

槲皮素对大鼠 DRG 神经元 Nav1.8 电流的作用及机制

刘丽娜^{1,2},于鹏³,陈利⁴,孙志广^{1,2},汤依群^{3*}

¹南京中医药大学附属医院江苏省中医院,南京 210029; ²南京中医药大学第一临床医学院,南京 210046;

³中国药科大学药理学研究室,南京 210009; ⁴香港浸会大学中医药学院,香港 999077)

摘要 研究槲皮素(Que)对大鼠脊髓背根神经节(DRG)神经元Nav1.8通道电流($I_{\text{Nav1.8}}$)的作用。在急性分离的大鼠DRG神经元上,用全细胞膜片钳技术,观察Que干预 $I_{\text{Nav1.8}}$ 的剂量-反应关系以及Que影响的Nav1.8通道电压依赖的激活和失活特性。结果显示Que(10,30,100 $\mu\text{mol/L}$)可浓度依赖地抑制DRG神经元 $I_{\text{Nav1.8}}$ 峰值,峰值抑制率分别为($15.32 \pm 3.43\%$),($22.92 \pm 8.24\%$)和($47.29 \pm 11.42\%$),半数抑制浓度(IC_{50})为 $121.38 \mu\text{mol/L}$,Hill系数为0.76;100 $\mu\text{mol/L}$ Que可使DRG神经元的Nav1.8通道激活曲线向去极化方向偏移了0.83 mV,失活曲线向超极化方向偏移了1.86 mV;且与干预前比,半数失活电压($V_{1/2}$)为 $-(40.23 \pm 0.25)$ mV,有显著性差异($P < 0.01$)。说明Que可浓度依赖和电压依赖地抑制DRG神经元Nav1.8通道活性,进而降低痛觉信息的传递,改善慢性内脏痛。

关键词 槲皮素;背根神经节;Nav1.8通道电流;全细胞膜片钳;慢性内脏痛

中图分类号 R965 **文献标志码** A **文章编号** 1000-5048(2015)01-0094-06

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20150114

Effects and mechanism of quercetin on electric current of Nav1.8 in rat dorsal root ganglion neurons

LIU Lina^{1,2}, YU Peng³, CHEN Li⁴, SUN Zhiguang^{1,2}, TANG Yiqun^{3*}

¹ Jiangsu Province Hospital of TCM, Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029;

² College First Clinical Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046;

³ Pharmacological Research Institute, School of Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009;

⁴ College of Chinese Medicine, Hong Kong Baptist University, Hong Kong 999077, China

Abstract To study the effects of quercetin (Que) on the electric current of Nav1.8 ($I_{\text{Nav1.8}}$) in rat dorsal root ganglion (DRG) neurons, dose-effect relationship of Que on $I_{\text{Nav1.8}}$ and the activation and inactivation properties of voltage-dependent Nav1.8 influenced by Que were studied by using the whole-cell patch clamp technique in fresh isolated rat DRG neurons. It was found that different concentrations of Que (10, 30, 100 $\mu\text{mol/L}$) could inhibit $I_{\text{Nav1.8}}$ peak value of DRG neurons in concentration-dependent manner. The inhibition of peak currents were ($15.32 \pm 3.43\%$), ($22.92 \pm 8.24\%$) and ($47.29 \pm 11.42\%$) respectively, the IC_{50} was $121.38 \mu\text{mol/L}$ and the Hill coefficient was 0.76. In the existence of Que (100 $\mu\text{mol/L}$), the activation curve of Nav1.8 channel in DRG was slightly shifted to depolarizing direction for 0.83 mV, and the inactivation curve was shifted to hyperpolarizing direction for 1.86 mV. Compared with the stage before intervention, the half-activation voltage ($V_{1/2} = -40.23 \pm 0.25$ mV) was significantly different ($P < 0.01$). In conclusion, Que inhibits the Nav1.8 channel activity in dose and voltage-dependent manner, which may count for the reduction of algesesthesia transmission and the alleviation of chronic visceral pain.

Key words quercetin; dorsal root ganglion; Nav1.8 channel current; whole-cell patch clamp; chronic visceral pain

This study was supported by the Natural Science Foundation of Jiangsu Province (No. BK20140959); and the Specialized Research Fund for the Doctoral Program of Higher Education (No. 20133237110008)

* 收稿日期 2014-09-23 * 通信作者 Tel:13805190660 E-mail:Tangyiqu0130@sina.com

基金项目 江苏省自然科学基金资助项目 (No. BK20140959); 高等学校博士学科点专项科研基金资助项目 (No. 20133237110008)

脊髓背根神经节 (dorsal root ganglia, DRG) 是初级感觉神经元, 在伤害性刺激下, 外周感觉神经末梢的脊髓背角神经元上表达的钠通道等多种离子通道可形成电脉冲, 并通过有髓鞘的 A_δ 或无髓鞘的 C 传入纤维, 首先传入到脊髓的背角, 然后再传入高级中枢产生痛觉。其中异凝集素 B4 (isolectin B4, IB4) 表达阳性的 C 类纤维末梢主要投射到脊髓后角的Ⅱ区内侧, 相对于 IB4 阴性神经, 它的特性是有更高的河豚毒不敏感 (tetrodotoxin-resistant, TTX-R) 的钠电流密度, 电流激发阈值更高, 且动作电位时间更长^[1-2]。电压门控性钠通道 (voltage-gated sodium channels, VGSCs) 控制钠内流和动作电位的生成, 它共有 9 个亚型^[3], 其中亚型 Nav1.3 和 Nav1.8 在神经损伤和炎症伴随疼痛状态中发挥特殊作用^[4]。Nav1.8 目前已成为重要的特异性内脏痛的靶点^[5], 它主要表达在感受伤害的小直径 DRG 神经元上^[6], 并发现 60% 为 IB4 阳性神经元^[7]。Coggeshall 等^[8]发现给啮齿动物后爪注射卡拉胶后产生炎性疼痛, 其 DRG 神经元 Nav1.8 通道的蛋白和 mRNA 水平增高, 而 Laird 等^[9]发现 Nav1.8 基因敲除的小鼠缺乏辣椒素等伤害性刺激引起的肠内疼痛, 且多项证据证实 Nav1.8 通道敏化与内脏痛觉过敏等慢性痛关系密切^[10-11]。这些均表明, 初级感觉神经元 Nav1.8 在伤害性感受器的敏化中起重要作用。

既往研究证实槲皮素 (quercetin, Que) 及其衍生物对多种化学物质 (醋酸、福尔马林、谷氨酸、辣椒素) 致痛模型有浓度依赖的抗痛作用, 其机制涉及 L 精氨酸/一氧化氮 (L arginine/nitric oxide, L-Arg/NO)、羟色胺 (hydroxy tryptamine, HT) 和 γ-氨基丁酸 (γ-aminobutyric acid, GABA) 通路^[12], 但尚未涉及 Que 对 DRG 神经元的 Nav1.8 通道的研究。本研究采用全细胞膜片钳方法, 研究了 Que 对大鼠急性分离的 DRG 神经元 Nav1.8 电流的特性影响, 对其镇痛机制做进一步的探讨。

1 材 料

1.1 试 剂

DMEM 培养液、多聚赖氨酸 (美国 Gibco 公司); 胶原酶 I 型、胰蛋白酶 I 型、NaCl、KCl、CaCl₂、MgCl₂、2-[4-(2-羟乙基-1-哌嗪基)乙磺酸 (HEPES)、D-葡萄糖、NaOH、EGTA、Mg-ATP₂、氯化

胆碱、TEA-Cl、MCdCl₂、CsF、Na₂ATP、TTX (美国 Sigma 公司); Que (西安和霖生物工程有限公司)。

1.2 仪 器

EPC-10 膜片钳放大器 (德国 HEKA 公司); P-97 微电极拉制仪 (美国 Sutter 公司); MF-830 电极抛光仪 (日本 Micro Forge 公司); 电子天平 (德国 Sartorius 公司)。

1.3 动 物

成年 Sprague-Dawley 大鼠, 雌雄不限, 4~5 周龄, 清洁级, 由上海斯莱克动物中心提供, 许可证号: SCXK(沪)2013-0005。

2 方 法

2.1 DRG 脱搁神经元急性分离

成年大鼠麻醉后断头, 迅速取 L4-6 段脊柱, 放入 0 ℃ 预先充好氧气的 DMEM 培养液中。沿脊柱正中线将脊柱剪开, 取出背根节。用游离镊和精细角膜剪去除与神经节相连的神经索, 分离出背根神经节, 用培养液清洗 3~4 遍。把神经节放入胶原酶型 I 型 4 mg (1.5 mL) 和胰蛋白酶 I 型 1.5 mg (1.5 mL) 预混的溶液中, 36.5 ℃ 孵育 23~25 min。细胞外液清洗细胞 5~6 遍以终止酶的消化。用不同口径的吹打管轻轻吹打细胞, 制成细胞悬液, 用 0.1% 多聚赖氨酸预先包被好 24 mm 盖玻片, 置于 35 mm 的培养皿中。细胞悬液经 200 目筛网过滤后滴入 35 mm 的培养皿中, 细胞贴壁 2 h 后开始膜片钳实验。

2.2 溶液和药品配置

标准细胞外液 (mmol/L) 的组成: NaCl 130, KCl 5, CaCl₂ 5, MgCl₂ 2, HEPES 10, D-葡萄糖 10, 用 NaOH 调 pH 至 7.3~7.4, 4 ℃ 保存; 标准电极内液 (mmol/L) 的组成: KCl 140, HEPES 10, EGTA 10, Mg-ATP 2, Tris 碱调节 pH 7.4, 用孔径为 0.22 μm 的滤膜过滤, -20 ℃ 保存。记录对 TTX-R 的钠通道电流时, 为了避免钠电流过大引起的钳制电位的误差, 外液中 NaCl 的浓度降低到 32 mmol/L, 为了保持外液的渗透压, 使用氯化胆碱替代 NaCl。细胞外液 (mmol/L) 成分: NaCl 32, TEA-Cl 20, 氯化胆碱 105, MgCl₂ 1, CaCl₂ 1, CdCl₂ 0.1, HEPES 10, D-葡萄糖 10, pH 7.4。其中 20 mmol/L TEA 阻断钾通道, 0.1 mmol/L CdCl₂ 用于阻断钙通道。Na 通道的细胞内液 (mmol/L) 成分为: CsF 140, MgCl₂ 1, EGTA 1,

Na₂ATP 5, HEPES 10, pH 7.2, 其中 CsF 的 F 离子能够阻断钾通道和钙通道, Cs 离子阻断 K 离子通道。500 nmol/L TTX 用于分离 TTX-R 的钠电流。TTX 溶于双蒸水中, 配制成浓度为 100 μmol/L 的贮备液, -20 ℃ 保存, 使用前以细胞外液稀释至所需浓度。Que 配成 0.3 mmol/L 的母液, 使用当天稀释到细胞外液。通过 DAD 给药系统。

2.3 电生理记录

记录模式为常规的全细胞记录。所有试验均采用 EPC-10 膜片钳放大器于室温下进行, 将由 P97 电极拉制仪拉制, 电极阻抗 2~6 MΩ。数据的采集和刺激均由 Pulse + Plusefit 8.5 软件控制。试验选择胞体清亮, 折光性好且贴壁的直径小于 25 μm 的细胞, 在电极入水之前, 给予一定的正压, 保证电极入水之后不被杂质污染, 当电极贴近细胞时, 给予一定负压, 使电极与细胞形成高阻封接 (>1 GΩ), 同时给予 -60 mV 的钳制电压, 有利于细胞封接, 待稳定之后再次给予负压, 将细胞吸破, 形成全细胞记录状态。使用软件自动补偿快慢电容, 串联电阻通常补偿 70%~80%, 数据的采样频率为 20 kHz, 漏电流用 P/4 方法自动补偿, 低频滤波频率为 5 kHz。

2.4 数据分析

所获取数据用 Clampfit 9.0 和 Origin 8.5 软件处理, 以 $\bar{x} \pm s$ 表示。各组数据在组内方差齐性检验用方差分析, 组间比较均采用单因素的方差分析。P < 0.05 有统计学意义。

3 结 果

3.1 Que 对 DRG 细胞电压依从性 Nav1.8 电流的影响

成年大鼠的 DRG 神经元上, Nav1.8 和 Nav1.9 钠通道均是 TTX-R 钠通道。在细胞外液中加入 TTX, 在大多数的 DRG 神经元小细胞上可记录到明显的 TTX-R 钠电流, 这些钠电流由 Nav1.8 和 Nav1.9 通道介导。由于在接近静息电位时大部分 Nav1.9 钠通道处于失活状态。全细胞 Nav1.8 电流是细胞钳制在 -60 mV, 从 -55 mV 到 +40 mV, 每次递增 5 mV, 时程为 50 ms 去极化的刺激刺激电压方波诱发。大鼠 DRG 神经元 Nav1.8 通道电流幅度 (current, I) 和刺激电压 (voltage, V) 之间的关系, 即钠通道电流 I - V 曲线关系中, 钠通道约在 -35 mV

被激活, 在 -10 mV 达到峰值, 翻转电位大约在 +30 mV, 符合钠通道的基本特性和电压依赖性门控特征; 加入 100 μmol/L Que 处理后的 Nav1.8 激活电压, 峰值电压以及翻转电压与用药前无显著差异 ($P > 0.05$), 表明 Que 并未改变 Nav1.8 通道离子的通透性。见图 1-A。但与对照组比, Que 处理后显著降低了 $I_{\text{Nav1.8}}$ 峰值幅度 ($P < 0.05$), 说明 Que 降低了 Nav1.8 通道电流的敏感性。见图 1-B。

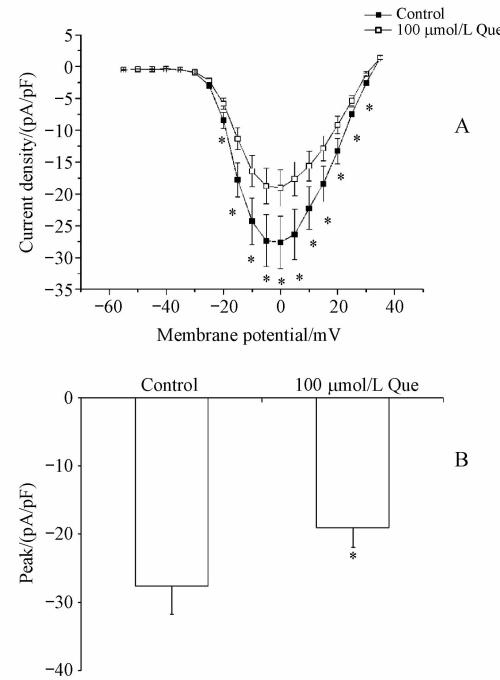


Figure 1 Inhibition of $I_{\text{Nav1.8}}$ density of dorsal root ganglion neurons in rats by quercetin (Que) ($\bar{x} \pm s, n=5$)

A: Current (I)-voltage (V) curves for $I_{\text{Nav1.8}}$; B: Bar graph showing that Que treatment significantly decreased the peak amplitude of $I_{\text{Nav1.8}}$

* $P < 0.05$ vs control group

3.2 Que 对大鼠 DRG 神经元 $I_{\text{Nav1.8}}$ 剂量-反应关系

刺激电压为 -10 mV 时, 给予 10, 30, 100 μmol/L 的 Que 后, $I_{\text{Nav1.8}}$ 峰值受到抑制。见图 2-A。 $I_{\text{Nav1.8}}$ 峰值抑制率分别为 $(15.32 \pm 3.43)\%$ 、 $(22.92 \pm 8.24)\%$ 和 $(47.29 \pm 11.42)\%$ ($P < 0.05$)。见图 2-B。Que 处理前后的电流比对 Que 浓度作图, 根据 Hill 方程, 抑制率 $= 1/[1 + (IC_{50}/c)^h]$ 拟合, c 代表 Que 浓度, 得到 Que 对 $I_{\text{Nav1.8}}$ 的半数抑制浓度 $IC_{50} = 121.38 \mu\text{mol/L}$, Hill 系数 (h) 为 0.76。见图 2-C。

3.3 Que 对 DRG 细胞 Nav1.8 对通道电压依赖的激活和失活特性

因 Que 的 IC_{50} 接近 100 μmol/L, 因此进一步研究了 100 μmol/L Que 对 Nav1.8 钠通道动力学的影

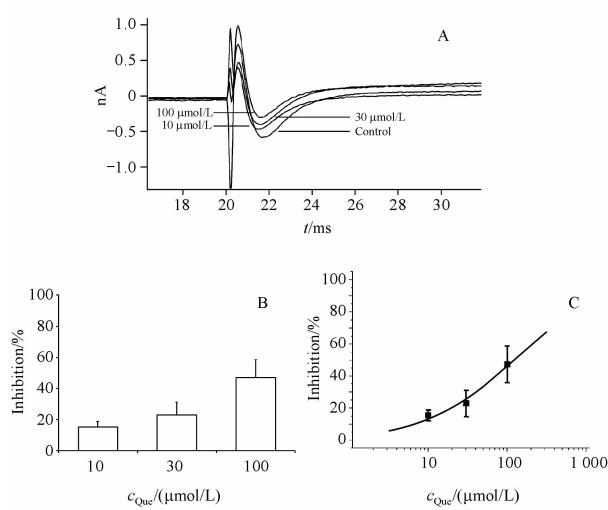


Figure 2 Effects of Que on $I_{\text{Nav}1.8}$ of dorsal root ganglion neurons in rats ($\bar{x} \pm s, n=5$)

A: Concentration-dependent effects of Que (10, 30, 100 $\mu\text{mol/L}$) on $I_{\text{Nav}1.8}$ when stimulating voltage was set at 10 mV; B: Inhibition rate of $I_{\text{Nav}1.8}$ peak amplitude by Que 10, 30, 100 $\mu\text{mol/L}$; C: Fitting curve of Hill's equation of $I_{\text{Nav}1.8}$ peak amplitude

响。检查 Que 处理前后 Nav1.8 钠通道的电压激活特性:将神经元膜电位钳制在 -60 mV, 然后从 -55 mV 到 +35 mV, 以 5 mV 递增, 波宽为 100 ms, 时程 1 200 ms 的一串步阶脉冲刺激来诱发 Nav1.8 电流, 见图 3-A, B。根据刺激电压和电导, 根据 Boltzmann 方程做出稳态激活曲线(图 3-C), 并绘制稳态激活电流(图 3-D)。稳态激活曲线中, 发现 100 $\mu\text{mol/L}$ Que 处理前, 半激活电压 $V_{1/2} = -11.07 \pm 0.27$ mV, 线斜率因子 $\kappa = 5.87 \pm 0.24$; 处理后 $V_{1/2} = -10.24 \pm 0.26$ mV ($P = 0.058$), 线斜率因子 $\kappa = 6.18 \pm 0.23$ ($P = 0.378$)。检测 Nav1.8 钠通道的失活特性:膜电位钳制在 -60 mV, 给予 -70 mV 至 0 mV, 以 5 mV 递增, 时程 1 200 ms 的预刺激, 然后给予 -10 mV 的测试脉冲刺激, 诱发 Nav1.8 的稳态失活电流。见图 4-A, B。以不同预刺激电位下电流峰值与最大电流峰值的比值(I/I_{max})对应预刺激脉冲电压绘制出稳态失活曲线(图 4-C)。并绘制稳态失活电流(图 4-D), 发现 100 $\mu\text{mol/L}$ Que 处理前 $V_{1/2} = -38.37 \pm 0.22$ mV, 线斜率因子 $\kappa = 4.40 \pm 0.19$; 处理后 $V_{1/2} = -40.23 \pm 0.25$ mV ($P < 0.01$), 线斜率因子 $\kappa = 4.67 \pm 0.22$ ($P = 0.380$)。稳态激活曲线 Boltzmann 方程: $G = G_{\text{max}} / \{ 1 + \exp [(V - V_{1/2}) / \kappa] \}$, 其中电导 $G = I / (V_m - V_{\text{Na}})$, G 为峰电导, I 为峰电流, V_m 为膜电位, V_{Na} 为翻转电位; G_{max} 为峰电导的最大值, $V_{1/2}$ 半数激活电压, κ 为激活斜率因子。稳态失活曲线方程: $I/I_{\text{max}} = 1 / \{ 1 + \exp [(V_m - V_{1/2}) / \kappa] \}$, I_{max} 为峰电流的最大值, V_m 为膜电位, $V_{1/2}$ 半数失活电压, κ 失活斜率因子。

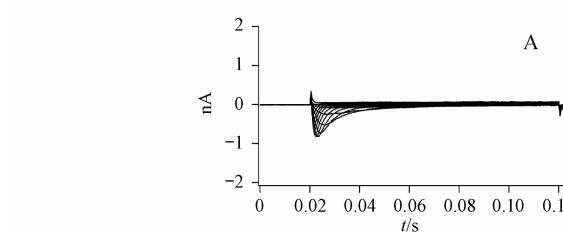


Figure 3 Effects of Que on the voltage-dependent activations of Nav1.8 channels ($\bar{x} \pm s, n=5$)

A: Voltage-dependent activations of Nav1.8 channels in controls; B: Voltage-dependent activations of Nav1.8 channels after treatment of 100 $\mu\text{mol/L}$ Que; C: Steady-state activation curves Nav1.8 channels; D: Steady-state activation currents Nav1.8 channels

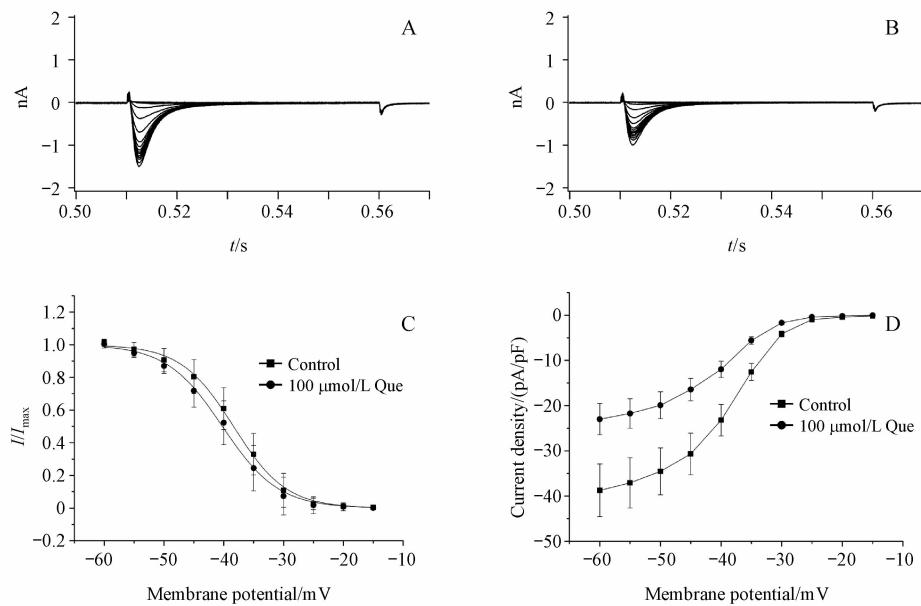


Figure 4 Effects of Que on the voltage-dependent inactivations of Nav1.8 channels ($\bar{x} \pm s, n=5$)

A: Voltage-dependent inactivations of Nav1.8 channels in controls; B: Voltage-dependent inactivations of Nav1.8 channels after treatment of 100 $\mu\text{mol/L}$ Que; C: Steady-state inactivation curves of Nav1.8 channels; D: Steady-state inactivation currents of Nav1.8 channels

4 讨 论

伤害性感觉传入神经元中的 Nav1.8 具有较高的激活电压阈值与稳态失活电压阈值^[13]，而钠通道阻滞剂可通过影响离子电流峰值和门控动力学等多个方面发挥对抗痛觉产生作用。与其他钠通道阻滞剂相比，选择性 Nav1.8 钠通道阻滞剂 A-803467 可以缓解小鼠的神经性和炎症性疼痛，且无明显的不良反应^[14]。Que 针对 VGSCs 的作用机制已有研究报道，Yao 等^[15]发现 Que 可剂量和电压依赖地抑制大鼠海马 CA1 区锥体细胞 VGSCs 电流，从而改善大鼠因长期脑缺血导致的认知能力的不足。红葡萄多酚中的 Que，有较强的抗氧化作用，体内体外均有神经保护作用^[16]，且葡萄多酚中含的 Que 可浓度依赖地抑制心肌细胞钠电流峰值，起心脏保护作用^[17]。

本课题组在前期研究基础上^[18]，用电生理证实 Que 对大鼠 DRG 神经元 $I_{\text{Nav1.8}}$ 峰值具有明显的浓度依赖性抑制作用，与 Wallace 等^[17]研究 Que 对 VGSCs 的效应一致，且 Que 与表儿茶素虽有相似结构，但前者是更有效的 VGSC 抑制剂，这与 Que 的第 2 环结构中的共轭羰基的存在可能有关。100 $\mu\text{mol/L}$ Que 干预后，DRG 神经元的 Nav1.8 通

道激活曲线的半数激活电压向去极化方向有轻微偏移 (0.83 mV)，提示 Que 使 Nav1.8 通道在膜电位相对较正时才易被激活，激活阈值上移，神经细胞膜稳定性增加，从而降低外周伤害性信息的传入，使初级感觉神经元的中枢端与伤害性信息有关的神经递质释放减少。100 $\mu\text{mol/L}$ Que 干预使 DRG 神经元的 Nav1.8 通道稳态失活曲线向超极化方向偏移 1.86 mV，因此说明 Que 可导致 Nav1.8 通道开放电位范围减小，DRG 神经元的电能总量减少，痛觉传递的效率将下降。因此，本实验证实 Que 可浓度依赖和电压依赖地抑制 DRG 神经元 Nav1.8 通道活性，调节伤害性信息的传递。

Que 对其他钠通道亚型的影响以及它们相互作用的分子机制还需进一步的研究。

参 考 文 献

- [1] Molliver DC, Radeke MJ, Feinstein SC, et al. Presence or absence of TrkA protein distinguishes subsets of small sensory neurons with unique cytochemical characteristics and dorsal horn projections [J]. *J Comp Neurol*, 1995, 361(3): 404–416.
- [2] Gerke MB, Plenderleith MB. Ultrastructural analysis of the central terminals of primary sensory neurones labelled by transganglionic transport of *bandeiraea simplicifolia* I-isolectin B4 [J]. *Neuroscience*, 2004, 127(1): 165–175.
- [3] Yu FH, Catterall WA. Overview of the voltage-gated sodium

- channel family[J]. *Genome Biol*, 2003, **4**(3):207.
- [4] Evans JR, Bielefeldt K. Regulation of sodium currents through oxidation and reduction of thiol residues[J]. *Neuroscience*, 2000, **101**(1):229-236.
- [5] Qi FH, Zhou YL, Xu GY. Targeting voltage-gated sodium channels for treatment for chronic visceral pain[J]. *World J Gastroenterol*, 2011, **17**(19):2357-2364.
- [6] Djouhri L, Fang X, Okuse K, et al. The TTX-resistant sodium channel Nav1.8 (SNS/PN3): expression and correlation with membrane properties in rat nociceptive primary afferent neurons [J]. *J Physiol*, 2003, **550**(Pt 3):739-752.
- [7] Fukuoka T, Kobayashi K, Yamanaka H, et al. Comparative study of the distribution of the alpha-subunits of voltage-gated sodium channels in normal and axotomized rat dorsal root ganglion neurons[J]. *J Comp Neurol*, 2008, **510**(2):188-206.
- [8] Coggeshall RE, Tate S, Carlton SM. Differential expression of tetrodotoxin-resistant sodium channels Nav1.8 and Nav1.9 in normal and inflamed rats[J]. *Neurosci Lett*, 2004, **355**(1/2):45-48.
- [9] Laird JM, Souslova V, Wood JN, et al. Deficits in visceral pain and referred hyperalgesia in Nav1.8 (SNS/PN3)-null mice[J]. *J Neurosci*, 2002, **22**(19):8352-8356.
- [10] Yoshimura N, Seki S, Novakovic SD, et al. The involvement of the tetrodotoxin-resistant sodium channel Na(v)1.8 (PN3/SNS) in a rat model of visceral pain[J]. *J Neurosci*, 2001, **21**(21):8690-8696.
- [11] King DE, Macleod RJ, Vanner SJ. Trinitrobenzenesulphonic acid colitis alters Na 1.8 channel expression in mouse dorsal root ganglia neurons[J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2009, **21**(8):880-e64.
- [12] Filho AW, Filho VC, Olinger L, et al. Quercetin: further investigation of its antinociceptive properties and mechanisms of action [J]. *Arch Pharm Res*, 2008, **31**(6):713-721.
- [13] Porreca F, Lai J, Bian D, et al. A comparison of the potential role of the tetrodotoxin-insensitive sodium channels, PN3/SNS and NaN/SNS2, in rat models of chronic pain[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1999, **96**(14):7640-7644.
- [14] Jarvis MF, Honore P, Shieh CC, et al. A-803467, a potent and selective Nav1.8 sodium channel blocker, attenuates neuropathic and inflammasory pain in the rat[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007, **104**(20):8520-8525.
- [15] Yao Y, Han DD, Zhang T, et al. Quercetin improves cognitive deficits in rats with chronic cerebral ischemia and inhibits voltage-dependent sodium channels in hippocampal CA1 pyramidal neurons[J]. *Phytother Res*, 2010, **24**(1):136-140.
- [16] Scola G, Conte D, Spada PW, et al. Flavan-3-ol compounds from wine wastes with *in vitro* and *in vivo* antioxidant activity[J]. *Nutrients*, 2010, **2**(10):1048-1059.
- [17] Wallace CH, Bacsko I, Jones L, et al. Inhibition of cardiac voltage-gated sodium channels by grape polyphenols[J]. *Br J Pharmacol*, 2006, **149**(6):657-665.
- [18] Liu LN, Sun ZG, Cai XT, et al. Quercetin improves TNF- α induced intestinal barrier dysfunction in Caco-2 cells[J]. *J China Pharm Univ(中国药科大学学报)*, 2012, **43**(6):541-545.

• 新进展 •

2014 年全球上市新药(2)

3. 潜在的畅销药物多

2014 年批准的药物中,有可能成为年销售额逾 10 亿美元的潜在畅销药品有阿格鲁肽(albiglutide)、阿瑞米拉(apremilast)、复方硫酸头孢洛林(ceftolozane sulfate)/三唑巴坦钠、杜拉鲁肽(dulaglutide)、 α 艾洛硫酸酶(elosulfase alfa)、英帕罗青(empagliflozin)、依拉利西(idelalisib)、纳洛昔醇(naloxegol)、拉木西单抗(ramucirumab)、塞库奴单抗(secukinumab)、维利珠单抗(vedolizumab)、聚乙二醇化干扰素 β -1a 注射剂、胰岛素粉末吸入剂和人重组 9 价乳头瘤病毒疫苗等。据预测,年销售峰值领先的药品有抗肿瘤药奥拉帕利 20 亿美元,抗感染药复方翁比他韦/帕利瑞韦/利托那韦片与达萨布韦片联合包装 30 亿美元,抗肿瘤药喷罗珠单抗(pembrolizumab)44 亿美元,抗凝药硫酸伏拉帕萨(vorapaxar sulfate)50 亿美元和抗肿瘤药尼伏单抗(nivolumab)50 亿~80 亿美元。

2014 年 10 月 10 日,美国 FDA 批准吉利德科学公司的复方雷地帕韦(ledipasvir)/索夫布韦(sofosbuvir)片(商品名:Harvoni)上市,用于治疗慢性丙型肝炎病毒(HCV)基因 1 型感染。剂量规格:雷地帕韦/索夫布韦 90 mg/400 mg/片。本品是首个治疗成人慢性丙型肝炎病毒基因 1 型感染的一日 1 次 1 片给药方案的产品,结合了 NS5A 抑制剂雷地帕韦与在 2013 年 12 月批准上市的核苷同系物聚合酶抑制剂索夫布韦。据预测,本品每年销售额可达 100 多亿美元。