



(12)发明专利



(10)授权公告号 CN 103814295 B

(45)授权公告日 2016.08.24

(21)申请号 201280044868.0

(22)申请日 2012.09.14

(30)优先权数据

11181219.4 2011.09.14 EP

11187016.8 2011.10.28 EP

61/534,402 2011.09.14 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2014.03.14

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/IB2012/054790 2012.09.14

(87)PCT国际申请的公布数据

W02013/038369 EN 2013.03.21

(73)专利权人 巴斯夫欧洲公司

地址 德国路德维希港

(72)发明人 H·坎普 T·B·沃克

B·V·拉文兹韦 W·梅勒特

E·法比安 V·施特劳斯

J·C·威尔莫 R·洛塞

M·M·赫罗尔德 A·普奥考汀

(74)专利代理机构 北京市中咨律师事务所

11247

代理人 胡志君 黄革生

(51)Int.Cl.

G01N 33/53(2006.01)

(56)对比文件

CN 102105797 A, 2011.06.22, 全文.

CN 102105792 A, 2011.06.22, 全文.

CN 1355885 A, 2002.06.26, 全文.

US 2010047837 A1, 2010.02.25, 全文.

窦春艳等.三聚氰胺污染饲料致大鼠肾毒性的代谢组学研究.《中国药理学与毒理学杂志》.2011,第25卷(第1期),

审查员 刘彦宁

权利要求书4页 说明书43页

(54)发明名称

用于评估肾毒性的手段和方法

(57)摘要

本发明涉及用于肾毒性的诊断法和化学化合物风险分级的毒理学评估领域。具体而言,它公开了用于诊断肾毒性的方法。它还公开了用于确定化合物是否能够在受试者中诱导这种肾毒性的方法,和公开了鉴定用于治疗肾毒性的药物的方法。另外,本发明公开了用于诊断肾毒性的装置和试剂盒。

1. 针对作为生物标志物的反油酸的检测剂的用途, 用于制备诊断受试者的肾毒性的试剂盒, 其中使用所述检测剂

- (a) 确定疑似遭遇肾毒性的受试者的测试样品中作为生物标志物的反油酸的量, 和
- (b) 将步骤(a)中确定的量与参考比较, 由此诊断肾毒性。

2. 针对反油酸和针对选自表1a、1b、1c、1d、2a、2b、2c、2d、3a、3b、3c、3d、4a、4b、4c、4d、5a、5b、6a、6b、7a、7b、8a、8b、11a或11b中任一表的至少一种其他生物标志物的检测剂的用途, 用于制备诊断受试者的肾毒性的试剂盒, 其中使用所述检测剂

- (a) 确定疑似遭遇肾毒性的受试者的测试样品中反油酸和选自表1a、1b、1c、1d、2a、2b、2c、2d、3a、3b、3c、3d、4a、4b、4c、4d、5a、5b、6a、6b、7a、7b、8a、8b、11a或11b中任一表的至少一种其他生物标志物的量, 和
- (b) 将步骤(a)中确定的量与参考比较, 由此诊断肾毒性。

3. 权利要求1或2的用途, 其中所述受试者已经与疑似能够诱导肾毒性的化合物接触。

4. 权利要求3的用途, 其中所述化合物是选自以下的至少一种化合物: 两性霉素B、 β -紫罗酮、咖啡因、卡托普利、卡铂、环孢菌素A、高2,4-滴丙酸、安乃近、乙苯、呋塞米、六氯丁二烯、氢醌、赖诺普利、石胆酸、MCPA、高2-甲-4-氯丙酸、青霉胺、五氯酚、丙磺舒、雷米普利、可可碱、茶碱、妥布霉素s.c.、磷酸三甲苯酯、1,1,2,2-四氯乙烷、2,2,4-三甲基戊烷、D-苧烯和萘烷。

5. 权利要求1或2的用途, 其中所述参考源自(i)遭遇肾毒性的受试者或受试者组或(ii)已经与选自以下的至少一种化合物接触的受试者或受试者组: 两性霉素B、 β -紫罗酮、咖啡因、卡托普利、卡铂、环孢菌素A、高2,4-滴丙酸、安乃近、乙苯、呋塞米、六氯丁二烯、氢醌、赖诺普利、石胆酸、MCPA、高2-甲-4-氯丙酸、青霉胺、五氯酚、丙磺舒、雷米普利、可可碱、茶碱、妥布霉素s.c.、磷酸三甲苯酯、1,1,2,2-四氯乙烷、2,2,4-三甲基戊烷、D-苧烯和萘烷。

6. 权利要求5的用途, 其中测试样品中生物标志物与参考的基本上相同的量指示肾毒性。

7. 权利要求1或2的用途, 其中所述参考源自(i)已知未遭遇肾毒性的受试者或受试者组或(ii)尚未与选自以下的至少一种化合物接触的受试者或受试者组: 两性霉素B、 β -紫罗酮、咖啡因、卡托普利、卡铂、环孢菌素A、高2,4-滴丙酸、安乃近、乙苯、呋塞米、六氯丁二烯、氢醌、赖诺普利、石胆酸、MCPA、高2-甲-4-氯丙酸、青霉胺、五氯酚、丙磺舒、雷米普利、可可碱、茶碱、妥布霉素s.c.、磷酸三甲苯酯、1,1,2,2-四氯乙烷、2,2,4-三甲基戊烷、D-苧烯和萘烷。

8. 权利要求7的用途, 其中测试样品中生物标志物与参考相比不同的量指示肾毒性。

9. 权利要求1或2的用途, 其中所述参考是针对受试者群体中生物标志物的经计算的参考。

10. 权利要求9的用途, 其中测试样品中生物标志物与参考相比不同的量指示肾毒性。

11. 一种确定化合物是否能够在受试者中诱导肾毒性的方法, 包括:

- (a) 确定已经与疑似能够诱导肾毒性的化合物接触的受试者的测试样品中作为生物标志物的反油酸的量, 和
- (b) 将步骤(a)中确定的量与参考比较, 由此确定化合物诱导肾毒性的能力。

12. 一种确定化合物是否能够在受试者中诱导肾毒性的方法, 包括:

(a) 确定已经与疑似能够诱导肾毒性的化合物接触的受试者的测试样品中反油酸和选自表1a、1b、1c、1d、2a、2b、2c、2d、3a、3b、3c、3d、4a、4b、4c、4d、5a、5b、6a、6b、7a、7b、8a、8b、11a或11b中任一表的至少一种其他生物标志物的量, 和

(b) 将步骤(a)中确定的量与参考比较, 由此确定化合物诱导肾毒性的能力。

13. 权利要求11或12的方法, 其中所述化合物是选自以下的至少一种化合物: 两性霉素B、 β -紫罗酮、咖啡因、卡托普利、卡铂、环孢菌素A、高2,4-滴丙酸、安乃近、乙苯、呋塞米、六氯丁二烯、氢醌、赖诺普利、石胆酸、MCPA、高2-甲-4-氯丙酸、青霉胺、五氯酚、丙磺舒、雷米普利、可可碱、茶碱、妥布霉素s.c.、磷酸三甲苯酯、1,1,2,2-四氯乙烷、2,2,4-三甲基戊烷、D-苧烯和萘烷。

14. 权利要求11或12的方法, 其中所述参考源自(i) 遭遇肾毒性的受试者或受试者组或(ii) 已经与选自以下的至少一种化合物接触的受试者或受试者组: 两性霉素B、 β -紫罗酮、咖啡因、卡托普利、卡铂、环孢菌素A、高2,4-滴丙酸、安乃近、乙苯、呋塞米、六氯丁二烯、氢醌、赖诺普利、石胆酸、MCPA、高2-甲-4-氯丙酸、青霉胺、五氯酚、丙磺舒、雷米普利、可可碱、茶碱、妥布霉素s.c.、磷酸三甲苯酯、1,1,2,2-四氯乙烷、2,2,4-三甲基戊烷、D-苧烯和萘烷。

15. 权利要求14的方法, 其中测试样品中生物标志物与参考的基本上相同的量指示肾毒性。

16. 权利要求11或12的方法, 其中所述参考源自(i) 已知未遭遇肾毒性的受试者或受试者组或(ii) 尚未与选自以下的至少一种化合物接触的受试者或受试者组: 两性霉素B、 β -紫罗酮、咖啡因、卡托普利、卡铂、环孢菌素A、高2,4-滴丙酸、安乃近、乙苯、呋塞米、六氯丁二烯、氢醌、赖诺普利、石胆酸、MCPA、高2-甲-4-氯丙酸、青霉胺、五氯酚、丙磺舒、雷米普利、可可碱、茶碱、妥布霉素s.c.、磷酸三甲苯酯、1,1,2,2-四氯乙烷、2,2,4-三甲基戊烷、D-苧烯和萘烷。

17. 权利要求16的方法, 其中测试样品中生物标志物与参考相比不同的量指示肾毒性。

18. 权利要求11或12的方法, 其中所述参考是针对受试者群体中生物标志物的经计算的参考。

19. 权利要求18的方法, 其中测试样品中生物标志物与参考相比不同的量指示肾毒性。

20. 针对作为生物标志物的反油酸的检测剂的用途, 用于制备鉴定治疗肾毒性的物质的试剂盒, 其中使用所述检测剂

(a) 确定遭遇肾毒性的受试者的测试样品中作为生物标志物的反油酸的量, 所述受试者已经与疑似能够治疗肾毒性的候选物质接触; 和

(b) 将步骤(a)中确定的量与参考比较, 由此鉴定能够治疗肾毒性的物质。

21. 针对反油酸和针对选自表1a、1b、1c、1d、2a、2b、2c、2d、3a、3b、3c、3d、4a、4b、4c、4d、5a、5b、6a、6b、7a、7b、8a、8b、11a或11b中任一表的至少一种其他生物标志物的检测剂的用途, 用于制备鉴定治疗肾毒性的物质的试剂盒, 其中使用所述检测剂

(a) 确定遭遇肾毒性的受试者的测试样品中反油酸和选自表1a、1b、1c、1d、2a、2b、2c、2d、3a、3b、3c、3d、4a、4b、4c、4d、5a、5b、6a、6b、7a、7b、8a、8b、11a或11b中任一表的至少一种其他生物标志物的量, 所述受试者已经与疑似能够治疗肾毒性的候选物质接触; 和

(b)将步骤(a)中确定的量与参考比较,由此鉴定能够治疗肾毒性的物质。

22. 权利要求20或21的用途,其中所述参考源自(i)遭遇肾毒性的受试者或受试者组或(ii)已经与选自以下的至少一种化合物接触的受试者或受试者组:两性霉素B、 β -紫罗酮、咖啡因、卡托普利、卡铂、环孢菌素A、高2,4-滴丙酸、安乃近、乙苯、呋塞米、六氯丁二烯、氢醌、赖诺普利、石胆酸、MCPA、高2-甲-4-氯丙酸、青霉胺、五氯酚、丙磺舒、雷米普利、可可碱、茶碱、妥布霉素s.c.、和磷酸三甲苯酯、1,1,2,2-四氯乙烷、2,2,4-三甲基戊烷、D-苧烯和萘烷。

23. 权利要求22的用途,其中测试样品中生物标志物与参考的不同的量指示能够治疗肾毒性的物质。

24. 权利要求20或21的用途,其中所述参考源自(i)已知未遭遇肾毒性的受试者或受试者组或(ii)尚未与选自以下的至少一种化合物接触的受试者或受试者组:两性霉素B、 β -紫罗酮、咖啡因、卡托普利、卡铂、环孢菌素A、高2,4-滴丙酸、安乃近、乙苯、呋塞米、六氯丁二烯、氢醌、赖诺普利、石胆酸、MCPA、高2-甲-4-氯丙酸、青霉胺、五氯酚、丙磺舒、雷米普利、可可碱、茶碱、妥布霉素s.c.、磷酸三甲苯酯、1,1,2,2-四氯乙烷、2,2,4-三甲基戊烷、D-苧烯和萘烷。

25. 权利要求24的用途,其中测试样品中生物标志物与参考的基本上相同的量指示能够治疗肾毒性的物质。

26. 权利要求20或21的用途,其中所述参考是针对受试者群体中生物标志物的经计算的参考。

27. 权利要求26的用途,其中测试样品中生物标志物与参考的基本上相同的量指示能够治疗肾毒性的物质。

28. 一种用于诊断疑似遭遇肾毒性的受试者的样品中肾毒性的装置,包含:

(a)分析单元,其包含针对反油酸的检测剂,所述分析单元允许确定样品中存在的所述反油酸的量;和与所述分析单元有效连接的,

(b)包含存储的参考和数据处理器的评价单元,所述评价单元允许相对于存储的参考,比较由分析单元确定的所述反油酸的量,由此诊断肾毒性。

29. 权利要求28的用于诊断疑似遭遇肾毒性的受试者的样品中肾毒性的装置,其包含:

(a)分析单元,其包含针对反油酸和针对选自表1a、1b、1c、1d、2a、2b、2c、2d、3a、3b、3c、3d、4a、4b、4c、4d、5a、5b、6a、6b、7a、7b、8a、8b、11a或11b中任一表的至少一种其他生物标志物的检测剂,所述分析单元允许确定样品中存在的反油酸和所述至少一种其他生物标志物的量;和与所述分析单元有效连接的,

(b)包含存储的参考和数据处理器的评价单元,所述评价单元允许相对于存储的参考,比较由分析单元确定的反油酸和所述至少一种其他生物标志物的量,由此诊断肾毒性。

30. 权利要求28或29的装置,其中所述存储的参考是源自已知遭遇肾毒性的受试者或受试者组或已经与选自以下的至少一种化合物接触的受试者或受试者组的参考:两性霉素B、 β -紫罗酮、咖啡因、卡托普利、卡铂、环孢菌素A、高2,4-滴丙酸、安乃近、乙苯、呋塞米、六氯丁二烯、氢醌、赖诺普利、石胆酸、MCPA、高2-甲-4-氯丙酸、青霉胺、五氯酚、丙磺舒、雷米普利、可可碱、茶碱、妥布霉素s.c.、磷酸三甲苯酯、1,1,2,2-四氯乙烷、2,2,4-三甲基戊烷、D-苧烯和萘烷,并且所述数据处理器执行指令以相对于存储的参考,比较由分析单元确定

的至少一种生物标志物的量,其中测试样品中至少一种生物标志物与参考相比基本上相同的量指示存在肾毒性或其中测试样品中至少一种生物标志物与参考相比不同的量指示不存在肾毒性。

31. 权利要求28或29的装置,其中所述存储的参考是源自已知未遭遇肾毒性的受试者或受试者组或尚未与选自以下的至少一种化合物接触的受试者或受试者组的参考:两性霉素B、 β -紫罗酮、咖啡因、卡托普利、卡铂、环孢菌素A、高2,4-滴丙酸、安乃近、乙苯、呋塞米、六氯丁二烯、氢醌、赖诺普利、石胆酸、MCPA、高2-甲-4-氯丙酸、青霉胺、五氯酚、丙磺舒、雷米普利、可可碱、茶碱、妥布霉素s.c.、磷酸三甲苯酯、1,1,2,2-四氯乙烷、2,2,4-三甲基戊烷、D-苧烯和萘烷,并且所述数据处理器执行指令以相对于存储的参考,比较由分析单元确定的至少一种生物标志物的量,其中测试样品中至少一种生物标志物与参考相比不同的量指示存在肾毒性或其中测试样品中至少一种生物标志物与参考相比基本上相同的量指示不存在肾毒性。

32. 一种用于诊断肾毒性的试剂盒,包含针对反油酸的检测剂和针对反油酸的标准物,所述标准物的浓度源自(i)已知遭遇肾毒性的受试者或受试者组或已经与选自以下的至少一种化合物接触的受试者或受试者组:两性霉素B、 β -紫罗酮、咖啡因、卡托普利、卡铂、环孢菌素A、高2,4-滴丙酸、安乃近、乙苯、呋塞米、六氯丁二烯、氢醌、赖诺普利、石胆酸、MCPA、高2-甲-4-氯丙酸、青霉胺、五氯酚、丙磺舒、雷米普利、可可碱、茶碱、妥布霉素s.c.、磷酸三甲苯酯、1,1,2,2-四氯乙烷、2,2,4-三甲基戊烷、D-苧烯和萘烷;或源自(ii)已知未遭遇肾毒性的受试者或受试者组或尚未与选自以下的至少一种化合物接触的受试者或受试者组:两性霉素B、 β -紫罗酮、咖啡因、卡托普利、卡铂、环孢菌素A、高2,4-滴丙酸、安乃近、乙苯、呋塞米、六氯丁二烯、氢醌、赖诺普利、石胆酸、MCPA、高2-甲-4-氯丙酸、青霉胺、五氯酚、丙磺舒、雷米普利、可可碱、茶碱、妥布霉素s.c.、磷酸三甲苯酯、1,1,2,2-四氯乙烷、2,2,4-三甲基戊烷、D-苧烯和萘烷。

33. 权利要求32的用于诊断肾毒性的试剂盒,包含针对反油酸和针对选自表1a、1b、1c、1d、2a、2b、2c、2d、3a、3b、3c、3d、4a、4b、4c、4d、5a、5b、6a、6b、7a、7b、8a、8b、11a或11b中任一表的至少一种其他生物标志物的检测剂和针对反油酸和针对所述至少一种其他生物标志物的标准物,所述标准物的浓度源自(i)已知遭遇肾毒性的受试者或受试者组或已经与选自以下的至少一种化合物接触的受试者或受试者组:两性霉素B、 β -紫罗酮、咖啡因、卡托普利、卡铂、环孢菌素A、高2,4-滴丙酸、安乃近、乙苯、呋塞米、六氯丁二烯、氢醌、赖诺普利、石胆酸、MCPA、高2-甲-4-氯丙酸、青霉胺、五氯酚、丙磺舒、雷米普利、可可碱、茶碱、妥布霉素s.c.、磷酸三甲苯酯、1,1,2,2-四氯乙烷、2,2,4-三甲基戊烷、D-苧烯和萘烷;或源自(ii)已知未遭遇肾毒性的受试者或受试者组或尚未与选自以下的至少一种化合物接触的受试者或受试者组:两性霉素B、 β -紫罗酮、咖啡因、卡托普利、卡铂、环孢菌素A、高2,4-滴丙酸、安乃近、乙苯、呋塞米、六氯丁二烯、氢醌、赖诺普利、石胆酸、MCPA、高2-甲-4-氯丙酸、青霉胺、五氯酚、丙磺舒、雷米普利、可可碱、茶碱、妥布霉素s.c.、磷酸三甲苯酯、1,1,2,2-四氯乙烷、2,2,4-三甲基戊烷、D-苧烯和萘烷。

用于评估肾毒性的手段和方法

[0001] 发明描述

[0002] 本发明涉及用于肾毒性的诊断法和化学化合物风险分级的毒理学评估领域。具体而言,它涉及用于诊断肾毒性的方法。它还涉及一种用于确定化合物是否能够在受试者中诱导这种肾毒性的方法并涉及一种鉴定用于治疗肾毒性的药物的方法。另外,本发明涉及用于诊断肾毒性的装置和试剂盒。

[0003] 肾是具有几种功能的成对器官并且具有三个主要解剖区域:皮质、髓质和乳头。肾皮质是肾的最外区域并且含有肾小球、近端和远端肾小管和管周毛细血管。皮质血流量高,皮质接受大约90%的肾血流量。由于血源性毒物将偏好地递送至皮质,故而它们更可能影响皮质功能,而非髓质或乳头的那些功能。肾髓质是中间部分并且主要含有亨勒袢、直小血管和集合管。虽然髓质仅接受约6%的肾血流量,但是它可能暴露于管状结构内部高浓度的毒物。乳头是肾的最小解剖部分并且仅接受约1%的肾血流量。然而,因为小管液最大程度地浓缩并管腔液最大程度地减少,所以乳头中潜在毒物的浓度可能极高,导致在乳头小管细胞和/或间质细胞中的细胞损伤。肾单位是肾的功能单位。肾系统的主要功能是消除从内源代谢或从生物异源物质代谢衍生的废物。肾还在调节身体稳态、调节细胞外液容量和电解质平衡中发挥重要作用。肾的其他功能包括合成影响代谢的激素。肾素,一种参与血管紧张素和醛固酮形成的激素,在肾中形成,几种前列腺素也在肾中形成。

[0004] 几种因素涉及肾对许多种毒物的敏感性,不过高肾血流量和从小管液重吸收水后分泌产物的增加浓度明显具有主要的重要性。肾构成小于1%的身体质量,但是它们接受大约25%的心输出量。因而,显著量的外源化学品和/或它们的代谢物递送至肾。影响肾对化学品敏感性的第二个重要因素是其浓缩小管液并因此浓缩它含有的任何化学品的能力。肾小管的运输特征还有助于递送潜在有毒浓度的化学品至细胞。如果一种化学品从血液主动分泌至小管液,则它将起初积累于近端肾小管的细胞内,或,如果它从小管液重吸收,则它将以相对高的浓度进入细胞。化学品向反应性并且因此潜在有毒的代谢物的生物转化是肾毒性的关键特征。肝脏中存在的许多相同活化反应也存在于肾中,并且许多毒物可以在这两种器官任一者中活化,包括醋氨酚、溴代苯、氯仿和四氯化碳,因此具有肝毒性或肾毒性的潜力。肾的一些区域具有高水平的生物异源物质代谢酶类,特别是近端肾小管直部(一个特别易遭化学损伤的区域)中的细胞色素P450。由于反应性代谢物通常不稳定,并且因此或多或少暂时地,它们可能与靠近生成部位的细胞大分子组分相互作用。因此,虽然活化酶如细胞色素P450的活性在肾中比肝脏中低,但是它们在肾毒性方面比肝脏的那些酶更重要性,原因在于它们靠近作用部位。与其他器官中的毒性一样,毒性终点的最终表现是反应性代谢物的产生与它们脱毒作用之间平衡的结果。肾毒物的其他例子包括重金属。已知某些抗生素具有肾毒性,最值得注意的是氨基糖甙类。

[0005] 肾代表经常受生物异源物质影响的器官,原因在于其独特的功能和结构组织形式以及其在控制身体稳态和消除生物异源物质中的作用。肾毒性,也称作肾毒性,是指化学引起或驱动的肾损伤。归因于肾毒素的可能作用的多样性,评估肾毒性是相当复杂的过程。当前方法通常包括临床研究(例如超声检查),病理和组织病理研究以及生物化学分析。然而,

这类参数受到相当复杂地调节并且参数变化有时可以甚至在相当进展的阶段出现。组织病理评估的主要缺点是,它们具有侵入性,并且甚至与临床病理测量组合时,它们较不可靠,因为它们部分地基于实施研究的毒理学家的个人解释。另外,因肾毒素引起的肾毒性所致的前述疾病和病症可能几乎无法通过当前临床测量与所述疾病或病症的其他病因区分(见,例如,Cohen AH(2006)Renal anatomy and basic concepts and methods in renal pathology,3-17,引自;Fogo AB,Cohen AH,Jennette JC,Bruijn JA,Colvin RB(编著)Fundamentals of renal pathology,Springer,New York,NY,USA;Greaves P(1998)The urinary system,89-125,引自:Target organ pathology,a basic text,Turton J和Hooson J(编著)Taylor&Francis,London,United Kingdom,1998;Hodgson E,Levi PE(2004)第15章Nephrotoxicity,273-278,引自:A textbook of modern toxicology,第3版(Hodgson编著),Wiley-VCH Verlag GmbH,Weinheim Germany;Lemley KV,Kriz W(1991)Kidney Internat.39:370-381;Molema G,Meijer DKF(2001编著)Drug Targeting Organ-Specific Strategies,第5章,121-156,Wiley-VCH Verlag GmbH,Weinheim Germany;Verlander J(1998),Toxicol.Pathol.26:1-17)。

[0006] 如果考虑到肾毒性迄今为止是药物退出市场的最常见原因之一,则肾毒性的重要性可以是显而易见的。而且,例如,在欧洲共同体的任何种类产业中使用的化学化合物现在将需要符合REACH(化学品注册、评估和许可)。应当理解化学化合物诱导肾毒性的潜力将视为化合物的高风险,并且因此,化合物将仅对有限的应用并且在遵守高安全标准时可用。

[0007] 以高效及可靠方式评估化学化合物的毒理学特性和特别是评估肾毒性的敏感及特异性方法仍不可获得,但是将是高度期待的。

[0008] 因此,本发明的技术问题可以视为提供用于符合前述需求的手段和方法。这个技术问题通过权利要求中表征及下文描述的实施方案来解决。

[0009] 因此,本发明涉及一种用于诊断肾毒性的方法,所述方法包括:

[0010] (a)确定疑似遭遇肾毒性的受试者的测试样品中选自表1a、1b、1c、1d、2a、2b、2c、2d、3a、3b、3c、3d、4a、4b、4c、4d、5a、5b、6a、6b、7a、7b、8a、8b、11a或11b中任一表的至少一种生物标志物的量,和

[0011] (b)将步骤(a)中确定的量与参考比较,由此诊断肾毒性。

[0012] 在前述方法的一个优选实施方案中,所述受试者已经与疑似能够诱导肾毒性的化合物接触。

[0013] 本发明还涉及一种确定化合物是否能够在受试者中诱导肾毒性的方法,所述方法包括:

[0014] (a)确定已经与疑似能够诱导肾毒性的化合物接触的受试者的样品中选自表1a、1b、1c、1d、2a、2b、2c、2d、3a、3b、3c、3d、4a、4b、4c、4d、5a、5b、6a、6b、7a、7b、8a、8b、11a或11b中任一表的至少一种生物标志物的量,和

[0015] (b)将步骤(a)中确定的量与参考比较,由此确定化合物诱导肾毒性的能力。

[0016] 在前述方法的一个优选实施方案中,所述化合物是选自以下的至少一种化合物:两性霉素B(Amphotericin B)、 β -紫罗酮(β -ionone)、咖啡因(Caffeine)、卡托普利(Captopril)、卡铂(Carboplatin)、环孢菌素A、高2,4-滴丙酸(Dichlorprop-p)、安乃近(Dipyrone)、乙苯、呋塞米(Furosemide)、六氯丁二烯、氢醌、赖诺普利(Lisinopril)、石胆

酸、MCPA、高2-甲-4-氯丙酸(Mecoprop-p)、青霉胺(Penicillamine)、五氯酚(Pentachlorophenol)、丙磺舒(Probenecid)、雷米普利(Ramipril)、可可碱、茶碱、妥布霉素s.c.(Tobramycin s.c.)、磷酸三甲苯酯、1,1,2,2-四氯乙烷、2,2,4-三甲基戊烷、D-苧烯和萘烷。

[0017] 在本发明方法的另一个优选实施方案中,所述参考源自(i)遭遇肾毒性的受试者或受试者组或(ii)已经与选自以下的至少一种化合物接触的受试者或受试者组:两性霉素B、 β -紫罗酮、咖啡因、卡托普利、卡铂、环孢菌素A、高2,4-滴丙酸、安乃近、乙苯、呋塞米、六氯丁二烯、氢醌、赖诺普利、石胆酸、MCPA、高2-甲-4-氯丙酸、青霉胺、五氯酚、丙磺舒、雷米普利、可可碱、茶碱、妥布霉素s.c.、磷酸三甲苯酯、1,1,2,2-四氯乙烷、2,2,4-三甲基戊烷、D-苧烯和萘烷。在所述方法的一个更优选的实施方案中,测试样品中生物标志物与参考的基本上相同的量指示肾毒性。

[0018] 在本发明方法的另一个优选实施方案中,所述参考源自(i)已知未遭遇肾毒性的受试者或受试者组或(ii)尚未与选自以下的至少一种化合物接触的受试者或受试者组:两性霉素B、 β -紫罗酮、咖啡因、卡托普利、卡铂、环孢菌素A、高2,4-滴丙酸、安乃近、乙苯、呋塞米、六氯丁二烯、氢醌、赖诺普利、石胆酸、MCPA、高2-甲-4-氯丙酸、青霉胺、五氯酚、丙磺舒、雷米普利、可可碱、茶碱、妥布霉素s.c.、磷酸三甲苯酯、1,1,2,2-四氯乙烷、2,2,4-三甲基戊烷、D-苧烯和萘烷。在所述方法的一个更优选实施方案中,生物标志物的在测试样品中与参考相比不同的量指示肾毒性。

[0019] 在本发明方法的又一个实施方案中,所述参考是针对受试者群体中生物标志物的经计算的参考。在所述方法的一个更优选实施方案中,生物标志物的在测试样品中与参考相比不同的量指示肾毒性。

[0020] 本发明还构思了一种鉴定用于治疗肾毒性的物质的方法,所述方法包括步骤:

[0021] (a)确定遭遇肾毒性的受试者的样品中选自表1a、1b、1c、1d、2a、2b、2c、2d、3a、3b、3c、3d、4a、4b、4c、4d、5a、5b、6a、6b、7a、7b、8a、8b、11a或11b中任一表的至少一种生物标志物的量,所述受试者已经与疑似能够治疗肾毒性的候选物质接触;和

[0022] (b)将步骤(a)中确定的量与参考比较,由此鉴定能够治疗肾毒性的物质。

[0023] 在前述方法的一个优选实施方案中,所述参考源自(i)遭遇肾毒性的受试者或受试者组或(ii)已经与选自以下的至少一种化合物接触的受试者或受试者组:两性霉素B、 β -紫罗酮、咖啡因、卡托普利、卡铂、环孢菌素A、高2,4-滴丙酸、安乃近、乙苯、呋塞米、六氯丁二烯、氢醌、赖诺普利、石胆酸、MCPA、高2-甲-4-氯丙酸、青霉胺、五氯酚、丙磺舒、雷米普利、可可碱、茶碱、妥布霉素s.c.、磷酸三甲苯酯、1,1,2,2-四氯乙烷、2,2,4-三甲基戊烷、D-苧烯和萘烷。在所述方法的一个更优选实施方案中,测试样品中生物标志物与参考的不同的量指示能够治疗肾毒性的物质。

[0024] 在前述方法的另一个优选实施方案中,所述参考源自(i)已知未遭遇肾毒性的受试者或受试者组或(ii)尚未与选自以下的至少一种化合物接触的受试者或受试者组:两性霉素B、 β -紫罗酮、咖啡因、卡托普利、卡铂、环孢菌素A、高2,4-滴丙酸、安乃近、乙苯、呋塞米、六氯丁二烯、氢醌、赖诺普利、石胆酸、MCPA、高2-甲-4-氯丙酸、青霉胺、五氯酚、丙磺舒、雷米普利、可可碱、茶碱、妥布霉素s.c.、磷酸三甲苯酯、1,1,2,2-四氯乙烷、2,2,4-三甲基戊烷、D-苧烯和萘烷。在所述方法的一个更优选实施方案中,测试样品中生物标志物与参考

的基本上相同的量指示能够治疗肾毒性的物质。

[0025] 在前述方法的又一个优选的实施方案中,所述参考是针对受试者群体中生物标志物的经计算的参考。在所述方法的一个更优选实施方案中,测试样品中生物标志物与参考的基本上相同的量指示能够治疗肾毒性的物质。

[0026] 本发明还涉及选自表1a、1b、1c、1d、2a、2b、2c、2d、3a、3b、3c、3d、4a、4b、4c、4d、5a、5b、6a、6b、7a、7b、8a、8b、11a或11b中任一表的至少一种生物标志物或针对所述生物标志物的检测剂用于诊断受试者样品中肾毒性的用途。

[0027] 另外,本发明涉及一种用于诊断疑似遭遇肾毒性的受试者的样品中肾毒性的装置,所述装置包含:

[0028] (a)分析单元,其包含针对选自表1a、1b、1c、1d、2a、2b、2c、2d、3a、3b、3c、3d、4a、4b、4c、4d、5a、5b、6a、6b、7a、7b、8a、8b、11a或11b中任一表的至少一种生物标志物的检测剂,所述分析单元允许确定样品中存在的所述生物标志物的量;和与所述分析单元有效连接的,

[0029] (b)包含存储的参考和数据处理器的评价单元,所述评价单元允许相对于存储的参考,比较由分析单元确定的所述至少一种生物标志物的量,由此诊断肾毒性。

[0030] 在本发明装置的一个优选实施方案中,所述存储的参考是源自己知遭遇肾毒性的受试者或受试者组或已经与选自以下的至少一种化合物接触的受试者或受试者组的参考:两性霉素B、 β -紫罗酮、咖啡因、卡托普利、卡铂、环孢菌素A、高2,4-滴丙酸、安乃近、乙苯、呋塞米、六氯丁二烯、氢醌、赖诺普利、石胆酸、MCPA、高2-甲-4-氯丙酸、青霉胺、五氯酚、丙磺舒、雷米普利、可可碱、茶碱、妥布霉素s.c.、磷酸三甲苯酯、1,1,2,2-四氯乙烷、2,2,4-三甲基戊烷、D-苧烯和萘烷,并且所述数据处理器执行指令以相对于存储的参考,比较由分析单元确定的至少一种生物标志物的量,其中测试样品中至少一种生物标志物与参考相比基本上相同的量指示存在肾毒性或其中测试样品中至少一种生物标志物与参考相比不同的量指示不存在肾毒性。

[0031] 在本发明装置的另一个优选实施方案中,所述存储的参考是源自己知未遭遇肾毒性的受试者或受试者组或尚未与选自以下的至少一种化合物接触的受试者或受试者组的参考:两性霉素B、 β -紫罗酮、咖啡因、卡托普利、卡铂、环孢菌素A、高2,4-滴丙酸、安乃近、乙苯、呋塞米、六氯丁二烯、氢醌、赖诺普利、石胆酸、MCPA、高2-甲-4-氯丙酸、青霉胺、五氯酚、丙磺舒、雷米普利、可可碱、茶碱、妥布霉素s.c.、磷酸三甲苯酯、1,1,2,2-四氯乙烷、2,2,4-三甲基戊烷、D-苧烯和萘烷,并且所述数据处理器执行指令以相对于存储的参考,比较由分析单元确定的至少一种生物标志物的量,其中测试样品中至少一种生物标志物与参考相比不同的量指示存在肾毒性或其中测试样品中至少一种生物标志物与参考相比基本上相同的量指示不存在肾毒性。

[0032] 另外,本发明涉及一种用于诊断肾毒性的试剂盒,所述试剂盒包含针对选自表1a、1b、1c、1d、2a、2b、2c、2d、3a、3b、3c、3d、4a、4b、4c、4d、5a、5b、6a、6b、7a、7b、8a、8b、11a或11b中任一表的至少一种生物标志物的检测剂和针对至少一种生物标志物的标准物,所述标准物的浓度是源自己知遭遇肾毒性的受试者或受试者组或源自己知未遭遇肾毒性的受试者或受试者组。

[0033] 具体而言,本发明还构思了以下具体方法、用途、装置和试剂盒。

[0034] 以下定义和解释在已作必要修正的情况下适用于本发明的先前全部实施方案以及下文中描述的实施方案。

[0035] 根据本发明提到的方法可以基本上由前述步骤组成或可以包括其他步骤。其他步骤可以涉及样品预处理或评价通过所述方法获得的诊断结果。本文中他处描述优选的其他评价步骤。这些方法可以部分地或完全由自动化辅助。例如,涉及确定生物标志物的量的步骤可以由机器人和自动化读数装置自动化。同样地,涉及比较数量的步骤可以由合适的数据处理装置(如计算机)自动化,所述数据处理装置包含当执行时自动实施该比较的程序代码。这种情况下的参考将从从存储的参考(例如,从数据库)提供。应当理解该方法优选地是对受试者样品离体(ex vivo)实施,即不对人体或动物体实施的方法。

[0036] 如本文所用,术语“诊断”指评估概率,其中根据所述概率,受试者正在遭遇某种病状,如中毒,(本文中称作疾病或病症)或具有遭遇这种病状的素质。对素质的诊断有时可以称作预后或预测受试者未来将在预定时间窗内形成该病状的可能性。如本领域技术人员将理解,这种评估尽管优选是对100%待诊断的受试者正确,但通常可能不是对100%待诊断的受试者正确。然而,该术语要求可以将统计显著部分的受试者鉴定为遭受该病状或具有易遭受该病状的素质。某个部分是否为统计显著可以在不另外费力的情况下由本领域技术人员使用使用各种熟知的统计评价工具(例如,置信区间确定、p-值测定、Student t-检验、Mann-Whitney检验等)确定。能在Dowdy和Wearden, Statistics for Research, John Wiley&Sons, New York 1983中找到详细内容。优选的置信区间是至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少95%。p-值是优选地0.2、0.1、0.05。

[0037] 本发明的诊断还包括对病状或其症状以及其素质的监测、证实和分类。监测是指持续追踪已经诊断的病状或素质。监测例如涵盖确定该病状或素质的进展、确定特定治疗对病状进展的影响或预防性措施如预防性治疗或膳食对具有疾病素质的受试者中病状之形成的影响。证实涉及增强或证明对已经使用其他指示物或标志物确定的病状或该病状素质的诊断。分类涉及(i)将病状划分成不同类别,例如,对应于伴随病状的症状的强度,或(ii)区分伴随病状的不同阶段、疾病或病症。病状的素质可以基于风险程度(即受试者稍后将形成该病状的概率)分类。另外,分类还优选地包括将作用模式分配给待通过本发明方法测试的化合物。具体而言,本发明的方法允许确定化合物的具体作用模式,对于所述化合物而言,这种作用模式尚未已知。这优选地通过以下方式实现:将针对代表所述化合物的至少一种生物标志物或生物标志物谱确定的量与针对作用模式已知的称作参考的化合物所确定的生物标志物或生物标志物谱的量比较。因为确定了化合物的分子靶,所以作用模式的分类允许甚至更可靠地评估该化合物的毒性。

[0038] 如本文所用的术语“肾毒性”涉及导致肾功能受损、尤其肾小管或肾小球功能受损的任何肾损伤或损害。优选地,肾的排泄相关功能受肾毒性影响。优选地,如本文所用的肾毒性由施用化学化合物或药物引起或是施用化学化合物或药物的结果,即所谓毒素引起的肾毒性。更优选地,肾毒性伴有受损的肾小管功能。具体而言,近端肾小管受影响。最优选地,位于近端肾小管直部中的P450脱毒酶的功能将受如本文提到的肾毒化合物影响。

[0039] 肾毒性的前述表现的症状和临床体征是本领域技术人员熟知的并且在标准毒理学书籍,例如, H. Marquardt, S. G. **Schäfer**, R. O. McClellan, F. Welsch(编著), “Toxicology”, 第14章: The Kidney, 第297-330页, 1999, Academic Press, London. 第13章:

The Liver, 1999, Academic Press, London 中描述。

[0040] 肾毒性的优选方面涉及受损的多尿、肾小球-肾小管缺陷、肾小管缺陷、受损的弱酸排泄、肾小管坏死、ACE抑制剂诱导样缺陷如肾损害或肾衰竭、间质性肾炎、 α 2u球蛋白-肾病和/或直接肾小管缺陷。

[0041] 优选地被确定以便诊断受损的多尿作为肾毒性的一个方面的生物标志物是表1a、1b、1c和1d中列出的那些。

[0042] 优选地被确定以便诊断肾小球-肾小管缺陷作为肾毒性的一个方面的生物标志物是表2a、2b、2c和2d中列出的那些。

[0043] 优选地被确定以便诊断肾小管缺陷作为肾毒性的一个方面的生物标志物是表3a、3b、3c和3d中列出的那些。

[0044] 优选地被确定以便诊断受损的弱酸排泄作为肾毒性的一个方面的生物标志物是表4a、4b、4c和4d中列出的那些。

[0045] 优选地被确定以便诊断肾小管坏死作为肾毒性的一个方面的生物标志物是表5a和5b中列出的那些。

[0046] 优选地被确定以便诊断ACE抑制剂诱导样缺陷作为肾毒性的一个方面的生物标志物是表6a和6b中列出的那些。

[0047] 优选地被确定以便诊断间质性肾炎作为肾毒性的一个方面的生物标志物是表7a和7b中列出的那些。

[0048] 优选地被确定以便诊断直接肾小管缺陷作为肾毒性的一个方面的生物标志物是表8a和8b中列出的那些。

[0049] 优选地被确定以便诊断 α 2u球蛋白-肾病作为肾毒性的一个方面的生物标志物是表11a和11b中列出的那些。

[0050] 根据本发明发现,表中所列的多于一种生物标志物的组合进一步增强诊断,因为每种生物标志物是用于诊断的明显统计独立的预测物。另外,肾毒性的特异性还显著地增加,因为抵消了来自其他组织对标志物丰度的影响。因而,如本文所用,术语“至少一种”优选地指至少2种、至少3种、至少4种、至少5种、至少6种、至少7种、至少8种、至少9种或至少10种在后续表的任一表中提到的生物标志物的组合。优选地,在任一表中提及的全部生物标志物均根据本发明方法组合地确定。

[0051] 因而,优选地,至少一种生物标志物是选自前述组的至少一种生物标志物,或至少一种生物标志物是由前述组的生物标志物组成的生物标志物组合或包含前述组的生物标志物的生物标志物组合。已经鉴定前述生物标志物和生物标志物组合作为具有特别高的诊断价值的关键生物标志物,如后续实施例中更详细地描述。

[0052] 另外,仍可以额外地确定其他生物标志物或临床参数,包括已知的代谢物、遗传突变、转录物和/或蛋白质数量或酶活性。可以根据本发明方法确定的这类额外的临床或生物化学参数是本领域熟知的。

[0053] 如本文所用,术语“生物标志物”指这样的化学化合物,其在样品中的存在或浓度指示病状(优选地,如本文提到的肾毒性)的存在或不存在或强度。该化学化合物优选地是代谢物或从其衍生的分析物。分析物是可以与生物中存在的实际代谢物相同的化学化合物。然而,该术语还包括这类代谢物的衍生物,所述衍生物内源地生成或在分离或样品预处理

理期间或因实施本发明方法而生成,例如,在纯化和/或确定步骤期间生成。在具体情况下,分析物还以化学特性如溶解度来表征。归因于所述特性,分析物可以在纯化和/或确定过程期间获得的极性脂质级分中出现。因而,化学特性并且优选地,溶解度,应当导致分析物在纯化和/或确定过程期间所获得的极性脂质级分中出现。因此,视作分析物在纯化和/或确定过程期间所获得的极性脂质级分中出现的所述化学特性和尤其溶解度应当进一步表征分析物并且辅助其鉴定。下文描述关于这些化学特性可以怎样确定并且视为在后续实施例中存在的细节内容。优选地,分析物以定性和定量方式代表代谢物并且因此自然而然允许得出以下结论:在受试者中或至少在所述受试者的测试样品中代谢物存在或不存在或代谢物的量。虽然生物标志物、分析物和代谢物在本文中以单数形式提到,但所述术语还包括复数形式的术语,即指相同分子种类的多个生物标志物、分析物或代谢物分子。另外,本发明的生物标志物并不必然地与一个分子种类相对应。相反,生物标志物可以包含化合物的立体异构体或对映异构体。另外,生物标志物也可以代表生物类别的异构分子的异构体的总和。所述异构体应当在一些情况下显示相同分析特征,并且因此是通过各种分析方法不可区分的,所述分析方法包括在下文描述的后续实施例中应用的那些。然而,异构体将共有至少相同的总式参数并且因此,在例如脂类的情况下,共有相同的链长度和脂肪酸和/或鞘碱部分中相同的双键数目。

[0054] 如本文所用,术语“测试样品”指待用于通过本发明方法诊断肾毒性的样品。优选地,所述测试样品是生物样品。来自生物来源的样品(即生物样品)通常包含多种代谢物。待用于本发明方法中的优选生物样品是来自体液、优选地血液、血浆、血清、唾液、胆汁、尿或脑脊液的样品,或(例如通过活组织检查)源自细胞、组织或器官、优选地源自肝脏的样品。更优选地,样品是血液、血浆或血清样品,最优选地,是血浆样品。生物样品源自如本文中他处所述的受试者。用于获得前述不同类型的生物样品的技术是本领域熟知的。例如,血液样品可以通过采血获得,而组织或器官样品将例如通过活组织检查获得。

[0055] 前述样品优选地在它们用于本发明的方法之前预处理。如下文更详细地描述,所述预处理可以包括为释放或分离化合物或除去过多材料或废物所需要的处理。合适的技术包括离心、提取、分级、超滤、蛋白质沉淀,随后实施化合物的过滤和纯化和/或富集。另外,实施其他预处理,目的是以适于化合物分析的形式或浓度提供化合物。例如,如果在本发明的方法中使用气相色谱偶联质谱法,则将需要在所述气相色谱之前衍生化该化合物。合适和必需的预处理取决于用于实施本发明方法的手段并且是本领域技术人员熟知的。如之前描述的预处理样品也由如根据本发明使用的术语“样品”包含。

[0056] 如本文所用的术语“受试者”指动物,优选地涉及哺乳动物如小鼠、大鼠、豚鼠、兔、仓鼠、猪、绵羊、犬、猫、马、猴或奶牛,并且还优选地涉及人。更优选地,受试者是啮齿类,并且最优选地是大鼠。可以采用本发明方法诊断的其他动物是鱼类、鸟类或爬行类。优选地,所述受试者接触于疑似能够诱导肾毒性的化合物或已经与之接触。已经与疑似诱导肾毒性的化合物接触的受试者可以例如是实验室动物,如在用于例如化合物毒性的筛选分析法中使用的大鼠。疑似已经与能够诱导肾毒性的化合物接触的受试者可以还是待诊断以选择合适治疗的受试者。优选地,如本文所用的能够诱导肾毒性的化合物是两性霉素B、 β -紫罗酮、咖啡因、卡托普利、卡铂、环孢菌素A、高2,4-滴丙酸、安乃近、乙苯、呋塞米、六氯丁二烯、氢醌、赖诺普利、石胆酸、MCPA、高2-甲-4-氯丙酸、青霉胺、五氯酚、丙磺舒、雷米普利、可可碱、

茶碱、妥布霉素s.c.、磷酸三甲苯酯、1,1,2,2-四氯乙烷、2,2,4-三甲基戊烷、D-苧烯和萘烷。

[0057] 优选地,如果受试者是雌性,则通过本发明方法待确定的至少一种生物标志物选自表1a、1b、2a、2b、3a、3b、4a、4b、5a或5b中的任一表。

[0058] 优选地,如果受试者是雄性,则通过本发明方法待确定的至少一种生物标志物选自表1c、1d、2c、2d、3c、3d、4c、4d、6a、6b、7a、7b、8a、8b、11a或11b中的任一表。

[0059] 优选地待确定以便诊断受损的多尿作为肾毒性的一个方面的优选生物标志物组或组合涵盖至少以下生物标志物或基本上由以下生物标志物组成:用于雌性受试者的18-羟-11-去氧皮质酮、肌酸酐、缬氨酸、反-4-羟脯氨酸和脯氨酸;以及用于雄性受试者的胆碱缩醛磷脂No02、鞘磷脂(d18:2,C16:0)、胆碱缩醛磷脂No03、苏氨酸和神经酰胺(d18:1,C24:1)。更优选地,相对于尚未与咖啡因、呋塞米、赖诺普利、可可碱或茶碱接触或未遭遇肾毒性的参考,前述生物标志物改变,如后续下表中所示。

[0060] 优选地待确定以便诊断肾小球-肾小管缺陷作为肾毒性的一个方面的优选生物标志物组或组合涵盖至少以下生物标志物或基本上由以下生物标志物组成:用于雌性受试者的肌酸、葡萄糖胺、甘露糖胺、反油酸(C18:反[9]1)和3-羟基吡啶硫酸酯;以及用于雄性受试者的苏糖酸、半胱氨酸、溶血磷脂酰胆碱(C18:2)、变肾上腺素和肌酸。更优选地,相对于尚未与卡托普利、环孢菌素A、青霉胺、或磷酸三甲苯酯接触或未遭遇肾毒性的参考,前述生物标志物改变,如后续下表中所示。

[0061] 优选地待确定以便诊断肾小管缺陷作为肾毒性的一个方面的优选生物标志物组或组合涵盖至少以下生物标志物或基本上由以下生物标志物组成:用于雌性受试者的肌酸、溶血磷脂酰胆碱(C18:1)、吡啶-3-乙酸、组氨酸和极性级分甘油;以及用于雄性受试者的假尿苷、牛磺酸、TAG(C18:1,C18:2)、尿囊素和犬尿喹啉酸。更优选地,相对于尚未与β-紫罗酮、卡铂或呋塞米、六氯丁二烯接触或未遭遇肾毒性的参考,前述生物标志物改变,如后续下表中所示。

[0062] 优选地待确定以便诊断受损的弱酸排泄作为肾毒性的一个方面的优选生物标志物组或组合涵盖至少以下生物标志物或基本上由以下生物标志物组成:用于雌性受试者的脯氨酸、溶血磷脂酰胆碱(C18:2)、吡啶-3-乳酸,γ-亚麻酸(C18:顺[6,9,12]3)和反-4-羟脯氨酸;以及用于雄性受试者的溶血磷脂酰胆碱(C18:0)、磷脂酰胆碱(C16:0,C20:5)、甲硫氨酸、吡啶-3-乳酸和神经酸(C24:顺[15]1)。更优选地,相对于尚未与高2,4-滴丙酸、MCPA、高2-甲-4-氯丙酸、五氯酚或丙磺舒接触或未遭遇肾毒性的参考,前述生物标志物改变,如后续下表中所示。

[0063] 优选地待确定以便诊断肾小管坏死作为肾毒性的一个方面的优选生物标志物组或组合涵盖至少以下生物标志物或基本上由以下生物标志物组成:用于雌性受试者的马尿酸、二十二碳六烯酸(C22:顺[4,7,10,13,16,19]6)、亮氨酸、二十二碳五烯酸(C22:顺[7,10,13,16,19]5)和乳酸酯。更优选地,相对于尚未与两性霉素B、六氯丁二烯或妥布霉素s.c.接触或未遭遇肾毒性的参考,前述生物标志物改变,如后续下表中所示。

[0064] 优选地待确定以便诊断ACE抑制剂诱导样缺陷作为肾毒性的一个方面的优选生物标志物组或组合涵盖至少以下生物标志物或基本上由以下生物标志物组成:用于雄性受试者的赖氨酸、甘氨酸、胞嘧啶、1,5-失水山梨醇和谷氨酸盐。更优选地,相对于尚未与赖诺普

利或雷米普利、可可碱、茶碱、妥布霉素s.c.或磷酸三甲苯酯接触或未遭遇肾毒性的参考,前述生物标志物改变,如后续下表中所示。

[0065] 优选地待确定以便诊断间质性肾炎作为肾毒性的一个方面的优选生物标志物组或组合涵盖至少以下生物标志物或基本上由以下生物标志物组成:用于雄性受试者的二十四烷酸(C24:0)、肌酸、丝氨酸、苏氨酸和二十烷酸(C20:0)。更优选地,相对于尚未与安乃近、乙苯或石胆酸接触或未遭遇肾毒性的参考,前述生物标志物改变,如后续下表中所示。

[0066] 优选地待确定以便诊断直接肾小管缺陷作为肾毒性的一个方面的优选生物标志物组或组合涵盖至少以下生物标志物或基本上由以下生物标志物组成:用于雄性受试者的溶血磷脂酰乙醇胺(C22:0)、亮氨酸、油酸(C18:顺[9]1)、TAG No02和极性级分甘油-3-磷酸。更优选地,相对于尚未与六氯丁二烯或氢醌接触或未遭遇肾毒性的参考,前述生物标志物改变,如后续下表中所示。

[0067] 如本文所用,术语“确定该量”指确定生物标志物(即代谢物或分析物)的至少一个特征性特征。本发明的特征性特征是表征生物标志物的物理和/或化学特性(包括生物化学特性)的特征。这类特性例如包括分子量、粘度、密度、电荷、自旋、光学活性、颜色、荧光、化学发光、元素组成、化学结构、与其他化合物反应的能力、在生物读出系统中激发反应的能力(例如,诱导报道基因)等。所述特性的值可以充当特征性特征并且可以通过本领域熟知的技术确定。另外,特征性特征可以通过标准操作(例如,数学计算如乘法、除法或对数演算)从生物标志物的物理和/或化学特性的值推导出的任何特征。最优选地,至少一个特征性特征允许确定和/或化学鉴定生物标志物及其量。因此,特征值,优选地,还包含信息,所述信息涉及推导出特征值的生物标志物的丰度。例如,生物标志物的特征值可以是质谱中的峰。这种峰含有生物标志物的特征信息,即 m/z (质/荷比)信息,以及与样品中所述生物标志物(即其量)的丰度相关的强度值。

[0068] 如之前讨论,根据本发明方法待确定的至少一种生物标志物可以优选地定量或半定量地确定。对于定量确定,将确定生物标志物的绝对量或精确量;或生物标志物的相对量将基于针对上文中提到的特征性特征所确定的值来确定。相对量可以在其中可以不确定或应当不确定生物标志物的精确量的情况下确定。在这种情况下,可以确定生物标志物存在的量是否相对于以第二量包含所述生物标志物的第二样品放大或削减。因此,定量分析生物标志物还包括有时所称的生物标志物半定量分析。

[0069] 另外,如在本发明方法中使用的确定优选地包括在先前所提到的分析步骤之前使用化合物分离步骤。优选地,所述化合物分离步骤导致由样品包含的至少一种生物标志物的时间分辨分离。因此,根据本发明优选待使用的合适分离技术包括全部色谱分离技术,如液相色谱(LC)、高效液相色谱(HPLC)、气相色谱(GC)、薄层层析、大小排阻或亲和层析。这些技术是本领域技术人员熟知的并且可以由本领域技术人员在不另外费力的情况下应用。最优选地,LC和/或GC是由本发明方法构思的色谱技术。用于这类生物标志物确定的合适装置是本领域熟知的。优选地,使用质谱法,特别是气相色谱质谱法(GC-MS),液相色谱质谱法(LC-MS)、直接注入质谱法或傅立叶变换离子回旋共振质谱法(FT-ICR-MS)、毛细管电泳质谱法(CE-MS)、高效液相色谱偶联质谱法(HPLC-MS)、四极质谱法、任何依次耦合质谱法,如MS-MS或MS-MS-MS、电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS)、热解质谱法(Py-MS)、离子迁移率质谱法或时间飞行质谱法(TOF)。最优选地,使用LC-MS和/或GC-MS,如下文详细描述。所述技

术在Nissen1995,Journal of Chromatography A,703:37-57、US4,540,884或US5,397,894中公开,所述文献的公开内容因而通过引用的方式并入作为参考。作为替代或除质谱技术之外,以下技术可以用于化合物确定:核磁共振(NMR)、磁共振成像(MRI)、傅立叶变换红外分析(FT-IR)、紫外(UV)光谱法、折射率(RI)、荧光检测、放射化学检测、电化学检测、光散射(LS),色散拉曼光谱法或火焰电离检测(FID)。这些技术是本领域技术人员熟知的并且可以在不另外费力的情况下应用。本发明的方法应当优选地由自动化辅助。例如,样品加工或预处理可以由机器人自动化。数据处理和比较优选地由合适的计算机程序和数据库辅助。如前文所述的自动化允许以高通量方案使用本发明的方法。

[0070] 另外,也可以通过特异性化学或生物测定法确定生物标志物。所述测定法应当包含允许特异性检测样品中生物标志物的手段。优选地,所述手段能够特异性识别生物标志物的化学结构或能够基于生物标志物与其他化合物反应的能力或它在生物读出系统中激发反应的能力(例如,诱导报道基因)特异性鉴定该生物标志物。能够特异性识别生物标志物的化学结构的手段优选地是与生物标志物特异性结合的检测剂,更优选地是与化学结构特异性相互作用的抗体或其他蛋白质,如受体或酶,或适配子。例如,可以使用生物标志物作为抗原,通过本领域熟知的方法获得特异性抗体。如本文提到的抗体包括多克隆和单克隆抗体,以及其能够结合抗原或半抗原的片段,如Fv、Fab和F(ab)₂片段。本发明还包括人源化杂合抗体,其中显示所需抗原特异性的非人类供体抗体的氨基酸序列与人类接纳体抗体的序列组合。另外,涵盖单链抗体。供体序列通常将至少包括供体的结合抗原的氨基酸残基,但是也可以包含供体抗体的结构上和/或功能上相关的其他氨基酸残基。可以通过本领域熟知的几种方法制备这类杂合体。能够特异性识别代谢物的合适蛋白质优选地是参与所述生物标志物的代谢转化的酶。所述酶可以利用生物标志物(例如,代谢物)作为底物或可以将底物转化成生物标志物,例如,代谢物。另外,所述抗体可以用作基础以产生特异性识别生物标志物的寡肽。这些寡肽应当例如包含针对所述生物标志物的酶结合结构域或袋。基于抗体和/或酶的合适测定法可以是RIA(放射免疫测定法)、ELISA(酶联免疫吸附测定法)、夹心酶免疫试验、电化学发光夹心免疫测定法(ECLIA)、解离增强镧系元素荧光免疫测定法(DELFIA)或固相免疫试验。与生物标志物特异性结合的适配子可以通过本领域熟知的方法产生(Ellington1990,Nature346:818-822;Vater2003,Curr Opin Drug Discov Devel6(2):253-261)。另外,也可以基于生物标志物与其他化合物反应的能力,即通过特定化学反应鉴定生物标志物。另外,可以基于生物标志物在生物读出系统中激发反应的能力而确定样品中的生物标志物。应当将生物学反应作为读数检出,所述读数表示由样品包含的代谢物的存在和/或其量。生物学反应可以例如是诱导细胞或生物的基因表达或表型反应。

[0071] 术语“参考”指至少一种生物标志物的特征性特征的值,并且优选地,指表示能与肾毒性相关的所述生物标志物的量的值。

[0072] 这类参考优选地从源自遭遇肾毒性的受试者或受试者组的样品中或从源自己已经与两性霉素B、 β -紫罗酮、咖啡因、卡托普利、卡铂、环孢菌素A、高2,4-滴丙酸、安乃近、乙苯、吠塞米、六氯丁二烯、氢醌、赖诺普利、石胆酸、MCPA、高2-甲-4-氯丙酸、青霉胺、五氯酚、丙磺舒、雷米普利、可可碱、茶碱、妥布霉素s.c.、磷酸三甲苯酯、1,1,2,2-四氯乙烷、2,2,4-三甲基戊烷、D-苧烯或萘烷接触的受试者或受试者组的样品中获得。受试者或受试者组可以

分别通过局部或全身施用模式与所述化合物接触,只要该化合物变得生物可利用即可。优选的施用模式在下文后续实施例中描述。

[0073] 备选地,但是却仍是优选地,参考可以从下述样品获得,所述样品源自尚未与两性霉素B、 β -紫罗酮、咖啡因、卡托普利、卡铂、环孢菌素A、高2,4-滴丙酸、安乃近、乙苯、呋塞米、六氯丁二烯、氢醌、赖诺普利、石胆酸、MCPA、高2-甲-4-氯丙酸、青霉胺、五氯酚、丙磺舒、雷米普利、可可碱、茶碱、妥布霉素s.c.、磷酸三甲苯酯、1,1,2,2-四氯乙烷、2,2,4-三甲基戊烷、D-苧烯或萘烷接触的受试者或受试者组或相对于肾毒性和更优选地也相对于其他疾病而言的健康受试者或这类受试者的组。

[0074] 可以如上文所述就生物标志物的量确定参考。具体而言,优选地通过以下方式从如本文提到的受试者组的样品获得参考:分别确定来自该组的每位个体的样品中至少一种生物标志物各自的相对量或绝对量并且随后确定所述相对量或绝对量或通过使用本文中他处所提到的统计技术从其中推导出的任何参数的中位数或平均值。备选地,参考可以优选地通过确定样品中至少一种生物标志物各自的相对量或绝对量来获得,所述样品来自如本文提到的受试者组的样品的混合物。这种混合物优选地由来自样品的等体积部分组成,其中所述样品从所述组的每位个体获得。

[0075] 另外,参考还优选地可以是经计算的参考,最优选地是源自个体群体的至少一种生物标志物各自的相对量或绝对量的平均值或中位值。所述个体群体是本发明方法待研究的受试者所来源的群体。然而,应当理解为确定经计算的参考而待研究的受试者群体优选地由表观健康的受试者(例如未治疗过)组成或包含许多位表观健康的受试者,所述受试者多到足以在统计上抵抗因所述群体中存在试验对象所致的显著平均数或中位数变化。可以如本文中他处所述那样确定该群体的所述个体的至少一种生物标志物的绝对量或相对量。如何计算合适的参考值,优选地,平均数或中位数,是本领域熟知的。用于计算合适参考的其他技术包括使用接收者操作特征(ROC)曲线算法优化,所述算法也是本领域熟知的并且可以基于给定的受试者组群在不另外费力的情况下,对具有给定特异性和灵敏度的分析系统实施计算。之前所指的受试者群体或组应当包含多位受试者,优选地,至少5、10、50、100、1,000或10,000位受试者至多达整个群体。更优选地,在这个情境下提到的受试者组是具有统计上代表给定群体的大小的受试者组,即统计代表性样品。应当理解通过本发明方法待诊断的受试者和所述多个受试者中的受试者具有相同的物种并且优选地具有相同的性别。

[0076] 更优选地,参考将存储于合适的数据存储介质如数据库中,并且因此还可用于未来的诊断。这还允许有效地诊断肾毒性素质,因为一旦(在未来)已经证实从中获得相应参考样品的受试者(确实)形成肾毒性,则可以在数据库中鉴定合适的参考结果。

[0077] 术语“比较”指评估至少一种生物标志物的定性或定量确定的量是否与参考相同或与参考不同。

[0078] 在参考结果从源自遭遇肾毒性的受试者或受试者组或已经与两性霉素B、 β -紫罗酮、咖啡因、卡托普利、卡铂、环孢菌素A、高2,4-滴丙酸、安乃近、乙苯、呋塞米、六氯丁二烯、氢醌、赖诺普利、石胆酸、MCPA、高2-甲-4-氯丙酸、青霉胺、五氯酚、丙磺舒、雷米普利、可可碱、茶碱、妥布霉素s.c.、磷酸三甲苯酯、1,1,2,2-四氯乙烷、2,2,4-三甲基戊烷、D-苧烯或萘烷接触的受试者或受试者组的样品获得的情况下,可以基于从测试样品获得的量和前述

参考之间相同或相似性的程度,即基于就至少一种生物标志物而言相同的定性或定量组成而诊断肾毒性。相同的量包括这些量,所述量并不以统计显著方式不同并且优选地至少处于参考的第1和第99百分位数、第5和第95百分位数,第10和第90百分位数,第20和第80百分位数、第30和第70百分位数、第40和第60百分位数之间、更优选地,参考的第50、第60、第70、第80、第90或第95百分位数之间的区间内部。从源自遭遇肾毒性的受试者或受试者组或已经与两性霉素B、 β -紫罗酮、咖啡因、卡托普利、卡铂、环孢菌素A、高2,4-滴丙酸、安乃近、乙苯、呋塞米、六氯丁二烯、氢醌、赖诺普利、石胆酸、MCPA、高2-甲-4-氯丙酸、青霉胺、五氯酚、丙磺舒、雷米普利、可可碱、茶碱、妥布霉素s.c.、磷酸三甲苯酯、1,1,2,2-四氯乙烷、2,2,4-三甲基戊烷、D-苧烯或萘烷接触的受试者或受试者组的样品所获得的参考可以在本发明的方法中应用,以便诊断肾毒性或用于确定化合物是否能够在受试者中诱导肾毒性。在这种情况下,优选地,至少一种生物标志物的与参考基本上相同的量将指示存在肾毒性或能够诱导肾毒性的化合物,而至少一种生物标志物的与参考不同的量将指示不存在肾毒性或不能够诱导肾毒性的化合物。

[0079] 另外,从源自遭遇肾毒性的受试者或受试者组或已经与两性霉素B、 β -紫罗酮、咖啡因、卡托普利、卡铂、环孢菌素A、高2,4-滴丙酸、安乃近、乙苯、呋塞米、六氯丁二烯、氢醌、赖诺普利、石胆酸、MCPA、高2-甲-4-氯丙酸、青霉胺、五氯酚、丙磺舒、雷米普利、可可碱、茶碱、妥布霉素s.c.、磷酸三甲苯酯、1,1,2,2-四氯乙烷、2,2,4-三甲基戊烷、D-苧烯或萘烷接触的受试者或受试者组的样品所获得的参考可以用于鉴定用于治疗肾毒性的物质。在这种情况下,优选地,至少一种生物标志物的与参考不同的量指示适于治疗肾毒性的物质,而至少一种生物标志物的与参考基本上相同的量将指示不能够治疗肾毒性的物质。

[0080] 在参考结果从源自尚未与两性霉素B、 β -紫罗酮、咖啡因、卡托普利、卡铂、环孢菌素A、高2,4-滴丙酸、安乃近、乙苯、呋塞米、六氯丁二烯、氢醌、赖诺普利、石胆酸、MCPA、高2-甲-4-氯丙酸、青霉胺、五氯酚、丙磺舒、雷米普利、可可碱、茶碱、妥布霉素s.c.、磷酸三甲苯酯、1,1,2,2-四氯乙烷、2,2,4-三甲基戊烷、D-苧烯或萘烷接触或未遭遇肾毒性的受试者或受试者组的样品获得的情况下,可以基于从测试样品获得的测试量和前述参考之间的差异,即就至少一种生物标志物而言定性或定量组成的差异而诊断所述肾毒性。

[0081] 如果使用如上所述的经计算的参考,则同样适用。

[0082] 差异可以是至少一种生物标志物的绝对量或相对量增加(有时称作生物标志物的上调;还见实施例)或所述量的减少或不存在可检测量的生物标志物(有时称作生物标志物的下调;还见实施例)。优选地,相对量或绝对量的差异是显著的,即处于参考的第45和第55百分位数、第40和第60百分位数、第30和第70百分位数、第20和第80百分位数、第10和第90百分位数、第5和第95百分位数、第1和第99百分位之间数之间的区间外部。

[0083] 从源自尚未与两性霉素B、 β -紫罗酮、咖啡因、卡托普利、卡铂、环孢菌素A、高2,4-滴丙酸、安乃近、乙苯、呋塞米、六氯丁二烯、氢醌、赖诺普利、石胆酸、MCPA、高2-甲-4-氯丙酸、青霉胺、五氯酚、丙磺舒、雷米普利、可可碱、茶碱、妥布霉素s.c.、磷酸三甲苯酯、1,1,2,2-四氯乙烷、2,2,4-三甲基戊烷、D-苧烯或萘烷接触或未遭遇肾毒性的受试者或受试者组的样品所获得的参考可以在本发明的方法中应用,以便诊断肾毒性或用于确定化合物是否能够在受试者中诱导肾毒性。在这种情况下,优选地,至少一种生物标志物的与参考不同的量将指示存在肾毒性或能够诱导肾毒性的化合物,而至少一种生物标志物的与参考基本上

相同的量将指示不存在肾毒性或不能够诱导肾毒性的化合物。另外,从源自尚未与两性霉素B、 β -紫罗酮、咖啡因、卡托普利、卡铂、环孢菌素A、高2,4-滴丙酸、安乃近、乙苯、呋塞米、六氯丁二烯、氢醌、赖诺普利、石胆酸、MCPA、高2-甲-4-氯丙酸、青霉胺、五氯酚、丙磺舒、雷米普利、可可碱、茶碱、妥布霉素s.c.、磷酸三甲苯酯、1,1,2,2-四氯乙烷、2,2,4-三甲基戊烷、D-苧烯或萘烷接触或未遭遇肾毒性的受试者或受试者组的样品所获得的参考可以用来鉴定用于治疗肾毒性的物质。在这种情况下,优选地,至少一种生物标志物的与参考基本上相同的量指示适于治疗肾毒性的物质,而至少一种生物标志物的与参考不同的量将指示不适于治疗肾毒性的物质。

[0084] 优选的参考是在后续表中提到的那些或可以在后续实施例后产生的那些。另外,相对差异,即各个生物标志物的量的增加或减少,优选地是下表中列举的那些。另外,优选地,观察到的差异(即增加或减少)的程度优选地是根据下表中所示因素的增加或减少。

[0085] 优选地,当选自表1a、1c、2a、2c、3a、3c、4a、4c、5a、6a、7a、8a或11a时,至少一种生物标志物相对于尚未与两性霉素B、 β -紫罗酮、咖啡因、卡托普利、卡铂、环孢菌素A、高2,4-滴丙酸、安乃近、乙苯、呋塞米、六氯丁二烯、氢醌、赖诺普利、石胆酸、MCPA、高2-甲-4-氯丙酸、青霉胺、五氯酚、丙磺舒、雷米普利、可可碱、茶碱、妥布霉素s.c.、磷酸三甲苯酯、1,1,2,2-四氯乙烷、2,2,4-三甲基戊烷、D-苧烯或萘烷接触或未遭遇肾毒性的参考和更优选地相对于下表所用的参考而言增加。

[0086] 优选地,当选自表1b、1d、2b、2d、3b、3d、4b、4d、5b、6b、7b、8b或11b时,至少一种生物标志物相对于尚未与两性霉素B、 β -紫罗酮、咖啡因、卡托普利、卡铂、环孢菌素A、高2,4-滴丙酸、安乃近、乙苯、呋塞米、六氯丁二烯、氢醌、赖诺普利、石胆酸、MCPA、高2-甲-4-氯丙酸、青霉胺、五氯酚、丙磺舒、雷米普利、可可碱、茶碱、妥布霉素s.c.、磷酸三甲苯酯、1,1,2,2-四氯乙烷、2,2,4-三甲基戊烷、D-苧烯或萘烷接触或未遭遇肾毒性的参考和更优选地相对于下表所用的参考而言减少。

[0087] 比较优选地由自动化辅助。例如,可以使用合适的计算机程序,所述计算机程序包含用于比较两个不同数据集(例如,包含特征性特征的值的的数据集)的算法。这类计算机程序和算法是本领域熟知的。不限于上文所述,也可以手工地实施比较。

[0088] 术语“用于治疗肾毒性的物质”指这样的化合物,所述化合物可以直接干扰引起在本说明书中其他地方提到的肾毒性的生物学机制。备选地,优选的化合物还可以干扰与肾毒性相关的症状的形成或进展。通过本发明方法待鉴定的物质可以是有机和无机化学品,如小分子、多核苷酸、包括siRNA、核酶或微RNA分子的寡核苷酸、肽、包括抗体的多肽或其他人工或生物聚合物,如适配子(aptamer)。优选地,该物质适合作为药物、前药或用于开发药物或前药的前导物质。

[0089] 应当理解如果本发明的方法待用于鉴定用于治疗肾毒性的药物或用于毒理学评估化合物(即确定化合物是否能够诱导肾毒性),则可以出于统计原因研究多位受试者的试样。优选地,这种试验对象组群内部的代谢组学应当尽可能地相似,以避免例如由除了待研究化合物之外的多种因素造成的差异。待用于所述方法的受试者优选地是实验室动物如啮齿类并且更优选地是大鼠。应当进一步理解所述实验室动物应当优选地在完成本发明的方法后处死。试验组群的全部受试者和参考动物应当在相同条件下维持以避免任何差异性环境影响。W02007/014825中详述了提供这类动物的合适条件和方法。所述条件在此通过引用

方式并入作为参考。

[0090] 本发明的方法可以优选地用本发明的装置实施。如本文所用的装置应当包括至少前述单元。该装置的单元彼此有效连接。怎样以运行方式连接单元将取决于包括于该装置中的单元的类型。例如,当在分析单元中应用自动定性或定量确定至少一种生物标志物的手段情况下,通过所述自动运行单元获得的数据可以由评价单元处理,例如,由作为数据处理器的计算机上运行的计算机程序处理以促进诊断。在这种情况下,优选地,所述单元由单一装置包含。然而,分析单元和评价单元也可以物理地分离。在这种情况下,有效连接可以借助单元之间允许数据传输的有线和无线连接实现。无线连接可以使用无线局域网(WLAN)或互联网。接线可以由单元之间的光缆连接和非光缆连接实现。用于有线连接的电缆优选地适于高通量数据传输。

[0091] 用于确定至少一种生物标志物的优选分析单元包括特异性识别如本文中他处所述的至少一种生物标志物的检测剂,如抗体、蛋白质或适配子,和使所述检测剂与待测试样品接触的区带。检测剂可以固定在用于接触的区带上或可以在已经加载样品后施加至所述区带。分析单元应当优选地适用于定性和/或定量确定检测剂和至少一种生物标志物的复合物的量。应当理解当检测剂与至少一种生物标志物结合时,至少一种生物标志物、检测剂或两者的至少一种可度量物理或化学特性将改变,从而可以通过检测器测量所述改变,优选地,所述检测器包含于分析单元中。然而,在使用分析单元如测试条的情况下,检测器和分析单元可以是仅为测量才置于一一起的分别的组件。基于至少一种可度量物理或化学特性的检测到的改变,分析单元可以计算如本文中他处所述的至少一种生物标志物的强度值。随后可以为进一步加工和评价将所述强度值传输至评价单元。最优选地,至少一种生物标志物的量可以基于使用如本文中他处所述的检测剂的技术,通过ELISA、EIA或RIA确定。备选地,如本文提到的分析单元优选地包括用于分离生物标志物的设备,如色谱设备,和用于确定生物标志物的设备,如光谱测定设备。上文已经详细描述了合适的设备。待用于本发明系统中的用于分离化合物的优选设备包括色谱设备,更优选地用于液相色谱、HPLC和/或气相色谱的设备。用于确定化合物的优选设备包括质谱设备,更优选地,GC-MS、LC-MS、直接注入质谱法、FT-ICR-MS、CE-MS、HPLC-MS、四极质谱法、依次耦合质谱法(包括MS-MS或MS-MS-MS)、ICP-MS、Py-MS或TOF。分离和确定设备优选地彼此偶联。最优选地,LC-MS和/或GC-MS用于根据本发明提到的分析单元中。

[0092] 本发明装置的评价单元优选地包括数据处理设备或计算机,其适应于执行用于实施如本文中他处所述的比较的规则。另外,评价单元优选地包括具有存储的参考的数据库。如本文所用的数据库包括在合适存储介质上的数据集合。另外,该数据库优选地还包含数据库管理系统。数据库管理系统优选地是基于网络、分层或面向对象的数据库管理系统。另外,数据库可以是联邦或综合数据库。更优选地,数据库将作为分布式(联邦)系统如作为客户-服务器-系统执行。更优选地,将数据库结构化以便允许检索算法将试验数据集与由数据集构成的数据集比较。具体而言,通过使用这种算法,可以就指示肾毒性的相似或相同数据集检索数据库(例如查询检索)。因而,如果可以在数据集合中鉴定到相同或相似的数据集,则试验数据集将与肾毒性相关。评价单元也可以优选地包括其他数据库或与之有效关联,所述其他数据库具有基于建立的肾毒性诊断对治疗性或预防性介入或改进生活方式的推荐。所述其他数据库可以优选地用通过评价单元所获得的诊断结果自动检索,以确定

对于已经从中获得测试样品的受试者合适的推荐,目的是治疗或预防肾毒性。

[0093] 在本发明装置的一个优选实施方案中,所述存储的参考是源自己知遭遇肾毒性的受试者或受试者组或已经与选自以下的至少一种化合物接触的受试者或受试者组的参考:两性霉素B、 β -紫罗酮、咖啡因、卡托普利、卡铂、环孢菌素A、高2,4-滴丙酸、安乃近、乙苯、呋塞米、六氯丁二烯、氢醌、赖诺普利、石胆酸、MCPA、高2-甲-4-氯丙酸、青霉胺、五氯酚、丙磺舒、雷米普利、可可碱、茶碱、妥布霉素s.c.、磷酸三甲苯酯、1,1,2,2-四氯乙烷、2,2,4-三甲基戊烷、D-苧烯和萘烷,并且所述数据处理器执行指令以相对于存储的参考,比较由分析单元确定的至少一种生物标志物的量,其中测试样品中至少一种生物标志物与参考相比基本上相同的量指示存在肾毒性或其中测试样品中至少一种生物标志物与参考相比不同的量指示不存在肾毒性。

[0094] 在本发明装置的另一个优选实施方案中,所述存储的参考是源自己知未遭遇肾毒性的受试者或受试者组或尚未与选自以下的至少一种化合物接触的受试者或受试者组的参考:两性霉素B、 β -紫罗酮、咖啡因、卡托普利、卡铂、环孢菌素A、高2,4-滴丙酸、安乃近、乙苯、呋塞米、六氯丁二烯、氢醌、赖诺普利、石胆酸、MCPA、高2-甲-4-氯丙酸、青霉胺、五氯酚、丙磺舒、雷米普利、可可碱、茶碱、妥布霉素s.c.、磷酸三甲苯酯、1,1,2,2-四氯乙烷、2,2,4-三甲基戊烷、D-苧烯和萘烷,并且所述数据处理器执行指令以相对于存储的参考,比较由分析单元确定的至少一种生物标志物的量,其中测试样品中至少一种生物标志物与参考相比不同的量指示存在肾毒性或其中测试样品中至少一种生物标志物与参考相比基本上相同的量指示不存在肾毒性。

[0095] 该装置因此也可以在没有专门医学知识的情况下由通过医疗或实验室工作人员或患者使用,尤其在包括作出推荐的专家系统时使用。该装置还适于贴近患者应用,因为该装置可以改造成便携样式。

[0096] 术语“试剂盒”指前述组分的集合,所述组分优选地分别或在单一容器中提供。该容器还包括用于实施本发明方法的说明书。这些说明书可以处于手册的形式或可以由在计算机或数据处理装置上执行时能够实施本发明方法中所提到的比较并且因此建立诊断的计算机程序代码提供。计算机程序代码可以在数据存储介质或设备如光或磁存储介质(例如,光盘(CD)、CD-ROM、硬盘、光储存介质或磁盘盒)上或直接在计算机或数据处理装置上提供。结合本发明试剂盒所提到的“标准”是当至少一种生物标志物在溶液中存在或在预定体积溶液中溶解时,至少一种生物标志物的与所述至少一种生物标志物的下述量相似的量,所述量存在于(i)已知遭遇肾毒性的受试者或受试者组或已经与选自两性霉素B、 β -紫罗酮、咖啡因、卡托普利、卡铂、环孢菌素A、高2,4-滴丙酸、安乃近、乙苯、呋塞米、六氯丁二烯、氢醌、赖诺普利、石胆酸、MCPA、高2-甲-4-氯丙酸、青霉胺、五氯酚、丙磺舒、雷米普利、可可碱、茶碱、妥布霉素s.c.、磷酸三甲苯酯、1,1,2,2-四氯乙烷、2,2,4-三甲基戊烷、D-苧烯和萘烷的至少一种化合物接触的受试者或受试者组中,或(ii)源自己知未遭受肾毒性的受试者或受试者组或尚未与选自两性霉素B、 β -紫罗酮、咖啡因、卡托普利、卡铂、环孢菌素A、高2,4-滴丙酸、安乃近、乙苯、呋塞米、六氯丁二烯、氢醌、赖诺普利、石胆酸、MCPA、高2-甲-4-氯丙酸、青霉胺、五氯酚、丙磺舒、雷米普利、可可碱、茶碱、妥布霉素s.c.、磷酸三甲苯酯、1,1,2,2-四氯乙烷、2,2,4-三甲基戊烷、D-苧烯和萘烷的至少一种化合物接触的受试者或受试者组。

[0097] 有利地,已经在作为本发明基础的研究中发现,如本文中指出的至少一种生物标志物的量允许诊断肾毒性,具体而言,由两性霉素B、 β -紫罗酮、咖啡因、卡托普利、卡铂、环孢菌素A、高2,4-滴丙酸、安乃近、乙苯、呋塞米、六氯丁二烯、氢醌、赖诺普利、石胆酸、MCPA、高2-甲-4-氯丙酸、青霉胺、五氯酚、丙磺舒、雷米普利、可可碱、茶碱、妥布霉素s.c.、磷酸三甲苯酯、1,1,2,2-四氯乙烷、2,2,4-三甲基戊烷、D-苧烯和萘烷引起的肾毒性。通过确定增加数目的或甚至全部的前述生物标志物,甚至将更多地改善该方法的特异性和准确度。代谢组学的定量和/或定性组成相对于这些特定生物标志物的变化在所述毒性的其他体征临床上出现之前就指示肾毒性。与本发明提供的生物标志物确定相比,目前用于诊断肾毒性的形态学、生理学以及生物化学参数较不特异性并且较不灵敏。归功于本发明,可以更有效地和可靠地评估化合物的肾毒性。另外,基于前述研究结果,可用于治疗肾毒性的药物筛选测试法是可行的。通常而言,本发明构思了受试者样品中选自表1a、1b、1c、1d、2a、2b、2c、2d、3a、3b、3c、3d、4a、4b、4c、4d、5a、5b、6a、6b、7a、7b、8a、8b、11a或11b中任一表的至少一种生物标志物或针对所述生物标志物的检测剂的用途,用于诊断肾毒性、用于确定化合物是否能够诱导肾毒性或用于鉴定能够治疗肾毒性的物质。另外,本发明总体上构思了受试者样品中至少一种生物标志物或针对该生物标志物的检测剂用于鉴定易响应肾毒性治疗的受试者的用途。在本发明的这种情境下待使用的优选检测剂是本文中他处所提到的那些。另外,本发明的方法可以有利地以装置实施。另外,可以提供允许实施所述方法的试剂盒。

[0098] 本发明还涉及数据集合,所述数据集合包含在表1a、1b、1c、1d、2a、2b、2c、2d、3a、3b、3c、3d、4a、4b、4c、4d、5a、5b、6a、6b、7a、7b、8a、8b、11a或11b的任一表中所述的生物标志物的特征值。术语“数据集合”指可以按物理和/或逻辑方式归结分组的数据汇集。因此,可以在单独的数据存储介质中或在彼此有效连接的物理分立的数据储存介质中实施数据集合。优选地,借助数据库实施数据集合。因此,如本文所用的数据库包括在合适存储介质上的数据集合。另外,该数据库优选地还包含数据库管理系统。数据库管理系统优选地是基于网络、分层或面向对象的数据管理系统。另外,数据库可以是联邦或综合数据库。更优选地,数据库将作为分布式(联邦)系统如作为客户-服务器-系统执行。更优选地,将数据库结构化以便允许检索算法将试验数据集与由数据集合构成的数据集比较。具体而言,通过使用这种算法,可以就指示肾毒性的相似或相同数据集检索数据库(例如查询检索)。因而,如果可以在数据集合中鉴定到相同或相似的数据集,则试验数据集将与肾毒性相关。因此,从数据集合获得的信息可以用来基于从受试者获得的试验数据集诊断肾毒性。

[0099] 另外,本发明涉及包含所述数据集合的数据存储介质。如本文所用的术语“数据存储介质”涵盖基于单一物理实体的数据储存介质,如CD、CD-ROM、硬盘、光储存介质或磁盘盒。另外,该术语还包括由物理分立的实体组成的数据储存介质,所述数据储存介彼此以如此方式有效连接,以至于提供前述数据集合,优选地,以合适查询检索的方式提供。

[0100] 本发明还涉及一个系统,该系统包含:

[0101] (a)用于比较样品的至少一种生物标志物的特征值的设备,所述设备有效连接至

[0102] (b)本发明的数据存储介质。

[0103] 如本文所用的术语“系统”指彼此有效连接的不同设备。所述设备可以在单一装置中实现或可以在彼此有效连接的物理分立的装置中实现。用于比较生物标志物的特征值的设备优选地基于如之前提到的比较算法运行。数据存储介质,优选地包含前述数据集合或

数据库,其中每种存储的数据集指示肾毒性。因而,本发明的系统允许确定试验数据集是否包含于存储在数据存储介质中的数据集合中。因此,本发明的系统可以作为诊断肾毒性中的诊断手段应用。在系统的一个优选实施方案中,包含用于确定样品的生物标志物的特征值的设备。术语“用于确定生物标志物的特征值的设备”优选地指用于确定生物标志物的前述设备,如质谱设备、ELISA设备、NMR设备或用于实施分析物的化学或生物测定的设备。

[0104] 上文所提及的全部参考均就以上描述中明确提到的其完整公开内容以及其特定公开内容,通过引用的方式并入作为参考。以下实施例仅用于说明本发明的目的。无论如何,它们应当不被解释为在任何方面限制本发明的范围。

实施例

[0105] 实施例:与肾毒性相关的生物标志物

[0106] 在28日期间,对雄性大鼠和雌性大鼠各5只的组每日一次用所指示的化合物给药(关于化合物、施加的剂量和施用细节,见下表9)。

[0107] 研究中的每个剂量组由每种性别5只大鼠组成。雄性动物和雌性动物各5只的额外组充当对照。在开始处理期之前,供应时为62-64日龄的动物适应于舍饲和环境条件7日。将动物群体的全部动物在相同的恒定温度($20-24 \pm 3^{\circ}\text{C}$)和相同的恒定湿度(30-70%)下维持。动物群体的动物随意采食。待使用的食物基本上不含化学污染物或微生物污染物。还随意提供饮用水。因此,水不含如欧洲饮用水指令98/83/EG中制定的化学污染物和微生物污染物。照明期是12小时光照,随后12小时黑暗(12小时光照,从6:00至18:00,和12小时黑暗,从18:00至6:00)。研究在AAALAC批准的实验室中根据德国动物福利法和欧洲理事会指令86/609/EE进行。根据OECD407用于啮齿类中重复剂量28日口服毒性研究的化学品检验指南安排测试系统。如表中所述投予和施用测试物质(表9中的化合物)。

[0108] 在第7、14和28日早晨,从麻醉的禁食动物的眶后静脉丛取得血液。从每只动物,采集1ml血液,以EDTA作为抗凝血剂。将样品离心以便产生血浆。全部血浆样品用 N_2 气覆盖并随后存储在 -80°C 直至分析。

[0109] 对于基于质谱的代谢物概况分析,提取血浆样品并且获得极性级分和非极性(脂质)级分。对于GC-MS分析,将非极性级分在酸性条件下用甲醇处理以产生脂肪酸甲酯。在分析之前,将两种级分进一步用盐酸O-甲基-羟胺和吡啶衍生化以使氧代基团转化成O-甲基肟并且随后用甲硅烷基化剂衍生化。在LC-MS分析中,将两种级分均在适宜的溶剂混合物中重构。通过在反相分离柱上梯度洗脱进行HPLC。如WO2003073464中所述应用允许与完整筛选分析平行地靶向和高灵敏度MRM(多反应监测)概况分析的质谱检测。

[0110] 通过在线SPE-LC-MS(固相提取-LC-MS)测量类固醇和它们的代谢物。如Yamada等人(Yamada2002,Journal of Analytical Toxicology,26(1):17-22))所述,通过在线SPE-LC-MS测量儿茶酚胺和它们的代谢物。

[0111] 在综合的分析验证步骤后,将每种分析物的数据针对来自汇集样品的数据归一化。这些样品在整个过程期间平行地进行以解释过程变异性。通过使用WELCH检验比较处理组的均值和相应的未处理对照组的均值,确定对性别、处理持续时间和代谢物特异的处理组值的显著性并且用相对于对照的处理率和p-值定量。

[0112] 通过下表中分析物的排序确定每种毒性模式的最重要生物标志物。因此,将(表中

显示的)给定模式的参考处理中的代谢变化与其他不相关处理中相同代谢物的变化比较。对于每种代谢物,获得参考和对照处理的T-值并且由Welch检验比较以评估这两个组是否为显著差异。取相应T值的最大绝对值表示该模式的最重要代谢物。

[0113] 下表中显示了表明处理大鼠后肾毒性的血浆代谢物组的变化:

[0114] 表1a:雌性大鼠中肾毒性(多尿作用)的标志物;标出显著上调变化(p -值 ≤ 0.2)(*)。对于一些代谢物(以#标记),在表10中提供额外的信息。全部化合物均以高剂量施用。

[0115]

	茶碱	咖啡因	呋塞米
代谢物	f28	f28	f28
缬氨酸	1.29*	1.15*	1.17*
反-4-羟脯氨酸	1.91*	1.23*	1.16*
脯氨酸	1.57	1.23	1.16*
甘氨酸	1.32*	1.5*	1.14*
泛酸	1.72*	1.23*	1.15*
组氨酸	1.25*	1.29*	1.35*
苏糖酸	1.14	1.46*	1.39*

[0116] 表1b:雌性大鼠中肾毒性(多尿作用)的标志物;标出显著下调变化(p -值 ≤ 0.2)(*)。对于一些代谢物(以#标记),在表10中提供额外的信息。全部化合物均以高剂量施用。

[0117]

	茶碱	咖啡因	呋塞米
代谢物	f28	f28	f28
18-羟-11-去氧皮质酮	0.5*	0.38*	0.36*
肌酸酐	0.8*	0.84*	0.77*
马尿酸	0.28*	0.38*	0.47*

[0118] 表1c:雄性大鼠中肾毒性(多尿作用)的标志物;标出显著上调变化(p -值 ≤ 0.2)(*)。

[0119] 对于一些代谢物(以#标记),在表10中提供额外的信息。全部化合物均以高剂量施用。

[0120]

	可可碱			茶碱			咖啡因			赖诺普利		
代谢物	m7	m14	m28	m7	m14	m28	m7	m14	m28	m7	m14	m28
胆碱缩醛磷脂 No 02#	1.38 *	1.16	1.34 *	1.65 *	1.12 *	1	1.22 *	1.18 *	1.26 *	1.07 *	1.27 *	1.11 *
鞘 磷 脂 (d18:2,C16:0)#	1.41 *	1.42 *	1.9 *	1.61 *	1.28 *	1.17 *	1.75 *	2.34 *	2.05 *	1.21 *	1.38 *	1.13 *
胆碱缩醛磷脂 No 03#	1.08 *	1.1	1.1 *	1.29 *	1.18 *	1.03	1.55 *	1.56 *	1.25 *	1.12 *	1.1 *	1.21 *
苏氨酸	1.32 *	1.53 *	1.42 *	1.22 *	1.27 *	1.44 *	1.2 *	1.58 *	1.59 *	0.99	1.15	1.12 *
神经酰胺 (d18:1,C24:1)	1.21 *	1.45 *	1.52 *	0.75	1.94 *	1.17	1.2 *	1.7 *	2.43 *	1.12	1.32 *	1.36 *
神经酰胺 (d18:1,C24:0)	0.84	1.35 *	1.33 *	0.92 *	1.56 *	0.95	1.11 *	2.08 *	1.82 *	1.22 *	1.19 *	1.24 *

[0121] 表1d:雄性大鼠中肾毒性(多尿作用)的标志物;标出显著上调变化(p-值 ≤ 0.2)(*)。

[0122] 对于一些代谢物(以#标记),在表10中提供额外的信息。全部化合物均以高剂量施用。

[0123]

	可可碱			茶碱			咖啡因			赖诺普利		
代谢物	m7	m14	m28	m7	m14	m28	m7	m14	m28	m7	m14	m28
苹果酸盐	1.08	1.65 *	1.11	0.76 *	0.9 *	0.72 *	0.61 *	0.55 *	0.54 *	0.75 *	0.6 *	0.65 *

[0124]

谷氨酸盐	0.74 *	0.94 *	0.87 *	0.64 *	1.04 *	0.74 *	0.55 *	0.65 *	0.7 *	0.94 *	0.85 *	0.87 *
溶血磷脂酰胆碱 (C20:4)#	0.8 *	0.86 *	0.8 *	0.71 *	0.87 *	0.81 *	0.85 *	0.87 *	0.89 *	0.97	0.94	0.9 *

[0125] 表2a:雌性大鼠中肾毒性(肾小球-肾小管缺陷)的标志物;标出显著上调变化(p-

值 ≤ 0.2)(*)。对于一些代谢物(以#标记),在表10中提供额外的信息。全部化合物均以高剂量施用。

[0126]

	青霉胺		卡托普利		环孢菌素 A	
代谢物	f14	f28	f14	f28	f14	f28
肌酸	1.23 *	1.11 *	1.18 *	1.33 *	1.37 *	1.17
反油酸(C18:反[9]1)	1.2	1.35 *	1.18	1.22 *	1.34 *	0.88
3-羟基吡啶硫酸酯	0.93	1.41 *	1.2	1.21 *	1.43 *	0.74
3-羟基吡啶	0.87	1.53 *	1.35	1.21 *	1.91 *	0.74
木糖醇	1.29 *	1.13	1.17	1.31 *	0.92	1.21 *
肌酸酐	1.69 *	1.11	1.06	1.93 *	1.8 *	1.49 *
溶血磷脂酰胆碱 (C20:4)#	1.14	1.34 *	1.04	1.24 *	1.27	1.11

[0127] 表2b:雌性大鼠中肾毒性(肾小球-肾小管缺陷)的标志物;标出显著下调变化(p-值 ≤ 0.2)(*)。对于一些代谢物(以#标记),在表10中提供额外的信息。全部化合物均以高剂量施用。

[0128]

	青霉胺		卡托普利		环孢菌素 A	
代谢物	f14	f28	f14	f28	f14	f28
葡萄糖胺	0.75	0.48 *	0.4 *	1.06	0.73 *	0.58 *
甘露糖胺	0.64 *	0.5 *	0.69 *	1.04	0.73 *	0.63 *
组胺	1.36	0.52 *	0.93	0.81 *	NA	NA

[0129]

肾上腺素(Epinephrine)	0.55 *	1.14	1.27	0.28 *	NA	NA
-------------------	--------	------	------	--------	----	----

[0130] 表2c:雄性大鼠中肾毒性(肾小球-肾小管缺陷)的标志物;标出显著上调变化(p-值 ≤ 0.2)(*)。对于一些代谢物(以#标记),在表10中提供额外的信息。全部化合物均以高剂量施用。

[0131]

	磷酸三甲苯酯			卡托普利			青霉胺		
代谢物	m7	m14	m28	m7	m14	m28	m7	m14	m28
苏糖酸	1.32 *	1.5 *	1.53 *	1.37 *	1.27 *	1.14 *	1.47 *	1.4 *	1.7 *
溶血磷脂酰胆碱 (C18:2)#	1.19	1.27 *	1.15 *	1.07 *	1.2 *	1.09	1.23 *	1.28 *	1.1
肌酸	1.16 *	1.42 *	1.11 *	1.16 *	1.06 *	1.31	1.11 *	1.35 *	1.27 *
极性级分甘油-3- 磷酸	0.83 *	0.89	0.89	1.28 *	0.97	1.29 *	1.21 *	1.42 *	1.4 *
肌酸酐	0.77	0.74	0.78 *	1.32	1.12 *	1.05	1.16	1.8 *	1.82 *

[0132] 表2d:雄性大鼠中肾毒性(肾小球-肾小管缺陷)的标志物;标出显著上调变化(p-值 ≤ 0.2)(*)。对于一些代谢物(以#标记),在表10中提供额外的信息。全部化合物均以高剂量施用。

[0133]

	磷酸三甲苯酯			卡托普利			青霉胺		
代谢物	m7	m14	m28	m7	m14	m28	m7	m14	m28
半胱氨酸	0.44 *	0.51 *	0.55 *	0.59 *	0.77 *	0.72 *	0.46 *	0.51 *	0.85 *
变肾上腺素	0.43 *	0.74 *	0.76 *	0.81 *	0.7 *	0.76 *	0.83 *	0.43 *	0.68 *
去甲变肾上腺素	0.74 *	0.71 *	1.03	0.9	0.89 *	0.73 *	0.79 *	0.66 *	0.68 *
4-羟基-3-甲氧苯基 乙二醇(HMPG)	0.95	0.93 *	0.83 *	1.07	0.91 *	0.86 *	0.91 *	0.84 *	0.79 *

[0134]

异棕榈酸(C16:0)	0.84 *	0.76 *	0.62 *	0.78 *	0.64 *	0.83	0.75 *	1.02	1.23
-------------	--------	--------	-----------	-----------	-----------	------	-----------	------	------

[0135] 表3a:雌性大鼠中肾毒性(肾小管缺陷)的标志物;标出显著上调变化(p-值 ≤ 0.1)(*)。对于一些代谢物(以#标记),在表10中提供额外的信息。全部化合物均以高剂量施用。

[0136]

	β-紫罗酮		卡铂		呋塞米	
代谢物	f14	f28	f14	f28	f14	f28
肌酸	NA	NA	1.22 *	1.41 *	1.44 *	1.56 *
溶血磷脂酰胆碱(C18:1)#	1.34 *	1.42 *	0.98	1.12 *	1.14 *	1.16 *
组氨酸	1.31 *	1.21 *	1.03	1.3 *	1.1 *	1.35 *
缬氨酸	1.19 *	1.42	1.07 *	1.25 *	1.12	1.17 *
亮氨酸	1.26	1.36	1.13 *	1.38 *	1.26	1.34 *
半乳糖, 脂质级分	2.02 *	2.58 *	1.17 *	0.84	1.42 *	0.92
磷脂酰胆碱 No 02#	1.99 *	1.76 *	1.07 *	0.97	1.05 *	0.98
异亮氨酸	1.14	1.32	1.09 *	1.35 *	1.11	1.27 *
极性级分甘油-3-磷酸	0.98	1.25	1.66 *	2.2 *	1.51 *	1.42 *
TAG No 05#	1.65 *	1.5	1.9 *	1.27 *	3.01 *	1.83 *
甘氨酸	1.17	1.18	1.08	1.17 *	1.16	1.14 *
苏糖酸	1.11	1.21	1.14	1.23 *	1.06 *	1.39 *
木糖醇	1.32 *	1.88	0.83	1.56 *	1.56 *	1.33 *
尿嘧啶	0.94	0.94	1.07	1.37 *	1.17	1.41 *
葡糖醛酸	2.55 *	2.03 *	1.36	1.24 *	1.41 *	1.33 *
肌酸酐	1.61	1.61	0.85	1.59 *	1.53 *	2.2 *
苏氨酸	1.57 *	1.46 *	0.99	1.24 *	1.18 *	1.07

[0137] 表3b:雌性大鼠中肾毒性(肾小管缺陷)的标志物;标出显著下调变化(p-值 ≤ 0.1)(*)。对于一些代谢物(以#标记),在表10中提供额外的信息。全部化合物均以高剂量施用。

[0138]

	β -紫罗酮		卡铂		呋塞米	
代谢物	f14	f28	f14	f28	f14	f28
吡啶-3-乙酸	0.62 *	0.81	0.38 *	0.65	0.4 *	0.7 *
极性级分甘油	0.83	0.65	0.88	0.78 *	0.9	0.79 *
蔗糖	1.02	1.37	0.67 *	0.61	0.49 *	0.52
马尿酸	0.55	0.5 *	0.59	0.3 *	0.55	0.47 *
半胱氨酸	0.86	1.06	0.83 *	0.67	0.69 *	0.94
亚精胺	0.54 *	1.17	0.95	0.69 *	0.77 *	0.75

[0139] 表3c:雄性大鼠中肾毒性(肾小管缺陷)的标志物;标出显著上调变化(p-值 ≤ 0.1)(*)。对于一些代谢物(以#标记),在表10中提供额外的信息。全部化合物均以高剂量施用。

[0140]

	卡铂		呋塞米	
代谢物	m14	m28	m14	m28
假尿苷	1.33 *	1.11 *	1.56 *	1.49 *
牛磺酸	1.18 *	1.54 *	1.69 *	1.67 *
尿囊素	1.4	1.24 *	1.9 *	1.65 *
犬尿喹啉酸	1.21 *	1.7	2.01 *	1.44
极性级分甘油-3-磷酸	1.59 *	1.61 *	1.35 *	1.88 *
肌酸	1.32 *	1.42 *	1.62 *	1.22
神经酸(C24:顺[15]1)	1.02	1.51 *	2.97 *	1.46 *
豚	1.47 *	1.08	2.21 *	1.73 *
泛酸	1.17	1.47 *	1.19 *	1.58 *
组氨酸	1.02	1.22 *	1	1.21 *

[0141] 表3d:雄性大鼠中肾毒性(肾小管缺陷)的标志物;标出显著上调变化(p-值 ≤ 0.1)(*)。对于一些代谢物(以#标记),在表10中提供额外的信息。全部化合物均以高剂量施用。

[0142]

	卡铂		呋塞米	
代谢物	m14	m28	m14	m28
TAG (C18:1,C18:2)#	0.79 *	0.62 *	0.79	0.7 *
16-甲基十七烷酸	0.74 *	0.51 *	0.61 *	0.72 *
亚麻酸(C18:顺[9,12,15]3)	0.75	0.7 *	0.85	0.68 *
磷脂酰胆碱 No 04#	0.74 *	0.78	0.59 *	0.68 *
磷脂酰胆碱 No 02#	0.87 *	0.91 *	1.01	0.88 *

[0143] 表4a:雌性大鼠中肾毒性(弱酸排泄抑制)的标志物;标出显著上调变化(p-值 $\leq$ 0.2)(*)。对于一些代谢物(以#标记),在表10中提供额外的信息。全部化合物均以高剂量施用。

[0144]

	高 2,4-滴丙酸			MCPA			高 2-甲-4-氯丙酸			五氯酚		
代谢物	f7	f14	f28	f7	f14	f28	f7	f14	f28	f7	f14	f28
溶血磷脂酰胆碱(C18:2)#	1.47 *	1.44 *	1.16 *	1.38 *	1.45 *	1.35 *	1.26 *	1.67 *	1.74 *	1.32 *	1.41 *	1.66 *
γ -亚麻酸(C18:顺[6,9,12]3)	6.14 *	6.64 *	3.31 *	4.23 *	2.93 *	2.99 *	3.03 *	3.62 *	4.04 *	0.78 *	1.81 *	3.23 *
磷脂酰胆碱(C16:0,C20:5)#	1.72 *	1.25 *	1.08 *	2.03 *	2.09 *	1.61 *	1.47 *	1.74 *	1.47 *	1.05 *	1.57 *	1.67 *
磷脂酰胆碱(C16:1,C18:2)#	2.98 *	2.37 *	1.81 *	2.92 *	2.88 *	2.45 *	1.06 *	2.03 *	2.28 *	0.87 *	1.32 *	1.54 *
脂质级分甘油#	3.12 *	2.68 *	2.19 *	1.69 *	1.38 *	1.6 *	1.96 *	2.17 *	2.15 *	1.56 *	2.38 *	1.61 *
磷脂酰胆碱(C18:0,C18:1)#	1.36 *	1.43 *	1.44 *	1.57 *	1.74 *	1.56 *	1.23 *	1.33 *	1.4 *	0.98 *	1.54 *	1.41 *

[0145]

亚油酸(C18:顺 [9,12]2)	2.28 *	2.34 *	1.14 *	1.66 *	1.36 *	1.28 *	1.51 *	1.86 *	1.51 *	1.35 *	1.8 *	1.73 *
磷脂酰胆碱 (C18:1,C18:2)#	1.88 *	2.33 *	1.71 *	1.68 *	2.12 *	1.78 *	1.65 *	1.9 *	1.78 *	0.85 *	1.4 *	1.3 *
磷脂酰胆碱 (C16:0,C18:2)	1.47 *	1.51 *	1.29 *	1.66 *	1.82 *	1.45 *	1.25 *	1.58 *	1.34 *	1.02 *	1.34 *	1.49 *
磷脂酰胆碱 (C16:0,C16:0)#	1.43 *	1.14 *	1.26 *	1.52 *	1.8 *	1.78 *	1.17 *	1.44 *	1.4 *	1.04 *	1.25 *	1.1 *

[0146] 表4b:雌性大鼠中肾毒性(弱酸排泄抑制)的标志物;标出显著下调变化(p-值 $\leq$ 0.2)(*)。对于一些代谢物(以#标记),在表10中提供额外的信息。全部化合物均以高剂量施用。

[0147]

	高 2,4-滴丙酸			MCPA			高 2-甲-4-氯丙酸			五氯酚		
代谢物	f7	f14	f28	f7	f14	f28	f7	f14	f28	f7	f14	f28
脯氨酸	0.85 *	0.79 *	0.72 *	0.61 *	0.45 *	0.42 *	0.7 *	0.72 *	0.66 *	0.73 *	0.74 *	0.74 *
吲哚-3-乳酸	0.16 *	0.22 *	0.32 *	0.24 *	0.24 *	0.23 *	0.6 *	0.3 *	0.43 *	0.62 *	0.65 *	0.49 *
反-4-羟脯氨酸	0.88 *	0.89 *	0.77 *	0.57 *	0.47 *	0.6 *	0.6 *	0.7 *	0.77 *	0.87 *	0.92 *	0.94 *
酮亮氨酸	0.5 *	0.55 *	0.5 *	0.42 *	0.21 *	0.15 *	0.6 *	0.71 *	0.71 *	0.6 *	0.64 *	0.6 *
色氨酸	0.17 *	0.2 *	0.31 *	0.17 *	0.18 *	0.16 *	0.5 *	0.36 *	0.44 *	0.6 *	0.62 *	0.54 *
精氨酸	0.9 *	0.91 *	0.79 *	0.62 *	0.58 *	0.58 *	0.82 *	0.78 *	0.78 *	0.56 *	0.72 *	0.44 *

[0148]

表 4c: 雄性大鼠中肾毒性(弱酸排泄抑制)的标志物; 标出显著上调变化(p-值 ≤ 0.2)(*)。对于一些代谢物(以#标记), 在表 10 中提供额外的信息。全部化合物均以高剂量施用。

代谢物	高 2,4-滴丙酸			MCPA			丙磺舒			高 2-甲 4-氯丙酸		
	m7	m14	m28	m7	m14	m28	m7	m14	m28	m7	m14	m28
磷脂酰胆碱(C16:0,C20:5)#	1.48 *	1.51 *	1.19 *	1.73 *	1.82 *	2.11 *	1.28 *	1.36 *	1.15 *	1.43 *	1.2 *	1.22 *
γ -亚麻酸(C18:顺[6,9,12]3)	2.07 *	1.93 *	1.13 *	1.69 *	2.68 *	2.54 *	2.14 *	2.74 *	2.26 *	1.08 *	1.21 *	1.08 *
神经酰胺(d18:1,C24:0)	1.01 *	1.54 *	1.07 *	1.2 *	2.39 *	1.72 *	1.23 *	1.53 *	1.27 *	1.09 *	1.46 *	1.19 *
胆固醇酯 No 01#	2.12 *	2.21 *	1.05 *	0.97 *	1.27 *	1.32 *	1.15 *	1.01 *	1 *	1.41 *	1.32 *	1.25 *
溶血磷脂酰乙醇胺(C22:5)#	1.03 *	1.22 *	1 *	1.16 *	1.08 *	1.1 *	1.17 *	1.7 *	1.17 *	1.17 *	1.11 *	1.24 *
3-羟基-丙酮硫酸酯	5.58 *	3.28 *	3.25 *	0.72 *	1.53 *	1.92 *	3.55 *	4.18 *	6.58 *	4.14 *	2.1 *	3 *
天冬氨酸	1.27 *	1.18 *	2.27 *	0.58 *	1.01 *	0.69 *	0.71 *	0.83 *	1.16 *	1.23 *	0.93 *	0.77 *

[0149] 表4d:雄性大鼠中肾毒性(弱酸排泄抑制)的标志物; 标出显著下调变化(p-值 ≤ 0.2)(*)。对于一些代谢物(以#标记), 在表10中提供额外的信息。全部化合物均以高剂量施用。

[0150]

	高 2,4-滴丙酸			MCPA			丙磺舒			高 2-甲-4-氯丙酸		
代谢物	m7	m14	m28	m7	m14	m28	m7	m14	m28	m7	m14	m28
溶血磷脂酰胆碱 (C18:0)#	0.77 *	0.78 *	0.83 *	0.81 *	0.83 *	0.73 *	0.94 *	0.95 *	0.98 *	0.75 *	0.78 *	0.77 *
甲硫氨酸	0.77 *	0.73 *	0.82 *	0.66 *	0.59 *	0.64 *	0.89 *	0.8 *	0.97 *	0.76 *	0.82 *	0.8 *
吡啶-3-乳酸	0.25 *	0.29 *	0.52 *	0.36 *	0.38 *	0.3 *	0.69 *	0.58 *	0.65 *	0.51 *	0.5 *	0.55 *
神经酸(C24:顺[15]1)	0.62 *	0.41 *	0.66 *	0.67 *	0.74 *	0.76 *	0.52 *	0.93 *	0.82 *	0.53 *	0.6 *	0.53 *
胆碱缩醛磷脂 (C18,C20:4)	0.42 *	0.57 *	0.65 *	0.64 *	0.76 *	0.45 *	0.79 *	1 *	0.93 *	0.53 *	0.63 *	0.59 *
磷脂酰胆碱 (C18:0,C20:4)#	0.36 *	0.4 *	0.51 *	0.36 *	0.55 *	0.24 *	0.99 *	0.98 *	0.98 *	0.32 *	0.41 *	0.38 *
胞嘧啶	0.44 *	0.62 *	0.69 *	0.63 *	0.63 *	0.6 *	0.7 *	0.69 *	0.68 *	0.72 *	0.73 *	0.66 *
Ribal	0.5 *	0.78 *	1.08 *	0.94 *	0.89 *	0.77 *	0.78 *	0.87 *	0.68 *	0.76 *	0.82 *	0.7 *
花生四烯酸(C20:顺 [5,8,11,14]4)	0.2 *	0.29 *	0.41 *	0.27 *	0.42 *	0.26 *	0.84 *	0.96 *	0.94 *	0.28 *	0.34 *	0.26 *
赖氨酸	0.44 *	0.52 *	0.51 *	0.4 *	0.3 *	0.33 *	0.94 *	0.79 *	0.97 *	0.59 *	0.6 *	0.5 *

[0151]

天冬氨酸	1.27	1.18	2.27	0.58 *	1.01	0.69 *	0.71 *	0.83	1.16	1.23	0.93	0.77
精氨酸	0.74 *	0.65 *	0.85 *	0.72 *	0.57 *	0.68 *	0.86 *	0.79	0.91	0.79 *	0.7 *	0.78 *
葡萄糖	0.98	0.92 *	0.91	0.75 *	0.72 *	0.6 *	1.11	0.8 *	0.77 *	0.9	1.15	0.8 *

[0152] 表5a:雌性大鼠中肾毒性(肾小管坏死)的标志物;标出显著上调变化(p-值 ≤ 0.2)(*)。对于一些代谢物(以#标记),在表10中提供额外的信息。全部化合物均以高剂量施用。

[0153]

	两性霉素 B	妥布霉素 素 s.c.	六氯丁二烯
代谢物	f28	f28	f28
二十二碳六烯酸 (C22: 顺 [4,7,10,13,16,19]6)	1.32 *	1.05 *	1.19 *
亮氨酸	1.21 *	1.26 *	1.34 *
二十二碳五烯酸 (C22: 顺 [7,10,13,16,19]5)	1.23 *	1.56 *	1.61 *
磷酸盐(无机和有机磷酸盐)	1.25 *	1.3 *	1.19 *
脂质级分甘油	1.31 *	1.2 *	1.29 *
二十烷酸(C20:0)	1.18 *	1.05	1.56 *

[0154] 表5b:雌性大鼠中肾毒性(肾小管坏死)的标志物;标出显著下调变化(p-值 ≤ 0.2)(*)。对于一些代谢物(以#标记),在表10中提供额外的信息。全部化合物均以高剂量施用。

[0155]

	两性霉素 B	妥布霉素 s.c.	六氯丁二烯
--	--------	--------------	-------

[0156]

代谢物	f28	f28	f28
马尿酸	0.44 *	0.14 *	0.35 *
乳酸	0.68 *	0.64 *	0.62 *

[0157] 表6a:雄性大鼠中肾毒性(ACE抑制剂诱导样毒性)的标志物;标出显著上调变化(p-值 ≤ 0.2)(*)。对于一些代谢物(以#标记),在表10中提供额外的信息。全部化合物均以高剂量施用。

[0158]

	雷米普利			赖诺普利		
代谢物	m7	m14	m28	m7	m14	m28
赖氨酸	1.37 *	1.21 *	1.17 *	0.92	1.13 *	1.23 *
甘氨酸	1.24 *	1.5 *	1.37 *	1.21 *	1.25 *	1.29 *
1,5-失水山梨醇	1.02	1.21 *	1.17 *	1.22 *	1.2 *	1.53 *

[0159] 表6b:雄性大鼠中肾毒性(ACE抑制剂诱导样毒性)的标志物;标出显著下调变化(p-值 ≤ 0.2)(*)。对于一些代谢物(以#标记),在表10中提供额外的信息。全部化合物均以高剂量施用

[0160]

	雷米普利			赖诺普利		
代谢物	m7	m14	m28	m7	m14	m28
胞嘧啶	0.7 *	0.85 *	0.91	0.97	0.89 *	1
谷氨酸盐	0.92 *	0.71 *	0.61 *	0.94 *	0.85 *	0.87 *

[0161] 表7a:雄性大鼠中肾毒性(间质性肾炎)的标志物;标出显著上调变化(p-值 ≤ 0.2)(*)。对于一些代谢物(以#标记),在表10中提供额外的信息。全部化合物均以高剂量施用。

[0162]

	石胆酸			安乃近			乙苯		
代谢物	m7	m14	m28	m7	m14	m28	m7	m14	m28
二十四烷酸(C24:0)	1.31 *	1.37 *	1.3 *	1.02 *	1.08	1.14 *	1.31 *	1.55 *	1.23 *
肌酸	1.29	1.27	1.54 *	1.45		1.07	1.4 *	1.35 *	1.34 *

[0163]

	*	*		*	1.48 *				
丝氨酸	1.18 *	1.16 *	1.51 *	1.22 *	1.38 *	1.67 *	1.12 *	1.5 *	1.54 *
苏氨酸	1.37 *	1.13 *	1.55 *	1.09 *	1.78 *	1.88 *	1.31 *	1.72 *	2.44 *
二十烷酸(C20:0)	1.81 *	1.12 *	1.58 *	1.78 *	1.27	0.97	1.41 *	1.3 *	1.76 *
磷脂酰胆碱 (C18:2,C20:4)#	1.05 *	1.14 *	1.15 *	1.01	1.08 *	1.09 *	1.05 *	1.06 *	1.05
肌醇-2-磷酸	1.06	1.01	1.51 *	1.16 *	1.26 *	1.6 *	1.39 *	0.88	1.3 *
葡萄糖酸	0.85 *	1	1	1.72 *	1.56 *	1.69 *	1.08	1.17 *	1.26 *
鞘磷脂 (d18:1,C16:0)#	1.27 *	1.22 *	1.09	1.32 *	1.19 *	1.03	1.69 *	1.5 *	1.48 *
肌酸酐	1.12	1.21 *	1.27 *	1.63 *	1.71 *	1.15	1.41 *	1.58 *	1.33 *

[0164] 表7b:雄性大鼠中肾毒性(间质性肾炎)的标志物;标出显著下调变化(p-值 ≤ 0.2)(*)。对于一些代谢物(以#标记),在表10中提供额外的信息。全部化合物均以高剂量施用。

[0165]

	石胆酸			安乃近			乙苯		
代谢物	m7	m14	m28	m7	m14	m28	m7	m14	m28
犬尿喹啉酸	0.75 *	0.75 *	0.71	0.72 *	0.82	0.78	0.71 *	0.83 *	0.8 *
异棕榈酸 (C16:0)	0.63 *	0.54 *	0.68 *	0.73 *	0.69 *	0.64 *	0.55 *	0.57 *	0.59 *
极性级分甘油	0.93	0.86		0.87	1.2	0.74	0.98	0.87	0.75 *

[0166]

			0.73	*		*			
			*						

[0167] 表8a:雄性大鼠中肾毒性(直接肾小管作用)的标志物;标出显著上调变化(p-值 $\leq$ 0.2)(*)。对于一些代谢物(以#标记),在表10中提供额外的信息。全部化合物均以高剂量施用。

[0168]

	六氯丁二烯	氢醌
代谢物	m28	m28
溶血磷脂酰乙醇胺(C22:0)	1.33*	1.26*
亮氨酸	1.17*	1.23*
TAG No02#	1.47*	1.91*
极性级分甘油-3-磷酸	1.58*	1.64*
鸟氨酸	1.35*	1.24*
苏氨酸	1.3*	1.03
异亮氨酸	1.11*	1.2*

[0169] 表8b:雄性大鼠中肾毒性(直接肾小管作用)的标志物;标出显著下调变化(p-值 $\leq$ 0.2)(*)。对于一些代谢物(以#标记),在表10中提供额外的信息。全部化合物均以高剂量施用。

[0170]

	六氯丁二烯	氢醌
代谢物	m28	m28
油酸(C18:顺[9]1)	0.71*	0.75*
TAG(C16:0,C16:1)#	0.51*	0.4*
DAG(C18:1,C18:2)#	0.66*	0.43*
反-4-羟脯氨酸	0.74*	0.87*
18-羟-11-去氧皮质酮	0.49*	0.23*
柠檬酸盐	0.93*	0.82*
14-甲基十六烷酸	0.82*	0.81
亚麻酸(C18:顺[9,12,15]3)	0.6*	0.56*

[0171]

棕榈油酸(C16:顺[9]1)	0.25*	0.76*
异棕榈酸(C16:0)	0.61*	0.62
酮亮氨酸	0.91*	0.75*
16-甲基十七烷酸	0.51*	0.76
反油酸(C18:反[9]1)	0.8*	0.84
溶血磷脂酰胆碱(C18:0)#	0.97*	0.99*

[0172] 表9:化合物和施用(CMC=羧甲基纤维素)

[0173]

化合物	同义词	CAS 编号	施用的剂量	详述
两性霉素 B	na	1397-89-3	腹膜内 3 mg/kg 体重	在 0.9% NaCl 中; 施用体积: 5 ml/kg bw
β -紫罗酮	na	79-77-6	膳食中 10,000 ppm	膳食中的混合物
咖啡因	3,7-二氢-1,3,7-三甲基-1H-嘌呤-2,6-二酮	58-08-2	膳食中 5,000 ppm	膳食中的混合物
卡托普利	N-[(S)-3-巯基-2-甲基丙酰基]-L-脯氨酸	62571-86-2	通过管饲 200 mg/kg 体重	在饮用水中; 施用体积: 10 ml/kg bw
卡铂	顺-二氯(1,1-环丁烷基二羧酸)铂	41575-94-4	腹膜内 10 mg/kg 体重, 一周 2 次	在 0.9% NaCl 中; 施用体积: 3 ml/kg bw
环孢菌素 A	na	59865-13-3	通过管饲 45 mg/kg 体重	在玉米油中, 施用体积: 5 ml/kg 体重

[0174]

高 2,4-滴丙酸	R-2-(2,4-二氯苯氧基)- 丙酸	15165-67- 0	膳食中 2,500 ppm	膳食中的混 合物
安乃近	安乃近	68-89-3	通过管饲 900 mg/kg 体重	在玉米油中; 施用体积: 5 ml/kg bw
乙苯	na	100-41-4	通过管饲 750 mg/kg 体重	在玉米油中; 施用体积: 5 ml/kg bw
吠塞米	4-氯-N-糠基-5-氯磺酰 邻氨基苯甲酸	54-31-9	膳食中 7500 ppm(第 0 日至 第 6 日); 膳食 中 3000 ppm(从第 7 日 起)	膳食中的混 合物
六氯丁二烯	全氯丁二烯	87-68-3	通过管饲 10 mg/kg 体重	在玉米油中; 施用体积: 5 ml/kg bw
氨脒	1,4-二羟基苯	123-31-9	通过管饲 180 mg/kg bw 体重 (第 0 日至第 7 日); 通过管饲 90 mg/kg 体重 (从第 8 日起)	在饮用水中; 施用体积: 10 ml/kg bw
赖诺普利	na	83915-83- 7	通过管饲 400 mg/kg 体重	在 含 有 0.5%CMC (Tylose CB30000) 的

[0175]

				饮用水中, 施用体积: 10 ml/kg bw
石胆酸	na	434-13-9	通过管饲 1000 mg/kg 体重	在玉米油中; 施用体积: 5 ml/kg bw
MCPA	4-氯-2-甲基苯氧乙酸	94-74-6	膳食中 2,500 ppm	膳食中的混合物
高 2-甲-4-氯丙酸	(+)-(R)-2-(4-氯-2-甲基苯氧基)丙酸	16484-77-8	膳食中 2,500 ppm	膳食中的混合物
青霉胺	D-(-)-青霉胺	52-67-5	通过管饲 250 mg/kg bw	在饮用水中; 施用体积: 10 ml/kg bw
五氯酚	na	87-86-5	膳食中 2,500 ppm(第 0 日至第 6 日), 膳食中 0 ppm(第 7 日至第 9 日), 膳食中 1,500 ppm(从第 10 日起)	膳食中的混合物
丙磺舒	na	57-66-9	通过管饲 800 mg/kg 体重	在玉米油中, 施用体积: 5 ml/kg bw
雷米普利	na	87333-19-5	膳食中 10,000 ppm	膳食中的混合物

[0176]

可可碱	2,6-二羟基-3,7-二甲基 嘌呤	83-67-0	膳 食 中 6000ppm	膳食中的混 合物
茶碱	1,3-二甲基-3,7-二氢 -1H-嘌呤-2,6-二酮	58-55-9	膳 食 中 8,000 ppm(第 0 日至 第 6 日), 膳食 中 2,000 ppm(从第 7 日 起)	膳食中的混 合物
妥布霉素 s.c.	na	32986-56- 4	皮下 40 mg/kg 体重, 每日二 次(第 0 日至第 14 日), 皮下 20 mg/kg 体重, 每 日二次(从第 15 日起)	在 0.9% NaCl 中; 施 用体积: 1 ml/kg bw, 每 日二次
磷酸三甲苯酯	磷酸三甲苯酯	1330-78-5	通过管饲 500 mg/kg 体重	在玉米油中; 施用体积: 5 ml/kg bw

[0177] 表10:所选择生物标志物的化学/物理特性。本文中通过化学和物理特性表征这些生物标志物。

[0178]

代谢物	片段化模式(GC-MS)和描述
3-O- 甲 基 鞘 氨 醇 (d18:1)	在酸性甲醇分解作用并用吡啶中的 2%盐酸 O-甲基羟 胺衍生化并随后用 N-甲基-N-三甲基甲硅烷基三氟乙 酰胺衍生化后, 在采用电子轰击电子(EI)电离质谱用 GC/MS 检测时, 3-O-甲基鞘氨醇(d18:1)显示出以下特 征性离子片段: MS (EI, 70 eV): m/z (%): 204 (100), 73

[0179]

	(18), 205 (16), 206 (7), 354 (4), 442 (1).
5-O- 甲 基 鞘 氨 醇 (d18:1)	在酸性甲醇分解作用并用吡啶中的 2%盐酸 O-甲基羟胺衍生化并随后用 N-甲基-N-三甲基甲硅烷基三氟乙酰胺衍生化后, 在采用电子轰击电子(EI)电离质谱用 GC/MS 检测时, 5-O-甲基鞘氨醇(d18:1)显示出以下特征性离子片段: MS (EI, 70 eV): m/z (%): 250 (100), 73 (34), 251 (19), 354 (14), 355 (4), 442 (1).
胆固醇酯 No 01	代谢物属于胆固醇酯类别。在采用电喷雾电离(ESI)质谱法用 LC/MS 检测时, 它显示出以下特征性离子种类: 带正电荷离子种类的质荷比(m/z)是 369.2(+/-0.5)。
胆碱缩醛磷脂 No 01	代谢物属于胆碱缩醛磷脂类别。在采用电喷雾电离(ESI)质谱法用 LC/MS 检测时, 它显示出以下特征性离子种类: 带正电荷离子种类的质荷比(m/z)是 772.6(+/-0.5)。
胆碱缩醛磷脂 No 02	代谢物属于胆碱缩醛磷脂类别。在采用电喷雾电离(ESI)质谱法用 LC/MS 检测时, 它显示出以下特征性离子种类: 带正电荷离子种类的质荷比(m/z)是 767(+/-0.5)。
胆碱缩醛磷脂 No 03	代谢物属于胆碱缩醛磷脂类别。在采用电喷雾电离(ESI)质谱法用 LC/MS 检测时, 它显示出以下特征性离子种类: 带正电荷离子种类的质荷比(m/z)是 768.8(+/-0.5)。
DAG (C18:1,C18:2)	DAG (C18:1,C18:2)代表含有 C18:1 脂肪酸单元和 C18:2 脂肪酸单元的组合的二酰甘油的求和参数(sum parameter)。电离种类的质荷比(m/z)是 641.6Da (+/-0.5 Da)。

[0180]

二十碳烯酸(C20:1) No 02	在酸性甲醇分解作用并用吡啶中的 2% 盐酸 O-甲基羟胺衍生化并随后用 N-甲基-N-三甲基甲硅烷基三氟乙酰胺衍生化后, 在采用电子轰击电子(EI)电离质谱用 GC/MS 检测时, 二十碳烯酸(C20:1)显示出以下特征性离子片段: MS (EI, 70 eV): m/z (%): 55 (100), 69 (75), 41 (57), 83 (54), 74 (53), 97 (45), 110 (20), 292 (13), 293 (13), 124 (12), 250 (9), 152 (8), 138 (8), 208 (7), 324 (2)。
甘油磷酸酯, 脂质级分	脂质级分甘油磷酸酯代表含有甘油-2-磷酸或甘油-3-磷酸部分并且在提取并将提取物分离成极性级分和脂质级分后存在于脂质级分中的代谢物的求和参数。
溶血磷脂酰胆碱 (C17:0)	溶血磷脂酰胆碱(C17:0)代表含有 C17:0 脂肪酸单元的溶血甘油磷脂酰胆碱的求和参数。如果采用电喷雾电离(ESI)质谱法用 LC/MS 检测, 则带正电荷离子种类的质荷比(m/z)是 510.4 Da (+/-0.5 Da)。
溶血磷脂酰胆碱 (C18:0)	溶血磷脂酰胆碱(C18:0)代表含有 C18:0 脂肪酸单元的溶血甘油磷脂酰胆碱的求和参数。如果采用电喷雾电离(ESI)质谱法用 LC/MS 检测, 则带正电荷离子种类的质荷比(m/z)是 546.6 Da (+/-0.5 Da)。
溶血磷脂酰胆碱 (C18:1)	溶血磷脂酰胆碱(C18:1)代表含有 C18:1 脂肪酸单元的溶血甘油磷脂酰胆碱的求和参数。如果采用电喷雾电离(ESI)质谱法用 LC/MS 检测, 则带正电荷离子种类的质荷比(m/z)是 522.2 Da (+/-0.5 Da)。
溶血磷脂酰胆碱 (C18:2)	溶血磷脂酰胆碱(C18:2)代表含有 C18:2 脂肪酸单元的溶血甘油磷脂酰胆碱的求和参数。如果采用电喷雾电离(ESI)质谱法用 LC/MS 检测, 则带正电荷离子种类的质荷比(m/z)是 542.4 Da (+/-0.5 Da)。

[0181]

溶血磷脂酰胆碱 (C20:4)	溶血磷脂酰胆碱(C20:4)代表含有 C20:4 脂肪酸单元的溶血甘油磷脂酰胆碱的求和参数。如果采用电喷雾电离(ESI)质谱法用 LC/MS 检测,则带正电荷离子种类的质荷比(m/z)是 544.4 Da (+/-0.5 Da)。
溶血磷脂酰乙醇胺 (C22:5)	在采用电喷雾电离(ESI)质谱法用 LC/MS 检测时,溶血磷脂酰乙醇胺(C22:5)显示出以下特征性离子种类:带正电荷离子种类的质荷比(m/z)是 528.2(+/-0.5)。
磷脂酰胆碱 (C16:0,C16:0)	磷脂酰胆碱(C16:0/C16:0)代表含有两种 C16:0 脂肪酸单元的组成的甘油磷脂酰胆碱的求和参数。电离种类的质荷比(m/z)是 734.8Da (+/-0.5 Da)。
磷脂酰胆碱 (C16:0,C20:5)	在采用电喷雾电离(ESI)质谱法用 LC/MS 检测时,磷脂酰胆碱(C16:0,C20:5)显示出以下特征性离子种类:带正电荷离子种类的质荷比(m/z)是 780.8(+/-0.5)。
磷脂酰胆碱 (C16:1,C18:2)	磷脂酰胆碱(C16:1, C18:2)代表含有 C16:1 脂肪酸单元和 C18:2 脂肪酸单元的组成的甘油磷脂酰胆碱的求和参数。如果采用电喷雾电离(ESI)质谱法用 LC/MS 检测,则带正电荷离子种类的质荷比(m/z).756.8 Da (+/-0.5 Da)。
磷脂酰胆碱 (C18:0,C18:1)	磷脂酰胆碱(C18:0, C18:1)代表含有 C18:0 脂肪酸单元和 C18:1 脂肪酸单元的组成的甘油磷脂酰胆碱的求和参数。如果采用电喷雾电离(ESI)质谱法用 LC/MS 检测,则带正电荷离子种类的质荷比(m/z)是 788.6 Da (+/-0.5 Da)。
磷脂酰胆碱 (C18:0,C18:2)	磷脂酰胆碱(C18:0, C18:2)代表含有 C18:0 脂肪酸单元和 C18:2 脂肪酸单元的组成的甘油磷脂酰胆碱的求和参数。如果采用电喷雾电离(ESI)质谱法用 LC/MS 检测,则带正电荷离子种类的质荷比(m/z)是 786.6 Da (+/-0.5 Da)。

[0182]

磷脂酰胆碱 (C18:0,C20:3)	在采用电喷雾电离(ESI)质谱法用 LC/MS 检测时,磷脂酰胆碱(C18:0,C20:3)显示出以下特征性离子种类:带正电荷离子种类的质荷比(m/z)是 812.6(+/-0.5)。
磷脂酰胆碱 (C18:0,C20:4)	磷脂酰胆碱(C18:0, C20:4)代表含有 C18:0 脂肪酸单元和 C20:4 脂肪酸单元的組合的甘油磷脂酰胆碱的求和参数。如果采用电喷雾电离(ESI)质谱法用 LC/MS 检测,则带正电荷离子种类的质荷比(m/z)是 810.8 Da (+/-0.5 Da)。
磷脂酰胆碱 (C18:0,C22:6)	磷脂酰胆碱(C18:0, C22:6)代表含有 C18:0 脂肪酸单元和 C22:6 脂肪酸单元的組合的甘油磷脂酰胆碱的求和参数。如果采用电喷雾电离(ESI)质谱法用 LC/MS 检测,则带正电荷离子种类的质荷比(m/z)是 834.8 Da (+/-0.5 Da)。
磷脂酰胆碱 (C18:1,C18:2)	磷脂酰胆碱(C16:0/C20:3 C18:1/C18:2)代表含有 C18:1 脂肪酸单元和 C18:2 脂肪酸单元的組合的甘油磷脂酰胆碱的求和参数。电离种类的质荷比(m/z)是 784.6Da (+/-0.5 Da)。
磷脂酰胆碱 (C18:2,C20:4)	磷脂酰胆碱(C16:0/C22:6 C18:2/C20:4)代表含有 C16:0 脂肪酸单元和 C22:6 脂肪酸单元的組合或 C18:2 脂肪酸单元和 C20:4 脂肪酸单元的組合的甘油磷脂酰胆碱的求和参数。电离种类的质荷比(m/z)是 806.6Da (+/-0.5 Da)。
磷脂酰胆碱 No 02	代谢物属于甘油磷脂酰胆碱类别。在采用电喷雾电离(ESI)质谱法用 LC/MS 检测时,它显示出以下特征性离子种类:带正电荷离子种类的质荷比(m/z)是 808.4(+/-0.5)。
磷脂酰胆碱 No 04	代谢物属于甘油磷脂酰胆碱类别。在采用电喷雾电离(ESI)质谱法用 LC/MS 检测时,它显示出以下特征性离

[0183]

	子种类：带正电荷离子种类的质荷比(m/z)是796.8(+/-0.5)。
鞘磷脂(d18:1,C23:0)	在采用电喷雾电离(ESI)质谱法用 LC/MS 检测时,鞘磷脂(d18:1,C23:0)显示出以下特征性离子种类:带正电荷离子种类的质荷比(m/z)是 801.8(+/-0.5)。
鞘磷脂(d18:1,C24:0)	鞘磷脂(d18:1, C24:0)代表含有 d18:1 长链碱基单位和 C24:0 脂肪酸单元的组合物。如果采用电喷雾电离(ESI)质谱法用 LC/MS 检测,则带正电荷离子种类的质荷比(m/z)是 815.8 Da (+/-0.5 Da)。
鞘磷脂(d18:2,C16:0)	在采用电喷雾电离(ESI)质谱法用 LC/MS 检测时,鞘磷脂(d18:2,C16:0)显示出以下特征性离子种类:带正电荷离子种类的质荷比(m/z)是 723.6(+/-0.5)。
鞘磷脂(d18:2,C18:0)	在采用电喷雾电离(ESI)质谱法用 LC/MS 检测时,鞘磷脂(d18:2,C18:0)显示出以下特征性离子种类:带正电荷离子种类的质荷比(m/z)是 729.8(+/-0.5)。
TAG (C16:0,C16:1)	代谢物代表含有 C16:0 脂肪酸单元和 C16:1 脂肪酸单元的组合物。在采用电喷雾电离(ESI)质谱法用 LC/MS 检测时,它显示出以下特征性离子种类:带正电荷离子种类的质荷比(m/z)是 549.6(+/-0.5)。
TAG (C16:0,C18:1,C18:3)	在采用电喷雾电离(ESI)质谱法用 LC/MS 检测时,TAG (C16:0,C18:1,C18:3)显示出以下特征性离子种类:带正电荷离子种类的质荷比(m/z)是 855.6(+/-0.5)。
TAG (C16:0,C18:2)	代谢物代表含有 C16:0 脂肪酸单元和 C18:2 脂肪酸单元的组合物。在采用电喷雾电离(ESI)质谱法用 LC/MS 检测时,它显示出以下特征性离子种类:带正电荷离子种类的质荷比(m/z)是 575.6(+/-0.5)。

[0184]

TAG (C18:1,C18:2)	代谢物代表含有 C16:0 脂肪酸单元和 C18:2 脂肪酸单元的組合的三酰甘油酯的总和。在采用电喷雾电离 (ESI) 质谱法用 LC/MS 检测时, 它显示出以下特征性离子种类: 带正电荷离子种类的质荷比 (m/z) 是 601.6(+/-0.5)。
TAG (C18:2,C18:2)	代谢物代表含有 C18:2 脂肪酸单元和 C18:2 脂肪酸单元的組合的三酰甘油酯的总和。在采用电喷雾电离 (ESI) 质谱法用 LC/MS 检测时, 它显示出以下特征性离子种类: 带正电荷离子种类的质荷比 (m/z) 是 599.6(+/-0.5)。
TAG (C18:2,C18:3)	代谢物代表含有 C18:2 脂肪酸单元和 C18:3 脂肪酸单元的組合的三酰甘油酯的总和。在采用电喷雾电离 (ESI) 质谱法用 LC/MS 检测时, 它显示出以下特征性离子种类: 带正电荷离子种类的质荷比 (m/z) 是 597.6(+/-0.5)。
TAG (DAG-片段)	代谢物属于三酰甘油酯类别。在采用电喷雾电离 (ESI) 质谱法用 LC/MS 检测时, 它显示出以下特征性离子种类: 带正电荷离子种类的质荷比 (m/z) 是 600.6(+/-0.5)。
TAG No 01	代谢物属于三酰甘油酯类别。在采用电喷雾电离 (ESI) 质谱法用 LC/MS 检测时, 它显示出以下特征性离子种类: 带正电荷离子种类的质荷比 (m/z) 是 547.6(+/-0.5)。
TAG No 02	代谢物属于三酰甘油酯类别。在采用电喷雾电离 (ESI) 质谱法用 LC/MS 检测时, 它显示出以下特征性离子种类: 带正电荷离子种类的质荷比 (m/z) 是 695.6(+/-0.5)。
TAG No 05	代谢物属于三酰甘油酯类别。在采用电喷雾电离 (ESI) 质谱法用 LC/MS 检测时, 它显示出以下特征性离子种类: 带正电荷离子种类的质荷比 (m/z) 是 879.6(+/-0.5)。

[0185]

TAG No 059	代谢物属于三酰甘油酯类别。在采用电喷雾电离(ESI)质谱法用 LC/MS 检测时,它显示出以下特征性离子种类:带正电荷离子种类的质荷比(m/z)是 904(+/-0.5)。
TAG No 07	代谢物属于三酰甘油酯类别。在采用电喷雾电离(ESI)质谱法用 LC/MS 检测时,它显示出以下特征性离子种类:带正电荷离子种类的质荷比(m/z)是 853.6(+/-0.5)。

[0186] 表11a:大鼠中肾毒性(α 2u球蛋白-肾病)的标志物;显著上调变化为粗体(p-值 $\leq$ 0.1)。除了1,1,2,2-四氯乙烷外,全部化合物均以高剂量施用。

[0187]

	1,1,2,2-四氯乙烷			2,2,4-三甲基戊烷			D-苧烯			萘烷		
代谢物	m7	m14	m28	m7	m14	m28	m7	m14	m28	m7	m14	m28
泛酸	4.46	4.32	4.32	2.59	3.07	3.03	1.04	1.85	1.76	2.13	3.31	3.02
油酸(C18:顺[9]1)	1.11	1.18	1.18	2.10	2.37	2.97	1.78	1.84	2.35	3.11	4.04	6.72
总 4-羟基二氢鞘氨醇(t18:0, 植物鞘氨醇)	2.03	2.04	2.04	1.46	1.34	1.26	1.40	1.29	1.41	2.00	1.98	1.84
神经酸(C24:顺[15]1)	1.09	0.96	0.96	1.60	1.38	1.22	1.40	1.28	1.47	2.01	2.23	1.74
二高- γ -亚麻酸(C20:顺[8,11,14]3)	2.56	3.40	3.40	2.42	2.06	2.77	1.66	1.62	1.82	2.56	2.86	2.61
鸟氨酸	2.10	2.38	2.38	1.12	1.23	1.23	1.22	1.46	1.60	1.21	1.11	1.16
谷氨酸盐	2.31	1.80	1.80	1.57	1.44	1.74	1.33	1.31	1.45	1.47	1.66	1.97
木糖醇	12.21	10.32	10.32	1.65	1.33	1.68	3.32	2.56	3.04	2.95	2.18	1.48
3-羟基吡啶	1.39	2.05	2.05	1.92	2.88	2.30	1.80	1.32	1.68	1.96	1.80	2.69
葡萄糖醛酸	3.97	1.20	1.20	3.88	3.87	3.46	2.52	2.42	1.71	2.65	3.04	2.79
假尿苷	1.17	1.51	1.51	1.23	1.31	1.28	1.21	1.15	1.10	1.32	1.51	1.65
鞘磷脂(d18:1,C16:0)	1.65	1.34	1.34	1.62	1.59	1.54	1.22	1.30	1.26	1.47	1.82	1.43
鞘磷脂(d18:2,C18:0)	1.22	0.93	0.93	1.35	1.28	1.23	1.13	1.24	1.23	1.40	1.54	1.47

[0188]

磷脂酰胆碱(C18:0,C18:1)	1.48	1.21	1.21	1.35	1.34	1.35	1.63	1.58	1.87	1.75	2.03	1.84
--------------------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------

[0189] 表11b:大鼠中肾毒性(α 2u球蛋白-肾病)的标志物;显著下调变化为粗体(p-值 ≤ 0.1)。除了1,1,2,2-四氯乙烷外,全部化合物均以高剂量施用。

[0190]

	1,1,2,2-四氯乙烷			2,2,4-三甲基戊烷			D-苧烯			萘烷		
代谢物	m7	m14	m28	m7	m14	m28	m7	m14	m28	m7	m14	m28
胆碱缩醛磷脂 No 02(推定的)	1.04	1.13	1.13	0.72	0.73	0.81	0.88	0.96	0.68	0.67	0.80	0.78
溶血磷脂酰胆碱 (C17:0)	0.63	0.89	0.89	0.72	0.73	0.80	0.80	0.93	0.87	0.84	0.83	0.87
Lyso PE (C22:0) (推定的)	0.43	0.65	0.65	0.54	0.49	0.45	0.75	0.78	0.69	0.82	0.76	0.71
TAG (C42:9) (DAG-片段) (推定的)	0.76	0.72	0.72	0.67	0.64	0.76	1.12	0.76	0.92	0.71	0.38	0.38