(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 115379836 A
(43)申请公布日 2022.11.22

(21)申请号 202080085146.4
(22)申请日 2020.10.15
(30)优先权数据
62/915,209 2019.10.15 US
62/990,020 2020.03.16 US
63/017,966 2020.04.30 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2022.06.08
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2020/055709 2020.10.15
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2021/076712 EN 2021.04.22
(71)申请人 奥菲瑞克斯公司
地址 美国加利福尼亚州
(72)发明人 M.R.莱温 R.卡特
(74)专利代理机构 北京市柳沈律师事务所 11105
专利代理师 张文辉
(51)Int.Cl.
A61K 31/16(2006.01)
A61K 31/195(2006.01)
A61K 31/403(2006.01)
A61K 31/405(2006.01)
A61K 31/541(2006.01)
A61K 31/546(2006.01)
A61K 31/65(2006.01)
A61K 33/30(2006.01)
A61K 38/55(2006.01)
A61K 45/06(2006.01)
A61P 11/00(2006.01)
A61P 29/00(2006.01)
A61P 31/00(2006.01)

权利要求书4页 说明书33页 附图14页

(54)发明名称

脓毒症和脓毒症样综合征的早期管理和预防

(57)摘要

本发明涉及通过PLA2和/或金属蛋白酶抑制剂,特别是与抗生素联合使用治疗脓毒症、急性炎症综合征如全身炎症反应综合征(SIRS)、炭疽和严重急性呼吸综合征冠状病毒(SARS和SARS-CoV2)、新生儿急性呼吸窘迫综合征(新生儿ARDS)的组合物和方法。在实施方案中,PLA2抑制剂是伐瑞拉迪、甲基伐瑞拉迪、AZD2716-R,S和LY433771,金属蛋白酶抑制剂是普马司他、巴马司他、马立马司他或伏立诺他。

表1

参数	每个场的分数		
	0	1	2
肺泡腔中的中性粒细胞	无	1–5	>5
组织间隙中的中性粒细胞	无	1–5	>5
填充气腔的蛋白质碎片	无	1	>1
肺泡间隔增厚	<2×	2×–4×	>4×

CN 115379836 A

1.减少受伤患者或有炎症综合征风险的受试者产生脓毒症、脓毒性休克、急性炎症综合征(无论是否为医源性)或急性呼吸窘迫综合征中的一种或多种的可能性的方法,其包括对所述患者或受试者单独或与至少一种抗生素联合施用有效量的至少一种PLA2抑制剂和/或至少一种金属蛋白酶抑制剂。

2.根据权利要求1所述的方法,其中所述PLA2抑制剂为伐瑞拉迪(LY315920)、甲基伐瑞拉迪(LY333013)、AZD2716-R,S(3-(5'-苄基-2'-氨基甲酰基联苯-3-基)丙酸-作为外消旋混合物或其对映异构体)和LY433771((9-[(苯基)甲基]-5-氨基甲酰基咔唑-4-基)氧乙酸)、其药学上可接受的盐或其混合物。

3.根据权利要求1或2所述的方法,其中所述金属蛋白酶抑制剂是普马司他、BB-94(马立马司他)、BB-2516(巴马司他)、伏立诺他、头孢克肟和强力霉素、其药学上可接受的盐或其混合物。

4.根据权利要求1-3中任一项所述的方法,其中所述PLA2抑制剂和/或所述金属蛋白酶抑制剂与至少一种抗生素组合。

5.根据权利要求4所述的方法,其中所述抗生素选自由下项组成的组:青霉烷、羧基青霉素、头孢菌素、单环β-内酰胺、碳青霉烯、氟喹啉、大环内酯或其混合物。

6.治疗受伤或烧伤患者或受试者的方法,以改善伤口愈合和/或抑制、减轻或减少所述患者或受试者中脓毒症、脓毒性休克、急性炎症综合征,包括炎症反应综合征(SIRS)和/或急性呼吸窘迫综合征(ARDS)的一种或多种的可能性,该方法包括向所述患者或受试者施用有效量的至少一种PLA2抑制剂和/或金属蛋白酶抑制剂与有效量的至少一种抗生素的组合。

7.根据权利要求6所述的方法,其包括向所述患者或受试者施用至少两种抗生素。

8.根据权利要求6或7所述的方法,其中所述抗生素与至少一种PLA2抑制剂共同施用。

9.根据权利要求6-8中任一项所述的方法,其中所述抗生素与至少一种金属蛋白酶抑制剂共同施用。

10.根据权利要求6-9中任一项所述的方法,其中所述PLA2抑制剂是伐瑞拉迪(LY315920)、甲基伐瑞拉迪(LY333013)、AZD2716-R,S(3-(5'-苄基-2'-氨基甲酰基联苯-3-基)丙酸-作为外消旋混合物或其对映异构体)和LY433771((9-[(苯基)甲基]-5-氨基甲酰基咔唑-4-基}氧乙酸)、达拉帕地、其药学上可接受的盐或其混合物。

11.根据权利要求6-10中任一项所述的方法,其中所述金属蛋白酶抑制剂是普马司他、BB-94(马立马司他)、BB-2516(巴马司他)、伏立诺他、头孢克肟和强力霉素、其药学上可接受的盐或其混合物。

12.治疗患有脓毒症,包括早期脓毒症的患者或受试者的方法,其包括向所述有需要的患者或受试者施用有效量的至少一种抗生素和有效量的至少一种PLA2抑制剂和/或金属蛋白酶抑制剂。

13.根据权利要求12所述的方法,其包括向所述患者或受试者施用至少两种抗生素。

14.根据权利要求12或13所述的方法,其中所述抗生素与至少一种PLA2抑制剂共同施用。

15.根据权利要求12-14中任一项所述的方法,其中所述抗生素与至少一种金属蛋白酶抑制剂共同施用。

16.根据权利要求12-15中任一项所述的方法，其中所述PLA2抑制剂是伐瑞拉迪(LY315920)、甲基伐瑞拉迪(LY333013)、AZD2716-R,S(3-(5'-苄基-2'-氨基甲酰基联苯-3-基)丙酸-作为外消旋混合物或其对映异构体)和LY433771((9-[(苯基)甲基]-5-氨基甲酰基咔唑-4-基}氧乙酸)、达拉帕地、其药学上可接受的盐或其混合物。

17.根据权利要求12-16中任一项所述的方法，其中所述金属蛋白酶抑制剂是普马司他、BB-94(马立马司他)、BB-2516(巴马司他)、伏立诺他、头孢克肟和强力霉素、其药学上可接受的盐或其混合物。

18.保存取自受伤或烧伤的患者或受试者的血液样品的方法，所述受伤或烧伤使患者或受试者处于脓毒症、脓毒性休克、急性炎症综合征，包括炎症反应综合征(SIRS)和/或急性呼吸窘迫综合征(ARDS)中的一种或多种的风险中，所述方法包括在所述血液样品中将有效量的至少一种PLA2抑制剂和/或至少一种金属蛋白酶各自单独、一起或与有效量的至少一种抗生素组合。

19.根据权利要求18所述的方法，其中所述血液样品与至少一种PLA2抑制剂组合。

20.根据权利要求18或19的方法，其中所述抗生素与至少一种金属蛋白酶抑制剂组合。

21.根据权利要求18-20中任一项所述的方法，其中所述PLA2抑制剂是伐瑞拉迪(LY315920)、甲基伐瑞拉迪(LY333013)、AZD2716-R,S(3-(5'-苄基-2'-氨基甲酰基联苯-3-基)丙酸-作为外消旋混合物或其立体异构体)和LY433771((9-[(苯基)甲基]-5-氨基甲酰基咔唑-4-基}氧乙酸)、其药学上可接受的盐或其混合物。

22.根据权利要求18-21中任一项所述的方法，其中所述金属蛋白酶抑制剂是普马司他、BB-94(马立马司他)、BB-2516(巴马司他)、伏立诺他、头孢克肟和强力霉素、其药学上可接受的盐或其混合物。

23.组合物，其包含取自患有受伤或烧伤的患者或受试者的血液样品，所述受伤或烧伤使患者或受试者处于脓毒症、脓毒性休克、急性炎症综合征，包括炎症反应综合征(SIRS)和/或急性呼吸窘迫综合征(ARDS)中的一种或多种的风险中，所述组合物与有效量的至少一种PLA2抑制剂和/或至少一种金属蛋白酶各自单独、一起或与有效量的至少一种抗生素组合。

24.根据权利要求23所述的组合物，其中所述血液样品与至少一种PLA2抑制剂组合。

25.根据权利要求23或24所述的组合物，其中所述组合物包含至少一种抗生素和至少一种金属蛋白酶抑制剂。

26.根据权利要求23-25中任一项所述的组合物，其中所述PLA2抑制剂是伐瑞拉迪(LY315920)、甲基伐瑞拉迪(LY333013)、AZD2716-R,S(3-(5'-苄基-2'-氨基甲酰基联苯-3-基)丙酸-作为外消旋混合物或其对映异构体)和LY433771((9-[(苯基)甲基]-5-氨基甲酰基咔唑-4-基}氧乙酸)、达拉帕地、其药学上可接受的盐或其混合物。

27.根据权利要求23-26中任一项所述的组合物，其中所述金属蛋白酶抑制剂是普马司他、BB-94(马立马司他)、BB-2516(巴马司他)、伏立诺他、头孢克肟和强力霉素、其药学上可接受的盐或其混合物。

28.药物组合物，其用于治疗有风险患有或患有脓毒症、脓毒性休克、急性炎症综合征，包括炎症反应综合征(SIRS)和/或急性呼吸窘迫综合征(ARDS)中的一种或多种的患者，所述药物组合物包含有效量的至少一种抗生素与至少一种PLA2抑制剂和/或至少一种金属蛋

白酶抑制剂的组合。

29.根据权利要求28所述的组合物,其包含至少一种PLA2抑制剂。

30.根据权利要求28或29所述的组合物,其包含至少一种金属蛋白酶抑制剂。

31.根据权利要求28-30中任一项所述的组合物,其中所述PLA2抑制剂是伐瑞拉迪(LY315920)、甲基伐瑞拉迪(LY333013)、AZD2716-R,S(3-(5'-苄基-2'-氨基甲酰基联苯-3-基)丙酸-作为外消旋混合物或其对映异构体)和LY433771((9-[(苯基)甲基]-5-氨基甲酰基咔唑-4-基}氧乙酸)、达拉帕地、其药学上可接受的盐或其混合物。

32.根据权利要求28-31中任一项所述的组合物,其中所述金属蛋白酶抑制剂是普马司他、BB-94(马立马司他)、BB-2516(巴马司他)、伏立诺他、头孢克肟和强力霉素、其药学上可接受的盐或其混合物。

33.抑制或减少有风险的患者出现COVID-19/细胞因子释放综合征的可能性的方法,其包括向所述有风险的患者施用至少一种PLA2抑制剂和/或至少一种金属蛋白酶抑制剂。

34.根据权利要求33所述的方法,其中所述PLA2抑制剂是伐瑞拉迪(LY315920)、甲基伐瑞拉迪(LY333013)、AZD2716-R,S(3-(5'-苄基-2'-氨基甲酰基联苯-3-基)丙酸-作为外消旋混合物)和LY433771((9-[(苯基)甲基]-5-氨基甲酰基咔唑-4-基}氧乙酸)、其药学上可接受的盐或其混合物。

35.根据权利要求33或34所述的方法,其中所述金属蛋白酶抑制剂是普马司他、BB-94(马立马司他)、BB-2516(巴马司他)、伏立诺他、头孢克肟和强力霉素、其药学上可接受的盐或其混合物。

36.根据权利要求1-3中任一项所述的方法,其中将所述PLA2抑制剂和/或所述金属蛋白酶抑制剂组合。

37.在有需要的患者中治疗包括胎粪吸入综合征的新生儿急性呼吸窘迫综合征(新生儿ARDS)的方法,其包括向所述患者施用至少一种PLA2抑制剂。

38.根据权利要求37所述的方法,其中所述PLA2抑制剂是LY315920、LY333013、AZD2716,作为对映异构体富集的物质或作为外消旋混合物或其混合物。

39.根据权利要求37或38任一所述的方法,其中所述新生儿ARDS是胎粪吸入综合征(MAS)。

40.治疗有风险患有或患炭疽或严重急性呼吸综合征冠状病毒感染(SARS或SARS-CoV2)的有需要的患者或受试者的方法,其包括向所述患者或受试者施用有效量的至少一种PLA2抑制剂和/或金属蛋白酶抑制剂和任选至少一种抗生素以在患者或受试者中提供对脓毒症、脓毒性休克、急性炎症综合征,包括炎症反应综合征(SIRS)和/或急性呼吸窘迫综合征(ARDS)的意想不到的抑制、减轻和/或避免。

41.根据权利要求40所述的方法,其包括向所述患者或受试者施用至少两种抗生素与所述PLA2抑制剂和/或所述金属蛋白酶抑制剂组合。

42.根据权利要求40或41所述的方法,其中将至少一种PLA2抑制剂施用于所述患者。

43.根据权利要求40-42中任一项所述的方法,其中将至少一种金属蛋白酶抑制剂施用于所述患者或受试者。

44.根据权利要求40-43中任一项所述的方法,其中所述PLA2抑制剂是伐瑞拉迪(LY315920)、甲基伐瑞拉迪(LY333013)、AZD2716-R,S(3-(5'-苄基-2'-氨基甲酰基联苯-3-

基)丙酸-作为外消旋混合物或其对映异构体)和LY433771((9-[(苯基)甲基]-5-氨基甲酰基呋唑-4-基}氧乙酸)、达拉帕地、其药学上可接受的盐或其混合物。

45.根据权利要求40-44中任一项所述的方法,其中所述金属蛋白酶抑制剂是普马司他、BB-94(马立马司他)、BB-2516(巴马司他)、伏立诺他、头孢克肟和强力霉素、其药学上可接受的盐或其混合物。

46.根据权利要求1-17和33-45中任一项所述的方法,其中所述PLA2抑制剂和所述金属蛋白酶抑制剂是共同施用的。

47.根据权利要求18-22中任一项所述的方法,其中所述PLA2抑制剂和所述金属蛋白酶抑制剂一起使用。

48.根据权利要求23-32中任一项所述的组合物,其包含至少一种PLA2抑制剂和至少一种金属蛋白酶抑制剂。

49.根据权利要求1-22和33-45中任一项所述的方法,其中所述金属蛋白酶抑制剂是普马司他。

50.根据权利要求23-32中任一项所述的组合物,其中所述PLA2抑制剂是伐瑞拉迪、甲基伐瑞拉迪、AZD2716(作为外消旋混合物或作为“R”对映异构体)、其药学上可接受的盐或其混合物。

51.根据权利要求1-22和33-45中任一项所述的方法,其中所述PLA2抑制剂是伐瑞拉迪、甲基伐瑞拉迪、AZD2716(作为外消旋混合物或作为“R”对映异构体)、其药学上可接受的盐或其混合物。

52.根据权利要求23-32中任一项所述的组合物,其中所述PLA2抑制剂是伐瑞拉迪、甲基伐瑞拉迪、AZD2716(作为外消旋混合物或作为“R”对映异构体)、其药学上可接受的盐或其混合物。

53.药物组合物,其包含治疗有效量的至少一种PLA2抑制剂、至少一种金属蛋白酶抑制剂或其混合物与抗生素的组合。

54.根据权利要求53所述的组合物,其中所述抗生素是青霉烷、羧基青霉素、头孢菌素、单环β-内酰胺、碳青霉烯、氟喹啉、大环内酯或其混合物。

55.根据权利要求53所述的组合物,其中所述抗生素是环丙沙星、左氧氟沙星、莫西沙星、青霉素G、强力霉素、氯霉素、氧氟沙星或其混合物。

56.根据权利要求53-55中任一项所述的组合物,其中所述PLA2抑制剂是伐瑞拉迪(LY315920)、甲基伐瑞拉迪(LY333013)、AZD2716-R,S(3-(5’-苄基-2’-氨基甲酰基联苯-3-基)丙酸-作为外消旋混合物或其对映异构体)和LY433771((9-[(苯基)甲基]-5-氨基甲酰基呋唑-4-基}氧乙酸)、达拉帕地、其药学上可接受的盐或其混合物。

57.根据权利要求53-56中任一项所述的方法,其中所述金属蛋白酶抑制剂是普马司他、BB-94(马立马司他)、BB-2516(巴马司他)、伏立诺他、头孢克肟和强力霉素、其药学上可接受的盐或其混合物。

脓毒症和脓毒症样综合征的早期管理和预防

[0001] 相关应用

[0002] 本申请要求2019年10月15日提交的美国临时申请序列号62/915,209的优先权；2020年3月16日提交的62/990,020的优先权；以及2020年4月30日提交的63/017,966的优先权，所有三个申请的全部内容通过引用整体并入本文。

发明领域

[0003] 本发明涉及通过PLA2和金属蛋白酶抑制剂对脓毒症和急性炎症综合征，如全身炎症反应综合征(SIRS)进行早期治疗，包括诊断前治疗，以改善抗生素的性能和在患者或受试者中确认诊断脓毒症和/或SIRS之前和之后的结果。其他的实施方案包括用于治疗由毒素、外伤或由于基底膜或其他损伤导致的缓慢伤口愈合引起的伤口和病变的方法和组合物。进一步的实施方案涉及组合物，包括药物组合物和血液样品组合物。在进一步的实施方案中，本发明涉及证明LY315920、LY333013和相关sPLA2抑制剂是特别有效的COVID-19/细胞因子释放综合征治疗剂-预防剂的实施方案。在实施方案中，所述PLA2抑制剂是伐瑞拉迪(LY315920)、甲基伐瑞拉迪(LY3330I3)、AZD2716-R,S(3-(5′-苄基-2′-氨基甲酰基联苯-3-基)丙酸-作为外消旋混合物)和LY433771((9-[(苯基)甲基]-5-氨基甲酰基咔唑-4-基)氧乙酸)、其药学上可接受的盐或其混合物。在实施方案中，金属蛋白酶抑制剂是单独给药或与优选的sPLA2抑制剂联合给药的普马司他、巴马司他、马立马司他或伏立诺他(普马司他通常是首选的金属蛋白酶)，用于治疗感染、炎症和包括由在宏观和微观尺度上由各种原因引起的细菌性、病毒性、毒液诱导的、烧伤的和创伤的伤口。也公开了加速治疗伤口、急性肾损伤(AKI)、炭疽致死因子毒素相关并发症、ARDS、新生儿和小儿急性呼吸窘迫综合征(新生儿/小儿ARDS)，其包括胎粪吸入综合征的方法，特殊关注AZD2716-R,S(3-(5′-苄基-2′-氨基甲酰基联苯-3-基)丙酸-作为外消旋混合物或其立体异构体，通常是单独的外消旋混合物的“R”对映异构体或其与金属蛋白酶抑制剂(例如，普马司他)的组合或作为用于加速伤口愈合的组合物，如由受伤或影响与上皮细胞相关的结缔组织的毒素引起的伤口的愈合。

[0004] 发明背景和概述

[0005] 基底层膜、上皮和内皮的保存和/或加速愈合是身体几乎每个器官和组织系统健康的基础。这些层构成了几乎所有组织和器官的基本结构。这些层的破坏或功能丧失导致免疫功能、肺系统、胃肠系统、肾系统、皮肤系统和循环系统的发病。总之，这些实验表明，通过上皮层和内皮层保留这种关键结构导致细胞、全身和整个生物体功能的显著改善，这些功能出乎意料地和独特地受到与sPLA2和金属蛋白酶抑制剂组合相关的组合物和药剂盒单独地和组合地保护和治疗。

[0006] 在院前紧急医疗护理以及脓毒症的早期目标导向治疗(EGDT)中，最近在推动越来越早地向患有严重烧伤和/或外伤的患者或受试者施用抗生素以改善和/或预防脓毒症和急性炎症综合征。这种方法的主要问题是它的好处有争议，而且难以降级，但是虽然护理人员和急救人员可能擅长识别与脓毒症和SIRS相关的体征和/或症状，但他们与高级诊断和护理设施的距离限制了准确性，并使正确的实验室采样(例如血培养)和正确的抗生素选择

面临风险。减轻与脓毒症/SIRS相关的生理障碍的方法将有利于这些患者的初始稳定、治疗和最终预后，特别是如果此类方法可以在疾病进展的早期施用。进一步，此类方法将在偏远和资源匮乏的环境以及战区和治疗经常严重烧伤和/或受伤导致感染、脓毒症和SIRS高风险的军人方面具有特别有用的好处。

[0007] 根据长期现场护理(PFC)，受伤的军人最常面临脓毒症和/或SIRS的风险，这是军方关注的领域，其涉及在院前环境中等待患者，通常是受伤的患者，将患者转移到适合进一步治疗受伤患者的医疗设施。有效的预诊断选项的军事好处是巨大的。

[0008] 在受伤患者的治疗中，军事医疗系统安排在五(5)个梯队或护理角色中安：

[0009] 角色1-针对前线，通常是自助/伙伴护理和TCCC(战术战斗伤员护理)。小型单位的医务人员也在这个级别上运作；

[0010] 角色2-针对小型急救站、高级创伤管理和紧急医疗，包括从角色1开始的继续复苏；使患者稳定；

[0011] 角色3-针对战区内的军事治疗设施(MTF)(例如阿富汗的Kandahar医院)；人员配备齐全，可为各类患者提供护理，包括复苏、初始伤口手术、专科手术(普通、骨科、泌尿生殖、胸科、耳鼻喉科、神经外科)和术后治疗

[0012] 角色4-美国地区或拥有众多专家的强大海外医院(例如德国的Landstuhl医院)

[0013] 角色5-大型美国国防部或退伍军人医院

[0014] 也许不足为奇的是，军事/战斗环境中创伤的结果在很大程度上取决于到更高级别护理的运送时间。目前，为了解决常规部队的治疗，军队在从角色1运送回角色3方面变得非常高效，大大减少了时间。这在改善结果和降低发病率/死亡率方面产生了非常积极的结果。但即使在这种最佳情况下，导致急性呼吸窘迫综合征(ARDS)和其他后遗症的脓毒症也是创伤的高风险。长期使用特定抗生素治疗是常态。

[0015] 然而，美国特种作战司令部(USSOCOM)和其他医疗单位在角色1的梯队护理中实施，并在没有得到很好运输支持的地区实施，疏散时间从打电话到来接长达72小时(或更长)。这延长了医务人员支持战场创伤所需的时间，大大增加了受伤患者的风险。

[0016] 可能发生的主要问题之一是导致脓毒症的感染，特别是考虑到可能持续的受伤类型。军方一直在寻找治疗感染的方法，但仍然需要在治疗前进行诊断，或者需要医务人员手头的一般抗生素治疗以及伤口清洁和清创。USSOCOM在该领域的医务人员可以支持的诊断很少或根本没有，它们只携带广谱抗生素，通常对导致脓毒症的几种感染无效。

[0017] 本发明涉及将PLA2/MP抑制剂添加到治疗方案中，该方案将支持抗生素施用以预防或减轻感染毒素的影响，并允许更高水平的护理和/或前线医务人员来支持患者。

[0018] 本发明人出人意料地实现了与炎症病况治疗相关的关键发明，特别是用于预防和减轻与感染相关的炎症和减弱患者脓毒症的可能性。院前护理一直在大力推动越来越早地给予抗生素，直到救护人员在现场这样做。这引发了许多重要的治疗时间问题，不仅在院前环境中，而且在接收设施中也是如此。本发明可用于提供诊断前治疗，以减轻和/或减少有脓毒症风险的患者发生灾难性治疗失败的可能性，从而满足长期未满足的需求。

[0019] 除本文所述的其他概念外，本发明涉及以下概念。早期使用sPLA2抑制剂如伐瑞拉迪(LY315920)、甲基伐瑞拉迪(LY333013)和(AZD2716-R,S,R和S异构体的外消旋混合物或同系列的AZD化合物4)和咔唑，如LY433771，其中其他预防和缓解sPLA2的升高，充分稳定患

者以改善和简化患者的诊断前护理,促进伤口愈合,稳定患者并保持血培养的完整性,减少抗生素前的血培养污染并改善抗生素的性能。

[0020] 虽然有很多关于脓毒症和相关综合征(例如SIRS)的早期识别和治疗的必要性的文章,但重点一直是使用抗菌剂进行早期治疗,特别是因为它涉及到院前和接受急诊科人员的干预措施。未解决的问题是EGDT的问题不仅是人员在进行诊断时最初使用的最佳抗生素以及与以下相关的后果:

[0021] 1.液体和抗生素的误用/过度使用和时间安排;和

[0022] 2.在院前环境中抽取的血培养/样品的中断/充分性。

[0023] 本发明通过在院前或早期医院环境中安全地缓解疑似或确诊脓毒症综合征的影响来解决院前或诊断前液体和抗生素的限制以及1)无需过早从一组可用的抗生素中进行选择,同时缓解不正确或次优抗生素选择的后果2)保持血液的完整性,以便在接收设施进行培养和检测3)保存生命体征,从而在关键领域,如流体管理中允许更大的灵活性。

[0024] 本发明未满足的需要

[0025] 1.早期抗生素是感染、急性炎症及其后遗症结果的关键,并且:

[0026] a.在资源匮乏的环境中很难选择抗生素,即使在接受诊所或医院设施的情况下,最佳的诊断前抗生素或抗病毒药物选择也可能很困难或不可能

[0027] b.不适当/次优的抗生素或抗病毒药物选择可能导致不良结果、过度使用或血培养损坏

[0028] c.小分子抗毒素治疗,以协助治疗抗生素耐药性生物,以帮助抗生素治疗并保持有限的抗生素可用性

[0029] d.如果院前人员和入院前患者有单一的药物、药物混合物或共施用的药物,以在升高或阻止对感染或生物制剂的炎症反应的进展之前改善生理参数,那么治疗方案可以是在不使疾病或治疗复杂化的情况下简化并变得更安全

[0030] e.sPLA2和金属蛋白酶抑制剂的预防性使用、早期使用和抗生素前使用可以提高抗生素的性能,缓解和减少不适当抗生素使用的发生率,同时稳定患者,还可以用作平民和职业暴露风险的人员,如在战争中的生物防御剂并且其本身具有治疗功效(例如伐瑞拉迪/甲基伐瑞拉迪/AZD2716和用于sPLA2抑制的相关化合物和/或例如用于金属蛋白酶抑制的普马司他、巴马司他、马立马司他、伏立诺他)

[0031] f.此类药剂可以储存用于生物防御,以低成本储存在救护车和医院中作为对疑似感染和SIRS的早期反应的一部分,该疑似感染和SIRS是如如那些通过以下方式在社区引起的:

[0032] i.肺炎、溶血性尿毒症综合征、产肠毒素大肠杆菌、尿路感染、伤口感染、感染衍生的毒素如炭疽致死因子、肉毒杆菌和其他类型的菌血症,如由海洋感染(例如弧菌和分枝杆菌)引起的菌血症,这些菌血症迅速传播开来,并经常给予不适当的抗生素,如头孢菌素。

[0033] ii.诊断前的病毒感染,如埃博拉病毒

[0034] g.增加弱化结缔组织的抗生素,如喹诺因(如环丙沙星、左氧氟沙星)的安全性和实用性

[0035] h.在认为sPLA2在与感染或全身炎症反应综合征相关的炎症疾病进展中达到峰值之前,改善抗生素的性能、改善液体管理和EGDT的其他元素。

[0036] i.改善烧伤、外伤、毒素、毒液的伤口管理和愈合，以及皮肤移植物的接受和愈合。

[0037] j.减少与注入CAR-T治疗和其他基于修饰的免疫系统细胞的基于细胞的免疫治疗相关的并发症。

[0038] k.与其他PLA2抑制剂(例如cPLA2、iPLA2、Lp-PLA2)和金属蛋白酶抑制剂联合使用，以定制或预防方式减少不需要的炎症和组织降解反应。

[0039] l.与已经具有理想特性的抗生素联合使用，如内在的sPLA2或金属蛋白酶抑制(例如强力霉素、普马司他、马立马司他、巴马司他)，使院前和早期医院环境中因感染、创伤或因血癌等疾病的炎症诱导治疗(如CAR-T治疗)而面临炎症综合征风险的患者，有更窄的最佳抗生素选择清单。

[0040] m.金属蛋白酶抑制剂可能出人意料地作为单一药物在ARDS和伤口愈合中广泛应用——在ARDS中以及与sPLA2抑制剂联合使用时尤其令人惊讶。

[0041] 对于ARDS的治疗，由2型上皮细胞(T2C)产生的肺表面活性剂是关键的肺保护剂和机械润滑剂，其含有几类脂质，包括磷脂、甘油三酯、胆固醇和对其功能至关重要的脂肪酸。它在肺的先天性和适应性免疫反应中发挥着重要作用，并通过降低表面张力在肺功能中发挥关键作用。肺表面活性剂的宿主防御特性包括表面活性剂组分与病原体(病毒、细菌)或其产物(例如内毒素、病毒糖蛋白)的直接相互作用；通过表面活性剂组分(作为调理素或活性配体)刺激吞噬作用；免疫活性细胞趋化性的影响；以及巨噬细胞对细胞因子释放和活性氧产生的调节。亲水性表面活性剂载脂蛋白SP-A和SP-D在对微生物挑战的先天免疫反应中具有不同的功能。此外，表面活性脂质抑制多种免疫细胞功能，包括淋巴细胞、粒细胞和肺泡巨噬细胞的活化、增殖和免疫反应，甚至可以促进细菌溶解。当肺表面活性剂的第一道防线失效时，激活依赖于上皮和先天免疫细胞上表达的一系列种系编码模式识别受体(PRR)的先天免疫系统。Toll样受体(TLR)是PRR的四大类之一，这些PRR是病原体衍生的、进化上保守的分子结构的传感器。大多数TLR在细胞表面表达，在那里它们与细菌组分和病毒蛋白相互作用。(47)在肺组织中，sPLA2是通过释放脂质介质和通过其在肺表面活性物剂换中的直接作用来实现肺机械功能的正常炎症反应的介质。肺sPLA2通过其表面活性剂的代谢是肺功能的关键介质，并且在位于这些薄但非常重要的液体平面中的表面活性蛋白的稳态和再循环中起关键作用。至关重要的是，肺泡中sPLA2水平升高会导致表面活性剂分解代谢，甚至更多因子释放，该因子包括TNF-α、TNF-β和IL-6。这些炎症和表面活性剂破坏的循环协同作用到，到达对损伤的先天免疫反应变得致命的适应不良的程度。

[0042] 2019冠状病毒病(COVID-19)是由严重急性呼吸系统综合症冠状病毒2(SARS-CoV-2)引起的传染病。冠状病毒主要是在靠近彼此的人之间通过咳嗽、打喷嚏和说话传播。COVID-19会影响上呼吸道(鼻窦、鼻子和喉咙)和下呼吸道(气管和肺)。肺是受COVID-19影响最大的器官，因为病毒经由受体血管紧张素转换酶2(ACE2)进入宿主细胞，ACE2在肺泡上皮II型细胞(T2C)中含量丰富，并在肺泡毛细血管内皮细胞中大量表达。目前迫切需要关注的是，大流行的SARS-CoV-2感染导致急性呼吸窘迫综合征(ARDS)的发病率和死亡率异常高。ARDS是可怕的、危及生命的、难以治疗的由直接或间接生理或身体受伤引起的肺衰竭临床并发症。患有严重COVID-19的患者经常有全身炎症的体征和症状，这可能由Toll样受体介导，并由涉及sPLA2、白细胞介素6(IL-6)和肿瘤坏死因子α(TNF-α)的失调反馈回路驱动。sPLA2的全身性过度表达可能与感染一起发生，这会导致表面活性剂的降解和细胞因子的

过度表达，从而导致ARDS的发作。ARDS与身体、生理和感染性损伤，如由钝性外伤、气压伤和感染(包括SARS-CoV-2感染)引起的损伤有关。与ARDS发展相关的最常见的临床病症是细菌性和病毒性肺炎。当肺部因感染、创伤或炎症状况受损伤时，激活炎症通路。在下呼吸道感染SARS-CoV-2的过程中，对产生表面活性剂的肺泡上皮T2C的损害可能会加剧由此产生的COVID-19的总体严重程度。由肺表面活性剂产生的炎症反应和先天免疫屏障，以及其在先天和适应性免疫反应中的作用，有助于清除病原体，然而，过度炎症会导致肺泡损伤、保护性表面活性剂丧失、内皮和上皮通透性增加，这会导致肺水肿和肺顺应性减少。在分子水平上，sPLA2在肺中表面活性剂和蛋白质水平的稳态中起关键作用。在病理生理效应增加的事件中，如急性呼吸道病毒感染，升高的sPLA2导致过度炎症和表面活性剂磷脂和相关蛋白质的酶促降解，其速率高于其形成的速率。这会导致保护性表面活性剂层丧失，继而导致肺泡损伤、内皮和上皮通透性增加、碎片积聚、先天性和适应性肺免疫功能降低、肺组织功能广泛丧失、肺组织弹性丧失，严重时，ARDS。升高的sPLA2水平或失调的磷脂酶活性可能通过直接损伤肺导致MOF的发展，或者通过升高的sPLA2对肺泡细胞的细胞毒性作用或通过sPLA2降解表面活性剂的能力。sPLA2还可能通过产生多种促炎分子(例如，前列环素、血栓素A2、白三烯)来诱导器官损伤。由此产生的肺水肿和肺顺应性降低会进一步损害保护这些气囊所需的肺泡和产生表面活性剂的细胞。一旦水肿液积聚在肺的间质和空气空间中，临床结果包括低氧血症、气体交换受损、酸碱失衡、二氧化碳排泄减少，最终导致呼吸衰竭。导致炎症和肺组织损失的进一步循环，从而有ARDS特有的一系列功能失调的免疫反应。除了破坏肺微血管和表面活性剂屏障外，增加的组织通透性还可能导致新的过度炎症循环，从而出现一连串上调和功能失调的免疫反应。由于细胞因子和组织因子表达升高，ARDS进一步与凝血异常有关。sPLA2在这种综合征中所起的作用可能是多方面的，因为它可引起炎症并损害表面活性剂，表面活性剂是覆盖肺泡上皮的物质，并通过减少表面张力来防止肺泡塌陷。

[0043] 新生儿和儿童的表面活性剂功能障碍可能发挥作用，因为肺表面活性剂通常在高度复杂和受调节的机制中再循环变得失调。表面活性剂的周转由II型细胞、巨噬细胞和肺泡内层设计。肺泡分泌的富含载脂蛋白的活性表面活性剂聚集体通过肺泡表面的周期性变化转化为缺乏蛋白质的无活性形式，并准备好用II型细胞和肺泡巨噬细胞将其清除。SP由层状体与表面活性剂一起重新分泌，而内吞的磷脂由II型细胞再循环和重新分泌。新生儿(尤其是早产儿)的这一过程比成人或肺损伤者慢。早产和足月新生儿的发病率和死亡率是由于表面活性剂代谢缺陷，该代谢缺陷继发于表面活性剂复合物通过氧化、蛋白水解降解和抑制而加速分解。

[0044] 早产新生儿呼吸窘迫综合征(RDS)在出生后不久出现，即呼吸暂停、发绀、咕噜声、吸气性喘鸣、鼻翼张开、喂养不良和呼吸急促。它是最常见的发病原因之一，在世界范围内发生，男性略占主导。与成熟肺相比，RDS的特征是表面活性剂体积小，该表面活性剂含有较低百分比的二饱和磷脂酰胆碱种类、磷脂酰甘油和表面活性剂蛋白。RDS肺组织病理学发现显示肺泡不张、肺泡和间质水肿以及在扭曲的小气道中弥漫性的透明膜。RDS相关的发病率、严重程度和死亡率通过产前皮质类固醇和产后表面活性剂替代治疗显著减少，表面活性剂治疗已成为RDS早产儿管理的护理标准。

[0045] 胎粪吸入综合征(MAS)是围产期呼吸窘迫的重要原因，发病率和死亡率增加，每年在美国影响约25,000名新生儿。羊水或胎儿的胎粪染色指示胎儿窘迫。从生理学上讲，胎儿

呼吸与液体从气道进入羊水有关。然而，胎儿窘迫导致羊水和胎粪吸入较大的气道，导致在子宫内喘气。已发现胎粪会破坏表面活性剂的纤维结构并降低其表面吸附率。早在生命的最初6小时内，已发现以细胞计数升高和促炎细胞因子IL-1β、IL-6和IL-8为特征的炎症反应与MAS相关。MAS诱发的急性肺损伤以气道阻塞、肺炎、肺动脉高压、通气/灌注不匹配、酸中毒和低氧血症为特征。体外研究表明，胎粪PLA2通过表面活性剂从肺泡膜的竞争性置换来介导剂量依赖性的表面活性剂活性抑制。已知PLA2还会破坏肺泡毛细血管膜，并通过DPPC水解释放的游离脂肪酸和溶血-PC诱导中性粒细胞肺内封存。已经证明推注或稀释的外源性表面活性剂替代物可逆转低氧血症、减少气胸、降低氧疗和机械通气的持续时间、减少住院时间并降低对体外膜肺氧合(ECMO)的需求。然而，使用各种治疗方案(有稀释的表面活性剂的标准的支气管肺泡灌洗(BAL)，或稀释的表面活性剂BAL加单一的早期地塞米松)的比较研究，并没有证明一种治疗形式优于另一种，并且可能与这种形式的肺损伤的异质性的性质有关。另一项随机试验表明，与推注组相比，接受表面活性剂灌洗的婴儿在氧合方面有显著改善、平均气道压力和动脉-肺泡氧张力梯度降低。然而，该研究显示一氧化氮的持续时间、辅助通气或住院时间没有显著差异。

[0046] 定义ARDS为急性肺损伤(ALI)的严重形式和急性肺部炎症综合征，其特征是突然发作、气体交换受损、静态顺应性降低和非静水性肺水肿。高收入国家的儿科ARDS发病率较高。儿童在生命的第一年特别脆弱，感染是ARDS的最常见原因。主要面临风险的人群是患有慢性肺病的早产新生儿，他们会发展为病毒性肺炎、患有免疫缺陷综合征的年龄较大的儿童以及患有儿童期恶性肿瘤的儿童。急性事件的标志是对I型肺泡细胞和内皮细胞的损伤，肺泡-毛细血管屏障的通透性增加，导致富含蛋白质的水肿液流入肺泡，并减少肺泡空间的液体清除。宿主细菌和趋化因子将中性粒细胞吸引到气道中，从而通过酶和细胞因子的表达进一步损害肺泡上皮细胞。II型上皮细胞的损伤导致表面活性剂产生降低，从而导致肺泡塌陷。必须满足四个临床标准才能建立ARDS的临床诊断：(i)急性疾病发作，(ii)胸片上双侧肺部浸润，(iii)肺毛细血管楔压<18mmHg或缺乏左心房高血压的临床证据和(iv)动脉氧分压(PaO2)与吸入氧分数(FiO2)的比<200。(62)相比之下，定义满足前三个标准但表现的PaO2/FiO2的比在200和300之间的患者为患有ALI。尽管引入了新的治疗，但儿科年龄组的ARDS死亡率仍然保持很高。用SP-C表面活性剂治疗的努力是无效的，而在患有ALI的年幼儿童中使用calfactant(Infasurf®)可有效减少呼吸机使用天数和增加生存率。ARDS患者中表面活性剂损伤/丢失的作用已得到认可，并且表面活性剂替代物似乎可以改善儿科原发性直接ARDS的临床结果，这得到了一些临床试验的支持。根据新生儿ARDS网络的初步数据，新生儿ARDS的发病率和死亡率与儿科非常相似。

[0047] 炭疽杆菌是炭疽病的病原体，炭疽杆菌有孢子的持久性和营养阶段的致命毒血症的特点。这种革兰氏阳性细菌形成对不利环境条件具有抗性的孢子，并且可以在牧场中存活数十年。如果摄入或吸入，即使数量很少，孢子也会发芽以建立爆炸性的营养生长，并导致通常对宿主致命的毒血症。主要毒力因子是分泌的锌依赖性金属蛋白酶毒素，称为致死因子(LF)，它通过信号传导通路的破坏、细胞破坏和循环休克对宿主致命。根据HEXXH基序周围的氨基酸序列中的独特特征，锌金属蛋白酶分为五个不同的家族组：嗜热菌蛋白酶、虾青素、沙雷氏菌、基质蛋白和包括蛇毒、炭疽和大肠杆菌相关酶的再溶素金属蛋白酶。后四个家族具有扩展的锌结合位点HEXXHXXGXXH，其中第三个组氨酸充当第三个锌配体，而不是

嗜热菌蛋白酶中更远的谷氨酸。值得注意的是,关键的锌结合基序如下:锌结合基序HEXXH(其中H＝his、E＝glu和x＝任何氨基酸)其存在于许多锌金属蛋白酶中,包括炭疽致死因子(LF)和响尾蛇毒液。

[0048] H E X X H-锌结合金属蛋白酶的一般基序

[0049] HE FG H-炭疽致死因子中保守的锌结合位点

[0050] HE MG H-锌结合响尾蛇毒液金属蛋白酶

[0051] 因此,我们使用响尾蛇毒液作为炭疽LF的模型。对于自然获得性炭疽或武器化炭疽,唯一现有的治疗干预是抗生素治疗,其必须在感染后及早给予,此时受害者可能只会出现轻微的流感样症状。治疗延迟,即使是几个小时,也会大大降低感染患者的存活率。迄今为止,医生可以选择抗生素来消除炭疽感染,但他们没有治疗选择来对抗持续感染期间LF介导的毒血症和组织破坏,或者对抗即使在细菌被抗生素消除后仍然存在的残留毒血症,且先前研究异羟肟酸MP抑制剂的尝试尽管在细胞培养中取得了良好的结果但并未产生令人满意的结果。炭疽杆菌是炭疽病的病原体,通过两种分泌毒素的行为表现出其发病机制。炭疽杆菌产生三种蛋白质,其构成炭疽致死毒素(LT)和水肿毒素(ET)。二分体LT和ET是三种蛋白质的组合:蛋白质保护性抗原(PA)、致死因子(LF)和水肿因子(EF),是该细菌的重要毒力因子。PA是两种毒素共有的受体结合组分,可将LF(蛋白酶)或EF(腺苷酸环化酶)转移到细胞中。针对PA的免疫接种足以防止感染。IIA组分泌的磷脂酶A2(sPLA2-IIA)尤其由巨噬细胞产生,并具有有效的抗菌活性,尤其是对革兰氏阳性细菌。研究人员先前在体外表明,sPLA2-IIA可以杀死发芽的炭疽芽孢杆菌孢子和包裹的杆菌。研究表明,sPLA2-IIA可能在宿主防御炭疽病中起主要作用。相反,这种细菌能够解除宿主免疫系统的武装,至少部分是通过抑制肺泡巨噬细胞的sPLA2-IIA表达来实现。因此,文献教导远离单独使用sPLA2和与MP抑制剂联合使用,没有考虑联合使用以治疗炭疽毒素效应。虽然这些长肽异羟肟酸盐在体外是高效的LF抑制剂,但它们抑制LeTx杀死巨噬细胞的活性相对较弱,其需要μM浓度。有证据表明,在培养细胞中观察到的功效可能至少部分归因于polyArg序列对弗林蛋白酶的弱抑制。调查发现,异羟肟酸酯基团与LF长时间孵育容易水解,将其转化为较弱的LF抑制剂,这可能解释了在细胞中的低功效。因此,令人惊讶的是,发明人发现金属蛋白酶抑制剂普马司他单独或与AZD2716组合有效地治疗小鼠,该小鼠给予足以诱导严重急性肺损伤和ARDS的剂量的LPS/油酸(LPS/OA),小鼠具有直接诱导的ARDS中常见的组织学发现类型和内皮/上皮类型发现,如吸入综合征和化学刺激物以及疾病,如炭疽,所有这些都在金属蛋白酶和sPLA2正常和失调过程之间具有复杂的相互作用。

[0052] 可以设想,根据使用方式和时间,LF抑制剂(LFI)可以阻断LF在巨噬细胞中提供的蛋白水解保护,并允许该细胞在感染早期消除孢子(如果怀疑有意释放炭疽病,则这可以用于预防性使用),或者更可能的是,LFI将用于在活动性感染期间阻断LF的后期影响并增加宿主存活的可能性。毫无疑问,后者将用于抗生素的辅助治疗。

[0053] 重要的是,sPLA2抑制剂如伐瑞拉迪(LY315920)、甲基伐瑞拉迪(LY333013)、AZD2716-R,S(3-(5′-苄基-2′-氨基甲酰基联苯-3-基)丙酸-作为外消旋混合物或其立体异构体,优选外消旋混合物的“R”对映异构体)和LY433771((9-[(苯基)甲基]-5-氨基甲酰基咔唑-4-基}氧乙酸)作为治疗剂也由本发明支持。金属蛋白酶也由本发明支持使用。重要的金属蛋白酶抑制剂包括普马司他、BB-94(马立马司他)、BB-2516(巴马司他)、伏立诺他、头

孢克肟和强力霉素，但在这些危及生命的疾病、病况中未认识到或意识到这些药剂，或未认识或意识到单独或联合使用他们的时机可以预防、减轻和逆转病况，这些病况的治疗可能意外受益于单独或联合使用这些化合物。实例包括ARDS类型的疾病状态和/或从新生儿到成人的病况，用于预防和/或改善炭疽引起的肺和肾损伤，以及加速伤口和不愈合溃疡的愈合以及由适应不良的宿主反应或残留毒素驱动的残留毒性反应(例如来自蛇)。

[0054] 发明概述

[0055] 本发明涉及单独使用有效量的至少一种PLA2抑制剂和/或至少一种金属蛋白酶抑制剂或优选与至少一种抗生素联合使用，以降低受损伤患者或受试者患有威胁生命的炎症综合征以致感染的可能性，该感染将产生脓毒症、脓毒性休克、急性炎症综合征，如全身炎症反应综合征(SIRS)和/或急性呼吸窘迫综合征(ARDS)中的一种或多种。这些组合物和方法也可用于治疗与炎症综合征如炭疽(炭疽杆菌)和冠状病毒(尤其包括严重急性呼吸综合征冠状病毒(例如SARS或SARS-CoV2)相关或具有继发效应的疾病状态和病况。在实施方案中，PLA2抑制剂是伐瑞拉迪(LY315920)、甲基伐瑞拉迪(LY333013)、AZD2716-R,S(3-(5′-苄基-2′-氨基甲酰基联苯-3-基)丙酸-作为外消旋混合物或其立体异构体，优选外消旋混合物的“R”对映异构体)和LY433771((9-[(苯基)甲基]-5-氨基甲酰基咔唑-4-基}氧乙酸)、其药学上可接受的盐或混合物。在实施方案中，金属蛋白酶抑制剂是普马司他、BB-94(马立马司他)、BB-2516(巴马司他)、伏立诺他、头孢克肟和强力霉素、其药学上可接受的盐或其混合物等。

[0056] 在一个实施方案中，本发明涉及降低处于危及生命的炎症综合征(尤其包括感染)风险的受损伤患者或受试者产生脓毒症、脓毒性休克、急性炎症综合征(无论是否是医源性的)或急性呼吸窘迫综合征中的一种或多种的可能性的方法，该方法包括向所述患者或受试者单独或与至少一种抗生素联合施用有效量的至少一种PLA2抑制剂和/或至少一种金属蛋白酶抑制剂。本发明特别适用于治疗严重损伤和可导致炎症综合征的感染，包括炭疽和SARS/SARS-CoV2感染。

[0057] 在一个实施方案中，本发明涉及向严重受损伤或烧伤的患者或受试者施用治疗感染的有效量的抗生素与有效量的至少一种PLA2抑制剂和/或金属蛋白酶抑制剂组合，其中严重受损伤或烧伤使该患者或受试者处于脓毒症、脓毒性休克、伤口愈合缓慢或不良，包括皮肤移植物、急性炎症综合征，包括炎症反应综合征(SIRS)和/或急性呼吸窘迫综合征(ARDS)的一种或多种风险中。在实施方案中，该方法包括施用至少两种抗生素和至少一种PLA2抑制剂和/或至少一种金属蛋白酶抑制剂。根据本发明，已发现共同施用有效量的至少一种抗生素和至少一种PLA2抑制剂和/或至少金属蛋白酶抑制剂将在有风险的患者或受试者中提供对脓毒症、脓毒性休克、炎症反应综合征(SIRS)和/或急性呼吸窘迫综合征(ARDS)的意想不到的抑制、减轻或避免。在实施方案中，PLA2抑制剂是伐瑞拉迪(LY315920)、甲基伐瑞拉迪(LY333013)、AZD2716-R,S(3-(5′-苄基-2′-氨基甲酰基联苯-3-基)丙酸-作为外消旋混合物或其立体异构体，优选外消旋混合物的“R”对映异构体)和LY433771((9-[(苯基)甲基]-5-氨基甲酰基咔唑-4-基}氧乙酸)、其药学上可接受的盐或混合物。在实施方案中，金属蛋白酶抑制剂是普马司他、BB-94(马立马司他)、BB-2516(巴马司他)、伏立诺他、头孢克肟和强力霉素、其药学上可接受的盐或其混合物等。

[0058] 在一个实施方案中，本发明涉及治疗患有疑似脓毒症的患者或受试者，脓毒症包

括早期脓毒症或其他炎症综合征,或包括向所述有需要的患者或受试者施用有效量的至少一种抗生素和有效量的至少一种PLA2抑制剂和/金属蛋白酶抑制剂。在实施方案中,该方法包括施用至少两种抗生素和至少一种PLA2抑制剂和/或至少一种金属蛋白酶抑制剂。根据本发明,已发现共同施用有效量的至少一种抗生素和至少一种PLA2抑制剂和/或至少金属蛋白酶抑制剂将对有风险的患者或受试者中的脓毒症、脓毒性休克、急性炎症综合征,包括炎症反应综合征(SIRS)和/或急性呼吸窘迫综合征(ARDS)安全地提供意外的预防、抑制、减轻或避免。在实施方案中,PLA2抑制剂是伐瑞拉迪(LY315920)、甲基伐瑞拉迪(LY333013)、AZD2716-R,S(3-(5′-苄基-2′-氨基甲酰基联苯-3-基)丙酸-作为外消旋混合物或其立体异构体,优选外消旋混合物的"R"对映异构体)和LY433771((9-[(苯基)甲基]-5-氨基甲酰基咔唑-4-基}氧乙酸)、其药学上可接受的盐或混合物。在实施方案中,金属蛋白酶抑制剂是普马司他、BB-94(马立马司他)、BB-2516(巴马司他)、伏立诺他、头孢克肟和强力霉素、其药学上可接受的盐或其混合物等。

[0059] 在一个实施方案中,本发明涉及治疗患有炭疽或严重急性呼吸综合征冠状病毒(SARS和SARS-CoV2)感染的患者,包括向所述患者或有需要的受试者施用有效量的至少一种PLA2抑制剂和/金属蛋白酶抑制剂,任选地与至少一种抗生素或其他治疗剂组合以减少有需要的患者或受试者中的脓毒症、脓毒性休克、急性炎症综合征,包括炎症反应综合征(SIRS)和/或急性呼吸窘迫综合征(ARDS)中的任何一种或多种的可能性和/或减轻或抑制其影响。

[0060] 在实施方案中,本发明还涉及用于保存取自患有损伤或烧伤的患者或受试者的血液样品的方法,这些损伤或烧伤使患者或受试者处于脓毒症、脓毒性休克、急性炎症综合征,包括炎症反应综合征(SIRS)和/或急性呼吸窘迫综合征(ARDS),该方法包括在所述血液样品中将有效量的至少一种PLA2抑制剂和/或至少一种金属蛋白酶各自单独、组合在一起或与有效量的至少一种抗生素联合使用。在实施方案中,PLA2抑制剂是伐瑞拉迪(LY315920)、甲基伐瑞拉迪(LY333013)、AZD2716-R,S(3-(5′-苄基-2′-氨基甲酰基联苯-3-基)丙酸-作为外消旋混合物或其立体异构体,优选外消旋混合物的"R"对映异构体)和LY433771((9-[(苯基)甲基]-5-氨基甲酰基咔唑-4-基}氧乙酸)、其药学上可接受的盐或混合物。在实施方案中,金属蛋白酶抑制剂是普马司他、BB-94(马立马司他)、BB-2516(巴马司他)、伏立诺他、头孢克肟和强力霉素、其药学上可接受的盐或其混合物等。

[0061] 在实施方案中,本发明涉及用于在有需要的患者或受试者中减轻、抑制或减少脓毒症、脓毒性休克、急性炎症综合征,包括炎症反应综合征(SIRS)、溶血性尿毒症综合征(HUS)和/或急性呼吸窘迫综合征(ARDS)的可能性的药物组合物,该组合物包含有效量的至少一种抗生素与至少一种PLA2抑制剂和/或至少一种金属蛋白酶抑制剂的组合。在实施方案中,PLA2抑制剂是伐瑞拉迪(LY315920)、甲基伐瑞拉迪(LY333013)、AZD2716-R,S(3-(5′-苄基-2′-氨基甲酰基联苯-3-基)丙酸-作为外消旋混合物或其立体异构体,优选外消旋混合物的"R"对映异构体)和LY433771((9-[(苯基)甲基]-5-氨基甲酰基咔唑-4-基}氧乙酸)、其药学上可接受的盐或混合物。在实施方案中,金属蛋白酶抑制剂是普马司他、BB-94(马立马司他)、BB-2516(巴马司他)、伏立诺他、头孢克肟和强力霉素、其药学上可接受的盐或其混合物等。在与炭疽相关联的情况下,抗生素为环丙沙星、左氧氟沙星、莫西沙星、青霉素、强力霉素、氯霉素、氧氟沙星及其混合物。

[0062] 在实施方案中，本发明还涉及一种组合物，该组合物包含取自患有损伤或烧伤的患者或受试者的血液样品，这些损伤或烧伤使患者或受试者处于脓毒症、脓毒性休克、急性炎症综合征，包括炎症反应综合征(SIRS)和/或急性呼吸窘迫综合征(ARDS)中的一种或多种风险中，与有效量的至少一种PLA2抑制剂和/或至少一种金属蛋白酶各自单独、一起或与有效量的至少一种抗生素联合使用。在实施方案中，PLA2抑制剂是伐瑞拉迪(LY315920)、甲基伐瑞拉迪(LY333013)、AZD2716-R,S(3-(5′-苄基-2′-氨基甲酰基联苯-3-基)丙酸-作为外消旋混合物或其立体异构体，优选外消旋混合物的“R”对映异构体)和LY433771((9-[(苯基)甲基]-5-氨基甲酰基咔唑-4-基}氧乙酸)、其药学上可接受的盐、立体异构体或混合物。在实施方案中，金属蛋白酶抑制剂是普马司他、BB-94(马立马司他)、BB-2516(巴马司他)、伏立诺他、头孢克肟和强力霉素、其药学上可接受的盐或其混合物等。

[0063] 本发明满足了本领域长期以来的需求，因为该方法和组合物可用于治疗患有严重烧伤或损伤(无需进一步诊断)的患者或受试者，以显著减轻、抑制或减少有需要的患者或受试者中的一种或多种脓毒症、脓毒性休克、急性炎症综合征，包括炎症反应综合征(SIRS)和/或急性呼吸窘迫综合征(ARDS)的可能性。

[0064] 在其他的实施方案中，本发明还涉及新生儿ARDS，包括胎粪吸入综合征(MAS)的治疗，胎粪吸入综合征是危及生命的新生儿ARDS类型，具有高死亡率并且没有批准的治疗。胎粪吸入综合征(MAS)已知会损害表面活性剂。已知表面活性剂功能受损并与肺通气相关，并且由于这些变化，表面活性剂纳米结构也受损。新生儿ARDS与其他形式的成人和儿童ARDS有一些共同特征，并支持开发新的表面活性剂保护和抗炎策略，如表面活性剂(猪和合成的)的组合或用IV sPLA2抑制剂，如LY315920、AZD2716(作为外消旋混合物或其立体异构体，优选外消旋混合物的“R”对映异构体)或其混合物对患者进行预处理。或者，在优选的实施方案中，这些药物可以经由气管内或经口胃管给予(LY333013、AZD2716(作为外消旋混合物或其立体异构体，优选外消旋混合物的“R”对映异构体)，参见Giordanetto et al., Med.Chem.Lett.2016,7,884-889,其通过引用并入本文。脱靶效应可通过LY315920或LY333013的手性分离最小化。该策略的独特特点包括减少细胞因子产生的和表面活性剂的保存的组合。没有其他药物策略可以同时在MAS或新生儿ARDS中产生这些关键的临床效果。

[0065] 该策略除了新生儿和儿科的应用外，还包括剂量、剂型、载体(例如携带sPLA2抑制剂的表面活性剂)，所有递送途径、时机和基于体重的给药都可以应用于任何原因的成年ARDS患者，并与抗病毒、抗生素和抗凝剂，如肝素、低分子量肝素或类固醇组合。与基于抗体的生物反应调节剂不同，合成的小分子抑制剂具有出色的组织渗透性并防止中性粒细胞硬化。

[0066] 在优选的实施方案中，LY315920、AZD2716作为立体异构体或外消旋混合物被组合。或者，在优选的实施方案中，这些药物可以经由气管内或经口胃管给予(LY333013、AZD2716(作为外消旋混合物或其立体异构体，优选外消旋混合物的“R”对映异构体)，参见Giordanetto et al.,Med.Chem.Lett.2016,7,884-889中的“化合物9”，提供了这种优越的组织穿透性和更短的半衰期，因此与长半衰期抗体治疗相比，结核病或肝炎再激活的风险降低了患者和大量人群的风险有中期和慢性免疫抑制的肺部和全身性疾病的风险。

[0067] 在优选的实施方案中，LY315920、AZD2716(作为外消旋混合物或其立体异构体)组合。或者，在优选的实施方案中，这些药物可以经由气管内或经口胃管给药(LY333013、

AZD2716(作为外消旋混合物或其立体异构体,优选作为外消旋混合物的"R"对映异构体),Giordanetto et al.中的"化合物9",并且具有同时治疗影响贫困人口、影响低收入和中等收入国家采用纯军事、科学或军事、科学和民事服务相结合的远征军事和远征行动的多种疾病的独特特点。

[0068] 本发明在至少六个方面推进了现有技术:

[0069] 1)时机——尤其是在患者或受试者体内失调或外源性sPLA2和MP活性之前使用以获得有益效果

[0070] 2)增强抗生素作用

[0071] 3)提高抗生素选择/性能和液体管理的灵活性

[0072] 4)预防CAR-T(和其他基于细胞的治疗)炎症事件

[0073] 5)预防内源性和外源性毒素(如炭疽致死因子)造成的细胞损伤

[0074] 6)改善伤口愈合

[0075] 本发明在下文呈现的部分中更进一步详细地描述。

附图说明

[0076] 图1、表1显示了根据美国胸科学会(ATS)研讨会报告(Aeffner et al.Tox Path,43:1074-1092,2015)建模的ARDS特点和评分系统,以比较小鼠肺损伤。显示表1中ATS标准特点的示例幻灯片展示为图1和图2。

[0077] 图1A显示了如表1所总结的由LPS/OA组合诱发的ARDS小鼠的肺泡病理学特点。

[0078] 图1B显示了如表1所总结的由LPS/OA组合诱导的ARDS小鼠的正常肺泡和肺泡病理学特点。

[0079] 图2显示鼻内AZD2716在24和48小时保护和减少鼻内应用LPS/OA对肺泡的损伤。鼻内AZD2716在A)24小时(N=3只小鼠/组)和B)48小时(N=2只小鼠/组)时保护和减少鼻内应用的LPS/OA造成的肺泡损伤;每次分析至少25个高功率场(HPF)。*表示$p<0.05$。基于ATS研讨会评分系统(表1),鼻内AZD2716保护Black-6小鼠免受联合的LPS/OA诱导肺损伤和ARDS。与昏睡、呼吸急促的对照相比,治疗的动物在24和48小时时有活力、警觉和反应灵敏的。小鼠在24小时的录音清楚地表明肺表面张力的减少和肺顺应性的增加,指示肺表面活性剂的保存(见下文,图3)。

[0080] 图3显示了小鼠的复合肺听力图,表明了鼻内给药AZD2716对ARDS的保护作用,表明治疗(安静)和未治疗(大声)小鼠之间存在约10dB的差异。小鼠体内积聚的液体也会使肺部变得沉重和僵硬,这会降低肺部的扩张能力,并在肺泡随着呼吸做功增加而突然扩张时发出噼啪声。这是经由负责产生表面活性剂的II型上皮细胞防止表面活性剂降解或恢复的结果。音频文件的测量显示,暴露于IN LPS/OA混合物的未处理和处理过的小鼠群体之间大约有10db的差异:对照和处理过的动物之间,距最大-38.5db(处理过,更安静)和距最大-29.7db(控制,更响)。

[0081] 图4、表2显示普马司他在效力方面优于炭疽致死因子抑制剂。IC_{50}s报告为微摩尔(μM)浓度,并选为后续研究的测试品,尽管马立马司他和巴马司他在相同的测定中通过效力测量具有良好至优异的性能。普马司他比其他异羟肟酸金属蛋白酶抑制剂(包括炭疽致死因子抑制剂)更有效。几种毒液可引起ARDS和肾损害,与肺部和全身性炭疽中的细胞变化

相似。根据HEXXH基序周围的氨基酸序列中的独特特征，锌金属蛋白酶分为五个不同的家族组：嗜热菌蛋白酶、虾青素、沙雷氏菌、基质蛋白和再溶素金属蛋白酶。后四个家族具有扩展的锌结合位点HEXXHXXGXXH，其中第三个组氨酸充当第三个锌配体，而不是嗜热菌蛋白酶中更远的谷氨酸。进一步，我们强调：

[0082] H E X X H-锌结合金属蛋白酶的一般基序

[0083] HE FG H-炭疽致死因子中保守的锌结合位点

[0084] HE MG H-锌结合响尾蛇毒液金属蛋白酶

[0085] 出于这个原因，选择普马司他用于小鼠肺损伤和ARDS研究以及随后的ECIS研究，并与sPLA2抑制剂联合使用。对于这些实施方案，普马司他为何比这些其他抑制剂更有效没有已知的解释，并且没有考虑将其作为治疗剂来对抗由炭疽致死因子、毒性金属蛋白酶引起的毒素损伤。以前没有报道普马司他比炭疽致死因子抑制剂更有效，但如表2所示明显更有效。Sistrurus毒液被用作炭疽致死因子抑制剂的替代品，因为致死因子抑制剂对Sistrurus毒液金属蛋白酶活性具有高效力(表2)其类似于天然炭疽致死因子，也被称为“锌”类金属蛋白酶(图6、8)。

[0086] 图5显示口服普马司他和口服AZD2716在48小时拯救和减少LPS/OA诱导的小鼠ARDS的损害。出乎意料的是，经普马司他治疗的小鼠在临床上是最有活力、最警觉和反应最灵敏的，这对治疗ARDS和疾病，如炭疽具有重要意义。这些结果显示AZD2716和普马司他在拯救LPS/OA诱导的ARDS小鼠时改善临床和组织病理学发现的能力。令人惊讶的是，普马司他治疗的小鼠在临床上优于AZD2716治疗的小鼠(普马司他>AZD2716＝普马司他+AZD2716对照)，并指示在治疗炭疽和其他合胞体形成的病毒和细菌病原体及其复杂的毒素(例如炭疽致死因子，金属蛋白酶)中的特定潜力。这两种药物的组合显著改善了ARDS的两个关键组分(肺泡内浸润和与肺水肿相关的蛋白质沉积)的结果，表明了这些药物单独和联合以治疗致命病况，如SARS-CoV-2相关的ARDS和SIRS以及由炭疽杆菌引起的ARDS，例如，依赖金属蛋白酶和sPLA2侵入肺组织并引起广泛炎症(SIRS)的潜力。显著预防肺毛细血管渗漏、炎症、出血意味着保留内皮细胞层和上皮细胞层。

[0087] 图6显示毒液毒素产生的细胞损伤和脱落可通过ECIS(图7-12)量化，这与在包括肾、肺和皮肤在内的全身上皮表面中发现的情况相当。

[0088] 图7显示从含有平衡金属蛋白酶/sPLA2的毒液(毒素:A.contortrix laticinctus全毒液)中拯救上皮细胞。

[0089] 图8显示了从平衡的金属蛋白酶/丝氨酸蛋白酶但sPLA2含量低的毒液(毒素：Whole Sistrurus venom)中拯救上皮细胞。Sistrurus毒液用作炭疽致死因子的替代物，而普马司他用作比较异羟肟酸盐抑制剂。

[0090] 图9显示AZD2716与伐瑞拉迪一样，在存在如通过抗性测量的高sPLA2含量毒液毒素(毒素:C.scutulatus全毒液)的情况下保持细胞功能和细胞-细胞连接完整性。

[0091] 图10显示伐瑞拉迪与之前图9中的AZD2716一样，恢复和稳定毒液属和地理区域的上皮细胞(毒素:C.scutulatus和Daboia russelli-Pakistan)。伐瑞拉迪与前面图9中的AZD2716一样，可恢复和稳定毒液属和地理区域的上皮细胞。因此，证明伐瑞拉迪可以保护和恢复其他器官系统(如肺、皮肤或胃肠道)中的肾功能或类似结构，使其免受病毒感染、生物体如炭疽以及毒液的侵害。顶行：原始数据显示为电阻和电容的函数(从左到右)。下排：

显示伐瑞拉迪从左到右恢复和稳定细胞间附着(电阻)和细胞活力(电容)的累积数据。C.scutulatus毒液(北美),4剂,每剂N＝2;D.russelli(巴基斯坦变体)2个剂量浓度,每剂N＝2)伐瑞拉迪:0.05mg/ml和0.01mg/mL两种剂量之间的反应没有显著差异,因此合并了反应。阴性对照:仅在培养基中N＝2个肾上皮(vero)细胞。

[0092] 图11显示低剂量普马司他+伐瑞拉迪可在响尾蛇毒液中预防损伤并加速伤口愈合,响尾蛇毒液含有导致慢性伤口和不愈合溃疡的类似酶。低剂量普马司他+伐瑞拉迪在响尾蛇毒液中可防止损伤并加速伤口愈合,响尾蛇毒液含有类似的酶,可导致慢性伤口和不愈合溃疡。电流通过所有孔产生的伤口。+对照细胞(顶线):大的标准偏差和增加的电容指示细胞死亡和从基底膜脱离表明愈合的不稳定性。与通常单独使用任何一种相比,用较低剂量的伐瑞拉迪和普马司他处理的细胞产生了与未受损伤的对照细胞相当的意外伤口愈合(分别为中间和底部)。B.在存在快速毒性剂量的非洲锯鳞蝰(Echis ocellatus)毒液时,普马司他和低剂量普马司他加伐瑞拉迪的组合即使在持续存在的毒液中也会增加细胞连接的紧密度,这对于来自Echis物种的急性毒性和伤口愈合以及在细胞损伤的一般愈合都有用。在这两项研究中,药物都是在暴露于毒液后使用的。在ARDS和感染的肾和肺部影响中可以看到上皮细胞的类似变化,如由炭疽经由金属蛋白酶和/或sPLA2介导的途径引起的感染。

[0093] 图12显示,即使在存在毒素(毒素:侏罗纪响尾蛇(Sistrurus miliarius barbouri),从国家天然毒素研究小组获得的全毒液)存在时,低剂量伐瑞拉迪+普马司他也会加快伤口愈合速率,即使在暴露于毒液后增加电击伤也是如此。与通常单独使用任何一种相比,用较低剂量的伐瑞拉迪和普马司他处理的细胞产生了意想不到的协同伤口愈合速率。在存在快速毒性剂量的S.miliarius毒液时,即使在持续存在作为急性毒性和伤口愈合的替代系统的毒液的情况下,普马司他和低剂量普马司他加伐瑞拉迪的组合也会增加细胞连接的紧密度。在ARDS和感染的肾和肺部影响中可以看到上皮细胞的类似变化,如由炭疽经由金属蛋白酶和/或sPLA2介导的途径引起的感染。伐瑞拉迪和普马司他的组合证明了伤口愈合速率出乎意料地快,其产生A)加速恢复细胞-细胞连接紧密度(电阻)以及B)恢复细胞活力。0＝普马司他。这对于许多伤口愈合治疗剂具有广泛的、意想不到的意义。

[0094] 发明详述

[0095] 在整个说明书中将使用以下术语来描述本发明。在本文未具体定义术语的情况下,该术语应被理解为以与本领域普通技术人员对其使用一致的方式使用。

[0096] 在提供数值范围的情况下,除非上下文另有明确规定,否则应理解每个中间值至下限单位的十分之一,在该范围的上限和下限与该规定范围内的任何其他规定或中间值之间的值都包含在本发明内。这些较小范围的上限和下限可以独立地包括在较小范围内,也包括在本发明内,但受所述范围内任何具体排除的限制的限制。在所述范围包括一个或两个限制的情况下,排除那些包括的限制中的任一个的范围也包括在本发明中。在一个或多个马库什基团中可能存在取代基的情况下,应理解仅使用那些形成稳定键的取代基。

[0097] 除非另有定义,本文使用的所有技术和科学术语与本发明所属领域的普通技术人员通常理解的含义相同。尽管任何与本文描述的这些相似或等效的方法和材料也可以用于本发明的实践或测试,现在描述优选的方法和材料。

[0098] 必须注意,如本文和所附权利要求中使用的,单数形式“一”“和”以及“此”包括复

数引用,除非上下文另有明确规定。

[0099] 此外,以下术语应具有以下定义。

[0100] 术语“患者”或“受试者”在整个说明书上下文中用于描述动物,通常是哺乳动物,尤其包括驯养动物,优选人,向其提供治疗,包括预防性治疗(预防法)。对于对特定动物如人患者具有特异性的那些感染、病况或疾病状态的治疗,术语患者是指该特定动物。在大多数情况下,患者或受试者是一种或两种性别的人患者。

[0101] 术语“化合物”在本文中用于描述本文公开的任何特定化合物或生物活性剂,包括任何和所有立体异构体(包括非对映异构体)、单个光学异构体(对映异构体,包括关于化合物AZD2716的)或外消旋混合物、药学上可接受的盐和前药形式。本文中的术语化合物是指稳定的化合物。在其在上下文中的使用中,术语化合物可以指如本文另外描述的单一化合物或化合物的混合物。

[0102] 除非另有说明,术语“有效”在本文中用于描述当在其使用范围内使用时产生或影响预期结果的化合物或组分的量,无论该结果是否涉及预防和/或治疗感染和/或疾病状态或如本文另外描述的。术语有效包含在本申请中另外描述或使用的所有其他有效量或有效浓度术语(包括术语“治疗有效”)。

[0103] 如本文所用,术语“药学上可接受的”是指化合物、组合物,包括盐形式,适合施用于受试者以实现本文所述的治疗,而没有考虑到疾病的严重性和必要性的过度有害的副作用的治疗。

[0104] 如本文在上下文中使用的,术语“治疗(treat、treating、treatment等)”还指为处于任何疾病状态或病况风险中的患者提供益处的任何行动(根据本发明其可以被治疗(例如,减轻、抑制、减少严重程度、治愈等)。如本文所用,治疗主要包括治疗性治疗,但也可以包括预防性和治疗性治疗,这取决于治疗的背景。术语“预防性的”当在上下文中使用时,是指降低发生的可能性,或在某些情况下,在治疗本文另外描述的疾病状态或病况的上下文中减少发生的严重性。

[0105] 术语“共同给药”是指同时向患者施用至少两种化合物或组合物,使得在给定时间点可在患者体内发现两种或更多种化合物各自的有效量或浓度。尽管根据本发明的化合物可以同时共同施用于患者,但该术语包括同时或不同时间施用两种或更多种药剂,只要所有共同施用的化合物或组合物的有效浓度为在给定时间在主题中找到。根据本发明的化合物可以与一种或多种额外的生物活性剂一起施用以解决治疗的患者或受试者的特定疾病状况。

[0106] 术语“预防”在上下文中用于表示由于单独或与另一种药剂联合施用或同时施用一种或多种化合物或组合物而发生的病况或疾病状态的“可能性减少”。因此,术语预防在定性测量的上下文中使用,并且应理解使用根据本发明的化合物来减少如本文另外描述的病况或疾病状态发生的可能性将不是绝对的,但将反映化合物减少在需要此类预防的患者或受试者群体中发生的可能性的能力。

[0107] 术语“脓毒症”用于描述使感染复杂化的临床综合征。它的特征是在远离感染的组织中出现炎症迹象(血管扩张、白细胞积聚、微血管通透性增加)。全身炎症反应综合征(SIRS)也是临床综合征,它使非感染性损伤(例如,急性胰腺炎、肺挫伤)复杂化。关于脓毒症和SIRS的发病和进展的理论主要集中在炎症反应的失调,包括促炎介质的大量和不受控

制的释放引发一系列导致广泛组织损伤的事件的可能性。这种反应可导致多器官功能障碍综合征(MODS),这是与这些综合征相关的高死亡率的原因。

[0108] 脓毒症通常与细菌感染有关,其特征是全身炎症状态(SIRS)和存在已知或疑似感染。身体可能会通过免疫系统对血液、尿液、肺、皮肤或其他组织中的细菌产生这种炎症反应。脓毒症也被称为"血液中毒"或败血症。严重脓毒症是全身炎症反应,加上感染,加上至少存在一种器官功能障碍。败血症(有时也称为菌血症)是指血液中存在致病微生物,导致脓毒症。

[0109] 脓毒症是危及生命的疾况,其中身体正在与经由血液传播的严重感染作斗争。如果患者变成"脓毒症的",他或她可能会出现低血压,导致血液循环不良和重要组织和器官的血液灌注不足,从而导致休克。当感染是休克的原因时,这种休克状况通常称为脓毒性休克,以将其与失血或其他原因引起的休克区分开来。脓毒症和脓毒性休克可能是由于身体自身的防御系统或由感染剂产生的有毒物质引起的。脓毒症的存活率取决于患者的基本医疗状况、诊断的速度、引起感染的微生物以及患者的年龄。

[0110] 在美国,根据疾病控制和预防中心的数据,脓毒症是非冠状动脉ICU患者的第二大死因,也是第十大常见死因(第一个是心脏病)。脓毒症在老年人、免疫功能低下和危重患者中很常见,也更危险。它发生在所有住院治疗的1-2%中,占重症监护病房(ICU)床位利用率的25%。它是全球重症监护病房死亡的主要原因,死亡率从脓毒症的20%到严重脓毒症的40%到脓毒性休克的>60%的范围。

[0111] 脓毒性休克是由严重感染和脓毒症导致的组织灌注和氧气递送减少引起的医疗紧急情况,尽管微生物可能是全身性的或局限于特定部位。它可导致多器官功能障碍综合征(以前称为多器官衰竭)和死亡。它最常见的受害者是儿童、免疫功能低下的个体和老年人,因为他们的免疫系统无法像健康成年人那样有效地应对感染。脓毒性休克患者经常在重症监护室接受治疗。脓毒性休克的死亡率约为25%-50%(参见美国专利申请文件号20140162978)。最佳EGDT的许多细节仍未解决且存在争议。本发明解决或缓解了EGDT时机和协议灵活性的几个关键要素,为复杂和危重病和受损伤患者的这种长期未满足的需求的患者护理带来了新的和关键的进步。

[0112] 脓毒症患者的充分管理通常因脓毒症确诊后延迟施用治疗而变得复杂。适当的抗生素治疗每延迟一小时,相关联的死亡率就会显著上升。

[0113] 如本文和上下文中使用的"脓毒症"包括所有上述脓毒症状态、病况和临床症状,例如"脓毒症"包括但不限于全身炎症反应综合征(SIRS)、败血症和脓毒性休克。

[0114] 术语"早期脓毒症"用于描述脓毒症在完全脓毒症状态发生之前的初始阶段。识别早期脓毒症的迹象并在尚未开始治疗的情况下立即寻求治疗非常重要,因为感染可以迅速传播-通常在几个小时内。当体内感染进入血液并扩散到全身时,就会发生脓毒症;这可能导致脓毒性休克,这是潜在的致命病况。脓毒症的一些最早迹象包括高烧、疲劳感、心率加快、呼吸急促或呼吸困难。专家通常会寻找至少两种症状来怀疑和诊断脓毒症。确诊的感染也是这些症状之一。

[0115] 如果最初的感染源位于身体表面,早期脓毒症的最佳指标之一是从该区域出现并在感染肢体上移动的红色条纹。然而,并非所有感染都是表面的,这就是为什么识别早期脓毒症的其他迹象也很重要。

[0116] 感染通常会出现稳步增加的发烧，但如果没有核心温度测量可能不明显。随着发烧的增加，可能会出现肌肉疼痛和虚弱，有些人可能还会出现关节疼痛。这种发烧也可能引起寒战，有些人注意到他们会头晕和颤抖，血压也会相应下降。

[0117] 伴随着寒战和发烧，早期脓毒症的迹象通常还包括心跳加快和呼吸急促。人们可能会发现，无论他们多么努力放松和深呼吸，他们都无法减慢呼吸或心率。随着感染在全身的进展，这些症状也会恶化。早期脓毒症的迹象通常只持续很短的时间；如果不使用抗生素进行紧急治疗，其他更严重的症状将很快变得明显。

[0118] 除了红色条纹外，有些人还会在皮肤上出现皮疹。这种皮疹可以出现在身体的任何部位。此外，尿量一般会明显减少，这是器官功能减慢的症状，非常危险。精神状态也可能发生变化；有些人变得困惑和激动。与其等待脓毒症的这些早期症状是否会好转，不如尽快接受紧急治疗，在这种情况下，至少使用一种抗生素与至少一种PLA2抑制剂和/或金属蛋白酶抑制剂联合使用。这是另一个原因，一定要照顾好身体的任何损伤或感染，清洁伤口和擦伤，并在开处方时服用整个疗程的抗生素，以确保在传播之前杀死所有感染。

[0119] 术语“脓毒症的可能性”用于描述患有大面积烧伤和/或严重损伤的患者或受试者，包括与可能导致脓毒症的感染相关的损伤，并包括任何患者或受试者多次烧伤和/或可能导致感染的损伤。

[0120] 术语“严重烧伤”或“大面积烧伤”用于描述可能感染或将导致感染的患者或受试者，该感染可导致脓毒症或急性炎症综合征，如全身炎症反应综合征(SIRS)或相关的炎症综合征。在规划烧伤治疗方案和提供根据本发明的治疗之前，烧伤的严重程度以及烧伤的类型对于评估是重要的。烧伤严重程度通常指示所需的恢复时间以及烧伤患者是否会经历永久性影响，如疤痕或生理功能的干扰或变化。更重要的是，烧伤的严重程度可能指示患者或受试者将被感染，从而显著增加脓毒症或急性炎症综合征，如全身炎症反应综合征(SIRS)的可能性。严重烧伤通常通过测量烧伤的全身表面积(TBSA)来分类。该系统测量烧伤皮肤与受害者身体其他部位相比的百分比。由于儿童的体型较小，同样大小的烧伤会导致儿童的TBSA高于成人。美国烧伤协会制定了测量TBSA和诊断严重烧伤的指南。

[0121] 烧伤通常分为三大类。在成人中，TBSA为10％或更低的烧伤被归类为轻度烧伤。在儿童中，轻微烧伤的量为TBSA的5％或更少。中度烧伤可能覆盖大约10％到20％的成年人。在儿童中，中度烧伤大约占5％到10％。轻度和中度烧伤通常不会产生与最终脓毒症和/或急性炎症综合征一致的感染，但是当有感染风险的证据时，必须仔细监测患者或受试者并根据本发明进行治疗。主要或重度烧伤在成人中的TBSA量超过20％，在儿童中超过10％。患者或受试者的主要或严重烧伤是患者或受试者应根据本发明进行治疗的初步迹象。

[0122] 严重烧伤可能由多种来源引起，包括但不限于热，例如热液体或气体、明火和热表面；化学品，例如强酸或强碱，如硫酸和漂白剂；电气：高压暴露、电弧和照明；辐射：紫外线、微波、电离辐射，如来自X射线或核辐射。严重烧伤可能是意外或故意的(尤其是儿童和/或老人)。

[0123] 术语“创伤性损伤”或“伤口”用于描述任何具有可识别风险的严重或充分性质的损伤，这些损伤具有因感染或因其他原因而无法愈合的风险。创伤性损伤可能是指需要立即就医的突然发作和严重的身体损伤。最初的轻微损伤(例如刮伤或擦伤)以及立即和严重的损伤(例如机动车辆碰撞或爆炸损伤)可能会导致称为“休克创伤”的全身性休克，并且可

能需要复苏和干预以挽救生命和肢体。创伤性损伤是多种钝性、穿透性和烧伤机制的结果。它们包括机动车碰撞、运动损伤、跌倒、自然灾害和许多其他可能发生在家里、街上或工作时的身体伤害。如果不进行治疗，微观损伤可能会导致严重的损伤或疾病(例如破伤风)

[0124] 对于重大外伤，很多导致外伤的事故，在医院急诊科都能得到妥善治疗。紧急救援人员可能会将更严重和多处的创伤性损伤分类为创伤警报。一级创伤警报是基于对受害者即时医疗需求的快速身体评估的决定。根据创伤警报标准，急救人员将患者送到最合适的医院。

[0125] 美国的创伤指南于1976年首次制定，现在，无论我们在哪里生活、工作或旅行，高效复杂的创伤网络都可以为我们所有人服务。医院根据他们能够提供的护理以及他们服务的城市和农村地区的体量，被认可并指定为I级、II级、III级或IV级创伤中心。创伤系统旨在适应大规模伤亡和灾难情况。一级中心提供最高水平的护理，提供最佳的资源和能力、人员和专业，并全天候进行监控，以确保它们达到或超过国家标准。创伤中心与其各自的EMS系统密切合作，以便在院前开始护理。

[0126] 通常情况下，被视为创伤警报的重伤患者会被送往复苏区，该区可能看起来更像手术室，而不是传统的急诊室。在这种环境下，高技能的专业创伤团队已准备好在最先进的创伤区提供即时救生程序。研究显示，在正确的时间，通常称为“黄金时间”，或在发生重大多系统创伤后的前60分钟内到达正确的地点至关重要。成人和儿科创伤外科医生、创伤工作人员和资源随时准备24/7全天候提供这种独特的响应水平，以便重伤患者从损伤中有最大可能的生存机会和最小的后遗伤残。

[0127] 在一级设施的创伤复苏区接受护理后，患者可以进行手术、进入重症监护室或创伤护理室，医院的所有资源和服务都以真正的多学科方式提供。带到II-IV级中心的患者可能会留在该医院或酌情转移到更高级别的护理。

[0128] 一些常见的外伤类型包括但不限于外伤性脑损伤、脊髓损伤、脊柱骨折、截肢、面部外伤、声外伤、脑震荡、挤压伤、骨折伤、颌骨骨折、颅骨骨折、割伤、穿刺伤口、撕裂伤、肺塌陷、烧伤、心肌挫伤、电击伤、低血容量性休克、蛛网膜下腔出血和硬膜下血肿等。

[0129] 损伤严重程度评分(ISS)是用于评估创伤严重程度而建立的医学评分。它与创伤后的死亡率、发病率和住院时间相关。它用于定义术语主要创伤。ISS将每个身体区域的每个损伤根据其在六点顺序量表上的相对严重程度进行分类，例如轻微、中度、严肃、严重、危急、最大的六个身体区域，例如头/颈部、面部、胸部、腹部/骨盆、外部。

[0130] 术语“全身炎症反应综合征”或“SIRS”用于描述由身体因严重炎症或感染引起的全身反应引起的炎症综合征。其特点是高烧和心跳加快，血液中白细胞水平异常。SIRS的症状差异很大，取决于反应的触发因素和受害者的潜在倾向。一些常见的迹象包括高烧、寒战和基于炎症的局部疼痛。诊断SIRS的一些标准包括：

[0131] • 血液中的白细胞水平非常高或非常低。它可能会上升到每升12,000

[0132] 或低于4,000。

[0133] • 高烧和寒战。温度可能会飙升至100.4F，也可能会低于96F。

[0134] • 心跳加速和

[0135] • 呼吸频率快。

[0136] SIRS可由严重感染、缺血或手术后遗症引起。感染可能是由细菌、病毒和其他微生

物(真菌或寄生虫)引起的。它可以是从脓毒症、蜂窝组织炎到糖尿病足部感染的任何疾病。SIRS可因非感染性疾病如脱水、烧伤、肝硬化、自身免疫性疾病、免疫治疗、急性缺血和心肌梗塞以及失血性休克而发展。在极少数情况下,SIRS会导致潜在的并发症,如溶血性尿毒症综合征(HUS)、贫血、肾衰竭、呼吸衰竭、胃炎和电解质水平异常。

[0137] SIRS的治疗方法基于患者的症状和健康状况。由于感染率高,一些患者可能会显示脓毒症迹象,而没有任何SIRS迹象。如果有发生心肌梗塞或呼吸衰竭,可在ICU进行紧急治疗。

[0138] 静脉注射升压药或类似药物可使患者血压恢复正常。如果SIRS由于胆囊炎或阑尾破裂等手术条件而发展,则应采取适当的手术措施。如果感染的根本原因是细菌,则给予抗生素。同样,如果医生确认原因是病毒感染,则通过静脉注射抗病毒药物。在本发明中,这些药剂与PLA2和/或金属蛋白酶抑制剂组合用于治疗SIRS。仔细监测血糖水平,如果需要,给予胰岛素治疗以稳定血糖水平。

[0139] 在本发明中,将至少一种抗生素与至少一种PLA2抑制剂和/或至少一种金属蛋白酶抑制剂联合施用用于降低遭受严重损伤或烧伤的患者的可能性,该损伤或烧伤将引发感染并发展为如本文所述的脓毒症、脓毒性休克、急性炎症综合征,包括全身炎症反应综合征(SIRS)和/或急性呼吸窘迫综合征(ARDS)。

[0140] 可用于本发明的抗生素包括例如广谱抗生素,如广谱β-内酰胺抗生素或广谱碳青霉烯类或其混合物,其可单独使用或与氟喹诺酮类、大环内酯类联合使用,或氨基糖苷类。一般而言,可能不建议将抗生素组合用于治疗没有休克的脓毒症和免疫功能低下的人,除非该组合用于扩大抗菌活性。抗生素的选择对于控制感染、脓毒症和最终决定患者的生存至关重要。通常建议在诊断后约一小时内开始使用抗生素(例如,在10分钟、15分钟、20分钟、30分钟、40分钟、45分钟、50分钟、60分钟、75分钟或90分钟内),虽然时间可能会稍长一些。在一些实施方案中,抗生素和PLA2抑制剂和/或金属蛋白酶抑制剂立即开始使用,或者一旦在患者或受试者中评估烧伤或损伤的严重性就开始使用。

[0141] 对于严重脓毒症和脓毒性休克,在患者或受试者患有脓毒症,包括早期脓毒症的第一个迹象时,将广谱抗生素(通常是两种此类的抗生素)与PLA2抑制剂和/或金属蛋白酶联合静脉内或静脉内和口服施用于患者或受试者。抗生素可以包括例如广谱的β-内酰胺抗生素,如广谱青霉素衍生物(青霉烷类)阿莫西林和氨苄青霉素、羧基青霉素(例如羧苄青霉素和替卡西林)、头孢菌素(头孢类)如头孢克肟、强力霉素、头孢噻肟、头孢泊肟、头孢他啶、头孢曲松、头孢地尼、头孢洛林福斯尼尔,所有这些都是广谱的、单环β-内酰胺类(例如氨曲南、替格莫南、卡芦莫南和诺卡菌素A)和碳青霉烯类(例如多利培南、法罗培南、亚胺培南、美罗培南、厄他培南、帕尼培南、雷扎培南、替比培南、噻那霉素或西司他丁/亚胺培南)、氟喹啉(例如环丙沙星、左氧氟沙星、氟沙星、洛美沙星、纳二氟沙星、诺氟沙星、氧氟沙星、帕氟沙星、格雷帕沙星、帕珠沙星、司帕沙星、替马沙星、加雷诺沙星、加替沙星、吉氟沙星、莫西沙星、克林沙星、西沙星、普卢利沙星、贝西沙星、德拉沙星和奥诺沙星等)、大环内酯类(例如(例如,阿奇霉素、克拉霉素、红霉素、黄曲霉素、泰利霉素、碳霉素A、交沙霉素A、吉塔霉素、米德霉素/醋酸米德霉素、多莱霉素、索利霉素、螺旋霉素、曲莱霉素和罗红霉素、相关的酮内酯类(包括特利霉素、红霉素和索利霉素),每一种都可以单独使用或组合。

[0142] 在炭疽的情况下,优选的抗生素包括环丙沙星、左氧氟沙星、莫西沙星、青霉素G、

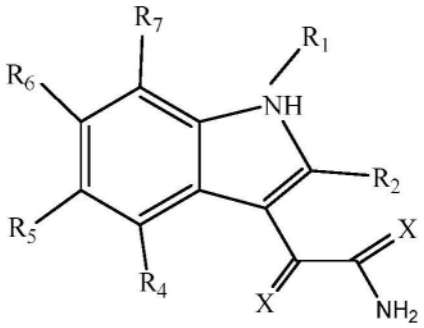
强力霉素、氯霉素、氧氟沙星及其混合物。

[0143] “PLA2抑制剂”术语包括分泌型磷脂酶A2抑制剂和磷脂酶A2(PLA2)抑制剂，它们是在sn-2位催化磷脂水解产生游离脂肪酸和溶血磷脂的脂肪酶抑制剂。PLA_2有助于从膜花生四烯酸、血小板活化因子和溶血磷脂酸中释放和/或形成至少三种重要的脂质介质。认为PLA从膜磷脂中释放花生四烯酸是控制细胞内类花生酸产生的关键步骤。PLA_2酶通常分为细胞溶质PLA_2($cPLA_2$)、分泌型PLA_2(sPLA2)和钙非依赖性PLA_2($iPLA_2$)。分泌毒液(例如，蛇毒)PLA2(即，sPLA2s)。分类基于分子量、钙需求、结构特点、底物特异性和功能作用。参见Ray,et al.,“Phospholipase A_2 in Airway Disease:Target for Drug Discovery,” Journal of Drug Discovery and Therapeutics 1(8)2013,28-40。

[0144] PLA2的抑制剂已在各种来源中得到识别，并研究作为治疗炎性疾病的潜在治疗剂。参见Magrioti,Victoria,and George Kokotos."Phospholipase A2 inhibitors as potential therapeutic agents for the treatment of inflammatory diseases." Expert opinion on therapeutic patents 20.1(2010):1-18)，以及Dennis,Edward A., et al."Phospholipase A2 enzymes:physical structure,biological function, disease implication,chemical inhibition,and therapeutic intervention."可用于本发明的sPLA2抑制剂包括但不限于LY315920和S5920(伐瑞拉迪)、LY333013和S-3013、AZD2716-R,S(3-(5′-苄基-2′-氨基甲酰基联苯-3-基)丙酸-作为外消旋混合物)和LY433771((9-[(苯基)甲基]-5-氨基甲酰基咔唑-4-基}氧乙酸)、LY 311727、BMS 181162、YM 26567、可变素、SB 203347、S-2474(甲基吲哚嗪)和吲哚嗪。在一些实施方案中，PLA_2抑制剂是伐瑞拉迪和/或甲基伐瑞拉迪。

[0145] 其他PLA2抑制剂，如但不限于其他1H-吲哚-3-乙醛酰胺，也可用于下毒治疗。由本公开指导的本领域普通技术人员将能够识别有效对抗广谱毒液和/或针对特定毒液亚组(例如，特定种类的蛇，或例如来自特定类型的无脊椎动物的毒液)。

[0146] 额外优选的sPLA2抑制剂包括美国专利号5,654,326(其全部内容通过引用并入本文)中描述的-由根据化学结构的化合物表示：

[0147] 

[0148] 其中X是O或S，优选O；

[0149] R_1为C_7-C_{20}烷基、C_7-C_{20}烯基、C_7-C_{20}炔基、碳环基(优选苄基或乙基苯基)或杂环基；

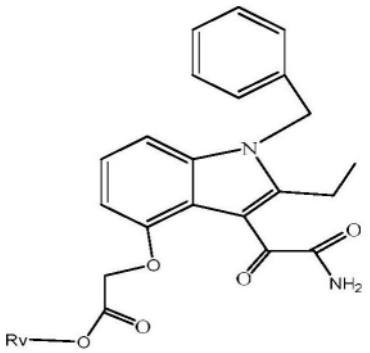
[0150] R_2为氢、卤素(F、Cl、Br、I)、C_1-C_3烷基(优选乙基)或C_3-C_4环烷基；

[0151] R_4为H或-O-$(CH_2)_m$-C(O)ORv基团，其中m为1-3(优选1)且Rv为H或C_1-C_3烷基，优选CH_3；和

[0152] R_5、R_6和R_7是H，或

[0153] 其药学上可接受的盐、溶剂或多晶型物。

[0154] 用于本发明的某些优选的sPLA2抑制剂化合物(伐瑞拉迪和甲基伐瑞拉迪)由化学结构表示：

[0155] 

[0156] 其中Rv是H(伐瑞拉迪)或甲基(甲基伐瑞拉迪)，或其药学上可接受的盐。上述化合物也可以用作前药形式C_1-C_6烷基酯、C_2-C_7酰氧基烷基酯或C_3-C_9烷氧基羰基氧基烷基酯(各自在R_4处形成)。用于本发明的这些和其他相关化合物在授予Bach等人的美国专利号5,654,326中进行了描述，其通过引用整体并入本文。

[0157] 额外的PLA_2抑制剂包括例如：伐瑞拉迪莫非替尔(Varespladib Mofetil)、N-乙酰半胱氨酸、LY329722(钠[3-氨基氧基-1-苄基-2-乙基-6-甲基-1H-吲哚-4-基氧基]-乙酸)、枸萘黄酮(天然存在的双黄酮类化合物)、BPPA(5-(4-苄氧基苯基)-4S-(7-苯基庚酰基氨基)戊酸和对溴苯酰溴(p-BPB)和其他由辛酮衍生的二苯甲酮肟。在某些实施方案中，用于本发明的sPLA2抑制剂选自由下项组成的组：{9-[(苯基)甲基]-5-氨基甲酰基吲哚-4-基}氧乙酸；θ-苄基-δJ-二甲氧基-S-四氢吲哚-甲酰肼；9-苄基-5,7-二甲氧基-1,2,3,4-四氢吲哚-4-甲酰胺；[9-苄基-4-氨基甲酰基-7-甲氧基-1,2,3,4-四氢吲哚-5-基]氧乙酸；[9-苄基-4-氨基甲酰基-7-甲氧基吲哚-5-基]氧乙酸；[9-苄基-4-氨基甲酰基-7-甲氧基吲哚-5-基]氧乙酸甲基；9-苄基-7-甲氧基-5-氰基甲氧基-S-四氢吲哚-甲酰胺；9-苄基-7-甲氧基-5-(1H-四唑-5-基-甲基)氧基)-1,2,3,4-四氢吲哚-4-甲酰胺；{9-[(苯基)甲基]-5-氨基甲酰基-2-甲基-吲哚-4-基}氧乙酸；{9-[(3-氟苯基)甲基]-5-氨基甲酰基-2-甲基吲哚-4-基}氧乙酸；{9-[(3-甲基苯基)甲基]-5-氨基甲酰基-2-甲基吲哚-4-基}氧乙酸；{9-[(苯基)甲基]-5-氨基甲酰基-2-(4-三氟甲基苯基)-吲哚-4-基}氧乙酸；9-苄基-5-(2-甲磺酰胺基)乙氧基-7-甲氧基-1,2,3,4-四氢吲哚-4-甲酰胺；9-苄基-4-(2-甲磺酰胺)乙氧基-2-甲氧基吲哚-5-甲酰胺；9-苄基-4-(2-三氟甲磺酰胺)乙氧基-2-甲氧基吲哚-5-甲酰胺；9-苄基-5-甲磺酰胺基甲氧基-7-甲氧基-1,2,3,4-四氢吲哚-4-甲酰胺；9-苄基-4-甲磺酰胺基甲氧基-吲哚-5-甲酰胺；[5-氨基甲酰基-2-戊基-9-(苯基甲基)吲哚-4-基]氧乙酸；[5-氨基甲酰基-2-(1-甲基乙基)-9-(苯基甲基)吲哚-4-基]氧乙酸；[5-氨基甲酰基-9-(苯基甲基)-2-[(三(-1-甲基乙基甲硅烷基氧基甲基吲哚ˆ-基氧乙酸；[5-氨基甲酰基-2-苯基-9-(苯基甲基)吲哚-4-基]氧乙酸；[5-氨基甲酰基-2-(4-氯苯基)-9-(苯基甲基)吲哚-4-基]氧乙酸；[5-氨基甲酰基-2-(2-呋喃基)-9-(苯基甲基)吲哚-4-基]氧乙酸；[5-氨基甲酰基-9-(苯甲基)-2-[(三(-1-甲基乙基甲硅烷基氧甲基吲哚ˆ-甲氧乙酸；{9-[(2-氟苯基)甲基]-5-氨基甲酰基吲哚-4-基}氧乙酸)酸；{9-[(2-三氟甲基苯基)甲基]-5-氨基甲酰基吲哚-4-基}氧乙酸；{9-[(2-苄基苯基)甲基]-5-氨基甲酰基吲哚-4-基}氧乙酸；{9-[(1-萘基甲基-δ-氨基甲酰基吲哚ˆ-基}氧乙酸；{9-[(2-氰基苯基)甲基]-5-氨基甲酰基吲哚-4-基}

氧乙酸;{9-[(3-氰基苯基)甲基]-5-氨基甲酰基咔唑-4-基}氧乙酸;{9-[(3,5-二甲基苯基)甲基]-5-氨基甲酰基咔唑-4-基}氧乙酸;{9-[(3-碘苯基)甲基]-5-氨基甲酰基咔唑-4-基}氧乙酸;{9-[(2-氯苯基)甲基]-5-氨基甲酰基咔唑-4-基}氧乙酸;{9-[(2,3-二氟苯基)甲基]-5-氨基甲酰基咔唑-4-基}氧乙酸;{9-[(2,6-二氟苯基)甲基]-5-氨基甲酰基咔唑-4-基}氧乙酸;{9-[(2,6-二氯苯基)甲基]-5-氨基甲酰基咔唑-4-基}氧乙酸;{9-[(2-联苯)甲基]-5-氨基甲酰基咔唑-4-基}氧乙酸;{9-[(2-联苯)甲基]-5-氨基甲酰基咔唑-4-基}氧乙酸甲酯;[9-苄基-4-氨基甲酰基-1,2,3,4-四氢咔唑-5-基]氧乙酸;{9-[(2-吡啶基)甲基]-5-氨基甲酰基咔唑-4-基}氧乙酸;{9-[(3-吡啶基)甲基]-5-氨基甲酰基咔唑-4-基}氧乙酸;[9-苄基-4-氨基甲酰基-8-甲基-1,2,3,4-四氢咔唑-5-基]氧乙酸;[9-苄基-5-氨基甲酰基-1-甲基咔唑-4-基]氧乙酸;[9-苄基-4-氨基甲酰基-8-氟-1,2,3,4-四氢咔唑-5-基]氧乙酸;[9-苄基-4-氨基甲酰基-8-氯-1,2,3,4-四氢咔唑-5-基]氧乙酸;[5-氨基甲酰基-9-(苯基甲基)-2-[[(丙烯-3-基)氧基]甲基]咔唑-4-基]氧乙酸;[5-氨基甲酰基-9-(苯基甲基)-2-[(丙氧基甲基咔唑基氧乙酸;9-苄基-7-甲氧基-5-((甲酰胺基甲氧基-四氢咔唑-甲酰胺;9-苄基-7-甲氧基-S-氰基甲氧基-咔唑-)甲酰胺;9-苄基-7-甲氧基-5-((1H-四唑-5-基-甲基)氧基)-咔唑-4-甲酰胺;9-苄基-7-甲氧基-5-((甲酰胺甲基)氧基)-咔唑-4-甲酰胺;[9-苄基-4-氨基甲酰基-1,2,3,4-四氢咔唑-5-基]氧乙酸;{9-[(苯基)甲基]-5-氨基甲酰基-2-甲基-咔唑-4-基}氧乙酸;{9-[(3-氟苯基)甲基]-5-羧基-2-甲基咔唑-4-基}氧乙酸;{9-[(3-甲基苯基)甲基]-5-氨基甲酰基-2-甲基咔唑-4-基}氧乙酸;{9-[(苯基)甲基]-5-氨基甲酰基-2-(4-三氟甲基苯基)-咔唑-4-基}氧乙酸;9-苄基-5-(2-甲磺酰胺基)乙氧基-7-甲氧基-1,2,3,4-四氢咔唑-4-甲酰胺;9-苄基-4-(2-甲磺酰胺基)乙氧基-2-甲氧基咔唑-5-甲酰胺;9-苄基-4-(2-三氟甲磺酰胺)乙氧基-2-甲氧基咔唑-5-甲酰胺;9-苄基-5-甲磺酰胺基甲氧基-7-甲氧基-1,2,3,4-四氢咔唑-4-甲酰胺;9-苄基-4-甲磺酰胺基甲氧基-咔唑-5-甲酰胺;[5-氨基甲酰基-2-戊基-9-(苯基甲基)咔唑-4-基]氧乙酸;[5-氨基甲酰基-2-(1-甲基乙基)-9-(苯基甲基)咔唑-4-基]氧乙酸;[5-氨基甲酰基-9-(苯基甲基)-2-[(三(-1-甲基乙基甲硅烷基氧基甲基咔唑氧乙酸;[5-氨基甲酰基-2-苯基-9-(苯基甲基)咔唑-4-基]氧乙酸);[5-氨基甲酰基]-2-(4-氯苯基)-9-(苯基甲基)咔唑-4-基]氧乙酸;[5-氨基甲酰基-2-(2-呋喃基)-9-(苯基甲基)咔唑-4-基]氧乙酸;[5-氨基甲酰基-9-(苯基甲基)-2-[(三(-1-甲基乙基甲硅烷基氧基甲基咔唑-基氧乙酸;{9-[(3-氟苯基)甲基]-5-氨基甲酰基咔唑-4-基}氧乙酸;{9-[(3-氯苯基)甲基]-5-氨基甲酰基咔唑-4-基}氧乙酸;{9-[(3-苯氧基苯基)甲基]-5-氨基甲酰基咔唑-4-基}氧乙酸;{9-[(2-氟苯基)甲基]-5-氨基甲酰基咔唑-4-基}氧乙酸;{9-[(2-三氟甲基苯基)甲基]-5-氨基甲酰基咔唑-4-基}氧乙酸;{9-[(2-苄基苯基)甲基]-5-氨基甲酰基咔唑-4-基}氧乙酸;{9-[(3-三氟甲基苯基)甲基]-5-氨基甲酰基咔唑-4-基}氧乙酸;{9-[(1-萘基甲基-δ-氨基甲酰基咔唑-基)}氧乙酸;{9-[(2-氰基苯基)甲基]-5-氨基甲酰基咔唑-4-基}氧乙酸;{9-[(3-氰基苯基)甲基]-5-氨基甲酰基咔唑-4-基}氧乙酸;{9-[(2-甲基苯基)甲基]-5-氨基甲酰基咔唑-4-基}氧乙酸;{9-[(3-甲基苯基)甲基]-5-氨基甲酰基咔唑-4-基}氧乙酸;{9-[(3,5-二甲基苯基)甲基]-5-氨基甲酰基咔唑-4-基}氧乙酸;{9-[(3-碘苯基)甲基]-5-氨基甲酰基咔唑-4-基}氧乙酸;{9-[(2-氯苯基)甲基]-5-氨基甲酰基咔唑-4-基}氧乙酸;{9-[(2,3-二氟苯基)甲基]-5-氨基甲酰基咔唑-4-基}氧乙酸;{9-[(2,6-二氟苯基)甲基]-5-氨基甲酰基

咔唑-4-基}氧乙酸;{9-[(2,6-二氯苯基)甲基]-5-氨基甲酰基咔唑-4-基}氧乙酸;{9-[(3-三氟甲氧基苯基)甲基]-5-氨基甲酰基咔唑-4-基}氧乙酸;{9-[(2-联苯)甲基]-5-氨基甲酰基咔唑-4-基}氧乙酸;{9-[(2-联苯)甲基]-5-氨基甲酰基咔唑-4-基}氧乙酸甲酯;[9-苄基-4-氨基甲酰基-1,2,3,4-四氢咔唑-5-基]氧乙酸;{9-[(2-吡啶基)甲基]-5-氨基甲酰基咔唑-4-基}氧乙酸;{9-[(3-吡啶基)甲基]-5-氨基甲酰基咔唑-4-基}氧乙酸;[9-苄基-4-氨基甲酰基-8-甲基-1,2,3,4-四氢咔唑-5-基]氧乙酸;[9-苄基-5-氨基甲酰基-1-甲基咔唑-4-基]氧乙酸;[θ-苄基ˆ-氨基甲酰基-δ-氟-1,2,3,4-四氢咔唑-5-基]氧乙酸;[θ-苄基-δ-羰基-1-氟咔唑-4-基]氧乙酸;[9-苄基-4-氨基甲酰基-8-氯-1,2,3,4-四氢咔唑-5-基]氧乙酸;[9-苄基-5-氨基甲酰基-1-氯咔唑-4-基]氧乙酸;[9-[(环己基)甲基]-5-氨基甲酰基咔唑-4-基]氧乙酸;[9-[(环戊基)甲基]-5-氨基甲酰基咔唑-4-基]氧乙酸;[5-氨基甲酰基-9-(苯基甲基)-2-(2-噻吩基)咔唑-4-基]氧乙酸;[5-氨基甲酰基-9-(苯基甲基)-2-[[(丙烯-3-基)氧基]甲基]咔唑-4-基]氧乙酸;[5-氨基甲酰基-9-(苯甲基)-2-[(丙氧基甲基咔唑-基氧乙酸;9-苄基-7-甲氧基-5-((甲酰胺基甲氧基-四氢咔唑-甲酰胺;9-苄基-7-甲氧基-δ-氰基甲氧基-咔唑-甲酰胺;9-苄基-7-甲氧基-5-((1H-四唑-5-基-甲基)氧基)-咔唑-4-甲酰胺;9-苄基-7-甲氧基-5-((甲酰胺甲基)氧基)-咔唑-4-甲酰胺;[9-苄基-4-氨基甲酰基-1,2,3,4-四氢咔唑-5-基]氧乙酸;(R,S)-(9-苄基-4-氨基甲酰基-1-氧代-3-硫杂-1,2,3,4-四氢咔唑-5-基)氧乙酸;(R,S)-(9-苄基-4-氨基甲酰基-3-硫杂-1,2,3,4-四氢咔唑-5-基)氧乙酸;2-(4-氧代-5-甲酰胺基-9-苄基-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基)乙酸氯化物;[N-苄基-1-氨基甲酰基-1-氮杂-1,2,3,4-四氢咔唑-8-基]氧乙酸;4-甲氧基-6-甲氧基羰基-10-苯基甲基-6,7,8,9-四氢吡啶并[1,2-a]吲哚;(4-羧酰胺-9-苯基甲基-4,5-二氢噻吩并[3,4-b]吲哚-5-基)氧乙酸;3,4-二氢-4-羧酰胺-5-甲氧基-9-苯基甲基吡喃并[3,4-ib]吲哚;2-[(2,9双苄基-4-氨基甲酰基-i,2,3,4-四氢-β-咔啉-5-基)氧基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(2-甲基苄基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(3-甲基苄基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(4-甲基苄基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(4-叔丁基苄基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-五氟苄基-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(2-氟苄基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(3-氟苄基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(4-氟苄基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(2,6-二氟苄基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(3,4-二氟苄基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(2,5-二氟苄基)-9/-/-吡啶并[3,4-jb]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(3,5-二氟苄基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(2,4-二氟苄基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(2,3-二氟苄基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-[2-(三氟甲基)苄基]-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-[2-(三氟甲基)苄基]-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-[3-(三氟甲基)苄基]-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-[4-(三氟甲基)苄基]-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-[3,5-双(三氟甲基)苄基]-

9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-[2,4-双(三氟甲基)苄基]-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(a-甲基萘)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(b-甲基萘基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(3,5-二甲基苄基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(2,4-二甲基苄基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(2-苯基苄基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(3-苯基苄基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(4-苯基苄基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(1-劳基甲基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(2-氟-3-甲基苄基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(3-苯甲酰基苄基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(2-苯氧基苄基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(3-苯氧基苄基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(4-苯氧基苄基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-羧基-9-[3-[2-(氟苯氧基)苄基]]-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-[3-[4-(氟苯氧基)苄基]]-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-[2-氟-3-(三氟甲基)苄基]-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-[2-氟-4-(三氟甲基)苄基]-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-[2-氟-5-(三氟甲基)苄基]-9H-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-[3-氟-5-(三氟甲基)苄基]-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-[4-氟-2-(三氟甲基)苄基]-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-[4-氟-3-(三氟甲基)苄基]-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-[2-氟-6-(三氟甲基)苄基]-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(2,3,6-三氟甲基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(2,3,5-三氟苄基)-9/-/-吡啶并[3,4-ιb]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(2,4,5-三氟苄基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(2,4,6-三氟苄基)-9/-/-吡啶并[3,4-ιb]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(2,3,4-三氟苄基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(3,4,5-三氟苄基)-9/-/-吡啶并[3,4-ιb]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-[3-(三氟甲氧基)苄基]-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-[4-(三氟甲氧基)苄基]-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-[4-甲氧基(四氟)苄基]-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-羧酰胺基-9-(2-甲氧基苄基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(3-甲氧基苄基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(4-甲氧基苄基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-羧基-9-(4-乙基苄基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(4-异丙基苄基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(3,4,5-三萘氧基苄基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-氨基甲酰胺-9-(3,4-亚甲二氧基苄基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-氨基甲酰胺-9-(4-甲氧基-3-甲基苄基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(3,5-二萘氧基苄

基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(2,5-二甲氧基苄基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(4-乙氧基苄基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(环己基甲基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(环戊基甲基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-乙基-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(1-丙基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(2-丙基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(1-丁基)-9H-吡啶并[3,4-]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(2-丁基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-异丁基-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-[2-(1-苯乙基)]-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-[3-(1-苯丙基)]-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-[4-(1-苯基丁基)]-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(1-戊基)-9/-/-吡啶并[3,4-ιb]吲哚基]乙酸;2-[4-氧代-5-甲酰胺基-9-(1-己基)-9/-/-吡啶并[3,4-ib]吲哚基]乙酸;4-[(9-苄基-4-氨基甲酰基-1,2,3,4-四氢咔唑-6-基)氧基]丁酸;3-[(9-苄基-4-氨基甲酰基-1,2,3,4-四氢咔唑-θ-基氧基丙基膦酸;2-[(9-苄基-4-氨基甲酰基-1,2,3,4-四氢咔唑-6)-基)氧基]甲基苯甲酸;3-[(9-苄基-4-氨基甲酰基-7-正辛基-1,2,3,4-四氢咔唑-6-基)氧基]丙基膦酸;4-[(9-苄基-4-氨基甲酰基-7-乙基-1,2,3,4-四氢咔唑-6-基)氧基]丁酸;3-[(9-苄基-4-氨基甲酰基-7-乙基-1,2,3,4-四氢咔唑-6-基)氧基]丙基膦酸;3-[(9-苄基-4-氨基甲酰基-7-乙基-1,2,3,4-四氢咔唑-6-基)氧基]丙基膦酸;(S)-(+)-4-[(9-苄基-4-氨基甲酰基-7-乙基-1,2,3,4-四氢咔唑-6-基)氧基]丁酸;4-[9-苄基-4-氨基甲酰基-6-(2-氰乙基)-1,2,3,4-四氢咔唑-6-基]羟基丁酸;4-[9-苄基-4-氨基甲酰基-7-(2-苯乙基)-1,2,3,4-四氢咔唑-6-基]羟基丁酸;4-[9-苄基-4-羧酰氨基咔唑-6-基]羟基丁酸;甲基2-[(9-苄基-4-氨基甲酰基-1,2,3,4-四氢咔唑-6-基)氧基]苯甲酸甲酯;4-[9-苄基-4-氨基甲酰基-7-(2-氰乙基))-1,2,3,4-四氢咔唑-6-基]羟基丁酸;9-苄基-7-甲氧基-5-氰基甲氧基-四氢咔唑-甲酰胺;[9-苄基-4-氨基甲酰基-8-甲基-咔唑-5-基]氧乙酸;以及[θ-苄基M-氨基甲酰基-咔唑-δ-基]氧乙酸,或其药学上可接受的盐、溶剂化物、前药衍生物、外消旋体、互变异构体或旋光异构体。

[0158] 直接和间接PLA_2抑制剂还包括N,N-二甲基氨基甲酰基甲基、4-4-胍基苯甲酰氧基-苯乙酸(卡莫司他(Camostat,camostate))或乙基-对[6-胍基己酰氧基]-苯甲酸甲磺酸盐(加贝酯(gabexate))和选自由下项组成的组的白三烯合成抑制剂:甲基花生四烯基氟膦酸盐(MAFP)、吡咯烷、ONO-RS-082、1-[3-(4-辛基苯氧基)-2-氧丙基]吲哚-5-羧酸、1-[3-(4-辛基苯氧基)-2-氧代丙基]吲哚-6-羧酸、花生四烯基三氟甲基酮、D609、4-{3-[5-氯-2-(2-{([(3,4-二氯苄基)磺酰基]氨基}乙基)-1-(二苯基甲基)-1H-吲哚-3-基]丙基}苯甲酸(WAY-196025)、依帕地布、4-{2-[5-氯-2-(2-{[(3,4-二氯苄基)磺酰基])氨基}-乙基)-1-(二苯基甲基)-1H-吲哚-3-基]乙氧基}苯甲酸、艾科普拉迪、(E)-N-[(2S,4R)-4-[N-(联苯-2-基甲基)-N-2-甲基丙基氨基]-1-[2-(2,-4-二氟苯甲酰基)苯并吡咯基]吡咯烷-2-基]甲基-3-[4-(2,4-二氧噻唑烷-n-5-基亚甲基)苯基]丙烯酰胺(RSC-3388)、黄连素、谷氨酰胺、达拉帕地或其药学上可接受的盐。

[0159] “金属蛋白酶抑制剂”包括但不限于普马司他、BB-94(马立马司他)、BB-2516(巴马

司他)、伏立诺他、头孢克肟和强力霉素。可用于本发明的其他金属蛋白酶抑制剂包括但不限于,TAPI-2、TAPI-1、EGTA、EDTA、膦酰二肽(phosphoramadon)、TAPI-0、木犀草素、阿仑膦酸盐、塔诺马司他、伊洛马司他、普马司他、萘莫司他、胶原酶抑制剂1、Ro-32-3555、乳糖酸、邻菲咯啉、生态素、4-表-金霉素、四环素、强力霉素或具有额外有益抗菌作用的相关抗生素、正丹磺酰基-d-苯丙氨酸、20[R]人参皂甙Rh2、前-leu-gly-羟基酸酯、gm6001、放线素、arp-100、MMP9抑制剂I、MMP2抑制剂I、SB-3CT、硫磺凡(DL)、4-表-去甲环素、甲基丙烯酸锌、呋喃酮及其类似物、衍生物、药学可接受的盐、对映异构体、非对映异构体、溶剂化物和多晶型物及其混合物。

[0160] 出乎意料地,已发现将至少一种如本文所述的PLA2抑制剂和/或金属蛋白酶抑制剂与如本文所述的一种或多种抗生素联合使用以减轻、抑制和/或减少受损伤患者或受试者感染的可能性或已经感染使得感染将产生脓毒症、脓毒性休克、急性炎症综合征如全身炎症反应综合征(SIRS)和/或急性呼吸窘迫综合征(ARDS)中的一种或多种的可能性。

[0161] “新生儿ARDS”术语用于描述常见的临床危重疾病,是新生儿死亡和残疾的主要原因之一。新生儿ARDS的病因和发病机制复杂。它是与多种病理因素相关的肺表面活性剂(PS)缺乏引起的急性肺部炎症疾病。通常很难将新生儿ARDS与其他疾病区分开来。在本发明之前,虽然呼吸支持、PS替代、体外膜肺氧合、营养支持和液体管理是主要的治疗策略,该疾病尚无特异性治疗方法。术语“胎粪吸入综合征”或MAS是危及生命的新生儿ARDS,死亡率很高,并且没有批准的治疗方法。众所周知,胎粪吸入综合征(MAS)会损害表面活性剂。已知表面活性剂功能受损并与肺通气相关,并且由于这些变化,表面活性剂纳米结构也受损。胎粪是新生儿的第一个粪便。当新生儿在分娩前后将胎粪和羊水的混合物吸入肺部时,就会发生胎粪吸入综合征。胎粪吸入综合征是新生儿严重病和死亡的主要原因,约占新生儿的5%至10%。它通常在胎儿在分娩过程中受到压力时发生,特别是当婴儿超过预产期时发生。在本发明之前,对于胎粪吸入综合征或MAS,没有已知的有效治疗方法。

[0162] 药物组合物包含有效量的如本文公开的抗生素的组合,通常根据本发明,包括一种或额外的如本文另外描述的PLA2抑制剂和/或金属蛋白酶抑制剂,全部为有效量,与药学上有效量的载体、添加剂或赋形剂联合使用,代表本发明的进一步的方面。这些可以与至少一种额外的、任选的生物活性剂联合使用,尤其是可用于解决待治疗患者或受试者的额外症状的药剂。

[0163] 本发明的组合物可以使用一种或多种药学上可接受的载体以常规方式配制,也可以以控释制剂的形式适用。可用于这些药物组合物的药学上可接受的载体包括但不限于离子交换剂、氧化铝、硬脂酸铝、卵磷脂、血清蛋白,如人血清白蛋白、缓冲物质如磷酸盐、甘氨酸、山梨酸、钾山梨酸盐、饱和植物脂肪酸的部分甘油酯混合物、水、盐或电解质,如硫酸醇溶蛋白、磷酸氢二钠、磷酸氢钾、氯化钠、锌盐、胶体二氧化硅、三硅酸镁、聚乙烯吡咯烷酮、纤维素基物质,聚乙二醇、羧甲基纤维素钠、聚丙烯酸酯、蜡、聚乙烯-聚氧丙烯-嵌段聚合物、聚乙二醇和羊毛脂肪。

[0164] 本发明的组合物可以口服、气管内、肠胃外、通过吸入喷雾、局部、直肠、鼻腔、口腔、阴道或经由植入的储库等施用。如本文所用,术语“肠胃外”包括皮下、静脉内、肌肉内、关节内、滑膜内、胸骨内、鞘内、肝内、病灶内和颅内注射或输注技术。优选地,组合物口服(包括经由口或鼻插管进入胃)、腹膜内或静脉内施用。

[0165] 本发明组合物的无菌可注射形式可以是水性的、稳定的液体或油质悬浮液。这些悬浮液可以根据本领域已知的技术使用合适的分散剂或润湿剂和悬浮剂来配制。无菌可注射制剂也可以是在无毒的肠胃外可接受的稀释剂或溶剂中的无菌可注射溶液或悬浮液，例如作为在1,3-丁二醇中的溶液。可以使用的可接受的媒介物和溶剂是水、林格溶液和等渗氯化钠溶液等。此外，无菌的不挥发油通常用作溶剂或悬浮介质。为此目的，可以使用任何温和的不挥发油，包括合成的甘油单酯或甘油二酯。脂肪酸，如油酸及其甘油酯衍生物可用于制备注射剂，天然药学上可接受的油，如橄榄油或蓖麻油，尤其是它们的聚氧乙基化形式可以用于制备注射剂。这些油溶液或悬浮液还可以含有长链醇稀释剂或分散剂，如Ph.Helv或类似的醇。

[0166] 本发明的药物组合物可以以任何口服可接受的剂型口服施用，包括但不限于胶囊、片剂、水性悬浮液或溶液。在口服片剂的情况下，常用的载体包括乳糖和玉米淀粉。通常还添加润滑剂，如硬脂酸镁。对于胶囊形式的口服施用，有用的稀释剂包括乳糖和干玉米淀粉。当口服使用需要水性混悬剂时，活性成分与乳化剂和悬浮剂组合。如果需要，也可以添加某些甜味剂、调味剂或着色剂。

[0167] 或者，本发明的药物组合物可以直肠施用的栓剂形式施用。这些可以通过将药剂与合适的无刺激性赋形剂混合来制备，该赋形剂在室温下为固体，但在直肠温度下为液体，因此会在直肠中熔化以释放药物。此类材料包括可可脂、蜂蜡和聚乙二醇。

[0168] 本发明的药物组合物也可以局部施用，特别是用于治疗皮肤细菌感染或其他发生在皮肤内或皮肤上的疾病。很容易为这些区域或器官中的每一个制备合适的局部制剂。可以在直肠栓剂制剂(见上文)或合适的灌肠剂制剂中实现下肠道的局部应用。也可以使用局部可接受的透皮贴剂。

[0169] 对于局部应用，可将药物组合物配制成合适的软膏剂，该软膏剂(ointment)含有悬浮或溶解在一种或多种载体中的活性组分或通过微针贴剂施用。用于本发明化合物的局部施用的载体包括但不限于矿物油、液体凡士林、白凡士林、丙二醇、聚氧乙烯、聚氧丙烯化合物、乳化蜡和水。

[0170] 或者，药物组合物可以配制成合适的洗剂(lotion)或乳膏剂(cream)，含有悬浮或溶解在一种或多种药学上可接受的载体中的活性成分。合适的载体包括但不限于矿物油、脱水山梨醇单硬脂酸酯、聚山梨醇酯60、十六烷基酯蜡、鲸蜡硬脂醇、2-辛基十二烷醇、苯甲醇和水。

[0171] 对于眼科应用，药物组合物在有或没有防腐剂如苄基氯化铵的情况下可以配制成在等渗的、经pH调节的无菌盐水中的微粉化悬浮液，或者优选地配制成在等渗的、经pH调节的无菌盐水中的溶液。或者，对于眼科用途，药物组合物可配制成软膏剂如凡士林。

[0172] 本发明的药物组合物也可以通过鼻气雾剂或吸入施用。此类化合物根据药物制剂领域中众所周知的技术制备并且可以制备成盐溶液，使用苯甲醇或其他合适的防腐剂、吸收促进剂以增强生物利用度、碳氟化合物和/或其他常规增溶剂或分散剂。

[0173] 本发明的药物组合物中可与载体材料组合以产生单一剂型的化合物的量将根据所治疗的宿主和疾病、特定的施用方式而变化。优选地，组合物应配制成含有约0.05毫克至约750毫克或更多、更优选约1毫克至约600毫克、甚至更优选约10毫克至约500毫克的活性成分，单独或与至少一种可用于治疗病原体，尤其是细菌(通常是革兰氏阴性细菌)感染或

其继发效应或病况的额外化合物。

[0174] 治疗需要如本文另外描述的特定疾病状态或病况，尤其是病原体，尤其是细菌感染，尤其是革兰氏阴性细菌感染的患者或受试者的方法包括施用有效量的药物组合物，所述药物组合物包含治疗量的一种或多种本文所述的新化合物和任选的至少一种根据本发明的额外的生物活性剂(例如额外的抗生素)。在本发明的治疗方法中使用的可与载体材料组合以产生单一剂型的活性成分的量将根据所治疗的宿主、特定的施用方式而变化。例如，可以配制组合物，使得治疗有效剂量介于约每天0.01、0.1、1、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90或100mg/kg的患者，或在一些实施方案中，大于100、110、120、130、140、150、160、170、180、190或200、250mg/kg的新化合物可以施用于接受这些组合物的患者。

[0175] 还应理解，任何特定患者的特定剂量和治疗方案将取决于多种因素，包括所用特定化合物的活性、年龄、体重、一般健康状况、性别、饮食、施用时间、排泄率、药物组合、治疗医师的判断以及正在治疗的特定疾病或病况的严重程度。

[0176] 患有细菌感染的患者或对象(例如人)可以通过向患者(受试者)施用有效量的根据本发明的化合物来治疗，所述化合物包括其药学上可接受的盐、溶剂化物或多晶型物，任选地药学上可接受的载体或稀释剂，单独或与其他已知的抗生素或药剂组合，优选可帮助治疗细菌感染或减轻与感染相关的继发效应和病况的药剂。这种治疗也可以与本领域已知的其他常规治疗联合施用。

[0177] 本发明化合物，单独或与本文所述的其他药剂组合，可以通过任何合适的途径施用，例如，口服、肠胃外、静脉内、皮内、皮下或局部，以液体、乳膏、凝胶或固体形式，或通过气溶胶形式施用。

[0178] 活性化合物包含在药学上可接受的载体或稀释剂中，其量足以向患者递送所需适应症的治疗有效量，而不会对所治疗的患者造成严重的毒性作用。对于所有本文提及的病况，活性化合物的优选剂量为约每天10ng/kg至300mg/kg、优选0.1至100mg/kg、更通常0.5至约25mg/kg接受者/患者的体重每天。在合适的载体中，典型的局部剂量范围为约0.01-3％wt/wt。

[0179] 该化合物方便地以任何合适的单位剂型施用，包括但不限于每单位剂型含有少于1mg、1mg至3000mg、优选5至500mg活性成分的一种。约25-250mg的口服剂量通常是方便的。

[0180] 优选施用活性成分以达到约0.00001-30mM、优选约0.1-30μM的活性化合物的峰值血浆浓度。这可以例如通过静脉内注射活性成分的溶液或制剂，任选在盐水或水性介质中或作为活性成分的丸剂(bolus)施用来实现。口服施用也适合产生有效血浆浓度的活性剂。

[0181] 药物组合物中活性化合物的浓度将取决于药物的吸收、分布、失活和排泄率以及本领域技术人员已知的其他因素。需要注意的是，剂量值也将随着要缓解的病况的严重程度而变化。应进一步理解，对于任何特定受试者，应根据个体需要和施用或监督组合物施用的人的专业判断随时间调整具体的剂量方案，并且本文所述的浓度范围是仅是示例性的，并不旨在限制要求保护的组合物的范围或实践。活性成分可以一次施用，或者可以分成多个较小的剂量以不同的时间间隔施用。

[0182] 口服组合物通常包括惰性稀释剂或可食用载体。它们可以封装在明胶胶囊中或压制成片剂。为了口服治疗施用的目的，活性化合物或其前药衍生物可以与赋形剂结合并以

片剂、锭剂或胶囊剂的形式使用。药学相容的粘合剂和/或佐剂材料可以作为组合物的一部分包括在内。

[0183] 片剂、丸剂、胶囊剂、锭剂、小袋剂等可含有以下任何成分或类似性质的化合物:粘合剂如微晶纤维素、黄蓍胶或明胶;赋形剂如淀粉或乳糖,分散剂如海藻酸、普里莫凝胶(Primogel)或玉米淀粉;润滑剂如硬脂酸镁或类固醇(Sterotes);助流剂如胶体二氧化硅;甜味剂如蔗糖或糖精;或调味剂如薄荷、水杨酸甲酯或橙子调味剂。当剂量单位形式是胶囊剂时,除了上述类型的材料之外,它还可以含有液体载体,如脂肪油。此外,剂量单位形式可以包含改变剂量单位物理形式的各种其他材料,例如糖、虫胶或肠溶剂的包衣。

[0184] 活性化合物或其药学上可接受的盐可以作为酏剂、悬浮液、糖浆、威化饼、口香糖等的组分施用。除了活性化合物外,糖浆还可以含有蔗糖作为甜味剂和某些防腐剂、染料、色素和调味。

[0185] 活性化合物或其药学上可接受的盐也可以与不损害所需作用的其他活性材料混合,或与补充所需作用的材料混合,如其他抗癌剂、抗生素、抗真菌剂、抗炎剂或抗病毒化合物。在本发明的某些优选方面,一种或多种根据本发明的嵌合抗体募集化合物与另一种抗癌剂和/或另一种生物活性剂共同施用,如本文另外描述的。

[0186] 用于肠胃外、皮内、皮下或局部应用的溶液或悬浮液可包括以下组分:无菌稀释剂,如注射用水、盐水溶液、不挥发油、聚乙二醇、甘油、丙二醇或其他合成溶剂;抗菌剂,如苯甲醇或对羟基苯甲酸甲酯;抗氧化剂,如抗坏血酸或亚硫酸氢钠;螯合剂,如乙二胺四乙酸;缓冲剂,如醋酸盐、柠檬酸盐或磷酸盐,以及用于调节张力的药剂如氯化钠或葡萄糖。肠外制剂可以封装在安瓿瓶、一次性注射器或玻璃或塑料制成的多剂量小瓶中。

[0187] 如果静脉内施用,优选的载体是生理盐水或磷酸盐缓冲盐水(PBS)。

[0188] 在一个实施方案中,活性化合物与将保护化合物免于从体内快速消除的载体一起制备,如受控和/或持续释放制剂,包括植入物和微囊化递送系统。可以使用可生物降解的生物相容性聚合物,如乙烯醋酸乙烯酯、聚酸酐、聚乙醇酸、胶原蛋白、聚原酸酯和聚乳酸。制备此类制剂的方法对于本领域技术人员将是显而易见的。

[0189] 脂质体悬浮液或胆囊体也可以是药学上可接受的载体。这些可以根据本领域技术人员已知的方法来制备,例如,如美国专利号45,22,811中所述(其通过引用整体并入本文)。例如,脂质体制剂可以通过将适当的脂质(如硬脂酰磷脂酰乙醇胺、硬脂酰磷脂酰胆碱、花生酰磷脂酰胆碱和胆固醇)溶解在无机溶剂中来制备,然后蒸发,留下干燥的脂质薄膜在容器的表面。然后将活性化合物的水溶液引入容器中。然后用手旋转容器以从容器的侧面释放脂质材料并分散脂质聚集体,从而形成脂质体悬浮液。

实施例

[0190] 调查人员不知道,运送用于研究的猪群中的幼猪没有预防猪链球菌(S.suis),这种细菌对猪是致命的,当暴露于生病或定植的动物时,也会导致人死亡。一只幼猪(Sus domesticus)在大复苏后12小时发热后变得虚弱并被安乐死。病理学家立即注意到异常高的细菌负荷,这在显微镜下很明显。对组织和导管尖端进行培养,确认猪链球菌感染。药物本身经过培养,未检测到细菌污染。单独用LY315920治疗并用给予幸存者以进行实验性毒液治疗的单剂量抗生素的第二只幼猪存活了>100小时,直到在研究期结束时按计划用非治

疗剂量的抗生素安乐死。尸检发现，这头猪有明显的猪链球菌感染的证据，但该动物只是在意识到第一只动物死于败血症，而不是由于大班毒液实验性中毒后才接受抗生素治疗，。

[0191] 进一步实施例：病毒和细菌，包括COVID-19和炭疽

[0192] 在严重的感染病例中，如由冠状病毒(例如SARS、MERS、COVID-19、细菌如炭疽、真菌或合并和继发感染)引起的感染，免疫系统可能反应过度并开始攻击肺细胞、神经组织伴随或之前的内皮损伤都导致MP和sPLA2活性以及其他炎症种类的磷脂酶和细胞因子的不适应升高。肺部被液体和垂死的细胞阻塞，导致呼吸困难，出现神经系统并发症，很大一部分感染可导致ARDS和死亡(如严重的冠状病毒综合征，如SARS、MERS和COVID-19或流感，有或没有继发性细菌性肺炎)。

[0193] 例如，冠状病毒SARS-CoV和MERS-CoV具有与sPLA2相关的年龄依赖性死亡率，在25-44岁年龄组高达6％，在45-64岁年龄组高达15％，在更高龄组的病死率高达超过50％。[1] 发明人出乎意料地意识到，单独或联合使用这些药物的早期施用将中止和/或显著抑制sPLA2和金属蛋白酶升高，这预示着由急性肺部炎症和细胞损伤导致的严重后果，可导致幸存者的长期肺部损害。如果可能，sPLA2和MP抑制剂应在感染或导致炎症、肺部、血管、神经和肾后遗症变得严重之前口服施用。以下实施例与此分析相关。

[0194] 实施例1：

[0195] 医护人员或现场工作人员在医院外或医院环境中遇到患有不明呼吸道疾病或新识别的高致死率冠状病毒或炭疽杆菌爆发的患者，并怀疑是传染源。由于高风险的职业环境和从患者传播给医护人员的风险，口服生物可利用的MP和/或PLA2抑制剂联合或不联合抗病毒药物联合或不联合金属蛋白酶抑制抗生素药物，如阿奇霉素(抗生素)施用，用于预防或消除感染的早期症状或体征，预示着病毒诱导的炎症反应会带来更多危及生命的后果。可以在出现严重体征或症状之前开始治疗，或者预防性地导致感染后果较轻，避免重症监护和通气支持。在疾病或高风险职业/高风险接触暴露期间，该患者或医疗保健可以完全维持于口服药物。

[0196] 实施例2：

[0197] 患者有病毒或细菌介导的炎症反应，需要静脉注射药物和重症监护。患者可能有也可能没有ARDS、神经系统后遗症，但病情严重到需要静脉输注药物。由于抑制了适应不良的MP和/或PLA2相关的炎症和细胞毒性反应，MP和/或PLA2抑制剂的静脉输注降低了敏锐度和对密集资源的依赖。一旦病情稳定，该患者可以转换为MP和/或PLA2抑制剂的口服制剂，从而降低复发和长期肺、血管或神经损伤的风险。

[0198] 实施例3

[0199] 对1979年Sverdlovsk流行的41例记录在案的吸入性炭疽病例进行了系统研究，这些病例可追溯到Bacillus anthracis气溶胶的释放。呼吸功能受到纵隔扩张、大量胸腔积液以及B.anthracis的血行和逆行淋巴管扩散到肺部并导致肺炎的影响。这些病理学发现与先前的实验研究一致，显示吸入的孢子转运到纵隔淋巴结，在那里发芽和生长导致局部病变和全身扩散，导致水肿和细胞死亡，这是由于水肿毒素和致死毒素的作用。使用MP或sPLA2抑制剂的吸入、气管内应用、IV或口服组合或单剂方法在人和非人物种中既具有预防性又具有治疗性。暴露于有毒金属蛋白酶“锌素”和相关毒素金属蛋白酶和磷脂酶的Vero(非洲绿猴)细胞培养物证明了sPLA2和金属蛋白酶抑制对保护细胞连接完整性的功效。

[0200] 进一步的实施例

[0201] 方法

[0202] 小鼠研究:使用丙二醇/异氟醚通过标准鼻锥程序麻醉重大约20克的C57BL/6小鼠。保护研究:对照(图1A、1B和图2):50μL的1:1:1:1的LPS(O55:B5):油酸(OA):PBS:乙醇的混合物在麻醉下鼻内滴注(IN),小鼠恢复用于观察。接受治疗的动物通过相同的方法接受50μL的1:1:1:1的LPS(O55:B5):油酸(OA):AZD2716:乙醇。AZD2716的最终施用剂量大约为5mg/kg。使用iPhone 10对肺音进行录音,然后传输以根据与峰值的dB距离进行幅度分析(图3)。救援研究:(图5)进行类似操作,但药物单独口服或组合在8%阿拉伯树胶中以10mg/kg(普马司他和/或AZD2716)混合,在如上所述的麻醉下,在IN毒素滴注(75μL IN)后5分钟经由弯曲的不锈钢管饲针以10ml/kg的体积混合。

[0203] 组织学和解释:24或48小时后,使用丙二醇/异氟醚在深度麻醉下对小鼠实施安乐死,然后进行颈椎脱位和肺和肾的快速解剖。肺用10%中性缓冲福尔马林膨胀,肾在切开胶囊后直接放入10%中性缓冲福尔马林中。组织被送到IDEXX实验室进行固定并用苏木精和伊红染色。对染色的肺切片进行显微镜检查,并根据Aeffner et al.Tox Path,43:1074-1092,2015描述的ATS标准对每个肺切片进行评分。通过将载玻片ID标签定向到左肺左侧并使用肺不张组织外的精细控制交替场来检查至少25个高功率场。统计:平均分数并应用Student t-检验(两条尾巴,2型,认为$p<0.05$是显著的)。

[0204] 酶测定:优化蝰蛇(Viper)、眼镜蛇(elapid)和无毒蛇(colubrid)毒液MP酶活性确定MP活性的实验使用经过验证的MP底物(DQ明胶),并按照EnzChek明胶酶测定制造商的说明运行测定。如果储存在-20℃,这些药剂盒按规定储存。PBS是MP测定中的缓冲液,在495nm处测量吸光度。MP的底物是DQ明胶,按照EnzChek明胶酶测定制造商的说明运行测定。通过比较不同剂量的系列稀释抑制剂的吸光度并与对照比较来构建剂量反应曲线,以确定每个毒液-药物对的IC_{50}并直接比较药物对每种毒液MP活性的影响(图4,表2)。

[0205] 细胞培养物和电子细胞基质阻抗判断(ECIS)研究:

[0206] 图6-12:对于细胞培养物和ECIS研究,将vero上皮细胞(CCL-81)在添加5%EquaFETAL(EF)的Dulbecco改良的Eagle培养基(DMEM)(Atlas Biologicals,Fort Collins,USA)(EF-DMEM)中培养和100单位/mL的青霉素和100μg/mL的链霉素(Pen-Strep,参见Maghalaes,et al.,Insect Biochem.Mol.Biol.,2019,111,103169),并在具有或不具有创伤能力的常规8或96孔板和ECIS板(96孔)上接种。在一些研究中,预先混合毒液和药物,以评估药物保护细胞免于脱离的能力。在其他情况下,首先使用毒液,然后使用药物,以评估药物在将vero细胞暴露于毒液后5到15分钟从毒液效应中拯救细胞的能力。通常,样品以不同浓度的毒液、药物、药物组合与阴性对照(在培养基中生长的细胞)重复运行。细胞损伤协议基于制造商对所使用的特定板模型的预设建议。将毒液和药物称重并在PBS(毒液)中稀释至10mg/mL储备液或在无菌水(药物)中稀释至2.5或1mg/mL储备液,然后以2倍的最终浓度与细胞培养基混合,最终体积为2mL或250μL。

[0207] ECIS-Zθ是体外系统,通过金膜电极监测实时细胞行为和运动。细胞膜本质上起绝缘体的作用。因此,电流在没有细胞的情况下不受限制,一旦细胞单层建立,电流就会受到限制。电流的变化以阻抗(Z)来衡量,它可以深入了解细胞行为和不同频率下的运动的两个方面。在低频(<10,000Hz)下,细胞体迫使电流向基底外侧流动或通过细胞边界之间的细胞

间隙。因此,电阻(R)在低频下测量并提供有关屏障完整性的信息。相反,细胞膜产生的对立在高频(>10,000Hz)下相对较小,因此电流以电容方式流过细胞体。电容(C)是衡量细胞电极覆盖率的指标,表示细胞迁移以及损伤后的细胞单层破坏。ECIS还可以通过机械破坏细胞单层来产生可重复的创伤模型。ECIS装置可用于使用经由电极产生的高电流脉冲来缠绕细胞单层。损伤的严重程度取决于电流水平和应用的持续时间。受损伤或死亡的细胞然后从电极表面分离,测量其为电极电容的快速增加和电阻的减少。然后系统返回其正常操作并监控随后的恢复,因为相邻细胞迁移以填充暴露的电极并重新建立细胞单层,参见Gu,et al.,Biosensors,(Basel),2018,Oct.11,8(4),90。

[0208] 用于实现加速治疗伤口和烧伤、炭疽金属蛋白酶毒素(致死因子)驱动的并发症、ARDS、新生儿和小儿急性呼吸窘迫综合征(新生儿/小儿ARDS),包括胎粪吸入综合征的方法和组合物描述于上文所述的实验。因此,上述实验证明了以下观察结果等:

[0209] 1.在治疗LPS-油酸诱导的ARDS方面,单独的口服普马司他出人意料地优于所有抑制剂,但sPLA2和金属蛋白酶抑制剂的组合还有额外的好处;

[0210] 2.仅局部(呼吸道)应用AZD2716预防和拯救年轻(～19-20g)小鼠免受LPS-油酸诱导的ARDS,尤其是肺水肿。这对新生儿和儿童ARDS的治疗具有重要意义。

[0211] 3.低剂量普马司他+伐瑞拉迪增强了培养组织的拯救和加速细胞培养物中实验性损伤组织的伤口愈合。

[0212] 参考文献

[0213] 1.Abraham E,Naum C,Bandi V,Gervich D,Lowry S,Wunderink R,et al.Efficacy and safety of LY315920Na/S-5920,a selective inhibitor of 14-kDa group IIA secretory phospholipase A2.Crit Care Med.2003.

[0214] 2.Alejandro Piris Gimenez,Yong-Zheng Wu,Miguel Paya,Christophe Delclaux,Lhousseine Touqui,and Pierre L.Goossens.High Bactericidal Efficiency of Type IIA Phospholipase A2 against Bacillus anthracis and Inhibition of Its Secretion by the Lethal Toxin.J.Immunol 2004;173:521-530.

[0215] 3.Becker AB,Roth RA.An unusual active site identified in a family of zinc metalloendopeptidases.Proc Natl Acad Sci U S A.1992;89(9):3835-3839.doi:10.1073/pnas.89.9.3835.

[0216] 4.Bode W,Gomis-Rüth FX,StöcklerW.Astacins,serralysins,snake venom and matrix metalloproteinases exhibit identical zinc-binding environments (HEXXHXXGXXH and Met-turn)and topologies and should be grouped into a common family,the'metzincins'.FEBS Lett.1993 Sep 27;331(1-2):134-40.doi:10.1016/0014-5793(93)80312-i.PMID:8405391.

[0217] 5.De Luca D,Piastra M,Tosi F,Pulitano S,Mancino A,Genovese O,et al.Pharmacological Therapies for Pediatric and Neonatal ALI/ARDS:An Evidence-Based Review.Curr Drug Targets.2012.

[0218] 6.De Luca D,Vendittelli F,Trias J,Fraser H,Minucci A,Gentile L,et al.Surfactant and Varespladib Co-Administration in Stimulated Rat Alveolar Macrophages Culture.Curr Pharm Biotechnol.2013.

[0219] 7.De Luca D,Capoluongo E,Rigo V.Secretory phospholipase A2 pathway in various types of lung injury in neonates and infants:A multicentre translational study.BMC Pediatr.2011.

[0220] 8.Dennis EA,Cao J,Hsu YH,Magrioti V,Kokotos G.Phospholipase A2 enzymes:Physical structure,biological function,disease implication,chemical inhibition,and therapeutic intervention.Chemical Reviews.2011.

[0221] 9.Friebe S,van der Goot FG,Bürgi J.The Ins and Outs of Anthrax Toxin.Toxins(Basel).2016 Mar 10;8(3):69.doi:10.3390/toxins8030069.PMID:26978402;PMCID:PMC4810214.

[0222] 10.Furue S,Kuwabara K,Mikawa K,Nishina K,Shiga M,Maekawa N,et al.Crucial role of group IIA phospholipase A2 in oleic acid-induced acute lung injury in rabbits.Am J Respir Crit Care Med.1999.

[0223] 11.Giordanetto F,Pettersen D,Starke I,Nordberg P,Dahlström M,Knerr L,Selmi N,Rosengren B,Larsson LO,Sandmark J,Castaldo M,Dekker N,Karlsson U,Hurt-Camejo E.Discovery of AZD2716:A Novel Secreted Phospholipase A_2(sPLA$_2$) Inhibitor for the Treatment of Coronary Artery Disease.ACS Med Chem Lett.2016 Aug 9;7(10):884-889.

[0224] 12.Goldberg AB,Turk BE.Inhibitors of the Metalloproteinase Anthrax Lethal Factor.Curr Top Med Chem.2016;16(21):2350-8.

[0225] 13.Gomis-Rüth FX,Kress LF,Bode W.First structure of a snake venom metalloproteinase:a prototype for matrixmetalloproteinases/collagenases.EMBO J.1993;12(11):4151-4157.

[0226] 14.Hooper NM.Families of zinc metalloproteases.FEBS Lett.1994 Oct 31;354(1):1-6.doi:10.1016/0014-5793(94)01079-x.PMID:7957888.

[0227] 15.Jiang W,Bond JS.Families of metalloendopeptidases and their relationships.FEBS Lett.1992 Nov 9;312(2-3):110-4.doi:10.1016/0014-5793(92)80916-5.PMID:1426239.

[0228] 16.Klimpel KR,Arora N,Leppla SH.Anthrax toxin lethal factor contains a zinc metalloprotease consensus sequence which is required for lethal toxin activity.Mol Microbiol.1994 Sep;13(6):1093-100.doi:10.1111/j.1365-2958.1994.tb00500.x.PMID:7854123.

[0229] 17.Liu,S,Moayeri,M.and Leppla,S.H.Anthrax lethal and edema toxins in anthrax pathogenesis.Trends Microbiol.22(6),317-325(2014).

[0230] 18.Magrioti V,Kokotos G.Phospholipase A2 inhibitors for the treatment of inflammatory diseases:A patent review(2010-present).Expert Opinion on Therapeutic Patents.2013.

[0231] 19.Piris-Gimenez A,Paya M,Lambeau G,Chignard M,Mock M,Touqui L,Goossens PL.In vivo protective role of human group IIa phospholipase A2 against experimental anthrax.J Immunol.2005 Nov 15;175(10):6786-91.doi:

10.4049/jimmunol.175.10.6786.PMID:16272335.

[0232] 20.Rawlings ND,Barrett AJ.Evolutionary families of peptidases.Biochem J.1993 Feb 15;290(Pt 1)(Pt 1):205-18.doi:10.1042/bj2900205.PMID:8439290;PMCID:PMC1132403.

[0233] 21.Raymond B,Leduc D,Ravaux L,et al.Edema toxin impairs anthracidal phospholipase A2 expression by alveolar macrophages.PLoS Pathog.2007;3(12):e187.doi:10.1371/journal.ppat.0030187.

[0234] 22.Santos AA,Browning JL,Scheltinga MR,Lynch EA,Brown EF,Lawton P,et al.Are events after endotoxemia related to circulating phospholipase A2?Ann Surg.1994.

[0235] 23.Shoop WL,Xiong Y,Wiltsie J,Woods A,Guo J,Pivnichny JV,Felcetto T,Michael BF,Bansal A,Cummings RT,Cunningham BR,Friedlander AM,Douglas CM,Patel SB,Wisniewski D,Scapin G,Salowe SP,Zaller DM,Chapman KT,Scolnick EM,Schmatz DM,Bartizal K,MacCoss M,Hermes JD.Anthrax lethal factor inhibition.Proc Natl Acad Sci U S A.2005 May 31;102(22):7958-63.

[0236] 24.Sims K.Kochi,Giampietro Schiavo,Michèle Mock,Cesare Montecucco,Zinc content of the Bacillus anthracis lethal factor,FEMS Microbiology Letters,Volume 124,Issue 3,December 1994,Pages 343-348.

[0237] 25.Sohail HA,Gutiérrez JM,Mebs D,Rowan EG,Sohail M,Warrell DA.Venoms,poisons and toxins:evolution and impact of amazing molecules.J Venom Res.2020;10:1-6.Published 2020 Jan 12.

[0238] 26.Sweeney DA,Cui X,Solomon SB,Vitberg DA,Migone TS,Scher D,Danner RL,Natanson C,Subramanian GM,Eichacker PQ.Anthrax lethal and edema toxins produce different patterns of cardiovascular and renal dysfunction and synergistically decrease survival in canines.J Infect Dis.2010 Dec 15;202(12):1885-96.doi:10.1086/657408.Epub 2010 Nov 10.PMID:21067373;PMCID:PMC3061475.

表1

参数	每个场的分数		
	0	1	2
肺泡腔中的中性粒细胞	无	1~5	>5
组织间隙中的中性粒细胞	无	1~5	>5
填充气腔的蛋白质碎片	无	1	>1
肺泡间隔增厚	<2×	2×~4×	≥4×

图1

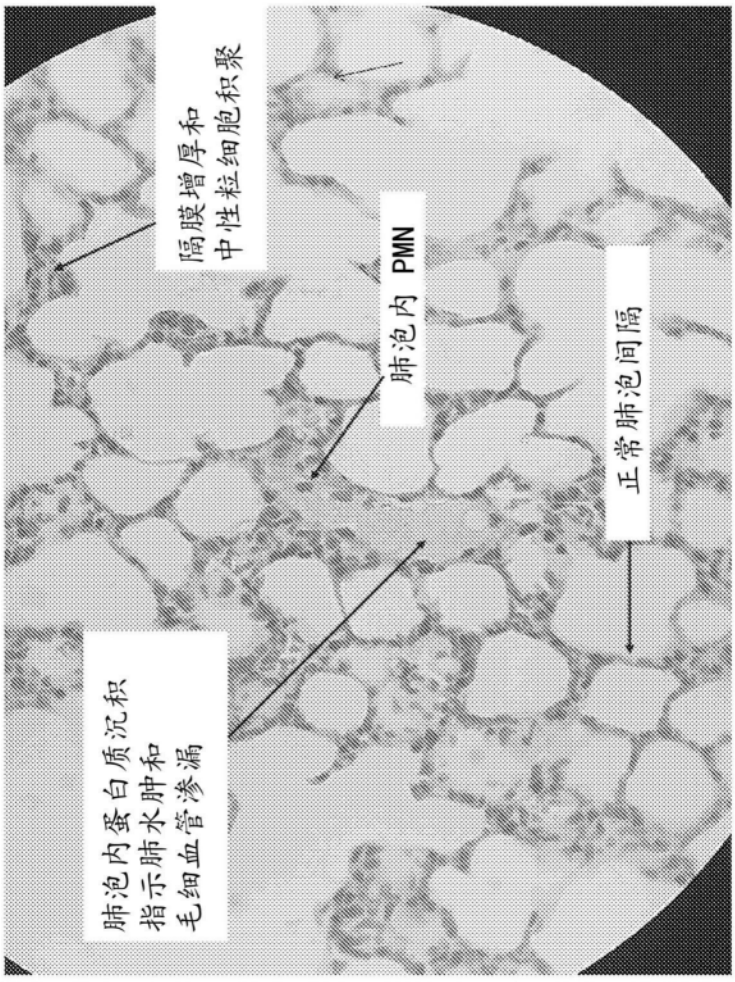


图1A

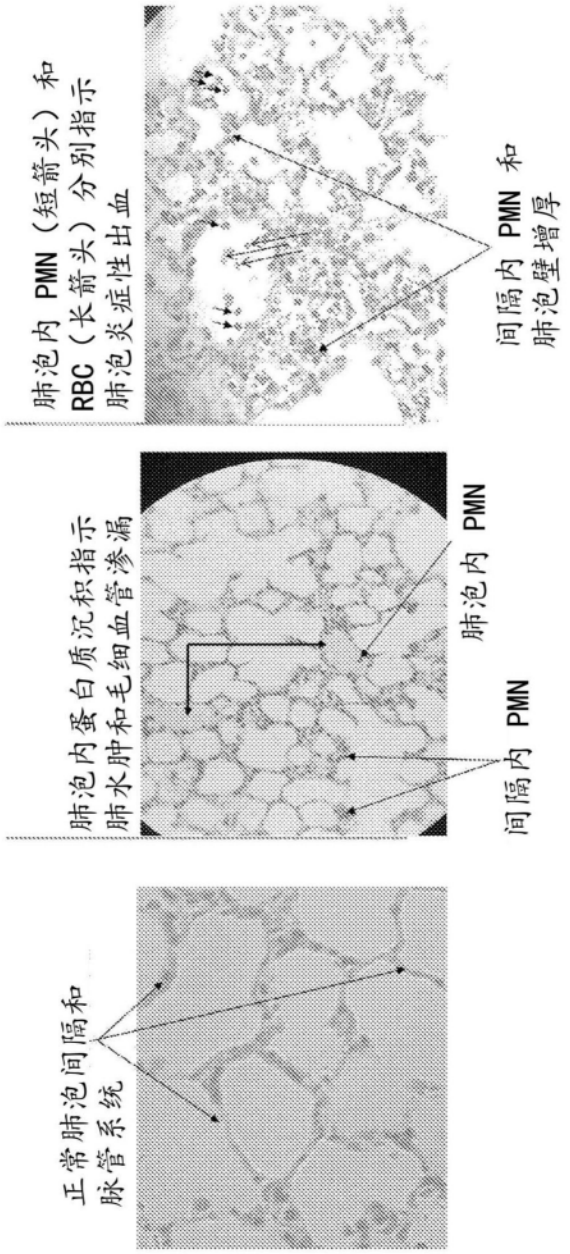

肺泡内 PMN（短箭头）和
RBC（长箭头）分别指示
肺泡炎症性出血
间隔内 PMN 和
肺泡壁增厚
肺泡内蛋白质沉积指示
肺水肿和毛细血管渗漏
肺泡内 PMN
间隔内 PMN
正常肺泡间隔和
脉管系统

图1B

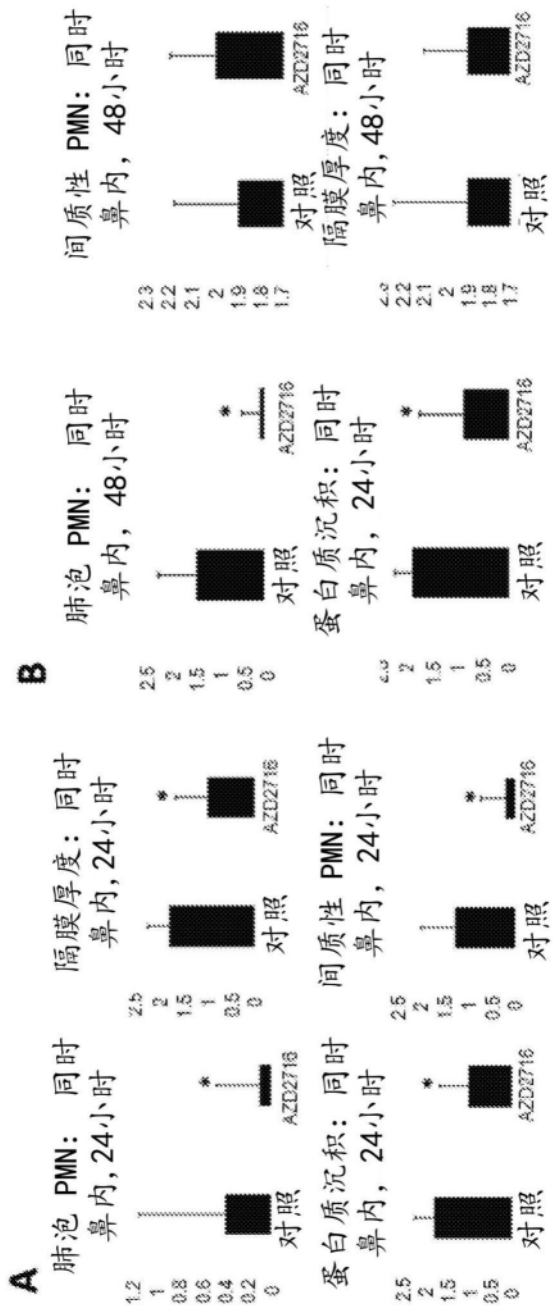

A
肺泡 PMN: 同时
鼻内，24小时
对照
AZD2716
隔膜厚度：同时
鼻内，24小时
对照
AZD2716
蛋白质沉积：同时
鼻内，24小时
对照
AZD2716
间质性 PMN：同时
鼻内，24小时
对照
AZD2716
B
肺泡 PMN: 同时
鼻内，48小时
对照
AZD2716
隔膜厚度：同时
鼻内，48小时
对照
AZD2716
蛋白质沉积：同时
鼻内，24小时
对照
AZD2716
间质性 PMN：同时
鼻内，48小时
对照
AZD2716

图2

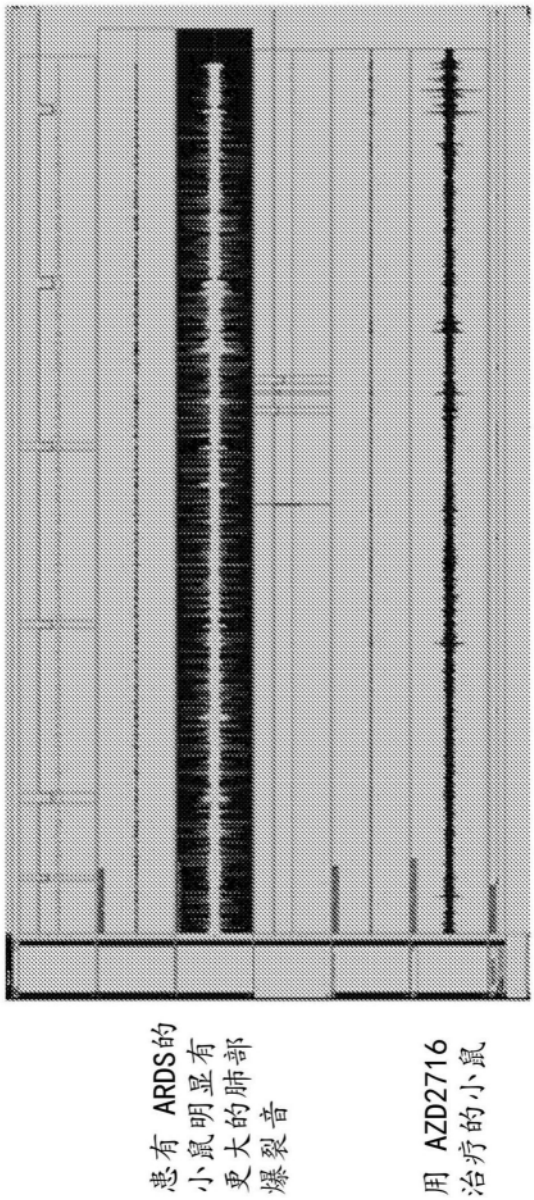


图3

表2

蛇的种类和地理区域	普马司他	巴马司他	马立马司他	炭疽致死因子抑制剂
Agkistrodon contortrix laticinctus (Copperhead-USA)	0.02	0.12	0.23	不确定的
Agkistrodon piscivorus conanti (Florida Cottonmouth-USA)	0.01	0.04	0.16	不确定的
Agkistrodon piscivorus (E. Cottonmouth)	0.002	0.005	0.025	8.8
Bitis arietans (Puff Adder-Africa)	0.002	0.005	0.009	38
Bothrops atrox (Fer de Lance-Latin America)	0.01	0.16	0.2	0.4
Crotalus adamanteus (E. Diamondback-USA)	0.008	0.045	0.06	1.1
Crotalus atrox (W. Diamondback-USA)	0.175	0.35	0.4	1.3
Crotalus helleri (Pacific Coast Rattler-USA)	0.006	0.02	0.02	0.09
Crotalus viridis (Prairie Rattler-USA)	0.003	0.007	0.01	0.6
Dispholidus typus (Boomslang-Africa)	0.002	0.005	0.008	0.3
Echis carinatus sochureki (Saw Scale Viper-India)	0.01	0.06	0.1	9.4
Echis pyramidum (Saw Scale Viper-Africa)	0.008	0.03	0.10	2.0
Gloydius b. brevicaudus (Korean Mamushi-Asia)	0.003	0.01	0.03	3.1
Sistrurus barbieri miliari (Pygmy Rattler-USA)	0.0002	0.001	0.002	0.01
Trimeresus elegans (Elegant Pit Viper-Asia)	0.024	0.09	0.2	8.9
Vipera ammodytes (Adder-Europe/Middle East)	0.014	0.05	0.2	4403
Vipera berus (Adder-Europe/Eurasia)	0.14	0.1	0.2	2.7

图4

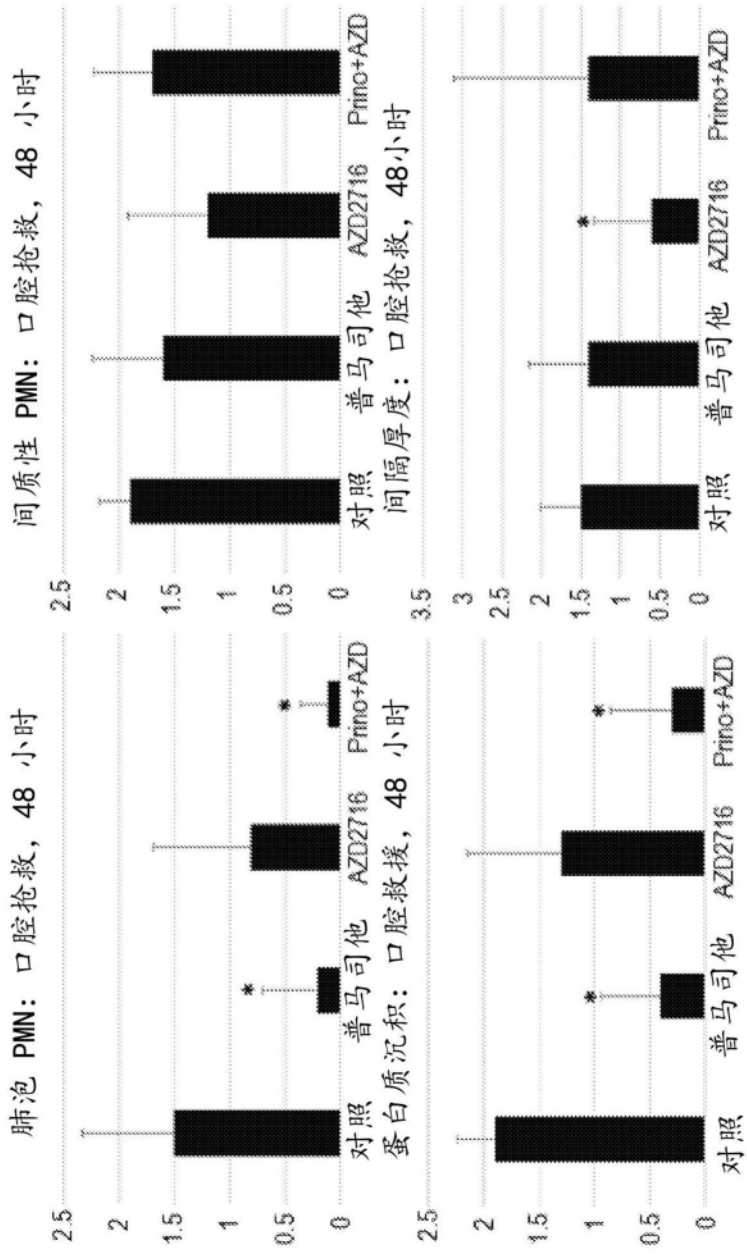

肺泡 PMN：口腔抢救，48 小时
蛋白质沉积：口腔救援，48 小时
间质性 PMN：口腔抢救，48 小时
间隔厚度：口腔抢救，48小时
对照
普马司他
AZD2716
Primo+AZD

图5

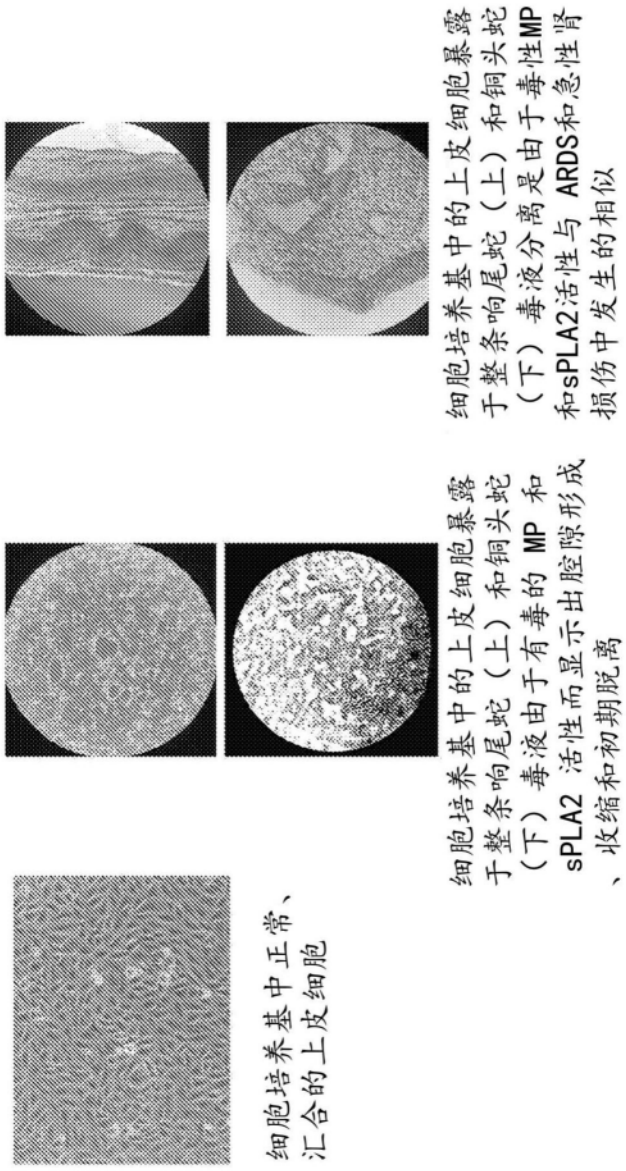

细胞培养基中正常、汇合的上皮细胞
细胞培养基中的上皮细胞暴露于整条响尾蛇（上）和铜头蛇（下）毒液由于有毒的 MP 和 sPLA2 活性而显示出腔隙形成、收缩和初期脱离
细胞培养基中的上皮细胞暴露于整条响尾蛇（上）和铜头蛇（下）毒液分离是由于毒性MP和sPLA2活性与 ARDS和急性肾损伤中发生的相似

图6

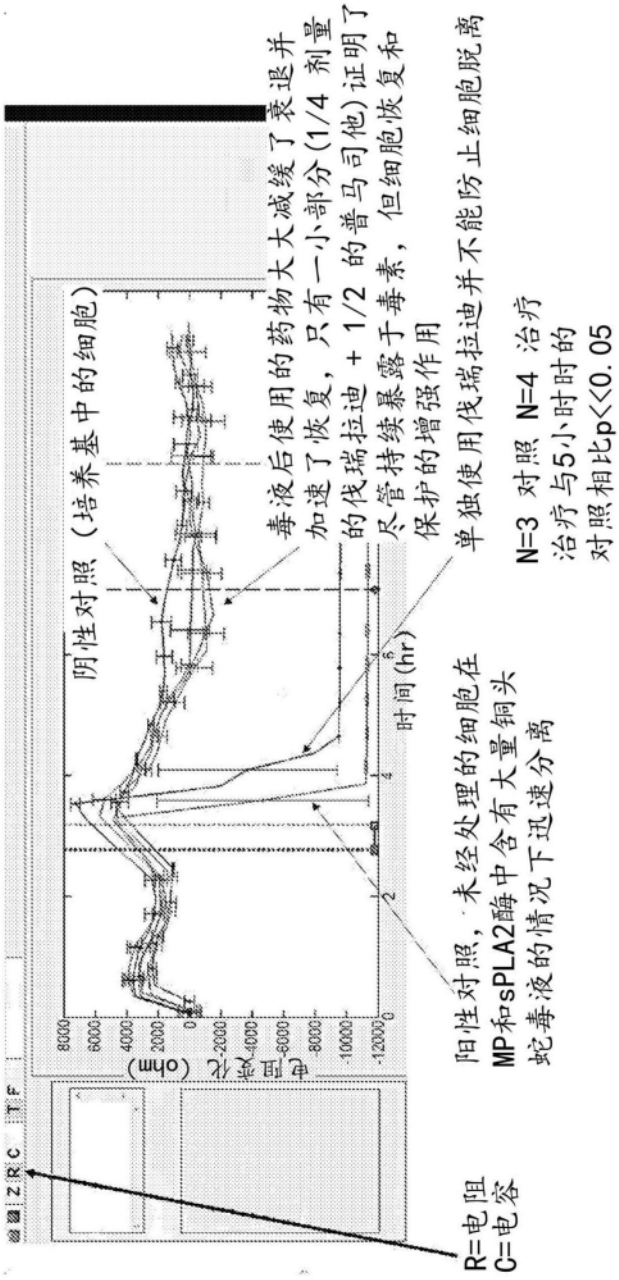

阴性对照（培养基中的细胞）
毒液后使用的药物大大减缓了衰退并
加速了恢复，只有一小部分(1/4 剂量
的伐瑞拉迪 + 1/2 的普马司他)证明了
尽管持续暴露于毒素，但细胞恢复和
保护的增强作用
单独使用伐瑞拉迪并不能防止细胞脱离
N=3 对照 N=4 治疗
治疗与5小时时的
对照相比p<0.05
阳性对照，未经处理的细胞在
MP和sPLA2酶中含有大量铜头
蛇毒液的情况下迅速分离
R=电阻
C=电容
电阻 (ohm)
时间(hr)
Z R C T F

图7

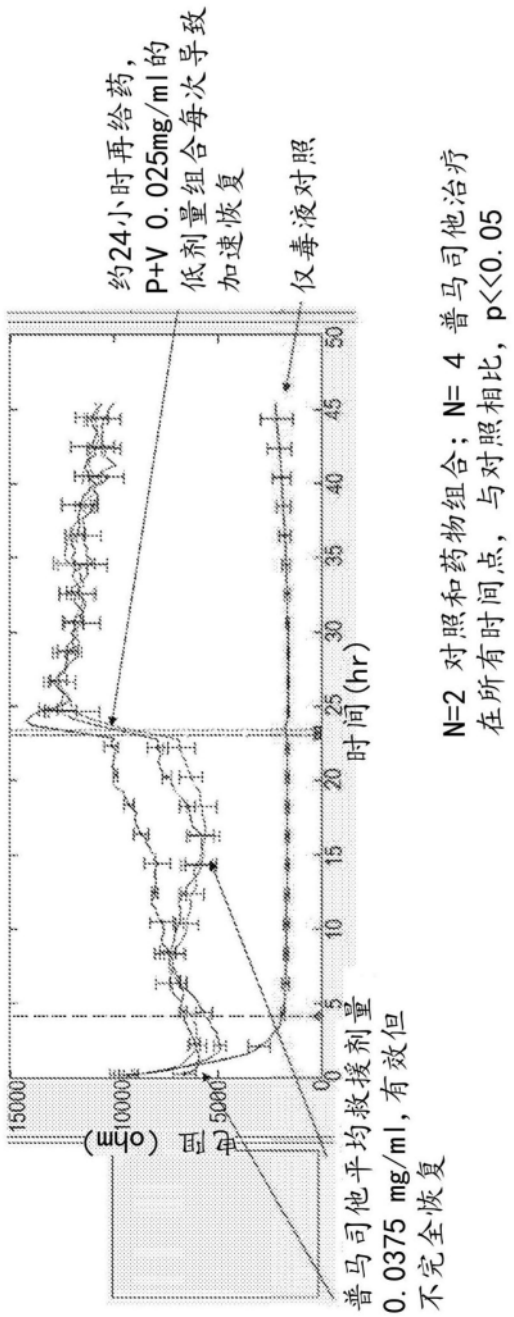

约24小时再给药，
P+V 0.025mg/ml的
低剂量组合每次导致
加速恢复
仅毒液对照
N=2 对照和药物组合；N= 4 普马司他治疗
在所有时间点，与对照相比，p<<0.05
时间(hr)
电阻(ohm)
15000
10000
5000
0
0
5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
普马司他平均救援剂量
0.0375 mg/ml，有效但
不完全恢复

图8

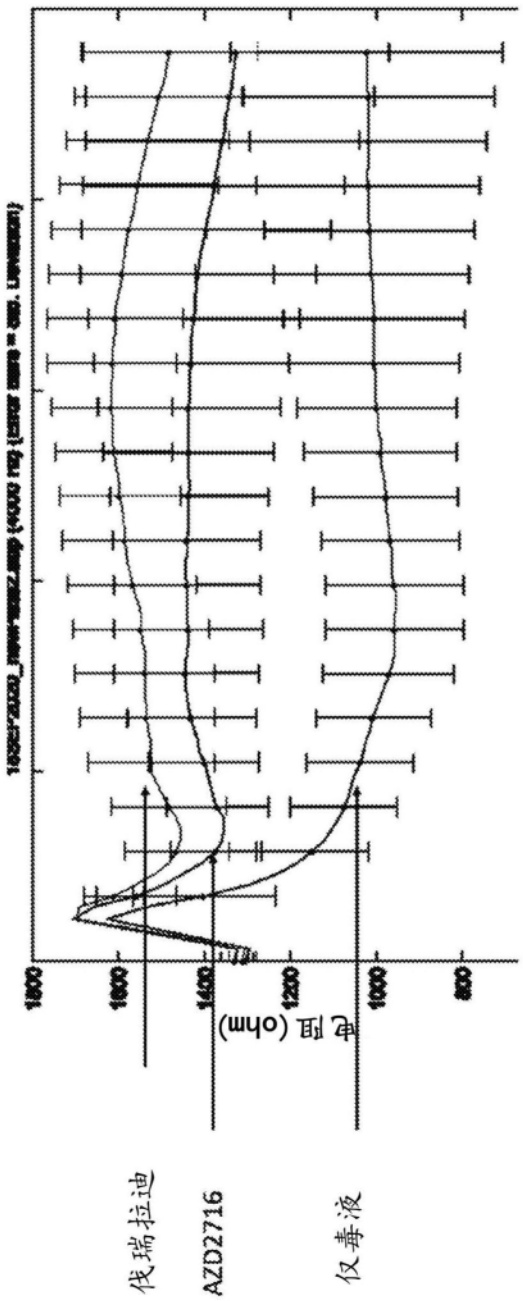


图9

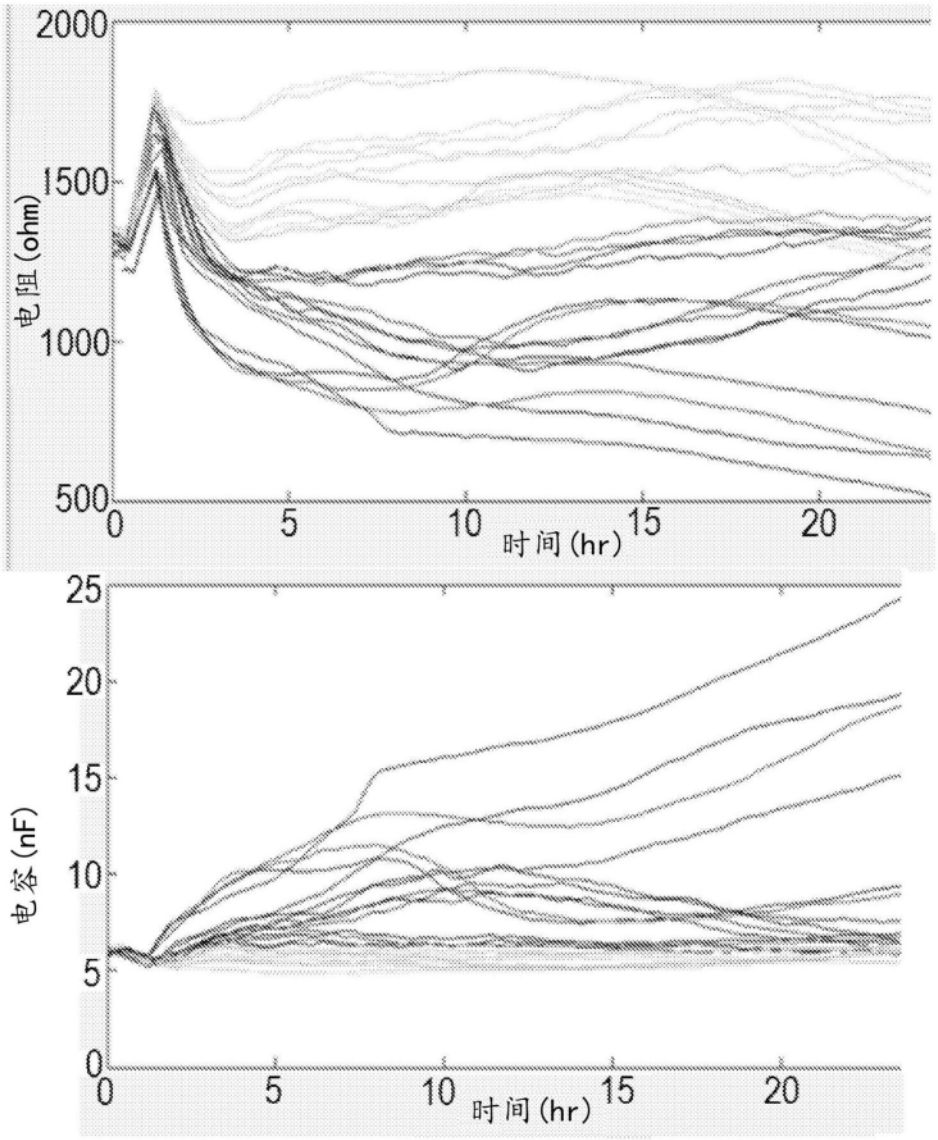

2000
1500
1000
500
电阻(ohm)
0
5
10
15
20
时间(hr)
25
20
15
10
5
0
电容(nF)
0
5
10
15
20
时间(hr)

图10

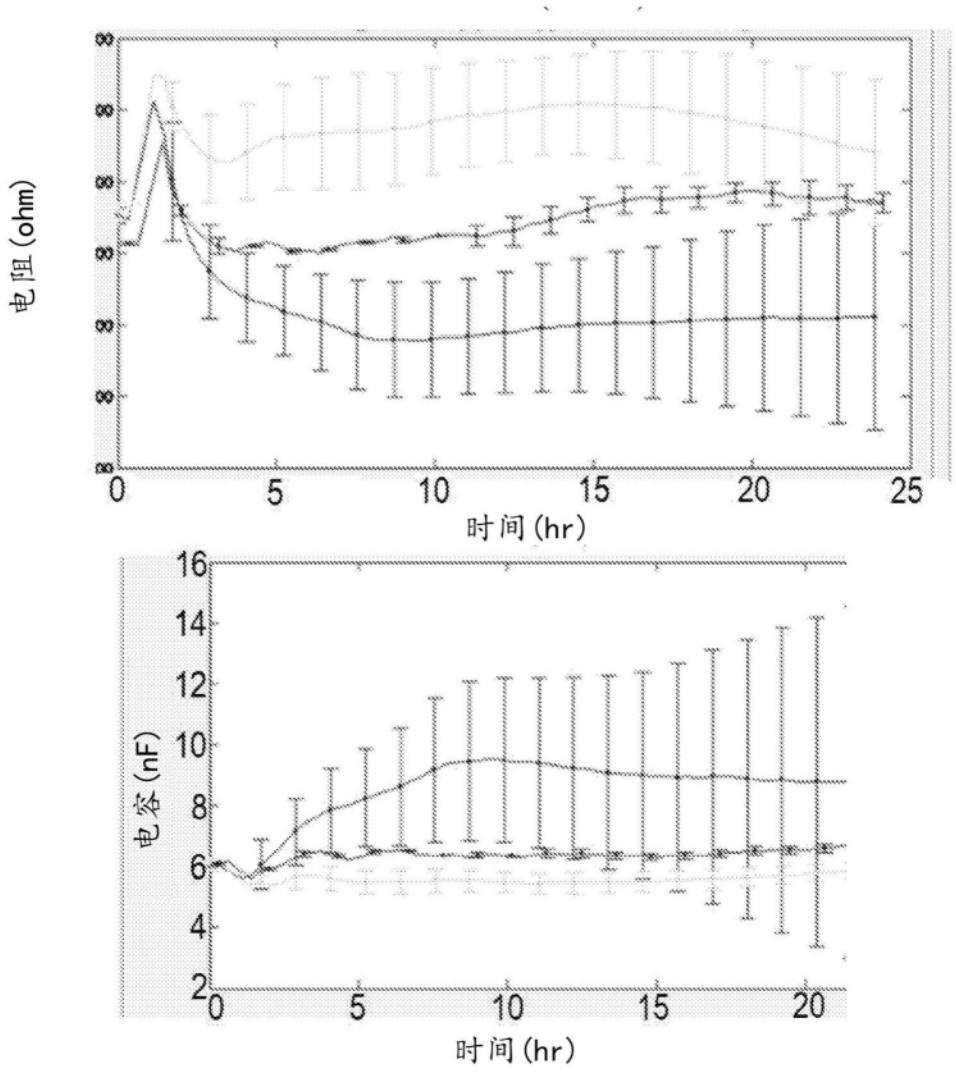


图10(续)

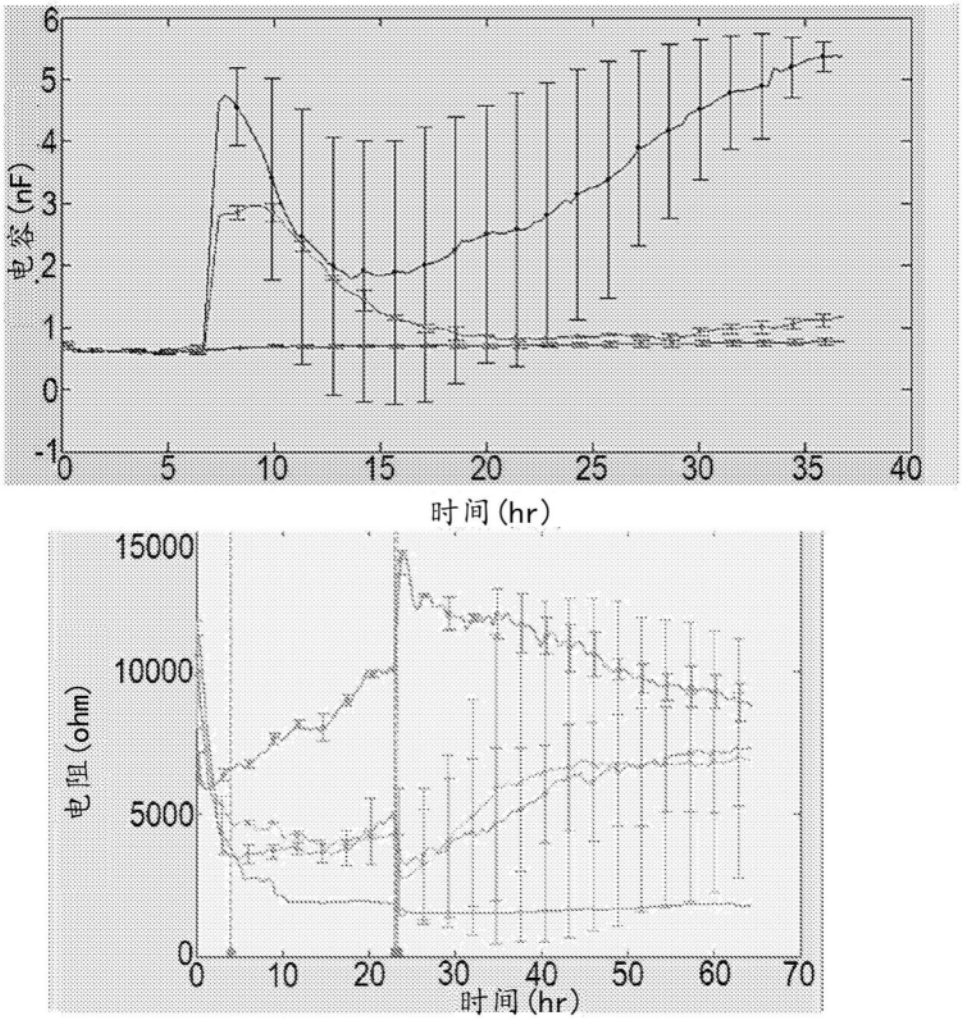

电容(nF)
6
5
4
3
2
1
0
-1
0
5
10
15
20
25
30
35
40
时间(hr)
电阻(ohm)
15000
10000
5000
0
0
10
20
30
40
50
60
70
时间(hr)

图11

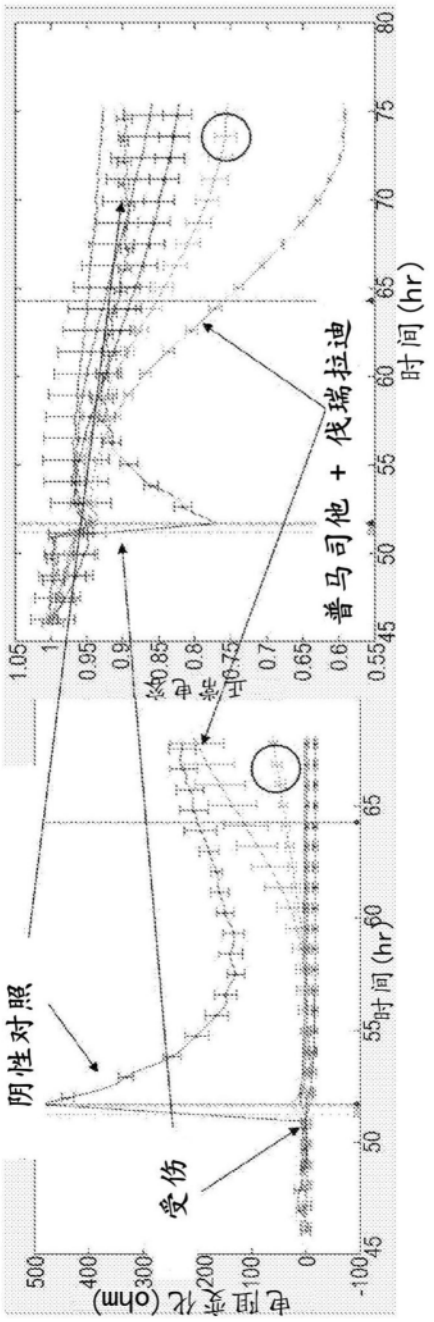


图12