(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 116261468 A
(43)申请公布日 2023.06.13

(21)申请号 202180059383.8
(22)申请日 2021.05.19
(30)优先权数据
63/027,800 2020.05.20 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2023.01.19
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2021/033237 2021.05.19
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2021/236820 EN 2021.11.25
(71)申请人 钙医学公司
地址 美国加利福尼亚州
(72)发明人 肯尼思·A·斯陶德曼
迈克尔·杜恩 苏达山·赫巴尔
雷切尔·莱尼
(74)专利代理机构 北京安信方达知识产权代理有限公司 11262
专利代理师 徐爱文 张奎燕
(51)Int.Cl.
A61K 45/06(2006.01)

权利要求书2页 说明书29页 附图1页

(54)发明名称

治疗急性肾损伤的方法和组合物

(57)摘要

本文公开了与通过钙信号传导的药物操纵治疗急性肾损伤(AKI)相关的组合物和方法。此类组合物和方法可用于减少可能导致AKI或AKI进展为CKD的炎症反应。

急性胰腺炎组 SIRS + SpO_2 < 96%	患者总数	住院期间的 AKI患者百分比
范德比尔特历史SOC患者*	50	50%
2a期SOC患者	7	20%
2a期CM4620-治疗的患者	14	→ 8% ←

*范德比尔特EMR数据库中的历史护理标准对照数据，包括现有和新发AKI

*对范德比尔特数据库数据的纳什生物分析——符合研究纳入标准选定，然后按SIRS和SpO_2分类的患者：

SIRS + SpO_2 < 96%的患者比其他AP患者病情更严重

CN 116261468 A

1.一种用于治疗对象中的急性肾损伤(AKI)的方法,包括向所述对象施用治疗有效量的细胞内钙信号传导抑制剂。

2.一种用于在有发展出急性肾损伤(AKI)的风险的对象中预防AKI的方法,包括向所述对象施用预防有效量的细胞内钙信号传导抑制剂。

3.一种用于预防或减缓对象从急性肾损伤(AKI)向慢性肾脏病(CKD)转变的方法,包括向所述对象施用预防性治疗有效量的细胞内钙信号传导抑制剂。

4.根据权利要求1或2所述的方法,其中所述细胞内钙信号传导抑制剂是库操纵性钙(SOC)通道抑制剂。

5.根据权利要求1或2所述的方法,其中所述细胞内钙信号传导抑制剂是Ca2+释放活化(CRAC)通道抑制剂。

6.根据权利要求1或2所述的方法,其中所述细胞内钙信号传导抑制剂抑制包含基质相互作用分子1(STIM1)蛋白的通道。

7.根据权利要求1或2所述的方法,其中所述细胞内钙信号传导抑制剂抑制包含Orai1蛋白的通道。

8.根据权利要求1或2所述的方法,其中所述细胞内钙信号传导抑制包含Orai2蛋白的通道。

9.根据权利要求1或2所述的方法,其中所述细胞内钙信号传导抑制剂是具有以下结构的化合物:N-(5-(6-乙氧基-4-甲基吡啶-3-基)吡嗪-2-基)-2,6-二氟苯甲酰胺、N-(5-(2-乙基-6-甲基苯并[d]噁唑-5-基)吡啶-2-基)-3,5-二氟异烟酰胺、N-(4-(1-乙基-3-(噻唑-2-基)-1H-吡唑-5-基)苯基)-2-氟苯甲酰胺、N-(5-(1-乙基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-5-基)吡嗪-2-基)-2,4,6-三氟苯甲酰胺、4-氯-1-甲基-N-(4-(1-甲基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-5-基)苯基)-1H-吡唑-5-甲酰胺、N-(4-(3-(二氟甲基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)-3-氟苯基)-2,6-二氟苯甲酰胺、N-(4-(3-(二氟甲基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)-3-氟苯基)-2,4,6-三氟苯甲酰胺、N-(4-(3-(二氟甲基)-1-甲基-1H-吡唑-5-基)-3-氟苯基)-2,4,6-三氟苯甲酰胺、4-氯-N-(3-氟-4-(1-甲基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-5-基)苯基)-1-甲基-1H-吡唑-5-甲酰胺、3-氟-4-(1-甲基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-5-基)-N-((3-甲基异噻唑-4-基)甲基)苯胺、N-(5-(7-氯-2,3-二氢-[1,4]二噁英并[2,3-b]吡啶-6-基)吡啶-2-基)-2,6-二氟苯甲酰胺、N-(2,6-二氟苄基)-5-(1-乙基-3-(噻唑-2-基)-1H-吡唑-5-基)嘧啶-2-胺、3,5-二氟-N-(3-氟-4-(3-甲基-1-(噻唑-2-基)-1H-吡唑-4-基)苯基)异烟酰胺、5-(1-甲基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-5-基)-N-(2,4,6-三氟苄基)吡啶-2-胺、N-(5-(1-乙基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-5-基)吡啶-2-基)-2,4,6-三氟苯甲酰胺、N-(5-(5-氯-2-甲基苯并[d]噁唑-6-基)吡嗪-2-基)-2,6-二氟苯甲酰胺、N-(5-(6-乙氧基-4-甲基吡啶-3-基)噻唑-2-基)-2,3,6-三氟苯甲酰胺、N-(5-(1-乙基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-5-基)吡啶-2-基)-2,3,6-三氟苯甲酰胺、2,3,6-三氟-N-(3-氟-4-(1-甲基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-5-基)苯基)苯甲酰胺、2,6-二氟-N-(4-(5-甲基-2-(三氟甲基)噁唑-4-基)苯基)苯甲酰胺、或N-(5-(6-氯-2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)吡嗪-2-基)-2-氟-6-甲基苯甲酰胺、或其药学上可接受的盐、药学上可接受的溶剂化物,或药学上可接受的前药。

10.根据权利要求8所述的方法,其中所述细胞内钙信号传导抑制剂是化学名称为N-(5-(6-氯-2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)吡嗪-2-基)-2-氟-6-甲基苯甲酰

胺的化合物或其药学上可接受的盐、药学上可接受的溶剂化物、或药学上可接受的前药。

11.根据权利要求8所述的方法，其中所述细胞内钙信号传导抑制剂是化学名称为2,6-二氟-N-(1-(4-羟基-2-(三氟甲基)苄基)-1H-吡唑-3-基)苯甲酰胺的化合物或其药学上可接受的盐、药学上可接受的溶剂化物、或药学上可接受的前药。

12.根据权利要求1-11中任一项所述的方法，还包括抑制CD4+T细胞向T辅助17(TH17)细胞的分化。

13.根据权利要求12所述的方法，其中所述CD4+T细胞向TH17细胞的分化发生在肾脏中。

14.根据权利要求1-13中任一项所述的方法，还包括减少促炎细胞因子白介素17(IL-17)的量。

15.根据权利要求1-14中任一项所述的方法，还包括施用选自以下的第二化合物：重组人IGF-I(rhIGF-I)、心房钠尿肽(ANP)、多巴胺、胱天蛋白酶抑制剂、米诺环素、鸟苷和Pifithrin-α(p53抑制剂)、聚ADP核糖聚合酶抑制剂、去铁胺、丙酮酸乙酯、活化蛋白C、胰岛素、重组促红细胞生成素、肝细胞生长因子、一氧化碳释放化合物、胆红素、内皮素拮抗剂、鞘氨醇1磷酸类似物、腺苷类似物、诱导型一氧化氮合酶抑制剂、贝特、嗜中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白、IL-6拮抗剂、C5a拮抗剂、IL-10、右美托咪啶、氯喹(CQ)、羟氯喹(HCQ)和α-促黑素细胞激素。

16.一种组合物，其包含细胞内钙信号传导抑制剂和至少一种用于治疗急性肾损伤(AKI)的化合物。

17.根据权利要求16所述的组合物，其中所述化合物选自：重组人IGF-I(rhIGF-I)、心房钠尿肽(ANP)、多巴胺、胱天蛋白酶抑制剂、米诺环素、鸟苷和Pifithrin-α(p53抑制剂)、聚ADP核糖聚合酶抑制剂、去铁胺、丙酮酸乙酯、活化蛋白C、胰岛素、重组促红细胞生成素、肝细胞生长因子、一氧化碳释放化合物、胆红素、内皮素拮抗剂、鞘氨醇1磷酸类似物、腺苷类似物、诱导型一氧化氮合酶抑制剂、贝特、嗜中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白、IL-6拮抗剂、C5a拮抗剂、IL-10、右美托咪啶、氯喹(CQ)、羟氯喹(HCQ)和α-促黑素细胞激素。

18.一种给药方案，包括向对象施用用于治疗急性肾损伤(AKI)的化合物和施用细胞内钙信号传导抑制剂。

19.一种用于在有发展出急性肾损伤(AKI)的风险的对象中预防AKI的组合物，包括施用治疗有效量的细胞内钙信号传导抑制剂。

20.一种药物组合物，其包含治疗有效量的根据权利要求9所述的化合物和药学上可接受的赋形剂。

21.一种药物组合物，其包含治疗有效量的根据权利要求10所述的化合物和药学上可接受的赋形剂。

22.一种药物组合物，其包含治疗有效量的根据权利要求11所述的化合物和药学上可接受的赋形剂。

治疗急性肾损伤的方法和组合物

交叉引用

[0001] 本申请要求2020年5月20日提交的美国临时申请第63/027,800号的权益，该临时申请的全部内容通过引用并入本文。

背景技术

[0002] 急性肾损伤(AKI)，也称为急性肾衰竭，在对象的肾脏突然无法过滤对象血液中的废物时发生，通常发展迅速，往往在几天之内。AKI影响2％-5％的住院患者，增加重症监护室(ICU)的死亡风险，在这种情况下的死亡率在15％-60％之间。此外，AKI增加不良长期影响的风险，诸如慢性肾脏病(CKD)的发展和向终末期肾病的进展。

[0003] 患有败血症、失血、心功能障碍和COVID-19的患者，其症状严重，需要住院治疗，发展出AKI的风险可能很大。因此，需要开发有效的AKI治疗方法或预防AKI的方法。

发明内容

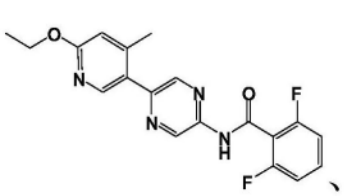
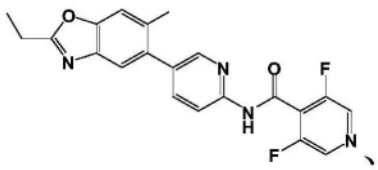
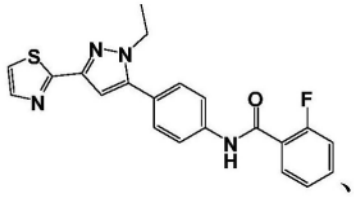
[0004] 本文提供了与用于减少炎症反应以治疗急性肾损伤(AKI)的方法和组合物相关的实施方案。

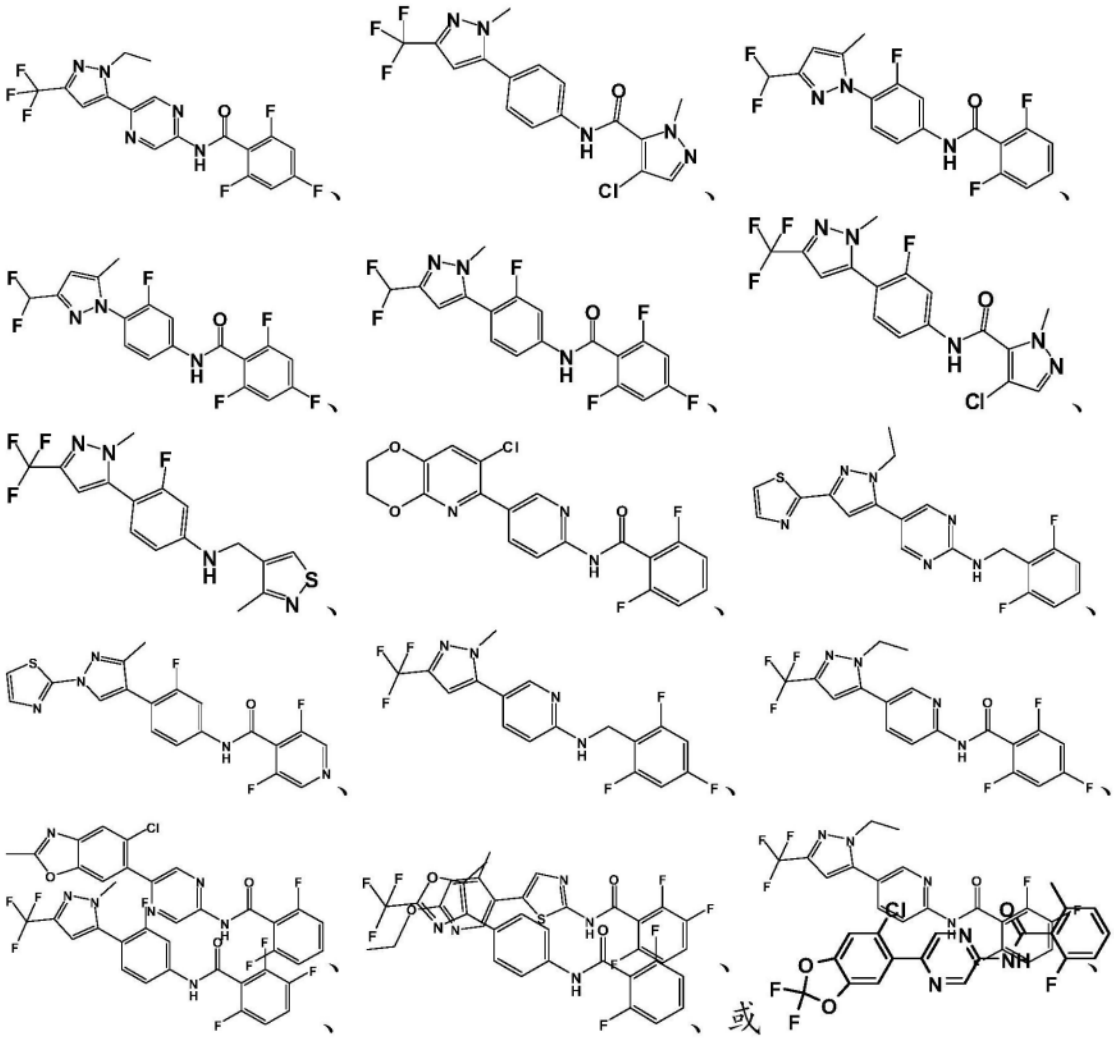
[0005] 在一个方面，本公开内容提供了一种用于治疗对象中的AKI的方法，包括向所述对象施用治疗有效量的细胞内钙信号传导抑制剂。

[0006] 在另一方面，本公开内容提供了一种用于在有发展出AKI的风险的对象中预防AKI的方法，包括向所述对象施用预防有效量的细胞内钙信号传导抑制剂。在另一方面，本公开内容提供了一种用于预防对象中的AKI进展为CKD的方法，包括向所述对象施用预防有效量的细胞内钙信号传导抑制剂。

[0007] 在一些实施方案中，细胞内钙信号传导抑制剂是SOC通道抑制剂。在一些实施方案中，细胞内钙信号传导抑制剂是CRAC通道抑制剂。在一些实施方案中，细胞内钙信号传导抑制剂抑制包含STIM1蛋白的通道。在一些实施方案中，细胞内钙信号传导抑制剂抑制包含Orai1蛋白的通道。在一些实施方案中，细胞内钙信号传导抑制包含Orai2蛋白的通道。

[0008] 在一些实施方案中，细胞内钙信号传导抑制剂是具有以下结构的化合物：



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

[0009] 在一些实施方案中,细胞内钙信号传导抑制剂是化合物N-(5-(6-氯-2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)吡嗪-2-基)-2-氟-6-甲基苯甲酰胺。在一些方面,细胞内钙信号传导抑制剂是化合物N-(5-(6-氯-2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)吡嗪-2-基)-2-氟-6-甲基苯甲酰胺,或其药学上可接受的盐、药学上可接受的溶剂化物或药学上可接受的前药。在一些方面,细胞内钙信号传导抑制剂选自以下化合物:N-(5-(6-乙氧基-4-甲基吡啶-3-基)吡嗪-2-基)-2,6-二氟苯甲酰胺、N-(5-(2-乙基-6-甲基苯并[d]噁唑-5-基)吡啶-2-基)-3,5-二氟异烟酰胺、N-(4-(1-乙基-3-(噻唑-2-基)-1H-吡唑-5-基)苯基)-2-氟苯甲酰胺、N-(5-(1-乙基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-5-基)吡嗪-2-基)-2,4,6-三氟苯甲酰胺、4-氯-1-甲基-N-(4-(1-甲基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-5-基)苯基)-1H-吡唑-5-甲酰胺、N-(4-(3-(二氟甲基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)-3-氟苯基)-2,6-二氟苯甲酰胺、N-(4-(3-(二氟甲基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)-3-氟苯基)-2,4,6-三氟苯甲酰胺、N-(4-(3-(二氟甲基)-1-甲基-1H-吡唑-5-基)-3-氟苯基)-2,4,6-三氟苯甲酰胺、4-氯-N-(3-氟-4-(1-甲基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-5-基)苯基)-1-甲基-1H-吡唑-5-甲酰胺、3-氟-4-(1-甲基-3-(三氟甲基)-1H—吡唑-5-基)-N-((3-甲基异噻唑-4-基)甲基)苯胺、N-(5-(7-氯-2,

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

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

[0011] 在一些实施方案中,细胞内钙信号传导抑制剂是化学名称为2,6-二氟-N-(1-(4-羟基-2-(三氟甲基)苄基)-1H-吡唑-3-基)苯甲酰胺的化合物,或其药学上可接受的盐、药学上可接受的溶剂化物或药学上可接受的前药。

[0012] 在另一方面,本文的公开内容提供了一种组合物,其包含细胞内钙信号传导抑制剂和至少一种用于治疗急性肾损伤(AKI)的化合物。在一些实施方案中,所述化合物选自:重组人IGF-I(rhIGF-I)、心房钠尿肽(ANP)、多巴胺、胱天蛋白酶抑制剂、米诺环素、鸟苷和Pifithrin-α(p53抑制剂)、聚ADP核糖聚合酶抑制剂、去铁胺、丙酮酸乙酯、活化蛋白C、胰岛素、重组促红细胞生成素、肝细胞生长因子、一氧化碳释放化合物、胆红素、内皮素拮抗剂、鞘氨醇1磷酸类似物、腺苷类似物、诱导型一氧化氮合酶抑制剂、贝特(fibrate)、嗜中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白、IL-6拮抗剂、C5a拮抗剂、IL-10、右美托咪啶、氯喹(CQ)、羟氯喹(HCQ)和α-促黑素细胞激素。

[0013] 在另一方面,本文的公开内容提供了一种给药方案,包括向对象施用用于治疗AKI的化合物和施用细胞内钙信号传导抑制剂。

[0014] 在另一方面,本文的公开内容提供了一种用于在有发展出AKI的风险的对象中预防AKI的组合物,包括施用预防有效量的细胞内钙信号传导抑制剂。

[0015] 在另一方面,本文的公开内容提供了一种用于在已经发展出AKI的对象中预防AKI进展为慢性肾脏病(CKD)的组合物,包括施用预防有效量的细胞内钙信号传导抑制剂。

援引并入

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

附图说明

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

[0013] 图1图示了在预测重症急性胰腺炎(AP)患者(SIRS+,SpO2<96%)中,与历史和研究SOC对照相比,本文公开的化合物/组合物降低了住院期间新发急性肾损伤患者的百分比。当患者接受本文公开的化合物/组合物的治疗时,发展出AKI的患者的百分比为8%。未接受本文公开的化合物/组合物治疗的两组中发展出AKI患者的百分比分别为50%和20%。

具体实施方式

[0014] 本文公开的方法和组合物用于调节细胞内钙以治疗或预防急性肾损伤(AKI),包括其进展为慢性肾损伤(CKD)。在一些方面,本文提供的化合物调节SOC通道活性。在一些方面,本文提供的方法和化合物调节CRAC通道活性。在另一方面,本文提供的化合物调节STIM蛋白活性。在另一方面,本文提供的方法和化合物调节Orai蛋白活性。在另一方面,本文提供的方法和化合物调节STIM蛋白与Orai蛋白的功能相互作用。在另一方面,本文提供的方法和化合物减少了功能性SOC通道的数量。在另一方面,本文提供的方法和化合物减少了功能CRAC通道的数量。在一些方面,本文描述的方法和化合物是SOC通道阻断剂。在一些方面,本文描述的方法和化合物是CRAC通道阻断剂或CRAC通道调节剂。

[0015] 钙在细胞功能和存活中起着至关重要的作用。具体来说,钙是信号转导到细胞中和细胞内的关键要素。细胞对生长因子、神经递质、激素和多种其他信号分子的反应是通过钙依赖性过程启动的。

[0016] 几乎所有的细胞类型都以某种方式依赖于细胞质Ca^{2+}信号的生成来调控细胞功能,或触发特定的反应。胞质Ca^{2+}信号控制广泛的细胞功能,从诸如收缩和分泌的短期反应到细胞生长和增殖的长期调控。通常,这些信号涉及Ca^{2+}从细胞内库诸如内质网(ER)中的释放与Ca^{2+}穿过质膜的流入的一定组合。在一个实例中,细胞活化始于激动剂与表面膜受体的结合,该受体通过G蛋白机制与磷脂酶C(PLC)偶联。PLC活化导致肌醇1,4,5-三磷酸(IP_3)的产生,这反过来活化IP_3受体,造成Ca^{2+}从ER中释放。随后,ER Ca^{2+}的下降发出信号以活化质膜库操纵性钙(SOC)通道。

[0017] 库操纵性钙(SOC)流入是细胞生理学中的一个过程,其控制这样的多种功能,诸如但不限于细胞内Ca^{2+}库的再填充(Putney等人,Cell,75,199-201,1993),酶活性的活化(Fagan等人,J.Biol.Chem.275:26530-26537,2000),基因转录(Lewis,Annu.Rev.Immunol.19:497-521,2001),细胞增殖(Nunez等人,J.Physiol.571.1,57-73,2006),和细胞因子释放(Winslow等人,Curr.Opin.Immunol.15:299-307,2003)。在一些不可兴奋细胞中,例如血细胞、免疫细胞、造血细胞、T淋巴细胞和肥大细胞、胰腺腺泡细胞(PAC)、其他腺体的上皮和导管细胞(例如唾液腺)、内皮细胞和内皮祖细胞,通过钙释放活化的钙(CRAC)通道(一种类型的SOC通道)发生SOC流入。

[0018] 钙流入机制被称为库操纵性钙内流(SOCE)。基质相互作用分子(STIM)蛋白是SOC通道功能的基本组分,充当用于检测钙从细胞内库的耗尽和用于活化SOC通道的传感器。

钙稳态

[0019] 细胞钙稳态是参与控制细胞内钙水平和运动的调控系统总和的结果。细胞钙稳态至少部分是通过钙结合并且通过钙穿过质膜进出细胞的运动和通过钙在细胞内穿过细胞内细胞器的膜的运动实现的,该细胞内细胞器包括例如内质网、肌质网、线粒体和内吞细胞器,包括核内体和溶酶体。

[0020] 钙穿过细胞膜的运动是由专门的蛋白质完成的。例如,来自细胞外空间的钙可以通过各种钙通道和钠/钙交换体进入细胞,并通过钙泵和钠/钙交换体主动从细胞挤出。钙也可以通过肌醇三磷酸或雷诺丁受体从内部库中释放,并可借助于钙泵被这些细胞器吸收。

[0021] 钙可以通过以下几种通用类别通道中的任一种进入细胞,包括但不限于电压操纵性钙(VOC)通道、配体门控性钙通道、库操纵性钙(SOC)通道和以反向模式操纵的钠/钙交换体。VOC通道通过膜去极化来活化,并且见于像神经和肌肉等可兴奋细胞中,而在大多数情况下未见于不可兴奋细胞中。在一些条件下,Ca^{2+}可以通过以反向模式操纵的Na+-Ca^{2+}交换体进入细胞。

[0022] 内吞作用提供细胞通过核内体从细胞外基质中吸收钙的另一个过程。此外,一些细胞,例如外分泌细胞,可以通过胞吐作用释放钙。

[0023] 哺乳动物细胞中的胞质钙浓度受到严格调控,其中静息水平据估计通常为大致0.1μM,而细胞外钙浓度通常为约2mM。这种严格调控促进信号通过瞬态钙通量穿过质膜和细胞内细胞器的膜转导进入细胞并处于细胞内。细胞中存在多重细胞内钙转运和缓冲系统,用于使细胞内钙信号成型并维持低静息细胞质钙浓度。在静息状态下的细胞中,维持基础钙水平所涉及的主要组分是内质网和质膜两者中的钙泵和钙泄漏通路。静息时的胞质钙水平的干扰会影响钙依赖性信号的传递,并造成许多细胞过程的缺陷。例如,细胞增殖涉及延长的钙信号传导序列。其他涉及钙信号传导的细胞过程包括但不限于分泌、转录因子信号传导和受精。

[0024] 活化磷脂酶C(PLC)的细胞表面受体从细胞内和细胞外来源产生胞质Ca^{2+}信号。[Ca^{2+}]i(细胞内钙浓度)的初始瞬时上升是由从内质网(ER)释放Ca^{2+}引起的,这是由PLC产物肌醇-1,4,5-三磷酸(IP_3)触发,打开了ER中的IP_3受体(Streb等人Nature,306,67-69,1983)。Ca^{2+}后续穿过质膜的持续内流期则通过质膜中专门的库操纵性钙(SOC)通道(在不可兴奋细胞如免疫PAC细胞的情况下,SOC通道是钙释放活化的钙(CRAC)通道)而得以发生。库操纵性Ca2+内流(SOCE)是一个过程,在这个过程中,Ca^{2+}库排空本身活化质膜中的Ca^{2+}通道,以帮助对库的再填充(Putney,Cell Calcium,7,1-12,1986;Parekh等人,Physiol.Rev.757-810;2005)。SOCE不仅仅是提供Ca2+来再填充库,它本身也可以产生持续的Ca^{2+}信号,从而控制诸如基因表达、细胞代谢和胞吐作用的基本功能(Parekh和Putney,Physiol.Rev.85,757-810(2005)。

[0025] 在淋巴细胞和肥大细胞中,抗原或Fc受体的活化分别导致Ca^{2+}从细胞内库中释放,其进而导致通过质膜中的CRAC通道的Ca^{2+}流入。随后细胞内Ca^{2+}的升高活化钙调磷酸酶,钙调磷酸酶是一种调节转录因子NFAT的磷酸酶。在静息细胞中,NFAT被磷酸化并存在于细胞质中,但当被钙调磷酸酶去磷酸化时,NFAT移位到细胞核并根据刺激条件和细胞类型活化不同的遗传程序。为了应对感染和在移植排斥过程中,NFAT与“效应器”T细胞细胞核中的转录因子AP-1(Fos-Jun)结合,从而反式活化细胞因子基因、调节T细胞增殖的基因和其他协调主动免疫应答的基因(Rao等人,Annu Rev Immunol.,1997;15:707-47)。相反,在识别自身抗原的T细胞中,NFAT在不存在AP-1的情况下被活化,并活化一种被称为“无反应性”的转录程序,抑制自身免疫应答(Macian等人,Transcriptional mechanisms underlying lymphocyte tolerance.Cell.2002年6月14日;109(6):719-31)。在一种被称为调节性T细

胞(该调节性T细胞抑制由自身反应效应T细胞介导的自身免疫性)的T细胞亚类中,NFAT与转录因子FOXP3结合以活化负责抑制功能的基因(Wu等人,Cell,2006年7月28日;126(2):375-87;Rudensky AY,Gavin M,Zheng Y.Cell.2006年7月28日;126(2):253-256)。T细胞的另一个亚类是T辅助17(Th17)细胞,这是一种独特的CD4+T-细胞亚群,其特征是产生白介素-7(IL-17)。人类和小鼠的最新数据表明,Th17细胞在多种免疫介导疾病的发病机制中发挥重要作用,包括急性肾损伤、银屑病、类风湿性关节炎、多发性硬化症、炎症性肠病和哮喘。Th17细胞在从AKI进展为慢性肾脏病(CKD)的对象中也发挥着重要作用。

[0026] 内质网(ER)执行多个过程。ER具有Ca^{2+}储库和激动剂敏感性Ca^{2+}库的双重作用,并且蛋白质折叠/加工发生在其腔内。在后一种情况下,大量Ca^{2+}依赖性伴侣蛋白确保新合成的蛋白质被正确折叠并送到其适当的目的地。ER还参与囊泡运输、应激信号释放、胆固醇代谢调节和细胞凋亡。许多这些过程都需要腔内Ca^{2+}并且蛋白质错误折叠、ER应激反应和细胞凋亡都可以通过长时间消耗ER的Ca^{2+}来诱导。因为它含有有限数量的Ca^{2+},所以很明显,ER Ca^{2+}含量必须在刺激过程中Ca^{2+}释放后下降。然而,为了保持ER的功能完整性,至关重要的是Ca^{2+}含量不要降得太低或至少保持在低水平。因此,Ca^{2+}对ER的补充是所有真核细胞的中心过程。由于ER Ca^{2+}含量的下降活化质膜中库操纵性Ca^{2+}通道,因此这种Ca^{2+}内流通路的主要功能被认为是维持ER Ca^{2+}水平,这是恰当的蛋白质合成和折叠所必需的。然而,库操纵性Ca^{2+}通道具有其他重要作用。

[0027] 电生理学研究提供了对库操纵性钙内流的理解,该电生理学研究确定了清空库的过程活化了肥大细胞中的Ca^{2+}电流,称为Ca^{2+}释放活化Ca^{2+}电流或ICRAC。ICRAC是非电压活化的,内向整流,对Ca^{2+}具有显著的选择性。它存在于几种主要是造血来源的细胞类型中。ICRAC并不是唯一的库操纵性电流,并且现在很明显,库操纵性流入包括一系列在不同的细胞类型中具有不同的性质的Ca^{2+}渗透通道。ICRAC是第一个将被描述的库操纵性Ca^{2+}电流,并且仍然是用于研究库操纵性流入的流行模型。

[0028] 库操纵性钙通道可以被清空ER Ca^{2+}库的任何程序活化;库是如何清空的似乎并不重要,净效应是库操纵性Ca^{2+}内流的活化。从生理学上讲,库的清空是由IP_3水平升高或由其他Ca^{2+}释放信号继之Ca^{2+}从库中释放引起的。但还有几种其他清空库的方法。这些方法包括以下:

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

2)Ca^{2+}离子载体(例如离子霉素)的应用,以渗透ER膜;

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

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

5)使用像硫柳汞的试剂使IP_3受体对静息水平的InsP3敏感;以及

6)将像N,N,N',N'-四(2-吡啶基甲基)乙烯二胺(TPEN)的可透过膜的金属Ca^{2+}螯合剂直接装入库中。

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

[0029] 这些清空库的方法并非没有潜在问题。库操纵性Ca^{2+}内流的关键特征是，活化通道的是库内Ca^{2+}含量的下降，而不是随后细胞质Ca^{2+}浓度的上升。然而，离子霉素和SERCA泵阻断剂通常会引起细胞质Ca^{2+}浓度的上升，作为库耗尽的结果，并且这种Ca^{2+}的上升可以打开Ca^{2+}活化的阳离子通道，这些通道对Ca^{2+}是可渗透的。避免这类问题的一种方式是在细胞质Ca^{2+}已被高浓度的Ca^{2+}螯合剂(诸如EGTA或BAPTA)强烈缓冲的条件下使用试剂。

库操纵性钙内流

[0030] 由于诸如内质网的细胞内钙库中钙的释放而导致的钙浓度降低为钙从细胞外基质流入细胞提供了信号。这种钙的流入产生了胞质钙浓度的持续“平台”升高，通常不依赖于电压门控的质膜通道，也不涉及钙对钙通道的活化。这种钙流入机制被称为电容性钙内流(CCE)，钙释放活化的、库操纵性或耗尽操纵性钙内流。库操纵性钙内流可以记录为具有独特特性的离子电流。此电流被称为I_{SOC}(库操纵性电流)或I_{CRAC}(钙释放活化的电流)。

[0031] 对库操纵性或钙释放活化的电流的电生理分析揭示这些电流独特的生物物理特性(参见，例如Parekh和Penner(1997)Physiol.Rev.77:901-930)。例如，电流可通过细胞内钙库的耗尽(例如，通过非生理活化剂，诸如毒胡萝卜素、CPA、离子霉素和BAPTA，以及生理活化剂，诸如IP_3)而活化，并且较之生理溶液或条件下的单价离子，可对二价阳离子诸如钙有选择性，可受到胞质钙水平变化的影响，并且在细胞外低浓度的二价阳离子存在下，可显示出改变的选择性和导电性。电流也可被2-APB阻断或增强(取决于浓度)，并且被SKF96365和Gd^{3+}阻断，且通常可以被描述为不严格电压门控的钙电流。

[0032] 在肥大细胞和Jurkat白血病T细胞中的膜片钳研究已经建立了CRAC内流机制作为一种具有独特生物物理特征的离子通道，包括对Ca^{2+}的高选择性配有极低的电导率。此外，显示CRAC通道符合库操纵性严格标准，即仅通过ER中Ca^{2+}的减少，而不是通过胞质Ca^{2+}或PLC生成的其他信使活化(Prakriya等人，In Molecular and Cellular Insights into Ion Channel Biology(Robert Maue编著)121-140(Elsevier Science,Amsterdam,2004))。

细胞内钙库对库操纵性钙内流的调控

[0033] 库操纵性钙内流是由细胞内钙库内的钙水平调控的。细胞内钙库可以表征为对试剂的敏感性，这些试剂可以是生理的或药理的，它们活化钙从库中的释放或抑制钙向库中摄取。对不同细胞的细胞内钙库的特征进行了研究，并且库已被表征为对以下各种试剂敏感，包括但不限于IP_3和影响IP_3受体的化合物、毒胡萝卜素、离子霉素和/或环ADP-核糖(cADPR)(参见，例如Berridge(1993)Nature 361:315-325;Churchill和Louis(1999)Am.J.Physiol.276:$C_4$26-$C_4$34;Dargie等人(1990)Cell Regul.1:279-290;Gerasimenko等人(1996)Cell 84:473-480;Gromoda等人(1995)FEBS Lett.360:303-306;Guse等人(1999)Nature398:70-73)。

[0034] 钙在内质网和肌质网(SR;横纹肌内质网的一种特化版本)储存细胞器内的积聚是通过肌质网-内质网钙ATP酶(SERCA)实现的，SERCA通常被称为钙泵。在信号传导过程中(即当内质网通道被活化以提供钙从内质网向细胞质的释放时)，内质网钙通过SERCA泵补充从细胞外基质进入细胞的细胞质钙(Yu和Hinkle(2000)J.Biol.Chem.275:23648-23653;Hofer等人(1998)EMBO J.17:1986-1995)。

[0035] 与IP_3和雷诺丁受体相关的钙释放通道提供了钙从内质网和肌质网向细胞质中的

受控释放，导致细胞质钙浓度的短暂增加。IP_3受体介导的钙释放是在磷脂酶C的作用下通过质膜磷酸肌醇的分解形成的IP_3触发的，磷脂酶C通过激动剂与质膜G蛋白偶联受体或酪氨酸激酶的结合被活化。雷诺丁受体介导的钙释放是由细胞质钙的增加触发的，并且被称为钙诱导的钙释放(CICR)。雷诺丁受体(对雷诺丁和咖啡因有亲和力)的活性也可受到环ADP-核糖的调控。

[0036] 因此，库和细胞质中的钙水平会发生波动。例如，当HeLa细胞用组胺(一种PLC连接组胺受体的激动剂)处理时，ER游离钙浓度可从约60-400μM的范围下降到约1-50μM(Miyawaki等人(1997)Nature388:882-887)。当细胞内库的游离钙浓度降低时，库操纵性钙内流被活化。库钙的耗尽，以及伴随的胞质钙浓度的增加，可因此调控库操纵性钙内流入细胞。

细胞质钙缓冲

[0037] 细胞中信号传导过程的激动剂活化可涉及内质网的钙通透性例如通过IP_3受体通道的打开而显著增加，以及质膜的钙通透性通过库操纵性钙内流而显著增加。这些钙通透性的增加与胞质钙浓度的增加有关，胞质钙浓度可分为两个组成部分：IP_3受体活化期间从内质网释放的钙的“峰值”和平台期，这是钙从细胞外基质内流到细胞质中所造成的钙水平持续升高。刺激后，细胞内游离钙的静息浓度为约100nM，其可在细胞的微结构域内整体上升到大于1μM以及更高。细胞通过内源性钙缓冲体调节这些钙信号，包括通过诸如线粒体、内质网和高尔基体的细胞器的生理缓冲。线粒体通过内膜上的单向转运体对钙的摄取是由较大的线粒体膜负电位驱动的，并且积聚的钙通过钠依赖性和非钠依赖性交换体缓慢释放，并且在一些情况下，通过通透性转换孔(PTP)释放。因此，线粒体可以在细胞活化期间吸收钙来充当钙缓冲体，并在稍后缓慢释放。内质网中钙的摄取受肌质网和内质网钙ATP酶(SERCA)的调控。高尔基体中钙的摄取是由P型钙转运ATP酶(PMR_1/$ATP2C_1$)介导的。此外，有证据表明，IP_3受体活化时释放的大量钙是通过质膜钙ATP酶的作用从细胞中挤出。例如，质膜钙ATP酶为人类T细胞和Jurkat细胞中的钙清除提供主要机制，尽管钠/钙交换也有助于人类T细胞中的钙清除。在储存钙的细胞器中，钙离子可以结合到专门的钙缓冲蛋白上，诸如例如肌钙集蛋白、钙网蛋白和钙联结蛋白。此外，胞质中还有钙缓冲蛋白，它调节钙峰值并协助钙离子的再分布。因此，参与这些和其他机制(通过这些机制，胞质钙水平可得以降低)中的任一种的蛋白质和其他分子都是涉及、参与和/或提供细胞质钙缓冲的蛋白质。因此，细胞质钙缓冲有助于通过SOC通道或Ca^{2+}释放的爆发在钙持续流入期间调节细胞质的Ca^{2+}水平。细胞质Ca^{2+}水平的大量增加或库的再填充使SOCE失活。

下游钙内流介导事件

[0038] 除了钙库的细胞内变化外，库操纵性钙内流还影响大量事件，这些事件是库操纵性变化的结果或补充。例如，Ca^{2+}流入导致大量钙调素依赖性酶的活化，包括丝氨酸磷酸酶钙调磷酸酶。细胞内钙增加活化钙调磷酸酶，导致急性分泌过程，诸如肥大细胞脱颗粒。活化的肥大细胞释放含有组胺、肝素、TNFα和酶诸如β-己糖胺酶的预制颗粒。一些细胞事件，诸如B和T细胞增殖，需要持续的钙调磷酸酶信号传导，这需要细胞内钙的持续增加。许多转录因子受钙调磷酸酶调节，包括NFAT(活化的T细胞的细胞核因子)、MEF_2和NFκB。NFAT转录因子在包括免疫细胞在内的许多细胞类型中发挥重要作用。在免疫细胞中，NFAT介导大量分子(包括细胞因子、趋化因子和细胞表面受体)的转录。NFAT的转录元件已在细胞因子(诸

如IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-8、IL-13、IL-17以及肿瘤坏死因子α(TNFα)、粒细胞集落刺激因子(G-CSF)和γ干扰素(γ-IFN))的启动子中发现。

[0039] NFAT蛋白的活性由其磷酸化水平调控,而磷酸化水平又由钙调磷酸酶和NFAT激酶两者调控。细胞内钙水平的增加活化钙调磷酸酶,导致NFAT脱磷酸化并内流到细胞核中。NFAT的再磷酸化掩盖了NFAT的核定位序列,并阻止其内流到细胞核中。由于NFAT的定位和活性高度依赖钙调磷酸酶介导的脱磷酸化,所以NFAT是细胞内游离钙水平的敏感指标。

CRAC通道与免疫应答

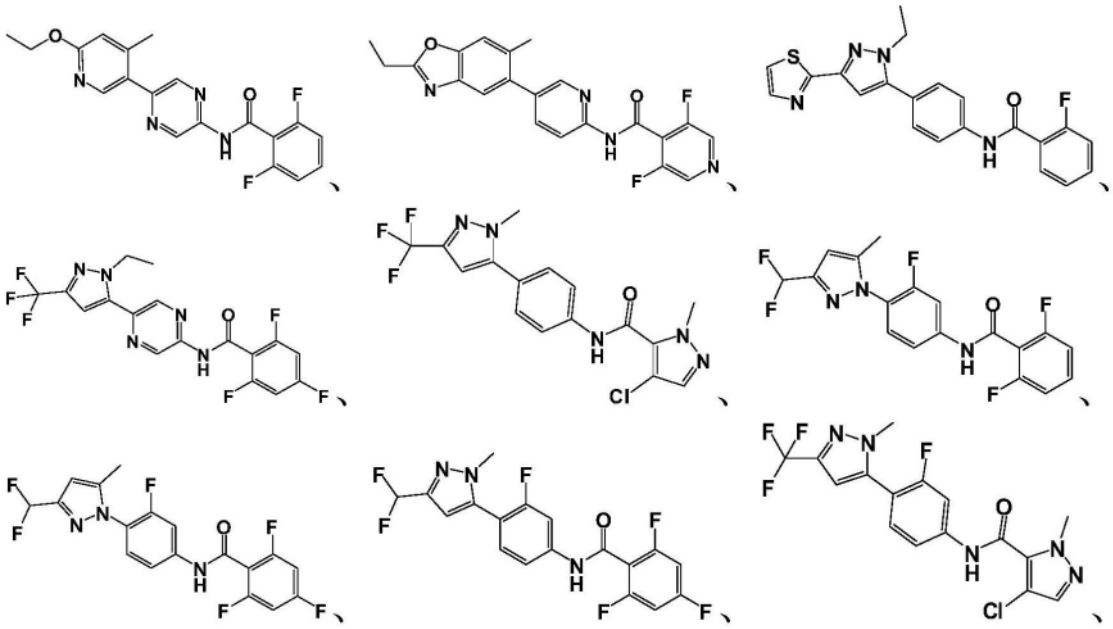
[0040] CRAC通道位于质膜中,并响应于Ca2+从内质网库的释放而打开。在免疫细胞中,细胞表面受体的刺激活化CRAC通道,导致Ca2+内流和细胞因子产生。已知适应性免疫系统和先天免疫系统的细胞(例如,T细胞、嗜中性粒细胞和巨噬细胞)均受CRAC通道调节。CRAC通道在内皮细胞的活化中也发挥作用,内皮细胞参与AKI的发病机制。

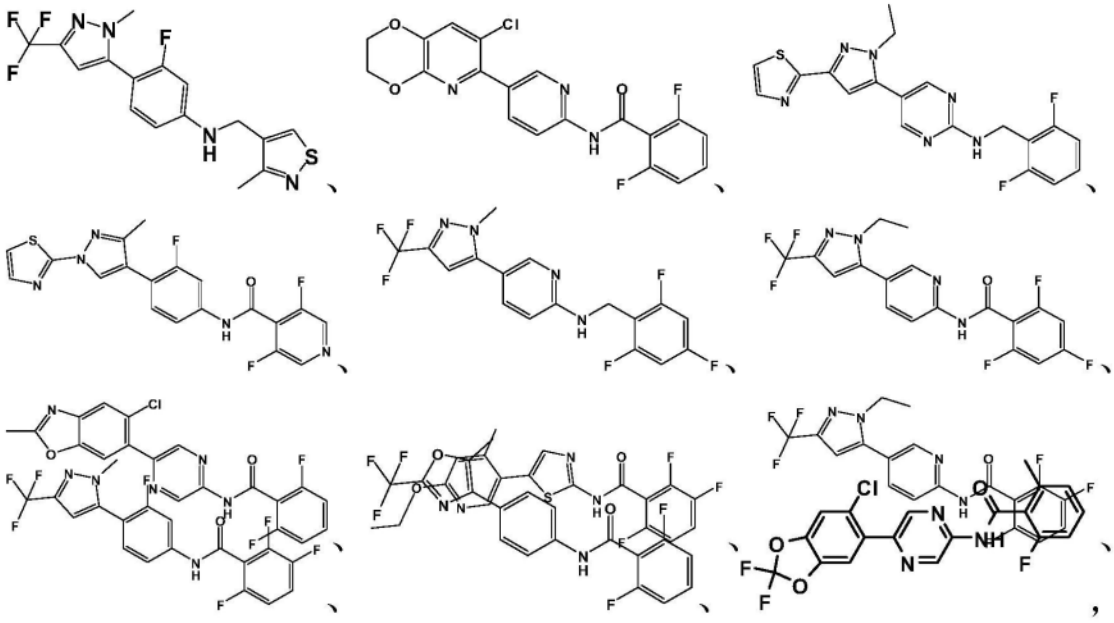
[0041] T细胞受体的刺激导致细胞内Ca2+库的耗尽及随后的CRAC(Ca2+释放活化的Ca2+)通道的打开。细胞内Ca2+浓度的持续增加活化钙调磷酸酶/NFAT(活化T细胞的细胞核因子)通路,并开启各种细胞因子的转录程序。Orai1和STIM1分别被鉴定为长期寻找的CRAC通道的孔隙组分和内质网(ER)Ca2+传感器。STIM1在T细胞受体刺激后感测ER中的Ca2+耗尽,移位至质膜(PM)近端ER,结合并活化Orai1。Orai1或STIM1缺乏的人类患者具有严重的联合免疫缺陷。

钙通道抑制剂

[0042] 本文公开了与用于本文公开的用途的方法、组合物、施用方案和组合物一致的多种钙通道抑制剂。在一些实施方案中,钙通道抑制剂是SOC抑制剂。在一些实施方案中,钙通道抑制剂是CRAC抑制剂。在一些实施方案中,钙通道抑制剂抑制包含STIM1蛋白的通道。在一些实施方案中,钙通道抑制剂抑制包含Orai1蛋白的通道。在一些实施方案中,钙通道抑制剂抑制包含Orai2蛋白的通道。

[0043] 在一些实施方案中,所述化合物是具有以下结构的化合物:





或其药学上可接受的盐、药学上可接受的溶剂化物、或药学上可接受的前药。在一些实施方案中，所述化合物选自以下的化合物列表：N-(5-(6-氯-2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)吡嗪-2-基)-2-氟-6-甲基苯甲酰胺。在一些方面，细胞内钙信号传导抑制剂是N-(5-(6-氯-2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)吡嗪-2-基)-2-氟-6-甲基苯甲酰胺的化合物或其药学上可接受的盐、药学上可接受的溶剂化物、或药学上可接受的前药。在一些方面，细胞内钙信号传导抑制剂选自以下化合物：N-(5-(6-乙氧基-4-甲基吡啶-3-基)吡嗪-2-基)-2,6-二氟苯甲酰胺、N-(5-(2-乙基-6-甲基苯并[d]噁唑-5-基)吡啶-2-基)-3,5-二氟异烟酰胺、N-(4-(1-乙基-3-(噻唑-2-基)-1H-吡唑-5-基)苯基)-2-氟苯甲酰胺、N-(5-(1-乙基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-5-基)吡嗪-2-基)-2,4,6-三氟苯甲酰胺、4-氯-1-甲基-N-(4-(1-甲基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-5-基)苯基)-1H-吡唑-5-甲酰胺、N-(4-(3-(二氟甲基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)-3-氟苯基)-2,6-二氟苯甲酰胺、N-(4-(3-(二氟甲基)-5-甲基-1H-吡唑-1-基)-3-氟苯基)-2,4,6-三氟苯甲酰胺、N-(4-(3-(二氟甲基)-1-甲基-1H-吡唑-5-基)-3-氟苯基)-2,4,6-三氟苯甲酰胺、4-氯-N-(3-氟-4-(1-甲基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-5-基)苯基)-1-甲基-1H-吡唑-5-甲酰胺、3-氟-4-(1-甲基-3-(三氟甲基)-1H—吡唑-5-基)-N-((3-甲基异噻唑-4-基)甲基)苯胺、N-(5-(7-氯-2,3-二氢-[1,4]二噁英并[2,3-b]吡啶-6-基)吡啶-2-基)-2,6-二氟苯甲酰胺、N-(2,6-二氟苄基)-5-(1-乙基-3-(噻唑-2-基)-1H-吡唑-5-基)嘧啶-2-胺、3,5-二氟-N-(3-氟-4-(3-甲基-1-(噻唑-2-基)-1H-吡唑-4-基)苯基)异烟酰胺、5-(1-甲基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-5-基)-N-(2,4,6-三氟苄基)吡啶-2-胺、N-(5-(1-乙基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-5-基)吡啶-2-基)-2,4,6-三氟苯甲酰胺、N-(5-(5-氯-2-甲基苯并[d]噁唑-6-基)吡嗪-2-基)-2,6-二氟苯甲酰胺、N-(5-(6-乙氧基-4-甲基吡啶-3-基)噻唑-2-基)-2,3,6-三氟苯甲酰胺、N-(5-(1-乙基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-5-基)吡啶-2-基)-2,3,6-三氟苯甲酰胺、2,3,6-三氟-N-(3-氟-4-(1-甲基-3-(三氟甲基)-1H-吡唑-5-基)苯基)苯甲酰胺、2,6-二氟-N-(4-(5-甲基-2-(三氟甲基)噁唑-4-基)苯基)苯甲酰胺、或N-(5-(6-氯-2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)吡嗪-2-基)-2-氟-6-甲基苯甲酰胺、或其药学上可接受的盐、药学上可接受的溶剂化物、或药学上可接受的前药。

其他形式的化合物

[0044] 在一些情况下，本文所述的化合物作为非对映异构体、对映异构体或其他立体异构形式存在。本文提出的化合物包括所有的非对映异构、对映异构和差向异构形式以及其适当的混合物。立体异构体的分离可以通过色谱法或通过形成非对映异构体并通过重结晶分离、或色谱法或其任何组合进行。(Jean Jacques,Andre Collet,Samuel H.Wilen,“Enantiomers,Racemates and Resolutions”,John Wiley And Sons,Inc.,1981,对于该公开内容通过引用并入本文)。立体异构体还可以通过立体选择性合成来获得。

[0045] 在一些情况下，化合物可以作为互变异构体存在。所有互变异构体均包括在本文所述的式内。

[0046] 本文所述的方法和组合物包括使用无定形形式以及晶体形式(也称为多晶型)。本文所述的化合物可以呈药学上可接受的盐的形式。具有相同类型的活性的这些化合物的活性代谢物也包括在本公开内容的范围内。另外，本文所述的化合物可以呈非溶剂化形式以及用药学上可接受的溶剂(诸如水、乙醇等)的溶剂化形式存在。还考虑本文提出的化合物的溶剂化形式在本文中公开。

[0047] 在一些实施方案中，本文所述的化合物可被制备为前药。“前药”是指在体内转化为母体药物的药剂。在一些情况下，前药往往是有用的，因为它们可以比母体药物更容易施用。例如，它们可以通过口服施用而可生物利用，而母体药物并非如此。前药在药物组合物中还可以具有相对于母体药物改善的溶解性。前药的实例是但不限于本文所述的化合物，其作为酯(“前药”)施用以有利于跨水溶解性对于移动性有害的细胞膜的传送，但是其一旦位于水溶解性有益的细胞内就代谢水解为羧酸(活性实体)。前药的另一个实例可以是键合至酸基团的短肽(聚氨基酸)，其中肽进行代谢以暴露活性部分。在某些实施方案中，在体内施用后，前药被化学转化为化合物的生物学、药学或治疗活性形式。在某些实施方案中，前药通过一个或多个步骤或过程来酶促代谢为化合物的生物学、药学或治疗活性形式。

[0048] 为了产生前药，对药学活性化合物进行改性，使得活性化合物在体内施用后再生成。可以对前药进行设计以改变药物的代谢稳定性或转运特征，掩盖副作用或毒性，改善药物的风味或改变药物的其他特征或特性。在一些实施方案中，借助于体内药效学过程和药物代谢的知识，一旦确定了药学活性化合物，就设计该化合物的前药。(参见，例如，Nogrady(1985)Medicinal Chemistry ABiochemical Approach,Oxford University Press,New York,第388-392页;Silverman(1992),The Organic Chemistry of Drug Design and Drug Action,Academic Press,Inc.,San Diego,第352-401页,Saulnier等人,(1994),Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters,第4卷,第1985页;Rooseboom等人,Pharmacological Reviews,56:53-102,2004;Miller等人,J.Med.Chem.第46卷,第24期,5097-5116,2003;Aesop Cho,“Recent Advances in Oral Prodrug Discovery”,Annual Reports in Medicinal Chemistry,第41卷,395-407,2006)。

[0049] 本文所述的化合物的前药形式，其中前药在体内代谢产生本文所列举的化合物，包括在权利要求的范围内。在一些情况下，本文所述的一些化合物可能是另一衍生物或活性化合物的前药。

[0050] 在一些情况下，前药往往是有用的，因为它们可以比母体药物更容易施用。例如，它们可以是通过口服施用而生物可利用的，而母体药物并非如此。前药在药物组合物中还

可以具有相对于母体药物改善的溶解性。前药可被设计为可逆的药物衍生物，用作修饰剂，以增强药物向部位特异性组织的转运。在一些实施方案中，前药的设计增加了有效水溶性。参见，例如Fedorak等人，Am.J.Physiol.,269:G210-218(1995)；McLoed等人，Gastroenterol,106:405-413(1994)；Hochhaus等人，Biomed.Chrom.,6:283-286(1992)；J.Larsen和H.Bundgaard,Int.J.Pharmaceutics,37,87(1987)；J.Larsen等人，Int.J.Pharmaceutics,47,103(1988)；Sinkula等人，J.Pharm.Sci.,64:181-210(1975)；T.Higuchi和V.Stella,Pro-drugs as Novel Delivery Systems,the A.C.S.Symposium Series的第14卷；以及Edward B.Roche,Bioreversible Carriers in Drug Design, American Pharmaceutical Association and Pergamon Press,1987，对于此类公开内容，所有文献都并入本文)。

[0051] 本文所述的化合物的芳环部分的位点容易受到各种代谢反应的影响，因此在芳环结构上掺入适当的取代基，诸如，仅举例来说，卤素可以减少、最小化或消除这种代谢通路。

[0052] 本文所述的化合物可以用同位素(例如用放射性同位素)或通过其他方式进行标记，包括但不限于使用发色团或荧光部分、生物发光标记、光活化或化学发光标记。

[0053] 本文所述的化合物包括同位素标记的化合物，其与以本文提出的各种式和结构列举的那些化合物相同，只是一个或多个原子被所具有的原子质量或质量数不同于自然界中最常见的原子质量或质量数的一个原子替代。可以掺入本公开化合物中的同位素的实例包括氢、碳、氮、氧、氟和氯的同位素，诸如例如分别是2H、3H、13C、14C、15N、18O、17O、35S、18F、36Cl。本文所述的某些同位素标记的化合物，例如掺入放射性同位素(诸如3H和14C)的那些，可用于药物和/或底物组织分布测定中。此外，用同位素诸如氘(即，2H)进行的取代可以提供由较大代谢稳定性带来的某些治疗优点，诸如例如体内半衰期增加或剂量要求减少。

[0054] 在额外或另外的实施方案中，本文所述的化合物在向有需要的生物体施用后代谢以产生代谢物，其然后用于产生所需作用，包括所需的治疗作用。

[0055] 本文所述的化合物可以作为药学上可接受的盐形成和/或使用。药学上可接受的盐的类型包括但不限于：(1)酸加成盐，其通过使化合物的游离碱形式与药学上可接受的以下物质反应来形成：无机酸，诸如例如盐酸、氢溴酸、硫酸、磷酸、偏磷酸等；或与无机酸反应，诸如例如乙酸、丙酸、己酸、环戊烷丙酸、乙醇酸、丙酮酸、乳酸、丙二酸、琥珀酸、苹果酸、马来酸、富马酸、三氟乙酸、酒石酸、柠檬酸、苯甲酸、3-(4-羟基苯甲酰基)苯甲酸、肉桂酸、扁桃酸、甲磺酸、乙磺酸、1,2-乙烷二磺酸、2-羟基乙烷磺酸、苯磺酸、甲苯磺酸、2-萘磺酸、4-甲基二环-[2.2.2]辛-2-烯-1-羧酸、葡庚糖酸、4,4'-亚甲基二-(3-羟基-2-烯-1-羧酸)、3-苯基丙酸、三甲基乙酸、叔丁基乙酸、月桂基硫酸、葡萄糖酸、谷氨酸、羟基萘甲酸、水杨酸、硬脂酸、粘康酸、丁酸、苯乙酸、苯丁酸、丙戊酸等；(2)当母体化合物中存在的酸性质子被金属离子，例如碱金属离子(例如，锂、钠、钾)、碱土离子(例如，镁或钙)或铝离子替代时形成的盐。在一些情况下，本文所述的化合物可以与有机碱配位，所述有机碱诸如但不限于乙醇胺、二乙醇胺、三乙醇胺、氨丁三醇、N-甲基葡糖胺、二环己基胺、三(羟基甲基)甲胺。在其他情况下，本文所述的化合物可以与氨基酸形成盐，所述氨基酸诸如但不限于精氨酸、赖氨酸等。用于与包含酸性质子的化合物形成盐的可接受的无机碱包括但不限于氢氧化铝、氢氧化钙、氢氧化钾、碳酸钠、氢氧化钠等。

[0056] 应理解，对药学上可接受的盐的提及包括溶剂加成形式或其晶体形式，特别是溶

剂化物或多晶型。溶剂化物含有化学计量或非化学计量量的溶剂，并且可以在用药学上可接受的溶剂(诸如水、乙醇等)结晶的过程中形成。当溶剂为水时，形成水合物，或者当溶剂为醇时，形成醇化物。本文所述的化合物的溶剂化物可以方便地在本文所述的工艺过程中制备或形成。另外，本文提供的化合物可以以非溶剂化以及溶剂化形式存在。通常，出于本文提供的化合物和方法的目的，溶剂化形式被认为等同于非溶剂化形式。

[0057] 在一些实施方案中，本文所述的化合物有多种形式，包括但不限于，无定形形式、研磨形式、可注射的乳液形式和纳米颗粒形式。另外，本文所述的化合物包括结晶形式，也称为多晶型。多晶型包括化合物的相同元素组成的不同晶体堆积排列。多晶型通常具有不同X射线衍射图案、熔点、密度、硬度、晶体形状、光学特性、稳定性和溶解性。各种因素，诸如重结晶溶剂、结晶速率和储存温度可以致使单一晶体形式占优势。

[0058] 药学上可接受的盐、多晶型和/或溶剂化物的筛选和表征可以使用各种技术实现，所述技术包括但不限于热分析、x射线衍射、光谱学、蒸汽吸附和显微术。热分析方法针对热化学降解或热物理过程，包括但不限于多晶型转变，并且此类方法可以用于分析多晶型形式之间的关系，确定重量损失，以找到玻璃化转变温度或用于赋形剂相容性研究。此类方法包括但不限于差式扫描量热法(DSC)、调制式差示扫描量热法(MDCS)、热重量分析(TGA)和热重量和红外分析(TG/IR)。X射线衍射方法包括但不限于单晶和粉末衍射仪以及同步辐射源。所使用的各种光谱技术包括但不限于Raman、FTIR、UV-VIS和NMR(液态和固态)。各种显微技术包括但不限于偏振光显微术、扫描电子显微术(SEM)与能量色散X射线分析(EDX)、环境扫描电子显微术与EDX(在气体或水蒸气气氛中)、IR显微术和Raman显微术。

[0059] 在说明书通篇中，可以选择基团及其取代基来提供稳定部分和化合物。

化合物的合成

[0060] 在一些实施方案中，本文所述的化合物的合成是使用化学文献中所述的手段、使用本文所述的方法或其组合来完成的。此外，本文提出的溶剂、温度和其他反应条件可能有所不同。

[0061] 在其他实施方案中，用于合成本文所述的化合物的起始材料和试剂由商业来源(诸如但不限于Sigma-Aldrich、FischerScientific(Fischer Chemicals)和AcrosOrganics)合成或获得。

[0062] 在进一步的实施方案中，使用本文所述的技术和材料以及本领域中公认的那些技术和材料合成本文所述的化合物以及具有不同取代基的其他相关化合物，所述技术和材料诸如在例如以下文献中描述:Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis,第1-17卷(John Wiley and Sons,1991);Rodd's Chemistry of Carbon Compounds,第1-5卷和增刊(Elsevier Science Publishers,1989);Organic Reactions,第1-40卷(John Wiley and Sons,1991);Larock's Comprehensive Organic Transformations(VCH Publishers Inc.,1989),March,Advanced Organic Chemistry第4版,(Wiley1992);Carey和Sundberg,Advanced Organic Chemistry第4版,A卷和B卷(Plenum 2000,2001);及Green和Wuts,Protective Groups in Organic Synthesis第3版,(Wiley 1999)(对于此类公开内容，所有文献都通过引用并入)。

急性肾损伤(AKI)与炎症反应

[0063] AKI的定义是肾功能的急性降低，如通过血清肌酐的增加和排尿量的减少来确定。

AKI的严重程度由AKI阶段AKI 1-3反映，第1阶段定义为血清肌酐水平升高>26umol/L或升高为基线血清肌酐的1.5至1.9倍；第2阶段定义为血清肌酐水平升高为基线血清肌酐的2至2.9倍；第3阶段定义为血清肌酐水平升高为基线血清肌酐的3倍或升高>354umol/L。

[0064] AKI的发病机制复杂。肾缺血/再灌注(I/R)损伤是急性肾损伤(AKI)的主要原因之一，与严重的发病率和死亡率相关。慢性肾脏病(CKD)和终末期肾病的进展被认为是AKI患者的可能结局。I/R损伤是由肾血流减少到血流自动调节极限以下引起的。再灌注开始并持续一段时间后，可能发生内皮细胞和上皮细胞损伤。毒素可能是沉淀AKI的另一个主要因素。尽管AKI的起始事件可能不同(例如，败血症、血容减少、心机能不全)，但随后的损伤反应可能涉及类似的信号传导通路。

[0065] 更多的科学证据表明，炎症/炎症反应可能在AKI的发病机制中发挥作用。例如，I/R损伤可能与炎症级联和多形核嗜中性粒细胞(PMN)活化有关。肾缺血后的内皮损伤和功能障碍已表明会导致炎性介质和粘附分子(诸如白介素(IL)-1、IL-6、IL-8、IL-17、肿瘤坏死因子(TNF)-α、P-选择素、E-选择素、细胞间粘附分子(ICAM)-1等)的大量释放。这些细胞因子诱导肾小管上皮细胞坏死和肾小管萎缩。此外，一些研究还表明，toll样受体(TLR4)/细胞核因子-κB(NF-κB)通路在肾缺血-再灌注损伤(IRI)中介导有害影响中发挥主导作用，这表明肾缺血后肾小管上皮细胞中TLR4表达增加。

[0066] 其他研究表明，含有NACHT、LRR和PYD结构域的蛋白3(NLRP3)炎症小体在调节肾脏炎症中发挥作用，导致包括I/R损伤在内的几种不同肾脏疾病模型。NLRP3炎症小体是一种细胞质大分子复合物，其通过诱导胱天蛋白酶-1活化和IL-1β成熟来协调先天免疫系统的早期炎症反应。各种危险信号，包括线粒体活性氧物种(ROS)、钾外流和溶酶体组织蛋白酶的释放，被鉴定为NLRP3炎症小体的可能活化剂。坏死的肾小管细胞能够通过释放存活的线粒体活化巨噬细胞中的NLRP3炎症小体。NLRP3缺乏保护某些动物模型(诸如小鼠)免受I/R损伤后的肾脏炎症和组织损伤。此外，NLRP3负责肾小管细胞凋亡，而肾相关NLRP3损害伤口愈合。肾小管细胞中NLRP3的缺失改善了再生反应。这些发现表明NLRP3炎症小体可能是用于治疗肾I/R损伤的潜在靶标。

[0067] 此外，其他免疫细胞活动被认为有助于肾损伤或可能促进肾恢复。例如，肾$CD4^+$ Th1或Th17细胞被认为会加重肾损伤，而T调节细胞参与了肾修复。大鼠I/R损伤恢复后，随后暴露于高盐饮食被证实加速间质纤维化、炎症、蛋白尿和高血压的发展。这些CKD进展的参数被霉酚酸酯的免疫抑制显著减弱，表明淋巴细胞活性也调节AKI向CKD的转变。在缺血环境中，幼稚CD4+细胞分化为效应T辅助细胞，在缺血环境中它们暴露于不同的抗原和促炎细胞因子。T辅助细胞分泌各种细胞因子，并且被认为协调适应性免疫应答。

[0068] 分泌细胞因子IL-17的Th17细胞是I/R损伤后大鼠肾脏中发现的主要淋巴细胞群。这些细胞与多种自身免疫性疾病(诸如哮喘、银屑病、炎症性肠病和红斑狼疮)有关。基于一些研究，在大鼠I/R损伤的前3天内，肾脏中的Th17细胞显著增加，而随着肾功能恢复，Th17水平在7天内消退至接近假手术对照值。然而，大鼠随后暴露于高盐饮食(4％)强烈地再活化缺血后肾脏中的Th17细胞表达。这种再活化可能导致CKD，因为IL-17R拮抗剂减轻暴露于高盐饮食的I/R后大鼠中的肾间质纤维化和嗜中性粒细胞浸润。Th17细胞分化依赖于转录因子RORγT的活性，该因子的抑制剂可以减轻Th17细胞的病理活化。高盐饮食对这些细胞的活化也已在自身免疫性脑炎的小鼠模型中得到证实，并与血清和糖皮质激素调节激酶

(SGK-1)以及活化T细胞5的细胞核因子(NFAT5)的活性相关。在依赖于SGK-1的过程中细胞外Na^+升高至170mM增强了体外从幼稚$CD4^+$细胞向Th17细胞的分化。Th17细胞分化依赖于转录因子RORγT的活性,该因子的抑制剂可以减轻Th17细胞的病理活化。高盐饮食对这些细胞的活化也已在自身免疫性脑炎的小鼠模型中得到证实,并与血清和糖皮质激素调节激酶(SGK-1)以及活化T细胞5的细胞核因子(NFAT5)的活性相关。在依赖于SGK-1的过程中细胞外Na+升高至170mM增强了体外从幼稚CD4+细胞向Th17细胞的分化。

[0069] 先前的研究表明,Orai1是Ca^{2+}释放活化的Ca^{2+}通道(CRAC)的成孔亚基,是Th17细胞体外分化所必需的,部分地由NFAT活性所致。Orai1突变小鼠或Orai1抑制剂表现出受损的T细胞受体(TCR)活化和减少的IL-17产生,并且对自身免疫性病症具有抵抗力。因此,肾I/R可增强淋巴细胞Orai1介导的Ca^{2+}信号传导,这可能驱动Th17细胞表达,进而调节AKI和AKI向CKD进展。Orai1的Ca^{2+}流入可能是AKI后维持Th17驱动的炎症反应的机制。事实上,一些研究表明,表达Orai1的$CD4^+$T细胞在IR后48小时扩增,这限于表达IL-17的细胞。AKI后$CD4^+$T细胞中Orai1的表达在长达一周的时间内保持升高,而Th17反应恢复到基线水平。基于这些观察,AKI后$CD4^+$T细胞中持续的Orai1表达可能促进Th17再活化,从而导致随后的损伤。此外,用血管紧张素II(Ang II)和钠(Na^+)体外刺激AKI后$CD4^+$T细胞增加细胞内Ca^{2+}、RORγT活性和IL-17(mRNA和蛋白)表达。这些观察结果通过大鼠体内AKI到CKD研究得到证实,IR后高盐施用加重了慢性肾脏炎症、纤维化和肾功能受损。

[0070] 研究还表明,Orai1参与AKI。例如,在来自肾损伤小鼠模型获得的肾脏的Th17细胞中测量Ca2+释放活化的Ca2+通道成孔亚基OraM的表达水平。在Th17细胞中检测到OraM,并且与假手术小鼠模型相比,这些细胞的数量在I/R后增加。I/R损伤使肾脏中CD4+/Orai1+细胞总数和三阳性CD4+/IL17+/Orai1+细胞数显著升高。研究还表明SOCE影响AKI中的Th17细胞。例如,在AKI大鼠中,SOCE抑制剂(诸如YM58483/BPT2)减弱I/R后总CD4+T细胞、B细胞和树突状细胞的浸润。与溶媒处理的大鼠相比,YM58483/BPT2治疗的大鼠中表达总IL17的细胞减少。此外,研究表明YM58483/BPT在AKI中缺血后早期对Th17细胞的抑制中发挥重要作用。

[0071] 已经研究了SOCE抑制剂对Th17分化的影响的更多实例。一项研究表明,外周血样品取自患有和不患有AKI的危重症患者。对于AKI病例,样品采集在AKI诊断的24-48小时内进行,或者对于没有AKI的频率匹配(年龄、性别、基线eGFR)对照,样品采集在ICU入院的24-48小时内进行。在分离的血液单核细胞中,AKI患者中的总IL17+细胞和CD4+/IL17+细胞的百分比显著高于非AKI患者。此外,与AKI患者相比,非AKI患者中的OraM阳性细胞百分比也显著增加。与大鼠肾脏中的研究类似,Th17细胞主要存在于表达OraM的细胞与OraM阴性细胞中。研究表明,在肾损伤的背景下,库操纵性Ca^{2+}通道OraM在肾T细胞中显著诱导。此外,该通道的阻断减轻了Th17细胞诱导和对缺血/再灌注损伤反应的肾损伤。I/R后Th17分化可能需要OraM介导的SOCE通道,因此,OraM可能代表减轻AKI或免疫介导的肾纤维化和高血压的治疗靶标,这可能继发于AKI。

AKI的治疗性治疗

[0072] 本文公开了用于治疗对象中的急性肾损伤(AKI)的组合物和方法,包括向所述对象施用治疗有效量的细胞内钙信号传导抑制剂。此外,本文公开了用于在有发展出AKI的风险的对象中预防AKI的组合物和方法,包括向所述对象施用预防有效量的细胞内钙信号传

导抑制剂。此外，本文公开了用于防止对象中AKI进展为慢性肾脏病(CKD)的组合物和方法，包括向所述对象施用预防有效量的细胞内钙信号传导抑制剂。

[0073] 在一些实施方案中，递送细胞内钙信号传导抑制剂以达到等于、约等于或大于针对化合物所测定的体外IC_{50}值的组织水平浓度。在一些实施方案中，递送钙信号传导抑制剂以达到以下组织水平浓度：针对化合物所测定的体外IC_{50}值的1.5x、2x、3x、4x、5x、6x、7x、8x、9x、10x、11x、12x、13x、14x、15x、16x、17x、18x、19x、20x、21x、22x、23x、24x、25x、26x、27x、28x、29x、30x、31x、32x、33x、34x、35x、36x、37x、38x、39x、40x、41x、42x、43x、44x、45x、46x、47x、48x、49x、50x、51x、52x、53x、54x、55x、56x、57x、58x、59x、60x、61x、62x、63x、64x、65x、66x、67x、68x、69x、70x、71x、72x、73x、74x、75x、76x、77x、78x、79x、80x、81x、82x、83x、84x、85x、86x、87x、88x、89x、90x、91x、92x、93x、94x、95x、96x、97x、98x、99x、100x，或在1x至100x范围内的任何非整数倍数。

[0074] 在一些实施方案中，递送钙信号传导抑制剂以达到在以下范围内的组织水平浓度：针对化合物所测定的体外IC_{50}值的1x至100x、2x至80x、3x至60x、4x至50x、5x至45x、6x至44x、7x至43x、8x至43x、9x至41x、或10x至40x，或在所述范围内的任何非整数。

[0075] 在一些实施方案中，递送钙信号传导抑制剂以达到以下组织水平浓度：1μM、2μM、3μM、4μM、5μM、6μM、7μM、8μM、9μM、10μM、11μM、12μM、13μM、14μM、15μM、16μM、17μM、18μM、19μM、20μM、21μM、22μM、23μM、24μM、25μM、26μM、27μM、28μM、29μM、30μM、31μM、32μM、33μM、34μM、35μM、36μM、37μM、38μM、39μM、40μM、41μM、42μM、43μM、44μM、45μM、46μM、47μM、48μM、49μM、50μM、51μM、52μM、53μM、54μM、55μM、56μM、57μM、58μM、59μM、60μM、61μM、62μM、63μM、64μM、65μM、66μM、67μM、68μM、69μM、70μM、71μM、72μM、73μM、74μM、75μM、76μM、77μM、78μM、79μM、80μM、81μM、82μM、83μM、84μM、85μM、86μM、87μM、88μM、89μM、90μM、91μM、92μM、93μM、94μM、95μM、96μM、97μM、98μM、99μM、100μM，或在约1μM至约100μM范围内的任何非整数倍数。

[0076] 在一些实施方案中，递送钙信号传导抑制剂以达到在以下范围内的组织水平浓度：1μM至100μM、2μM至90μM、3μM至80μM、4μM至70μM、5μM至60μM、6μM至50μM、7μM至40μM、8μM至30μM、9μM至20μM、或10μM至40μM，或在所述范围内的任何整数或非整数。

[0077] 在一些实施方案中，递送钙信号传导抑制剂以达到在以下范围内的组织水平浓度：9.5μM至10.5μM、9μM至11μM、8μM至12μM、7μM至13μM、5μM至15μM、2μM至20μM、或1μM至50μM，或在所述范围内的任何整数或非整数。

[0078] 在一些实施方案中，合适的递送方法中的公开化合物CM4620能够抑制CD4+T细胞向T辅助17(TH17)细胞的分化。与接受治疗前相比，治疗后对象血液中的循环Th17细胞显著减少。此外，在治疗后，与施用CM4620之前相比，总IL17+细胞和CD4+/IL17+细胞的百分比降低。此外，与接受CM4620之前相比，IL-17的mRNA表达水平和蛋白质表达水平均降低。

[0079] 本公开还提供了一种减少Ca^{2+}释放活化的Ca^{2+}通道成孔亚基OraM的量的方法，该方法包括向哺乳动物施用有效量的Ca2+释放活化的(CRAC)通道抑制剂或其药学上可接受的盐。在一些实施方案中，CRAC通道抑制剂是CM4620。

与用于治疗AKI的化合物联合施用

[0080] 本文公开了用于联合施用钙通道抑制剂和至少一种用于治疗AKI的化合物的组合物和施用方案。在一些实施方案中，施用方案包括向对象施用用于治疗AKI的化合物和施用细胞内钙信号传导抑制剂。

[0081] 在一些实施方案中，所述化合物选自由以下各项组成的列表：重组人IGF-I(rhIGF-I)、心房钠尿肽(ANP)、多巴胺、胱天蛋白酶抑制剂、米诺环素、鸟苷和Pifithrin-α(p53抑制剂)、聚ADP核糖聚合酶抑制剂、去铁胺、丙酮酸乙酯、活化蛋白C、胰岛素、重组促红细胞生成素、肝细胞生长因子、一氧化碳释放化合物、胆红素、内皮素拮抗剂、鞘氨醇1磷酸类似物、腺苷类似物、诱导型一氧化氮合酶抑制剂、贝特、嗜中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白、IL-6拮抗剂、C5a拮抗剂、IL-10、右美托咪啶、氯喹(CQ)、羟氯喹(HCQ)和α-促黑素细胞激素。

用于治疗AKI的各种化合物

[0082] 抗细胞凋亡/坏死药剂

[0083] 胱天蛋白酶抑制剂.

[0084] 胱天蛋白酶是参与细胞凋亡起始和执行阶段的蛋白酶家族。非选择性和选择性胱天蛋白酶抑制剂在损伤前或损伤时施用时，可有效减轻缺血或内毒素血症诱导的AKI的肾损伤。泛胱天蛋白酶抑制剂处于早期临床试验中，且早期靶标包括丙型肝炎和原位肝移植。

[0085] 米诺环素.

[0086] 米诺环素是第二代四环素类抗生素，具有已证实的人体安全性数据。已知米诺环素具有抗凋亡和抗炎作用。在肾缺血前36小时施用时，米诺环素减少肾小管细胞凋亡和细胞色素c、p53和bax的线粒体释放。此外，米诺环素降低了肾脏炎症和微血管通透性。米诺环素已用于类风湿性关节炎的临床试验，并正在肌萎缩性脊髓侧索硬化症的I/II期临床试验中进行测试。

[0087] 鸟苷和Pifithrin-α(p53抑制剂).

[0088] 外源性施用鸟苷的GTP挽救减少了肾小管细胞凋亡，这种作用与p53表达的抑制有关。Pifithrin-α是一种新型p53抑制剂，它也能减少肾小管细胞凋亡，保留肾功能。这种药剂接近癌症治疗的临床试验。

[0089] 聚ADP核糖聚合酶抑制剂.

[0090] 聚ADP核糖聚合酶(PARP)是一种参与DNA修复的普遍存在的核酶。自相矛盾地，细胞损伤引起的PARP过度活化导致细胞内NAD^+和ATP耗尽，最终导致细胞死亡。已知PARP过度活化在IRI对肾脏、心脏和大脑的发病机制中发挥作用。再灌注时立即抑制PARP减少损伤。PARP抑制剂处于乳腺癌(1期)和心脏再灌注损伤(II期)的临床试验中。

[0091] 自由基清除剂

[0092] 去铁胺.

[0093] AKI的一个关键早期特征是活性氧物种生成。铁螯合剂去铁胺是一种广为人知的自由基清除剂。在AKI的几个模型中，去铁胺被证明是有效的。去铁胺在各种模型中的保护作用表明自由基在AKI中的主导作用。计划对AKI进行研究，以测试铁螯合的功效。

[0094] 抗败血剂(Antisepsis)

[0095] 丙酮酸乙酯.

[0096] 丙酮酸酯被认为是一种强效的内源性抗氧化剂和自由基清除剂，其衍生物丙酮酸乙酯被证明能有效降低内毒素血症或败血症引起的致死性失血性休克和全身炎症动物模型的死亡率。除了对死亡率的影响外，丙酮酸乙酯还减少了采用盲肠结扎穿刺技术作为败血症模型的肾损伤。丙酮酸乙酯是一种广泛使用的食品添加剂，在I期临床试验中被证明是

安全的。目前,它正在接受心肺转流手术的患者中进行二期试验测试。

[0097] 活化蛋白C.

[0098] 活化蛋白C(APC)是一种生理性抗凝剂,由内皮细胞中的凝血酶血栓调节蛋白复合物产生。除了对凝血的作用外,APC还被证明具有抗炎、抗凋亡作用。APC还通过抑制白细胞活化来减弱肾IRI。APC经食品和药物管理局批准用于治疗重症败血症和急性生理学、年龄、慢性健康状况评价(Acute Physiology,Age,Chronic Health Evaluation,APACHE)评分为25或更高的患者。

[0099] 胰岛素.

[0100] 胰岛素抗性和高血糖在危重症患者中很常见,针对血糖水平在80至110mg/dl之间的强化胰岛素治疗降低了需要透析或血液过滤的AKI的发生率。最近的一项研究也观察到了AKI危重症患者的高血糖与不良结局的关系。临床获益机制可能与胰岛素的剂量有关,而不是血糖控制。在危重症患者中常见的内皮功能障碍以及随后的高凝和血脂异常,可以通过胰岛素部分纠正,不依赖于胰岛素的降血糖作用。

[0101] 生长因子

[0102] 重组促红细胞生成素.

[0103] 促红细胞生成素被证明在缺血性脑损伤、脊髓损伤和视网膜损伤中具有抗炎和抗凋亡作用。再灌注前或再灌注时外源性施用的促红细胞生成素通过减少肾小管坏死和细胞凋亡而减少肾损伤。它增强了顺铂诱导的AKI中的肾小管增殖,还介导了来自骨髓的内皮祖细胞的动员和增殖,这已被证明参与组织修复。重组促红细胞生成素的临床应用应促进转译为人PKI。

[0104] 肝细胞生长因子.

[0105] 肝细胞生长因子(HGF)可以促进各种类型细胞的细胞生长、运动和形态发生。IRI后,HGF及其受体c-met的肾表达增加,外源性施用HGF减少肾损伤并加速AKI小鼠模型的肾再生。保护机制被认为涉及白细胞与内皮细胞相互作用的减少,炎症减少,以及肾小管细胞凋亡减少。目前,重组人HGF在暴发性肝衰竭患者中的I期/II期研究和另一项通过质粒载体在严重肢体缺血和周围缺血性溃疡患者中的HGF II期研究正在进行中。这些临床试验的经验可以为人AKI带来启示。

[0106] 血管扩张剂

[0107] 一氧化碳释放化合物和胆红素.

[0108] 在一项开创性研究中,血红素加氧酶(HO)诱导在限制肌红蛋白诱导的AKI的程度方面发挥核心作用。HO活性导致产生一氧化碳(CO)和强效的抗氧化剂胆红素,并且人们认为HO活化的保护作用是通过这些因素产生的。与溶媒处理的小鼠相比,在肾IRI中,缺血发作前1小时施用CO供体化合物三羰基二氯钌(II)二聚体($[Ru(CO)_3Cl_2]_2$)或三羰基氯(甘氨酸)钌(II)($[Ru(CO)_3Cl$(甘氨酸酯)]显著降低再灌注后24小时的血浆肌酐水平。这表明CO本身可能具有保护作用,并限制缺血诱导的AKI中的肾损伤。胆红素也被证明可以减少IRI引起的肾损伤,当胆绿素和CO联合使用时,它们在提高心脏同种异体移植存活率方面具有协同作用。

[0109] 内皮素拮抗剂.

[0110] 一种强效血管收缩剂内皮素-1(ET-1)被认为在AKI或对比剂性肾病的动物模型中

发挥重要作用。ET-1通过与ET_A或ET_B受体结合介导其生物学效应。在大鼠肾脏中，已知ET_A受体刺激介导血管收缩，而ET_B受体活化也可通过一氧化氮和前列环素的产生介导血管舒张。此外，ET-1可以刺激粘附分子的表达和单核细胞和嗜中性粒细胞的细胞因子产生，提示ET-1在AKI炎症中的可能作用。几项研究证明了选择性ET_A或非选择性内皮素受体拮抗剂对缺血性AKI的有益作用，但那些研究的主要局限性在于内皮素受体拮抗剂是在损伤前施用的。Tezosertan是一种双ET-1受体拮抗剂，即使在缺血后施用时也能减轻肾损伤。

[0111] 鞘氨醇1磷酸类似物.

[0112] 鞘氨醇1磷酸(S1P)是引发不同的细胞信号传导反应的G蛋白偶联内皮分化基因受体家族(S1PR 1至5)的特异性配体。S1PR根据其表达模式和存在的不同G蛋白调节不同的生物过程。S1P与受体结合或充当第二信使以刺激细胞存活、抑制细胞凋亡、以及抑制细胞粘附和运动。S1P类似物FTY720充当四个S1PR处的激动剂，其导致二级淋巴组织中淋巴细胞的隔离。在肾脏IRI的研究中，FTY720或类似化合物产生淋巴细胞减少和肾组织保护。

[0113] A_{2A}激动剂和其他腺苷类似物.

[0114] 腺苷与受体结合，受体是G蛋白偶联受体家族的成员，该家族包括四种亚型：A_1、A_{2A}、A_{2B}、和A_3R。选择性活化A_{2A}R减少非肾组织(包括心脏、肝脏、脊髓、肺和脑)的实质损伤。选择性A_{2A}R激动剂ATL146e对肾脏的IRI具有高度保护作用，并将损伤减少70％至80％。在再灌注开始前或开始时立即施用后，ATL146e单独地或与磷酸二酯酶抑制剂联合减少肾损伤。ATL146e在心脏成像的人类临床研究中，目前的努力是针对AKI的人类临床研究。其他研究表明，使用A_1激动剂或A_3阻断剂的策略可能对AKI有效。

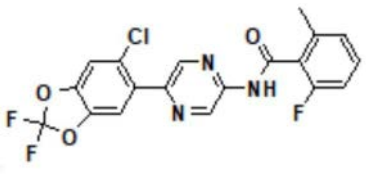
[0115] 诱导型一氧化氮合酶抑制剂.

[0116] 一氧化氮(NO)和一氧化氮合酶(NOS)的作用已被广泛研究。体内和体外研究都指出诱导型NOS在介导近端小管损伤中的重要作用。

[0117] 贝特类.

[0118] 过氧化物酶体增殖物活化受体(PPAR)是调节葡萄糖和脂质代谢的转录因子。最近的研究表明PPAR在炎症和免疫中发挥重要作用。用贝特类(PPAR-α配体)预处理动物改善顺铂诱导的肾功能障碍，并且这伴有NF-κB活化、细胞因子/趋化因子表达和嗜中性粒细胞浸润的抑制，表明贝特类的保护作用是通过其抗炎作用介导的。

[0119] 在一些实施方案中，细胞内钙信号传导抑制剂是SOC抑制剂。在一些实施方案中，细胞内钙信号传导抑制剂是CRAC抑制剂。示例性CRAC抑制剂包括N-(5-(6-氯-2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)吡嗪-2-基)-2-氟-6-甲基苯甲酰胺，其结构为



。示例性CRAC抑制剂包含GSK-7975A。示例性CRAC抑制剂包含YM58483/BTP2。示例性CRAC抑制剂包含2,6-二氟-N-(1-(4-羟基-2-(三氟甲基)苄基)-1H-吡唑-3-基)苯甲酰胺。

[0120] 在一些实施方案中，施用方案包括施用钙通道抑制剂，诸如CRAC抑制剂，诸如N-(5-(6-氯-2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)吡嗪-2-基)-2-氟-6-甲基苯甲酰胺和BTP2中的至少一种，以及用于治疗AKI的化合物。在一些实施方案中，钙通道抑制剂诸

如CRAC抑制剂，诸如N-(5-(6-氯-2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)吡嗪-2-基)-2-氟-6-甲基苯甲酰胺和BTP2中的至少一种与用于治疗AKI对肺活动的化合物在同一天施用。在一些实施方案中，钙通道抑制剂诸如CRAC抑制剂，诸如N-(5-(6-氯-2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)吡嗪-2-基)-2-氟-6-甲基苯甲酰胺和BTP2中的至少一种与用于治疗AKI的化合物在同一周施用。在一些实施方案中，钙通道抑制剂诸如CRAC抑制剂，诸如N-(5-(6-氯-2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)吡嗪-2-基)-2-氟-6-甲基苯甲酰胺和BTP2中的至少一种与用于治疗AKI的化合物同时施用。在一些实施方案中，钙通道抑制剂诸如CRAC抑制剂，诸如N-(5-(6-氯-2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)吡嗪-2-基)-2-氟-6-甲基苯甲酰胺和BTP2中的至少一种以独立于用于治疗AKI的化合物的施用模式的施用方案模式施用。在一些实施方案中，钙通道抑制剂诸如CRAC抑制剂，诸如N-(5-(6-氯-2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)吡嗪-2-基)-2-氟-6-甲基苯甲酰胺和BTP2中的至少一种通过与用于治疗AKI的化合物相同的递送途径诸如口服或静脉内施用。在一些实施方案中，钙通道抑制剂诸如CRAC抑制剂，诸如N-(5-(6-氯-2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)吡嗪-2-基)-2-氟-6-甲基苯甲酰胺和BTP2中的至少一种通过与用于治疗AKI的化合物不同的递送途径施用。在一些实施方案中，钙通道抑制剂诸如CRAC抑制剂，诸如N-(5-(6-氯-2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)吡嗪-2-基)-2-氟-6-甲基苯甲酰胺和BTP2中的至少一种仅在接受用于治疗AKI的化合物的人显示出所述药物对肺活动的影响的至少一个体征后施用给所述人。在一些实施方案中，钙通道抑制剂诸如CRAC抑制剂，诸如N-(5-(6-氯-2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)吡嗪-2-基)-2-氟-6-甲基苯甲酰胺和BTP2中的至少一种在所述人体内或来自所述人的与所述化合物对肺活动的影响的任何体征相关的任何证据缺失的情况下施用给接受用于治疗AKI的化合物的人。

[0121] 在一些实施方案中，钙通道抑制剂诸如CRAC抑制剂，诸如N-(5-(6-氯-2,2-二氟苯并[d][1,3]间二氧杂环戊烯-5-基)吡嗪-2-基)-2-氟-6-甲基苯甲酰胺和BTP2中的至少一种与用于治疗AKI的化合物在单一组合物中施用。因此，本文公开的一些实施方案涉及包含细胞内钙信号传导抑制剂和至少一种用于治疗AKI的化合物的组合物。在一些实施方案中，所述至少一种药物选自由以下各项组成的列表：前列腺素抑制剂、补体抑制剂、β-激动剂、β-2激动剂、粒细胞巨噬细胞集落刺激因子、皮质类固醇、N-乙酰半胱氨酸、他汀类、胰高血糖素样肽-1(7-36)酰胺(GLP-1)、髓系细胞上表达的触发受体(TREM1)阻断肽、17-烯丙基氨基-17-去甲氧基格尔德霉素(17-AAG)、肿瘤坏死因子(TNF)抗体、重组白细胞介素(IL)-1受体拮抗剂、苯磺顺阿曲库胺和血管紧张素转换酶(ACE)抑制剂。

[0122] 在一些实施方案中，递送细胞内钙信号传导抑制剂以达到等于、约等于或大于针对化合物所测定的体外IC_{50}值的组织水平浓度。在一些实施方案中，递送钙信号传导抑制剂以达到以下组织水平浓度：针对化合物所测定的体外IC_{50}值的1.5x、2x、3x、4x、5x、6x、7x、8x、9x、10x、11x、12x、13x、14x、15x、16x、17x、18x、19x、20x、21x、22x、23x、24x、25x、26x、27x、28x、29x、30x、31x、32x、33x、34x、35x、36x、37x、38x、39x、40x、41x、42x、43x、44x、45x、46x、47x、48x、49x、50x、51x、52x、53x、54x、55x、56x、57x、58x、59x、60x、61x、62x、63x、64x、65x、66x、67x、68x、69x、70x、71x、72x、73x、74x、75x、76x、77x、78x、79x、80x、81x、82x、83x、84x、85x、86x、87x、88x、89x、90x、91x、92x、93x、94x、95x、96x、97x、98x、99x、100x，或在1x至

100x范围内的任何非整数倍数。

[0123] 在一些实施方案中，递送钙信号传导抑制剂以达到在以下范围内的组织水平浓度：针对化合物所测定的体外IC_{50}值的1x至100x、2x至80x、3x至60x、4x至50x、5x至45x、6x至44x、7x至43x、8x至43x、9x至41x、或10x至40x，或在所述范围内的任何非整数。

[0124] 在一些实施方案中，递送钙信号传导抑制剂以达到以下组织水平浓度：1μM、2μM、3μM、4μM、5μM、6μM、7μM、8μM、9μM、10μM、11μM、12μM、13μM、14μM、15μM、16μM、17μM、18μM、19μM、20μM、21μM、22μM、23μM、24μM、25μM、26μM、27μM、28μM、29μM、30μM、31μM、32μM、33μM、34μM、35μM、36μM、37μM、38μM、39μM、40μM、41μM、42μM、43μM、44μM、45μM、46μM、47μM、48μM、49μM、50μM、51μM、52μM、53μM、54μM、55μM、56μM、57μM、58μM、59μM、60μM、61μM、62μM、63μM、64μM、65μM、66μM、67μM、68μM、69μM、70μM、71μM、72μM、73μM、74μM、75μM、76μM、77μM、78μM、79μM、80μM、81μM、82μM、83μM、84μM、85μM、86μM、87μM、88μM、89μM、90μM、91μM、92μM、93μM、94μM、95μM、96μM、97μM、98μM、99μM、100μM，或在约1μM至约100μM范围内的任何非整数倍数。

[0125] 在一些实施方案中，递送钙信号传导抑制剂以达到在以下范围内的组织水平浓度：1μM至100μM、2μM至90μM、3μM至80μM、4μM至70μM、5μM至60μM、6μM至50μM、7μM至40μM、8μM至30μM、9μM至20μM、或10μM至40μM，或在所述范围内的任何整数或非整数。

[0126] 在一些实施方案中，递送钙信号传导抑制剂以达到在以下范围内的组织水平浓度：9.5μM至10.5μM、9μM至11μM、8μM至12μM、7μM至13μM、5μM至15μM、2μM至20μM、或1μM至50μM，或在所述范围内的任何整数或非整数。

药物组合物

[0127] 本文可提供包含本文所述的钙信号传导抑制剂中的至少一种的药物组合物。在一些情况下，药物组合物包含至少一种钙信号传导抑制剂和至少一种本文公开的用于治疗AKI的化合物。

[0128] 本文提供的药物组合物可以以如下形式引入：口服剂型、透皮剂型、油制剂、可食用食品、食品基质、水分散液、乳液、可注射乳液、溶液、混悬液、酏剂、凝胶、糖浆、气溶胶、雾剂、粉剂、胶囊、片剂、纳米颗粒、纳米颗粒混悬液、纳米颗粒乳液、糖锭、洗剂、糊剂、配方棒、香膏、霜剂和/或软膏。

[0129] 在一些实施方案中，药物组合物另外包含赋形剂、增溶剂、表面活性剂、崩解剂和缓冲剂中的至少一种。在一些实施方案中，药物组合物不含药学上可接受的赋形剂。如本文所用，术语“药学上可接受的赋形剂”是指一种或多种适用于向对象施用的相容的固体或包封物质。如本文所用，术语“相容的”是指组合物的组分能够以没有相互作用的方式与对象化合物掺和，并且彼此相掺和，这将显著降低组合物在普通使用情况下的药物功效。在一些实施方案中，药学上可接受的赋形剂具有足够高的纯度和足够低的毒性，以使它们适于优选施用于被治疗的动物，优选哺乳动物。

[0130] 可以充当药学上可接受的赋形剂的物质的一些实例包括：氨基酸，诸如丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、蛋氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、色氨酸、酪氨酸和缬氨酸。在一些实施方案中，氨基酸是精氨酸。在一些实施方案中，氨基酸为L-精氨酸；单糖，诸如葡萄糖(右旋糖)、阿拉伯糖、甘露糖醇、果糖(左旋糖)和半乳糖；纤维素及其衍生物，诸如羧甲基纤维素钠、乙基纤维素和甲基纤维素；固体润滑剂，诸如滑石粉、硬脂酸、硬脂酸镁和硬脂酰富马

酸钠;多元醇,诸如丙二醇、甘油、山梨醇、甘露醇和聚乙二醇;乳化剂,诸如聚山梨酯;润湿剂,诸如十二烷基硫酸钠、Tween®、Span、烷基硫酸盐、烷基乙氧基酸硫酸盐;阳离子表面活性剂,诸如西曲溴铵、苯扎氯铵和氯化十六烷基吡啶;稀释剂,诸如碳酸钙、微晶纤维素、磷酸钙、淀粉、预糊化淀粉、碳酸钠、甘露醇和乳糖;粘合剂,诸如淀粉(玉米淀粉和马铃薯淀粉)、明胶、蔗糖羟丙基纤维素(HPC)、聚乙烯吡咯烷酮(PVP)和羟丙基甲基纤维素(HPMC);崩解剂,诸如淀粉和藻酸;超崩解剂,诸如ac-di-sol、交联羧甲基纤维素钠、淀粉乙醇酸钠和交联聚维酮。

[0131] 助流剂诸如二氧化硅;着色剂诸如FD&C染料;甜味剂和调味剂,诸如阿斯巴甜、糖精、薄荷醇、薄荷和水果香料;防腐剂,诸如苯扎氯铵、PHMB、氯丁醇、硫柳汞、苯汞、乙酸盐、硝酸苯汞、对羟基苯甲酸酯和苯甲酸钠;张力调节剂,诸如氯化钠、氯化钾、甘露醇和甘油;抗氧化剂,诸如亚硫酸氢钠、丙酮合亚硫酸氢钠、甲醛钠、次硫酸盐、硫脲和EDTA;pH调节剂,诸如NaOH、碳酸钠、乙酸钠、HCl和柠檬酸;冷冻保护剂,诸如磷酸钠或磷酸钾、柠檬酸、酒石酸、明胶和碳水化合物诸如葡萄糖、甘露醇和右旋糖苷;表面活性剂诸如十二烷基硫酸钠。例如,阳离子表面活性剂诸如西曲溴铵(包括十四烷基三甲基溴化铵与十二烷基化合物和十六烷基化合物)、苯扎氯铵和氯化十六烷基吡啶。阴离子表面活性剂的一些实例是烷基硫酸盐、烷基乙氧基化硫酸盐、皂、羧酸根(carxylate)离子、硫酸根离子和磺酸根离子。非离子表面活性剂的一些实例是聚氧乙烯衍生物、聚氧丙烯衍生物、多元醇衍生物、多元醇酯、聚氧乙烯酯、泊洛沙姆、glocol、甘油酯、脱水山梨糖醇衍生物、聚乙二醇(诸如PEG-40、PEG-50或PEG-55)和脂肪醇酯;有机材料,诸如碳水化合物、改性碳水化合物、乳糖(包括a-乳糖、一水合物喷雾干燥乳糖或无水乳糖)、淀粉、预胶化淀粉、蔗糖、甘露醇、山梨糖醇、纤维素(包括粉状纤维素和微晶纤维素);无机材料诸如磷酸钙(包括无水磷酸氢钙、磷酸氢钙或磷酸三钙);共处理稀释剂;压缩助剂;抗粘着剂诸如二氧化硅和滑石。

[0132] 在一些实施方案中,本文所述的药物组合物以单位剂型提供。如本文所用,“单位剂型”是含有一定量的至少一种钙信号传导抑制剂和/或至少一种用于治疗AKI的化合物的组合物,根据良好的医学实践,所述组合物适合于以单剂量施用给对象。然而,单一或单位剂型的制备并不意味着该剂型每天施用一次或每疗程施用一次。这种剂型预期每天施用一次、两次、三次或更多次,并且可以在一段时间内(例如,从约30分钟至约2-6小时)以输注形式施用,或者以连续输注施用,并且可以在疗程中给予多于一次,尽管并不特别排除单次施用。

特定术语

[0133] 除非另外定义,否则在本文中使用的所有技术和科学术语均具有与由要求保护的主题所属领域通常所理解的相同的含义。如果本文中的术语有多种定义,则以本节中的术语为准。在参考URL或其他这样的标识符或地址的情况下,应当理解,这样的标识符可以改变,并且因特网上的特定信息可以存在和消失,但是可以通过搜索因特网来找到等同的信息。引用此信息证明此类信息的可用性和公开传播。

[0134] 应理解,上文的一般描述与下文详述两者均仅具有示例性和说明性并且不限制任何要求保护的主题。在本申请中,除非另外明确陈述,否则使用单数包括复数。必须注意,除非上下文另外清楚地指明,否则如本说明书及所附权利要求书中所用,单数形式“一个/一种”和“该/所述”包括复数指示物。在本申请中,除非另有陈述,否则“或”的使用意指“和/

或”。此外,术语“包括”以及其他形式诸如“包含”的使用是非限制性的。

[0135] 本文使用的章节标题仅用于组织目的,不应被解释为限制所描述的主题。

[0136] 标准化学术语的定义可见于参考工具书中,包括但不限于Carey和Sundberg“Advanced Organic Chemistry第4版”A卷(2000)和B卷(2001),Plenum Press,New York。除非另有说明,否则常规的质谱、NMR、HPLC、蛋白质化学、生物化学、重组DNA技术和药理学方法。

[0137] 除非提供具体定义,否则关于本文所述的分析化学、合成有机化学以及医学和药物化学使用的术语以及本文所述的分析化学、合成有机化学以及医学和药物化学的实验室程序和技术是本领域中公认的那些。标准技术可用于化学合成、化学分析、药物制备、配制和递送以及患者的治疗。标准技术可用于重组DNA、寡核苷酸合成、及组织培养和转化(例如,电穿孔、脂质转染)。可以例如按照制造商说明书使用试剂盒、或按本领域中通常所完成的或如本文所述执行反应和纯化技术。上述技术和程序一般可以用常规方法执行,并且如本发明中引用和讨论的各种通用和更具体的参考文献所述。

[0138] 应理解,本文所述的方法和组合物不限于本文所述的特定方法、方案、细胞系、构建体和试剂,因此可以变化。还应理解,本文所用的术语仅出于描述特定实施方案的目的,且不旨在限制本文所述的方法、化合物、组合物的范围。

[0139] 术语“试剂盒”和“制品”被用作同义词。

[0140] 术语“对象”或“患者”涵盖哺乳动物和非哺乳动物。哺乳动物的实例包括但不限于哺乳动物类的任何成员:人、非人灵长类动物,诸如黑猩猩和其他猿类和猴物种;农场动物,诸如牛、马、绵羊、山羊和猪;家养动物,诸如兔、狗和猫;实验动物,包括啮齿动物,诸如大鼠、小鼠和豚鼠等。非哺乳动物的实例包括但不限于鸟类、鱼类等。在本文提供的方法和组合物的一个实施方案中,哺乳动物是人。

[0141] 如本文所用,术语“治疗”包括减轻、缓解或改善疾病或病况的症状;预防额外症状;改善或预防症状的根本原因;抑制疾病或病况,例如,阻止疾病或病况的发展,缓解疾病或病况,使疾病或病况消退,缓解由疾病或病况引起的病况,或者以预防和/或治疗的方式来终止疾病或病况的症状。如本文所用,术语“靶蛋白”是指能够与本文所述的化合物结合或相互作用的蛋白质或蛋白质的一部分,诸如具有化合物A组结构的化合物。在某些实施方案中,靶蛋白是STIM蛋白。在某些实施方案中,靶蛋白是Orai蛋白。

[0142] 如本文所用,“STIM蛋白”包括但不限于哺乳动物STIM-1,诸如人和啮齿动物(例如小鼠)STIM-1、黑腹果蝇D-STIM、秀丽隐杆线虫C-STIM、冈比亚按蚊STIM和哺乳动物STIM-2,诸如人和啮齿动物(例如小鼠)STIM-2。(参见US 2007/0031814的段落[0211]至[0270],以及US 2007/0031814的表3,它们都通过引用并入本文)如本文所述,此类蛋白质已被鉴定为涉及、参与和/或提供库操纵性钙内流或其调节,细胞质钙缓冲和/或钙水平的调节或钙进入、在其中或离开细胞内钙库(例如内质网)的运动。

[0143] 如本文所用,“Orai蛋白”包括Orai1(如WO 07/081804中所述的SEQ ID NO:1)、Orai2(如WO 07/081804中所述的SEQ ID NO:2)或Orai3(如WO 07/081804中所述的SEQ ID NO:3)。Orai1核酸序列对应于GenBank登录号NM_032790,Orai2核酸序列对应于GenBank登录号BC069270并且Orai3核酸序列对应于GenBank登录号NM_152288。如本文所用,Orai是指Orai基因中的任一个,例如Orai1、Orai2、Orai3(参见WO 07/081804的表I)。如本文所述,此

类蛋白质已被鉴定为涉及、参与和/或提供库操纵性钙内流或其调节，细胞质钙缓冲和/或钙水平的调节或钙进入、在其中或离开细胞内钙库(例如内质网)的运动。

[0144] 当涉及蛋白质(例如STIM、Orai)时，术语“片段”或“衍生物”意指在至少一次测定中与一种或多种天然蛋白质保持基本上相同的生物功能或活性的蛋白质或多肽。例如，参考蛋白质的片段或衍生物保持天然蛋白质至少约50％的活性、至少75％、至少约95％的天然蛋白质活性，如通过钙流入测定所确定。

[0145] 如本文所用，通过施用特定化合物或药物组合物来改善特定疾病、病症或病况的症状，是指可以归因于或与使用该化合物或组合物有关的任何严重程度减轻、发病延迟、进展减缓或持续时间缩短，无论其是永久性或临时性、持久性或暂时性的。

[0146] 如本文所用，术语“调节”意指直接或间接地与靶蛋白相互作用，从而改变靶蛋白的活性，包括，仅举例来说，抑制靶标的活性，或限制或降低靶标的活性。

[0147] 如本文所用，术语“调节剂”是指改变靶标活性的化合物。例如，调节剂可以使靶标的某一活性的量级与没有调节剂时的活性量级相比增加或减少。在某些实施方案中，调节剂是一种抑制剂，它降低靶标的一种或多种活性的量级。在某些实施方案中，抑制剂完全阻止靶标的一种或多种活性。

[0148] 如本文所用，与细胞内钙有关的“调节”是指细胞内钙的任何改变或调整，包括但不限于细胞质和/或细胞内钙储存细胞器(例如内质网)中的钙浓度的改变，以及钙流入、流出和在细胞内的流动动力学改变。一方面，调节是指减少。

[0149] 如本文所用，术语“靶活性”是指能够受到调节剂调节的生物活性。某些示例性靶活性包括但不限于结合亲和力、信号转导、酶活性、肿瘤生长、炎症或炎症相关过程，以及与疾病或病况相关的一种或多种症状的改善。

[0150] 如本文所用，SOC通道活性或CRAC通道活性的术语“抑制”或“抑制剂”是指对库操纵性钙通道活性或钙释放活化的钙通道活性的抑制。

[0151] 如本文所用，关于制剂、组合物或成分的术语“可接受的”意指对所治疗的对象的一般健康状况没有持续的有害作用。

[0152] 如本文所用，术语“药学上可接受的”是指一种材料，诸如载剂、稀释剂或制剂，其不会消除化合物的生物活性或特性，并且是相对无毒的，即所述材料可以施用于个体而不会引起不良的生物效应或以有害的方式与包含它的组合物的任何组分相互作用。

[0153] 如本文所用，术语“药物组合”意指由超过一种活性成分混合或组合而成的产物，并且包括活性成分的固定和非固定组合。术语“固定组合”意指一种活性成分，例如具有化合物A组结构的化合物和辅制剂，作为单独的实体同时、并行或先后施用于患者，没有具体的干预时间限制，其中这种施用提供患者体内两种化合物的有效水平。后者也适用于鸡尾酒疗法，例如，施用三种或更多种活性成分。

[0154] 术语“药物组合物”是指本文所述的具有化合物A组结构的化合物与以下其他化学组分的混合物：诸如载剂、稳定剂、稀释剂、表面活性剂、分散剂、混悬剂、增稠剂和/或赋形剂。药物组合物有助于向生物体施用所述化合物。本领域中存在多种施用化合物的技术，包括但不限于：静脉内、口服、气溶胶、胃肠外、眼部、皮下、肌内、肺部和局部施用。

[0155] 如本文所用，术语“有效量”或“治疗有效量”是指施用的药剂或化合物将足以在一定程度上缓解所治疗的疾病或病况的一种或多种症状的量。结果可以是疾病的体征、症状

或病因的减轻和/或缓解，或者生物系统的任何其他期望变化。例如，用于治疗用途的“有效量”是指含有具有化合物A组结构的化合物的组合物的量，该量是在临床上显著减轻疾病症状所需的。在任何个体情况下的适当“有效”量可以使用诸如剂量递增研究的技术来确定。

[0156] 在预防性应用中，将本文所述的组合物施用给易受特定疾病、病症或病况(诸如AKI)影响的对象或在其他方面处于特定疾病、病症或病况(诸如AKI)风险的对象，以防止对象发展出AKI。此外，如果对象已经发展出AKI，则所公开的组合物的预防性应用是防止对象从AKI进展成慢性肾脏病(CKD)。将这种量被定义为“预防有效量或剂量”。在这种用途中，精确的量还取决于对象的健康状况、体重等。当用于对象时，该用途的有效量将取决于疾病、病症或病况的严重程度和病程、既往疗法、对象的健康状况和对药物的反应以及治疗医师的判断。

[0157] 如本文所用，术语“增强”意指增加或延长预期效果的效力或持续时间。因此，关于增强治疗剂的效果，术语“增强”是指在效力或持续时间上增加或延长其他治疗剂对系统的作用的能力。如本文所用，“增强有效量”是指在所需系统中足以增强另一种治疗剂的效果的量。

[0158] 如本文所用，术语“共同施用”等意在涵盖将选定的治疗剂施用于单个患者，并旨在包括通过相同或不同施用途径或在相同或不同时间下施用药剂的治疗方案。

[0159] 如本文所用，术语“载剂”是指相对无毒的化合物或药剂，其有助于将化合物掺入细胞或组织中。

[0160] 术语“稀释剂”是指在递送前用于稀释感兴趣的化合物的化合物。稀释剂也可以用于稳定化合物，因为它们可以提供更稳定的环境。溶解在缓冲溶液中的盐(其也可以提供pH控制或维持)在本领域中用作稀释剂，包括但不限于磷酸盐缓冲盐水溶液。

[0161] 本文所公开的化合物的“代谢物”是化合物代谢时形成的该化合物的衍生物。术语“活性代谢物”是指化合物在代谢过程中形成的该化合物的生物活性衍生物。如本文所用，术语“代谢的”是指生物体改变某种物质的过程(包括但不限于水解反应和酶催化反应)的总和。因此，酶可以使化合物发生特定的结构改变。例如，细胞色素P450催化多种氧化和还原反应，而尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶催化活化的葡萄糖醛酸分子转移到芳香醇、脂肪醇、羧酸、胺和游离巯基。更多关于代谢的信息可由The Pharmacological Basis of Therapeutics，第9版，McGraw-Hill(1996)获得。可以通过将化合物施用于宿主并分析宿主的组织样品，或通过将化合物与肝细胞在体外培育并分析所产生的化合物来鉴定本文所公开的化合物的代谢物。

[0162] “生物利用度”指的是本文所公开的化合物(例如化合物A组中的化合物)被递送到所研究的动物或人的全身循环中的重量百分比。静脉内施用时药物的总暴露量(AUC(0-∞))通常定义为100％生物可利用性(F％)。“口服生物利用度”是指与静脉内注射相比，当药物组合物口服时，本文所公开的化合物被吸收到全身循环的程度。

[0163] “血浆浓度”是指具有化合物A组结构的化合物在对象血液的血浆组分中的浓度。应了解，由于代谢的可变性和/或与其他治疗剂的可能相互作用，本文所述化合物的血浆浓度可在对象之间有很大差异。根据本文公开的一个实施方案，本文公开的化合物的血浆浓度可因对象而异。同样，诸如最大血浆浓度(Cmax)或达到最大血浆浓度的时间(Tmax)，或血浆浓度时间曲线下的总面积(AUC(0-∞))的值可因对象而异。由于这种可变性，构成化合物

的“治疗有效量”的必需量可因对象而异。

[0164] 如本文所用，“钙稳态”指的是维持细胞内钙水平和运动的整体平衡，包括细胞内钙信号传导。

[0165] 如本文所用，“细胞内钙”是指位于细胞内的钙，而没有指明特定的细胞位置。相比之下，与钙有关的“胞质”或“细胞质”是指位于细胞的细胞质中的钙。

[0166] 如本文所用，对细胞内钙的影响是细胞内钙的任何方面的任何改变，包括但不限于细胞内钙水平的改变以及钙进入、离开或处于细胞或细胞内钙库或细胞器内的位置和运动的改变。例如，对细胞内钙的影响可以是特性的改变，诸如例如细胞或其一部分中出现的钙通量或运动的动力学、敏感性、速率、振幅和电生理特征的改变。对细胞内钙的影响可以是任何细胞内钙调节过程的改变，包括库操纵性钙内流、胞质钙缓冲以及钙水平或钙进入、离开或在细胞内钙库内的运动。这些方面的任何方面都可以通过多种方式进行评估，包括但不限于对钙或其他离子(特别是阳离子)水平的评估、钙或其他离子(特别是阳离子)的运动、钙或其他离子(特别是阳离子)水平的波动、钙或其他离子(特别是阳离子)通量的动力学和/或钙或其他离子(特别是阳离子)通过膜的转运。改变可以是统计上显著的任何此类变化。因此，例如，如果测试细胞和对照细胞中的细胞内钙据称是不同的，那么这种差异可以是统计上显著的差异。

[0167] 如本文所用，就蛋白质与细胞内钙或细胞内钙调控的某一方面的关系而言，“涉及”是指当细胞中蛋白质的表达或活性减少、改变或消除时，细胞内钙或细胞内钙调控的一个或多个方面也随之或相关地减少、改变或消除。表达或活性的这种改变或降低可以通过改变编码该蛋白质的基因的表达或通过改变该蛋白质的水平而发生。因此，细胞内钙的某一方面(诸如例如，库操纵性钙内流)中所涉及的蛋白质可以是提供或参与细胞内钙或细胞内钙调控的某一方面的蛋白质。例如，提供库操纵性钙内流的蛋白质可以是STIM蛋白和/或Orai蛋白。

[0168] 如本文所用，作为钙通道的组分的蛋白质是参与形成通道的多蛋白复合体的蛋白质。

[0169] 如本文所用，与胞质钙水平相关的“基础”或“静息”指的是细胞(诸如例如未受刺激的细胞)细胞质中的钙浓度，所述细胞未受到导致钙运动进入或离开细胞或在细胞内的条件的影响。基础或静息胞质钙水平可以是细胞(诸如例如未受刺激的细胞)的细胞质中游离钙(即未与细胞钙结合物质结合的钙)的浓度，所述细胞未受到导致钙运动进入或离开细胞的条件的影响。

[0170] 如本文所用，离子(包括阳离子，例如钙)的“运动”是指离子进入、离开或在细胞内的运动或重新定位，诸如例如离子的通量。因此，离子的运动可以是，例如，离子从细胞外基质运动到细胞中，从细胞内运动到细胞外基质，从细胞内细胞器或储存部位运动到胞质，从胞质运动到细胞内细胞器或储存部位，从一个细胞内细胞器或储存部位运动到另一个细胞内细胞器或储存部位，从细胞外基质运动到细胞内细胞器或储存部位，从细胞内细胞器或储存部位运动到细胞外基质，以及从细胞的细胞质内的一个位置运动到另一个位置。

[0171] 如本文所用，“阳离子内流”或“钙内流”到细胞中指的是阳离子诸如钙内流入细胞内的位置，诸如细胞的细胞质或进入细胞内细胞器的管腔或储存部位。因此，阳离子内流可以是，例如，阳离子从细胞外基质或从细胞内细胞器或储存部位运动到细胞的细胞质中，或

阳离子从细胞质或细胞外基质运动到细胞内细胞器或储存部位。钙从细胞内细胞器或储存部位向细胞质中的运动也称为从细胞器或储存部位的“钙释放”。

[0172] 如本文所用,“调节细胞内钙的蛋白质”是指任何涉及调控、控制和/或改变细胞内钙的细胞蛋白质。例如,此类蛋白质可以通过以下多种方式涉及改变或调整细胞内钙,所述方式包括但不限于维持静息或基础细胞质钙水平,或参与细胞对信号的响应,该信号通过包括细胞内钙偏离静息或基础状态的机制在细胞内传输。在“调节细胞内钙的蛋白质”的背景下,“细胞”蛋白质是与细胞相关的蛋白质,诸如例如细胞质蛋白、质膜相关蛋白或细胞内膜蛋白。调节细胞内钙的蛋白质包括但不限于离子转运蛋白、钙结合蛋白和调控离子转运蛋白的调控蛋白。

[0173] 如本文所用,“细胞反应”是指由于离子进入或离开细胞或在细胞内的运动而产生的任何细胞反应。细胞反应可能与任何(至少部分)依赖离子(诸如例如钙)的细胞活动有关。此类活动可包括例如细胞活化、基因表达、胞吞作用、胞吐作用、细胞运输和凋亡细胞死亡。

[0174] 如本文所用,“免疫细胞”包括免疫系统的细胞和在免疫应答中执行某种功能或活动的细胞,诸如但不限于T细胞、B细胞、淋巴细胞、巨噬细胞、树突状细胞、中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞、肥大细胞、浆细胞、白细胞、抗原递呈细胞和自然杀伤细胞。

[0175] 如本文所用,“细胞因子”是指由可以改变分泌细胞或另一种细胞的行为或特性的细胞分泌的小的可溶性蛋白质。细胞因子与细胞因子受体结合,并触发细胞内的一种行为或特性,例如细胞增殖、死亡或分化。示例性细胞因子包括但不限于白介素(例如,IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-10、IL-11、IL-12、IL-13、IL-15、IL-16、IL-17、IL-18、IL-1α、IL-1β和IL-1RA)、粒细胞集落刺激因子(G-CSF)、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)、抑瘤素M、促红细胞生成素、白血病抑制因子(LIF)、干扰素、B7.1(也称为CD80)、B7.2(也称为B70、CD86)、TNF家族成员(TNF-α、TNF-β、LT-β、CD40配体、Fas配体、CD27配体、CD30配体、4-1BBL、Trail)以及MIF。

[0176] “库操纵性钙内流”或“SOCE”是指钙离子从细胞内库的释放与离子穿过质膜的流入相协调的机制。

[0177] “SOC通道活性的选择性抑制剂”是指该抑制剂对SOC通道具有选择性,并且对其他类型离子通道的活性没有实质性影响。

[0178] “选择性CRAC通道活性抑制剂”是指该抑制剂对CRAC通道具有选择性,并且对其他类型离子通道和/或其他SOC通道的活性没有实质性影响。

[0179] 如本文所用,术语“钙”可以用来指代元素或二价阳离子Ca^{2+}。

[0180] 尽管已经在本文中示出和描述了本发明的优选实施方案,但是对于本领域技术人员而言将明显的是,此类实施方案仅为通过举例方式提供。在不脱离本发明的情况下,本领域技术人员现将会想到许多变化、改变和替代。应理解,本文所述的本发明的实施方案的各种替代方案可以用于实践本发明。所附权利要求旨在限定本发明的范围,并且由此涵盖这些权利要求范围内的方法和结构及其等同物。

实施例

[0181] 实施例1:1期临床试验.进行开放标签研究,以评估本文公开的药物组合物对患有AKI或有发展出AKI的风险的对象(诸如患有败血症、低血容量症和糖尿病的对象)的安全

性、耐受性、药代动力学和药效学，这些对象在住院期间可能导致诸如AKI的并发症。

[0182] 单剂量递增(SAD)臂：每个组中的对象接受单剂量药物组合物或安慰剂。示例性剂量为每千克对象体重0.1、0.5、1、2、3、4、5、10、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100mg的药物组合物。在预定时间内进行安全监测和PK评估。根据PK数据的评估，如果认为药物组合物耐受性良好，则在同一组或另一组健康对象中进行剂量递增。除非达到预定的最大暴露量或不可耐受的副作用变得明显，否则剂量递增将继续进行直至达到最大剂量。

[0183] 多剂量递增(MAD)臂：每个组中的对象接受多剂量的药物组合物或安慰剂。剂量水平和给药间隔时间被选择为从SAD数据中预测是安全的那些。选择剂量水平和给药频率是为了在全身循环内达到治疗药物水平，并在数天内保持治疗药物水平的稳定状态，以便监测适当的安全参数。收集和分析样品，以确定PK谱。

[0184] 结果量度包括在接受静脉内注射本文公开的药物组合物后的12小时、24小时、48小时、72小时、1周、2周、3周、4周、6周、8周测定测试对象的超过基线水平的血清肌酐水平。在接受静脉内注射本文公开的药物组合物后的12小时、24小时、48小时、72小时、1周、2周、3周、4周、6周、8周还测量测试对象的估计的肾小球滤过率(eGFR)。eGFR等于肾脏中功能性肾单位的总滤过率。GFR被认为是测量肾功能的最佳方法，GFR联同蛋白尿，可以帮助确定个体CKD的程度。只有在功能性肾单位显著丧失后，才能观察到血肌酐水平的升高。测量GFR的标准是使用外源性过滤标志物的血浆或尿液清除率。然而，这是一个复杂的程序，通常不会例行执行。因此，GFR通常根据对象的血清肌酐和/或胱抑素C水平，结合人口统计学因素(诸如年龄、种族和性别)使用估计方程进行估计。血清尿素水平和胰岛素清除率也可用于估计对象的GFR。

[0185] 患者排除标准：有透析史(血液透析、腹膜透析)、小于18岁或无既往CKD证据的患者将被排除在外。

[0186] 实施例2：急性胰腺炎患者现有和/或新发AKI的评估：研究和评估了一组急性胰腺炎患者，以观察细胞内钙信号传导抑制剂在预防AKI方面的作用。急性胰腺炎患者组分为两个亚组，一个亚组接受CM4620可注射乳液(CM4620-IE)治疗，另一个亚组接受对照治疗而不接受CM4620-IE。如图1所示，接受对照治疗的亚组有20％的患者发展出AKI，而接受CM4620-IE治疗的亚组只有8％的患者发展出AKI。此外，还评估了符合范德比尔特数据库中的纳入标准(如下所述)的急性胰腺炎患者，50％的患者发展出AKI，如图1所示。这些患者未接受CM4620-IE作为他们的治疗。

[0187] 纳入标准如下文所列出

通过出现与急性胰腺炎一致的腹痛，以及以下2项标准中的1项来确定急性胰腺炎的诊断：

血清脂肪酶和/或血清淀粉酶>正常上限(ULN)的3倍；

腹部影像上有急性胰腺炎的特征性发现；

≥18岁的成人；

与男性伴侣有性行为的有生育潜力的女性患者必须愿意在最后一剂CM4620-IE后365天内实施可接受的节育方法；

与有生育潜力的女性伴侣有性行为的男性患者必须愿意在最后一剂CM4620-IE后

365天内实施可接受的节育方法，并且在365天内不得捐献精子；

愿意并能够，或有愿意并能够提供知情同意的法定授权代表(LAR)参与并配合协议的所有方面。

[0188] 排除标准如下文所列出：

研究医生认为在参与研究期间可能对患者造成不可接受的健康风险或可能将预期生存期限制在小于6个月的任何并发临床病况；

治疗研究者判断疑似存在胆管炎；

正在接受化疗或免疫疗法的任何恶性肿瘤；

正在接受免疫抑制药物或免疫疗法治疗的任何自身免疫性疾病；

有以下病史：慢性胰腺炎、胰腺坏死物切除术或胰腺酶替代疗法；活检证实的肝硬化、门静脉高压、肝功能衰竭/肝性脑病；已知的乙型或丙型肝炎或HIV；器官或血液移植史；第1天之前30天内的心肌梗死、血运重建、心血管意外(CVA)；

目前正在进行肾脏替代疗法；

目前已知滥用可卡因或甲基苯丙胺；

已知妊娠或正在哺乳期；

在第1天之前的30天内参与了另一项研究性药物或治疗性医疗器械的研究；

有鸡蛋过敏史或已知对CM4620-IE任何成分过敏史；

既往CM4620-IE治疗。

急性胰腺炎组 SIRS + SpO_2 < 96%	患者总数	住院期间的 AKI患者百分比
范德比尔特历史SOC患者*	50	50%
2a期SOC患者	7	20%
2a期CM4620-治疗的患者	**14**	→ **8%** ←

*范德比尔特EMR数据库中的历史护理标准对照数据，包括现有和新发AKI

*对范德比尔特数据库数据的纳什生物分析——符合研究纳入标准选定，然后按SIRS和SpO_2分类的患者；

SIRS + SpO_2 < 96%的患者比其他AP患者病情更严重

图1