浓度渐增过

程进行吗啡注射。使用两种药物浓度中较低的浓度进行数据绘制。星号指示与仅用吗啡(没有6 $\beta$ -纳曲醇)治疗的动物相比的显著差异;\* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$ 。图3B示出了分成10个1.5分钟时间箱的图3A的跳跃。双向箭头指示每个6 $\beta$ -纳曲醇剂量的时间箱,其中在该时间箱之前和之后出现相等数量的跳跃。需注意,该时间点随6 $\beta$ -纳曲醇的增加而增加。星号指示在最早的三个时间箱里与仅注射吗啡相比1/3000、1/1000和1/200剂量的6 $\beta$ -纳曲醇的显著效果。图3C示出了6 $\beta$ -纳曲醇缓解了由吗啡引起的体重增长抑制。在为期6天的吗啡定量给药计划之前和之后测定每只小鼠的质量,并且测定重量百分比变化。星号指示与仅接受吗啡注射但没有(“0”)6 $\beta$ -纳曲醇注射的动物的显著差异( $p < 0.05$ )。在图3A中,括号中的数字指示各药物浓度下测试动物的数量。在图3B和图3C中,药物浓度报告为6 $\beta$ -纳曲醇与吗啡的比率,以便强调组合治疗。

[0017] 图4是示出在所有组织以及各发育阶段中纳曲酮水平的柱形图(45分钟存活时间)。单次注射后在PD7、PD14、PD20和PD32处血浆、大脑和肝脏中的药物水平。添加来自表4的胚胎(ED17)和成体(>2个月)的数据,以用于比较。45分钟存活时间用于所有数据。对于PD7肝脏样品而言,需注意,截短数据柱以更好地示出所有组织中的药物水平的宽范围。还需注意,在所有情况下,大脑:血浆比率大于1;对于胚胎大脑和肝脏、PD7血浆和PD32血浆而言, $n = 1$ ,并且对于所有其他样品而言, $n = 2$ 或更大。星号指示不同年龄间的差异或在特定年龄处血浆与大脑的差异。\* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$

## 具体实施方式

[0018] 本文公开了减少或预防阿片类新生儿脱瘾综合征(NAS)的方法。在一个方面,本文公开了一种方法,该方法用于减少或预防正在接受阿片类治疗或维持的药物依赖或阿片类耐受妊娠个体所怀胎儿的阿片类依赖(以减少或预防新生儿脱瘾综合征(NAS))。该方法涉及以有效减少或预防胎儿阿片类依赖的量对妊娠个体施用包含阿片类拮抗剂的组合物,其中阿片类拮抗剂a)是可口服的并且到达妊娠个体的循环系统,b)基本上被血脑屏障排除在妊娠个体的大脑之外,并且c)渗透胎盘并且进入胎儿大脑。

[0019] 在一些实施方案中,阿片类拮抗剂被全身施用(例如,以持续释放制剂的形式皮下施用,或者透皮施用),同时,阿片类拮抗剂基本上被血脑屏障排除在个体的大脑之外,并且渗透胎盘并且进入胎儿大脑。

[0020] 在一个另外的实施方案中,在新生儿出生后,以有效促使新生儿戒除当观察到新生儿脱瘾综合征时继续施用的阿片类维持的增大的量继续阿片类拮抗剂治疗。

[0021] 本文还公开了用于预防新生儿戒断或脱瘾综合征的方法,该方法包括:

[0022] 产前以有效减少或预防胎儿中阿片类依赖的量对药物依赖或阿片类耐受妊娠个体施用包含阿片类拮抗剂的第一组合物,其中阿片类拮抗剂到达妊娠个体的循环系统但基本上被血脑屏障排除在妊娠个体的大脑之外,并且其中阿片类拮抗剂渗透胎盘并且进入胎儿大脑;以及

[0023] 产后以有效促使婴幼儿戒除当观察到新生儿脱瘾综合征时继续施用的阿片类维持的增大的量对药物依赖或阿片类耐受婴幼儿个体施用包含阿片类拮抗剂的第二组合物。

[0024] 本文还公开了用于治疗药物依赖或阿片类耐受妊娠个体的戒断或脱瘾综合征的方法,该方法包括以有效治疗戒断或脱瘾综合征的量对个体施用包含阿片类拮抗剂的组合

物,其中阿片类拮抗剂到达妊娠个体的循环系统但基本上被血脑屏障排除在个体的大脑之外,并且其中阿片类拮抗剂渗透胎盘并且进入胎儿大脑。

[0025] 在一些实施方案中,以单位重量计,产后对婴幼儿施用的阿片类拮抗剂的量高于产前对妊娠个体施用的剂量。例如,婴幼儿的血脑屏障日趋成熟,因此可能需要更高的剂量才能到达新生儿的大脑。

[0026] 在一些实施方案中,阿片类拮抗剂为中性拮抗剂并且不是反向激动剂。例如,在优选的实施方案中,阿片类拮抗剂不包括纳洛酮或纳曲酮。在特定的实施方案中,阿片类拮抗剂包括6 $\beta$ -纳曲醇。

[0027] 在一些实施方案中,组合物包括持续释放药物制剂。在一些情况下,该方法还包括对个体施用姑息治疗。在一些情况下,该方法还包括对个体施用5-HT拮抗剂。在一个实施方案中,5-HT拮抗剂为昂丹司琼。

[0028] 在一些实施方案中,阿片类拮抗剂以两个每日剂量递送。

[0029] 在一些实施方案中,阿片类拮抗剂以约0.1mg至约100mg范围内的每日剂量递送。在一些实施方案中,阿片类拮抗剂是可口服的。

[0030] 术语“个体”或“宿主”是指为施用或治疗的目标的任意单个个体。个体可以是脊椎动物,例如哺乳动物。因此,个体可以是人类患者或兽医患者。术语“患者”是指接受临床医生(例如内科医生)治疗的个体。

[0031] 术语“治疗有效”是指所用组合物的量为足以改善疾病或障碍的一个或多个病因或症状的量。此类改善仅需要降低或改变,而不一定消除。

[0032] 术语“药学上可接受的”是指在合理的医学判断范围内的那些化合物、材料、组合物和/或剂型,其适用于与人类和动物的组织接触而无过度毒性、刺激性、过敏反应、或与合理的效/险比相当的其它问题或并发症。

[0033] 如本文所用,术语“药学上可接受的盐”是指在合理的医学判断范围内的那些盐,其适用于与宿主(例如,人类宿主)接触而无不适当的毒性、刺激性、过敏反应等,与合理的效/险比相当,并且对其预期用途以及本公开的宿主物质的化合物的两性离子形式(如果可能)有效。

[0034] 术语“载体”意指当与化合物或组合物组合时辅助或促进该化合物或组合物的制备、储存、施用、递送、效果、选择性或任何其他特征以用于其预期用途或目的的化合物、组合物、物质或结构。例如,可选择载体以最小化活性成分的任何降解并且最小化个体中的任何不利副作用。

[0035] 术语“治疗”是指对患者进行的意图治愈、改善、稳定或预防疾病、病理状况或障碍的医疗管理。该术语包括积极治疗,即治疗特别指向疾病、病理状况或障碍的改善,并且还包括病因治疗,即治疗指向去除相关疾病、病理状况或障碍的病因。此外,该术语包括姑息治疗,即,设计用于减轻症状而不是治愈疾病、病理状况或障碍的治疗;预防性治疗,即涉及使相关疾病、病理状况或障碍的发展最小化或者部分或完全抑制的治疗;以及支持性治疗,即用于补充针对相关疾病、病理状况或障碍的改善的另一种特定疗法的治疗。

[0036] 术语“预防”是指预先阻止或减慢疾病或病症的发作、或者降低疾病或病症的严重程度的治疗。因此,如果某种治疗可以治疗具有某种疾病症状的个体中的这种疾病,则该种治疗还可以预防尚未遭受所述症状中的一些或全部症状的个体中的这种疾病。

[0037] 本文所公开的组合物可与药学上可接受的载体在治疗学上结合使用。本文采用短语“药学上可接受的”是指在合理的医学判断范围内的那些化合物、材料、组合物和/或剂型,其适用于与人类和动物的组织接触而无过度毒性、刺激性、过敏反应或与合理的效/险比相当的其他问题或并发症。

[0038] 可使用任何合适的实现期望治疗结果的方法对宿主施用本文所述的化合物或它们的盐、同位素类似物或前药。当然,施用活性化合物的量和时间将取决于被治疗的宿主、指导医疗专家的说明、暴露的时间过程、施用方式、特定活性化合物的药代动力学特性和处方医师的判断。因此,由于宿主与宿主之间的可变性,下文给出的剂量仅作参考,并且医师可滴定化合物的剂量,以实现医师认为适合宿主的治疗。在考虑期望的治疗程度时,医师可均衡多种因素诸如宿主的年龄和体重、原有疾病的存在以及其他疾病的存在。可制备药物制剂以用于任何期望的施用途,这些施用途包括但不限于全身施用、局部施用、口服施用、静脉内施用、皮下施用、透皮施用、经皮施用(利用任选的渗透促进剂)、口腔施用、舌下施用、直肠施用、主动脉内施用、鼻内施用、胃肠外施用或气溶胶施用。这些施用途中的一些可避免肝脏中的首过效应。用于胃肠外施用的制剂包括但不限于悬浮液、溶液、油性或含水媒介物中的乳液、糊剂和可植入持续释放制剂或可生物降解制剂。

[0039] 对于口服施用而言,药物组合物可采用溶液、悬浮液、片剂、丸剂、胶囊、粉末等形式。包含各种赋形剂诸如柠檬酸钠、碳酸钙和磷酸钙的片剂可与各种崩解剂诸如淀粉(例如,土豆或木薯淀粉)和某些复杂硅酸盐一起使用,并且可与粘结剂诸如聚乙烯吡咯烷酮、蔗糖、明胶和阿拉伯树胶共同使用。另外,润滑剂诸如硬脂酸镁、月桂基硫酸钠和滑石对于制成片剂通常非常有用。类似类型的固体组合物可用作软填充或硬填充的明胶胶囊中的填充剂。就这一点而言的材料还包括乳糖(lactose)或奶糖(milk sugar)以及高分子量聚乙二醇。当期望口服施用含水悬浮液和/或酏剂时,本公开的宿主物质的化合物可与各种甜味剂、矫味剂、着色剂、乳化剂和/或悬浮剂以及此类稀释剂(如水、乙醇、丙二醇、甘油以及它们的各种类似组合)组合。

[0040] 在一个实施方案中,以等同于肠胃外施用的剂量对个体(例如,人类个体)施用所公开的阿片类拮抗剂,该剂量为约0.1ng/kg体重至约100g/kg体重、约10ng/kg体重至约50g/kg体重、约100ng/kg体重至约1g/kg体重、约1μg/kg体重至约100mg/kg体重、约1μg/kg体重至约50mg/kg体重、约1mg/kg体重至约500mg/kg体重;以及约1mg/kg体重至约50mg/kg体重。另选地,为达到治疗有效剂量所施用的阿片类拮抗剂的量为约0.1ng/kg体重、1ng/kg体重、10ng/kg体重、100ng/kg体重、1μg/kg体重、10μg/kg体重、100μg/kg体重、1mg/kg体重、2mg/kg体重、3mg/kg体重、4mg/kg体重、5mg/kg体重、6mg/kg体重、7mg/kg体重、8mg/kg体重、9mg/kg体重、10mg/kg体重、11mg/kg体重、12mg/kg体重、13mg/kg体重、14mg/kg体重、15mg/kg体重、16mg/kg体重、17mg/kg体重、18mg/kg体重、19mg/kg体重、20mg/kg体重、30mg/kg体重、40mg/kg体重、50mg/kg体重、60mg/kg体重、70mg/kg体重、80mg/kg体重、90mg/kg体重、100mg/kg体重、500mg/kg体重或更大。在一个实施方案中,口服给药时,剂量范围为约0.1mg至约100mg。在一个实施方案中,口服给药时,剂量范围为约0.001mg/kg体重至约1mg/kg体重。

[0041] 在一个实施方案中,每日剂量可以两次(或更多次)每日子剂量施用。

[0042] 在一个实施方案中,所公开的阿片类拮抗剂以受控释放植入物或储藏物施用。在

一个实施方案中,如果植入缓慢释放制剂,其可绕开胃肠道和肝脏,因此每天需要五分之一的剂量(例如,如果生物利用率为约20%)。药物制剂可被设计用于以治疗有效量立即释放、持续释放或延迟释放一种或多种阿片类拮抗剂。在一个实施方案中,制剂提供持续释放。可将本文所述的化合物配制成用于胃肠外施用。可使用本领域已知的技术将胃肠外制剂制备成含水组合物。通常,可将此类组合物制备成可注射制剂,例如溶液或悬浮液;适合用于在注射前添加重构介质来制备溶液或悬浮液的固体形式;乳液诸如油包水(w/o)乳液、水包油(o/w)乳液以及它们的微乳液、脂质体或乳脂体。

[0043] 载体可为包含例如水、乙醇、一种或多种多元醇(例如,甘油、丙二醇和液态聚乙二醇)、油诸如植物油(例如,花生油、玉米油、芝麻油等)以及它们的组合的溶剂或分散介质。

[0044] 可例如通过使用包衣诸如卵磷脂、通过在分散体情况下维持所需粒度和/或通过使用表面活性剂来维持适当的流动性。在许多情况下,将优选包括等渗剂,例如,糖或氯化钠。

[0045] 活性化合物如游离酸或碱或者其药学上可接受的盐的溶液和分散体可通过在水或其他溶剂或分散介质中与一种或多种药学上可接受的赋形剂适当地混合来制备,所述一种或多种药学上可接受的赋形剂包括但不限于表面活性剂、分散剂、乳化剂、pH调节剂以及它们的组合。

[0046] 合适的表面活性剂可为阴离子表面活性剂、阳离子表面活性剂、两性表面活性剂或非离子表面活性剂。合适的阴离子表面活性剂包括但不限于包含羧酸根离子、磺酸根离子和硫酸根离子的那些。阴离子表面活性剂的示例包括长链烷基磺酸和烷基芳基磺酸的钠盐、钾盐、铵盐诸如十二烷基苯磺酸钠、二烷基磺基琥珀酸钠诸如十二烷基苯磺酸钠、二烷基磺基琥珀酸钠诸如二-(2-乙基亚硫酸)-磺基琥珀酸钠以及烷基硫酸盐诸如月桂基硫酸钠。阳离子表面活性剂包括但不限于季铵化合物,诸如苯扎氯铵、苄索氯铵、十六烷基三甲基溴化铵、硬脂基二甲基苄基氯化铵、聚氧乙烯和椰油胺。非离子表面活性剂的示例包括乙二醇单硬脂酸酯、丙二醇肉豆蔻酸酯、单硬脂酸甘油酯、硬脂酸甘油酯、聚甘油-4-油酸酯、脱水山梨糖醇酐化物、蔗糖酐化物、PEG-150月桂酸酯、PEG-400单月桂酸酯、聚氧乙烯单月桂酸酯、聚山梨醇酯、聚氧乙烯辛基苯基醚、PEG-1000鲸蜡基醚、聚氧乙烯十三烷基醚、聚丙二醇丁基醚、**Poloxamer**<sup>®</sup> 401、硬脂酰单异丙醇酰胺和聚氧乙烯氢化牛脂酰胺。两性表面活性剂的示例包括N-十二烷基-β-丙氨酸钠、N-月桂基-β-亚氨基二丙酸钠、肉豆蔻酰两性基乙酸盐、月桂基甜菜碱和月桂基磺基甜菜碱。

[0047] 制剂可包含防腐剂,以预防微生物的生长。合适的防腐剂包括但不限于对羟基苯甲酸酯类、氯代丁醇、苯酚、山梨酸和乙基汞硫代水杨酸钠。制剂还可包含抗氧化剂以防止活性剂的降解。

[0048] 通常在重构时将制剂的pH缓冲到3至8,以用于胃肠外施用。合适的缓冲剂包括但不限于磷酸盐缓冲剂、乙酸盐缓冲剂和柠檬酸盐缓冲剂。

[0049] 水溶性聚合物常常用于胃肠外施用的制剂中。合适的水溶性聚合物包括但不限于聚乙烯基吡咯烷酮、右旋糖酐、羧甲基纤维素和聚乙二醇。

[0050] 无菌可注射溶液可通过根据需要将所需量的活性化合物掺入到具有上文所列一种或多种赋形剂的适当溶剂或分散介质中,之后进行过滤灭菌来制备。一般来讲,分散体通过将各种无菌活性成分掺入到无菌媒介物中来制备,该无菌载体包含基本的分散介质和来

自于上文所列的那些的所需其他成分。就用于制备无菌可注射溶液的无菌粉末而言,优选的制备方法是真空干燥和冷冻干燥技术,通过这些技术产生活性成分和来自于其先前无菌过滤溶液的任何附加期望成分的粉末。可以使颗粒具有多孔性质的此类方式制备粉末,这可增加颗粒的溶解性。用于制备多孔颗粒的方法是本领域熟知的。

[0051] 对于胃肠外施用而言,可将化合物和任选的一种或多种附加活性剂掺入到提供受控释放的微粒、纳米颗粒或它们的组合中。在其中制剂包含两种或更多种药物的实施方案中,药物可被配制用于相同类型的受控释放(例如,延迟释放、延长释放、立即释放或脉冲释放),或者药物可被独立配制用于不同类型的释放(例如,立即释放和延迟释放、立即释放和延长释放、延迟释放和延长释放、延迟释放和脉冲释放等)。

[0052] 例如,可将化合物和/或一种或多种附加活性剂掺入到提供药物的受控释放的聚合物微粒中。通过水解和/或酶促降解使药物从微粒扩散出来和/或降解聚合物颗粒来控制药物的释放。合适的聚合物包括乙基纤维素和其他天然或合成的纤维素衍生物。

[0053] 在含水环境中可缓慢溶解并且形成凝胶的聚合物诸如羟丙基甲基纤维素或聚环氧乙烷还可适合作为用于包含药物的微粒的材料。其他聚合物包括但不限于聚酸酐、聚(酯酸酐)和多羟基酸,诸如聚交酯(PLA)、聚乙交酯(PGA)、聚(丙交酯-共-乙交酯)(PLGA)、聚-3-羟基丁酸酯(PHB)及其共聚物、聚-4-羟基丁酸酯(P4HB)及其共聚物、聚己内酯及其共聚物、以及它们的组合。

[0054] 另选地,可将药物掺入到由以下材料制备的微粒中:不溶解在含水溶液中或缓慢溶解在含水溶液中但能够以包括酶促降解、胆汁酸的表面活性剂作用和/或机械腐蚀的方式在胃肠道内降解的材料。如本文所用,术语“缓慢溶于水”是指在30分钟的时段内不溶解于水中的材料。优选的示例包括脂肪、脂肪物质、蜡、蜡状物质以及它们的混合物。合适的脂肪和脂肪物质包括脂肪醇(诸如月桂醇、肉豆蔻醇、硬脂醇、鲸蜡醇或十八十六醇)、脂肪酸以及包括但不限于脂肪酸酯、脂肪酸甘油酯(甘油一酯、甘油二酯和甘油三酯)和氢化脂肪的衍生物。具体的示例包括但不限于氢化植物油、氢化棉籽油、氢化蓖麻油、可以商品名 Sterotex<sup>®</sup>购得的氢化油、硬脂酸、可可脂和硬脂醇。合适的蜡和蜡状材料包括天然蜡或合成蜡、烃类和普通蜡。蜡的具体示例包括蜂蜡、糖蜡、蓖麻蜡、巴西棕榈蜡、石蜡和小烛树蜡。如本文所用,蜡状材料被定义为室温下通常为固体并且具有约30℃至300℃的熔点的任何材料。

[0055] 在一些情况下,可能期望改变水渗透到微粒中的速率。为此,可与上文所列的脂肪或蜡一起配制速率控制(芯吸)剂。速率控制材料的示例包括某些淀粉衍生物(例如,蜡状麦芽糖糊精和滚筒干燥的玉米淀粉)、纤维素衍生物(例如,羟丙基甲基-纤维素、羟丙基纤维素、甲基纤维素和羧甲基-纤维素)、海藻酸、乳糖和滑石。另外,可添加药学上可接受的表面活性剂(例如,卵磷脂)以促进此类微粒的降解。

[0056] 水不溶性蛋白质诸如玉米蛋白也可用于形成包含药物的微粒的材料。另外,水溶性蛋白质、水溶性多糖以及它们的组合可与药物配制成微粒,并随后交联以形成不溶性网络。例如,环糊精可与单个药物分子络合并随后交联。

[0057] 可通过已知的药物配制技术来实现药物的包封或将药物掺入到载体材料中以生产包含药物的微粒。就脂肪、蜡或蜡状材料中的制剂而言,通常在高于其熔融温度的温度下加热载体材料并且添加药物以形成包含悬浮在载体材料中的药物颗粒、包含溶解在载体材

料中的药物或包含它们的混合物的混合物。随后可通过几种方法来配制微粒,这些方法包括但不限于凝结工艺、挤出工艺、喷淋冷却工艺或水分散体工艺。在一个优选的工艺中,在高于其熔融温度的温度下加热蜡,添加药物,并且在混合物冷却时,在连续搅拌下凝结熔融的蜡-药物混合物。另选地,可将熔融的蜡-药物混合物挤出并且球化以形成球剂或珠剂。

[0058] 对于一些载体材料而言,可能期望使用溶剂蒸发技术来生产包含药物的微粒。在这种情况下,将药物和载体材料共同溶解在互溶剂中,并且随后可通过几种技术制备微粒,这些技术包括但不限于在水中或其他适当的介质中形成乳液、喷雾干燥或通过蒸发除去本体溶液中的溶剂并且研磨所得材料。

[0059] 在一些实施方案中,颗粒形式的药物均匀分散在水不溶性或缓慢水溶性的材料中。为了最小化组合物内药物颗粒的尺寸,可在配制前研磨药物粉末本身以生成细小的颗粒。制药领域已知的喷射研磨工艺可用于此目的。在一些实施方案中,通过在高于其熔点的温度下加热蜡或蜡状物质并且在搅拌混合物的情况下添加药物颗粒来使颗粒形式的药物均匀分散在蜡或蜡状物质中。在这种情况下,可将药学上可接受的表面活性剂添加到混合物,以促进药物颗粒的分散。

[0060] 还可使用一种或多种改良的释放包衣包覆颗粒。可将由脂肪酶水解的脂肪酸的固体酯喷雾包覆到微粒或药物颗粒上。玉米蛋白是天然水不溶性蛋白的示例。可通过喷雾包覆或通过湿法制粒技术来将其包覆到包含药物的微粒或药物颗粒上。除天然水不溶性材料之外,还可使用交联步骤处理一些消化酶底物,导致形成不溶性网络。已经报告了多种通过化学和物理手段引发的交联蛋白质的方法。获得交联的最常见的方法之一是使用化学交联剂。化学交联剂的示例包括醛(戊二醛和甲醛)、环氧化合物、碳二亚胺和京尼平。除这些交联剂之外,氧化糖和天然糖已经用于交联明胶(Cortesi, R. 等人, *Biomaterials* 第19卷(1998年)第1641至1649页)。也可使用酶促方式实现交联;例如,转谷氨酰胺酶已被批准为用于交联海鲜产品的GRAS物质。最后,可通过物理手段诸如热处理、UV辐照和 $\gamma$ 辐照来引发交联。

[0061] 为了生产包围包含药物的微粒或药物颗粒的交联蛋白质的包衣层,可将水溶性蛋白质喷雾包覆到微粒上并且随后通过上文所述方法中的一种交联。另选地,可通过凝聚-相分离(例如,通过添加盐)将包含药物的微粒微囊包封在蛋白质内并且随后交联。用于该目的的一些合适的蛋白质包括明胶、白蛋白、酪蛋白和谷蛋白。

[0062] 也可交联多糖以形成水不溶性网络。对于许多多糖而言,这可通过与使聚合物主链交联的钙盐或多价阳离子反应来实现。果胶、藻酸盐、右旋糖酐、直链淀粉和瓜尔胶在存在多价阳离子的情况下经受交联。带相反电荷的多糖之间也可形成络合物;果胶与脱乙酰壳多糖例如可经由静电相互作用络合。

[0063] 术语“载体”包括但不限于稀释剂、粘结剂、润滑剂、崩解剂、填充剂、基质形成组合物和包衣组合物。“载体”还包括包衣组合物的所有组分,其可包括增塑剂、色素、着色剂、稳定剂和助流剂。可按照以下参考文献中所述制备延迟释放剂型制剂,诸如“*Pharmaceutical dosage form tablets*”, Liberman等人编辑(New York, Marcel Dekker, Inc., 1989年)、“*Remington—The science and practice of pharmacy*”, 第20版, Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, MD, 2000年和“*Pharmaceutical dosage forms and drug delivery systems*”, 第6版, Ansel等人(Media, PA: Williams and Wilkins, 1995年), 其提供了用于制备片剂和胶囊以及片剂、胶囊和颗粒剂的延迟释放剂型的载体、材料、设备和工艺的相关信

息。

[0064] 合适的包衣材料的示例包括但不限于纤维素聚合物诸如乙酸邻苯二甲酸纤维素、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素邻苯二甲酸酯和羟丙基甲基纤维素乙酸琥珀酸酯；聚乙酸乙烯邻苯二甲酸酯、丙烯酸聚合物和共聚物、可以商品名Eudragit<sup>®</sup> (德国威特斯塔的罗斯制药公司(Roth Pharma, Westerstadt, Germany))商购获得的甲基丙烯酸树脂、玉米蛋白、虫胶和多糖。

[0065] 存在于包含药物的片剂、珠剂、颗粒剂或颗粒中的任选的药学上可接受的赋形剂包括但不限于稀释剂、粘结剂、润滑剂、崩解剂、着色剂、稳定剂和表面活性剂。通常需要稀释剂(也称为“填充剂”)来增加固体剂型的体积,使得提供用于片剂的压缩或珠剂和颗粒剂的形成的实际尺寸。合适的稀释剂包括但不限于二水磷酸二钙、硫酸钙、乳糖、蔗糖、甘露糖醇、山梨糖醇、纤维素、微晶纤维素、高岭土、氯化钠、干淀粉、水解淀粉、预胶化淀粉、二氧化硅酮、氧化钛、硅酸镁铝和糖粉。

[0066] 粘结剂用于将凝聚性质赋予固体剂型制剂,并且因此确保在剂型形成之后片剂或珠剂或颗粒剂仍然保持完整。合适的粘结剂材料包括但不限于淀粉、预胶化淀粉、明胶、糖(包括蔗糖、葡萄糖、右旋糖、乳糖和山梨糖醇)、聚乙二醇、蜡、天然和合成的树胶(诸如阿拉伯胶、黄蓍胶、海藻酸钠)、纤维素(包括羟丙基甲基纤维素、羟丙基纤维素、乙基纤维素)、和胶体硅酸镁铝、以及合成聚合物(诸如丙烯酸和甲基丙烯酸共聚物、甲基丙烯酸共聚物、甲基丙烯酸甲酯共聚物、氨基烷基甲基丙烯酸酯共聚物、聚丙烯酸/聚甲基丙烯酸和聚乙烯吡咯烷酮)。一些适合作为粘结剂的材料也可用作基质形成材料,诸如羟丙基甲基纤维素、乙基纤维素和微晶纤维素。

[0067] 润滑剂用于促进片剂生产。合适的润滑剂的示例包括但不限于硬脂酸镁、硬脂酸钙、硬脂酸、山萘酸甘油酯、聚乙二醇、滑石和矿物油。

[0068] 崩解剂用于在施用后促进剂型崩解或“解体”,并且通常包括但不限于淀粉、羧基乙酸淀粉钠、羧甲基淀粉钠、羧甲基纤维素钠、羟丙基纤维素、预胶化淀粉、粘土、纤维素、藻蛋白、树胶或交联聚合物诸如交联PVP(得自GAF化学品公司(GAF Chemical Corp)的Polyplasdone<sup>®</sup>XL)。

[0069] 稳定剂用于抑制或延迟包括氧化反应(以举例的方式)的药物分解反应。

[0070] 表面活性剂可为阴离子表面活性剂、阳离子表面活性剂、两性表面活性剂或非离子表面活性剂。合适的阴离子表面活性剂包括但不限于包含羧酸根离子、磺酸根离子和硫酸根离子的那些。阴离子表面活性剂的示例包括长链烷基磺酸和烷基芳基磺酸的钠盐、钾盐、铵盐诸如十二烷基苯磺酸钠、二烷基磺基琥珀酸钠诸如十二烷基苯磺酸钠、二烷基磺基琥珀酸钠诸如二-(2-乙基亚硫酸)-磺基琥珀酸钠以及烷基硫酸盐诸如月桂基硫酸钠。阳离子表面活性剂包括但不限于季铵化合物,诸如苯扎氯铵、苄索氯铵、十六烷基三甲基溴化铵、硬脂基二甲基苄基氯化铵、聚氧乙烯和椰油胺。非离子表面活性剂的示例包括乙二醇单硬脂酸酯、丙二醇肉豆蔻酸酯、单硬脂酸甘油酯、硬脂酸甘油酯、聚甘油-4-油酸酯、脱水山梨糖醇酐化物、蔗糖酐化物、PEG-150月桂酸酯、PEG-400单月桂酸酯、聚氧乙烯单月桂酸酯、聚山梨醇酯、聚氧乙烯辛基苯基醚、PEG-1000鲸蜡基醚、聚氧乙烯十三烷基醚、聚丙二醇丁基醚、Poloxamer<sup>®</sup> 401、硬脂酰单异丙醇酰胺和聚氧乙烯氢化牛脂酰胺。两性表面活性剂

的示例包括N-十二烷基-β-丙氨酸钠、N-月桂基-β-亚氨基二丙酸钠、肉豆蔻酰两性基乙酸盐、月桂基甜菜碱和月桂基磺基甜菜碱。

[0071] 如果需要,片剂、珠剂、颗粒剂或颗粒也可含有少量的无毒辅助物质诸如润湿剂或乳化剂、染料、pH缓冲剂和防腐剂。

[0072] 延迟释放部分被设计成使药物能够在限定的时间段后释放。在一个实施方案中,就口服递送的制剂而言,这将在胃肠(GI)道的上部部分中实现。可使用肠溶衣实现口服制剂中的延迟释放。包肠溶衣的制剂在胃中保持完整或基本完整,但其一旦到达小肠或大肠则溶解并且释放该剂型的内容物。其他类型的包衣可用于在待治疗区域处或附近的部位处经由皮下、组织内或肌内注射后提供延迟释放。

[0073] 延长释放制剂通常被制备为扩散或渗透系统,例如,如“Remington—The science and practice of pharmacy”(第20版,Lippincott Williams&Wilkins,Baltimore,MD,2000年)中所描述。扩散系统通常由两种类型的装置构成,即贮存型和基质型,该扩散系统是本领域熟知的并且在本领域中有所描述。基质型装置通常通过将药物与缓慢溶解聚合物载体一起压缩成片剂形式来制备。用于制备基质型装置的材料有三种主要类型为不溶性塑料、亲水性聚合物和脂肪族化合物。塑料基质包括但不限于丙烯酸甲酯-甲基丙烯酸甲酯、聚氯乙烯和聚乙烯。亲水性聚合物包括但不限于纤维素类聚合物诸如甲基纤维素和乙基纤维素、羟烷基纤维素诸如羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、羧甲基纤维素钠、和Carbopol® 934、聚环氧乙烷以及它们的混合物。脂肪族化合物包括但不限于各种蜡诸如巴西棕榈蜡和三硬脂酸甘油酯,以及包括氢化蓖麻油或氢化植物油的蜡类物质,或它们的混合物。

[0074] 阿片类拮抗剂可在其他活性化合物诸如镇痛药、抗炎药物、解热剂、抗癫痫药、抗组胺药、抗偏头痛药物、抗毒蕈碱药、抗焦虑药、镇静剂、催眠药、抗精神病药、支气管扩张剂、抗哮喘药物、心血管药物、皮质类固醇、多巴胺能药、电解液、拟副交感神经药、兴奋剂、减食欲剂和抗昏睡症药的辅助下施用。

[0075] 在一些实施方案中,阿片类拮抗剂可与包括5HT拮抗剂的其他活性化合物组合施用。在一个实施方案中,5-HT拮抗剂为昂丹司琼。5-HT(或5-HT<sub>3</sub>)拮抗剂的另外示例包括麦角生物碱、格拉司琼、胃复安、曲美苄胺、托烷司琼、多拉司琼、巴他必利、扎考必利、阿扎司琼、雷莫司琼、来立司琼、西兰司琼、伊他司琼和哌地司琼。

[0076] 已经描述了本发明的多个实施方案。然而应当理解,在不脱离本发明的实质和范围的情况下可以作出各种修改。相应地,其他实施方案在以下权利要求书的范围内。

[0077] 实施例

[0078] 实施例1:将阿片类拮抗剂递送到妊娠小鼠中的胎儿大脑。

[0079] 方法

[0080] 动物

[0081] C57BL/6NTac品系小鼠产自俄亥俄州的繁殖群体。将动物圈养在通气良好并且24小时可取得食物和水源的微隔离笼架中。将它们置于12h:12h的昼夜循环中。所有步骤由俄亥俄州立大学动物护理和使用制度委员会(The Ohio State University Institutional Animal Care and Use Committee)批准,并且符合由国立卫生研究院(National Institutes of Health)建立并且公布在“Guide for the Care and Use of Laboratory

Animals”中的指南。

#### [0082] 药物定量给药和组织收集

[0083] 6 $\beta$ -纳曲醇和纳曲酮由国家药物成瘾研究所 (National Institute for Drug Addiction) (NIDA) 提供,如先前所报告 (Wang,D等人 (2004年) J Pharmacol Exp Ther第308卷:第512至520页)。药物溶解在浓度介于10mg/ml和20mg/ml 之间的盐水中,并且所有稀释均在盐水中进行。吗啡购自俄亥俄州医疗中心药房 (Ohio State Medical Center pharmacy),为15mg/ml的溶于盐水的溶液。在动物右后腿周围的区域进行皮下注射。注射体积通常不超过150 $\mu$ l (青少年在50 $\mu$ l至100 $\mu$ l的范围内),并且在大部分情况下,药物剂量为10mg/kg (如下文所示的行为研究除外)。在注射后和变化的存活时间后,通过颈椎脱臼使成年小鼠和妊娠小鼠安乐死亡,并且收集大脑、肝脏和血浆,快速将其在干冰上冷冻并保存在-70 $^{\circ}$ C下,直到处理。使小鼠安乐死亡之后,在处理母体组织时,将胚胎收集在大(150mm $\times$ 15mm)的有盖培养皿中并将其保存在冰上。然后在4 $^{\circ}$ C下的冷藏室中解剖和收集所有的胚胎组织,以便在解剖期间促进和保留组织的完整性,然后保存在-70 $^{\circ}$ C下。对于已经定量给药6 $\beta$ -纳曲醇或纳曲酮(对妊娠雌鼠皮下定量给药10mg/kg)的妊娠小鼠和胚胎,切割组织,称重,并且将其在各个微量离心管中置于干冰上快速冷冻。随后解冻并处理样品,并且经由液相色谱-串联质谱法 (LC-MS/MS) 分析样品,以定量药物水平。用于组织处理和LC-MS/MS分析的详细方法在补充信息中。

#### [0084] 出生早期小鼠的依赖行为分析

[0085] 给动物单独注射吗啡,或者注射混合有增大量的6 $\beta$ -纳曲醇的吗啡。在出生后第12天 (PD12) 开始注射,并且持续5天。第1天至第3天,吗啡的注射量为10mg/kg;第4天和第5天,吗啡的注射量为20mg/kg。第6天 (PD18),最后的注射量为20mg/kg,并且在3小时后,用30mg/kg纳洛酮注射小鼠,以诱导戒断。所有注射均为皮下注射。当吗啡与6 $\beta$ -纳曲醇共同注射时,后者在第4天至第6天增加吗啡剂量时保持恒定比率。由于改变了吗啡剂量,6 $\beta$ -纳曲醇剂量被报告为相对于吗啡的比率或被报告为剂量范围。注射纳洛酮后,立即将小鼠放置在透明的塑料容器中,该容器的底部为6平方英寸、高10英寸且具有盖子。录到了戒断跳跃,并且以15分钟的时间间隔对跳跃进行打分。

#### [0086] 统计分析

[0087] 除非另外指明,否则将汇总数据表示为平均值+1 SEM。使用单因素方差分析 (ANOVA) 对连续数据 (药物浓度) 进行分析,并且使用Dunnett过程 (用于一对多的比较) 或t检验 (用于所有对的对比) 进行事后比较。在后一种情况下,使用Hommel方法调节多重比较的p值 (Hommel,G. (1988年) Biometrika第75卷:第383至386页)。对数据进行对数转换以解释异方差性。当将比率值诸如大脑/血浆比率进行比较时,分析前对这些数据进行对数转换以解释比率变量的约束结构 (例如,Heslop,D. (2009年) Geophys.J. Int.第178卷:第159至161页;Schilling K等人 (2012年) J Neurosci.第32卷:第12651至12656页)。考虑到响应为计数变量,使用4-参数对数正态曲线模拟跳跃行为对6 $\beta$ -纳曲醇水平的依赖。在所分析的时间跨度上对AUC进行积分 (例如,从0分钟至240分钟;Wolfsegger,MJ等人 (2009年) J Pharmacokinet Pharmacodyn第36卷:第479至494页)。通过自举获得AUC的置信区间,如Jaki和Wolfsegger (Jaki,T等人 (2009年) Pharmaceutical Statistics第8卷:第12至24页) 中所推荐的。所有统计过程均用R语言 (R Core Team,2015年) 实施:使用multcomp包

(Hothorn, T等人 (2008年) Biometrical Journal第50卷:第346至363页) 进行多重比较, 使用PK包 (Jaki, T等人 (2011年) Pharmaceutical Statistics第10卷:第284至288页) 进行药代动力学分析, 并且使用drc包 (Ritz, C等人 (2005年) Bioassay analysis using R. J. Stat. Softw. 第12卷:第22页) 进行剂量-反应拟合。

**[0088] 用于组织样品中药物定量的液相色谱/质谱分析**

**[0089]** 获得空白小鼠血浆、大脑和肝脏组织, 称重, 并且将其在各个微量离心管中置于干冰上快速冷冻。用Omni-Inc GLH-01匀浆器将大脑和肝脏样品制成单独的组织匀浆, 组织在50%甲醇中的最终浓度为0.5mg/ml。将每种组织等分成100μl并装在1.5ml的微量离心管中, 以供将来用于制作标准曲线或用作QC。

**[0090]** 对于已经定量给药6β-纳曲醇或纳曲酮(对妊娠雌鼠皮下定量给药10.0mg/kg)的妊娠小鼠和胚胎, 切割组织, 称重, 并且将其在各个微量离心管中置于干冰上快速冷冻。随后将其在冰上解冻, 并且用Omni-Inc GLH-01匀浆器均化, 组织在50%甲醇中的最终浓度为0.5mg/ml。分别将小鼠胚胎大脑和小鼠胚胎肝脏合并, 以获得足够的量以供分析。将每种样品等分成100μl并装在1.5ml的微量离心管中。然后向每个标准浓度样品掺入10μl的2000ng/ml内标物 (IS) 纳布啡, 获得200ng/ml的最终浓度。然后添加1ml的4℃100%甲醇来提取用于每个曲线的样品, 剧烈地涡旋混合30秒, 然后在13,000g下离心10分钟。然后将每个管中的液体倾析出新的5ml玻璃试管中。然后将每个管放置在氮蒸发器系统中, 直到完全干燥(约2.5小时)。使用120μl的10mM甲酸铵和0.1%甲酸重新溶解每个管的内容物。涡旋混合管, 并且在13,000g下离心10分钟。然后将80μl上清液与标准曲线样品和质量控制样品一起放置到液相色谱自动进样器兼容的管中, 以供在Thermo Accela UHPLC和Thermo Discovery TSQ三重四极质谱仪上分析。

**[0091]** 如下制备校准标准品。在50%甲醇中制备以下浓度的纳曲醇、纳曲酮和纳曲酰胺的组合稀释系列: 5000ng/mL、2000ng/mL、1000ng/mL、500ng/mL、200ng/mL、100ng/mL、50ng/mL、20ng/mL、10ng/mL和5ng/mL。将10μl每种这些标准品添加到100μl解冻的血浆和组织匀浆中, 以制成500ng/mL、200ng/mL、100ng/mL、50ng/mL、20ng/mL、10ng/mL、5ng/mL、2ng/mL、1ng/mL和0.5ng/mL的最终浓度。然后向每个标准浓度样品掺入10μl的2000ng/ml内标物 (IS) 纳布啡, 获得200ng/ml的最终浓度。然后添加1ml的4℃100%甲醇来提取用于每个曲线的样品。然后将其剧烈地涡旋混合30秒并且在13,000×g下离心10分钟。将每个管中的上清液转移到新的5ml玻璃试管中, 并且在氮蒸发器系统中干燥(约2.5小时)。使用120μl的10mM甲酸铵和0.1%甲酸重新溶解每个管的内容物。涡旋混合管, 将混合液等分到新的微量离心管中并且在13,000g下离心10分钟。将80μl液体转移到自动进样器兼容的管中, 以供分析。将20μl各样品注射到LC-MS系统中。

**[0092]** 对于色谱分离, 使用具有Agilent Zorbax 5μm SB-Phenyl 2.1×50mm柱的Thermo Accela UHPLC以及以下梯度液来分离每个注射样品 (20μl) 的组分: 0.1%甲酸、10mM甲酸铵水溶液, 以及0.1%甲酸、10mM甲酸铵的甲醇溶液。第一个1.0分钟的梯度液由20%甲醇组成, 2.0分钟和2.5分钟分别转变为50%甲醇和90%甲醇。在4.0分钟时, 立即将该组成从90%甲醇切换为20%甲醇, 并且对柱进行平衡直到5.5分钟时运行结束。流速维持在400μl/分钟。

**[0093]** 在电喷雾电离 (ESI) 源处于正离子模式下的Thermo TSQ Quantum Discovery Max

上分析样品。使用单反应监测得到的质量迁移 ( $m/z$ ) 为: 纳曲醇  $344.23 > 254.17$  和  $344.23 > 326.23$ , 纳曲酮  $342.18 > 270.15$  和  $342.18 > 324.21$ , 纳曲酰胺  $385.25 > 211.12$  和  $385.25 > 367.25$ , 以及内标物纳布啡  $358.1 > 340.16$ 。

#### [0094] 结果

#### [0095] 胚胎和成体组织中的6 $\beta$ -纳曲醇和纳曲酮水平

[0096] 先前使用质谱法的研究表明, 成体小鼠注射后10分钟, 6 $\beta$ -纳曲醇的大脑水平为血浆水平的约十分之一, 而纳曲酮 (FDA批准的用于治疗酒精中毒的阿片类拮抗剂) 的水平在血浆和大脑中大致相等 (见Wang, D等人 (2004年) J Pharmacol Exp Ther第308卷: 第512至520页中的表1)。该结果表明, 与纳曲酮相比, 6 $\beta$ -纳曲醇进入成体大脑受限, 这要归因于血脑屏障 (BBB)。然而, 如果6 $\beta$ -纳曲醇能够穿过胎盘, 则其能够进入胎儿大脑, 因为胎儿的BBB未发育。为了测试这一点, 对妊娠和非妊娠的成体雌鼠注射6 $\beta$ -纳曲醇或纳曲酮, 并且使用质谱法测量母体和成体血浆、大脑和肝脏中以及胚胎大脑和肝脏中的药物水平。注射后, 检查四个不同的存活时间。如图1和表1所示, 在注射后20分钟、45分钟和120分钟, 小鼠中的6 $\beta$ -纳曲醇水平在胚胎大脑中显著高于在成体大脑中, 并且4小时后二者均下降到低残留水平。在高峰时, 胚胎大脑中的水平为成体大脑中的水平的约9倍。相比之下, 胚胎和成体肝脏中的水平彼此大致相当, 这表明6 $\beta$ -纳曲醇能够迅速进入胎儿循环系统。此外, 成体和胚胎肝脏中的6 $\beta$ -纳曲醇水平与胚胎大脑中的水平并无显著差异 ( $p > 0.05$ ), 这为6 $\beta$ -纳曲醇未受阻地扩散到胎儿大脑中这一发现提供了支持。

#### [0097]

表 1: 小鼠中成体大脑和肝脏以及胚胎大脑和肝脏中的 6 $\beta$ -纳曲醇水平的时间进程

|                                            | 20 分钟                 | 45 分钟                 | 2 小时                 | 4 小时                |
|--------------------------------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------|---------------------|
| 血浆                                         | 2060 $\pm$ 110 (n=3)  | 930 $\pm$ 220 (n=5)   | 90 $\pm$ 50 (n=4)    | 40 $\pm$ 40 (n=4)   |
| 成体大脑                                       | 260 $\pm$ 70 (n=3)    | 310 $\pm$ 70 (n=7)    | 230 $\pm$ 30 (n=4)   | 110 $\pm$ 40 (n=4)  |
| 胚胎大脑                                       | 1350 $\pm$ 490 (n=2)  | 2780 $\pm$ 1670 (n=3) | 1370 $\pm$ 500 (n=2) | 210 $\pm$ 60 (n=2)  |
| 成体肝脏                                       | 3570 $\pm$ 1360 (n=3) | 3200 $\pm$ 1600 (n=7) | 530 $\pm$ 320 (n=4)  | 280 $\pm$ 160 (n=4) |
| 胚胎肝脏                                       | 2970 $\pm$ 830 (n=2)  | 4400 $\pm$ 2580 (n=3) | 1040 $\pm$ 540 (n=2) | 250 $\pm$ 50 (n=2)  |
| 不同存活时间的纳曲醇水平用 ng/g 组织表示; 剂量= 10mg/kg, 皮下递送 |                       |                       |                      |                     |

[0098] 还使用非房室药代动力学模型来检查测得的6 $\beta$ -纳曲醇水平。胚胎大脑的曲线下面积 (AUC) 为成体大脑的曲线下面积的6倍 (胚胎大脑为  $302 \pm 60 \times 10^3 \text{ ng/ml-分钟}$ , 95%CI 为 146至1060; 成体大脑为  $49 \pm 2 \times 10^3$ , 95%CI 为 44至54; 基于95%置信区间具有显著性)。相比之下, 成体肝脏与胚胎肝脏的AUC没有显著差异 (成体肝脏为  $274 \pm 36 \times 10^3 \text{ ng/ml-分钟}$ , 95%CI 为 208至372; 胚胎肝脏为  $373 \pm 84$ , 95%CI 为 46至1380)。

[0099] 还检查了组织与血浆之间的比率 (KP比率、大脑: 血浆或肝脏: 血浆), 以得到组织排斥或保留的测量结果 (Liu, X等人 (2012年) Drug Metab. Dispos. 第40卷: 第963至969页; Kalvass, J.C等人 (2007年a) Drug Metab. Dispos. 第35卷: 第660至666页)。与先前的结果一

致 (Wang 等人, 2004 年),  $6\beta$ -纳曲醇的成体大脑 KP 比率在存活 20 分钟时为 0.13 ( $p < 0.0001$ , 与 1 具有差异), 并且在存活 45 分钟时为 0.34 ( $p < 0.0001$ , 与 1 具有差异; 还可见表 1), 这表明阻碍了药物进入大脑。基于 AUC 的大脑 KP 比率为 0.58, 并且与基于 95% CI 的 1 具有显著差异, 这又为成体大脑排斥药物 (血浆为  $83 \pm 6 \times 10^3 \text{ ng/ml-分钟}$ , 95% CI 为 70 至  $98 \times 10^3$ ; 成体大脑为  $49 \pm 2 \times 10^3$ , 95% CI 为 44 至  $54 \times 10^3$ ) 提供了支持。与单个时间点相比, 基于在 4 小时内积分的 AUC 计算得到更大的 KP 比率, 反映了小鼠循环系统中比小鼠大脑中更快地清除了  $6\beta$ -纳曲醇 (见图 1); 因此, 非平衡条件下测得的 KP 比率可作为清除率和组织分布的函数随时间变化。

[0100] 相比之下, 注射药物后 45 分钟, 胎儿大脑: 母体血浆 KP 比率为 2.7 ( $p < 0.05$ , 与 1 具有差异; 见图 1 和图 2), 并且注射后 120 分钟, 该比率为 15.7 ( $p < 0.01$ , 与 1 具有差异) (见图 1 和图 2)。在较早时间点 (注射后 20 分钟), 胎儿大脑 KP 比率与 1 没有显著差异 ( $p > 0.05$ ), 这表明药物迅速进入胎儿大脑, 并且比在母体血液中更长时间地存留 (图 1)。基于非房室 AUC 的胎儿大脑 KP 比率为 3.6, 与 1 具有显著差异 (母体血浆为  $83 \pm 6 \times 10^3 \text{ ng/ml-分钟}$ , 95% CI 为 70 至  $98 \times 10^3$ ; 胎儿大脑为  $302 \pm 60 \times 10^3$ , 95% CI 为 146 至  $1060 \times 10^3$ )。类似地, 胎儿肝脏基于 AUC 的 KP 比率为 4.3, 成体肝脏为 2.6。因此, 与成体大脑对  $6\beta$ -纳曲醇的相对排斥相比, 胎儿大脑、和胎儿肝脏和成体肝脏中的药物水平始终高于血浆中的药物水平。由于迅速清除作用, 注射后 2 小时与 4 小时之间, 所有组织中的  $6\beta$ -纳曲醇大量耗尽 (图 1 和表 1)。

[0101] 与成体大脑对  $6\beta$ -纳曲醇的相对排斥相比, 纳曲酮 (母体化合物) 可自由进入大脑 (表 4), 这确认了先前的结果 (见 Kastin, AJ 等人 (1991 年) *Pharmacol Biochem Behav* 第 40 卷: 第 771 至 774 页; Wang, D 等人 (2004 年) *J Pharmacol Exp Ther* 第 308 卷: 第 512 至 520 页)。成体大脑中低  $6\beta$ -纳曲醇水平和高纳曲酮水平的对比突出了完整 BBB 对  $6\beta$ -纳曲醇的相对排斥。

[0102]

表 4: 成体大脑和肝脏以及胚胎大脑和肝脏中的纳曲酮水平的时间进程

|      | 20 分钟      | 45 分钟                | 2 小时                | 4 小时     |
|------|------------|----------------------|---------------------|----------|
| 血浆   | 1880 (n=1) | $620 \pm 380$ (n=3)  | $130 \pm 90$ (n=3)  | 4 (n=1)  |
| 成体大脑 | 3230 (n=1) | $1470 \pm 640$ (n=3) | $250 \pm 120$ (n=3) | 18 (n=1) |
| 胚胎大脑 | ND         | 2610 (n=1)           | 500 (n=1)           | ND       |
| 成体肝脏 | 2100 (n=1) | $1390 \pm 890$ (n=3) | $360 \pm 270$ (n=3) | 32 (n=1) |
| 胚胎肝脏 | ND         | 3190 (n=1)           | 620 (n=1)           | ND       |

不同存活时间的纳曲酮水平用 ng/g 组织表示; 剂量 = 10mg/kg, 皮下递送

[0103]  $6\beta$ -纳曲醇的累积注射

[0104] 尽管  $6\beta$ -纳曲醇被相对地排除在成体大脑之外, 但其可能在多次定量给药后慢慢聚积, 因为从大脑排出的速度缓慢。因此, 进行了实验来确定在慢性递送后, 尤其是通过保留在成体大脑中  $6\beta$ -纳曲醇是否随时间推移在组织中聚积。在 24 小时时间段内注射  $6\beta$ -纳曲醇 4 次 (每 6 小时一次), 最后一次定量给药后 4 小时测量胎儿组织和母体组织中的  $6\beta$ -纳曲醇

水平,并且相较于单次注射存活4小时后对聚积水平进行评估。如表2所示,累积注射后,6β-纳曲醇水平出现少量增加,在所有组织中平均为约1.5倍。然而,这并不显著( $p>0.2$ )。而且,6β-纳曲醇趋向于更多地聚积在肝脏中,而不是大脑中( $p=0.084$ ,4次注射后对成体肝脏与成体大脑进行比较)。同样,6β-纳曲醇趋向于更多地聚积在胚胎中,而不是成体中( $p=0.063$ ,4次注射后对胎儿大脑与成体大脑进行比较)。这些结果表明,尽管6β-纳曲醇进入成体大脑有些受限,但在多次注射后这种受限基本上不会保持,这是与潜在的治疗剂量方案相关的发现。

[0105]

| 表 2: 4 小时存活时间点的 6β-纳曲醇的存活注射与累积注射的比较。    |               |               |
|-----------------------------------------|---------------|---------------|
|                                         | 注射 1 次        | 24 小时内注射 4 次  |
| 血浆                                      | 40±40 (n=4)   | 60±20 (n=2)   |
| 成体大脑                                    | 110±40 (n=4)  | 160±20 (n=2)  |
| 胚胎大脑                                    | 210±60 (n=2)  | 290±40 (n=2)  |
| 成体肝脏                                    | 280±160 (n=4) | 360±50 (n=2)  |
| 胚胎肝脏                                    | 250±50 (n=2)  | 500±190 (n=2) |
| 存活时间为 4 小时, 用 10mg/kg 6β-纳曲醇注射 1 次与 4 次 |               |               |

[0106] 出生后发育期间大脑中的6β-纳曲醇水平的分析

[0107] 综合以前的研究证明了啮齿类动物出生时具有强烈的戒断行为,这种反应在大鼠中较弱(Enters EK等人(1991年)Neurotoxicol Teratol.第13卷:第161至166页;Robinson SE等人(2001年)J Pharmacol Exp Ther.第298卷:第797至804页),在小鼠中不存在(Richardson KA等人(2006年)ILAR J.第47卷:第39至48页)。在妊娠大鼠中使用相同的阿片递送模式,出生后7天可检测到更强烈的戒断行为,并且类似地,如果在出生后7天(PD7)的任何时间通过在大鼠幼崽中直接注射来递送吗啡,可用纳洛酮诱导强烈的预戒除戒断行为(Jones,KL等人(1995年)Behav.Neurosci.第109卷:第1189至1198页)。新生啮齿类动物对可容易观察到的依赖行为产生不应性,可能至少部分归因于大脑的发育状态:刚出生小鼠和大鼠的大脑在发育上等同于妊娠中三月早期的人类(Clancy B等人(2001年)Neurosci.第105卷:第7至17页;Workman AD等人(2013年)J Neurosci.第33卷:第7368至7383页)。这种啮齿类动物-人类发育差异还延伸到BBB:普遍认为人类BBB在出生时或在出生后不久就几乎发育完全,但在小鼠中存在争议,小鼠BBB可能直到PD14或更晚才会发育(Lossinsky AS等人(1986年)Dev Neurosci第8页:第61至75页;Ribatti D等人(2006年)Anat Rec B New Anat.第289卷:第3至8页)。如果真是这样的话,那么出生后早期啮齿类动物可用作模型,来测试6β-纳曲醇对阿片类依赖行为的BBB依赖预防效果。因此确定了小鼠大脑排斥6β-纳曲醇的出生后发育时间进程。

[0108] 在PD7、PD14、PD20、PD32和PD50,对小鼠进行单次6β-纳曲醇注射,并且在45分钟后测量药物水平(添加胚胎和成体的数据,以供比较)。如图2A所示,在出生后发育期间,小鼠

血浆、大脑和肝脏中的6 $\beta$ -纳曲醇水平在宽范围内变化,这是由清除率的剧烈变化引起的。成体中的血浆水平从PD7的3660+350ng/ml逐渐下降到PD32的170+30ng/ml,然后返回到930+220ng/ml。大脑和肝脏中的水平大致沿循相同的一般模式,其中肝脏中的值远远超过所有其他组织中的那些值,尤其是在出生后发育早期(PD7和PD14)。最重要的是,大脑中的6 $\beta$ -纳曲醇从ED17一直稳定到PD14,但在PD20前急剧下降,这表明BBB在PD14至PD20的时间段内发育。然而,由于6 $\beta$ -纳曲醇清除的剧烈变化导致在PD20和PD32处所有组织中的水平极低,因此这种解释被复杂化。显然,在45分钟存活时间点,如果6 $\beta$ -纳曲醇几乎完全从系统清除,则不能准确评估组织间的比率。然而,研究施用后20分钟的数据表明在PD20和PD32大脑对6 $\beta$ -纳曲醇产生明显的有效排斥(图2B)。表3汇总了就指定存活时间点的大脑:血浆和肝脏:血浆的K<sub>p</sub>比率,表明在PD20或更大年龄处大脑中的水平低于血浆中的水平(比率在0.22至0.35的范围内)。相比之下,在所有年龄,肝脏中的水平均高于血浆中的水平(K<sub>p</sub>比率在1.3至4.2的范围内)。因此,大脑从PD20开始对6 $\beta$ -纳曲醇产生排斥,这对于该组织而言是独有的。而且,在所有年龄,纳曲酮的大脑:血浆比率大于1(图4),这与先前报告的跨越BBB的能力一致(Kastin,AJ等人(1991年)Pharmacol Biochem Behav第40卷:第771至774页;Wang,D等人(2004年)J Pharmacol Exp Ther第308卷:第512至520页)。这与6 $\beta$ -纳曲醇的数据形成鲜明对比。

[0109]

表 3: 小鼠出生后发育期间的 6 $\beta$ -纳曲醇的大脑和肝脏的 K<sub>p</sub> 比率

| 年龄                           | 存活时间(分钟) | 血浆<br>(ng/ml) | 大脑<br>(ng/g) | 肝脏(ng/g)   | 大脑:血浆 | 肝脏:血浆 |
|------------------------------|----------|---------------|--------------|------------|-------|-------|
| PD7                          | 45       | 3513          | 3030±340     | 15220±1750 | 0.86  | 4.3   |
| PD14                         | 45       | 1410±370      | 2860±800     | 5050±1260* | 2     | 3.6   |
| PD20                         | 20       | 1070±100      | 350±20*      | 1830±70*   | 0.33  | 1.7   |
| PD32                         | 20       | 1160±730      | 260±80       | 1510±640   | 0.22  | 1.3   |
| PD50                         | 45       | 430±40        | 150±10*      | 820±80*    | 0.35  | 1.9   |
| * p < 0.05, 对于大脑或肝脏与血浆进行比较而言 |          |               |              |            |       |       |

[0110] 6 $\beta$ -纳曲醇对依赖行为的抑制

[0111] 考虑到在PD20之前6 $\beta$ -纳曲醇以高水平持续渗透大脑,进行了实验来确定伴随施用6 $\beta$ -纳曲醇是否会减少预戒除年龄小鼠中的戒断行为。基于对出生后早期大鼠和成体小鼠的研究调整吗啡定量给药计划(Kest B等人(2002年)Neuroscience第115卷:第463至469页;Jones,KL等人(1995年)Behav.Neurosci.第109卷:第1189至1198页)。从P12开始,给小鼠单独注射吗啡,共同注射吗啡和浓度增大的6 $\beta$ -纳曲醇,或者单独注射盐水,持续6天。然后通过注射纳洛酮诱导戒断。出现了成体戒断行为的强烈跳跃特征(Kest B等人(2002年)Neuroscience第115卷:第463至469页),但据我们所知,先前未对预戒除小鼠或大鼠进行相

关报道。如图3A所示,这种行为由浓度增大的6 $\beta$ -纳曲醇抑制,其抑制剂量50 (ID<sub>50</sub>) 为0.022mg/kg至0.044mg/kg,为吗啡剂量的1/450。在测试最高剂量即0.5mg/kg至1.0mg/kg (=吗啡剂量的1/20) 时,戒断跳跃减少了94%。测试最低6 $\beta$ -纳曲醇剂量即0.0033mg/kg至0.0066mg/kg (=吗啡剂量的1/3000) 时,跳跃减少了20%。6 $\beta$ -纳曲醇对跳跃行为的影响还取决于时间因素(图3B)。随着6 $\beta$ -纳曲醇水平增加,在15分钟测试回合内观察到的跳跃递增地延迟。另外,未在图中示出,首次跳跃的延迟从未施用6 $\beta$ -纳曲醇的38+8秒增加到施用最低6 $\beta$ -纳曲醇剂量(吗啡剂量的1/3000) 的128+44秒( $p=0.05$ )、增加到施加0.01mg/kg至0.02mg/kg(吗啡剂量的1/1000) 的118+31秒( $p<0.05$ )、增加到施加0.05mg/kg至0.1mg/kg(吗啡剂量的1/200) 的163+46秒( $p<0.05$ )、增加到施加0.15mg/kg至0.3mg/kg(吗啡剂量的1/67) 的345+54秒( $p<0.001$ )。因此,即使施加极低的剂量,6 $\beta$ -纳曲醇也能减少戒断跳跃。检查前三个时间箱(直到4.5分钟;见图3B),在未施用6 $\beta$ -纳曲醇的情况下,出现73+28次总跳跃,在施用0.0033mg/kg药物的情况下,趋向于减少到37+29次跳跃,未完全达到显著( $p=0.07$ )。接下来施用最高6 $\beta$ -纳曲醇剂量即0.01mg/kg和0.05mg/kg时,跳跃下降达到显著( $p<0.05$ ;图3B中的星号)。

[0112] 在治疗期间,单独施用吗啡对体重增长具有显著抑制作用,增大6 $\beta$ -纳曲醇的伴随剂量可以缓解这种抑制作用(图3C)。通过该过程测试的所有条件和所有动物的存活率均为100%。在由于吗啡而出现体重低幅增长的小鼠中,通常在治疗后7至10天恢复正常体重。

#### [0113] 讨论

[0114] 该实施例确定了用于预防正接受阿片类维持治疗的母亲所生的新生儿的NAS的新模式。阿片类拮抗剂大部分被排除在母体大脑之外(使得能够继续阿片类治疗),但能够渗透胎盘和胎儿中不成熟的BBB,这可保护胎儿不受阿片类暴露的影响,从而预防NAS。先前的研究已经表明,阿片类拮抗剂(6 $\beta$ -纳曲醇)在充当外周中的强效拮抗剂时大部分被排除在大脑之外(Wang, D等人(2004年) *J Pharmacol Exp Ther* 第308卷:第512至520页); Yancey-Wrona JE等人(2009年) *Life Sci.* 第85卷:第413至420页; Yancey-Wrona J等人(2011年) *Pain Med.* 第12卷:第1727至1737页),从而限制了阿片类在外周中的不利效果诸如便秘。本文为以下内容提供了证据:6 $\beta$ -纳曲醇容易进入胎儿循环系统和胎儿大脑,从而导致胎儿中的水平大幅高于母体大脑中的水平。

[0115] 还检查了BBB尚未成熟时6 $\beta$ -纳曲醇预防预戒除幼年小鼠中的阿片类依赖的能力。当在小鼠BBB尚未发育时在一段时间内连续几天与吗啡组合施用时,6 $\beta$ -纳曲醇以极强效能预防戒断行为,这要归因于其容易进入缺乏完整BBB保护的新生儿大脑(ID<sub>50</sub> 0.022mg/kg至0.044mg/kg)。该6 $\beta$ -纳曲醇剂量为用于诱导依赖的吗啡剂量的约1/500,并且为用于阻止成体中的阿片镇痛作用的6 $\beta$ -纳曲醇的ID<sub>50</sub>的1/20至1/500,具体取决于所用的激动剂和施用途径(和时序)(Yancey-Wrona JE等人(2009年) *Life Sci.* 第85卷:第413至420页; Wang D等人(2001年) *J Neurochem.* 第77卷:第1590至1600页; Sirohi S等人(2009年) *J Pharmacol Exp Ther.* 第330卷:第513至519页)。即使以吗啡剂量的1/3000施用6 $\beta$ -纳曲醇,也有20%的可计量戒断行为减少,这一观察结果进一步突出了6 $\beta$ -纳曲醇具有极强效能。6 $\beta$ -纳曲醇的功效也相当高,在本实施例所测试的最高剂量下,几乎完全抑制幼年戒断行为(94%)。基于这些结果,6 $\beta$ -纳曲醇可用于正在接受阿片类维持治疗的妊娠妇女,以选择性地阻止胎儿依赖,而不干扰母亲的疼痛和/或维持治疗。

[0116] 大部分现有NAS治疗方案依赖于减轻症状的严重程度,但不是预防性的。最近,一种5-HT拮抗剂昂丹司琼进入临床试验,通过在生产前不久经母体递送该拮抗剂并且在产后继续递送来预防NAS症状(Elkomy MH等人(2015年)Clin Pharmacol Ther.第97卷:第167至176页)。然而,尽管这种治疗被设计用于减少在ICU中停留的时间,但不期望这种治疗预防出现依赖和任何相关发育后果。这些结果表明,用6 $\beta$ -纳曲醇对母亲进行产前治疗可与其他姑息治疗组合,以大幅减轻NAS。妊娠期胎儿阿片类依赖的任何减少可对胎儿发育、足月分娩、体重增长以及NAS的短期和长期后遗症产生相当大的益处。

[0117] 本实施例进一步揭示了小鼠整个发育年龄期间6 $\beta$ -纳曲醇和纳曲酮清除的实质变化。据报道,45种药物(包括葡萄糖醛酸化药物,诸如吗啡)的半衰期在整个人类早期发育中具有类似特性(Ginsberg G等人(2002年)Toxicol Sci.第66卷:第185至200页)。所研究的药物通常在早产和足月新生儿中表现出较长半衰期,然后在出生后几个月半衰期逐渐减小,甚至低于在成体中的值,之后恢复到成体水平。该时间进程至少部分归因于出生后早期的肝脏和肾脏系统不成熟。所公开的实施例表明,6 $\beta$ -纳曲醇水平从胚胎形成到出生后前两周具有惊人的稳定性,在此之后,由于清除增强该水平急剧下降。这表明,除了已知的与出生时的人类相比,小鼠大脑发育延迟,还存在发育过程延迟,从而影响出生后时期的药物代谢和肾脏清除(6 $\beta$ -纳曲醇由肾脏或通过代谢清除)。

[0118] 总之,6 $\beta$ -纳曲醇的以下组合特性表明其对NAS的预防性治疗具有实用性和重要性:1) $\mu$ -阿片类受体的中性拮抗剂,与纳洛酮和纳曲酮相比,具有引起戒断的较低倾向;2)成体CNS对其具有相对排斥性;以及3)其能够进入胎儿循环系统和大脑。除了其效能和功效,6 $\beta$ -纳曲醇还是FDA批准用于治疗酒精中毒的纳曲酮在人体中(但不是小鼠中)的主要代谢物(Pettinati,H.M等人(2006年)Journal of clinical psychopharmacology第26卷:第610至625页)。因此,6 $\beta$ -纳曲醇已知的安全特性可促进其在妊娠妇女中的使用。

[0119] 除非另有定义,否则本文所用的所有技术和科学术语的含义与所公开的发明所属领域的技术人员通常理解的含义相同。本文中引述的出版物及其中引述的材料明确地以引用方式并入。

[0120] 本领域的技术人员将认识到或能够使用不超过常规实验来探知本文所述发明的具体实施方案的许多等同物。此类等同物旨在由以下权利要求书涵盖。

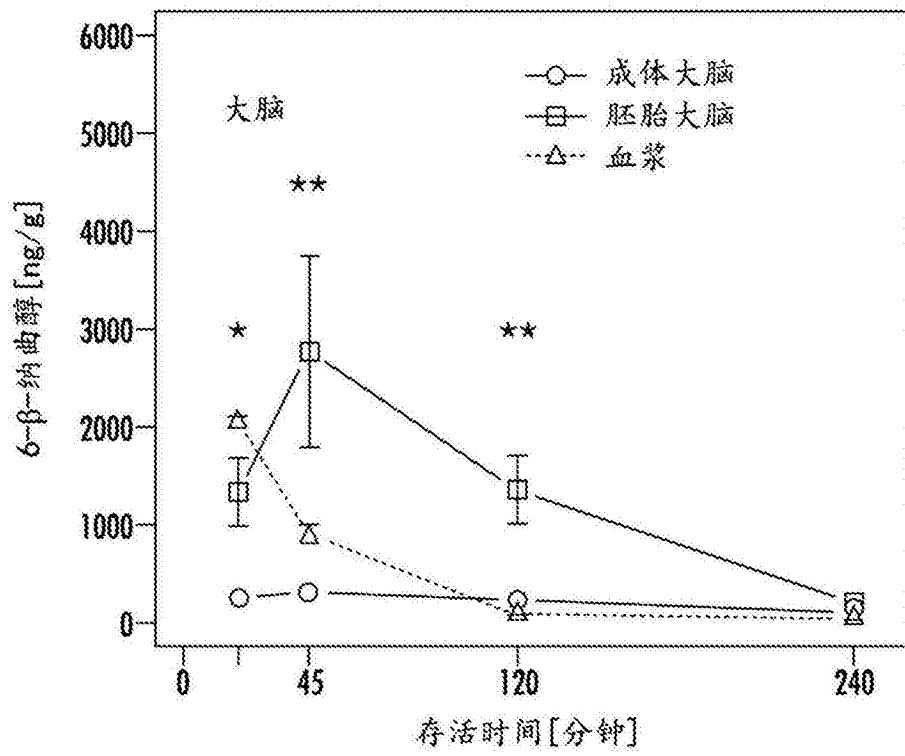


图1A

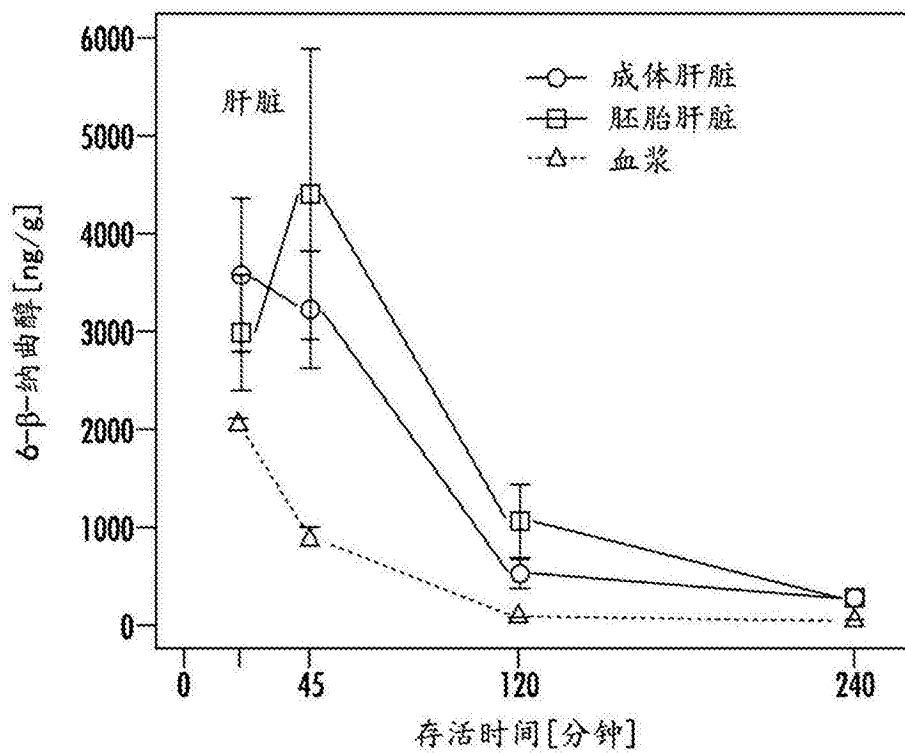


图1B

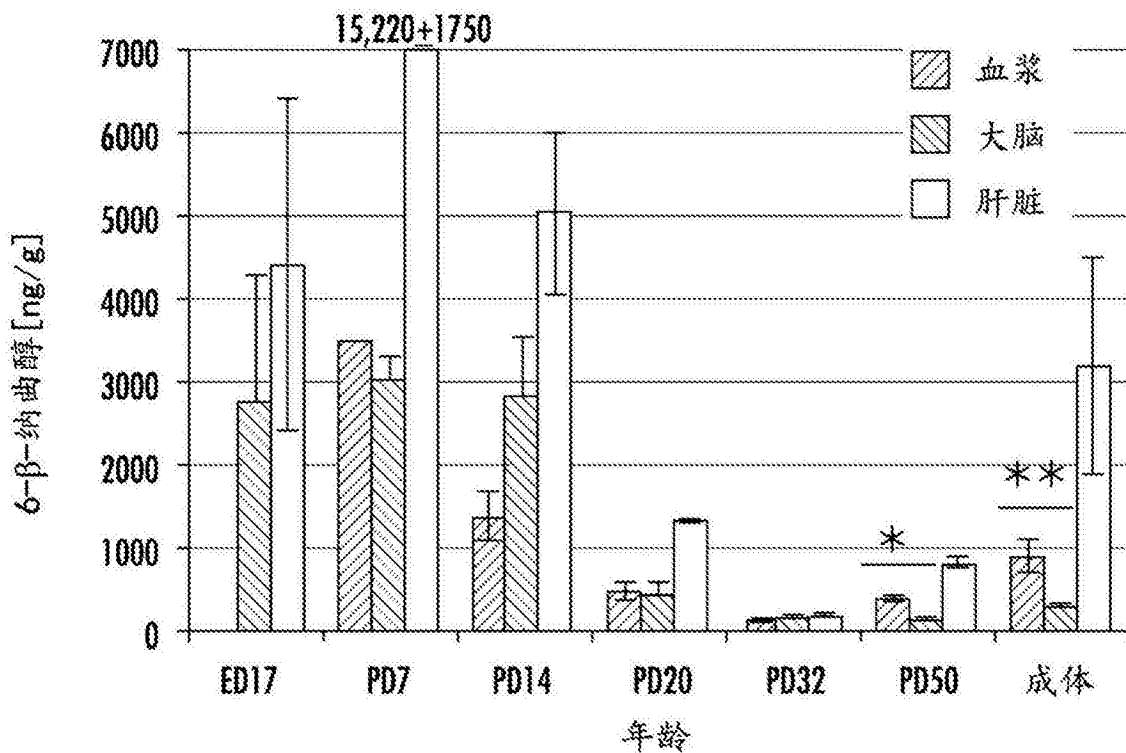


图2A

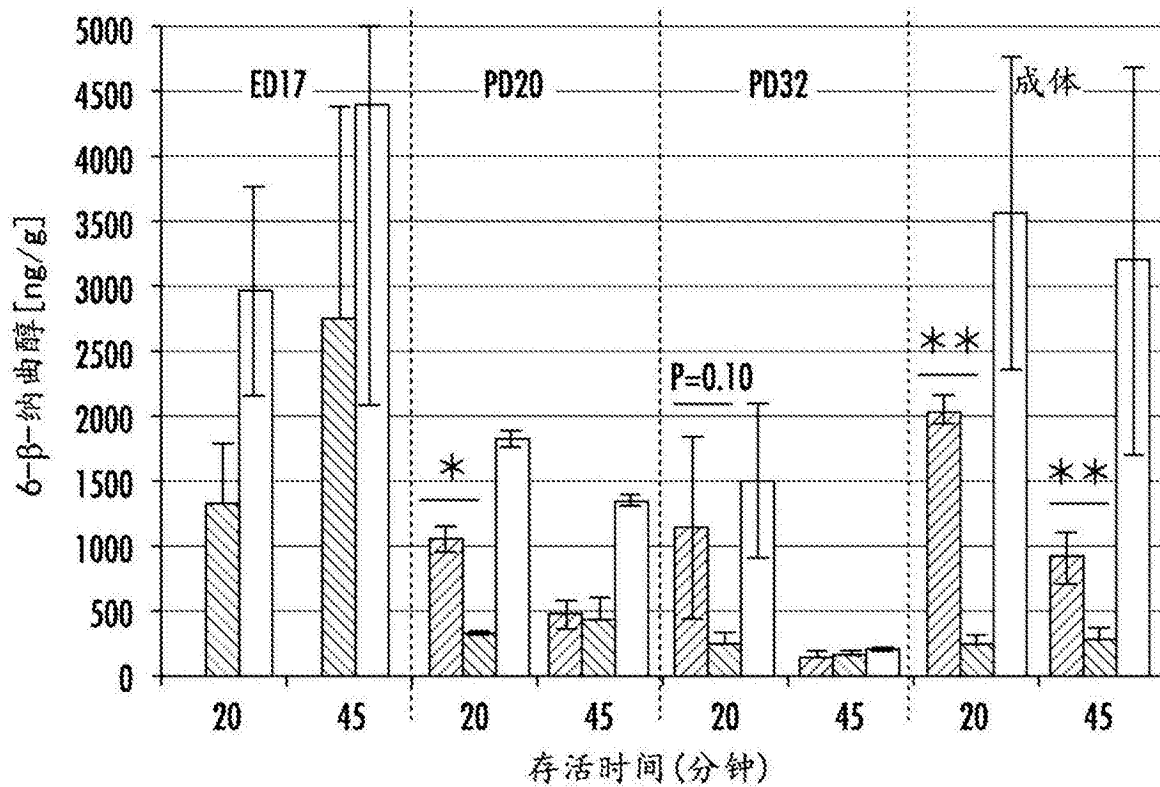


图2B

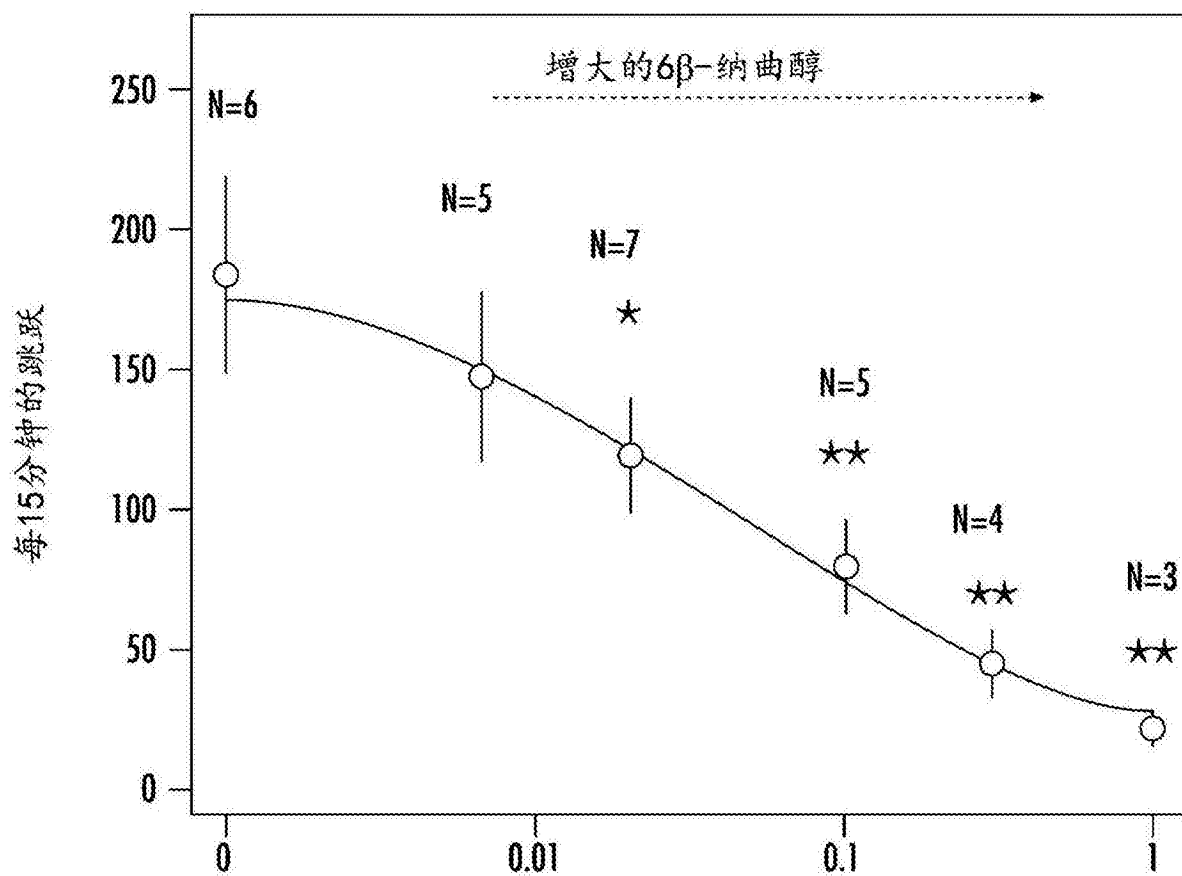


图3A

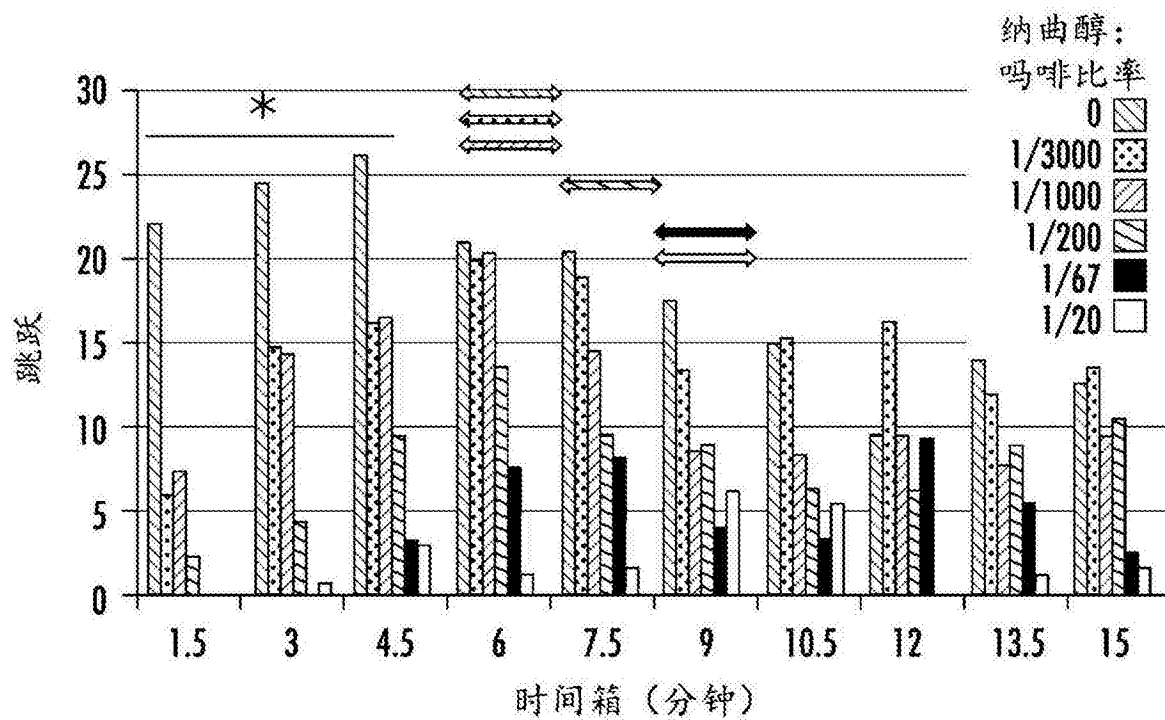


图3B

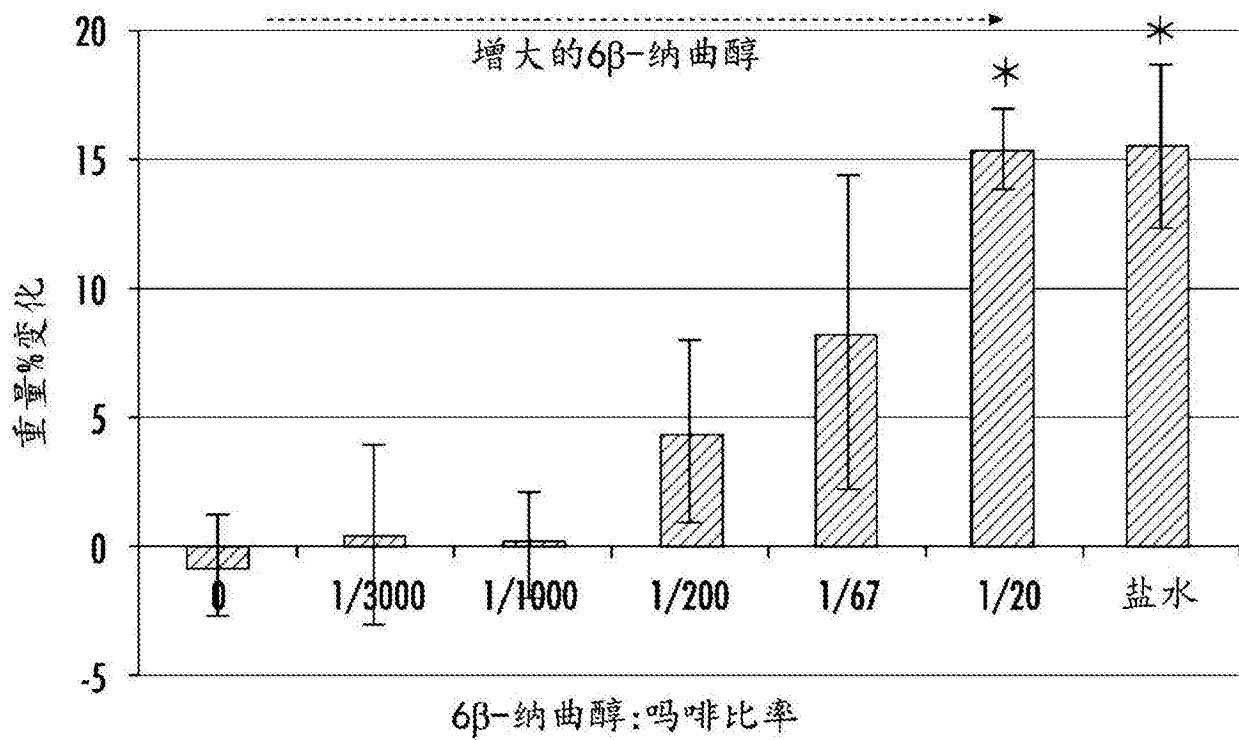


图3C

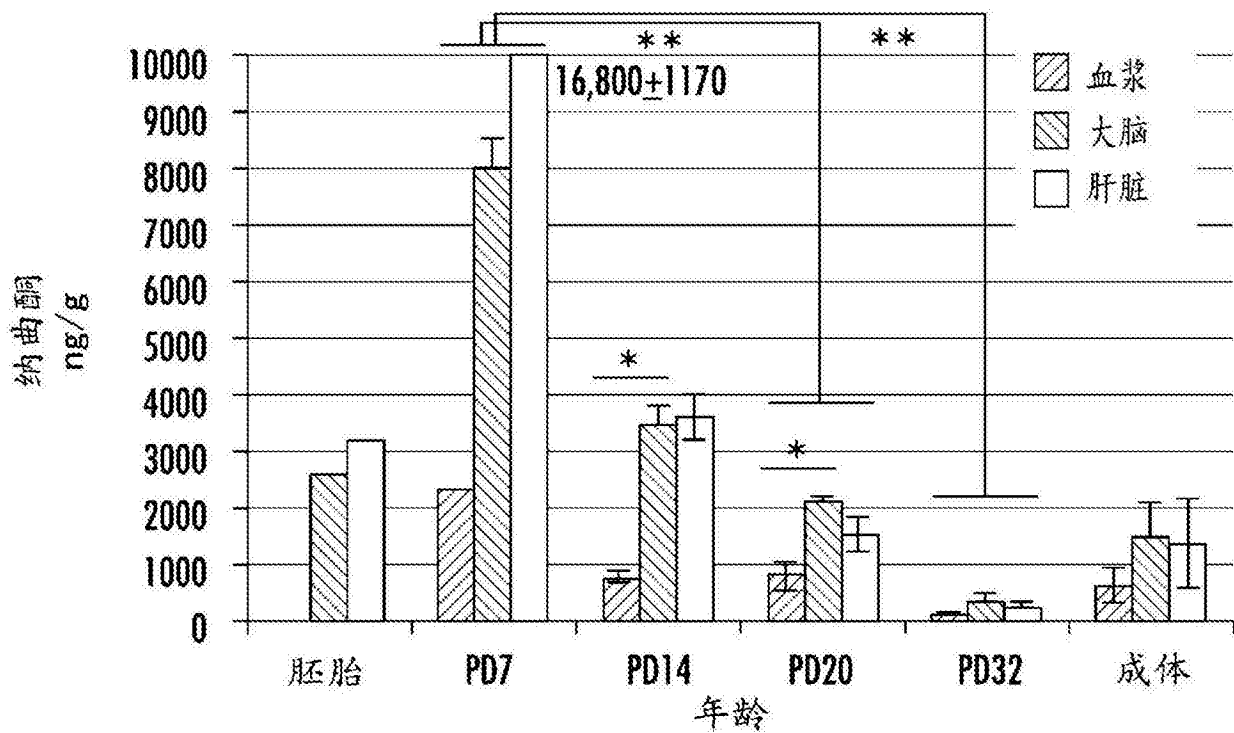


图4