(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 115835878 A
(43)申请公布日 2023.03.21

(21)申请号 202180036665.6
(22)申请日 2021.03.19
(30)优先权数据
62/992,826 2020.03.20 US
63/027,092 2020.05.19 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2022.11.21
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2021/023345 2021.03.19
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2021/189013 EN 2021.09.23
(71)申请人 钙医学公司
地址 美国加利福尼亚州
(72)发明人 肯尼思·A·斯陶德曼
迈克尔·杜恩 苏达山·赫巴尔
雷切尔·莱尼
(74)专利代理机构 北京安信方达知识产权代理有限公司 11262
专利代理师 徐爱文 武晶晶
(51)Int.Cl.
A61K 38/17(2006.01)

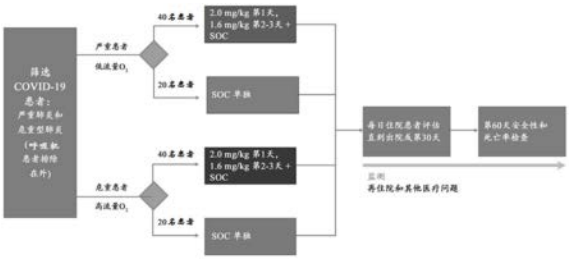
权利要求书3页 说明书53页 附图16页

(54)发明名称

治疗急性肺损伤和急性呼吸窘迫综合征的方法和组合物

(57)摘要

本文公开了涉及通过药物操纵钙信号传导来治疗急性肺损伤(ALI)和急性呼吸窘迫综合征(ARDS),包括病毒性肺炎,的组合物和方法。此类组合物和方法可用于减少可能导致ALI和/或ARDS的促炎性细胞因子释放。



CN 115835878 A

1.一种用于治疗对象的急性肺损伤(ALI)或急性呼吸窘迫综合征(ARDS)的方法,其包括向所述对象施用治疗有效量的细胞内钙信号传导抑制剂。

2.一种在有发生急性肺损伤(ALI)或急性呼吸窘迫综合征(ARDS)风险的对象中预防ALI或ARDS的方法,其包括向所述对象施用治疗有效量的细胞内钙信号传导抑制剂。

3.如权利要求1或2所述的方法,其中所述ALI或ARDS包括肺炎。

4.如权利要求3所述的方法,其中所述肺炎包括严重肺炎。

5.如权利要求3所述的方法,其中所述肺炎包括危重型肺炎。

6.如权利要求3-5中任一项所述的方法,其中所述肺炎包括病毒性肺炎。

7.如权利要求6所述的方法,其中所述病毒性肺炎包括由冠状病毒、腺病毒、流感病毒、鼻病毒或呼吸道合胞病毒引起的病毒性肺炎。

8.如权利要求7所述的方法,其中所述病毒性肺炎包括由冠状病毒引起的病毒性肺炎。

9.如权利要求8所述的方法,其中所述冠状病毒是SARS-CoV、SARS-CoV-2或MERS-CoV。

10.如权利要求9所述的方法,其中所述冠状病毒是SARS-CoV-2。

11.如权利要求6所述的方法,其中所述病毒性肺炎包括由流感病毒引起的病毒性肺炎。

12.如权利要求11所述的方法,其中所述流感病毒包括甲型流感、乙型流感、丙型流感或丁型流感。

13.如权利要求3-12中任一项所述的方法,其中所述肺炎包括严重或危重型COVID-19肺炎。

14.如权利要求1-5中任一项所述的方法,其中所述ALI或ARDS是由通气机引起的。

15.如权利要求1-14中任一项所述的方法,还包括将所述对象鉴定为患有ALI。

16.如权利要求1-15中任一项所述的方法,还包括将所述对象鉴定为患有ARDS。

17.如权利要求1-16中任一项所述的方法,在所述施用治疗有效量的细胞内钙信号传导抑制剂之后,所述对象中的细胞因子表达水平从基线水平下降。

18.如权利要求17所述的方法,其中所述细胞因子选自IL-2、IL-6、IL-7、IL-17、TNF-α、IFN-α、IFN-β、IFN-ω和IFN-γ。

19.如权利要求1-16中任一项所述的方法,在所述施用治疗有效量的细胞内钙信号传导抑制剂之后,所述对象中的D-二聚体表达水平从基线水平下降。

20.如权利要求1-19中任一项所述的方法,其中所述细胞内钙信号传导抑制剂是库操纵的钙(SOC)通道抑制剂。

21.如权利要求1-20中任一项所述的方法,其中所述细胞内钙信号传导抑制剂是Ca2+释放激活的(CRAC)通道抑制剂。

22.如权利要求1-21中任一项所述的方法,其中所述细胞内钙信号传导抑制剂抑制包含基质相互作用分子1(STIM1)蛋白的通道。

23.如权利要求1-22中任一项所述的方法,其中所述细胞内钙信号传导抑制剂抑制包含Orai1蛋白的通道。

24.如权利要求1-23中任一项所述的方法,其中所述细胞内钙信号传导抑制剂抑制包含Orai2蛋白的通道。

25.如权利要求1-24中任一项所述的方法,其中所述细胞内钙信号传导抑制剂是具有

以下结构的化合物:N-(5-(6-乙氧基-4-甲基吡啶-3-基)吡嗪-2-基)-2,6-二氟苯甲酰胺、N-(5-(2-乙基-6-甲基苯并[d]噁唑-5-基)吡啶-2-基)-3,5-二氟异烟酰胺、N-(4-(1-乙基-3-(噻唑-2-基)-1H-吡唑-5-基)苯基)-2-氟苯甲酰胺、N-(5-(1-乙基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-5-基)吡嗪-2-基)-2,4,6-三氟苯甲酰胺、4-氯-1-甲基-N-(4-(1-甲基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-5-基)苯基)-1H-吡唑-5-甲酰胺、N-(4-(3-(二氟甲基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)-3-氟苯基)-2,6-二氟苯甲酰胺、N-(4-(3-(二氟甲基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)-3-氟苯基)-2,4,6-三氟苯甲酰胺、N-(4-(3-(二氟甲基)-1-甲基-1H-吡唑-5-基)-3-氟苯基)-2,4,6-三氟苯甲酰胺、4-氯-N-(3-氟-4-(1-甲基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-5-基)苯基)-1-甲基-1H-吡唑-5-甲酰胺、3-氟-4-(1-甲基-3-(三氟甲基)-1H—吡唑-5-基)-N-((3-甲基异噻唑-4-基)甲基)苯胺、N-(5-(7-氯-2,3-二氢-[1,4]二噁英并[2,3-b]吡啶-6-基)吡啶-2-基)-2,6-二氟苯甲酰胺、N-(2,6-二氟苄基)-5-(1-乙基-3-(噻唑-2-基)-1H-吡唑-5-基)嘧啶-2-胺、3,5-二氟-N-(3-氟-4-(3-甲基-1-(噻唑-2-基)-1H-吡唑-4-基)苯基)异烟酰胺、5-(1-甲基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-5-基)-N-(2,4,6-三氟苄基)吡啶-2-胺、N-(5-(1-乙基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-5-基)吡啶-2-基)-2,4,6-三氟苯甲酰胺、N-(5-(5-氯-2-甲基苯并[d]噁唑-6-基)吡嗪-2-基)-2,6-二氟苯甲酰胺、N-(5-(6-乙氧基-4-甲基吡啶-3-基)噻唑-2-基)-2,3,6-三氟苯甲酰胺、N-(5-(1-乙基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-5-基)吡啶-2-基)-2,3,6-三氟苯甲酰胺、2,3,6-三氟-N-(3-氟-4-(1-甲基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-5-基)苯基)苯甲酰胺、2,6-二氟-N-(4-(5-甲基-2-(三氟甲基)噁唑-4-基)苯基)苯甲酰胺或N-(5-(6-氯-2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)吡嗪-2-基)-2-氟-6-甲基苯甲酰胺;或其药学上可接受的盐、药学上可接受的溶剂化物或药学上可接受的前药。

26.如权利要求1-25中任一项所述的方法,其中所述细胞内钙信号传导抑制剂是化学名称为N-(5-(6-氯-2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)吡嗪-2-基)-2-氟-6-甲基苯甲酰胺的化合物,或其药学上可接受的盐、药学上可接受的溶剂化物或药学上可接受的前药。

27.如权利要求1-26中任一项所述的方法,其中所述细胞内钙信号传导抑制剂是化学名称为2,6-二氟-N-(1-(4-羟基-2-(三氟甲基)苄基)-1H-吡唑-3-基)苯甲酰胺的化合物,或其药学上可接受的盐、药学上可接受的溶剂化物或药学上可接受的前药。

28.一种组合物,其包含细胞内钙信号传导抑制剂和至少一种用于治疗ALI或ARDS的化合物。

29.一种药物组合物,其包含治疗有效量的如权利要求25所述的化合物和药学上可接受的赋形剂。

30.如权利要求28或29所述的组合物,其中所述化合物选自:前列腺素抑制剂、补体抑制剂、β-激动剂、β-2激动剂、粒细胞巨噬细胞集落刺激因子、皮质类固醇、N-乙酰半胱氨酸、他汀类、胰高血糖素样肽-1(7-36)酰胺(GLP-1)、髓系细胞触发受体(TREM1)阻滞肽、17-烯丙基氨基-17-脱甲氧基格尔德霉素(17-AAG)、肿瘤坏死因子(TNF)抗体、重组白介素(IL)-1受体拮抗剂、苯磺顺阿曲库胺、抗病毒药物、瑞德西韦、羟氯喹、氯喹和血管紧张素转化酶(ACE)抑制剂。

31.一种给药方案,其包括向对象施用用于治疗ALI或ARDS的化合物以及施用细胞内钙信号传导抑制剂。

32.一种用于在有发生ALI或ARDS风险的对象中预防ALI或ARDS的组合物，包括施用治疗有效量的细胞内钙信号传导抑制剂。

33.一种药物组合物，其包含治疗有效量的如权利要求32所述的组合物和药学上可接受的赋形剂。

治疗急性肺损伤和急性呼吸窘迫综合征的方法和组合物

交叉引用

[0001] 本申请要求于2020年3月20日提交的美国临时申请号62/992,826和于2020年5月19日提交的美国临时申请号63/027,092的权益,所述临时申请中的每个通过引用以其全文并入本文。

背景技术

[0002] 急性肺损伤(ALI)和急性呼吸窘迫综合征(ARDS)描述了急性呼吸衰竭的临床综合征,发病率和死亡率都很高。在当前COVID-19大流行的情况下,对于感染了COVID-19的患者来说,他们的免疫应答可能导致“细胞因子风暴”,进而可能引起ALI、ARDS、死亡,或在幸存者的情况下,造成永久性肺功能受损。

发明内容

[0003] 本文提供的实施方案涉及为治疗急性肺损伤(ALI)和急性呼吸窘迫综合征(ARDS)而减少促炎性细胞因子释放、肺内皮和上皮屏障破坏的方法和组合物。

[0004] 一方面,本公开提供了一种用于治疗对象的急性肺损伤(ALI)或急性呼吸窘迫综合征(ARDS)的方法,其包括向所述对象施用治疗有效量的细胞内钙信号传导抑制剂。

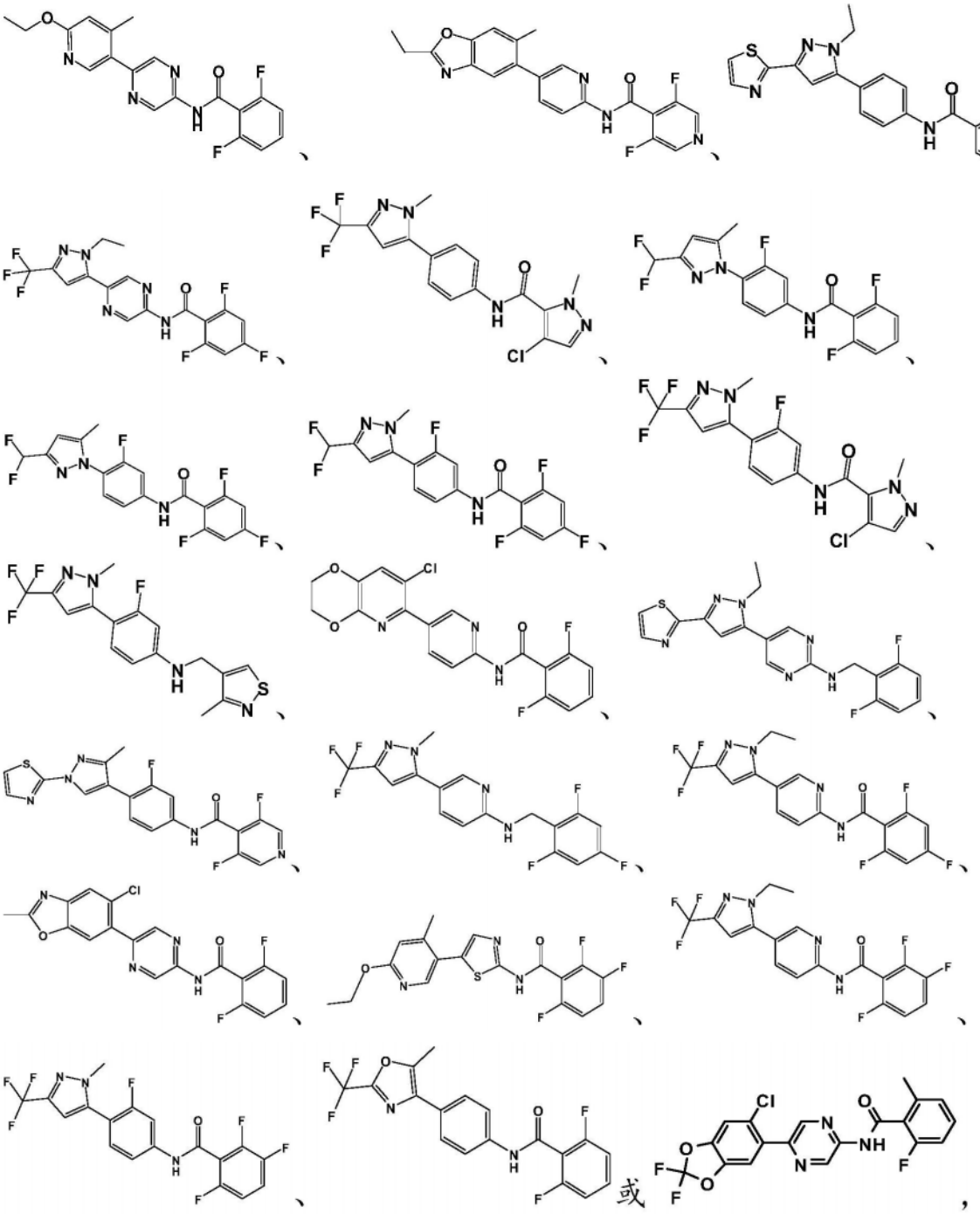
[0005] 另一方面,本公开提供了一种在有发生或经历急性肺损伤(ALI)或急性呼吸窘迫综合征(ARDS)风险的对象中预防或治疗ALI或ARDS的方法,其包括向所述对象施用治疗有效量的细胞内钙信号传导抑制剂。

[0006] 在一些实施方案中,ALI或ARDS包括肺炎。在一些实施方案中,肺炎包括病毒性肺炎。在一些实施方案中,病毒性肺炎包括由冠状病毒、腺病毒、流感病毒、鼻病毒或呼吸道合胞病毒引起的病毒性肺炎。在一些实施方案中,病毒性肺炎包括由冠状病毒引起的病毒性肺炎。在一些实施方案中,冠状病毒是SARS-CoV、SARS-CoV-2或MERS-CoV。在一些实施方案中,冠状病毒是SARS-CoV-2。在一些实施方案中,肺炎包括严重或危重型COVID-19肺炎。在一些实施方案中,ALI或ARDS是由通气机引起的(或由败血症、创伤、吸入有毒物质、输血、可卡因或其他药物过量、胰腺炎、烧伤等引起)。一些实施方案包括将对象鉴定为患有ALI。一些实施方案包括将对象鉴定为患有ARDS。

[0007] 在一些实施方案中,在施用治疗有效量的细胞内钙信号传导抑制剂后,对象中的细胞因子表达水平从基线水平下降。在一些实施方案中,细胞因子选自IL-6、IL-7、IL-17、TNF-α、IFN-α、IFN-β、IFN-ω和IFN-γ。在一些实施方案中,在施用治疗有效量的细胞内钙信号传导抑制剂后,对象中的D-二聚体的表达水平从基线水平下降。

[0008] 在一些实施方案中,细胞内钙信号传导抑制剂是SOC通道抑制剂。在一些实施方案中,细胞内钙信号传导抑制剂是CRAC通道抑制剂。在一些实施方案中,细胞内钙信号传导抑制剂抑制包含STIM1蛋白的通道。在一些实施方案中,细胞内钙信号传导抑制剂抑制包含Orai1蛋白的通道。在一些实施方案中,细胞内钙信号传导抑制剂抑制包含Orai2蛋白的通道。

[0009] 在一些实施方案中，细胞内钙信号传导抑制剂是具有以下结构的化合物：



（统称为“化合物A”），或其药学上可接受的盐、药学上可接受的溶剂化物或药学上可接受的前药。在一些实施方案中，细胞内钙信号传导抑制剂是具有化合物A组结构的化合物或其纳米颗粒制剂，包括纳米颗粒悬液或乳液。

[0010] 在一些实施方案中，细胞内钙信号传导抑制剂是化合物N-(5-(6-氯-2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)吡嗪-2-基)-2-氟-6-甲基苯甲酰胺。在一些方面，细胞内钙信号传导抑制剂是化合物N-(5-(6-氯-2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)吡嗪-2-基)-2-氟-6-甲基苯甲酰胺，或其药学上可接受的盐、药学上可接受的溶剂化物或药学上可接受的前药。在一些方面，细胞内钙信号传导抑制剂选自以下化合物：N-(5-(6-乙

氧基-4-甲基吡啶-3-基)吡嗪-2-基)-2,6-二氟苯甲酰胺、N-(5-(2-乙基-6-甲基苯并[d]噁唑-5-基)吡啶-2-基)-3,5-二氟异烟酰胺、N-(4-(1-乙基-3-(噻唑-2-基)-1H-吡唑-5-基)苯基)-2-氟苯甲酰胺、N-(5-(1-乙基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-5-基)吡嗪-2-基)-2,4,6-三氟苯甲酰胺、4-氯-1-甲基-N-(4-(1-甲基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-5-基)苯基)-1H-吡唑-5-甲酰胺、N-(4-(3-(二氟甲基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)-3-氟苯基)-2,6-二氟苯甲酰胺、N-(4-(3-(二氟甲基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)-3-氟苯基)-2,4,6-三氟苯甲酰胺、N-(4-(3-(二氟甲基)-1-甲基-1H-吡唑-5-基)-3-氟苯基)-2,4,6-三氟苯甲酰胺、4-氯-N-(3-氟-4-(1-甲基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-5-基)苯基)-1-甲基-1H-吡唑-5-甲酰胺、3-氟-4-(1-甲基-3-(三氟甲基)-1H—吡唑-5-基)-N-((3-甲基异噻唑-4-基)甲基)苯胺、N-(5-(7-氯-2,3-二氢-[1,4]二噁英并[2,3-b]吡啶-6-基)吡啶-2-基)-2,6-二氟苯甲酰胺、N-(2,6-二氟苄基)-5-(1-乙基-3-(噻唑-2-基)-1H-吡唑-5-基)嘧啶-2-胺、3,5-二氟-N-(3-氟-4-(3-甲基-1-(噻唑-2-基)-1H-吡唑-4-基)苯基)异烟酰胺、5-(1-甲基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-5-基)-N-(2,4,6-三氟苄基)吡啶-2-胺、N-(5-(1-乙基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-5-基)吡啶-2-基)-2,4,6-三氟苯甲酰胺、N-(5-(5-氯-2-甲基苯并[d]噁唑-6-基)吡嗪-2-基)-2,6-二氟苯甲酰胺、N-(5-(6-乙氧基-4-甲基吡啶-3-基)噻唑-2-基)-2,3,6-三氟苯甲酰胺、N-(5-(1-乙基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-5-基)吡啶-2-基)-2,3,6-三氟苯甲酰胺、2,3,6-三氟-N-(3-氟-4-(1-甲基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-5-基)苯基)苯甲酰胺、2,6-二氟-N-(4-(5-甲基-2-(三氟甲基)噁唑-4-基)苯基)苯甲酰胺或N-(5-(6-氯-2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)吡嗪-2-基)-2-氟-6-甲基苯甲酰胺,(统称为“化合物A”),或其药学上可接受的盐、药学上可接受的溶剂化物或药学上可接受的前药。

[0011] 在一些实施方案中,细胞内钙信号传导抑制剂是化学名称为N-(5-(6-氯-2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)吡嗪-2-基)-2-氟-6-甲基苯甲酰胺的化合物,或其药学上可接受的盐、药学上可接受的溶剂化物或药学上可接受的前药。

[0012] 在一些实施方案中,细胞内钙信号传导抑制剂是化学名称为2,6-二氟-N-(1-(4-羟基-2-(三氟甲基)苄基)-1H-吡唑-3-基)苯甲酰胺的化合物,或其药学上可接受的盐、药学上可接受的溶剂化物或药学上可接受的前药。

[0013] 另一方面,本公开提供了一种组合物,其包含细胞内钙信号传导抑制剂和至少一种用于治疗ALI或ARDS的化合物。在一些实施方案中,化合物选自:前列腺素抑制剂、补体抑制剂、β-激动剂、β-2激动剂、粒细胞巨噬细胞集落刺激因子、皮质类固醇、N-乙酰半胱氨酸、他汀类、胰高血糖素样肽-1(7-36)酰胺(GLP-1)、髓系细胞触发受体(TREM1)阻滞肽、17-烯丙基氨基-17-脱甲氧基格尔德霉素(17-AAG)、肿瘤坏死因子(TNF)抗体、重组白介素(IL)-1受体拮抗剂、苯磺顺阿曲库胺和血管紧张素转化酶(ACE)抑制剂。在一些实施方案中,化合物包括抗病毒化合物。在一些实施方案中,抗病毒化合物是抗冠状病毒化合物。在一些实施方案中,抗冠状病毒化合物包括瑞德西韦。在一些实施方案中,化合物包括抗生素。在一些实施方案中,化合物包括抗疟药。在一些实施方案中,化合物包括羟氯喹。在一些实施方案中,化合物包括氯喹。

[0014] 另一方面,本公开提供了一种给药方案,其包括向对象施用用于治疗ALI或ARDS的化合物和施用细胞内钙信号传导抑制剂。

[0015] 另一方面,本公开提供了一种组合物,其用于在有发生ALI或ARDS风险的对象中预

防ALI或ARDS,包括施用治疗有效量的细胞内钙信号传导抑制剂。

援引并入

[0011] 本说明书中提到的所有出版物、专利和专利申请都通过引用并入本文,就好像每个单独的出版物、专利或专利申请被明确地并单独地指示通过引用并入一样。

附图说明

[0012] 本发明的新颖特征在所附权利要求书中特别地阐述。通过参考以下对利用本发明原理的说明性实施方案加以阐述的详细描述和附图,将会获得对本发明的特征和优点的更好的理解,在这些附图中:

[0013] 图1A是示出了在严重COVID-19肺炎患者中评估CRAC抑制剂的临床试验设计的实例。

[0014] 图1B示出了临床试验研究中的专利注册和随机化。

[0015] 图2是示出了临床试验中期结果的图表。A臂中的1名患者因病情快速好转且提前出院而仅接受1剂Auxora;且B臂中的1名患者拒绝接受第三剂Auxora。B臂中的1名患者接受了全部3剂,在120h后被转移到另一个机构。在A臂标准护理组中,1名患者在因呼吸状态下降而未能插管(DNI)之后96h退出研究。

[0016] 图3是示出了用CRAC抑制剂或对照治疗的患者随时间的住院概率的绘图。

[0017] 图4包括示出了用CRAC抑制剂治疗后的PaO_2/FiO_2数据的绘图。

[0018] 图5A是示出了施用CRAC抑制剂的对象随时间的个体PaO_2/FiO_2数据的绘图。

[0019] 图5B是示出了施用CRAC抑制剂的对象随时间的个体PaO_2/FiO_2数据的绘图。

[0020] 图6是示出了用CRAC抑制剂或对照治疗的患者的顺序量表数据的绘图。

[0021] 图7是示出了细胞途径的插图。

[0022] 图8是示出了CRAC抑制剂的药效学读数与浓度关系的图表。

[0023] 图9A是指示了在一些用CRAC抑制剂或标准护理(SOC)治疗的人类患者中在第一时间点的降钙素原水平的图。

[0024] 图9B是指示了在一些用CRAC抑制剂或标准护理(SOC)治疗的人类患者中在第二时间点的降钙素原水平的图。

[0025] 图9C是指示了在一些用CRAC抑制剂或标准护理(SOC)治疗的人类患者中在第三时间点的降钙素原水平的图。

[0026] 图10A是示出了第一对象在接受CRAC抑制剂治疗前和后的炎症标志物水平的曲线图。

[0027] 图10B是示出了第二对象在接受CRAC抑制剂治疗前和后的炎症标志物水平的曲线图。

[0028] 图11是示出了使用Auxora治疗的严重COVID-19肺炎患者对比使用标准护理治疗的该患者的恢复率的曲线图。

[0029] 图12是示出了使用Auxora治疗的严重COVID-19肺炎患者对比使用标准护理治疗的该患者的达到组合物终点的患者比例的图。

[0030] 图13是示出了使用Auxora治疗的严重COVID-19肺炎患者对比使用标准护理治疗的该患者的随时间的8点顺序量表的曲线图。

[0031] 图14是示出了使用Auxora治疗的严重COVID-19肺炎(PaO_2/FiO_2在101与200之间)对比使用标准护理治疗的该患者的随时间的8点顺序量表的曲线图。

具体实施方式

[0032] 本文公开的方法和组合物用于调节细胞内钙,以治疗或预防急性肺损伤(ALI)和/或急性呼吸窘迫综合征(ARDS)。在一些方面,本文提供的化合物调节SOC通道活性。在一些方面,本文提供的方法和化合物调节CRAC通道活性。另一方面,本文提供的化合物调节STIM蛋白活性。另一方面,本文提供的方法和化合物调节Orai蛋白活性。另一方面,本文提供的方法和化合物调节STIM蛋白与Orai蛋白的功能相互作用。另一方面,本文提供的方法和化合物减少功能SOC通道的数量。另一方面,本文提供的方法和化合物减少功能CRAC通道的数量。在一些方面,本文所述的方法和化合物是SOC通道阻断剂。在一些方面,本文所述的方法和化合物是CRAC通道阻断剂或CRAC通道调节剂。

[0033] 钙在细胞功能和存活中起着至关重要的作用。具体来说,钙是信号转导到细胞中和细胞内的关键要素。细胞对生长因子、神经递质、激素和多种其他信号分子的反应是通过钙依赖性过程启动的。

[0034] 几乎所有的细胞类型都以某种方式依赖于细胞质Ca^{2+}信号的生成来调控细胞功能,或触发特定的反应。胞浆Ca^{2+}信号控制广泛的细胞功能,从诸如收缩和分泌的短期反应到细胞生长和增殖的长期调控。通常,这些信号涉及Ca^{2+}从细胞内库诸如内质网(ER)中的释放与Ca^{2+}穿过质膜的流入的一定组合。在一个实例中,细胞激活始于激动剂与表面膜受体的结合,该受体通过G蛋白机制与磷脂酶C(PLC)偶联。PLC激活导致肌醇1,4,5-三磷酸(IP_3)的产生,这反过来激活IP_3受体,造成从ER中释放Ca^{2+}。随后,ER Ca^{2+}的下降发出信号以激活质膜中库操纵的钙(SOC)通道。

[0035] 库操纵的钙(SOC)流入是细胞生理学中的一个过程,它控制着多种功能,诸如但不限于细胞内Ca^{2+}库的再填充(Putney等人Cell,75,199-201,1993)、酶活性的激活(Fagan等人,J.Biol.Chem.275:26530-26537,2000)、基因转录(Lewis,Annu.Rev.Immunol.19:497-521,2001)、细胞增殖(Nunez等人,J.Physiol.571.1,57-73,2006)以及细胞因子的释放(Winslow等人,Curr.Opin.Immunol.15:299-307,2003)。在一些不可兴奋细胞例如血细胞、免疫细胞、造血细胞、T淋巴细胞和肥大细胞、胰腺腺泡细胞(PAC)、其他腺体(例如唾液腺)的上皮和导管细胞、内皮细胞和内皮祖细胞(例如肺内皮细胞)中,SOC流入通过钙释放激活钙(CRAC)通道发生,CRAC通道是一种类型的SOC通道。

[0036] 钙流入机制被称为库操纵的钙内流(SOCE)。基质相互作用分子(STIM)蛋白是SOC通道功能的基本组成部分,充当用于检测钙从细胞内库的消耗和用于激活SOC通道的传感器。

[0037] 本文提供的临床前和动物研究表明,CRAC抑制剂诸如N-(5-(6-氯-2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)吡嗪-2-基)-2-氟-6-甲基苯甲酰胺(化合物1)可以治疗COVID-19肺炎、其他病毒性肺炎以及ALI或ARDS。化合物1已在伴有全身炎症反应综合征(SIRS)和低氧血症的急性胰腺炎(AP)患者(以及严重和/或危重型COVID-19肺炎患者)中进行了测试。用CRAC抑制剂治疗对象可能会导致对象中IL-6、IL-2、IL-17、TNFα和/或其他炎症性细胞因子的迅速减少。用诸如化合物1的CRAC抑制剂治疗对象可能会保留肺功能并保

护患者免受损伤。

钙稳态

[0038] 细胞钙稳态是参与控制细胞内钙水平和运动的调控系统总和的结果。细胞钙稳态的实现,至少部分是通过钙结合并且通过钙穿过质膜进出细胞的运动和通过钙在细胞内穿过细胞内细胞器的膜的运动实现的,该细胞内细胞器包括例如内质网、肌浆网、线粒体和内吞细胞器,包括核内体和溶酶体。

[0039] 钙穿过细胞膜的运动是由专门的蛋白质完成的。例如,来自细胞外空间的钙可以通过各种钙通道和钠/钙交换体进入细胞,并被钙泵和钠/钙交换体主动挤出细胞。钙也可以通过肌醇三磷酸或利阿诺定受体从内部库中释放,并可借助于钙泵被这些细胞器吸收。

[0040] 钙可以通过以下几种通用类别通道中的任一种进入细胞,包括但不限于电压操纵的钙(VOC)通道、配体门控钙通道、库操纵的钙(SOC)通道和以反向模式操纵的钠/钙交换体。VOC通道通过膜去极化来激活,并且见于像神经和肌肉等可兴奋细胞中,而在大多数情况下未见于不可兴奋细胞中。在一些条件下,Ca^{2+}可以通过以反向模式操纵的Na+-Ca^{2+}交换体进入细胞。

[0041] 内吞作用提供细胞通过核内体从细胞外基质中吸收钙的另一个过程。此外,一些细胞,例如外分泌细胞,可以通过胞吐作用释放钙。

[0042] 哺乳动物细胞中的胞浆钙浓度受到严格调控,其中静息水平据估计通常为大致0.1μM,而细胞外钙浓度通常为约2mM。这种严格调控促进信号通过瞬态钙通量穿过质膜和细胞内细胞器的膜转导进入细胞并处于细胞内。细胞中存在多重细胞内钙转运和缓冲系统,用于使细胞内钙信号成型并维持低静息胞质钙浓度。在静息状态下的细胞中,维持基础钙水平所涉及的主要组分是内质网和质膜两者中的钙泵和钙泄漏途径。静息时的胞浆钙水平的干扰会影响钙依赖性信号的传递,并造成许多细胞过程的缺陷。例如,细胞增殖涉及延长的钙信号传导传导序列。其他涉及钙信号传导传导的细胞过程包括但不限于分泌、转录因子信号传导和受精。

[0043] 激活磷脂酶C(PLC)的细胞表面受体从细胞内和细胞外来源产生胞浆Ca^{2+}信号。[Ca^{2+}]i(细胞内钙浓度)的初始瞬时上升是由内质网(ER)释放Ca^{2+}引起的,这是由PLC产物肌醇-1,4,5-三磷酸(IP_3)触发,打开了ER中的IP_3受体(Streb等人Nature,306,67-69,1983)。Ca^{2+}后续穿过质膜的持续内流期则通过质膜中专门的库操纵钙(SOC)通道(在不可兴奋细胞如免疫PAC细胞的情况下,SOC通道是钙释放激活钙(CRAC)通道)而得以发生。库操纵的Ca2+内流(SOCE)是一个过程,在这个过程中,Ca^{2+}库排空本身激活质膜中的Ca^{2+}通道,以帮助对库的再填充(Putney,Cell Calcium,7,1-12,1986;Parekh等人,Physiol.Rev.757-810;2005)。SOCE不仅仅是提供Ca2+来补充库,它本身也可以产生持续的Ca^{2+}信号,从而控制诸如基因表达、细胞代谢和胞吐作用的基本功能(Parekh和Putney,Physiol.Rev.85,757-810(2005)。

[0044] 在淋巴细胞和肥大细胞中,抗原或Fc受体的激活分别引起Ca^{2+}从细胞内库中的释放,进而造成Ca^{2+}通过质膜中的CRAC通道的流入。在包括单核细胞/巨噬细胞、中性粒细胞或树突状细胞的一些免疫细胞中,Ca^{2+}从细胞内库中的释放和Ca^{2+}通过质膜中的CRAC通道的流入可使得Fc受体没有被激活。细胞内Ca^{2+}的后续上升激活钙调磷酸酶,这是一种调控转录因子NFAT的磷酸酶。在静息细胞中,NFAT被磷酸化并驻留在细胞质中,但当被钙调磷酸酶脱

磷酸化时,NFAT会易位到细胞核中,并根据刺激条件和细胞类型激活不同的遗传程序。在对感染和移植排斥的反应中,NFAT与“效应”T细胞的细胞核中的转录因子AP-1(Fos-Jun)合作,从而反式激活细胞因子基因、调控T细胞增殖的基因和其他协调主动免疫应答的基因(Rao等人,Annu Rev Immunol.,1997;15:707-47)。相反,在识别自身抗原的T细胞中,NFAT在AP-1不存在的情况下被激活,并激活一种被称为“失能(anergy)”的转录程序,该程序抑制自身免疫应答(Macian等人,Transcriptional mechanisms underlying lymphocyte tolerance.Cell.2002Jun 14;109(6):719-31)。在被称为调控性T细胞(其抑制由自反应效应T细胞介导的自身免疫)的T细胞亚类中,NFAT与转录因子FOXP3合作以激活负责抑制功能的基因(Wu等人,Cell,2006Jul 28;126(2):375-87;Rudensky AY,Gavin M,Zheng Y.Cell.2006Jul 28;126(2):253-256)。

[0045] 内质网(ER)执行多个过程。ER具有Ca^{2+}储库和激动剂敏感性Ca^{2+}库的双重作用,并且蛋白质折叠/加工发生在其腔内。在后一种情况下,大量Ca^{2+}依赖性伴侣蛋白确保新合成的蛋白质被正确折叠并送到其适当的目的地。ER还参与囊泡运输、应激信号释放、胆固醇代谢调节和细胞凋亡。许多这些过程都需要腔内Ca^{2+}并且蛋白质错误折叠、ER应激反应和细胞凋亡都可以通过长时间消耗ER的Ca^{2+}来诱导。因为它含有有限数量的Ca^{2+},所以很明显,ER的Ca^{2+}含量必须在刺激过程中Ca^{2+}释放后下降。然而,为了保持ER的功能完整性,至关重要的是Ca^{2+}含量不要降得太低或至少保持在低水平。因此,Ca^{2+}对ER的补充是所有真核细胞的中心过程。由于ER Ca^{2+}含量的下降激活质膜中库操纵的Ca^{2+}通道,因此这种Ca^{2+}内流途径的主要功能被认为是维持ER Ca^{2+}水平,这是恰当的蛋白质合成和折叠所必需的。然而,库操纵的Ca^{2+}通道具有其他重要作用。

[0046] 电生理学研究提供了对库操纵的钙内流的理解,该研究证明了清空库的过程会激活肥大细胞中的Ca^{2+}电流,称为Ca^{2+}释放激活的Ca^{2+}电流或ICRAC。ICRAC是非电压激活的,向内整流的,并且对Ca^{2+}具有显著的选择性。它见于几种主要是造血起源的细胞类型中。ICRAC不是唯一的库操纵的电流,现在很明显,库操纵的流入涵盖一个Ca^{2+}可渗透通道家族,在不同的细胞类型中具有不同特性。ICRAC是第一个被描述的库操纵的Ca^{2+}电流,并且仍然是研究库操纵的流入的流行模型。

[0047] 库操纵的钙通道可以被清空ER Ca^{2+}库的任何程序激活;库是如何清空的似乎并不重要,净效应是激活库操纵的Ca^{2+}内流。从生理学上讲,库的清空是由IP_3水平升高或由其他Ca^{2+}释放信号继之Ca^{2+}从库中的释放引起的。但还有几种其他清空库的方法。这些方法包括以下:

1)胞浆中IP_3的升高(在受体刺激后,或用IP_3本身或相关同源物如非代谢类似物Ins(2,4,5)P_3透析胞浆);

2)Ca^{2+}离子载体(例如离子霉素)的应用,以渗透ER膜;

3)用高浓度的Ca^{2+}螯合剂(例如,EGTA或BAPTA)透析细胞质,该螯合剂螯合从库中漏出的Ca^{2+},且因此阻止库的再填充;

4)暴露于肌浆网/内质网Ca^{2+}-ATPase(SERCA)抑制剂,像毒胡萝卜素、环匹阿尼酸和二叔丁基对苯二酚;

5)使用像硫柳汞的试剂使IP_3受体对静息水平的InsP3敏感;以及

6)将像N,N,N',N'-四(2-吡啶基甲基)乙烯二胺(TPEN)的可透过膜的金属Ca^{2+}螯合

剂直接装入库中。

通过质量作用,TPEN降低了腔内游离Ca^{2+}浓度,而不改变总库Ca^{2+},从而生成库消耗依赖性信号。

[0048] 这些清空库的方法并非没有潜在问题。库操纵的Ca^{2+}内流的关键特征是,激活通道的是库内Ca^{2+}含量的下降,而不是随后细胞质Ca^{2+}浓度的上升。然而,离子霉素和SERCA泵阻断剂通常会引起细胞质Ca^{2+}浓度的上升,作为库耗尽的结果,并且这种Ca^{2+}的上升可以打开Ca^{2+}激活的阳离子通道,这些通道对Ca^{2+}是可渗透的。避免这类问题的一种方式是在细胞质Ca^{2+}已被高浓度的Ca^{2+}螯合剂(诸如EGTA或BAPTA)强烈缓冲的条件下使用试剂。

库操纵的钙内流

[0049] 由于诸如内质网的细胞内钙库中钙的释放而导致的钙浓度降低为钙从细胞外基质流入细胞提供了信号。这种钙的流入产生了胞浆钙浓度的持续“平台”升高,通常不依赖于电压门控的质膜通道,也不涉及钙对钙通道的激活。这种钙流入机制被称为电容性钙内流(CCE),钙释放激活的、库操纵的或消耗操纵的钙内流。库操纵的钙内流可以记录为具有独特特性的离子电流。此电流被称为I_{SOC}(库操纵的电流)或I_{CRAC}(钙释放激活的电流)。

[0050] 对库操纵的或钙释放激活的电流的电生理分析揭示独特的生物物理特性(参见,例如Parekh和Penner(1997)Physiol.Rev.77:901-930)。例如,电流可通过细胞内钙库的消耗(例如,通过非生理激活剂,诸如毒胡萝卜素、CPA、离子霉素和BAPTA,以及生理激活剂,诸如IP_3)被激活,并且较之生理溶液或条件下的单价离子,可对二价阳离子诸如钙有选择性,可受到胞浆钙水平变化的影响,并且在细胞外低浓度的二价阳离子存在下,可显示出改变的选择性和导电性。电流也可被2-APB阻断或增强(取决于浓度),并且被SKF96365和Gd^{3+}阻断,且通常可以被描述为不严格电压门控的钙电流。

[0051] 在肥大细胞和Jurkat白血病T细胞中的膜片钳研究已经建立了CRAC内流机制作为一种具有独特生物物理特征的离子通道,包括对Ca^{2+}的高选择性配有极低的电导率。此外,显示CRAC通道满足库操纵的严格标准,即仅通过ER中Ca^{2+}的减少的激活,而不是通过胞浆Ca^{2+}或PLC生成的其他信使(Prakriya等人,In Molecular and Cellular Insights into Ion Channel Biology(Robert Maue编著)121-140(Elsevier Science,Amsterdam,2004))。

细胞内钙库对库操纵的钙内流的调控

[0052] 库操纵的钙内流是由细胞内钙库内的钙水平调控的。细胞内钙库可以表征为对试剂的敏感性,这些试剂可以是生理的或药理的,它们激活钙从库中的释放或抑制钙向库中摄取。对不同细胞的细胞内钙库的特征进行了研究,并且库已被表征为对以下各种试剂敏感,包括但不限于IP_3和影响IP_3受体的化合物、毒胡萝卜素、离子霉素和/或环ADP-核糖(cADPR)(参见,例如Berridge(1993)Nature 361:315-325;Churchill和Louis(1999)Am.J.Physiol.276:$C_4$26-$C_4$34;Dargie等人(1990)Cell Regul.1:279-290;Gerasimenko等人(1996)Cell 84:473-480;Gromoda等人(1995)FEBS Lett.360:303-306;Guse等人(1999)Nature 398:70-73)。

[0053] 钙在内质网和肌浆网(SR;横纹肌内质网的一种特化版本)储存细胞器内的积聚是通过肌浆网-内质网钙ATPase(SERCA)实现的,SERCA通常被称为钙泵。在信号传导过程中(即当内质网通道被激活以提供钙从内质网向细胞质的释放时),内质网钙通过SERCA泵补

充从细胞外基质进入细胞的细胞质钙(Yu和Hinkle(2000)J.Biol.Chem.275:23648-23653;Hofer等人(1998)EMBO J.17:1986-1995)。

[0054] 与IP_3和利阿诺定受体相关的钙释放通道提供了钙从内质网和肌浆网向细胞质中的受控释放,导致细胞质钙浓度的短暂增加。IP_3受体介导的钙释放是在磷脂酶C的作用下通过质膜磷酸肌醇的分解形成的IP_3触发的,磷脂酶C通过激动剂与质膜G蛋白偶联受体或酪氨酸激酶的结合被激活。利阿诺定受体介导的钙释放是由细胞质钙的增加触发的,并且被称为钙诱导的钙释放(CICR)。利阿诺定受体(对利阿诺定和咖啡因有亲和力)的活性也可受到环ADP-核糖的调控。

[0055] 因此,库和细胞质中的钙水平会发生波动。例如,当HeLa细胞用组胺(一种PLC连接组胺受体的激动剂)处理时,ER游离钙浓度可从约60-400μM下降到约1-50μM(Miyawaki等人(1997)Nature 388:882-887)。当细胞内库的游离钙浓度降低时,库操纵的钙内流被激活。库钙的消耗,以及伴随的胞浆钙浓度的增加,可因此调控库操纵的钙内流入细胞。

细胞质钙缓冲

[0056] 细胞中信号传导过程的激动剂激活可涉及内质网的钙通透性例如通过IP_3受体通道的打开而显著增加,以及质膜的钙通透性通过库操纵的钙流入而显著增加。这些钙通透性的增加与胞浆钙浓度的增加有关,胞浆钙浓度可分为两个组成部分:IP_3受体激活期间从内质网释放的钙的"峰值"和平台期,这是钙从细胞外基质流入到细胞质中所造成的钙水平持续升高。刺激后,细胞内游离钙的静息浓度为约100nM,其可在细胞的微结构域内整体上升到大于1μM或更高。细胞通过内源性钙缓冲体调节这些钙信号,包括通过诸如线粒体、内质网和高尔基体的细胞器的生理缓冲。线粒体通过内膜上的单向转运体对钙的摄取是由较大的线粒体膜负电位驱动的,并且积聚的钙通过钠依赖性和非钠依赖性交换体缓慢释放,并且在一些情况下,通过通透性过渡孔(PTP)释放。因此,线粒体可以在细胞活化期间吸收钙来充当钙缓冲体,并在稍后缓慢释放。内质网中钙的摄取受肌浆网和内质网钙ATPase(SERCA)的调控。高尔基体中钙的摄取是由P型钙转运ATPase(PMR_1/$ATP2C_1$)介导的。此外,有证据表明,IP_3受体激活时释放的大量钙是通过质膜钙ATPase的作用从细胞中挤出。例如,质膜钙ATPase为人类T细胞和Jurkat细胞中的钙清除提供主要机制,尽管钠/钙交换也有助于人类T细胞中的钙清除。在储存钙的细胞器中,钙离子可以结合到专门的钙缓冲蛋白上,例如像集钙蛋白、钙网蛋白和钙联结蛋白。此外,胞浆中还有钙缓冲蛋白,它调节钙峰值并协助钙离子的再分布。因此,参与这些和其他机制中的任一种的蛋白质和其他分子都是涉及、参与和/或提供细胞质钙缓冲的蛋白质,通过这些机制,胞浆钙水平可得以降低。因此,细胞质钙缓冲有助于通过SOC通道或Ca^{2+}释放的爆发在钙持续流入期间调节细胞质的Ca^{2+}水平。细胞质Ca^{2+}水平的大量增加或库的再填充使SOCE失活。

下游钙内流介导的事件

[0057] 除了细胞内钙库的变化外,库操纵的钙内流还影响许多与库操纵的变化相关或附加的事件。例如,Ca^{2+}流入导致大量钙调蛋白依赖性酶的激活,包括丝氨酸磷酸酶钙调磷酸酶。细胞内钙的增加激活钙调磷酸酶,导致急性分泌过程,诸如肥大细胞脱颗粒。活化的肥大细胞释放预先形成的颗粒,其中含有组胺、肝素、TNFα和酶,诸如β-氨基己糖苷酶。一些细胞事件,诸如B细胞和T细胞增殖,需要持续的钙调磷酸酶信号传导,这需要细胞内钙的持续增加。许多转录因子受到钙调磷酸酶的调控,包括NFAT(活化T细胞的核因子)、MEF_2和NFκB。

NFAT转录因子在包括免疫细胞的许多细胞类型中发挥着重要作用。在免疫细胞中,NFAT介导大量分子的转录,包括细胞因子、趋化因子和细胞表面受体。NFAT的转录元件已见于诸如IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-8、IL-13以及肿瘤坏死因子α(TNFα)、粒细胞集落刺激因子(G-CSF)和γ-干扰素(γ-IFN)的细胞因子的启动子中。

[0058] NFAT蛋白的活性由其磷酸化水平调控,而磷酸化水平又由钙调磷酸酶和NFAT激酶两者调控。细胞内钙水平的增加激活钙调磷酸酶,导致NFAT脱磷酸化并内流到细胞核中。NFAT的再磷酸化掩盖了NFAT的核定位序列,并阻止其内流到细胞核中。由于NFAT的定位和活性高度依赖钙调磷酸酶介导的脱磷酸化,所以NFAT是细胞内游离钙水平的敏感指标。

CRAC通道和免疫应答

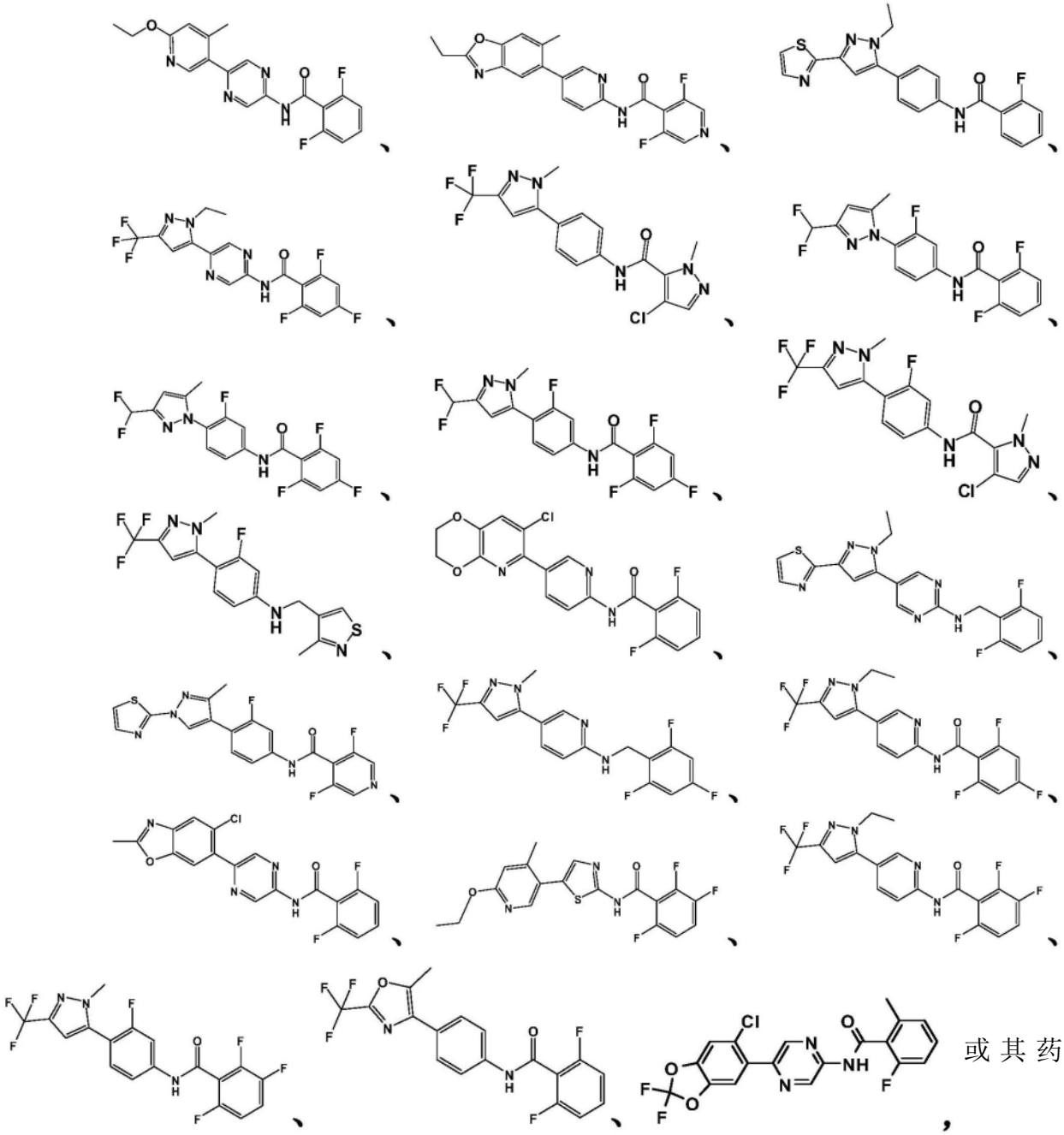
[0059] CRAC通道位于质膜中,并且响应于Ca2+从内质网库中的释放而打开。在免疫细胞中,细胞表面受体的刺激激活CRAC通道,导致Ca2+内流和细胞因子的产生。已知适应性和先天免疫系统的细胞(例如T细胞、中性粒细胞和巨噬细胞)都受到CRAC通道的调控。CRAC通道还在内皮细胞的激活中发挥作用,内皮细胞参与了ALI/ARDS的发病机制。正常的肺内皮维持内皮细胞、肺间质和肺泡间隙之间的紧密屏障,从而实现气体交换。在炎症条件下,肺内皮细胞上受体的刺激导致Ca2+通过CRAC通道的内流被激活。Ca2+的内流导致屏障功能的丧失,进而造成富含蛋白质的体液泄漏到肺泡中、气体交换受损和低氧血症。

[0060] T细胞受体的刺激导致细胞内Ca2+库的消耗及随后的CRAC(Ca2+释放激活的Ca2+)通道的打开。细胞内Ca2+浓度的持续增加会激活钙调磷酸酶/NFAT(活化T细胞的核因子)途径,并开启各种细胞因子的转录程序。Orai1和STIM1分别被鉴定为长期寻找的CRAC通道孔隙组分和内质网(ER)Ca2+传感器。STIM1在T细胞受体刺激后感测ER中的Ca2+耗尽,易位至质膜(PM)近端ER,结合并激活Orai1。Orai1或STIM1缺乏的人类患者具有严重的联合免疫缺陷。

钙通道抑制剂

[0061] 本文公开了一些钙通道抑制剂,它们与本文公开的使用方法、组合物、施用方案和组合物相一致。在一些实施方案中,钙通道抑制剂包括SOC抑制剂。在一些实施方案中,钙通道抑制剂是SOC抑制剂。在一些实施方案中,SOC包括CRAC。在一些实施方案中,SOC抑制剂包括CRAC抑制剂。在一些实施方案中,钙通道抑制剂是CRAC抑制剂。在一些实施方案中,钙通道抑制剂抑制包含STIM1蛋白的通道。在一些实施方案中,CRAC包括Orai1蛋白。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括Orai1蛋白抑制剂。在一些实施方案中,钙通道抑制剂抑制包含Orai1蛋白的通道。在一些实施方案中,CRAC包括Orai2蛋白。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括Orai2蛋白抑制剂。在一些实施方案中,钙通道抑制剂抑制包含Orai2蛋白的通道。

[0062] 在一些实施方案中,化合物是具有以下结构的化合物:



或其药学上可接受的盐、药学上可接受的溶剂化物或药学上可接受的前药。在一些实施方案中，化合物选自由以下组成的化合物的列表：N-(5-(6-氯-2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)吡嗪-2-基)-2-氟-6-甲基苯甲酰胺。在一些方面，细胞内钙信号传导抑制剂是化合物N-(5-(6-氯-2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)吡嗪-2-基)-2-氟-6-甲基苯甲酰胺或其药学上可接受的盐、药学上可接受的溶剂化物或药学上可接受的前药。在一些方面，细胞内钙信号传导抑制剂选自以下化合物：N-(5-(6-乙氧基-4-甲基吡啶-3-基)吡嗪-2-基)-2,6-二氟苯甲酰胺、N-(5-(2-乙基-6-甲基苯并[d]噁唑-5-基)吡啶-2-基)-3,5-二氟异烟酰胺、N-(4-(1-乙基-3-(噻唑-2-基)-1H-吡唑-5-基)苯基)-2-氟苯甲酰胺、N-(5-(1-乙基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-5-基)吡嗪-2-基)-2,4,6-三氟苯甲酰胺、4-氯-1-甲基-N-(4-(1-甲基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-5-基)苯基)-1H-吡唑-5-甲酰胺、N-(4-(3-(二氟甲基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)-3-氟苯基)-2,6-二氟苯甲酰胺、N-(4-(3-(二氟甲基)-5-甲

基-1H-吡唑-1-基)-3-氟苯基)-2,4,6-三氟苯甲酰胺、N-(4-(3-(二氟甲基)-1-甲基-1H-吡唑-5-基)-3-氟苯基)-2,4,6-三氟苯甲酰胺、4-氯-N-(3-氟-4-(1-甲基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-5-基)苯基)-1-甲基-1H-吡唑-5-甲酰胺、3-氟-4-(1-甲基-3-(三氟甲基)-1H—吡唑-5-基)-N-((3-甲基异噻唑-4-基)甲基)苯胺、N-(5-(7-氯-2,3-二氢-[1,4]二噁英并[2,3-b]吡啶-6-基)吡啶-2-基)-2,6-二氟苯甲酰胺、N-(2,6-二氟苄基)-5-(1-乙基-3-(噻唑-2-基)-1H-吡唑-5-基)嘧啶-2-胺、3,5-二氟-N-(3-氟-4-(3-甲基-1-(噻唑-2-基)-1H-吡唑-4-基)苯基)异烟酰胺、5-(1-甲基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-5-基)-N-(2,4,6-三氟苄基)吡啶-2-胺、N-(5-(1-乙基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-5-基)吡啶-2-基)-2,4,6-三氟苯甲酰胺、N-(5-(5-氯-2-甲基苯并[d]噁唑-6-基)吡嗪-2-基)-2,6-二氟苯甲酰胺、N-(5-(6-乙氧基-4-甲基吡啶-3-基)噻唑-2-基)-2,3,6-三氟苯甲酰胺、N-(5-(1-乙基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-5-基)吡啶-2-基)-2,3,6-三氟苯甲酰胺、2,3,6-三氟-N-(3-氟-4-(1-甲基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-5-基)苯基)苯甲酰胺、2,6-二氟-N-(4-(5-甲基-2-(三氟甲基)噁唑-4-基)苯基)苯甲酰胺或N-(5-(6-氯-2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)吡嗪-2-基)-2-氟-6-甲基苯甲酰胺,或其药学上可接受的盐、药学上可接受的溶剂化物或药学上可接受的前药。这些化合物中的每个是钙通道抑制剂、SOC抑制剂或CRAC抑制剂的实例。

[0063] 在一些实施方案中,本文公开了CRAC抑制剂。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括SK&F 96365。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括益康唑。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括L-651582。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括甲酰苯胺化合物。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括联芳基甲酰苯胺化合物。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括杂环甲酰苯胺化合物。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括RP4010。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括Synta-66(N-(2',5'-二甲氧基[1,1'-联苯]-4-基)-3-氟-4-吡啶甲酰胺)。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括ML-9(1-(5-氯萘-1-磺酰基)高哌嗪)。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括辣椒素(8-甲基-N-香草基-(反式)-6-壬烯酰胺)。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括NPPB(5-硝基-2-(3-苯丙氨基)-苯甲酸)。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括DES(二乙基己烯雌酚)。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括BEL(溴烯醇内酯或E-6-(溴乙烯)四氢-3-(1-萘基)-2H-吡喃-2-酮)。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括羧胺三唑(CAI)。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括RO2959(2,6-二氟-N-{5-[4-甲基-1-(5-甲基-噻唑-2-基)-1,2,5,6-四氢-吡啶-3-基]-吡嗪-2-基}-苯甲酰胺)。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括丹参酮IIA磺酸盐。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括丹参酮IIA磺酸钠。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括MRS1845。这些化合物中的每个也是钙通道抑制剂或SOC抑制剂的实例。

[0064] 在一些实施方案中,本文公开了CRAC抑制剂。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括镧系元素。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括镧系元素三价离子。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括La^{3+}(镧)。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括Gd^{3+}(钆)。这些化合物中的每个也是钙通道抑制剂或SOC抑制剂的实例。

[0065] 在一些实施方案中,本文公开了CRAC抑制剂。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括咪唑。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括咪唑抗真菌剂SKF-96365。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括益康唑。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括咪康唑。这些化合物中的每个也是钙通道抑制剂或SOC抑制剂的实例。

[0066] 在一些实施方案中,本文公开了CRAC抑制剂。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括

二苯基硼酸酯。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括2-氨基乙基二苯基硼酸酯(2-APB)。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括DPB162-AE。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括DPB163-AE。这些化合物中的每个也是钙通道抑制剂或SOC抑制剂的实例。

[0067] 在一些实施方案中,本文公开了CRAC抑制剂。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括吡唑。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括双(三氟甲基)吡唑。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括BTP1。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括BTP2。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括YM-58483。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括BTP3。这些化合物中的每个也是钙通道抑制剂或SOC抑制剂的实例。

[0068] 在一些实施方案中,本文公开了CRAC抑制剂。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括Pyr化合物。在一些实施方案中,本文公开了CRAC抑制剂。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括N-(4-(3,5-双(三氟甲基)-1H-吡唑-1-基)苯基)-4-甲基-1,2,3-噻二唑-5-甲酰胺(Pyr2/BTP2/YM58483)。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括1-(4-(2,3,3-三氯丙烯酰胺基)苯基)-5-(三氟甲基)-1H-吡唑-4-甲酸乙酯(Pyr3)。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括N-(4-(3,5-双(三氟甲基)-1H-吡唑-1-基)苯基)-3-氟异烟酰胺(Pyr6)。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括N-(4-(3,5-双(三氟甲基)-1H-吡唑-1-基)苯基)-4-甲基苯磺酰胺(Pyr10)。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括2-氨基乙氧基二苯基硼酸酯(2-APB)。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括2,2'-((((氧基双(亚甲基))双(3,1-亚苯基))双(苯基硼烷二基))双(氧基))双(乙-1-胺)(DPB162-AE);2,2'-((((氧基双(亚甲基))双(4,1-亚苯基))双(苯基硼烷二基))双(氧基))双(乙-1-胺)(DPB163-AE)。这些化合物中的每个也是钙通道抑制剂或SOC抑制剂的实例。

[0069] 在一些实施方案中,本文公开了CRAC抑制剂。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括GSK化合物。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括GSK-5498A。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括GSK-5503A(2,6-二氟-N-(1-(2-苯氧基苄基)-1H-吡唑-3-基)苯甲酰胺)。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括GSK-7975A(2,6-二氟-N-(1-(4-羟基-2-(三氟甲基)苄基)-1H-吡唑-3-基)苯甲酰胺)。这些化合物中的每个也是钙通道抑制剂或SOC抑制剂的实例。

[0070] 在一些实施方案中,本文公开了CRAC抑制剂。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括多不饱和脂肪酸(PUFA)。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括18-C PUFA。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括亚油酸。这些化合物中的每个也是钙通道抑制剂或SOC抑制剂的实例。

[0071] 在一些实施方案中,本文公开了CRAC抑制剂。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括1-苯基-3-(1-苯乙基)脲。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括1-苯基-3-(1-苯乙基)脲衍生物。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括1-苯基-3-(1-苯乙基)脲衍生物,包括化合物22。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括1-苯基-3-(1-苯乙基)脲衍生物,包括化合物23。这些化合物中的每个也是钙通道抑制剂或SOC抑制剂的实例。

[0072] 在一些实施方案中,本文公开了CRAC抑制剂。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括淤胆型胆汁酸。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括牛磺石胆酸(TLCA;2-[4-[(3R,5R,8R,9S,10S,13R,14S,17R)-3-羟基-10,13-二甲基-2,3,4,5,6,7,8,9,11,12,14,15,16,17-十四氢-1H-环戊[a]菲-17-基]戊酰基氨基]乙磺酸)。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括石胆酸(LCA;(4R)-4-[(3R,5R,8R,9S,10S,13R,14S,17R)-3-羟基-10,13-二甲基-2,3,4,5,6,7,8,9,11,12,14,15,16,17-十四氢-1H-环戊[a]菲-17-基]戊酸)。在一些实施方案中,CRAC

抑制剂包括胆酸(CA;(R)-4-((3R,5S,7R,8R,9S,10S,12S,13R,14S,17R)-3,7,12-三羟基-10,13-二甲基十六氢-1H-环戊[a]菲-17-基)戊酸)。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括牛磺胆酸(TCA;2-{[(3α,5β,7α,12α)-3,7,12-三羟基-24-氧代胆烷-24-基]氨基}乙磺酸))。这些化合物中的每个也是钙通道抑制剂或SOC抑制剂的实例。

[0073] 在一些实施方案中,本文公开了CRAC抑制剂。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括FCC2121(4-[3-(二苯甲基)-1,2,4-噁二唑-5-基]哌啶基]哌啶)。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括FCC2122(3-(4-甲基-1,5-联苯-1H-吡唑-3-基)-2-苯基丙酸)。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括FC-2399(2-(4-氯-苯基)-3-[1-(4-氯-苯基)-5-甲基-1H-吡唑-3-基]-丙酸)。这些化合物中的每个也是钙通道抑制剂或SOC抑制剂的实例。

[0074] 在一些实施方案中,本文公开了CRAC抑制剂。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括以下中的任一种:N-[1-({2-氯-5-[(环丙基甲基)氧基]苯基}甲基)-1H-吡唑-3-基]-2,6-二氟苯甲酰胺;N-{1-[(2,4-二氯苯基)甲基]-1H-吡唑-3-基}-2,6-二氟苯甲酰胺;2-溴-N-{1-[(2,4-二氯苯基)甲基]-1H-吡唑-3-基}-6-氟苯甲酰胺;2-氯-N-{1-[(2,4-二氯苯基)甲基]-1H-吡唑-3-基}-6-氟苯甲酰胺;2,6-二氯-N-{1-[(2,4-二氯苯基)甲基]-1H-吡唑-3-基}苯甲酰胺;N-{1-[(2,4-二氯苯基)甲基]-1H-吡唑-3-基}-3,5-二氟-4-吡啶甲酰胺;N-[1-({5-氯-2-[(苯基甲基)氧基]苯基}甲基)-1H-吡唑-3-基]-2,6-25二氟苯甲酰胺;N-{1-[(2,6-二氯苯基)甲基]-1H-吡唑-3-基}-2,6-二氟苯甲酰胺;N-[1-({5-氯-2-[(2-甲基丙基)氧基]苯基}甲基)-1H-吡唑-3-基]-2,6-二氟苯甲酰胺;N-(1-{[2-溴-5-(甲基氧基)苯基]甲基}-1H-吡唑-3-基)-2,6-二氟苯甲酰胺;N-(1-{[5-氯-2-(甲基氧基)苯基]甲基}-1H-吡唑-3-基)-2,6-二氟苯甲酰胺;2,6-二氟-N-(1-{[2-(苯基氧基)苯基]甲基}-1H-吡唑-3-基)苯甲酰胺;N-[1-({5-溴-2-[(苯基甲基)氧基]苯基}甲基)-1H-吡唑-3-基]-2,6-二氟苯甲酰胺;2,6-二氟-N-[1-({2-[(三氟甲基)氧基]苯基}甲基)-1H-吡唑-3-基]苯甲酰胺;2,6-二氟-N-(1-{[4-[(苯基甲基)氧基]-2-(三氟甲基)苯基]甲基}-1H-吡唑-3-基)苯甲酰胺;N-{1-[(2-溴-6-氯苯基)甲基]-1H-吡唑-3-基}-2,6-二氟苯甲酰胺;2,6-二氟-/V-[1-({2-[(苯基甲基)氧基]苯基}甲基)-1H-吡唑-3-基]苯甲酰胺;N/-[1-({2-氯-5-[(2-甲基丙基)氧基]苯基}甲基)-1H-吡唑-3-基]-2,6-二氟苯甲酰胺;N-(1-{[4-[(环丙基甲基)氧基]-2-(三氟甲基)苯基]甲基}-1H-吡唑-3-基)-2,6-二氟苯甲酰胺;2,6-二氟-N-(1-{[4-碘-2-(三氟甲基)苯基]甲基}-1H-吡唑-3-基)苯甲酰胺;2,6-二氟-N-(1-{[4-甲基-2-(三氟甲基)苯基]甲基}-1H-吡唑-3-基)苯甲酰胺;N-(1-{[4-环丙基-2-(三氟甲基)苯基]甲基}-1H-吡唑-3-基)-2,6-二氟苯甲酰胺;2,6-二氟-N-{1-[(4-碘-2-甲基苯基)甲基]-1H-吡唑-3-基}苯甲酰胺N-(1-{[4-氯-2-(三氟甲基)苯基]甲基}-1H-吡唑-3-基)-2,6-二氟苯甲酰胺;2-氟-N-(1-{[4-碘-2-(三氟甲基)苯基]甲基}-1H-吡唑-3-基)苯甲酰胺;2-氯-N-(1-{[4-环丙基-2-(三氟甲基)苯基]甲基]-1H-吡唑-3-基)苯甲酰胺;N-(1-{[4-环丙基-2-(三氟甲基)苯基]甲基}-1H-吡唑-3-基)-2-氟苯甲酰胺;2,6-二氟-N-(1-{[5-碘-2-(三氟甲基)苯基]甲基}-1H-吡唑-3-基)苯甲酰胺;2,6-二氟-N-(1-{[2-氟-6-(三氟甲基)苯基]甲基}-1H-吡唑-3-基)苯甲酰胺;或2,6-二氟-N-(1-{[4-羟基-2-(三氟甲基)苯基]甲基}-1H-吡唑-3-基)苯甲酰胺。这些化合物中的每个也是钙通道抑制剂或SOC抑制剂的实例。

[0075] 在一些实施方案中,本文公开了CRAC抑制剂。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括

以下中的任一种:N-[4-(3,5-二环丙基-1H-吡唑-1-基)苯基]-1H-苯并[d]咪唑-6-甲酰胺;N-[4-(3,5-二环丙基-1H-吡唑-1-基)苯基]-1H-苯并[d][1,2,3]三唑-6-甲酰胺;N-[4-(3,5-二环丙基-1H-吡唑-1-基)苯基]喹啉-6-甲酰胺;N-[4-(3,5-二环丙基-1H-吡唑-1-基)苯基]喹喔啉-6-甲酰胺;2-(1H-苯并[d]咪唑-1-基)-N-[4-(3,5-二环丙基-1H-吡唑-1-基)苯基]乙酰胺;2-(1H-苯并[d][1,2,3]三唑-1-基)-N-[4-(3,5-二环丙基-1H-吡唑-1-基)苯基]乙酰胺;N-[4-(3,5-二环丙基-1H-吡唑-1-基)苯基]-2-(1H-吲哚-3-基)乙酰胺;N-[4-(3,5-二环丙基-1H-吡唑-1-基)苯基]-2-(咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)乙酰胺;N-[4-(3,5-二环丙基-1H-吡唑-1-基)苯基]-2-(喹啉-6-基)乙酰胺;N-[4-(3,5-二环丙基-1H-吡唑-1-基)苯基]-2-(喹啉-6-基)乙酰胺;2-(1H-苯并[d][1,2,3]三唑-1-基)-N-(4-(3,5-二环丙基-1H-吡唑-1-基)-3-氟苯基)乙酰胺;N-[4-(3,5-二环丙基-1H-吡唑-1-基)-3-氟苯基]-2-(喹啉-6-基)乙酰胺;N-[6-(3,5-二环丙基-1H-吡唑-1-基)吡啶-3-基]喹啉-6-甲酰胺;N-[6-(3,5-二环丙基-1H-吡唑-1-基)吡啶-3-基]喹喔啉-6-甲酰胺;2-(1H-苯并[d][1,2,3]三唑-1-基)-N-[6-(3,5-二环丙基-1H-吡唑-1-基)吡啶-3-基]乙酰胺;N-[6-(3,5-二环丙基-1H-吡唑-1-基)吡啶-3-基]-2-(喹啉-6-基)乙酰胺;N-{4-[5-环丙基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-1-基]苯基}喹啉-6-甲酰胺;N-{4-[5-环丙基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-1-基]苯基}喹喔啉-6-甲酰胺;2-(1H-苯并[d]咪唑-1-基)-N-{4-[5-环丙基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-1-基]苯基}乙酰胺;2-(1H-苯并[d][1,2,3]三唑-1-基)-N-{4-[5-环丙基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-1-基]苯基}乙酰胺;2-(2H-苯并[d][1,2,3]三唑-2-基)-N-{4-[5-环丙基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-1-基]苯基}乙酰胺;2-(3H-[1,2,3]三唑并[4,5-b]吡啶-3-基)-N-{4-[5-环丙基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-1-基]苯基}乙酰胺;(S)-2-(3H-[1,2,3]三唑并[4,5-b]吡啶-3-y])-N-{4-[5-环丙基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-1-基]苯基}丙酰胺;2-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-N-{4-[5-环丙基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-1-基]苯基}乙酰胺;N-(4-(5-环丙基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-1-基)苯基)-2-(1,3-二甲基-2,6-二氧代-2,3-二氢-1H-嘌呤-7(6H)-基)乙酰胺;N-{4-[5-环丙基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-1-基)苯基)-2-(咪唑并[1,2-a]吡啶-2-基)乙酰胺;N-{4-[5-环丙基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-1-基]苯基}-2-(喹啉-6-基)乙酰胺;N-{4-[5-环丙基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-1-基]苯基}-2-(喹啉-6-基)丙酰胺;N-{4-[5-环丙基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-1-基]-3-氟苯基}-1H-苯并[d][1,2,3]三唑-6-甲酰胺;2-(1H-苯并[d][1,2,3]三唑-1-基)-N-{4-[5-环丙基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-1-基]-3-氟苯基}乙酰胺;N-{6-[5-环丙基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-1-基]吡啶-3-基}-1H-苯并[d][1,2,3]三唑-5-甲酰胺;2-(1H-苯并[d][1,2,3]三唑-1-基)-N-{6-[5-环丙基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-1-基]吡啶-3-基}乙酰胺;2-(2H-苯并[d][1,2,3]三唑-2-基)-N-{6-[5-环丙基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-1-基]吡啶-3-基}乙酰胺;N-{6-[5-环丙基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-1-基]吡啶-3-基}-2-(喹啉-6-基)乙酰胺;2-(1H-苯并[d][1,2,3]三唑-1-基)-N-{6-[4-氯-5-环丙基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-1-基]吡啶-3-基}乙酰胺;4-[5-环丙基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-1-基]-3-氟-N-(喹啉-6-基甲基)苯甲酰胺;或1-[4-(3,5-二环丙基-1H-吡唑-1-基)苯基]-3-(喹啉-6-基)脲。这些化合物中的每个也是钙通道抑制剂或SOC抑制剂的实例。

[0076] 在一些实施方案中,本文公开了CRAC抑制剂。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括以下中的任一种:4-[6-(2-氯-6-氟-苯基)-5H-吡咯并[3,2-d]嘧啶-2-基]-3,N,N-三甲基-

苯磺酰胺;6-(2-氯-苯基)-2-(2-甲基-5-三氟甲基-2H-吡唑-3-基)-5H-吡咯并[2,3-b]吡嗪;4-[6-(2-氯-苯基)-5H-吡咯并[2,3-b]吡嗪-2-基]-3-甲基-苯甲酸甲酯;4-(6-(2-氯苯基)-5H-吡咯并[2,3-b]吡嗪-2-基)-N,N,3-三甲基苯磺酰胺;6-(2-氯-6-氟苯基)-2-(1-甲基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-5-基)-5H-吡咯并[2,3-b]吡嗪;6-环己基-2-(1-甲基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-5-基)-5H-吡咯并[2,3-b]吡嗪;或4-(6-环己基-5H-吡咯并[2,3-b]吡嗪-2-基)-N,N,3-三甲基苯磺酰胺。这些化合物中的每个也是钙通道抑制剂或SOC抑制剂的实例。

[0077] 在一些实施方案中,本文公开了CRAC抑制剂。在一些实施方案中,CRAC抑制剂包括以下中的任一种:2,6-二氟-N-(6-(5-(4-甲基-5-氧代-4,5-二氢-1,3,4-噁二唑-2-基)-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-1-基)吡啶-3-基)苯甲酰胺;2-氟-6-甲基-N-(6-(5-(4-甲基-5-氧代-4,5-二氢-1,3,4-噁二唑-2-基)-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-1-基)吡啶-3-基)苯甲酰胺;5-(3-环丙基-1-(5-(2,6-二氟苄基)氨基)吡啶-2-基)-1H-吡唑-5-基)-3-甲基-1,3,4-噁二唑-2(3H)-酮;N-(6-(3-(二氟甲基)-5-(4-甲基-5-氧代-4,5-二氢-1,3,4-噁二唑-2-基)-1H-吡唑-1-基)吡啶-3-基)-2,6-二氟苯甲酰胺;5-(1-(5-(2,6-二氟苄基)氨基)吡啶-2-基)-5-(氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-3-甲基-1,3,4-噁二唑-2(3H)-酮;3-(1-(5-((2,6-二氟苄基)氨基)吡啶-2-基)-5-(三氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-5-甲基-4,5-二氢异噁唑-5-甲酸甲酯;3-(1-(5-(2-氯-6-氟苄基)氨基)吡啶-2-基)-5-(三氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-5-甲基-4,5-二氢异噁唑-5-甲酸甲酯;2,6-二氟-W-(6-(3-(4-甲基-5-氧代-4,5-二氢-1,3,4-噁二唑-2-基)-5-(三氟甲基)-1H-吡唑-1-基)吡啶-3-基)苯甲酰胺;2-氯-6-氟-N-(6-(3-(4-甲基-5-氧代-4,5-二氢-1,3,4-噁二唑-2-基)-5-(三氟甲基)-\H-吡唑-1-基)吡啶-3-基)苯甲酰胺;2-氟-6-甲基-/v-(6-(3-(4-甲基-5-氧代-4,5-二氢-1,3,4-噁二唑-2-基)-5-(三氟甲基)-1H-吡唑-1-基)吡啶-3-基)苯甲酰胺;N-(6-(5-(二氟甲基)-3-(4-甲基-5-氧代-4,5-二氢-1,3,4-噁二唑-2-基)-1H-吡唑-1-基)吡啶-3-基)-2,6-二氟苯甲酰胺;5-(1-(5((2,6-二氟苄基)氨基)吡啶-2-基)-5-(二氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-3-甲基-1,3,4-噁二唑-2(3H)-酮;5-(1-(5-((2,6-二氟苄基)氨基)吡啶-2-基)-3-(二氟甲基)-1H-吡唑-5-基)-3-甲基-1,3,4-噁二唑-2(3H)-酮;N-(6-(3-(5,5-二甲基-4-氧代-4,5-二氢异噁唑-3-基)-5-(三氟甲基)-1H-吡唑-1-基)吡啶-3-基)-2,6-二氟苯甲酰胺;2-氯-N-(6-(3-(5,5-二甲基-4-氧代-4,5-二氢异噁唑-3-基)-5-(三氟甲基)-1H-吡唑-1-基)吡啶-3-基)-6-氟苯甲酰胺;2,6-二氟-N-(6-(1',4',4,-三甲基-5'-氧代-5-(三氟甲基)-4',5'-二氢-1H,1H'-[3,3'-联吡唑]-1-基)吡啶-3-基)苯甲酰胺;2-氯-6-氟-N-(6-(1,4,4'-三甲基-5'-氧代-5-(三氟甲基)-4',5,-二氢-1H,1'H-[3,3'-联吡唑]-1-基)吡啶-3-基)苯甲酰胺;2-氟-6-甲基-N-(6-(1,4,4'-三甲基-5'-氧代-5-(三氟甲基)-4',5'-二氢-1H,1'H-[3,3'-联吡唑]-1-基)吡啶-3-基)苯甲酰胺;2,6-二氟-N-(6-(3-(4-甲基-5-氧代-4,5-二氢-1,2,4-噁二唑-3-基)-5-(三氟甲基)-1H-吡唑-1-基)吡啶-3-基)苯甲酰胺;N-(6-(3-(4-乙酰基-5,5-二甲基-4,5-二氢-1,3,4-噁二唑-2-基)-5-三氟甲基)-1H-吡唑-1-基)吡啶-3-基)-2,6-二氟苯甲酰胺;N-(6-(3-(4,4-二甲基-4,5-二氢噁唑-2-基)-5-(三氟甲基)-1H-吡唑-1-基)吡啶-3-基)-2,6-二氟苯甲酰胺;5-(1-(5-(2,6-二氟苄基)氨基)吡啶-2-基)-5-(三氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-3-甲基-1,3,4-噁二唑-2(3H)-酮;5-(1-(5-((2-氯-6-氟苄基)氨基)吡啶-2-基)-5-(三氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-3-甲基-1,3,4-噁二唑-2(3iy)-酮;1'454

(2,6-二氟苄基)氨基)吡啶-2-基)-1,4,4-三甲基-5'-(三氟甲基)-1H,1'H-[3,3'-联吡唑]-5(4H)-酮;1'-(5-(2-氯-6-氟苄基)氨基)吡啶-2-基)-1,4,4-三甲基-5'-(三氟甲基)-1H,1'H-[3,3'-联吡唑]-5(4H)-酮;3-(1-(5-(2,6-二氟苄基)氨基)吡啶-2-基)-5-(三氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-4-甲基-1,2,4-噁二唑-5(4H)-酮;1-(5-(1-(5-(2,6-二氟苄基)氨基)吡啶-2-基)-5-(三氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-2,2-二甲基-1,3,4-噁二唑-3(2H)-基)乙酮;N-(2,6-二氟苄基)-6-(3-(4,4-二甲基-4,5-二氢噁唑-2-基)-5-(三氟甲基)-1H-吡唑-1-基)吡啶-3-胺;N-(6-(5-环丙基-3-(4-甲基-5-氧代-4,5-二氢-1,3,4-噁二唑-2-基)-1H-吡唑-1-基)吡啶-3-基)-2,6-二氟苯甲酰胺;N-(6-(3-环丙基-5-(4-甲基-5-氧代-4,5-二氢-1,3,4-噁二唑-2-基)-1H-吡唑-1-基)吡啶-3-基)-2,6-二氟苯甲酰胺;2,6-二氟-N-(6-(5-甲基-3-(4-甲基-5-氧代-4,5-二氢-1,3,4-噁二唑-2-基)-1H-吡唑-1-基)吡啶-3-基)苯甲酰胺;5-(1-(5-((2,6-二氟苄基)氨基)吡啶-2-基)-5-甲基-1H-吡唑-3-基)-3-甲基-1,3,4-噁二唑-2(3H)-酮;(3-(I-(5-((2,6-二氟苄基)氨基)吡啶-2-基)-5-(三氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-5-甲基-4,5-二氢异噁唑-5-基)甲醇;(3-(1-(5-((2-氯-6-氟苄基)氨基)吡啶-2-基)-5-(三氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-5-甲基-4,5-二氢异噁唑-5-基)甲醇;3-(1-(5-(2,6-二氟苯甲酰胺基)吡啶-2-基)-5-(三氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-5-甲基-4,5-二氢异噁唑-5-甲酸甲酯;2,6-二氟-N-(6-(3-(5-(羟基甲基)-5-甲基-4,5-二氢异噁唑-3-基)-5-(三氟甲基)-1H-吡唑-1-基)吡啶-3-基)苯甲酰胺;3-(1-(5-(2,6-二氟苯甲酰胺基)吡啶-2-基)-5-(三氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-5-甲基-4,5-二氢异噁唑-5-甲酰胺;2,6-二氟-N-(5-(3-(4-甲基-5-氧代-4,5-二氢-1,3,4-噁二唑-2-基)-5-(三氟甲基)-1H-吡唑-1-基)吡啶-2-基)苯甲酰胺;2-氯-6-氟-N-(5-(3-(4-甲基-5-氧代-4,5-二氢-1,3,4-噁二唑-2-基)-5-(三氟甲基)-1H-吡唑-1-基)吡啶-2-基)苯甲酰胺;2-氟-6-甲基-N-(5-(3-(4-甲基-5-氧代-4,5-二氢-1,3,4-噁二唑-2-基)-5-(三氟甲基)-1H-吡唑-1-基)吡啶-2-基)苯甲酰胺;2-氟-N-(5-(3-(4-甲基-5-氧代-4,5-二氢-1,3,4-噁二唑-2-基)-5-(三氟甲基)-1H-吡唑-1-基)吡啶-2-基)苯甲酰胺;2,3-二氟-N-(5-(3-(4-甲基-5-氧代-4,5-二氢-1,3,4-噁二唑-2-基)-5-(三氟甲基)-1H-吡唑-1-基)吡啶-2-基)苯甲酰胺;2,4,5-三氟-N-(5-(3-(4-甲基-5-氧代-4,5-二氢-1,3,4-噁二唑-2-基)-5-(三氟甲基)-1H-吡唑-1-基)吡啶-2-基)苯甲酰胺;2,3,4-三氟-N-(5-(3-(4-甲基-5-氧代-4,5-二氢-1,3,4-噁二唑-2-基)-5-(三氟甲基)-1H-吡唑-1-基)吡啶-2-基)苯甲酰胺;2,4-二氟-N-(5-(3-(4-甲基-5-氧代-4,5-二氢-1,3,4-噁二唑-2-基)-5-(三氟甲基)-1H-吡唑-1-基)吡啶-2-基)苯甲酰胺;2,3-二甲基-N-(5-(3-(4-甲基-5-氧代-4,5-二氢-1,3,4-噁二唑-2-基)-5-(三氟甲基)-1H-吡唑-1-基)吡啶-2-基)苯甲酰胺;2-氯-N-(5-(3-(4-甲基-5-氧代-4,5-二氢-1,3,4-噁二唑-2-基)-5-(三氟甲基)-1H-吡唑-1-基)吡啶-2-基)苯甲酰胺;2-甲基-N-(5-(3-(4-甲基-5-氧代-4,5-二氢-1,3,4-噁二唑-2-基)-5-(三氟甲基)-1H-吡唑-1-基)吡啶-2-基)苯甲酰胺;4-乙基-N-(5-(3-(4-甲基-5-氧代-4,5-二氢-1,3,4-噁二唑-2-基)-5-(三氟甲基)-1//-吡唑-1-基)吡啶-2-基)苯甲酰胺;N-(5-(3-(4-甲基-5-氧代-4,5-二氢-13,4-噁二唑-2-基)-5-(三氟甲基)-1H-吡唑-1-基)吡啶-2-基)-2-萘甲酰胺;5-(1-(6-((2,6-二氟苄基)氨基)吡啶-3-基)-5-(三氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-3-甲基-1,3,4-噁二唑-2(3H)-酮;5-(1-(6-((2-氯-6-氟苄基)氨基)吡啶-3-基)-5-(三氟甲基)-1H-吡唑-3-基)-3-甲基-1,3,4-噁二唑-2(3H)-酮;5-(1-(6-(2-氟-6-甲基苄基)氨基)吡啶-3-基)-5-(三氟甲基)-1H-吡唑-3-

基)-3-甲基-1,3,4-噁二唑-2(3H)-酮;N-(2,6-二氟苯基)-6-(3-(4-甲基-5-氧代-4,5-二氢-1,3,4-噁二唑-2-基)-5-(三氟甲基)-1H-吡唑-1-基)烟酰胺;或N-(2-氯-6-氟苯基)-6-(3-(4-甲基-5-氧代-4,5-二氢-1,3,4-噁二唑-2-基)-5-(三氟甲基)-1H-吡唑-1-基)烟酰胺。这些化合物中的每个也是钙通道抑制剂或SOC抑制剂的实例。

[0078] 在一些实施方案中,本文公开了钙通道抑制剂、SOC抑制剂或CRAC抑制剂。在一些实施方案中,钙通道抑制剂、SOC抑制剂或CRAC抑制剂包括小分子,诸如干扰钙通道活性、SOC通道活性或CRAC通道活性的小分子。在一些实施方案中,钙通道抑制剂、SOC抑制剂或CRAC抑制剂包括多肽,诸如钙通道、SOC通道或CRAC通道组分的突变或无功能形式,它们可干扰钙通道活性、SOC通道活性或CRAC通道活性。

其他形式的化合物

[0079] 在一些情况下,本文所述的化合物作为非对映异构体、对映异构体或其他立体异构形式存在。本文提出的化合物包括所有的非对映异构、对映异构和差向异构形式以及其适当的混合物。立体异构体的分离可以通过色谱法或通过形成非对映异构体并通过重结晶分离、或色谱法或其任何组合进行。(Jean Jacques,Andre Collet,Samuel H.Wilen,"Enantiomers,Racemates and Resolutions",John Wiley And Sons,Inc.,1981,对于本公开通过引用并入本文)。立体异构体还可以通过立体选择性合成来获得。

[0080] 在一些情况下,化合物可以作为互变异构体存在。所有互变异构体均包括在本文所述的式内。

[0081] 本文所述的方法和组合物包括使用无定形形式以及晶体形式(也称为多晶型)。本文所述的化合物可以呈药学上可接受的盐的形式。具有相同类型的活性的这些化合物的活性代谢物也包括在本公开的范围内。另外,本文所述的化合物可以呈非溶剂化形式以及用药学上可接受的溶剂(诸如水、乙醇等)的溶剂化形式存在。还考虑本文提出的化合物的溶剂化形式在本文中公开。

[0082] 在一些实施方案中,本文所述的化合物可被制备为前药。"前药"是指在体内转化为母体药物的剂。在一些情况下,前药往往是有用的,因为它们可以比母体药物更容易施用。例如,它们可以通过口服施用而可生物利用,而母体药物并非如此。前药在药物组合物中还可以具有相对于母体药物改善的溶解性。前药的实例是但不限于本文所述的化合物,其作为酯("前药")施用以有利于跨水溶解性对于移动性有害的细胞膜的传送,但是其一旦位于水溶解性有益的细胞内就代谢水解为羧酸(活性实体)。-前药的另一个实例可以是键合至酸基团的短肽(聚氨基酸),其中肽进行代谢以暴露活性部分。在某些实施方案中,在体内施用后,前药被化学转化为化合物的生物学、药学或治疗活性形式。在某些实施方案中,前药通过一个或多个步骤或过程来酶促代谢为化合物的生物学、药学或治疗活性形式。

[0083] 为了产生前药,对药学活性化合物进行改性,使得活性化合物在体内施用后再生成。可以对前药进行设计以改变药物的代谢稳定性或转运特征,掩盖副作用或毒性,改善药物的风味或改变药物的其他特征或特性。在一些实施方案中,借助于体内药效学过程和药物代谢的知识,一旦确定了药学活性化合物,就设计化合物的前药。(参见,例如,Nogrady(1985)Medicinal Chemistry A Biochemical Approach,Oxford University Press,New York,第388-392页;Silverman(1992),The Organic Chemistry of Drug Design and Drug Action,Academic Press,Inc.,San Diego,第352-401页,Saulnier等人,(1994),

Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters,第4卷,第1985页;Rooseboom等人,Pharmacological Reviews,56:53-102,2004;Miller等人,J.Med.Chem.第46卷,第24期,5097-5116,2003;Aesop Cho,"Recent Advances in Oral Prodrug Discovery",Annual Reports in Medicinal Chemistry,第41卷,395-407,2006)。

[0084] 本文所述的化合物的前药形式,其中前药在体内代谢产生本文所列举的化合物,包括在权利要求的范围内。在一些情况下,本文所述的一些化合物可能是另一衍生物或活性化合物的前药。

[0085] 在一些情况下,前药往往是有用的,因为它们可以比母体药物更容易施用。例如,它们可以是通过口服施用而生物可利用的,而母体药物并非如此。前药在药物组合物中还可以具有相对于母体药物改善的溶解性。前药可被设计为可逆的药物衍生物,用作修饰剂,以增强药物向部位特异性组织的转运。在一些实施方案中,前药的设计增加了有效水溶性。参见,例如Fedorak等人,Am.J.Physiol.,269:G210-218(1995);McLoed等人,Gastroenterol,106:405-413(1994);Hochhaus等人,Biomed.Chrom.,6:283-286(1992);J.Larsen和H.Bundgaard,Int.J.Pharmaceutics,37,87(1987);J.Larsen等人,Int.J.Pharmaceutics,47,103(1988);Sinkula等人,J.Pharm.Sci.,64:181-210(1975);T.Higuchi和V.Stella,Pro-drugs as Novel Delivery Systems,the A.C.S.Symposium Series的第14卷;以及Edward B.Roche,Bioreversible Carriers in Drug Design,American Pharmaceutical Association and Pergamon Press,1987,为了所述公开内容,所有文献都并入本文)。

[0086] 本文所述的化合物的芳环部分的位点容易受到各种代谢反应的影响,因此在芳环结构上掺入适当的取代基,诸如,仅举例来说,卤素可以减少、最小化或消除这种代谢途径。

[0087] 本文所述的化合物可以用同位素(例如用放射性同位素)或通过其他方式进行标记,包括但不限于使用发色团或荧光部分、生物发光标记、光激活或化学发光标记。

[0088] 本文所述的化合物包括同位素标记的化合物,其与以本文提出的各种式和结构列举的那些化合物相同,只是一个或多个原子被所具有的原子质量或质量数不同于自然界中最常见的原子质量或质量数的一个原子替代。可以掺入本发明化合物中的同位素的实例包括氢、碳、氮、氧、磷、氟和氯的同位素,诸如分别是2H、3H、13C、14C、15N、18O、17O、35S、18F、36Cl。本文所述的某些同位素标记的化合物,例如掺入放射性同位素(诸如3H和14C)的那些,可用于药物和/或底物组织分布测定中。此外,用同位素诸如氘(即,2H)进行的取代可以提供由较大代谢稳定性带来的某些治疗优点,例如像体内半衰期增加或剂量要求减少。

[0089] 在额外或另外的实施方案中,本文所述的化合物在向有需要的生物体施用后代谢以产生代谢物,其然后用于产生所需作用,包括所需的治疗作用。

[0090] 本文所述的化合物可以作为药学上可接受的盐形成和/或使用。药学上可接受的盐的类型包括但不限于:(1)酸加成盐,其通过使化合物的游离碱形式与药学上可接受的以下物质反应来形成:无机酸,例如像盐酸、氢溴酸、硫酸、磷酸、偏磷酸等;或与无机酸反应,例如像乙酸、丙酸、己酸、环戊烷丙酸、乙醇酸、丙酮酸、乳酸、丙二酸、琥珀酸、苹果酸、马来酸、富马酸、三氟乙酸、酒石酸、柠檬酸、苯甲酸、3-(4-羟基苯甲酰基)苯甲酸、肉桂酸、扁桃酸、甲磺酸、乙磺酸、1,2-乙烷二磺酸、2-羟基乙烷磺酸、苯磺酸、甲苯磺酸、2-萘磺酸、4-甲基二环-[2.2.2]辛-2-烯-1-羧酸、葡庚糖酸、4,4'-亚甲基二-(3-羟基-2-烯-1-羧酸)、3-苯

基丙酸、三甲基乙酸、叔丁基乙酸、月桂基硫酸、葡萄糖酸、谷氨酸、羟基萘甲酸、水杨酸、硬脂酸、粘康酸、丁酸、苯乙酸、苯丁酸、丙戊酸等；(2)当母体化合物中存在的酸性质子被金属离子，例如碱金属离子(例如，锂、钠、钾)、碱土离子(例如，镁或钙)或铝离子替代时形成的盐。在一些情况下，本文所述的化合物可以与有机碱配位，所述有机碱诸如但不限于乙醇胺、二乙醇胺、三乙醇胺、氨丁三醇、N-甲基葡糖胺、二环己基胺、三(羟基甲基)甲胺。在其他情况下，本文所述的化合物可以与氨基酸形成盐，所述氨基酸诸如但不限于精氨酸、赖氨酸等。用于与包含酸性质子的化合物形成盐的可接受的无机碱包括但不限于氢氧化铝、氢氧化钙、氢氧化钾、碳酸钠、氢氧化钠等。

[0091] 应理解，对药学上可接受的盐的提及包括溶剂加成形式或其晶体形式，特别是溶剂化物或多晶型。溶剂化物含有化学计量或非化学计量量的溶剂，并且可以在用药学上可接受的溶剂(诸如水、乙醇等)结晶的过程中形成。当溶剂为水时，形成水合物，或者当溶剂为醇时，形成醇化物。本文所述的化合物的溶剂化物可以方便地在本文所述的工艺过程中制备或形成。另外，本文所述的化合物可以呈非溶剂化以及溶剂化形式存在。通常，出于本文提供的化合物和方法的目的，溶剂化形式被认为等同于非溶剂化形式。

[0092] 在一些实施方案中，本文所述的化合物有多种形式，包括但不限于，无定形形式、研磨形式、可注射的乳液形式和纳米颗粒形式。另外，本文所述的化合物包括结晶形式，也称为多晶型。多晶型包括化合物的相同元素组成的不同晶体堆积排列。多晶型通常具有不同X射线衍射图案、熔点、密度、硬度、晶体形状、光学特性、稳定性和溶解性。各种因素，诸如重结晶溶剂、结晶速率和储存温度可以致使单一晶体形式占优势。

[0093] 药学上可接受的盐、多晶型和/或溶剂化物的筛选和表征可以使用各种技术实现，所述技术包括但不限于热分析、x射线衍射、光谱学、蒸汽吸附和显微术。热分析方法针对热化学降解或热物理过程，包括但不限于多晶型转变，并且此类方法可以用于分析多晶型形式之间的关系，确定重量损失，以找到玻璃化转变温度或用于赋形剂相容性研究。此类方法包括但不限于差式扫描量热法(DSC)、调制式差示扫描量热法(MDCS)、热重量分析(TGA)和热重量和红外分析(TG/IR)。X射线衍射方法包括但不限于单晶和粉末衍射仪以及同步辐射源。所使用的各种光谱技术包括但不限于Raman、FTIR、UV-VIS和NMR(液态和固态)。各种显微技术包括但不限于偏振光显微术、扫描电子显微术(SEM)与能量色散X射线分析(EDX)、环境扫描电子显微术与EDX(其气体或水蒸气气氛中)、IR显微术和Raman显微术。

[0094] 在说明书通篇中，可以选择基团及其取代基来提供稳定部分和化合物。

化合物的合成

[0095] 在一些实施方案中，本文所述的化合物的合成是使用化学文献中所述的手段、使用本文所述的方法或其组合来完成的。此外，本文提出的溶剂、温度和其他反应条件可能有所不同。

[0096] 在其他实施方案中，用于合成本文所述的化合物的起始材料和试剂是合成的或从商业来源获得，诸如但不限于Sigma-Aldrich、Fischer Scientific(Fischer Chemicals)和Acros Organics。

[0097] 在进一步的实施方案中，使用本文所述的技术和材料以及本领域中公认的那些技术和材料合成本文所述的化合物以及具有不同取代基的其他相关化合物，所述技术和材料诸如在例如以下文献中所述:Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis,

第1-17卷(John Wiley and Sons,1991);Rodd's Chemistry of Carbon Compounds,第1-5卷和增刊(Elsevier Science Publishers,1989);Organic Reactions,第1-40卷(John Wiley and Sons,1991);Larock's Comprehensive Organic Transformations(VCH Publishers Inc.,1989),March,Advanced Organic Chemistry第4版,(Wiley 1992);Carey和Sundberg,Advanced Organic Chemistry第4版,A卷和B卷(Plenum 2000,2001);及Green和Wuts,Protective Groups in Organic Synthesis第3版,(Wiley 1999)(为了所述公开内容,所有文献都通过引用并入)。

急性肺损伤(ALI)及其严重表现、急性呼吸窘迫综合征(ARDS)

[0098] ALI和ARDS是致命和复杂的呼吸道并发症,包括各种致病因素诸如胃内容物吸入、微生物感染、败血症和创伤。ALI/ARDS有两大病理特征;肺组织中的水肿和中性粒细胞聚集。最初的炎症刺激破坏肺内皮和/或上皮屏障,并诱导富含蛋白质的液体外渗,导致肺水肿。这些刺激也引起中性粒细胞浸润到间质和肺泡间隙中。浸润的中性粒细胞通过分泌弹性蛋白酶和活性氧损伤肺实质细胞,诱导促炎性细胞因子的进一步产生和炎症细胞的激活。这些物理和化学组织损伤导致空气交换障碍和严重的呼吸功能障碍。

[0099] 先天性免疫应答在ALI/ARDS的病理生理过程中起作用。包括中性粒细胞、巨噬细胞和树突状细胞的多种免疫过程参与介导组织损伤。炎症损伤,无论是局部的肺部还是全身的肺外部位,都会影响支气管上皮、肺泡巨噬细胞和血管内皮,造成富含蛋白质的水肿液积聚到肺泡中,且随后由于气体交换受损而导致低氧血症。肺泡巨噬细胞在协调炎症和ARDS的消退中起重要作用。一旦肺泡巨噬细胞受到刺激,它们便会招募中性粒细胞和循环巨噬细胞到肺损伤部位。这些细胞参与一系列生物活性介质的形成,包括蛋白酶、活性氧、类烯二酮、磷脂和细胞因子,这些介质使炎症反应持续。这些介质的一个深远影响是损伤或诱导远端细胞死亡,特别是肺泡2型上皮细胞。这些细胞通过合成和分泌肺表面活性物质来发挥重要作用,肺表面活性物质是排列在肺内表面以降低肺泡表面张力的不可或缺的物质。2型细胞也积极参与离子转运以控制肺液。这些炎症事件一起造成典型的急性渗出期的组织学改变,导致肺力学和气体交换的显著损害。在ARDS最初的炎症和/或消退期,肺泡巨噬细胞也以旁分泌方式与其他细胞(包括上皮细胞、淋巴细胞和间充质干细胞)相互作用,这可能导致炎症反应增强或组织损伤加重。延长的M1(经典激活的巨噬细胞)或M2(交替激活的巨噬细胞)表型似乎与非愈合的慢性ARDS/ALI相关。ARDS/ALI是一种全身性炎症性疾病,涉及肺与其他器官系统之间的双向作用,而不是局部肺过程。在ARDS对象的支气管肺泡灌洗液和循环血浆中,炎症性细胞因子,诸如IL-1β、TNF-α、IL-6和IL-8均升高。

[0100] 细菌性和病毒性感染,诸如冠状病毒(COVID-19)感染,可导致ALI/ARDS。感染期间,循环的细菌和/或病毒产物和内源性细胞因子(例如IL-2、IL-6)刺激内皮,引发血管激活级联,包括血管粘附分子表达的增加和内皮通透性的局部增加。

[0101] 在一些实施方案中,ALI或ARDS与同ALI或ARDS相关的症状或标志物相关。例如,ALI或ARDS可与对象中Stim1、Orai1或PKCα表达的增加;细胞Ca^{2+}摄取或Ca^{2+}水平的增加;AMPK激活的增加;ACC或PLC磷酸化的增加;Na,K-ATPase下调;肺泡上皮功能障碍;水肿增加;肺湿/干重量比的增加;BALF蛋白水平的增加或内皮通透性的增加有关(例如在对象的肺中)。在一些实施方案中,ALI或ARDS包括对象的肺部炎症和/或内皮细胞功能障碍,例如在对象的肺中。在一些实施方案中,炎症是由内皮细胞功能障碍引起或促成的。在一些实施

方案中，ALI包括肺部炎症。在一些实施方案中，ARDS包括肺部炎症。在一些实施方案中，肺部炎症是由肺部内皮细胞功能障碍引起或促成的。在一些实施方案中，ALI包括肺内皮细胞功能障碍。在一些实施方案中，ALI或ARDS包括肺损伤。在一些实施方案中，ALI或ARDS包括咳嗽。在一些实施方案中，ALI或ARDS包括干咳。在一些实施方案中，ALI或ARDS包括发烧或高烧。在一些实施方案中，ALI或ARDS包括气短。在一些实施方案中，ALI或ARDS包括需要氧气支持。在一些实施方案中，ALI或ARDS包括需要低流量的氧气。在一些实施方案中，ALI或ARDS包括需要高流量的氧气。在一些实施方案中，ALI或ARDS包括细胞因子风暴。在一些实施方案中，ALI或ARDS包括肺血管内皮损伤。在一些实施方案中，ALI或ARDS包括CRAC通道过度激活。在一些实施方案中，ALI或ARDS包括细胞内钙的增加。在一些实施方案中，ARDS包括肺内皮细胞功能障碍。在一些实施方案中，施用本文所述的化合物，诸如CRAC抑制剂，可减少、预防或逆转任何这些症状。

[0102] 在一些实施方案中，ALI或ARDS包括肺炎。在一些实施方案中，ALI包括肺炎。在一些实施方案中，ARDS包括肺炎。在一些实施方案中，肺炎包括肺炎阶段，诸如实变、红色肝样变、灰色肝样变或消退。在一些实施方案中，肺炎包括对象肺中的积液。在一些实施方案中，肺炎会导致对象中出现诸如缺氧或血液氧合减少的症状。

[0103] 在一些实施方案中，肺炎包括社区相关性肺炎。在一些实施方案中，肺炎包括吸入性肺炎。在一些实施方案中，肺炎是医院获得性肺炎。在一些实施方案中，肺炎是通气机相关性肺炎(VAP)。在一些实施方案中，医院获得性肺炎包括VAP。在一些实施方案中，由住院和/或插管的患者获得VAP。在一些实施方案中，ALI是通气机诱发的。在一些实施方案中，通气机诱发的ALI与内皮通透性增加有关。在一些实施方案中，ALI或ARDS是由败血症、创伤、吸入有毒物质、输血、可卡因或其他药物过量、胰腺炎或烧伤引起的。

[0104] 在一些实施方案中，肺炎包括感染相关性肺炎。在一些实施方案中，ALI或ARDS包括感染相关性肺炎。在一些实施方案中，肺炎不包括感染相关性肺炎。在一些实施方案中，感染相关性肺炎是医院获得性肺炎。

[0105] 在一些实施方案中，肺炎包括病毒性肺炎。在一些实施方案中，ALI或ARDS包括病毒性肺炎。在一些实施方案中，感染相关性肺炎不包括病毒性肺炎。

[0106] 在一些实施方案中，病毒性肺炎包括冠状病毒肺炎、流感肺炎、鼻病毒肺炎、腺病毒肺炎或呼吸道合胞病毒肺炎。在一些实施方案中，病毒性肺炎包括鼻病毒肺炎。在一些实施方案中，病毒性肺炎包括腺病毒肺炎。在一些实施方案中，病毒性肺炎包括呼吸道合胞病毒肺炎。

[0107] 在一些实施方案中，病毒性肺炎包括流感肺炎。在一些实施方案中，流感肺炎包括A型流感肺炎。在一些实施方案中，流感肺炎包括B型流感肺炎。

[0108] 在一些实施方案中，感染相关性肺炎包括细菌性肺炎。在一些实施方案中，细菌性肺炎包括链球菌肺炎、金黄色葡萄球菌肺炎、流感嗜血杆菌肺炎、嗜肺军团菌肺炎或耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)肺炎。在一些实施方案中，细菌性肺炎包括链球菌肺炎。在一些实施方案中，细菌性肺炎包括金黄色葡萄球菌肺炎。在一些实施方案中，细菌性肺炎包括流感嗜血杆菌肺炎。在一些实施方案中，细菌性肺炎包括嗜肺军团菌肺炎。在一些实施方案中，细菌性肺炎包括耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)肺炎。在一些实施方案中，细菌性肺炎包括非典型性肺炎。非典型性肺炎的实例是对正常抗生素没有反应的肺炎。在一些实施

方案中,非典型性肺炎包括嗜肺军团菌。在一些实施方案中,非典型性肺炎包括衣原体肺炎。

[0109] 在一些实施方案中,肺炎包括寄生虫相关性肺炎。在一些实施方案中,感染相关性肺炎包括支原体肺炎。在一些实施方案中,感染相关性肺炎包括真菌性肺炎。在一些实施方案中,真菌性肺炎包括耶氏肺孢子虫肺炎。

[0110] 在一些实施方案中,病毒性肺炎包括冠状病毒肺炎。在一些实施方案中,ALI或ARDS包括冠状病毒肺炎。在一些实施方案中,病毒性肺炎不包括冠状病毒肺炎。在一些实施方案中,冠状病毒肺炎包括COVID-19肺炎。在一些实施方案中,ALI或ARDS包括COVID-19肺炎。在一些实施方案中,冠状病毒肺炎不包括COVID-19肺炎。在一些实施方案中,冠状病毒肺炎包括严重急性呼吸综合征(SARS)肺炎。在一些实施方案中,冠状病毒肺炎包括中东呼吸综合征(MERS)肺炎。

[0111] 使用CRAC抑制剂治疗严重COVID-19肺炎是有充分理由的。细胞因子可驱动COVID-19患者的肺损伤。例如,IL-6可在严重COVID-19肺炎患者的肺中驱动过度活跃的炎症反应中发挥作用。IL-2、IL-17和TNFα的升高也可能在严重COVID-19肺炎中发挥作用。

[0112] CRAC通道抑制剂可具有多种MOA,它们有利于肺损伤的治疗。例如,它们可抑制多种关键细胞因子的释放:IL-2、IL-6、IL-17、TNFα。它们可以抑制中性粒细胞和中性粒细胞浸润引起的呼吸爆发。它们可以防止肺内皮细胞的激活和肺泡-毛细血管屏障的破坏。

[0113] 临床前数据支持CRAC抑制剂(例如N-(5-(6-氯-2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)吡嗪-2-基)-2-氟-6-甲基苯甲酰胺,化合物1)在严重COVID-19肺炎中的使用。体外人体淋巴细胞研究表明,化合物1抑制多种细胞因子的释放。急性胰腺炎(AP)和肺损伤的动物模型显示,化合物1和其他CRAC通道抑制剂抑制肺组织中的细胞因子和中性粒细胞浸润。

[0114] 临床数据支持在严重COVID-19肺炎中使用CRAC抑制剂。化合物1的可注射乳液在健康志愿者中持续365天是安全的,而在AP和伴随的SIRS加低氧血症患者中持续90天是安全的。用化合物1的治疗显著降低了患者中的IL-6水平,并对患者的呼吸功能障碍有有益的影响。

[0115] 在一些实施方案中,COVID-19肺炎包括严重肺炎或严重COVID-19肺炎。在一些实施方案中,ALI或ARDS包括严重COVID-19肺炎。在一些实施方案中,COVID-19肺炎包括严重或危重型COVID-19肺炎。在一些实施方案中,COVID-19肺炎包括危重型肺炎或危重型COVID-19肺炎。在一些实施方案中,ALI或ARDS包括危重型COVID-19肺炎。在一些实施方案中,COVID-19肺炎不包括严重COVID-19肺炎。在一些实施方案中,COVID-19肺炎不包括危重型COVID-19肺炎。

[0116] 在一些实施方案中,肺炎包括严重或危重型肺炎。在一些实施方案中,ALI或ARDS包括严重肺炎。严重肺炎的实例包括有空气交换或呼吸功能受损的肺炎。严重肺炎的实例包括需要氧气支持,诸如低流量氧气。在一些实施方案中,ALI或ARDS包括危重型肺炎。危重型肺炎的实例包括肺炎合并呼吸衰竭。危重型肺炎的实例包括需要额外的氧气支持,或需要高流量氧气。危重型肺炎的实例包括需要机械通气,或者需要插管。

呼吸系统病症诸如ALI/ARDS的治疗性处理

[0117] 在一些实施方案中,本文公开了向对象施用本文所述的组合物的方法。一些实施

方案涉及使用本文所述的组合物,诸如将组合物施用于对象。

[0118] 一些实施方案涉及一种治疗有此需要的对象的病症的方法。一些实施方案涉及本文所述的组合物在治疗方法中的用途。一些实施方案包括将本文所述的组合物施用于患有病症的对象。在一些实施方案中,施用治疗对象的病症。在一些实施方案中,组合物治疗对象的病症。

[0119] 在一些实施方案中,治疗包括预防、抑制或逆转对象的病症。一些实施方案涉及本文所述的组合物在预防、抑制或逆转病症的方法中的用途。一些实施方案涉及一种预防、抑制或逆转有此需要的对象的病症的方法。一些实施方案包括将本文所述的组合物施用于患有病症的对象。在一些实施方案中,施用预防、抑制或逆转对象的病症。在一些实施方案中,组合物预防、抑制或逆转对象的病症。

[0120] 本文公开了用于治疗或预防呼吸系统病症的方法。一些实施方案包括治疗呼吸系统病症。一些实施方案包括预防呼吸系统病症。一些实施方案包括治疗或减轻呼吸系统病症的症状。一些实施方案包括向有此需要的对象施用本文所述的组合物,诸如药物组合物(例如,含有钙通道抑制剂诸如CRAC抑制剂的药物组合物)。一些实施方案包括鉴定有此需要的对象患有或处于患有呼吸系统病症的风险下。

[0121] 在一些实施方案中,呼吸系统病症包括炎症性病症。在一些实施方案中,炎症性病症包括ALI或ARDS。在一些实施方案中,呼吸系统病症包括ALI。在一些实施方案中,呼吸系统病症包括ARDS。在一些实施方案中,ALI或ARDS包括肺炎。在一些实施方案中,呼吸系统病症包括肺炎。在一些情况下,肺炎可以是本文所述的肺炎。在一些实施方案中,呼吸系统病症是医院获得性的。在一些实施方案中,呼吸系统病症是通气机相关的或通气机诱发的。

[0122] 在一些实施方案中,呼吸系统病症包括感染。在一些实施方案中,感染包括病毒性感染。在一些实施方案中,病毒性感染包括冠状病毒感染。在一些实施方案中,冠状病毒感染包括COVID-19。在一些实施方案中,冠状病毒感染包括严重急性呼吸综合征(SARS)。在一些实施方案中,感染包括中东呼吸综合征(MERS)。在一些实施方案中,病毒性感染包括鼻病毒感染。在一些实施方案中,病毒性感染包括腺病毒感染。在一些实施方案中,病毒性感染包括呼吸道合胞病毒感染。在一些实施方案中,病毒性感染包括流感感染。在一些实施方案中,流感包括甲型流感。在一些实施方案中,流感包括乙型流感。在一些实施方案中,流感包括丙型流感。在一些实施方案中,流感包括丁型流感。在一些实施方案中,流感包括血凝素亚型,诸如H1、H2、H3、H5、H6、H7、H9或H10。在一些实施方案中,流感包括神经氨酸酶亚型,诸如N1、N2、N6、N7、N8或N9。

[0123] 在一些实施方案中,感染包括细菌性感染。在一些实施方案中,细菌性感染包括链球菌感染。在一些实施方案中,细菌性感染包括金黄色葡萄球菌感染。在一些实施方案中,细菌性感染包括流感嗜血杆菌感染。在一些实施方案中,细菌性感染包括嗜肺军团菌感染。在一些实施方案中,细菌性感染包括耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)感染。在一些实施方案中,细菌性感染包括嗜肺军团菌。在一些实施方案中,细菌性感染包括嗜衣原体感染。

[0124] 在一些实施方案中,感染包括寄生虫相关性感染。在一些实施方案中,感染相关性感染包括支原体感染。在一些实施方案中,感染相关性感染包括真菌感染。在一些实施方案中,真菌感染包括耶氏肺孢子虫感染。

[0125] 本文公开了用于治疗对象的急性肺损伤(ALI)或急性呼吸窘迫综合征(ARDS)的组

合物和方法，其包括向所述对象施用治疗有效量的细胞内钙信号传导抑制剂。本文还公开了一种在有发生急性肺损伤(ALI)或急性呼吸窘迫综合征(ARDS)风险的对象中预防ALI或ARDS的组合物和方法，其包括向所述对象施用治疗有效量的细胞内钙信号传导抑制剂。

[0126] 所述组合物和方法在一些实施方案中可用于治疗任何ALI或ARDS，包括但不限于肺炎、病毒性肺炎、冠状病毒肺炎、COVID-19肺炎、严重COVID-19肺炎(诸如伴有气体交换或呼吸功能受损的COVID-19)和/或危重型COVID-19肺炎(诸如伴有呼吸衰竭的COVID-19)。所述组合物和方法可用于治疗感染。所述组合物和方法可用于治疗病毒性感染。所述组合物和方法可用于治疗冠状病毒感染。所述组合物和方法可用于治疗COVID-19。在一些实施方案中，本文所述的组合物或方法包括治疗肺炎的措施，诸如本文所述的肺炎。所述治疗可以包括向对象施用本文所述的化合物或组合物。对象可能被鉴定为患有本文所公开的疾病或病症。对象可能被鉴定为有患上本文所公开的疾病或病症的风险。

[0127] 所述组合物和方法在一些实施方案中可用于预防任何ALI或ARDS，包括但不限于肺炎、病毒性肺炎、冠状病毒肺炎、COVID-19肺炎、严重COVID-19肺炎(诸如伴有气体交换或呼吸功能受损的COVID-19)和/或危重型COVID-19肺炎(诸如伴有呼吸衰竭的COVID-19)。所述组合物和方法可用于预防感染。所述组合物和方法可用于预防病毒性感染。所述组合物和方法可用于预防冠状病毒感染。所述组合物和方法可用于预防COVID-19。在一些实施方案中，本文所述的组合物或方法包括预防肺炎的措施，诸如本文所述的肺炎。所述预防可以包括向对象施用本文所述的化合物或组合物。对象可能被鉴定为患有本文所公开的疾病或病症。对象可能被鉴定为有患上本文所公开的疾病或病症的风险。

[0128] 在一些实施方案中，递送细胞内钙信号传导抑制剂以达到等于、约等于或大于针对化合物所测定的体外IC_{50}值的组织水平浓度。在一些实施方案中，递送钙信号传导抑制剂以达到以下组织水平浓度：针对化合物所测定的体外IC_{50}值的1.5x、2x、3x、4x、5x、6x、7x、8x、9x、10x、11x、12x、13x、14x、15x、16x、17x、18x、19x、20x、21x、22x、23x、24x、25x、26x、27x、28x、29x、30x、31x、32x、33x、34x、35x、36x、37x、38x、39x、40x、41x、42x、43x、44x、45x、46x、47x、48x、49x、50x、51x、52x、53x、54x、55x、56x、57x、58x、59x、60x、61x、62x、63x、64x、65x、66x、67x、68x、69x、70x、71x、72x、73x、74x、75x、76x、77x、78x、79x、80x、81x、82x、83x、84x、85x、86x、87x、88x、89x、90x、91x、92x、93x、94x、95x、96x、97x、98x、99x、100x，或在1x至100x范围内的任何非整数倍数。

[0129] 在一些实施方案中，递送钙信号传导抑制剂以达到在以下范围内的组织水平浓度：针对化合物所测定的体外IC_{50}值的1x至100x、2x至80x、3x至60x、4x至50x、5x至45x、6x至44x、7x至43x、8x至43x、9x至41x、或10x至40x，或在所述范围内的任何非整数。

[0130] 在一些实施方案中，递送钙信号传导抑制剂以达到以下组织水平浓度：1μM、2μM、3μM、4μM、5μM、6μM、7μM、8μM、9μM、10μM、11μM、12μM、13μM、14μM、15μM、16μM、17μM、18μM、19μM、20μM、21μM、22μM、23μM、24μM、25μM、26μM、27μM、28μM、29μM、30μM、31μM、32μM、33μM、34μM、35μM、36μM、37μM、38μM、39μM、40μM、41μM、42μM、43μM、44μM、45μM、46μM、47μM、48μM、49μM、50μM、51μM、52μM、53μM、54μM、55μM、56μM、57μM、58μM、59μM、60μM、61μM、62μM、63μM、64μM、65μM、66μM、67μM、68μM、69μM、70μM、71μM、72μM、73μM、74μM、75μM、76μM、77μM、78μM、79μM、80μM、81μM、82μM、83μM、84μM、85μM、86μM、87μM、88μM、89μM、90μM、91μM、92μM、93μM、94μM、95μM、96μM、97μM、98μM、99μM、100μM，或在约1μM至约100μM范围内的任何非整数倍数。

[0131] 在一些实施方案中，递送钙信号传导抑制剂以达到在以下范围内的组织水平浓度：1μM至100μM、2μM至90μM、3μM至80μM、4μM至70μM、5μM至60μM、6μM至50μM、7μM至40μM、8μM至30μM、9μM至20μM、或10μM至40μM，或在所述范围内的任何整数或非整数。

[0132] 在一些实施方案中，递送钙信号传导抑制剂以达到在以下范围内的组织水平浓度：9.5μM至10.5μM、9μM至11μM、8μM至12μM、7μM至13μM、5μM至15μM、2μM至20μM、或1μM至50μM，或在所述范围内的任何整数或非整数。

[0133] 在一个实施方案中，一种用于治疗患有细胞因子风暴综合征的患者的方法，其包括向有需要的患者施用治疗有效量的N-(5-(6-氯-2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)吡嗪-2-基)-2-氟-6-甲基苯甲酰胺。在另一实施方案中，静脉内向患者施用N-(5-(6-氯-2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)吡嗪-2-基)-2-氟-6-甲基苯甲酰胺。在又一实施方案中，一种用于抑制多种关键细胞因子释放的方法，其包括向患者施用治疗有效量的N-(5-(6-氯-2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)吡嗪-2-基)-2-氟-6-甲基苯甲酰胺。在又一实施方案中，一种用于抑制IL-2、IL-6、IL-17和/或TNFα释放的方法，其包括施用有效量的N-(5-(6-氯-2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)吡嗪-2-基)-2-氟-6-甲基苯甲酰胺。在仍另一实施方案中，一种抑制过度或不受控制的促炎性细胞因子释放的方法，其包括施用有效量的N-(5-(6-氯-2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)吡嗪-2-基)-2-氟-6-甲基苯甲酰胺。

[0134] N-(5-(6-氯-2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)吡嗪-2-基)-2-氟-6-甲基苯甲酰胺(化合物1)是本文所述的组合物的实例，并且抑制钙释放激活的钙(CRAC)通道。含有化合物1的药物组合物已被证明在急性胰腺炎的危重患者中是安全和潜在有效的。它的快速起效可对急性情况有益。它可以防止严重COVID-19肺炎患者发生ARDS和/或减少对通气机的需要。

[0135] 化合物1是一种有效的选择性CRAC通道小分子抑制剂。CRAC通道见于包括免疫细胞的许多细胞类型上，这些通道的异常激活可在急性和慢性炎症综合征的病理过程中发挥关键作用。

[0136] 由于化合物1的快速作用特性，它和其他CRAC通道抑制剂会迅速减轻与COVID-19相关的细胞因子风暴，并且可稳定肺内皮毛细血管屏障，并防止更严重的肺损伤。对于感染SARS-CoV-2的患者，发病率和死亡率可由宿主免疫应答引起。这些应答可导致细胞因子风暴，进而引起严重肺炎和低氧性呼吸衰竭、ARDS、死亡，或在幸存者的情况下，造成永久性肺功能受损。

[0137] 本文所述的方法的一些实施方案包括从对象获得基线测量值。例如，在一些实施方案中，基线测量值在治疗对象之前从所述对象处获得。基线测量的实例包括基线蛋白质测量、基线mRNA测量、基线肺部炎症测量、基线肺髓过氧化物酶活性(例如中性粒细胞浸润)测量、基线细胞因子测量(例如细胞因子的蛋白质或mRNA水平，诸如TNFα、IL-2、IL-6、IL-17、IFN-α、IFN-β、IFN-ω和IFN-γ)、基线细胞因子面板测量、基线降钙素原测量、基线持续性全身炎症反应综合征的测量、基线降钙素原测量、基线内皮细胞Ca^{2+}通量测量、基线肺损伤测量、基线内皮肺功能障碍测量、基线呼吸衰竭测量(例如严重程度或持续时间)、补充氧气或通气支持的基线需求、补充氧气或通气支持量或持续时间的基线测量、基线肺液测量、基线PaO_2测量、基线FiO_2测量、基线PaO_2/FiO_2测量、基线SaO_2测量、基线顺序量表测量、到出

院的基线时间测量、基线体温测量、基线发热测量或基线心率测量。

[0138] 在一些实施方案中，基线测量是通过对从对象获得的样品进行诸如免疫测定、比色测定或荧光测定的测定而获得的。在一些实施方案中，基线测量是通过免疫测定、比色测定或荧光测定获得的。在一些实施方案中，基线测量是通过PCR获得的。在一些实施方案中，PCR包括RT-qPCR或RT-qPCR。例如，可以使用鼻拭子、咽拭子或呼吸道抽吸物的RT-PCR测定对诸如SARS-Cov-2核酸的病毒颗粒进行定量或确认。

[0139] 在一些实施方案中，基线测量是直接在对象中或对象上获得的。在一些实施方案中，基线测量是通过鼻套管获得的。在一些实施方案中，基线测量是通过脉搏血氧仪获得的。在一些实施方案中，基线测量是通过温度计获得的。在一些实施方案中，基线测量是通过对对象进行目视检查获得的。在一些实施方案中，基线测量是通过医疗成像设备获得的。

[0140] 本文所述方法的一些实施方案包括从对象处获得样品。在一些实施方案中，基线测量是在施用本文所述的组合物之前从对象处获得的。在一些实施方案中，基线测量是在从对象处获得的样品中获得的。在一些实施方案中，样品是在施用本文所述的组合物或用本文所述的组合物治疗对象之前从所述对象处获得的。在一些实施方案中，基线测量是在向对象施用组合物之前在从所述对象处获得的样品中获得的。

[0141] 在一些实施方案中，样品包括流体。在一些实施方案中，样品是流体样品。在一些实施方案中，流体样品是支气管肺泡灌洗液(BAL)样品。在一些实施方案中，样品包括鼻样品。在一些实施方案中，样品包括咽样品。在一些实施方案中，样品包括拭子(例如鼻拭子或咽拭子)。在一些实施方案中，样品包括抽吸物。在一些实施方案中，样品包括呼吸道样品(例如呼吸道抽吸物)。在一些实施方案中，样品包含或由血液、血浆或血清样品组成。在一些实施方案中，样品是血液样品。在一些实施方案中，样品是血浆样品。在一些实施方案中，样品是血清样品。在一些实施方案中，样品包括组织。在一些实施方案中，样品是组织样品。在一些实施方案中，样品包含或由肺组织组成。在一些实施方案中，样品包含或由一个或多个肺细胞组成。肺细胞可以是上皮细胞或内皮细胞。在一些实施方案中，样品包含或由一个或多个内皮细胞诸如肺内皮细胞组成。在一些实施方案中，样品包含或由一个或多个上皮细胞诸如肺泡上皮细胞组成。

[0142] 在一些实施方案中，组合物的组成或施用影响以下测量，诸如蛋白质测量、mRNA测量、肺部炎症测量、肺髓过氧化物酶活性(例如中性粒细胞浸润)测量、细胞因子测量(例如细胞因子的蛋白质或mRNA水平，诸如TNFα、IL-6、IL-17、其他细胞因子)、细胞因子面板测量、降钙素原测量、持续性全身炎症反应综合征的测量、降钙素原测量、内皮细胞Ca2+通量测量、肺损伤测量、内皮肺功能障碍测量、呼吸衰竭测量(例如严重程度或持续时间)、补充氧气或通气支持的需求、补充氧气或通气支持量或持续时间的测量、肺液测量、PaO_2测量、FiO_2测量、PaO_2/FiO_2测量、SaO_2测量、到出院的时间测量、顺序量表测量、体温测量、发热测量或心率测量。在一些实施方案中，组合物相对于基线测量改进了测量。在一些实施方案中，另一种测量得到改进，诸如与病症相关的症状或标志物(例如，在急性肺损伤(ALI)及其严重表现如急性呼吸窘迫综合征(ARDS)一节中所讨论)。在一些实施方案中，组合物相对于基线测量减少了测量。在一些实施方案中，组合物相对于基线测量增加了测量。

[0143] 本文所述的方法的一些实施方案包括从对象处获得测量结果。例如，测量结果可以在治疗对象之后从对象处获得。在一些实施方案中，CRAC抑制剂在0小时(第一次输注

CRAC抑制剂开始时)以初始剂量向对象施用,然后在0小时后的24小时和48小时施用后续不同剂量。在一些实施方案中,CRAC抑制剂的后续剂量可在0小时后的72小时施用。在一些实施方案中,测量是在上述24小时内收集的样品中获得的。在一些实施方案中,测量是在上述48小时内收集的样品中获得的。在一些实施方案中,测量是在上述72小时内收集的样品中获得的。在一些实施方案中,在将组合物施用于对象之后,在从对象处获得的本文所述的第二样品(诸如血液、血浆、血清或肺样品)中获得测量。在一些实施方案中,测量是病症已得到治疗的指示。在一些实施方案中,测量是直接从对象处获得的。在一些实施方案中,测量是以非侵入性方式,诸如通过使用成像设备获得的。

[0144] 在一些实施方案中,在施用组合物(例如细胞内钙信号传导抑制剂或CRAC抑制剂)后,对象在包括诸如以下的顺序肺炎量表的顺序量表上有所改善(例如数值增加):1.死亡;2.住院,使用有创机械通气或ECMO;3.住院,使用无创通气或高流量氧气设备;4.住院,需要低流量补充氧气;5.住院,不需要补充氧气-需要持续的医疗护理(冠状病毒(例如COVID-19)相关或其他);6.住院,不需要补充氧气-不再需要持续的医疗护理(除了协议研究药物管理外);7.未住院。

[0145] 在一些实施方案中,向对象施用组合物(例如细胞内钙信号传导抑制剂或CRAC抑制剂)减少对象的住院时间测量。在一些实施方案中,住院时间测量值是在医院里的时间量。在一些实施方案中,住院时间测量值是到出院的时间测量值。在一些实施方案中,组合物的施用减少住院次数。

[0146] 在一些实施方案中,向对象施用组合物(例如细胞内钙信号传导抑制剂或CRAC抑制剂)改善对象中的氧分压(PaO_2)值。例如,PaO_2值可以通过施用组合物而增加。在一些实施方案中,向对象施用组合物改善对象中的氧分压与吸入氧气分数的比率(PaO_2/FiO_2)。例如,PaO_2/FiO_2可以通过施用组合物而增加。

[0147] 在一些实施方案中,向对象施用组合物防止、减少或消除对象对补充氧气或通气支持的需要。在一些实施方案中,组合物的施用防止对补充氧气支持的需要。在一些实施方案中,组合物的施用减少对补充氧气支持的需要。在一些实施方案中,组合物的施用消除对补充氧气支持的需要。在一些实施方案中,组合物的施用防止对补充通气支持的需要。在一些实施方案中,组合物的施用减少对补充通气支持的需要。在一些实施方案中,组合物的施用消除对补充通气支持的需要。在一些实施方案中,组合物的施用减少补充氧气支持的量。在一些实施方案中,组合物的施用缩短补充氧气支持的持续时间。在一些实施方案中,组合物的施用减少补充通气支持的量。在一些实施方案中,组合物的施用缩短补充通气支持的持续时间。

[0148] 在一些实施方案中,本文公开了治疗方法,其可包括向对象施用本文所公开的化合物。一些实施方案还包括向对象施用呼吸治疗。在一些实施方案中,呼吸治疗包括呼吸辅助。在一些实施方案中,呼吸辅助包括插管(诸如气管插管)、通气(诸如机械通气或无创通气)或氧气支持。在一些实施方案中,对象在施用组合物之前或在开始组合物的治疗之前,已经施用了呼吸治疗,诸如呼吸辅助。在一些实施方案中,呼吸治疗与组合物同时施用。在一些实施方案中,呼吸治疗与组合物的治疗重叠。

[0149] 在一些实施方案中,钙通道抑制剂(例如Auxora)是以如下剂量施用的:约0.5mg/kg、1.0mg/kg、1.5mg/kg、2mg/kg、5mg/kg、10mg/kg、15mg/kg、20mg/kg、25mg/kg、30mg/kg、

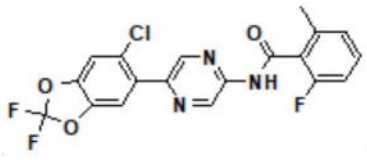
35mg/kg、40mg/kg、45mg/kg、50mg/kg、55mg/kg、60mg/kg、65mg/kg、70mg/kg、75mg/kg、80mg/kg、85mg/kg、90mg/kg、95mg/kg、100mg/kg、125mg/kg、150mg/kg、175mg/kg、200mg/kg、225mg/kg、250mg/kg，或在任意两个上述值之间的任何数字。

与化合物的组合施用来治疗ALI/ARDS

[0150] 本文公开了组合施用钙通道抑制剂与用于治疗ALI或ARDS的至少一种化合物的的组合物和施用方案。在一些实施方案中，施用方案包括向对象施用用于治疗ALI或ARDS的化合物，以及施用细胞内钙信号传导抑制剂。

[0151] 在一些实施方案中，化合物选自：前列腺素抑制剂、补体抑制剂、β-激动剂、β-2激动剂、粒细胞巨噬细胞集落刺激因子、皮质类固醇、N-乙酰半胱氨酸、他汀类、胰高血糖素样肽-1(7-36)酰胺(GLP-1)、髓系细胞触发受体(TREM1)阻滞肽、17-烯丙基氨基-17-脱甲氧基格尔德霉素(17-AAG)、肿瘤坏死因子(TNF)抗体、重组白介素(IL)-1受体拮抗剂、苯磺顺阿曲库胺和血管紧张素转化酶(ACE)抑制剂。在一些实施方案中，化合物包括抗病毒化合物。在一些实施方案中，抗病毒化合物是抗冠状病毒化合物。在一些实施方案中，抗冠状病毒化合物包括瑞德西韦。抗病毒化合物的实例包括抗逆转录病毒化合物、蛋白酶抑制剂、核苷逆转录酶抑制剂、逆转录酶抑制剂、整合酶抑制剂、进入抑制剂、成熟抑制剂、抗流感化合物、帕拉米韦、扎那米韦、奥司他韦、巴洛沙韦酯(baloxavir marboxil)及其药学上可接受的盐。在一些实施方案中，化合物包括抗生素。在一些实施方案中，化合物包括抗疟药。在一些实施方案中，化合物包括羟氯喹。在一些实施方案中，化合物包括氯喹。

[0152] 在一些实施方案中，细胞内钙信号传导抑制剂是SOC抑制剂。在一些实施方案中，细胞内钙信号传导抑制剂是CRAC抑制剂。示例性CRAC抑制剂包括N-(5-(6-氯-2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)吡嗪-2-基)-2-氟-6-甲基苯甲酰胺，其具有以下结构



。示例性CRAC抑制剂包括GSK-7975A。示例性CRAC抑制剂包括BTP2。示例性CRAC抑制剂包括2,6-二氟-N-(1-(4-羟基-2-(三氟甲基)苄基)-1H-吡唑-3-基)苯甲酰胺。

[0153] 在一些实施方案中，施用方案包括施用钙通道抑制剂，诸如CRAC抑制剂，诸如N-(5-(6-氯-2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)吡嗪-2-基)-2-氟-6-甲基苯甲酰胺和BTP2中的至少一种，以及用于治疗ALI/ARDS的化合物。在一些实施方案中，钙通道抑制剂，诸如CRAC抑制剂，诸如N-(5-(6-氯-2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)吡嗪-2-基)-2-氟-6-甲基苯甲酰胺和BTP2中的至少一种是在与用于治疗ALI/ARDS的化合物同一天针对肺活动施用的。在一些实施方案中，钙通道抑制剂，诸如CRAC抑制剂，诸如N-(5-(6-氯-2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)吡嗪-2-基)-2-氟-6-甲基苯甲酰胺和BTP2中的至少一种是在与用于治疗ALI/ARDS的化合物同一周施用的。在一些实施方案中，钙通道抑制剂，诸如CRAC抑制剂，诸如N-(5-(6-氯-2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)吡嗪-2-基)-2-氟-6-甲基苯甲酰胺和BTP2中的至少一种与每次施用用于治疗ALI/ARDS的化合物同时施用。在一些实施方案中，钙通道抑制剂，诸如CRAC抑制剂，诸如N-(5-(6-氯-2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)吡嗪-2-基)-2-氟-6-甲基苯甲酰

胺和BTP2中的至少一种是以独立于用于治疗ALI/ARDS的化合物的施用模式的施用方案模式来施用。在一些实施方案中，钙通道抑制剂，诸如CRAC抑制剂，诸如N-(5-(6-氯-2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)吡嗪-2-基)-2-氟-6-甲基苯甲酰胺和BTP2中的至少一种是与用于治疗ALI/ARDS的化合物通过相同的递送途径施用，诸如经口或静脉内施用。在一些实施方案中，钙通道抑制剂，诸如CRAC抑制剂，诸如N-(5-(6-氯-2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)吡嗪-2-基)-2-氟-6-甲基苯甲酰胺和BTP2中的至少一种与用于治疗ALI/ARDS的化合物相比，是通过单独的递送途径施用的。在一些实施方案中，仅在接受用于治疗ALI/ARDS的化合物的患者显示出所述药物对肺活动的影响的至少一个迹象后，钙通道抑制剂，诸如CRAC抑制剂，诸如N-(5-(6-氯-2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)吡嗪-2-基)-2-氟-6-甲基苯甲酰胺和BTP2中的至少一种才向所述患者施用。在一些实施方案中，在接受用于治疗ALI/ARDS的化合物的患者中或从所述患者没有任何证据表明所述化合物对肺活动有影响的任何迹象时，钙通道抑制剂，诸如CRAC抑制剂，诸如N-(5-(6-氯-2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)吡嗪-2-基)-2-氟-6-甲基苯甲酰胺和BTP2中的至少一种才向所述患者施用。

[0154] 在一些实施方案中，钙通道抑制剂，诸如CRAC抑制剂，诸如N-(5-(6-氯-2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)吡嗪-2-基)-2-氟-6-甲基苯甲酰胺和BTP2中的至少一种与用于治疗ALI/ARDS的化合物呈单一组合物形式来施用。因此，本文所公开的一些实施方案涉及一种组合物，其包含细胞内钙信号传导抑制剂和至少一种用于治疗ALI/ARDS的化合物。在一些实施方案中，至少一种药物选自：前列腺素抑制剂、补体抑制剂、β-激动剂、β-2激动剂、粒细胞巨噬细胞集落刺激因子、皮质类固醇、N-乙酰半胱氨酸、他汀类、胰高血糖素样肽-1(7-36)酰胺(GLP-1)、髓系细胞触发受体(TREM1)阻滞肽、17-烯丙基氨基-17-脱甲氧基格尔德霉素(17-AAG)、肿瘤坏死因子(TNF)抗体、重组白介素(IL)-1受体拮抗剂、苯磺顺阿曲库胺和血管紧张素转化酶(ACE)抑制剂。

[0155] 在一些实施方案中，递送细胞内钙信号传导抑制剂以达到等于、约等于或大于针对化合物所测定的体外IC_{50}值的组织水平浓度。在一些实施方案中，递送钙信号传导抑制剂以达到以下组织水平浓度：针对化合物所测定的体外IC_{50}值的1.5x、2x、3x、4x、5x、6x、7x、8x、9x、10x、11x、12x、13x、14x、15x、16x、17x、18x、19x、20x、21x、22x、23x、24x、25x、26x、27x、28x、29x、30x、31x、32x、33x、34x、35x、36x、37x、38x、39x、40x、41x、42x、43x、44x、45x、46x、47x、48x、49x、50x、51x、52x、53x、54x、55x、56x、57x、58x、59x、60x、61x、62x、63x、64x、65x、66x、67x、68x、69x、70x、71x、72x、73x、74x、75x、76x、77x、78x、79x、80x、81x、82x、83x、84x、85x、86x、87x、88x、89x、90x、91x、92x、93x、94x、95x、96x、97x、98x、99x、100x，或在1x至100x范围内的任何非整数倍数。

[0156] 在一些实施方案中，递送钙信号传导抑制剂以达到在以下范围内的组织水平浓度：针对化合物所测定的体外IC_{50}值的1x至100x、2x至80x、3x至60x、4x至50x、5x至45x、6x至44x、7x至43x、8x至43x、9x至41x、或10x至40x，或在所述范围内的任何非整数。

[0157] 在一些实施方案中，递送钙信号传导抑制剂以达到以下组织水平浓度：1μM、2μM、3μM、4μM、5μM、6μM、7μM、8μM、9μM、10μM、11μM、12μM、13μM、14μM、15μM、16μM、17μM、18μM、19μM、20μM、21μM、22μM、23μM、24μM、25μM、26μM、27μM、28μM、29μM、30μM、31μM、32μM、33μM、34μM、35μM、36μM、37μM、38μM、39μM、40μM、41μM、42μM、43μM、44μM、45μM、46μM、47μM、48μM、49μM、50μ

M、51μM、52μM、53μM、54μM、55μM、56μM、57μM、58μM、59μM、60μM、61μM、62μM、63μM、64μM、65μM、66μM、67μM、68μM、69μM、70μM、71μM、72μM、73μM、74μM、75μM、76μM、77μM、78μM、79μM、80μM、81μM、82μM、83μM、84μM、85μM、86μM、87μM、88μM、89μM、90μM、91μM、92μM、93μM、94μM、95μM、96μM、97μM、98μM、99μM、100μM，或在约1μM至约100μM范围内的任何非整数倍数。

[0158] 在一些实施方案中，递送钙信号传导抑制剂以达到在以下范围内的组织水平浓度：1μM至100μM、2μM至90μM、3μM至80μM、4μM至70μM、5μM至60μM、6μM至50μM、7μM至40μM、8μM至30μM、9μM至20μM、或10μM至40μM，或在所述范围内的任何整数或非整数。

[0159] 在一些实施方案中，递送钙信号传导抑制剂以达到在以下范围内的组织水平浓度：9.5μM至10.5μM、9μM至11μM、8μM至12μM、7μM至13μM、5μM至15μM、2μM至20μM、或1μM至50μM，或在所述范围内的任何整数或非整数。

药物组合物

[0160] 本文提供了药物组合物，其包含至少一种本文所述的钙信号传导抑制剂。在一些情况下，药物组合物包含至少一种钙信号传导抑制剂和至少一种用于治疗本文所公开的ALI和/或ARDS的化合物。

[0161] 本文提供的药物组合物可以如下形式引入：口服剂型、透皮剂型、油制剂、可食用食品、食品基质、水分散剂、乳液、可注射乳液、溶液、混悬液、酏剂、凝胶、糖浆、气溶胶、雾剂、粉剂、胶囊、片剂、纳米颗粒、纳米颗粒混悬液、纳米颗粒乳液、糖锭、洗剂、糊剂、配方棒、香膏、霜剂和/或软膏剂。

[0162] 在一些实施方案中，药物组合物另外包含赋形剂、增溶剂、表面活性剂、崩解剂和缓冲剂中的至少一种。在一些实施方案中，药物组合物不含药学上可接受的赋形剂。如本文所用，术语“药学上可接受的赋形剂”是指一种或多种适用于向对象施用的相容性固体或包封物质。如本文所用，术语“相容的”是指组合物的组分能够以没有相互作用的方式与本发明化合物掺和，并且彼此相掺和，这将显著降低组合物在普通使用情况下的药物功效。在一些实施方案中，药学上可接受的赋形剂具有足够高的纯度和足够低的毒性，以使它们适于优选施用于被治疗的动物，优选哺乳动物。

[0163] 可以充当药学上可接受的赋形剂的物质的一些实例包括：氨基酸，诸如丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、蛋氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、色氨酸、酪氨酸和缬氨酸。在一些实施方案中，氨基酸是精氨酸。在一些实施方案中，氨基酸为L-精氨酸；单糖，诸如葡萄糖(右旋糖)、阿拉伯糖、甘露醇、果糖(左旋糖)和半乳糖；纤维素及其衍生物，诸如羧甲基纤维素钠、乙基纤维素和甲基纤维素；固体润滑剂，诸如滑石粉、硬脂酸、硬脂酸镁和硬脂酰富马酸钠；多元醇，诸如丙二醇、甘油、山梨醇、甘露醇和聚乙二醇；乳化剂，诸如聚山梨酯；润湿剂，诸如十二烷基硫酸钠、Tween®、Span、烷基硫酸盐、烷基乙氧基酸硫酸盐；阳离子表面活性剂，诸如西曲溴铵、苯扎氯铵和氯化十六烷基吡啶；稀释剂，诸如碳酸钙、微晶纤维素、磷酸钙、淀粉、预糊化淀粉、碳酸钠、甘露醇和乳糖；粘合剂，诸如淀粉(玉米淀粉和马铃薯淀粉)、明胶、蔗糖羟丙基纤维素(HPC)、聚乙烯吡咯烷酮(PVP)和羟丙基甲基纤维素(HPMC)；崩解剂，诸如淀粉和藻酸；超崩解剂，诸如ac-di-sol、交联羧甲基纤维素钠、淀粉乙醇酸钠和交联聚维酮。

[0164] 助流剂，诸如二氧化硅；着色剂，诸如FD&C染料；甜味剂和调味剂，诸如阿斯巴甜、

糖精、薄荷醇、薄荷和水果香精;防腐剂,诸如苯扎氯铵、PHMB、氯丁醇、硫柳汞、苯汞、醋酸酯、硝酸苯汞、对羟基苯甲酸酯和苯甲酸钠;张力调节剂,诸如氯化钠、氯化钾、甘露醇和甘油;抗氧化剂,诸如亚硫酸氢钠、丙酮、亚硫酸氢钠、甲醛、次硫酸氢钠、硫脲和EDTA;pH调节剂,诸如NaOH、碳酸钠、醋酸钠、HCl和柠檬酸;低温保护剂,诸如磷酸钠或磷酸钾、柠檬酸、酒石酸、明胶和碳水化合物,诸如右旋糖、甘露醇和右旋糖酐;表面活性剂,诸如十二烷基硫酸钠。例如,阳离子表面活性剂,诸如溴棕三甲铵(包括十四烷基三甲基溴化铵和十二烷基和十六烷基化合物)、苯扎氯铵和氯化十六烷基吡啶。阴离子表面活性剂的一些实例是烷基硫酸盐、烷基乙氧基化物酸硫酸盐、肥皂、羧酸盐离子、硫酸盐离子和磺酸盐离子。非离子表面活性剂的一些实例是聚氧乙烯衍生物、聚氧丙烯衍生物、多元醇衍生物、多元醇酯、聚氧乙烯酯、泊洛沙姆、葡甘醇(glocol)、甘油酯、脱水山梨醇衍生物、聚乙二醇(诸如PEG-40、PEG-50或PEG-55)和脂肪醇酯;有机材料,诸如碳水化合物、改性的碳水化合物、乳糖(包括a-乳糖、一水合喷雾干燥乳糖或无水乳糖)、淀粉、预糊化淀粉、蔗糖、甘露醇、山梨糖、纤维素(包括粉末状纤维素和微晶纤维素);无机材料,诸如磷酸钙(包括无水磷酸氢钙、磷酸氢钙或磷酸三钙);共加工的稀释剂;压缩助剂;抗粘剂,诸如二氧化硅和滑石粉。

[0165] 在一些实施方案中,本文所述的药物组合物以单位剂型提供。如本文所用,“单位剂型”是一种组合物,其含有根据良好的医疗实践,适合以单剂量向对象施用的至少一种钙信号传导抑制剂和/或至少一种用于治疗ALI和/或ARDS的化合物。然而,单剂型或单位剂型的制备并不意味着该剂型每天施用一次或每个疗法过程施用一次。这种剂型预期每天施用一次、两次、三次或更多次,并且可以在某一时段(例如,从约30分钟至约2-6小时)内作为输注施用,或者作为连续输注施用,并且可以在疗法过程期间施用大于一次,但是不特别排除单次施用。

特定术语

[0166] 除非另外定义,否则本文中使用的所有技术和科学术语都具有与要求保护的主题所属领域的技术人员通常所理解的相同含义。在本文中的术语存在多种定义的情况下,都以本部分中的那些定义为准。在提及URL或其他此类标识符或地址时,应理解此类标识符可以更改,并且互联网上的特定信息可以更新,但可以通过搜索互联网找到等价的信息。参考文献证明此类信息的可用性和公众传播。

[0167] 应了解上文的一般描述与下文详述两者均仅具有示例性和说明性并且不限制任何要求保护的主题。在本申请中,除非另外明确陈述,否则使用单数包括复数。必须注意,除非上下文另外清楚地指明,否则如本说明书及所附权利要求书中所用,单数形式“一个/一种(a/an)”和“该/所述(the)”包括复数指示物。在本申请中,除非另有陈述,否则“或”的使用意指“和/或”。此外,术语“包括(including)”以及其他形式如“包括(include)”、“包括(includes)”和“包括(included)”的使用是非限制性的。

[0168] 本文使用的章节标题仅用于组织目的,不应被解释为限制所描述的主题。

[0169] 标准化学术语的定义可见于参考工具书中,包括但不限于Carey和Sundberg“Advanced Organic Chemistry第4版”A卷(2000)和B卷(2001),Plenum Press,New York。除非另有说明,否则常规的质谱、NMR、HPLC、蛋白质化学、生物化学、重组DNA技术和药理学方法。

[0170] 除非提供具体定义,否则关于本文所述的分析化学、合成有机化学以及医学和药

物化学使用的术语以及本文所述的分析化学、合成有机化学以及医学和药物化学的实验室程序和技术是本领域中公认的那些。标准技术可用于化学合成、化学分析、药物制备、配制和递送以及患者的治疗。标准技术可用于重组DNA、寡核苷酸合成、及组织培养和转化(例如,电穿孔、脂质转染)。可以例如按照制造商说明书使用试剂盒、或按本领域中通常所完成的或如本文所述执行反应和纯化技术。上述技术和程序一般可以用常规方法执行,并且如本发明中引用和讨论的各种通用和更具体的参考文献所述。

[0171] 应理解,本文所述的方法和组合物不限于本文所述的特定方法、方案、细胞系、构建体和试剂,因此可以变化。还应理解,本文所用的术语仅出于描述特定实施方案的目的,且不旨在限制本文所述的方法、化合物、组合物的范围。

[0172] 术语“试剂盒”和“制品”被用作同义词。

[0173] 术语“对象”或“患者”涵盖哺乳动物和非哺乳动物。哺乳动物的实例包括但不限于哺乳动物类的任何成员:人、非人灵长类动物,诸如黑猩猩和其他猿类和猴物种;农场动物,诸如牛、马、绵羊、山羊和猪;家养动物,诸如兔、狗和猫;实验动物,包括啮齿动物,诸如大鼠、小鼠和豚鼠等。非哺乳动物的实例包括但不限于鸟类、鱼类等。在本文提供的方法和组合物的一个实施方案中,哺乳动物是人。

[0174] 如本文所用,术语“治疗(treat、treating或treatment)”包括减轻、缓解或改善某一疾病或病状的症状;预防额外症状;改善或预防症状的根本原因;抑制疾病或病状,例如,阻止疾病或病状的发展,缓解疾病或病状,使疾病或病状消退,缓解由疾病或病状引起的状况,或者以预防和/或治疗的方式来终止疾病或病状的症状。如本文所用,术语“靶蛋白”是指能够与本文所述的化合物结合或相互作用的蛋白质或蛋白质的一部分,诸如具有化合物A组结构的化合物。在某些实施方案中,靶蛋白是STIM蛋白。在某些实施方案中,靶蛋白是Orai蛋白。

[0175] 如本文所用,“STIM蛋白”包括但不限于哺乳动物STIM-1,诸如人和啮齿动物(例如小鼠)STIM-1、黑腹果蝇D-STIM、秀丽隐杆线虫C-STIM、冈比亚按蚊STIM和哺乳动物STIM-2,诸如人和啮齿动物(例如小鼠)STIM-2。(参见US 2007/0031814的段落[0211]至[0270],以及US 2007/0031814的表3,它们都通过引用并入本文)如本文所述,此类蛋白质已被鉴定涉及、参与和/或提供库操纵的钙内流或其调节,细胞质钙缓冲和/或钙水平的调节或钙进入、在其中或离开细胞内钙库(例如内质网)的运动。

[0176] 如本文所用,“Orai蛋白”包括Orai1(SEQ ID NO:1如WO 07/081804中所述)、Orai2(SEQ ID NO:2如WO 07/081804中所述)或Orai3(SEQ ID NO:3如WO 07/081804中所述)。Orai1核酸序列对应于GenBank登录号NM_032790,Orai2核酸序列对应于GenBank登录号BC069270并且Orai3核酸序列对应于GenBank登录号NM_152288。如本文所用,Orai是指Orai基因中的任一个,例如Orai1、Orai2、Orai3(参见WO 07/081804的表I)。如本文所述,此类蛋白质已被鉴定为涉及、参与和/或提供库操纵的钙内流或其调节,细胞质钙缓冲和/或钙水平的调节或钙进入、在其中或离开细胞内钙库(例如内质网)的运动。

[0177] 术语“片段”或“衍生物”当涉及蛋白质(例如STIM、Orai)时意指在至少一次测定中与原生蛋白质保持基本上相同的生物功能或活性的蛋白质或多肽。例如,参考蛋白质的片段或衍生物保持原生蛋白质至少约50%的活性、至少75%、至少95%的原生蛋白质活性,如通过钙流入测定所确定。

[0178] 如本文所用，通过施用特定化合物或药物组合物来改善特定疾病、病症或病状的症状，是指可以归因于或与使用该化合物或组合物有关的任何严重程度减轻、发病延迟、进展减缓或持续时间缩短，无论其是永久性或临时性、持久性或暂时性的。

[0179] 如本文所用，术语“调节”意指直接或间接地与靶蛋白相互作用，从而改变靶蛋白的活性，包括，仅举例来说，抑制靶标的活性，或限制或降低靶标的活性。

[0180] 如本文所用，术语“调节剂”是指改变靶标活性的化合物。例如，调节剂可以使靶标的某一活性的量级与没有调节剂时的活性量级相比增加或减少。在某些实施方案中，调节剂是一种抑制剂，它降低靶标的一种或多种活性的量级。在某些实施方案中，抑制剂完全阻止靶标的一种或多种活性。

[0181] 如本文所用，与细胞内钙有关的“调节”是指细胞内钙的任何改变或调整，包括但不限于细胞质和/或细胞内钙储存细胞器(例如内质网)中的钙浓度的改变，以及钙流入、流出和在细胞内的流动动力学改变。一方面，调节是指减少。

[0182] 如本文所用，术语“靶活性”是指能够受到调节剂调节的生物活性。某些示例性靶活性包括但不限于结合亲和力、信号转导、酶活性、肿瘤生长、炎症或炎症相关过程，以及与疾病或病状相关的一种或多种症状的改善。

[0183] 如本文所用，关于SOC通道活性或CRAC通道活性的术语“抑制(inhibits)”、“抑制(inhibiting)”或“抑制剂”是指对库操纵的钙通道活性或钙释放激活的钙通道活性的抑制。

[0184] 如本文所用，关于制剂、组合物或成分的术语“可接受的”意指对所治疗的对象的一般健康状况没有持续的有害作用。

[0185] 如本文所用，术语“药学上可接受的”是指一种材料，诸如载剂、稀释剂或制剂，其不会消除化合物的生物活性或特性，并且是相对无毒的，即所述材料可以施用于个体而不会引起不良的生物效应或以有害的方式与包含它的组合物的任何组分相互作用。

[0186] 如本文所用，术语“药物组合”意指由一种以上活性成分混合或组合而成的产物，并且包括活性成分的固定和非固定组合。术语“固定组合”意指一种活性成分，例如具有化合物A组结构的化合物和辅制剂，作为单独的实体同时、并行或先后施用于患者，没有具体的干预时间限制，其中这种施用提供患者体内两种化合物的有效水平。后者也适用于鸡尾酒疗法，例如，施用三种或更多种活性成分。

[0187] 术语“药物组合物”是指本文所述的具有化合物A组结构的化合物与以下其他化学组分的混合物，诸如载剂、稳定剂、稀释剂、表面活性剂、分散剂、混悬剂、增稠剂和/或赋形剂。药物组合物有助于向生物体施用所述化合物。本领域中存在多种施用化合物的技术，包括但不限于：静脉内、经口、气溶胶、胃肠外、眼部、皮下、肌内、肺部和局部施用。

[0188] 如本文所用，术语“有效量”或“治疗有效量”是指施用的剂或化合物将足以在一定程度上缓解所治疗的疾病或病状的一种或多种症状的量。结果可以是疾病的体征、症状或病因的减轻和/或缓解，或者生物系统的任何其他期望变化。例如，用于治疗用途的“有效量”是指含有具有化合物A组结构的化合物的组合物的量，该量是在临床上显著减轻疾病症状所需的。在任何个体情况下的适当“有效”量可以使用诸如剂量递增研究的技术来确定。

[0189] 如本文所用，术语“增强(enhance)”或“增强(enhancing)”意指增加或延长预期效果的效力或持续时间。因此，关于增强治疗剂的效果，术语“增强”是指在效力或持续时间上

增加或延长其他治疗剂对系统的作用的能力。如本文所用，“增强有效量”是指在所需系统中足以增强另一种治疗剂的效果的量。

[0190] 如本文所用，术语“共同施用”等意在涵盖将选定的治疗剂施用于单个患者，并旨在包括通过相同或不同施用途径或在相同或不同时间下施用的治疗方案。

[0191] 如本文所用，术语“载剂”是指相对无毒的化合物或剂，其有助于将化合物掺入细胞或组织中。

[0192] 术语“稀释剂”是指在递送前用于稀释感兴趣的化合物的化合物。稀释剂也可以用于稳定化合物，因为它们可以提供更稳定的环境。溶解在缓冲溶液中的盐(其也可以提供pH控制或维持)在本领域中用作稀释剂，包括但不限于磷酸盐缓冲盐水溶液。

[0193] 本文所公开的化合物的“代谢物”是化合物代谢时形成的该化合物的衍生物。术语“活性代谢物”是指化合物在代谢过程中形成的一种具有生物活性的衍生物。如本文所用，术语“代谢的”是指生物体改变某种物质的过程(包括但不限于水解反应和酶催化反应)的总和。因此，酶可以使化合物发生特定的结构改变。例如，细胞色素P450催化多种氧化和还原反应，而尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶催化激活的葡萄糖醛酸分子转移到芳香醇、脂肪醇、羧酸、胺和游离巯基。更多关于代谢的信息可由The Pharmacological Basis of Therapeutics，第9版，McGraw-Hill(1996)获得。可以通过将化合物施用于宿主并分析宿主的组织样品，或通过将化合物与肝细胞在体外培育并分析所产生的化合物来鉴定本文所公开的化合物的代谢物。

[0194] “生物利用度”指的是本文所公开的化合物(例如化合物A组中的化合物)被递送到所研究的动物或人的一般循环系统中的重量百分比。静脉内施用时药物的总暴露量(AUC(0-∞))通常定义为100％生物可利用性(F％)。“口服生物利用度”是指与静脉内注射相比，当药物组合物口服时，本文所公开的化合物被吸收到一般循环的程度。

[0195] “血浆浓度”是指具有化合物A组结构的化合物在对象血液的血浆组分中的浓度。应了解，由于代谢的可变性和/或与其他治疗剂的可能相互作用，本文所述化合物的血浆浓度可在对象之间有很大差异。根据本文公开的一个实施方案，本文公开的化合物的血浆浓度可因对象而异。同样，诸如最大血浆浓度(Cmax)或达到最大血浆浓度的时间(Tmax)，或血浆浓度时间曲线下的总面积(AUC(0-∞))的值可因对象而异。由于这种可变性，构成化合物的“治疗有效量”的必需量可因对象而异。

[0196] 如本文所用，“钙稳态”指的是维持细胞内钙水平和运动的整体平衡，包括细胞内钙信号传导的传导。

[0197] 如本文所用，“细胞内钙”是指位于细胞内的钙，而没有特定的细胞位置。相反，与钙有关的“胞浆”或“细胞质”是指位于细胞的细胞质中的钙。

[0198] 如本文所用，对细胞内钙的影响是指细胞内钙的任何方面的任何改变，包括但不限于细胞内钙水平的改变以及钙在细胞中、细胞外或细胞内或细胞内钙库或细胞器内的位置和运动的改变。例如，对细胞内钙的影响可以是特性的改变，例如像细胞或其一部分中出现的钙通量或运动的动力学、敏感性、速率、振幅和电生理特征的改变。对细胞内钙的影响可以是任何细胞内钙调节过程的改变，包括库操纵的钙内流、胞浆钙缓冲以及钙水平或钙进入、离开或在细胞内钙库内的运动。这些方面的任何方面都可以通过多种方式进行评估，包括但不限于对钙或其他离子(特别是阳离子)水平的评估、钙或其他离子(特别是阳离子)

的移动、钙或其他离子(特别是阳离子)水平的波动、钙或其他离子(特别是阳离子)通量的动力学和/或钙或其他离子(特别是阳离子)通过膜的转运。改变可以是统计上显著的任何这样的变化。因此,例如,如果测试细胞和对照细胞中的细胞内钙据称是不同的,那么这种差异可以是统计上显著的差异。

[0199] 如本文所用,就蛋白质与细胞内钙或细胞内钙调控的某一方面的关系而言,“涉及”是指当细胞中蛋白质的表达或活性减少、改变或消除时,细胞内钙或细胞内钙调控的一个或多个方面也随之或相关地减少、改变或消除。表达或活性的这种改变或降低可以通过改变编码该蛋白质的基因的表达或通过改变该蛋白质的水平而发生。因此,细胞内钙的某一方面(例如,库操纵的钙内流)中所涉及的蛋白质可以提供或参与细胞内钙或细胞内钙调控的某一方面。例如,提供库操纵的钙内流的蛋白质可以是STIM蛋白和/或Orai蛋白。

[0200] 如本文所用,作为钙通道的组分的蛋白质是参与形成通道的多蛋白复合体的蛋白质。

[0201] 如本文所用,与胞浆钙水平相关的“基础”或“静息”指的是细胞(例如像未受刺激的细胞)胞浆中的钙浓度,所述细胞未受到导致钙运动进入或离开细胞或在细胞内的条件的影响。基础或静息胞浆钙水平可以是细胞(例如像未受刺激的细胞)的胞质中游离钙(即未与细胞钙结合物质结合的钙)的浓度,所述细胞未受到导致钙运动进入或离开细胞的条件的影响。

[0202] 如本文所用,离子(包括阳离子,例如钙)的“运动”是指离子进入、离开或在细胞内的运动或重新定位,例如离子的通量。因此,离子的运动可以是,例如,离子从细胞外基质运动到细胞中,从细胞内运动到细胞外基质,从细胞内细胞器或储存部位运动到胞浆,从胞浆运动到细胞内细胞器或储存部位,从一个细胞内细胞器或储存部位运动到另一个细胞内细胞器或储存部位,从细胞外基质运动到细胞内细胞器或储存部位,从细胞内细胞器或储存部位运动到细胞外基质,以及从细胞的细胞质内的一个位置运动到另一个位置。

[0203] 如本文所用,“阳离子内流”或“钙内流”到细胞中指的是阳离子诸如钙内流入细胞内的位置,诸如细胞的细胞质或进入细胞内细胞器的管腔或储存部位。因此,阳离子内流可以是,例如,阳离子从细胞外基质或从细胞内细胞器或储存部位运动到细胞的细胞质中,或阳离子从细胞质或细胞外基质运动到细胞内细胞器或储存部位。钙从细胞内细胞器或储存部位向细胞质中的运动也称为从细胞器或储存部位的“钙释放”。

[0204] 如本文所用,“调节细胞内钙的蛋白质”是指任何涉及调控、控制和/或改变细胞内钙的细胞蛋白质。例如,这种蛋白质可以通过以下多种方式涉及改变或调整细胞内钙,包括但不限于维持静息或基础细胞质钙水平,或参与细胞对信号的响应,该信号通过一种机制在细胞内传输,包括细胞内钙偏离静息或基础状态。在“调节细胞内钙的蛋白质”的背景下,“细胞”蛋白质是与细胞相关的蛋白质,例如像细胞质蛋白、质膜相关蛋白或细胞内膜蛋白。调节细胞内钙的蛋白质包括但不限于离子转运蛋白、钙结合蛋白和调控离子转运蛋白的调控蛋白。

[0205] 如本文所用,“细胞反应”指的是由于离子进入或离开细胞或在细胞内的运动而产生的任何细胞反应。细胞反应可能与任何依赖(至少部分)离子(例如像钙)的细胞活动有关。这类活动可包括例如细胞活化、基因表达、胞吞作用、胞吐作用、细胞运输和凋亡细胞死亡。

[0206] 如本文所用,“免疫细胞”包括免疫系统的细胞和在免疫应答中执行某种功能或活动的细胞,诸如但不限于T细胞、B细胞、淋巴细胞、巨噬细胞、树突状细胞、中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞、肥大细胞、浆细胞、白细胞、抗原递呈细胞和自然杀伤细胞。

[0207] 如本文所用,“细胞因子”是指细胞分泌的小的可溶性蛋白质,它们可以改变分泌细胞或另一种细胞的行为或特性。细胞因子与细胞因子受体结合,并触发细胞内的一种行为或特性,例如细胞增殖、死亡或分化。示例性细胞因子包括但不限于白介素(例如,IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-10、IL-11、IL-12、IL-13、IL-15、IL-16、IL-17、IL-18、IL-1α、IL-1β和IL-1RA)、粒细胞集落刺激因子(G-CSF)、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)、抑瘤素M、促红细胞生成素、白血病抑制因子(LIF)、干扰素、B7.1(也称为CD80)、B7.2(也称为B70,CD86)、TNF家族成员(TNF-α、TNF-β、LT-β、CD40配体、Fas配体、CD27配体、CD30配体、4-1BBL、Trail)以及MIF。

[0208] “库操纵的钙内流”或“SOCE”是指从细胞内库的钙离子释放与离子穿过质膜的流入相协调的机制。

[0209] “SOC通道活性的选择性抑制剂”是指该抑制剂对SOC通道具有选择性,并且对其他类型离子通道的活性没有实质性影响。

[0210] “选择性CRAC通道活性抑制剂”是指该抑制剂对CRAC通道具有选择性,并且对其他类型离子通道和/或其他SOC通道的活性没有实质性影响。

[0211] 如本文所用,术语“钙”可以用来指代元素或二价阳离子Ca^{2+}。

[0212] 尽管已经在本文中示出和描述了本发明的优选实施方案,但是对于本领域技术人员而言将显而易见的是,此类实施方案仅为通过举例方式提供。在不脱离本发明的情况下,本领域技术人员现将会想到许多变化、改变和替代。应理解,本文所述的本发明的实施方案的各种替代方案可以用于实践本发明。所附权利要求旨在限定本发明的范围,并且由此涵盖这些权利要求及其等同物范围内的方法和结构。

实施例

实施例1:BTP2对CRAC通道的抑制减少肺损伤。

[0213] 临床前数据支持CRAC通道抑制剂将在肺损伤的治疗中有用的概念。BTP2是一种CRAC通道抑制剂,在小鼠全身内毒素施用2小时后,研究结果显示内皮细胞Ca^{2+}通量显著降低且肺损伤程度急剧下降。在通气机诱发的肺损伤大鼠模型中,也注意到BTP2可抑制内皮肺功能障碍和肺部炎症。最终,注意到N-(5-(6-氯-2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)吡嗪-2-基)-2-氟-6-甲基苯甲酰胺-注射乳液(IE)的静脉内输注在急性胰腺炎伴继发性并发症(包括肺损伤)的大鼠模型中降低肺髓过氧化物酶活性(即中性粒细胞浸润)以及细胞因子TNFα和IL-6的mRNA水平。

[0214] 最近的人类临床研究结果显示,静脉内N-(5-(6-氯-2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)吡嗪-2-基)-2-氟-6-甲基苯甲酰胺-注射液乳IE对危重患者是安全的,并可减少呼吸衰竭的严重程度和持续时间。继发于急性胰腺炎的急性肺损伤患者在用N-(5-(6-氯-2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)吡嗪-2-基)-2-氟-6-甲基苯甲酰胺-注射乳液(IE)治疗后,补充氧气和通气支持的持续时间都较对照患者短。与对照相比,N-(5-(6-氯-2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)吡嗪-2-基)-2-氟-6-甲基苯甲酰胺-注射乳液(IE)治疗的患者持续性全身炎症反应综合征也有所减少。

[0215] 临床前和临床数据都支持开发N-(5-(6-氯-2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)吡嗪-2-基)-2-氟-6-甲基苯甲酰胺-注射乳液(IE)用于COVID-19继发性ALI/ARDS患者。

实施例2:临床前研究

[0216] 在大鼠中进行的安全药理学研究表明,包含N-(5-(6-氯-2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)吡嗪-2-基)-2-氟-6-甲基苯甲酰胺(化合物1)的药物组合物对中枢神经或呼吸系统没有不良影响。化合物1是本文所述的抑制钙释放激活钙(CRAC)通道的组合物的非限制性实例)。单一遥测食蟹猴在以25mg/kg IV被给予化合物1后,出现了剂量限制性不良的临床和心血管效应。低剂量(1、3和10mg/kg)的心血管数据显示,在所有剂量下和在安慰剂治疗的动物中,收缩期/舒张期动脉血压和负性变时效应(轻微且非不良的)均出现短暂的、非剂量相关的、轻微到中度升高。

[0217] 在大鼠和猴中进行的重复剂量毒性研究显示,分别在25mg/kg/天和3mg/kg/天,没有观察到不良反应水平(NOAEL)。体外遗传毒性研究在Ames细菌反向突变测定中呈阴性,并且在人外周血淋巴细胞中进行的微核测定中呈弱阳性/不明确。在大鼠中进行的后续体内微核研究涉及两个不同终点(骨髓微核和肝脏彗星(Comet)测定),显示没有DNA反应性的证据。基于完整的遗传毒性测试结果,证据的权重表明化合物1既不致突变也不致裂。溶血试验表明,化合物1与人血浆相容,并且在人血中不溶血。没有进行特定的局部耐受性研究,该研究检查注射部位的刺激/炎症,但在大鼠和猴的重复剂量毒性研究中,没有观察到化合物相关或媒介物相关的局部刺激证据。最终,体外3T3结果证实化合物1具有潜在的光毒性,因此在临床试验中应采取适当的预防措施。

[0218] CRAC通道抑制可能有助于治疗肺损伤,对这一观点的一些支持来自对BTP2(一种广泛使用的研究CRAC通道抑制剂)和化合物1作用的临床前数据的检验。显示BTP2可以减轻脂多糖诱发的小鼠肺损伤和通气机诱发的大鼠肺损伤。使用大鼠急性胰腺炎(AP)模型,注意到化合物1的静脉内(IV)输注降低肺髓过氧化物酶活性(即中性粒细胞浸润)以及促炎细胞因子TNFα和IL-6的mRNA水平。最后,小鼠中Orai1的敲除降低了CRAC通道活性,抑制了TNFα诱导的细胞因子(包括IL-6)表达和肺组织中的髓过氧化物酶活性。

[0219] 在三种不同的引起胰腺损伤和肺部炎症的AP体内模型(TLCS诱导的、FAEE诱导的和雨蛙素诱导的急性胰腺炎模型)中建立了化合物1治疗急性肺损伤的潜在功效。肺组织内的髓过氧化物酶活性,以及胰腺组织中的胰蛋白酶活性、髓过氧化物酶活性和组织病理学指标(水肿、炎性细胞浸润、空泡化和坏死)在以下情况下均明显降低:在雨蛙素诱发的小鼠胰腺炎模型中单次IP剂量的化合物1之后;在TLCS诱发的和FAEE诱发的小鼠胰腺炎模型中两个IP剂量的化合物1之后;以及在雨蛙素诱发的大鼠胰腺炎模型中1次4小时IV输注化合物1纳米乳(预期的临床剂型、施用途径及输注持续时间)之后。在TLCS诱发的和FAEE诱发的胰腺炎模型中研究了化合物1的施用时间与诱导胰腺炎的时间的关系,结果表明,如果在疾病过程的早期施用,则化合物1将能更有效地最小化胰腺损伤及随后的下游事件,而且后期施用在阻止疾病进展方面仍然有效。

实施例3:1期临床试验

[0220] 在患有ALI和/ARDS或有患上ALI和/或ARDS风险的对象(诸如感染的COVID-19或其他可能导致ALI/ARDS的呼吸道病毒/细菌)上进行1期临床试验,以评估本文公开的药物组

合物的安全性、耐受性、药代动力学和药效学。

[0221] 单递升剂量(SAD)臂:每组对象接受单剂量的药物组合物或安慰剂。示例性剂量为0.1、0.5、1、2、3、4、5、10、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100mg药物组合物。在预定的时间内进行安全监测和PK评估。根据PK数据的评估,并且如果药物组合被认为是充分耐受的,那么剂量递升就会发生,无论是在同一组内还是在另一组健康对象中。剂量递升继续进行,直到达到最大剂量为止,除非达到预定的最大暴露量或出现无法耐受的副作用。

[0222] 多递升剂量(MAD)臂:每组对象接受多剂量的药物组合物或安慰剂。剂量水平和剂量间隔时间被选择为从SAD数据中预测是安全的那些。选择剂量水平和给药频率是为了在体循环内达到治疗药物水平,并在数天内保持稳定状态,以便监测适当的安全参数。收集和分析样品,以确定PK谱。

[0223] 测量减少肺水肿和肺泡液清除率的百分比和速度。肺泡上皮液清除在ALI/ARDS中受损,并且肺泡水肿消退的降低与死亡率增加相关。ALI中肺泡液清除减少有几种可能的机制,包括肺泡上皮细胞的凋亡和坏死,继发于炎症介质的载体钠和氯离子转运的减少,以及活性氧。主要功效终点可以是无通气机的天数,定义为对象实现无辅助呼吸并至少连续两个日历日保持无辅助呼吸的天数。对于感染COVID-19的组中的对象,主要功效终点可以是对象停止进展发生为ALI和/或ARDS。

实施例4:另外的临床研究

单递升剂量和多递升剂量研究

[0224] 已经在健康对象中进行了N-(5-(6-氯-2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)吡嗪-2-基)-2-氟-6-甲基苯甲酰胺(化合物1)的两个1期研究:单递升剂量(SAD)研究(化合物1测试101)和多递升剂量(MAD)研究(化合物1测试102)。在化合物1测试101中(表1),32名健康对象被招募到5组中,并按3:1的比例随机接受单剂量活性物与安慰剂。每组的剂量水平示于表1中。乳液的剂量体积在SAD研究组中对于所有对象固定在1.3mL/kg,并且经由4小时IV输注施用化合物1或安慰剂的可注射乳液。

表1.SAD(化合物1测试101)

组	活性治疗	活性治疗对象的数量	安慰剂治疗对象的数量	IV剂量体积(mL/kg)
1	0.1 mg/kg	6	2	1.3
2	0.24 mg/kg	3	1	1.3
3	0.48 mg/kg	3	1	1.3
4	1.0 mg/kg	6	2	1.3
5	2.1 mg/kg	6	2	1.3

[0225] 在32名招募的对象中,无严重不良事件(SAE)或中度或重度的不良事件(AE)。有三例临床AE均被归为轻度。其中两个AE被认为可能相关,并且一个被认为不太可能或与研究治疗无关。在每一个病例中,由于AE,没有对研究治疗采取任何行动。没有观察到被认为有临床意义的实验室异常。在一些对象中,媒介物相关的血清甘油三酯和胆固醇水平升高在24小时内恢复到基线水平。没有证据表明任何持续治疗相关的收缩压或舒张压升高。此外,通过连续的心电图记录和一系列生物标志物检测来监测心脏功能,没有证据表明有对心率、QTcF、心脏肌钙蛋白-T或B型利钠肽水平的任何治疗相关影响。

[0226] 在SAD研究(化合物1测试101)中,中期非房室药代动力学(PK)分析表明,化合物1

可能分布在三个房室中。在4小时输注期间，化合物的血浆浓度稳步上升，在输注结束(4小时)时达到Tmax。在输注结束后，有一个快速和显著的分布期，随后是较长的药物残留水平时期。终末消除期尚未完全表征，因为它似乎比根据小鼠、大鼠、狗和猴的临床前PK数据预期的要长得多。终末期的血浆浓度约为Cmax值的5%，如前所述，到目前为止，在该阶段没有临床显著的AE报告。由AUC0-24h所定义的血浆暴露似乎是剂量成比例的，并在第5组中达到了最大值6710ng*h/mL，比在NOAEL中猴的平均AUC24h(29,000ng*hr/mL)低4.3倍。

[0227] 在化合物1的MAD研究(表2)(化合物1测试102)中，第一组对象随机接受单剂量的活性物治疗(0.50mg/kg)和安慰剂，连续7天。8名健康对象被招募到第一组中，其中5人接受活性物治疗，而3人接受安慰剂。其中一名对象以最大剂量的乳液体积接受安慰剂，1.3mL/kg，持续7天，而其他所有对象均基于体重的剂量体积调整来给予。没有发生强度被归为中度或重度的SAE和AE。有15例临床AE，均被归为轻度。在每一个病例中，由于AE，没有对研究治疗采取任何行动。没有观察到被认为有临床意义的实验室异常。

表2.MAD(化合物1测试102)

组	每天活性治疗，持续7天	活性治疗对象的数量	安慰剂治疗对象的数量	IV剂量体积(mL/kg)
1	0.5 mg/kg	5	3	0.3125a
2	1.0 mg/kg	6	2	0.625

[a]一名安慰剂患者接受1.3mL/k/g的最大剂量体积

[0228] 化合物1测试102的第二组中的对象随机接受单剂量的活性物治疗(1.0mg/kg)和安慰剂，连续7天。8名健康对象被招募到第二组中，其中6人接受活性物治疗，而2人接受安慰剂，连续7天。没有发生强度被归为中度或重度的SAE和AE。有三例AE，强度均被归为轻度。在每一个病例中，由于AE，没有对研究治疗采取任何行动。没有观察到被认为有临床意义的实验室异常。

[0229] 两组中的一些对象的血清甘油三酯均出现媒介物相关的升高，24小时内恢复到基线水平。两组中的一些对象的胆固醇水平在每日给药时累积，但临床上认为其增加不显著，且与媒介物有关。因此，胆固醇水平上升最大的是那些以最大剂量的乳液体积接受安慰剂的对象。胆固醇的升高据信是由于乳液中的卵磷脂诱导的组织胆固醇的释放所致(Byers等人，1962)，这是在猴的临床前研究中注意到的，并且在停止给药后可逆转。没有证据表明任何持续治疗相关的收缩压或舒张压升高。此外，通过连续的心电图记录和一系列生物标志物检测来监测心脏功能，没有证据表明有对心率、QTcF或B型利钠肽水平的任何持续的治疗相关影响。

[0230] 化合物1测试102(0.5mg/kg)中第1组的非房室PK分析表明，化合物1在血浆中积累，第7天时的全身暴露量(AUC24h)比给药第1天增加2.6倍，与建模模拟一致。Cmax累积1.6倍(第7天时的几何平均值为363ng/mL)。第7天时，AUC24h的几何平均值为3190ng*hr/mL，比猴的NOAEL AUC24h(29,000ng*hr/mL)低9.1倍。化合物1测试102(1.0mg/kg)中第2组的PK分析表明，化合物1在血浆中积累，第7天时的AUC24h比给药第1天增加2.6倍，与建模模拟一致。Cmax累积1.4倍(第7天时的几何平均值637ng/mL)。第7天的AUC24h的几何平均值为6830ng*hr/mL，比猴的NOAEL AUC24h(29000ng*hr/mL)低4.2倍。在输注7天结束后，两个MAD组中的药物残留水平都较长时间地维持在显著低于第7天的Cmax水平。在MAD中，第3组健康对象没有给药，尽管安全概况良好，因为在前几组健康对象中发现残留药物水平持续时间

较长。

[0231] SAD研究的第4组和第5组以及MAD研究的第1组和第2组接受化合物1的对象在一项长期扩展研究中随访了1年,以评估不良事件和严重不良事件。另外,在第270天绘制了所有4组的PK水平,以进一步表征药物残留水平的末期和延长时间。随访365天,对象中无严重不良事件发生,也无中度或重度不良事件发生。

[0232] 利用SAD和MAD研究数据建立了群体PK模型。该模型提出了三个分布房室以及暴露的性别和体重依赖性差异。模型显示,女性的分布体积比男性大,导致血浆AUC24h值比男性低,并且体重越重的患者AUC越低。然后,该模型被用于鉴定如下所述的开放标签研究的第一期和第二期的给药方案。

急性胰腺炎和SIRS患者的开放标签研究

[0233] 化合物1的2期、开放标签、剂量反应、多中心研究在患有AP以及伴发SIRS和低氧血症的患者中进行(化合物1测试201)。1名患者在筛查时被随机分为单SIRS患者。研究的主要目的是评估安全性和耐受性;次要目的是评估化合物1的功效和PK谱。

[0234] 研究具有2个期:初始期,由2个同时招募的队列组成,和第二期,由2个同时招募的队列组成。总的来说,计划有4个队列,包括24名患有AP以及伴发SIRS和低氧血症的成年男性和女性患者。在初始期,4名女性患者按3:1的比例随机接受化合物1+支持护理(SC)或单独接受SC(队列1)。同时,4名男性患者按3:1的比例随机接受化合物1+SC或单独接受SC(队列2)。第1天的剂量为1.0mg/kg,且第2、3和4天的剂量为每天1.4mg/kg(低剂量方案)。在第二期,8名女性患者按3:1的比例随机接受化合物1+SC或单独接受SC(队列3)。同时,8名男性患者按3:1的比例随机接受化合物1+SC或单独接受SC(队列4)。队列3和4的计划剂量在第1天和第2天为每天2.08mg/kg,且在第3天和第4天为每天1.6mg/kg(高剂量方案)。

[0235] 在研究人员回顾了队列1的可用功效、安全性和耐受性数据并与首席研究员(PI)讨论后,决定在第二期启动队列3。此时,由于在队列1中观察到功效,故决定向队列3中的患者施用与队列1中相同的剂量水平和时间表。因此,队列3接受了与队列1相同的剂量水平和时间表,第1天1.0mg.kg,并且第2、3、4天每天1.4mg/kg。在研究人员回顾了队列2的可用功效、安全性和耐受性数据并与首席研究员讨论后,决定在研究的第二期启动队列4。因此,队列4接受原计划的剂量水平和时间表;第1和2天每天2.08mg/kg,且第3和4天每天1.6mg/kg。

[0236] 在患者或LAR提供知情同意后6(至8)小时内开始第一次化合物1的输注并且连续IV输注超过4小时。从第一次输注开始,每24小时(±1小时)开始一次后续输注。在接受化合物1+SC(所有剂量)的患者中,14名患者中有9名(64%)没有接受全部4个预定剂量,9名患者中有7名因临床快速改善而提前出院,且9名中有2名因研究药物而停药。在接受低剂量方案+SC的8名患者中有5名(63%)且接受高剂量方案+SC的6名患者中有4名(67%)没有接受全部4个剂量的化合物1。

[0237] 本研究招募的患者的人口统计信息和基线特征见表3。

表3.在化合物1测试201中患者的人口统计资料和基线特征

治疗	CM4620-IE+SC 低剂量方案 (N = 8)	CM4620-IE+SC 高剂量方案 (N = 6)	CM4620-IE+SC 总计 (N = 14)	SC 单独 (N = 7)
中值年龄(岁) 最小，最大	55 26, 66	43.5 37, 55	50.5 26, 66	54 40, 72
性别，n%	女性 5 (63%) 男性 3 (38%)	女性 0 男性 6 (100%)	女性 5 (36%) 男性 9 (64%)	女性 4 (57%) 男性 3 (43%)
种族，n%	亚洲人 1 (13%) 黑人 1 (13%) 白人 6 (75%)	亚洲人 0 黑人 2 (33%) 白人 4 (67%)	亚洲人 1 (7%) 黑人 3 (21%) 白人 10 (71%)	亚洲人 0 黑人 3 (43%) 白人 4 (57%)
中值体重(kg) 最小，最大	86 56.2, 108.9	92.8 84.8, 113.8	87.5 56.2, 113.8	93.1 59, 108.9
BMI (kg/m^2) 最小，最大	31.6 22, 44.4	28.9 25, 38.2	30.3 22, 44.4	34 23.8, 41.6
Hx 2型 糖尿病	2 (25%)	1 (17%)	3 (21%)	1 (14%)
Hx 高血压	4 (50%)	4 (67%)	8 (57%)	6 (86%)

[0238] 本研究的主要目的是评估化合物1在患有AP以及伴发SIRS和低氧血症的患者中的安全性和耐受性。在本研究中，低剂量方案+SC和高剂量方案+SC在AP和SIRS患者中充分耐受，且没有证据表明有不良的安全性或耐受性发现。

[0239] 在8名接受低剂量方案+SC的患者中有7名(88%)、6名接受高剂量方案+SC的患者中有5名(83%)且7名单独接受SC的患者中有3名(43%)报告了治疗诱发的AE(TEAE)。在接受低剂量方案+SC的8名患者中有0名(0%)、接受高剂量方案+SC的6名患者中有2名(33%)且单独接受SC的7名患者中有2名(29%)报告了严重TEAE。2名患者中出现3次TEAE，导致研究药物的停药。两名患者均接受高剂量方案+SC。

[0240] 在2名或2名以上接受低剂量方案+SC的患者中报告了两种不同的TEAE优选术语：8名患者中2名(25%)出现低钾血症，且8名患者中有2名(25%)出现头痛。在2名或2名以上接受高剂量方案+SC的患者中报告了三种不同的TEAE优选术语：6名患者中有2名(33%)分别报告了营养不良、精神错乱和急性呼吸窘迫综合征。在2名或2名以上单独接受SC的患者中，没有报告TEAE优选术语。

[0241] 在1名接受高剂量方案+SC的患者中出现1次色素尿TEAE，认为两者之间可能存在因果关系。不存在其他TEAE，其因果关系被认为是可能的、很可能的或确定的。

[0242] 在8名接受低剂量方案+SC的患者中有2名(25%)、6名接受高剂量方案+SC的患者中有1名(17%)且7名单独接受SC的患者中有2名(29%)报告了SAE。研究期间有1例死亡。接受了高剂量方案+SC的此患者出现了缺氧缺血性脑病的SAE，结果是致命的。SAE被认为是严重的，结果被指定为恢复/解决后遗症。因果关系被认为是不相关的。

[0243] 与化合物1的低剂量或高剂量方案治疗相关的生命体征、氧合作用及实验室值均无不良变化。

急性胰腺炎患者的药效学和药代动力学研究

[0244] 在化合物1测试202(即化合物1在急性胰腺炎患者中的药效学和药代动力学研究)中，向AP患者(无论是否存在SIRS和/或低氧血症)施用2.08mg/kg的化合物1可注射乳液的单次IV输注，并且收集血液、血浆和血清进行分析。最初计划招募5名患者，然后根据需要再招募4名患者。最终，有7名患者参与了研究筛选，并且所有7名患者都参与并完成了研究。在

第1天和第2天，分别在化合物1施用完成后30分钟及施用开始24小时后采集用于PD和PK分析的血液和血浆样品。在第5天和第10天住院的患者中，采集血液和血浆样品；如果提前出院，则在出院时采集样品。出院后，患者于第30天返回医院提供最后的血液和血浆样品。

[0245] 7名患者中，5名(71％)为男性，且2名(29％)为女性。所有7名患者的中位(最小，最大)年龄为42(29,54)岁。男性的年龄范围为38至54岁，且女性为29至35岁。体重范围为49.4至102.1kg，且BMI范围为19.3至32.2。在7名患者中，4名(57％)为黑人或非洲人，且3名(43％)为白人。研究中没有(0％)西班牙裔或拉丁裔患者。7名患者中有5名为酒精性AP，7名中有1名为高甘油三酯血症AP，且另1名原因不明。

[0246] 在研究过程中，共有3名患者发生了7次TEAE。一(1)名患者出现了黑粪症TEAE和滑囊炎TEAE，1名患者出现了急性胰腺炎TEAE(这也是SAE)，且1名患者出现了肺炎、戒酒综合征、发热和呼吸窘迫TEAE(这也是SAE)。7例TEAE中有轻度TEAE 3例，中度TEAE 2例，重度TEAE 2例。2例严重TEAE(急性胰腺炎和呼吸窘迫)也是SAE。7例TEAE与化合物1的因果关系为5例TEAE不相关，2例TEAE不可能。

实施例5:2期临床试验

[0247] 进行一项2期临床试验来评估化合物1在严重COVID-19肺炎患者中的功效。该研究将调查化合物1在有进展为急性呼吸窘迫综合征(ARDS)风险的严重COVID-19肺炎患者中的使用情况。

[0248] 这项开放标签的2期临床研究旨在招募60名严重COVID-19肺炎患者。40名患者将被分配接受化合物1加标准护理，且20名患者被分配接受单独的标准护理。

[0249] 研究的基本原理和选择的剂量:对于2019冠状病毒(COVID-19)患者，发病率和死亡率可由宿主免疫应答引起。这些应答可导致“细胞因子风暴”，进而引起急性肺损伤(ALI)、急性呼吸窘迫综合征(ARDS)、死亡或存活者的肺功能永久受损。减少细胞因子释放和ALI/ARDS的治疗剂可以挽救感染了严重急性呼吸综合征冠状病毒2(SARS-CoV-2)以及其他感染因子的患者的生命，其中SARS-CoV-2是导致COVID-19的病毒。

[0250] 化合物1的人类临床研究进一步支持该药物对于治疗ALI/ARDS的用途。在化合物1测试201中，在SIRS评分、无SIRS的住院天数百分比以及SIRS在治疗与标准护理患者中的持续性的差异中发现了化合物1对全身炎症的作用的一些证据。持续性SIRS，定义为持续≥48小时的SIRS，是AP患者发生器官衰竭(最常见的是呼吸衰竭)的特殊危险因子。化合物1对IL-6水平升高的影响可能与其在严重COVID-19肺炎患者中的潜在功效特别相关，因为IL-6的升高似乎会导致病毒的呼吸道并发症。共有8名接受化合物1治疗的患者在化合物1测试201和化合物1测试202中(分别为7名患者和1名患者)在最初24小时内IL-6最大水平≥150pg/mL，其中化合物1测试201中的2名患者具有大于1000pg/mL的IL-6水平。在化合物1测试201中有三名(3)用标准护理治疗的患者在最初24小时内IL-6的最高水平≥150pg/mL。使用化合物1治疗的8名患者中有7名的IL-6水平下降到低于150pg/mL，而使用标准护理治疗的3名患者中只有1名的IL-6水平下降到低于此阈值。2期临床试验设计的一个实例示于图1中。

[0251] 在化合物1测试202中淋巴细胞功能的PD离体血液测定结果显示，化合物1在Cmax或接近Cmax时将CRAC通道依赖性刺激的IL-2分泌抑制了约57％。化合物1的抑制作用在接下来的1-2天内消失，显示出药理逆转。此结果提示，长期的免疫抑制不太可能是化合物1的

疗法所致。

[0252] 钙释放激活的钙(CRAC)通道抑制剂,诸如化合物1,可阻止免疫细胞产生并释放促炎性细胞因子,包括白介素-2(IL-2)、IL-6、IL-17和肿瘤坏死因子-α(TNFα),从而中断导致ALI和ARDS的级联事件。因此,化合物1的治疗可以防止COVID-19患者发生促炎性细胞因子级联和ALI/ARDS等危及生命的影响,同时进一步防止永久性肺组织瘢痕形成。

[0253] 本研究的给药方案包括连续3天的给药。此方案的推导来自1期MAD和2a期研究两者,因为2a期开放标签研究的给药方案是基于在1期MAD研究中观察到的充分耐受的最大全身暴露量选择的。进行基于危重型AP患者的群体PK建模来确定所选给药方案的模拟血浆暴露(AUC24hr和Cmax)不会超过任何患者中已确定的NOAEL暴露,并且预计3天的给药将提供IL-6水平的大幅下降。

[0254] 患者数量和地点:60名确诊的COVID-19肺炎患者分布在多达3个地点。

[0255] 化合物1的剂量和施用途径:2.0mg/kg的化合物1可注射乳液将在0小时施用,并且1.6mg/kg将在研究药物第一次输注(SFISD)开始后的24小时和48小时施用。

[0256] 经由与脂质乳液相容的袋和管并使用1.2微米过滤器,化合物1将静脉内连续输注超过4小时。

[0257] 假说:化合物1是钙释放激活的钙(CRAC)通道抑制剂的非限制性实例,其有效阻止免疫细胞产生并释放促炎性细胞因子,包括那些因SARS-CoV-2感染而升高的因子(例如IL-6、IL-17和TNF-α),并且可中断导致COVID-19严重肺炎患者的急性肺损伤(ALI)和急性呼吸窘迫综合征(ARDS)的级联事件。它可进一步通过对CRAC通道的局部效应和调节NFAT诱导的肺内皮细胞激活来直接保护肺。最近发表的文献显示,类似于化合物1的CRAC通道抑制剂在肺损伤的动物模型中是有益的,其既可以直接作用于肺内皮细胞,也可以对免疫细胞的CRAC通道产生全身作用。在实验性急性胰腺炎动物中肺IL-6、TNFα和MPO mRNA产生的体内功效数据提供了进一步的支持,这是使用化合物1治疗的ALI/ARDS的已知原因,并且来自一项2a研究的数据显示,在急性胰腺炎及伴发SIRS和低氧血症的患者中,使用化合物1治疗的患者的IL-6水平显著升高并且氧合改善。

[0258] 化合物1通过静脉内给予,在开始输注后2至4小时内分布到肺中,在输注结束时IL-2的产生减少了50%,具有活性的快速起效,并且在输注结束后24小时,IL-2的产生恢复,似乎没有长期的免疫调节作用。

[0259] 化合物1有望成为严重COVID-19肺炎患者的潜在治疗,特别是由于细胞因子风暴所致的进行性呼吸功能障碍者,并且鉴于缺乏有效的治疗,应启动临床开发。

[0260] 主要终点:评价化合物1在严重COVID-19肺炎患者中的安全性和耐受性。

[0261] 次要终点:确定化合物1对严重COVID-19肺炎患者的炎症生物标志物的影响。

[0262] 确定化合物1在严重COVID-19肺炎患者中的临床功效。

[0263] 确定化合物1在严重COVID-19肺炎患者中的药代动力学谱。

[0264] 纳入标准:患者要随机进入本研究,必须满足以下所有条件:

1.用RT-PCR测定确定COVID-19诊断;

2.至少存在以下症状中的一种:

o发热、咳嗽、喉咙痛、乏力、头痛、肌肉疼痛、休息或用力时呼吸困难、精神错乱或呼吸窘迫;

3.至少存在以下临床体征中的一种：

o呼吸率≥30，心率≥125，室内空气下的SaO2<93％，或需要通过鼻套管>2L氧气以维持SaO2≥93％，或PaO_2/FiO_2<300，由脉搏血氧计估计或由动脉血气测定；

4.通过肺部CXR或CT扫描记录的与肺炎一致的呼吸道浸润或异常；

5.患者年龄≥18岁；

6.有生育潜力的女性患者在39个月内不得尝试怀孕，并且如果与男性伴侣性活跃，愿意在最后一剂化合物1后的39个月内采取可接受的避孕方法；

7.与有生育潜力的女性伴侣性活跃的男性患者愿意在最后一剂化合物1后的39个月内采用可接受的节育方法。男性患者在39个月内不得捐献精子；

8.患者愿意并且能够，或者有一个合法的授权代表(LAR)愿意并且能够，提供参与的知情同意，并配合协议的所有方面。

[0265] 排除标准：有以下任何情况或特征的患者必须排除在随机分组之外：

1.预期生存期或到停用维持生命治疗的时间预计<7天。

2.要求无插管；

3.家用机械通气(无创通气或气管切开术)，但仅用于睡眠障碍性呼吸的持续气道正压或双水平气道正压(CPAP/BIPAP)除外；

4.气管插管；

5.通过高流量鼻套管、无创正压通气或ECMO递送氧气；

6.由SBP<90或DBP<60定义的休克或使用血管加压药；

7.多器官衰竭功能障碍或衰竭；

8.甲型或乙型流感检测呈阳性；

9.按当地标准护理测试的呼吸面板检测出的病原体；

10.患者有以下病史：

a.器官或血液移植；

b.HIV；

c.活动性乙型肝炎或丙型肝炎感染；

11.目前治疗：

a.化疗；

b.在知情同意时，糖皮质激素；

c.在知情同意时，免疫抑制药物或免疫疗法(第5.3节列出禁止的免疫抑制药物和免疫疗法清单)；

d.血液透析或腹膜透析；

12.已知患者已怀孕或正在哺乳；

13.在知情同意时，目前正在参与另一项关于试验性药物或治疗性医疗设备的研究；

14.对鸡蛋过敏或已知对化合物1的任何组分过敏。

[0266] 研究设计：在这项随机对照开放标签期研究中，60名符合所有纳入标准而不符合任何排除标准的患者将被随机2:1分配接受化合物1或继续接受当地标准护理。化合物1的剂量将为：在0小时施用2.0mg/kg的化合物1，并且在24小时施用1.6mg/kg和在48小时施用

1.6mg/kg。SFISD应在患者或LAR提供知情同意后8小时内发生。剂量将基于住院或研究筛选时获得的实际体重。研究医师或经过适当培训的代表将在筛选时、紧接SFISD之前和紧接每次后续输注之前进行评估。在SFISD后72小时，患者将在每24小时(±4小时)进行一次评估，直到SFISD后第30天，或直到出院(如果更早)。在SFISD后第25天之前出院的患者将在第30天(±5天)和第60天(±5天)联系以进行安全性和死亡率评估。随机接受当地标准护理的患者将不会抽取血样进行PK评估。

[0267] 在前12名患者接受任何剂量的化合物1后，研究人员将暂停本研究的招募。研究人员将向PI提供研究期间在所有地点在接受治疗和当地标准护理的臂中发生的SAE的汇总清单和表格。在PI有机会审查汇总清单和表格并确定继续在其机构招募患者是否安全之前，研究将不会恢复。研究人员和PI也将在研究暂停期间考虑对方案的修订。

[0268] 在随机纳入研究的患者中，禁止使用免疫抑制药物或免疫疗法。在随机分配接受当地标准护理的患者中，不建议机械通气的患者常规使用糖皮质激素。对于难治性休克或ARDS而随机分配接受当地标准护理的患者，可考虑使用低剂量的糖皮质激素。在开始使用糖皮质激素之前，请给医学监护员打电话。

[0269] 参考实验室所检测的细胞因子面板的结果可能无法立即提供来协助PI或治疗医师管理患者。PI或治疗医师将要求对患者进行管理所必需的所有实验室检测，并且这些样品的分析将在当地实验室进行。

[0270] 安全性终点：安全性评估将包括以下内容：

- TEAE和SAE的发生率
- TEAE和SAE的强度和关系
- 临床显著的生命体征变化和安全性实验室结果

[0271] 功效终点：功效评估将包括以下内容：

- PaO_2/FiO2的变化
- 存活并且无机械通气的天数
- 到活着出院的时间
- 第30天和第60天的死亡率
- IL-6、IL-17、TNF-α、细胞因子面板和降钙素原水平的变化

[0272] 药代动力学评估：在接受治疗的患者中，在完成第一剂和第三剂的研究药物后，将采用血清取样进行药代动力学评估。

[0273] 统计考虑-样本量计算：数据将使用描述性统计进行汇总。连续数据将以患者数量(n)、平均值、中值、最小值、最大值、标准偏差、变异系数和或几何平均值进行汇总。分类数据将按患者数量和比例进行汇总。

化合物1在严重COVID-19肺炎患者中的中期研究结果

[0274] 获得的2期试验的中期结果如下。招募了18名严重COVID-19肺炎患者，其中12名接受了化合物1可注射乳液的治疗，且6名接受了标准护理。3个地点目前正在招募患者。11名招募的患者位于地点1(8名接受治疗，3名SOC)，3名位于地点2(1名接受治疗，2名SOC)，4名位于地点3(3名接受治疗，1名SOC)。患有严重COVID-19的对象是那些需要低流量氧气治疗的人。

[0275] 此时可进行的分析包括以下：

- 安全性:确定安全进行
- 患者基线特征
- 到出院的时间
- PaO2/FiO2在住院期间的演变
- 顺序量表分析

[0276] 到目前为止提供的治疗组的基线人口统计数据示于表4中。

表4.治疗组的基线人口统计数据

特征	化合物1	护理标准
患者	12	6
年龄,岁(平均)	60	61
体重,kg(平均)	104.7	97.5
性别(%男性)	7M/5F (58%M)	4M/2F (67%M)
糖尿病(%)	50%	33%
高血压(%)	42%	17%
初始PaO_2/FiO_2(平均)	204	190

[0277] 中期分析概述示于图2中。到目前为止,接受标准护理(SOC)的对象似乎有更多的治疗失败,或更早的治疗失败,以及更多的插管和更早的插管。

[0278] 在严重COVID-19肺炎中的化合物1:出院时间。包括出院时间的住院数据示于表5和图3中。标准护理组中的1名对象在低流量治疗后出院,并且在出院时被视为截尾,而不是离开医院。3名死亡患者在第30天被截尾。基于数据,使用化合物1治疗的COVID-19患者随着时间的推移住院的概率似乎更低,出院的概率更高,并且住院天数预计可更短。在使用其他细胞内钙信号传导抑制剂或CRAC抑制剂治疗后,有望获得类似的改善。

表5.住院天数的KM估计

	出院的对象	中值(95% CI)
化合物 1	9/12 (75%)	5.5 天 (4 天, na)
当地标准护理	4/6 (66 %)	13 天 (5 天, na)

[0279] 严重COVID-19肺炎中的化合物1:PaO_2/FiO_2结果。包括出院时间的氧气分压和吸入氧分数数据示于图4中。出院后的缺失值是使用精确随访值通过最后一次观察结转(LOCF)方法计算的。在施用化合物1后,PaO_2/FiO_2增加。图5A和5B包括接受化合物1的对象随时间变化的个体患者PaO_2/FiO_2数据。关于图4、5A和5B,精确随访值的时间0是基于0小时随访,且24小时内最差值的时间0是基于筛选随访。数据显示接受化合物1的患者在PaO_2/FiO_2上有所改善。在使用其他细胞内钙信号传导抑制剂或CRAC抑制剂治疗后,有望获得类似的改善。

[0280] 在严重COVID-19肺炎中的化合物1:顺序量表分析。顺序量表随时间数据的估计平均值(95%置信区间,CI)示于图6和表6中。数据是基于MMRM模型,并且随机假设缺失。顺序量表如下:1.死亡;2.住院,使用有创机械通气或ECMO;3.住院,使用无创通气或高流量氧气

设备;4.住院,需要低流量补充氧气;5.住院,不需要补充氧气-需要持续的医疗护理(冠状病毒(例如COVID-19)相关或其他);6.住院,不需要补充氧气-不再需要持续的医疗护理(除了协议研究药物管理外);7.未住院。用化合物1治疗的对象在顺序量表上表现出改善(数值增加)。在使用其他细胞内钙信号传导抑制剂或CRAC抑制剂治疗后,有望获得类似的改善。

表6.

研究天数	差异(化合物1-标准护理)	95%CI	PR>|t|
0	0.00	(-1.87,1.87)	1.0000
1	0.75	(-1.12,2.62)	0.4184
2	0.83	(-1.03,2.70)	0.3692
3	1.17	(-0.70,3.03)	0.2116
4	1.73	(-0.15,3.61)	0.0705
5	1.87	(-0.02,3.76)	0.0526
6	2.04	(0.14,3.94)	0.0360
7	1.30	(-0.61,3.21)	0.1749
8	1.39	(-0.53,3.31)	0.1493
9	1.48	(-0.44,3.41)	0.1269
10	1.21	(-0.73,3.14)	0.2132
12	1.31	(-0.81,3.07)	0.2445
14	1.05	(-0.89,3.00)	0.2789

[0281] 表7示出了顺序量表结果的敏感性分析结果,并且包括顺序量表随时间的估计平均差异(95%CI)。PaO_2/FiO_2<100的三名患者被移除。

表7.

研究天数	差异(化合物1 - 标准护理)	95% CI	PR > |t|
0	0.00	(-1.88,1.88)	1.0000
1	0.70	(-1.18,2.58)	0.4521
2	0.80	(-1.08,2.68)	0.3910
3	1.10	(-0.78,2.98)	0.2411
4	1.76	(-0.14,3.66)	0.0683
5	**2.02**	**(-0.10,3.94)**	**0.0397**
6	**2.23**	**(0.30,4.16)**	**0.0253**

7	1.79	(-0.16,3.73)	0.0704
8	1.89	(-0.06,3.85)	0.0573
9	1.90	(-0.07,3.86)	0.0576
10	1.81	(-0.17,3.78)	0.0714
12	1.81	(-0.08,4.06)	0.0716
14	2.07	(-0.89,3.00)	0.0420
16	1.82	(-0.17,3.82)	0.0717
18	1.83	(-0.17,3.83)	0.0717

实施例6:支持使用CRAC抑制剂治疗或预防ALI/ARDS的附加信息。

[0282] CRAC通道可在钙-钙调磷酸酶途径中起近端作用,造成免疫细胞中细胞因子的释放。如图7所示,CRAC通道可能控制钙-钙调磷酸酶途径。如表8-10中的数据所示,化合物1(CRAC抑制剂的一个非限制性实例)对人淋巴细胞的细胞因子释放产生了强大的、浓度依赖性抑制作用。

表8.

分离的细胞测定	**以 nM 计的化合物 1 IC_{50} + SEM (n)**
人 $CD4^+$ T 细胞的 IL-2 释放	4 ± 0.5 (4)
人 PBMC 的 IL-2 释放	10 ± 0.4 (3)
人 PBMC 的 IL-17 释放	122 ± 36 (4)

表9.

受刺激的 IL-2 释放的全血测定	**以 nM 计的化合物 1 IC_{50} + SEM (n)**
人	178 ± 32 (5)

表10.

从人 PBMC 释放的细胞因子	以 nM 计的化合物 1 复制品 IC_{50} 值（平均值）
IFNγ	175, 102 (138)
IL-1β	264, 217 (240)
IL-2	71, 47 (59)
IL-6	145, 126 (135)
IL-10	367, 2239 (303)
TNFα	278, 173 (225)

[0283] 在动物模型中，化合物1也被证明可以降低血清和肺中的细胞因子水平，并防止肺部炎症。例如，化合物1在小鼠中i.p.注射后有效(Wen等人,Gastroenterol,149:481-492,2015)，并且在大鼠中i.v.输注4小时后有效(Waldron等人,J Physiol,597.12:3085-3105,2019)。BTP2下调了与肺部炎症相关的炎症性细胞因子，并减少中性粒细胞向发炎肺组织中的浸润(Gandhirajan等人,J Clin Invest,123:887-902,2013)。

[0284] CRAC抑制剂可改善肺血管的完整性。例如，BTP2降低了肺血管的通透性(Gandhirajan等人,J Clin Invest,123:887-902,2013)。直接内皮细胞保护可以是CRAC通道抑制剂所独有的，并且可对严重COVID-19肺炎产生有益的作用，这与细胞因子减少相关的作用不同。

[0285] 含有化合物1的CRAC抑制剂的静脉内制剂允许快速递送和起效，当向急性胰腺炎(AP)的人类患者给予2.08mg/kg单剂量时。进行CRAC通道依赖性IL-2释放的离体全血药效学(PD)测定。数据显示，快速起效-抑制作用在4小时输注结束时达到峰值(或接近Cmax)，并且24小时后的恢复显示无长期免疫抑制作用(参见图8)。

[0286] 在1期和2a期人类对象临床试验中(如上所述)，在化合物1治疗后未观察到严重不良事件(SAE)或归为中度或重度的不良事件(AE)。在一项扩展研究中，对SAD研究中两个最高剂量组中接受治疗的对象和MAD研究中所有接受治疗的患者进行了为期一年的随访，以评估长期SAE和AE，并且在随访365天的对象中没有观察到评为中度或重度的SAE或AE。在扩展研究中仅发现1例轻度AE。7名患者中1名(14％)报告了中度TEAE，且7名患者中有2名(29％)报告了严重TEAE。严重的TEAE也是SAE。SAE被认为与药物无关。接受低剂量方案+SC的8名患者中有0名(0％)、接受高剂量方案+SC的6名患者中有2名(33％)且单独接受SC的7名患者中有2名(29％)报告了严重TEAE。在8名接受低剂量方案+SC的患者中有2名(25％)、6名接受高剂量方案+SC的患者中有1名(17％)且7名单独接受SC的患者中有2名(29％)报告了SAE。SAE被认为与药物无关。

[0287] 在2a期研究患者中，与标准护理相比，化合物1治疗组的降钙素原水平没有增加(图9A-图9C)。相反，在CRAC抑制剂治疗后降钙素原水平有下降趋势。

[0288] 严重AP患者的治疗对IL-6水平有有益影响(参见表11)。此外，两名AP危重患者在用CRAC抑制剂治疗后，IL-6水平显著升高，并迅速下降。2名患者中第1个具有以下参数：在

研究开始时，IL-6>7296pg/mL，在120小时为66；在前24小时，$ePaO_2/FiO_2$≤300；在研究开始时，WBC 3000/mm^3；使用高流量氧气和间歇性双pap进行管理；无创机械通气；在室内空气第8天出院；出院时，降钙素原为0.24ng/mL；以及90天随访：存活，无SAE(参见图10A)。2名患者中第2个具有以下参数：在研究开始时，IL-6 1021pg/mL，在120小时为83；在前24小时，$ePaO_2/FiO_2$≤300；在研究开始时，ANC/ALC 76.5；使用氧气进行管理；无创机械通气；室内空气60小时(在第4次输注之前)；出院时，降钙素原为0.30ng/mL；以及90天随访：存活，无SAE(参见10B)。

表11.

	入院 IL-6 水平		出院 IL-6 水平	
	IL-6 ≥ 1000 pg/mL	150 pg/mL ≤ IL-6	IL-6 ≥ 1000 pg/mL	150 pg/mL ≤ IL-6
		<1000 pg/mL		<1000 pg/mL
2a 单独标准护理	0	3	0	2
2a 低剂量化合物 1 方案 +SC	0	4	0	0
2a 高剂量化合物 1 方案+SC	2	1	0	1
PK/PD 单剂量化合物 1	0	1	0	0

实施例7：CRAC通道抑制对D-二聚体水平的影响

[0289] CRAC通道抑制剂使肺内皮细胞稳定并阻止促炎性细胞因子释放，可能缓解COVID-19患者的呼吸道并发症。D-二聚体水平与COVID-19患者的疾病严重程度和死亡风险相关。研究了CRAC通道抑制对D-二聚体水平的影响。

[0290] 17名严重COVID-19肺炎患者随机接受Auxora，且9名接受标准护理(SOC)。所有患者均按SOC进行抗凝治疗。在研究过程中，接受Auxora的患者的D-二聚体水平下降，而接受SOC的那些患者的则升高。从基线到48小时，接受Auxora的患者的中值变化为-0.24μg/mL(n＝10)，且接受SOC的患者的中值变化为0.63μg/mL(n＝8)，并且从基线到96小时，中值变化分别为-0.85μg/mL(n＝6)和0.07μg/mL(n＝3)。两名接受SOC的患者发生股深静脉血栓形成。没有接受Auxora的患者发生血栓栓塞性疾病。在随机分组后的30天内，2名接受Auxora的患者和2名接受SOC的患者死于呼吸衰竭，所有患者的D-二聚体水平在最初48小时内均升高>100％。

[0291] Auxora早在48小时内就改善了D-二聚体水平，具有良好的安全性概况，并改善了

临床结果。这项研究的结果表明，在最初48小时内D-二聚体水平>100％的升高可以鉴定严重COVID-19患者有因呼吸衰竭而死亡的风险。

实施例8:Auxora与标准护理在严重COVID-19肺炎治疗中的对比:来自随机对照试验的结果。

[0292] 17名严重COVID-19肺炎患者随机接受Auxora，且9名接受标准护理(SOC)。用Auxora治疗的患者与接受标准护理的那些患者之间的恢复率的差异汇总于图11中。恢复率定义为患者第一天满足8点顺序量表中的标准6、7或8(1.死亡;2.住院，需要有创机械通气或ECMO;3.住院，需要无创医用通气或高流量补充氧气;4.住院，需要低流量补充氧气;5.住院，不需要补充氧气-但需要持续的医疗护理;6.住院，不需要补充氧气或持续的医疗护理;7.出院，需要补充氧气;8.出院，不需要补充氧气)。用Auxora治疗的患者恢复的中值时间(5天)比用SOC治疗的患者(12天)短;恢复率的比值为1.87(95％置信区间[CI]，0.72至4.89。

[0293] 此外，17名用Auxora治疗的患者中有3名(18％)进行了插管，相比之下，8名分配了标准护理的患者中则有4名(50％)(95％CI，-0.07至0.71)。基线PaO_2/FiO_2在101与200之间的患者中下降最为明显，其中6名用Auxora治疗的患者中仅有1名(17％)需要插管，相比之下，4名分配了标准护理的患者中则有3名(75％)。基线PaO_2/FiO_2>200的接受Auxora或标准护理的患者均不需要有创机械通气。死亡或有创机械通气的复合终点在用Auxora治疗的患者中(18％)与分配了标准护理的那些患者(56％)相比不经常发生，其中风险比为0.23(95％CI，0.05至0.96;P<0.05)。达到复合终点的患者百分比汇总于图12中。

[0294] 以8点顺序量表的平均值所衡量的临床改善在Auxora组中从第4天开始更大，在第6天达到统计学显著性，并且从第9天到第12天仍然显著(P<0.05;数据汇总于图13)。在第4天，与标准护理组相比，Auxora组在8点顺序量表上的临床恶化的优势比为0.21(95％CI，0.04至0.098;P<0.05)。基线PaO_2/FiO_2在101与200之间的患者的临床改善最为明显，在第7天平均值的差异达到统计学显著性;这种情况一直持续到第12天(P<0.05;数据汇总于图14)。

实施例9:在严重COVID-19肺炎中的肺泡炎

[0295] 严重COVID-19肺炎患者的死亡率相对较高，加上一些患者出现严重的全身炎症反应，导致人们猜测，COVID-19肺炎的病理特征不同于其他呼吸道病毒和细菌病原体。

[0296] 支气管肺泡灌洗液(BAL)是获自严重COVID-19肺炎所继发的呼吸衰竭患者，并与来自其他病原体所继发的肺炎患者和无肺炎的插管患者的BAL标本进行比较。在插管后48小时内和病程中依次获取样品，可为COVID-19诱发的急性呼吸窘迫综合征(ARDS)的早期发病机制提供深入了解。采用多色流式细胞术对BAL样品进行分析，以鉴定CD4+和CD8+T细胞、单核细胞、成熟和未成熟的肺泡巨噬细胞以及中性粒细胞。还对确诊COVID-19的患者对象的肺泡巨噬细胞进行了流式细胞术分选的批量转录组分析。最后，对严重COVID-19肺炎患者插管后不到48小时内收集的BAL液进行单细胞RNA-Seq分析。

[0297] 流式细胞术和细胞分选

[0298] 将非支气管镜下的BAL(NBBAL)和BAL样品通过70μm细胞过滤网过滤，在4C下以300rcf离心10min来沉淀，然后用2ml BD PharmLyse试剂低渗裂解红细胞2min。通过添加18ml MACS缓冲液来停止裂解。使细胞再次沉淀，并用100μL的Fc-Block(Human TruStain FcX,Biolegend)再悬浮，取10μL等分试样用K2 Cellometer(Nexcelom)和AO/PI试剂进行计

数。调整Fc-Block的体积，使细胞浓度始终小于5x10^{7}个细胞/mL，并按1:1的比例添加荧光团缀合的抗体混合物。在4℃下培育30min后，用5mL MACS缓冲液洗涤细胞，通过离心沉淀，并且再悬浮于500μL MACS缓冲液+2μL SYTOX绿色活性染料(ThermoFisher)中。细胞在FACS Aria II SORP仪器上使用100um喷嘴和20psi压力进行分选。将细胞分选到300μL的MACS缓冲液中用于批量RNA-seq或到PBS中的300μL的2％BSA中用于单细胞RNA-seq。样品处理在BSL-2设施中使用BSL-3方法进行。

[0299] 流式分选的肺泡巨噬细胞的批量RNA-Seq

[0300] 分选后将细胞立即通过离心沉淀，并用350μL补充了2-巯基乙醇的RLT Plus裂解缓冲液(Qiagen)裂解细胞。将裂解的细胞保存在-80C下，直到使用AllPrep DNA/RNA Micro试剂盒，根据制造商方案(Qiagen)进行RNA分离。RNA的质量和数量使用TapeStation 4200High Sensitivity RNA磁带(Agilent)进行评估，并且使用SMARTer Stranded Total RNA-Seq Kit v2(Takara Bio)从250pg的总RNA中制备RNA-Seq文库。在QC之后，使用TapeStation 4200High Sensitivity DNA磁带(Agilent)汇集双重索引文库并在NextSeq 500instrument(Illumina)上测序，75个循环，单端，得到平均测序深度为19.55M的读数。

[0301] 使用bcl2fastq(Illumina)生成FASTQ文件。为了能够检测病毒RNA，通过加入GRCh37.87、SARS-CoV-2(NC 045512.2)-导致COVID-19的病毒和甲型流感/California/07/2009(GCF_001343785.1)的FASTA、GFF和GTF文件来制备定制的混合基因组。然后将另一个横跨整个SARS-CoV-2基因组的负链转录本添加到GTF和GFF文件中，以检测SARS-CoV-2的复制。后来的归一化计数表揭示，在确诊的COVID-19患者中，SARS-CoV-2转录本极高度的富集，而在标记为其他病毒性肺炎的患者中，IAV基因高度富集。为了促进可重现的分析，样品处理使用公开获得的nf-core/RNA-seq管道版本1.4.2在Nextflow 19.10.0中实施，使用Singularity 3.2.1-1和最小命令nextflow run nf-core/rnaseq-r 1.4.2-singleEnd-profile singularity-unStranded--three_prime_clip_r2 3。简言之，使用trimGalore!0.6.4修整泳道水平读数，并使用STAR 2.6.1d，与上述混合基因组进行比对。然后使用featureCounts 1.6.4进行基因水平分配。

[0302] 流式分选的BAL细胞的单细胞RNA-Seq

[0303] 细胞在DPBS中被分选到2％BSA中，在4C下以300rcf离心5min来沉淀，并在DPBS中的0.1％BSA中重悬浮至约1000个细胞/ul浓度。使用K2 Cellometer(Nexcelom)和AO/PI试剂进行浓度确认，并且将约5000-10,000个细胞装载在具有铬单细胞5’凝胶珠和试剂(10x Genomics)的10x Genomics Chip A上。根据制造商协议(10x Genomics,CG000086_RevM)制备文库。在质量检查后，将单细胞RNA-seq文库汇集并在NovaSeq 6000仪器上测序。

[0304] 使用Cell Ranger 3.1.0pipeline(10x Genomics)处理数据。为了能够检测病毒RNA，将读数与包含GRCh38.93和SARS-CoV-2(NC 045512.2)的定制混合基因组比对。然后将另一个横跨整个SARS-CoV-2基因组的负链转录本添加到GTF和GFF文件中，以检测SARS-CoV-2的复制。使用Scanpy v1.5.1处理数据，用scrublet v0.2.1检测双态体并移除，去除核糖体基因，并用BBKNN v1.3.12进行多样本整合。使用从gsea-msigdb.org网站检索的签名进行基因集富集分析，使用以下术语:HALLMARK_INTERFERON_GAMMA_RESPONSE M5913，HALLMARK_INTERFERON_ALPHA_RESPONSE M5911。用snakemake v5.5.4实现计算自动化。

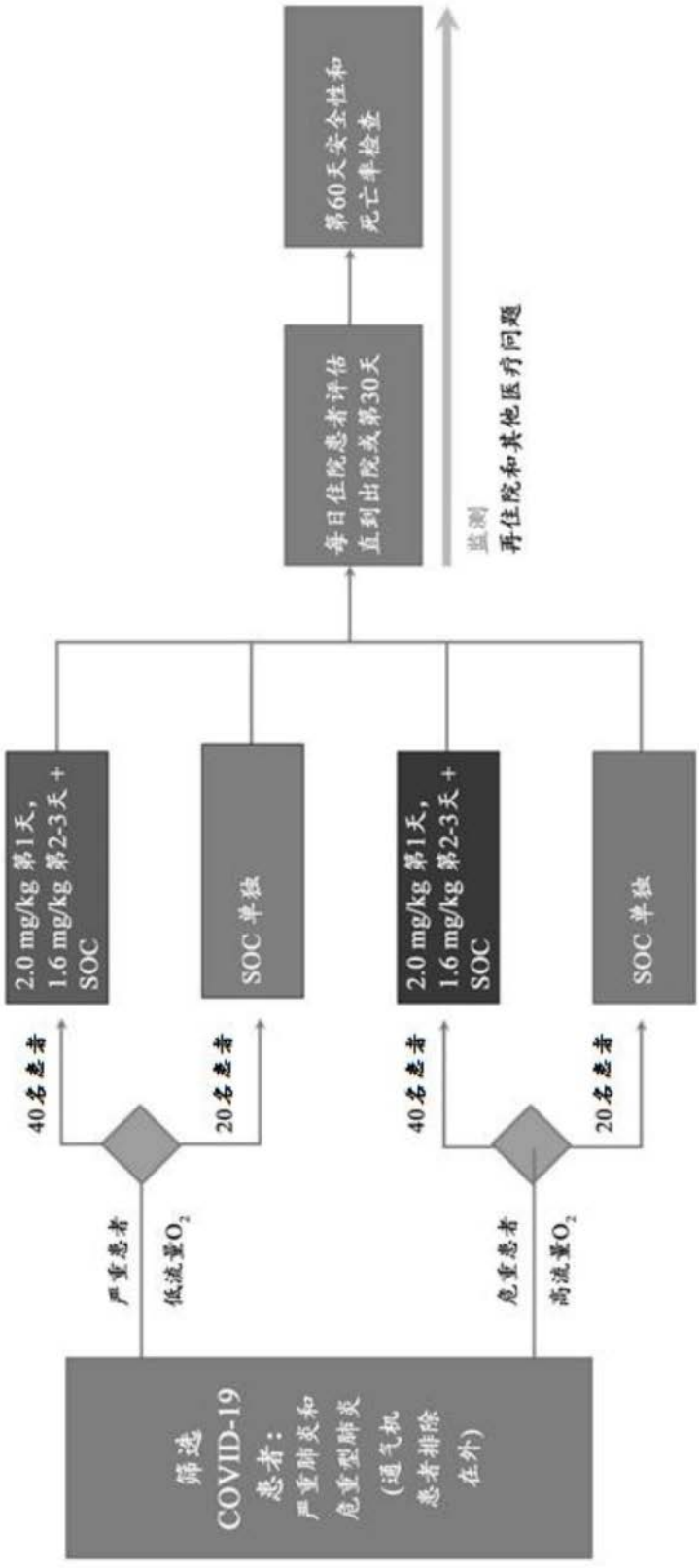

筛选
COVID-19
患者：
严重肺炎和
危重型肺炎
(通气机
患者排除
在外)
严重患者
低流量O_2
危重患者
高流量O_2
40名患者
20名患者
40名患者
20名患者
2.0 mg/kg 第1天，
1.6 mg/kg 第2-3天 +
SOC
SOC 单独
2.0 mg/kg 第1天，
1.6 mg/kg 第2-3天 +
SOC
SOC 单独
每日住院患者评估
直到出院或第30天
第60天安全性和
死亡率检查
监测
再住院和其他医疗问题

图1A

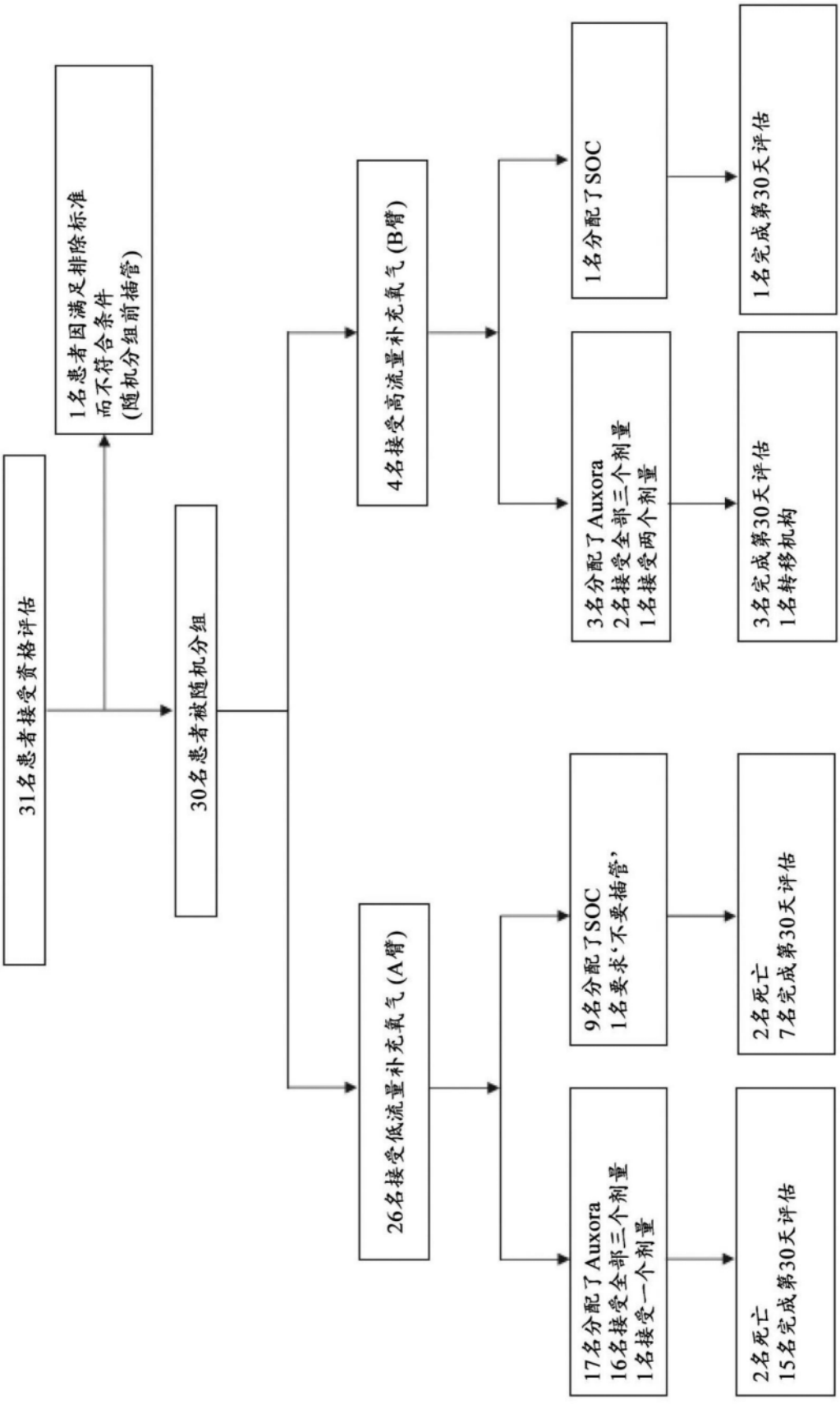

31名患者接受资格评估
1名患者因满足排除标准而不符合条件(随机分组前插管)
30名患者被随机分组
26名接受低流量补充氧气(A臂)
4名接受高流量补充氧气(B臂)
17名分配了Auxora
16名接受全部三个剂量
1名接受一个剂量
9名分配了SOC
1名要求'不要插管'
3名分配了Auxora
2名接受全部三个剂量
1名接受两个剂量
1名分配了SOC
2名死亡
15名完成第30天评估
2名死亡
7名完成第30天评估
3名完成第30天评估
1名转移机构
1名完成第30天评估

图1B

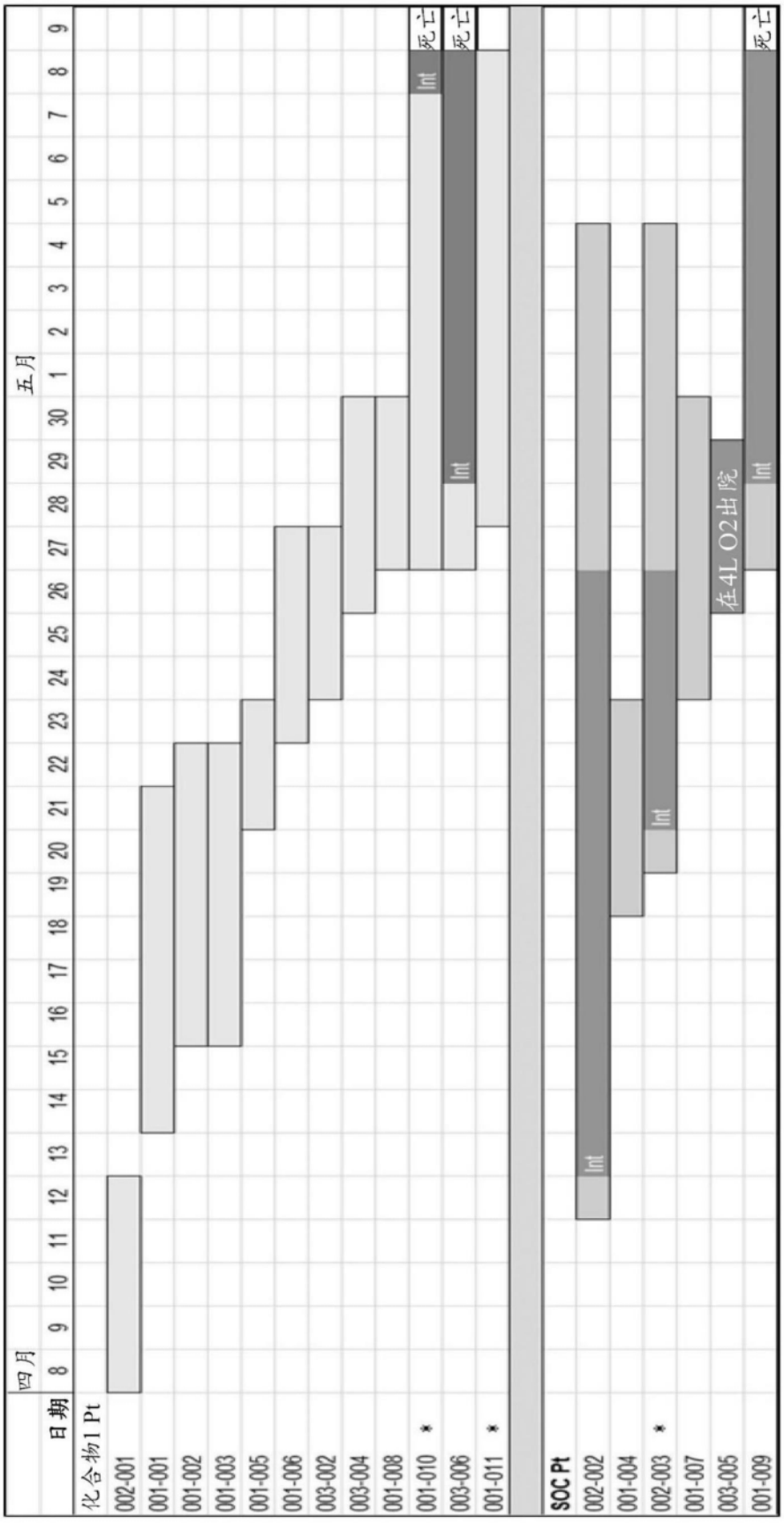

日期
四月
五月
8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 1 2 3 4 5 6 7 8 9
化合物1 Pt
002-001
001-001
001-002
001-003
001-005
001-006
003-002
003-004
001-008
001-010 *
003-006
001-011 *
SOC Pt
002-002
001-004
002-003 *
001-007
003-005
001-009
Int
死亡
在4L O2出院
深色阴影=治疗失败
Int = 插管的
* = 在灵敏度分析中删除

图2

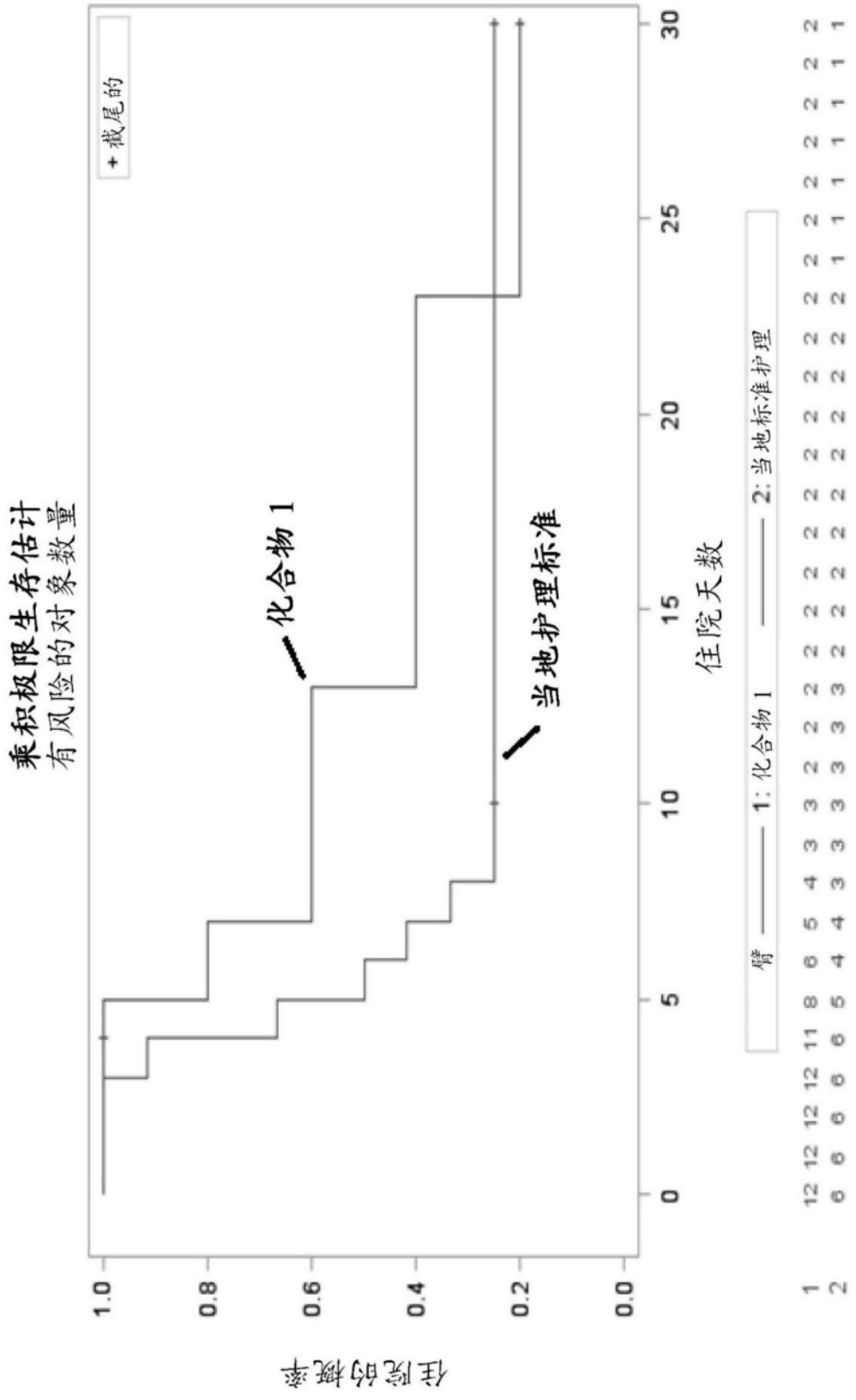

乘积极限生存估计
有风险的对象数量
+截尾的
化合物 1
当地护理标准
住院的概率
住院天数
臂 1: 化合物 1 2: 当地标准护理

图3

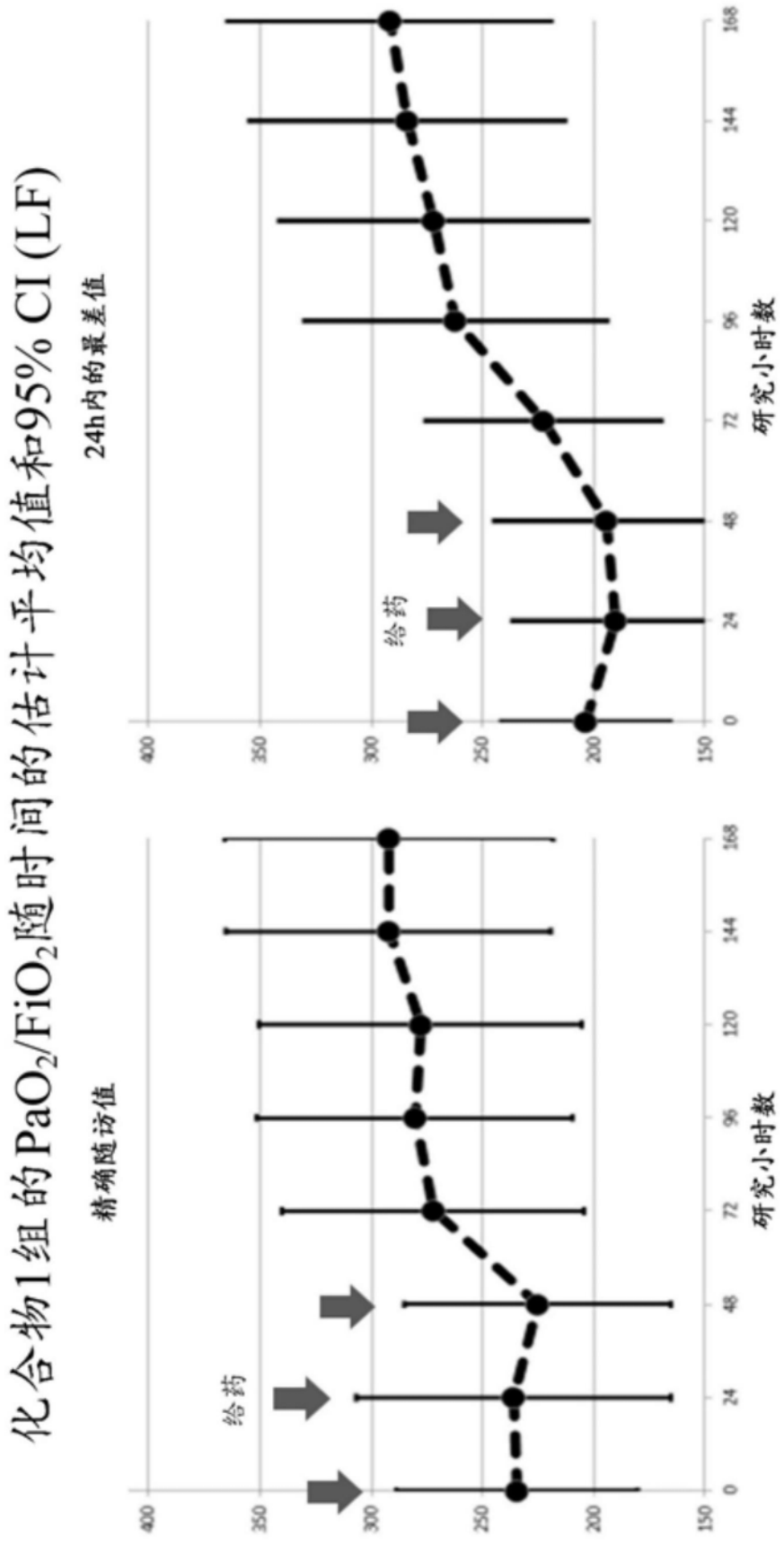

化合物1组的PaO2/FiO2随时间的估计平均值和95% CI (LF)
24h内的最差值
精确随访值
给药
给药
研究小时数
研究小时数
400
350
300
250
200
150
0
24
48
72
96
120
144
168

图4

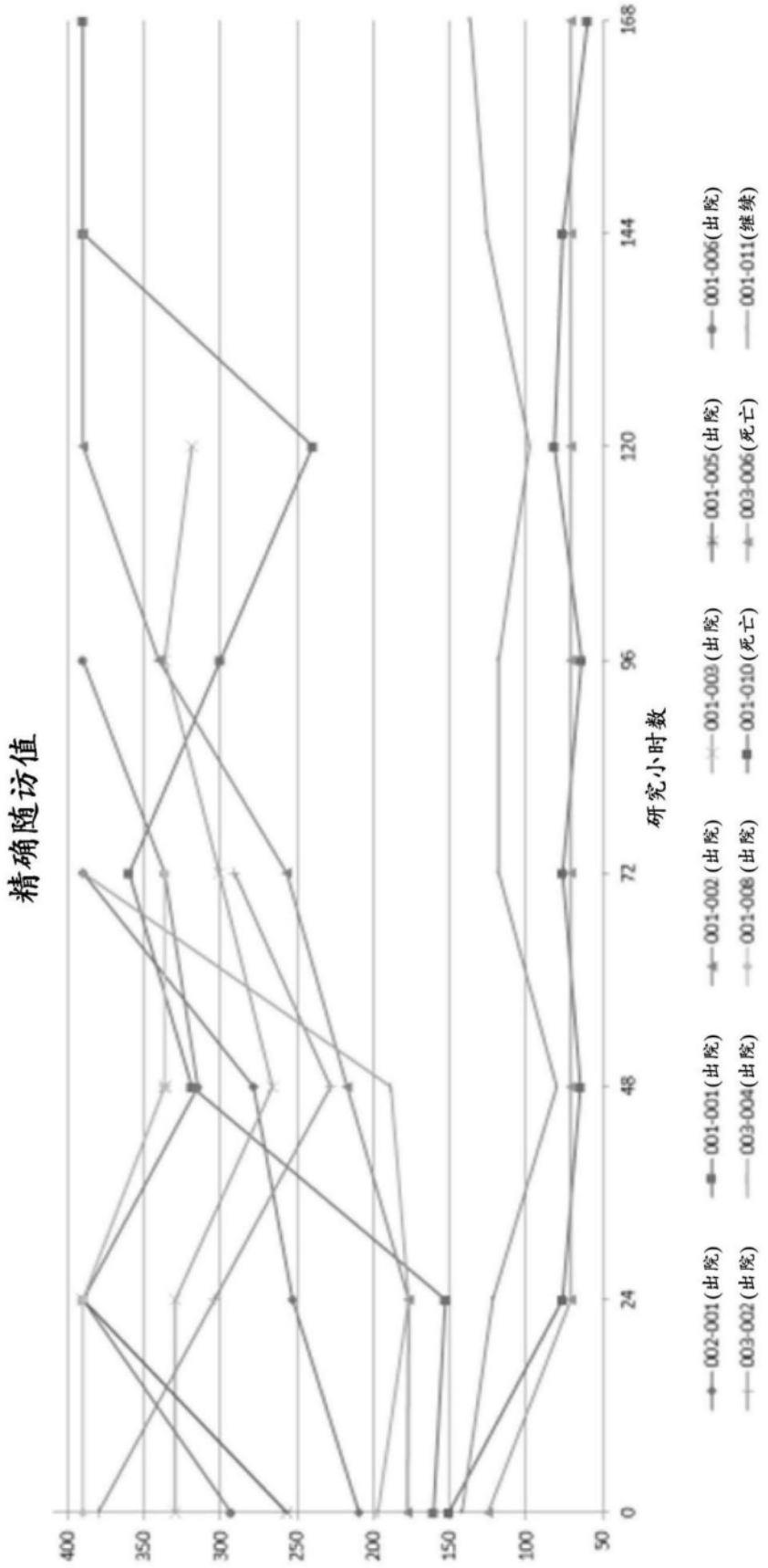

精确随访值
研究小时数
400
350
300
250
200
150
100
50
0
24
48
72
96
120
144
168
002-001(出院)
003-002(出院)
001-001(出院)
003-004(出院)
001-002(出院)
001-008(出院)
001-003(出院)
001-010(死亡)
001-005(出院)
003-006(死亡)
001-006(出院)
001-011(继续)

图5A

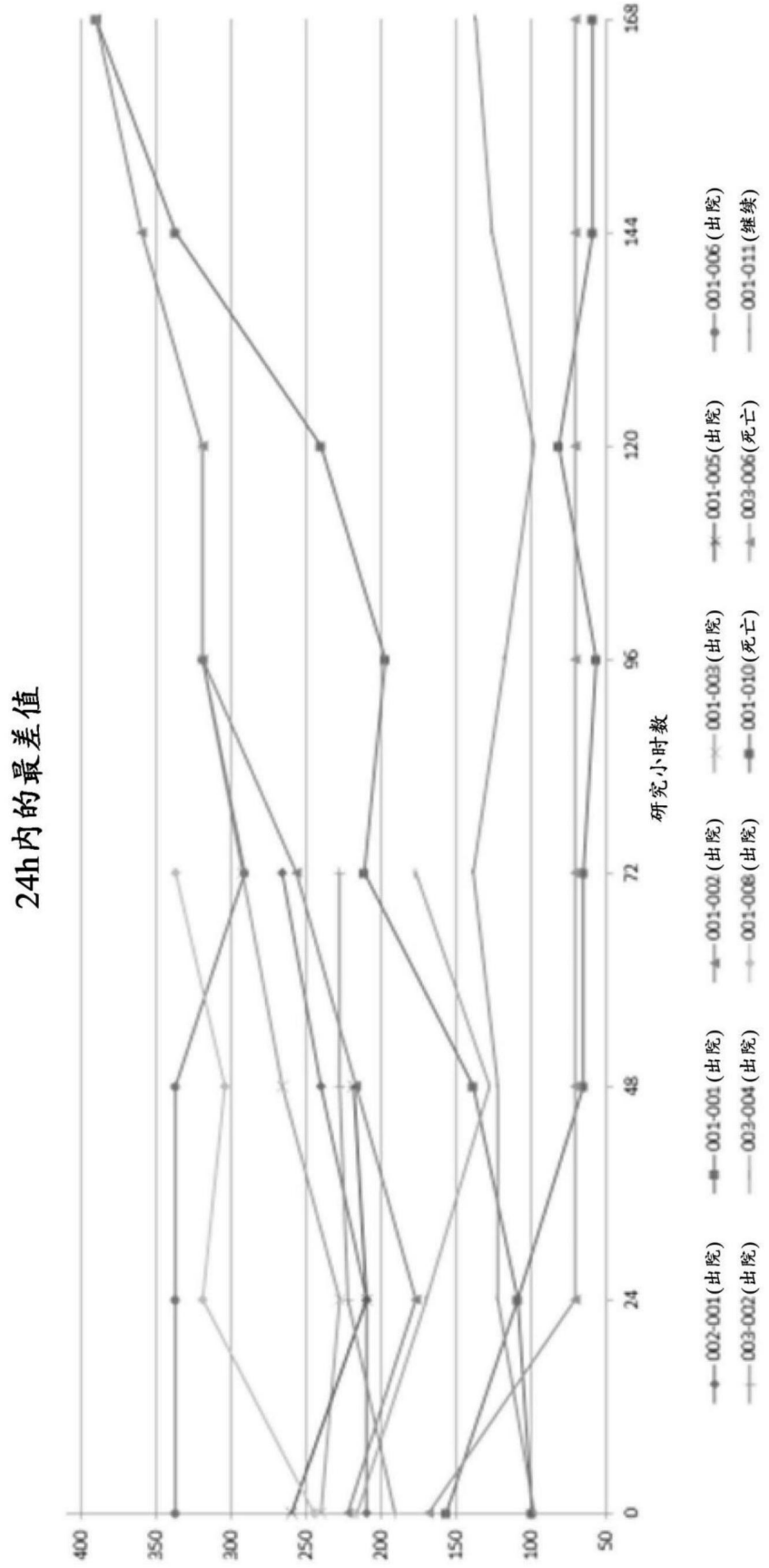

24h内的最差值
研究小时数
400
350
300
250
200
150
100
50
0
24
48
72
96
120
144
168
002-001(出院)
003-002(出院)
001-001(出院)
003-004(出院)
001-002(出院)
001-008(出院)
001-003(出院)
001-010(死亡)
001-005(出院)
003-006(死亡)
001-006(出院)
001-011(继续)

图5B

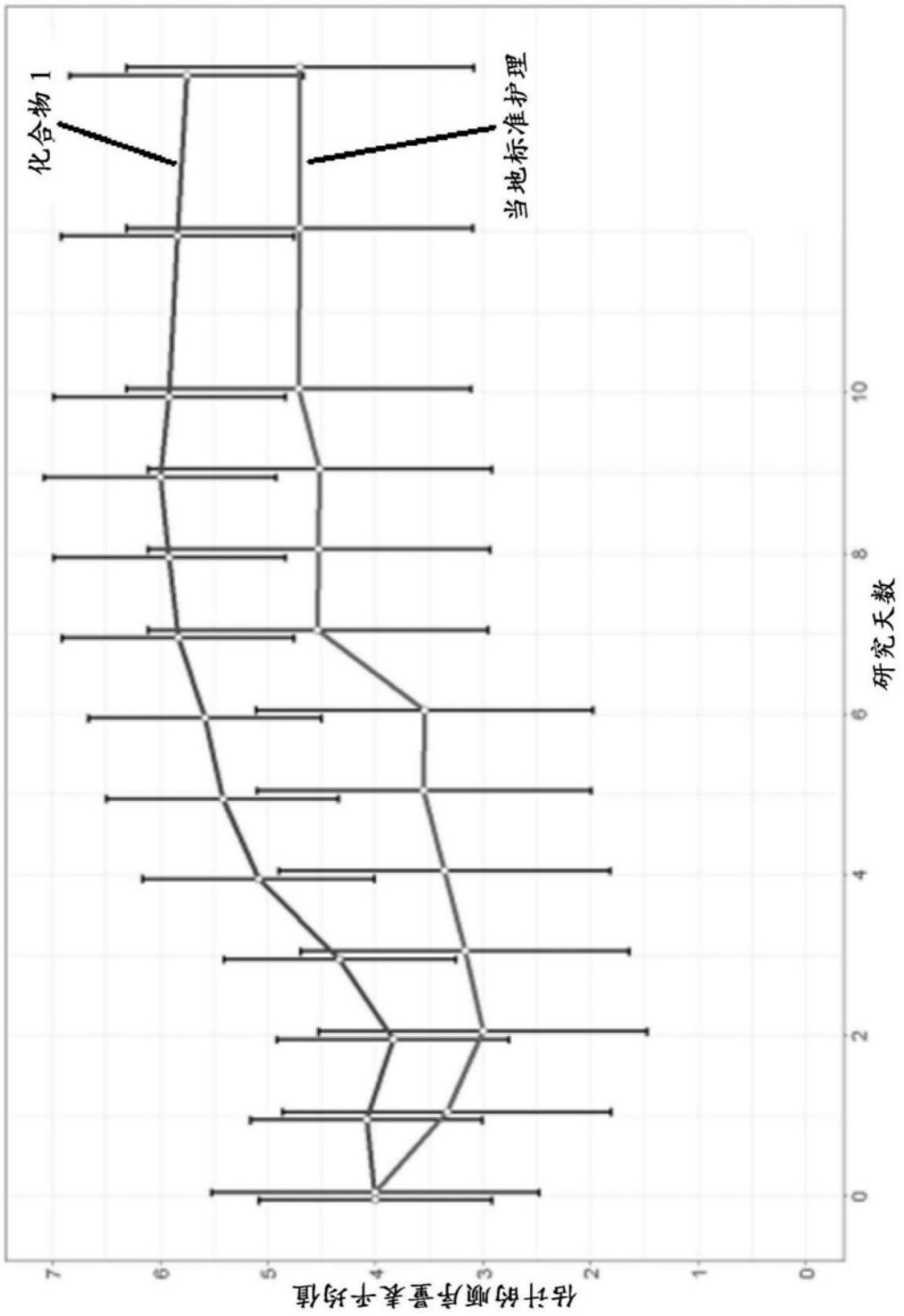


图6

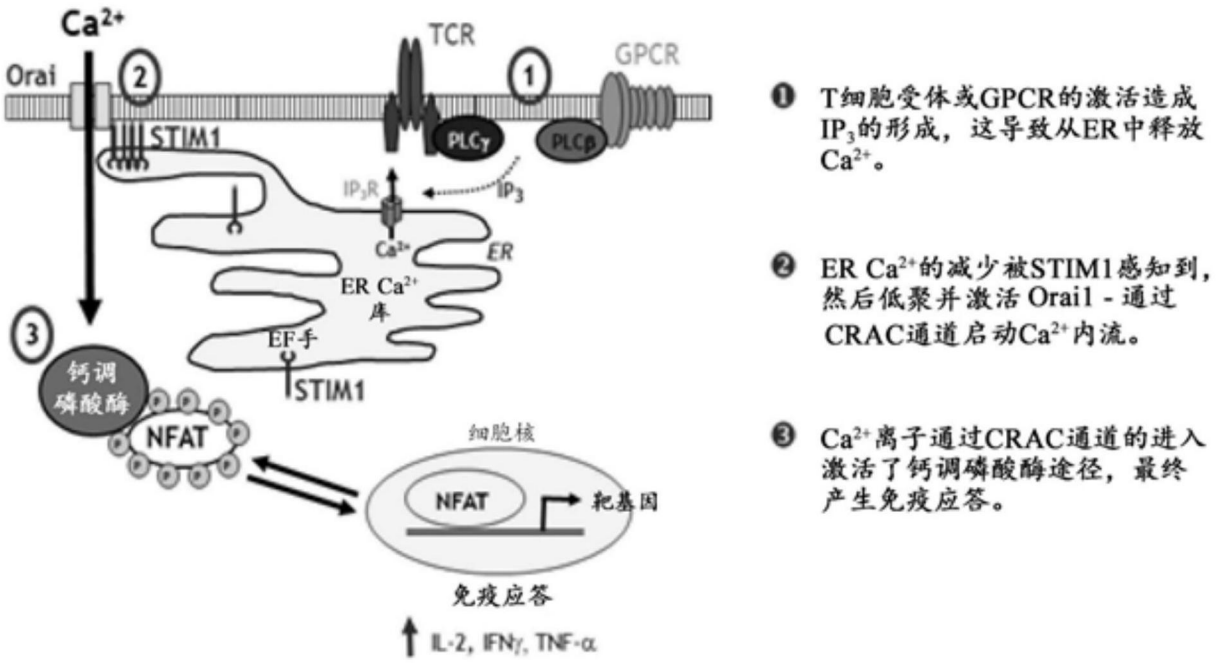

Ca2+
Orai
TCR
GPCR
STIM1
PLCγ
PLCβ
IP3R
IP3
Ca2+
ER
ER Ca2+ 库
EF手
STIM1
钙调磷酸酶
NFAT
细胞核
NFAT
靶基因
免疫应答
IL-2, IFNγ, TNF-α
❶ T细胞受体或GPCR的激活造成IP3的形成，这导致从ER中释放Ca2+。
❷ ER Ca2+的减少被STIM1感知到，然后低聚并激活Orai1 - 通过CRAC通道启动Ca2+内流。
❸ Ca2+离子通过CRAC通道的进入激活了钙调磷酸酶途径，最终产生免疫应答。

图7

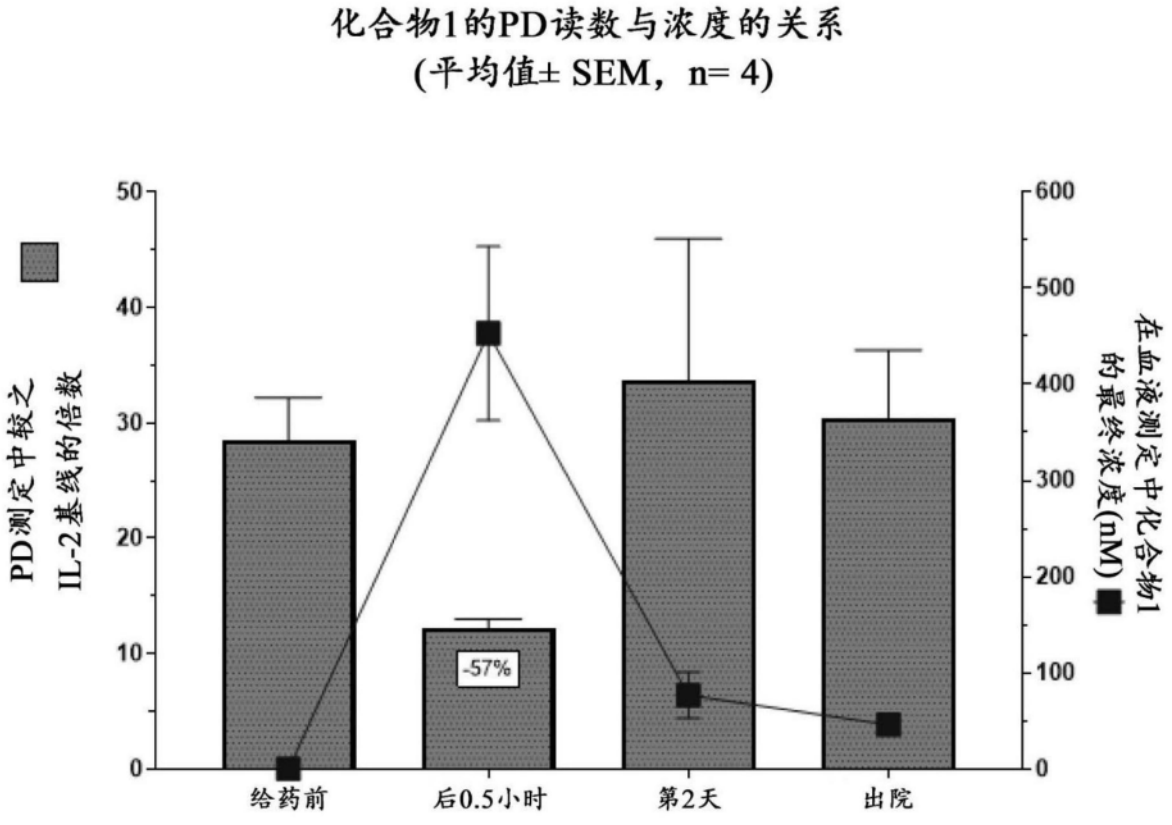

化合物1的PD读数与浓度的关系
(平均值± SEM，n= 4)
PD测定中较之IL-2基线的倍数
在血液测定中化合物1的最终浓度(nM)
-57%
给药前
后0.5小时
第2天
出院

图8

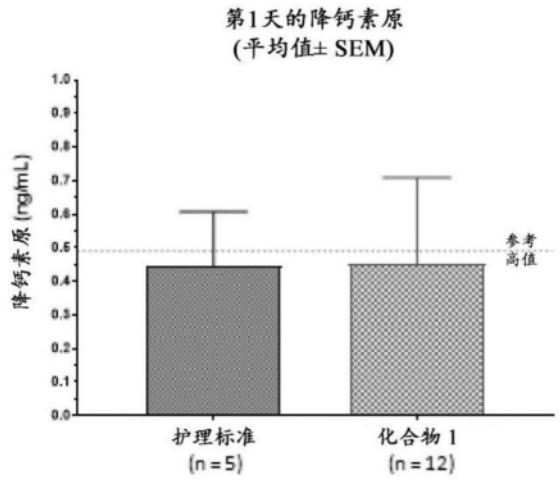

第1天的降钙素原
(平均值± SEM)
降钙素原 (pg/mL)
1.0
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0.0
参考
高值
护理标准
(n = 5)
化合物 1
(n = 12)

图9A

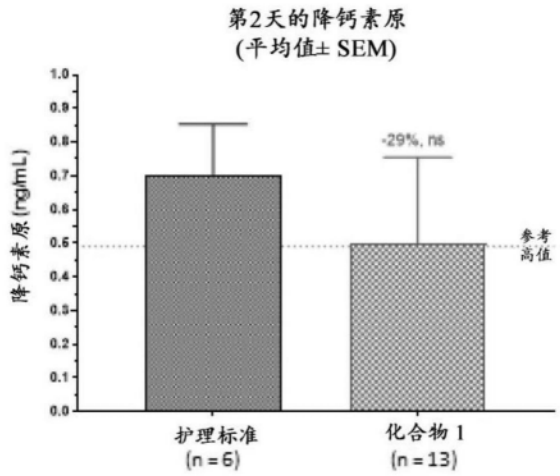

第2天的降钙素原
(平均值± SEM)
降钙素原 (pg/mL)
1.0
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0.0
-29%, ns
参考
高值
护理标准
(n = 6)
化合物 1
(n = 13)

图9B

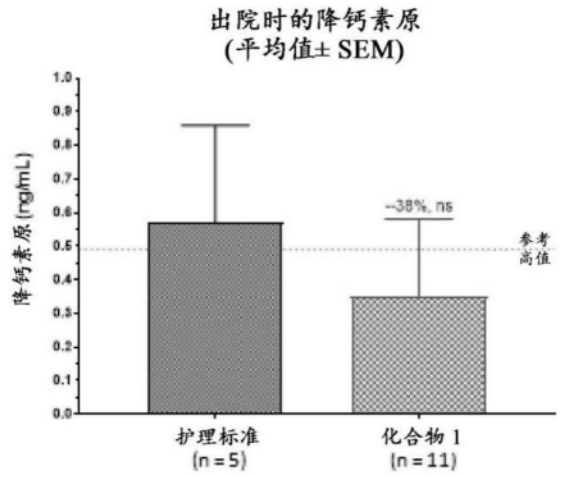

出院时的降钙素原
(平均值± SEM)
降钙素原(ng/mL)
1.0
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0.0
~38%, ns
参考
高值
护理标准
(n=5)
化合物 1
(n=11)

图9C

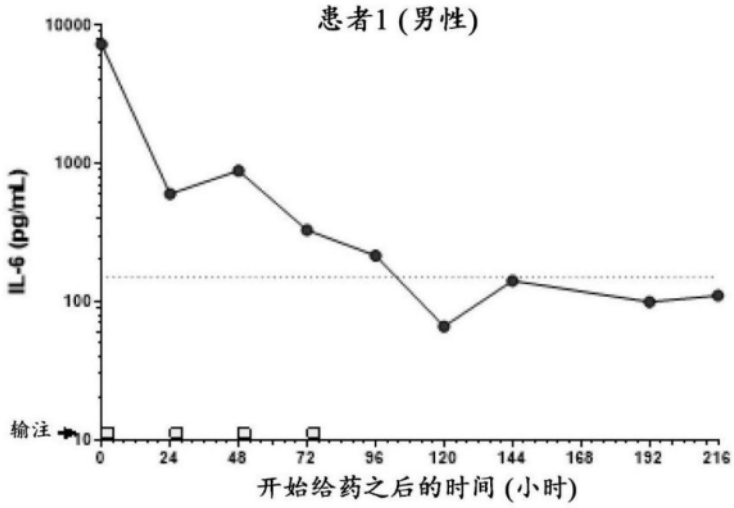

患者1 (男性)
IL-6 (pg/mL)
10000
1000
100
10
输注
0
24
48
72
96
120
144
168
192
216
开始给药之后的时间 (小时)

图10A

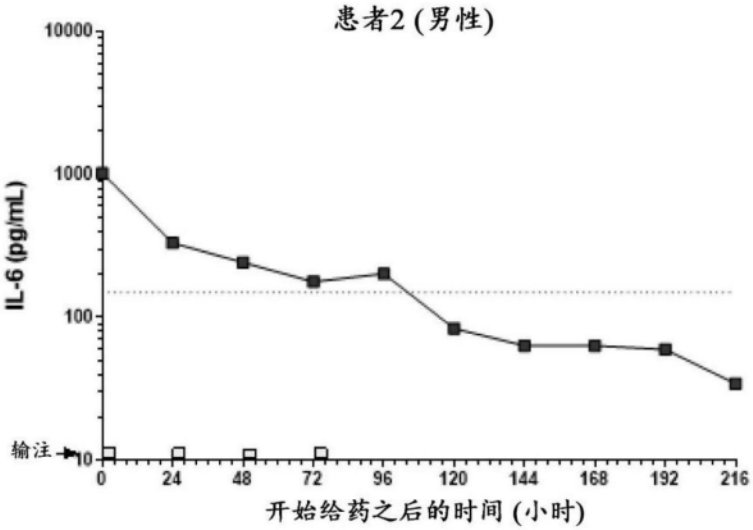

患者2 (男性)
10000
1000
100
10
IL-6 (pg/mL)
输注
0
24
48
72
96
120
144
168
192
216
开始给药之后的时间 (小时)

图10B

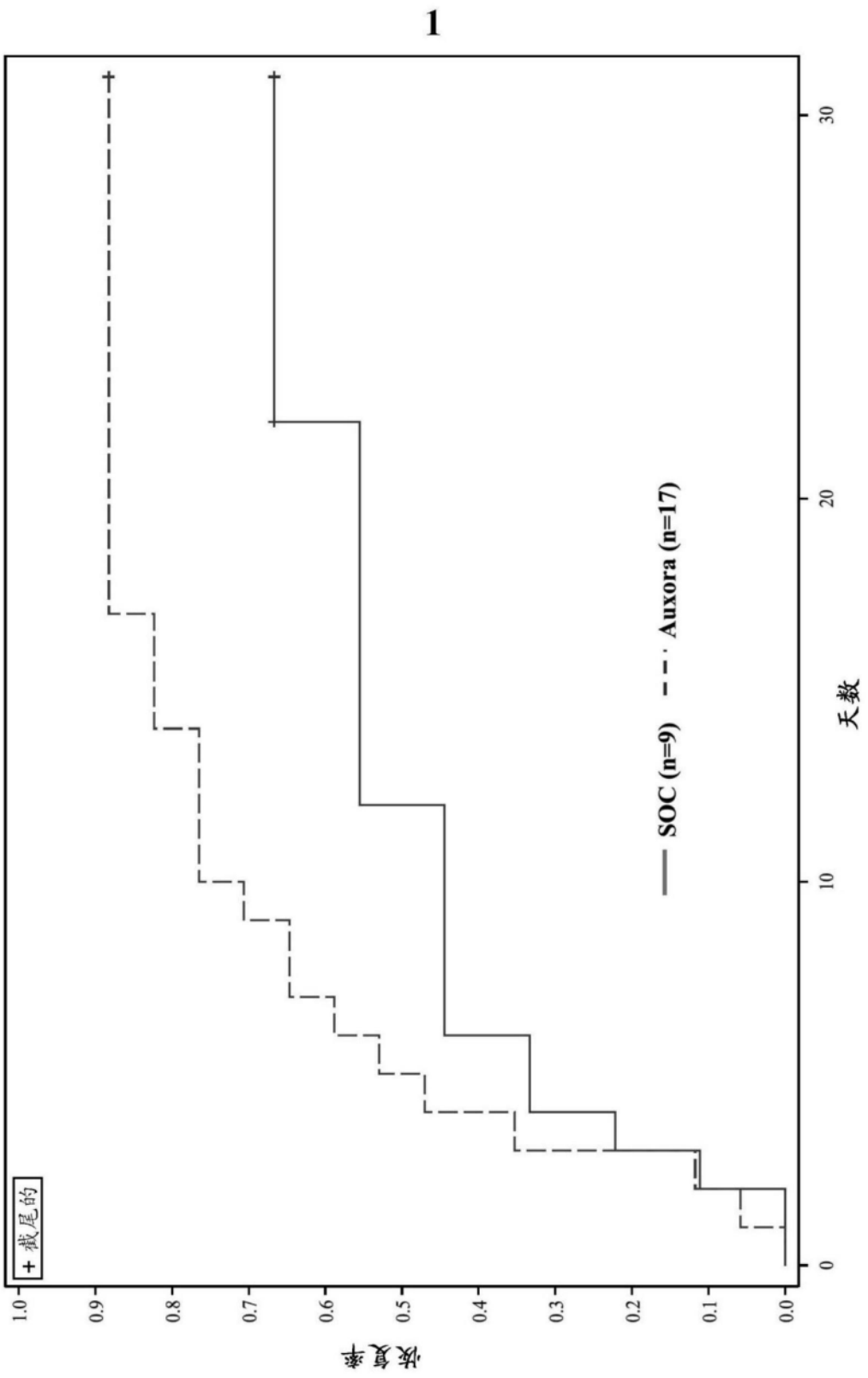

1
1.0
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0.0
存复率
0
10
20
30
天数
SOC (n=9)
Auxora (n=17)
+ 截尾的

图11

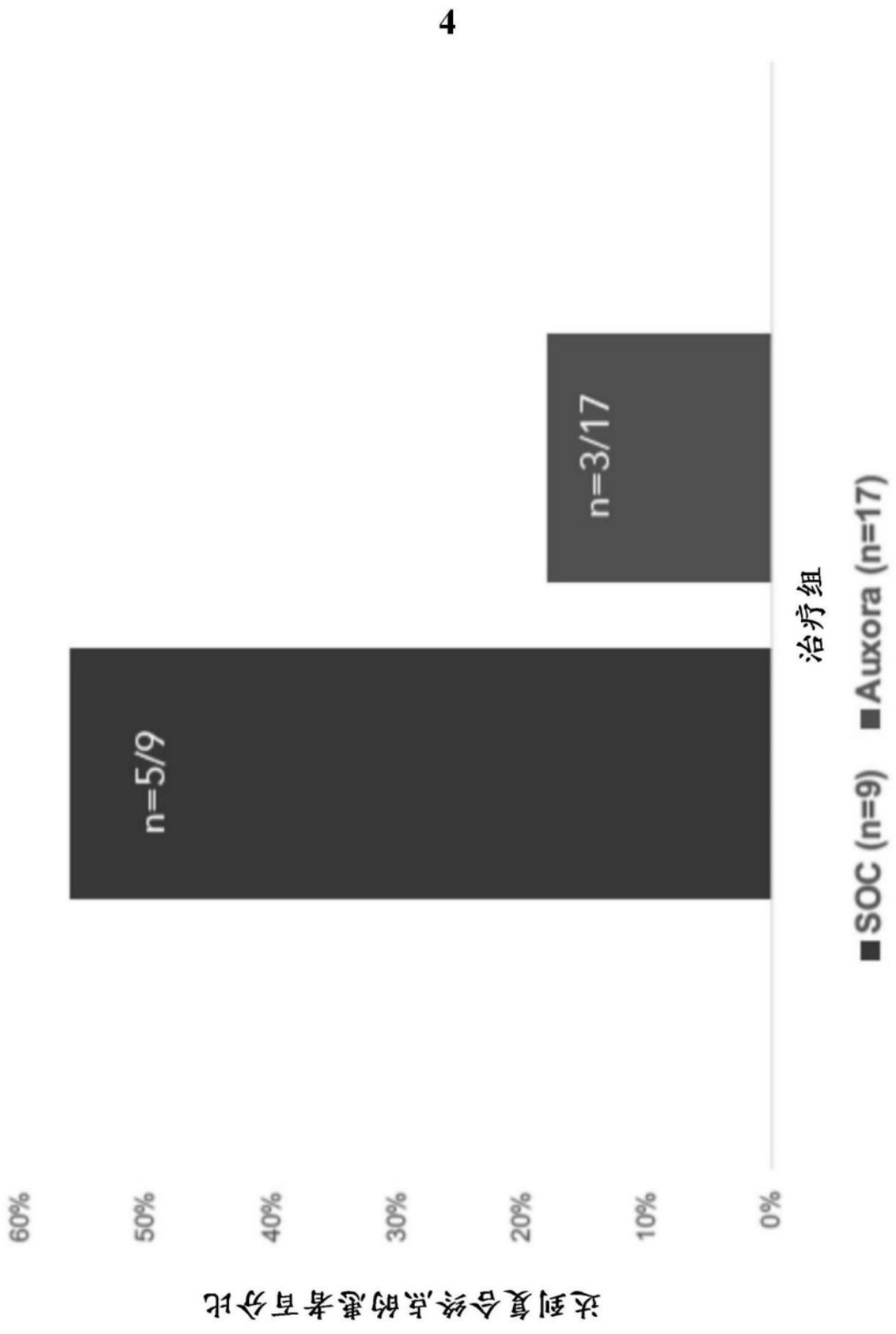

4
达到复合终点的患者百分比
60%
50%
40%
30%
20%
10%
0%
n=5/9
n=3/17
治疗组
■SOC (n=9) ■Auxora (n=17)

图12

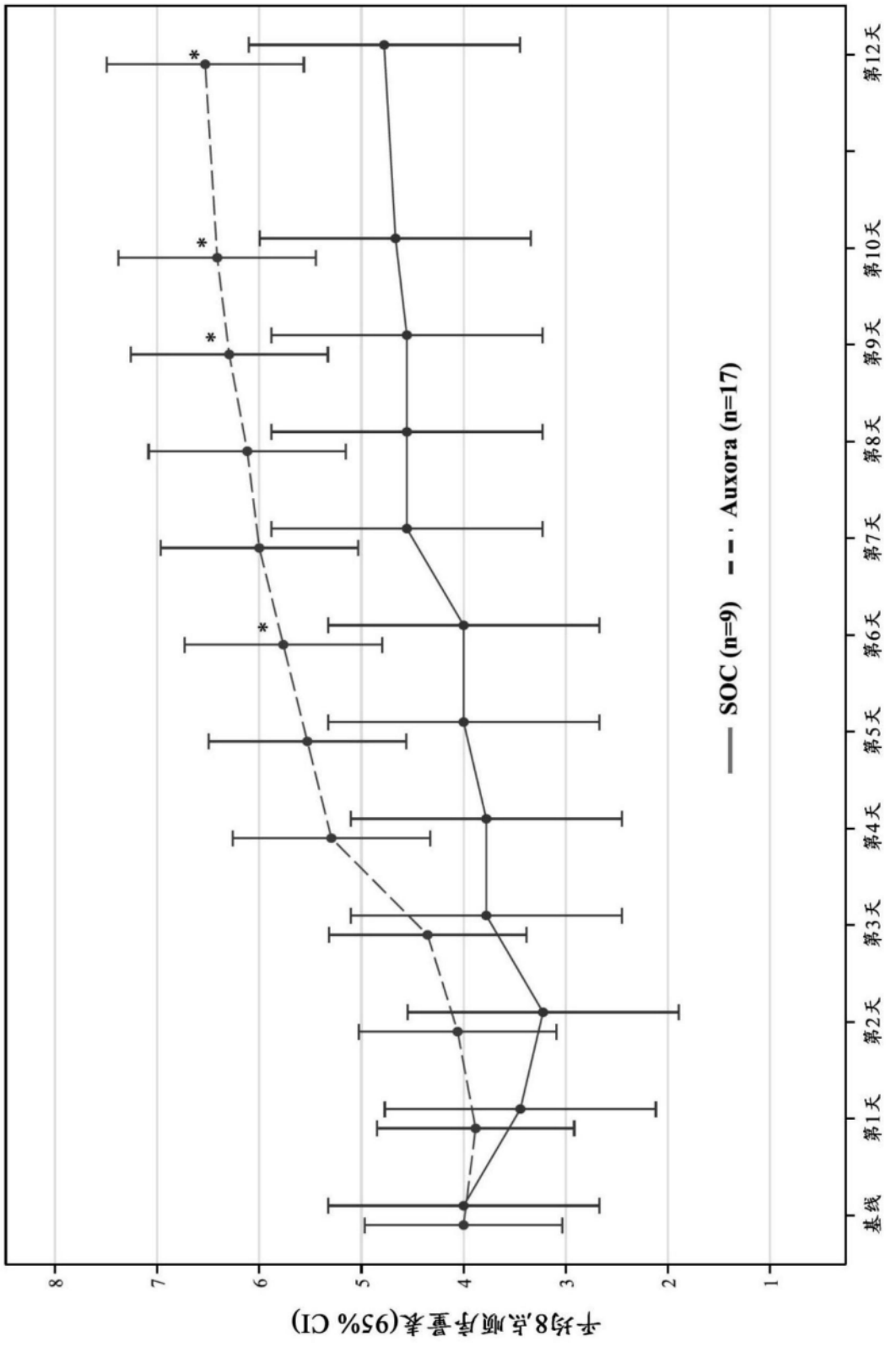

平均8点顺序量表(95% CI)
8
7
6
5
4
3
2
1
基线
第1天
第2天
第3天
第4天
第5天
第6天
第7天
第8天
第9天
第10天
第12天
SOC (n=9)
Auxora (n=17)
*
*
*
*

图13

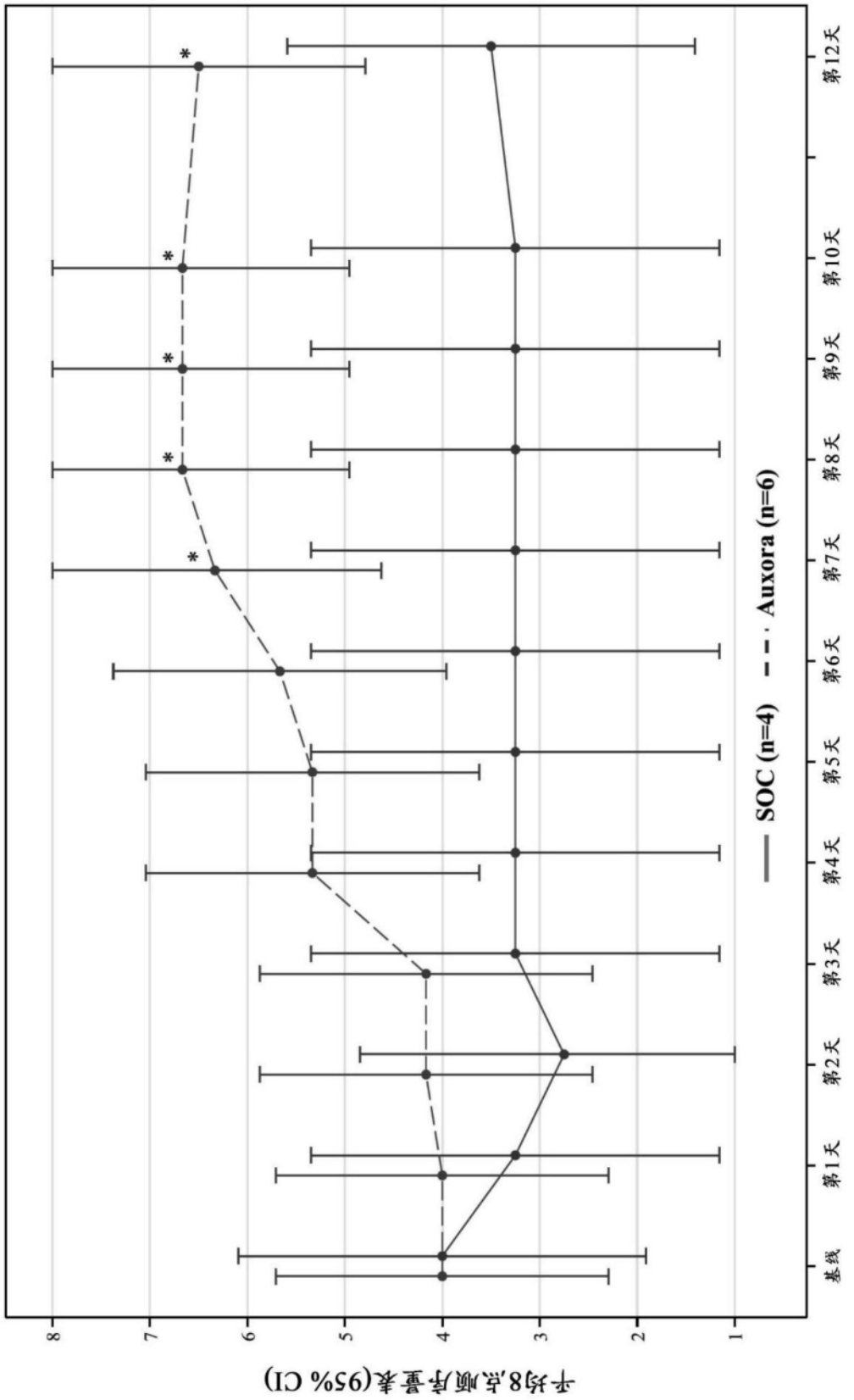

平均8点顺序量表(95% CI)
8
7
6
5
4
3
2
1
基线
第1天
第2天
第3天
第4天
第5天
第6天
第7天
第8天
第9天
第10天
第12天
SOC (n=4)
Auxora (n=6)
*

图14