



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104994860 A

(43) 申请公布日 2015. 10. 21

(21) 申请号 201480007538. 3

A61K 31/4184(2006. 01)

(22) 申请日 2014. 02. 06

A61P 11/00(2006. 01)

(30) 优先权数据

61/761369 2013. 02. 06 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2015. 08. 05

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/GB2014/050354 2014. 02. 06

(87) PCT国际申请的公布数据

W02014/122468 EN 2014. 08. 14

(71) 申请人 阿斯利康(瑞典)有限公司

地址 瑞典南泰利耶

(72) 发明人 S. 达斯 J. 李 J.W. 穆顿

W. 尼克尔斯

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公

司 72001

代理人 周蓉 万雪松

(51) Int. Cl.

A61K 31/546(2006. 01)

权利要求书2页 说明书50页 附图14页

(54) 发明名称

用于治疗医院性肺炎的组合法

(57) 摘要

本发明涉及使用头孢他啶(第三代头孢菌素)和阿维巴坦(新型 β -内酰胺酶抑制剂)以及任选的一种或多种另外的治疗剂的组合治疗医院性肺炎的方法。

1. 治疗有需要的患者的医院性肺炎感染的方法,其包括向所述患者给药有效量的头孢他啶或其药学上可接受的盐与阿维巴坦或其药学上可接受的盐的组合。

2. 根据权利要求1所述的方法,其中,所述医院性肺炎感染由一种或多种表达一种或多种 β -内酰胺酶的病原体引起。

3. 根据权利要求1或2所述的方法,其中,所述医院性肺炎感染对作为单一疗法的头孢他啶不敏感。

4. 根据权利要求1-3中任一项所述的方法,其中,所述医院性肺炎感染是医院获得性肺炎。

5. 根据权利要求1-3中任一项所述的方法,其中,所述医院性肺炎感染是通风器获得性肺炎。

6. 根据权利要求1-5中任一项所述的方法,其进一步包括给药一种或多种另外的治疗剂。

7. 根据权利要求6所述的方法,其中,所述一种或多种另外的治疗剂选自抗菌剂、 β -内酰胺酶抑制剂和抗真菌剂。

8. 根据权利要求7所述的方法,其中,所述一种或多种另外的治疗剂是选自妥布霉素、左氧氟沙星、万古霉素、利奈唑胺、替吉环素和粘菌素的抗菌剂。

9. 根据权利要求1-8中任一项所述的方法,其中,所述头孢他啶与阿维巴坦的组合同时给药。

10. 根据权利要求1-8中任一项所述的方法,其中,所述头孢他啶与阿维巴坦的组合独立地配制并且共给药。

11. 根据权利要求1-10中任一项所述的方法,其中,所述头孢他啶与阿维巴坦的组合独立地配制并且相继给药。

12. 根据权利要求1-11中任一项所述的方法,其中,所述有效量的所述组合每剂包含约 2000mg 头孢他啶和约 500mg 阿维巴坦。

13. 根据权利要求1-12中任一项所述的方法,其中,所述有效量的所述组合约每8小时给药一次。

14. 根据权利要求1-12中任一项所述的方法,其中,所述有效量的所述组合约每12小时给药一次。

15. 根据权利要求13或14中任一项所述的方法,其中,所述有效量的所述组合由静脉内给药。

16. 根据权利要求15所述的方法,其中,历时约1-2小时静脉内给药所述有效量的所述组合。

17. 根据权利要求16所述的方法,其中,历时约2小时静脉内给药所述有效量的所述组合。

18. 根据权利要求16所述的方法,其中,历时约1小时静脉内给药所述有效量的所述组合。

19. 头孢他啶或其药学上可接受的盐与阿维巴坦或其药学上可接受的盐的组合,其用作药物。

20. 头孢他啶或其药学上可接受的盐与阿维巴坦或其药学上可接受的盐的组合,其用

于治疗医院性肺炎感染。

21. 根据权利要求 20 所述的组合,其中,所述医院性肺炎感染由一种或多种表达一种或多种 β -内酰胺酶的病原体引起。

22. 根据权利要求 20 所述的组合,其中,所述医院性肺炎感染对作为单一疗法的头孢他啶不敏感。

23. 根据权利要求 20-22 中任一项所述的组合,其中,所述医院性肺炎感染是医院获得性肺炎 (HAP)。

24. 根据权利要求 20-22 中任一项所述的组合,其中,所述医院性肺炎感染是通风器获得性肺炎 (VAP)。

25. 根据权利要求 20-24 中任一项所述的组合,其进一步包含一种或多种另外的治疗剂。

26. 根据权利要求 25 所述的组合,其中,所述另外的治疗剂选自抗菌剂、 β -内酰胺酶抑制剂和抗真菌剂。

27. 根据权利要求 26 所述的组合,其中,所述一种或更多种另外的治疗剂是选自妥布霉素、左氧氟沙星、万古霉素、利奈唑胺、替吉环素和粘菌素的抗菌剂。

28. 根据权利要求 20-27 中任一项所述的组合,其中,所述头孢他啶或其药学上可接受的盐与阿维巴坦或其药学上可接受的盐的组合同时给药。

29. 根据权利要求 20-27 中任一项所述的组合,其中,所述头孢他啶或其药学上可接受的盐与阿维巴坦或其药学上可接受的盐的组合独立地配制并且共给药。

30. 根据权利要求 20-27 中任一项所述的组合,其中,所述头孢他啶或其药学上可接受的盐与阿维巴坦或其药学上可接受的盐的组合独立地配制并且相继给药。

31. 根据权利要求 20-30 中任一项所述的组合,其中,所述组合每剂包含约 2000mg 头孢他啶或其药学上可接受的盐以及约 500mg 阿维巴坦或其药学上可接受的盐。

32. 根据权利要求 20-31 中任一项所述的组合,其中,所述组合约每 8 小时给药一次。

33. 根据权利要求 20-31 中任一项所述的组合,其中,所述组合约每 12 小时给药一次。

34. 根据权利要求 20-33 中任一项所述的组合,其中,所述组合由静脉内给药。

35. 根据权利要求 34 所述的组合,其中,历时约 1-2 小时静脉内给药所述组合。

36. 根据权利要求 35 所述的组合,其中,历时约 1 小时静脉内给药所述组合。

37. 根据权利要求 35 所述的组合,其中,历时约 2 小时静脉内给药所述组合。

用于治疗医院性肺炎的组合疗法

发明领域

[0001] 本发明涉及使用头孢他啶（第三代头孢菌素）和阿维巴坦（新型 β -内酰胺酶抑制剂）以及任选的一种或多种另外的治疗剂的组合治疗医院性肺炎的方法。

[0002] 发明背景

[0003] 国际微生物学和传染病联合会 (international microbiological and infectious disease community) 继续表示严重关切, 耐抗菌性的持续发展可能会导致目前可用的抗菌剂无效的细菌菌株。此类事件的结果可能具有相当大的发病率和死亡率。

[0004] 在对抗细菌感染的斗争中, β -内酰胺抗生素是重要的。 β -内酰胺是在其核心分子结构中都具有 β -内酰胺的一大类药物, 并且通常通过抑制细菌的细胞壁合成显示出对抗广谱革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌的效力。由于药物靶标没有真核类似物, 因此, 它们的毒性较低, 并且它们通常耐受良好。 β -内酰胺抗生素包括青霉素衍生物 (青霉素)、头孢菌素、单酰胺菌素和碳青霉烯。它们仍然属于可用于对抗细菌感染的最广泛开处方、安全和有效的药物。然而, 它们的效力受高度耐药感染菌株, 例如抗甲氧西林金黄色葡萄球菌 (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) (MRSA) 以及铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*)、鲍氏不动杆菌 (*Acinetobacter baumannii*)、大肠杆菌 (*Escherichia coli*)、肺炎克雷伯菌 (*Klebsiella pneumonia*) 和其它肠杆菌科 (*Enterobacteriaceae*) 的多重耐药 (MDR) 菌株限制。此类耐药细菌是患者发病率和死亡率的主要原因。Helfand, β -lactams Against Emerging ‘Superbugs’: Progress and Pitfalls, *Expert Rev. Clin. Pharmacol.* 1(4) :559-571(2008)。

[0005] 为帮助改善 β -内酰胺抗生素的效力, 已经开发一些 β -内酰胺酶抑制剂。然而, 在许多情况下, 现有的 β -内酰胺酶抑制剂不足以抗衡 β -内酰胺酶的不断增加的多样性。目前使用的三种最常见的丝氨酸 β -内酰胺酶抑制剂 - 克拉维酸、他唑巴坦和舒巴坦 - 仅对某些 A 类酶具有活性, 这严重限制了其效用。目前在临床试验中的较新的 β -内酰胺酶抑制剂, 例如阿维巴坦对 A 类酶和 C 类酶两者起作用, 对 D 类 β -内酰胺酶具有一些有限的效力。Bebrone 等人, *Current Challenges in Antimicrobial Chemotherapy: Focus on β -Lactamase Inhibition*, *Drugs*, 70(6) :651-679(2010)。

[0006] β -内酰胺抗生素, 单独或与 β -内酰胺酶抑制剂组合继续代表用于对抗疾病的抗菌剂的基本部分。革兰氏阴性感染的 β -内酰胺耐药性主要由 β -内酰胺酶活性引起; 并且对 β -内酰胺抗生素的显著依赖已经导致 β -内酰胺酶的多样化和增加流行。这些 β -内酰胺酶甚至对最新的 β -内酰胺抗生素也引起耐药性。Llarrull 等人, *The Future of Beta-Lactams*, *Current Opinion in Microbiology*, 13 :551-557(2010)。产广谱 β -内酰胺酶 (ESBL)、AmpC、KPC、NDM 和 OXA-48 的肠杆菌科以及鲍氏不动杆菌和铜绿假单胞菌是其中最重要的并且通常分离的医院病原体, 并且通常对许多类抗生素具有耐药性。D. M. Livermore 等人, *Activities of NX104 Combinations with Ceftazidime and Aztreonam Against Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae*, *Antimicrobial Agents Chemotherapy*, 55(2011), 第 390-394 页; S. Mushtaq 等人, *In Vitro Activity of*

Ceftazidime+NXL104 Against *Pseudomonas aeruginosa* and other Non-Fermenter; J. Antimicrobial Chemotherapy, 65(2010)2376-381; A. Endimiani 等人, In Vitro Activity of NXL104 in Combination with β -Lactams Against *Klebsiella pneumonia* Isolates Producing KPC Carbapenemases; Antimicrobial Agents Chemotherapy, 53(2009)3599-3601.

[0007] 医院性肺炎是指患者在入院后至少 48-72 小时在医院中感染的任何肺炎,并且包括医院获得性肺炎 (HAP) 和通风器相关性肺炎 (VAP)。在罹患医院性肺炎感染的患者中, HAP 占医院性肺炎患者的约 70%, 而其余约 30% 患有 VAP。在罹患 HAP 的患者中, 医院死亡率为 12-35% (Freire 等人, 2010; Chung 等人, 2011), 但实际比率通常与患者的基础病症相关。VAP 患者被认为是患病更严重的群体, 提及的归因死亡率为 33-50% (Am J Respir Crit Care Med, 2005, 171, 第 388 页)。

[0008] 在医院性肺炎中显著需要更有效地治疗医院性肺炎中最常见的病原体的首次治疗 (经验) 方案。病原体的确认花费长达 48 小时, 并且在一些临床背景 (例如 HAP) 中, 检出率相对较低 (约 60%), 这意味着在对病原体和 / 或耐药性可能性有怀疑下作出治疗选择。显著需要更有效地治疗医院性肺炎中最常见的病原体的经验治疗方案, 因为革兰氏阴性病原体的现有治疗方案对关键耐药性病原体的敏感性水平低于 80%。很少有效的经验药剂用于治疗严重的革兰氏阴性感染 (铜绿假单胞菌), 以及表达广谱 β -内酰胺酶 (ESBL) 或肺炎克雷伯菌碳青霉烯酶 (KPC) 的耐药性病原体。现有的经验治疗方案 (例如碳青霉烯、头孢菌素) 的效力的减小使得显著需要与既定治疗相比对更广谱的难治性和耐药性病原体具有活性的药剂, 例如头孢他啶-阿维巴坦 (CAZ-AVI) 组合。需要例如 CAZ-AVI 的新治疗方案用于经验使用, 以增加如果经验治疗不充分而处于较高的发病率和死亡率风险下的患者的治疗成功率。

[0009] 令人惊奇和意外地发现, CAZ-AVI 组合为医院性肺炎患者提供优异的治疗方案。尽管这个组合的体外谱显示有希望用于治疗负责引起医院性肺炎的主要细菌菌株, 但我们研究结果表明, 所述组合可以足够的量渗透到靶组织中, 以有效地治疗感染。

发明内容

[0010] 本发明涉及使用头孢他啶和阿维巴坦的组合, 任选地与一种或多种另外的治疗剂组合来治疗医院性肺炎, 包括 HAP 和 VAP。本发明还涉及治疗有需要的患者的医院性肺炎感染的方法, 其包括向所述患者给药有效量的头孢他啶或其药学上可接受的盐与阿维巴坦或其药学上可接受的盐的组合。在一个实施方案中, 这个组合进一步包括将所述组合与一种或多种另外的治疗剂一起给药。

[0011] 附图简述

[0012] 图 1. 与在感染和未感染的雌性 ICR 小鼠中观察到的血清暴露相比, 在人中每 8h 作为 2h 输注的 2000-500mg 头孢他啶-阿维巴坦的人模拟血清浓度-时间曲线。黑色线是人头孢他啶暴露, 黑色圆圈是感染小鼠的头孢他啶血清浓度, 黑色正方形是未感染小鼠的头孢他啶血清浓度, 虚线是人阿维巴坦暴露, 白色圆圈是感染小鼠的阿维巴坦血清浓度, 并且白色正方形是未感染小鼠的阿维巴坦血清浓度。

[0013] 图 2. 在感染和未感染小鼠中观察到的, 在人中每 8h 作为 2h 输注的 2000-500mg

头孢他啶-阿维巴坦的人模拟血清剂量后的上皮细胞衬液 (ELF) 浓度-时间曲线。在 A) 中, 黑色圆圈是感染的雌性 ICR 小鼠中的 ELF 头孢他啶浓度; 黑色正方形是未感染小鼠中的 ELF 头孢他啶浓度; 在 B) 中, 黑色三角形是感染小鼠中的 ELF 阿维巴坦浓度, 并且黑色菱形是未感染小鼠中的 ELF 阿维巴坦浓度。

[0014] 图 3. 与在感染的雌性 ICR 小鼠中观察到的相比, 在人中每 8h 作为 2h 输注的 2000-500mg 头孢他啶-阿维巴坦的人模拟血清剂量后的血清浓度-时间曲线。黑色线是人头孢他啶暴露, 黑色圆圈是小鼠中的头孢他啶血清浓度, 虚线是人阿维巴坦暴露, 并且白色三角形是小鼠中的阿维巴坦血清浓度。

[0015] 图 4. 在感染的雌性 ICR 小鼠中观察到的, 在人中每 8h 作为 2h 输注的 2000-500mg 头孢他啶-阿维巴坦的人模拟血清剂量后的上皮细胞衬液 (ELF) 浓度-时间曲线。黑色圆圈是小鼠中的头孢他啶 ELF 浓度, 并且黑色正方形是小鼠中的阿维巴坦 ELF 浓度。

[0016] 图 5. 在中性粒细胞减少性肺部感染模型中, 每 8 小时作为 2h 输注的 2000-500mg 头孢他啶-阿维巴坦的人模拟血清剂量对铜绿假单胞菌的功效以及相关 ELF $fT > MIC$ 。(CAZ-AVI 的 MIC 在各菌株名称旁边的括号中示出)。棒表示平均值 $\pm SD$ 。

[0017] 图 6. 在感染的雌性 ICR 小鼠中观察到的, 在人中每 8h 作为 2h 输注的 2000mg 头孢他啶的人模拟血清剂量后的血清浓度-时间曲线。黑色圆圈是小鼠中的头孢他啶血清浓度, 黑色正方形是小鼠中的头孢他啶 ELF 浓度。

[0018] 图 7. 在中性粒细胞减少性肺部感染模型中, 每 8 小时作为 2h 输注的 2000mg 头孢他啶的人模拟血清剂量对铜绿假单胞菌的功效。(CAZ 的 MIC 在各菌株名称旁边的括号中示出)。棒表示平均值 $\pm SD$ 。

[0019] 图 8. 在感染的雌性 ICR 小鼠中观察到的, 在产生定向 ELF $fT > MIC$ 的头孢他啶方案后的血清浓度-时间曲线。黑色圆圈是小鼠中的头孢他啶血清浓度, 黑色正方形是小鼠中的头孢他啶 ELF 浓度。

[0020] 图 9. 在中性粒细胞减少性肺部感染模型中, 定向 ELF $fT > MIC$ 的头孢他啶的人模拟血清剂量对铜绿假单胞菌的功效以及相关 ELF $fT > MIC$ 。(CAZ 的 MIC 在各菌株名称旁边的括号中示出)。棒表示平均值 $\pm SD$ 。

[0021] 图 10: 在用头孢他啶 q2h (每 2 小时给药一次) 治疗的大腿感染小鼠中阿维巴坦的暴露反应: 剂量分级。

[0022] 图 11: 对于 6 种铜绿假单胞菌菌株, 在用头孢他啶 q2h 治疗的大腿感染小鼠中阿维巴坦的暴露反应。

[0023] 图 12: 每 2 小时给药头孢他啶并且每 2 或 8 小时给药阿维巴坦以治疗肺部感染小鼠。

[0024] 图 13: 在用头孢他啶 q2h 治疗的肺部感染小鼠中阿维巴坦的暴露反应: 剂量分级。

[0025] 图 14: 对于 4 种铜绿假单胞菌菌株, 在用头孢他啶 q2h 治疗的肺部感染小鼠中阿维巴坦的暴露反应。

[0026] 发明详述

[0027] CAZ-AVI 组合对临床上重要的革兰氏阴性病原体 (例如, 铜绿假单胞菌和肠杆菌科, 包括肺炎克雷伯菌, 以及肠杆菌属), 包括通过 ESBL、KPC、AmpC 或 OXA-48 β -内酰胺酶的产生耐广谱头孢菌素、哌拉西林/他唑巴坦和碳青霉烯的那些, 显示显著活性。与护理标准

抗生素相比,CAZ-AVI 也对重要的局部革兰氏阴性病原体(例如铜绿假单胞菌和肠杆菌科,包括肺炎克雷伯菌),包括对常用抗生素具有耐药性的菌株,包括多重耐药菌株显示更高的敏感度。

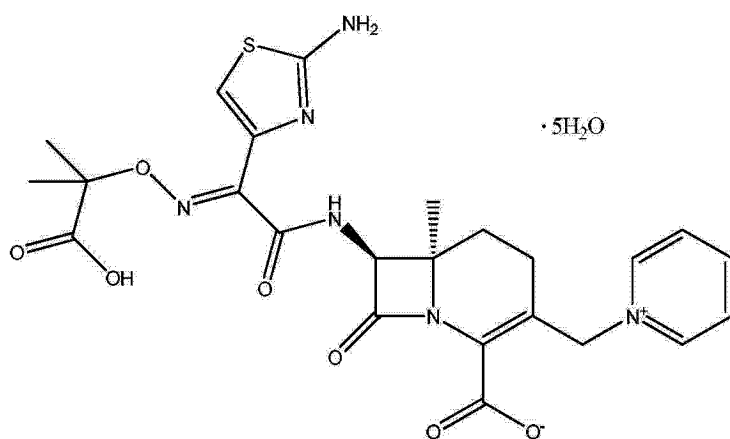
[0028] 这有力的抗菌谱可为大多数医院性肺炎感染患者提供潜在的有效覆盖,但只有当药物实际上可以临床有效水平穿透到感染部位才行。众多具有潜在相关病原体功效的药剂基于其不能以有效量到达感染部位(穿透上皮细胞衬液(ELF))而不能有效地治疗医院性肺炎感染。通常,必须显著增加药物载量,以将有效量的药物提供到感染部位,这增加了患者遭受的潜在副作用,这继而可导致对给药时间表的不遵从性或治疗的中断。不仅医院性肺炎的潜在治疗需要有效的 ELF 穿透,而且有效的药剂还需要在肺表面活性物质的存在下保留其抗菌活性,并且不会经历与可在整体治疗方案中共给药到患者的另外的治疗剂的不利的药物-药物相互作用。这些相当多的障碍中的任何一个都可使潜在有吸引力的抗菌剂不可用于治疗医院性肺炎感染,例如 HAP 和 VAP。

[0029] 我们惊奇和意外地发现,CAZ-AVI 组合具有成功治疗医院性感染所需的性质-它不仅提供针对引起医院性肺炎感染的主要病原体的有吸引力的性质,而且它还可有效地穿透 ELF 到达感染部位,在肺表面活性物质存在下不会失去功效,并且可成功地与用于这个患病严重的患者群体的总治疗计划的许多常见药剂一起给药。阿维巴坦穿透到人 ELF 的水平(约 30%),以及甚至在与用于治疗身体其它部位的感染相同的剂量水平下,肺表面活性物质不会影响阿维巴坦恢复头孢他啶在医院性肺炎感染部位的活性的功效的事实是令人惊奇的,并且代表用于 NP 患者的可能治疗方案的巨大进展。

[0030] 在本发明的一个方面中是治疗有需要的患者的医院性肺炎的方法,其包括向所述患者给药有效量的头孢他啶或其药学上可接受的盐以及阿维巴坦或其药学上可接受的盐。

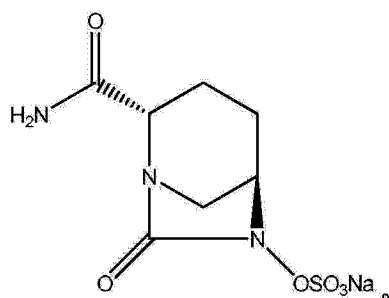
[0031] 头孢他啶是 (6R,7R)-7-[[(2Z)-2-(2-氨基-1,3-噻唑-4-基)-2-(1-羟基-2-甲基-1-氧代丙烷-2-基)氧基亚氨基乙酰基]氨基]-8-氧代-3-(吡啶-1-基)-5-硫杂-1-氮杂双环[4.2.0]辛-2-烯-2-甲酸盐五水合物。化学结构绘制如下:

[0032]



[0033] 阿维巴坦是 [(2S,5R)-2-氨基甲酰基-7-氧代-1,6-二氮杂双环[3.2.1]辛-6-基]硫酸一盐。化学结构绘制如下:

[0034]



[0035] 根据一些实施方案,本发明提供通过提供包含约 2000mg 头孢他啶和约 500mg 阿维巴坦的剂型治疗有需要的患者的医院性肺炎感染的方法。在这个实施方案中,剂型的给药构成给药一定剂量的组合。在这个实施方案的一个方面中,患者每 8 小时接受一次组合剂量。在这个实施方案的一个方面中,患者经由静脉内输注接受每个组合剂量。在这个实施方案的一个方面中,患者经由历时约 2 小时给药的静脉内输注接受每个组合剂量。在这个实施方案的一个方面中,患者经由历时约 1 小时给药的静脉内输注接受每个组合剂量。在这个实施方案的一个方面中,患者在单次输注中接受所述组合。在这个实施方案的一个方面中,患者在一系列输注中接受所述组合。

[0036] 在一些实施方案中,本发明提供基本上由头孢他啶和阿维巴坦或者其中任一组分或两种组分的药学上可接受的盐的组合组成的组合物。在此类组合物中,头孢他啶和阿维巴坦是唯一的活性成分。本文中所定义的活性成分是有有效治疗医院性肺炎感染的成分。此类组合物可具有无活性和/或不是抗菌剂、抗微生物剂的其它成分。此类成分的实例包括但不限于一种或更多种药学上可接受的载体、赋形剂、添加剂或可用于配制组合物的其它成分。

[0037] 本发明的一个实施方案是头孢他啶或其药学上可接受的盐以及阿维巴坦或其药学上可接受的盐的组合,其用作药物。

[0038] 本发明的一个实施方案是头孢他啶或其药学上可接受的盐以及阿维巴坦或其药学上可接受的盐的组合,其用于治疗医院性肺炎感染。在这个实施方案的一个方面中,所述组合用于治疗由一种或多种表达一种或多种 β -内酰胺酶的病原体引起的医院性肺炎感染。在这个实施方案的一个方面中,所述组合用于治疗对作为单一疗法的头孢他啶不敏感的医院性肺炎感染。在本发明的一个方面中,所述组合用于治疗作为医院获得性肺炎 (HAP) 的医院性肺炎感染。在本发明的一个方面中,所述组合用于治疗作为通风器获得性肺炎 (VAP) 的医院性肺炎感染。

[0039] 在本发明的一个实施方案中,所述头孢他啶或其药学上可接受的盐以及阿维巴坦或其药学上可接受的盐的组合进一步包含一种或更多种另外的治疗剂。在这个实施方案的一个方面中,所述组合进一步包含选自抗菌剂、 β -内酰胺酶抑制剂和抗真菌剂的另外的治疗剂。在这个实施方案的一个方面中,所述组合进一步包含选自妥布霉素、左氧氟沙星、万古霉素、利奈唑胺、替吉环素和粘菌素的抗菌剂。

[0040] 在本发明的一个实施方案中,所述头孢他啶或其药学上可接受的盐以及阿维巴坦或其药学上可接受的盐的组合同时给药。在本发明的另一个实施方案中,所述头孢他啶或其药学上可接受的盐以及阿维巴坦或其药学上可接受的盐的组合独立地配制并且共给药。在本发明的另一个实施方案中,所述头孢他啶或其药学上可接受的盐以及阿维巴坦或其药

学上可接受的盐的组合独立地配制并且相继给药。在本发明的任一上述实施方案中,所述组合每剂包含约 2000mg 头孢他啶或其药学上可接受的盐以及约 500mg 阿维巴坦或其药学上可接受的盐。在这些实施方案的一个方面中,所述组合约每 8 小时给药一次。在任一这些实施方案的一个方面中,所述组合约每 12 小时给药一次。

[0041] 在本发明的一个实施方案中,所述头孢他啶或其药学上可接受的盐以及阿维巴坦或其药学上可接受的盐的组合静脉内给药。在这个实施方案的一个方面中,所述组合历时约 1-2 小时静脉内给药。在这个实施方案的一个方面中,所述组合历时约 1 小时静脉内给药。在这个实施方案的不同方面中,所述组合历时约 2 小时静脉内给药。

[0042] 任何上述实施方案和实施方案的方面都可以彼此组合,以形成本发明的另外的预期实施方案。

[0043] 有许多标准参考文献描述了用于制备适于给药本发明的化合物的各种组合物的过程。潜在组合物和制剂的实例包含在例如以下文献中:Handbook of Pharmaceutical Excipients, American Pharmaceutical Association(现行版);Pharmaceutical Dosage Forms:Tablets(Lieberman, Lachman 和 Schwartz 编)现行版,由 Marcel Dekker 公司出版;以及 Remington's Pharmaceutical Sciences(Arthur Osol 编),1553-1593(现行版)。

[0044] 所述组合物可以是固体或液体,并以药物形式,例如素片或糖衣片剂、明胶胶囊剂、颗粒剂、栓剂、注射制剂、软膏剂、霜剂、凝胶剂呈现,并根据通常方法进行制备。可将活性成分与通常用于这些药物组合物中的赋形剂一起掺入,所述赋形剂例如滑石、阿拉伯胶、乳糖、淀粉、硬脂酸镁、可可脂、水性或非水性媒介物、动物或植物来源的脂肪物质、石蜡衍生物、二醇、各种润湿剂、分散剂或乳化剂以及防腐剂。在本发明的一个实施方案中,所述头孢他啶和阿维巴坦的组合的剂量静脉内给药。

[0045] 所述组合物可以意欲即兴溶解在合适的媒介物,例如无热原无菌水中的冷冻干产物的形式呈现。例如,所述组合物可以配制为固体剂型,例如干燥粉末,以在给药前用稀释剂重构。在示例性实施方案中,所述组合物可以配制为包含头孢他啶和阿维巴坦的组合的干燥粉末。所述干燥粉末可在给药前用无菌稀释剂,例如水重构,以形成重构溶液。重构溶液的 pH 可为约 4 至约 10。在其它实施方案中,重构溶液的 pH 可为约 5.6 至约 7。所述重构溶液可在给药前使用合适的溶液,例如输液剂进一步稀释。此类输液剂的实例是 0.9% 氯化钠(生理盐水)、5% 葡萄糖、2.5% 葡萄糖和 0.45% 氯化钠以及乳酸盐化的林格溶液。

[0046] 所述组合物可以配制为各种液体口服剂型,包括水性和非水性溶液、乳剂、混悬剂、糖浆剂和酏剂。此类剂型还可以含有本领域已知的合适的惰性稀释剂,例如水和本领域已知的合适的赋形剂,例如防腐剂、润湿剂、甜味剂、矫味剂以及用于乳化和/或悬浮本发明的化合物的药剂。本发明的组合物可例如以等渗无菌溶液的形式静脉内注射。其它制剂也是可能的。

[0047] 在一些实施方案中,所述方法可包括每 4 小时、每 6 小时、每 8 小时、每 12 小时、每 18 小时或每 24 小时给药一次头孢他啶和阿维巴坦的组合。例如,所述头孢他啶和阿维巴坦的组合可每 8 小时通过历时约 1 小时的输注来静脉内给药。例如,所述头孢他啶和阿维巴坦的组合可每 8 小时通过历时约 2 小时的输注来静脉内给药。在其它实施方案中,所述方法可包括通过连续或长期输注来给药所述头孢他啶和阿维巴坦的组合。例如,所述头孢他啶和阿维巴坦的组合可通过历时 3 小时、4 小时、5 小时、6 小时、7 小时、8 小时、9 小时、10

小时、11 小时或 12 小时的输注给药。在其它实施方案中,输注的持续时间可能会超过 12 小时,例如,13 小时、14 小时、15 小时、16 小时、17 小时、18 小时、19 小时、20 小时、21 小时或 22 小时、23 小时或 24 小时。

[0048] 治疗的持续时间可取决于感染的严重程度以及患者的临床和细菌学进展,以及患者可能具有的任何共病。在一些实施方案中,治疗可持续约 5-14 天。在其它实施方案中,治疗可持续约 5-7 天。例如,约 2000mg 头孢他啶和约 500mg 阿维巴坦的组合可每 8 小时给药一次,持续约 5-14 天。在其它实施方案中,约 2000mg 头孢他啶和约 500mg 阿维巴坦可每 8 小时给药一次,持续约 5-10 天。在其它实施方案中,约 2000mg 头孢他啶和约 500mg 阿维巴坦可每 8 小时给药一次,持续约 5-7 天。

[0049] 术语“约”或“大约”是指对于特定值,本领域技术人员确定在可接受的误差范围内,其部分取决于值是如何被测量或测定的,即,测量系统的限制。例如,“约”可以指按照本领域的惯例在 1 个或大于 1 个标准偏差内。或者,对于组合物,“约”可以指加或减至多 20%,优选至多 10%,更优选至多 5%的范围。或者,特别是对于生物系统或过程,所述术语可以指在值的一个数量级内,优选在值的 5 倍内,更优选在值的 2 倍内。在特定值于申请和权利要求中描述的情况下,除非另有说明,否则术语“约”是指在特定值的可接受的误差范围内。例如,当提及时间(例如,小时)时,本值($\pm 20\%$)更适用。因此,6 小时可以是例如 4.8 小时、5.5 小时、6.5 小时、7.2 小时以及通常的 6 小时。

[0050] 术语“治疗”是指以下中的一项或多项:减轻或缓解个体的细菌感染的至少一种症状;减轻或缓解个体所经历的细菌感染的表现的强度和/或持续时间;以及阻止、延缓发作(即,感染的临床表现之前的时间)和/或降低细菌感染发生或恶化的风险。

[0051] 应用于剂量或量的术语“治疗有效的”是指在给药到有需要的哺乳动物时足以实现期望活性的化合物或药物组合物的量。“有效量”是指当给药到患者用于治疗感染或疾病时足以实现此类治疗的本发明的化合物的量。“有效量”会根据以下因素而变化:活性成分、待治疗的感染、疾病或病症的状态以及其严重程度,以及待治疗的哺乳动物的年龄、体重、身体状况和反应性。

实施例

[0052] 实施例 1-CAZ-AVI 在肺表面活性物质中的体外效能

[0053] 细菌菌株

[0054] 在这项测试中使用的细菌菌株是安置在 AstraZeneca R&D Boston (AstraZeneca Research Collection, 称为 ARC) 的微生物培养物保藏的一部分。用于这项测试的一组细菌分离株包含 5 种 CLSI QC 参考菌株,并且其余是表达 β -内酰胺酶的最近的临床分离株或来自原代细菌筛选组的分离株。

[0055] 研究设计

[0056] MIC 值使用具有微小变化的 CLSI 液体培养基微量稀释法测定。制备储备化合物母板,并使用所述母板,使用 Perkin-Elmer MiniTrak™ 多位分配器将 2 倍系列药物稀释液的 2 μ L 等分试样点到 96 孔板的第 1-11 列。第 12 列不含药物并且作为生长对照。使用多通道 Finnpiptette®, 将 100 μ L (5×10^5 CFU/mL) 含有 0.1%、2.5%、5% 或 10% 肺表面活性物质的在 CAMHB 中的接种物体积加入 96 孔板的每个孔中。当与头孢他啶组合测试时,阿维

巴坦以 4 μ g/mL 的固定浓度进行测试。

[0057] 实验步骤

[0058] 根据 CLSI 准则使用液体培养基微量稀释法测定每种生物体 / 药物组合的最低抑制浓度 (MIC) 值。将每个测试组的推荐参考细菌菌株以及参考化合物纳入每个测试中。对于革兰氏阴性菌, 参考细菌菌株是大肠杆菌 ATCC 25922、大肠杆菌 ATCC 35218、肺炎克雷伯菌 ATCC 700603 和铜绿假单胞菌 ATCC 27853。金黄色葡萄球菌 ATCC 29213 是革兰氏阳性菌的参考细菌菌株。

[0059] 数据分析

[0060] 目测读取个别分离株的 MIC 值。将在肺表面活性物质中的每种化合物或组合的 MIC 与仅在 CAMHB 中测试的所述化合物或组合进行比较。

[0061] 结果

[0062] 在不同 CAMHB 浓度中测试的头孢他啶、阿维巴坦、头孢他啶 - 阿维巴坦和达托霉素的抗菌活性列于表 1 中。除 MIC 的偶然 (+/-) 2 倍瞬时变化以外, 对于头孢他啶、阿维巴坦或头孢他啶 - 阿维巴坦, 针对在至多 10% 肺表面活性物质中测试的任一种革兰氏阳性细菌菌株或革兰氏阴性细菌菌株, 未观察到 MIC 的增加。相反, 对所测试的金黄色葡萄球菌菌株, 达托霉素的 MIC 显著增加 (32 倍到 > 128 倍)。少至 1% 的肺表面活性物质即导致达托霉素金黄色葡萄球菌的 MIC 增加 32 倍。

[0063] 头孢他啶、头孢他啶 - 阿维巴坦和达托霉素对 CLSI QC 参考细菌菌株的 MIC 数据列在表 1 中。对于每种菌株, 头孢他啶、头孢他啶 - 阿维巴坦和达托霉素的 MIC 值在 CLSI QC 范围内。

[0064] 结论

[0065] 对于头孢他啶、阿维巴坦或头孢他啶 - 阿维巴坦, 在至多 10% 肺表面活性物质存在下, 针对所测试的任一种细菌菌株, 未观察到与表面活性物质相关的 MIC 增加。头孢他啶、阿维巴坦和头孢他啶 - 阿维巴坦在不同浓度的肺表面活性物质存在下的一致抗菌活性值得注意, 特别是对于认为可用于治疗呼吸道感染的药物。正如所料, 达托霉素阳性对照对于金黄色葡萄球菌的 MIC 值随着肺表面活性物质浓度的增加而显著增加。

[0066]

表 1 头孢他啶、阿维巴坦和头孢他啶-阿维巴坦在不同浓度的肺表面活性物质存在下的抗菌活性

种属	菌株代码	说明 (β-内酰胺酶含量)	表面活性物 质浓度 (%)		MIC µg/mL			
			ATCC	QC 菌株	头孢他啶	阿维巴坦	CAZ-AVI	达托霉素
金黄色葡萄球菌	ARC12	CLSI 29213	0	ATCC 29213	8	>64	8	0.5
		CLSI 29213	1	ATCC 29213	16	>64	8	16
金黄色葡萄球菌	ARC12	CLSI 29213	2.5	ATCC 29213	16	>64	16	64
		CLSI 29213	5	ATCC 29213	8	>64	8	>64
金黄色葡萄球菌	ARC12	CLSI 29213	10	ATCC 29213	8	>64	8	64
		MRSA, 耐喹诺酮	0	MRSA, 耐喹诺酮	>64	>64	>64	0.5
金黄色葡萄球菌	ARC516	MRSA, 耐喹诺酮	1	MRSA, 耐喹诺酮	>64	>64	>64	16
		MRSA, 耐喹诺酮	2.5	MRSA, 耐喹诺酮	>64	>64	>64	64
金黄色葡萄球菌	ARC516	MRSA, 耐喹诺酮	5	MRSA, 耐喹诺酮	>64	>64	>64	>64
		MRSA, 耐喹诺酮	10	MRSA, 耐喹诺酮	>64	>64	>64	>64

[0067]

[0068]

种属	菌株代码	说明 (β-内酰胺酶含量)	表面活性物 质浓度 (%)	MIC µg/mL 头孢他啶	阿维巴 坦	CAZ-AVI	达托霉 素
大肠杆菌	ARC4	CLSI QC 菌株, ATCC 25922	ATCC 0	0.25	32	0.25	--
大肠杆菌	ARC4	CLSI QC 菌株, ATCC 25922	ATCC 1	0.25	32	0.12	--
大肠杆菌	ARC4	CLSI QC 菌株, ATCC 25922	ATCC 2.5	0.25	32	0.12	--
大肠杆菌	ARC4	CLSI QC 菌株, ATCC 25922	ATCC 5	0.25	16	0.12	--
大肠杆菌	ARC4	CLSI QC 菌株, ATCC 25922	ATCC 10	0.25	16	0.12	--
大肠杆菌	ARC016	CLSI QC 菌株, ATCC 35218 (TEM-1)	ATCC 0	0.12	16	0.12	--
大肠杆菌	ARC016	CLSI QC 菌株, ATCC 35218 (TEM-1)	ATCC 1	0.12	16	0.12	--
大肠杆菌	ARC016	CLSI QC 菌株, ATCC 35218 (TEM-1)	ATCC 2.5	0.12	16	0.12	--
大肠杆菌	ARC016	CLSI QC 菌株, ATCC 35218 (TEM-1)	ATCC 5	0.12	16	0.12	--

[0069]

种属	菌株代码	说明 (β -内酰胺酶含量)	ATCC	表面活性物 质浓度 (%)	MIC $\mu\text{g/mL}$ 头孢他啶	阿维巴坦	CAZ-AVI	达托霉素
大肠杆菌	ARC016	CLSI QC 菌株, ATCC 35218		10	0.12	16	0.12	-
		(TEM-1)						
大肠杆菌	ARC523	W3110		0	0.5	>64	0.25	-
大肠杆菌	ARC523	W3110		1	0.5	>64	0.25	-
大肠杆菌	ARC523	W3110		2.5	0.25	>64	0.25	-
大肠杆菌	ARC523	W3110		5	0.5	>64	0.25	-
大肠杆菌	ARC523	W3110		10	0.5	>64	0.25	-
大肠杆菌	ARC3690	(CTX-M-15, SHV-12)		0	64	16	0.12	-
大肠杆菌	ARC3690	(CTX-M-15, SHV-12)		1	64	16	0.12	-
大肠杆菌	ARC3690	(CTX-M-15, SHV-12)		2.5	64	16	0.12	-
大肠杆菌	ARC3690	(CTX-M-15, SHV-12)		5	64	16	0.12	-
大肠杆菌	ARC3690	(CTX-M-15, SHV-12)		10	64	16	0.12	-
大肠杆菌	ARC3666	(CTX-M-15, OXA-1/30, SHV-31, TEM-1)		0	32	8	0.12	-
大肠杆菌	ARC3666	(CTX-M-15, OXA-1/30, SHV-31, TEM-1)		1	32	8	0.12	-
大肠杆菌	ARC3666	(CTX-M-15, OXA-1/30, SHV-31, TEM-1)		2.5	32	8	0.12	-
大肠杆菌	ARC3666	(CTX-M-15, OXA-1/30, SHV-31, TEM-1)		5	32	8	0.12	-
大肠杆菌	ARC3666	(CTX-M-15, OXA-1/30, SHV-31, TEM-1)		10	32	8	0.12	-

种属	菌株代码	说明 (β -内酰胺酶含量)	表面活性物质浓度 (%)	MIC $\mu\text{g/mL}$ 头孢他啶	阿维巴	CAZ-AVI	达托霉素
肺炎克雷伯菌	ARC561	CLSI QC 菌株, ATCC 700603	0	32	>64	0.5	--
		(SHV-18, OXA-2, OKP-6)					
肺炎克雷伯菌	ARC561	CLSI QC 菌株, ATCC 700603	1	32	>64	0.5	--
		(SHV-18, OXA-2, OKP-6)					
肺炎克雷伯菌	ARC561	CLSI QC 菌株, ATCC 700603	2.5	32	>64	0.5	--
		(SHV-18, OXA-2, OKP-6)					
肺炎克雷伯菌	ARC561	CLSI QC 菌株, ATCC 700603	5	32	64	0.5	--
		(SHV-18, OXA-2, OKP-6)					
肺炎克雷伯菌	ARC561	CLSI QC 菌株, ATCC 700603	10	32	64	0.5	--
		(SHV-18, OXA-2, OKP-6)					
肺炎克雷伯菌	ARC1865	原代筛选组		0.5	>64	0.25	--
		(未测序)					
肺炎克雷伯菌	ARC1865	原代筛选组	1	0.25	>64	0.25	--
		(未测序)					

[0070]

种属	菌株代码	说明 (β -内酰胺酶含量)	表面活性物 质浓度 (%)	MIC $\mu\text{g/mL}$ 头孢他啶	阿维巴 坦	CAZ-AVI	达托霉 素
肺炎克雷伯菌	ARC1865	原代筛选组 (未测序)	2.5	0.5	64	0.25	--
肺炎克雷伯菌	ARC1865	原代筛选组 (未测序)	5	0.5	>64	0.25	--
肺炎克雷伯菌	ARC1865	原代筛选组 (未测序)	10	0.5	>64	0.25	--
肺炎克雷伯菌	ARC2528	临床分离株 (未测序)	0	1	64	1	--
肺炎克雷伯菌	ARC2528	临床分离株 (未测序)	1	2	64	1	--
肺炎克雷伯菌	ARC2528	临床分离株 (未测序)	2.5	1	64	1	--
肺炎克雷伯菌	ARC2528	临床分离株 (未测序)	5	1	64	1	--
肺炎克雷伯菌	ARC2528	临床分离株 (未测序)	10	1	32	1	--
肺炎克雷伯菌	ARC2929	(KPC-3)	0	>64	8	0.5	--
肺炎克雷伯菌	ARC2929	(KPC-3)	1	>64	8	0.5	--
肺炎克雷伯菌	ARC2929	(KPC-3)	2.5	>64	8	0.5	--

[0071]

种属	菌株代码	说明 (β -内酰胺酶含量)	表面活性物 质浓度 (%)	MIC $\mu\text{g/mL}$ 头孢他啶	阿维巴 坦	CAZ-AVI	达托霉 素
肺炎克雷伯菌	ARC2929	(KPC-3)	5	>64	8	0.5	--
肺炎克雷伯菌	ARC2929	(KPC-3)	10	>64	8	0.5	--
肺炎克雷伯菌	ARC2945	(KPC-2, SHV-11, TEM-1, OXA-9)	0	64	8	0.12	--
肺炎克雷伯菌	ARC2945	(KPC-2, SHV-11, TEM-1, OXA-9)	1	64	8	0.12	--
肺炎克雷伯菌	ARC2945	(KPC-2, SHV-11, TEM-1, OXA-9)	2.5	64	8	0.12	--
肺炎克雷伯菌	ARC2945	(KPC-2, SHV-11, TEM-1, OXA-9)	5	64	8	0.12	--
肺炎克雷伯菌	ARC2945	(KPC-2, SHV-11, TEM-1, OXA-9)	10	64	8	0.12	--
肺炎克雷伯菌	ARC3713	(CTX-M-15, OXA-1/30, SHV-5, TEM-1)	0	>64	16	0.25	--
肺炎克雷伯菌	ARC3713	(CTX-M-15, OXA-1/30, SHV-5, TEM-1)	1	>64	16	0.25	--
肺炎克雷伯菌	ARC3713	(CTX-M-15, OXA-1/30, SHV-5, TEM-1)	2.5	>64	16	0.25	--
肺炎克雷伯菌	ARC3713	(CTX-M-15, OXA-1/30, SHV-5, TEM-1)	5	>64	16	0.25	--

[0072]

种属	菌株代码	说明 (β -内酰胺酶含量)	表面活性物 质浓度 (%)	MIC $\mu\text{g/mL}$ 头孢他啶	阿维巴 坦	CAZ-AVI	达托霉 素
肺炎克雷伯菌	ARC3713	(CTX-M-15, OXA-1/30, SHV-5, TEM-1)	10	>64	16	0.25	--
铜绿假单胞菌	ARC3	CLSI QC 菌株, ATCC 27853	0	1	>64	1	--
铜绿假单胞菌	ARC3	CLSI QC 菌株, ATCC 27853	1	1	>64	1	--
铜绿假单胞菌	ARC3	CLSI QC 菌株, ATCC 27853	2.5	2	>64	1	--
铜绿假单胞菌	ARC3	CLSI QC 菌株, ATCC 27853	5	1	>64	1	--
铜绿假单胞菌	ARC3	CLSI QC 菌株, ATCC 27853	10	2	>64	1	--
铜绿假单胞菌	ARC545	PAO1	0	1	>64	1	--
铜绿假单胞菌	ARC545	PAO1	1	1	>64	1	--
铜绿假单胞菌	ARC545	PAO1	2.5	1	>64	1	--
铜绿假单胞菌	ARC545	PAO1	5	1	>64	1	--
铜绿假单胞菌	ARC545	PAO1	10	1	>64	1	--

[0073]

种属	菌株代码	说明 (β -内酰胺酶含量)	表面活性物 质浓度 (%)	MIC $\mu\text{g/mL}$ 头孢他啶	阿维巴 坦	CAZ-AVI	达托霉 素
铜绿假单胞菌	ARC2761	临床分离株	0	2	>64	1	--
铜绿假单胞菌	ARC2761	临床分离株	1	2	>64	1	--
铜绿假单胞菌	ARC2761	临床分离株	2.5	1	>64	1	--
铜绿假单胞菌	ARC2761	临床分离株	5	2	>64	1	--
铜绿假单胞菌	ARC2761	临床分离株	10	2	>64	1	--
铜绿假单胞菌	ARC2532	临床分离株	0	2	>64	2	--
铜绿假单胞菌	ARC2532	临床分离株	1	2	>64	1	--
铜绿假单胞菌	ARC2532	临床分离株	2.5	2	>64	1	--
铜绿假单胞菌	ARC2532	临床分离株	5	2	>64	1	--
铜绿假单胞菌	ARC2532	临床分离株	10	2	>64	1	--
铜绿假单胞菌	ARC3508	(去阻遏 AmpC)	0	32	>64	2	--

[0074]

种属	菌株代码	说明 (β-内酰胺酶含量)	表面活性物 质浓度 (%)	MIC μg/mL 头孢他啶	阿维巴坦	CAZ-AVI	达托霉素
铜绿假单胞菌	ARC3508	(去阻遏 AmpC)	1	32	>64	2	—
铜绿假单胞菌	ARC3508	(去阻遏 AmpC)	2.5	32	>64	2	—
铜绿假单胞菌	ARC3508	(去阻遏 AmpC)	5	32	>64	2	—
铜绿假单胞菌	ARC3508	(去阻遏 AmpC)	10	32	>64	2	—

^a CAZ-AVI=头孢他啶-阿维巴坦

[0075] 实施例 2- 与其它常见共给药药剂的潜在药物相互作用

[0076] 使用棋盘测定法来测定（如果存在的话）头孢他啶和头孢他啶 - 阿维巴坦组合

与 6 种既定抗菌剂：妥布霉素、左氧氟沙星、万古霉素、利奈唑胺、替吉环素和粘菌素之间的相互作用。将在存在和不存在各种浓度的这些抗菌剂下头孢他啶和头孢他啶-阿维巴坦的 MIC 进行比较，以得到一系列分级抑制浓度指数 (FICI) 值。从每个组合的棋盘取平均 FICI，并根据公认的标准进行解释。在抗菌剂没有效果（万古霉素和利奈唑胺针对革兰氏阴性分离株；粘菌素针对革兰氏阳性分离株）的情况下，将头孢他啶和头孢他啶-阿维巴坦的单独 MIC 与所述 MIC 与这些抗菌剂的 $C_{\text{最大}}$ 和 $0.5 \times C_{\text{最大}}$ 的组合进行比较。包括 4 株高表达 AmpC、8 株产广谱 β -内酰胺酶 (ESBL)，包括 2 株产 CTX-M-15 和 5 株产 KPC 的肠杆菌科和铜绿假单胞菌，以及具有基础 MIC 的各物种的代表。还包括 3 株金黄色葡萄球菌和 3 株粪肠球菌。未观察到头孢他啶或头孢他啶-阿维巴坦与任何其它抗菌剂之间的协同或拮抗相互作用。根据这个实验得出以下结论：在微生物学上，头孢他啶和头孢他啶-阿维巴坦不与组合使用的任何测试药物不利地相互作用。

[0077] 所测试的菌株列于下表 2 中。

[0078] 表 2：

[0079]

分离株编号	生物体	表型	参考号(如果适用)
CAZ-AVI-02-075 - 01	阴沟肠杆菌	基础 MIC	
CAZ-AVI-02-075 - 02	阴沟肠杆菌	去阻遏 AmpC	
CAZ-AVI-02-075 - 03	阴沟肠杆菌	去阻遏 AmpC	
CAZ-AVI-02-075 - 04	大肠杆菌	基础 MIC	ATCC 25922
CAZ-AVI-02-075 - 05	大肠杆菌	CTX-M-15	
CAZ-AVI-02-075 - 06	大肠杆菌	TEM-4	
CAZ-AVI-02-075 - 07	大肠杆菌	SHV-12	
CAZ-AVI-02-075 - 08	大肠杆菌	SHV-2	
CAZ-AVI-02-075 - 09	肺炎克雷伯菌	基础 MIC	
CAZ-AVI-02-075 - 10	肺炎克雷伯菌	TEM-4	
CAZ-AVI-02-075 - 11	肺炎克雷伯菌	CTX-M-15	
CAZ-AVI-02-075 - 12	肺炎克雷伯菌	SHV-12	
CAZ-AVI-02-075 - 13	肺炎克雷伯菌	KPC-3	
CAZ-AVI-02-075 - 14	肺炎克雷伯菌	KPC-3	
CAZ-AVI-02-075 - 15	肺炎克雷伯菌	KPC-2	
CAZ-AVI-02-075 - 16	铜绿假单胞菌	基础 MIC	ATCC 27853
CAZ-AVI-02-075 - 17	铜绿假单胞菌	去阻遏 AmpC	
CAZ-AVI-02-075 - 18	铜绿假单胞菌	去阻遏 AmpC	
CAZ-AVI-02-075 - 19	铜绿假单胞菌	PER	
CAZ-AVI-02-075 - 20	铜绿假单胞菌	KPC-2	

[0080]

CAZ-AVI-02-075 - 21	铜绿假单胞菌	KPC-2	
CAZ-AVI-02-075 - 22	金黄色葡萄球菌	基础 MIC	ATCC 29213
CAZ-AVI-02-075 - 23	金黄色葡萄球菌	青霉素酶阳性	
CAZ-AVI-02-075 - 24	金黄色葡萄球菌	青霉素酶阳性	
CAZ-AVI-02-075 - 25	粪肠球菌	基础 MIC	
CAZ-AVI-02-075 - 26	粪肠球菌	基础 MIC	
CAZ-AVI-02-075 - 27	粪肠球菌	基础 MIC	

[0081] 药品的供应：

[0082] 妥布霉素、左氧氟沙星、万古霉素和粘菌素由 Sigma-Aldrich (Dorset, UK) 供应。利奈唑胺和替吉环素由 Molekula (Dorset, UK) 供应。

[0083] 体外敏感性测试方法：

[0084] 所有 MIC 测定，包括在棋盘测定法中进行的那些都在阳离子调节的 Mueller-Hinton 肉汤（从 Becton Dickinson, Oxford UK 购买）中进行。

[0085] 初始 MIC 数据通过 CLSI (2012b) 推荐的微量肉汤稀释法测定。棋盘根据由 Pillai 等人, Antimicrobial Combinations in Antibiotics, LABORATORY MEDICINE (Lorian 编, 第 5 版 (2005)) 第 365-440 页给出的方法, 按照标准微量肉汤稀释测试但是用组合药剂制备。

[0086] 以四倍于所需浓度的浓度制备储备溶液, 并连续稀释在阳离子调节的 Mueller-Hinton 肉汤中, 头孢他啶 - 阿维巴坦除外, 两种药剂均以八倍于所需浓度的浓度制备, 以补偿待进行的抗菌稀释。在整个研究中, 使用 4mg/L 的最终阿维巴坦浓度。将抗菌剂使用 Evolution III 液体处理系统组合到微量滴定板中。

[0087] 在针对万古霉素和利奈唑胺的革兰氏阴性分离株的情况下, 将头孢他啶和头孢他啶 - 阿维巴坦的单独 MIC 与在 $C_{\text{最大}}$ 和 $0.5 \times C_{\text{最大}}$ 的万古霉素 (Baxter Healthcare 公司, 2008) 和利奈唑胺 (MacGowan, Pharmacokinetics and Pharmacodynamic Profile of Linezolid in Healthy Volunteers and Patients with Gram-Positive Infections, JAC, 51 (Sup S2) :ii17-1125 (2003)) 存在下的 MIC 进行比较。

[0088] 在针对粘菌素的革兰氏阳性分离株的情况下, 将头孢他啶和头孢他啶 - 阿维巴坦的单独 MIC 与在 C_{max} 和 $0.5 \times C_{\text{max}}$ 的粘菌素（如 Couet 等人, Clinical Microbiology and Infection, Colistin Pharmacokinetics: the Fog is Lifting, CMI 18 :30-39 (2011) 中提及的）存在下的 MIC 进行比较。

[0089] 将棋盘板接种, 并根据 CLSI 准则 (2012b) 在 $35 \pm 2^\circ\text{C}$ 下在环境空气中培养 16-20h。第二天, MIC 记录为抑制所有可见生长所需的最低浓度或浓度组合。

[0090] 根据 Meletiadis 等人, Defining Fractional Inhibitory Concentration Index Cutoffs for Additive Interactions Based on Self-Drug Additive Combinations,

Monte Carlo Simulation Analysis and in vitro-in vivo Correlation Data for Antifungal Drug Combinations Against *Aspergillus fumigatus*, AAC 54 :602-09(2010) 的方法,从 MIC 数据计算每个棋盘格的 FICI。对应于 MIC 的每个孔的 FICI 通过下式计算:

$$[0091] \quad FICI = FIC_A + FIC_B = (C_A / MIC_A) + (C_B / MIC_B)$$

[0092] 其中, MIC_A 是组合抗菌剂的单独的 MIC, 并且 MIC_B 是头孢他啶或头孢他啶-阿维巴坦的单独的 MIC。 C_A 是组合中的组合药物的浓度, 并且 C_B 是组合中的头孢他啶或头孢他啶-阿维巴坦的浓度。

[0093] 由于每个棋盘给出了许多 FICI 值, 因此, 从所有值计算算术平均值以得到组合的两种药剂针对一种分离株的平均 FICI。平均 FICI 通过由 Odds (2003) 给出的以下标准进行解释, 所述标准现在是大多数期刊接受的标准:

[0094] ≤ 0.5 协同

[0095] $0.51-4$ 无差别

[0096] > 4 拮抗

[0097] 用于解释无差别相互作用的宽的 FICI 范围是由于二倍稀释方案中的 MIC 结果的固有变异性 (Pillai 等人, 2005)。Meletiadiis 等人, (2010) 建议, 大于 2 的 FICI 应解释为拮抗的, 但此类解释由于这种变异性应谨慎对待。

[0098] 结果

[0099] 总结的 MIC 数据示于表 3 中。总结的平均 FICI 数据示于表 4 中。FICI 计算不可能的情况下的单独和组合的头孢他啶 / 头孢他啶-阿维巴坦 MIC 比示于表 5 中。

[0100] 头孢他啶

[0101] 在可计算的情况下, 对于所有抗菌剂, 头孢他啶与第二药剂的组合的平均 FICI 范围为 0.64-1.99。

[0102] 在所有与头孢他啶的组合中, 没有平均 FICI 大于 2 的情况。

[0103] 在将 $C_{\text{最大}}$ 和 $0.5 \times C_{\text{最大}}$ 的万古霉素和利奈唑胺与头孢他啶组合针对革兰氏阴性分离株的情况下, 单独和组合的头孢他啶的 MIC 在所有情况下均保持在一次二倍稀释内。同样, 在将 $C_{\text{最大}}$ 和 $0.5 \times C_{\text{最大}}$ 的粘菌素与头孢他啶组合针对革兰氏阳性分离株的情况下, 单独和组合的头孢他啶的 MIC 在所有情况下均保持在一次二倍稀释内。

[0104] 头孢他啶-阿维巴坦

[0105] 头孢他啶-阿维巴坦与所有抗菌剂的组合的平均 FICI 范围为 0.72-2.13。

[0106] 头孢他啶-阿维巴坦与粘菌素的组合针对肺炎克雷伯菌 012 得到 2.13 的平均 FICI。对于与头孢他啶-阿维巴坦的所有组合, 这是平均 FICI 大于 2 的唯一实例。

[0107] 在将 $C_{\text{最大}}$ 和 $0.5 \times C_{\text{最大}}$ 的万古霉素和利奈唑胺与头孢他啶-阿维巴坦组合针对革兰氏阴性分离株的情况下, 单独和组合的头孢他啶-阿维巴坦的 MIC 在所有情况下均保持在一次二倍稀释内, 一种情况除外。在这种情况下 (大肠杆菌 08) 下, 头孢他啶-阿维巴坦的 MIC 在与 $C_{\text{最大}}$ 的万古霉素组合时从 0.12mg/L 降低到 0.03mg/L。在将 $C_{\text{最大}}$ 和 $0.5 \times C_{\text{最大}}$ 的粘菌素与头孢他啶-阿维巴坦组合针对革兰氏阳性分离株的情况下, 单独和组合的头孢他啶-阿维巴坦的 MIC 在所有情况下均保持在一次二倍稀释内。

[0108]

表 3: 所有抗菌剂针对所有分离株的总结的 MIC 数据。没有活性的抗菌剂-分离株组合未包括在内。

分离株 编号	物种	表型	MIC (mg/L)							
			头孢他啶	头孢他啶-阿 维巴坦	妥布霉素	左氧氟沙 星	万古霉素	利奈唑 胺	替吉 素	粘 菌 素
1	阴沟肠杆 菌	基础 MIC	0.12	0.06	0.25	0.03			0.5	0.25
2	阴沟肠杆 菌	去阻遏 AmpC	256	2	0.25	0.5			1	0.25
3	阴沟肠杆 菌	去阻遏 AmpC	128	1	0.25	0.06			0.5	0.25
4	大肠杆菌	基础 MIC	0.25	0.12	0.5	0.015			0.12	0.25
5	大肠杆菌	CTX-M-15	64	0.12	64	16			0.25	0.5
6	大肠杆菌	TEM-4	8	0.06	1	0.015			0.5	0.25
7	大肠杆菌	SHV-12	16	0.06	1	0.015			0.5	0.5
8	大肠杆菌	SHV-2	1	0.06	64	16			0.25	0.25
9	肺炎克雷 伯菌	基础 MIC	0.12	0.12	0.25	0.03			0.25	0.25
10	肺炎克雷 伯菌	TEM-4	32	0.25	4	0.03			0.25	0.5
11	肺炎克雷 伯菌	CTX-M-15	32	0.25	0.25	16			1	0.25
12	肺炎克雷 伯菌	SHV-12	64	0.12	0.25	0.03			0.5	0.25
13	肺炎克雷 伯菌	KPC-3	128	1	0.25	0.06			1	0.25

[0109]

14	肺炎克雷伯菌	KPC-3	16	0.25	8	16				0.25	0.25
15	肺炎克雷伯菌	KPC-2	64	2	0.12	0.06				0.5	0.25
16	铜绿假单胞菌	基础 MIC	1	1	0.25	1				16	1
17	铜绿假单胞菌	去阻遏 AmpC	8	8	0.5	8				32	0.5
18	铜绿假单胞菌	去阻遏 AmpC	64	4	0.5	0.12				32	1
19	铜绿假单胞菌	PER	128	16	1	16				32	1
20	铜绿假单胞菌	KPC-2	128	8	256	16				16	1
21	铜绿假单胞菌	KPC-2	64	2	8	32				2	2
22	金黄色葡萄球菌	基础 MIC	8	8	0.25	0.25			1	2	0.12
23	金黄色葡萄球菌	基础 MIC, 青霉素酶+	16	16	0.5	0.12			1	2	0.12
24	金黄色葡萄球菌	基础 MIC, 青霉素酶+	8	8	0.25	0.12			1	2	0.12
25	粪肠球菌	基础 MIC	>512	>512	16	0.5			1	1	0.06
26	粪肠球菌	基础 MIC	256	256	16	1			2	2	0.06
27	粪肠球菌	基础 MIC	256	256	8	1			2	2	0.06

[01 10]

表 4: 所有组合的平均 FICI 总结(在适当的情况下)。对于涉及没有活性的抗菌剂-分离株组合的测定, 未计算 FICI 值。

分离株编号	物种	表型	头孢他啶					头孢他啶-阿维巴坦							
			左					左							
			妥布霉素	氧氟沙星	万古霉素	利奈唑胺	替吉环素	粘菌素	妥布霉素	氧氟沙星	万古霉素	利奈唑胺	替吉环素	粘菌素	
1	阴沟肠杆菌	基础 MIC	1.28	1.33				1.24	1.25	1.03	1.17			1.24	1.48
2	阴沟肠杆菌	去阻遏 AmpC	1.17	0.99				0.93	1.54	1.28	1.24			1.67	1.17
3	阴沟肠杆菌	去阻遏 AmpC	0.73	0.81				1.05	1.12	0.98	1.23			0.99	1.21
4	大肠杆菌	基础 MIC	1.17	1.17				1.41	1.35	1.14	1.39			1.25	1.25
5	大肠杆菌	CTX-M-15	1.05	1.05				1.12	1.23	1.14	1.12			1.77	1.58
6	大肠杆菌	TEM-4	0.99	1.05				1.27	1.26	1.34	1.06			1.82	1.45
7	大肠杆菌	SHV-12	1.19	1.18				0.95	1.66	1.74	1.16			1.96	1.24
8	大肠杆菌	SHV-2	0.91	1.11				1.10	1.54	0.76	1.72			1.89	1.78
9	肺炎克雷伯菌	基础 MIC	1.55	0.96				1.16	1.25	1.13	1.65			1.12	1.17
10	肺炎克雷伯菌	TEM-4	0.64	1.13				1.32	0.85	1.35	1.26			1.60	1.60
11	肺炎克雷伯菌	CTX-M-15	1.05	1.21				0.94	1.54	1.04	1.21			1.60	1.48
12	肺炎克雷伯菌	SHV-12	1.04	1.16				0.97	1.40	1.31	1.66			1.14	2.13
13	肺炎克雷伯菌	KPC-3	1.12	1.24				1.99	1.26	1.05	1.21			1.79	1.23

[0111]

14	肺炎克雷伯菌	KPC-3	0.91	1.26			0.74	1.05	1.23	1.23					1.87	1.42
15	肺炎克雷伯菌	KPC-2	1.05	1.26			1.23	1.25	1.18	1.14					1.24	1.24
16	铜绿假单胞菌	基础 MIC	1.11	1.19			1.05	1.24	1.23	1.19					1.24	1.24
17	铜绿假单胞菌	去阻遏 AmpC	1.05	1.10			1.23	1.21	0.98	1.12					1.23	1.05
18	铜绿假单胞菌	去阻遏 AmpC	0.89	1.21			1.15	1.23	0.81	1.41					0.96	1.21
19	铜绿假单胞菌	PER	0.70	0.99			1.13	1.43	0.73	0.94					1.10	1.09
20	铜绿假单胞菌	KPC-2	0.97	1.13			1.40	1.21	0.91	1.13					1.26	1.21
21	铜绿假单胞菌	KPC-2	0.97	1.12			1.23	1.34	0.72	1.60					1.57	1.82
22	金黄色葡萄球菌	基础 MIC	1.60	0.98			1.23	1.43	1.13							
23	金黄色葡萄球菌	基础 MIC, 青霉素酶+	0.86	1.46			0.99	1.10	1.27						1.48	
24	金黄色葡萄球菌	基础 MIC, 青霉素酶+	0.84	1.21			1.24	1.32	1.11							
25	粪肠球菌	基础 MIC	0.84	1.15			1.63	1.72	1.19						1.14	
26	粪肠球菌	基础 MIC	0.74	1.20			1.18	0.99	0.73						1.05	
27	粪肠球菌	基础 MIC	0.99	0.78			1.38	1.64	1.16						1.08	

[0112]

[0113]

平均 FICI 范围低:	0.64	0.78	0.99	0.99	0.73	0.85	0.72	0.94	0.78	0.87	0.96	1.05
平均 FICI 范围高:	1.60	1.33	1.63	1.64	1.99	1.66	1.74	1.72	1.52	1.81	1.96	2.13

表 5: 针对革兰氏阴性分离株在存在和不存在 $0.5\times C_{\text{最大}}$ 和 $C_{\text{最大}}$ 的万古霉素和利奈唑胺下并且针对革兰氏阳性分离株在存在和不存在 $0.5\times C_{\text{最大}}$ 和 $C_{\text{最大}}$ 的粘菌素下, 头孢他啶/头孢他啶-阿维巴坦的 MIC 比。

分离株编号	物种	表型	头孢他啶				头孢他啶-阿维巴坦			
			万古霉素	利奈唑胺	粘菌素		万古霉素	利奈唑胺	粘菌素	
			$0.5\times C_{\text{最大}}$	$0.5\times C_{\text{最大}}$	$0.5\times C_{\text{最大}}$	$0.5\times C_{\text{最大}}$	$0.5\times C_{\text{最大}}$	$0.5\times C_{\text{最大}}$	$0.5\times C_{\text{最大}}$	$C_{\text{最大}}$
1	阴沟肠杆菌	基础 MIC	1	2	1		1	0.5	1	1
2	阴沟肠杆菌	去阻遏 AmpC	2	1	1		1	1	1	1
3	阴沟肠杆菌	去阻遏 AmpC	1	2	1		0.5	0.5	1	1
4	大肠杆菌	基础 MIC	1	1	1		1	0.5	1	
5	大肠杆菌	CTX-M-15	1	1	1		1	1	1	1
6	大肠杆菌	TEM-4	1	1	1		1	0.5	2	2
7	大肠杆菌	SHV-12	1	1	0.5		2	1	2	2
8	大肠杆菌	SHV-2	1	2	1		0.5	0.25	2	1
9	肺炎克雷伯菌	基础 MIC	2	1	1		1	0.5	1	1
10	肺炎克雷伯菌	TEM-4	1	2	1		1	1	1	1
11	肺炎克雷伯菌	CTX-M-15	2	2	1	0.5	1	1	1	1
12	肺炎克雷伯菌	SHV-12	1	1	1	1	1	1	1	1

[0114]

[illegible]

[01 15]

肺处置 (pulmonary disposition)。然后, 使用中性粒细胞减少性肺部感染模型进行头孢他啶和头孢他啶-阿维巴坦针对铜绿假单胞菌分离株的功效研究。在感染小鼠与未感染小鼠之间, 在血清或 ELF 中未观察到药代动力学差异。使用作为 2h 输注的 2000mg 头孢他啶和 500mg 阿维巴坦的人模拟血清剂量, 在 $32 \mu\text{g/mL}$ 的 MIC 下观察到针对这些分离株的最大活性, 其中对于上部 95% 置信区间, $\text{ELF } fT > \text{MIC} \geq 19\%$ 。给定头孢他啶-阿维巴坦的 MIC_{90} 为 $8 \mu\text{g/mL}$, 对于很少分离株, MIC 更高, 甚至更少分离株能够在鼠类肺部感染模型内生长。因此, 进行头孢他啶定向 ELF $fT > \text{MIC}$ 研究, 并针对 $32 \mu\text{g/mL}$ 的 MIC 显示活性, 其中 ELF $fT > \text{MIC}$ 为 12%。

[0118] 中性粒细胞减少性肺部感染模型

[0119] 体重约 25g 的无病原体的雌性 ICR 小鼠从 Harlan Sprague Dawley 公司 (Indianapolis, IN) 获得, 并在所有这些实验中使用。动物按照国家研究委员会 (National Research Council) 的建议进行喂养和使用, 并随意提供食物和水。通过分别在接种前 1 天和 4 天腹膜内注射 100mg/kg 和 250mg/kg 环磷酰胺 (Cytosan®; Bristol-Myers Squibb, Princeton, NJ) 使小鼠呈现中性粒细胞减少。在接种前 3 天, 还给小鼠单次腹膜内注射 5mg/kg 硝酸铯酞。这产生可预测程度的肾损害以减缓药物清除。在抗微生物治疗开始前 2 小时, 将小鼠使用异氟烷 (在 100% 氧气载体中的 2.5% v/v) 轻度麻醉, 直到目视检查时呼吸速率降低。通过滴注 $0.05\text{mL } 10^7\text{CFU}$ 测试分离株的接种物诱发肺炎, 所述接种物悬浮在生理盐水中的 3% 粘蛋白中。当小鼠被麻醉时, 将接种物递送到动物的口腔中, 阻塞鼻孔并使小鼠保持垂直位。当动物开始自发呼吸时, 细菌被吸入肺中。在富氧室中从麻醉完全恢复之后, 将接种的小鼠随机分到对照组 (0 小时和 24 小时) 和治疗组 (CAZ 和 CAZ-AVI) 中。

[0120] 头孢他啶-阿维巴坦的上皮细胞衬液 (ELF) 浓度的表征

[0121] 在这些研究中, 我们使用上文所述的先前确定的给药方案。在感染小鼠中进行验证性血清药代动力学研究。对于这些研究, 用上述计算出的方案给感染的中性粒细胞减少性小鼠给药, 并在整个 24 小时期间在多个时间点使一组六只小鼠安乐死, 以验证目标暴露。通过心脏穿刺收集血液, 并将血清样品储存在 -80°C 下, 直至分析。

[0122] 进行药代动力学研究以描述感染小鼠中的上皮细胞衬液浓度。对于这些研究, 用上述计算出的方案给感染的中性粒细胞减少性小鼠给药, 并在整个第三给药阶段 (即 16-24h) 期间在多个时间点使一组六只小鼠安乐死。在安乐死后, 如上所述收集血清和 BAL 样品。将血清和 BAL 样品储存在 -80°C 下, 直至分析。使用 BAL 浓度-时间曲线, 计算包括上部 95% 置信区间的 ELF $fT > \text{MIC}$ 。

[0123] 头孢他啶的上皮细胞衬液 (ELF) 浓度的表征

[0124] 我们在小鼠中使用先前确定的模拟在每 8 小时作为 2 小时输注 (8) 给予 2000mg 头孢他啶的人中观察到的血清 $fT > \text{MIC}$ 的给药方案。在感染小鼠中进行验证性药代动力学研究, 并根据所得到的浓度-时间曲线进行药效学分析和 ELF $fT > \text{MIC}$ 评估。对于这些研究, 用上述计算出的方案给感染的中性粒细胞减少性小鼠给药, 并在整个第三给药间隔 (即 16-24h) 期间在多个时间点使一组六只小鼠安乐死, 以验证目标暴露。

[0125] 进行药代动力学研究以描述感染小鼠中的上皮细胞衬液浓度。对于这些研究, 用上述计算出的方案给感染的中性粒细胞减少性小鼠给药, 并在整个第三给药阶段 (即 16-24h) 期间在多个时间点使一组六只小鼠安乐死。在安乐死后, 如上所述收集血清和 BAL

样品。将血清和 BAL 样品储存在 -80°C 下,直至分析。使用 BAL 浓度 - 时间曲线,计算包括上部 95% 置信区间的 ELF $\text{fT} > \text{MIC}$ 。

[0126] 用于定向 ELF $\text{fT} > \text{MIC}$ 研究的头孢他啶给药方案的确定

[0127] 在监测研究中已经观察到,头孢他啶 - 阿维巴坦对铜绿假单胞菌的 MIC_{90} 为 $8 \mu\text{g/mL}$ (10-12)。鉴于此,很少分离株具有更高 MIC,在鼠类肺部感染模型内生长的分离株数量甚至更少。以前的文献还发现,推导出的头孢他啶 - 阿维巴坦对铜绿假单胞菌的血液 $\text{fT} > \text{MIC}$ 功效目标与头孢他啶单一疗法以及其它头孢菌素获得的血液 $\text{fT} > \text{MIC}$ 功效目标充分相关。鉴于头孢他啶的相对 MIC 很容易 $\geq 32 \mu\text{g/mL}$,我们计划使用上述人化的头孢他啶方案以进一步深入了解功效与细菌生长之间的药效学断裂。在实验过程中观察到,ELF $\text{fT} > \text{MIC}$ 显著超过预期,并且产生的 ELF $\text{fT} > \text{MIC}$ 不能使我们区分对于功效所需要的 $\text{fT} > \text{MIC}$ 。因此,进行这些研究以设计导致足够低的 ELF $\text{fT} > \text{MIC}$,以便我们能够观察肺部感染模型内的功效损失的在小鼠中的方案。在整个给药期间降低上述以前的人化方案的剂量,并进行进一步药代动力学研究。在这些研究中,历时 24h 向小鼠给药头孢他啶方案,并在三个间隔中的最后一个间隔期间 (即 16-24h) 取样。使小鼠安乐死,并在预定时间如上所述收集血清和 BAL 样品。

[0128] 体内功效:头孢他啶 - 阿维巴坦方案

[0129] 对于 28 株铜绿假单胞菌分离株中的每一株,从开始感染后 2 小时开始向各组小鼠给药头孢他啶 - 阿维巴坦方案。所有剂量均作为 0.2mL 皮下注射给药,并且由三个 8 小时给药间隔 (即 24 小时) 组成。另一组小鼠以与治疗方案相同的体积、途径和频率给药生理盐水以作为对照动物。在治疗开始后 24 小时从所有动物收获肺;未能存活 24 小时的小鼠在断气时收获。所有研究小鼠的收获步骤以通过 CO_2 暴露安乐死开始,随后颈椎脱位。处死后,将肺取出,并单独在生理盐水中制匀浆。将肺匀浆的连续稀释液铺板在具有 5% 羊血的胰蛋白酶解酪蛋白大豆琼脂上用于 CFU 测定。除上文提到的治疗组和对照组以外,在给药开始时收获另一组 6 只感染的未治疗的小鼠,并作为 0h 对照。指定为细菌密度的变化的功效计算为 24h 后对于治疗小鼠获得的 $\log_{10}$ 细菌 CFU 从在 0h 对照动物中观察到的起始密度的变化。耐药性的产生也通过将匀浆的直接接种物铺板到含有 $32-4 \mu\text{g/mL}$ 头孢他啶 - 阿维巴坦的板上来进行测试。

[0130] 体内功效:头孢他啶方案

[0131] 针对先前描述的这种头孢他啶方案 (8) 对 9 株铜绿假单胞菌分离株进行测试。从开始感染后 2 小时开始向各组小鼠给药头孢他啶方案。所有剂量均作为 0.2mL 皮下注射给药,并且由三个 8 小时给药间隔 (即 24 小时) 组成。另一组小鼠以与所述治疗方案相同的体积、途径和频率给药生理盐水以作为对照动物。来自每只动物的肺的收获和处理如上文所述进行,并且功效定义为细菌密度的变化,其计算为 24h 后对于治疗小鼠获得的 $\log_{10}$ 细菌 CFU 从在 0h 对照动物中观察到的起始密度的变化。

[0132] 体内功效:头孢他啶定向 ELF $\text{fT} > \text{MIC}$ 研究

[0133] 对于这些研究,针对 CAZ 方案在获得特定 ELF $\text{fT} > \text{MIC}$ 的小鼠中对 9 株铜绿假单胞菌分离株进行评价。在接种测试生物体后 2 小时开始给药,并且所有剂量均作为 0.2mL 皮下注射给药,并且由三个 8 小时给药间隔 (即 24 小时) 组成。另一组小鼠以与治疗方案相同的体积、途径和频率给药生理盐水以作为对照动物。所有研究小鼠的收获步骤以通过

CO₂暴露安乐死开始,随后颈椎脱位。处死后,将肺取出,并分别在生理盐水中制匀浆。将肺匀浆的连续稀释液铺板在具有 5%羊血的胰蛋白酶解酪蛋白大豆琼脂上用于 CFU 测定。除上文提到的治疗组和对照组以外,在给药开始时收获另一组 6 只感染的未治疗的小鼠,并作为 0h 对照。指定为细菌密度的变化的功效计算为 24h 后对于治疗小鼠获得的 log₁₀细菌 CFU 从在 0h 对照动物中观察到的起始密度的变化。

[0134] 抗菌剂:

[0135] 市售头孢他啶 (Fortaz®, 批号:L716, GlaxoSmithKline Research Triangle Park, NC, USA) 从哈特福特医院药学系 (Hartford Hospital Pharmacy Department) 获得,并且用于所有的体内研究。分析级阿维巴坦由 AstraZeneca Pharmaceuticals (Waltham, MA, USA) 制备。将头孢他啶的临床小瓶如处方信息中所述进行重构,并且视需要进行稀释以达到期望的浓度;称取足以达到所需浓度的量的分析级阿维巴坦粉末,并在即将使用之前进行重构。

[0136] 结果

[0137] 细菌分离株

[0138] 头孢他啶和头孢他啶-阿维巴坦对于功效研究中所包括的 28 株分离株的 MIC 示于表 6 中。

[0139] 表 6. 在体内功效研究过程中使用的 29 株革兰氏阴性分离株的表型数据。

[0140]

铜绿假单胞菌 CAIRD #	MIC, µg/mL		研究		
	CAZ-AVI	CAZ	CAZ	CAZ <i>fT</i> >MIC	CAZ-AVI
PSA 22	4	64	x		x
PSA 971	4	16			x
PSA 1383	4	64		x	x
PSA 1384	4	64		x	x
PSA 37-8	4	64	x		x
PSA 856	8	8			x
PSA 1382	8	128		x	x
PSA 1386	8	128		x	x
PSA 1387	8	32		x	x
PSA 1388	8	128		x	x
PSA 1389	8	64		x	x
PSA 4-32	8	32	x		x
PSA 4-39	8	32			x
PSA 2-69	8	64			x
PSA 8-16	8	64	x		X
PSA 24-2	8	32			X
PSA 28-19	8	128	x		X
PSA 968	16	32		x	X
PSA 1391	16	128			X
PSA 1394	16	64		x	X
PSA 4-36	16	64	x		x
PSA 4-84	16	64	x		x
PSA 1-25	16	128	x		x
PSA 1-29	16	32			x
PSA 3-9	16	>128	x		x
PSA 11-54	32	32			x
PSA 7-6	32	128			x

[0141]

PSA 14-28	64	128			x
-----------	----	-----	--	--	---

CAZ: 头孢他啶; CAZ-AVI: 头孢他啶-阿维巴坦; *fT*>MIC: 定向 ELF *fT*>MIC 研究。

[0142] 宿主感染状况对药代动力学性质的影响的测定

[0143] 在感染小鼠和未感染小鼠中在体内测定的头孢他啶-阿维巴坦的游离药物血清和 ELF 浓度-时间曲线示于图 1 和图 2 中。如表 7 中所述,对于感染小鼠和未感染小鼠,穿透率彼此相似。此外,在感染小鼠与未感染小鼠之间,所计算的药效学原理 $fT > MIC$ 相当(表 8)。

[0144] 表 7. 与感染小鼠和未感染小鼠中的血清浓度相比,在第三个给药间隔(即 16-24h)中头孢他啶和阿维巴坦的上皮细胞衬液(ELF)点穿透率。

[0145] 头孢他啶和阿维巴坦的 ELF 点穿透率

[0146]

时间 (h)	头孢他啶-感染的 穿透率	头孢他啶-未感染的 穿透率
16	2.13	1.02
18.5	0.8	0.8
22	0.3	0.51
24	0.95	0.64
时间 (h)	阿维巴坦-感染的 穿透率	阿维巴坦-未感染的 穿透率
16	0.59	0.86
18.5	0.66	0.74
22	0.69	0.93
24	0.8	0.95

[0147] 表 8. 与在感染小鼠和未感染小鼠中所观察到的相比,在人中每 8h 作为 2h 输注的 2000-500mg 头孢他啶-阿维巴坦的人模拟血清剂量后,头孢他啶和阿维巴坦的上皮细胞衬液(ELF)和血清药效学估计。

[0148] 头孢他啶和阿维巴坦的药效学估计

[0149]

头孢他啶-感染的 头孢他啶-未感染的				
$fT > MIC$	ELF	血清	ELF	血清
4	100%	100%	100%	100%
8	88%	88%	97%	100%
16	63%	75%	63%	78%
32	0%	50%	34%	62%
64	0%	0%	0%	0%
阿维巴坦-感染的 阿维巴坦-未感染的				
$fT > MIC$	ELF	血清	ELF	血清
1	84%	88%	88%	88%
2	50%	56%	75%	75%
4	3%	34%	19%	19%
8	0%	0%	0%	0%

[0150] 头孢他啶 - 阿维巴坦的上皮细胞衬液 (ELF) 浓度的表征

[0151] 在体内测定的头孢他啶 - 阿维巴坦的游离药物血清药代动力学曲线示于图 3 中。从这些图可清楚, 鼠类血清暴露曲线类似于在人中观察到的那些, 重要的是, 在所测试的 MIC 范围内, 这些方案在血清中达成的所有 $fT > MIC$ 相当。在第三给药间隔中的 ELF 浓度示于图 4 中。从这些数据确定针对一系列 MIC 的 $fT > MIC$ 值。平均值和上部 95% 置信区间描述于图 5 中。

[0152] 头孢他啶的上皮细胞衬液 (ELF) 浓度的表征

[0153] 在体内测定的头孢他啶的游离药物血清和 ELF 药代动力学曲线示于图 6 中。在研究进行过程中, 确定这种方案不会在 ELF 内产生足以观察功效断裂的范围的 $fT > MIC$ 。因此, 表 9 和图 7 中所描述和所绘的功效数据并不用于任何药效学测定。

[0154] 表 9. 在中性粒细胞减少性肺部感染模型中使用头孢他啶方案的体内功效研究的结果。*0h 对照数据代表开始给药时的细菌密度。

[0155]

分离株编号	组	时间点(h)	log CFU*的变化		肺编号
			平均值	SD	
PSA 22	对照	0	5.99*	0.11	4
	对照	24	9.15	0.02	4
	CAZ	24	4.83	0.46	4
PSA 37-8	对照	0	6.02*	0.28	10
	对照	24	8.26	0.15	9
	CAZ	24	3.8	0.54	9
PSA 4-32	对照	0	5.56*	0.16	4
	对照	24	9.34	0.14	4
	CAZ	24	3.57	0.24	4
PSA 8-16	对照	0	5.93*	0.15	4
	对照	24	9.94	0.18	5
	CAZ	24	5.38	0.64	4
PSA 28-19	对照	0	6.46*	0.2	4
	对照	24	9.8	0.16	5
	CAZ	24	5.07	0.24	4
PSA 4-36	对照	0	6.53*	0.2	4
	对照	24	9.72	0.08	4
	CAZ	24	5.01	0.79	4
PSA 4-84	对照	0	6.16*	0.21	4
	对照	24	9.66	0.14	5
	CAZ	24	4.88	0.31	5
PSA 1-25	对照	0	6.21*	0.42	4
	对照	24	10.01	0.13	5
	CAZ	24	6.42	0.54	4
PSA 3-9	对照	0	6.45*	0.09	4
	对照	24	7.77	0.93	4
	CAZ	24	6.48	0.1	3

[0156] 头孢他啶的定向 ELF $fT > MIC$ 研究的给药方案的确定

[0157] 在体内测定的单独头孢他啶的游离药物药代动力学曲线示于图 8 中。此外,对于上述方案,在第三给药间隔中的 ELF 浓度也示于图 8 中。从这些数据确定针对一系列 MIC 的 $fT > MIC$ 值。平均值和上部 95% 置信区间描述于图 9 中。

[0158] 体内功效:头孢他啶-阿维巴坦的人模拟血清研究

[0159] 研究在中性粒细胞减少性动物中进行。在开始给药时对照小鼠中的各自细菌密度为 $5.98 \pm 0.44 \log_{10} CFU$, 24 小时后增加到 $9.13 \pm 0.80 \log_{10} CFU$ 。中性粒细胞减少性研究的结果示于表 10 和图 5 中。针对铜绿假单胞菌的集合,观察到头孢他啶-阿维巴坦针对分离

株的活性, MIC 为 32 μ g/mL 和更低, 一株分离株除外, 其 MIC 为 16 μ g/mL。对单独存在的分离株未观察到活性, MIC 为 64 μ g/mL。在将直接匀浆铺板到含有药物的板上后, 未观察到生长, 这表示不存在耐药性的产生。

[0160] 表 10. 在中性粒细胞减少性肺部感染模型中使用头孢他啶-阿维巴坦方案的体内功效研究的结果。*0h 对照数据代表开始给药时的细菌密度。

[0161]

分离株编号	组	时间点(h)	Log CFU*的变化		肺编号
			平均值	SD	
PSA 22	对照	0	5.99*	0.11	4
	对照	24	9.15	0.02	4
	CAZ-AVI	24	2.42	0.63	5
PSA 971	对照	0	6.27*	0.09	4
	对照	24	9.13	0.31	5
	CAZ-AVI	24	5.12	1.18	4
PSA 1383	对照	0	6.04*	0.1	4
	对照	24	8.13	0.08	4
	CAZ-AVI	24	2	0	5
PSA 1384	对照	0	5.9*	0.11	4
	对照	24	8.15	0.04	4
	CAZ-AVI	24	3.95	0.61	5
PSA 37-8	对照	0	6.02*	0.28	10
	对照	24	8.26	0.15	9
	CAZ-AVI	24	4.38	0.68	9
PSA 856	对照	0	6.11*	0.44	5
	对照	24	9.9	0.17	5

[0162]

	CAZ-AVI	24	4.93	0.45	4
PSA 1382	对照	0	6.06*	0.22	5
	对照	24	9.42	0.08	5
	CAZ-AVI	24	4.7	0.71	4
PSA 1386	对照	0	5.91*	0.18	3
	对照	24	9.93	0.11	5
	CAZ-AVI	24	3.82	0.51	4
PSA 1387	对照	0	6.34*	0.32	5
	对照	24	9.84	0.15	4
	CAZ-AVI	24	3.89	0.39	4
PSA 1388	对照	0	6.13*	0.14	4
	对照	24	9.3	0.25	5
	CAZ-AVI	24	3.61	0.56	5
PSA 1389	对照	0	5.82*	0.2	5
	对照	24	10.09	0.13	5
	CAZ-AVI	24	3.75	0.27	3
PSA 4-32	对照	0	5.56*	0.16	4
	对照	24	9.34	0.14	4
	CAZ-AVI	24	3.31	0.2	5
PSA 4-39	对照	0	5.82*	0.12	5
	对照	24	7.96	0.24	4
	CAZ-AVI	24	3.78	0.24	4
PSA 2-69	对照	0	5.38*	0.23	4
	对照	24	8.31	0.05	5
	CAZ-AVI	24	3.61	0.35	4
PSA 8-16	对照	0	5.93*	0.15	4
	对照	24	9.94	0.18	5
	CAZ-AVI	24	3.8	0.47	3
PSA 24-2	对照	0	6.13*	0.03	4
	对照	24	8.34	1.07	5
	CAZ-AVI	24	2.84	0.37	5
PSA 28-19	对照	0	6.46*	0.2	4
	对照	24	9.8	0.16	5
	CAZ-AVI	24	4.6	0.35	4
PSA 968	对照	0	5.73*	1.19	5

[0163]

	对照	24	9.79	0.05	3
	CAZ-AVI	24	4.79	0.47	4
PSA 1391	对照	0	5.86*	0.09	5
	对照	24	9.28	0.06	3
	CAZ-AVI	24	4.3	1.4	4
PSA 1394	对照	0	5.49*	0.41	5
	对照	24	8.57	0.19	3
	CAZ-AVI	24	3.55	0.44	4
PSA 4-36	对照	0	6.53*	0.2	4
	对照	24	9.72	0.08	4
	CAZ-AVI	24	3.56	0.86	5
PSA 4-84	对照	0	6.16*	0.21	4
	对照	24	9.66	0.14	5
	CAZ-AVI	24	4.72	0.38	5
PSA 1-25	对照	0	6.21*	0.42	4
	对照	24	10.01	0.13	5
	CAZ-AVI	24	5.51	0.94	5
PSA 1-29	对照	0	6.28*	0.52	5
	对照	24	9.4	0.09	4
	CAZ-AVI	24	4.89	0.85	4
PSA 3-9	对照	0	6.45*	0.09	4
	对照	24	7.77	0.93	4
	CAZ-AVI	24	7.26	0.91	4
PSA 11-54	对照	0	6.02*	0.1	4
	对照	24	9.88	0.08	5
	CAZ-AVI	24	4.46	0.43	3
PSA 7-6	对照	0	5.34*	0.65	4
	对照	24	8.78	0.41	5
	CAZ-AVI	24	3.19	0.26	4
PSA 14-28	对照	0	5.55*	0.31	5
	对照	24	7.9	0.01	4
	CAZ-AVI	24	6.52	0.31	5

[0164] 体内功效 : 头孢他啶定向 ELF fT > MIC 研究

[0165] 定向 ELF fT > MIC 功效研究的结果示于表 11 和图 9 中。研究在中性粒细胞减少性动物中进行。在开始给药时对照小鼠中的各自细菌密度为 $5.89 \pm 0.30 \log_{10} \text{CFU}$, 24 小时后增加到 $8.75 \pm 0.93 \log_{10} \text{CFU}$ 。基于 32 至 $128 \mu \text{g/mL}$ 之间的头孢他啶的 MIC 来选择分离

株。针对 MIC 为 32 μ g/mL 的那些分离株观察到活性。针对 MIC 为 64 μ g/mL 的分离株的功效可变化 ;当使用头孢他啶单一疗法方案时,MIC 为 128 μ g/mL 的分离株看到很少至未看到活性。

[0166] 表 11. 在中性粒细胞减少性肺部感染模型中使用定向 ELF fT > MIC 头孢他啶方案的体内功效研究的结果。*0h 对照数据代表开始给药时的细菌密度。

[0167]

分离株编号	组	时间点(h)	Log CFU*的变化		肺 编 号
			平均值	SD	
PSA 1384	对照	0	5.86*	0.14	5
	对照	24	7.61	0.16	4
	CAZ	24	4.4	0.48	4
PSA 1383	对照	0	5.77*	0.09	4
	对照	24	7.29	0.48	4
	CAZ	24	3.73	0.42	5
PSA 1386	对照	0	5.79*	0.4	5
	对照	24	9.67	0.12	5
	CAZ	24	5.98	0.44	6
PSA 1388	对照	0	5.86*	0.05	4
	对照	24	8.39	0.17	5
	CAZ	24	5.54	0.8	3
PSA 968	对照	0	5.98*	0.29	5
	对照	24	9.76	0.07	5
	CAZ	24	4.45	0.22	5
PSA 1387	对照	0	6.39*	0.19	5
	对照	24	9.45	0.3	5
	CAZ	24	4.23	0.17	3
PSA 1389	对照	0	5.68*	0.21	4
	对照	24	9.67	0.06	5
	CAZ	24	6.3	0.34	4
PSA 1382	对照	0	5.91*	0.23	4
	对照	24	8.64	0.31	5
	CAZ	24	6.42	1.37	5
PSA 1394	对照	0	5.58*	0.09	3
	对照	24	7.73	0.28	5
	CAZ	24	5.96	1.4	5

[0168] 结论

[0169] 在鼠类肺部感染模型内,不管宿主的免疫状况,头孢他啶-阿维巴坦的组合均在肺内产生相当大的浓度。使用先前确定的头孢他啶-阿维巴坦方案,针对 $MIC \leq 32 \mu g/mL$ 的那些分离株观察功效,其中 $ELF fT > MIC \geq 19\%$ 。鉴于这些观察,肺内所需的 $fT > MIC$ 可小于先前对于头孢菌素所认为的约 60%。当然,在没有明显的 $ELF fT > MIC$ 的情况下,对于所述组合,在 $64 \mu g/mL$ 的 MIC 下,头孢他啶-阿维巴坦不产生功效。头孢他啶定向 $ELF fT > MIC$ 的结果也证明这可能是正确的,针对 $32 \mu g/mL$ 的 MIC 观察到活性,其中 $ELF fT > MIC$ 为 12%,并且在 $64 \mu g/mL$ 和 $128 \mu g/mL$ 的 MIC 下可变活性至无活性。

[0170] 实施例 4:中性粒细胞减少性大腿模型

[0171] CD-1 中性粒细胞减少性小鼠在大腿中感染约 $10^6 cfu$ 产 β -内酰胺酶的铜绿假单胞菌菌株。2h 后单独用头孢他啶 (q2h 以不同剂量) 开始治疗,持续 24h,并测定大腿中的 cfu 以建立其暴露反应关系。对于 2 株 (头孢他啶的 MIC 为 $32mg/L$ 和 $64mg/L$),进行阿维巴坦的全剂量分级研究。对于另外 6 株铜绿假单胞菌菌株 (头孢他啶的 MIC 为 $64-128mg/L$),测定阿维巴坦 q2h 的暴露反应。将 $E_{最大}$ 模型拟合到剂量和 PK/PD 指数 (PDI) 反应,以测定产生静态效果 ($1-\log_{10}$ 杀死和 $2-\log_{10}$ 杀死) 的单独头孢他啶和与阿维巴坦组合的头孢他啶的 PDI 值。对于阿维巴坦,计算高于虚拟体内 MIC (阈浓度, C_T) 的给药间隔的时间%,即 $\% fT > C_T$ (C_T 为 $0.25mg/L$ 、 $1mg/L$ 和 $4mg/L$)。

[0172] 用于单一疗法的头孢他啶的静态 $\% fT > MIC$ 为 0-38%,其中一些菌株需要更低的 $\% fT > MIC$ 。对于所有菌株,阿维巴坦降低头孢他啶的静态 $\% fT > MIC$ 。在剂量分级研究中,对于 $1mg/L$ 的 $\% fT > C_T$,观察到最佳的阿维巴坦 PDI 相关性。在 $1mg/L$ 的 C_T 下,需要 30.2-74.1 的 $\% fT > C_T$ 。对于另外 6 株菌株,平均 $\% fT > C_T$ $1mg/L$ 为 36.3% (14.1-62.5)。静态效果所需的估计量部分取决于头孢他啶的剂量 (如果头孢他啶的剂量较高,则需要更低值)。阿维巴坦的效果主要取决于高于阈 $\% fT > C_T$ $1mg/L$ 的时间,当与头孢他啶伴随给药时,平均值为 36.3%。在头孢他啶的较低剂量下需要相对更高的暴露。

[0173] 材料和方法

[0174] 抗菌剂:

[0175] 头孢他啶 (CAZ)

[0176] 由 AstraZeneca (ex GSK) 提供

[0177] 批号:G263770

[0178] 有效期截止日期:2012 年 12 月 5 日

[0179] 生产日期:2010 年 12 月 6 日

[0180] CAS 号:78439-06-2

[0181] 效能:77.2%

[0182] 阿维巴坦

[0183] AstraZeneca (ex Dr Reddy)

[0184] 批号:AFCH005151 (07113P028), 分析编号:A1002CQ055

[0185] 有效期截止日期:2013 年 3 月

[0186] 效能:91.7%

[0187] 细菌菌株和敏感性测试:

[0188] 如表 1 中所示,在实验中使用 7 株充分表征的从各种临床相关来源获得的耐

头孢他啶的铜绿假单胞菌菌株。MIC 从较早的体外棋盘研究 (Berkhout&Mouton 2013 CAZ-AVI-M1-061) 获得,并根据 ISO 准则 (ISO 2006) 通过微量稀释进行测定。这种方法是符合 CLSI 的。

[0189] 动物:

[0190] 在实验中使用体重 20-25g 的 4-5 周龄的远系杂交种雌性 CD-1 小鼠 (Charles River, Netherlands)。通过两种剂量的环磷酰胺 s.c.: 一种在感染实验前 4 天 (150mg/kg), 而另一种在感染实验前 1 天 (100mg/kg) 来诱发粒细胞减少。

[0191] 将动物在标准条件下饲养,随意供应饮料和食物,并在每天免疫抑制 2-3 次后每天检查一次。动物研究根据欧洲共同体的建议 (Directive 86/609/EEC, 1986 年 11 月 24 日) 进行,并且所有动物步骤都由 Radboud 大学的动物福利委员会 (Animal Welfare Committee) (RU-DEC 2012-003) 批准。

[0192] 感染:

[0193] 中性粒细胞减少性小鼠每只动物感染 2 株铜绿假单胞菌菌株,一株在左大腿中,一株在右大腿中。将 0.05mL 由约 10^5 - 10^6 个细菌组成的细菌悬浮液经肌内接种。在 $t = 0h$,即引发感染后 2 小时开始用 q2h 的给药方案用递增剂量的头孢他啶或盐水 (对照) 进行治疗,每剂量为皮下给药的 0.1mL,持续 24h。所有给药方案在至少两只动物中进行。在 $t = 0h$,将两只小鼠人道地处死,以测定治疗前即刻的初始接种物。所有其它动物在 $t = 24h$ 处死,除非遵循动物福利法规,动物的福利表明需要提前终止。取大腿,并移动到预冷却的含有 2mL 磷酸盐缓冲盐水 (PBS; 8.00g/L NaCl, 1.44g/L $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$, 0.26g/L KH_2PO_4 , pH 7.2-7.4) 的 10mL 塑料管 (Transport Tube, Omnilabo, NL) 中。随后,使用 Ultra-Turrax (IKA Labortechnik, Germany) 将大腿碾碎。制备十倍稀释系列,并且每次稀释铺板 $3 \times 10 \mu L$ (Chromagar, Bioré, NL)。第二天,对菌落进行计数,并计算每只大腿的 cfu 数量。然后,药物效果测定为 $t = 24h$ 与 $t = 0h$ 时 $\log_{10}[\text{cfu}/\text{大腿}]$ 值之间的差异 (2 只小鼠的平均值),表示为“dcfu”。

[0194] 抗生素浓度测量

[0195] 使用冷却离心机将血液与血浆分离。将样品分成几部分,并储存在 $-80^\circ C$ 下。头孢他啶和阿维巴坦的浓度由 AstraZeneca (Waltham, MA) 的药物代谢和药物代谢动力学 (Drug Metabolism and Pharmacokinetics) 组测定,头孢他啶的量的下限为 1.5ng/mL,阿维巴坦的量的下限为 1.8ng/mL。如在平衡透析室中测定的以及通过 LC-MS/MS 分析的,对于头孢他啶,蛋白结合为 10%,对于阿维巴坦,蛋白结合为 8%。

[0196] 组合给药方案的评价和验证

[0197] 患有实验性大腿感染的中性粒细胞减少性小鼠中的阿维巴坦的暴露 - 反应关系在用头孢他啶的固定给药方案治疗下测定,所述头孢他啶的固定给药方案导致为期 24 小时的头孢他啶治疗后与特定菌株的初始接种物相比增加 $1-2\log_{10}\text{cfu}$ 。该方案被选中是因为对阿维巴坦的效果的变化具有敏感性。阿维巴坦的给药量的频率和剂量变化。头孢他啶和阿维巴坦的暴露使用 MicLab 2.36 (Medimatics, Maastricht, The Netherlands) 使用从药代动力学研究获得的药代动力学参数估计量确定。在模拟中,对于头孢他啶,使用 10% 的蛋白结合,并且对于阿维巴坦,使用 8% 的蛋白结合。药物效果测定为 $t = 24h$ 与 $t = 0h$ 时 $\log_{10}[\text{cfu}/\text{大腿}]$ 值之间的差异 (2 只小鼠的平均值),表示为 dcfu。在所有计算中使用游

离药物浓度。将 $E_{\text{最大}}$ 模型（或线性回归）拟合到剂量和 PK/PD 指数 (PDI) 反应, 以测定产生静态效果或具体特定的 $\log$ 杀死效果的单独头孢他啶和与阿维巴坦组合的头孢他啶的 PDI 值。对于阿维巴坦, 对于 0.25mg/L、1mg/L 和 4mg/L 的 C_T , 计算高于阈浓度 C_T 的给药间隔的时间%。基于阿维巴坦的体外活性选择 C_T 值, 在敏感性测试中使用 4mg/L, 但如在体外棋盘研究和具有肠杆菌科的中空纤维模型 (Nichols W, Levasseur P, Li J, Das S. 2012. 药代动力学衰亡期期间的阿维巴坦 (AVI) 的阈浓度, 低于所述阈浓度, 肠杆菌科中的 β -内酰胺酶抑制变得无效) 中测定的, 更低的浓度也具有活性。第 52 届抗微生物剂和化学疗法的交叉学科会议的口头报告, San Francisco, CA. 摘要 #A-1760)。

[0198] 表 12 : 用于头孢他啶和阿维巴坦的药效学研究的铜绿假单胞菌菌株

[0199]

分离 株编 号	耐药性总结(如果已知)	MIC CAZ mg/L	MIC CAZ-AVI* mg/L	静态 %/T>MIC (CAZ)
1	头孢硝噻吩酶活性‘++’; AmpC 转录物过表达; β -内酰胺酶基因型; bla_{AmpC} 、 bla_{poxB} ; A-类、B-类	128	8	无效果
3	头孢硝噻吩酶活性基线;	64	2	0

[0200]

	AmpC 转录物基础; β -内酰胺酶基因型; bla_{AmpC} 、 bla_{poxB} 、 $bla_{\text{TEM-24}}$ (CAZ-6); B-类			
5	头孢硝噻吩酶活性‘++++’; AmpC 转录物过表达; β -内酰胺酶基因型; bla_{AmpC} 、 bla_{poxB} ; A-类、B-类	128	8	3
7	头孢硝噻吩酶活性‘+++’; AmpC 转录物过表达; β -内酰胺酶基因型; bla_{AmpC} 、 bla_{poxB} ; A-类、B-类	64	4	7.2
11	OprD-、AmpCcon、A-类、B-类	128	16	无效果
18	OprD-、AmpCind?、A-类、B-类	32	2	9
19	OprD-、AmpCcon、A-类、B-类	64	4	38

[0201] 在实验中使用的铜绿假单胞菌菌株基于体外的 MIC 和体外的棋盘结果进行选择。

菌株	MIC mg/L	剂量 CAZ mg/kg	TDD AVI mg/kg	log TDD AVI	%fT>C _{T1}
7	64	64	267.47	2.43	50.4
18	32	64	58.91	1.77	24.2
5	128	64	33.59	1.53	14.1
11	128	64	77.88	1.89	29.1
1	128	32	123.70	2.09	37.2
19	64	32	541.34	2.73	62.5
平均值					36.3
sd					17.8

[0208] C_{T1} = 1mg/L 的阈浓度, TDD = 总日剂量, CAZ = 头孢他啶, AVI = 阿维巴坦

[0209] 表 15 :用头孢他啶 q2h 和阿维巴坦 q2h 治疗小鼠的非线性回归 (E_{max} 模型) 结果

[0210]

菌株	1	5	7	11	18	19
最大值	1.26 (1.44)	≈0.70	1.81 (0.29)	1.40 (0.50)	0.83 (0.36)	2.46 (0.22)
最小值	≈-727.5 (≈605114)	-3.25 (0.95)	-2.83 (1.41)	-2.95 (0.41)	-2.36 (0.23)	-1.42 (0.46)
EC50	≈8.14e9	123.00	417.90	113.50	88.34	491.00
希尔斜率	≈-0.35)	-1.185 (0.86)	-1.01 (0.41)	-1.98 (0.86)	-2.60 (1.16)	-5.75 (3.57)

[0211] 括号中为 SE

[0212] 结果

[0213] 如表 12 中所示,单一疗法期间头孢他啶的静态 % fT > MIC 为 0-38%。对于最耐药的菌株,未观察到效果,从而需要更低的 % fT > MIC。这表明,对于一些高度耐药菌株,需要更低的 % fT > MIC。对于所有菌株,阿维巴坦降低头孢他啶的静态 % fT > MIC。

[0214] 全剂量分级研究的设计示于表 13 中。图 10 示出了经历阿维巴坦的全剂量分级研究的两株菌株的结果。尽管指数 C_{最大}、AUC/MIC 和剂量中的每一个表现出一定的相关性,但附图的目视检查得出以下结论: % fT > C_T 是稍微更好的预测因子,但似乎有显著变化。这表明,在这种背景下, % fT > C_T 并不是决定结果的唯一因素。附图示出了三个 C_T 浓度的 % fT > C_T。与 0.25mg/L 和 4mg/L 相比, % fT > C_T 1mg/L 似乎是稍微更好的预测因子。在 1mg/L 的浓度下,需要 30.2 (菌株 7) 或 74.1 (菌株 18) 的 % fT > C_T 以支持抑菌效果。

[0215] 对于 6 株菌株,测定了用头孢他啶的固定给药方案用不同剂量的阿维巴坦达到静态效果所需的剂量 (图 11)。从这些结果确定每株菌株的 % fT > C_T 1mg/L。平均 % fT > C_T 为 36.3% (14.1-62.5) (表 14)。静态效果所需的估计量部分取决于头孢他啶的剂量 (如果头孢他啶的剂量相对于菌株的 MIC 相对较高,则需要较低值)。

[0216] 表 15 示出了对 6 株铜绿假单胞菌菌株的非线性回归分析的结果。估计量在一些情况下显示显著标准误差。

[0217] 实施例 5: 头孢他啶和阿维巴坦在患有实验性肺炎的中性粒细胞减少性雌性 CD-1 小鼠中的药效学

[0218] CD-1 中性粒细胞减少性小鼠通过在浅麻醉下通过鼻孔滴注在肺中感染约 10^6 cfu。2h 后单独用头孢他啶 (q2h 以不同剂量) 开始治疗, 持续 24h, 并测定肺中的 cfu 以建立其暴露反应关系。对于头孢他啶 MIC 分别为 32mg/L 和 128mg/L 的两株菌株, 阿维巴坦在头孢他啶暴露下以两倍递增剂量以 q2h 或 q8h 给药, 所述头孢他啶暴露在头孢他啶单一疗法实验中是允许 $2\log_{10}$ 生长的最大暴露。对于两株菌株, 在头孢他啶的两个不同剂量水平下进行阿维巴坦的全剂量分割研究; 此外, 也测定阿维巴坦 q2h 对另外两株菌株的功效。将 $E_{\max}$ 模型拟合到剂量和 PK/PD 指数 (PDI) 反应, 以测定产生静态效果 (1-log 杀死和 2-log 杀死) 的单独头孢他啶和与阿维巴坦组合的头孢他啶的 PDI 值。对于阿维巴坦, 计算高于虚拟体内阈浓度 C_T 的给药间隔的时间%, 即 $\% fT > C_T$ (C_T 为 0.25mg/L、1mg/L 和 4mg/L)。

[0219] 阿维巴坦的暴露反应关系 (R^2 0.54-0.86) 表明, q2h 比 q8h 更有效, 从而对于两株菌株, 日剂量降低到 1/2.7 和 1/10.1, 以获得组合的静态效果。这对应于 20.1 (范围 16.1-23.5) 的平均 $\% fT > C_T$ 1mg/L。在剂量分割研究中, 对于 $\% fT > C_T$ 1mg/L, 观察到最佳的阿维巴坦 PDI 相关性。静态效果所需的阿维巴坦暴露估计量部分取决于头孢他啶的剂量 (如果头孢他啶的剂量较高, 则需要较低值)。对于两株对照菌株, $\% fT > C_T$ 1mg/L 估计量为 22.4% 和 21.6%。

[0220] 总之, 阿维巴坦的效果取决于剂量的频率; 频率降低时观察到降低的效果。与效果相关的主要 PK/PD 指数是高于阈 C_T 的时间。对于大多数菌株, 对于静态效果, 1mg/L 的 $\% fT > C_T$ 为 16-25%。

[0221] 为定义阿维巴坦的最低效果浓度, 基于阈浓度 C_T 引入新的药效学指数。这个参数代表在体内产生显著效果的阿维巴坦的阈浓度。因此, 实现药效学效果所需的阿维巴坦的暴露可使用这个参数来表示。因此, 阿维巴坦的暴露表示为药效学指数 $\% fT > C_T$, 其类似于 β -内酰胺 (在这项研究中为头孢他啶) 的 $\% fT > MIC$ 。与头孢他啶类似, $\% fT > C_T$ 的估计量取决于 C_T 本身。但是, β -内酰胺的 MIC 通常从体外数据获知, 而 C_T 不是。在这里介绍的实验中, 使用以下 C_T 测试值: 0.25mg/L、1mg/L 和 4mg/L, 以根据经验选择最佳值。理论值目前还不得而知。

[0222] 在这项研究中, 使用患有肺部感染的中性粒细胞减少性小鼠模型来测定在每 2h 的头孢他啶的固定给药频率下对于铜绿假单胞菌 *bi j* 阿维巴坦的暴露-反应关系, 以比较阿维巴坦的不同给药方案。

[0223] 材料和方法

[0224] 抗菌剂:

[0225] 头孢他啶 (CAZ)

[0226] 由 AstraZeneca (ex GSK) 提供

[0227] 批号: G263770

[0228] 有效期截止日期: 2012 年 12 月 5 日

[0229] 生产日期: 2010 年 12 月 6 日

[0230] CAS 号: 78439-06-2

[0231] 效能: 77.2%

[0232] 阿维巴坦

[0233] AstraZeneca(ex Dr Reddy)

[0234] 批号 :AFCH005151(07113P028),分析编号 :A1002CQ055

[0235] 有效期截止日期 :2013 年 3 月

[0236] 效能 :91.7%

[0237] 细菌菌株和敏感性测试 :

[0238] 如中所示,在实验中使用 7 株充分表征的从各种临床相关来源获得的耐头孢他啶的铜绿假单胞菌菌株。MIC 在较早的体外棋盘研究 (AstraZeneca 研究报告 #CAZ-AVI-M1-061) 中测定,并根据 ISO 准则 (ISO 2006) 通过微量稀释进行测定。这种方法是符合 CLSI 的。

[0239] 动物 :

[0240] 在实验中使用体重 20-25g 的 4-5 周龄的远系杂交种雌性 CD-1 小鼠 (Charles River, Netherlands)。通过两种剂量的环磷酰胺 s.c. :在感染实验前 4 天 (150mg/kg) 和在感染实验前 1 天 (100mg/kg) 来诱发粒细胞减少。

[0241] 将动物在标准条件下饲养,随意供应饮料和食物,并在每天免疫抑制 2-3 次后每天检查一次。动物研究根据欧洲共同体的建议 (Directive 86/609/EEC,1986 年 11 月 24 日) 进行,并且所有动物步骤都由 Radboud 大学的动物福利委员会 (Animal Welfare Committee) (RU-DEC 2012-003) 批准。

[0242] 感染 :

[0243] 中性粒细胞减少性小鼠每只动物感染 1 株铜绿假单胞菌菌株。将 0.05mL 由约 10^5 - 10^6 个细菌组成的细菌悬浮液用注射器在用异氟烷浅麻醉下经鼻内接种。在引发感染后 2 小时 ($t = 0h$) 开始用 q2h 的给药方案用递增剂量的 0.1mL 皮下给药的头孢他啶或盐水 (对照) 进行治疗,持续 24h。所有给药方案在至少两只动物中进行。在 $t = 0h$,将两只小鼠人道地处死,以测定开始治疗前即刻的初始接种物。所有其它动物在 $t = 24h$ 处死,除非遵循动物福利法规,动物的福利表明需要提前终止。取肺,并移动到预冷却的含有 2mL 磷酸盐缓冲盐水 (PBS ;8.00g/L NaCl,1.44g/L $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$,0.26g/L KH_2PO_4 ,pH 7.2-7.4) 的 10mL 塑料管 (Transport Tube,Omnilabo,NL) 中。随后,使用 Ultra-Turrax (IKA Labortechnik, Germany) 将肺碾碎。制备十倍稀释系列,并且每次稀释铺板 3×10^4 μ L (Chromagar, Bioré, NL)。第二天,对菌落进行计数,并计算每个肺的 cfu 数量。

[0244] 数据分析 :

[0245] 患有实验性肺炎的中性粒细胞减少性小鼠中的阿维巴坦的暴露 - 反应关系在用最高剂量的头孢他啶的固定给药方案治疗下测定,所述头孢他啶的固定给药方案导致为期 24 小时的头孢他啶治疗后与特定菌株的初始接种物相比增加 $1-2 \log_{10} cfu$ 。该方案被选中是因为对阿维巴坦的效果的变化具有敏感性。阿维巴坦的给药量的频率和剂量变化。头孢他啶和阿维巴坦的暴露使用 MicLab 2.36 软件 (Medimatics, Maastricht, The Netherlands) 使用从药代动力学研究获得的药代动力学参数估计量 (AstraZeneca 研究报告 #CAZ-AVI-M1-065) 确定。在模拟中,对于头孢他啶,使用 10% 的蛋白结合,并且对于阿维巴坦,使用 8% 的蛋白结合。药物效果测定为 $t = 24h$ 与 $t = 0h$ 时 $\log_{10} cfu$ 值之间的差异 (2 只小鼠的平均值),表示为 dcfu。在所有计算中使用游离药物浓度。将 E_{max} 模型 (或线

性回归)拟合到剂量和 PK/PD 指数 (PDI) 反应,以单独地测定单独头孢他啶以及阿维巴坦与头孢他啶的组合的 PDI 值。对于阿维巴坦,对于 0.25mg/L、1mg/L 和 4mg/L 的 C_T , 计算高于阈浓度 C_T 的给药间隔的时间%。基于阿维巴坦的体外活性选择 C_T 值,在敏感性测试中使用 4mg/L,但如在体外棋盘研究中测定的,更低的浓度也具有活性。

[0246] 结果

[0247] 表 11 示出了所用菌株的特征和单一疗法的功效。单一疗法期间头孢他啶的静态% fT > MIC 为 0-38%。对于最耐药的菌株,未观察到效果。另一方面,对于一些高度耐药菌株,似乎需要更低的% fT > MIC。对于所有菌株,阿维巴坦降低头孢他啶的静态% fT > MIC。

[0248] 阿维巴坦 q2h 或 q8h 的暴露反应曲线 (R^2 0.54-0.86) 表明, q2h 方案比 q8h 方案更有效 (图 12)。对于菌株 11 和 18,对于将小鼠暴露于头孢他啶时产生静态效果的阿维巴坦的日剂量,阿维巴坦 q2h 低于阿维巴坦 q8h,前者是后者的 1/2.7 和 1/10.1。对于阿维巴坦,这对应于 20.1% (范围 16.1-23.5%) 的总平均% fT > C_T 1mg/L (表 16)。表 17 示出了 E_{max} 模型拟合的参数估计量。

[0249] 图 13 示出了经历阿维巴坦的全剂量分割研究的两株菌株的结果。尽管指数 C_{max} 、AUC/MIC 和剂量中的每一个表现出一定的相关性,但附图的目视检查得出以下结论: % fT > C_T 是稍微更好的预测因子,但有显著变化。这表明,在这种背景下, % fT > C_T 并不是决定结果的唯一因素。附图示出了三个 C_T 浓度的 % fT > C_T 。与 0.25mg/L 和 4mg/L 相比, % fT > C_T 1mg/L 似乎是稍微更好的预测因子。然而,不能从这个图确定准确的阈值。静态效果所需的估计量部分取决于头孢他啶的剂量 (如果头孢他啶的剂量较高,则需要较低值)。

[0250] 图 14 示出了当用各种剂量的头孢他啶 q2h 治疗时,对于四株铜绿假单胞菌菌株 (7、5、19 和 1),阿维巴坦的暴露反应关系。如从下面的两个图观察到的,四株铜绿假单胞菌菌株中的两株表现出超过预期的对阿维巴坦的反应。表 18 提供针对 $\log_{10}$ (cfu/组织样品) 的变化 = 0 或静态保持 24h,四株菌株的 % fT > C_T 1mg/L 阿维巴坦估计量。对于表现出好于预期的效果的菌株 1 和菌株 19,这不能可靠地进行估计。对于其它两株菌株,其为 21.4% 和 19.4%。

[0251] 表 16 :在用头孢他啶 q2h 以及阿维巴坦 q2h 和 q8h 治疗的小鼠中阿维巴坦的 % fT > C_T 1mg/L。

[0252]

菌株	MIC mg/L	剂 量 CAZ mg/kg	TDD q2h mg/kg	AVI log q2h mg/kg	TDD q8h mg/kg	AVI LogTDD q8h mg/kg	AVI %T>C _{T1} q2	AVI %T>C _{T1} q8
18	32	16	56.65	1.75	150.57	2.18	23.5	16.1
11	128	16	45.65	1.66	463.29	2.67	19.7	20.9
平 均 值							21.6	18.5
sd							2.7	3.4

[0253] C_T = 阈浓度 (虚拟体内抑制浓度), TDD = 总日剂量, CAZ = 头孢他啶, AVI = 阿维巴坦

[0254] 表 17 : 用头孢他啶 q2h 以及阿维巴坦 q2h 或 q8h 治疗的效果的非线性回归 (E_{max} 模型) 参数估计量 (SE)。

[0255] q2h

[0256]

菌株	18	11
最大值	2.56 (0.68)	1.60 (1.15)
最小值	-2.51 (0.53)	-2.57 (1.92)
EC ₅₀	56.38	69.55
希尔斜率	-4.62 (4.11)	-1.13 (1.55)

[0257] q8h

[0258]

菌株	18	11
最大值	3.45 (0.66)	1.91 (0.73)
最小值	-2.79 (1.11)	-2.93 (23.38)
EC ₅₀	133.30	505.80
希尔斜率	-1.77 (0.95)	-4.92 (52.91)

[0259] 表 18 : 对于用头孢他啶 q2h 和阿维巴坦治疗的小鼠, 4 株铜绿假单胞菌菌株的暴露 - 反应。

[0260] 在 24h 在静态点 : 即 $d\log_{10}cfu(E) = 0$, 游离药物浓度超过 4mg/L (头孢他啶) 和

1mg/L(阿维巴坦)的时间的%的测定。

[0261]

菌株	MIC mg/L	剂量 mg/kg	CAZ %/T>4mg/L CAZ	TDD mg/kg	AVI log TDD AVI	%fT>C _T 1
7	64	16	34.6	50.12	1.7	21.4
5	128	64	63.5	44.9	1.65	19.4
19	64	32	49.3			-
1	128	32	49.3	2.38	0.38	-
平均值			49.1			20.4
Sd			11.8			1.4

[0262] C_T=阈浓度(虚拟体内抑制浓度), TDD=总日剂量, CAZ=头孢他啶, AVI=阿维巴坦

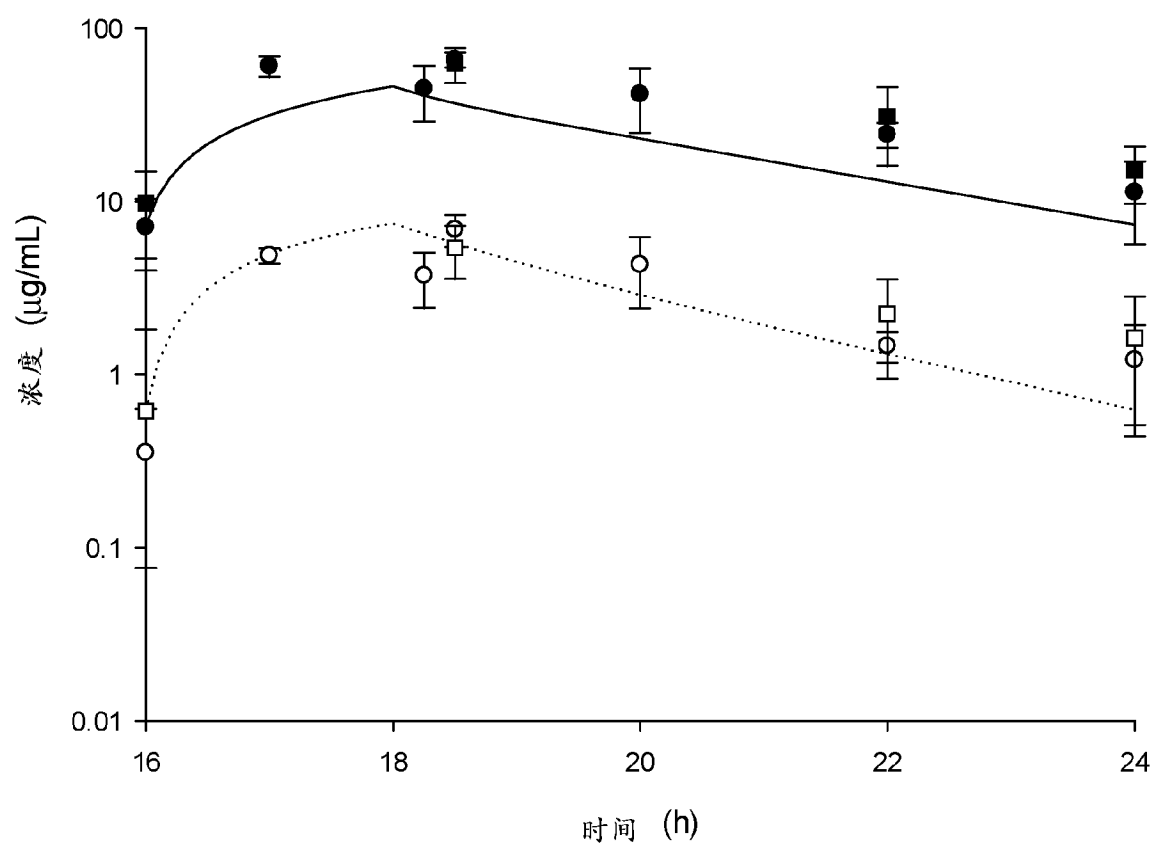


图 1

图 2A

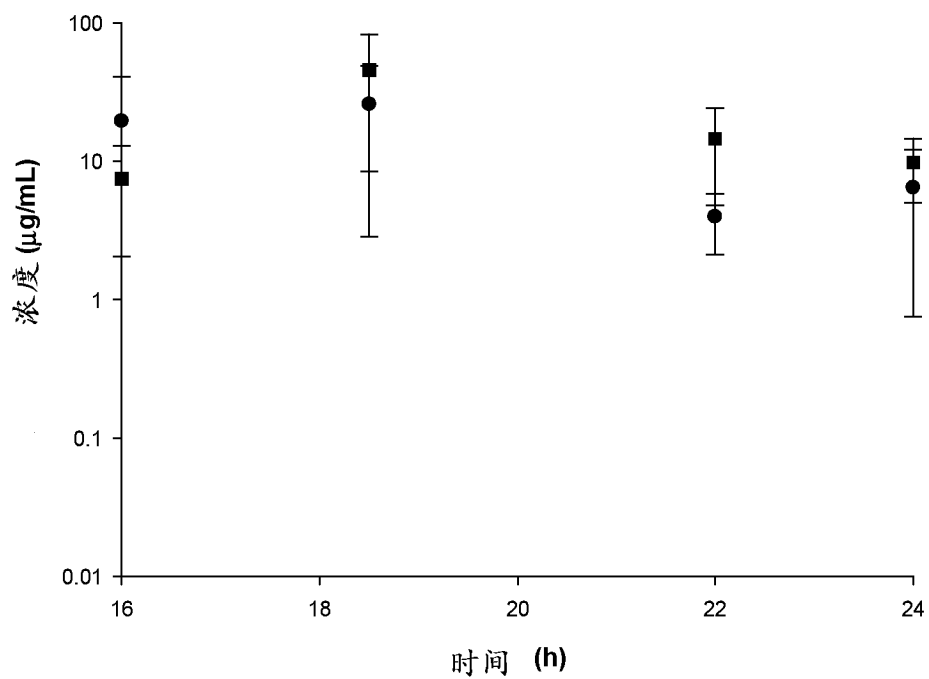


图 2B

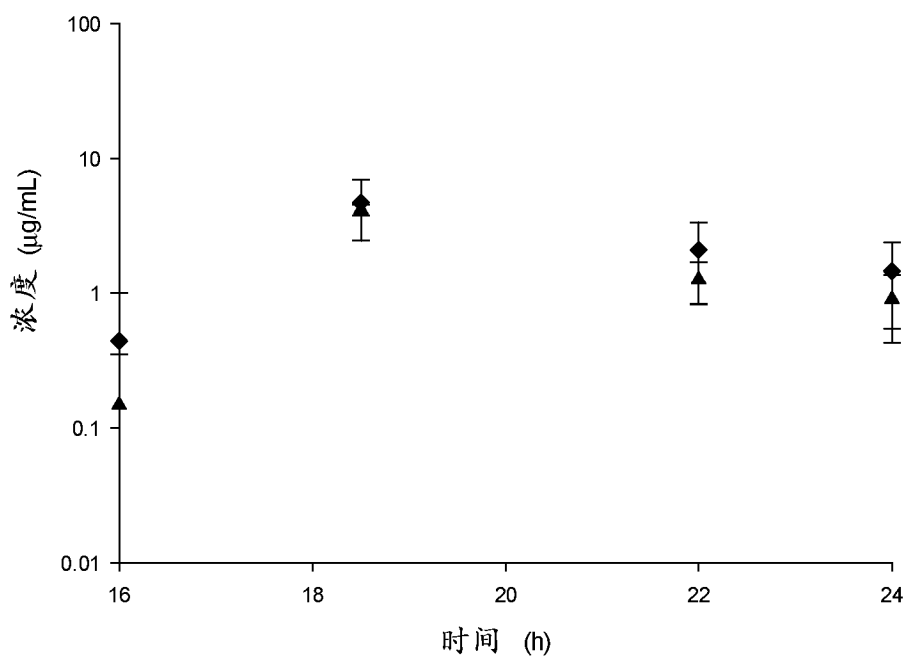


图 2

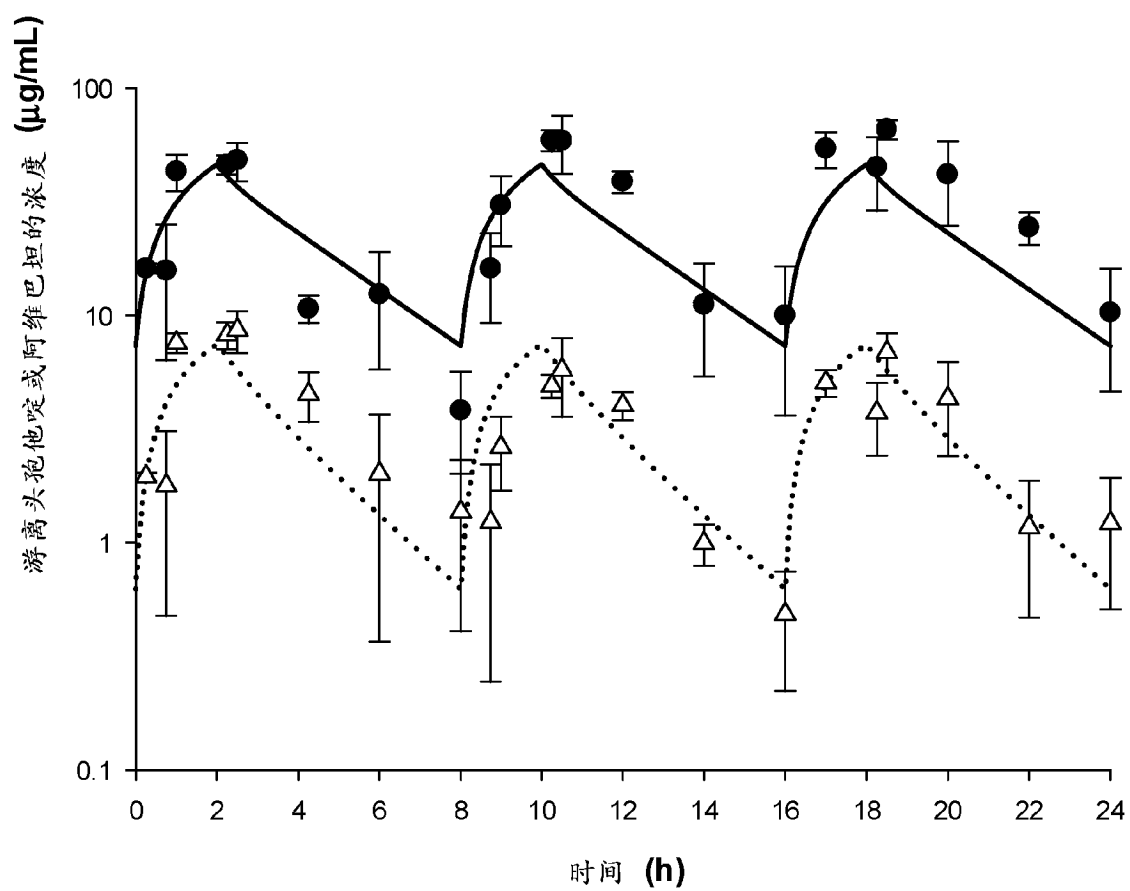


图 3

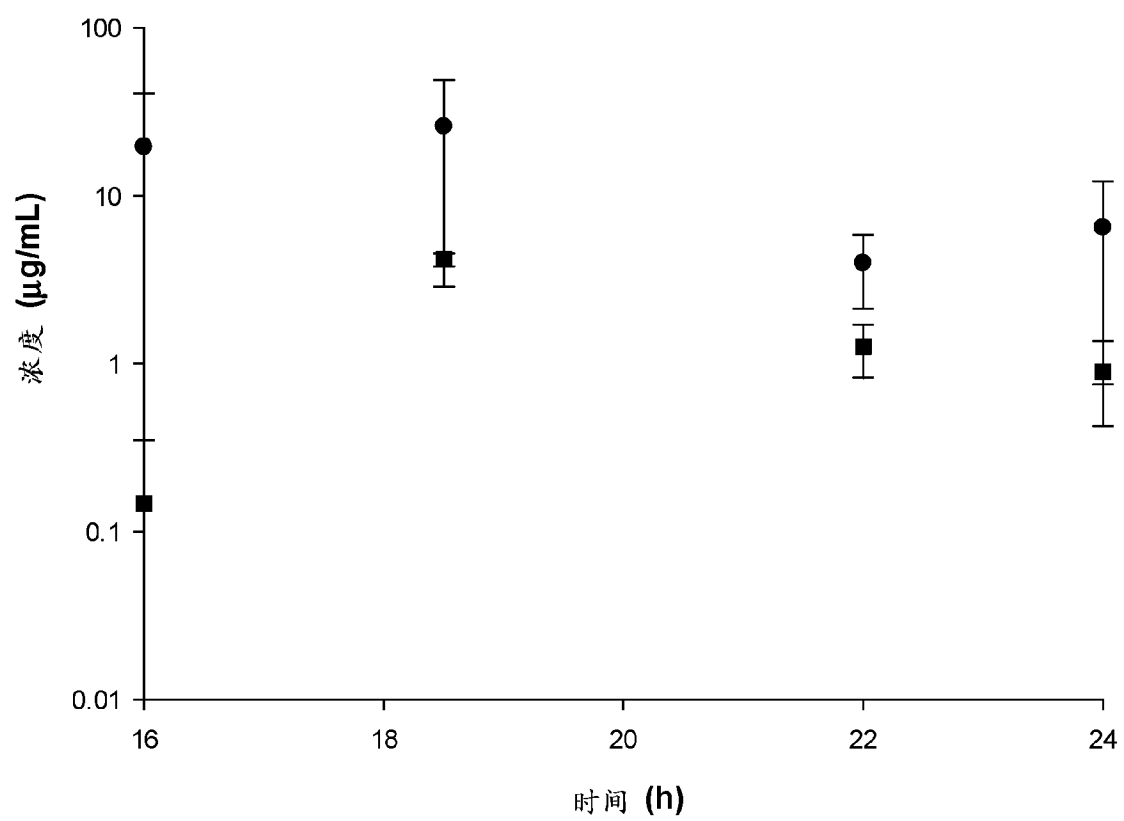


图 4

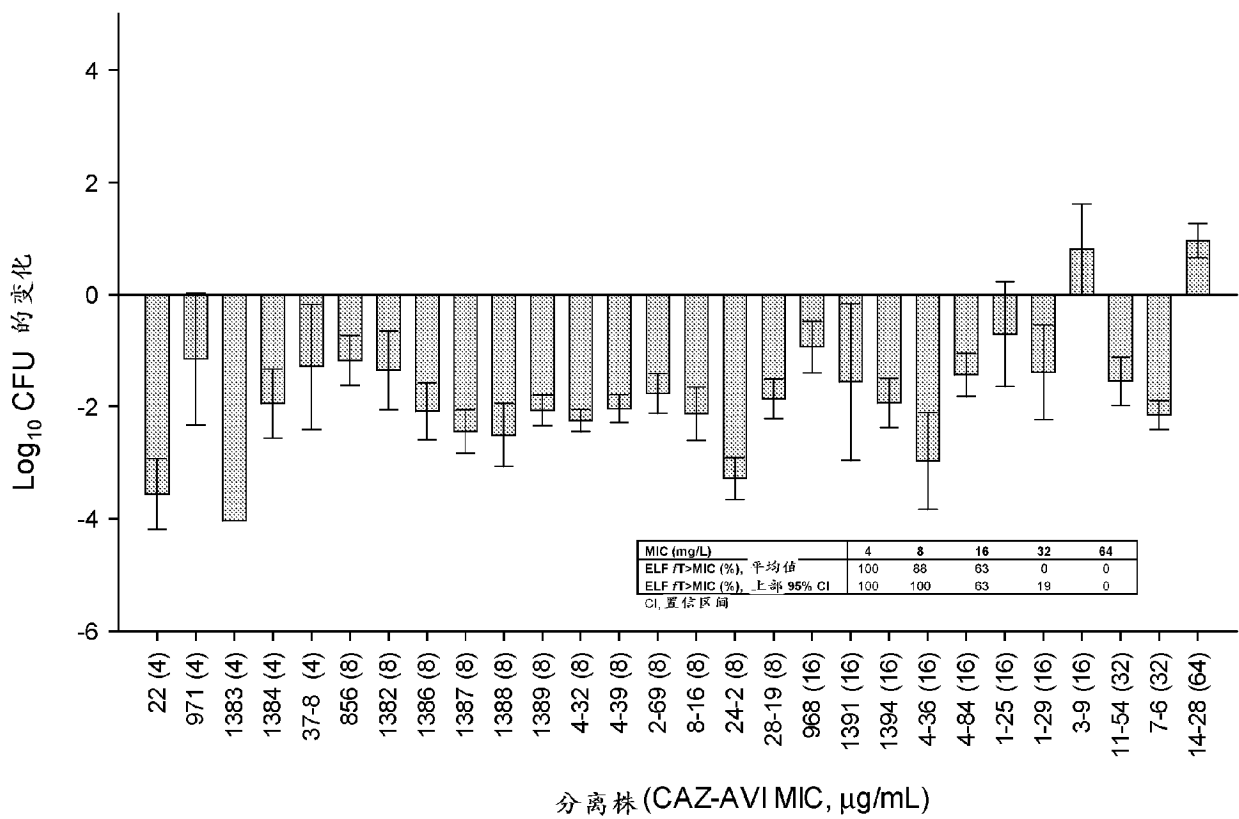


图 5

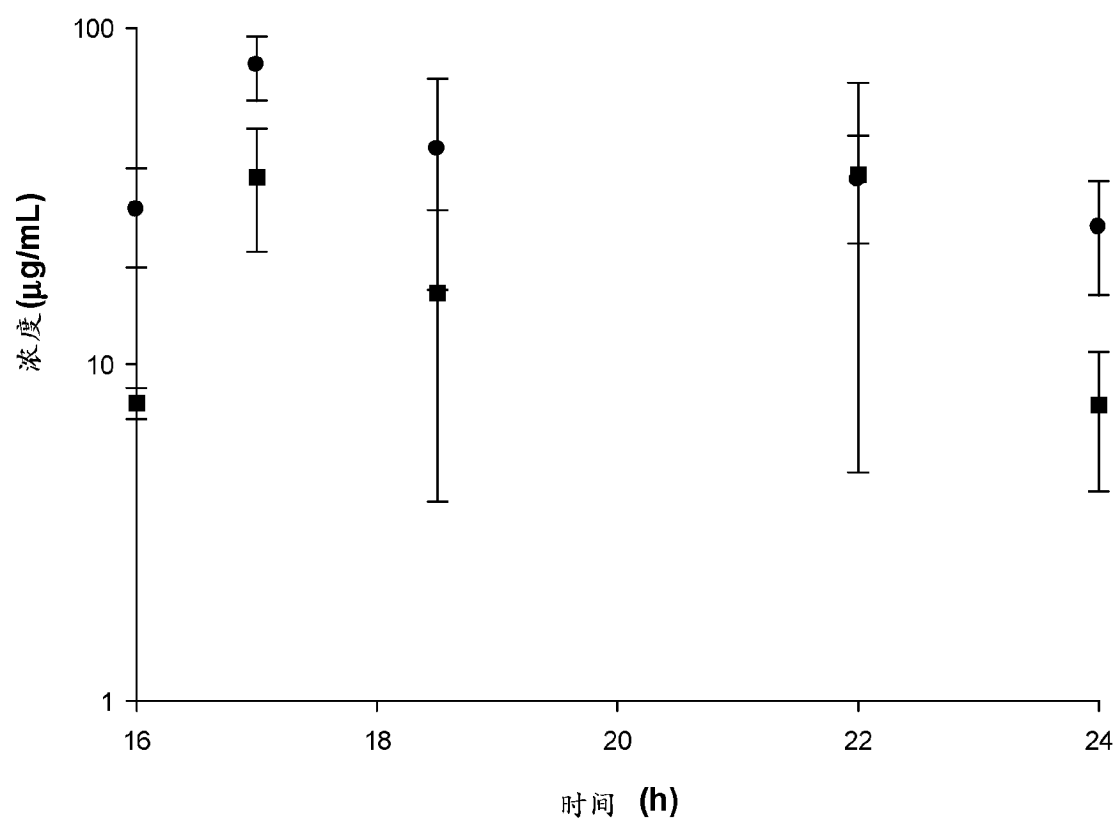


图 6

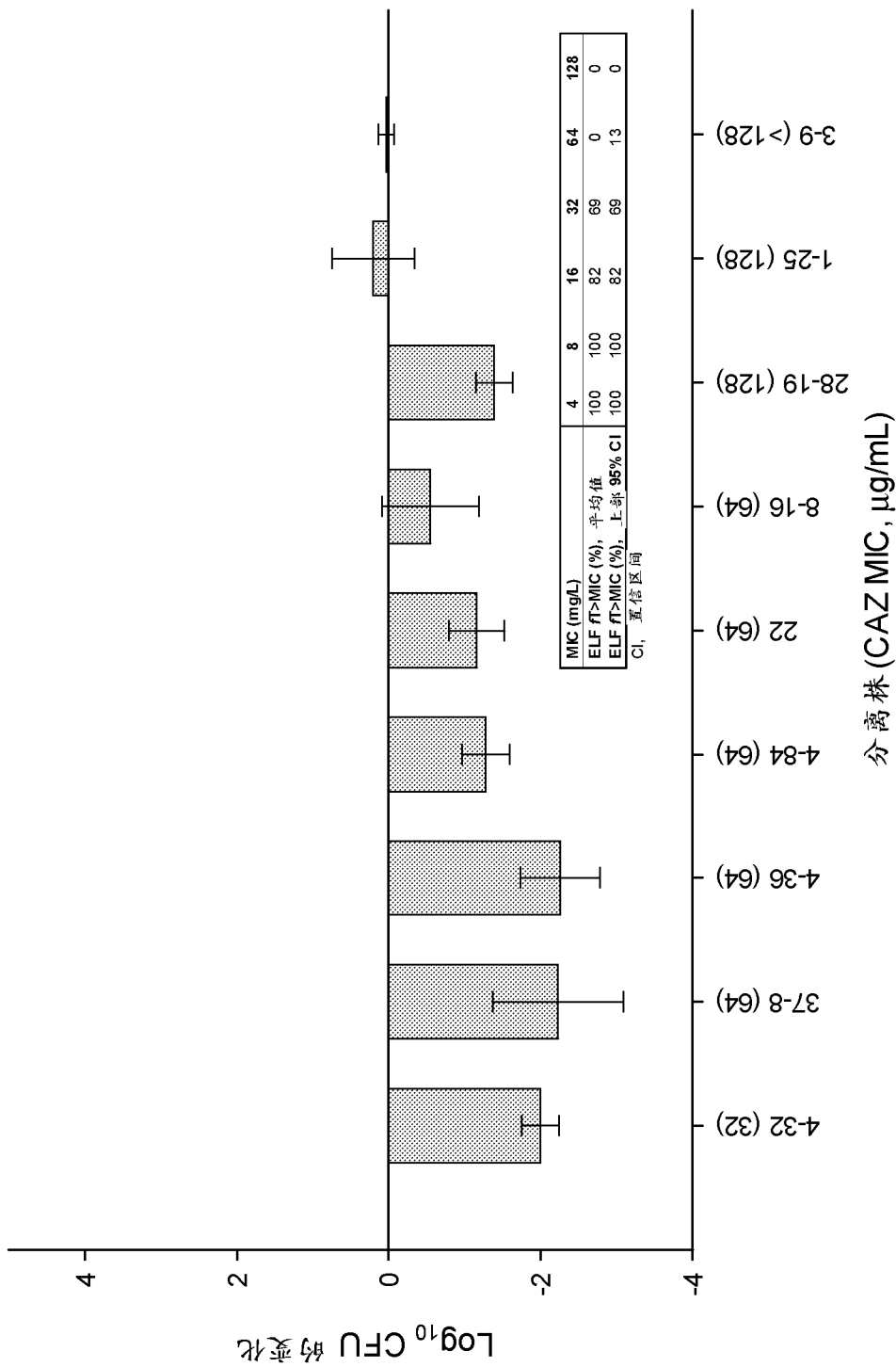


图 7

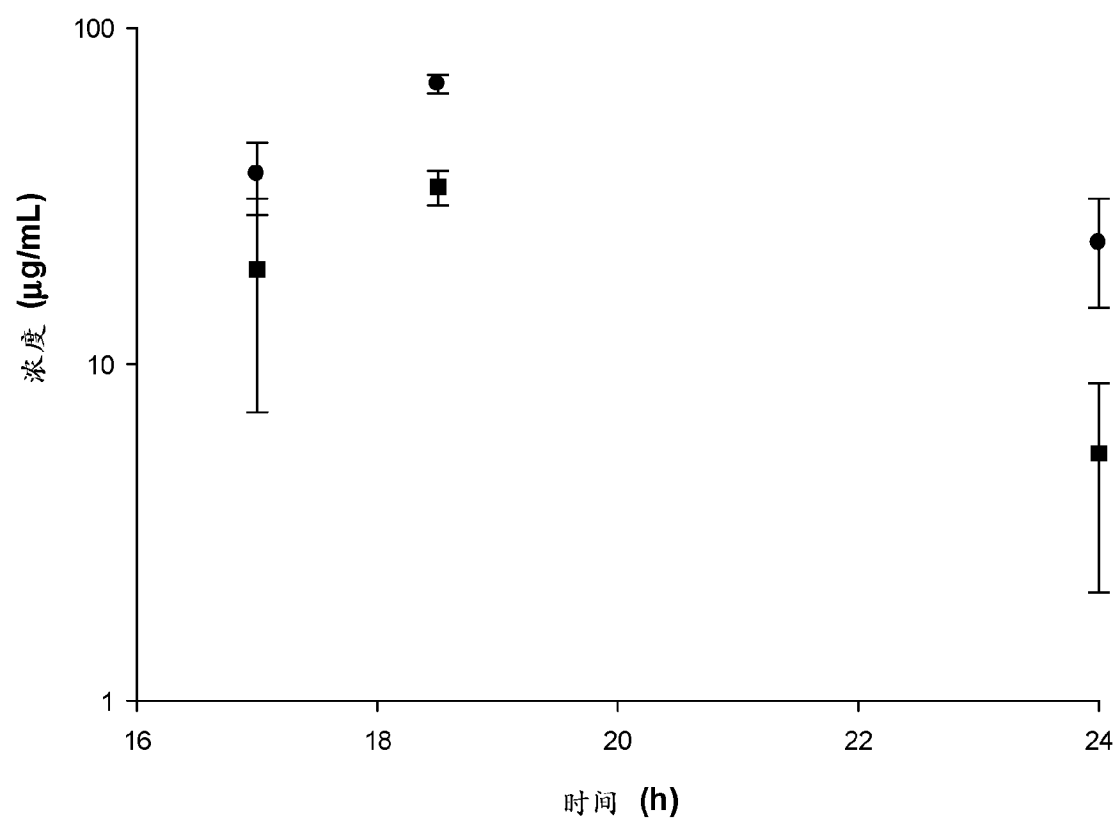


图 8

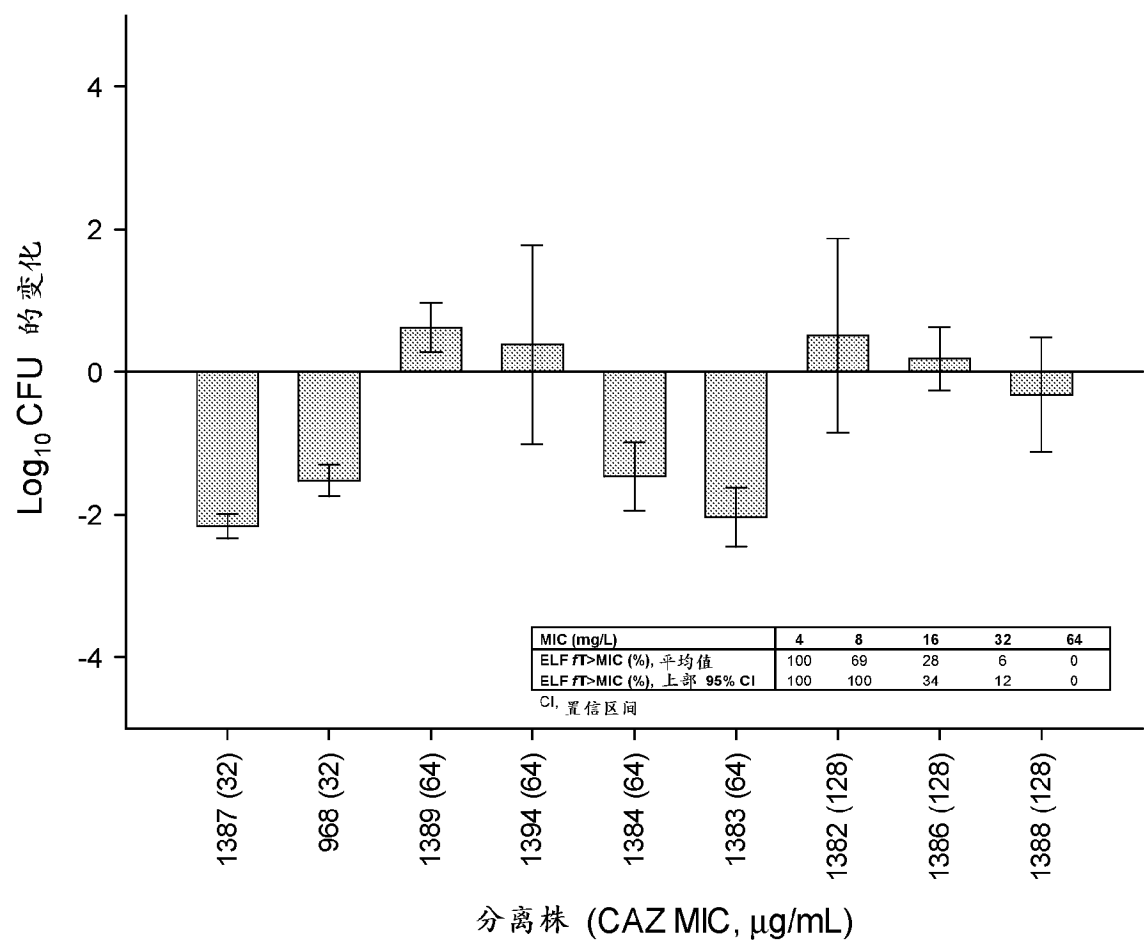


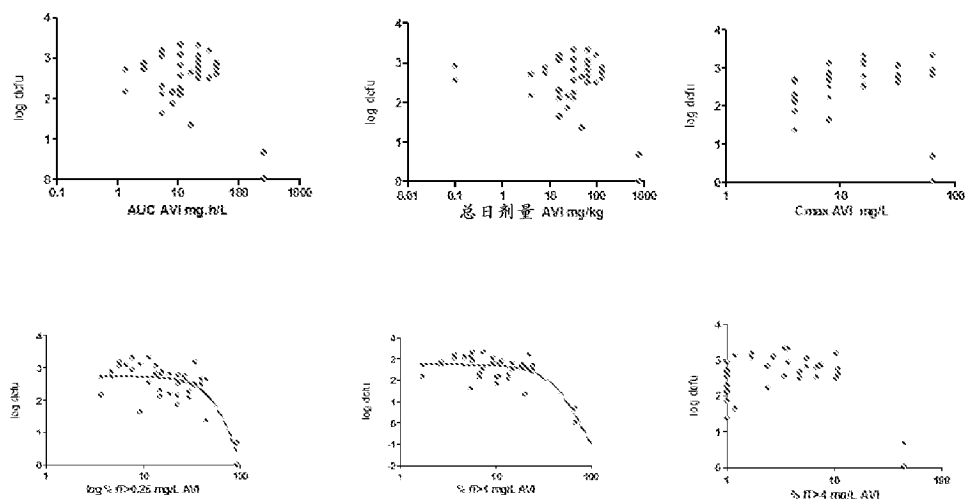
图 9

在用头孢他啶q2h治疗的大腿感染小鼠中阿维巴坦的暴露反应：剂量分级

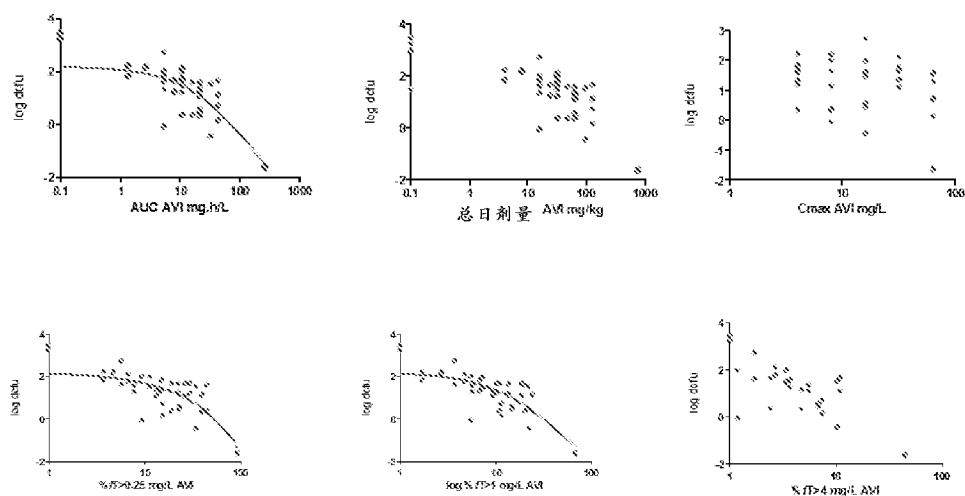
上图：铜绿假单胞菌菌株7 (MIC CAZ=64 mg/L, MIC CAZ-AVI=4 mg/L)

下图：铜绿假单胞菌菌株18 (MIC CAZ=32 mg/L, MIC CAZ-AVI=2 mg/L)

铜绿假单胞菌7 大腿 caz 27.2 mg/kg q2h

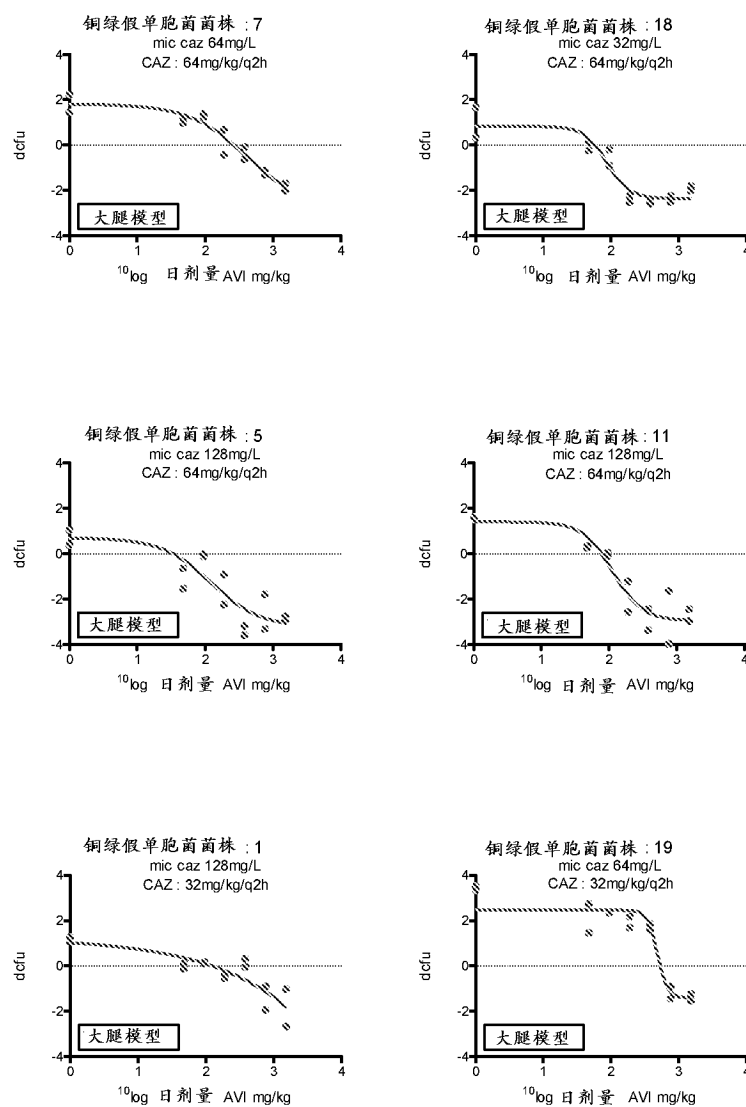


铜绿假单胞菌18 大腿 caz 27.2 mg/kg q2h



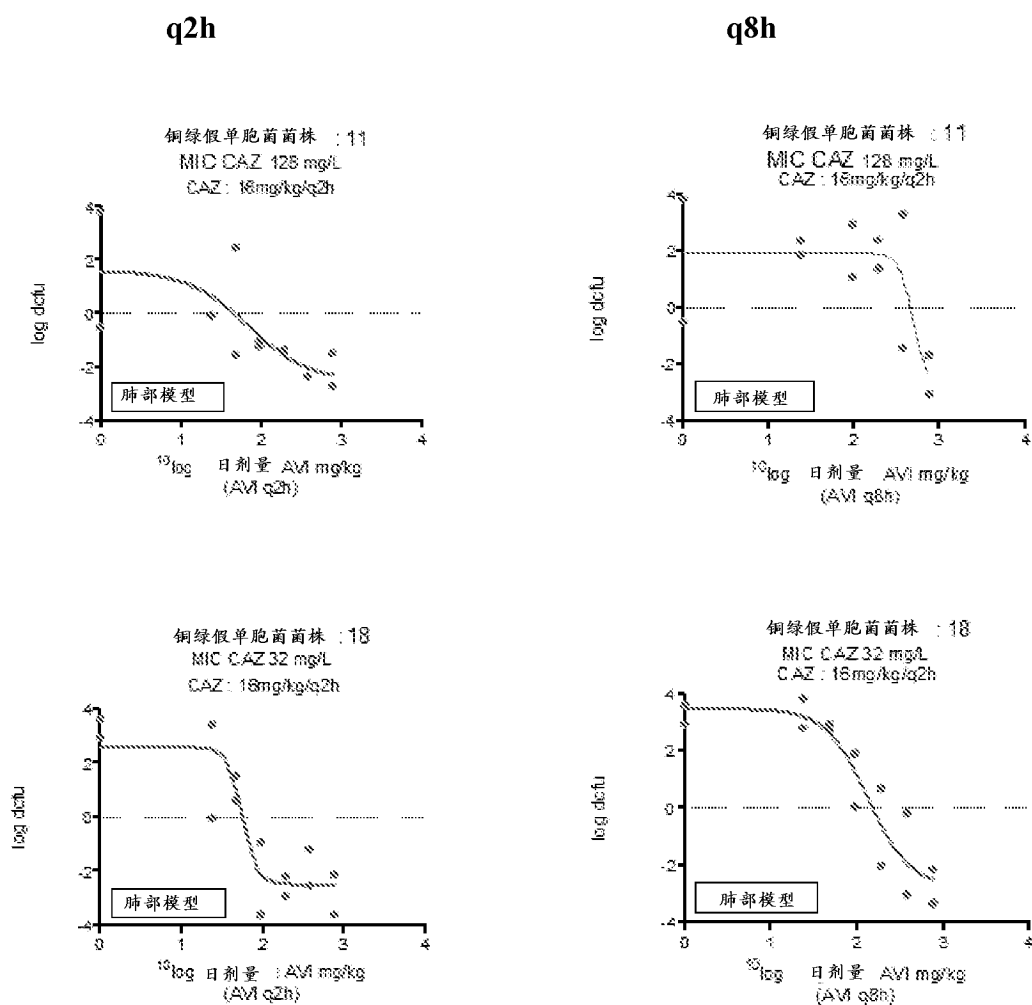
CAZ = 头孢他啶 AVI = 阿维巴坦
dcfu: 与初始接种物相比cfu的变化
AUC = 浓度-时间曲线下的面积

图 10



CAZ = 头孢他啶, AVI = 阿维巴坦
dcfu: 与初始接种物相比cfu的变化

图 11



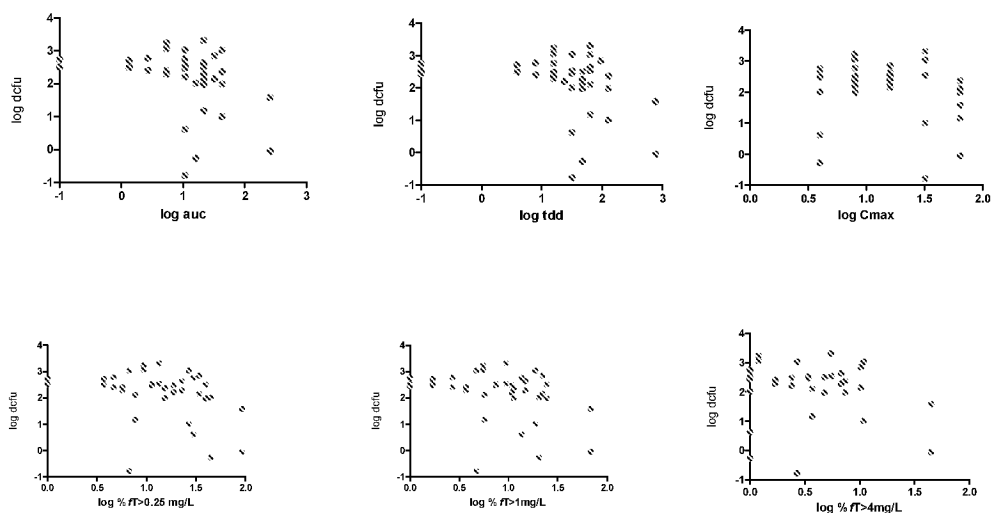
CAZ=头孢他啶, AVI= 阿维巴坦
dcfu: 与初始接种物相比cfu的变化

图 12

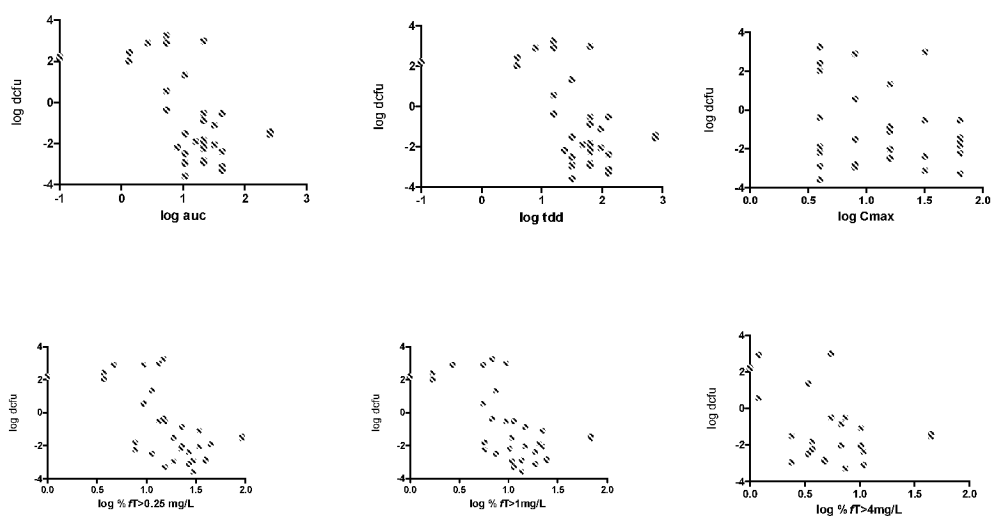
上图：铜绿假单胞菌菌株7 (MIC CAZ=64 mg/L, MIC CAZ-AVI=4 mg/L)

下图：铜绿假单胞菌菌株18 (MIC CAZ=32 mg/L, MIC CAZ-AVI=2 mg/L)

铜绿假单胞菌7 肺部 CAZ 1.87 mg/kg q2h



铜绿假单胞菌18 肺部 CAZ 20.9 mg/kg q2h

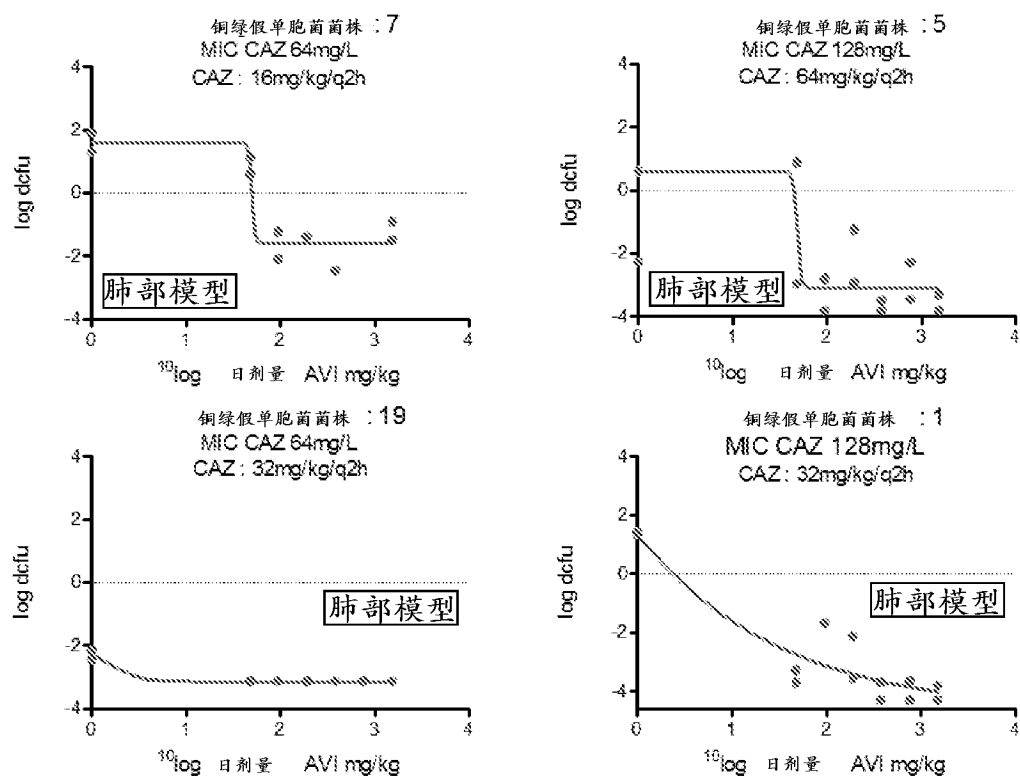


CAZ=头孢他啶, AVI= 阿维巴坦

dcfu: 与初始接种物相比cfu的变化

图 13

对于4株铜绿假单胞菌菌株，在用头孢他啶q2h治疗的肺部感染小鼠中阿维巴坦的暴露反应



dcfu: 与初始接种物相比cfu的变化

图 14