

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200580044869.5

[51] Int. Cl.

A61K 31/40 (2006.01)

A61K 31/135 (2006.01)

A61K 31/166 (2006.01)

[43] 公开日 2007 年 12 月 12 日

[11] 公开号 CN 101087603A

[22] 申请日 2005.11.7

[21] 申请号 200580044869.5

[30] 优先权

[32] 2004.11.5 [33] FR [31] 0411810

[86] 国际申请 PCT/FR2005/002775 2005.11.7

[87] 国际公布 WO2006/048560 法 2006.5.11

[85] 进入国家阶段日期 2007.6.26

[71] 申请人 特里马兰有限公司

地址 英国赫特福德

[72] 发明人 M·桑谢斯

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利商
标事务所
代理人 胡国群

权利要求书 3 页 说明书 27 页 附图 9 页

[54] 发明名称

新型药物组合物及其用于对抗不同形式的药物成瘾的用途

[57] 摘要

本发明涉及生活必需品领域，特别是治疗学领域。更具体地，本发明涉及用于帮助成瘾性药物的常用者进行戒除的药物组合物，所述组合物是两种药物的组合形式，其由多巴胺能受体(特别是受体 D2 和 D3)的部分或完全拮抗剂和促多巴胺能产品组成，所述组合物用于口服、肠胃外或经皮肤施用。本发明还涉及用于对抗不同形式的合法药物或非法药物成瘾的方法。

1. 新型药物组合物，其优选以试剂盒的形式存在，所述组合物包含准备同时或相继使用的两种药物的组合，所述组合物由多巴胺能受体的部分或完全拮抗剂和促多巴胺能产品的联合组成，所述多巴胺能受体的部分或完全拮抗剂和促多巴胺能产品与惰性的、无毒的并适合于通过口服、肠胃外或经皮肤途径施用的赋形剂或载体相混合或联合。

2. 根据权利要求 1 的药物组合物，其中所述多巴胺能受体的拮抗剂是受体 D2 和/或 D3 的拮抗剂。

3. 根据权利要求 1 或 2 的药物组合物，其中所述多巴胺能拮抗剂是受体 D2 和 D3 的拮抗剂。

4. 根据权利要求 1-3 中任一项的药物组合物，其中所述多巴胺能拮抗剂是还呈现出 5-羟色胺能组分的分子。

5. 根据权利要求 1-4 中任一项的药物组合物，其中所述多巴胺能拮抗剂选自氨磺必利、利培酮、称为 SB 277011-A 的 D3 拮抗剂、舒必利、甲氧氯普胺和奥氮平。

6. 根据权利要求 1-5 中任一项的药物组合物，其中所述多巴胺能拮抗剂是经拆分的形式的氨磺必利，尤其是 S(-)氨磺必利。

7. 根据权利要求 1 的药物组合物，其中所述促多巴胺能产品是能够结合在阿片样物质受体上或者结合在能够以稳定的方式激发多巴胺能系统的系统上的物质。

8. 根据权利要求 1 和权利要求 7 的药物组合物，其中所述促多巴胺能产品选自美沙酮、丁丙诺啡、称为 LAM 的产品、烯丙吗啡、naltrexate 和左洛啡烷。

9. 根据权利要求 1 的药物组合物，其还含有精神安定剂。

10. 根据前述权利要求中任一项的药物组合物，其中所述多巴胺能拮抗剂和促多巴胺能产品的联合以确定的单一药物组合物的形式存在。

11. 根据权利要求 1-9 中任一项的药物组合物，其中所述多巴胺能拮抗剂和促多巴胺能产品的联合以试剂盒的形式存在，所述试剂盒含有

分开形式的每种活性成分。

12. 根据前述权利要求中任一项的药物组合物，其中所述两种活性成分的联合以两种相同的药物形式存在。

13. 根据前述权利要求中任一项的药物组合物，其中所述两种活性成分的联合以两种不同的药物形式存在。

14. 根据前述权利要求中任一项的药物组合物，其中抗多巴胺能物质的剂量是 0.3 - 1200 mg/单次摄取。

15. 根据权利要求 14 的药物组合物，其中外消旋氨磺必利或 S(-) 异构体形式的氨磺必利的剂量是 200 - 1200 mg/单次摄取。

16. 根据权利要求 1 的药物组合物，其中促多巴胺能物质的剂量是 0.2 - 300 mg。

17. 根据权利要求 1 的药物组合物，其特征在于，所述药物组合物由剂量为 100 - 400 mg/单次摄取的氨磺必利的片剂和剂量为 0.2 - 100 mg/单次摄取的促多巴胺能物质的片剂形成。

18. 根据权利要求 1 的药物组合物，其中用于快速代谢者的促多巴胺能物质的剂量处于 200 - 300 mg 的量级。

19. 根据权利要求 1 的药物组合物，其特征在于，所述药物组合物以试剂盒的形式存在，所述试剂盒含有两个小瓶，其中一个装有抗多巴胺能物质的固体或液体制剂，另一个装有促多巴胺能物质的液体制剂。

20. 根据权利要求 1 的药物组合物，其由以外消旋或对映体纯的形式氨磺必利或其盐和美沙酮的联合组成，其特征在于，所述药物组合物含有 100 - 400 mg/单次摄取的氨磺必利和 0.2 - 30 mg/单次摄取的丁丙诺啡。

21. 根据权利要求 1 的药物组合物，其以试剂盒的形式存在，所述试剂盒包含氨磺必利的药物学上合适的第一剂和美沙酮的药物学上合适的第二剂，所述氨磺必利以碱的形式或盐的形式、外消旋形式或对映体形式存在，剂量为 100 - 400 mg/单次摄取，所述美沙酮的剂量为 5 - 60 mg/单次摄取。

22. 根据权利要求 1 的药物组合物，其由利培酮和多巴胺能激动剂

的联合组成，其特征在于，所述药物组合物含有 1 - 16 mg 的利培酮。

23. 根据权利要求 1 的药物组合物，其由氨磺必利和丁丙诺啡、纳曲酮或烯丙吗啡的联合组成，其特征在于，所述药物组合物含有 400 - 1200 mg/单次摄取的氨磺必利和 0.2 - 30 mg/单次摄取的丁丙诺啡或纳曲酮或烯丙吗啡。

24. 根据权利要求 1 的药物组合物，其用于以每天 1 - 4 次的频率施用。

25. 用于对抗不同形式的合法或非法药物成瘾的方法，所述方法包括，同时或不连续地，以单个的或分开的药物形式，给显示出成瘾现象的受试者施用足够且有效量的多巴胺能拮抗剂和多巴胺能激动剂的联合。

新型药物组合物及其用于对抗 不同形式的药物成瘾的用途

本发明涉及生活必需品领域，更特别地涉及治疗学领域。

更具体地，本发明涉及用于以有力的方式帮助成瘾性药物的常用者恢复戒除，并由此使得他们恢复正常的社会和/或职业活动的药物组合物。

成瘾（或依赖）可定义为一种行为障碍，其特征不在于强迫性地寻求引起这种依赖的产品，而不顾对于健康、家庭生活、职业生活等的有害后果，具有依赖性的人完全意识到这一点。

这种行为失控在重复消费后出现，但对于海洛因和阿片样物质，从滥用这些物质到成瘾的过程可以非常短。这取决于一些对于每个个体来说固有的遗传和环境参数。

这种依赖归因于过量和重复地刺激阿片样物质受体，特别是 μ 型受体（Matthes 等人，Nature 1996, 383, 819-823），更特别地在形成边缘系统的脑结构（腹侧被盖区、伏隔核（noyau accumbens）、杏仁核、前额皮质等）中。然后逐渐出现神经元功能的改变，其维持了这种依赖状态，而且尤其引起该物质的效果的非常强并且非常长时间的暂留。

这些的特征在于以下效果：消费者的镇静、欣快、内在张力减小。此外，存在称为“快感（rush）”的“高潮”愉悦效果，其是例如在注射海洛因后产生的。这种物质和阿片样物质或非常易成瘾的其他药物（例如可卡因）的作用反过来引起神经元控制系统的兴奋，这导致相反的作用，即焦虑、烦躁不安等。这种相反的作用特别在停止消费药物时出现。这就是“戒断综合症”，其是非常痛苦的，并在大多数情况下，在短时间内导致重复复发。

减少这种使依赖性人依恋于其药物的非常痛苦的状态的一种方式

是，寻求通过避免“快感”的着迷状态和治疗导致成瘾的主要行为障碍的起因来稳定患者。

通过用也能刺激阿片样物质受体但强度较小的物质代替海洛因或其他成瘾性阿片样物质，已经获得了最惊人的成功，并且这有着多种不同的原因。对于一些原因，涉及导致该阿片样物质缓慢且长时间浸渗脑的药物动力学问题。因此，受体决不会像用海洛因刺激它们一样受到强烈刺激，但是它们所受的刺激足以使患者不会遭受缺少状态，和不会遭受对于给自己提供该“物质”的无法控制的需要（渴望）。这就是美沙酮（完全激动剂）的情形，其在美国自1964年以来用于海洛因的替代治疗，并于1973年通过FDA批准。越来越多使用的另一种物质是丁丙诺啡，它是阿片样物质受体 μ 的部分激动剂，具有长的作用时间。因而，即使采用高剂量，丁丙诺啡也不能导致先前所述的快感。

这些替代治疗提供了显著效果但具有一个主要的缺点。它们仅引起成瘾的稍微减轻，因此对海洛因依赖的人在许多年内（多达20-30年）需频繁地用例如美沙酮治疗。因而要面临一种对替代物质的依赖。

显然，理想的是找到一种能显著促进获得戒除的疗法。不过，在阿片样物质的欣快作用中所牵涉的神经递质是多巴胺，其由多巴胺能末梢释放，特别是在伏隔核和前额皮质中。多巴胺基本上与受体D1、D2和D3相互作用，从而产生快乐的效果。

通过精神安定药阻断这些受体用于一些主要的障碍中，例如精神分裂症、惊惶危象（*crises de panique*）或全身性焦虑。这种类型的治疗通常在患者中导致烦躁不安的状态，使得快乐效果和社会活动减少。

完全出乎意料，作为本专利申请的目的，本发明在于：用多巴胺能受体，特别是D2和/或D3型的多巴胺能受体的拮抗剂治疗对海洛因和对阿片样物质依赖但还对精神刺激物（例如可卡因）较小程度依赖的人，从而引起导致强迫性地寻求成瘾性物质的内在紧张状态得以迅速改善。

然而，这种显著的改善只有在将这些拮抗剂同时或者与替代产品（美沙酮、丁丙诺啡、LAM（左旋- α -乙酰美沙醇））或所有声称具有作用于阿片样物质受体这种性质的其他物质相联合地施用时才能获得。

因此，当施用这两种物质（多巴胺能拮抗剂和促多巴胺能产品）时，所述联合能够产生抗成瘾作用，至少在治疗的初始几周期间产生。

没有完整地解释这一发现，其是临床试验研究的成果。

依赖性患者的身体状况的改善是这样的，即其使得能够非常迅速地找到强迫性行为（其为成瘾的特征）的根本原因。

因此，具体地，本发明的目标是用于促进戒断的包含两种药物的组合的药物组合物，其优选为试剂盒的形式，用于同时或相继施用，所述药物组合物由多巴胺能受体（特别是受体 D2 和 D3）的部分或完全拮抗剂和促多巴胺能产品（优选为阿片样物质的替代产品）的联合组成，并且为用于通过口服、肠胃外或经皮肤途径进行施用的药物组合物的形式。

多巴胺能拮抗剂优选为 D2 型的拮抗剂，并且尤其为 D2/D3 拮抗剂。

在多巴胺能拮抗剂中，可以提及完全的多巴胺能拮抗剂和部分的多巴胺能拮抗剂，所述部分多巴胺能拮抗剂还表现出 5-羟色胺能组分。在多巴胺能拮抗剂中，使用最多的分子是：

- 氨磺必利，
- 利培酮，
- 称为 SB 277011-A 的 D3 拮抗剂，其由 VOTEL 等人，J. Neuroscience 22 (2002) 9595-9603 所描述。

还可以使用多巴胺的其他拮抗剂物质，例如舒必利、甲氧氯普胺或者奥氮平或氟哌啶醇。

促多巴胺能产品可以定义为能够结合在阿片样物质受体之上或之中的物质，其仅显示出微弱的欣快活性和/或其仅显示出有限的成瘾作用。在这方面，可以提及美沙酮、丁丙诺啡、称为 LAM 的产品、烯丙吗啡、naltrexate、左洛啡烷，以及，通常地，描述为具有这种性质

的任何物质。

因此，本发明在于施用这种联合，施用形式为以确定的单个药物组合物的形式同时施用，或者以含有分开形式的每种所述活性成分的试剂盒的形式施用，从而所述试剂盒可以以可变的剂量，或以不同的节奏或以不同的次序，或以不同的形式进行施用。

因此，就可以以相同的药物形式（例如片剂、胶囊剂、糖衣丸剂、滴剂）或者以不同的形式施用这两种活性成分的联合。

活性成分的浓度也可以根据治疗需要、治疗所追求的目标和副作用的出现而不同，从大的剂量到较低的剂量。

已经知道氨磺必利或其盐（特别是 S(-) 氨磺必利）的用途，其用于治疗精神分裂症的情感或认知症状，用于治疗孤独症或治疗由精神安定药引起的迟发性运动障碍（PCT/EP99/05325）。专利 PCT/EP99/05325 还公开了 S(-) 氨磺必利可用于抵抗药物成瘾，但无任何另外的精确描述。

氨磺必利是在 US 4, 401, 822 中描述为抗阿扑吗啡物质的一系列苯甲酰胺类的许多代表性化合物中的一种。外消旋或对映体纯的形式 [S(-)] 的氨磺必利的合成，以及它们的盐的合成，描述于申请 PCT/EP99/05325 中。

描述了，在药理学水平上，氨磺必利将 [³H] 雷氯必利从边缘的受体 D2 置换出来。氨磺必利还显示出对抗阿扑吗啡的拮抗剂作用。氨磺必利由于其中枢作用而可以认为是在患有精神分裂症的受试者中的抗精神病药物，尤其是，其显示出比已知的抗精神病的精神安定产品更小的副作用，例如锥体外系综合征等。

因此，氨磺必利是已知的迄今已用于其他神经精神病学适应症的药物。

本发明中所研究的抗成瘾作用是针对多巴胺能受体，特别是受体 D2 和 D3 的另一种拮抗剂作用。

作为本联合的目标，所述药物的效果迅速显现，并已经在一些临床前研究中，注意到积极效果，考虑了浸渗效果。

在根据本发明的药物组合物的范围内，所施用的剂量是可变的，其根据所期望的效果、对成瘾性药物依赖的时间长短，以及所期望的对抗成瘾的作用强度而变化。

抗多巴胺能物质的剂量可以在 1 mg 至 1200 mg/单次摄取之间变化。促多巴胺能物质的剂量在增加至稳定水平时将在 0.2 mg 至 300 mg 之间变化。

在本发明的一个优选实施方案中，该组合将由抗多巴胺能物质（例如氨磺必利）的片剂（含有 400 mg - 1200 mg 活性成分）和剂量为 0.2 mg - 30 mg/单次摄取的促多巴胺能物质（例如丁丙诺啡）的片剂形成。促多巴胺能物质的剂量在快速代谢者中要更高些，快速代谢者因而可以耐受较高剂量（200 - 300 mg）。

特别有用的另一个实施方案将是以试剂盒的形式提供所述组合，所述试剂盒包含例如两个用于固体或液体制剂的小瓶，其中一个小瓶含有抗多巴胺能物质的溶液，另一个小瓶含有替代物质的溶液或悬浮液，例如美沙酮的糖浆剂或含水混悬剂。

在根据本发明的组合的另一个实施方案中，可以制备相组合的形式，特别是含有这两种活性成分的干燥形式，从而实现同时施用。因而，可以考虑双层片剂或具有双核的糖衣丸剂，其在药物形式的一部分中含有抗多巴胺能物质，在另一部分中含有促多巴胺能物质。划痕片剂也可以是容易施用的形式。

还可以制备可注射的形式。它们使得能够同时施用所述组合的两种活性成分。特别地，经证实，它们可用于制备具有延长的作用的贮库形式。也可以考虑具有延长的效果的经皮肤形式。

还可以制备含有确定剂量的每种活性成分的固定的联合物，所述活性成分是游离的形式，或物理上相组合的形式，或化学上相组合的形式，例如与聚羧酸或酸性树脂的复盐。然而，这些固定的联合物较不易使用，因为不能调节其剂量。但是它们是有用的，特别是在开始治疗时，用于测定患者的敏感性，监测副作用不存在或抗多巴胺能作用的益处或快或慢的出现。

常见的剂量学方案一般是使用低剂量的促多巴胺能药物，然后逐渐增加剂量以获得“平台”效果。

对于氨磺必利，日剂量为 400 - 1200 mg，并且每一次摄取量为 100 - 400 mg。

对于利培酮，剂量是每天 1 - 16 mg。

促多巴胺能产品，特别是美沙酮的施用将在 5 至 60 mg/单次摄取之间变化。丁丙诺啡、硫酸吗啡或烯丙吗啡的剂量将是相同的数量级。

根据本发明的联合物的两种组分的施用次序并不是决定性的，并可以根据治疗的需要来调节。看起来优选确保首先施用促多巴胺能物质，然后施用抗多巴胺能产品。相反地，可以首先施用抗多巴胺能产品，随后施用促多巴胺能产品。在所有方式中，更合适的是这两种活性成分同时施用。

本发明的目标还在于由抗多巴胺能产品或其盐中的一种和丁丙诺啡的联合组成的药物组合物，其在惰性的、无毒的可药用赋形剂或载体中含有例如 400 - 1200 mg 的氨磺必利和 0.2 - 30 mg 的丁丙诺啡，其中对剂量进行调节，首先增加剂量，然后当达到阈效应时，减少剂量。

本发明的另一个目标是生产试剂盒，所述试剂盒包含抗多巴胺能物质的药物学上合适的第一剂和美沙酮的药物学上合适的第二剂，所述抗多巴胺能物质以碱的形式或盐的形式、外消旋形式或对映体形式存在，剂量为 100 - 400 mg/单次摄取，所述美沙酮的剂量为 5 - 60 mg/单次摄取。

本发明还涉及抗成瘾的药物，其由外消旋形式或光学活性形式的、游离的或与无机酸或有机酸成盐的舒必利和丁丙诺啡的联合组合。

根据本发明的组合物将以预定的间隔根据每天 1 至 4 次的频率进行施用，以确保用药物恒定地浸渗患者。

药理学和临床试验显示了根据本发明的组合物的功效，所述试验的细节在附件中给出。

本发明还涉及用于对抗不同形式的合法或非法药物成瘾的方法，

所述方法包括给显示出非法药物成瘾现象的患者施用足够且有效剂量的促多巴胺能激动剂和多巴胺能拮抗剂的联合，所述施用是以单个或分开的药物形式同时进行，或者通过首先施用确定的药物形式的多巴胺能激动剂，随后施用其他药物形式的多巴胺能拮抗剂，例如以试剂盒的形式，来不连续地进行。

在上文中描述的方法十分特别适合于对抗对于含鸦片的药物（例如海洛因）的成瘾。该方法还可用于对抗引起成瘾的活性成分例如安非他明及其衍生物、酒精、可卡因和 NDMA 的使用或滥用。

实验部分

1. 鸦片制剂和阿片样物质系统

1.1 阿片样物质受体

阿片样物质受体的激活使得能获得大量的生理学和药理学反应。因为，阿片系统主要参与应激、疼痛、情绪、心血管功能和食物摄取的调控（Vaccarino 等人，2000）。

使用具有高特异活性的经放射性标记的配体使得能在哺乳动物的中枢神经系统中发现立体特异性的、可饱和的且高亲和力的受体。这些对于外源性鸦片制剂特异性的膜结合位点已经由三个研究组（Simon 等人，1973；Terenius，1973；Pert 和 Snyder，1973）阐明。更近些年，这些受体已经被克隆，并定义为三种类型： δ 、 μ 和 κ （Kieffer 等人，1992；Chen 等人，1993；Yasuda 等人，1993）。从它们的序列来看，清楚地显示阿片样物质受体属于具有 7 个跨膜结构域的受体的大家族，所述受体结合异源三聚 G 蛋白（Dohlman 等人，1987）。在人中这些受体具有 60 % 的序列同源性，最保守的序列是跨膜结构域和胞内环。此外，它们在中枢神经系统范围内以不同的方式分布。阿片样物质受体 μ 广泛地存在于整个中枢神经系统中，在某些区域例如基底神经节、边缘结构、丘脑核和对于伤害感受来说重要的区域中具有非常高的浓度。 δ 和 κ 受体具有更少的分布，它们特别地存在于腹侧和背侧纹状体的范围内（对于 δ 受体），以及存在于背侧纹状体和视前区的范围内（对于 κ 受体）（Mansour 等人，1988）。

已经在不同的组织、细胞类型或神经元制备物中广泛地研究了与阿片样物质受体相关的信号转导级联。已经显示，这三种受体与调节许多效应器的 G_i/G_o 蛋白相偶联。因为，阿片样物质受体抑制腺苷酸环化酶活性（Sharma 等人，1977）并从而引起细胞内 cAMP 的水平降低，降低钙的传导（Hescheler 等人，1987；Surprenant 等人，1990），刺激钾通道（North 等人，1987），并增加细胞内钙的水平（Jin 等人，

1992)。更近些年,已经表明,通过激活 MAP-激酶途径,这些受体能够产生促细胞分裂信号(Fukada 等人,1996)。

1.2 内源性阿片样肽

阿片样物质受体的内源性配体是内啡素(Hughes 等人,1975)。它们是在突触间隙中从具有致密核心的大的囊泡释放释放的神经肽,它的释放是由于刺激了其中它们与其他神经递质共同存在的神经元。内啡素来自于不同的前体,并以异质的方式存在于中枢神经系统的不同神经元群体中。阿黑皮素原(或 POMC)产生 β -内啡肽和相关的肽,脑啡肽原 A 是脑啡肽(Met-脑啡肽和 Leu-脑啡肽)和相似的肽的来源,以及强啡肽原产生新内啡肽和强啡肽(Akil 等人,1988)。

1.3 降解脑啡肽的酶和这些酶的合成抑制剂

脑啡肽在释放后具有非常短的生命(低于1分钟)。如对于大部分通常的神经介质来说一样,这种寿命短暂不归因于重摄取系统,而是归因于酶促降解。通过用最初称为脑啡肽酶但此后经证明与中性内肽酶(NEP)相同的肽酶切割 Gly-Phe 键,和用氨肽酶 N (APN)在 Tyr-Gly 键的水平上进行切割,而使 Met-脑啡肽(Tyr-Gly-Gly-Phe-Met)和 Leu-脑啡肽(Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu)迅速水解(Roques 1986)。这两种酶属于同一组的含锌金属肽酶。

已经合成这些酶的许多抑制剂以便延长脑啡肽的生命,并从而延长它们的作用(Roques 1993)。然而,为了完全保护内源性阿片样肽不受酶促降解,必需抑制 NEP 和 APN(Bourgoin 等人,1986)。

已经开发了多个系列的脑啡肽的混合抑制剂(Roques 1986),其中包括 RB101,其是能够穿透血脑屏障的分子(Fournié-Zaluski 等人,1992),但具有低的口服生物利用率。

脑啡肽分解代谢的抑制剂增加了脑啡肽的细胞外浓度而不影响它们的释放(Dangé 等人,1996; Bourgoin 等人,1986; Waksman 等人,1985)。这些分子的优点是,即使处于很高的剂量,它们也永远不会

引起如吗啡一样强的药理学反应（Ruiz-Gayo 等人，1992；Abbadie 等人，1994），因而没有鸦片制剂的常见副作用（便秘、口干、搔痒、月经不规则，以及更严重时的胃肠道紊乱和呼吸抑制）。

1.4 鸦片制剂

最先了解并用于医疗的阿片样物质受体的外源性配体是吗啡，其是一种源于印度罂粟的生物碱。

其他物质具有与吗啡相同的药理学特征。海洛因（二乙酰吗啡，二醋吗啡）被代谢成吗啡，其已经在 1898 年引入医疗领域中以治疗结核病。现在，这种物质被毒物癖者大量吸食，因为其快速渗入脑中，并在那里产生称为“高潮”的反应。

现今，其他含鸦片激动剂用于替代疗法，它们正是美沙酮和丁丙诺啡。美沙酮是合成的鸦片制剂，并且如吗啡一样是 μ 受体的优先激动剂。

其他合成的鸦片制剂如 DAMGO 或 DPDPE 通常在实验药理学中分别用作 μ 和 δ 受体的选择性配体（Handa 等人，1981；Mosberg 等人，1983）。

存在另一类的阿片样物质受体的外源性配体：阿片样物质拮抗剂。其中可以提及纳洛酮，其在治疗上用于治疗对鸦片制剂的急性中毒。该分子以相同的亲和力结合至 μ 和 δ 受体。另一种已知的拮抗剂是纳屈吡，其以非常高的亲和力结合在 δ 受体上（Fang 等人，1994）。其广泛用于实验药理学中。

2. 阿片样物质成瘾

2.1 介绍：依赖或成瘾

根据 WHO 的定义，依赖/成瘾是一种综合征，其中对于产品的消费变成了比对于先前认为最重要的其他行为的需求更高的欲求。依赖是处于反复摄取药物的状态，其特征为对于导致对其的强迫性寻求的药

物的迫切需要。依赖具有两个不同的方面：身体方面和精神方面。

身体部分强迫毒物癖者消费药物以避免感到戒断综合征的特殊疼痛（除特殊情况外，不是致死性的，尽管感觉疼痛剧烈）。其可能在几天后消失。精神部分是毒物癖者渴望重新开始消费药物，其与通过强化/奖赏系统引起的脑的强烈刺激相关联，并且是许多在毒物癖者中复发的原因。其可以持续数年。

2.2 对鸦片制剂的依赖和耐受

耐受是生物体对物质的适应过程，其表现为该物质效果的逐渐减弱，并且导致需要增加剂量以获得相同的效果。在动物中，耐受导致在重复施用药物后由药物诱导的行为效果的降低。

由一些外源性配体如吗啡引起的阿片样物质系统的慢性激活导致形成以强迫性地寻求药物为特征的依赖。在动物中，尤其是在大鼠中，大量的实验模型使得能证明鸦片制剂的行为效果。诸如自我施药或条件性位置偏爱的技术已经证明了海洛因和吗啡的强化效果（Mc Bride 等人，1999），所述效果似乎主要是由阿片样物质受体 μ 介导的（Matthes 等人，1996）。

2.3 戒断

突然中断药物的消费在毒物癖者中表现为身体和精神的症状。阿片样物质的戒断尤其表现为高血压和腹部痛性痉挛以及快感缺失和病理性心境恶劣。

在动物中，阿片样物质的戒断可以通过施用阿片样物质拮抗剂（纳洛酮）引起。从而，在依赖吗啡的大鼠中观察到数种行为改变：理毛行为、咀嚼、眨眼增加，以及腹泻或者还有体重减轻。

3. 多巴胺能系统和氨磺必利

3.1 多巴胺能系统

多巴胺作用于两类受体：“D1-样受体”和“D2-样受体”。D1-样受体(D1和D5)通过Gs与腺苷酸环化酶偶联,并使得能够产生cAMP,其起动许多依赖蛋白激酶A的代谢反应。D2-样受体(D2、D3和D4)与Gi/o偶联并抑制cAMP的合成,这特别是促进了超极化K⁺通道的开放。

具有多巴胺的神经元主要聚集在两个中脑核中。一个是被盖或腹侧被盖区(VTA,或中脑区A10),它的轴突投射支配皮质(尤其是在其前部中)、边缘系统(尤其是隔和杏仁核)和基底核(壳核和伏隔核)。这些纤维的主要部分通过端脑内侧束(MTF),并且涉及处理认知-情感范畴的信息。

实际上,该神经网络连接属于奖赏/强化系统,该系统产生十分强的脑刺激以便在进行物种或个体生存所必需的行为时感受到愉悦(“快乐作用”)。这正是被药物改变了方向的动机回路(circuit de motivation)。因而,通过产生愉悦,这些药物促使个体产生强迫性行为,其中药物的使用替代了生存行为。

另一种多巴胺能核是黑质(塞梅林神经节或中脑区Ag),其发射轴突至纹状体(尾状核和壳核)并参与运动的控制。改变纹状体中多巴胺释放水平的药物可扰乱运动机能。

3.2 多巴胺依赖机制

吗啡的施用刺激了黑质和VTA中的多巴胺能神经元的活性,这导致尾状核-壳核中和伏隔核中多巴胺释放的增加(Matthews和German, 1984; Spanagel等人, 1990; Di Chiara和North, 1992)。

通常认为,这种增加是由于所述阿片样物质的间接作用。因为,在位于网状黑质和VTA中的GABA能中间神经元的表面上存在的μ受体的激活将导致解除由这些中间神经元对多巴胺能神经元所施加的抑制(Johnson和North, 1992; Bontempi和Sharp, 1997)。

3.3 氨磺必利,多巴胺能拮抗剂

氨磺必利是一种在化学上与苯甲酰胺类类似的分子。在低剂量时，氨磺必利对于前额皮质的突触前受体 D2 和 D3 具有拮抗剂作用（净效果：促进）。相反地，当以高剂量使用时，氨磺必利在边缘系统的范围内抑制突触后受体 D2 和 D3（净效果：阻断）。此外，其没有锥体外作用，因为在纹状体的范围内仅具有弱的活性（Perrault 等人，1996）。所有这些因素使得该分子成为非典型的抗精神病药，目前其用于治疗精神分裂症的阳性和阴性症状。

材料和方法

1. 动物和处理

用于该研究的动物是 0F1 品系的雄性小鼠，在试验开始时小鼠重约 20 g (Charles River, France)。它们整天生活在日光照循环在一年期间自始至终均恒定 (7:30-19:30) 并且温度保持为大约 22℃ 的环境中。让小鼠自由获取水和食物，并且这些试验遵照动物试验伦理的国际惯例来进行。

将动物长期通过腹膜内途径 (IP) 用氨磺必利或生理盐水进行处理。一天注射两次，每次施用之间有约 8 小时的间隔，持续时间为 5 天至 3 周。在药理学测试的当天，动物不接受氨磺必利。在测试当天，通过静脉内途径 (IV) 在测试开始前 10 分钟施用 RB101 (在注射后立刻进行的运动活性的测量除外)。

2. 产品

氨磺必利 (200 mg/4 ml 的可注射溶液) 以用生理盐水稀释的形式使用。

RB101 是由 Baamonde 等人 (Europ J Pharmacol (1992) T 216 pp. 157-166) 所描述的合成产品。将 RB101 溶解在载体乙醇 (10%) / 聚氧乙烯蓖麻油 (10%) / 蒸馏水 (80%) 中。

盐酸美沙酮和盐酸吗啡是商业产品。将它们溶解在生理盐水中。

3. 方法

3.1 运动活性的测量

将小鼠单独置于隔绝噪音的塑料笼 (255 cm × 205 cm) 中，并暴露于 5 lux 的光照强度下。在 45 分钟内通过光电管获取动物的移动，

并通过计算机进行记录。以 0.1 ml/10 g 的体积量，动物通过静脉内途径接受载体（乙醇（10%）/聚氧乙烯蓖麻油（10%）/水（80%））或 RB101 化合物（5 mg/kg）。试验在注射产品后立刻进行。在该研究中，术语“运动活性（*activité locomotrice*）”仅考虑动物的水平移动。

3.2 通过热板测试来测量痛觉缺失

将小鼠单独放置在位于通过水循环加热至 $52 \pm 1^\circ\text{C}$ 的平板上的圆筒内部。测定小鼠跳跃的反应时，值为 100 的痛觉缺失百分比对应于限制在 240 秒的时间以避免皮肤损伤。该试验在注射 RB101（5 mg/kg, IV）或载体后 10 分钟进行。结果表示为痛觉缺失的百分比，该百分比通过下式计算：（处理组中跳跃反应时的平均值 - 对照组中跳跃反应时的平均值）/（240 - 对照组中跳跃反应时的平均值） $\times 100$ 。结果表示为平均值 $\pm$ sem。

3.3 强迫游泳测试（*Porsolt's* 测试）：抑郁症模型

将小鼠单独置于装满水的圆筒容器中，水高 15 cm，水处于环境温度。2 分钟的时限之后，测量 4 分钟内动物不动的全部持续时间。动物需要用来保持其头部露出水面的动作不计算在内。

3.4 条件性位置偏爱：测量精神依赖性

用于条件性位置偏爱的装置由分成三个不同隔间（一个具有平滑地面的黑色隔间，一个具有粗糙地面的带有黑色和白色条纹的隔间，和一个中性的中间隔间）的盒子组成。

该测试分三个阶段进行：

- 测试前阶段：将动物置于中性的中间隔间中，并在 20 分钟内让其可自由到达该装置的三个隔间。在每个隔间内所耗费的时间通过连接至计算机的照相机进行记录。将对这些隔间中的一个表现出自发性偏爱（即在侧面隔间中的一个之中耗费了多于 75% 的给予时间）的小鼠从该试验中淘汰。

在该第一段时间后，随机选取动物以对它们进行处理（吗啡或生理盐水，SC）并置于其中它们将接受药物的隔间（黑色隔间或带有黑色和白色条纹的隔间）中。选择让动物在“偏爱”最不明显的隔间中进行条件化训练。

- 条件化训练阶段：备选地，让动物连续3天接受吗啡（10 mg/kg，SC）或生理盐水，对于同一只动物，在早晨注射盐水而在下午注射吗啡。注射后立即将动物保持在一个或另一个隔间中大约20分钟。对于同一只小鼠，与药物关联的隔间总是相同的。

- 测试阶段：如测试前阶段一样，将动物放置在中间隔间中，并让其可自由到达三个隔间。这天它们没有接受任何吗啡或盐溶液的注射。

得分相应于，在与吗啡相关联的隔间中，于测试阶段所耗费的时间和于测试前阶段所耗费的时间之间的差异。

4. 统计分析

将单因素（治疗）的方差分析（ANOVA）用于全部所进行的行为测试，随后，如果在ANOVA中 $p < 0.05$ ，则进行 Student-Newman-Keuls 检验。在所有这些情况中，一旦 $p < 0.05$ ，就认为具有显著性。

结果

1. 确定 RB101 和 氨磺必利 的使用剂量

1.1 热板上 RB101 的效果-剂量关系

一般将热板测试用于评估分子的止痛效力。这是一种牵涉对中枢整合 (intégration centrale) 的响应的方法, 跳跃与逃避疼痛刺激的愿望相关联。先前在该测试中已经证明了 RB101 的止痛效力 (Noble 等人, 1992), 并且已经阐明了用于启动该试验的效果-剂量关系。因为, 找到了获得大约 40% 的痛觉缺失的 RB101 的剂量, 这使得能够任选观察氨磺必利引起的止痛效果的增强。测试了三种剂量: 2.5 mg/kg、5 mg/kg 和 10 mg/kg, 通过静脉内途径, 在测试开始前 10 分钟进行。

5 mg/kg 的剂量使得产生 $45.2\% \pm 10.6\%$ 的痛觉缺失。因此, 这是为了与氨磺必利相联合而采用的剂量。

1.2 确定在运动活性方面氨磺必利的剂量

具有多巴胺能拮抗剂活性的分子降低运动活性。正是利用这种性质来确定, 在何种剂量下, 氨磺必利在小鼠中具有多巴胺能拮抗剂活性 (即对突触后受体 D2 和 D3 的作用, 而不是自身受体 D2 和 D3)。测试剂量是: 0.5 mg/kg、2 mg/kg、10 mg/kg、20 mg/kg 和 50 mg/kg。

从 10 mg/kg 开始, 运动活性显著降低。所选择的剂量为 20 mg/kg, 这是多巴胺能拮抗剂活性明显并且无可争辩的剂量。

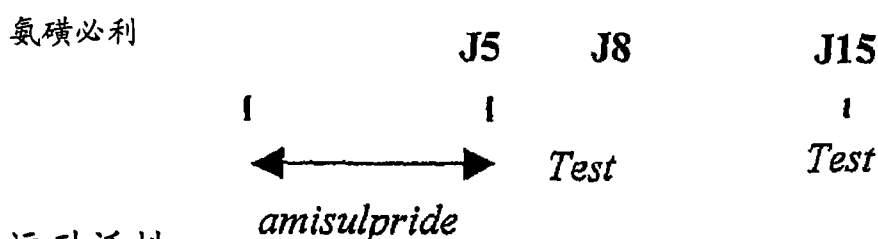
2. 确定用氨磺必利处理的持续时间 (氨磺必利/RB101 相联合, 并测量运动活性)

与氨磺必利相反, 单独的 RB101 在小鼠中引起运动活性的增加 (Baamonde 等人, 1992)。

首先，氨磺必利治疗（20 mg/kg，IP，2 次/天）进行 3 周，在其之后注射 RB101（5 mg/kg，IV），并随后立即测量运动活性 45 分钟。

在处理三周之后，氨磺必利显著增强了 RB101 的效果。因此提出了疑问，想了解这个处理持续时间是否可以缩短。因此，这次在仅处理 5 天后测量了运动活性。

甚至在仅处理 5 天后，氨磺必利对 RB101 的增强仍然保持。因而，可以考虑，在停止用氨磺必利处理后这种增强作用保持多久。因此，根据下面的方案，在接受 5 天测试天的处理测试鼠中，于停止处理



3 天或 10 天后测量运动活性：

用氨磺必利处理 5 天后，RB101 的效果的增强在三天后仍然存在，但在撤药 10 天后不再存在。

对于该研究，选择在用氨磺必利处理 5 天后继续试验，并在成功时，在撤药后 3 天后进行相同的试验。

3. 在强迫游泳测试中氨磺必利和 RB101 的联合

一般将强迫游泳测试用于评价分子的抗抑郁效果。单独的 RB101 具有抗抑郁类型的性质（Baamonde 等人，1992），因为它降低了在该测试中小鼠不动的持续时间。

在 5 天内用氨磺必利进行处理，并在测试当天（从停止处理的第二天开始）注射 RB101。

在处理 5 天后，同样也存在氨磺必利对于 RB101（5 mg/kg，IV）的抗抑郁型效果的增强。

在撤药 3 天后进行相同的测试。

在撤药 3 天后，氨磺必利（处理 5 天）对于 RB101（5 mg/kg，IV）的抗抑郁型效果的增强仍然存在。

4. 在热板测试中氨磺必利和 RB101 的联合

在 5 天内用氨磺必利进行处理，并在测试当天（从停止处理的第二天开始）注射 RB101（5 mg/kg，IV）。

RB101 本身具有止痛效果（ $38.4\% \pm 10.8\%$ ）。氨磺必利/RB101 的联合处于 $49.6\% \pm 8.9\%$ 的痛觉缺失的水平上。然而，在这两组之间并不存在任何显著的差异，因而，在热板测试（在处理 5 天后）中并不存在氨磺必利对 RB101 的效果的增强。

5. 氨磺必利/RB101 的联合和条件性位置偏爱

在第一时期，以在“材料和方法”部分中所描述的方式对动物进行条件化训练。在该条件化训练结束时获得的结果显示在置于附件中的图 I 中，该图显示了使用吗啡（10 mg/kg，SC，n = 10 只小鼠/组）产生的条件性位置偏爱，*表示相对于盐溶液组 $p < 0.05$ 。

观察到与吗啡（10 mg/kg，SC）相关的位置偏爱，这很好地说明了该药物的强化作用。

然后，将两个组（吗啡和生理盐水）的小鼠再分成相同大小的两个亚组，一个亚组用氨磺必利根据通常的方法处理 5 天，另一个亚组接受生理盐水注射。

在第 6 天进行第二次测试，在测试当天让已经用氨磺必利处理过的动物接受 RB101，其他的动物接受载体。

该试验的结果显示在所附的图 II 中。其显示了与 RB 1M（55 mg/kg，IV，第二次测试当天）相联合的氨磺必利（20 mg/kg，通过 IP 途径，每天 2 次，施用 5 天）处理对于先前在第一次测试中所使用的动物的效果。

相对于对照组（生理盐水，NaCl+载体），没有任何组获得显著的结果，尽管还是在没有接受氨磺必利+RB101 处理的吗啡组小鼠中观察

到保持位置偏爱的倾向。接受了该处理的吗啡组小鼠本身近似于生理盐水组小鼠。

为了观察该倾向是否保持，在该测试后 4 天进行第三次测试。在第三次测试当天没有注射 RB101。

获得的结果在图 III 中显示。其显示了，在第二次测试后 4 天，氨磺必利（20 mg/kg，通过 IP 途径，每天 2 次，施用 5 天）+ RB101（5 mg/kg，通过 IV 途径，第二次测试当天）处理对于同样的动物的效果。

相对于吗啡/氨磺必利+RB101 组， $p < 0.05$ ，

相对于对照组， $p < 0.05$ 。

在没有接受氨磺必利+RB101 处理的吗啡组小鼠中再次发现位置偏爱。而且，在接受氨磺必利+RB101 处理的吗啡组小鼠中此后没有发现任何位置偏爱。

6. 氨磺必利和美沙酮的联合：运动活性的测量

用氨磺必利处理 5 天，并在测试当天注射美沙酮（0.25 mg/kg，IV）。所选择的美沙酮的剂量在热板测试中导致了与 RB101 相当的痛觉缺失的水平。

图 IV 显示了用氨磺必利（S20）（20 mg/kg，通过 IP 途径，一天 2 次）处理 5 天后对运动活性的测量。在测试当天，在测试即将开始前注射美沙酮（ $n = 10$ 只小鼠/组）。

相对于对照组，没有任何组获得显著的结果。

7. 在强迫游泳测试中的氨磺必利和美沙酮的联合

用氨磺必利处理 5 天，并在测试当天注射美沙酮（0.25 mg/kg，IV）。

后面所附的图 V 显示了用氨磺必利（S20）处理 5 天后在强迫游泳

测试中不动的时间的测量结果,氨磺必利是以每天2次通过IP途径依照20 mg/kg进行施用的。

在测试当天,在测试开始前10分钟注射美沙酮(Meth)(n=10只小鼠/组)。

图VI显示了在用氨磺必利(S24)(20 mg/kg,通过IP途径,每天2次)处理5天并撤药3天后的运动活性的测量结果。在测试当天,在即将开始测试前注射RB 101 5RB)(n=10只小鼠/组)。

* $p < 0.05$

** $p < 0.01$, 相对于对照组。

图VII显示了在撤药10天后获得的结果。

图VIII显示了通过测量小鼠在强迫游泳测试中的不动的时间而获得的结果,其中所述小鼠接受氨磺必利(S20)(20 mg/kg,通过IP途径,每天2次)处理5天。在测试开始前10分钟注射RB 101(RB)(n=10只小鼠/组)。

** $p < 0.001$, 相对于对照组。

图IX显示了通过测量小鼠在强迫游泳测试中的不动的时间而获得的结果,其中所述小鼠接受氨磺必利(S20)(20 mg/kg,通过IP途径,每天2次)处理5天,随后撤药3天。在测试开始前10分钟注射RB 101(RB)(n=10只小鼠/组)。

* $p = 0.005$

** $p < 0.001$, 相对于对照组。

在该研究中获得的结果显示,在所进行的三个药理学测试中的两个(强迫游泳测试和测量运动活性)之中,在先前用氨磺必利(D2/D3多巴胺能拮抗剂)以慢性方式处理的小鼠中,脑啡肽分解代谢的混合抑制剂RB101的效果得到了增强。有趣的是注意到,相当快地获得了这种增强,因为用氨磺必利处理5天就足够了,并且该效果看上去持续了一段时间(3天),甚至是在这短暂的处理持续时间之后。

此外,在只注射氨磺必利和RB101后所进行的相同测试并没有获得这种增强,从而确认,为了获得RB101对阿片样物质系统的更大的

刺激，需要“慢性”阻断这些多巴胺能受体（甚至短时间的）。

在运动活性和强迫游泳测试中，当与用氨磺必利慢性处理相联合时，用美沙酮代替 RB101 没有获得这种化合物的效果的增强。而且，在热板测试中，RB101 和氨磺必利的联合没有显示出任何增强。

这些结果可以这样解释：在这种联合中，优先牵涉除 μ 受体以外的其他阿片样物质受体。因为，热板试验以压倒性的方式涉及由 μ 受体介导的脊髓上的（supraspinal）阿片样物质镇痛（Roques, 1993）。美沙酮本身是所述 μ 受体的优先激动剂。还已经显示，由 RB101 所保护的脑啡肽的抗抑郁型效果是通过刺激阿片样物质受体 δ 而不是 μ 介导的（Baamonde 等人, 1992）。还已经显示了 δ 受体对改善情绪的贡献（Filliol 等人, 2000）。

因此，可以认为，氨磺必利/RB101 的联合通过优先在阿片样物质受体 δ 的水平上发生作用而使得能够增强 RB101 的效果。同样有意义的是，使用 δ 受体的优先拮抗剂如纳屈吡并观察是否有可能阻断用氨磺必利/RB101 的联合所获得的效果。还可以在用氨磺必利处理后使用 δ 受体的优先激动剂如 SNC 80 或 BUBU（其可以通过全身途径进行施用）代替 RB101，从而于在该研究中所采用的药理学测试（强迫游泳测试和测量运动活性）之中观察效果。

然而，应当指出，在所选择的剂量（0.25 mg/kg, IV）下，单独的美沙酮在运动活性上和强迫游泳中没有显示出显著的效果，而在相同的剂量下，其在热板测试中引起了明显的痛觉缺失。

然而，已知美沙酮在小鼠中具有过度运动活性（*activité hyperlocomotrice*）（Browne, 1980），并且作为阿片样激动剂具有抗抑郁型效果。合适的是，通过以一系列更高剂量（如果使用太高的剂量，则风险只是更多地涉及阿片样物质受体 μ ）重新进行这些测试，在该研究中不存在氨磺必利对于美沙酮（0.25 mg/kg, IV）的效果的增强不是由于使用了太低的美沙酮剂量。

在强迫游泳测试和测量运动活性的测试中存在氨磺必利对 RB101 的效果的增强，而在热板测试中没有再发现这种增强，也可以通过氨

磺必利的作用存在区域选择性来解释。因为，运动活性和抗抑郁型效果是强烈涉及多巴胺能途径的行为，而止痛效果尤其是由于阿片样物质系统。

还可以进行脑微量渗析试验，该试验使得能够评估在用氨磺必利慢性治疗后在不同的脑区（例如作为边缘系统的一部分的伏隔核和纹状体，以及水管周灰质（substance grise périaqueducal），更特别是在疼痛中所牵涉的）中获得的脑啡肽的细胞外水平。

当在所述研究中通过条件性位置偏爱模型所呈现的依赖性的情况下，看起来，在停止用氨磺必利处理后5天（第3次测试），所选择的处理方案（氨磺必利处理5天，第6天施用RB101）抑制了依赖性动物中的位置偏爱的表达。然而，应当指出，在停止处理的第二天进行的测试（第2次测试）没能获得显著的结果。因此，这些结果表明，氨磺必利/RB101的联合在对海洛因依赖的情况下可以是有效的，尽管所采用的方案仍需要改进并且在此获得的结果仍需要确证。

参考文献

1. Abbadie C, Honore P, Fournie-Zaluski MC, Roques BP, Besson JM. **Effects of opioids and non-opioids on c-Fos-like immunoreactivity induced in rat lumbar spinal cord neurons by noxious heat stimulation.**
Eur J Pharmacol. 1994 Jun 13;258(3):215-27.
2. Akil H, Owens C, Gutstein H, Taylor L, Curran E, Watson S. **Endogenous opioids: overview and current issues.**
Drug Alcohol Depend. 1998 Jun-Jul;51(1-2):127-40.
3. Baamonde A, Dauge V, Ruiz-Gayo M, Fulga IG, Turcaud S, Fournie-Zaluski MC, Roques BP. **Antidepressant-type effects of endogenous enkephalins protected by systemic RB 101 are mediated by opioid delta and dopamine D1 receptor stimulation.**
Eur J Pharmacol. 1992 Jun 5;216(2):157-66.
4. Baik JH, Picetti R, Saiardi A, Thiriet G, Dierich A, Depaulis A, Le Meur M, Borrelli E. **Parkinsonian-like locomotor impairment in mice lacking dopamine D2 receptors.**
Nature. 1995 Oct 5;377(6548):424-8.
5. Bontempi B, Sharp FR. **Systemic morphine-induced Fos protein in the rat striatum and nucleus accumbens is regulated by mu opioid receptors in the substantia nigra and ventral tegmental area.**
J Neurosci. 1997 Nov 1;17(21):8596-612.
6. Bourgoin S, Le Bars D, Artaud F, Clot AM, Bouboutou R, Fournie-Zaluski MC, Roques BP, Hamon M, Cesselin F. **Effects of kelatorphan and other peptidase inhibitors on the in vitro and in vivo release of methionine-enkephalin-like material from the rat spinal cord.**
J Pharmacol Exp Ther. 1986 Jul;238(1):360-6.
7. Browne RG, Segal DS. **Behavioral activating effects of opiates and opioid peptides.**
Biol Psychiatry. 1980 Feb;15(1):77-86.
8. Chen Y, Mestek A, Liu J, Hurley JA, Yu L. **Molecular cloning and functional expression of a mu-opioid receptor from rat brain.**
Mol Pharmacol. 1993 Jul;44(1):8-12.
9. Dauge V, Mauborgne A, Cesselin F, Fournie-Zaluski MC, Roques BP. **The dual peptidase inhibitor RB101 induces a long-lasting increase in the extracellular level of Met-enkephalin-like material in the nucleus accumbens of freely moving rats.**
J Neurochem. 1996 Sep;67(3):1301-8.
10. Di Chiara G, North RA. **Neurobiology of opiate abuse.**
Trends Pharmacol Sci. 1992 May;13(5):185-93.
11. Dohlman HG, Caron MG, Lefkowitz RJ. **A family of receptors coupled to guanine nucleotide regulatory proteins.**
Biochemistry. 1987 May 19;26(10):2657-64.
12. Fang L, Knapp RJ, Horvath R, Matsunaga TO, Haaseth RC, Hraby VJ, Porreca F, Yamamura HI. **Characterization of [3H]naltrindole binding to delta opioid receptors in mouse brain and mouse vas deferens: evidence for delta opioid receptor heterogeneity.**
J Pharmacol Exp Ther. 1994 Feb;268(2):836-46.
13. Filliol D, Ghozland S, Chluba J, Martin M, Matthes HW, Simonin F, Befort K, Gaveriaux-Ruff C, Dierich A, LeMeur M, Valverde O, Maldonado R, Kieffer BL. **Mice deficient for delta- and mu-opioid receptors exhibit opposing alterations of emotional responses.**
Nat Genet. 2000 Jun;25(2):195-200.

14. Fournie-Zaluski MC, Coric P, Turcaud S, Lucas E, Noble F, Maldonado R, Roques BP. **"Mixed inhibitor-prodrug" as a new approach toward systemically active inhibitors of enkephalin-degrading enzymes.**
J Med Chem. 1992 Jun 26;35(13):2473-81.
15. Fukuda K, Kato S, Morikawa H, Shoda T, Mori K. **Functional coupling of the delta-, mu-, and kappa-opioid receptors to mitogen-activated protein kinase and arachidonate release in Chinese hamster ovary cells.**
J Neurochem. 1996 Sep;67(3):1309-16.
16. Handa BK, Land AC, Lord JA, Morgan BA, Rance MJ, Smith CF. **Analogues of beta-LPH61-64 possessing selective agonist activity at mu-opiate receptors.**
Eur J Pharmacol. 1981 Apr 9;70(4):531-40.
17. Hescheler J, Rosenthal W, Trautwein W, Schultz G. **The GTP-binding protein, Go, regulates neuronal calcium channels.**
Nature. 1987 Jan 29-Feb 4;325(6103):445-7.
18. Hughes J, Smith TW, Kosterlitz HW, Fothergill LA, Morgan BA, Morris HR. **Identification of two related pentapeptides from the brain with potent opiate agonist activity.**
Nature. 1975 Dec 18;258(5536):577-80.
19. Jin W, Lee NM, Loh HH, Thayer SA. **Opioids mobilize calcium from inositol 1,4,5-trisphosphate-sensitive stores in NG108-15 cells.**
J Neurosci. 1994 Apr;14(4):1920-9.
20. Johnson SW, North RA. **Opioids excite dopamine neurons by hyperpolarization of local interneurons.**
J Neurosci. 1992 Feb;12(2):483-8.
21. Kieffer BL, Befort K, Gaveriaux-Ruff C, Hirth CG. **The delta-opioid receptor: isolation of a cDNA by expression cloning and pharmacological characterization.**
Proc Natl Acad Sci U S A. 1992 Dec 15;89(24):12048-52. Erratum in: Proc Natl Acad Sci U S A 1994 Feb 1;91(3):1193.
22. Law PY, Wong YH, Loh HH. **Molecular mechanisms and regulation of opioid receptor signaling.**
Annu Rev Pharmacol Toxicol. 2000;40:389-430.
23. Le Foll B, Schwartz JC, Sokoloff P. **Dopamine D3 receptor agents as potential new medications for drug addiction.**
Eur Psychiatry. 2000 Mar;15(2):140-6.
24. Maldonado R, Saiardi A, Valverde O, Samad TA, Roques BP, Borrelli E. **Absence of opiate rewarding effects in mice lacking dopamine D2 receptors.**
Nature. 1997 Aug 7;388(6642):586-9.
25. Mansour A, Khachaturian H, Lewis ME, Akil H, Watson SJ. **Anatomy of CNS opioid receptors.**
Trends Neurosci. 1988 Jul;11(7):308-14.
26. Matthes HW, Maldonado R, Simonin F, Valverde O, Slowe S, Kitchen I, Befort K, Dierich A, Le Meur M, Dolle P, Tzavara E, Hanoune J, Roques BP, Kieffer BL. **Loss of morphine-induced analgesia, reward effect and withdrawal symptoms in mice lacking the mu-opioid-receptor gene.**
Nature. 1996 Oct 31;383(6603):819-23.
27. Matthews RT, German DC. **Electrophysiological evidence for excitation of rat ventral tegmental area dopamine neurons by morphine.**
Neuroscience. 1984 Mar;11(3):617-25.

28. McBride WJ, Murphy JM, Ikemoto S. **Localization of brain reinforcement mechanisms: intracranial self-administration and intracranial place-conditioning studies.** Behav Brain Res. 1999 Jun;101(2):129-52.
29. Mosberg HI, Hurst R, Hruby VJ, Gee K, Yamamura HI, Galligan JJ, Burks TF. **Bis-penicillamine enkephalins possess highly improved specificity toward delta opioid receptors.** Proc Natl Acad Sci U S A. 1983 Oct;80(19):5871-4.
30. Nieto MM, Wilson J, Cupo A, Roques BP, Noble F. **Chronic morphine treatment modulates the extracellular levels of endogenous enkephalins in rat brain structures involved in opiate dependence: a microdialysis study.** J Neurosci. 2002 Feb 1;22(3):1034-41.
31. Noble F, Fournie-Zaluski MC, Roques BP. **Unlike morphine the endogenous enkephalins protected by RB101 are unable to establish a conditioned place preference in mice.** Eur J Pharmacol. 1993 Jan 12;230(2):139-49.
32. Noble F, Roques BP. **Inhibitors of enkephalin catabolism. New therapeutic tool in opioid dependence.** Molecular Biology of addiction, 2000, Humana Press Inc., Totowa, NJ.
33. Noble F, Soleilhac JM, Soroca-Lucas E, Turcaud S, Fournie-Zaluski MC, Roques BP. **Inhibition of the enkephalin-metabolizing enzymes by the first systemically active mixed inhibitor prodrug RB 101 induces potent analgesic responses in mice and rats.** J Pharmacol Exp Ther. 1992a Apr;261(1):181-90.
34. North RA, Williams JT, Surprenant A, Christie MJ. **Mu and delta receptors belong to a family of receptors that are coupled to potassium channels.** Proc Natl Acad Sci U S A. 1987 Aug;84(15):5487-91.
35. Olievenstein C. **La drogue, 30 ans après.** Editions Odile Jacob, 2000.
36. Perrault G, Depoortere R, Morel E, Sanger DJ, Scatton B. **Psychopharmacological profile of amisulpride: an antipsychotic drug with presynaptic D2/D3 dopamine receptor antagonist activity and limbic selectivity.** J Pharmacol Exp Ther. 1997 Jan;280(1):73-82.
37. Pert CB, Snyder SH. **Opiate receptor: demonstration in nervous tissue.** Science. 1973 Mar 9;179(77):1011-4.
38. Roques BP, Fournie-Zaluski MC. **Enkephalin degrading enzyme inhibitors: a physiological way to new analgesics and psychoactive agents.** NIDA Res Monogr. 1986;70:128-54.
39. Roques BP. **Novel approaches to targeting neuropeptide systems.** Trends Pharmacol Sci. 2000 Dec;21(12):475-83.
40. Roques BP. **Zinc metallopeptidases: active site structure and design of selective and mixed inhibitors: new approaches in the search for analgesics and anti-hypertensives.** Biochem Soc Trans. 1993 Aug;21 (Pt 3)(3):678-85.
41. Ruiz-Gayo M, Baamonde A, Turcaud S, Fournie-Zaluski MC, Roques BP. **In vivo occupation of mouse brain opioid receptors by endogenous enkephalins: blockade of enkephalin degrading enzymes by RB 101 inhibits [3H]diprenorphine binding.** Brain Res. 1992 Feb 7;571(2):306-12.
42. Sharma SK, Klee WA, Nirenberg M. **Opiate-dependent modulation of adenylate cyclase.** Proc Natl Acad Sci U S A. 1977 Aug;74(8):3365-9.

43. Simon EJ, Hiller JM, Edelman I. **Stereospecific binding of the potent narcotic analgesic (3H) Etorphine to rat-brain homogenate.**
Proc Natl Acad Sci U S A. 1973 Jul;70(7):1947-9.
44. Spanagel R, Herz A, Shippenberg TS. **The effects of opioid peptides on dopamine release in the nucleus accumbens: an in vivo microdialysis study.**
J Neurochem. 1990 Nov;55(5):1734-40.
45. Surprenant A, Shen KZ, North RA, Tatsumi H. **Inhibition of calcium currents by noradrenaline, somatostatin and opioids in guinea-pig submucosal neurones.**
J Physiol. 1990 Dec;431:585-608.
46. Terenius L. **Characteristics of the "receptor" for narcotic analgesics in synaptic plasma membrane fraction from rat brain.**
Acta Pharmacol Toxicol (Copenh). 1973;33(5):377-84.
47. Vaccarino AL, Kastin AJ. **Endogenous opiates: 2000.**
Peptides. 2001 Dec;22(12):2257-328.
48. Valverde O, Fournie-Zaluski MC, Roques BP, Maldonado R. **The CCKB antagonist PD-134,308 facilitates rewarding effects of endogenous enkephalins but does not induce place preference in rats.**
Psychopharmacology (Berl). 1996 Jan;123(2):119-26.
49. Waksman G, Bouboutou R, Devin J, Bourgoin S, Cesselin F, Hamon M, Fournie-Zaluski MC, Roques B. **In vitro and in vivo effects of kelatorphan on enkephalin metabolism in rodent brain.**
Eur J Pharmacol. 1985 Nov 5;117(2):233-43.
50. Yasuda K, Raynor K, Kong H, Breder CD, Takeda J, Reisine T, Bell GI. **Cloning and functional comparison of kappa and delta opioid receptors from mouse brain.**
Proc Natl Acad Sci U S A. 1993 Jul 15;90(14):6736-40.
51. Zimmerman DM, Leander JD. **Opioid antagonists: structure activity relationships.**
NIDA Res Monogr. 1990;96:50-60.

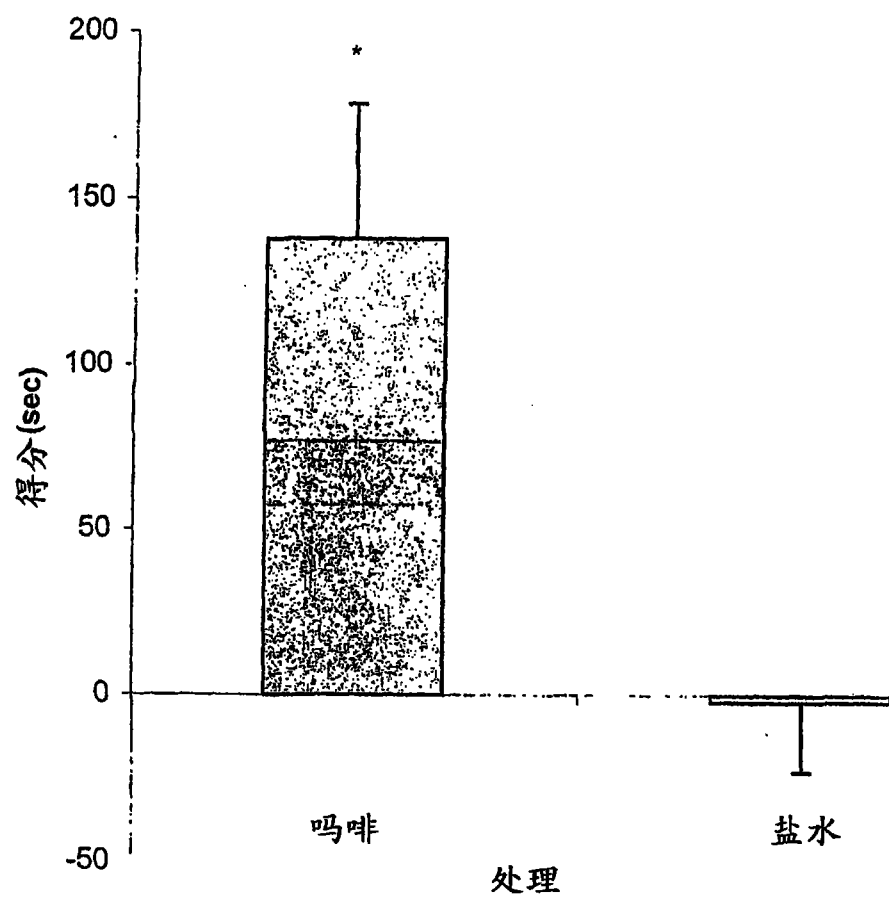


图1

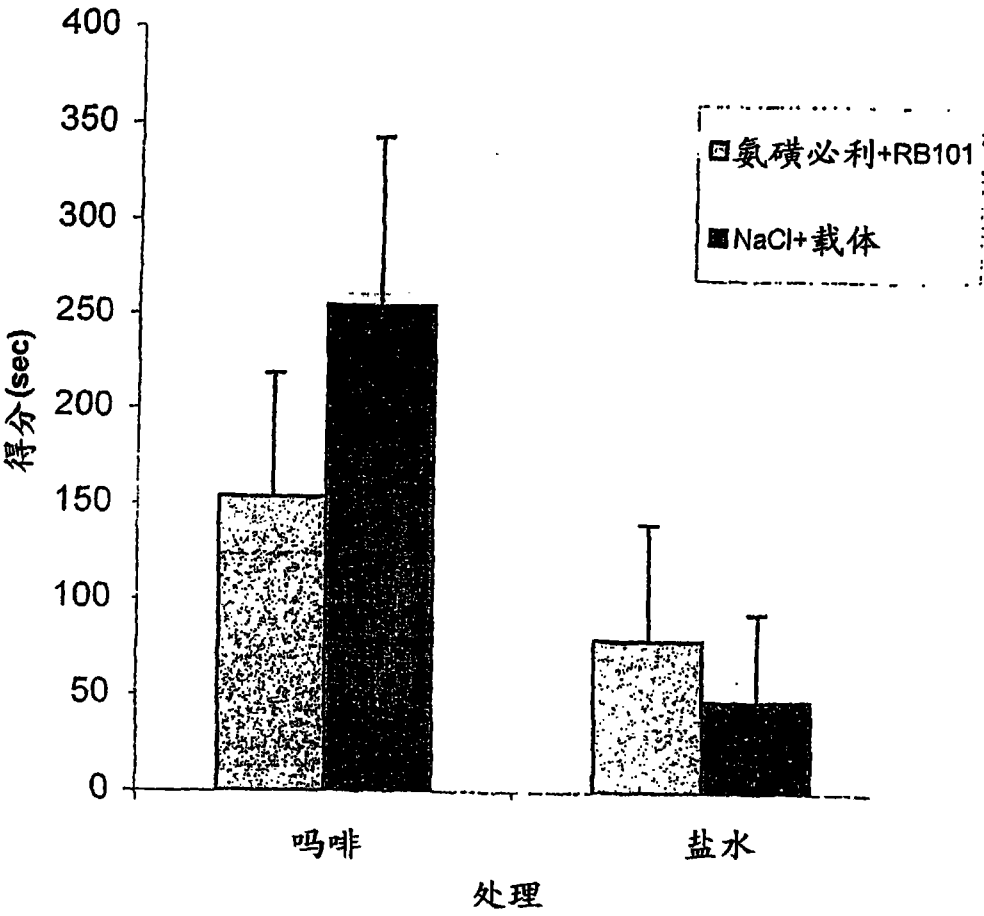


图2

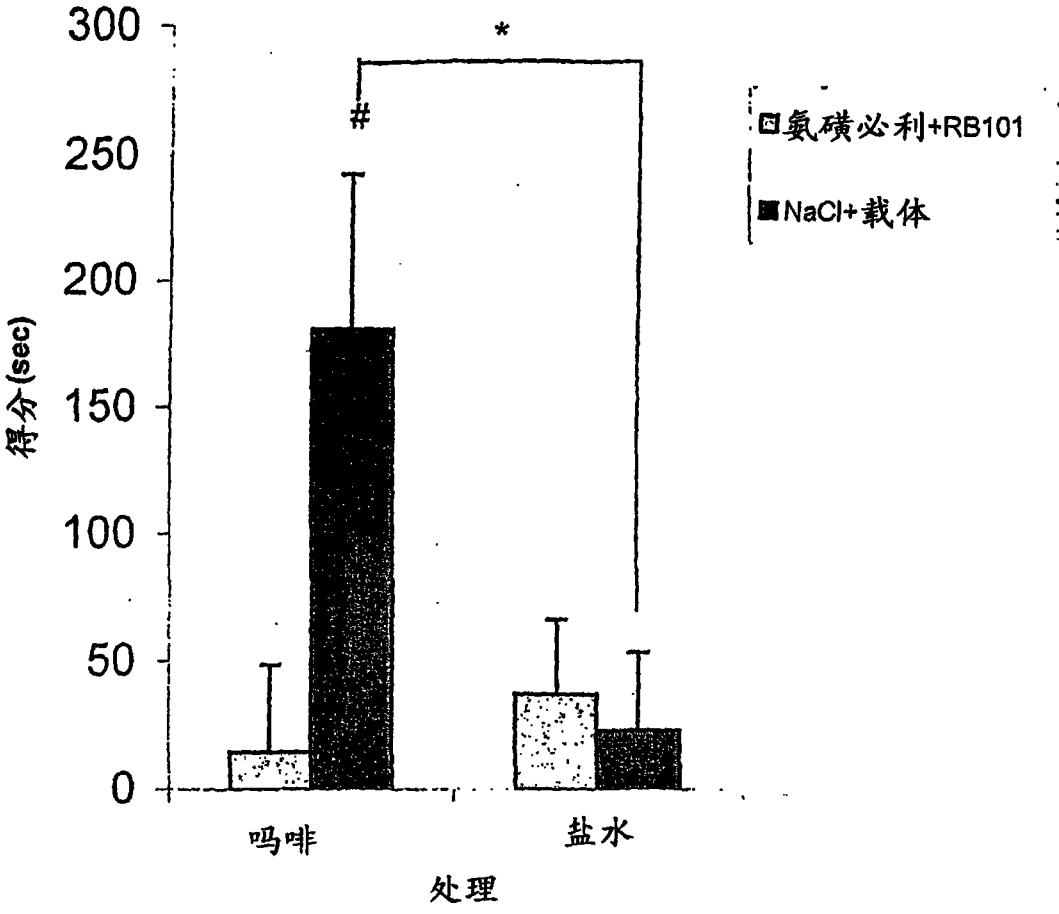


图 3

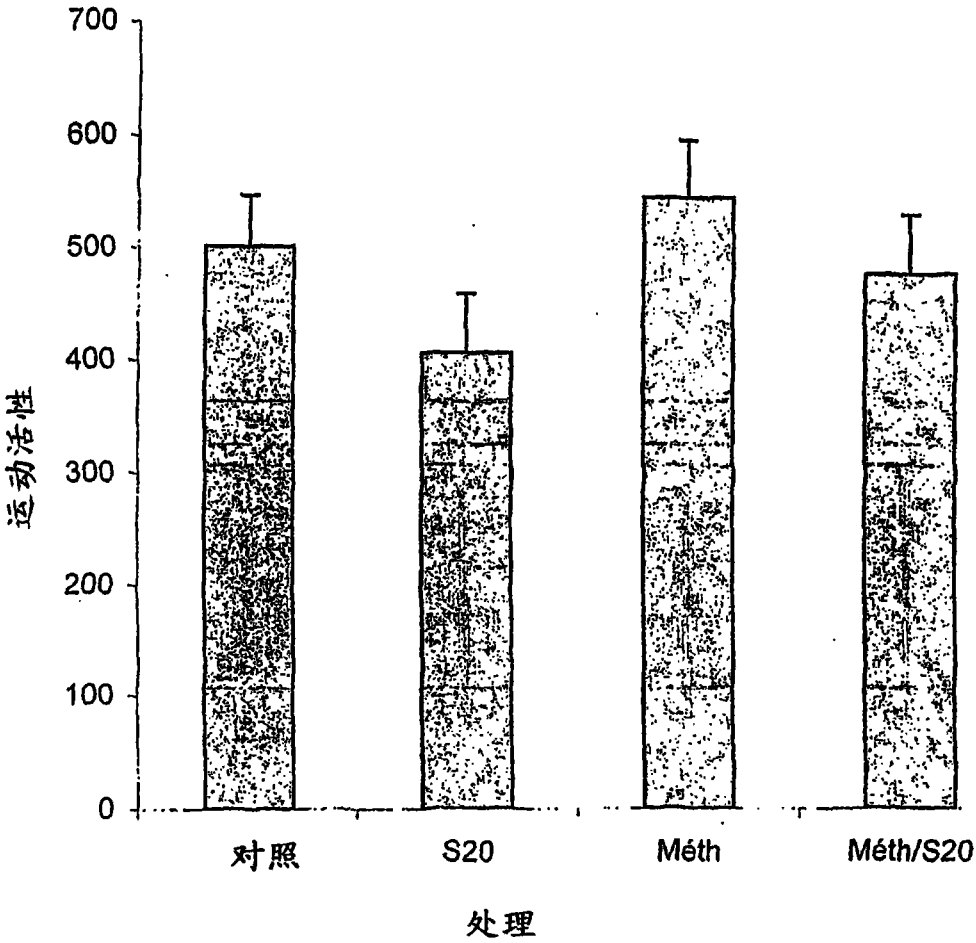


图 4

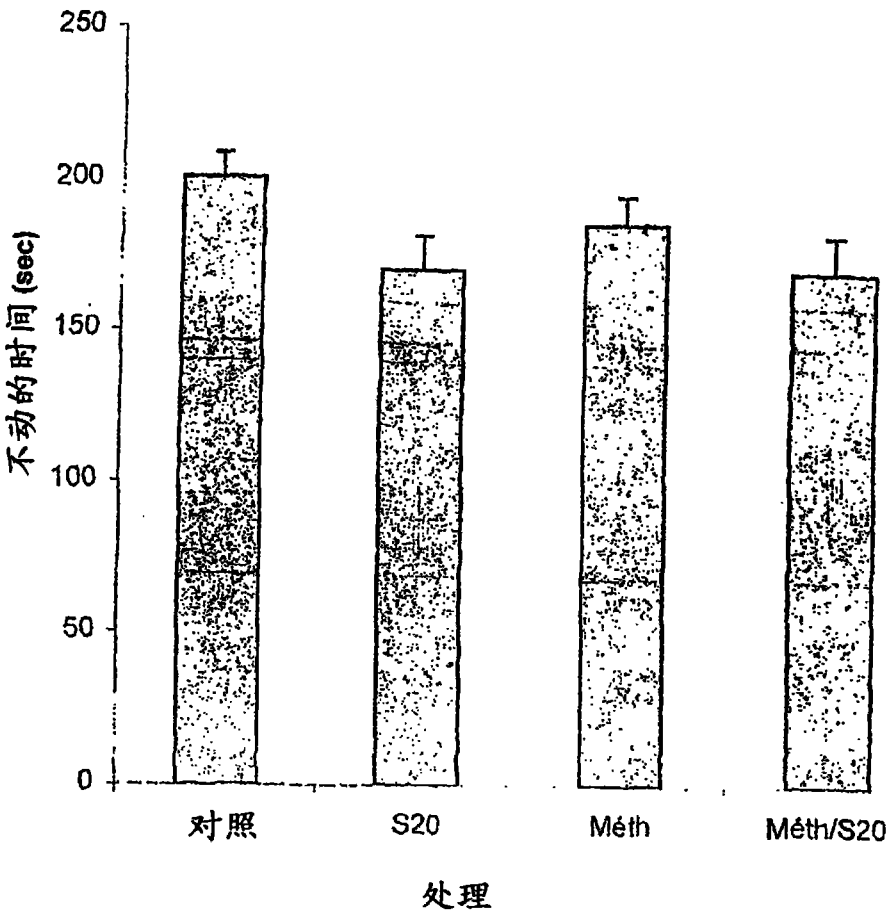


图5

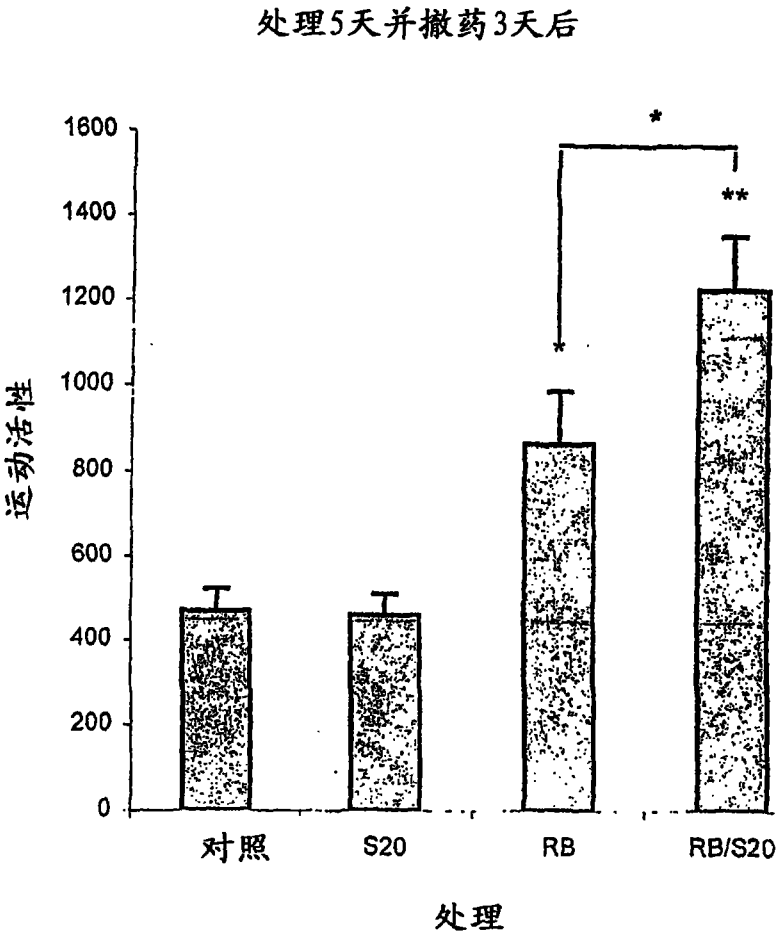


图6

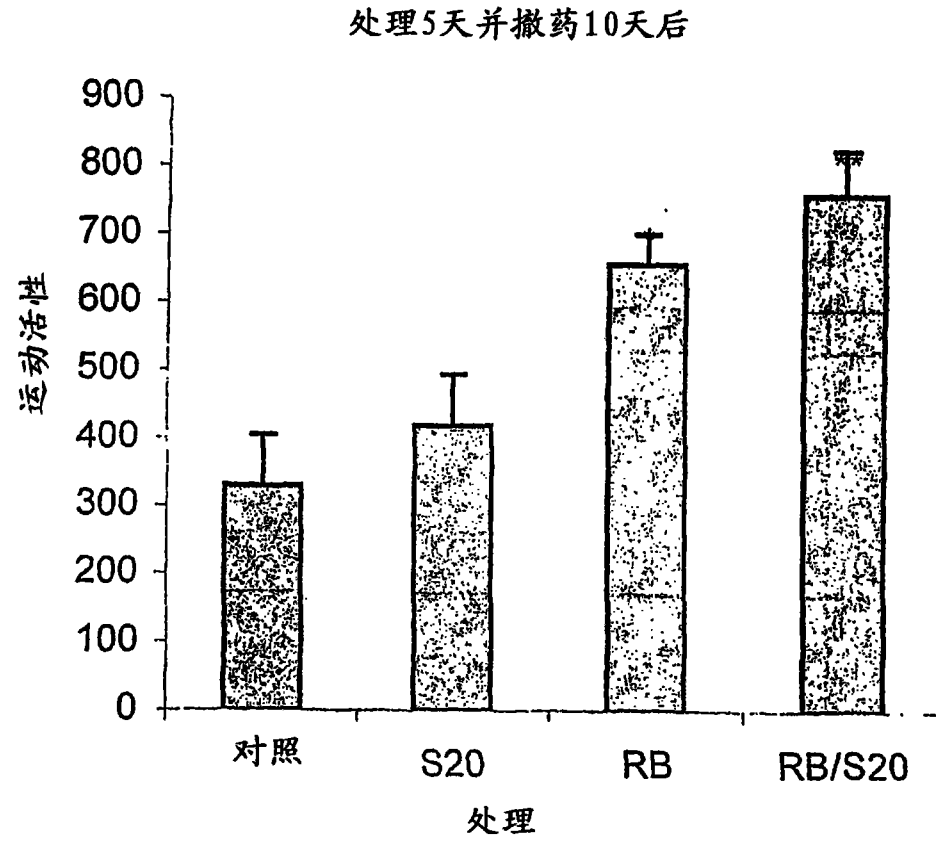


图 7

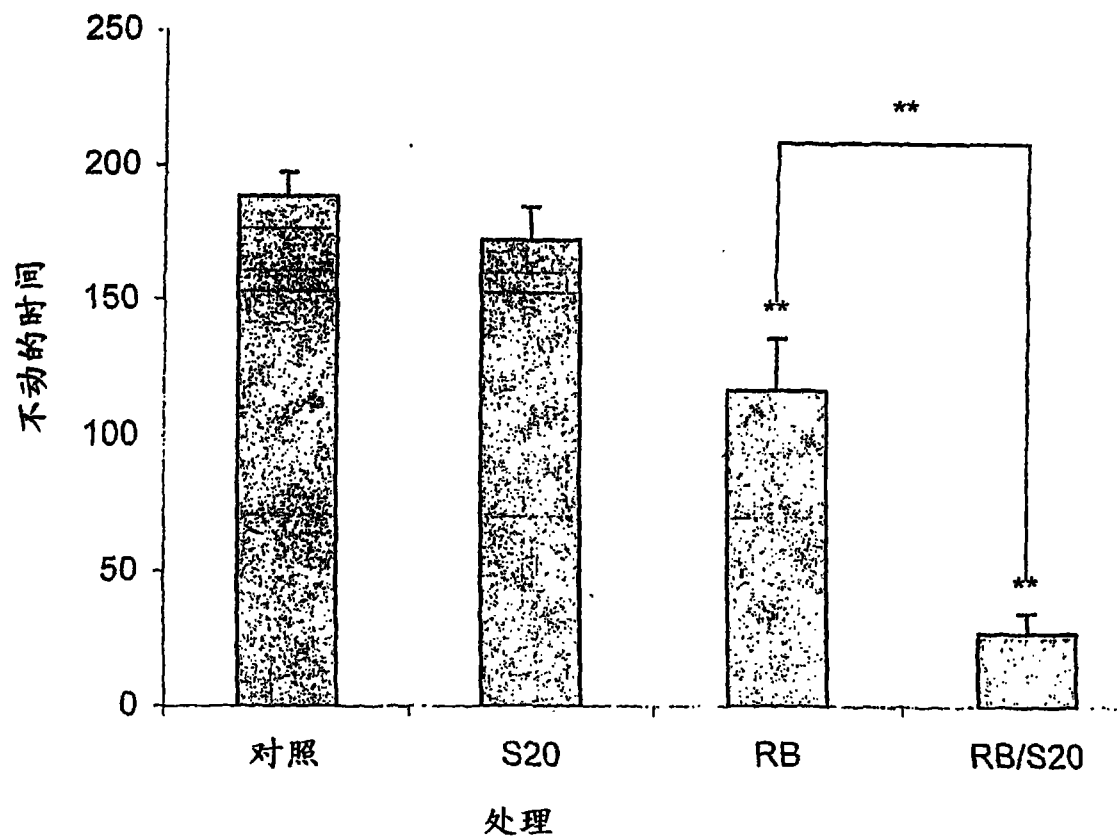


图8

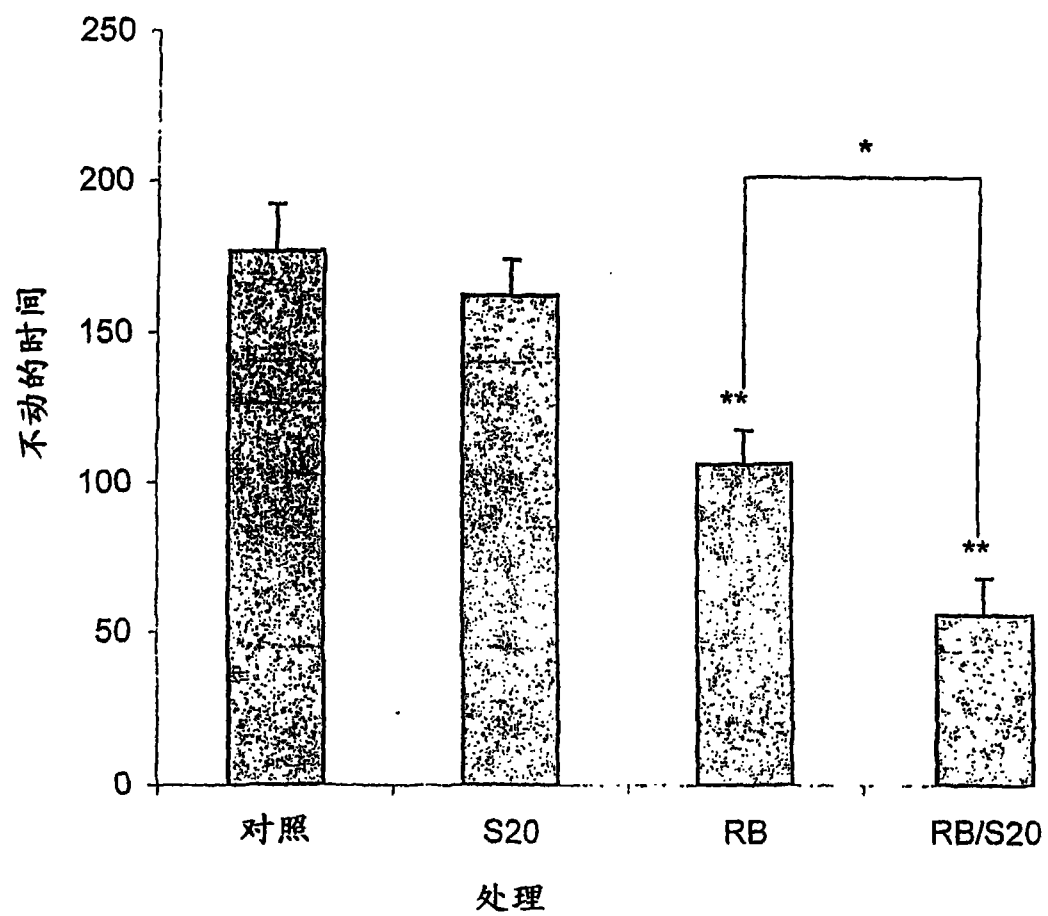


图9