



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 114129733 A

(43) 申请公布日 2022. 03. 04

(21) 申请号 202111493868.6

A61P 25/00 (2006.01)

(22) 申请日 2021.12.08

(71) 申请人 中国科学院深圳先进技术研究院
地址 518055 广东省深圳市南山区深圳大学
学城学苑大道1068号

(72) 发明人 杨帆 邵杰 高大双 刘运辉
刘念

(74) 专利代理机构 北京品源专利代理有限公司
11332
代理人 边人洲

(51) Int. Cl.

A61K 45/00 (2006.01)

A61K 31/713 (2006.01)

A61K 31/4184 (2006.01)

A61P 25/22 (2006.01)

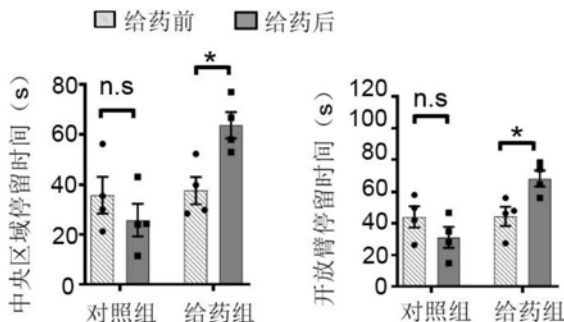
权利要求书1页 说明书5页
序列表1页 附图4页

(54) 发明名称

一种缓解焦虑及相关能量代谢紊乱的药物
及其应用

(57) 摘要

本发明公开了一种缓解焦虑及相关能量代谢紊乱的药物及其应用。所述药物包括T型电压门控型钙离子通道抑制剂。本发明首次发现下丘脑腹内侧核 (VMH) 神经元簇状放电与压力应激诱导焦虑及相关能量代谢紊乱之间的关系,并证明了通过T型电压门控型钙离子通道抑制剂抑制VMH神经元簇状放电,能够缓解焦虑及相关能量代谢紊乱等症状,表明T型电压门控型钙离子通道抑制剂在制备缓解焦虑及相关能量代谢紊乱的药物领域具有重要的应用价值。



1. 一种缓解焦虑及相关能量代谢紊乱的药物,其特征在于,所述药物包括T型电压门控型钙离子通道抑制剂。

2. 根据权利要求1所述的缓解焦虑及相关能量代谢紊乱的药物,其特征在于,所述T型电压门控型钙离子通道抑制剂包括抑制T型电压门控型钙离子通道表达的核酸、与T型电压门控型钙离子通道结合的拮抗剂或破坏T型电压门控型钙离子通道结构或功能的分子中的任意一种或至少两种的组合。

3. 根据权利要求1或2所述的缓解焦虑及相关能量代谢紊乱的药物,其特征在于,所述抑制T型电压门控型钙离子通道表达的核酸包括干扰T型电压门控型钙离子通道的Cav3.1亚型表达的干扰RNA;

优选地,所述干扰RNA的核酸序列包括SEQ ID NO.1所示的序列。

4. 根据权利要求1-3任一项所述的缓解焦虑及相关能量代谢紊乱的药物,其特征在于,所述T型电压门控型钙离子通道抑制剂包括美贝拉地尔。

5. 根据权利要求1-4任一项所述的缓解焦虑及相关能量代谢紊乱的药物,其特征在于,所述药物还包括辅料;

优选地,所述辅料包括药学可接受的载体、稀释剂、赋形剂、填充剂、粘合剂、润湿剂、崩解剂、乳化剂、助溶剂、增溶剂、渗透压调节剂、表面活性剂、包衣材料、着色剂、pH调节剂、抗氧化剂、抑菌剂或缓冲剂中的任意一种或至少两种的组合。

6. 根据权利要求1-5任一项所述的缓解焦虑及相关能量代谢紊乱的药物,其特征在于,所述药物的剂型包括混悬剂、颗粒剂、胶囊剂、散剂、片剂、乳剂、溶液剂、滴丸剂、注射剂、栓剂、灌肠剂、气雾剂、贴剂或滴剂中的任意一种。

7. 根据权利要求1-6任一项所述的缓解焦虑及相关能量代谢紊乱的药物,其特征在于,所述药物抑制下丘脑腹内侧核神经元的簇状放电。

8. 根据权利要求1-7任一项所述的缓解焦虑及相关能量代谢紊乱的药物,其特征在于,所述药物抑制T型电压门控型钙离子通道的Cav3.1亚型的功能。

9. T型电压门控型钙离子通道抑制剂在制备缓解焦虑及相关能量代谢紊乱的药物中的应用。

10. 根据权利要求7所述的应用,其特征在于,所述T型电压门控型钙离子通道抑制剂包括抑制T型电压门控型钙离子通道蛋白表达的核酸、与T型电压门控型钙离子通道蛋白结合的拮抗剂或破坏T型电压门控型钙离子通道结构或功能的分子中的任意一种或至少两种的组合。

一种缓解焦虑及相关能量代谢紊乱的药物及其应用

技术领域

[0001] 本发明属于生物医药技术领域,涉及一种缓解焦虑及相关能量代谢紊乱的药物及其应用。

背景技术

[0002] 慢性压力应激可诱导焦虑等情绪障碍并打破能量代谢平衡,使机体的能量策略变得保守,长期以往这种改变会导致许多代谢类疾病的发生发展。许多临床证据表明了焦虑等负面情绪和一些外周代谢疾病的相关性,例如焦虑或抑郁情绪会增加慢性代谢性心血管系统疾病的发病率;正常压力应激产生的激素分泌本身就能升高机体血糖的水平,而二型糖尿病患者中具有焦虑相关症状的比例要高于正常水平;而具有焦虑或抑郁症状的老年男性发生骨折的可能性更高,提示了负面情绪与骨代谢的联系。

[0003] 焦虑情绪调控相关的环路十分复杂,涉及的脑区较广泛,包括杏仁核、海马、终纹床核、下丘脑腹内侧核 (VMH)。最新研究表明下丘脑腹内侧核在焦虑相关环路中可能不仅仅是杏仁核的下游“效应器”,其本身就可调控焦虑相关行为,除调控焦虑情绪外,下丘脑腹内侧核在外周代谢的调控中也具有十分重要的作用,其调控功能的实现与自身的代谢活动密切相关,并且对外周代谢的调控作用受焦虑情绪的影响。但是迄今为止,下丘脑腹内侧核如何调控焦虑情绪进而影响外周代谢的神经机制尚不清楚。

[0004] 目前临床针对焦虑及相关代谢类疾病的治疗多采用抗焦虑药(如安定类镇静药物、选择性5-羟色胺再摄取抑制剂等),如CN111494406A公开了一种灵芝水煎液及其多糖在制备抗焦虑药物中的应用,或者只是单独针对代谢紊乱症状。但目前抗焦虑药物主要针对情绪障碍,作用机制复杂且多需长时间服用才可生效;而调节代谢的药物不能很好地从根源解决焦虑情绪带来的代谢问题。

[0005] 综上所述,如何提供一种同时缓解焦虑及相关能量代谢紊乱等症状的药物,是焦虑及相关能量代谢紊乱治疗领域亟待解决的问题之一。

发明内容

[0006] 针对现有技术的不足和实际需求,本发明提供一种缓解焦虑及相关能量代谢紊乱的药物及其应用,所述药物能够通过抑制T型电压门控型钙离子通道(T-type voltage gated calcium channel,T-VGCC)的功能和其介导的簇状放电来干预焦虑及相关能量代谢紊乱,能够有效缓解焦虑及相关能量代谢紊乱等症状。

[0007] 与现有技术相比,本发明采用以下技术方案:

[0008] 第一方面。本发明提供一种缓解焦虑及相关能量代谢紊乱的药物,所述药物包括T型电压门控型钙离子通道抑制剂。

[0009] 本发明中,通过慢性温和压力应激建立焦虑动物模型,首次发现下丘脑腹内侧核(VMH)神经元簇状放电与压力应激诱导焦虑及相关能量代谢紊乱之间的关系,具体的,首次发现了慢性压力应激可通过增加VMH中T型电压门控型钙离子通道(T-VGCC)特定亚类

Cav3.1蛋白(编码基因为CACNA1G)的表达,从而改变神经元的放电模式并诱导出焦虑情绪及相关代谢问题,基于上述发现,本发明提供了通过抑制介导VMH神经元簇状放电的T-VGCC来缓解焦虑及相关能量代谢紊乱等症状的方法,并提供了T-VGCC抑制剂在制备焦虑及能量相关代谢紊乱治疗药物中的应用。

[0010] 本发明中,T-VGCC可以在低阈值刺激(膜电位在-70mV至-60mV)时激活引起大量钙离子内流至细胞内促进去极化最终产生低阈值动作电位发放,从而诱发簇状放电,所述T-VGCC抑制剂的作用是抑制T-VGCC的功能,进而抑制VMH中的簇状放电。

[0011] 本发明所述T-VGCC抑制剂包括小分子化合物或复合物,或蛋白、核酸等大分子活性成分。例如与T-VGCC通道蛋白结合的拮抗剂,或是影响T-VGCC蛋白的表达水平的核酸,或者是作用于其他受体通过下游通路影响T-VGCC通道结构或功能的小分子或蛋白药物。

[0012] 优选地,所述T型电压门控型钙离子通道抑制剂包括抑制T型电压门控型钙离子通道表达的核酸、与T型电压门控型钙离子通道结合的拮抗剂或破坏T型电压门控型钙离子通道结构或功能的分子中的任意一种或至少两种的组合。

[0013] 优选地,所述抑制T型电压门控型钙离子通道表达的核酸包括干扰T型电压门控型钙离子通道的Cav3.1亚型表达的干扰RNA(干扰Cav3.1表达的双链RNA及修饰后的产物)。

[0014] RNA干扰(RNAi)是通过双链RNA来诱发同源mRNA高效特异性降解,从而使得目标基因的表达降低甚至消除。在本发明中,干扰RNA可包括小干扰RNA(Small interfering RNA, siRNA)、短发夹RNA(shRNA)或微小RNA(miRNA)中的任意一种或至少两种的组合。

[0015] 优选地,所述干扰Cav3.1表达的双链RNA的核酸序列包括SEQ ID NO.1所示的序列。

[0016] SEQ ID NO.1:CGGAAGAUCGUAGAUAGCAAA。

[0017] 优选地,所述T型电压门控型钙离子通道抑制剂包括美贝拉地尔。

[0018] 本发明中,所述美贝拉地尔为 $C_{29}H_{40}Cl_2FN_3O_3$,可通过竞争性地阻滞T型钙通道,使冠状动脉扩张和血管平滑肌松弛,因此常用于高血压的治疗。

[0019] 优选地,所述药物还包括辅料。

[0020] 优选地,所述辅料包括药学可接受的载体、稀释剂、赋形剂、填充剂、粘合剂、润湿剂、崩解剂、乳化剂、助溶剂、增溶剂、渗透压调节剂、表面活性剂、包衣材料、着色剂、pH调节剂、抗氧剂、抑菌剂或缓冲剂中的任意一种或至少两种的组合。

[0021] 优选地,所述药物的剂型包括混悬剂、颗粒剂、胶囊剂、散剂、片剂、乳剂、溶液剂、滴丸剂、注射剂、栓剂、灌肠剂、气雾剂、贴剂或滴剂中的任意一种。

[0022] 优选地,所述药物抑制下丘脑腹内侧核神经元的簇状放电。

[0023] 优选地,所述药物抑制T型电压门控型钙离子通道的Cav3.1亚型的功能。

[0024] 第二方面,本发明提供T型电压门控型钙离子通道抑制剂在制备缓解焦虑及相关能量代谢紊乱的药物中的应用。

[0025] 本发明首次将T型电压门控型钙离子通道抑制剂应用于制备缓解焦虑及相关能量代谢紊乱的药物,首次实现了同时治疗焦虑及相关能量代谢紊乱,和普通抗焦虑药相比,能更特异地针对单个脑区和焦虑引起的行为及代谢紊乱,而与普通代谢疾病相关药物相比,本发明针对中枢神经系统,从焦虑及相关代谢紊乱发病机制入手调节VMH簇状放电,系统地缓解症状,而不是简单地只针对诊断症状本身。

[0026] 优选地,所述T型电压门控型钙离子通道抑制剂包括抑制T型电压门控型钙离子通道蛋白表达的核酸、与T型电压门控型钙离子通道蛋白结合的拮抗剂或破坏T型电压门控型钙离子通道结构或功能的分子中的任意一种或至少两种的组合。

[0027] 优选地,所述抑制T型电压门控型钙离子通道表达的核酸包括干扰T型电压门控型钙离子通道的Cav3.1亚型表达的干扰RNA。

[0028] 优选地,所述干扰RNA的核酸序列包括SEQ ID NO.1所示的序列。

[0029] 优选地,所述T型电压门控型钙离子通道抑制剂包括美贝拉地尔。

[0030] 与现有技术相比,本发明具备以下有益效果:

[0031] (1) 本发明首次发现下丘脑腹内侧核(VMH)神经元簇状放电与压力应激诱导焦虑及相关能量代谢紊乱之间的关系,并证明了通过T-VGCC抑制剂抑制介导VMH神经元簇状放电的T-VGCC,能够缓解焦虑及相关能量代谢紊乱等症状;

[0032] (2) 本发明进一步证明T-VGCC抑制剂如美贝拉地尔和干扰T型电压门控型钙离子通道的Cav3.1亚型表达的干扰RNA能够有效同时缓解焦虑及相关能量代谢紊乱的小鼠的焦虑及相关能量代谢紊乱等症状,表明T-VGCC抑制剂在制备缓解焦虑及相关能量代谢紊乱的药物领域具有重要的应用价值。

附图说明

[0033] 图1A为旷场测试中小鼠在旷场各个部位停留时间热力图;

[0034] 图1B为高架十字迷宫测试中小鼠在不同地点停留时间热力图;

[0035] 图1C为代谢笼检测小鼠的能量代谢情况结果图;

[0036] 图2为小鼠VMH中簇状放电神经元簇状放电图;

[0037] 图3为慢性压力应激后小鼠VMH脑区染免疫色结果图,标尺为50 μ m;

[0038] 图4为焦虑小鼠给药前后在旷场中央区域和高架十字迷宫开放臂的停留时间统计图;

[0039] 图5为焦虑小鼠给药前后能量代谢情况图;

[0040] 图6为免疫染色的结果图,标尺为50 μ m;

[0041] 图7A为RNAi实验组和RNAi对照组小鼠VMH神经元电生理记录结果图;

[0042] 图7B为RNAi实验组和RNAi对照组小鼠在旷场中央区域和高架十字迷宫开放臂的停留时间统计图;

[0043] 图7C为RNAi实验组和RNAi对照组小鼠能量代谢情况结果图。

具体实施方式

[0044] 为进一步阐述本发明所采取的技术手段及其效果,以下结合实施例和附图对本发明作进一步地说明。可以理解的是,此处所描述的具体实施方式仅仅用于解释本发明,而非对本发明的限定。

[0045] 实施例中未注明具体技术或条件者,按照本领域内的文献所描述的技术或条件,或者按照产品说明书进行。所用试剂或仪器未注明生产厂商者,均为可通过正规渠道商购获得的常规产品。

[0046] 实施例1

[0047] 本实施例研究VMH神经元簇状放电与压力应激诱导焦虑及相关能量代谢紊乱之间的关系。

[0048] 取在相同培养条件培养的C57小鼠(3-4周,雄性,购于广东省医学实验动物中心),分为应激组和对照组,每组10只,应激组利用为期4周的温和刺激(拥挤,湿垫料,束缚)来诱导小鼠出现焦虑样行为以及外周能量代谢紊乱等压力应激相关表型,造模完成后进行焦虑样行为检测,对照组不经过诱导,所用范式为旷场和高架十字迷宫,行为学测试结果表明:压力应激组在旷场中央和高架十字迷宫开放臂停留的时间减少(如图1A和图1B所示),这些行为结果表明该压力应激范式可诱导出焦虑样行为。利用代谢笼检测了焦虑小鼠的能量代谢情况,将小鼠禁食过夜然后将小鼠放入代谢笼中,在校正好氧气/二氧化碳浓度测量系统后开始记录24小时数据,通过称量对比实验前后的鼠粮发现长期压力应激后诱导的焦虑情绪可减少小鼠的摄食量,而与之匹配的是能量消耗的减少与呼吸熵的降低(见图1C),表明本发明成功构建焦虑及能量代谢相关紊乱模型小鼠。

[0049] 将急性分离的脑组织切片(含VMH)加入人工脑脊液中孵育并进行测试,使用膜片钳进行电生理记录,膜片钳记录时对簇状放电神经元施加10pA余弦波式电流注射可诱发一连串簇状放电,发现VMH有许多能够产生簇状放电的神经元,簇状放电由许多组相对高频的动作电位发放组成,每一组之间存在一定时长的静息状态,VMH中的簇状放电主要是由T-VGCC介导的(见图2)。

[0050] 通过对焦虑模型小鼠的研究,发现慢性压力应激可通过增加VMH中T-VGCC特定亚类Cav3.1蛋白(编码基因为CACNA1G)的表达(见图3),从而改变神经元的放电模式诱导出焦虑情绪及相关代谢问题。

[0051] 实施例2

[0052] 本发明以美贝拉地尔为例验证T-VGCC抑制剂缓解焦虑及相关代谢紊乱症状的效果。

[0053] 将含VMH神经元的小鼠脑片加入人工脑脊液孵育并进行测试,使用膜片钳进行电生理记录,膜片钳记录时对簇状放电神经元施加10pA余弦波式电流注射可诱发一连串簇状放电,而在灌流液中加入T-VGCC抑制剂(美贝拉地尔,10 μ M)可抑制这种诱发出来的簇状放电,如图2所示,表明美贝拉地尔能够有效抑制VMH中的簇状放电。

[0054] 取实施例1构建的焦虑及能量代谢相关紊乱模型小鼠,使用T-VGCC抑制剂美贝拉地尔(10 μ M)对小鼠进行VMH局部注射,注射剂量为200n1,并对小鼠进行旷场和高架十字迷宫测试,以注射生理盐水组为对照(每组4只小鼠),结果如图4所示,与对照组相比,给药后的焦虑小鼠在旷场中央区域和高架十字迷宫开放臂的停留时间增加,表明焦虑样行为得到缓解;利用代谢笼检测焦虑小鼠的能量代谢情况,结果如图5所示,与对照组相比,给药后的焦虑小鼠食物摄入量、平均呼吸熵和能量消耗均增加,表明相关能量代谢紊乱得到缓解,综合上述,表明T-VGCC抑制剂能够通过抑制介导VMH神经元簇状放电的T-VGCC来缓解焦虑及相关能量代谢紊乱。

[0055] 实施例3

[0056] 本实施例以干扰Cav3.1表达的干扰RNA为例验证T-VGCC抑制剂缓解焦虑及相关代谢紊乱症状的效果。

[0057] RNA干扰(RNAi)是通过双链RNA来诱发同源mRNA高效特异性降解,从而使得目标基

因的表达降低甚至消除。在本实施例中,将序列(5'-CGGAAGATCGTAGATAGCAAA-3')克隆进腺相关病毒质粒载体(AAV9-DIO-CMV)中,并局部注射入实施例1构建的焦虑及能量代谢相关紊乱模型小鼠VMH脑区(RNAi实验组,8只小鼠进行试验),注射剂量为200nL,该序列表达出shRNA(SEQ ID NO.1)来干扰T-VGCC通道蛋白的翻译。将随机序列(5'-ACAAGAGAGTCTCGAGAAGTA-3')克隆进腺相关病毒质粒载体中,并局部注射入实施例1构建的模型小鼠VMH脑区(RNAi对照组,8只小鼠),该序列表达产生的RNA不干扰T-VGCC通道的表达。VMH的免疫染色结果(图6)表明在VMH表达Cav3.1干扰RNA可降低Cav3.1阳性神经元数量,且簇状放电神经元比例也发生下降,此外,对RNAi实验组和RNAi对照组小鼠的VMH神经元进行电生理记录,与注射了阴性对照干扰RNA的焦虑小鼠相比,注射干扰RNA的焦虑小鼠的VMH簇状放电明显降低(图7A),同时将野生型小鼠,以及未进行给药的焦虑小鼠(应激组),与RNAi对照组和RNAi实验组进行对比,进行旷场和高架十字迷宫测试以及利用代谢笼检测小鼠的能量代谢情况,与RNAi对照组相比,RNAi实验组小鼠在旷场中央区域和高架开放臂的停留时间增加(图7B),并且与野生型小鼠相似,说明小鼠焦虑样行为得到缓解;与RNAi对照组相比,RNAi实验组小鼠食物摄入量、平均呼吸熵和能量消耗均增加(图7C),并且与野生型小鼠相似,说明小鼠相关能量代谢紊乱得到缓解,综合上述,表明T-VGCC抑制剂能够通过抑制介导VMH神经元簇状放电的T-VGCC来缓解焦虑及相关能量代谢紊乱。

[0058] 综上所述,本发明首次发现下丘脑腹内侧核(VMH)神经元簇状放电与压力应激诱导焦虑及相关能量代谢紊乱之间的关系,并证明了通过T-VGCC抑制剂抑制介导VMH神经元簇状放电的T-VGCC,能够缓解焦虑及相关能量代谢紊乱等症状。

[0059] 申请人声明,本发明通过上述实施例来说明本发明的详细方法,但本发明并不局限于上述详细方法,即不意味着本发明必须依赖上述详细方法才能实施。所属技术领域的技术人员应该明了,对本发明的任何改进,对本发明产品各原料的等效替换及辅助成分的添加、具体方式的选择等,均落在本发明的保护范围和公开范围之内。

SEQUENCE LISTING

<110> 中国科学院深圳先进技术研究院
<120> 一种缓解焦虑及相关能量代谢紊乱的药物及其应用
<130> 2021-12-07
<160> 1
<170> PatentIn version 3.3
<210> 1
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列
<400> 1
cggaagaucg uagauagcaa a 21

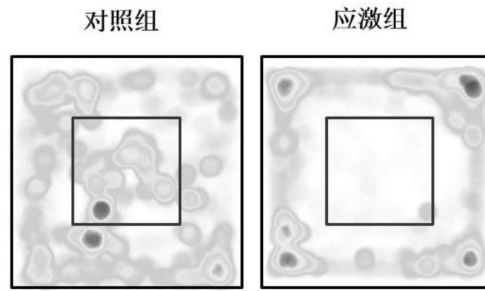


图1A

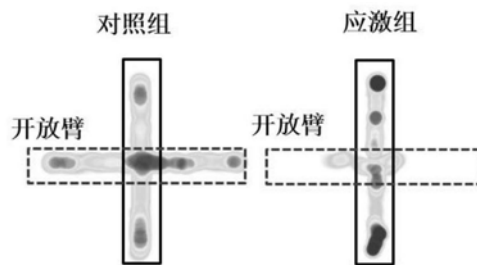


图1B

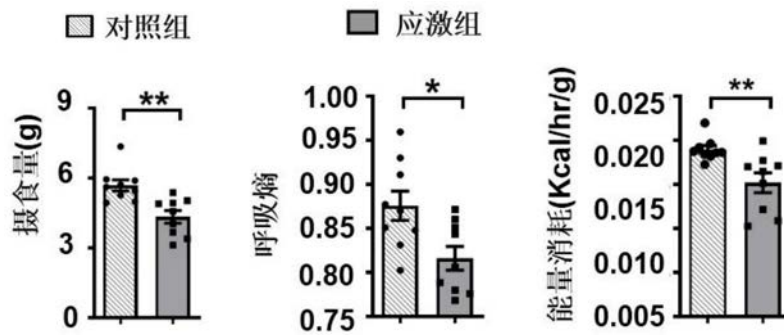


图1C

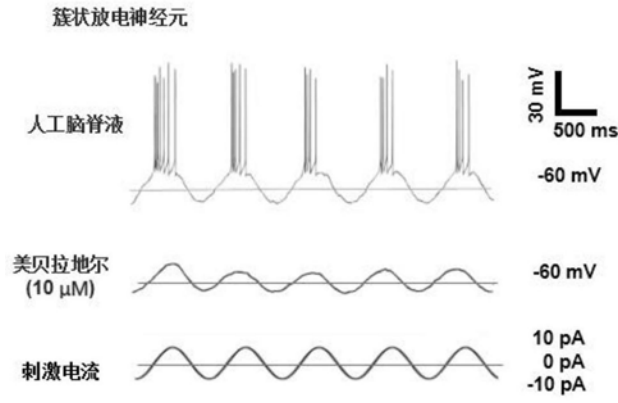


图2

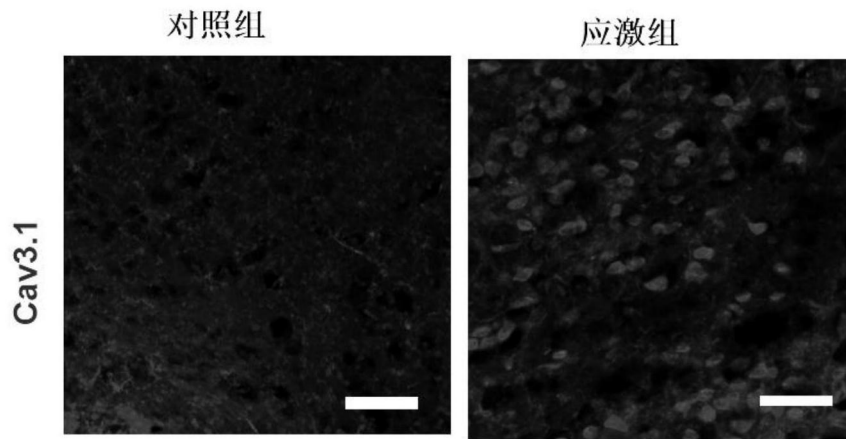


图3

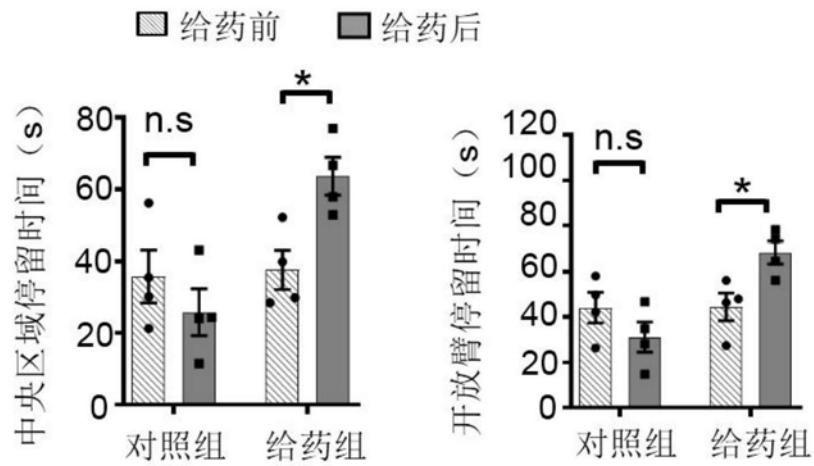


图4

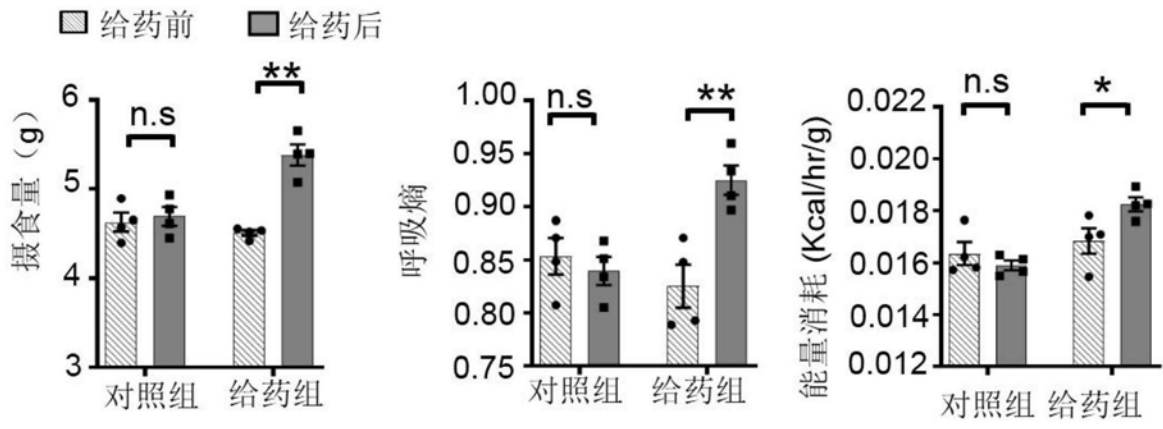


图5

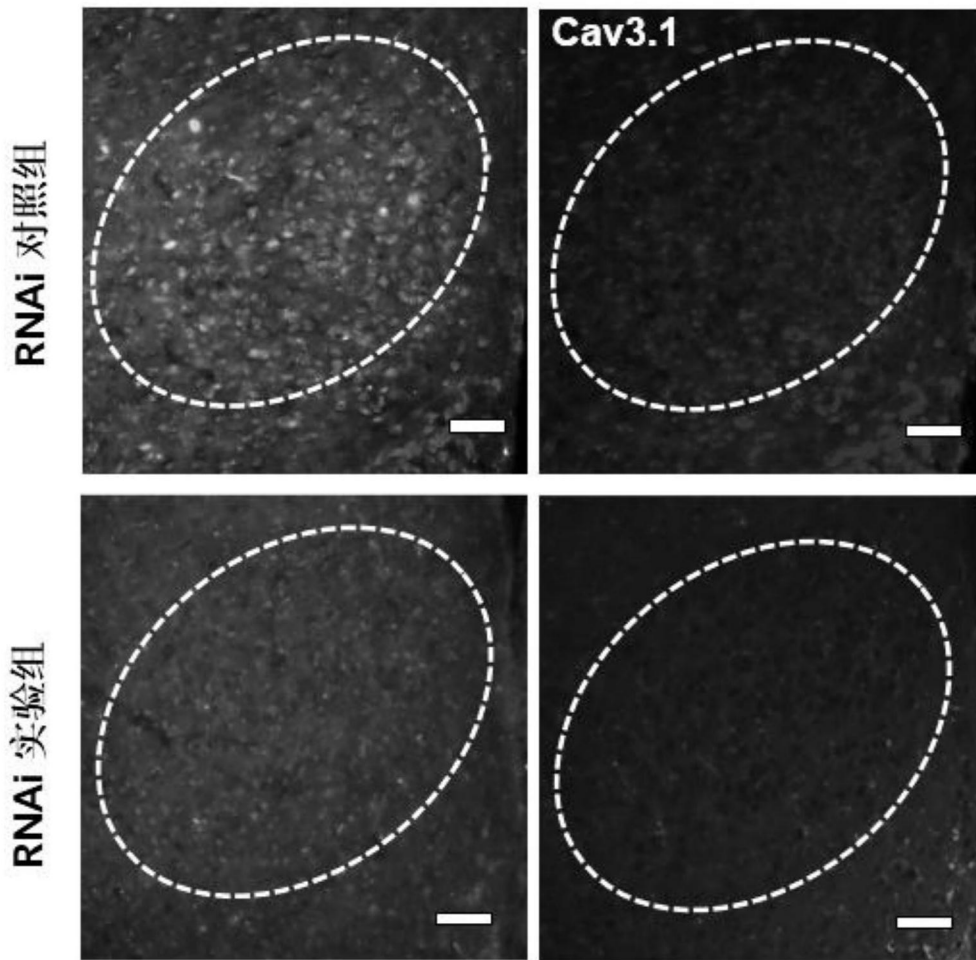


图6

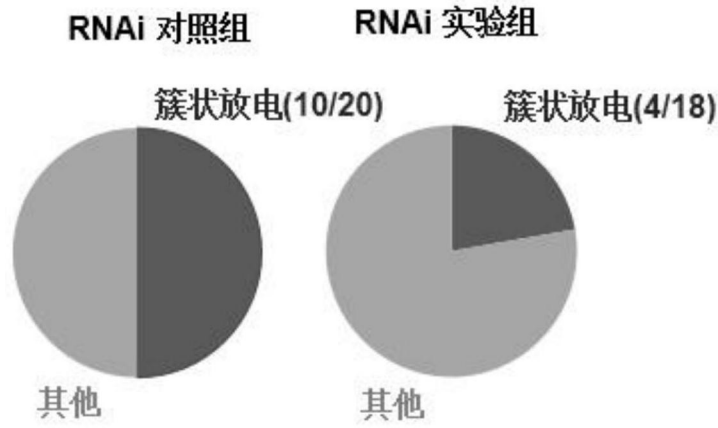


图7A

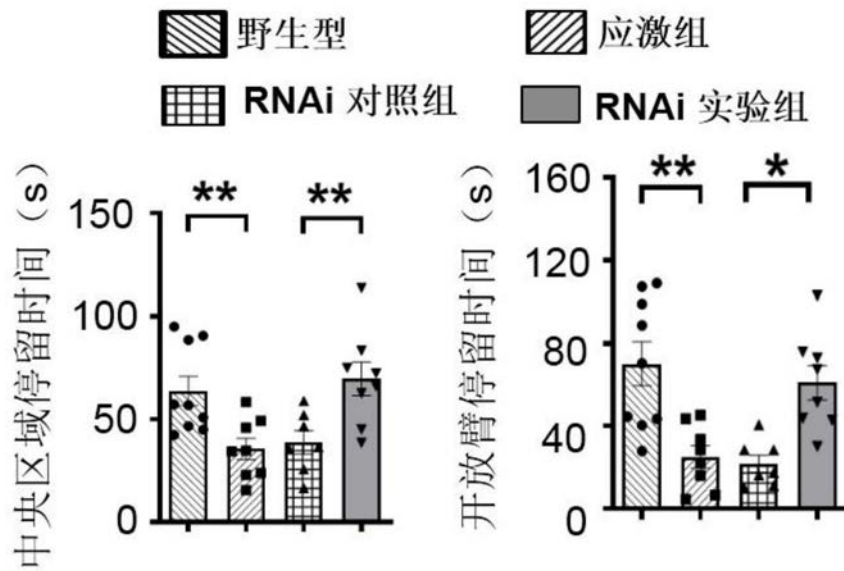


图7B

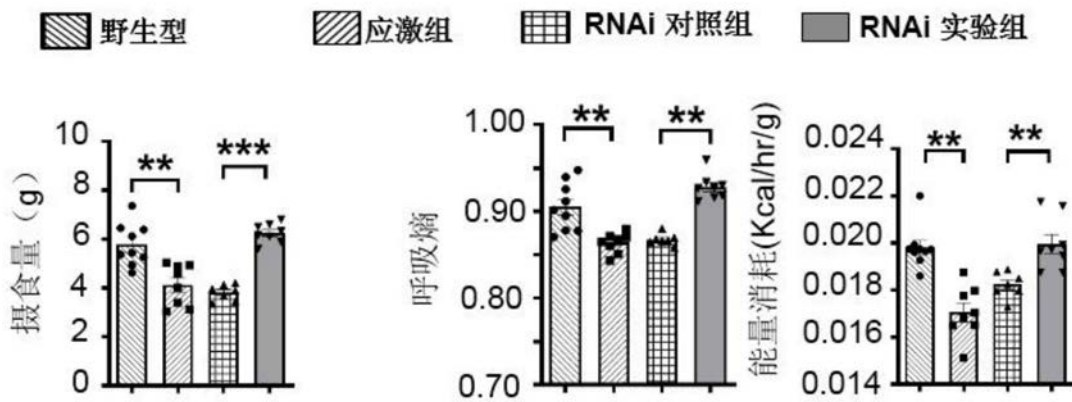


图7C