



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 111265529 A

(43)申请公布日 2020.06.12

(21)申请号 202010109716.0

(22)申请日 2020.02.22

(71)申请人 南京大学

地址 210000 江苏省南京市栖霞区仙林大道163号

(72)发明人 孙洋 徐强 朱雨雨 郭文洁

(74)专利代理机构 北京德崇智捷知识产权代理有限公司 11467

代理人 王斌

(51) Int. Cl.

A61K 31/497(2006.01)

A61P 17/06(2006.01)

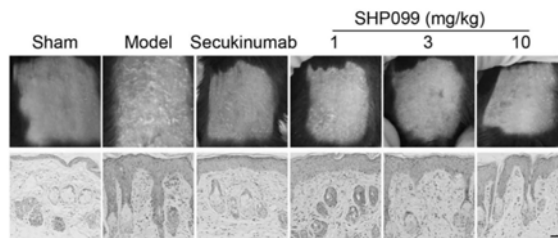
权利要求书1页 说明书4页 附图2页

(54)发明名称

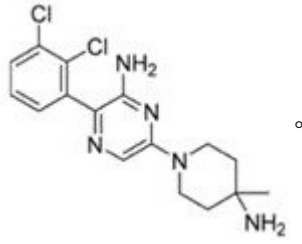
蛋白酪氨酸磷酸酶SHP2抑制剂在制备治疗银屑病药物中的应用

(57)摘要

本发明属于制药技术领域。蛋白酪氨酸磷酸酶SHP2抑制剂SHP099在制备治疗银屑病药物中的应用,针对咪喹莫特诱导的小鼠银屑病样的疾病模型,SHP099能有效改善小鼠皮损组织的表皮增厚、炎症细胞浸润以及小鼠血清中炎症因子的水平。在细胞水平,SHP099能显著降低银屑病相关炎症因子的释放。



1. 蛋白酪氨酸磷酸酶SHP2抑制剂在制备治疗银屑病药物中的应用,其中所述的SHP2抑制剂的结构式为



蛋白酪氨酸磷酸酶SHP2抑制剂在制备治疗银屑病药物中的应用

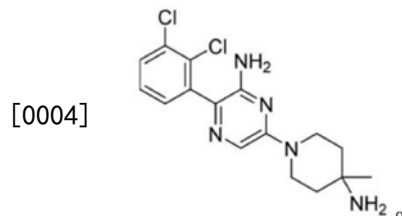
技术领域

[0001] 本发明涉及蛋白酪氨酸磷酸酶SHP2抑制剂SHP099的新用途,具体涉及SHP099在制备治疗银屑病药物中的应用。

背景技术

[0002] SHP099作为蛋白酪氨酸磷酸酶SHP2的变构抑制剂于2016年被开发,对该化合物的研究主要集中在抗肿瘤方面。关于其治疗免疫性疾病,尤其是治疗银屑病的独特药理作用方面,迄今未见报道。本发明主要发现了SHP099对小鼠银屑病样模型具有显著的改善作用。

[0003] SHP099结构式如下:



发明内容

[0005] 发明目的:

[0006] 本发明提供SHP2抑制剂SHP099的新用途。

[0007] 技术方案:

[0008] 蛋白酪氨酸磷酸酶SHP2抑制剂SHP099在制备治疗银屑病药物中的应用。

[0009] 有益效果

[0010] 银屑病是目前最常见的自身免疫性疾病之一,发病率高达2%左右。其病因及发病机制尚未完全阐明,且尚无有效的治愈方法。银屑病的临床特点主要为反复发作的皮肤过度角化、鳞屑、红斑形成,并伴有炎细胞浸润、新生血管形成、IL-6、TNF- α 等细胞因子的分泌。银屑病的动物模型有多种,如药物诱导型模型、阴道上皮模型、基因突变及转基因模型等。咪喹莫特诱导的小鼠模型,因其制作方法简单、致病机制与人类银屑病类似等原因,近年来被广泛用于人类银屑病研究。

[0011] 本发明采用咪喹莫特诱导形成小鼠银屑病模型,实验结果表明灌胃给药SHP099 10mg/kg能显著降低PASI评分,减轻皮肤增厚,减少皮肤中炎症细胞以及炎症因子IL-23A、IL-17A、IL-22、TNF- α 、IL-6和IL-1 β 的表达水平和血清中银屑病关键炎症因子的水平。

[0012] 以上结果提示,SHP099能改善小鼠银屑病样的相关症状,故其可在银屑病的治疗药物中得到应用。

附图说明

[0013] 图1SHP099对咪喹莫特诱导的小鼠银屑病模型的影响。小鼠随机分为6组,正常组

(Sham组),模型组(Imiquimod,IMQ组),阳性对照组(Secukinumab组),SHP099低、中、高剂量组(1mg/kg、3mg/kg、10mg/kg)。正常组和模型组给予等量PBS,阳性对照组于第1天和第4天腹腔给药,其余每组按剂量灌胃给药,每天一次,每次200 μ l。除正常组外,其余每组每天在小鼠背部皮肤均匀涂抹等量咪喹莫特乳膏。其后,每天记录小鼠体重并进行评分。在第5天时处死小鼠。结果以平均数 \pm 标准差表示。*: $P<0.05$,**: $P<0.01$ vs IMQ(Student' s-t test)。

[0014] 图2SHP099对咪喹莫特诱导的小鼠银屑病模型的影响。小鼠随机分为6组,正常组(Sham组),模型组(Imiquimod,IMQ组),阳性对照组(Secukinumab组),SHP099低、中、高剂量组(1mg/kg、3mg/kg、10mg/kg)。正常组和模型组给予等量PBS,阳性对照组于第1天和第4天腹腔给药,其余每组按剂量灌胃给药,每天一次,每次200 μ l。除正常组外,其余每组每天在小鼠背部皮肤均匀涂抹等量咪喹莫特乳膏。其后,每天记录小鼠体重并进行评分。在第5天时处死小鼠。在第5天时处死小鼠,观察皮肤病理切片。

[0015] 图3SHP099对咪喹莫特诱导的小鼠银屑病样模型皮肤组织中炎症因子表达水平的影响。小鼠随机分为3组,正常组(Sham组),模型组(Imiquimod,IMQ组),SHP099 10mg/kg。正常组和模型组给予等量PBS,其余每组按剂量灌胃给药,每天一次,每次200 μ l。除正常组外,其余每组每天在小鼠背部皮肤均匀涂抹等量咪喹莫特乳膏。其后,每天记录小鼠体重并进行评分。在第5天时处死小鼠,qPCR检测小鼠皮肤组织中IL-23A/Th17轴相关炎症因子的表达水平。结果以平均数 \pm 标准差表示;*: $P<0.05$,**: $P<0.01$ vs IMQ(Student' s-t test),其中各图中横轴依次为正常组(Sham组),模型组(Imiquimod,IMQ组),SHP099 10mg/kg。

[0016] 图4SHP099对咪喹莫特诱导的小鼠银屑病样模型皮肤组织中炎症因子表达水平的影响。小鼠随机分为3组,正常组(Sham组),模型组(Imiquimod,IMQ组),SHP099 10mg/kg。正常组和模型组给予等量PBS,其余每组按剂量灌胃给药,每天一次,每次200 μ l。除正常组外,其余每组每天在小鼠背部皮肤均匀涂抹等量咪喹莫特乳膏。其后,每天记录小鼠体重并进行评分。在第5天时处死小鼠,qPCR检测小鼠皮肤组织中其它银屑病相关炎症因子的表达水平。结果以平均数 \pm 标准差表示;*: $P<0.05$,**: $P<0.01$ vs IMQ(Student' s-t test),其中各图中横轴依次为正常组(Sham组),模型组(Imiquimod,IMQ组),SHP099 10mg/kg。

[0017] 图5SHP099对咪喹莫特诱导的小鼠银屑病样模型皮肤组织中炎症因子表达水平的影响。小鼠随机分为3组,正常组(Sham组),模型组(Imiquimod,IMQ组),SHP099 10mg/kg。正常组和模型组给予等量PBS,其余每组按剂量灌胃给药,每天一次,每次200 μ l。除正常组外,其余每组每天在小鼠背部皮肤均匀涂抹等量咪喹莫特乳膏。其后,每天记录小鼠体重并进行评分。在第5天时处死小鼠,ELISA检测小鼠血清中关键炎症因子的水平。结果以平均数 \pm 标准差表示:**: $P<0.01$ vs IMQ(Student' s-t test),其中各图中横轴依次为正常组(Sham组),模型组(Imiquimod,IMQ组),SHP099 10mg/kg。

[0018] 图6SHP099对咪喹莫特诱导的小鼠银屑病样模型皮肤组织中炎症因子表达水平的影响。小鼠随机分为3组,正常组(Sham组),模型组(Imiquimod,IMQ组),SHP099 10mg/kg。正常组和模型组给予等量PBS,其余每组按剂量灌胃给药,每天一次,每次200 μ l。除正常组外,其余每组每天在小鼠背部皮肤均匀涂抹等量咪喹莫特乳膏。其后,每天记录小鼠体重并进行评分。在第5天时处死小鼠,制作皮肤组织切片,免疫组化法检测小鼠皮肤组织中Ki67的表达水平。

具体实施方式

[0019] SHP099购自MCE公司(货号HY-100388A);Secukinumab购自上海赛迈生物科技有限公司(货号TM-Secu-00002_6)。

[0020] 实施例1

[0021] 1、SHP099的药理实验:咪喹莫特诱导的小鼠银屑病模型^[1]

[0022] 取C57BL/6雌性小鼠,6-8周龄,18-22克,饲养于SPF级动物房,21±2℃,自由饮水取食,12h昼夜交替。用1%的戊巴比妥钠麻醉小鼠后,将小鼠背部毛发刮去大约2cm×2cm的面积,露出背部皮肤。两天后,将小鼠随机分为6组,正常组(Sham组),模型组(Imiquimod, IMQ组),阳性对照组(Secukinumab组)10mg/kg, SHP099低、中、高剂量组(1mg/kg、3mg/kg、10mg/kg)。近年来,越来越多的研究证明“IL-23/Th17细胞轴”在银屑病的发病进程中发挥着至关重要的作用。其中,IL-17A在银屑病受累皮肤中的表达较高,针对这一靶点的药物也表现出了优良的效果。本实验中用到的阳性对照药Secukinumab是阻断IL-17A蛋白的全人单克隆抗体,美国FDA于2015年批准其用于治疗成人中度至重度斑块型银屑病。正常组和模型组给予等量PBS,阳性对照组于第1天和第4天腹腔给药,其余SHP099低、中、高剂量组(1mg/kg、3mg/kg、10mg/kg)灌胃给药,每天一次,每次200μl。除正常组外,其余每组每天在小鼠背部皮肤均匀涂抹等量咪喹莫特乳膏。

[0023] 根据临床银屑病区和严重程度指数(Clinical Psoriasis Area and Severity Index, PASI)按整体红斑及鳞屑情况进行评分0~4:0分,无;1分,轻微;2分,中度;3分,严重;4分,极其严重。

[0024] 其后,每天记录小鼠体重并进行评分。在第5天时处死小鼠,随后观察小鼠皮肤组织病理切片,检测皮肤和血清中炎症因子的表达水平。

[0025] 模型参考文献:

[0026] [1]F. Shao, T. Tan, Y. Tan, Y. Sun, X. Wu, Q. Xu, Andrographolide alleviates imiquimod-induced psoriasis in mice via inducing autophagic proteolysis of MyD88, *Biochemical Pharmacology*, 115 (2016) 94-103.

[0027] 2、SHP099药理实验结果分析

[0028] 1) SHP099对咪喹莫特诱导的小鼠银屑病模型的影响

[0029] 如图1所示,正常组(Sham组)相比,模型组(IMQ组)PASI评分明显升高;阳性对照组(Secukinumab组)在第2天就明显改善了小鼠PASI评分;SHP09910mg/kg组在第3天就能显著降低PASI评分且上升趋势缓慢。

[0030] 如图2所示,与正常组相比,模型组皮肤表面有鳞屑产生,明显红肿,给予Secukinumab和SHP099组均能显著减少鳞屑的产生以及红肿,H&E染色结果显示,二者均能明显抑制表皮增厚和炎症细胞的浸润。

[0031] 如图3所示,与正常组相比,模型组皮肤中IL-23/Th17轴相关炎症因子IL-23A、IL-17A和IL-22的表达水平明显升高;给予SHP099治疗能显著降低炎症因子的表达水平。

[0032] 如图4所示,与正常组相比,模型组皮肤中其它银屑病相关炎症因子TNF-α、IL-6和IL-1β的表达水平显著升高;给予SHP099治疗能明显降低炎症因子的表达水平。

[0033] 如图5所示,与正常组相比,模型组血清中银屑病关键炎症因子IL-23A和IL-17A的表达水平升高;给予SHP099治疗能有效降低炎症因子的释放。

[0034] 如图6所示,与正常组相比,模型组皮肤中Ki67的表达增多;给予SHP099治疗能显著抑制Ki67的表达。

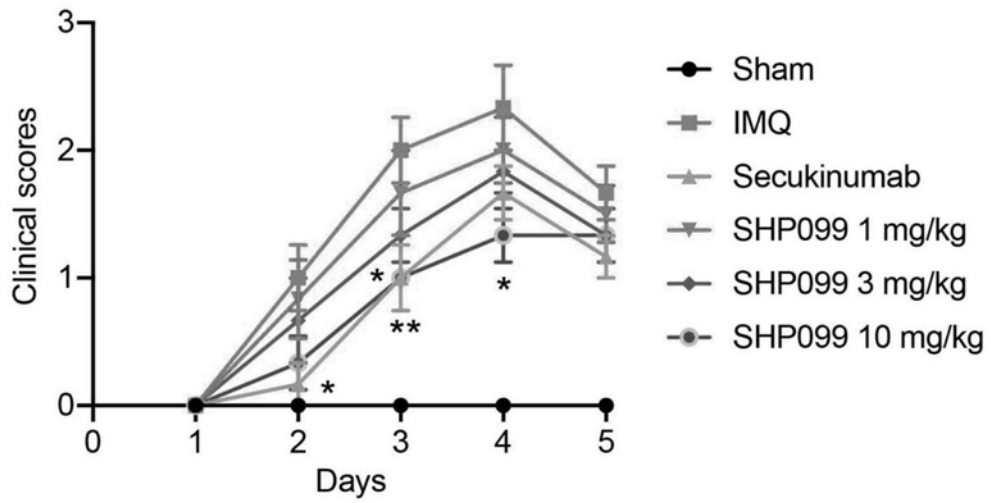


图1

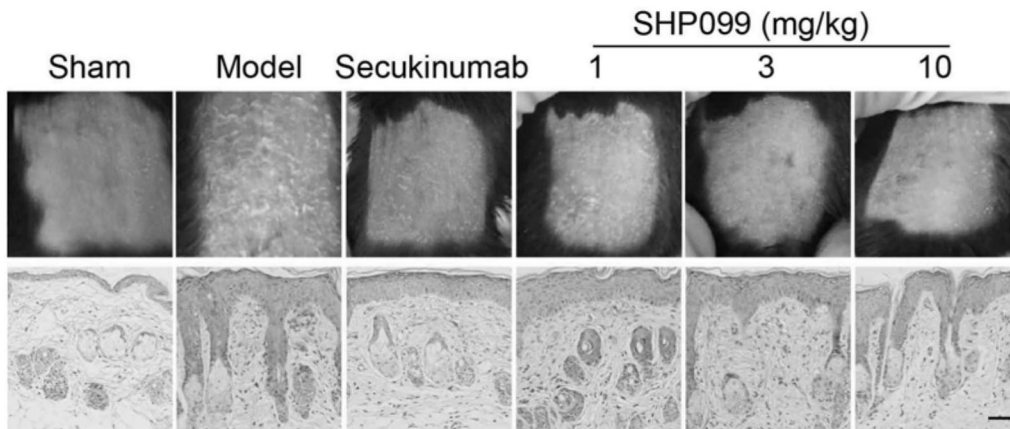


图2

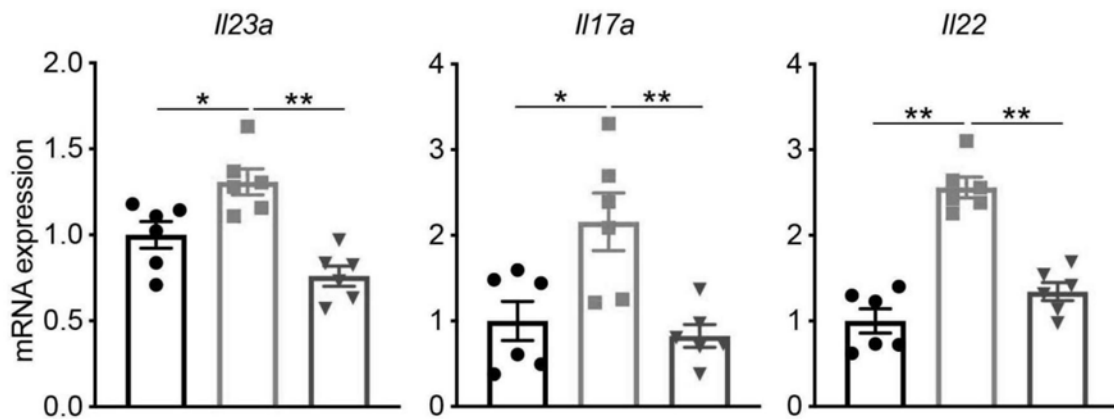


图3

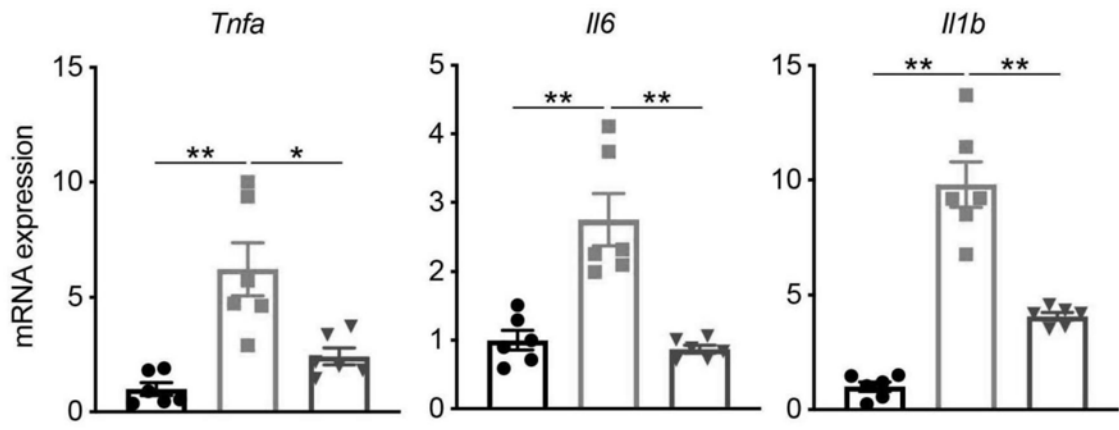


图4

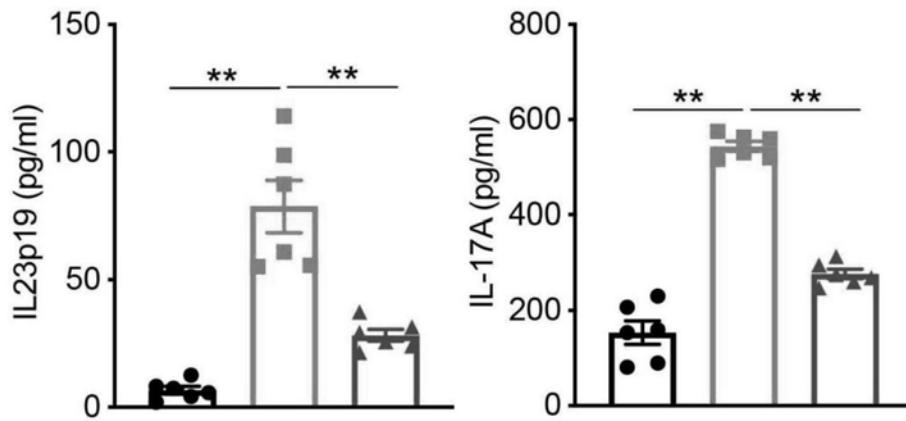


图5

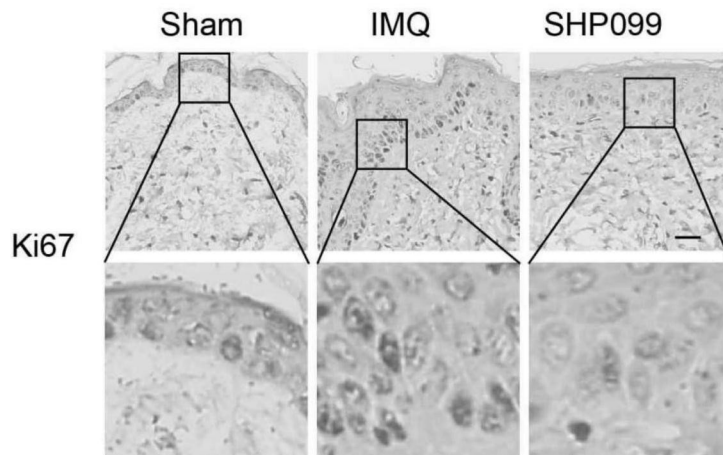


图6