



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102512682 A

(43) 申请公布日 2012.06.27

(21) 申请号 201210009298.3

A61K 31/4166(2006.01)

(22) 申请日 2012.01.12

A61K 31/4015(2006.01)

(71) 申请人 王玉丰

A61K 31/426(2006.01)

地址 214061 江苏省无锡市滨湖区江宁宿舍
32号201室

A61K 31/554(2006.01)

(72) 发明人 王玉丰

(74) 专利代理机构 无锡市大为专利商标事务所
32104

代理人 曹祖良

(51) Int. Cl.

A61K 45/06(2006.01)

A61K 31/573(2006.01)

A61P 27/16(2006.01)

A61K 31/355(2006.01)

A61K 31/375(2006.01)

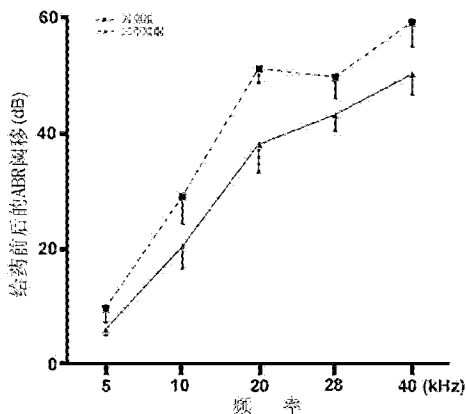
权利要求书 1 页 说明书 7 页 附图 3 页

(54) 发明名称

治疗噪音性听力损伤的药物组合物及其应用

(57) 摘要

本发明涉及治疗噪音性听力损伤的药物组合物,其特征在于:它含有治疗有效剂量的钙离子通道阻滞剂;或含有治疗有效剂量的自由基清除剂;或含有治疗有效剂量的糖皮质激素;或含有治疗有效剂量的钙离子通道阻滞剂和自由基清除剂;或含有治疗有效剂量的钙离子通道阻滞剂和糖皮质激素;或含有治疗有效剂量的钙离子通道阻滞剂、自由基清除剂和糖皮质激素。本发明使用三类已获FDA批准的药物,通过将它们以协同作用的方式联合使用,可提高其治疗NIHL的效果并降低药物毒副作用。创新之处在于:这些药物药理活性高、副作用小,并能作用于多条信号通路;所用的联合用药策略不仅是针对已经研究成熟的信号传导通路,而且注重寻找利用新信号传导通路。



1. 治疗噪音性听力损伤的药物组合物,其特征在于:它含有治疗有效剂量的钙离子通道阻滞剂;或含有治疗有效剂量的自由基清除剂;或含有治疗有效剂量的糖皮质激素;或含有治疗有效剂量的钙离子通道阻滞剂和自由基清除剂;或含有治疗有效剂量的钙离子通道阻滞剂和糖皮质激素;或含有治疗有效剂量的钙离子通道阻滞剂、自由基清除剂和糖皮质激素。

2. 如权利要求1所述的治疗噪音性听力损伤的药物组合物,其特征在于:所述钙离子通道阻滞剂为能够阻断L型钙离子通道和/或T型钙离子通道的抗高血压或抗癫痫药物。

3. 如权利要求2所述的治疗噪音性听力损伤的药物组合物,其特征在于:所述钙离子通道阻滞剂为恶唑烷二酮的衍生物或丁二酰亚胺的衍生物。

4. 如权利要求2所述的治疗噪音性听力损伤的药物组合物,其特征在于:所述钙离子通道阻滞剂为三甲双酮、地尔硫卓或乙琥胺。

5. 如权利要求1所述的治疗噪音性听力损伤的药物组合物,其特征在于:所述药物组合物中的自由基清除剂为一种或一种以上,所述自由基清除剂是抗氧化剂。

6. 如权利要求5所述的治疗噪音性听力损伤的药物组合物,其特征在于:所述自由基清除剂为依布硒林、亲水性的维生素C或疏水性的维生素E。

7. 如权利要求1所述的治疗噪音性听力损伤的药物组合物,其特征在于:所述药物组合物中的糖皮质激素为一种或一种以上,所述糖皮质激素为甲泼尼龙。

8. 如权利要求1所述的治疗噪音性听力损伤的药物组合物,其特征在于:所述治疗有效剂量范围为1~1000mg/kg·日。

9. 如权利要求1所述的治疗噪音性听力损伤的药物组合物,其特征在于:当所述药物组合物中同时含有钙离子通道阻滞剂和自由基清除剂时,钙离子通道阻滞剂与自由基清除剂的质量比为1:5到1:10;当所述药物组合物中同时含有钙离子通道阻滞剂和糖皮质激素时,钙离子通道阻滞剂与糖皮质激素的质量比为1:5到1:10。

10. 权利要求1~9任一项所述的药物组合物在治疗噪音性听力损伤方面的应用。

治疗噪音性听力损伤的药物组合物及其应用

技术领域

[0001] 本发明属于医药技术领域,涉及噪音性听力损伤的预防和治疗,具体地说是一种用来预防和治疗由于噪音或其他应激原所导致的听力损伤或耳鸣的药物组合物及其应用。

背景技术

[0002] 噪音性听力损失 (Noise-induced hearing loss, NIHL) 常常会在日常工作和生活娱乐中产生,并严重危害着人们的健康。随着便捷式音乐播放器及高清音质耳机的日益普及,噪音性听力损失的发病率在近几年内呈现出持续上升的趋势 (Fligor and Cox, 2004; Serra et al., 2005)。虽然通过对自由基代谢途径的研究,人们已经发现了一些具有潜力的治疗方法,用于降低 NIHL 的发病率,但是至今在临床上还没有一种能有效治疗听力损伤的药物。这是由于 NIHL 的发病机制非常复杂,其中涉及到众多细胞和相关的分子信号传导通路,在很大程度上阻碍了研治 NIHL 方法及药物的进展。

[0003] NIHL 及其发病机制:将受试者暴露于一定强度的噪音中,通过听觉性脑干反应 (ABR) 测试通常可以检测到与听力损失相关的两个阶段内的听觉状况。在最初 24 小时内,暂时性听觉阈值会显著上升 (TTS)。相比而言,在随后的两至三周内,受试者听觉虽然有所改善,但仍会有永久性听觉阈值上升 (PTS) 的问题 (e. g., Clark, 1991; Quaranta et al., 1998; Nordmann et al., 2000)。然而,噪音性听力损伤的动态变化和随后的恢复过程与噪音的强度和持续时间等因素密切相关 (Wang et al., 2002; Harding and Bohne 2007)。Wang 等报道了 CBA/CaJ 小鼠中的三种截然不同的 NIHL 模式 (Wang et al., 2002)。以小鼠作为研究对象,给予中心频率为 8-16kHz 强度为 94dB 声压级 (SPL) 的倍频程噪声 (OBN) 持续暴露 2 小时后,会立即出现明显的 TTS,而听觉在两周后几乎完全恢复 (无显著的 PTS)。当受试鼠暴露于强度为 100 至 112dB SPL 的倍频程噪声时,这种强度的噪声暴露会导致 TTS 和 PTS 都呈现出单调递增的趋势,但是听觉功能在一定程度上仍可以恢复,即 PTS 低于 TTS。当倍频程噪声强度高于 116dB 时,可能由于毛细胞网状层发生区域性破裂等原因,致使 PTS 很难恢复。这一能导致网状层和淋巴管腔发生破裂的噪音强度被称为“临界水平点”或“拐点” (Bohne, 1976, Wang et al., 2002; Harding and Bohne, 2007; Ohlemiller 2008)。大多数模式动物的“临界水平点”通常高于 125 至 130dB 的 SPL,而对于小鼠来说,这一值可能会有所降低,或是当模式动物暴露于脉冲噪音下,这一值同样会下降。在另一些动物模型中,类似的现象也会发生 (e. g., Slepecky, 1986; Saunders et al., 1991; Lawner et al., 1997; Ohlemiller et al., 2000; Ohlemiller 2008a)。组织学上,当受试动物暴露于“临界水平点”以上的噪音时,最明显的病理变化是网状层发生破裂, Corti 器官 / 组织与基膜分离,内毛和外毛细胞发生退化 (IHCs 和 OHCs)。当噪音强度低于“临界水平点”时,耳蜗所受到的伤害主要表现在以下几个方面: Corti 器官 / 组织的受损,螺旋神经节神经元 (SGNs) 末端肿胀,血管纹浮肿以及螺旋韧带的损伤。

[0004] NIHL 与自由基代谢途径:在某些情况下,机械损伤和血流量减少会引起 NIHL 的产生 (Spoendlin, 1971; Bohne, 1976; Ward et al., 1981; Quirk et al., 1991; Mulroy et

al.,1998)。而导致 NIHL 发病的一个主要机制是由于噪音加快了耳蜗内细胞的新陈代谢活动,从而促进了线粒体内自由基的形成,过多的自由基最终会对耳蜗造成损伤 (Lim and Melnick,1971;Lynch and Kil,2005;Henderson et al.,2006;Campbell et al.,2007;Darrat et al.,2007;Kopke et al.,2007;Le Prell et al.,2007b)。以下的研究足以表明该代谢 / 途径与 NIHL 的形成密切相关:(1) 噪音会增加血管纹、OHCs、Corti 器官 / 组织的支持细胞和螺旋神经节中的自由基总量,并且在噪音暴露实验后的两周内,这些由自由基所造成的伤害会不断的加重 (Yamashita et al.,2004);(2) 内源性抗氧化剂的减少以及过氧化物歧化酶活性的降低会增加机体对 NIHL 的易感性 (Ohlemiller et al.,1999;2000;McFadden et al.,2001);(3) 抗氧化剂的增加能减少 NIHL 的发生 (Yamasoba et al.,1998;Ohinata et al.,2003;Duan et al.,2004;Lynch et al.,2004;Kramer et al.,2006)。因此,在该领域中已有众多研究集中在使用抗氧化药物来预防和治疗 NIHL (Seidman et al.,1993;Hight et al.,2003;McFadden et al.,2005;Yamashita et al.,2005;Bielefeld et al.,2007;Campbell et al.,2007;Kopke et al.,2007)。由于这些干预措施多数使用单一的化学药物对 NIHL 进行预防和治疗,其疗效很不理想,因此,有些研究针对自由基途径中多个靶点或将该途径与其他可能具有协同效应的通路结合起来考虑,设计药物组合物,来提高其治疗效果 (Yamasoba et al.,1999;Le Prell et al.,2007a;2007b)。这些研究表明,在 NIHL 形成中自由基代谢途径发挥了重要作用,但同时,另一些研究者指出,其他信号通路的改变也可能导致 NIHL 的发生。

[0005] 钙离子信号通路和糖皮质激素 / 应激激素信号通路:在 NIHL 的发病中还涉及一些其他机制,如在 NIHL 初期兴奋性神经递质谷氨酸的过量释放以及在 NIHL 末期细胞死亡途径的发生 (Puel et al.,2002;Le Prell et al.,2003;Guitton et al.,2004;Zine and Van De Water 2004)。最近,有研究者发现了与 NIHL 形成相关的两条新通路,即钙离子信号通路和糖皮质激素 (GC) 信号通路。钙稳态紊乱很有可能会引起创伤性神经元损伤 (Nikonenko et al.,2005;Werling et al.,2007;Park et al.,2008)。要想维持耳蜗内的钙稳态,则主要通过对几种钙离子通道进行调控,尤其是电压门控钙离子通道 (VGCCs) (Rodrigues-Contreras and Yamoah,2001;Adamson et al.,2002;Fuchs 2002;Schnee and Ricci,2003)。这类钙离子通道具有重要的生理作用,它能控制钙离子进入神经细胞及各种钙离子依赖性的生理活动,包括神经递质的释放、基因的表达以及维持突触可塑性和神经元的兴奋性 (Mattson 1990;Zipfel et al.,2000)。根据通道的药理学特点及电生理性质,可将其划分为两类:高电压门控性钙通道和低电压门控性钙通道 (Igelmund et al.,1996;Lacinova et al.,2000;Perez-Reyes,2003;Yunker and McEnery,2003)。其中,根据所形成通道孔道的三种 α 亚基 (1G、1H 和 1I) 基因序列同源性的差异,低电压门控性钙通道或称为 T 型钙通道 (Cav3) 可进一步被分为三种亚型,即 Cav3.1、Cav3.2 和 Cav3.3 (Perez-Reyes,2003;Yunker and McEnery,2003)。亚基 1G 和 1I 在 Corti 器官 / 组织的支持细胞和毛细胞内都有表达,同时,有研究表明在小鼠耳蜗的螺旋神经节神经元中亚基 1H 的表达量较高而亚基 1G 和 1I 的表达量却相对较低 (Shen et al.,2007)。实验结果显示,在小鼠暴露于噪音前后分别给予其抗惊厥药,用于阻断 T 型钙通道可以预防 NIHL 的发生。这种对 T 型钙通道的抑制作用也能对中风后的神经元起到一定的保护效果 (Nikonenko et al.,2005)。因此,通过药物来调控 T 型钙通道的状态就有可能防止因损伤引起的钙稳

态的改变,从而预防随后 NIHL 的发生。

[0006] 另一重要的信号通路,即糖皮质激素信号通路与 NIHL 的发生也有很大关联。在临床上,主要运用甲泼尼龙等人工合成的糖皮质激素药物来治疗的多种神经创伤性疾病,如脊髓损伤 (Ahn and Fehlings,2008 ;Xu et al.,2009)。同样,该类激素也被用于治疗多种耳蜗疾患导致的听力损害,如自身免疫性内耳病,耳鸣和美尼尔氏病 (McCabe,1979,Dodson and Sismanis,2004 ;Dodson et al.,2004 ;MacArthur et al.,2008)。虽然目前在临床上还没有使用糖皮质激素治疗噪音损伤的报道,但是已有众多的证据表明,糖皮质激素信号通道的改变在 NIHL 形成中发挥着重要的作用。首先,研究者发现通过对模式动物进行应激性预处理 (如应激束缚、热暴露或低强度的声音刺激),可以达到预防 NIHL 的效果 (Paz et al.,2004 ;Wang and Liberman,2002 ;Yoshida et al.,1999)。其次,由于噪音暴露本身是一种应激性事件,因此,用阻滞剂预先阻断糖皮质激素信号通路会增加动物对 NIHL 的易感性 (Tahera et al.,2006a)。再者,糖皮质激素药物,如地塞米松和甲泼尼龙,能保护机体免于 NIHL (Canlon et al.,2007 ;Henry,1992 ;Lamm and Arnold,1998 ;Sendowski et al.,2006 ;Tabuchi et al.,2006 ;Tahera et al.,2006b ;Tahera et al.,2006c ;Takahashi et al.,1996 ;Takemura et al.,2004)。此外,虽然糖皮质激素与其受体 (GR) 和盐皮质激素受体都能相互结合,但盐皮质激素受体的拮抗剂对 NIHL 没有作用 (Tahera et al.,2006a)。然而,一些报道表明 GR 信号通路在 NIHL 的发病中具有重要作用 (Canlon et al.,2007 ;Tahera et al.,2006b ;Tahera et al.,2006c)。另一些研究结果显示,在耳蜗内存在 GR 的 mRNA 和其翻译后的蛋白,而前者在螺旋韧带、螺旋缘及 SGNs 的细胞中同样能被检测到 (ten Cate et al.,1993)。ten Cate 等进一步研究发现,Corti 组织具有 GR 免疫反应性 (ten Cate et al.,1993 ;Zuo et al.,1995,Shimazaki et al.,2002)。Erichsen 等报道了可以在两周大小鼠的耳蜗中表达人源性 GR (Erichsen et al.,1996),并且其表达量随着声音的刺激而相应增加 (Tahera et al.,2006b)。与基于自由基代谢途径理论的治疗方法类似,使用单一的 T 型钙通道阻滞剂,即糖皮质激素类药物或抗惊厥药来预防 NIHL 的效果仍不甚理想 (Canton et al.,2007 ;Shen et al.,2007)。

[0007] 总之,现行治疗 NIHL 方法主要是应用以上所述的三类作用机理不同的化学药物,但是由于人们常常使用单一药物来治疗 NIHL,使其只能单独作用于某一条与 NIHL 相关的分子信号通路,对 NIHL 的疗效相当有限。

发明内容

[0008] 本发明的目的在于克服现有技术中存在的不足,提供一种治疗噪音性听力损伤的药物组合物及其应用。

[0009] 本发明的目的之一通过以下的技术方案实现:治疗噪音性听力损伤的药物组合物,其特征在于:它含有治疗有效剂量的钙离子通道阻滞剂;或含有治疗有效剂量的自由基清除剂;或含有治疗有效剂量的糖皮质激素;或含有治疗有效剂量的钙离子通道阻滞剂和自由基清除剂;或含有治疗有效剂量的钙离子通道阻滞剂和糖皮质激素;或含有治疗有效剂量的钙离子通道阻滞剂、自由基清除剂和糖皮质激素。

[0010] 作为本发明的进一步改进,所述钙离子通道阻滞剂为已获 FDA 批准的能够阻断 L 型钙离子通道和 / 或 T 型钙离子通道的抗高血压或抗癫痫药物。所述钙离子通道阻滞剂为

恶唑烷二酮的衍生物或丁二酰亚胺的衍生物。所述钙离子通道阻滞剂为三甲双酮、地尔硫卓或乙琥胺。

[0011] 所述药物组合物中的自由基清除剂为一种或一种以上,所述自由基清除剂是已获 FDA 批准的抗氧化剂,其用于清除过多的自由基、阻断自由基信号传递。所述自由基清除剂为依布硒林、亲水性的维生素 C 或疏水性的维生素 E。

[0012] 作为本发明的进一步改进,所述药物组合物中的糖皮质激素为一种或一种以上,所述糖皮质激素是已获 FDA 批准的人工合成的皮质激素类药物,其用于激活糖皮质应激激素信号传递,优选地,所述糖皮质激素为甲泼尼龙。

[0013] 作为本发明的进一步改进,所述治疗有效剂量范围为 1 ~ 1000mg/kg · 日,当所述药物组合物中同时含有钙离子通道阻滞剂和自由基清除剂时,钙离子通道阻滞剂与自由基清除剂的质量比为 1 : 5 到 1 : 10 ;当所述药物组合物中同时含有钙离子通道阻滞剂和糖皮质激素时,钙离子通道阻滞剂与糖皮质激素的质量比为 1 : 5 到 1 : 10。

[0014] 本发明的目的之二是提供上述药物组合物在治疗噪音性听力损伤方面的应用。

[0015] 本发明与现有技术相比,优点在于:本发明使用三类已获 FDA 批准的药物,即钙离子通道阻滞剂、用于上调应激激素信号通路的糖皮质激素(合成类固醇药物)以及与自由基代谢途径相关的自由基清除剂(抗氧化剂),通过将这三类不同的化学药物以协同作用的方式联合使用,可提高其治疗 NIHL 的效果并且降低药物的毒副作用。本发明的创新之处主要包括以下两个方面:(1) 本发明将焦点放在 11000 余种已获 FDA 批准的药物,这些药物的药理活性高、副作用小,并且能作用于多条信号通路;(2) 本发明中所使用的联合用药策略不仅是针对已经研究成熟的信号传导通路,而且更加注重寻找和利用新的信号传导通路。

附图说明

[0016] 图 1 为实验实施例 1 中的第一实验组给药(三甲双酮)前后的 ABR 阈移与空白对照组的对比图。

[0017] 图 2 为实验实施例 2 中的第二实验组给药(地尔硫卓)前后的 ABR 阈移与空白对照组的对比图。

[0018] 图 3 为实验实施例 3 中的第三实验组给药(甲泼尼龙)前后的 ABR 阈移与空白对照组的对比图。

[0019] 图 4 为实验实施例 4 中的第四实验组给药(依布硒林)前后的 ABR 阈移与空白对照组的对比图。

[0020] 图 5 为实验实施例 5 中的第五实验组给药(三甲双酮 + 甲泼尼龙)前后的 ABR 阈移与空白对照组的对比图。

[0021] 图 6 为实验实施例 6 中的第六实验组给药(地尔硫卓 + 依布硒林)前后的 ABR 阈移与空白对照组的对比图。

具体实施方式

[0022] 下面结合具体附图和实施例对本发明作进一步说明。

[0023] 噪声暴露实验设备:

[0024] 与先前所报道的方法相似 (Shen et al., 2007), 噪声暴露实验是在一个含有泡沫夹层的双层壁的隔音室内进行。噪声暴露装置为一个 21x 21x 11 厘米大小的铁丝笼, 并通过基架将其安装在一个 B&K 3921 转盘上。该铁丝笼位于一个尺寸为 42x42 的凸轮金属框中, 并以 80 秒转一周的速度匀速旋转。此外, 在金属框的四边各安装有一个摩托罗拉 KSN1020A 型压电陶瓷扬声器。这些两两相对的扬声器被定位在与铁丝笼平行的位置, 并朝向不同的方位, 同时, 它们在各自的 Crown D150A 功率放大器的推动下进行工作。利用与扬声器相连的两台 General Radio 1310 型发生器产生噪音, 并通过 Krohn-Hite 3550 型过滤器对其进行处理, 从而获得频率为 4.0-45.0kHz 的噪音。最后, 再设置好 B&K 2231 噪声计的宽频带 (0.2Hz-70kHz), 并将该噪声计与 B&K 4135 型四分之一英寸的麦克风相连, 就能测量铁丝笼中心位置的总噪音强度。

[0025] 小鼠的听性脑干反应 (ABR) 测试方法:

[0026] 小鼠耳蜗通常能感受到 2-100 千赫频率范围内的声音, 而对于 5-40kHz 频率区域内的声音变化最为敏感。测试中主要使用“近场”声波刺激, 并对其进行等级划分。在此过程中, 将扬声器靠近铁丝笼中小鼠的耳朵 (距离约为 7 厘米) 使鼠耳周围形成均质声场。为了确保向不同动物个体所提供的声音刺激强度恒定不变, 需要在鼠耳附近安置一个预先校准过的 B&K 4135 型四分之一英寸的麦克风。测试前, 先用巴比妥 (60mg/kg, i. p.) 和硫酸阿托品 (0.5mg/kg, i. p.) 对全部小鼠进行麻醉并且减轻其呼吸困难的现象。随后, 对小鼠的鼓膜进行耳镜检查, 以确保其完好无损。同时, 使用恒温控制加热垫和直肠探头将小鼠体温维持在恒定的范围内 ($37\pm 1^{\circ}\text{C}$) (Yellow Springs Instruments Model 73A)。此外, 需要在小鼠右耳后面、头顶和后背的皮层中分别插入铂金电极针。然后, 将这些电极连接到 Grass P15 差分放大器 (100-10,000Hz, x100) 上, 再将其与定制的放大器相连, 使信号实现 1000 倍增益。最后, 利用相关软件使放大后的信号数字化。另外, 通过对定制的电子开关的设定可以将 Wavetek 型号 148 振荡器生成的正弦波刺激进一步转化成周期为 5ms 的正弦波, 其中包括 1 毫秒的上升 / 下降时间。再利用 Crown D150A 功率放大器使该正弦波信号放大, 并将放大后的信号输出至 KSN1020A 型压电陶瓷扬声器上。在所设定声音的各个频率和强度下, 每 20 秒内, 利用以上装置就会可产生 1000 次猝发音刺激。在所选定的频率下, 将最小声音强度间隔设定为 5dB, 就能测定对刺激产生响应的最小声压强度 (短潜伏期负波)。

[0027] 实验材料:

[0028] 实验动物及分组: 以 8 周大的 C57BL/6J 小鼠 (购自 The Jackson Laboratory) 作为受试对象, 取耳廓反射正常的健康 C57BL/6J 小鼠 52 只, 随机分为七组, 其中第一实验组 8 只, 第二实验组 6 只, 第三实验组 8 只, 第四实验组 6 只, 第五实验组 8 只, 第六实验组 8 只和空白对照组 8 只。

[0029] 实验药品: 三甲双酮 (TMO)、地尔硫卓 (diltiazem)、甲泼尼龙 (methylprednisolone)、依布硒林 (ebselen), 均购自 Sigma-Aldrich 公司。

[0030] 实验实施例 1: 三甲双酮 (TMO) 对噪音性听力损伤的预防性作用

[0031] 以第一实验组中的 8 只 8 周大的自交系 C57BL/6J 小鼠为受试对象, 在噪音暴露实验前先使用听觉脑干反应 (ABR) 方法测定小鼠的听觉阈值。在噪音暴露实验前两小时给予三甲双酮 (TMO), 药物剂量为 200mg/kg·日。然后进行噪声暴露实验, 实验中所使用的噪音

SPL 的频率范围为 0.2 ~ 70 赫兹,强度为 110 分贝,持续时间为 30 分钟。在噪音暴露实验两周后,利用听觉脑干反应 (ABR) 方法分析检测小鼠耳朵的听觉阈值,评定其听力状况,分析结果如图 1 所示。对比图 1 中给药组的 ABR 阈移 (ABR threshold shifts) 和空白对照组的 ABR 阈移可见,三甲双酮能够减轻听力损伤。

[0032] 实验实施例 2:地尔硫卓 (diltiazem) 对噪音性听力损伤的预防性作用

[0033] 以第二实验组中的 6 只 8 周大的自交系 C57BL/6J 小鼠为受试对象,在噪音暴露实验前先使用听觉脑干反应 (ABR) 方法测定小鼠的听觉阈值。在噪音暴露实验前两小时给予地尔硫卓 (diltiazem),药物剂量为 150mg/kg·日。然后进行噪声暴露实验,实验中所使用的噪音 SPL 的频率范围为 0.2 ~ 70 赫兹,强度为 110 分贝,持续时间为 30 分钟。在噪音暴露实验两周后,利用听觉脑干反应 (ABR) 方法分析检测小鼠耳朵的听觉阈值,评定其听力状况,分析结果如图 2 所示。对比图 2 中给药组的 ABR 阈移 (ABR threshold shifts) 和空白对照组的 ABR 阈移可见,地尔硫卓能够减轻听力损伤。

[0034] 实验实施例 3:甲泼尼龙 (methylprednisolone) 对噪音性听力损伤的预防性作用

[0035] 以第三实验组中的 8 只 8 周大的自交系 C57BL/6J 小鼠为受试对象,在噪音暴露实验前先使用听觉脑干反应 (ABR) 方法测定小鼠的听觉阈值。在噪音暴露实验前两小时给予甲泼尼龙 (methylprednisolone),药物剂量为 10mg/kg·日。然后进行噪声暴露实验,实验中所使用的噪音 SPL 的频率范围为 0.2 ~ 70 赫兹,强度为 110 分贝,持续时间为 30 分钟。在噪音暴露实验两周后,利用听觉脑干反应 (ABR) 方法分析检测小鼠耳朵的听觉阈值,评定其听力状况,分析结果如图 3 所示。对比图 3 中给药组的 ABR 阈移 (ABR threshold shifts) 和空白对照组的 ABR 阈移可见,甲泼尼龙能够减轻听力损伤。

[0036] 实验实施例 4:依布硒林 (ebselen) 对噪音性听力损伤的治疗性作用

[0037] 以第四实验组中的 6 只 8 周大的自交系 C57BL/6J 小鼠为受试对象,在噪音暴露实验前先使用听觉脑干反应 (ABR) 方法测定小鼠的听觉阈值。然后进行噪声暴露实验,实验中所使用的噪音 SPL 的频率范围为 0.2 ~ 70 赫兹,强度为 110 分贝,持续时间为 30 分钟。在噪音暴露实验后的 12 小时给予依布硒林 (ebselen),药物剂量为 400mg/kg·日。在噪音暴露实验两周后,利用听觉脑干反应 (ABR) 方法分析检测小鼠耳朵的听觉阈值,评定其听力状况,分析结果如图 4 所示。对比图 4 中给药组的 ABR 阈移 (ABR threshold shifts) 和空白对照组的 ABR 阈移可见,依布硒林 (ebselen) 能够在一定程度上治疗减轻听力损伤。

[0038] 实验实施例 5:三甲双酮 (TMO) 和甲泼尼龙 (methylprednisolone) 联合用药对噪音性听力损伤的治疗性作用

[0039] 以第五实验组中的 8 只 8 周大的自交系 C57BL/6J 小鼠为受试对象,在噪音暴露实验前先使用听觉脑干反应 (ABR) 方法测定小鼠的听觉阈值。然后进行噪声暴露实验,实验中所使用的噪音 SPL 的频率范围为 0.2 ~ 70 赫兹,强度为 110 分贝,持续时间为 30 分钟。在噪音暴露实验后的 24 小时同时给予三甲双酮 (TMO) 和甲泼尼龙 (methylprednisolone) 两种药物,其中三甲双酮的药物剂量为 200mg/kg·日,甲泼尼龙的药物剂量为 10mg/kg·日。在噪音暴露实验两周后,利用听觉脑干反应 (ABR) 方法分析检测小鼠耳朵的听觉阈值,评定其听力状况,分析结果如图 5 所示。对比图 5 中给药组的 ABR 阈移 (ABR threshold shifts) 和空白对照组的 ABR 阈移可见,三甲双酮和甲泼尼龙两种药物联合用药能够在一定程度上治疗减轻听力损伤。

[0040] 实验实施例 6:地尔硫卓 (diltiazem) 和依布硒林 (ebselen) 联合用药对噪音性听力损伤的治疗性作用

[0041] 以第六实验组中的 8 只以 8 周大的自交系 C57BL/6J 小鼠为受试对象,在噪音暴露实验前先使用听觉脑干反应 (ABR) 方法测定小鼠的听觉阈值。然后进行噪声暴露实验,实验中所使用的噪音 SPL 的频率范围为 0.2 ~ 70 赫兹,强度为 110 分贝,持续时间为 30 分钟。在噪音暴露实验后的 24 小时同时给予地尔硫卓 (diltiazem) 和依布硒林 (ebselen) 两种药物,其中地尔硫卓的药物剂量为 150mg/kg·日,依布硒林的药物剂量为 400mg/kg·日。在噪音暴露实验两周后,利用听觉脑干反应 (ABR) 方法分析检测小鼠耳朵的听觉阈值,评定其听力状况,分析结果如图 6 所示。对比图 6 中给药组的 ABR 阈移 (ABR threshold shifts) 和空白对照组的 ABR 阈移可见,地尔硫卓和依布硒林两种药物联合用药能够在一定程度上治疗减轻听力损伤。

[0042] 在上述的实验实施例 1 ~ 6 中,所述空白对照组进行噪声暴露实验的方法及参数与各实验组相同,区别仅在于空白对照组中的实验动物不给任何药物。

[0043] 在实验中,我们发现三类不同的化学药物对小鼠的听觉具有良好的保护作用 (图 1 ~ 图 4 所示)。我们还发现联合使用两种不同的化学药物,可以在噪声暴露之后减低噪音对听力损伤。(图 5、图 6 所示)。

[0044] 本发明中,由于乙琥胺的分子结构与地尔硫卓相似,故不再提供乙琥胺的药理学实验数据。

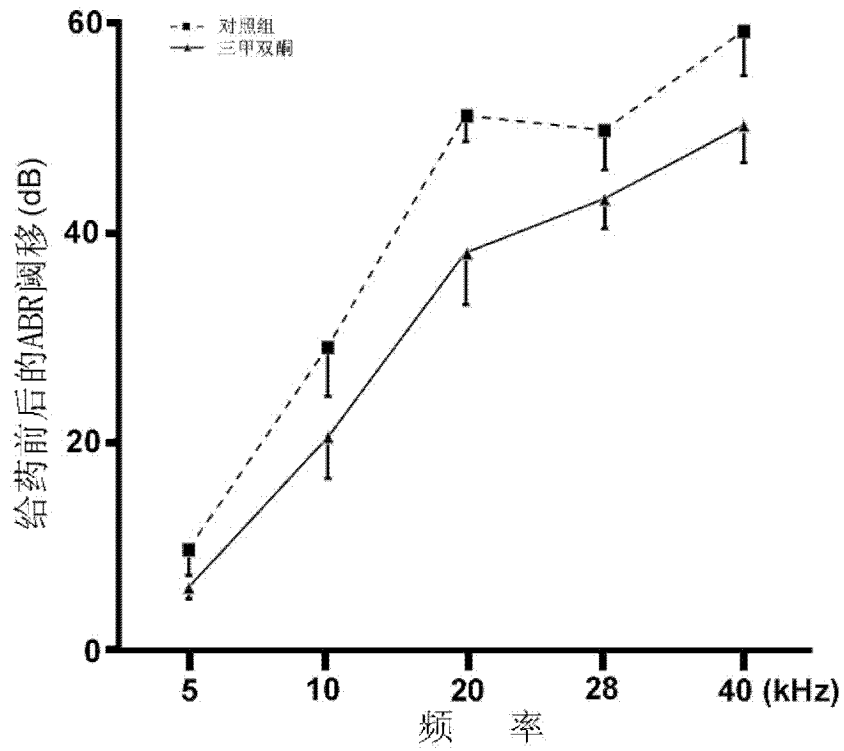


图 1

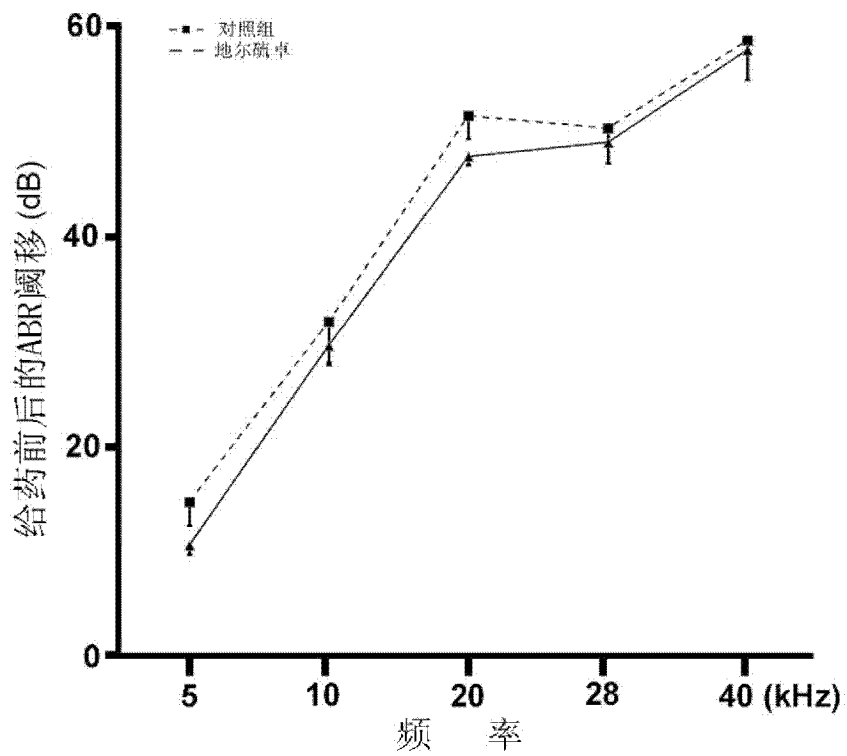


图 2

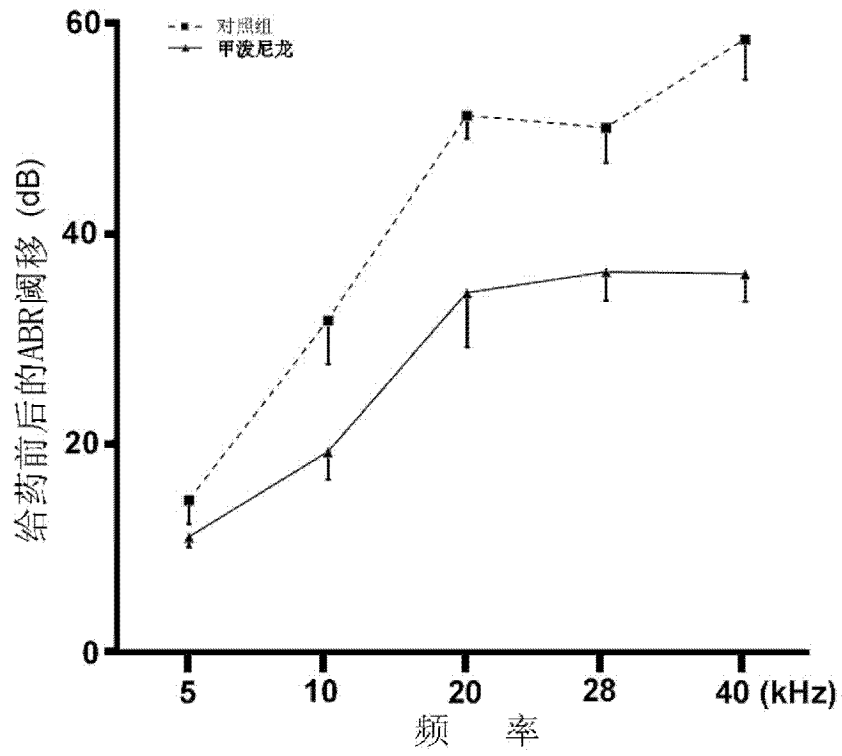


图 3

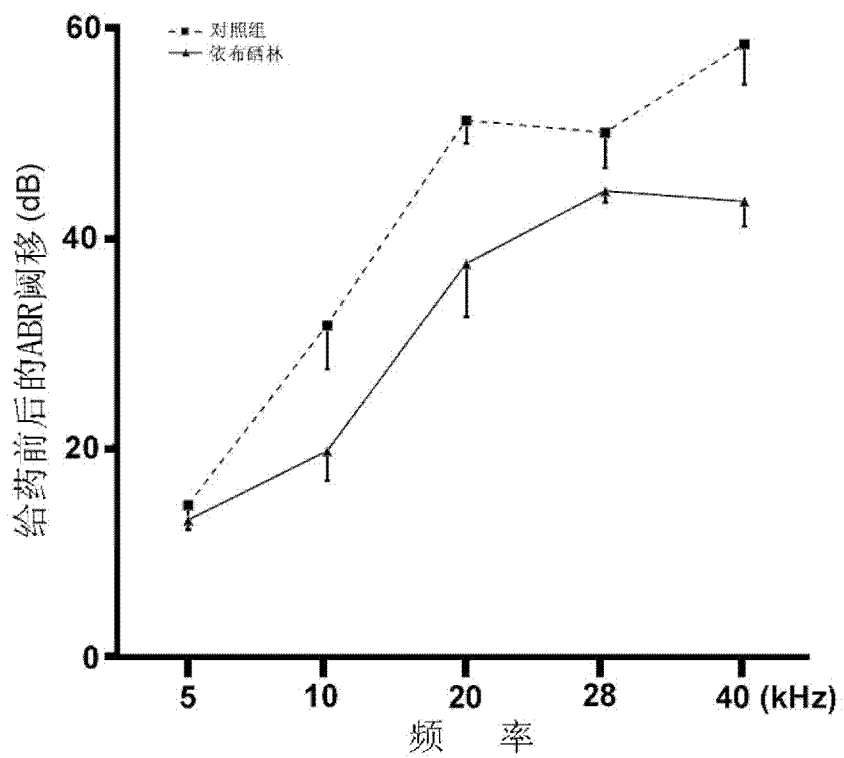


图 4

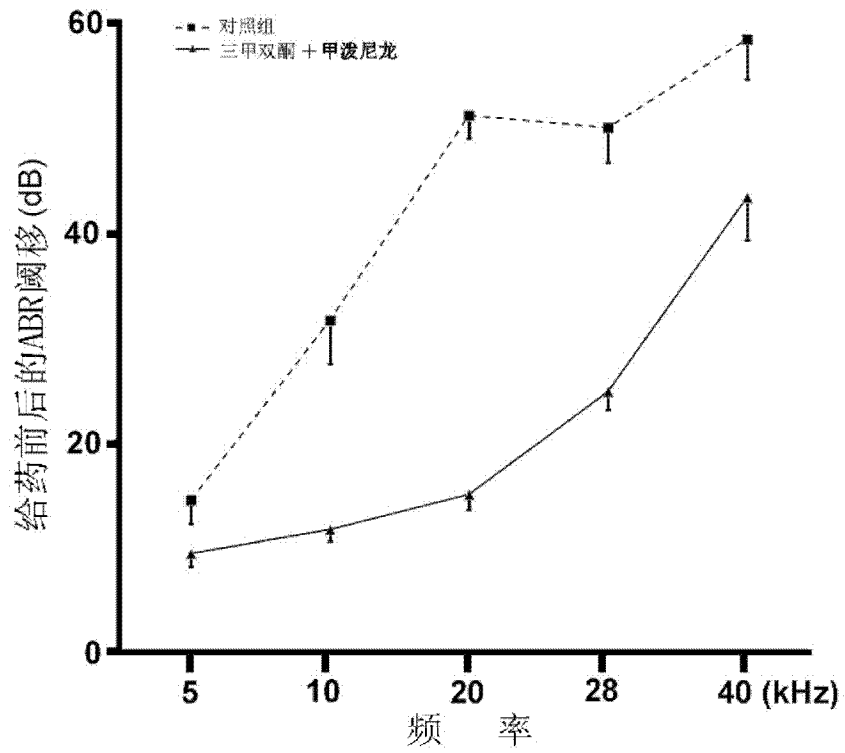


图 5

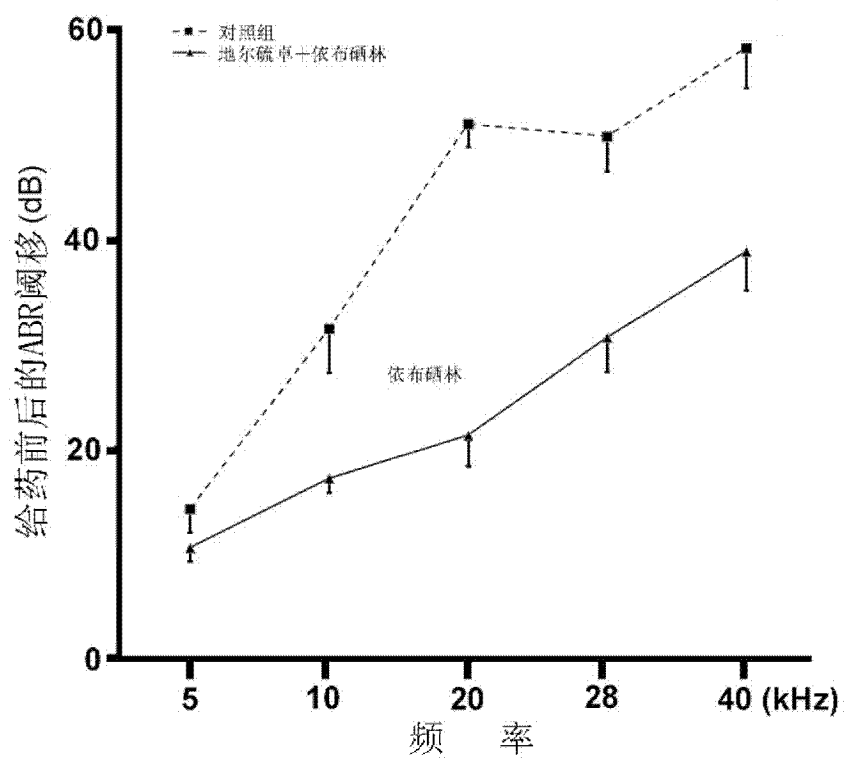


图 6