



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 109562098 B

(45) 授权公告日 2023. 04. 21

(21) 申请号 201780040801.2

A61K 31/16 (2006.01)

(22) 申请日 2017.05.01

A61K 31/19 (2006.01)

(65) 同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 109562098 A

(56) 对比文件

WO 99/29726 A1,1999.06.17

US 2008096963 A1,2008.04.24

US 2008096963 A1,2008.04.24

(43) 申请公布日 2019.04.02

(30) 优先权数据

62/329,611 2016.04.29 US

62/340,075 2016.05.23 US

62/423,693 2016.11.17 US

Dongol et al.HYMENOPTERA STINGS AND THE ACUTE KIDNEY INJURY.《EMJ Neph》.2013,第1卷第68-75页.

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2018.12.28

Chauffe et al.Recent Developments with Lipoprotein-Associated Phospholipase A2 Inhibitors.《Curr Atheroscler Rep》.2009,第12卷第43-47页.

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2017/030436 2017.05.01

Yoshitatsu Ichihara.Cajucarinolide and Isocajucarinolide:Anti-Inflammatory Diterpenes from Croton cajucara.《Planta Med》.1992,第58卷第549-551页.

(87) PCT国际申请的公布数据

WO2017/190141 EN 2017.11.02

Victoria Magrioti et al.Phospholipase A2 inhibitors for the treatment of inflammatory diseases: a patent review (2010 -present).《EXPERT OPINION ON THERAPEUTIC PATENTS》.2013,第23卷(第3期),第333-344页.

(73) 专利权人 奥菲瑞克斯股份有限公司

地址 美国加利福尼亚州

审查员 郑梅

(72) 发明人 马修·R·勒温

(74) 专利代理机构 上海胜康律师事务所 31263

专利代理师 樊英如 邱晓敏

权利要求书2页 说明书41页 附图6页

(51) Int.Cl.

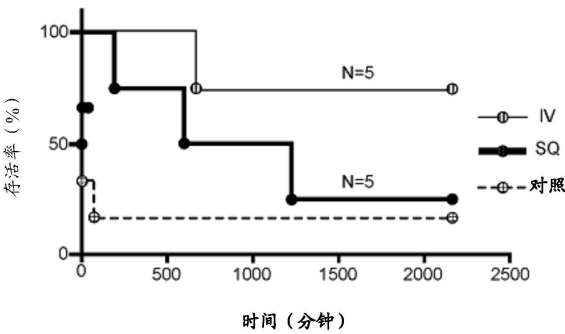
A61K 31/404 (2006.01)

(54) 发明名称

用于立即治疗膜翅目注毒和其他基因组胺释放引起的病症的PLA2抑制剂

(57) 摘要

本发明提供了使用至少一种PLA2抑制剂单独或与其他剂联合治疗引起溶血、脑水肿、急性肾损伤和非过敏性休克的病理状况的方法,病理状况包括注毒、创伤、脑疟疾和肥大细胞疾病。PLA2抑制剂的意想不到的通用性、它们的剂型和组合使它们成为发展中国家的基本药物。



1. 化合物在制备用于治疗膜翅目注毒的药物中的用途,所述化合物为分泌型磷脂酶A2的小分子抑制剂,选自伐瑞拉迪、甲基伐瑞拉迪、AZD2716和3-(5'-苄基-2'-氨基甲酰基联苯-3-基)丙酸以及其药学上可接受的盐。

2. 根据权利要求1的用途,其中所述分泌型磷脂酶A2的小分子抑制剂选自伐瑞拉迪、甲基伐瑞拉迪及其药学上可接受的盐。

3. 根据权利要求1的用途,其中所述分泌型磷脂酶A2的小分子抑制剂选自AZD2716、3-(5'-苄基-2'-氨基甲酰基联苯-3-基)丙酸及其药学上可接受的盐。

4. 根据权利要求1、2或3的用途,用于制备在注毒后一小时内治疗膜翅目注毒的药物。

5. 根据权利要求1至3中任一项所述的用途,其中所述膜翅目是蜜蜂。

6. 根据权利要求1至3中任一项所述的用途,其中所述膜翅目是黄蜂或蚂蚁。

7. 根据权利要求1至3中任一项所述的用途,其用于制备用于治疗群集膜翅目注毒的药物。

8. 根据权利要求1至3中任一项所述的用途,其用于制备用于治疗由膜翅目注毒引起的急性肾损伤的药物。

9. 根据权利要求1至3中任一项所述的用途,其用于制备与他汀类药物联合治疗膜翅目注毒的药物。

10. 根据权利要求1至3中任一项所述的用途,其中所述药物包含每公斤体重0.1mg至1000mg范围内的磷脂酶A2抑制剂剂量,每日总剂量为100mg到1g。

11. 根据权利要求1至3中任一项所述的用途,其用于制备在膜翅目注毒疑似或确诊的病例后立即现场治疗中毒的药物。

12. 根据权利要求1至3中任一项所述的用途,其用于制备兽用的药物。

13. 根据权利要求1-3中任一项的用途,其用于制备治疗人类的药物。

14. 化合物在制备用于治疗膜翅目注毒的药物中的用途,所述化合物为分泌型磷脂酶A2的小分子抑制剂,选自伐瑞拉迪、甲基伐瑞拉迪、AZD2716和3-(5'-苄基-2'-氨基甲酰基联苯-3-基)丙酸以及其药学上可接受的盐,所述药物用于注射或口服施用,条件是所述小分子在体外不抑制 Spla2 III 型。

15. 化合物在制备用于治疗膜翅目注毒的药物中的用途,所述化合物为分泌型磷脂酶A2的小分子抑制剂,选自伐瑞拉迪、甲基伐瑞拉迪、AZD2716和3-(5'-苄基-2'-氨基甲酰基联苯-3-基)丙酸以及其药学上可接受的盐,所述药物用于注射或口服施用,其中所述小分子是吲哚或吡唑。

16. 根据权利要求14或15所述的用途,其中所述膜翅目是蜜蜂。

17. 根据权利要求14或15所述的用途,其中所述膜翅目是黄蜂或蚂蚁。

18. 根据权利要求14或15所述的用途,其用于制备用于治疗群集膜翅目注毒的药物。

19. 根据权利要求14或15所述的用途,其用于制备用于治疗由膜翅目注毒引起的急性肾损伤的药物。

20. 根据权利要求14或15所述的用途,其用于制备与他汀类药物联合治疗膜翅目注毒的药物。

21. 根据权利要求14或15所述的用途,其中所述药物包含每公斤体重0.1mg至1000mg范围内的磷脂酶A2抑制剂剂量,每日总剂量为100mg到1g。

22. 根据权利要求14或15所述的用途,其用于制备在膜翅目注毒疑似或确诊的病例后立即现场治疗中毒的药物。

23. 根据权利要求14或15所述的用途,其用于制备兽用的药物。

24. 根据权利要求14或15所述的用途,其用于制备治疗人类的药物。

## 用于立即治疗膜翅目注毒和其他因组胺释放引起的病症的 PLA2抑制剂

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2016年4月29日提交的美国临时申请No.62/329,611;2016年5月23日提交的美国临时申请No.62/340,075和2016年11月17日提交的美国临时申请No.62/423,693的优先权利益;其全部内容通过引用并入本文。

### 技术领域

[0003] 本发明可应用于医学和兽医学领域。

### 背景技术

[0004] 磷脂酶A2 (PLA2) 参与几种疾病和病症的病理学,所述疾病和病症包括(通过脊椎动物,如蛇和鱼,以及无脊椎动物,如群集的膜翅目、蜈蚣和水母)注毒。另外,PLA2是致命传染病的病理学因素,致命传染病具有溶血以及神经元和脑肿胀,例如在脑疟疾中看到的。这些病症主要影响生活在贫困中的人,并且经常同时发生(例如疟疾感染和蛇咬伤)。

[0005] 由于大量注毒(envenomation)导致的严重的非过敏性休克和急性肾(AKI)反应可能在群体攻击的社会性蜂群多次叮咬和单次的蛇咬伤之后发生。黄蜂毒液包括多种成分,包括乙酰胆碱,组胺,血清素,透明质酸酶,儿茶酚胺,释放组胺的肽(蜂毒肽(mastoparans)),趋化肽,神经毒性激肽和磷脂酶A2。磷脂酶有助于溶血和横纹肌溶解,并且可导致AKI以及肝损伤,神经元水肿和疼痛,包括通过直接毒液毒性引起的慢性疼痛和与受害者对注毒的先天反应相关的间接机制。参见Chugh KS,Sharma BK,Singhal PC,J Trop Med Hyg 1976;79:42-44和Xuan BH et al.,Nephrol Dial Transplant 2010;25(4):1146-50。

[0006] 感染疟疾(例如恶性疟原虫)在世界的许多地区仍然普遍存在并且与严重的疾病和死亡率相关,特别是在生活在撒哈拉以南非洲的儿童中。脑疟疾(CM)是与寄生虫血症和死亡率相关的严重病症,相关范围为10-60%。此外,近三分之一的儿科CM幸存者患有长期神经系统并发症。在儿科CM中已报道在神经影像学中观察到严重的脑肿胀。CM相关的脑肿胀与肯尼亚儿童的不良预后相关,并且是马拉维儿童死亡率的重要预测因子。这种灾难性疾病过程与伴随脑肿胀的脑液中非常高的sPLA2水平相关。见Pappa et al.Malar J.2015;14:513。溶血、横纹肌溶解、神经元和脑水肿以及AKI是可导致死亡、长期器官损伤、残疾和慢性疼痛的几种严重疾病状况的标志,例如膜翅目注毒、蛇咬伤、疟疾、登革热和创伤。

### 发明内容

[0007] 在一些方面,提供了一种方法,其包括通过施用治疗有效量的PLA2抑制剂来治疗遭受了膜翅目注毒(envenomation)的受试者的方法。在一些情况下,所述受试者遭受了蜜蜂注毒。在一些情况下,所述方法包括施用治疗有效量的PLA2抑制剂和治疗有效量的斯达汀。在一些情况下,所述PLA2抑制剂是伐瑞拉迪(varespladib)、甲基伐瑞拉迪、LY433771、

花生四烯酸(indoxam)、甲基花生四烯酸(methylindoxam)、3-(5'-苄基-2'-氨基甲酰基联苯-3-基)丙酸(化合物4)、AZD2716、药学上可接受的任何前述物质的盐、或任何前述物质的组合。在一些情况下,所述PLA2抑制剂以1mg每千克患者体重(mg/kg)至1000mg/kg的剂量施用,总日剂量在100mg至1克的范围内。在一些情况下,所述方法包括将所述PLA2抑制剂与至少一种另外的剂联合施用,其中所述另外的剂是类固醇、金属蛋白酶抑制剂、丝氨酸蛋白酶抑制剂、局部麻醉剂乳剂、扩散因子抑制剂、抗恶心剂或抗生素。在一些情况下,所述PLA2抑制剂在所述另外的剂之前、与所述另外的剂作为共同制剂或在所述另外的剂之后施用。在一些情况下,通过注射、输注、鼻内、眼睛、口服、直肠、局部或通过吸入将所述PLA2抑制剂施用于所述受试者。在一些情况下,所述斯达汀是阿托伐他汀(atorvastatin)、西立伐他汀(cerivastatin)、氟伐他汀(fluvastatin)、洛伐他汀(lovastatin)、莫纳可林(amonacolin)、美伐他汀(mevastatin)、匹伐他汀(pitavastatin)、普伐他汀(pravastatin)、罗苏伐他汀(rosuvastatin)、辛伐他汀(simvastatin)、任何药学上可接受的前述物质的盐、或任何前述物质的组合。在一些情况下,所述斯达汀通过口服、通过注射或通过静脉内输注施用。在一些情况下,所述PLA2抑制剂和斯达汀彼此在相隔6小时内施用。

[0008] 在一些方面,提供了一种方法,其包括通过联合斯达汀施用治疗有效量的PLA2抑制剂来治疗遭受了蛇注毒(envenomation)的受试者的方法。在一些情况下,所述PLA2抑制剂是伐瑞拉迪、甲基伐瑞拉迪、LY433771、花生四烯酸、甲基花生四烯酸、3-(5'-苄基-2'-氨基甲酰基联苯-3-基)丙酸(化合物4)、AZD2716、药学上可接受的任何前述物质的盐、或任何前述物质的组合。在一些情况下,所述PLA2抑制剂以1mg每千克患者体重(mg/kg)至1000mg/kg的剂量施用,总日剂量在100mg至1克的范围内。在一些情况下,所述方法包括将所述PLA2抑制剂与至少一种另外的剂联合施用,其中所述另外的剂是类固醇、金属蛋白酶抑制剂、丝氨酸蛋白酶抑制剂、局部麻醉剂乳剂、扩散因子抑制剂、抗恶心剂或抗生素。在一些情况下,所述PLA2抑制剂在所述另外的剂之前、与所述另外的剂作为共同制剂或在所述另外的剂之后施用。在一些情况下,通过注射、输注、鼻内、眼睛、口服、直肠、局部或通过吸入将所述PLA2抑制剂施用于所述受试者。在一些情况下,所述斯达汀是阿托伐他汀、西立伐他汀、氟伐他汀、洛伐他汀、莫纳可林、美伐他汀、匹伐他汀、普伐他汀、罗苏伐他汀、辛伐他汀、任何药学上可接受的前述物质的盐、或任何前述物质的组合。在一些情况下,所述斯达汀通过口服、通过注射或通过静脉内输注施用。在一些情况下,所述PLA2抑制剂和斯达汀彼此在相隔6小时内施用。

[0009] 在一些方面,提供了一种治疗处于患脑水肿(脑肿胀)的风险中或患有脑水肿(脑肿胀)的受试者的方法,该方法包括给所述受试者施用包含治疗有效量的PLA2抑制剂的组合物。在一些情况下,所述方法还包括施用治疗有效量的斯达汀。在一些情况下,所述脑水肿与脑疟疾、头部创伤、创伤性脑损伤、缺血性或栓塞性中风、或由于病毒或细菌感染引起的脑部炎症有关。在一些情况下,所述PLA2抑制剂是伐瑞拉迪、甲基伐瑞拉迪、LY433771、花生四烯酸、甲基花生四烯酸、3-(5'-苄基-2'-氨基甲酰基联苯-3-基)丙酸(化合物4)、AZD2716、药学上可接受的任何前述物质的盐、或任何前述物质的组合。在一些情况下,所述PLA2抑制剂以1mg每千克患者体重(mg/kg)至1000mg/kg的剂量施用,总日剂量在100mg至1克的范围内。在一些情况下,所述斯达汀是阿托伐他汀、西立伐他汀、氟伐他汀、洛伐他汀、

莫纳可林、美伐他汀、匹伐他汀、普伐他汀、罗苏伐他汀、辛伐他汀、任何药学上可接受的前述物质的盐、或任何前述物质的组合。在一些情况下,所述方法包括施用治疗有效量的PLA2抑制剂和治疗有效量的斯达汀。在一些情况下,所述斯达汀通过口服、通过注射或通过静脉内输注施用。在一些情况下,所述PLA2抑制剂与至少一种另外的剂联合施用,其中所述另外的剂是类固醇、金属蛋白酶抑制剂、丝氨酸蛋白酶抑制剂、局部麻醉剂乳剂、扩散因子抑制剂、抗恶心剂或抗生素。在一些情况下,所述PLA2抑制剂在所述另外的剂之前、与所述另外的剂作为共同制剂或在所述另外的剂之后施用。在一些情况下,通过注射、输注、鼻内、眼睛、口服、直肠、局部或通过吸入将所述PLA2抑制剂施用于所述受试者。在一些情况下,所述PLA2抑制剂和斯达汀彼此在相隔6小时内施用。

[0010] 在一些方面,提供了一种治疗处于患神经元水肿或损伤的风险中或患有神经元水肿或损伤的受试者的方法,该方法包括给所述受试者施用包含治疗有效量的PLA2抑制剂的组合物。在一些情况下,所述方法还包括施用治疗有效量的斯达汀。在一些情况下,所述神经元水肿或损伤与髓鞘溶解或轴索显微外科手术(axotomy)有关。在一些情况下,所述受试者还患有脑水肿。在一些情况下,所述PLA2抑制剂是伐瑞拉迪、甲基伐瑞拉迪、LY433771、花生四烯酸、甲基花生四烯酸、3-(5'-苄基-2'-氨基甲酰基联苯-3-基)丙酸(化合物4)、AZD2716、药学上可接受的任何前述物质的盐、或任何前述物质的组合。在一些情况下,所述PLA2抑制剂以1mg每千克患者体重(mg/kg)至1000mg/kg的剂量施用,总日剂量在100mg至1克的范围内。在一些情况下,所述斯达汀是阿托伐他汀、西立伐他汀、氟伐他汀、洛伐他汀、莫纳可林、美伐他汀、匹伐他汀、普伐他汀、罗苏伐他汀、辛伐他汀、任何药学上可接受的前述物质的盐、或任何前述物质的组合。在一些情况下,所述方法包括施用治疗有效量的PLA2抑制剂和治疗有效量的斯达汀。在一些情况下,所述斯达汀通过口服、通过注射或通过静脉内输注施用。在一些情况下,所述PLA2抑制剂与至少一种另外的剂联合施用,其中所述另外的剂是类固醇、金属蛋白酶抑制剂、丝氨酸蛋白酶抑制剂、局部麻醉剂乳剂、扩散因子抑制剂、抗恶心剂或抗生素。在一些情况下,通过注射、输注、鼻内、眼睛、口服、直肠、局部或通过吸入将所述PLA2抑制剂施用于所述受试者。在一些情况下,所述PLA2抑制剂在所述另外的剂之前、与所述另外的剂作为共同制剂或在所述另外的剂之后施用。在一些情况下,所述PLA2抑制剂和斯达汀彼此在相隔6小时内施用。

[0011] 在一些方面,提供了一种方法,该方法包括通过给所述受试者施用包含治疗有效量的PLA2抑制剂的组合物来治疗患有溶血的受试者。在一些情况下,所述方法还包括施用治疗有效量的斯达汀。在一些情况下,其中所述溶血是由溶血性贫血、阵发性睡眠性血红蛋白尿症(PNH)、自身免疫性球形红细胞增多症、遗传性球形红细胞增多症中毒、严重烧伤、地中海贫血、免疫溶血性贫血、引起溶血的寄生虫病(例如立克次氏体(Rickettsia)和疟疾)、传染病(例如溶血性链球菌)、代谢或遗传疾病(例如,G6PD缺乏、镰状细胞病)、溶血性尿毒症综合征或补体介导的溶血。在一些情况下,所述PLA2抑制剂是伐瑞拉迪、甲基伐瑞拉迪、LY433771、花生四烯酸、甲基花生四烯酸、3-(5'-苄基-2'-氨基甲酰基联苯-3-基)丙酸(化合物4)、AZD2716、药学上可接受的任何前述物质的盐、或任何前述物质的组合。在一些情况下,所述PLA2抑制剂以1mg每千克患者体重(mg/kg)至1000mg/kg的剂量施用,总日剂量在100mg至1克的范围内。在一些情况下,所述斯达汀是阿托伐他汀、西立伐他汀、氟伐他汀、洛伐他汀、莫纳可林、美伐他汀、匹伐他汀、普伐他汀、罗苏伐他汀、辛伐他汀、任何药学上可接

受的前述物质的盐、或任何前述物质的组合。在一些情况下,所述方法包括施用治疗有效量的PLA2抑制剂和治疗有效量的斯达汀。在一些情况下,所述斯达汀通过口服、通过注射或通过静脉内输注施用。在一些情况下,所述PLA2抑制剂与至少一种另外的剂联合施用,其中所述另外的剂是类固醇、金属蛋白酶抑制剂、丝氨酸蛋白酶抑制剂、局部麻醉剂乳剂、扩散因子抑制剂、抗恶心剂或抗生素。在一些情况下,通过注射、输注、鼻内、眼睛、口服、直肠、局部或通过吸入将所述PLA2抑制剂施用于所述受试者。在一些情况下,所述PLA2抑制剂在所述另外的剂之前、与所述另外的剂作为共同制剂或在所述另外的剂之后施用。在一些情况下,所述PLA2抑制剂和斯达汀彼此在相隔6小时内施用。

[0012] 在一些方面,提供了一种方法,该方法包括通过给受试者施用包含治疗有效量的PLA2抑制剂的组合物来降低受试者溶血的风险。在一些情况下,所述方法还包括施用治疗有效量的斯达汀。在一些情况下,其中所述溶血是由溶血性贫血、阵发性睡眠性血红蛋白尿症(PNH)、自身免疫性球形红细胞增多症、遗传性球形红细胞增多症中毒、严重烧伤、地中海贫血、免疫溶血性贫血、引起溶血的寄生虫病(例如立克次氏体(Rickettsia)和疟疾)、传染病(例如溶血性链球菌)、代谢或遗传疾病(例如,G6PD缺乏、镰状细胞病)、溶血性尿毒症综合征或补体介导的溶血。在一些情况下,所述PLA2抑制剂是伐瑞拉迪、甲基伐瑞拉迪、LY433771、花生四烯酸、甲基花生四烯酸、3-(5'-苄基-2'-氨基甲酰基联苯-3-基)丙酸(化合物4)、AZD2716、药学上可接受的任何前述物质的盐、或任何前述物质的组合。在一些情况下,所述PLA2抑制剂以1mg每千克患者体重(mg/kg)至1000mg/kg的剂量施用,总日剂量在100mg至1克的范围内。在一些情况下,所述斯达汀是阿托伐他汀、西立伐他汀、氟伐他汀、洛伐他汀、莫纳可林、美伐他汀、匹伐他汀、普伐他汀、罗苏伐他汀、辛伐他汀、任何药学上可接受的前述物质的盐、或任何前述物质的组合。在一些情况下,所述方法包括施用治疗有效量的PLA2抑制剂和治疗有效量的斯达汀。在一些情况下,所述斯达汀通过口服、通过注射或通过静脉内输注施用。在一些情况下,所述PLA2抑制剂与至少一种另外的剂联合施用,其中所述另外的剂是类固醇、金属蛋白酶抑制剂、丝氨酸蛋白酶抑制剂、局部麻醉剂乳剂、扩散因子抑制剂、抗恶心剂或抗生素。在一些情况下,通过注射、输注、鼻内、眼睛、口服、直肠、局部或通过吸入将所述PLA2抑制剂施用于所述受试者。在一些情况下,所述PLA2抑制剂在所述另外的剂之前、与所述另外的剂作为共同制剂或在所述另外的剂之后施用。在一些情况下,所述PLA2抑制剂和斯达汀彼此在相隔6小时内施用。

[0013] 在一些方面,提供了一种方法,该方法包括通过给受试者施用包含治疗有效量的PLA2抑制剂的组合物来减少受试者溶血。在一些情况下,所述方法还包括施用治疗有效量的斯达汀。在一些情况下,其中所述溶血是由溶血性贫血、阵发性睡眠性血红蛋白尿症(PNH)、自身免疫性球形红细胞增多症、遗传性球形红细胞增多症中毒、严重烧伤、地中海贫血、免疫溶血性贫血、引起溶血的寄生虫病(例如立克次氏体(Rickettsia)和疟疾)、传染病(例如溶血性链球菌)、代谢或遗传疾病(例如,G6PD缺乏、镰状细胞病)、溶血性尿毒症综合征或补体介导的溶血。在一些情况下,所述PLA2抑制剂是伐瑞拉迪、甲基伐瑞拉迪、LY433771、花生四烯酸、甲基花生四烯酸、3-(5'-苄基-2'-氨基甲酰基联苯-3-基)丙酸(化合物4)、AZD2716、药学上可接受的任何前述物质的盐、或任何前述物质的组合。在一些情况下,所述PLA2抑制剂以1mg每千克患者体重(mg/kg)至1000mg/kg的剂量施用,总日剂量在100mg至1克的范围内。在一些情况下,所述斯达汀是阿托伐他汀、西立伐他汀、氟伐他汀、洛

伐他汀、莫纳可林、美伐他汀、匹伐他汀、普伐他汀、罗苏伐他汀、辛伐他汀、任何药学上可接受的前述物质的盐、或任何前述物质的组合。在一些情况下,所述方法包括施用治疗有效量的PLA2抑制剂和治疗有效量的斯达汀。在一些情况下,所述斯达汀通过口服、通过注射或通过静脉内输注施用。在一些情况下,所述PLA2抑制剂与至少一种另外的剂联合施用,其中所述另外的剂是类固醇、金属蛋白酶抑制剂、丝氨酸蛋白酶抑制剂、局部麻醉剂乳剂、扩散因子抑制剂、抗恶心剂或抗生素。在一些情况下,通过注射、输注、鼻内、眼睛、口服、直肠、局部或通过吸入将所述PLA2抑制剂施用于所述受试者。在一些情况下,所述PLA2抑制剂在所述另外的剂之前、与所述另外的剂作为共同制剂或在所述另外的剂之后施用。在一些情况下,所述PLA2抑制剂和斯达汀彼此在相隔6小时内施用。

[0014] 在一些方面,提供了一种治疗患有肥大细胞疾病的受试者的方法,该方法包括包括给受试者施用包含治疗有效量的PLA2抑制剂的组合物。在一些情况下,所述方法还包括施用治疗有效量的斯达汀。在一些情况下,所述肥大细胞疾病是肥大细胞增殖或脱粒病症肥大细胞增多症。在一些情况下,所述PLA2抑制剂是伐瑞拉迪、甲基伐瑞拉迪、LY433771、花生四烯酸、甲基花生四烯酸、3-(5'-苄基-2'-氨基甲酰基联苯-3-基)丙酸(化合物4)、AZD2716、药学上可接受的任何前述物质的盐、或任何前述物质的组合。在一些情况下,所述PLA2抑制剂以1mg每千克患者体重(mg/kg)至1000mg/kg的剂量施用,总日剂量在100mg至1克的范围内。在一些情况下,所述斯达汀是阿托伐他汀、西立伐他汀、氟伐他汀、洛伐他汀、莫纳可林、美伐他汀、匹伐他汀、普伐他汀、罗苏伐他汀、辛伐他汀、任何药学上可接受的前述物质的盐、或任何前述物质的组合。在一些情况下,所述方法包括施用治疗有效量的PLA2抑制剂和治疗有效量的斯达汀。在一些情况下,所述斯达汀通过口服、通过注射或通过静脉内输注施用。在一些情况下,所述PLA2抑制剂与至少一种另外的剂联合施用,其中所述另外的剂是类固醇、金属蛋白酶抑制剂、丝氨酸蛋白酶抑制剂、局部麻醉剂乳剂、扩散因子抑制剂、抗恶心剂或抗生素。在一些情况下,通过注射、输注、鼻内、眼睛、口服、直肠、局部或通过吸入将所述PLA2抑制剂施用于所述受试者。在一些情况下,所述PLA2抑制剂在所述另外的剂之前、与所述另外的剂作为共同制剂或在所述另外的剂之后施用。在一些情况下,所述PLA2抑制剂和斯达汀彼此在相隔6小时内施用。

[0015] 在一些方面,提供了一种治疗患有急性肾损伤的受试者的方法,该方法包括包括给受试者施用包含治疗有效量的PLA2抑制剂的组合物。在一些情况下,所述方法还包括施用治疗有效量的斯达汀。在一些情况下,所述急性肾损伤全部或部分归因于色素肾病或毒液毒性。在一些情况下,所述PLA2抑制剂是伐瑞拉迪、甲基伐瑞拉迪、LY433771、花生四烯酸、甲基花生四烯酸、3-(5'-苄基-2'-氨基甲酰基联苯-3-基)丙酸(化合物4)、AZD2716、药学上可接受的任何前述物质的盐、或任何前述物质的组合。在一些情况下,所述PLA2抑制剂以1mg每千克患者体重(mg/kg)至1000mg/kg的剂量施用,总日剂量在100mg至1克的范围内。在一些情况下,所述斯达汀是阿托伐他汀、西立伐他汀、氟伐他汀、洛伐他汀、莫纳可林、美伐他汀、匹伐他汀、普伐他汀、罗苏伐他汀、辛伐他汀、任何药学上可接受的前述物质的盐、或任何前述物质的组合。在一些情况下,所述方法包括施用治疗有效量的PLA2抑制剂和治疗有效量的斯达汀。在一些情况下,所述斯达汀通过口服、通过注射或通过静脉内输注施用。在一些情况下,所述PLA2抑制剂与至少一种另外的剂联合施用,其中所述另外的剂是类固醇、金属蛋白酶抑制剂、丝氨酸蛋白酶抑制剂、局部麻醉剂乳剂、扩散因子抑制剂、抗恶心



剂或抗生素。在一些情况下,通过注射、输注、鼻内、眼睛、口服、直肠、局部或通过吸入将所述PLA2抑制剂施用于所述受试者。在一些情况下,所述PLA2抑制剂在所述另外的剂之前、与所述另外的剂作为共同制剂或在所述另外的剂之后施用。在一些情况下,所述PLA2抑制剂和斯达汀彼此在相隔6小时内施用。

[0016] 在一些方面,提供了一种组合物,其包含斯达汀和PLA2抑制剂的共同制剂。在一些情况下,所述PLA2抑制剂是伐瑞拉迪、甲基伐瑞拉迪、LY433771、花生四烯酸、甲基花生四烯酸、3-(5'-苄基-2'-氨基甲酰基联苯-3-基)丙酸(化合物4)、AZD2716、药学上可接受的任何前述物质的盐、或任何前述物质的组合。在一些情况下,所述斯达汀是阿托伐他汀、西立伐他汀、氟伐他汀、洛伐他汀、莫纳可林、美伐他汀、匹伐他汀、普伐他汀、罗苏伐他汀、辛伐他汀、任何药学上可接受的前述物质的盐、或任何前述物质的组合。

[0017] 在一些方面,提供了一种包含斯达汀和PLA2抑制剂的试剂盒。在一些情况下,所述PLA2抑制剂是伐瑞拉迪、甲基伐瑞拉迪、LY433771、花生四烯酸、甲基花生四烯酸、3-(5'-苄基-2'-氨基甲酰基联苯-3-基)丙酸(化合物4)、AZD2716、药学上可接受的任何前述物质的盐、或任何前述物质的组合。在一些情况下,所述斯达汀是阿托伐他汀、西立伐他汀、氟伐他汀、洛伐他汀、莫纳可林、美伐他汀、匹伐他汀、普伐他汀、罗苏伐他汀、辛伐他汀、任何药学上可接受的前述物质的盐、或任何前述物质的组合。

[0018] 在一些方面,提供了一种使用PLA2抑制剂,任选地与斯达汀联合,以用于治疗膜翅目或其他无脊椎动物注毒的方法。

[0019] 在一些方面,提供了一种使用PLA2抑制剂联合斯达汀以用于治疗蛇注毒的方法。

[0020] 在一些方面,提供了一种方法,该方法使用PLA2抑制剂,任选地与斯达汀联合,以用于治疗脑水肿、神经元水肿、溶血、肥大细胞疾病或急性肾损伤。

## 附图说明

[0021] 图1显示了暴露于致死浓度的蜜蜂毒液后用伐瑞拉迪处理的小鼠的存活率。参见下面的实施例2。

[0022] 图2-4显示了单独的或与甘露醇溶液联合的伐瑞拉迪防止用各种蛇毒液处理的离体人血液中的大量溶血。

[0023] 图5A-5B显示了单独的以及和PLA2抑制剂组合的斯达汀减少了用不同蛇毒液处理的人血液中的离体溶血。

[0024] 图6显示了PLA2抑制剂降低人红细胞中的渗透脆性。

[0025] 图7-8显示了即使在具有非常小的sPLA2活性或非常高的III型sPLA2活性的毒液中,PLA2抑制剂也可防止毒液诱导的急性肾损伤(AKI)

## 具体实施方式

[0026] 定义

[0027] 除非另外定义,否则本文使用的所有技术和科学术语具有与本发明所属技术领域的普通技术人员通常理解的含义相同的含义。尽管与本文描述的那些方法和材料类似或等同的任何方法和材料也可用于本发明的实践或测试,但现在描述示例性方法和材料。

[0028] 当给出数值范围时,应理解为该范围上下限之间的每个中间值(除非上下文另外

清楚地指出,否则至下限单位的十分之一),以及在此所述范围内的任何其它声明值或插入值均包括在本发明中。这些较小范围的上限和下限可以独立地包括在较小范围内并且也包括在本公开中,受限于所指出范围内任何明确的排除限制。若声明范围包括其中一个限值或全部两个限值,则排除这两个限值中任一个限值或两个限值的范围也包括在本发明中。在取代基可能是一个或多个马库什基团时,应理解为只使用那些形成稳定键的取代基。

[0029] 如本专利说明书和权利要求书中所使用的,单数形式“一(a)”、“一种(and)”和“所述(该)”包括复数意义。

[0030] 在本发明中,“AChE”是乙酰胆碱的缩写;“AChEI”是乙酰胆碱酯酶抑制剂的缩写;“mAChR”是毒蕈碱型乙酰胆碱受体的缩写;“nAChR”是烟碱型乙酰胆碱受体的缩写;AChE的抑制剂也抑制丁酰胆碱酯酶(BChE)、假胆碱酯酶。“MP”是金属蛋白酶的缩写(如哺乳动物基质金属蛋白酶、MMP;“SP”是丝氨酸蛋白酶的缩写;“MPI”是金属蛋白酶抑制剂的缩写;“SPI”是丝氨酸蛋白酶抑制剂的缩写。

[0031] PLA2是磷脂酶A2的缩写。PLA2-I是PLA2抑制剂的缩写。如本文所使用的,在毒液(例如膜翅目毒液)的背景下,“PLA2”和“sPLA2”可互换使用

[0032] 整个说明书中在描述动物的背景中使用词语“患者”或“受试者”或“受害者”,动物通常是哺乳动物,特别是包括驯养动物(如狗、猫、牛、马、绵羊、山羊等),优选是人,向所述动物提供用根据本发明的化合物或组合物进行治疗,包括预防性治疗(预防法)。

[0033] 除非特别声明,否则此处使用词语“有效的”来描述使用一定数量的化合物或组分,其在使用的背景中使用产生或得到期望的结果,不管该结果是否与预防和/或治疗本文以其他方式描述的注毒和/或疾病状态或病症/症状有关。词语有效的包括本申请中另外描述或使用的所有其它有效数量或有效浓度的词语(包括词语“治疗有效”)。词语有效的还包括施用期,不管此施用是否是单次施用,通常是口服或注射或单次施用,然后接下来补充施用数小时、数天或数周,直到因患者体内毒液清除或决定采用替代疗法,包括施用传统血清-来源的抗毒液组合物而达到停用点。

[0034] 如本文所使用的,药物(例如,PLA2抑制剂)的“治疗有效量”是当向患有医学病症(例如蛇注毒、膜翅目注毒、脑水肿、神经元水肿或损伤、溶血、肥大细胞病、急性肾损伤)的受试者施用时将受试者中的病症的一种或多种表征具有预期的治疗效果(例如减轻、改善、缓解或消除)的药物量。完全治疗效果不一定通过施用一个剂量实现,并且可能仅在施用一系列剂量后实现。因此,治疗有效量可以在一次或多次给药中施用。

[0035] 本文使用术语“化合物”来描述本文公开的任何特定化合物或生物活性剂,包括任何和所有立体异构物(包括非对映异构体)、单个光学异构体(对映异构体)或外消旋混合物、药学上可接受的盐(包括替代药学上可接受的盐)、前体药物形式和氘化或其它同位素形式。本文使用的术语化合物指的是稳定的化合物。在其上下文使用范围内,术语化合物可能指的是单一化合物或化合物的混合物,如本文另外描述的。本发明中使用的化合物还可能包括个别的化合物的水合物、溶剂化物和/或多晶型物。当生物活性剂公开用于本发明时,应该理解的是,除非特别声明,否则在其上下文使用范围内,该词语包括其药学上可接受的盐与/或替代药学上可接受的盐。

[0036] 伐瑞拉迪是((3-(2-氨基-1,2-二氧代乙基)-2-乙基-1-(苯基甲基)-1H-吡啶-4-基)氧基)乙酸。

[0037] 甲基伐瑞拉迪或LY433771是{9-[(苯基)甲基]-5-氨基甲酰基咪唑-4-基}氧基乙酸。

[0038] AZD2716是[1,1'-联苯基]-3-丙酸,2'-(氨基羰基)- $\alpha$ -甲基-5'-(苯基甲基)-, ( $\alpha$ R)-(R)-7 (CAS1845753-81-2)。

[0039] 化合物4或“Comp.4”是3-(5'-苄基-2'-氨基甲酰基联苯-3-基)丙酸。

[0040] “斯达汀”是HMG-CoA还原酶抑制剂。如本文所使用的“斯达汀”通常是指可用于人或兽医用途的抑制剂。

[0041] 膜翅目(或群集膜翅目)包括蜜蜂、黄蜂和蚂蚁。

[0042] 蜜蜂是指Apis属和相关属的成员。

[0043] 有毒无脊椎动物包括但不限于蝎子、蜘蛛、昆虫、刺胞动物、多足动物和软体动物,并且包括有毒的毛虫。

[0044] “毒液”具有其正常含义并且是动物通过咬、刺或其他注射或接触方式注入受害者的有毒分泌物或物质,所述动物如昆虫(例如,膜翅目,例如蜜蜂、黄蜂和蚂蚁)、蛇或有毒脊椎动物或无脊椎动物。

[0045] 膜翅目毒液是来自膜翅目的毒液。膜翅目毒液通常包含蛋白质、肽和血管活性胺,它们可共同引起昆虫叮咬和叮刺的毒性。

[0046] 如本文所使用的“注毒”是指由于有毒节肢动物(例如蜜蜂、黄蜂、蚂蚁或蝎子)或其他无脊椎动物(例如刺胞动物)或脊椎动物(如蛇或鱼)叮咬或刺伤而将毒液注射到受害者体内。

[0047] 50或LD50表示估计的剂量或接触水平,其中约50%的接触受试者将因接触(例如毒液或毒素剂量)而死亡。

[0048] 群集膜翅目注毒意指接触来自群集膜翅目的毒液。

[0049] 蜜蜂注毒是指接触来自蜜蜂的毒液。

[0050] 有毒无脊椎动物注毒意指接触来自有毒无脊椎动物的毒液,有毒无脊椎动物如蝎子、蜘蛛、昆虫、刺胞动物、多足动物和软体动物,并且包括有毒的毛虫。

[0051] 术语“治疗”、“治理”和“处理”指的是向存在注毒风险或遭受注毒的患者提供益处的任何行动,包括通过减轻、抑制、压制或消除至少一种症状而改进病况、延迟注毒或相关疾病的进程或损伤,预防、延迟或抑制注毒症状发作的可能性等。

[0052] 关于药物制剂的“储存稳定”是指在特定温度下在特定时间段内(例如在25°C下18个月)降解少于10%。

[0053] 本文使用的术语“药学上可接受的”意指是根据疾病的严重程度和治疗的必要性,适合向受试者(包括人类患者)施用该化合物或组合物,从而实现本文所述的治疗,且并不造成不适当的有害副作用。

[0054] 本文使用的术语“小分子”指的是分子量小于约2500,或小于约1000,或小于约750,或小于约500的分子。

[0055] 术语“联合施用”用于描述施用有效剂量的两种或多种活性化合物。虽然术语联合施用优选包括大约同一时间(同步,同时或在按同一天、彼此相隔12小时内、彼此相隔6小时内或者彼此相隔1小时内顺序地)向患者施用两种或多种活性化合物,但是,这些化合物实际上并不一定在精确的同一时间(同时)或甚至接近的时间(同时/按顺序)内施用,只要向

患者或受试者施用一定剂量的这些化合物,使得血液、血清或血浆中,或肺部组织中同时具有有效浓度,以得到预期结果即可。

[0056] 术语“共同配制”指的是一种以上活性化合物被配制到单一剂型内,患者服用该单一剂型。

[0057] 术语抗体或抗毒液是指来自任何来源的完整或片段化的IgG、IgM、IgE或IgA抗体的单克隆、多克隆、单价、多价或组合。

[0058] 概述

[0059] 如本文详述的,已经惊奇地发现,向遭遇膜翅目注毒的受试者施用PLA2抑制剂可以通过施用治疗有效量的PLA2抑制剂来进行。斯达汀可以联合施用。

[0060] 如本文详述的,已经发现令人惊讶地,向遭遇膜翅目注毒的受试者施用PLA2抑制剂可以以与用于治疗蛇咬伤的剂量相同的剂量而成功地实现治疗。在某些情况下,令人惊讶的是,斯达汀也可以抑制一些毒液活性,并且可以与PLA2抑制剂联合施用并改善其对蛇毒的效力。

[0061] 本文还公开了PLA2抑制剂,任选与斯达汀联合,用于治疗继发于注毒的病症(例如毒液诱导的急性肾损伤和/或与蛇和蜜蜂注毒相关的心肌病)的用途。

[0062] 本文还公开了PLA2抑制剂,任选与斯达汀联合,用于治疗与溶血相关的病症的用途。

[0063] 本文还公开了PLA2抑制剂,任选地与斯达汀联合,用于治疗与脑和神经元水肿相关的病症(例如用于治疗以脑肿胀、髓鞘溶解或轴索显微外科手术触发或为特征的事件)的用途。

[0064] 本文还公开了PLA2抑制剂,任选与斯达汀联合,用于治疗需要神经保护(包括神经性疼痛的发展)的患者的用途。

[0065] PLA2抑制剂,任选地与斯达汀联合,可以与储存的血液产品联合以改善血液储存的稳定性并减少在血管性水肿和炎性疾病例如类风湿性关节炎的情况下对环孢菌素的需要或替代。

[0066] 此外,设想了蜜蜂或其他群集具有肥大细胞增殖或脱粒病症或溶血作用的群集的受害者在有注毒的情况下进一步受益于广谱毒液解毒剂,例如PLA2。

[0067] 1.施用PLA2抑制剂以治疗膜翅目(例如蜜蜂)注毒。

[0068] 本发明人先前的工作证明,施用PLA2抑制剂对蛇注毒的影响具有保护作用或治疗作用。参见PCT公开W02016081826A2和Lewin M, et al., 2016, “伐瑞拉迪 (LY315920) Appears to Be a Potent, Broad-Spectrum, Inhibitor of Snake Venom Phospholipase A2 and a Possible Pre-Referral Treatment for Envenomation” Toxins 248:8, 两者都通过引用并入本文。在这些研究中, PLA2抑制剂(伐瑞拉迪和甲基-伐瑞拉迪)在体外针对蜜蜂毒液sPLA2进行测试时表现极差,例如使用经验证的针对PLA2抑制的测定通过高IC<sub>50</sub> (μm)来例证。令人惊讶的是,现在已经发现PLA2抑制剂在体内对致死剂量的蜜蜂毒液有效并且防止因蜜蜂毒液而产生KAI。参见下面的实施例2。这一发现表明, PLA2抑制剂可用于现场治疗由于群集膜翅目引起的非过敏性休克,并且由于对于PLA2抑制剂可用的多种施用机制及其组合,生命和器官保留干预措施(life and organ-sparing interventions)在医院外和医院环境中都是可行的。

[0069] 本发明人先前已经鉴定了药物组合物、系统和试剂盒,其快速有效地治疗受到注毒损伤的组织及其广泛的相关后遗症,最显著的是,毒液引起的直接生命威胁,由溶血和其他血液毒化过程引起的神经、血液和肾脏疾病。具体地,发明人发现,无论蛇种如何,使用PLA2抑制剂对许多不同类型的蛇毒都是有效的PLA2s。在W02016081826A2和Lewin M, et al. 2016 Toxins 248:8中进一步讨论了用PLA2治疗蛇毒相关的方法和构思。

[0070] 在这些先前的研究中,使用一系列蛇毒的实验证明了体外PLA2抑制剂(例如伐瑞拉迪和甲基-伐瑞拉迪)对蛇毒和在小鼠和大鼠体内保护或拯救治疗的作用的相关性。实时的体内血液采样结果通过活性测定证明了PLA2的抑制性,该抑制性与施用蛇毒并且然后施用治疗剂量的PLA2抑制剂的啮齿动物的存活增加相关。然而,如早期研究所示,当体外针对蜜蜂毒液sPLA2进行测试时,PLA2抑制剂表现不佳或根本不表现。此外,学术文献报道,在蜜蜂毒液中发现的PLA2的类型是III型或“非典型的”,并且经常使用的PLA2抑制性化合物不抑制蜜蜂毒液sPLA2。参见例如Murakami M, et al. 2015 J. Lipid. Res. 56:1248-1261。

[0071] 尽管先前观察到的,针对蜜蜂毒液的非常弱或完全不存在的PLA2抑制剂活性,但是本发明人在此报道了意外的发现,即PLA2抑制剂对体内其它致死剂量的蜜蜂毒液具有保护性或治疗性。参见实施例1,表1和图1。该发现完全出乎意料,因为与蛇毒PLA2相比,体外LY315920的IC<sub>50</sub>高达5-45,000倍,并且比针对蜜蜂毒液PLA2的甲基-伐瑞拉迪和化合物4高达>100,000倍。基于体外数据,施用有效针对蜜蜂毒液的临床有用或安全量的PLA2抑制剂本来是不可能的。

[0072] 令人惊讶的发现PLA2抑制剂对蜜蜂毒液的体内功效可能导致对由于单独或群集膜翅目引起的严重蜜蜂刺痛和非过敏性休克的首次现场治疗的开发。值得注意的是,对于膜翅目蜇伤没有抗血清,并且在存在危险的群集行为的地方或对于具有高风险敏感性的患者(例如由于无脊椎动物注毒导致的过敏性,类过敏性或大的局部反应)非常需要药理学干预。与抗毒素(anti-venom)不同,根据本发明的药物组合物以及含有这种组合物的试剂盒将更容易穿透组织,从而产生快速和有利的结果。本发明解决了标准疗法的局限性,并且在某些实施方案中,当与标准疗法联合作为一线疗法或共同制剂时,使标准疗法比单独使用时更有效。

[0073] 本公开的实施方案可以进一步扩展至包含至少一种PLA2抑制剂与本文提供的一种或多种剂/组合物联合的治疗方法。这些剂一起提供用于治疗或降低组织损伤、急性肾损伤、出血和凝血障碍、心血管塌陷或神经毒素诱导的呼吸衰竭和由膜翅目叮咬以及其他类型的注毒引起的长期神经元损伤(例如神经性疼痛)的可能性的方法和组合物。

[0074] 在一个方面,施用的PLA2抑制剂用于治疗膜翅目叮咬中的大局部反应(LLR)和非毒液诱导的血管神经元水肿以及减少组胺的释放和作用。

[0075] 2. PLA2抑制剂和斯达汀的联合施用

[0076] 斯达汀是广泛用于降低与低密度脂蛋白(LDL)相关的胆固醇水平的药物。参见实施例4。注毒的效果是溶血。还发现斯达汀与一些PLA2抑制剂联合可以比单独的PLA2抑制剂更大程度地减少溶血。

[0077] PLA2抑制剂和斯达汀的联合可用于治疗本文所述的任何病症,对于这些病症,单独施用PLA2抑制剂可提供益处。这些病症包括膜翅目(例如蜜蜂)注毒,蛇注毒诱导的肾或脑损伤、与溶血相关的病症和与脑水肿相关的病症,尤其是脑疟疾或轴突损伤如轴突髓鞘

溶解和轴突损伤引起的神经性疼痛。

[0078] 由PLA2抑制剂和斯达汀的联合产生的这种益处的发现证明了胆固醇代谢与毒液作用之间的先前未表征的联系。注毒和疟疾(特别是脑疟疾)的影响正在成为发展中国家并且日益成为发达国家的严重问题;对这两种疾病的常见治疗将代表人类健康的巨大进步。

[0079] 3. 施用PLA2抑制剂以治疗与溶血相关的病症

[0080] 发现用PLA2抑制剂(单独或与斯达汀联合)治疗有效减少多种原因的溶血。参见实施例2和图1-3。

[0081] 如本文详述的,已经发现,令人惊讶的是,具有和不具有斯达汀的PLA2抑制剂具有一般的抗溶血性质,并且将PLA2抑制剂,任选地与斯达汀联合施用于患有通过异常溶血或渗透性脆弱表征的病症的受试者使溶血减少。这一意想不到的发现表明PLA2抑制剂单独或特别与斯达汀联合来治疗溶血性贫血、阵发性睡眠性血红蛋白尿(PNH)或与渗透性脆弱性相关的疾病或病症,包括但不限于自身免疫性球形红细胞增多症,遗传性球形红细胞增多症中毒,严重烧伤,地中海贫血,免疫溶血性贫血和引起溶血的寄生虫病(如立克次体引起的溶血和疟疾)都具有一般治疗潜力。

[0082] 4. 施用PLA2抑制剂用于神经保护和治疗与脑水肿相关的病症。

[0083] 严重注毒的常见症状是脑水肿(脑肿胀)和神经元水肿(例如脊髓或周围神经/神经末梢肿胀和破坏)。通过阻断PLA2活性来减少肿胀(数据未显示)。本文公开的方法还涉及治疗与脑肿胀(包括注毒)相关的病症的方法,其中用治疗有效量的本发明的组合物治疗患者,包括向患者施用至少一种PLA2抑制剂化合物。

[0084] 在一个方面,与水肿相关的病症是膜翅目刺痛。

[0085] 在一个方面,与水肿相关并且需要神经保护的病症是脑疟疾或创伤引起的脑肿胀(例如钝性创伤或外周神经轴索显微外科手术或脊髓髓鞘溶解)。

[0086] 本公开的实施方案可以进一步扩展至包含至少一种PLA2抑制剂与本文提供的一种或多种剂/组合物联合的治疗方法。这些剂一起提供了治疗或降低由膜翅目叮咬和其他脑肿胀引起的组织损伤、出血和凝血障碍、心血管塌陷或神经毒素诱导的呼吸衰竭的可能性的方法。

[0087] 5. 施用PLA2抑制剂用于保持患有过敏性或非过敏性休克的患者的血压和肾功能

[0088] 具有或不具有斯达汀的PLA2抑制剂将证明在毒液诱导的休克和急性肾损伤的情况下有利于保持血压和肾功能。

[0089] 6. 使用PLA2抑制剂以减少血液制品的溶血

[0090] 在一个方面,PLA2抑制剂与经历离心、长期储存或机械应力的血液或血液产品联合。

[0091] 磷脂酶A2

[0092] 脂酶是从膜脂质释放生物活性分子的酶。关键的脂肪酶家族由磷脂酶A2(PLA2)组成。PLA<sub>2</sub>催化sn-2位磷脂的水解,产生游离脂肪酸和溶血磷脂。PLA2倾向于从膜花生四烯酸、血小板活化因子和溶血磷脂酸释放和/或形成至少三种重要的脂质介质或通过增加磷脂酰丝氨酸的呈递而导致溶血磷脂酰胆碱诱导炎症反应和红细胞破裂以及脾破坏。相信,通过PLA从膜磷脂释放花生四烯酸是控制细胞内类花生酸产生的关键步骤。PLA2酶通常分为胞浆型PLA2(cPLA2)、分泌型PLA2(sPLA2)和非钙依赖型PLA2(iPLA2)。毒液(如蜜蜂毒液)

PLA2 (即sPLA2) 是分泌出来的。根据分子量、钙的需求量、结构特征、底物特异性和功能作用对PLA2进行分类。参见Ray, et al., "Phospholipase A2 in Airway Disease: Target for Drug Discovery," Journal of Drug Discovery and Therapeutics 1 (8) 2013, 28-40。通常, 组I/I/V/X被分类为“常规”sPLA2, 而类型III和XII被分类为“非典型”sPLA2。参见例如Murakami, M et al. A new era of secreted phospholipase A2 2015 J. Lipid. Res. 56: 1248-1261, 以及Murakami, M与Taketomi, Y 2015 Allergology Int' l 64: 4-10, 各自通过引用并入本文。

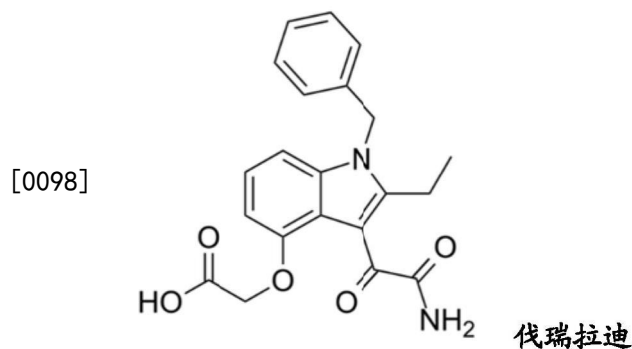
[0093] PLA2抑制剂

[0094] 已经在植物、毒液和其它来源中识别出了PLA2抑制剂。PLA2抑制剂已经作为炎症疾病治疗的潜在治疗剂进行了研究。参见例如Magrioti, V, and Kokoto, G. Expert opinion on therapeutic patents 20.1 (2010): 1-18; 和Dennis, Edward A., et al. Chemical reviews 111.10 (2011): 6130-6185, 各自通过引用并入本文。然而, 没有小分子PLA2抑制剂被批准用于治疗急性危及生命的疾病或病症。PLA2抑制剂在PCT公开W02016081826A2中进一步讨论, 其通过引用并入本文。

[0095] 尽管毒液可以含有PLA2, 但不打算通过特定机制进行约束, 根据本发明使用的PLA2抑制剂的作用可以通过抑制宿主PLA2或通过抑制宿主和毒液PLA来介导。在本发明的一些实施方案中, PLA2抑制剂对毒液或寄生虫PLA2不具有特异性, 但对哺乳动物 (例如人、小鼠或大鼠) PLA2和毒液PLA2两者或仅哺乳动物PLA2具有抑制活性。不希望受特定机制约束, PLA2抑制剂 (例如, 伐瑞拉迪, 甲基伐瑞拉迪 (呋唑), LY433771 (呋唑), 化合物4和相关化合物, 例如AZD2716 (吡唑)) 的功效可能来自双重抑制宿主 (哺乳动物或人) PLA2活性, 即减少宿主的C反应蛋白的产生和减少整体炎症应答, 以及毒液PLA2活性, 从而减少发展与由毒液或寄生虫诱发组织损伤、消耗凝血病和其他毒性级联相关的病理级联的倾向。在一些情况下, PLA2抑制剂的功效可主要导致抑制宿主PLA2应答。

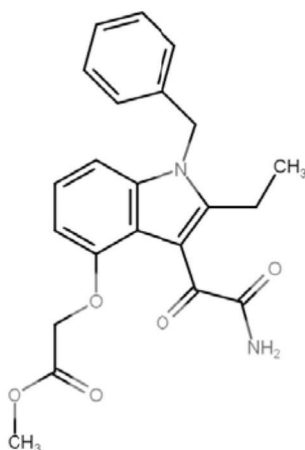
[0096] 在一些实施方案中, 所述治疗包含至少一种PLA2抑制剂, 其优选选自伐瑞拉迪, 甲基伐瑞拉迪, LY433771, 化合物4或AZD2716。在一些实施方案中, 施用两种或多于两种不同PLA2抑制剂的组合。在一些实施方案中, PLA2抑制剂与其他药物活性剂联合施用, 或以特定制剂形式施用, 如本文所述。在一些实施方案中, PLA2抑制剂与斯达汀联合施用。

[0097] 在一些实施方案中, PLA2抑制剂是小分子 (例如, MW < 2000, < 1000, 或 < 500)。用于本文的PLA2抑制剂包括伐瑞拉迪, 其化学结构如下所示:



[0099] 用于本文的PLA2抑制剂包括甲基伐瑞拉迪, 其化学结构如下所示:

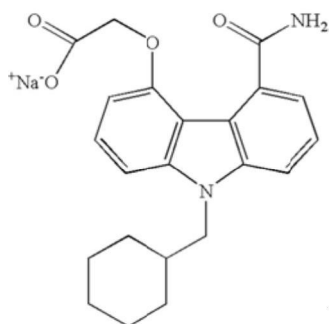
[0100]



甲基伐瑞拉迪

[0101] 用于本文的PLA2抑制剂包括LY43371,其化学结构如下所示:

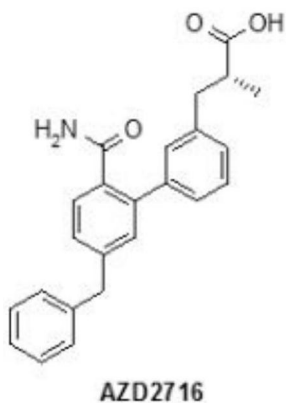
[0102]



LY433771

[0103] 用于本文的PLA2抑制剂包括化合物4或相关结构AZD2716。这些结构因甲基而不同;化合物4是外消旋的,而AZD2716是化合物4的甲基化形式的R-立体异构体。参见 Giordanetto, F., et al., ACS Med. Chem. Lett. 2016:7, 884-889。AZD2716的化学结构如下所示:

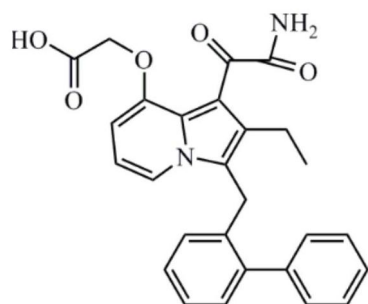
[0104]



AZD2716

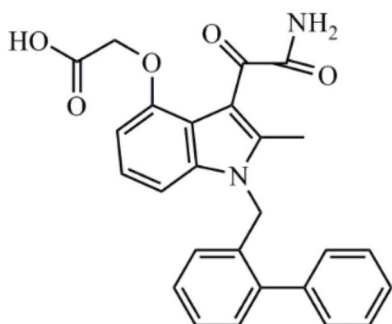
[0105] 用于本文的PLA2抑制剂包括花生四烯酸,其化学结构如下所示:





花生四烯酸

[0106] 用于本文的PLA2抑制剂包括甲基花生四烯酸(“甲基-花生四烯酸”),其化学结构如下所示:



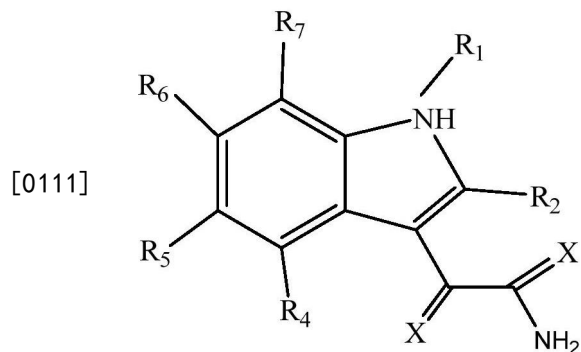
[0107]

甲基花生四烯酸

[0108] 其他PLA2抑制剂,例如但不限于其它1H-吡啶-3-乙醛酰胺,也可用于治疗注毒和脑肿胀,包括与LY433771相关的吡啶和任选的化合物4或AZD2716。

[0109] 用于本文的PLA2抑制剂包括4-苄基-苯甲酰胺;5'-苄基-2'-氨基甲酰基联苯-3-羧酸;2-(5'-苄基-2'-氨基甲酰基联苯基-3-基)乙酸;3-(5'-苄基-2'-氨基甲酰基联苯基-3-基)丙酸(化合物4);4-(5'-苄基-2'-氨基甲酰基联苯基-3-基)丁酸;2-(5'-苄基-2'-氨基甲酰基联苯基-3-基氧基)乙酸;3-(5'-苄基-2'-氨基甲酰基联苯基-3-基)-2-甲基丙酸;2-((5'-苄基-2'-氨基甲酰基联苯基-3-基)甲基)丁酸;和1-((5'-苄基-2'-氨基甲酰基联苯基-3-基)甲基)环丙烷羧酸。

[0110] 另外的PLA2抑制剂包括美国专利No.5,654,326中描述的那些,包括以下化学结构的化合物:



[0111]

[0112] 其中X是O或S,优选O;

[0113] R1是C7-C20烷基,C7-C20链烯基,C7-C20炔基,碳环基(优选苄基或乙基苯基)或杂

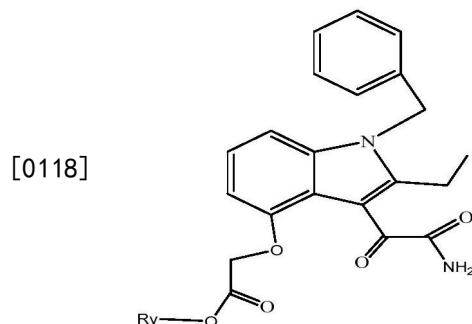
环基;

[0114] R<sub>2</sub>是氢,卤素(F、Cl、Br、I),C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基(优选乙基)或C<sub>3</sub>-C<sub>4</sub>环烷基;

[0115] R<sub>4</sub>是H或-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-C(=O)OR<sub>v</sub>基团,其中m是1-3(优选1)并且R<sub>v</sub>是H或C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>烷基,优选CH<sub>3</sub>;以及

[0116] R<sub>5</sub>、R<sub>6</sub>和R<sub>7</sub>是H,或其药学上可接受的盐、溶剂化物或多晶型物。

[0117] 用于本发明的PLA<sub>2</sub>抑制剂化合物(伐瑞拉迪和甲基伐瑞拉迪)也可以用以下化学结构表示:



[0119] 其中R<sub>v</sub>是H(伐瑞拉迪)或甲基(甲基伐瑞拉迪),或其药学上可接受的盐。上述化合物也可用作前药形式的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基酯,C<sub>2</sub>-C<sub>7</sub>酰氧基烷基酯或C<sub>3</sub>-C<sub>9</sub>烷氧基羰基氧基烷基酯(各自在R<sub>4</sub>形成)。用于本发明的这些和其它相关化合物描述于美国专利No.5,654,326中。

[0120] 其它PLA<sub>2</sub>抑制剂包括,例如:伐瑞拉迪酯(伐瑞拉迪Mofetil)、N-乙酰半胱氨酸、LY329722([3-氨基-1-苄基-2-乙基-6-甲基-1H-吡啶-4-基氧基]-乙酸钠)、似梨木双黄酮(天然存在的双黄酮)、BPPA(5-(4-苄氧基苯基)-4S-(7-苯基庚酰基氨基)戊酸及对-溴苯乙酰基溴(p-BPB)及其它用斯酮(syndone)衍生的二苯甲酮肟。在一些实施方案中,本发明中使用的sPLA<sub>2</sub>抑制剂选自下述化合物:{9-[(苯基)甲基]-5-氨基甲酰吡啶-4-基}氧基乙酸;0-苄基-δJ-二甲氧基-S-四氢吡啶-羧酸酐;9-苄基-5,7-二甲氧基-1,2,3,4-四氢吡啶-4-羧酰胺;[9-苄基-4-氨基甲酰-7-甲氧基-1,2,3,4-四氢吡啶-5-基]氧基乙酸;[9-苄基-4-氨基甲酰-7-甲氧基吡啶-5-基]氧基乙酸;甲基[9-苄基-4-氨基甲酰-7-甲氧基吡啶-5-基]氧基乙酸;9-苄基-7-甲氧基-5-氰基甲氧基-S-四氢吡啶-羧酰胺;9-苄基-7-甲氧基-5-(1H-四唑基-5-基-甲基)氧基)-1,2,3,4-四氢吡啶-4-羧酰胺;{9-[(苯基)甲基]-5-氨基甲酰-2-甲基-吡啶-4-基}氧基乙酸;{9-[(3-氟苯基)甲基]-5-氨基甲酰-2-甲基吡啶-4-基}氧基乙酸;{9-[(3-甲基苯基)甲基]-5-氨基甲酰-2-甲基吡啶-4-基}氧基乙酸;{9-[(苯基)甲基]-5-氨基甲酰-2-(4-三氟甲基苯基)-吡啶-4-基}氧基乙酸;9-苄基-5-(2-甲基磺酰氨基)乙氧基-7-甲氧基-1,2,3,4-四氢吡啶-4-羧酰胺;9-苄基-4-{2-甲基磺酰氨基)乙氧基-2-甲氧基吡啶-5-羧酰胺;9-苄基-4-(2-三氟甲基磺酰氨基)乙氧基-2-甲氧基吡啶-5-羧酰胺;9-苄基-5-甲基磺酰氨基甲氧基-7-甲氧基-1,2,3,4-四氢吡啶-4-羧酰胺;9-苄基-4-甲基磺酰氨基甲氧基-吡啶-5-羧酰胺;[5-氨基甲酰-2-戊基-9-(苯基甲基)吡啶-4-基]氧基乙酸;[5-氨基甲酰-2-(1-甲基乙基)-9-(苯基甲基)吡啶-4-基]氧基乙酸;[5-氨基甲酰-9-(苯基甲基)-2-[(三-(1-甲基乙基硅氧基)甲基吡啶-4-基]氧基乙酸;[5-氨基甲酰-2-苄基-9-(苯基甲基)吡啶-4-基]氧基乙酸;[5-氨基甲酰-2-(4-氯苯基)-9-(苯基甲基)吡啶-4-基]氧基乙酸;[5-氨基甲酰-2-(2-呋喃基)-9-(苯基甲基)吡啶-4-基]氧基乙酸;[5-氨基甲酰-9-(苯基甲基)-2-[(三-(1-甲基乙基硅氧基)甲基)吡啶-4-基]氧基乙酸;{9-[(2-氟苯基)

甲基]-5-氨基甲酰咪唑-4-基}氧基乙酸;{9-[(2-三氟甲基苯基)甲基]-5-氨基甲酰咪唑-4-基}氧基乙酸;{9-[(2-苄基苯基)甲基]-5-氨基甲酰咪唑-4-基}氧基乙酸;{9-[(1-萘甲基)-8-氨基甲酰咪唑-4-基}氧基乙酸;{9-[(2-氰基苯基)甲基]-5-氨基甲酰咪唑-4-基}氧基乙酸;{9-[(3-氰基苯基)甲基]-5-氨基甲酰咪唑-4-基}氧基乙酸;{9-[(3,5-二甲基苯基)乙基]-5-氨基甲酰咪唑-4-基}氧基乙酸;{9-[(3-碘苯基)甲基]-5-氨基甲酰咪唑-4-基}氧基乙酸;{9-[(2-氯苯基)甲基]-5-氨基甲酰咪唑-4-基}氧基乙酸;{9-[(2,3-二氟苯基)甲基]-5-氨基甲酰咪唑-4-基}氧基乙酸;{9-[(2,6-二氟苯基)甲基]-5-氨基甲酰咪唑-4-基}氧基乙酸;{9-[(2,6-二氯苯)甲基]-5-氨基甲酰咪唑-4-基}氧基乙酸;{9-[(2-联苯)甲基]-5-氨基甲酰咪唑-4-基}氧基乙酸;{9-[(2-联苯)甲基]-5-氨基甲酰咪唑-4-基}氧基乙酸甲酯;{9-苄基-4-氨基甲酰-1,2,3,4-四氢咪唑-5-基}氧基乙酸;{9-[(2-吡啶基)甲基]-5-氨基甲酰咪唑-4-基}氧基乙酸;{9-[(3-吡啶基)甲基]-5-氨基甲酰咪唑-4-基}氧基乙酸;{9-苄基-4-氨基甲酰-8-甲基-1,2,3,4-四氢咪唑-5-基}氧基乙酸;{9-苄基-5-氨基甲酰-1-甲基咪唑-4-基}氧基乙酸;{9-苄基-4-氨基甲酰-8-氟-1,2,3,4-四氢咪唑-5-基}氧基乙酸;{9-苄基-4-氨基甲酰-8-氯-1,2,3,4-四氢咪唑-5-基}氧基乙酸;{5-氨基甲酰-9-(苯甲基)-2-[[ (丙烯-3-基)氧]甲基]咪唑-4-基}氧基乙酸;{5-氨基甲酰-9-(苯甲基)-2-[[ (丙氧基甲基)咪唑基]氧基乙酸;9-苄基-7-甲氧基-5-((甲酰氨基甲氧基-四氢咪唑-羧酰胺);9-苄基-7-甲氧基-5-氟基甲氧基-咪唑-羧酰胺;9-苄基-7-甲氧基-5-((1H-四唑-5-基-甲基)氧基)-咪唑-4-羧酰胺;9-苄基-7-甲氧基-5-((甲酰氨基甲氧基)-咪唑-4-羧酰胺;{9-苄基-4-氨基甲酰-1,2,3,4-四氢咪唑-5-基}氧基乙酸;{9-[(苯基)甲基]-5-氨基甲酰-2-甲基-咪唑-4-基}氧基乙酸;{9-[(3-氟苯基)甲基]-5-氨基甲酰-2-甲基咪唑-4-基}氧基乙酸;{9-[(3-甲基苯基)甲基]-5-氨基甲酰-2-甲基咪唑-4-基}氧基乙酸;{9-[(苯基)甲基]-5-氨基甲酰-2-(4-三氟甲基苯基)-咪唑-4-基}氧基乙酸;9-苄基-5-(2-甲基磺酰氨基)乙氧基-7-甲氧基-1,2,3,4-四氢咪唑-4-羧酰胺;9-苄基-4-(2-甲基磺酰氨基)乙氧基-2-甲氧基咪唑-5-羧酰胺;9-苄基-4-(2-三氟甲基磺酰氨基)乙氧基-2-甲氧基咪唑-5-羧酰胺;9-苄基-5-甲基磺酰氨基甲氧基-7-甲氧基-1,2,3,4-四氢咪唑-4-羧酰胺;9-苄基-4-甲基磺酰氨基甲氧基-咪唑-5-羧酰胺;{5-氨基甲酰-2-戊基-9-(苯基甲基)咪唑-4-基}氧基乙酸;{5-氨基甲酰-2-(1-甲基乙基)-9-(苯甲基)咪唑-4-基}氧基乙酸;{5-氨基甲酰-9-(苯甲基)-2-[[ (三(-1-甲基乙基)硅氧基甲基咪唑基]氧基乙酸;{5-氨基甲酰-2-苯基-9-(苯基甲基)咪唑-4-基}氧基乙酸;{5-氨基甲酰-2-(4-氯苯基)-9-(苯基甲基)咪唑-4-基}氧基乙酸;{5-氨基甲酰-2-(2-呋喃基)-9-(苯甲基)咪唑-4-基}氧基乙酸;{5-氨基甲酰-9-(苯甲基)-2-[[ (三(-1-甲基乙基)硅氧基甲基咪唑基]氧基乙酸;{9-[(3-氟苯基)甲基]-5-氨基甲酰咪唑-4-基}氧基乙酸;{9-[(3-氯苯基)甲基]-5-氨基甲酰咪唑-4-基}氧基乙酸;{9-[(3-苯氧基苯基)甲基]-5-氨基甲酰咪唑-4-基}氧基乙酸;{9-[(2-氟苯基)甲基]-5-氨基甲酰咪唑-4-基}氧基乙酸;{9-[(2-三氟甲基苯基)甲基]-5-氨基甲酰咪唑-4-基}氧基乙酸;{9-[(2-苄基苯基)甲基]-5-氨基甲酰咪唑-4-基}氧基乙酸;{9-[(3-三氟甲基苯基)甲基]-5-氨基甲酰咪唑-4-基}氧基乙酸;{9-[(1-萘甲基)-8-氨基甲酰咪唑-基}氧基乙酸;{9-[(2-氰基苯基)甲基]-5-氨基甲酰咪唑-4-基}氧基乙酸;{9-[(3-氰基苯基)甲基]-5-氨基甲酰咪唑-4-基}氧基乙酸;{9-[(2-甲基苯基)甲基]-5-氨基甲酰咪唑-4-基}氧基乙酸;{9-[(3-甲基苯基)甲基]-5-氨基甲酰咪唑-4-基}氧基乙酸;{9-[(3,5-二甲基苯基)甲基]-5-氨基

甲酰咪唑-4-基}氧基乙酸;{9-[ (3-碘苯基) 甲基]-5-氨基甲酰咪唑-4-基}氧基乙酸;{9-[ (2-氯苯基) 甲基]-5-氨基甲酰咪唑-4-基}氧基乙酸;{9-[ (2,3-二氟苯基) 甲基]-5-氨基甲酰咪唑-4-基}氧基乙酸;{9-[ (2,6-二氟苯基) 甲基]-5-氨基甲酰咪唑-4-基}氧基乙酸;{9-[ (2,6-二氯苯基) 甲基]-5-氨基甲酰咪唑-4-基}氧基乙酸;{9-[ (3-三氟甲氧基苯基) 甲基]-5-氨基甲酰咪唑-4-基}氧基乙酸;{9-[ (2-联苯) 甲基]-5-氨基甲酰咪唑-4-基}氧基乙酸;{9-[ (2-联苯) 甲基]-5-氨基甲酰咪唑-4-基}氧基乙酸甲酯;[9-苄基-4-氨基甲酰-1,2,3,4-四氢咪唑-5-基}氧基乙酸;{9-[ (2-吡啶基) 甲基]-5-氨基甲酰咪唑-4-基}氧基乙酸;{9-[ (3-吡啶基) 甲基]-5-氨基甲酰咪唑-4-基}氧基乙酸;[9-苄基-4-氨基甲酰-8-甲基-1,2,3,4-四氢咪唑-5-基}氧基乙酸;[9-苄基-5-氨基甲酰-1-甲基咪唑-4-基}氧基乙酸;[0-苄基-氨基甲酰-8-氟-1,2,3,4-四氢咪唑-5-基}氧基乙酸;[0-苄基-8-氨基甲酰-1-氟咪唑-4-基}氧基乙酸;[9-苄基-4-氨基甲酰-8-氯-1,2,3,4-四氢咪唑-5-基}氧基乙酸;[9-苄基-5-氨基甲酰-1-氯咪唑-4-基}氧基乙酸;[9-[ (环己基) 甲基]-5-氨基甲酰咪唑-4-基}氧基乙酸;[9-[ (环戊基) 甲基]-5-氨基甲酰咪唑-4-基}氧基乙酸;[5-氨基甲酰-9- (苯甲基) -2- (2-噻吩基) 咪唑-4-基}氧基乙酸;[5-氨基甲酰-9- (苯甲基) -2-[[ (丙烯-3-基) 氧基] 甲基]咪唑-4-基}氧基乙酸;[5-氨基甲酰-9- (苯甲基) -2-[(丙基氧基甲基) 咪唑-基]氧基乙酸;9-苄基-7-甲氧基-5-((甲酰胺基甲氧基-四氢咪唑-羧酰胺;9-苄基-7-甲氧基-6-氰基甲氧基-咪唑-羧酰胺;9-苄基-7-甲氧基-5-((1H-四唑-5-基-甲基) 氧基)-咪唑-4-羧酰胺;9-苄基-7-甲氧基-5-((甲酰胺基甲基) 氧基)-咪唑-4-羧酰胺;[9-苄基-4-氨基甲酰-1,2,3,4-四氢咪唑-5-基}氧基乙酸;(R,S) - (9-苄基-4-氨基甲酰-1-氧代-3-硫代-1,2,3,4-四氢咪唑-5-基) 氧基乙酸;(R,S) - (9-苄基-4-氨基甲酰-3-硫代-1,2,3,4-四氢咪唑-5-基) 氧基乙酸;2- (4-氧代-5-甲酰胺基-9-苄基-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吡啶) 乙酰氯;[N-苄基-1-氨基甲酰-1-氮杂-1,2,3,4-四氢咪唑-8-基}氧基乙酸;4-甲氧基-6-甲氧基羰基-10-苯甲基-6,7,8,9-四氢吡啶并[1,2-a]吡啶; (4-甲酰胺基-9-苯甲基-4,5-二氢硫代吡喃并[3,4-b]吡啶-5-基) 氧基乙酸;3,4-二氢-4-甲酰胺基-5-甲氧基-9-苯基甲基吡喃并[3,4-ib]吡啶;2-[ (2,9双-苄基-4-氨基甲酰-1,2,3,4-四氢-β咪唑-5-基) 氧基] 乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9- (2-甲苄基) -9/-/-吡啶并[3,4-ib]吡啶基] 乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9- (3-甲苄基) -9/-/-吡啶并[3,4-ib]吡啶基] 乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9- (4-甲苄基) -9/-/-吡啶并[3,4-ib]吡啶基] 乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9- (4-叔-丁基苄基) -9/-/-吡啶并[3,4-ib]吡啶基] 乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-五氟苄基-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吡啶基] 乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9- (2-氟苄基) -9/-/-吡啶并[3,4-ib]吡啶基] 乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9- (3-氟苄基) -9/-/-吡啶并[3,4-ib]吡啶基] 乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9- (4-氟苄基) -9/-/-吡啶并[3,4-ib]吡啶基] 乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9- (2,6-二氟苄基) -9/-/-吡啶并[3,4-ib]吡啶基] 乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9- (3,4-二氟苄基) -9/-/-吡啶并[3,4-ib]吡啶基] 乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9- (2,5-二氟苄基) -9/-/-吡啶并[3,4-ib]吡啶基] 乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9- (3,5-二氟苄基) -9/-/-吡啶并[3,4-ib]吡啶基] 乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9- (2,4-二氟苄基) -9/-/-吡啶并[3,4-ib]吡啶基] 乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9- (2,3-二氟苄基) -9/-/-吡啶并[3,4-ib]吡啶基] 乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9- [2- (三氟甲基) 苄基]-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吡啶基] 乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9- [2- (三氟甲基) 苄基]-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吡啶基]

乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-[3-(三氟甲基)苄基]-9/-/-吡啶并[3,4-ib]呋喃基]乙酸;  
2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-[4-(三氟甲基)苄基]-9/-/-吡啶并[3,4-ib]呋喃基]乙酸;  
2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-[3,5-双(三氟甲基)苄基]-9/-/-吡啶并[3,4-ib]呋喃基]乙酸;  
2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-[2,4-双(三氟甲基)苄基]-9/-/-吡啶并[3,4-ib]呋喃基]乙酸;  
2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(a-甲基萘基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]呋喃基]乙酸;2-[4-氧代-  
5-甲酰胺基-9-(b-甲基萘基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]呋喃基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺  
基-9-{3,5-二甲基苄基}-9/-/-吡啶并[3,4-ib]呋喃基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-  
(2,4-二甲基苄基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]呋喃基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-{2-苯  
基苄基}-9/-/-吡啶并[3,4-ib]呋喃基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(3-苯基苄基)-  
9/-/-吡啶并[3,4-ib]呋喃基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-{4-苯基苄基}-9/-/-吡啶  
并[3,4-ib]呋喃基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(1-苄基甲基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]  
呋喃基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(2-氟-3-甲苄基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]呋喃基]  
乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(3-苯甲酰苄基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]呋喃基]乙酸;2-  
[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(2-苯氧基苄基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]呋喃基]乙酸;2-[4-氧代-  
5-甲酰胺基-9-(3-苯氧基苄基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]呋喃基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺  
基-9-(4-苯氧基苄基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]呋喃基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-[3-  
[2-(氟苯氧基)苄基]]-9/-/-吡啶并[3,4-ib]呋喃基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-[3-  
[4-(氟苯氧基)苄基]]-9/-/-吡啶并[3,4-ib]呋喃基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-[2-  
氟-3-(三氟甲基)苄基]-9/-/-吡啶并[3,4-ib]呋喃基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-  
[2-氟-4-(三氟甲基)苄基]-9/-/-吡啶并[3,4-ib]呋喃基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-  
9-[2-氟-5-(三氟甲基)苄基]-9/-/-吡啶并[3,4-ib]呋喃基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺  
基-9-[3-氟-5-(三氟甲基)苄基]-9/-/-吡啶并[3,4-ib]呋喃基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲  
酰胺基-9-[4-氟-2-(三氟甲基)苄基]-9/-/-吡啶并[3,4-ib]呋喃基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲  
酰胺基-9-[4-氟-3-(三氟甲基)苄基]-9/-/-吡啶并[3,4-ib]呋喃基]乙酸;2-[4-氧代-5-  
甲酰胺基-9-[2-氟-6-(三氟甲基)苄基]-9/-/-吡啶并[3,4-ib]呋喃基]乙酸;2-[4-氧代-  
5-甲酰胺基-9-[2,3,6-三氟苄基]-9/-/-吡啶并[3,4-ib]呋喃基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲  
酰胺基-9-[2,3,5-三氟苄基]-9/-/-吡啶并[3,4-ib]呋喃基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-  
9-[2,4,5-三氟苄基]-9/-/-吡啶并[3,4-ib]呋喃基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-[2,  
4,6-三氟苄基]-9/-/-吡啶并[3,4-ib]呋喃基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-[2,3,4-三  
氟苄基]-9/-/-吡啶并[3,4-ib]呋喃基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-[3,4,5-三氟苄  
基]-9/-/-吡啶并[3,4-ib]呋喃基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-[3-(三氟甲氧基)苄  
基]-9/-/-吡啶并[3,4-ib]呋喃基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-[4-(三氟甲氧基)苄  
基]-9/-/-吡啶并[3,4-ib]呋喃基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-[4-甲氧基(四氟)苄  
基]-9/-/-吡啶并[3,4-ib]呋喃基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(2-甲氧基苄基)-  
9/-/-吡啶并[3,4-ib]呋喃基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(3-甲氧基苄基)-9/-/-吡  
啶并[3,4-ib]呋喃基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(4-甲氧基苄基)-9/-/-吡啶并[3,  
4-ib]呋喃基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(4-乙基苄基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]呋喃  
基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(4-异丙基苄基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]呋喃基]乙酸;  
2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(3,4,5-三甲氧基苄基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]呋喃基]乙酸;2-

[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(3,4-亚甲二氧基苄基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吡啶基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(4-甲氧基-3-甲基苄基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吡啶基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(3,5-二甲氧基苄基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吡啶基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(2,5-二甲氧基苄基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吡啶基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(4-乙氧基苄基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吡啶基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(环己基甲基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吡啶基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(环戊基甲基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吡啶基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-乙基-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吡啶基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(1-丙基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吡啶基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(2-丙基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吡啶基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(1-丁基)-9-H-吡啶并[3,4-ib]吡啶基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(2-丁基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吡啶基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-异丁基-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吡啶基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-[2-(1-苯乙基)]-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吡啶基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-[3-(1-苯丙基)]-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吡啶基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-[4-(1-苯丁基)]-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吡啶基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(1-戊基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吡啶基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(1-己基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吡啶基]乙酸;4-[(9-苄基-4-氨甲酰基-1,2,3,4-四氢呋唑-6-基)氧基]丁酸;3-[(9-苄基-4-氨甲酰基-1,2,3,4-四氢呋唑-0-基)氧基]丙基膦酸;2-[(9-苄基-4-氨甲酰基-1,2,3,4-四氢呋唑-6-基)氧基]甲基苯甲酸;3-[(9-苄基-4-氨甲酰基-7-正-辛基-1,2,3,4-四氢呋唑-6-基)氧基]丙基膦酸;4-[(9-苄基-4-氨甲酰基-7-乙基-1,2,3,4-四氢呋唑-6-基)氧基]丁酸;3-[(9-苄基-4-氨甲酰基-7-乙基-1,2,3,4-四氢呋唑-6-基)氧基]丙基膦酸;3-[(9-苄基-4-氨甲酰基-7-乙基-1,2,3,4-四氢呋唑-6-基)氧基]丁酸;4-[9-苄基-4-氨甲酰基-6-(2-氰乙基)-1,2,3,4-四氢呋唑-6-基]氧基丁酸;4-[9-苄基-4-甲酰胺基-7-(2-苯乙基)-1,2,3,4-四氢呋唑-6-基]氧基丁酸;4-[9-苄基-4-甲酰胺基-7-(2-苯乙基)-1,2,3,4-四氢呋唑-6-基]氧基丁酸;2-[(9-苄基-4-氨甲酰基-1,2,3,4-四氢呋唑-6-基)氧基]甲基苯甲酸甲酯;4-[9-苄基-4-氨甲酰基-7-(2-氰乙基)-1,2,3,4-四氢呋唑-6-基]氧基丁酸;9-苄基-7-甲氧基-5-氰基甲氧基-四氢呋唑-羧酰胺;[9-苄基-4-氨甲酰基-8-甲基-呋唑-5-基]氧基乙酸;及[0-苄基-4-氨甲酰基-呋唑-8-基]氧基乙酸;或它们药学上可接受的盐、溶剂化物、前体药物衍生物、外消旋体、互变异构体或旋光异构体。

[0121] PLA2抑制剂还包括白三烯合成抑制剂,其选自甲基花生四烯基氟代膦酸酯(MAFP)、丙氧芬、ONO-RS-082、1-[3-(4-辛基苯氧基)-2-氧代丙基]吡啶-5-羧酸、1-[3-(4-辛基苯氧基)-2-氧代丙基]吡啶-6-羧酸、花生四烯基三氟甲基酮、D609、4-{3-[5-氯-2-(2-{[(3,4-二氯苄基)磺酰基]氨基}乙基)-1-(二苯甲基)-1H-吡啶-3-基]丙基}苯甲酸(WAY-196025)、艾非拉地(efipladib)、4-{2-[5-氯-2-(2-{[(3,4-二氯苄基)磺酰基]氨基}-乙基)-1-(二苯甲基)-1H-吡啶-3-基]乙氧基}苯甲酸、艾考拉地(Ecopladib)、(E)-N-t(2S;4R)-4-[N-(联苯基-2-基甲基)-N-2-甲基丙氨基-1-[2-(2,4-二氟苯甲酰)苯甲酰]吡咯烷-2-基]甲基-3-[4-(2,4-二氧噻唑烷二-正-5-基亚基甲基)苯基]丙烯酰胺(RSC-3388)、黄连素、谷氨酰胺、花生四烯酸、甲基花生四烯酸或它们药学上可接受的盐

[0122] 本发明的某些实施方案涉及施用伐瑞拉迪,甲基伐瑞拉迪,LY43371或其组合和任选的至少一种另外的PLA2抑制剂。所述一种另外的PLA2抑制剂可选自由化合物4、AZD2716、伐瑞拉迪 (LY315920)、甲基化伐瑞拉迪 (LY333013)、AIPLAI (印度苦楝树PLA2抑制剂)、BMS-181162、LY311727、ARL-67974、FPL67047、SB-203347、Ro-23-9358、YM-26734、YM-26567、IS-741、MJ33、氟尼辛、依非拉地 (Effipradib)、Way 196025、艾考拉地 (Ecopladib)、吉立拉地 (Giripladib)、法瑞比林 (Variabilin)、花生四烯酸、甲基-花生四烯酸、SB-203347、PAF-AH、戴拉普迪 (Darapladib)、磷脂酰乙醇胺 (PE)、磷脂酰丝氨酸 (PS)、磷脂酰丝氨酸 (PC)、磷脂酰肌醇 (PI) 和磷脂酰甘油 (PG),及它们的混合物组成的组,所述抑制剂与至少一种选自羧甲基纤维素 (CMPE、CMC-Pe或CME)、透明质酸 (HYPE、HyPE和Hyal-PE)、肝磷脂 (HEPPE、HepPE、HePPE、Hepa-PE)、硫酸软骨素A (CSAPE、CsaPE、CsAPE)、聚明胶肽 (海脉素) (HemPE、HEMPE)、羟乙基淀粉 (HesPE、HESPE) (优选透明质酸-连接的磷脂酰乙醇胺 (HyPE)) 及它们的类似物、衍生物、药学上可接受的盐、对映体、非对映体、溶剂化物、多晶型物和混合物组成组的化合物连接 (结合)。

[0123] PLA2抑制剂还包括组合物,所述组合物包含至少一种磷脂质,所述磷脂质选自磷脂酰乙醇胺 (PE)、磷脂酰丝氨酸 (PS)、磷脂酰胆碱 (PC)、磷脂酰肌醇 (PI) 和磷脂酰甘油 (PG) 及它们的混合物组成的组,所述磷脂质与选自羧甲基纤维素 (CMPE、CMC-Pe或CME)、透明质酸 (HYPE、HyPE和Hyal-PE)、肝磷脂 (HEPPE、HepPE、HePPE、Hepa-PE)、硫酸软骨素 (CSAPE、CsaPE、CsAPE)、聚明胶肽 (海脉素) (HemPE、HEMPE)、羟乙基淀粉 (HesPE、HESPE) 及它们的混合物中的至少一种化合物连接 (结合)。透明质酸连接的磷脂酰乙醇胺 (HyPE) 是另外的PLA2抑制剂。这些PLA2抑制剂在PCT公开W02016081826A2中进一步讨论,该文献通过引用并入此处。

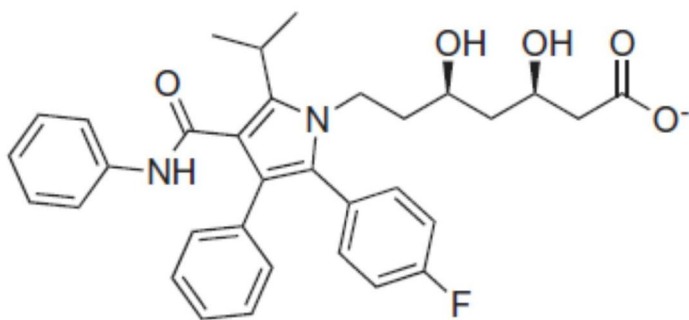
[0124] 斯达汀

[0125] 斯达汀是HMG-CoA还原酶抑制剂,并且通常用于降低与低密度脂蛋白 (LDL) 相关的高胆固醇水平。如本文所使用的,“斯达汀”是用于抑制3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶A (HMG-CoA) 还原酶的剂。斯达汀包括但不限于阿托伐他汀,西立伐他汀,氟伐他汀,洛伐他汀,美伐他汀,莫纳可林 (例如,莫纳可林M,莫纳可林J,莫纳可林N,莫纳可林L,莫纳可林X等),匹伐他汀 (也称为伊伐他汀),普伐他汀,罗苏伐他汀,辛伐他汀。参见例如Oliveira EF, et al., Expert Opin Ther Pat. 2016; 26 (11): 1257-1272。在一些实施方案中,可以使用任何两种或更多种斯达汀的组合。重要的是,可以在IV中施用的可溶性斯达汀制剂 (例如,在Sol<sup>®</sup>辛伐他汀中) 先前未与sPLA2抑制剂组合进行测试。

[0126] 在一些实施方案中,根据本发明的治疗包含单独的或与本文提供的一种或多种斯达汀联合的至少一种PLA2抑制剂,优选伐瑞拉迪和/或甲基伐瑞拉迪、LY433771、化合物4或AZD2716。

[0127] 用于本文的斯达汀包括阿托伐他汀,其化学结构如下所示:

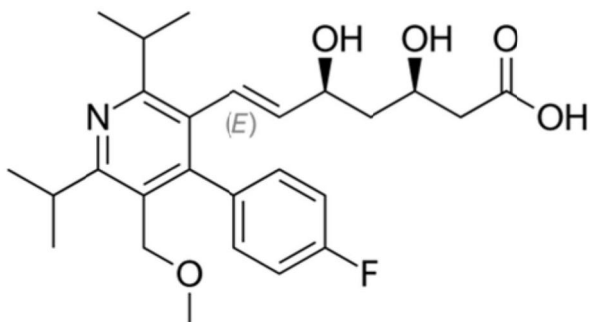
[0128]



阿托伐他汀。

[0129] 用于本文的斯达汀包括西立伐他汀,其化学结构如下所示:

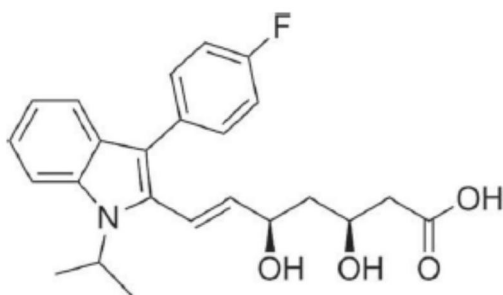
[0130]



西立伐他汀。

[0131] 用于本文的斯达汀包括氟伐他汀,其化学结构如下所示:

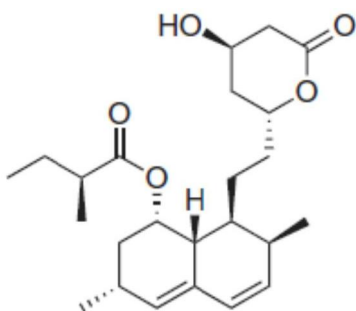
[0132]



氟伐他汀。

[0133] 用于本文的斯达汀包括洛伐他汀,其化学结构如下所示:

[0134]

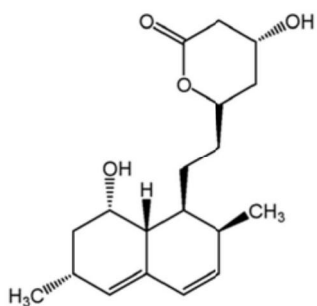


洛伐他汀。

[0135] 用于本文的斯达汀包括莫纳可林,莫纳可林包括莫纳可林J,其化学结构如下所示:



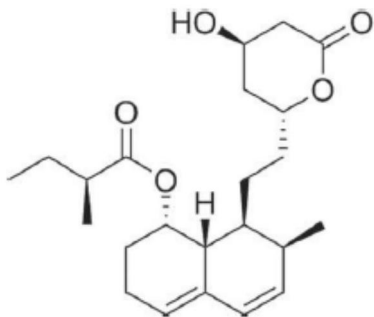
[0136]



莫纳可林 J。

[0137] 用于本文的斯达汀包括美伐他汀,其化学结构如下所示:

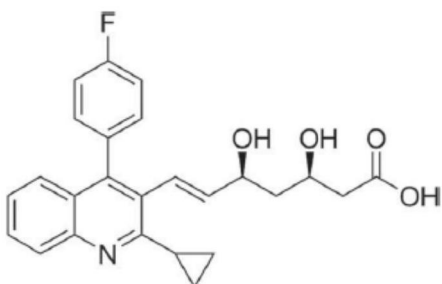
[0138]



美伐他汀。

[0139] 用于本文的斯达汀包括匹伐他汀,其化学结构如下所示:

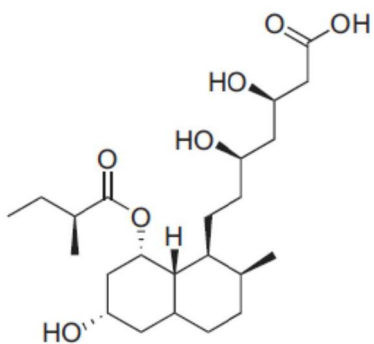
[0140]



匹伐他汀。

[0141] 用于本文的斯达汀包括普伐他汀,其化学结构如下所示:

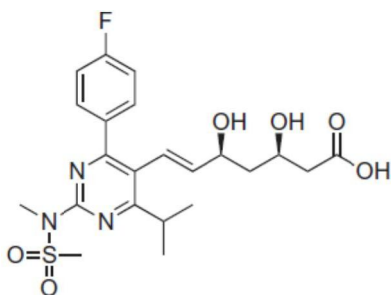
[0142]



普伐他汀。

[0143] 用于本文的斯达汀包括罗苏伐他汀,其化学结构如下所示:

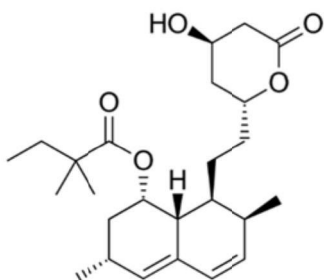
[0144]



罗苏伐他汀。

[0145] 用于本文的斯达汀包括辛伐他汀,其化学结构如下所示:

[0146]



辛伐他汀。

[0147] 另外的剂

[0148] 在一些实施方案中,PLA2抑制剂可以用作联合疗法并与一种或多种剂联合施用。在一些实施方案中,联合疗法可包括施用共同配制(例如,混合在一起或组合在单一单位剂型中)或联合施用(两者均作为治疗过程的一部分施用以治疗蛇毒中毒)的两种或更多种活性剂。

[0149] 根据本发明的药物组合物和方法还可包括肾上腺素、苯海拉明(diphenhydramine)、类固醇或其组合。在一个方面,PLA2抑制剂可以与肾上腺素联合使用。在另一方面,PLA2抑制剂可与苯海拉明联合使用。在另一方面,PLA2抑制剂可与类固醇联合使用。

[0150] 根据本发明的药物组合物和方法可包括具有针对金属蛋白酶的抑制活性的小分子。包括但不限于普淋司他和伏立诺他的有用的金属蛋白酶抑制剂在PCT公开W02016081826A2中进一步讨论。

[0151] 根据本发明的药物组合物和方法可包括具有针对丝氨酸蛋白酶的抑制活性的小分子。有用的丝氨酸蛋白酶抑制剂在PCT公开W02016081826A2中进一步讨论。

[0152] 根据本发明的药物组合物和方法可包括抗毒素或来自动物或重组来源的完整或片段化的IgG,其用于中和特别是毒液α-毒素和/或丝氨酸蛋白酶。在PCT公开W02016081826A2中进一步讨论了具有抗毒素的小分子抑制剂的一般用途。有用的抗毒素化合物在PCT公开W02016081826A2中进一步讨论。

[0153] 根据本发明的药物组合物和方法可以包括其他治疗剂,包括止吐剂、抗生素或抑制剂,包括毒液中存在的酶和非酶组分的基于抗体的抑制剂。这些另外的治疗剂在PCT公开W02016081826A2中进一步讨论。

[0154] 根据本发明的药物组合物和方法可以包括利多卡因和/或布比卡因作为剂,以帮助局部分布活性剂以进一步实现治疗益处和镇痛,同时通过松弛平滑肌减缓毒液的扩散。值得注意的是,与抗毒素不同,本发明的组合物可以扩散或渗透在注毒部位的神经系统组织、血块和/或死组织,从而在抗毒素效果降低或几乎无效的地方提供有效治疗。采用利多

卡因和/或布比卡因对所述剂有帮助,一旦施用,使所述剂更快地到达其活性部位,同时可能减轻咬伤部位的痛苦,防止在任何肠胃外机制输注药物时的痛苦,及用于普通镇痛。

[0155] 根据本发明的药物组合物和方法可包括局部麻醉剂。在叮咬和刺伤的情况下,局部麻醉剂是用于麻醉身体部位的表面并使淋巴平滑肌麻痹从而,减缓毒液的扩散的局部麻醉剂。局部麻醉剂可以以膏霜、软膏、气溶胶、喷雾剂、乳液和胶状物形式使用。示例包括苯佐卡因,丁巴卡因,二丁卡因,利多卡因,奥布卡因,普拉莫星,丙美卡因,丙美卡因和丁卡因(也称为丁卡因)。用封闭敷料或作为溶液涂抹来局部施加的EMLA乳膏(局部麻醉剂的低共熔混合物)的功效与LET溶液(利多卡因,肾上腺素,丁卡因)的功效预计会使毒液的扩散减缓。

[0156] 根据本发明的药物组合物和方法可包括扩散因子抑制剂。扩散因子抑制剂可以是化学的或物理的,并且在PCT公开W02016081826A2中进一步讨论。

[0157] 制剂

[0158] 根据本发明的药物组合物和方法可包括含有与糖组合的有效量的一种或多种PLA2抑制剂的组合物。示例性的糖包括甘露醇、山梨糖醇、赤藓糖醇或其混合物。包含甘露醇和/或其他糖如山梨糖醇和/或赤藓糖醇可促进伐瑞拉迪和/或其衍生物的溶解,以促进化合物的施用。包含甘露醇和/或其他糖可通过减少肿胀和增加尿量以及碱化(尤其是添加碳酸氢盐稀释剂)尿液来清除血红蛋白和预防色素肾病,从而增加伐瑞拉迪的神经保护、血液保护和肾保护特性。包含甘露醇和/或其他糖可以增加保护以防止溶血。口服有用组合物的实例包括乙醇和聚乙二醇(PEG),以改善分散并在动物和人类中的前药(例如甲基-伐瑞拉迪)和药物(例如LY433771、化合物4或AZD2716)的口服制剂中保持均匀性。

[0159] 根据本发明的药物组合物和方法可包括含有与甘露醇和/或高渗盐水组合的有效量的一种或多种PLA2抑制剂的组合物。

[0160] 根据本发明的药物组合物和方法可包括含有与一种或多种一氧化碳释放化合物(例如 $[\text{Ru}(\text{CO})_3\text{Cl}_2]_2$ 分子量:512.01,CAS号:22594-69-0)组合的有效量的一种或多种PLA2抑制剂。在另一个方面,PLA2抑制剂可以与一氧化碳释放化合物和泊洛沙姆联合使用。在另一方面,PLA2抑制剂可以与一氧化碳释放化合物,泊洛沙姆和MP、SP和/或来自爬行动物、节肢动物和海洋生物脊椎动物和无脊椎动物的其他毒液组分联合使用。包含这些化合物可用于创伤性脑损伤和/或钝性创伤的临床治疗。

[0161] 治疗方法

[0162] 已经发现,1H-吡啶-3-乙酰胺(如伐瑞拉迪和/或甲基伐瑞拉迪),或吡唑化合物(如LY433771)以及诸如LY311727、花生四烯酸、甲基花生四烯酸、化合物4和AZD2716等其它化合物是有效分泌的磷脂酶A2(PLA2)抑制剂,其在治疗由包括蜜蜂和黄蜂在内群集膜翅目导致的刺伤中具有优良临床前药物代谢动力学性质,具有包括通过口服给药途径进行体内清除的功效,以及单独使用或联合使用以用于治疗群集膜翅目注毒和引起溶血和脑水肿的重要医学病症(如疟疾、立克次体病、神经结核和创伤性脑损伤)时安全风险最小。

[0163] PLA2抑制剂对各种毒液组分的意外抑制表明PLA2在许多酶和非酶促毒液组分的活性中具有直接调节作用,并且还在促进非酶促组织破坏毒素进入宿主细胞的宿主介导的响应中起作用。此外,特异性PLA2抑制剂表现出抗炎活性,降低血管通透性并降低毒液扩散的能力,而小分子治疗剂可扩散至毒液沉积部位。这种令人惊讶的有益效果(由PLA2抑制剂

直接抑制毒液和间接影响)相结合使PLA2抑制剂成为无脊椎动物(例如群集膜翅目)注毒和其他III型的sPLA2介导的理想的反应的多官能解毒剂,其单独或联合其他治疗剂用作治疗方法。

[0164] 此外,本文显示PLA2抑制剂单独或与斯达汀一起具有一般的抗溶血性质。这种出乎意料的结果表明,对于PLA2抑制剂单独或与斯达汀联合来治疗溶血性贫血,包括治疗阵发性夜间血红蛋白尿(PNH)或与渗透脆性有关的其它疾病或病症,包括但不限于髓鞘破坏,自身免疫性球形红细胞增多症,遗传性球形红细胞增多症中毒,严重烧伤,地中海贫血,免疫溶血性贫血和疟疾,具有一般的治疗潜力。该治疗可以进一步改善血液储存的稳定性,并且在血管性水肿和类风湿性关节炎的情况下减少对环孢菌素的需要或替代。

[0165] 在一实施方案中,本发明涉及一种方法,该方法使用至少一种PLA2抑制剂单独或与至少一种另外的剂联合通过一种或多种给药途径以治疗注毒(例如,有毒的膜翅目叮咬或刺伤,例如来自蜜蜂,黄蜂,蝎子,蜘蛛,刺胞动物或其他群集的膜翅目叮咬或刺伤,如本文另外定义的)。

[0166] 在另一实施方案中,发明涉及一种方法,该方法使用至少一种PLA2抑制剂单独或与至少一种另外的剂联合通过一种或多种给药途径以治疗脑疟疾。

[0167] 在另一实施方案中,发明涉及一种方法,该方法使用至少一种PLA2抑制剂单独或与至少一种另外的剂联合通过一种或多种给药途径以治疗与部外伤或创伤性脑损伤相关的脑肿胀的用途。

[0168] 在另一实施方案中,发明涉及一种方法,该方法使用至少一种PLA2抑制剂单独或与至少一种另外的剂联合通过一种或多种给药途径以治疗创伤性病症,例如有或没有初期或实际的血液病理学反应(hematopathology)的创伤性脑损伤(例如在战斗中)和钝性创伤,(在没有注毒的情况下的)肾损伤(包括肾衰竭)或脑损伤或这些复杂病症的组合。

[0169] 在另一实施方案中,发明涉及一种方法,该方法使用至少一种PLA2抑制剂单独或与至少一种另外的剂联合通过一种或多种给药途径以治疗注毒,尤其是在处于初期或实际血液病理学反应(hematopathology)或与初期或实际血液病理学反应(hematopathology)结合的风险下的注毒情况下,脑损伤(例如出血、肿胀)和/或肾衰竭。

[0170] 在另一实施方案中,发明涉及一种方法,该方法用于至少一种PLA2抑制剂单独或与至少一种另外的剂联合通过一种或多种给药途径用于治疗一般溶血,传染病(例如,溶血性链球菌)情况下的预防,治疗代谢和遗传性疾病(例如G6PD缺乏症,镰状细胞病)、溶血性尿毒症综合征和/或其他内部或外部来源或加工的溶血性毒素或溶血过程。

[0171] 在一个方面,提供了一种治疗注毒的方法,其中从通过现场、院前、实验室、床边或临床的测试而怀疑或确认注毒、客观或临床怀疑sPLA2水平升高或其他指明注毒开始的时间间隔内用治疗有效量的至少一种PLA2抑制剂治疗患者。在一些情况下,提供治疗以减轻或减少对传统抗毒素的需要和/或降低就医的成本和需求,尤其降低对临床重症资源,例如重症监护(ICU时间)的成本和需求。

[0172] 本文公开的方法在医学中具有多种应用。

[0173] 本文公开的方法涉及降低哺乳动物(包括人)因注毒而死亡或受伤的可能性的方法,该方法包括开始向怀疑遭受或已知遭受注毒的患者给药,该方法包括:在注毒或引发脑肿胀的事件后,但在由局部、区域或系统注毒引起的损伤(特别是实质性的损伤)发生前,施

用有效量的PLA2抑制剂或一起或分开施用化合物(其可能包含PLA2抑制剂)。

[0174] 本文公开的方法涉及降低怀疑(通过注毒或其他原因)遭受或已知遭受另一种脑肿胀触发因素的患者死亡或受伤的可能性的方法,该方法包括:在引发脑肿胀的事件后,但在由局部、区域或系统注毒引起的损伤(特别是实质性的损伤)发生前,施用有效量的PLA2抑制剂或一起或分开施用化合物(其可能包含PLA2抑制剂)。

[0175] 本文公开的方法包括通过以下方式治疗遭受由群集膜翅目注毒引起的大局部反应(LRR)的受试者:向受试者施用包含治疗有效量的至少一种PLA2抑制剂的组合物,所述组合物含有或不含有治疗有效量的至少一种斯达汀,任选地具有本文所述的其他剂。

[0176] 在一些实施方案中,本文公开的方法包括通过以下方式治疗患有由热带病(包括但不限于登革热出血热,埃博拉病毒)感染引起的溶血的受试者:向受试者施用包含治疗有效量的至少一种PLA2抑制剂的组合物,该组合物具有治疗有效量的至少一种斯达汀,任选地具有本文所述的其他剂。

[0177] 在一些实施方案中,本文公开的方法包括通过以下方式治疗患有由血管性水肿或阵发性睡眠性血红蛋白尿引起的溶血的受试者:向受试者施用包含治疗有效量的至少一种PLA2抑制剂的组合物,所述组合物具有或不具有治疗有效量的至少一种斯达汀,任选地具有本文所述的其他剂。

[0178] 在一些实施方案中,本文公开的方法包括通过以下方式治疗患有由感染、有毒、创伤或渗透原因导致的脑水肿:向受试者施用包含治疗有效量的至少一种PLA2抑制剂的组合物,所述组合物具有或不具有治疗有效量的至少一种斯达汀,任选地具有本文所述的其他剂。

[0179] 在一些实施方案中,本文公开的方法包括通过以下方式治疗患有毒液诱发的心脏病的受试者:向受试者施用包含治疗有效量的至少一种PLA2抑制剂的组合物,所述组合物具有或不具有治疗有效量的至少一种斯达汀,任选地具有本文所述的其他剂。

[0180] 在一些实施方案中,本文公开的方法包括通过以下方式治疗由于轴索显微外科手术,脱髓鞘,病理性神经松解或缺血性中风而需要急性神经保护的受试者:向受试者施用包含治疗有效量的至少一种PLA2抑制剂的组合物,所述组合物具有或不具有治疗有效量的至少一种斯达汀,任选地具有本文所述的其他剂。

[0181] 在一些实施方案中,本文公开的方法包括通过以下方式治疗患有毒液、血红蛋白或肌红蛋白诱导的肾衰竭的受试者:向受试者施用包含治疗有效量的至少一种PLA2抑制剂的组合物,所述组合物具有或不具有治疗有效量的至少一种斯达汀,任选地具有本文所述的其他剂。

[0182] 本文所述的方法可进一步涉及治疗患有多发性硬化症和/或由蛇注毒形成的其他急性脱髓鞘综合征的患者的方法。本文公开的方法还涉及治疗患有肥大细胞疾病(例如肥大细胞增多症)、过敏反应(IgE介导的)、过敏反应(非IgE介导的)或具有补体介导的途径的血管神经元水肿的患者的方法,其中用治疗有效量的根据本发明的组合物治疗患者,包括从怀疑或确认触发肥大细胞病或其他反应的事件,客观或临床怀疑sPLA2水平升高或其他症状指标开始的时间间隔内向患者施用至少一种PLA2抑制剂(例如sPLA2抑制剂),其任选地与斯达汀组合。在一些实施方案中,该治疗将减轻或减少对传统治疗方法(例如环孢菌素和奥马珠单抗)的需要,和/或降低就医的成本和需求,尤其降低对临床重症资源,例如重症

监护 (ICU时间) 的成本和需求。

[0183] 受试者

[0184] 在一些实施方案中,受试者处于或患有黄蜂或蜜蜂注毒或引起溶血、脑水肿、急性肾损伤和非过敏性休克(如膜翅目)的其他病理状况的风险。在其他实施方案中,受试者处于膜翅目注毒、创伤、脑疟疾和/或肥大细胞疾病的风险中,并且可能由于寄生生命形式(例如疟疾,立克次氏体或巴贝虫)的注毒而处于血液毒性,神经毒性,细胞毒性,心脏毒性或肌毒性组织损伤,肢体或眼部损伤,有或没有导致肾功能衰竭,多器官衰竭和/或心血管衰竭的风险中。在其他实施方案中,所述受试者处于与初期或实际血液病理学反应(hematopathology)相结合的注毒或遭受该注毒,脑损伤(例如出血、肿胀)和/或肾衰竭的风险中。

[0185] 在一些实施方案中,已经使用一定剂量的毒液(例如膜翅目毒液)给受试者注毒,该剂量高于人或非人脊椎动物中毒液的平均LD<sub>50</sub>。在一些实施方案中,已经使用一定剂量的毒液给受试者注毒,该剂量低于人或非人脊椎动物中毒液的平均LD<sub>50</sub>。在一些实施方案中,已经使用一定剂量的毒液给受试者注毒,该剂量是人或非人脊椎动物中毒液的平均LD<sub>50</sub>的至少0.5倍。在一些实施方案中,已经使用一定剂量的毒液给受试者注毒,该剂量是人或非人脊椎动物中毒液的平均LD<sub>50</sub>的至少2倍。令人惊讶的发现PLA2抑制剂对蜜蜂毒液的体内功效可能导致用于先前未被抑制的无脊椎动物III型sPLA2注毒(例如蜘蛛、蜈蚣、海洋生物)的抑制剂的开发。

[0186] 给药方案

[0187] 在一些实施方案中,治疗方法在注毒后数小时施用,例如,作为医院或其他患者护理机构中针对严重蜜蜂叮咬的一线治疗。

[0188] 在注毒的情况下,优选例如通过现场、院前、实验室、床边或临床的测试而怀疑或确认注毒或其他受益于PLA2水平抑制的事件、客观或临床怀疑sPLA2水平病理性升高或其他例如脑水肿或AKI之类的注毒指示开始的时间间隔内施用PLA2抑制剂,这里所描述的时间间隔是在咬伤或刺痛感染后,或在sPLA2水平、证明已发生注毒或脑肿胀的其他相应的异常实验室值的升高和/或表示毒液毒性和/或脑肿胀或作为预防(例如职业暴露的高风险)的临床体征或症状增强之前的0.1(即,立即或尽快)至24小时内。

[0189] 在一些实施方案中,如由合格的医生(主治医师)决定确定的,治疗方案可以延伸数小时至1天至数周至数月或数年。为了患者方便和耐受,口服给药和/或静脉内输注可能是优选的。口服给药,每天口服一至四次,每次口服剂量为约0.01至100mg/kg体重,示例性剂量为约0.1mg/kg至约10mg/kg。

[0190] 在一些实施方案中,PLA2抑制剂可以用作联合疗法。在一些实施方案中,联合疗法可包括施用2种或更多种共同配制(例如,混合在一起或组合为单一单位剂型)或联合施用(两者均作为治疗注毒的疗法的过程的一部分施用)的活性剂。联合施用的剂可以(例如,作为两种或更多种单独的单位剂量形式,以同时口服和IV施用的方式,等等)同时施用或者可以在大约相同的时间(同时)或顺序(例如,在彼此相隔约一分钟或两分钟内,彼此相隔约10分钟,彼此相隔约30分钟内,或彼此相隔约60分钟内,或彼此相隔90至120分钟,或彼此相隔180分钟内)施用。剂也可以作为相同疗程的一部分在不同时间施用。例如,作为相同疗程的一部分,患者可每天施用一种剂,每周施用第二种剂。类似地,患者可以接受(例如伐瑞拉迪

和/或甲基伐瑞拉迪的) 初始治疗以开始紧急治疗疑似或确诊的注毒, 并随后 (例如, 在12小时内, 24小时内, 或36小时内, 例如) 接受第二治疗 (例如抗毒素或特异性抗毒素IgG) 作为同一疗程的一部分。另外的示例性联合疗法和联合制剂在PCT公开W02016081826A2中详述。

[0191] 在一实施方案中, 将PLA2抑制剂 (例如伐瑞拉迪、甲基伐瑞拉迪、LY433771或AZD2716) 施用于被注毒的受试者, 而不施用抗毒素、特异性抗体或其他小分子MP抑制剂或其他小分子SP抑制剂。在一些方法中, 将伐瑞拉迪和/或甲基伐瑞拉迪施用于被注毒的受试者, 并且在施用PLA2抑制剂后一段时间内不施用抗毒素、其他小分子MP抑制剂或其他小分子SP抑制剂。该时间段可以是至少约1小时、至少约2小时、至少约3小时、至少约4小时、至少约5小时、至少约10小时、至少约12小时或至少约24小时。在其他实施方案中, 伐瑞拉迪和/或甲基伐瑞拉迪可与特定或多价抗毒素混合物联合施用或共同配制。

[0192] 给药途径

[0193] 治疗剂可以通过多种技术施用, 所述技术包括但不限于通过使用手动或自动注射装置, 其可以是基于针的并且可以任选地包括喷射注射器, 鼻内药物递送装置, 喷雾器, 计量剂量吸入器或喷雾装置或口服制剂, 例如丸剂、片剂、酏剂或栓剂。

[0194] 在一些情况下, 治疗可以最初经由针头通过注射或没有针而通过推进 (例如喷射注射器或通过气溶胶施用) 或口服方式给药, 其中通过任何数量的给药途径提供活性成分的进一步的剂量, 以便维持患者体内活性成分的有效浓度, 直到治疗干预因任何原因停止为止, 包括直到因为患者的活动水平正在上升至其治疗指数的高水平或因为患者病情已经消退或至少稳定而不需要进一步给药, 从而决定将患者用更传统的抗毒素组合物治疗为止。

[0195] 在一些情况下, 治疗剂可以以可注射溶液 (其可优选用于与自动或笔式注射装置联合的初始治疗)、粉末、脂质体、软膏和/或气溶胶的形式施用, 并且可以包括与另一种化合物缀合的活性成分以用于特异性靶向 (例如纳米颗粒或抗体)。PCT公开W02016081826A2中进一步详述了另外的示例性给药途径。

[0196] 剂量

[0197] 通常, 根据标准药学实践, 根据受试者的身材大小和状况来确定本文所述治疗的剂量和给药途径。使用的剂量水平可以广泛变化, 并且可以由本领域技术人员容易地确定。通常, 使用毫克至克量的量。施用的剂量可以根据已知因素不同而变化, 已知因素例如特定剂的药效学特征, 其给药方式和途径; 年龄, 健康和受者的体重; 症状的性质和程度, 同时治疗的种类, 治疗的频率和所需的效果。

[0198] 通常, 将PLA2抑制剂施用于受试者, 以便接受治疗有效量。可以通过以下方式常规地确定个体患者的治疗有效量: 以渐增的剂量施用活性化合物并观察对患者的影响, 例如减少麻痹, 组织损伤或抑制增加的sPLA2活性水平, 或减少其他与膜翅目叮咬或刺伤或脑肿胀相关的症状或体征。

[0199] 已经在其他适应症的临床试验中测试的示例性给药范围可能在用于治疗本文所述的膜翅目叮咬或刺伤或其他适应症的治疗范围内。参见例如Dennis, E.A.; et al. "Phospholipase A2 enzymes: Physical structure, biological function, disease implication, chemical inhibition, and therapeutic intervention", Chem.Rev.2011, 111, 6130-6185, 和Abraham, E. et al. "Efficacy and safety of LY315920Na/S-5920, a



selective inhibitor of 14-kDa group IIA secretory phospholipase A2, in patients with suspected sepsis and organ failure.”Crit.Care Med.2003,31,718-728,各自通过引用并入本文。这些包括2.4-4.8毫克/千克/天。

[0200] 在一些实施方案中,活性化合物可以在动物内实现sPLA2或其他抑制剂的血液浓度为0.01至15000ng/ml,优选浓度为1至1000ng/ml的方式和剂量施用。

[0201] 在一些情况下,与针对毒液PLA2的 $IC_{50}$ 相比,sPLA2抑制剂针对人PLA2具有更低的 $IC_{50}$ 。在一些实施方案中,针对毒液PLA2的 $IC_{50}$ 等于针对人PLA2已知的 $IC_{50}$ 的10倍、100倍、1000倍或比针对人PLA2已知的 $IC_{50}$ 低。

[0202] 在一些情况下,活性化合物的每日剂量可以是大约0.1-500mg/kg体重。在每天1-6次的分次剂量中,通常采用0.5-50,优选1-25mg/kg/天,或者采用持续释放形式,都是有效的,可以获得期望的结果。根据患者的状态,在蜜蜂刺伤诱导疾病的症状或体征开始之前,施用更低剂量范围或更高剂量范围(即,在医院环境里根据sPLA2水平升高临床确定或可能确定),而当表明需要采用主动干预来应对sPLA2水平升高时,可以施用更高剂量。一般说来,将sPLA2抑制剂施用于动物,从而接受治疗有效剂量。按照惯例,通过施用剂量逐渐增加的活性化合物,并观察患者的反应,例如,麻痹、组织损伤减少或sPLA2活性水平上升得到抑制,或与蜜蜂刺伤有关的其它症状或体征减轻,确定个别患者的治疗有效剂量。一般说来,化合物应以在动物内实现sPLA2或其它抑制剂的血液浓度为0.01-15000ng/ml,优选1-1000ng/ml的方式和剂量施用。由合格的医生(主治医师)决定,治疗方案可以持续数小时至1天至几周至数月或数年。为了患者方便性和耐受性起见,优选口服与/或静脉输注。采用口服时,每天口服1至4次,每次大约0.01-100mg/kg体重,示例性剂量是约0.1mg/kg至约10mg/kg。

[0203] 斯达汀的治疗有效剂量包括已在其他适应症的临床试验中测试的那些。参见例如Oliveira EF,et al.,Expert Opin Ther Pat.2016;26(11):1257-1272。示例性给药范围可能在治疗膜翅目叮咬或刺伤或本文所述的其他适应症的治疗范围内。斯达汀可以使用口服剂型以确定安全和有效治疗慢性脂血症的剂量施用。在一些实施方案中,活性化合物可以在动物内实现斯达汀的血液浓度为0.01至15000ng/ml并且优选浓度为1至1000ng/ml的方式和剂量施用。斯达汀的示例性剂量范围进一步包括足量的斯达汀,当用药学上可接受的载体(赋形剂)分散、溶解或稀释时,得到的斯达汀浓度为约0.000001、0.00001、0.0001、0.001、0.01、0.1、0.5、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、110、120、230、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、310、320、330、340、350、360、370、380、390、400、410、420、430、440、450、460、470、480、490、500、525、550、575、600、625、650、675、700、725至约750 $\mu$ M或高达800、850、900、950或1000 $\mu$ M。

[0204] 因为根据本发明使用的适应症(例如,蜜蜂或蛇注毒或脑疟疾的治疗)需要立即治疗,所以不是口服给药,而是可以作为IV或液体制剂施用。在一些情况下,斯达汀可以以液体形式施用,例如以水溶形式施用。在某些情况下,斯达汀的示例性剂量范围足以在用药学上可接受的载体(赋形剂)分散、溶解或稀释时,得到介于约500nM至10 $\mu$ M之间的斯达汀浓度。

[0205] 金属蛋白酶抑制剂、PLA2抑制剂和丝氨酸蛋白酶抑制剂的示例剂量范围包括足够



的抑制剂用量,当采用药学上可接受的载体(赋形剂)分散、溶解或稀释时,得到的抑制剂的浓度为约0.000001、0.00001、0.0001、0.001、0.01、0.1、0.5、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、110、120、230、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、310、320、330、340、350、360、370、380、390、400、410、420、430、440、450、460、470、480、490、500、525、550、575、600、625、650、675、700、725至约750 $\mu$ M或高达800、850、900、950或1000 $\mu$ M。这些示例剂量范围还应用于本文所述的辅助治疗。可能的剂量范围是介于约0.000001、0.00001、0.0001、0.001、0.01、0.1、0.5、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、110、120、230、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、310、320、330、340、350、360、370、380、390、400、410、420、430、440、450、460、470、480、490至约500 $\mu$ M之间。另外的示例性剂量在PCT公开W02016081826A2中进一步详述。

#### [0206] 制剂

[0207] 提供了包含PLA2抑制剂(例如伐瑞拉迪或甲基伐瑞拉迪)和任选的本文公开的其他活性化合物和一种或多种药学上可接受的赋形剂(例如盐水)的制剂。在一方面,这些制剂具有生理上可以接受的pH(例如,约7.4-8.5),例如,当溶解在58%v/v 8.4%碳酸氢盐和42%v/v 10%葡萄糖溶液中时。其他包括比例为1:1,2:1,3:1,4:1,5:1的甘露醇:柠檬酸盐:药物,其中有和没有碳酸氢盐4.2%或8.4%,有或没有额外的葡萄糖。在其他方面,此类制剂包括其他糖,例如山梨糖醇、赤藓糖醇、或其混合物,其中有或没有甘露醇,糖:柠檬酸盐:药物的比例为1:1,2:1,3:1,4:1和5:1。此类制剂可以使药物或前药更快速地溶解。甲基纤维素、聚乙二醇(PEG)和纳米颗粒递送系统可用于改善口服制剂的吸收。这些制剂可以适合于储存,然后与药物、前药或组合一起使用,较长时间内(例如,储存期间)保持完整,并在施用于个人(如成人、儿童或婴儿)时转化为伐瑞拉迪,其包含或不包含其它成分。在一些实施方案中,药物、前药或组合作为一种或多种粉末(特别是冻干粉)储存,在施用之前,将这些干粉在盐水或其它稀释剂中溶解,得到所述制剂。在一个方面,提供了制剂,例如包含药物、前药或组合的制剂,所述药物、前药或组合的摩尔当量为约1ng/ml至1 $\mu$ g/ml至0.01mg/ml,0.1mg/ml,1mg/ml,5mg/ml,10mg/ml,25mg/ml,50mg/ml,75mg/ml,100mg/mL,125mg/ml,150mg/mL,175mg/mL,或200mg/ml或400mg/ml或600mg/ml或800mg/ml或1000mg/ml的母体药物(例如,伐瑞拉迪)中的任一种,其中药物、前药或组合的摩尔当量是导致在完全转化后产生指定量的母体药物的药物、前药或组合的量。对于本文所述的任何量(例如,剂量)的药物、前药或组合,还考虑了针对该量的母体药物的前药的摩尔当量。还提供单次推注制剂,例如,高达约5ml、10ml或15ml中的任一种(例如,在约1450mg至约1600mg母体药物(例如伐瑞拉迪)的化学计量前药当量)或在药丸、胶囊或口服酞剂形式的示例中:1mg至100mg,250mg,500mg,1000mg用于每天口服一次,两次,三次,以达到10pM、100pM、1nM、10nM、50nM、100nM、200nM、500nM、1 $\mu$ M、10 $\mu$ M、100 $\mu$ M的血清浓度,并且在非人类动物中,单次或分次剂量高达1、10、25、50、100、150mg/kg/天,但优选0.5至100mg/kg/天。

[0208] PLA2抑制剂可以按重量计,以制剂的0.01至99.9%的浓度使用,或者在一些情况下,按重量计,以制剂的0.001至99.9%的浓度使用。优选地,药物制剂是单位剂型。单位剂型本身可以是胶囊或片剂,或适当数量的这些中的任何一种。根据所涉及的具体治疗,单位

剂量组合物中活性化合物的量可以从约0.1至约1000毫克或更多变化或调节。

[0209] 示例性实施方案

[0210] 以下提供的是本公开中描述的方法的示例性的非限制性实施方案。

[0211] 值得注意的是,与抗毒素不同,本发明的示例性组合物可以扩散或穿透在注毒部位发现的神经系统组织、血凝块和/或死组织,从而提供有效的治疗,在这些部位,抗毒素表现出减少或可忽略的影响。包含利多卡因和/或布比卡因可以有助于使药剂一旦施用,就更快地到达其活性部位,同时可能使叮咬引起的疼痛缓解以及在使用任何肠胃外机制时预防药物输送引起的疼痛,并且用于一般镇痛。

[0212] 在一些实施方案中,特别是当一种或多种上述化合物(优选小分子)与抗毒素或特异性抗体或抗体片段组合时,这些组合物可在注毒后数小时施用,例如,作为医院或其他患者护理机构中蛇咬伤或无脊椎动物咬伤或刺伤的一线治疗。

[0213] 在一实施方案中,本发明涉及通过一种或多种给药途径(在某些实施方案中,AZD2716与花生四烯酸或甲基花生四烯酸一样口服施用)单独或与至少一种另外的生物活性剂(包括另外的PLA2抑制剂,优选包括伐瑞拉迪,甲基伐瑞拉迪或{9-[(苯基)甲基]-5-氨基甲酰基咪唑-4-基}羟基乙酸(LY433771))联合使用至少一种PLA2抑制剂以治疗注毒(例如,毒蛇或无脊椎动物如膜翅目的叮咬或刺伤,例如来自蜜蜂,黄蜂,蝎子,蜘蛛,刺胞动物或其他群集的膜翅目的叮咬或刺伤,如本文另外定义的)的方法,所述PLA2抑制剂如3-(5'-苄基-2'-氨基甲酰基联苯-3-基)丙酸(化合物4),[1,1'-联苯基]-3-丙酸,2'-(氨基羰基)- $\alpha$ -甲基-5'-(苯基甲基)-, (aR) - (R) -7 (也称为AZD2716或CAS 1845753-81-2)或其生物活性类似物。

[0214] 在一实施方案中,本发明涉及通过一种或多种给药途径(在某些实施方案中,AZD2716与花生四烯酸或甲基花生四烯酸一样口服施用)单独或与至少一种另外的生物活性剂(包括另外的PLA2抑制剂,优选包括伐瑞拉迪,甲基伐瑞拉迪或{9-[(苯基)甲基]-5-氨基甲酰基咪唑-4-基}羟基乙酸(LY433771))联合使用至少一种PLA2抑制剂以治疗脑型疟疾的方法,所述PLA2抑制剂如3-(5'-苄基-2'-氨基甲酰基联苯-3-基)丙酸(化合物4),[1,1'-联苯基]-3-丙酸,2'-(氨基羰基)- $\alpha$ -甲基-5'-(苯基甲基)-, (aR) - (R) -7 (也称为AZD2716或CAS 1845753-81-2)或其生物活性类似物。

[0215] 在一实施方案中,本发明涉及通过一种或多种给药途径(在某些实施方案中,AZD2716与花生四烯酸或甲基花生四烯酸一样口服施用)单独或与至少一种另外的生物活性剂(包括另外的PLA2抑制剂,优选包括伐瑞拉迪,甲基伐瑞拉迪或{9-[(苯基)甲基]-5-氨基甲酰基咪唑-4-基}羟基乙酸(LY433771))联合使用至少一种PLA2抑制剂以治疗头部创伤或创伤性脑损伤的方法,所述PLA2抑制剂如3-(5'-苄基-2'-氨基甲酰基联苯-3-基)丙酸(化合物4),[1,1'-联苯基]-3-丙酸,2'-(氨基羰基)- $\alpha$ -甲基-5'-(苯基甲基)-, (aR) - (R) -7 (也称为AZD2716或CAS 1845753-81-2)或其生物活性类似物。

[0216] 在一实施方案中,本发明涉及在注毒后立即或尽快(通常在认识到患者已经遭受注毒之后不超过24小时,甚至更经常不超过12小时,优选不超过约6小时,甚至更优选不超过约1小时,甚至更经常地立即)通过一种或多种给药途径(特别包括口服AZD2716),单独或与一种或多种PLA2抑制剂(AZD2716可优选与至少一种另外的PLA2抑制剂一起施用,其尤其包括伐瑞拉迪、甲基伐瑞拉迪和/或LY433771)和/或一种或多种可用于本发明的包括金属

蛋白酶和/或丝氨酸蛋白酶 (SP) 和/或乙酰胆碱酯酶和/或其它毒液组分的抑制剂在内的其它生物活性剂联合使用至少一种PLA2抑制剂 (例如3-(5'-苄基-2'-氨基甲酰基联苯-3-基) 丙酸 (化合物4) 或AZD2716, 或者替代地, LY433771, 或其生物活性类似物) 并且维持将患者送往医院或其他护理机构进行进一步诊断和/或治疗所需的一段时间的方法。之后, 任选地, 根据患者的情况和状况, 通过一种或多种递送途径和制剂提供一天至数周的治疗。在一些情况下, 该方法可用于治疗注毒 (例如, 有毒的膜翅目叮咬或刺伤, 例如来自蜜蜂、黄蜂、蝎子、蜘蛛、刺胞动物, 或其他群集的膜翅目叮咬或刺伤, 如本文另外定义的)。在某些情况下, 该方法可用于治疗脑型疟疾。在某些情况下, 该方法可用于治疗头部创伤或创伤性脑损伤。

[0217] 在一实施方案中, 该方法利用有效量的PLA2抑制剂 (优选地, AZD2716和/或LY43371和任选的1H-吡啶-3-乙醛酰胺, 尤其是伐瑞拉迪、甲基伐瑞拉迪或其混合物) 作为治疗遭受注毒或其他脑肿胀的受试者的唯一药剂。

[0218] 在另一实施方案中, 1H-吡啶-3-乙醛酰胺, 例如伐瑞拉迪和/或甲基伐瑞拉迪和/或任选3-(5'-苄基-2'-氨基甲酰基联苯-3-基) 丙酸 (化合物4), 和/或AZD2716和/或LY43371和/或花生四烯酸或甲基花生四烯酸和任选的卡莫司他 (N,N-二甲基氨基甲酰甲基, 4-4-胍基苯甲酰氧基-苯乙酸酯或卡莫司特) 和/或加贝酯 (乙基-对[6-胍基己醇氧基]-苯甲酸甲磺酸酯); 优选至少伐瑞拉迪, 所述制剂与乙酰胆碱酯酶抑制剂 (AChI) (如新斯的明、腾喜龙 (edrophonium) 或吡啶斯的明, 各自优选与阿托品或甘罗溴铵联合使用) 联合施用, 以提供一种特别有效的通用抗麻痹药, 其显著的抗-血毒性活性是由伐瑞拉迪和/或甲基伐瑞拉迪、卡莫司他和/或加贝酯赋予的。在一些实施方案中, 将施用的组合物包含有效剂量的至少伐瑞拉迪或甲基伐瑞拉迪。

[0219] 在一些方面, 本发明使用有效量的PLA2抑制剂 (优选1H-吡啶-3-乙醛酰胺, 例如伐瑞拉迪和/或甲基伐瑞拉迪和/或任选3-(5'-苄基-2'-氨基甲酰基联苯-3-基) 丙酸 (化合物4), 和/或AZD2716和/或LY43371和/或花生四烯酸或甲基花生四烯酸) 作为治疗遭受注毒或脑肿胀的受试者的唯一的剂或多种剂。已经发现伐瑞拉迪和甲基伐瑞拉迪均表现出有效的PLA2抑制作用以及有时表现出金属蛋白酶和/或丝氨酸蛋白酶抑制作用, 并且可以单独使用或联合使用以作为与AZD2716和/或LY43371联合的任选的剂治疗注毒具有很大效果。在替代的实施方案中, 本发明可另外包含有效量的一种或多种另外的剂, 其包括一种或多种另外的PLA2抑制剂和一种或多种金属蛋白酶抑制剂 (例如普淋司他, 马马司他, 伏立诺他或巴马司他), 并且当局部使用时包含一种或多种至少一种扩散因子抑制剂 (例如EMLA或LET)。

[0220] 在一些方面, 本发明使用有效量的PLA2抑制剂 (优选1H-吡啶-3-乙醛酰胺, 例如伐瑞拉迪和/或甲基伐瑞拉迪和/或3-(5'-苄基-2'-氨基甲酰基联苯)-3-基) 丙酸 (化合物4) 和/或任选的AZD2716和/或LY43371和/或花生四烯酸或甲基花生四烯酸) 作为治疗遭受注毒或脑肿胀的受试者的唯一的剂或多种剂。在一实施方案中, 本发明可进一步包含有效量的一种或多种剂, 其包括例如肾上腺素或苯海拉明。

[0221] 在一个方面, 所述治疗方法使用至少一种活性成分 (在一些情况下, 使用至少两种活性成分, 并且在其他情况下, 使用不超过两种活性成分, 其包括至少一种PLA2抑制剂 (例如AZD2716和/或LY43371)) 和任选的至少一种另外的剂以治疗遭受注毒的受试者, 所述至

少一种另外的剂选自：选择性PLA2抑制剂（也可作为有效金属蛋白酶抑制剂起作用的PLA2抑制剂），金属蛋白酶抑制剂，丝氨酸蛋白酶抑制剂，一种或多种乙酰胆碱酯酶抑制剂，NMDA受体拮抗剂，L-氨基氧化酶抑制剂，透明质酸酶抑制剂和扩散因子抑制剂。初次给药可以在注毒时进行，通常在注毒后数小时（1分钟至12小时）至不到约1小时的时间内进行，有时在通过例如蜜蜂刺伤而注毒后不超过约1至约20分钟，有时约1至约10分钟进行。在其他实施方案中，特别是当上述化合物（优选小分子）中的一种或多种与抗毒素结合时，这些组合物可在接受抗毒素之前或之后（但优选在之前）在注毒后数小时施用，例如，作为在医院或其他患者护理机构中针对蜜蜂刺伤的一线治疗。在一些实施方案中，或另外，可以使用PLA2的顺序给药。在一些方面，本发明使用有效量的AZD2716和/或LY43371作为PLA2抑制剂（任选地，1H-吡啶-3-乙醛酰胺，例如伐瑞拉迪和/或甲基伐瑞拉迪和/或任选的AZD2716和/或LY43371和/或花生四烯酸或甲基花生四烯酸）作为治疗遭受注毒的受试者的唯一的剂或多种剂。

[0222] 在对蜜蜂毒液PLA2抑制或含有少量sPLA2内含物（例如，树蛇（Boomslang））的毒液没有显著的抑制作用同时，使用3-（5'-苄基-2'-氨基甲酰基联苯-3-基）丙酸（化合物4）和/或AZD2716进行治疗，仍然导致终末器官结构和功能的存活和保存（例如，如实施例7中的肾）。在替代实施方案中，本发明可另外包含有效量的一种或多种另外的药剂，所述另外的药剂包括一种或多种另外的PLA2抑制剂（如本文中另外描述的，通常是花生四烯酸或甲基花生四烯酸），一种或多种金属蛋白酶抑制剂（例如，马马司他，普淋司他，坦诺司他（tanomastat），伏立诺他，巴马司他，伊洛马司他（ilomastat）和抗生素，如强力霉素，头孢克肟和其他头孢菌素），一种或多种丝氨酸蛋白酶抑制剂（如奈莫司他（nafamostat），其在某些毒液中也具有金属蛋白酶抑制作用，加贝酯（gabexate）和卡莫司他或卡莫司特），至少一种扩散因子抑制剂和至少一种NMDA受体拮抗剂等等，并且包括利多卡因和/或布比卡因，其可以以有效量包含，以增加施用组合物的区域中的血流量，以增强所述剂向活性部位的生物分布。

[0223] 在另一实施方案中，1H-吡啶-3-乙醛酰胺，例如伐瑞拉迪和/或甲基伐瑞拉迪和/或任选的AZD2716和/或LY43371和/或花生四烯酸或甲基花生四烯酸，和/或3-（5'-苄基-2'-氨基甲酰基联苯-3-基）丙酸（化合物4）与一种或多种另外的PLA2抑制剂和至少一种金属蛋白酶抑制剂（例如普淋司他，马马司他或巴马司他，优选普淋司他）联合施用。

[0224] 值得注意的是，在一些方面，这些治疗方法至少在初始阶段（例如，从咬伤后立即到从咬伤后不超过大约24小时或更长时间）在治疗被注毒的受试者的过程中消除了对抗毒素的需要，使遭受注毒的受试者可以前往医院或其它患者护理机构，接受进一步诊断和/或接受用抗毒素剂或抗毒素（例如特异性抗体）或小分子组合（通常是伐瑞拉迪/甲基伐瑞拉迪）进行治疗。抗毒素剂和抗毒素小分子组合可与MMP抑制剂，如强力霉素、头孢克肟或普淋司他联合使用。令人十分意外的是，伐瑞拉迪和/或甲基伐瑞拉迪单独使用对抑制昆虫注毒的影响是十分有效的。它们在抑制蛇的注毒方面的作用已在PCT公开W02016081826A2中讨论过。在其他实施方案中，包含AZD2716和/或LY43371，任选地组合伐瑞拉迪和/或甲基伐瑞拉迪以及任选的另一种PLA2抑制剂（例如，除花生四烯酸或甲基花生四烯酸外，直接或间接抑制剂-如加贝酯），及普淋司他、卡莫司他、巴马司他和马马司他中的一种或多种及乙酰胆碱酯酶抑制剂（如新斯的明与/或阿托品），将提供一种特别有用的组合物，用于治疗其中

有毒动物通过出血/凝血和麻痹对患者产生影响的被注毒的患者。

[0225] 在另一个实施方案中,治疗方法包括一种活性组分(例如,至少AZD2716和/或LY43371),在某些情况下,至少两种活性成分,以及在其它一些情况下,不超过两种活性成分,所述活性成分选自选择性sPLA2抑制剂、金属蛋白酶抑制剂、丝氨酸蛋白酶抑制剂、一种或多种乙酰胆碱脂酶抑制剂或与mAChR拮抗剂配对的nAChR激动剂、NMDA受体拮抗剂和扩散因子抑制剂,用于治疗遭受注毒的患者,优选在注毒后一定时间内,并且通常在注毒后不超过大约1小时内,更通常在被膜翅目或群集膜翅目注毒后不超过约1至约20分钟,更经常是约1至约10分钟内治疗。

[0226] 在另一个实施方案中,治疗方法可以包括有效剂量的一种或多种另外的剂,其包括一种或多种另外的PLA2、MP或SP抑制剂(正如本发明其它地方所述,通常是卡莫司特或加贝酯(使用时))、一种或多种乙酰胆碱脂酶抑制剂(例如,优选新斯的明和/或阿托品)、一种或多种金属蛋白酶抑制剂(如马马司他、茛莫司他或普淋司他)、一种或多种丝氨酸蛋白酶抑制剂(如茛莫司他)、至少一种扩散因子抑制剂和至少一种NMDA受体拮抗剂,此外,包括利多卡因和/或布比卡因,其可以以有效剂量被包括,以提高组合物施用区域的血液流动,同时减轻痛苦,以增加所述剂在活性部位的生物分配。在某些优选实施方案中,任选与伐瑞拉迪和/或甲基伐瑞拉迪组合的小分子抑制剂(如AZD2716和/或LY43371)和抗毒素组合以产生意想不到的有效的注毒治疗。

[0227] 在另一实施方案中,治疗方法可以包括至少一种活性成分(至少AZD2716和/或LY43371),在一些情况下至少两种活性成分,并且在其他情况下,不超过两种活性成分,所述活性成分选自选择性sPLA2抑制剂(其也可作为有效的金属蛋白酶抑制剂)、金属蛋白酶抑制剂、丝氨酸蛋白酶抑制剂、一种或多种乙酰胆碱脂酶抑制剂、NMDA受体拮抗剂、L-氨基氧化酶抑制剂、透明质酸酶抑制剂和扩散因子抑制剂,以用于治疗遭受注毒的患者,优选在注毒后一定时间内,并且通常在注毒后几小时至不超过大约1小时的时间段内,更通常在被黄蜂或蜜蜂叮咬或刺伤后不超过约1至约20分钟,更经常是约1至约10分钟内治疗。

[0228] 在一实施方案中,除AZD2716和/或LY43371外,还有至少一种剂,所述至少一种制剂选自1H-吡啶-3-乙醛酰胺化合物,特别是伐瑞拉迪和/或甲基伐瑞拉迪,及任选SP抑制剂,如卡莫司他(N,N-二甲基氨基甲酰甲基,4-4-胍基苯甲酰氧基-苯乙酸酯或卡莫司特)和/或加贝酯(乙基-对[6-胍基己醇氧基]-苯甲酸甲磺酸酯);优选至少伐瑞拉迪,与乙酰胆碱脂酶抑制剂(AChE) (如新斯的明、腾喜龙或吡啶斯的明,它们优选与阿托品或甘罗溴铵联合使用)联合施用,被使用以提供一种特别有效的通用抗麻痹药,其显著的抗-血毒性活性是由另外的剂伐瑞拉迪和/或甲基伐瑞拉迪、卡莫司他和/或加贝酯赋予的。在某些实施方案中,施用的组合物包含有效量的至少AZD2716和/或LY43371,以及任选的伐瑞拉迪或甲基伐瑞拉迪,甲基伐瑞拉迪代谢为伐瑞拉迪,是哺乳动物中伐瑞拉迪的前体药物。

[0229] 在另一实施方案中,至少AZD2716和/或LY43371,和任选地至少伐瑞拉迪和/或甲基伐瑞拉迪,任选地与一种或多种另外的PLA2抑制剂组合,但优选至少伐瑞拉迪,与至少一种金属蛋白酶抑制剂(如普淋司他、马马司他或巴马司他,优选普淋司他)和/或至少一种乙酰胆碱脂酶抑制剂(AChE) (如新斯的明和/或阿托品)联合施用。在另外的一些实施方案中,一种或多种金属蛋白酶抑制剂及一种或多种乙酰胆碱脂酶抑制剂与伐瑞拉迪和/或甲基伐瑞拉迪一起使用,以降低被注毒受试者因出血、凝血或麻痹导致死亡或永久性虚弱的

可能性。

[0230] 在一实施方案中,本发明涉及使用至少一种PLA2抑制剂,例如3-(5'-苄基-2'-氨基甲酰基联苯-3-基)丙酸(化合物4),[1,1'-联苯]-3-丙酸,2'-(氨基羰基)- $\alpha$ -甲基-5'-(苯基甲基)-, ( $\alpha$ R)-(R)-7(也称为AZD2716或CAS 1845753-81-2)或其生物活性类似物,任选地与至少一种斯达汀联合,以治疗注毒(例如,蛇毒,或有毒的膜翅目叮咬或刺伤,例如来自蜜蜂,黄蜂,蝎子,蜘蛛,刺胞动物或其他群集膜翅目的叮咬或刺伤,如本文另外定义的)的方法。

[0231] 在一实施方案中,本发明涉及使用至少一种PLA2抑制剂,例如3-(5'-苄基-2'-氨基甲酰基联苯-3-基)丙酸(化合物4),[1,1'-联苯]-3-丙酸,2'-(氨基羰基)- $\alpha$ -甲基-5'-(苯基甲基)-, ( $\alpha$ R)-(R)-7(也称为AZD2716或CAS 1845753-81-2)或其生物活性类似物,任选地与至少一种斯达汀联合,以治疗脑型疟疾的方法。

[0232] 在一实施方案中,本发明涉及使用至少一种PLA2抑制剂,例如3-(5'-苄基-2'-氨基甲酰基联苯-3-基)丙酸(化合物4),[1,1'-联苯]-3-丙酸,2'-(氨基羰基)- $\alpha$ -甲基-5'-(苯基甲基)-, ( $\alpha$ R)-(R)-7(也称为AZD2716或CAS 1845753-81-2)或其生物活性类似物,任选地与至少一种斯达汀联合,以治疗溶血的方法。

[0233] 在一实施方案中,本发明涉及使用至少一种PLA2抑制剂,例如3-(5'-苄基-2'-氨基甲酰基联苯-3-基)丙酸(化合物4),[1,1'-联苯]-3-丙酸,2'-(氨基羰基)- $\alpha$ -甲基-5'-(苯基甲基)-, ( $\alpha$ R)-(R)-7(也称为AZD2716或CAS 1845753-81-2)或其生物活性类似物,任选地与至少一种斯达汀联合,以治疗头部创伤或创伤性脑损伤的方法。

[0234] 在一实施方案中,本发明涉及使用至少一种PLA2抑制剂,例如3-(5'-苄基-2'-氨基甲酰基联苯-3-基)丙酸(化合物4),[1,1'-联苯]-3-丙酸,2'-(氨基羰基)- $\alpha$ -甲基-5'-(苯基甲基)-, ( $\alpha$ R)-(R)-7(也称为AZD2716或CAS 1845753-81-2)或其生物活性类似物,任选地与至少一种斯达汀联合,以治疗肥大细胞疾病的方法。

[0235] 实施例

[0236] 实施例1:体外实验,PLA2抑制剂

[0237] 使用二庚酰基磷脂酰胆碱的1,2-二硫代类似物进行实验以评估sPLA2活性。蜜蜂毒液PLA2对照是100 $\mu$ g/mL的蜜蜂毒液溶液PLA2,作为阳性对照从试剂盒(Abcam试剂盒目录号ab133089)提供。在耶鲁分子发现中心(the Yale Center for Molecular Discovery)进行测定优化、筛选和剂量反应测量。实验在含有25mM Tris-HCl,pH 7.5(Cayman Chemical, Ann Arbor,MI,美国),10mM CaCl<sub>2</sub>(J.T.Baker),100mM KCl(Sigma,St.Louis,MO,美国),0.3% Triton X-100(Fluka)和454 $\mu$ M DTNB(Cayman Chemical)的测定缓冲液中进行,并将其铺板到透明的未经处理的384孔板(Corning,Corning,NY,美国)中。将毒液(Miami Serpentarium,Punta Gorda,FL,美国和Sigma)在1 $\times$ 磷酸盐缓冲盐水(Lonza,Basel,瑞士)中重建至10,000 $\mu$ g/mL的浓度。在所有情况下使用购自Sigma(*E.carinatus*和*D.russelli*)或Miami Serpentarium(所有其他)的粗制的、未分级的冻干毒液。伐瑞拉迪和甲基-伐瑞拉迪购自Chemietek(Indianapolis,IN,美国)并溶解在DMSO中以用于体外实验和碳酸氢盐/葡萄糖中以用于体内实验。基于在室温下进行的动力学酶测定,选择具有0.375mM 1,2-双(庚酰基)甘油磷酸胆碱(Cayman Chemical)(sPLA2底物)的毒液的活性。选择毒液浓度用于筛选和效力研究,其中相对于无毒液对照孔的任何背景活性观察到高sPLA2活性,并且在60

分钟时基质耗尽可忽略不计。使用的仪器包括Tecan Aquarius (Männedorf, 瑞士), Matrix PlateMatePlus (Hudson, NH, 美国), Titertek (Pforzheim, 德国) 和Thermo (Hudson, NH, 美国) Multidrop液体分配器和Tecan infinite M1000 (Männedorf, 瑞士) 板读取器。对于抑制剂和剂量反应测试, 使用多通道移液器 (Matrix, Hudson, NH, 美国) 或多点分配器 (Thermo, Hudson, NH, 美国, 或Titertek, Titertek, Pforzheim, 德国) 将10 $\mu$ L蛇毒或蜜蜂毒液 (+对照) 添加到测定板中。测定中的最终DMSO浓度为0.1%。然后加入10 $\mu$ L底物, 最终测定体积为20 $\mu$ L。在每个平板上的重复孔中的包括对照群体。阴性对照孔是载体 (仅DMSO), 没有小分子化合物。模拟全毒液活性抑制的阳性对照是其中未添加毒液的孔, 并且在其位置添加测定缓冲液。在开始时和在室温下反应60和120分钟后测量测定信号。在Tecan infiNiTe M1000平板读数器上量化信号, 测量405nm处的吸光度。从在60分钟或120分钟时的信号中减去起始时的信号。将这些背景校正值归一化为平板内的重复阴性和阳性对照孔的平均值。为了定义归一化标度, 将代表全毒液活性的阴性对照孔信号的平均值标准化为100%效应, 并且将代表毒液活性的完全抑制的阳性对照孔信号的平均值归一化至0%效果。并且板内的孔相应地缩放。在MicroSoft Excel中执行这些计算。将数据转移至GraphPad Prism (第6版, 2014, La Jolla, CA, USA), 绘制并拟合至模型, 使得可以确定IC<sub>50</sub>或EC<sub>50</sub>值。显著性测试由学生t计算, 所有其他测试都是描述性的。

[0238] 表1证明, 与来自北美、印度/亚洲和欧洲的毒蛇毒液相比, 伐瑞拉迪、甲基-伐瑞拉迪、LY433771和3-(5'-苄基-2'-氨基甲酰基联苯-3-基) 丙酸 (表1中的“化合物4”) 在体外对抗蜜蜂毒液sPLA2具有非常弱的抑制活性。针对sPLA2抑制, 在孵育60后, 使用显色测定法计算IC<sub>50</sub> ( $\mu$ M)。虽然证明了测试的抑制剂对蛇毒有高的效力, 但对蜜蜂毒液sPLA2没有临床意义的效力。

[0239] 表1

[0240]

	每种毒液抑制剂的 IC <sub>50</sub> , μM				
毒液	CroFab®	伐瑞拉迪	甲基-伐瑞拉迪	LY433771	化合物 4
铜斑蛇( <i>A. contortrix</i> )	0.13	0.0009	0.43	0.002	0.088
大响尾蛇( <i>C. atrox</i> )	0.04	0.0007	0.2	0.001	-
响尾蛇( <i>C. adamanteus</i> )	0.04	0.0008	0.36	0.001	-
尤纹蝰( <i>V. berus</i> )	-	0.0008	0.17	0.001	0.17
圆斑蝰蛇( <i>V. russelli</i> )	-	0.0004	0.08	0.001	-
热带响尾蛇( <i>C. terrificus</i> )	-	0.021	-	-	0.67
蜜蜂毒液	-	12-18	-	7.3-9.2	>70

[0241] 实施例2:体内实验,PLA2抑制剂

[0242] 将CD-1小鼠(Charles River Laboratories)随机分配至处理组(每组n=10)并在有或没有伐瑞拉迪的情况下在尾静脉接受蜜蜂毒液(5mg/kg) IV给药(5mg/kg IV,其在给药前立即混合或依次施用最初施用的毒液。对于SQ给药,首先施用毒液,然后通过SQ途径施用15mg/kg伐瑞拉迪,其中SQ=皮下给药)。实验在Pacific Biolabs(Hercules,CA,美国)进行,因此研究人员没有进行实验,因此不知情。监测动物的毒性迹象约36小时。在36小时观察后对存活的动物实施安乐死。对组织进行了大量检查,但没有收集以进行进一步处理。

[0243] 表2和图1显示了PLA2抑制对用蜜蜂毒液进行注毒的小鼠存活的影响。接收以5mg/kg静脉内注射蜜蜂毒液的10/10小鼠当用约10mg/kg的伐瑞拉迪(表2,治疗组1)共同处理时,存活30小时,而用蜜蜂毒液(5mg/kg)处理的10只小鼠中的7只小鼠(70%)平均在18小时内死亡,仅3只(30%)在观察期结束前存活30小时(表2,治疗组2)。图1显示IV施用高致死剂量的蜜蜂毒液后用不同途径的PLA2抑制剂治疗的小鼠百分比存活率。静脉内接受5mg/kg的蜜蜂毒液的5只小鼠当用10mg/kg伐瑞拉迪在不同静脉(注毒后1分钟)内静脉内(IV)处理时存活率为80%。与对照相比,静脉内接受5mg/kg的蜜蜂毒液的5只小鼠在注毒后立即用25mg/kg伐瑞拉迪皮下(SQ)处理时存活均匀延长。仅静脉内接受5mg/kg的蜜蜂毒液的6只小鼠中仅有16%(6只小鼠中的1只)存活。幸存的老鼠无意中接受了SQ而不是静脉注射毒液。

[0244] 表2



[0245]

组	处理	给药途径 给药水平	动物编号	给药时间	死亡时间	至死亡的时间 (分钟)
1	粗蜜蜂毒液 (过滤) (测试件 1) + 赋形剂	IV 5 mg/kg (毒液)	1	0813	n/a	n/a
			2	0813	n/a	n/a
			3	0814	0649	22 h, 35 分钟
			4	0815	0649	22 h, 34 分钟
			5	0815	n/a	n/a
			6	0816	0649	22 h, 33 分钟
			7	0817	1700	8 h, 43 分钟
			8	0817	0903	24 h, 46 分钟
			9	0818	1154	3 h, 36 分钟
			10	0819	n/a	n/a
平均:						1048
2	粗蜜蜂毒液 (过滤) (测试件 1) + 伐瑞拉迪 (测试件 4)	IV 5 mg/kg (毒液) 10 mg/kg (伐瑞拉迪)	11	0819	n/a	n/a
			12	0820	n/a	n/a
			13	0821	n/a	n/a
			14	0821	n/a	n/a
			15	0822	n/a	n/a
			16	0823	n/a	n/a
			17	0823	n/a	n/a
			18	0824	n/a	n/a
			19	0825	n/a	n/a
			20	0825	n/a	n/a
平均:						n/a

[0247] 鉴于PLA2抑制剂(在该实施例中,伐瑞拉迪)在人和蛇毒测定中仅具有<1/5,000-1/100,000的PLA2抑制剂活性,小鼠在致死的膜翅目注毒的情况下的存活益处是非常令人惊讶的。在体外,伐瑞拉迪和甲基-伐瑞拉迪不是蜜蜂毒液PLA2(例如,无脊椎动物和人肥大细胞中典型的III型sPLA2同种型)的有效抑制剂。类似地,化合物4对任何浓度的蜜蜂毒液实际上没有影响(参见表1)。据推测,PLA2抑制的直接和间接影响都是这种生存效应的原因,从而降低了灾难性凝血病、组织损伤和肾衰竭以及其他毒液、细胞内寄生虫感染及其后遗症(如脑疟疾)-或创伤诱导的病理学引起神经元损伤和不寻常的补体介导的溶血性贫血(例如阵发性睡眠性血红蛋白尿症(PNH))的可能性。

[0248] 实施例3:预防溶血:PLA2抑制剂体外实验

[0249] 图2-4证明伐瑞拉迪与柠檬酸盐/葡萄糖盐水溶液中的甘露醇联合可防止用各种不相关的蛇毒(眼镜蛇, 蝰蛇, 游蛇(Colubrid))处理的全人血液中的离体(ex-vivo)大量溶血。在图2中, 大量溶血是在含有游离血红蛋白的上清液可见的, 游离血红蛋白是在来自暴露于高剂量的蛇毒并用伐瑞拉迪/甘露醇/碳酸氢盐/柠檬酸盐/右旋糖(处理的)或赋形剂(甘露醇/碳酸氢盐/柠檬酸盐/右旋糖)(对照)处理后从人全血倾析的破裂红细胞。在每种情况下, 处理过的人血液(毒液和药物/赋形剂+/-对照)中没有大量的溶血。在每种情况下, 仅毒液/赋形剂对照中存在明显的大量溶血。

[0250] 在该实施例中, 将含有3cc人静脉血的离心样品与下述试剂(1)或(2)孵育60分钟: (1)是100 $\mu$ L的以1:1溶于在水中的碳酸氢盐8.4%和10%葡萄糖与毒液(比例为1:3)的伐瑞拉迪/甘露醇/柠檬酸盐(比例为1:2:1), 所用毒液为(a)100 $\mu$ L树栖鳞蛇毒液(*Dispholidus typus*), 异色蛇原液浓度10毫克/毫升, 或50 $\mu$ L金脚带(眼镜蛇)毒液(金环蛇(*Bungarus fasciatus*)的原液浓度1mg/mL)中; 或(2)是100 $\mu$ L的以1:1溶于在水中的碳酸氢盐8.4%和10%右旋糖与蝰蛇(viperid)毒液(比例为1:3)的伐瑞拉迪/甘露醇/柠檬酸盐(比例为1:2:1), 所用蝰蛇(viperid)毒液为(a)100 $\mu$ L拉塞尔蝰蛇毒液(*Daboia russelli*)原液浓度6mg/mL或原液10mg/mL, 或(b)100 $\mu$ L黑头响尾蛇毒液(*Crotalus helleri*)原液浓度10mg/mL。对照样品仅含有赋形剂或伐瑞拉迪+赋形剂。评估每个样品的血细胞比容值, 以估计用蒸馏水溶解(lysis)后释放的血红蛋白的量(g/dL)。图3(上)显示了对照和处理样品的释放的血红蛋白(g/dL)的相应血细胞比容值, 平均所有对照眼镜蛇样品(n=3), 所有对照蝰蛇样品(n=3), 所有眼镜蛇处理样品(n=3), 所有蝰蛇处理样品(n=3)。图3(下)进一步证明了施用伐瑞拉迪与甘露醇的毒液/宿主PLA2抑制作用的益处, 显示所有对照样品(n=3)和所有毒液处理样品(n=3)的平均值。图4显示了蛇科(眼镜蛇、游蛇和蝰蛇)和蛇种对毒液诱导的溶解的标准化抑制百分比。

[0251] 实施例4: 体外实验, PLA2抑制剂+斯达汀

[0252] 图5A-B显示斯达汀增强sPLA2抑制剂对防止用眼镜蛇毒液处理过的离体全人血液的溶血的作用。在图5A中, 将4cc人静脉血用以下试剂孵育90分钟: 50 $\mu$ L珊瑚蛇(*M. Fulvius*)毒液原液浓度5mg/mL和sPLA2抑制剂(1 $\mu$ M的伐瑞拉迪, 或1 $\mu$ M的3-(5'-苄基-2'-氨基甲酰基联苯-3-基)丙酸, 在本文中称为化合物4), 有或没有可溶性辛伐他汀“*InSol*<sup>®</sup>”(1 $\mu$ M)。对照样品含有未经药物处理的毒液或含有毒液加辛伐他汀。图5A所示的血红蛋白(Hgb)吸收光谱提供了吸光度与波长值的关系, 其表明了溶血的程度。图5A显示化合物4加上斯达汀的增强的抗溶血活性。伐瑞拉迪对溶血的抑制作用在所测试的毒液中加入斯达汀后保持不变, 这表明向sPLA2抑制剂中加入斯达汀可能是有利的。

[0253] 在图5B中, 将3cc人静脉血与100 $\mu$ L树蛇(树栖鳞蛇(*Dispholidus typus*))毒液原液浓度10mg/mL和化合物4(1 $\mu$ M)在具有或不具有可溶性辛伐他汀(1 $\mu$ M)的情况下孵育90分钟。对照样品含有未经处理的血液。图5B显示了具有和不具有斯达汀的化合物4的抗溶血活性。

[0254] 实施例5: 体外实验, PLA2抑制剂减少组胺和保护不受渗透性脆性影响

[0255] 表3显示了伐瑞拉迪和化合物4均减少人血液中组胺的产生或释放。在该实施例中, 收集来自倾向于LRR的供体的3cc人血, 并根据Quest收集方案36586在冰上运送至Quest, 并用(a)甘露醇+化合物4(10 $\mu$ M), (b)伐瑞拉迪(10 $\mu$ M), 或(c)单独的甘露醇(赋形剂)

孵育。处理样品,检测血浆组胺水平,与仅有甘露醇的对照进行比较。

[0256] 表3

[0257]	样品	血浆组胺 ng/mL
	甘露醇赋形剂 (对照)	15.9
	化合物 4	10.1
	伐瑞拉迪	5.1

[0258] 图6显示了PLA2抑制剂在半生理盐水 (0.45%) 的溶液中保护人红细胞免于渗透脆性的影响。在该实施例中,将100 $\mu$ L人静脉血液在半生理盐水中用 (a) 可溶性辛伐他汀 (1 $\mu$ M), (b) 伐瑞拉迪 (1 $\mu$ M), (c) 甲基-伐瑞拉迪 (1 $\mu$ M), (d) 化合物4 (1 $\mu$ M), (e) 化合物4+辛伐他汀或 (f) 单独的甘露醇赋形剂 (对照) 孵育 (120分钟,然后按照de Freitas et al J.Memb.Biol.2010描述的方案离心)。其中表示的血红蛋白 (Hgb) 吸收光谱提供吸光度与波长值的关系,其表明溶血的相对程度。图6表明辛伐他汀和化合物4的联合改善了化合物4的保护红细胞免于溶血影响的性能。认为化合物4抑制斯达汀的摄取,但与伐瑞拉迪相比,已显示化合物4具有几乎相同的sPLA2效力。参见Giordanetto, F., et al., ACS Med.Chem.Lett.2016:7,884-889。令人惊讶的是,化合物4不能有效对抗蛇毒sPLA2s,并且加入斯达汀可改善化合物4在促进渗透脆性的条件下防止红细胞破裂的能力。

[0259] 表4

[0260]	药名 10 $\mu$ M	大响尾蛇( <i>C. atrox</i> ) 蛇毒 MP 抑制效果 (%)	锯鳞蝰( <i>E. carinatus</i> ) 蛇毒 MP 抑制效果 (%)	珊瑚蛇( <i>M. fulvius</i> ) 蛇毒 sPLA2 抑制 效果 (%)
	辛伐他汀	4.03	-0.20 to 4.61	16.41
[0261]	伊伐他汀	5.09	0.48	-
	普伐他汀	2.27	4.02	6.90
	美伐他汀	7.17	-1.89 to 3.82	16.29
	洛伐他汀	-	-1.89	11.09

[0262] 表4显示斯达汀对MP没有影响或影响很小,但对经筛选的sPLA2毒液 (珊瑚蛇 (*M. fulvius*) 毒液) 具有小但令人惊讶的影响。如图5和6所示,向化合物4中加入辛伐他汀 (已知其通过1B1抑制斯达汀摄取) 与不含辛伐他汀的化合物4相比以及与伐瑞拉迪相比,可改善化合物4的性能,从而减少暴露于高浓度的珊瑚蛇 (东部珊瑚蛇) 和树栖鳞蛇 (*D. typus*) (树蛇) 毒液的全血中的溶血。斯达汀对MP没有影响或影响极小,而且在仅10 $\mu$ M就对于来自珊瑚蛇蛇毒毒液的sPLA2具有前所未有的影响。珊瑚蛇 (东部珊瑚蛇,眼镜蛇) 的sPLA2抑制作用由不同HMG-CoA还原酶抑制剂 (“斯达汀”) 提供:辛伐他汀16.41%,普伐他汀6.9%,美伐他汀16.29%,洛伐他汀11.09%。针对大响尾蛇 (*C. atrox*) 和锯鳞蝰 (*E. carinatus*) (西部小菜蛾响尾蛇和锯鳞蛇) 的蛇毒金属蛋白酶抑制作用:辛伐他汀, -0.20至4.61%;伊伐他汀

0.48至5.09%；普伐他汀2.27至4.02%；美伐他汀-1.89至7.17%；洛伐他汀对于锯鳞蝥(E.carinatus)为-1.89%。

[0263] 图7显示在使用树蛇(boomslang)毒液(其与MP含量相比具有非常低的sPLA2含量)或蜜蜂毒液(III型sPLA2)的亚致死注毒的情况下,伐瑞拉迪和化合物4各自保护小鼠肾脏免受色素肾病、肾积水和其他严重结构损伤的影响。根据以上实施例1中详述的方案,与毒液同时施用单剂量的伐瑞拉迪(LY315920)或3-(5'-苄基-2'-氨基甲酰基联苯-3-基)丙酸(化合物4)。假处理的小鼠用作对照。来自经伐瑞拉迪治疗的动物的肾脏700表现出最小的急性肾损伤迹象。与伐瑞拉迪相比,来自经化合物4处理的动物720的肾脏表现出相对最小的急性肾损伤迹象,尽管体外对蛇毒的效力较差(IC50)。来自对照治疗的动物730的肾脏表现出严重的急性损伤迹象,包括色素肾病、出血和组织退化。这些结果表明即使直接抑制毒液sPLA2是次优的,甚至在毒液/毒液施用后24小时,PLA2抑制剂也能保护肾免受毒液诱发的肾病。

[0264] 图8显示了全蜜蜂(意大利蜜蜂(Apis mellifera))毒液进行亚致死注毒后,在未经处理800的情况下或在使用初始剂量的伐瑞拉迪(LY315920)810,随后在饮食中随意采用口服甲基伐瑞拉迪(LY333013)的情况下,小鼠肾脏中色素肾病805和充血的水平降低。根据以上实施例1中详述的方案,与蜜蜂毒液同时施用单剂量的伐瑞拉迪(LY315920)。随后将甲基伐瑞拉迪(LY333013)随意喂食至经LY315920处理的小鼠,以及仅含有赋形剂的饮食喂食至对照小鼠。在注毒后36小时检查肾脏,显示出针对AKI的良好保护。该方案还举例说明了IV和PO给药方案如何才能互换。

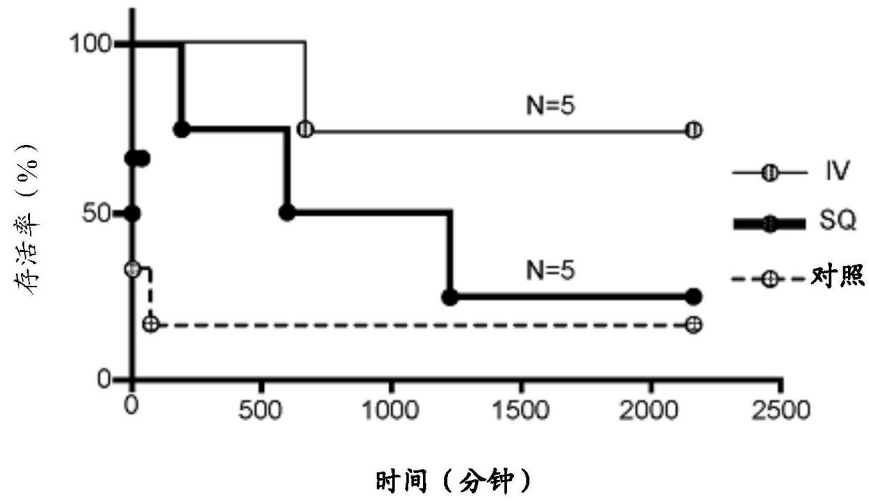


图1

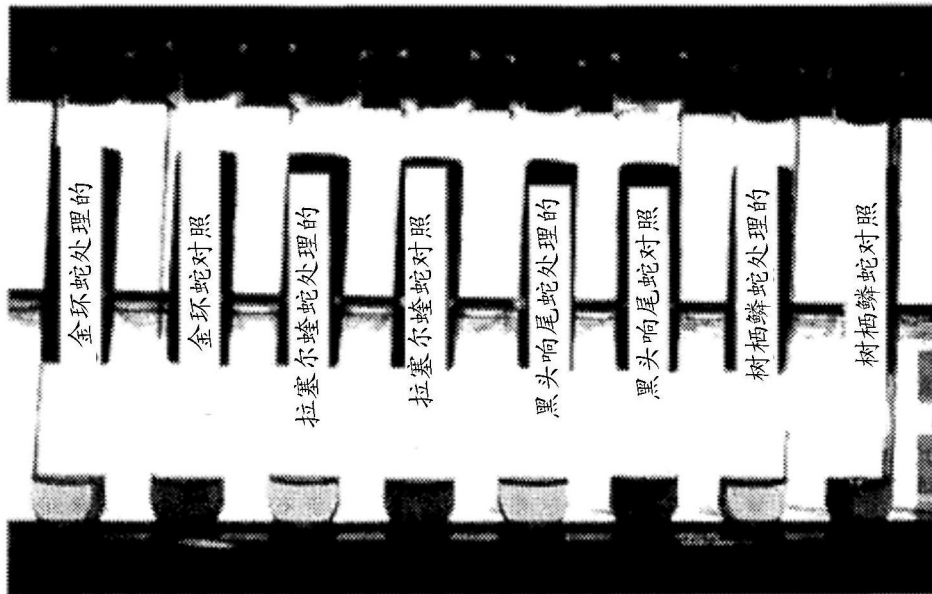


图2

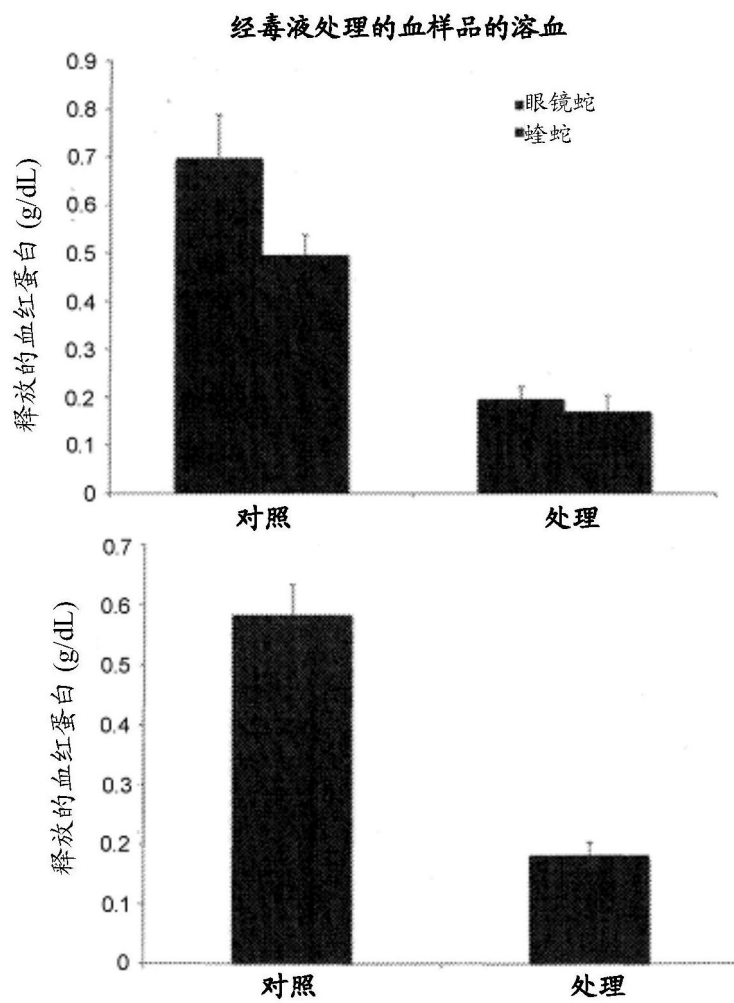


图3

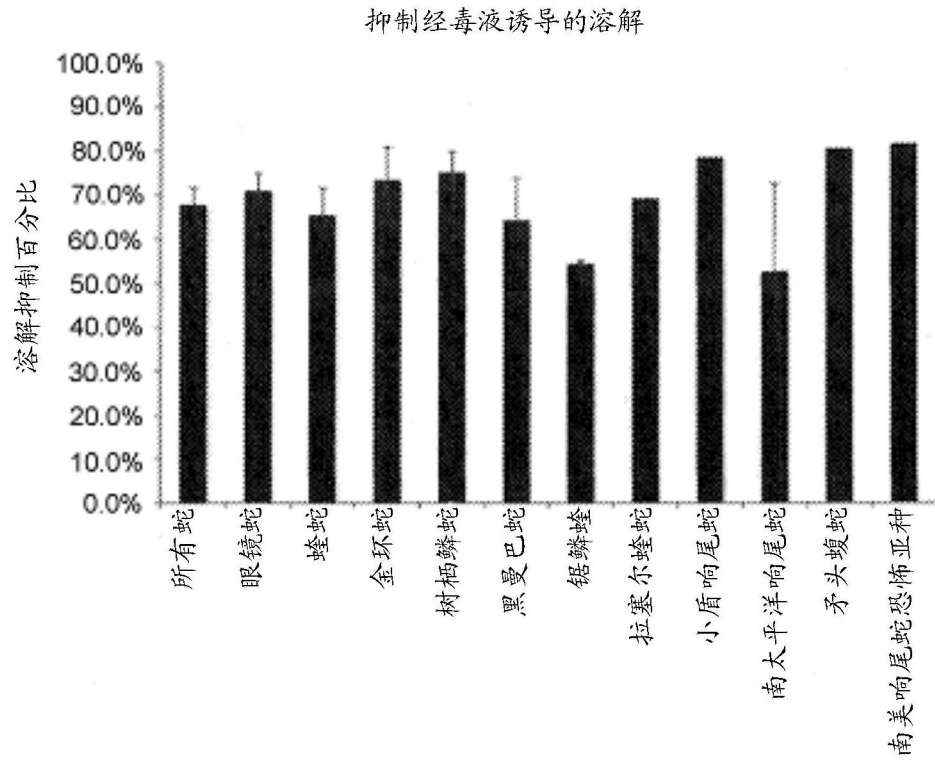


图4

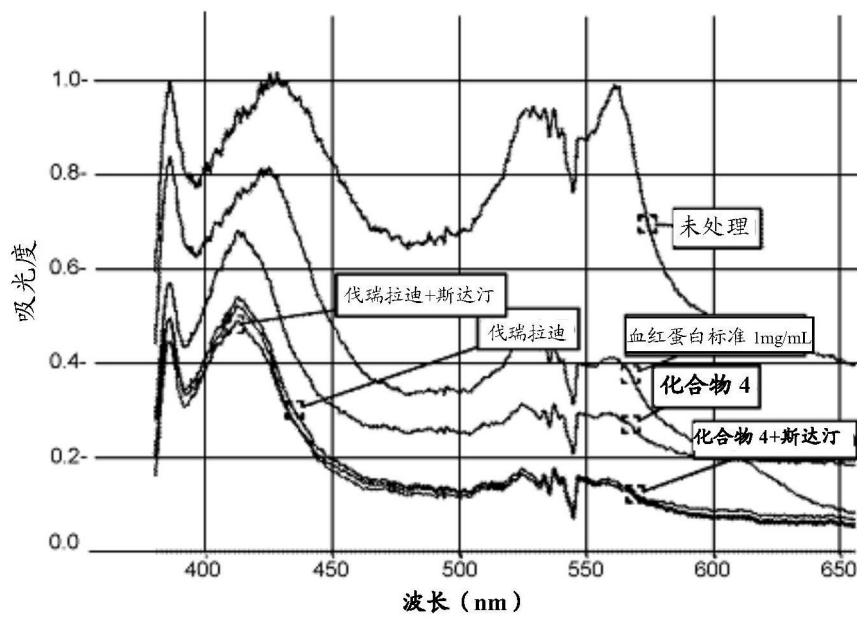


图5A

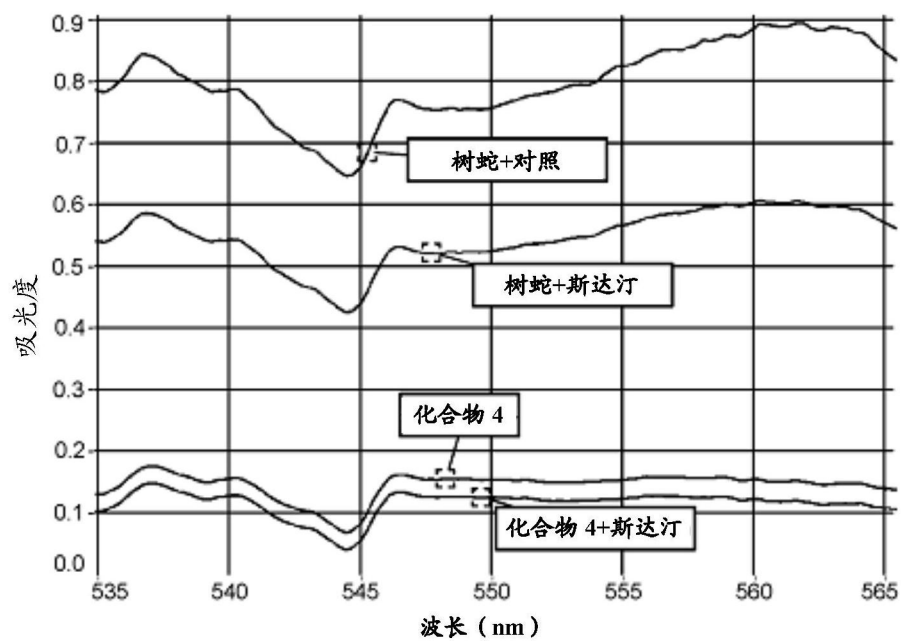


图5B

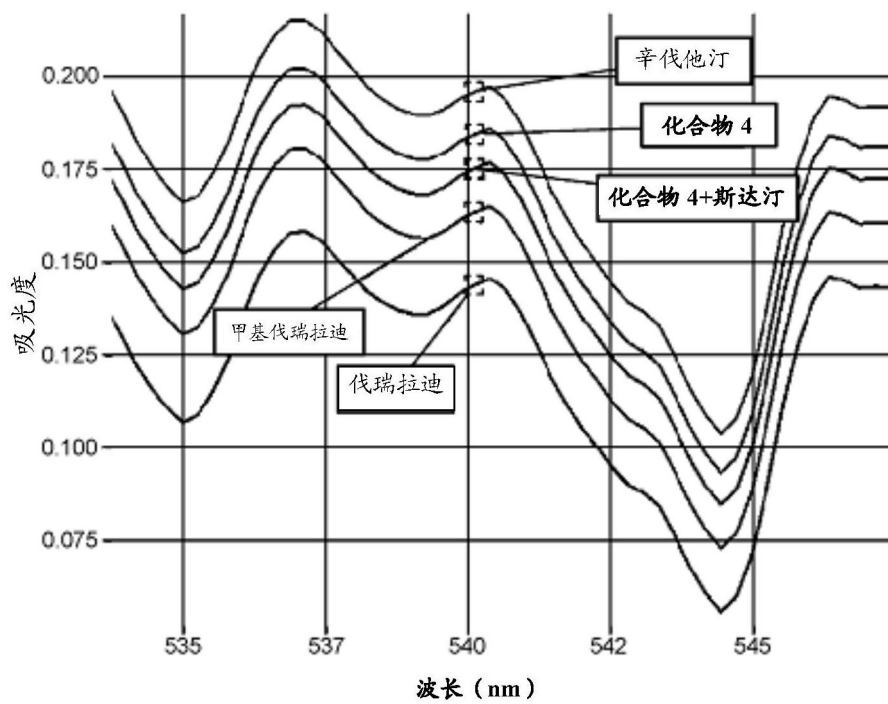


图6



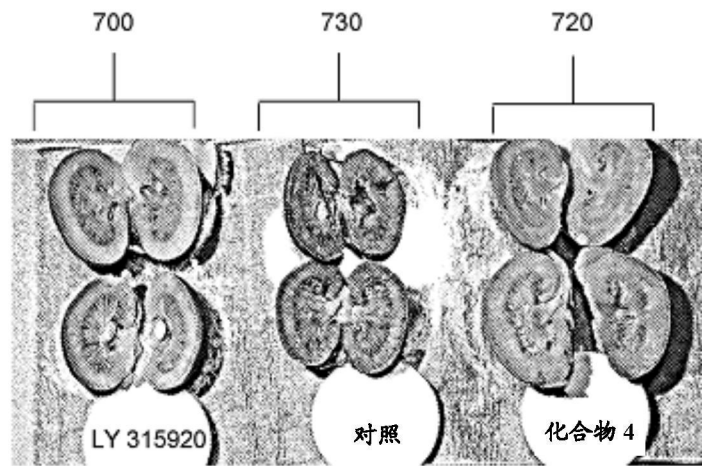


图7

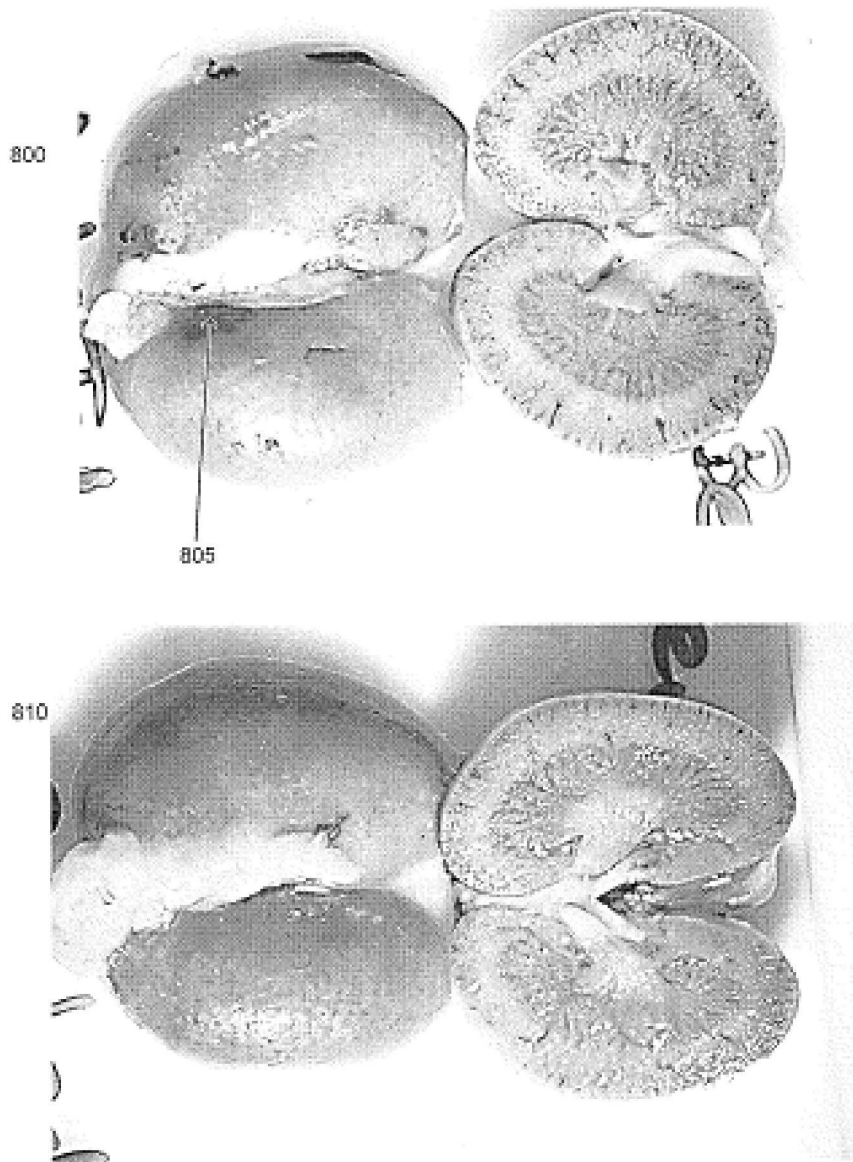


图8