

一种止痛止痒药物组合物及其应用方法

技术领域

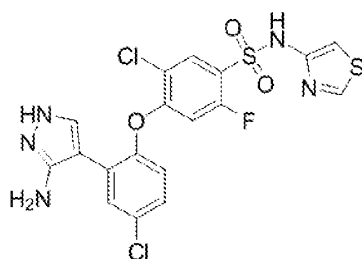
本发明涉及医药化学领域，具体涉及钠离子通道 $\text{Na}_v1.7$ 和 $\text{Na}_v1.8$ 抑制剂在治疗 $\text{Na}_v1.7$ 和 $\text{Na}_v1.8$ 活性过高引起的疾病中的应用。

背景技术

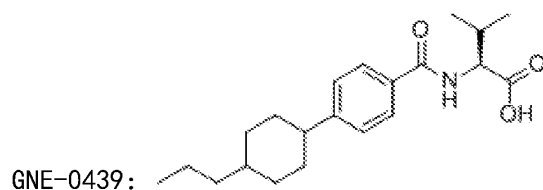
神经病理性疼痛是一种难治的疼痛，目前临床一线药物 Gabapentin 和 Pregabalin 都只能对 40%-60% 的神经病理性疼痛患者有缓解效果，且有镇静（如嗜睡、疲劳、眩晕等）的副作用。因而需效果更好的治疗慢性疼痛的药物来救助患者。电压门控钠离子通道（Voltage-gated sodium channel, Na_v ） $\text{Na}_v1.7$ 和 $\text{Na}_v1.8$ 在躯体感觉神经元中高表达，在瘙痒和疼痛传导中起重要作用，是一类跨膜糖蛋白复合体，由一个 α 亚基和数个 β 亚基构成。例如，编码 $\text{Na}_v1.7$ 的 α 亚基的 SCN9A 的功能获得突变会引起遗传性红斑性肌痛和特发性小纤维神经性痛（SFN），而缺失 $\text{Na}_v1.7$ 导致人先天性对疼痛不敏感和敲除 $\text{Na}_v1.7$ 小鼠没有任何疼痛（包括炎症性疼痛和神经性疼痛）。编码 $\text{Na}_v1.8$ 的 α 亚基的 SCN10A 的功能获得性突变与 SFN、神经病理性疼痛和糖尿病周围神经病变疼痛有关，而 SCN10A 的功能丧失突变会使人的机械疼痛敏感性降低，以及 SCN10A 敲除小鼠对伤害性机械刺激和热刺激具有更高的阈值（A. Kanellopoulos et al., Voltage-gated sodium channels and pain-related disorders. Clin Sci (Lond). 2016 Dec 1;130(24):2257-2265）。基因敲除实验也证实 $\text{Na}_v1.7$ 和 $\text{Na}_v1.8$ 也是痒觉传导所必须的，表明它们是治疗痒的靶点（H. Kühn et al., Complementary roles of murine $\text{Na}_v1.7$, $\text{Na}_v1.8$ and $\text{Na}_v1.9$ in acute itch signalling. Sci Rep. 2020 Feb 11;10(1):2326.）。最近报道 $\text{Na}_v1.7$ 和 $\text{Na}_v1.8$ 在一部分背根神经节中的感觉神经元中共同表达，且需同时抑制 $\text{Na}_v1.7$ 和 $\text{Na}_v1.8$ 的活性才能抑制这部分感觉神经元的动作电位发放（D. Jurcakova et al., Voltage-Gated Sodium Channels Regulating Action Potential Generation in Itch-, Nociceptive-, and Low-Threshold Mechanosensitive Cutaneous C-Fibers. Mol Pharmacol.

2018 94, 1047-1056)。因此推测可能需要同时抑制 Na_v1.7 和 Na_v1.8 的功能才能取得足够好的治疗某些疼痛的效果。

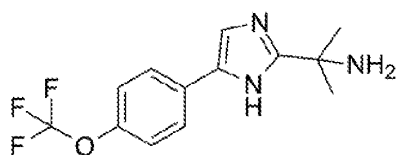
虽然已报道很多 Na_v1.7 选择性小分子抑制剂和很多 Na_v1.8 选择性小分子抑制剂,但都还没有开发至临床应用。其中两个 Na_v1.7 选择性抑制剂 PF-05089771、GNE-0439, 和两个 Na_v1.8 选择性抑制剂 PF-04885614、PF-04531083 的结构如下所示:



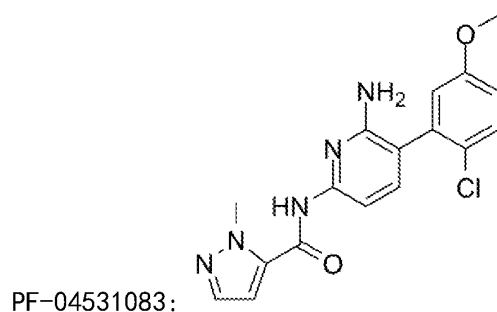
PF-05089771:



GNE-0439:



PF-04885614:



PF-04531083:

PF-05089771 抑制人 $\text{Na}_v1.7$ 的 IC_{50} 值是 11nM, 但在治疗糖尿病神经病理性疼痛的临床研究中因效果不佳而失败 (A. McDonnell, Efficacy of the $\text{Na}_v1.7$ blocker PF-05089771 in a randomised, placebo-controlled, double-blind clinical study in subjects with painful diabetic peripheral neuropathy. Pain. 2018 Aug;159(8):1465-1476.), 其体内镇痛效果不佳的原因不清楚。

发明内容

本发明的研究发现单独抑制 $\text{Na}_v1.7$ 或 $\text{Na}_v1.8$ 的活性所产生的镇痛效果随着外周神经损伤的时程而降低, 而且发现对 $\text{Na}_v1.7$ 小分子抑制剂响应不佳的神经病理性疼痛小鼠对 $\text{Na}_v1.8$ 的小分子抑制剂有较好的响应。根据此发现, 我们研究不同 $\text{Na}_v1.7$ 抑制剂和 $\text{Na}_v1.8$ 抑制剂联合给药的镇痛效果, 并发现联合给合适剂量的 $\text{Na}_v1.7$ 抑制剂 PF-05089771 和 $\text{Na}_v1.8$ 抑制剂 PF-04885614 能显著增加镇痛效果和提高个体响应率至 100%。因此 PF-05089771 和 PF-04885614 的组方可以治疗涉及 $\text{Na}_v1.7$ 和 $\text{Na}_v1.8$ 活性的疾病, 包括但不限于难治性的疼痛和瘙痒。

给出本发明需要保护的技术方案, 如下:

一种止痛止痒药物组合物, 其特征在于, 由 PF-05089771 和 PF-04885614 联合, 所述药物在治疗 $\text{Na}_v1.7$ 和 $\text{Na}_v1.8$ 共相关的疾病中的应用。

上述疾病包括瘙痒和疼痛, 其中疼痛包括炎症疼痛和/或神经病理性疼痛, 可以选自偏头痛、牙痛、三叉神经痛、癌症相关疼痛、术后及创伤性疼痛、肌肉骨骼疼痛 (如关节痛)、痛经、内脏疼痛、糖尿病周围神经病变引起的疼痛中的至少一种。

所述 PF-05089771 和 PF-04885614 的质量配比为 100: 1 至 1: 100。

其中优选的为 50: 1 至 1: 1。

再优选的为 20: 1 至 30: 1。

所述药物组合物, 其特征在于, 作为药物, 其给药的途径可以包括但不限于: 口服、口腔内、注射、呼吸道、皮肤、眼部、鼻粘膜、直肠、阴道、耳部、透析等。

进一步说明, 所述药物, 具体应用时还包括药学上可接受的载体。所述载体包括任何溶剂, 赋形剂、分散介质, 包衣, 等渗剂和/或吸收延迟剂, 等等。例如, 可以选自淀粉、微晶纤维素、乳糖、蔗糖、露醇、无机盐类 (如硫酸钙、磷

酸氢钙、碳酸钙、二水硫酸钙等)、羟丙基纤维素、羧甲基淀粉钠、交联聚乙烯吡咯烷酮、海藻酸钠、琼脂、羟丙基甲基纤维素、甲基纤维素、羟乙基纤维素、卡波普、聚乙烯醇、丙烯酸树脂、壳聚糖、蜂蜡和硬脂酸中的至少一种。

附图说明

图 1: 实施例 1 中与 SNI 手术前的基础值相比, 小鼠术后 2 周、4 周、6 周的机械疼痛阈值显著性降低。 $n=20-28$, **** $P<0.0001$, with Mann-Whitney test。

图 2: 实施例 1 中腹腔注射 2 mg/kg 剂量的 PF-05089771 ($Na_v1.7$ 抑制剂) 在 SNI 小鼠上的镇痛效果 (ΔPWT) 从术后 2 周到 6 周是逐渐降低的。 $n=20-28$, * $P<0.05$, **** $P<0.0001$, with Mann-Whitney test。

图 3: 实施例 1 中腹腔注射 45 μ g/kg 剂量的 PF-04885614 ($Na_v1.8$ 抑制剂) 在 SNI 小鼠上的镇痛效果从术后 2 周到 6 周是逐渐降低的。 $n=17-21$, * $P<0.05$, *** $P<0.001$, **** $P<0.0001$, with Mann-Whitney test。

图 4: 实施例 2 中与溶剂组相比, 腹腔注射 2 mg/kg 的 PF-05089771 和 45 μ g/kg PF-04885614 能显著抑制 SNI 术后 6 周小鼠的机械疼痛, 其镇痛效果比给单个药物的组的好。 $n=12$, * $P<0.05$, *** $P<0.001$, with Mann-Whitney test。

图 5: 实施例 2 中与溶剂组相比, 腹腔注射 2 mg/kg 的 PF-05089771 和 90 μ g/kg PF-04885614 能显著抑制 SNI 术后 6 周小鼠的机械疼痛, 其镇痛效果比给单个药物的组的好。 $n=12$, * $P<0.05$, *** $P<0.001$, **** $P<0.0001$, with Mann-Whitney test。

图 6: 实施例 2 中与溶剂组相比, 腹腔注射 100 mg/kg 的 Gabapentin 能显著抑制 SNI 术后 6 周小鼠的机械疼痛。 $n=12$, **** $P<0.0001$, with Mann-Whitney test。

图 7: 实施例 2 中与溶剂组相比, 腹腔注射 1 mg/kg 的 PF-05089771 和 45 μ g/kg PF-04885614 能显著抑制 SNI 术后 6 周小鼠的机械疼痛, 其镇痛效果比给单个药物的组的好。 $n=12$, * $P<0.05$, with Mann-Whitney test。

图 8: 实施例 2 中与溶剂组相比, 腹腔注射 1 mg/kg 的 PF-05089771 和 45 μ g/kg PF-04885614 (低剂量联用) 的剂量组能显著抑制 SNI 术后 6 周小鼠的机械疼痛, 并且 2 mg/kg 的 PF-05089771 和 90 μ g/kg 的 PF-04885614 (高剂量联用) 的镇痛效果显著优于低剂量联用组。 $n=11-12$, **** $P<0.0001$, with Mann-

Whitney test。

图 9: 实施例 3 中腹腔注射 20 μ g/kg GNE-0439, 或 90 μ g/kg PF-04885614, 或联用 20 μ g/kg GNE-0439 和 90 μ g/kg PF-04885614 对 SNI 术后 6 周小鼠的镇痛效果。n=12, * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$, with Mann-Whitney test.

图 10: 实施例 3 中腹腔注射 2 mg/kg PF-05089771, 或 10 mg/kg PF-04531083, 或联合 2 mg/kg PF-05089771 和 10 mg/kg PF-04531083 对 SNI 术后 6 周小鼠的镇痛效果。n=12, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$, with Mann-Whitney test.

具体实施方式

本领域公知, 电压门控钠离子通道在痛觉和痒觉的传导中起重要作用。钠离子通道 1.7 ($Na_v1.7$) 和 1.8 ($Na_v1.8$) 参与生理条件下和病理条件下的疼痛的传导。

本发明团队在研究 $Na_v1.7$ 和 $Na_v1.8$ 在外周损伤诱导的小鼠神经病理性疼痛中的贡献时发现 $Na_v1.7$ 的抑制剂 PF-05089771 和 $Na_v1.8$ 抑制剂 PF-04885614 对神经病理性疼痛的镇痛效果随着疾病的时程延长而显著减弱, 且个体响应率也随着疾病的时程延长而降低。并且发现对 PF-05089771 响应不好的个体对 PF-04885614 有较好的响应。从而研究联用 $Na_v1.7$ 和 $Na_v1.8$ 的抑制剂对慢性神经病理性疼痛的治疗效果, 并发现**不同比例的 PF-05089771 和 PF-04885614 对慢性神经病理性疼痛有叠加的镇痛效果, 且增加动物个体的响应率, 最佳剂量的 PF-05089771 和 PF-04885614 组合不仅有明显的镇痛效果, 而且响应率可达到 100%; 而联用 GNE-0439 和 PF-04885614 没有叠加的镇痛效果**, 联用 PF-05089771 和 PF-04531083 虽有叠加的镇痛效果, 但观察到该有效剂量的 PF-04531083 有明显的镇静和降低体重的副作用。因此, **本发明发现联合使用 PF-05089771 和 PF-04885614 可以有效缓解神经病理性疼痛**, 比单用 PF-05089771 或 PF-04885614 的效果优越, 最佳剂量的镇痛效果与临床药物 Gabapentin 的效果相当, 但未观察到类似于相当剂量的 Gabapentin 导致的镇静副作用。

以下结合附图和实施例对本发明技术方案做进一步说明。

实施例 1

给单个药物的效果实施例

为了测试 $Na_v1.7$ 和 $Na_v1.8$ 抑制剂在不同时间点缓解外周神经损伤诱导的神

经病理性疼痛的效果,我们购买了5-6周龄C57/BJ6小鼠(上海斯莱克实验动物有限责任公司),饲养6个月后,把小鼠置于铁架上的透明有机玻璃罩中,30分钟后用Von Frey (DanMic Global, CA, USA)检测了小鼠的基础机械阈值(缩足阈值, Paw withdrawal threshold, PWT),小鼠的平均阈值为 1.54 ± 0.07 g, 见图1。根据参考文献制备了Spared nerve injury (SNI)神经损伤的神经病理性疼痛C57/BJ6小鼠模型,在术后2周、4周、6周时同样用Von Frey检测小鼠的机械疼痛阈值,其阈值显著低于术前的阈值,平均阈值分别为 0.14 ± 0.02 g、 0.06 ± 0.01 g、 0.12 ± 0.02 g, 见图1。然后我们检测腹腔注射2 mg/kg的 **PF-05089771** (Na_v1.7抑制剂, Bio-Techne) 或 $45 \mu\text{g/kg}$ 的 **PF-04885614** (Na_v1.8抑制剂, Bio-Techne) 在SNI术后2周、4周、6周小鼠上的镇痛效果。

注射药物1个小时后检测小鼠的机械疼痛阈值,结果显示注射2 mg/kg的 **PF-05089771** 能显著缓解SNI术后2周小鼠的神经性疼痛,提升小鼠的机械疼痛阈值($\Delta\text{PWT} = \text{给药后阈值} - \text{给药前阈值}$) 0.77 ± 0.10 g, 其中响应较差($\Delta\text{PWT} \leq 0.2$ g)的小鼠占10% (2/20); 但2 mg/kg的 **PF-05089771** 的效果随着术后的时间的增加而递减,在SNI术后4周时只能提升小鼠的机械疼痛阈值 0.39 ± 0.07 g, 其中响应较差($\Delta\text{PWT} \leq 0.2$ g)的小鼠占41.7% (10/24), 在SNI术后6周时只能轻微提升小鼠的机械疼痛阈值 0.17 ± 0.03 g, 其中响应较差($\Delta\text{PWT} \leq 0.2$ g)的小鼠占57.1% (16/28), 见图2。

类似PF-05089771, 注射 $45 \mu\text{g/kg}$ 的 **PF-04885614** 能显著缓解SNI术后2周小鼠的神经病理性疼痛,提升的机械疼痛阈值为 0.86 ± 0.14 g, 其中响应较差($\Delta\text{PWT} \leq 0.2$ g)的小鼠占11.1% (2/18); 但 $45 \mu\text{g/kg}$ 的PF-04885614的效果随着术后时间的增加而急剧减弱,在SNI术后4周时只能微弱地提升小鼠的机械疼痛阈值 0.21 ± 0.04 g, 且与对照组比没有统计学显著差异, 其中响应较差($\Delta\text{PWT} \leq 0.2$ g)的小鼠占52.6% (10/19), 在SNI术后6周时平均镇痛效果下降至 0.10 ± 0.04 g, 其中响应较差($\Delta\text{PWT} \leq 0.2$ g)的小鼠占76.5% (13/17), 见图3。

实施例2

联用效果实施例

基于实施例 1, 我们进一步的研究发现 SNI 术后 6 周时对 2 mg/kg PF-05089771 响应不好 ($\Delta\text{PWT} \leq 0.2 \text{ g}$) 的小鼠占总数的 2/3 (8/12, 见表 1), 而其中的一半对 90 $\mu\text{g/kg}$ PF-04885614 有较好的响应 (见表 1 突出显示部分), 这建议联用 PF-05089771 和 PF-04885614 可能会增加镇痛效果。我们测试并发现腹腔注射 2 mg/kg PF-05089771 和 45 $\mu\text{g/kg}$ 或 90 $\mu\text{g/kg}$ PF-04885614 确实能显著缓解 SNI 术后 6 周的小鼠的神经病理性疼痛, 其镇痛效果也显著高于单个给药组的效果, 见图 4 和图 5。且 100% (12/12) 的小鼠对联用 2 mg/kg PF-05089771 和 90 $\mu\text{g/kg}$ PF-04885614 的响应好 (每只小鼠升高的阈值 $\Delta\text{PWT} > 0.5 \text{ g}$), 见表 1。这个效果与注射 100 mg/kg 的 Gabapentin 的效果 (见图 6) 相当, 但没有类似 Gabapentin 的镇静副作用。然后我们测试低剂量的两个化合物联用的镇痛效果。**结果表明腹腔注射 1 mg/kg PF-05089771 和 45 $\mu\text{g/kg}$ PF-04885614 也能显著的提升机械疼痛阈值 0.45 g, 比单个给药组的效果显著增加**, 见图 7。比较分析发现, 高剂量联合给药的 (2 mg/kg PF-05089771 和 90 $\mu\text{g/kg}$ PF-04885614) 镇痛效果显著优于低剂量联合给药的 (1 mg/kg PF-05089771 和 45 $\mu\text{g/kg}$ PF-04885614) 镇痛效果, 因而联合给予 PF-05089771 和 PF-04885614 的镇痛效果具有剂量效应, 见图 8。

表 1 SNI 术后 6 周小鼠对 PF-05089771 和 PF-04885614 的响应效果

SNI 术后 6 周	PF-05089771 2 mg/kg	PF-04885614 90 $\mu\text{g/kg}$	PF-05089771 2 mg/kg + PF-04885614 90 $\mu\text{g/kg}$
小鼠编号	ΔPWT (g)	ΔPWT (g)	ΔPWT (g)
1	0.36	0.36	0.56
2	0.33	0.53	1.33
3	0.33	0.53	1.33
4	0.33	0.53	1.93
5	0.2	1.6	1
6	0.05	0.58	0.98
7	0.09	0.53	1.93
8	0	0.44	1.84
9	0	0.2	1.6

10	0	0.2	1.6
11	0.12	0.12	1.96
12	0.09	-0.03	0.53

实施例 3

为了寻找最佳镇痛的 $\text{Na}_v1.7$ 和 $\text{Na}_v1.8$ 的抑制剂种类的组合, 我们测试了另一个 $\text{Na}_v1.7$ 抑制剂 GNE-0439 和 PF-04885614 联用的镇痛效果。腹腔注射 $20 \mu\text{g/kg}$ GNE-0439 和 $90 \mu\text{g/kg}$ PF-04885614 至 SNI 术后 6 周小鼠, 一小时后用 Von Frey 检测小鼠的机械阈值, 发现联合给 GNE-0439 和 PF-04885614 取得的镇痛效果没有显著优于单独给 GNE-0439 的镇痛效果 ($\Delta\text{PWT}=0.77 \text{ g} \pm 0.14 \text{ g}$, 见图 9), 且没有 2 mg/kg 的 PF-05089771 和 $90 \mu\text{g/kg}$ PF-04885614 的联合给药的镇痛效果 ($\Delta\text{PWT}=1.38 \text{ g} \pm 0.15 \text{ g}$) 好。然后我们测试了另一个 $\text{Na}_v1.8$ 抑制剂 PF-04531083 和 PF-05089771 联用的镇痛效果。腹腔注射 2 mg/kg PF-05089771 和 10 mg/kg PF-04531083 至 SNI 术后 6 周小鼠, 一小时后用 Von Frey 检测小鼠的机械阈值, 发现虽然联合给 PF-05089771 和 PF-04531083 取得的镇痛效果比单独给 PF-05089771 或 PF-04885614 的镇痛效果更好 (见图 10), 但观察到 10 mg/kg PF-04531083 有明显的镇静和降低体重的副作用。

权利要求书

1. 一种止痛止痒药物组合物, 其特征在于, 由 PF-05089771 和 PF-04885614 联合, 所述药物在治疗 Na_v1.7 和 Na_v1.8 共相关的疾病中的应用。

2. 如权利要求 1 所述的药物组合物, 其特征在于, 上述疾病包括瘙痒和疼痛, 其中疼痛包括炎症疼痛和/或神经病理性疼痛, 可以选自偏头痛、牙痛、三叉神经痛、癌症相关疼痛、术后及创伤性疼痛、肌肉骨骼疼痛(如关节痛)、痛经、内脏疼痛、糖尿病周围神经病变引起的疼痛中的至少一种。

3. 如权利要求 1 所述的药物组合物, 其特征在于, 所述 PF-05089771 和 PF-04885614 的质量配比为 100: 1 至 1: 100。

4. 如权利要求 3 所述的药物组合物, 其特征在于, 其中质量配比为 50: 1 至 1: 1。

5. 如权利要求 4 所述的药物组合物, 其特征在于, 质量配比为 20: 1 至 30: 1。

6. 如权利要求 4 所述的药物组合物, 其特征在于, 作为药物, 其给药的途径包括但不限于: 口服、口腔内、注射、呼吸道、皮肤、眼部、鼻粘膜、直肠、阴道、耳部、透析。

7. 如权利要求 6 所述的药物组合物, 其特征在于, 所述药物, 具体应用时还包括药学上可接受的载体;

所述载体包括任何溶剂, 赋形剂、分散介质, 包衣, 等渗剂和/或吸收延迟剂。

8. 如权利要求 7 所述的药物组合物, 其特征在于, 载体选自淀粉、微晶纤维素、乳糖、蔗糖、露醇、无机盐类、羟丙基纤维素、羧甲基淀粉钠、交联聚乙烯吡咯烷酮、海藻酸钠、琼脂、羟丙基甲基纤维素、甲基纤维素、羟乙基纤维素、卡波普、聚乙烯醇、丙烯酸树脂、壳聚糖、蜂蜡和硬脂酸中的至少一种。

9. 如权利要求 8 所述的药物组合物, 其特征在于, 无机盐类为硫酸钙、磷酸氢钙、碳酸钙、二水硫酸钙中的至少一种。