



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 114288288 A

(43) 申请公布日 2022.04.08

(21) 申请号 202210072134.9

(22) 申请日 2022.01.21

(71) 申请人 南京鼓楼医院

地址 210008 江苏省南京市鼓楼区中山路
321号

(72) 发明人 徐运 张存金 曹润菁

(74) 专利代理机构 南京钟山专利代理有限公司
32252

代理人 王楠

(51) Int. Cl.

A61K 31/427 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

A61P 31/04 (2006.01)

权利要求书1页 说明书7页 附图2页

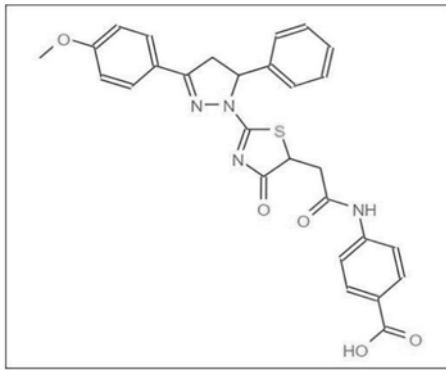
(54) 发明名称

一种GSDMD抑制剂及在制备神经免疫疾病、炎症感染疾病防治药物中的应用

(57) 摘要

本发明提供一种GSDMD抑制剂,其特征在于,其化学结构式如式(I)所示,分子式为 $C_{28}H_{24}N_4O_5S$,分子量为528.59,所述GSDMD抑制剂通过抑制GSDMD N端聚合以及抑制其与细胞膜结合,从而抑制细胞焦亡,减少免疫细胞的死亡和炎性因子的释放,可用于制备神经免疫疾病及炎症感染疾病防治药物,为预防和治疗自身免疫性疾病和感染性炎症性疾病提供一种新的药物选择。

1. 一种GSDMD抑制剂,其特征在于,其化学结构式如式(I)所示:



式(I),

分子式为 $C_{28}H_{24}N_4O_5S$,分子量为528.59。

2. 根据权利要求1所述的GSDMD抑制剂,其特征在于,所述GSDMD抑制剂通过抑制GSDMD N端聚合以及抑制其与细胞膜结合,从而抑制细胞焦亡,减少免疫细胞的死亡和炎症因子的释放。

3. 权利要求1~2任意一项所述的GSDMD抑制剂在制备神经免疫疾病及炎症感染疾病防治药物中的应用。

4. 根据权利要求3所述的GSDMD抑制剂在制备神经免疫疾病及炎症感染疾病防治药物中的应用,其特征在于,所述神经免疫疾病包括多发性硬化、视神经脊髓炎以及格林-巴利综合征。

5. 根据权利要求3所述的GSDMD抑制剂在制备神经免疫疾病及炎症感染疾病防治药物中的应用,其特征在于,所述炎症感染疾病包括脓毒血症和感染性脑炎。

6. 根据权利要求3所述的GSDMD抑制剂在制备神经免疫疾病及炎症感染疾病防治药物中的应用,其特征在于,所述神经免疫疾病及炎症感染疾病防治药物包括:权利要求1~2任意一项所述的GSDMD抑制剂,或/和GSDMD抑制剂在药学上可接受的盐,或/和GSDMD抑制剂在药学上可接受的载体。

一种GSDMD抑制剂及在制备神经免疫疾病、炎症感染疾病防治药物中的应用

技术领域：

[0001] 本发明属于生物医药技术领域，具体涉及一种GSDMD抑制剂及其在制备神经免疫疾病、炎症感染疾病防治药物中的应用。

背景技术：

[0002] 神经免疫疾病包括多发性硬化、视神经脊髓炎、格林巴利等，均由自身免疫功能失调，包括产生或多致病性免疫细胞或促炎型和抑炎型免疫细胞失衡等导致。其目前的治疗主要为疾病修饰治疗，包括应用免疫抑制剂，以及调节促炎型和抑炎型免疫细胞平衡的药物。应用这些药物虽然在一定程度上抑制免疫反应，缓解了疾病进展，但同时抑制了机体本身的免疫反应，或导致患者容易并发一些感染类疾病，包括脓毒血症、肺炎、消化道、尿路感染等。

[0003] 细胞焦亡是一种促炎的细胞死亡的形式，其主要由gasdermin D (GSDMD) 蛋白质形成的胞膜上的孔洞介导。GSDMD形成的孔洞介导促炎型细胞因子IL-1 β 和IL-18的释放，进一步导致细胞的肿胀和促成细胞溶解，进而导致胞内其他物质的释放。GSDMD通常在caspase-1或-11 (人中的caspase-4/5) 裂解下被剪切为N端及C端。其中N端聚合构成胞膜上的孔洞。因此，特异性抑制GSDMD的N端聚合或抑制其剪切均可抑制焦亡的发生及后续炎症因子的释放。

[0004] 目前已证实GSDMD在神经免疫疾病例如多发性硬化的发生发展中起到关键作用。GSDMD敲除小鼠上诱导多发性硬化的自身免疫性脑脊髓炎 (EAE) 模型可以显著减少疾病的发病率和减轻疾病程度。我们和其他人的研究均表明，抑制GSDMD靶点可以减少IL-1 β 等细胞因子的分泌。而在多发性硬化的发病机制中，减少炎性细胞因子的分泌可以抑制致病型T细胞的形成，从而在根本上对疾病的发生发展起到抑制作用。

[0005] 同时，研究表明在脓毒血症小鼠模型上敲除或抑制GSDMD可以显著减轻疾病的病情程度和减少LPS引起的免疫细胞死亡。从这些角度，我们可以看出，针对GSDMD靶点进行干预，既可以起到抑制多发性硬化疾病进展，同时可以防治多发性硬化患者并发的严重感染发生。

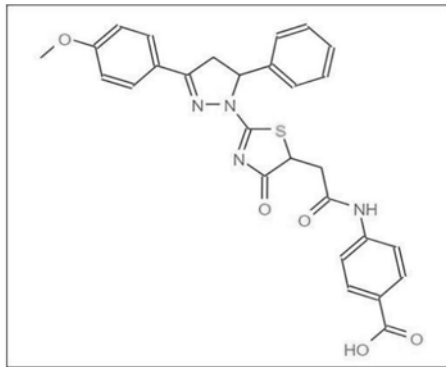
[0006] 基于以上背景下，我们通过人工智能模拟筛选及在细胞模型上筛选，发现了C202-2729化合物，并通过实验证明其有显著抑制GSDMD及其通路活性的作用。

发明内容：

[0007] 本发明的目的是针对现有技术的不足，提供一种针对GSDMD靶点，抑制GSDMD的N端聚合及抑制其结合细胞膜的特异性抑制剂，所述GSDMD抑制剂可抑制GSDMD靶点，从而解决神经免疫疾病及炎症感染疾病的防治问题。

[0008] 本发明采用以下技术方案：

[0009] (一) 一种GSDMD抑制剂：C202-2729，其特征在于，其化学结构式如式 (I) 所示：



式 (I),

[0011] 分子式为 $C_{28}H_{24}N_4O_5S$, 分子量为528.59。

[0012] 进一步的, 所述GSDMD抑制剂通过抑制GSDMD N端聚合以及抑制其与细胞膜结合, 从而抑制细胞焦亡, 减少免疫细胞的死亡和炎症因子的释放。

[0013] (二) 本发明还提供以上所述的GSDMD抑制剂在制备神经免疫疾病及炎症感染疾病防治药物中的应用。

[0014] 进一步的, 所述神经免疫疾病包括多发性硬化、视神经脊髓炎以及格林-巴利综合征。

[0015] 进一步的, 所述炎症感染疾病包括脓毒血症和感染性脑炎。

[0016] 进一步的, 所述神经免疫疾病及炎症感染疾病防治药物包括: 权利要求1~2任意一项所述的GSDMD抑制剂, 或/和GSDMD抑制剂在药学上可接受的盐, 或/和GSDMD抑制剂在药学上可接受的载体。

[0017] 本发明的有益效果:

[0018] 本发明提供了一种新的针对GSDMD靶点的抑制剂, 所述GSDMD抑制剂通过抑制GSDMD N端聚合以及抑制其与细胞膜结合, 从而抑制细胞焦亡, 减少免疫细胞的死亡和炎症因子的释放。本发明所述的GSDMD抑制剂可用于制备神经免疫疾病及炎症感染疾病防治药物, 为预防和治疗自身免疫性疾病和感染性炎症性疾病提供一种新的药物选择。

附图说明:

[0019] 图1为本发明实施例1各组iBMDMs细胞毒性及IL-1 β 分泌量检测结果图; 其中, 图1A和1B为乳酸脱氢酶(LDH)释放和细胞上清IL-1 β 含量ELISA检测结果, 干预组设置分别为UN、LPS、LPS+ATP、5 μ M组、25 μ M、50 μ M和100 μ M分别指代control组、LPS组、LPS+ATP组、C202-2729 5 μ M组、C202-2729 25 μ M组、C202-2729 50 μ M组和C202-2729 100 μ M组, ** $p < 0.01$, 结果表明C202-2729可以有效抑制细胞死亡和抑制巨噬细胞IL-1 β 的释放; 图1C为免疫荧光标记iBMDMs的GSDMD表达及分布图, 其分组设置为LPS、LPS+ATP、C202-2729 50 μ M组, 结果表明C202-2729可以有效抑制巨噬细胞焦亡并减少焦亡小体的形成;

[0020] 图2为本发明实施例2各组iBMDMs细胞蛋白GSDMD全长以及N端剪切条带、Caspase-1全长及剪切条带、IL-1 β 全长及剪切条带的表达量、细胞上清中IL-1 β 的含量, 以及分离出细胞膜和细胞质的蛋白后, GSDMD的N端剪切条带以及全长的含量示意图。图2A说明C202-2729并未影响GSDMD剪切的过程, 其中包括未影响Caspase-1P20以及IL-1 β 的剪切; 图2B直接说明C202-2729抑制GSDMD的N端聚合上膜;

[0021] 图3为本发明实施例3各组治疗多发性硬化模型EAE小鼠效果图; 其中, 图3A为EAE

的病情评分示意图,图3B为小鼠脑内浸润的炎性细胞含量示意图。结果表明C202-2729可以显著减轻EAE小鼠评分,并减少小鼠脑内浸润炎性细胞的数量,**** $p < 0.0001$,*** $p < 0.001$,** $p < 0.01$;

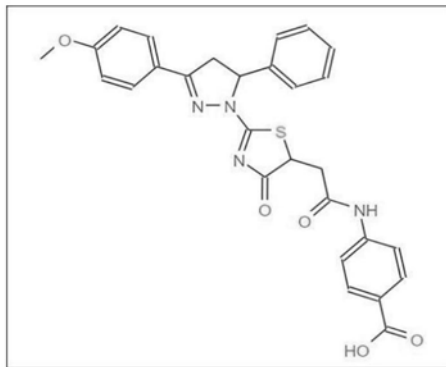
[0022] 图4为本发明实施例4各组治疗LPS诱导的小鼠脓毒血症模型效果图;其中,图4A为小鼠的生存曲线图,图4B为小鼠血液IL-1 β 含量示意图。结果表明,C202-2729可以显著减轻模型小鼠的死亡率和减少小鼠血中IL-1 β 的含量。

具体实施方式:

[0023] 为使本发明实施例的目的、技术方案和优点更加清楚,下面将结合本发明实施例中的附图,对本发明实施例中的技术方案进行清楚、完整地描述,显然,所描述的实施例是本发明的一部分实施例,而不是全部的实施例。基于本发明中的实施例,本领域普通技术人员在没有做出创造性劳动的前提下所获得的所有其他实施例,都属于本发明保护的范围。下述实施例中所使用的实验方法,如无特殊说明,均为常规方法,所用的试剂、方法和设备,如无特殊说明,均为本技术领域常规试剂、方法和设备。

[0024] 本发明提供一种GSDMD抑制剂:C202-2729,分子式为 $C_{28}H_{24}N_4O_5S$,分子量为528.59,其化学结构式如式(I)所示,所述GSDMD抑制剂通过抑制GSDMD N端聚合以及抑制其与细胞膜结合,从而抑制细胞焦亡,减少免疫细胞的死亡和炎症因子的释放。

[0025]



式(I)。

[0026] 本发明所述的GSDMD抑制剂可应用于神经免疫疾病及炎症感染疾病防治药物的制备中。所述神经免疫疾病包括多发性硬化、视神经脊髓炎以及格林-巴利综合征等;所述炎症感染疾病包括脓毒血症和感染性脑炎等。

[0027] 本发明还提供一种神经免疫疾病及炎症感染疾病防治药物,所述药物包括:GSDMD抑制剂C202-2729,或/和GSDMD抑制剂C202-2729在药学上可接受的盐,或/和GSDMD抑制剂C202-2729在药学上可接受的载体。

[0028] C202-2729对GSDMD的抑制实验

[0029] 材料与设备

[0030] 1、实验材料:

[0031] 细胞系:永生化小鼠骨髓来源巨噬细胞(iBMDMs),由华中科技大学王晨辉课题组提供,培养条件:使用含10%FBS(Biological Industries)的DMEM培养基(Gibco),在37°C下5%CO₂孵箱(Thermo)培养;

[0032] 2、主要试剂:

[0033] C202-2729,购自Chemdiv公司(美国,加州),形状:干粉,保存条件:-20°C;细菌脂

多糖 (LPS), 购自 Invivogen 公司, 形状: 干粉, 保存条件: -20°C ; 腺苷5'-三磷酸二钠盐水合物 (ATP), 购自 Sigma-Aldrich 公司, 形状: 干粉, 保存条件: -20°C ;

[0034] 完全弗氏佐剂, 购自 Sigma-Aldrich;

[0035] 灭活结核杆菌 (H37Ra, 5mg/ml), 购自 BD Diagnostics;

[0036] MOG35-55 (MEVGWYRSPFSRVVHLYRNGK), 购自南京肽业生物科技有限公司;

[0037] 百日咳毒素 (PT), 购自 Sigma-Aldrich 公司, 保存条件: -20°C ;

[0038] 细菌脂多糖 (LPS), 购自 Invitrogen 公司;

[0039] 佛波醇12-十四酸酯13-乙酸酯 (phorbol-12-myristate-13-acetate, PMA), 购自 Sigma-Aldrich 公司, 形状: 粉状, 保存条件: -20°C ;

[0040] 细胞毒性检测试剂盒 (Cytotoxicity detection kit (LDH)), 购自 Roche 公司; 小鼠 IL-1 β ELISA 试剂盒, 购自福麦斯公司。

[0041] 3、主要仪器及设备:

[0042] 流式细胞分析仪 (LSRFortessa, BD);

[0043] 酶标仪 (SPARK microplate reader, Tecan);

[0044] 共聚焦显微镜 (FV3000, OLYMPUS)。

[0045] 4、实验动物:

[0046] C57BL/6 小鼠为 8-10 周龄雌性 60 只, 体重: 18-20g, 由南京医科大学提供, 饲养于南京鼓楼医院动物实验中心 SPF 级实验室, 小鼠饲养温度 $20-25^{\circ}\text{C}$, 相对湿度 50%-60%, 可自由索食和饮水。

[0047] 实施例 1

[0048] C202-2729 特异性抑制 GSDMD 靶点。

[0049] 1、细胞培养: 使用含有 10% FBS 的 DMEM 培养基培养永生化小鼠骨髓来源巨噬细胞 (iBMDMs)。

[0050] 2、iBMDMs 分组及处理

[0051] 第一天, 将细胞分种到 96 孔板上, 每孔 5×10^4 个细胞;

[0052] 第二天, 将 96 孔板的 iBMDMs 随机分为 UN 组 (对照组)、LPS 组、LPS+ATP 组、C202-2729 5 μM 组、C202-2729 25 μM 组、C202-2729 50 μM 组及 C202-2729 100 μM 组, 每组 6 个复孔, 每孔 5×10^4 个细胞, 对各孔的 iBMDMs 离心去上清, 然后对 UN 组加入不含 LPS 的含 10% FBS 的 DMEM 培养基, 其余六组加入含 LPS (100ng/ml) 的含 10% FBS 的 DMEM 培养基, 在 5% CO_2 孵箱中 37°C 下培养三小时后, 对各组 iBMDMs 进行如下处理:

[0053] UN 组: 每孔加入 20 μl 的含 10% FBS 的 DMEM 培养基, 在 5% CO_2 孵箱中 37°C 下培养一小时;

[0054] LPS 组: 每孔加入 20 μl 的含 10% FBS 的 DMEM 培养基, 在 5% CO_2 孵箱中 37°C 下培养一小时;

[0055] LPS+ATP 组: 每孔加入 20 μl 的含 10% FBS 的 DMEM 培养基, 在 5% CO_2 孵箱中 37°C 下培养半小时后, 加入 ATP 至 ATP 终浓度为 2.5 μM , 再继续培养半小时;

[0056] C202-2729 5 μM 组: 每孔加入含 C202-2729 的含 10% FBS 的 DMEM 培养基 (C202-2729 在培养基中的终浓度为 5 μM), 在 5% CO_2 孵箱中 37°C 下培养半小时, 然后加入 ATP (ATP 在培养基中的终浓度为 2.5 μM), 继续培养半小时;

[0057] C202-2729 25uM组:每孔加入含C202-2729的含10%FBS的DMEM培养基(C202-2729在培养基中的终浓度为25uM),在5%CO₂孵箱中37℃下培养半小时,然后加入ATP(ATP在培养基中的终浓度为2.5uM),继续培养半小时;

[0058] C202-2729 50uM组:每孔加入含C202-2729的含10%FBS的DMEM培养基(C202-2729在培养基中的终浓度为50uM),在5%CO₂孵箱中37℃下培养半小时,然后加入ATP(ATP在培养基中的终浓度为2.5uM),继续培养半小时;

[0059] C202-2729 100uM组:每孔加入含C202-2729的含10%FBS的DMEM培养基(C202-2729在培养基中的终浓度为100uM),在5%CO₂孵箱中37℃下培养半小时,然后加入ATP(ATP在培养基中的终浓度为2.5uM),继续培养半小时。

[0060] 3、各组iBMDMs细胞毒性及IL-1β分泌量检测

[0061] 对步骤2处理后的iBMDMs细胞离心并收集细胞上清液(iBMDMs-SN),然后将收集的iBMDMs-SN分别采用Cytotoxicity Detection Kit试剂盒按照说明书进行乳酸脱氢酶(LDH)含量检测,采用小鼠IL-1βELISA试剂盒按照说明书进行IL-1β含量检测,使用软件GraphPad Prism 7.0对检测数据统计分析。

[0062] 4、免疫荧光染色确定C202-2729抑制焦亡小体的形成

[0063] 对步骤2处理后的iBMDMs细胞用4%多聚甲醛固定后,用GSDMD抗体以及荧光二抗进行染色,并用激光共聚焦显微镜(Olympus FV3000)进行拍照。

[0064] 5、实验结果

[0065] 参照图1,图1为各组iBMDMs细胞毒性及IL-1β分泌量检测结果。图1A和1B为乳酸脱氢酶(LDH)释放和细胞上清IL-1β含量ELISA检测结果。如图1A所示,C202-2729给药组(C202-2729 5uM组、C202-2729 25uM组、C202-2729 50uM组、C202-2729 100uM组)呈剂量依赖性降低小鼠永生骨髓来源巨噬细胞LDH释放量,且C202-2729 50uM组、C202-2729 100uM组与LPS+ATP组相比有统计学差异。如图1B所示,C202-2729给药组(C202-2729 5uM组、C202-2729 25uM组、C202-2729 50uM组、C202-2729 100uM组)呈剂量依赖性显著降低小鼠永生骨髓来源巨噬细胞IL-1β分泌量,且C202-2729 100uM组与LPS+ATP组相比有统计学差异。图1C所示,C202-2729 50uM可以显著抑制焦亡小体的形成以及减少膜表面GSDMD剪切N端的分布。

[0066] 实施例2

[0067] C202-2729抑制GSDMD的N端的聚合及上膜从而抑制焦亡。

[0068] 1、细胞培养:使用含有10%FBS的DMEM培养基培养永生小鼠骨髓来源巨噬细胞(iBMDMs)。

[0069] 2、iBMDMs分组及处理

[0070] 第一天,将细胞分种到96孔板上,每孔 5×10^4 个细胞;

[0071] 第二天,将96孔板的iBMDMs随机分为UN组(对照组)、LPS组、LPS+ATP组、C202-2729 5uM组、C202-2729 25uM组、C202-2729 50uM组及C202-2729 100uM组,每组6个复孔,每孔 5×10^4 个细胞,对各孔的iBMDMs离心去上清,然后对UN组加入不含LPS的含10%FBS的DMEM培养基,其余六组加入含LPS(100ng/ml)的含10%FBS的DMEM培养基,在5%CO₂孵箱中37℃下培养三小时后,对各组iBMDMs进行如下处理:

[0072] UN组:每孔加入20u1的含10%FBS的DMEM培养基,在5%CO₂孵箱中37℃下培养一小

时；

[0073] LPS组：每孔加入20 μ l的含10%FBS的DMEM培养基，在5%CO₂孵箱中37℃下培养一小时；

[0074] LPS+ATP组：每孔加入20 μ l的含10%FBS的DMEM培养基，在5%CO₂孵箱中37℃下培养半小时后，加入ATP至ATP终浓度为2.5 μ M，再继续培养半小时；

[0075] C202-2729 5 μ M组：每孔加入含C202-2729的含10%FBS的DMEM培养基（C202-2729在培养基中的终浓度为5 μ M），在5%CO₂孵箱中37℃下培养半小时，然后加入ATP（ATP在培养基中的终浓度为2.5 μ M），继续培养半小时；

[0076] C202-2729 25 μ M组：每孔加入含C202-2729的含10%FBS的DMEM培养基（C202-2729在培养基中的终浓度为25 μ M），在5%CO₂孵箱中37℃下培养半小时，然后加入ATP（ATP在培养基中的终浓度为2.5 μ M），继续培养半小时；

[0077] C202-2729 50 μ M组：每孔加入含C202-2729的含10%FBS的DMEM培养基（C202-2729在培养基中的终浓度为50 μ M），在5%CO₂孵箱中37℃下培养半小时，然后加入ATP（ATP在培养基中的终浓度为2.5 μ M），继续培养半小时；

[0078] C202-2729 100 μ M组：每孔加入含C202-2729的含10%FBS的DMEM培养基（C202-2729在培养基中的终浓度为100 μ M），在5%CO₂孵箱中37℃下培养半小时，然后加入ATP（ATP在培养基中的终浓度为2.5 μ M），继续培养半小时。

[0079] 3、对步骤2分组处理的细胞用RIPA裂解后，WB检测细胞蛋白的GSDMD全长以及N端剪切条带、Caspase-1全长及剪切条带、IL-1 β 全长及剪切条带的表达量。以及WB检测细胞上清中IL-1 β 的含量。同时对于步骤2处理的细胞，根据膜质分离试剂盒（SM-005, Invent Biotechnologies, Inc.）的操作方法，分离出细胞膜和细胞质的蛋白后，WB检测GSDMD的N端剪切条带以及全长的含量。

[0080] 4、实验结果

[0081] 参见图2A和2B，结果显示，图2A中C202-2729并未影响GSDMD的剪切变化，同时与GSDMD剪切相关的酶包括Caspase-1的活化也未受到C202-2729抑制，同时根据我们的结果IL-1 β 全长的表达及剪切均未受C202-2729抑制。同时结果2B显示，C202-2729明显抑制胞膜上GSDMD的N端蛋白的含量。同时，胞质蛋白中GSDMD的N端蛋白含量在C202-2729处理后显著增加。说明C202-2729通过抑制GSDMD的N端的聚合及上膜从而抑制焦亡。

[0082] 实施例3

[0083] 1、C57BL/6小鼠EAE诱导

[0084] 对C57BL/6小鼠（8-10周龄）皮下注射250 μ g完全溶于完全弗氏佐剂并包含有400 μ g灭活结核杆菌（H37Ra, 5mg/ml, BD Diagnostics）的MOG35-55（MEVGWYRSPFSRVVHLYRNGK），分别于免疫第0天及第2天向小鼠腹腔注射500ng/只百日咳毒素（Sigma-Aldrich）；

[0085] 2、EAE模型小鼠分组及药物治疗处理

[0086] EAE模型小鼠分组：将步骤1构建的EAE小鼠模型随机分为对照组（EAE untreated）、C202-2729治疗组（C202-2729）、特立氟氨治疗组（TERI），每组10只；

[0087] 3、临床评分标准

[0088] 0分，无临床症状；0.5分，尾部轻度瘫痪；1分，尾部完全瘫痪；2分，双侧后肢不完全瘫痪；2.5分，截瘫（双侧后肢完全瘫痪）；3分，截瘫并前肢无力或轻度瘫痪；4分，四肢完全瘫

痰;5分,死亡;

[0089] 4、流式细胞学技术检测脑内浸润炎性细胞量

[0090] EAE模型给药治疗后的小鼠分离出脑组织后,研磨消化成单细胞。并用Percoll梯度离心后,分离提取出炎性细胞。后细胞孵育流式抗体进行标记炎性细胞。

[0091] 5、实验结果

[0092] 如图3A和3B所示,C202-2729显著减轻了EAE的病情评分。其效果与一线治疗MS的口服药物特立氟氨效果相似。并且C202-2729显著降低了小鼠脑内浸润的炎性细胞,包括CD4、CD8 T细胞、B细胞以及中性粒细胞。这也说明C202-2729显著降低了EAE中枢炎症反应。

[0093] 实施例4

[0094] 1、C57BL/6小鼠分组及处理

[0095] 将20只C57BL/6小鼠(8-10周龄)随机分为对照组(Control)和C202-2729给药组(Treated),每组10只,分别在LPS诱导前12h、2h和诱导后6h对C57BL/6雌鼠腹腔进行C202-2729(5mg/kg)注射,对照组注射相同体积的无菌PBS。

[0096] 2、构建小鼠sepsis模型与给药

[0097] 对照组(Control)和C202-2729给药组(Treated)的C57BL/6雌鼠进行LPS(20mg/kg)腹腔注射以诱导小鼠sepsis模型,在C202-2729注射后的36h内,每2h记录各组C57BL/6雌鼠生存情况,采用Log-Rank检验对各组小鼠的生存曲线进行统计学分析。

[0098] 3、ELISA分析小鼠血液IL-1 β 含量

[0099] 小鼠sepsis模型造模6h后,各组小鼠采用眼眶取血法取外周血,然后使用ELISA分析小鼠血液IL-1 β 含量。

[0100] 4、结果

[0101] 参照图4A和4B,由图4A所示的对照组和C202-2729给药组小鼠存活曲线可见,C202-2729给药组相比对照组小鼠存活率升高,使用Log Rank法统计两组生存曲线有统计学差异(** $p < 0.05$)。由图4B所示,C202-2729给药组小鼠血液内IL-1 β 含量显著降低。

[0102] 综上所述,C202-2729可通过抑制巨噬细胞焦亡而降低炎症因子IL-1 β 分泌;同时C202-2729在EAE和sepsis模型中均显著缓解和抑制疾病的病情,降低发病率和死亡率。本发明结果表明C202-2729在防治MS和sepsis发病机制中起到关键的作用,对研制治疗MS和sepsis新药具有重要意义,进一步地,可以为预防和治疗自身免疫性疾病和感染性炎症性疾病提供一种新的药物选择。

[0103] 以上仅是本发明的优选实施方式,本发明的保护范围并不仅局限于上述实施例,凡属于本发明思路下的技术方案均属于本发明的保护范围,应当指出,对于本技术领域的普通技术人员来说,在不脱离本发明原理前提下的若干改进和润饰,应视为本发明的保护范围。

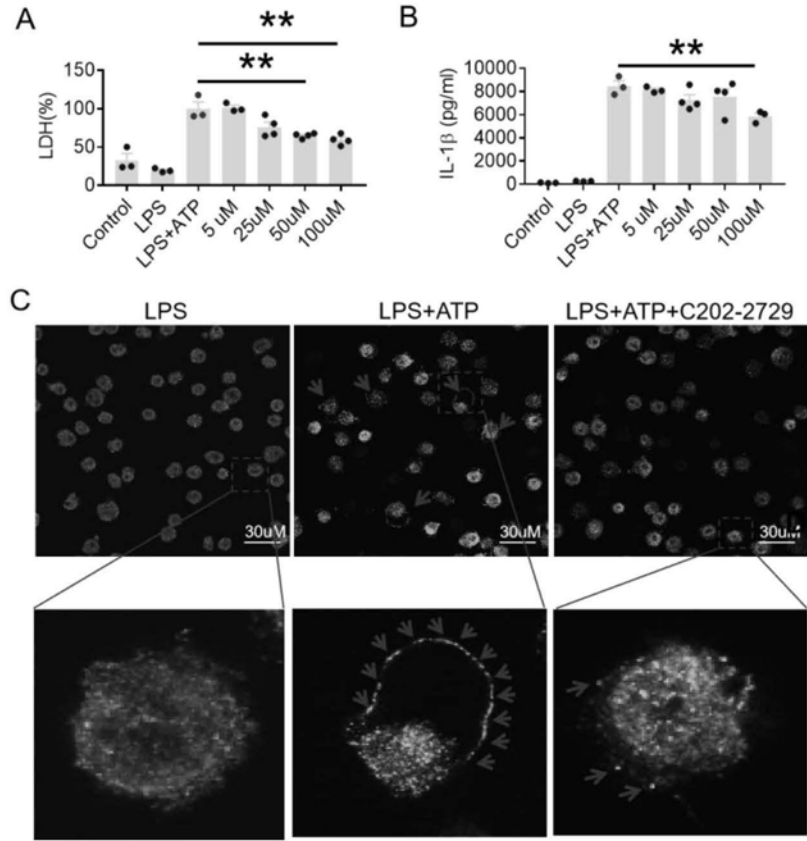


图1

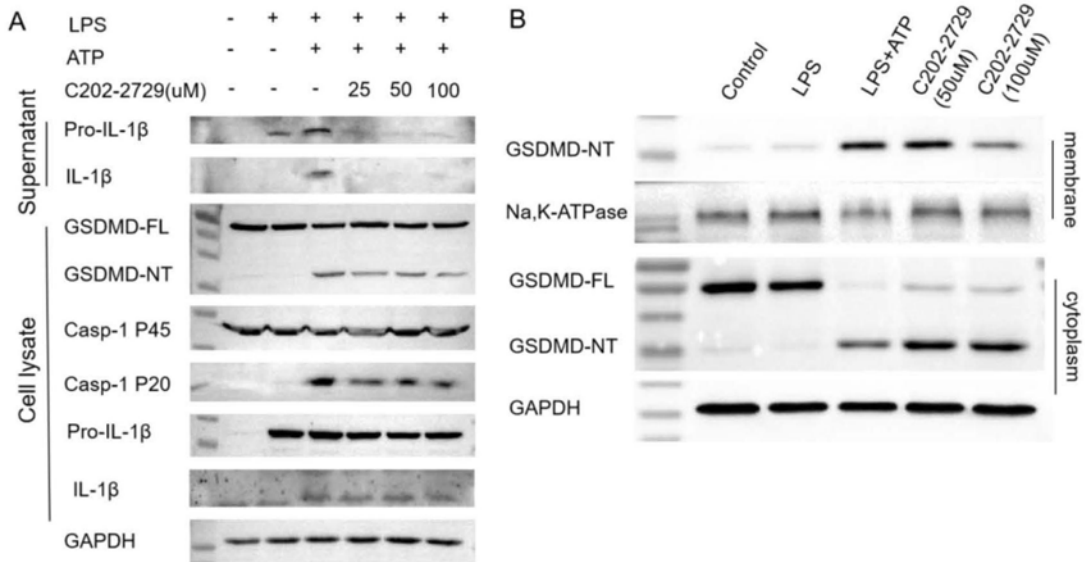


图2

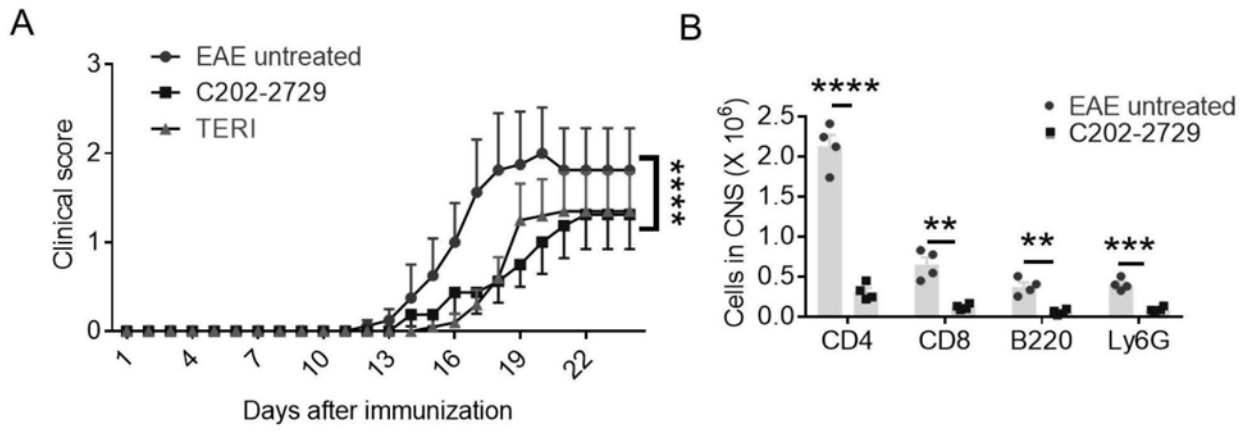


图3

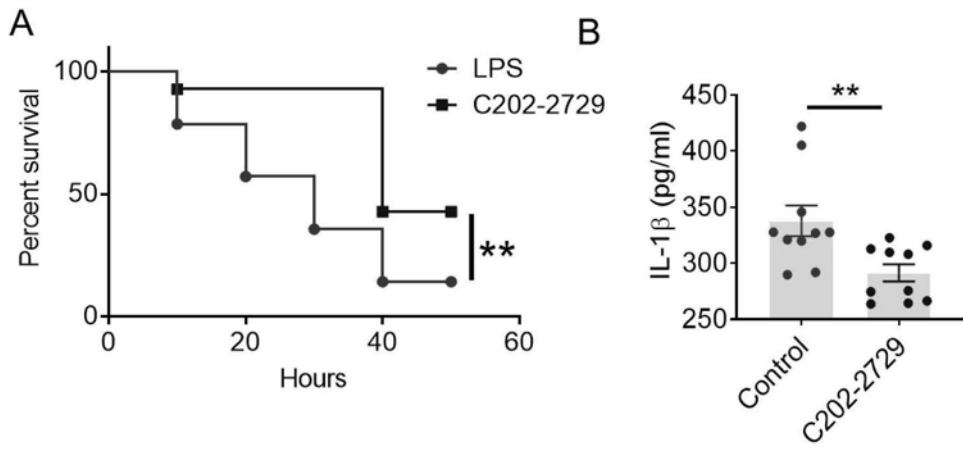


图4