

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2024年5月16日 (16.05.2024)



(10) 国际公布号
WO 2024/098967 A1

(51) 国际专利分类号:
A61K 31/433 (2006.01) A61P 31/04 (2006.01)
A61K 38/12 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2023/119768

(22) 国际申请日: 2023年9月19日 (19.09.2023)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
202211394623.2 2022年11月8日 (08.11.2022) CN
202310092613.1 2023年2月10日 (10.02.2023) CN

(71) 申请人: 厦门汉力信药业有限公司 (XIAMEN HANLIXIN PHARMACEUTICAL CO., LTD.) [CN/CN]; 中国福建省厦门市火炬高新区创业园火炬东路11-15号伟业楼北楼305室-D, Fujian 361000 (CN)。 中国农业大学 (CHINA AGRICULTURAL UNIVERSITY) [CN/

CN]; 中国北京市海淀区圆明园西路2号, Beijing 100000 (CN)。

(72) 发明人: 沈建忠 (SHEN, Jianzhong); 中国北京市海淀区圆明园西路2号, Beijing 100000 (CN)。 代重山 (DAI, Chongshan); 中国北京市海淀区圆明园西路2号, Beijing 100000 (CN)。 陈洪亮 (CHEN, Hongliang); 中国福建省厦门市火炬高新区创业园火炬东路11-15号伟业楼北楼305室-D, Fujian 361000 (CN)。 吴聪明 (WU, Congming); 中国北京市海淀区圆明园西路2号, Beijing 100000 (CN)。 沈张奇 (SHEN, Zhangqi); 中国北京市海淀区圆明园西路2号, Beijing 100000 (CN)。 汪洋 (WANG, Yang); 中国北京市海淀区圆明园西路2号, Beijing 100000 (CN)。

(74) 代理人: 北京纪凯知识产权代理有限公司 (JEEKAI & PARTNERS); 中国北京市丰台区广安路9号国投广场5号楼15A层, Beijing 100055 (CN)。

(54) Title: USE OF SU3327 IN PREPARING DRUG FOR ENHANCING ANTI-BACTERIAL-INFECTION EFFICACY OF POLYMYXIN

(54) 发明名称: SU3327在制备增强多黏菌素抗细菌感染效力的药物中的用途

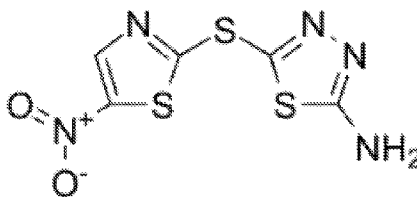


图1

(57) Abstract: The present invention provides use of an N-terminus kinase inhibitor SU3327 of C-JUN in preparing a drug for enhancing anti-bacterial-infection efficacy of polymyxin and use of a composition of the SU3327 and the polymyxin in preparing a drug with enhanced anti-bacterial-infection efficacy. The polymyxin is preferably polymyxin E. The present invention proves by means of a chessboard-method minimum inhibitory concentration test and an in-vitro bacterial growth curve that the SU3327 synergistically enhances the antibacterial activity of polymyxin, and meanwhile, proves by means of a mouse drug-resistant bacterial infection model experiment at the animal level that the SU3327 can effectively enhance the polymyxin and the effectiveness in vivo. The present invention provides new use of the SU3327 in enhancing the antibacterial activity of polymyxin antibiotics and can solve the technical problems of clinical drug resistance, low therapeutic index, and the like of polymyxin.

(57) 摘要: 本发明提供一种C-JUN的N末端激酶抑制剂SU3327在制备增强多黏菌素抗细菌感染效力的药物中的用途, 以及SU3327和多黏菌素的组合物在制备抗细菌感染效力增强的药物中的用途, 所述多黏菌素优选为多黏菌素E。本发明不仅通过棋盘法最小抑菌浓度试验、体外细菌生长曲线证明SU3327协同增效多黏菌素的抗菌活性, 同时利用小鼠耐药细菌感染模型实验在动物水平证实了SU3327可以有效增强多黏菌素以及在体内的有效性。本发明提供了SU3327在增效多黏菌素类抗生素抗菌活性中的新用途, 可解决多黏菌素临床耐药性和治疗指数低等技术问题。

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

— 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

SU3327 在制备增强多黏菌素抗细菌感染效力的药物中的用途

技术领域

本发明涉及医药领域，具体涉及抗菌领域，特别涉及一种利用 C- JUN N 末端激酶抑制剂 SU3327 增强多黏菌素抗菌活性的方法。

背景技术

多黏菌素（又称多粘菌素，polymyxin）是发现于多粘杆菌（*Bacillus polymyxa*）培养液中的抗菌性多肽，有 A、B、C、D、E 等五种。抗菌谱相互类似而范围宽广，特别对革兰氏阴性细菌作用颇强，如大肠杆菌、肺炎杆菌、绿脓杆菌等。多黏菌素 E（又称黏菌素，Polymyxin E），CAS 号: 1066-17-7，英文名称: Colistin，商品名抗敌素、可立斯丁、粘菌素。临床应用主要是硫酸盐或甲磺酸盐形式，即硫酸多黏菌素 E 和甲磺酸盐多黏菌素 E。多黏菌素 E 用于治疗大肠杆菌性造成的肠炎、肺炎克雷伯菌造成的肺炎、和治疗其他药物耐药的菌株，以及外用于烧伤和外伤引起的绿脓杆菌局部感染和耳、眼等部位敏感菌感染。

近 10 年来，多重耐药革兰氏阴性细菌造成的感染严重威胁动物和人类健康。目前，多黏菌素类抗菌药物被认为是临床治疗多重耐药革兰氏阴性细菌（主要包括耐碳青霉烯类大肠杆菌、多重耐药肺炎克雷伯菌等）感染的最后一线治疗选择。然而，由于多黏菌素耐药基因（MCR）的出现，导致临床多黏菌素的治疗输出显著降低，严重危险这一重要抗菌药物的使用寿命。因此，开发有效的黏菌素增效剂，基于黏菌素的联合给药，已经成为临床治疗治疗这些危害生命的多重耐药革兰氏阴性细菌的重要治疗策略。

为应对临床“细菌耐药性危机”，联合用药已成为临床应用多黏菌素治疗 MDR-GNR 最重要的用药策略，已有文献公开了多黏菌素的多种联合用药。测定 17 种不同抗菌药物对 135 株碳青霉烯耐药肺炎克雷伯菌(Carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae*, CRKP)的最低抑菌浓度，评价 CRKP 菌株药物敏感性。评价以 Colistin 为基础联合比阿培南、头孢他啶-阿维巴坦 2 种联合用药方案对 CRKP 的协同抗菌活性,为临床用药选择提供理论依据（参见：“Colistin 联合其它抗菌药物对碳青霉烯耐药肺炎克雷伯的体外抗菌活性研究”，白艳等，《2016 年北京药学年会》，2016 年公开）。建立药效学模型描述多黏菌素 E(colistin E)与其他抗菌药联用对泛耐药鲍曼不动杆菌(XDR-AB)的体外杀菌作用，所建立的药效学模型较好的

描述了多黏菌素 E 对 XDR-AB 杀菌作用的特点,为抗菌药体外联用的药动学/药效学数据建模提供了范例(参见:“多黏菌素 E 联用其他抗菌药物治疗鲍曼不动杆菌感染的药效学模型研究”,付文婷等,《安徽医药》,2020 年 12 期)。

SU3327(又称 halicin、海立信, CAS No.: 40045-50-9)是一种 C-JUN 的 N 末端激酶抑制剂,结构见图 1。SU3327 是一种有效的,选择性的且具有底物竞争性的 JNK 抑制剂, IC₅₀ 为 0.7 μ M。SU3327 还以 IC₅₀ 值为 239nM 抑制 JNK 和 JIP 之间的蛋白相互作用。SU3327 对 p38 α 和 Akt 激酶的活性较低。

目前,虽然现有技术已经公开了多黏菌素联用其他抗菌药物,但大多数成药性很差,本发明不仅提供了 SU3327 和多黏菌素的联用细胞水平的协同增效实验,还进一步提供动物水平实验证实其较好的协同杀菌效果。至今尚无研究报道关于 SU3327 作为多黏菌素增效剂,在增强多黏菌素抗菌活性中的应用。

发明内容

为了解决多重耐药革兰氏阴性细菌治疗的技术问题,本发明提供一种增强多黏菌素抗菌活性的方法,具体采用 C-JUN 的 N 末端激酶抑制剂 SU3327 联用多黏菌素,多黏菌素优选多黏菌素 E,二者不仅是简单的功能相加,而是达到协同增效抗菌作用。本发明还公开了 SU3327 和多黏菌素 E 的抗菌组合配比,为临床治疗细菌感染,特别是多重耐药革兰氏阴性细菌感染,具体如存在多黏菌素耐药基因(MCR)的细菌感染提供了新的治疗策略。

本发明的一方面提供 C-JUN 的 N 末端激酶抑制剂 SU3327 在制备增强多黏菌素抗细菌感染效力的药物中的用途。

本发明的另一方面提供 C-JUN 的 N 末端激酶抑制剂 SU3327 和多黏菌素的组合物在制备抗细菌感染效力增强的药物中的用途。

进一步地,所述多黏菌素为多黏菌素 E(即黏菌素)或多黏菌素 B。

进一步地,所述细菌为存在多黏菌素耐药基因的细菌。

进一步地,所述细菌为革兰氏阴性细菌。

进一步地,所述革兰氏阴性细菌为多重耐药革兰氏阴性细菌。

进一步地,所述细菌为大肠杆菌、肺炎克雷伯、沙门氏菌、志贺杆菌、金黄色葡萄球菌中的一种或多种;优选地,所述大肠杆菌、肺炎克雷伯、沙门氏菌、志贺杆菌、金黄色葡萄球菌中的一种或多种为存在多黏菌素耐药基因的或多重耐药的。

进一步地，所述细菌为肺炎克雷伯菌；优选地，所述细菌为存在多黏菌素耐药基因的或多重耐药的肺炎克雷伯菌。

进一步地，所述SU3327和多黏菌素的组合物中SU3327、多黏菌素质量比为： $(2.5-10):1$ 。

进一步地，所述SU3327和多黏菌素的组合物的剂型为片剂、胶囊、缓释片、控释片、口服液、糖浆、注射液剂型、滴丸、冻干粉针剂型中的一种。

进一步地，所述多黏菌素E和所述SU3327的最终治疗剂量为10mg/kg体重。

本发明提供的C-JUN的N末端激酶抑制剂SU3327的新用途，用于增强多黏菌素抗菌活性的方法具有以下优异的技术效果：

(1) 本发明通过棋盘法最小抑菌浓度试验、体外细菌生长曲线证明SU3327协同增效多黏菌素的抗菌活性。

(2) 区别于已有的多黏菌素与抗生素联用，本发明给出了小鼠耐药细菌感染模型实验，在动物水平证实了SU3327可以有效增强多黏菌素以及在体内的有效性，对下一步临床应用更有证明力。

(3) 本发明阐明了SU3327可以恢复耐多黏菌素细菌的敏感性，并进一步评价了两者联合使用在体内外的有效性，有助于开发出一类新型的抗生素增效剂，缓解危害日趋严重的细菌耐药性问题。

(4) 本发明提供了SU3327在增效多黏菌素类抗生素抗菌活性中的新用途，可解决多黏菌素临床耐药性和治疗指数低等技术问题。

附图说明

图1为本发明SU3327的化学结构图；

图2为本发明SU3327和多黏菌素E单用及二者联用的棋盘法对菌株的联合抑菌活性试验结果；

图3A-图3B为本发明针对*K.Pneumoniae* 1202和*K.Pneumoniae* 1202-45-5，SU3327和多黏菌素E单用及二者联用的体外细菌生长曲线结果图，其中图3A为针对*K.Pneumoniae* 1202菌株SU3327和多黏菌素E单用及二者联用的体外细菌生长曲线结果图，图3B为针对*K.Pneumoniae* 1202-45-5菌株SU3327和多黏菌素E单用及二者联用的体外细菌生长曲线结果图；

图4为本发明针对*K.Pneumoniae* 1202-45-5，SU3327和多黏菌素E单用及二者联用治

疗的小鼠大腿载菌量结果图。

具体实施方式

本发明实施例采用药物：SU3327 购买自美国 MCE 试剂公司，纯度 $\geq 99\%$ 。硫酸多黏菌素 E 购买自河北圣雪大成唐山制药公司，效价 ≥ 23000 U/mg 多黏菌素 E。称取一定量的硫酸多黏菌素 E 配置成母液浓度为 16 mg/mL 水溶液。SU3327 使用 DMSO 配置成母液浓度为 40 mg/mL 浓度的母液。所有母液制备好后储存在-20 度冰箱。

实施例 1 SU3327 和多黏菌素联合用药的协同抗菌活性评价

1.1 试验菌株

试验中所用菌株大肠杆菌 ATCC 25922 (*E.coli* 25922)、金黄色葡萄球菌 ATCC 29213 (*S.aureus* 29213) 菌株购自中国兽医监察所菌种保存中心。耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 USA300 (ATCC BAA-1717) 购自美国标准菌种库。其他实验中所用菌株大肠杆菌 B2 (*E.coli* B2)、大肠杆菌 GZP08-8 (*E.coli* GZP08-8)、肺炎克雷伯 1202 (*K.Pneumoniae* 1202)、肺炎克雷伯 1202-45-5 (*K.Pneumoniae* 1202-45-5)、沙门氏菌 1-5 (*Salmonella* 1-5)、志贺杆菌 Y (*Shigella* Y) 菌株均来自中国农业大学国家兽药安全评价中心保存。其中，大肠杆菌 B2 (*E.coli* B2)、大肠杆菌 GZP08-8 (*E.coli* GZP08-8)、肺炎克雷伯 1202-45-5 (*K.Pneumoniae* 1202-45-5)、沙门氏菌 1-5 (*Salmonella* 1-5) 为含有 MCR-1 的耐多黏菌素的菌株。肺炎克雷伯 1202 (*K.Pneumoniae* 1202)、志贺杆菌 Y (*Shigella* Y) 为临床黏菌素敏感菌株。

1.2 试验方法

使用倍比稀释法检测 SU3327 单独用药的 MIC。随后，在 96 孔无菌微孔板内依照棋盘法分别进行 SU3327 和多黏菌素 E (Colistin) 单用及二者联用对上述菌株的联合抑菌活性试验，并进一步计算联合使用协同指数 (FICI)。SU3327 和多黏菌素 E 的 $FICI = MIC(\text{多黏菌素 E 联合}) / MIC(\text{多黏菌素 E}) + MIC(\text{SU3327 联合}) / MIC(\text{SU3327 单用})$ 。当 $FICI \leq 0.5$ 判定为协同；当 $0.5 < FICI \leq 1$ 时，判定为相加作用；当 $0.5 < FICI < 4$ ，判定为无关效应。

1.3 试验结果

SU3327 和多黏菌素 E 单用及二者联用的棋盘法对菌株的联合抑菌活性试验结果见图 2，具体分析如下：

针对含有 MCR-1 的大肠杆菌 B2 (*E.coli* B2), 多黏菌素 E 和 SU3327 的 MIC 分别为 8 μ g/mL 和 20 μ g/mL, 联合使用后, 多黏菌素 E 和 SU3327 的 MIC 分别降低到 0.5 μ g/mL 和 2.5 μ g/mL, FICI 为 0.1875, 判定为协同作用。

针对临床黏菌素敏感菌肺炎克雷伯菌 1202 (*K.Pneumoniae* 1202) 菌株, 多黏菌素 E 和 SU3327 的 MIC 分别为 1 μ g/mL 和 20 μ g/mL, 联合使用后, 多黏菌素 E 和 SU3327 的 MIC 分别降低到 0.0625 μ g/mL 和 2.5 μ g/mL, FICI 为 0.1875, 判定为协同作用。

针对黏菌素敏感菌肺炎克雷伯菌 1202-45-5 (*K.Pneumoniae* 1202-45-5) 菌株, 多黏菌素 E 和 SU3327 的 MIC 分别为 16 μ g/mL 和 20 μ g/mL, 联合使用后, 多黏菌素 E 和 SU3327 的 MIC 分别降低到 0.25 μ g/mL 和 5 μ g/mL, FICI 为 0.266, 判定为协同作用。

针对黏菌素敏感菌大肠杆菌 GZP08-8 (*E.coli* GZP08-8) 菌株, 多黏菌素 E 和 SU3327 的 MIC 分别为 16 μ g/mL 和 10 μ g/mL, 联合使用后, 多黏菌素 E 和 SU3327 的 MIC 分别降低到 0.25 μ g/mL 和 2.5 μ g/mL, FICI 为 0.266, 判定为协同作用。

针对大肠杆菌标准菌株 ATCC 25922 (*E.coli* 25922), 多黏菌素 E 和 SU3327 的 MIC 分别为 0.125 μ g/mL 和 10 μ g/mL, 联合使用后, 多黏菌素 E 和 SU3327 的 MIC 分别降低到 0.0625 μ g/mL 和 5 μ g/mL, FICI 为 1, 判定为相加作用。

针对金黄色葡萄球菌标准菌株 ATCC 29213 (*S.aureus* 29213), 多黏菌素 E 和 SU3327 的 MIC 分别为大于 128 μ g/mL 和 5 μ g/mL, 联合使用后, 多黏菌素 E 和 SU3327 的 MIC 分别降低到 64 μ g/mL 和 2.5 μ g/mL, FICI 为 0.75, 判定为相加作用。

针对黏菌素耐药菌株沙门氏菌 1-5 (*Salmonella* 1-5), 多黏菌素 E 和 SU3327 的 MIC 分别为大于 128 μ g/mL 和 20 μ g/mL, 联合使用后, 多黏菌素 E 和 SU3327 的 MIC 分别降低到 1 μ g/mL 和 2.5 μ g/mL, FICI 为 0.25, 判定为协同作用。

针对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 USA300 (*S.aureus* USA300) 菌株, 多黏菌素 E 和 SU3327 的 MIC 分别为大于 128 μ g/mL 和 5 μ g/mL, 联合使用后, 多黏菌素 E 和 SU3327 的 MIC 分别降低到 32 μ g/mL 和 1.25 μ g/mL, FICI 为 0.25, 判定为协同作用。

针对黏菌素敏感菌株志贺菌 Y (*Shigella* Y), 多黏菌素 E 和 SU3327 的 MIC 分别为 0.125 μ g/mL 和 5 μ g/mL, 联合使用后, 多黏菌素 E 和 SU3327 的 MIC 分别降低到 0.032 μ g/mL 和 2.5 μ g/mL, FICI 为 0.75, 判定为相加作用。

实施例 2 多黏菌素 E 联合 SU3327 使用的协同杀菌曲线

2.1 MHA 培养基配制

取牛肉粉 6.0g, 可溶性淀粉 1.5g, 酸水解酪蛋白 17.5g, 琼脂 17.0g, 加入 900mL 蒸馏水, 调节 pH 至 7.3, 定容至 1000 mL。121°C 高压灭菌 15 分钟, 待冷至 50°C 时倾入无菌平皿, 晾干备用。

2.2 试验方法

将肺炎克雷伯 1202 菌 (*K.Pneumoniae* 1202) 和肺炎克雷伯 1202-45-5 菌 (*K.Pneumoniae* 1202-45-5) 在 BHI 肉汤中培养 6-8 小时后, 使用比浊仪将细菌浓度稀释为 10 的六次方菌落数。其中, 对肺炎克雷伯 1202 菌, 设置药物处理浓度为: 多黏菌素 E(0.25 μ g/mL)、SU3327(10 μ g/mL)、SU3327 (10 μ g/mL)+多黏菌素 E (0.25 μ g/mL); 对照组细菌给予 0.1%的 DMSO 溶剂; 对肺炎克雷伯 1202-45-5 菌, 设置药物处理浓度为: 多黏菌素 E(1 μ g/mL)、SU3327 (20 μ g/mL)、SU3327 (20 μ g/mL)+多黏菌素 E (1 μ g/mL); 在分别于药物处理第 1h、3 h、6 h、12h 和 24 h 取菌液 100 μ L 涂布于琼脂平板上, 培养至少 16h 后, 进行菌落计数。

2.3 试验结果

针对肺炎克雷伯 1202 菌 (*K.Pneumoniae* 1202) 和肺炎克雷伯 1202-45-5 菌 (*K.Pneumoniae* 1202-45-5), SU3327 和多黏菌素 E 单用及二者联用的体外细菌生长曲线结果图见图 3A-图 3B, 其中图 3A 为针对 *K.Pneumoniae* 1202 菌株 SU3327 和多黏菌素 E 单用及二者联用的体外细菌生长曲线结果图, 图 3B 为针对 *K.Pneumoniae* 1202-45-5 菌株 SU3327 和多黏菌素 E 单用及二者联用的体外细菌生长曲线结果图。具体结果分析如下:

对肺炎克雷伯 1202 菌结果显示, 在 SU3327 (10 μ g/mL) 和多黏菌素 E(0.25 μ g/mL) 联合处理组, 杀菌效果较 SU3327 或多黏菌素 E 单药处理均得到明显提高; 在连续处理 24 h 后, 细菌菌落数在对照处理组为 9.4 Log₁₀ CFU/mL, 多黏菌素 E 处理组为 8.9 Log₁₀ CFU/mL, SU3327 处理组为 8.35 Log₁₀ CFU/mL, 多黏菌素 E 和 SU3327 联合处理组为 2.05 Log₁₀ CFU/mL; 表明多黏菌素 E 联合 SU3327 处理后, 杀菌效果得到显著提高。

对肺炎克雷伯 1202-45-5 菌结果显示, 在 SU3327 (20 μ g/mL) 和多黏菌素 E(1 μ g/mL) 联合处理组, 杀菌效果较 SU3327 或多黏菌素 E 单药处理均得到明显提高; 在连续处理 24h 后, 细菌菌落数在对照处理组为 9.35 Log₁₀ CFU/mL, 多黏菌素 E 处理组为 9.3 Log₁₀ CFU/mL, SU3327 处理组为 6.65 Log₁₀ CFU/mL, 多黏菌素 E 和 SU3327 联合处理组为 2.7

Log₁₀ CFU/mL; 表明多黏菌素 E 联合 SU3327 处理后, 杀菌效果得到显著提高。

试验例 3 多黏菌素 E 和 SU3327 单独和联合使用在治疗 BALB/c 小鼠耐药细菌感染模型中的效果

3.1 动物分组和处理

为了避免小鼠自身免疫力对实验的影响, 所有小鼠在感染前 4 天和前 1 天分别预先分别给予环磷酰胺 2 次, 每次腹腔注射 100 mg/kg, 造成小鼠中性粒细胞减少及免疫缺陷。24 只 6-8 周龄 BALB/c 雌性小鼠(体重约 20g), 对数期的肺炎克雷伯 1202-45-5 菌用 PBS 缓冲液重悬, 制备成悬浮液, 浓度为 1×10^7 CFU/mL; 在小鼠中, 每只小鼠大腿最后注射的细菌总量为 1×10^6 CFUs。然后随机分成模型对照组(即溶剂治疗组)、多黏菌素 E 治疗组(10 mg/kg 体重)、SU3327 治疗组(10 mg/kg 体重)、和 SU3327(10 mg/kg 体重)+多黏菌素 E(10 mg/kg 体重) 联合治疗组(每组 6 只)。具体处理如下:

溶剂对照治疗组: 小鼠腹腔右侧大腿肌肉注射肺炎克雷伯 1202-45-5 菌悬浮液 0.1mL; 1 小时后小鼠腹腔注射 200 μ L PBS 缓冲液;

多黏菌素 E 治疗组: 小鼠腹腔右侧大腿肌肉注射肺炎克雷伯 1202-45-5 菌悬浮液 0.1mL; 1 小时后小鼠腹腔注射 200 μ L 多黏菌素 E 药液(1 mg/mL); 最终剂量为 10mg/kg 体重;

SU3327 治疗组: 小鼠腹腔右侧大腿肌肉注射肺炎克雷伯 1202-45-5 菌悬浮液 0.1mL; 1 小时后小鼠腹腔注射 200 μ L SU3327 药液(1 mg/mL); 最终剂量为 10 mg/kg 体重;

SU3327 (10 mg/kg) +多黏菌素 E (10 mg/kg) 联合治疗组: 小鼠腹腔右侧大腿肌肉注射大肠杆菌悬浮液 0.1mL; 1 小时后小鼠腹腔注射 SU3327 (1mg/mL)和 200 μ L 多黏菌素 E (1mg/mL)的混合药液。最终剂量为 SU3327 和多黏菌素 E 的剂量均为 10mg/kg 体重。治疗 2 次, 每次间隔 8 小时。在感染后第 24 小时, 所有小鼠进行安乐死后取小鼠右侧大腿肌肉, 放置于 3mL PBS 溶液中, 使用低温组织破碎仪破碎, 最后取 100 μ L 破碎液涂板进行菌落计数。

3.2 试验结果

针对肺炎克雷伯 1202-45-5 菌, SU3327 和多黏菌素 E 单用及二者联用治疗的小鼠大腿载菌量结果图见图 4, 结果如下:

与溶剂对照组相比, 多黏菌素 E 单独治疗组中小鼠大腿载菌量为 6.82 Log₁₀ CFU/mL,

与对照组无显著差异；与溶剂对照组相比，SU3327 单独治疗组中小鼠大腿载菌量为 6.55 Log₁₀ CFU/mL，与对照组相比差异显著；与溶剂对照组相比，多黏菌素 E 和 SU3327 联合治疗组中小鼠大腿载菌量为 5.28 Log₁₀ CFU/mL，与对照组相比差异显著，且分别与 SU3327 单独治疗组或多黏菌素 E 单独治疗组相比，均差异显著。这些结果表明了 SU3327 可以有效增强多黏菌素 E 和在体内的有效性，为耐药性革兰氏阴性细菌引起的感染性疾病的治疗提供了新的治疗方案。

本公开的上述实施例仅是为清楚地说明本公开所作的举例，而并非是对本公开的实施方式的限定。对于所属领域的普通技术人员来说，在上述说明的基础上还可以做出其他不同形式的变化或变动。这里无需也无法对所有的实施方式予以穷举。凡在本公开的精神和原则之内所作的任何修改、等同替换和改进等，均应包含在本公开权利要求的保护范围之内。

权利要求书

1. C-JUN 的 N 末端激酶抑制剂 SU3327 在制备增强多黏菌素抗细菌感染效力的药物中的用途。
2. C-JUN 的 N 末端激酶抑制剂 SU3327 和多黏菌素的组合物在制备抗细菌感染效力增强的药物中的用途。
3. 根据权利要求 1 或 2 所述的用途，其特征在于，所述多黏菌素为多黏菌素 E 或多黏菌素 B；优选地，所述多黏菌素为多黏菌素 E。
4. 根据权利要求 1-3 任一项所述的用途，其特征在于，所述细菌为存在多黏菌素耐药基因的细菌。
5. 根据权利要求 1-3 任一项所述的用途，其特征在于，所述细菌为革兰氏阴性细菌。
6. 根据权利要求 5 所述的用途，其特征在于，所述革兰氏阴性细菌为多重耐药革兰氏阴性细菌。
7. 根据权利要求 1-3 任一项所述的用途，其特征在于，所述细菌为大肠杆菌、肺炎克雷伯、沙门氏菌、志贺杆菌、金黄色葡萄球菌中的一种或多种；优选地，所述大肠杆菌、肺炎克雷伯、沙门氏菌、志贺杆菌、金黄色葡萄球菌中的一种或多种为存在多黏菌素耐药基因的或多重耐药的。
8. 根据权利要求 1-3 任一项所述的用途，其特征在于，所述细菌为肺炎克雷伯菌；优选地，所述细菌为存在多黏菌素耐药基因的或多重耐药的肺炎克雷伯菌。
9. 根据权利要求 2-8 任一项所述的用途，其特征在于，所述 SU3327 和多黏菌素的组合物中 SU3327、多黏菌素质量比为 (2.5-10) :1。
10. 根据权利要求 2-8 任一项所述的用途，其特征在于，所述 SU3327 和多黏菌素的组合物的剂型为片剂、胶囊、缓释片、控释片、口服液、糖浆、注射液剂型、滴丸、冻干粉针剂型中的一种。
11. 根据权利要求 2-8 任一项所述的用途，其特征在于，所述多黏菌素 E 和所述 SU3327 的最终治疗剂量为 10mg/kg 体重。

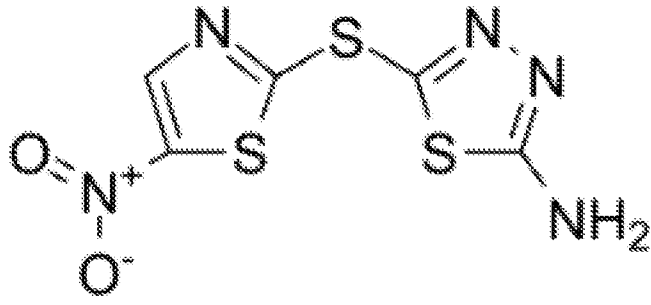


图 1

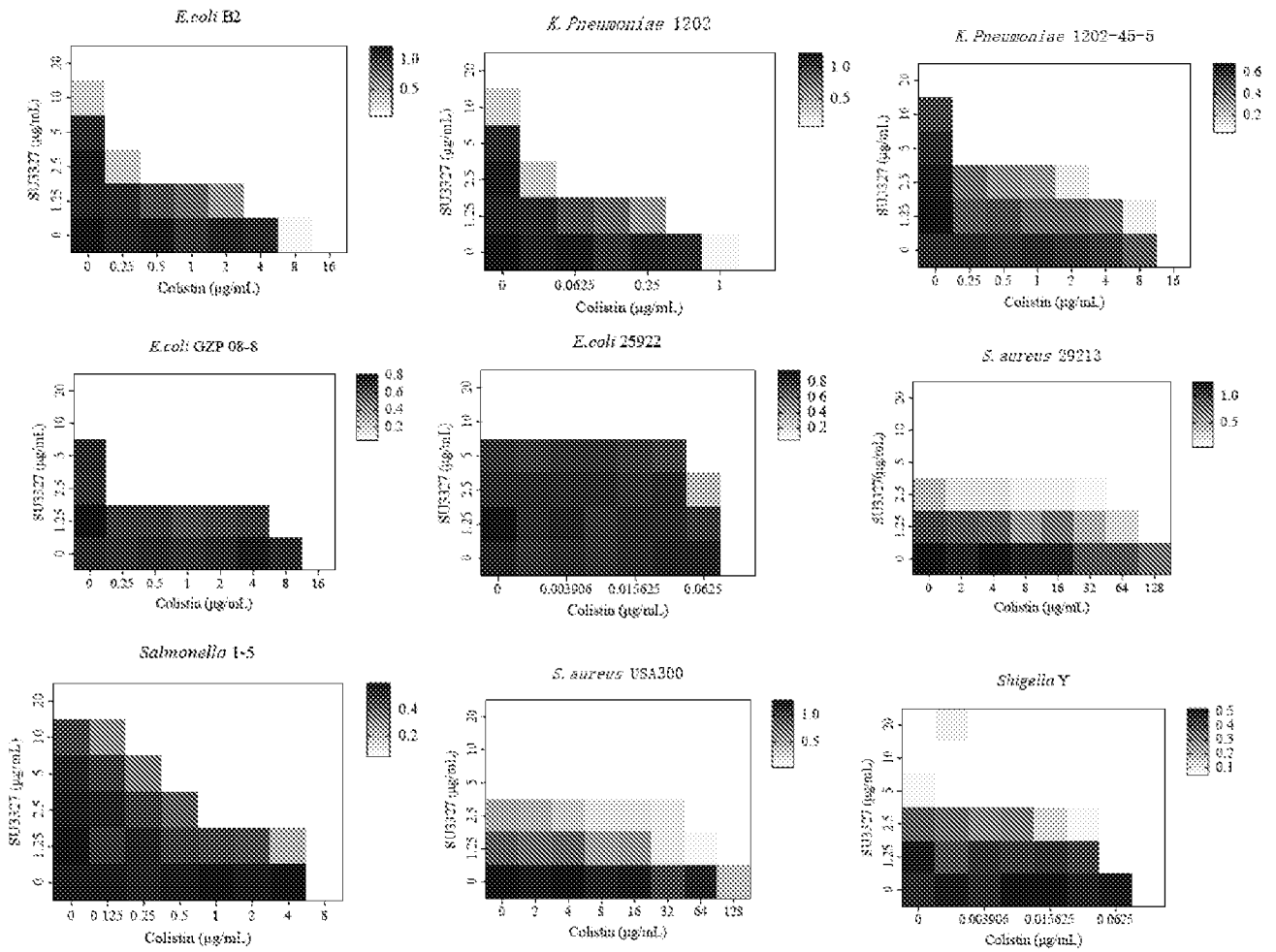


图 2

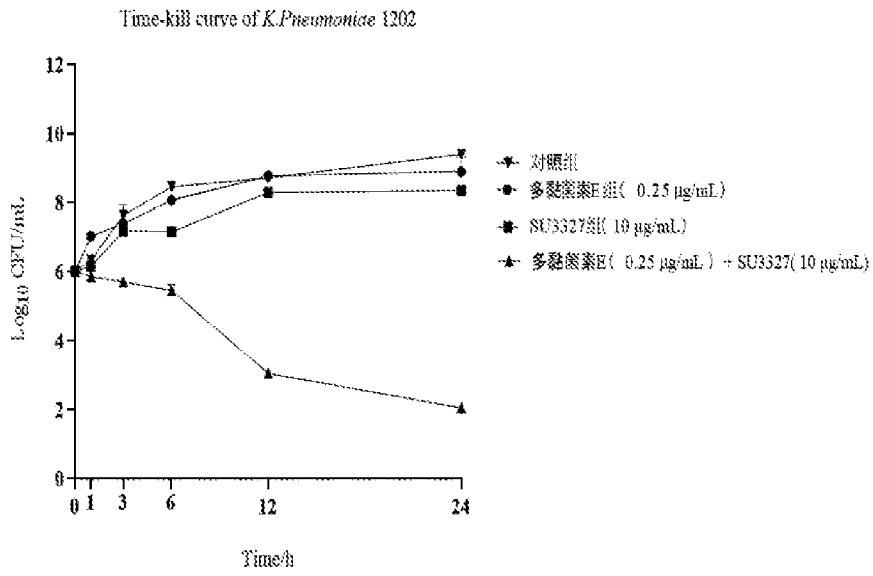


图 3A

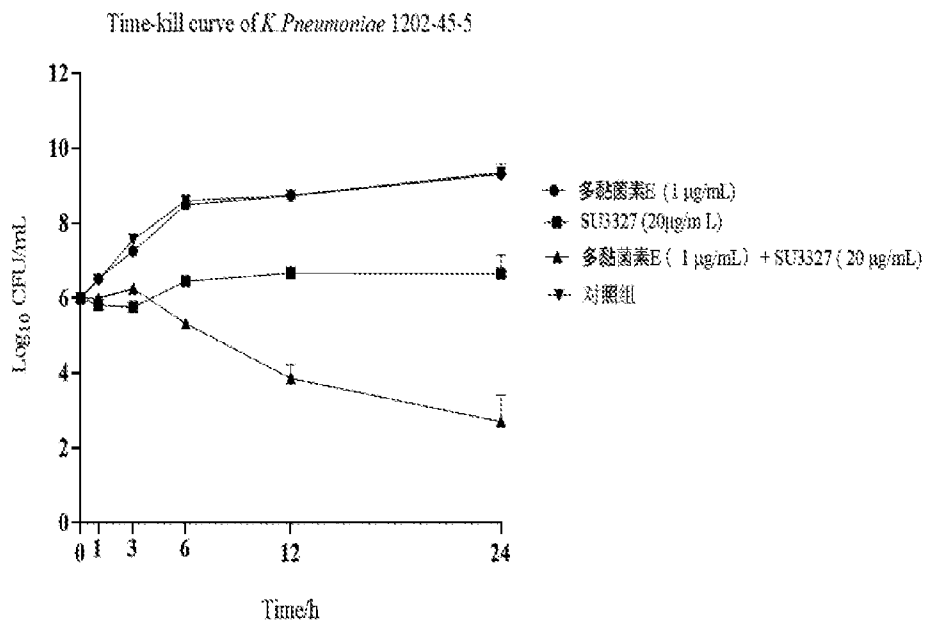


图 3B

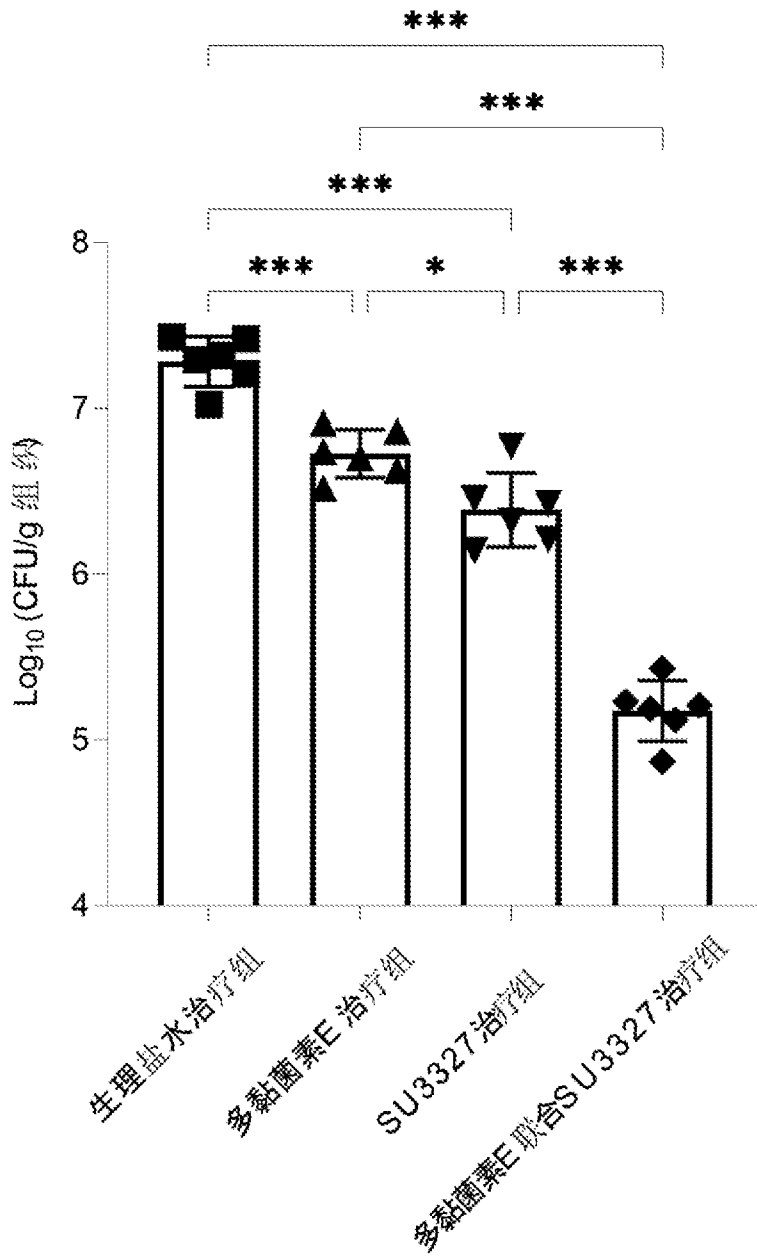


图 4

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2023/119768

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K31/433(2006.01)i; A61K38/12(2006.01)i; A61P31/04(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC:A61K A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNXTX; DWPI; ENTXTC; PUBMED; ELSEVIER; Patents; NCBI; VCN; Web of Science; STN; 厦门汉力信药业, 中国农业大学, 沈建忠, 代重山, 陈洪亮, SU3327, 海立信, 粘菌素, 黏菌素, 抗敌素, 可立斯丁, 菌, 灭菌, 抗菌, 抑菌, 杀菌, XIAMEN HANLIXIN, CHINA AGRICULTURAL UNIVERSITY, SHEN Jianzhong, DAI Chongshan, CHEN Hongliang, halicin, polymyxin, Colistin, Antibacterial, bacteriostatic, bactericidal, 1066-17-7, 40045-50-9

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	CN 116236479 A (XIAMEN HANLIXIN PHARMACEUTICAL CO., LTD. et al.) 09 June 2023 (2023-06-09) claims 1-11	1-11
A	CN 113491692 A (CHEN HONGLIANG) 12 October 2021 (2021-10-12) claims 1-17	1-11
A	CN 111773216 A (CHEN HONGLIANG) 16 October 2020 (2020-10-16) claims 1-10	1-11

 Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
 “D” document cited by the applicant in the international application
 “E” earlier application or patent but published on or after the international filing date
 “L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
 “O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
 “P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
 “X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
 “Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
 “&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

13 December 2023

Date of mailing of the international search report

15 December 2023

Name and mailing address of the ISA/CN

China National Intellectual Property Administration (ISA/
CN)
China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District,
Beijing 100088

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2023/119768

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
CN 116236479 A	09 June 2023	None	
CN 113491692 A	12 October 2021	None	
CN 111773216 A	16 October 2020	None	

<p>A. 主题的分类</p> <p>A61K31/433(2006.01)i; A61K38/12(2006.01)i; A61P31/04(2006.01)i</p> <p>按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类</p>														
<p>B. 检索领域</p> <p>检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)</p> <p>IPC:A61K A61P</p> <p>包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献</p> <p>在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))</p> <p>CNTEXT;DWPI;ENTXTC;PUBMED;ELSEVIER;Patentics;NCBI; VCN;Web of Science;STN:厦门汉力信药业, 中国农业大学, 沈建忠, 代重山, 陈洪亮, SU3327, 海立信, 粘菌素, 黏菌素, 抗敌素, 可立斯丁, 菌, 灭菌, 抗菌, 抑菌, 杀菌, XIAMEN HANLIXIN, CHINA AGRICULTURAL UNIVERSITY, SHEN Jianzhong, DAI Chongshan, CHEN Hongliang, halicin, polymyxin, Colistin, Antibacterial, bacteriostatic, bactericidal, 1066-17-7, 40045-50-9</p>														
<p>C. 相关文件</p> <table border="1" style="width:100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width:10%;">类型*</th> <th style="width:70%;">引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th style="width:20%;">相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>PX</td> <td>CN 116236479 A (厦门汉力信药业有限公司等) 2023年6月9日 (2023 - 06 - 09) 权利要求1-11</td> <td>1-11</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 113491692 A (陈洪亮) 2021年10月12日 (2021 - 10 - 12) 权利要求1-17</td> <td>1-11</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 111773216 A (陈洪亮) 2020年10月16日 (2020 - 10 - 16) 权利要求1-10</td> <td>1-11</td> </tr> </tbody> </table>			类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	PX	CN 116236479 A (厦门汉力信药业有限公司等) 2023年6月9日 (2023 - 06 - 09) 权利要求1-11	1-11	A	CN 113491692 A (陈洪亮) 2021年10月12日 (2021 - 10 - 12) 权利要求1-17	1-11	A	CN 111773216 A (陈洪亮) 2020年10月16日 (2020 - 10 - 16) 权利要求1-10	1-11
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求												
PX	CN 116236479 A (厦门汉力信药业有限公司等) 2023年6月9日 (2023 - 06 - 09) 权利要求1-11	1-11												
A	CN 113491692 A (陈洪亮) 2021年10月12日 (2021 - 10 - 12) 权利要求1-17	1-11												
A	CN 111773216 A (陈洪亮) 2020年10月16日 (2020 - 10 - 16) 权利要求1-10	1-11												
<p><input type="checkbox"/> 其余文件在C栏的续页中列出。</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。</p>														
<table style="width:100%;"> <tr> <td style="width:50%; vertical-align: top;"> <p>* 引用文件的具体类型:</p> <p>“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件</p> <p>“D” 申请人在国际申请中引证的文件</p> <p>“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利</p> <p>“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的)</p> <p>“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件</p> <p>“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件</p> </td> <td style="width:50%; vertical-align: top;"> <p>“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件</p> <p>“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性</p> <p>“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性</p> <p>“&” 同族专利的文件</p> </td> </tr> </table>			<p>* 引用文件的具体类型:</p> <p>“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件</p> <p>“D” 申请人在国际申请中引证的文件</p> <p>“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利</p> <p>“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的)</p> <p>“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件</p> <p>“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件</p>	<p>“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件</p> <p>“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性</p> <p>“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性</p> <p>“&” 同族专利的文件</p>										
<p>* 引用文件的具体类型:</p> <p>“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件</p> <p>“D” 申请人在国际申请中引证的文件</p> <p>“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利</p> <p>“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的)</p> <p>“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件</p> <p>“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件</p>	<p>“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件</p> <p>“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性</p> <p>“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性</p> <p>“&” 同族专利的文件</p>													
<p>国际检索实际完成的日期</p> <p style="text-align: center;">2023年12月13日</p>		<p>国际检索报告邮寄日期</p> <p style="text-align: center;">2023年12月15日</p>												
<p>ISA/CN的名称和邮寄地址</p> <p>中国国家知识产权局 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088</p>		<p>授权官员</p> <p style="text-align: center;">陈典</p> <p>电话号码 (+86) 0512-88996499</p>												

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2023/119768

检索报告引用的专利文件	公布日 (年/月/日)	同族专利	公布日 (年/月/日)
CN 116236479 A	2023年6月9日	无	
CN 113491692 A	2021年10月12日	无	
CN 111773216 A	2020年10月16日	无	