(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107854477 A
(43)申请公布日 2018.03.30

(21)申请号 201711145739.1

(22)申请日 2009.10.24

(30)优先权数据
61/108,110 2008.10.24 US
61/108,137 2008.10.24 US
61/108,112 2008.10.24 US
61/108,168 2008.10.24 US
61/108,134 2008.10.24 US
61/162,109 2009.03.20 US

(62)分案原申请数据
200980146721.0 2009.10.24

(71)申请人 森普拉制药公司
地址 美国北卡罗来纳州

(72)发明人 D·E·佩雷拉 P·B·费尔南德斯

(74)专利代理机构 北京市铸成律师事务所 11313
代理人 郗名悦 张波

(51)Int.Cl.
A61K 31/7056(2006.01)
A61K 31/706(2006.01)
A61P 31/04(2006.01)
A61P 29/00(2006.01)

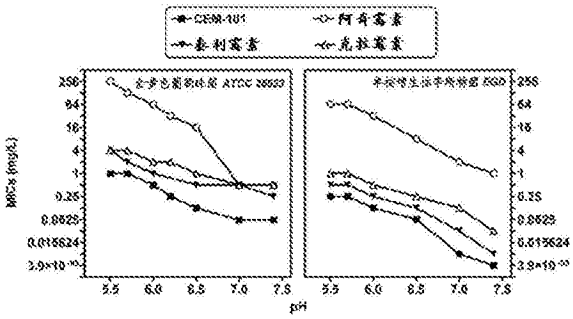
权利要求书2页 说明书98页 附图6页

(54)发明名称

使用含三唑的大环内酯治疗抗性疾病的方法

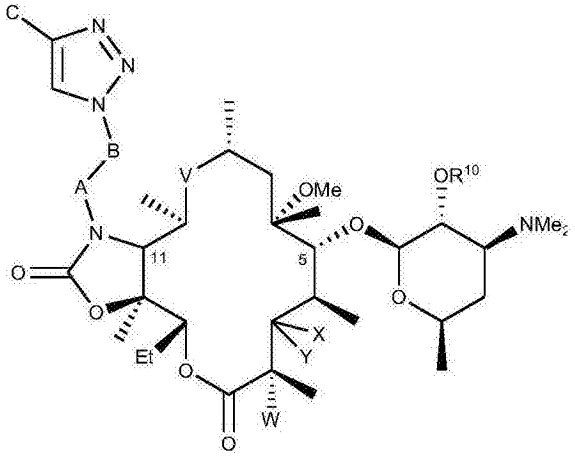
(57)摘要

描述了含三唑的大环内酯和酮内酯抗生素、包含它们的治疗组合物和用于治疗由一种或多种抗性生物体引起的疾病的使用方法。



CN 107854477 A

1.治疗有效量的化合物在制备用于治疗感染的药物中的用途，所述感染至少部分地由对阿奇霉素或克拉霉素或两者为抗性的生物体引起；其中所述生物体除了以下生物体：金黄色葡萄球菌ATCC 29213、肠球菌属ATCC 19434、肺炎克雷伯菌13883、大肠杆菌ATCC 25922、鼠伤寒沙门菌ATCC 14028、肺炎链球菌ATCC 49619、酿脓链球菌ATCC 19615、肺炎链球菌163、肺炎链球菌303、金黄色葡萄球菌33591、流感嗜血杆菌ATCC 49247、肺炎链球菌3773、肺炎链球菌5032、酿脓链球菌1721、酿脓链球菌1850、酿脓链球菌3029和酿脓链球菌3262，并且其中所述化合物为下式的化合物



或其药学上可接受的盐，其中：

R_{10}是氢；

X是H；并且Y是OR_7；其中R_7是二脱氧甲基己糖基；或者X和Y与所连接的碳合起来形成羰基；

V是C(O)；

W是H、F、Cl、Br或I；

A是CH_2；

B是$(CH_2)_n$，其中n是范围在0-10的整数，或者B是2-10个碳的不饱和碳链；且

C是任选地取代的芳基或任选地取代的杂芳基。

2.如权利要求1所述的用途，其中W是H或F。

3.如权利要求1所述的用途，其中B是亚烷基。

4.如权利要求1所述的用途，其中B是$(CH_2)n$，其中n是2-4的整数。

5.如权利要求1所述的用途，其中A-B是亚丁基。

6.如权利要求1所述的用途，其中C苯基、卤代苯基、卤代烷基苯基、氨苯基、吡啶基、或苯并三唑基。

7.如权利要求1所述的用途，其中所述化合物是CEM-101或其药学上可接受的盐。

8.如权利要求1所述的用途，其中所述化合物是CEM-101。

9.如权利要求1-8中任一项所述的用途，其中所述生物体选自人型支原体、肺炎支原体、酿脓链球菌、β-溶血性链球菌、草绿色链球菌组、肺炎球菌、肺炎链球菌、葡萄球菌、脑膜炎奈瑟氏菌、卡他莫拉菌、单核细胞增生李斯特菌、嗜肺军团菌、微小脲原体、解脲脲原体、麻风分枝杆菌或流感嗜血杆菌或其组合。

10.如权利要求1-9中任一项所述的用途，其用于治疗呼吸道感染、泌尿道感染、生殖疾

病、血液传染性感染、脑膜炎、皮肤感染、眼部疾病、咽炎、鼻窦炎、中耳炎、肠胃炎、骨髓炎或关节感染。

使用含三唑的大环内酯治疗抗性疾病的方法

[0001] 本申请为申请日是2009年10月24日、申请号是200980146721.0(PCT/US2009/061977)、发明名称为“使用含三唑的大环内酯治疗抗性疾病的方法”的中国申请的分案申请。

[0002] 交叉参考相关申请

[0003] 本申请根据35USC§119(e)要求2008年10月24日提交的美国临时申请序列号61/108,110、2008年10月24日提交的美国临时申请序列号61/108,112、2008年10月24日提交的美国临时申请序列号61/108,134、2008年10月24日提交的美国临时申请序列号61/108,137、2008年10月24日提交的美国临时申请序列号61/108,168和2009年3月20日提交的美国临时申请序列号61/162,109的优先权,其每个的全部公开内容通过引用并入本文。

技术领域

[0004] 本文中所述的发明涉及治疗抗性疾病,或更具体地,涉及治疗至少部分地由一种或多种抗性生物体引起的疾病。具体而言,本文中所述的发明涉及用含三唑的大环内酯和酮内酯抗生素治疗抗性疾病,或更具体地,治疗至少部分地由一种或多种抗性生物体引起的疾病。

背景技术

[0005] 自从发现红霉素A(ERY)以来,大环内酯抗生素(大环内酯)已经成为治疗多种细菌感染的重要的分子种类。此外,对大环内酯的研究已经导致发现了几种新一代的大环内酯抗生素。一组是克拉霉素(CLR)类化合物,其中环结构通过C-6羟基的甲基化被稳定。另一组是15元环氮杂类似物,阿奇霉素(AZI)是其中众所周知的成员。再一组是3-去糖基-3-氧代类似物,也被称为酮内酯,泰利霉素(TEL)和塞红霉素(CTH)是其中众所周知的成员。然而,如同其它的抗生素类分子(如青霉素、头孢菌素、喹诺酮、万古霉素等)那样,抗性生物体已经遍及全世界出现。大环内酯的抗性(主要在一些国家,如日本和韩国)已经被归因于在过去15年中AZI和CLR的过度使用。还已经观察到大环内酯抗性还通常与青霉素G抗性一起发生(虽然基因上不关联)。例如,虽然A型链球菌的所有菌株仍然易受β-内酰胺的感染,但大环内酯抗性已经出现,特别是在亚洲和在南欧、中欧和东欧。全世界都遇到了由抗药性A型链球菌引起的感染,并且有时会遇到由这些生物体引起的危及生命的感染。此外,酿脓性链球菌株(尽管保留了它们的β-内酰胺易感性)正在变得越来越具有大环内酯抗性。据估计在美国有近40%的链球菌株对青霉素和大环内酯抗生素是抗性的。

[0006] 实际上,据建议将TEL引入到治疗性医疗设备的目的是要解决链球菌中大环内酯抗性的问题。TEL对青霉素和红霉素抗性的肺炎链球菌是有效的,并且不是大环内酯-林可酰胺-链阳菌素B(MLS$_B$)抗性的诱导物。然而,即使对于针对许多大环内酯抗性的酿脓链球菌基因型有效的TEL来说,抗性物种也已经且不断地涌现。特别地,世界范围内已报道了酮内酯抗性物种,即对TEL,但也可能与CTH是交叉抗性的,且最近的是来自欧洲的酿脓链球菌。此外,TEL对erm(B)A型链球菌(其是天然TEL抗性的)不是有效的。而且,观察到的TEL毒

性限制了这一药物的临床实用性。抗性菌株的迅速出现可能并不奇怪;当仔细检查TEL针对大环内酯抗性的肺炎双球菌的游离AUC/MIC(即使具有低MIC)时,观察到的数目不显著高于25。因此,可预计有很大可能产生抗性。

[0007] 另外,虽然儿科结合疫苗已经大幅度减少了由常见的抗药性肺炎球菌克隆体引起的脑膜炎和菌血症,但已经报道了由具有未包括在疫苗中的血清型(19A)的pan抗性菌株引起的严重性中耳炎病例的爆发。因此,引起社区获得性呼吸道感染的抗药性肺炎双球菌的问题(特别是在儿童中)很可能会随着这一克隆体的传播而恶化。

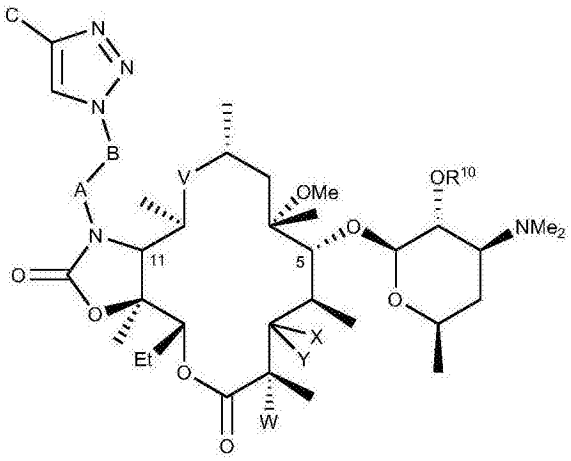
[0008] 已经报道了几种具体的大环内酯抗性机制,包括基于核糖体甲基化的抗性(erm(A)、erm(B))、基于流出物的抗性(mef(A)、mef(E)、mef(I))和起因于rRNA或核糖体蛋白突变(如23S和L4突变)的抗性。

[0009] 因此,对新抗生素和抗菌剂仍有持续的需求。此外,这些新药剂可取的性质是,其产生或诱导抗性的可能性低,并且具有天然抗性的可能性低。

发明内容

[0010] 本文中意外地发现,含三唑的大环内酯(包括酮内酯)针对许多生物体显示出体外和体内高活性。此外,已发现本文中所述的含三唑的大环内酯针对许多抗性生物体(包括大环内酯及酮内酯抗性生物体)显示出体外和体内高活性。

[0011] 在一个示例性实施例中,本文描述了式(I)的化合物:

[0012] 

(I)

[0013] 包括其药学上可接受的盐、水合物、溶剂化物、酯和前药。

[0014] 在一方面,R_{10}是氢或酰基。在另一方面,X是H;Y是OR_7;其中R_7是单糖或二糖、烷基、芳基、杂芳基、酰基或C(O)NR_8R_9,其中R_8和R_9各自独立地选自氢、羟基、烷基、芳烷基、烷基芳基、杂烷基、芳基、杂芳基、烷氧基、二甲基氨烷基、酰基、磺酰基、脲基和氨甲酰基;或者X和Y与所连接的碳合起来形成羰基。

[0015] 在另一方面,V是C(O)、C(=NR_{11})、CH(NR_{12},R_{13})或N(R_{14})CH_2,其中N(R_{14})连接到式1和2的化合物的C-10碳;其中R_{11}是羟基或烷氧基,R_{12}和R_{13}各自独立地选自氢、羟基、aky1、芳烷基、烷基芳基、烷氧基、杂烷基、芳基、杂芳基、二甲基氨烷基、酰基、磺酰基、脲基和氨甲酰基;R_{14}是氢、羟基、烷基、芳烷基、烷基芳基、烷氧基、杂烷基、芳基、杂芳基、二甲基氨烷基、酰基、磺酰基、脲基或氨甲酰基。

[0016] 在另一方面,W是H、F、Cl、Br、I或OH。

[0017] 在另一方面，A是CH_2、C(O)、C(O)O、C(O)NH、S(O)$_2$、S(O)$_2$NH、C(O)NHS(O)$_2$。在另一方面，B是$(CH_2)_n$，其中n是范围在0-10的整数，或者B是2-10个碳的不饱和碳链。在另一方面，C是氢、羟基、烷基、芳烷基、烷基芳基、烷氧基、杂烷基、芳基、杂芳基、氨芳基、烷基氨芳基、酰基、酰氧基、磺酰基、脲基或氨甲酰基。

[0018] 在另一实施例中，本文描述了包含治疗有效量的一种或多种式(I)的化合物或其各种亚类的组合物。药物组合物可包含其它药学上可接受的载体、稀释剂和/或赋形剂。

[0019] 在另一实施例中，本文描述了治疗起因于病原生物体群的疾病的方法。该方法包括向需要缓解由病原生物体引起的疾病或患有所述疾病的患者施用本文中所述的治疗有效量的一种或多种式(I)的化合物或其各种亚类的步骤。

[0020] 在另一实施例中，本文描述了用于药物制备的用途。该药物包括本文中所述的治疗有效量的一种或多种式(I)的化合物或其亚类，或本文中所述的其一种或多种组合物。该药物适合治疗起因于病原生物群的疾病。

附图说明

[0021] 图1，基于在调节的肉汤中的MIC测定比较金黄色葡萄球菌ATCC 25923和单核细胞增生李斯特菌EGD对CEM-101、TEL、AZI和CLR的易感性。

[0022] 图2，在肉汤中(左面；pH值7.4)或者在THP-1巨噬细胞吞噬之后(右面)CEM-101和AZI对金黄色葡萄球菌(ATCC 25923)的短期时间-杀灭效果。两种药物的细胞外使用浓度为0.7mg/升(上面)或4mg/升(下面)。CEM-101和AZI的MIC分别是0.06mg/升和0.5mg/升。所有的值均为三次独立实验的平均值±标准偏差(SD)(当不明显时，SD条比符号小)。

[0023] 图3，在肉汤中(左面)和在THP-1巨噬细胞吞噬之后(右面)CEM-101、TEL、CLR和AZI对金黄色葡萄球菌(ATCC 25923)的浓度-效果关系。纵坐标显示出与初始接种体相比，每ml(肉汤)或每mg的细胞蛋白(THP-1巨噬细胞)的CFU变化(Δlog CFU)。横坐标显示出抗生素的浓度如下：(i)上面，在肉汤中(左)或在培养基(右)中的重量浓度(mg/升)，和(ii)下面，如在pH值为7.4的肉汤中测定的MIC的倍数。所有的值均为三次独立实验的平均值±标准偏差SD)(当不明显时，SD条比符号小)。基于曲线拟合参数整体分析的统计分析(单向方差分析)；唯一显著的差别在肉汤中的CEM-101与AZI之间(P＝0.04)。相关药理学描述符的数值以及它们的差异的统计分析示于表1。

[0024] 图4，CEM-101和AZI对内吞噬性单核细胞增生李斯特菌(EGD株，左面)和嗜肺军团菌(ATCC 33153株，右面)的浓度-效果关系。纵坐标显示出与初始的吞噬后接种体相比，在24h(单核细胞增生李斯特菌)或48h(嗜肺军团菌)时的每mg细胞蛋白中的CFU变化(Δlog CFU)。横坐标显示出抗生素的浓度如下：(i)上面，重量浓度(mg/升)；(ii)下面，pH值为7.4时肉汤中测定的MIC的倍数。所有的值均为三次独立实验的平均值±标准偏差(SD)(当不明显时，SD条比符号小)。

[0025] 图5，37℃下在THP-1细胞中与比较物相比的CEM-101累积(所有药物细胞外浓度是10mg/升)(A)累积的动力学(AZI)；Cc，细胞内浓度；Ce，细胞外浓度)；(B)培养基的pH值对CEM-101(实心符号和实线)和AZI(空心符号和虚线)的累积(30分钟)的影响；(C)莫能菌素(50μM；2-h培育)、维拉帕米(150μM；24-h培育)或吉非贝齐(250μM；24-h培育)对AZI和CEM-101的细胞累积的影响。所有的值均为三次独立实验的平均值±标准偏差(SD)(当不明显

时，SD条比符号小)。

[0026] 图6，细胞内活性：与其它抗葡萄球菌剂的比较研究。抗生素在THP-1巨噬细胞中对抗细胞内金黄色葡萄球菌(ATCC 25923株)的比较剂量-静态响应。条表示MIC(mg/L)或细胞外静态剂量。

[0027] 图7，CEM-101与AZI、CLR和TEL比较的细胞内活性，以从时间0至24小时的Δlog CFU对log剂量的剂量响应曲线表达。

具体实施方式

[0028] 本文中所述的化合物、组合物、方法和药物(包括含三唑的大环内酯和酮内酯)适用于治疗由病原生物体群引起的各种疾病。众所周知的是这种病原生物体引起多种疾病和疾病状态。应当理解，在一些情况下，疾病或疾病状态的特征可能是一些其它潜伏性疾病的症状。在这种情况下，可以理解的是，这种症状或这些症状是可以用本文中所述的化合物、组合物、方法和药物治疗的疾病。

[0029] 在一个实施例中，本文中所述的化合物、组合物、方法和药物适用于治疗呼吸道感染(RTI)，包括社区获得性RTI，如由易感性细菌病原体和/或MLS_B抗性病原体引起或并发的那些。

[0030] 在另一实施例中，本文中所述的化合物、组合物、方法和药物适用于治疗由流感嗜血杆菌引起的疾病，如下呼吸道感染、菌血症、肺炎、中耳炎、结膜炎、鼻窦炎和急性细菌性脑膜炎(如可在婴儿和儿童中发生的)，更具体的是由b型流感嗜血杆菌(Hib)引起的疾病。在另一实施例中，疾病包括蜂窝组织炎、骨髓炎、会厌炎和关节感染。

[0031] 在另一实施例中，本文中所述的化合物、组合物、方法和药物适用于治疗由支原体(包括肺炎支原体、人型支原体、生殖支原体等)引起或并发的疾病。支原体(包括肺炎支原体、人型支原体、生殖支原体和发酵支原体)和脲原体(包括微小脲原体和解脲脲原体)均可造成呼吸道和泌尿生殖道中的感染。可由支原体引起并可用本文中所述的化合物、组合物、方法和药物治疗的示例性疾病包括但不限于：呼吸系统病症，包括非典型性肺炎、人原发性非典型肺炎(PAP)、游走性肺炎等，如可由肺炎支原体引起的；盆腔炎性疾病，如可由生殖支原体引起的；牛传染性胸膜肺炎(CBPP)，如可由丝状支原体引起的，或丝状SC的亚种(小菌落型)等。可由脲原体引起并可用本文中所述的化合物、组合物、方法和药物治疗的示例性疾病包括但不限于：氨解病症(amniolysis disorders)、早产病症等。肺炎支原体是柔膜体类别中非常小的细菌，并且已知能引起支原体肺炎(一种细菌性肺炎的形式)。人型支原体是存在于阴道中的菌株，且被认为是引起盆腔炎性疾病的原因。已知人型支原体经常定殖于性活跃的男性及女性的生殖道。这一细菌也与流产后及产后发烧有关。生殖支原体最初是在1980年从两个患有非淋球菌性尿道炎的男性患者的尿道样本中分离出来的。由生殖支原体导致的感染相当普遍，并且可以在无保护的性交过程中在伴侣之间传染。

[0032] 在另一实施例中，本文中所述的组合物、方法和药物是本文中所述的治疗量的一种或多种化合物，其中治疗有效量能够显示出针对一种或多种支原体和/或脲原体生物体的杀菌活性。在另一实施例中，本文中所述的化合物、组合物、方法和药物适用于治疗由对大环内酯(包括酮内酯)具有抗性的支原体引起或并发的疾病。在另一实施例中，本文中所述的化合物、组合物、方法和药物适用于治疗由对TEL和/或CTH具有抗性的支原体引起或并

发的疾病。在另一实施例中，本文中所述的化合物、组合物、方法和药物适用于治疗由对CLR具有抗性的支原体引起或并发的疾病。在另一实施例中，本文中所述的化合物、组合物、方法和药物适用于治疗由对多西环素具有抗性的支原体引起或并发的疾病。

[0033] 应当理解的是，据报道大环内酯已经是成人和儿童的肺炎支原体呼吸道感染的治疗选择，因为它们具有在口服制剂中安全和耐受性良好的优点，具有不依赖于其抗菌活性的抗炎性质，并且具有抵抗能引起类似临床疾病的其它微生物的活性。这些性质也使得大环内酯对于经验性治疗是有吸引力的，因为大多数支原体感染从未通过微生物测试得到证实。然而，许多大环内酯缺乏针对发酵支原体和人型支原体的活性。此外，据建议大环内酯抗性将在肺炎支原体中自然产生的可能性是合理的，因为在基因组中只有单一的rRNA操纵子，且23S rRNA的域V中的体外选择的点突变降低了它们对核糖体的亲和力。

[0034] 举例来说，最近的出版物已经确认在10-33％的肺炎支原体分离物中出现了大环内酯抗性，这对患者的治疗结果可能具有临床意义。据报道，这些分离物通常具有在23S rRNA的域V中的突变，并且红霉素MIC为32->64μg/ml。来自中国上海的最新报道描述到，39/50(78％)的肺炎支原体是大环内酯抗性的。美国疾病控制和预防中心描述到，来自最近爆发的肺炎支原体感染的11个病例中有3例(27％)是大环内酯抗性的，并且具有23S rRNA突变。此外，据报道，在阿拉巴马州伯明翰有两名患下呼吸道大环内酯抗性肺炎支原体感染的儿科患者最初对用AZI的治疗没有反应，需要数天的住院治疗(Xiao等人，Emerging macrolide resistance in Mycoplasma pneumoniae in children:detection and characterization of resistant isolates.Pediatr Infect Dis J In Press(2009))。已经描述了生殖支原体中的氟喹诺酮抗性(Bebear等人，In vitro activity of trovafloxacin compared to those of five antimicrobials against mycoplasmas including Mycoplasma hominis and Ureaplasma urealyticum fluoroquinolone-resistant isolates that have been genetically characterized.Antimicrob Agents Chemother44:2557-60(2000)；Duffy等人，Fluoroquinolone resistance in Ureaplasma parvum in the United States.J Clin Microbiol44:1590-1(2006))，现在在一些人群中四环素抗性可能超过40％(Waites等人，Mycoplasmas and ureaplasmas as neonatal pathogens.Clin Microbiol Rev 18:757-89(2005))。在生殖支原体中也记载有与临床治疗失败相关的AZI抗性(Jensen等人，AZI treatment failure in Mycoplasma genitalium-positive patients with nongonococcal urethritis is associated with induced macrolide resistance.Clin Infect Dis47:1546-53(2008))。尽管存在这些挑战，但已经发现，本文中所述的含三唑的大环内酯和酮内酯适用于治疗至少部分地由支原体和/或脲原体(包括对其它抗菌剂、大环内酯和酮内酯(如TEL和CTH)为抗性的支原体和/或脲原体)引起的疾病，如尿道炎以及尿道和泌尿生殖道的其它感染。

[0035] 在另一实施例中，本文中所述的化合物、组合物、方法和药物适用于治疗由军团菌属(如嗜肺军团菌等)引起或并发的疾病。已知嗜肺军团菌能引起军团杆菌病，也称为军团病。

[0036] 在另一实施例中，本文中所述的化合物、组合物、方法和药物适用于治疗由葡萄球菌和/或链球菌生物体引起或并发的疾病，如皮肤与皮肤组织感染(SSSI)。在一种变化形式中，SSSI为并发性SSSI。在另一种变化形式中，SSSI为非并发性SSSI。由金黄色葡萄球菌引

起或并发的示例性疾病包括但不限于轻微的皮肤感染(如丘疹、脓包病、疖、蜂窝组织炎、毛囊炎、)、疔疮、痈、烫伤样皮肤综合征和脓肿;和更严重或甚至是致命的疾病,如肺炎、脑膜炎、骨髓炎、心内膜炎、中毒性休克综合征(TSS)和败血病。

[0037] 在另一实施例中,本文中所述的化合物、组合物、方法和药物适用于治疗由淋球菌引起或并发的疾病。淋病奈瑟菌感染的症状依感染部位的不同而不同。由淋球菌引起或并发的示例性疾病包括可导致生殖器化脓性(或脓样)流出、炎症、发红、肿胀、排尿困难和/或排尿时有灼痛感的淋球菌性和非-淋球菌性尿道炎。女性生殖器感染淋病奈瑟菌可导致盆腔炎性疾病,如果不治疗,可导致不育。如果不治疗,盆腔炎性疾病可导致淋病奈瑟菌(经子宫颈、子宫内膜和输卵管)进入盆腔腹膜。

[0038] 在另一实施例中,本文中所述的化合物、组合物、方法和药物适用于治疗由一种或多种奈瑟氏菌(如脑膜炎奈瑟氏菌,包括对萘啶酸为抗性的生物体)引起或并发的疾病。本文中应当理解的是,对萘啶酸的抗性可能与对氟喹诺酮的抗性相关。因此,在另一实施例中,本文中所述的化合物、组合物、方法和药物适用于治疗由一种或多种奈瑟氏菌(如对氟喹诺酮(如甲氧苄啶/磺胺甲噁唑)为抗性的脑膜炎奈瑟氏菌)引起或并发的疾病。脑膜炎奈瑟氏菌感染可在鼻咽中发生。

[0039] 当存在于其它组织中时,淋病奈瑟菌也可引起结膜炎、咽炎、直肠炎或尿道炎、前列腺炎和睾丸炎。例如,据报道结膜炎在新生儿中是常见的;因此往往将硝酸银或抗生素作为预防淋病的措施应用于新生儿的眼部。当婴儿在产道中接触到淋病奈瑟菌时会染上新生儿淋病性结膜炎,并可导致角膜结疤或穿孔。也可能发生淋病奈瑟菌感染的传播,导致心内膜炎、脑膜炎和/或淋球菌性皮炎-关节炎综合征。皮炎-关节炎综合征往往伴有关节痛、腱鞘炎和/或无痛非瘙痒性皮炎。

[0040] 在另一实施例中,本文中所述的化合物、组合物、方法和药物适用于治疗由肠球菌(包括粪肠球菌)引起或并发的疾病。肠球菌引起或促进诸如泌尿道感染、菌血症、细菌性心内膜炎、憩室炎和脑膜炎之类的疾病。

[0041] 在另一实施例中,本文中所述的化合物、组合物、方法和药物适用于治疗由脲原体属(如微小脲原体、解脲脲原体等)引起或并发的疾病。已报道解脲脲原体与人的许多疾病有关,包括非特异性尿道炎(NSU)、不育、绒膜羊膜炎、死产、早产和产期肺炎、支气管肺发育异常及脑膜炎。

[0042] 在另一实施例中,本文中所述的化合物、组合物、方法和药物适用于治疗由衣原体属(包括沙眼衣原体、肺炎衣原体等)引起或并发的疾病。如同淋球菌一样,衣原体依被感染的器官或组织的不同而引起不同的疾病。据报道衣原体属引起生殖疾病。例如,肺炎衣原体在世界范围内被公认为是呼吸道感染的重要病原体,是社区获得性肺炎的几乎10%病例的原因。子宫颈的衣原体感染(宫颈炎)是性传播疾病,感染该疾病的妇女约50-70%是无症状的。然而,感染可通过阴交、肛交和/或口交传播。即使无症状,在大约一半的感染者中,检测不到的衣原体感染也将发展成盆腔炎性疾病(PID)。PID是子宫、输卵管和/或卵巢感染的通用术语。PID可在生殖器官内导致疤痕,之后引起更严重的并发症,包括慢性盆腔疼痛、怀孕困难、宫外孕(输卵管妊娠)以及其它危险的妊娠并发症。此外,据报道如果接触HIV的话,衣原体感染的妇女感染HIV的可能性多出高达五倍。在男性中,据报道衣原体在约50%的病例中显示出为感染性尿道炎(尿道炎症)的症状。如果不治疗,男性中的衣原体可能扩散到睾

丸中引起附睾炎，如果不治疗的话，在罕见病例中可导致不育。也有表明衣原体是男性前列腺炎的潜在原因。

[0043] 据报道衣原体还引起眼部疾病，特别是由于衣原体感染引起的结膜炎。衣原体结膜炎或沙眼曾经是全世界失明的最重要的原因，但据报道其作用减小了。新生儿在分娩时经接触产道中的生物体也可能发展出衣原体眼部感染。据报道衣原体还引起风湿症状，如反应性关节炎或关节炎三联征、结膜炎和尿道炎，特别是在年轻男性中。据报道衣原体还引起产期感染。据报道，所有由带有衣原体的母亲生下的婴儿中，多达一半出生时就患有该病。衣原体可通过引起自发性流产、早产、结膜炎(可导致失明)和肺炎而影响婴儿。据报道衣原体也引起其它症状，如由沙眼衣原体引起的性病性淋巴肉芽肿(淋巴结和淋巴系统的感染)。性病性淋巴肉芽肿通常表现为生殖器溃疡和腹股沟中的淋巴结肿大，但也可表现为直肠炎(直肠炎症)、发烧或身体其它部分中的淋巴结肿大。

[0044] 在另一实施例中，本文中所述的化合物、组合物、方法和药物适用于治疗由链球菌属(如肺炎链球菌、酿脓链球菌、α-溶血链球菌、草绿色链球菌组、兰斯菲尔德A和B组的β-溶血性链球菌(也称为“A组链球菌”和“B组链球菌”)等)引起或并发的疾病。据报道某些链球菌属物种也是(除了链球菌性喉炎外)脑膜炎、细菌性肺炎、心内膜炎、丹毒和坏死性筋膜炎(也称为食肉细菌感染)病例的原因。在医疗环境中，最重要的组是

[0045] 在另一实施例中，本文中所述的化合物、组合物、方法和药物适用于治疗血液传染性疾病，如可由许多病原生物体引起的菌血症。

[0046] 在另一实施例中，本文中所述的化合物、组合物、方法和药物适用于治疗诸如以下之类的疾病，如：呼吸道感染(RTI)(包括社区获得性RTI，如社区获得性肺炎(CAP)、社区获得性细菌性肺炎(CABP)和医源性RTI、鼻窦炎、慢性支气管炎、咽炎、中耳炎、哮喘等)、皮肤与皮肤组织感染(SSSI)(包括并发及非并发SSSI等)、泌尿道感染(UTI)(包括尿道炎、淋病、非-GC尿道炎、前列腺炎等)、血源性细菌感染(如菌血症等)、旅行者腹泻等。

[0047] 在每个前述实施例中，应当理解的是，本文中所述的化合物、组合物、方法和药物可用于治疗起因于对其它化合物为抗性的各种生物体(包括对青霉素、头孢菌素、喹诺酮、万古霉素和/或大环内酯(包括酮内酯，如TEL和CTH)为抗性的生物体)的疾病。示例性地，本文中描述了适用于治疗由人的临床上重要的支原体和脲原体物种(包括AZI和TEL-抗性的肺炎支原体、多西环素-抗性的人型支原体和多西环素-抗性的脲原体属)引起的疾病的化合物、组合物、方法和药物。

[0048] 在每个前述实施例中，该方法包括施用一种或多种式(I)的化合物和/或任何本文中所述的式(I)的各亚类和/或任何一种或多种前述化合物的药物组合物的步骤。对患有至少部分地由本文中所述的一种或多种生物体引起的疾病或需要缓解所述疾病的患者施用所述化合物和/或组合物。在另一实施例中，所述疾病至少部分地由对一种或多种大环内酯抗生素显示出抗性的一种或多种生物体引起。在另一实施例中，所述疾病至少部分地由对一种或多种酮内酯抗生素显示出抗性的一种或多种生物体引起。在另一实施例中，所述疾病至少部分地由选自以下的一种或多种生物体引起：MRSA、MRSA 300(CA)、VRSA、大环内酯-林可酰胺-链阳菌素B(MLS_B)抗性的生物体、MDR肺炎球菌、肺炎链球菌血清型19A(也称为多抗药性肺炎球菌血清组19A)、红霉素抗性的酿脓链球菌、红霉素抗性的葡萄球菌或具有至少一个erm(B)、erm(A)、mef(A)、mef(E)、mef(I)、erm(B)+mef(A)、L4或23S核糖体蛋白突变

或其组合的肺炎链球菌。在另一实施例中，所述疾病至少部分地由一种或多种酿脓链球菌引起。在另一实施例中，所述疾病至少部分地由一种或多种肺炎链球菌引起。在另一实施例中，所述疾病至少部分地由选自酿脓链球菌和带有任何一个或多个erm(B)、erm(A)、mef(A)、mef(E)、mef(I)、erm(B)+mef(A)、L4或23S核糖体蛋白突变的肺炎链球菌以及它们的组合的一种或多种生物体引起。在另一实施例中，所述疾病至少部分地由选自红霉素抗性的酿脓链球菌和带有至少一个erm(B)、erm(A)、mef(A)、mef(E)、mef(I)、erm(B)+mef(A)、L4或23S核糖体蛋白突变的肺炎链球菌以及它们的组合的一种或多种生物体引起。在另一实施例中，所述疾病至少部分地由选自带有至少一个erm(B)、erm(A)、mef(A)、erm(B)+mef(A)、L4或23S核糖体蛋白突变的肺炎链球菌以及它们的组合的一种或多种生物体引起。在另一实施例中，所述疾病至少部分地由对CLR为抗性的一种或多种生物体引起。在另一实施例中，所述疾病至少部分地由对AZI为抗性的一种或多种生物体引起。在另一实施例中，所述疾病至少部分地由对TEL为抗性的一种或多种生物体引起。在另一实施例中，所述疾病至少部分地由对CTH为抗性的一种或多种生物体引起。

[0049] 在每个前述实施例中，所述方法包括对患有至少部分地由选自以下的一种或多种生物体引起的疾病或需要缓解所述疾病的患者施用一种或多种式(I)的化合物和/或任何本文中所述的式(I)的各亚类和/或任何一种或多种前述化合物的药物组合物的步骤：淋球菌，如淋病奈瑟菌；支原体，如肺炎支原体、生殖支原体、发酵支原体和人型支原体；脲原体，包括微小脲原体和解脲脲原体；莫拉克菌属，包括卡他莫拉菌；肠球菌，包括粪肠球菌；葡萄球菌，包括金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌、MSSA、MRSA、MRSA 300和VRSA；链球菌属，包括肺炎链球菌，如血清型19A肺炎链球菌、红霉素抗性酿脓链球菌、凝固酶阴性葡萄球菌、新发TEL-抗性β-溶血性链球菌；溶血性嗜血杆菌，包括β溶血性链球菌、缓症链球菌和草绿色组链球菌；衣原体，包括肺炎衣原体和沙眼衣原体；流感嗜血杆菌、副流感嗜血杆菌；军团菌属，如嗜肺军团菌；李斯特菌，如单核细胞增生李斯特菌；奈瑟氏菌属，如脑膜炎奈瑟氏菌；麻风分枝杆菌；芽孢杆菌属；棒状杆菌属；微球菌属；和厌氧生物体。

[0050] 据意外的发现，像CEM-101之类的化合物与TEL相比对TEL易感的分离物显示出类似的活性，但对TEL中间体和TEL抗性分离物则显示出较低的MIC，如在本文中所述具有确定的对大环内酯和酮内酯(如TEL)为抗性的CAP的肺炎链球菌的比利时保藏物中。本文中所述的化合物在所有测试的MLSB-酮内酯药剂(包括AZI、CLR、ERY、TEL、克林霉素(CLN)和Synercid®(SYN))中显示出对RTI病原体最广谱及最佳的活性，比得上对左氧氟沙星(LEV)的谱及活性。例如，CEM-101MIC值对肺炎链球菌、嗜肺军团菌和流感嗜血杆菌分别为≤0.5和≤4μg/ml。

[0051] 不受理论的约束，据信对本文中所述的化合物可观察到的疗效可至少部分地归因于化合物的一种或多种特征，包括本文中所述化合物的细胞内累积、细胞内活性、以高浓度向许多隔室的分布、对抗性生物体的高活性、对可诱导的抗性的低可能性和低可诱导的抗性以及杀菌活性。本文中意外地发现，本文中所述的化合物不是PGP底物或者是较差的PGP底物。

[0052] 酮内酯在结构上不同于大环内酯，(1)缺少3-O-克拉定糖，(2)存在3-酮基，和(3)在本文中所述化合物的情况中，存在与细菌核糖体的域II相互作用的芳香官能团。本文中据信除了常见于大环内酯的其它相互作用外，酮内酯(如本文中所述的化合物)也另外具有

与核糖体的相互作用，包括连接至2-氟(当存在时)的H-键、与3-氧代基团的相互作用和与连接到C-11、C-12环氨基甲酸酯的侧芳族基团的相互作用。不受理论的约束，据信这些特征促进了本文中所述化合物对抗性生物体的活性、观察到的低可诱导的抗性和/或杀菌活性。

[0053] 在另一实施例中，本文中所述的化合物对大环内酯(包括酮内酯)抗性生物体是活性的，并且产生抗性的可能性低，和/或可诱导的抗性率低。不受理论的约束，据信化合物更紧密地结合至感染生物体的核糖体。此外，虽然还是不受理论的约束，但本文中据信化合物更紧密地和/或以不同于其它大环内酯乃至其它酮内酯的方式结合至感染生物体的核糖体。特别地，本文中据信本文所述的化合物以不同的取向结合至核糖体。此外，本文中据信本文所述的化合物具有与其它大环内酯或酮内酯核糖体的另外的结合位点，使得能够更紧密地结合。在每个前述实施例中，本文中据信1,2,3-三唑是本文中所述的化合物与其它大环内酯和酮内酯之间的结合相互作用之差异的原因。

[0054] 举例来说，导致大环内酯抗性的常见机制涉及见于23S RNA的域V中的关键性细菌核糖体核苷酸(A2058EC)的Erm-介导的甲基化。结果表明这一核苷酸在大环内酯抗生素通过与大环内酯去氧糖胺糖的相互作用的核糖体结合中起主要作用。A2058的甲基化有效地干扰去氧糖胺糖的结合，从而降低了大环内酯对细菌核糖体的结合亲和力。关于本文中所述的化合物对大环内酯抗性细菌的活性增强，可能的解释源于通过侧芳基-1,2,3-三唑基侧链的另外的域II相互作用。已经提出这一另外的相互作用有助于补偿抗性细菌中的域V结合位点处的变动。此外，虽然不受理论的约束，并且与其它大环内酯或酮内酯不同，但据信本文中所述的化合物能够结合核糖体RNA的域II和V，并且能够保持对大环内酯抗性的肺炎支原体的体外活性，所述大环内酯抗性的肺炎支原体由于A2063G突变的原因已经改变了在域V中的结合位点。例如，一种这样的化合物CEM-101具有比TEL对人支原体更低的MIC。CEM-101保持了对两种AZI抗性肺炎支原体的体外活性，MIC为0.5μg/ml，而TEL MIC为4μg/mL，超过了用于表明对其它菌种的易感性的1μg/mL的断点。对肺炎支原体组整体的MIC_{50}与对两种抗性分离物的MIC之间的差别在对每种药物的14个二倍稀释物中是相同的。因此，因此，当治疗至少部分地由支原体引起的疾病时，CEM-101体外MIC的适度降低在体内可能更显著(profound)。还意外地发现，CEM-101和CEM-103(101的3-克拉定糖)都显示出与核糖体erm-二甲基化在A2058的显著结合。CEM-103是具有3-克拉定糖而不是3-氧代基团的CEM-101的大环内酯类似物，因此认为1,2,3-三唑是本文中所述化合物与其它大环内酯和酮内酯之间的结合相互作用差异之原因的理论得到了支持。

[0055] 此外，本文中所述的化合物具有对于可诱导的抗性的低可能性和/或低可诱导的抗性。在单步抗突变性以及在导致抗性的多步中，当使菌株暴露于4X、8X和16XCEM-101MIC，测试4株中的任一者时，未观察到突变体的生长。生物体的突变率是：粪肠球菌$<4.0X\ 10^{-9}$，金黄色葡萄球菌$<6.0X\ 10^{-9}$，肺炎链球菌$<6.4X\ 10^{-8}$至$<1.4X\ 10^{-9}$。在传递抗微生物剂的亚抑制浓度期间，在测试抗性选择的18个分离物中，对于八株(44.4％)未观察到CEM-101的MIC值的显著变化(大于±一个$\log_2$稀释)，包括一个金黄色葡萄球菌、三个肠球菌、三个肺炎链球菌和一个β-溶血性链球菌。剩余的菌株显示出CEM-101MIC的四倍(七株)至八倍(三株)的适度增加，在无抗微生物剂的培养基中三次连续的每日传代之后，MIC值没有逆转(reversion)或只有两倍的减少。当与其它所评价的药剂比较时，传递亚抑制浓度期间对CEM-101的抗性选择没那么全面。

[0056] 在另一实施例中，本文描述了细胞内活性的化合物。本文中还发现含三唑的大环内酯的细胞内累积和细胞内活性不受Pgp或多药抗性蛋白(MRP)抑制剂的影响。因此，据信本文中所述的化合物不是P-糖蛋白(血浆或渗透性糖蛋白，Pgp)的底物或者是P-糖蛋白的较差底物。应意识到，Pgp是流出物机制，其可导致针对某些抗生素的一些生物体的抗性，如在巨噬细胞中对AZI和ERY报道的那样，其中两种抗生素都是P-糖蛋白的底物。因此，已经意外地发现，本文中所述的化合物在细胞内累积。除了细胞内累积外，还已经意外地发现，本文中所述的含三唑的大环内酯和酮内酯的化合物具有高的细胞内活性。本文中还已经意外地发现，在较低的pH值下，如在见于细菌感染(包括但不限于脓肿)的pH值下，本文中所述的化合物与通常的大环内酯相比具有较低的蛋白结合性。应意识到，用抗菌剂(包括其它大环内酯和酮内酯)通常观察到的缺少细胞内活性可归因于高的蛋白结合性和/或归因于细胞内隔室的相对较低的pH值(如脓肿中所存在的)。

[0057] 然而，即使在没有被活性流出物除去的时候，其它抗菌剂(包括其它大环内酯和酮内酯)在巨噬细胞中的浓度也可能不会有效地治疗疾病，因为溶酶体隔室的pH值低。例如，吞噬溶酶体占优势的酸性环境(其中金黄色葡萄球菌在其细胞内阶段期间停留)可削弱抗生素(如AZI、CLR和TEL)的活性。已经意外地发现，本文中所述的化合物在低pH值条件下保持它们的抗菌活性。应意识到，本文中所述的化合物的细胞内活性对于快速和完全根除以及也可能防止靶生物体中的抗性来说可能是重要的决定因素。

[0058] 缺乏有效的抗微生物治疗导致细菌在细胞内存活，这仍然是细菌传播、危及生命的治疗失败和产生慢性、复发感染的主要原因。在由许多生物体引起的感染过程中可观察到这些情形，所述的感染包括单核细胞增生李斯特菌引起的脑膜炎、嗜肺军团菌引起的肺巨噬细胞侵袭以及金黄色葡萄球菌引起的心内膜炎、骨髓炎和皮肤与皮肤组织感染。

[0059] 虽然已经报道抗生素的细胞内累积表明了对细菌的有效活性，但对大系列的常用抗生素的药效评价显示出，其它参数(如细胞内生物利用度和感染隔室中的活性调节)也很重要。与已知的大环内酯和酮内酯(如TEL、AZI和CLR)相比，由于本文中所述的含三唑的大环内酯显示出意外的差别性行为的原因，本文中所述的观察结果证实并延伸了前面就此用大环内酯得到的观察结果。

[0060] 意外地发现，含三唑的大环内酯累积到比比较物(包括AZI)大得多的程度，并且一致地表达较高的药力(降低的E_{50}和C_s值)，同时显示出与比较物相似的最大疗效(E_{max})。不受理论的约束，据信这表明由在CEM-101中引入结构修改产生的改进涉及药代动力学性质和内在活性的调节(包括其对感染隔室中占优势的物理化学条件的易感性的降低)而不是涉及其作用方式的变化。因此，含三唑的大环内酯显示出大环内酯的基本抑菌特征，但在细胞内环境中和在比比较物低得多的细胞外浓度条件下将其表达得更好。

[0061] 不受理论的约束，据信含三唑的大环内酯(如CEM-101)的细胞累积起因于对所有大环内酯设想的弱有机碱的质子捕获的一般机制，因为通过暴露于酸性pH值或质子离子载体莫能菌素，与AZI同时，累积几乎受到完全的抑制。基于弱碱在酸性膜结合的隔室中的扩散/分离的一般模型，通过可离子化基团的数目以及药物的未离子化形式的膜渗透系数与药物的离子化形式的膜渗透系数之间的比例确定累积。虽然CEM-101具有两个可离子化的官能团，但计算的氨苯基三唑的pKa小于4，表明在中性pH值以及甚至在溶酶体pH值(~5)条件下，分子主要是单阳离子性的(类似于CLR和TEL)。相反，AZI具有两个可离子化的官能团，

pK_as>6，因此是细胞内双阳离子性的。然而，CEM-101在2位置具有氟取代基，这应当使之比CLR或TEL更亲脂。不受理论的约束，据信为确定弱有机碱的细胞累积水平，与CLR或TEL相比，CEM-101的未离子化形式与离子化形式的渗透常数比可能与可离子化官能团的数目同样重要。不受理论的约束，据信CEM-101的较大的细胞累积可部分地归因于其缺少对Pgp-介导的流出物(在我们的培养条件下由THP-1巨噬细胞表达)的易感性，这与AZI形成对比。

[0062] 已经观察到许多已知的大环内酯具有大量的分布，据信这与它们能够通过在酸性隔室(即溶酶体及相关液泡)中扩散/分离而累积在真核细胞内有关。结果，已知的大环内酯已经被考虑作为用于治疗在这些隔室局部感染的候选物。因此，基于大批的体外和临床数据可以推断：大环内酯适合治疗由典型的细胞内病原体(如军团菌和衣原体)引起的感染。然而，使用兼性细胞内病原体(如金黄色葡萄球菌或单核细胞增生李斯特菌)直接定量比较细胞内活性与细胞外活性表明，已知的大环内酯在细胞内仅表达它们的抗菌潜力的最小部分，特别是考虑到它们有大的细胞内累积。这种针对在吞噬溶酶体和相关液泡中复制的生物体的最小化抗菌潜力据信与酸性pH值有关，已知酸性pH值降低已知大环内酯的活性。另一因素是，一些生物体(如单核细胞增生李斯特菌)实际上可以在其它亚细胞隔室中复制。此外，某些大环内酯(如AZI)经受来自巨噬细胞的活性流出物，这进一步促成了次优的细胞内活性。

[0063] 相反，使用已开发用于研究抗生素的细胞内药效的模型，本文中所述的含三唑的化合物的细胞累积和细胞内活性的提高基本上超过了已知的大环内酯(包括酮内酯)。因此，与TEL、AZI和CLR相比，本文中所述的化合物保持它们的MIC的最大疗效，并显示出针对(例如)葡萄球菌、李斯特菌和军团菌的细胞内形式的较大药力。不受理论的约束，据信本文中所述的含三唑的化合物的这种细胞内药力的提高起因于针对葡萄球菌、李斯特菌和军团菌的较高内在活性连同在低pH值下保留的活性以及分布到许多细胞内隔室的能力的组合。

[0064] 在另一实施例中，含三唑的大环内酯和酮内酯化合物具有细胞内活性，如针对葡萄球菌(如金黄色葡萄球菌)的细胞内活性。金黄色葡萄球菌在真核细胞内的存活对感染的持久性是至关重要的。应当意识到，通常仅针对细胞外细菌进行常规的易感性测试，因此在针对细胞内生物体预测疗效时可能会误导。在另一实施例中，本文描述了用于治疗至少部分地由细胞内葡萄球菌感染引起的疾病的化合物、组合物、方法和用途。在另一实施例中，由葡萄球菌感染引起的疾病是社区获得性MRSA(CA-MRSA)、社区获得性肺炎(CA-P)或皮肤与皮肤组织感染(SSSI)。应当进一步意识到，金黄色葡萄球菌被认为是强毒菌株，因此用抑菌剂处理可能无效。例如，当处理这种菌株时，复发可能会是一个问题。本文中已经意外地发现，本文中所述的化合物也具有杀菌性，因此适用于治疗由葡萄球菌(特别是细胞内葡萄球菌，如任一例中的金黄色葡萄球菌)引起的疾病。

[0065] 在另一实施例中，含三唑的大环内酯和酮内酯化合物具有细胞内活性，如针对李斯特菌(如单核细胞增生李斯特菌)的细胞内活性。在另一实施例中，含三唑的大环内酯和酮内酯化合物具有细胞内活性，如针对军团菌属(如嗜肺军团菌)的细胞内活性。

[0066] 在另一实施例中，含三唑的大环内酯和酮内酯化合物具有针对分支杆菌属(如麻风杆菌)的细胞内活性。在另一实施例中，本文中描述的组合物、方法和药物用于治疗至少部分地由麻风杆菌引起的疾病，包括但不限于汉森氏病(麻风病)。在一方面，所述组合物、方法和药物包括治疗有效量的一种或多种本文描述的化合物。在另一实施例中，本文中描

述的化合物、组合物、方法和药物用于治疗至少部分地由对CLR为抗性的麻风杆菌引起的疾病。例如，已经发现CEM-101比同类的其它抗生素(主要是CLR和TEL)活性大2-4倍。其针对金黄色葡萄球菌、酿脓链球菌和肺炎链球菌的多种大环内酯抗性致病菌株是活性的。

[0067] 在另一实施例中，本文中所述的化合物、方法和药物包括治疗有效量的一种或多种本文中所述的化合物，其中治疗有效量是有效显示出细胞内抗菌活性的量。

[0068] 在另一实施例中，本文描述具有杀菌性的化合物。在另一实施例中，本文中所述的化合物、方法和药物包括治疗有效量的一种或多种本文中所述的化合物，其中治疗有效量是有效显示出杀菌活性(包括体内杀菌活性)的量。已经报道大环内酯一般是抑菌性的。抑菌化合物不杀灭细菌，而是(例如)在不杀灭它们的情况下抑制其生长和繁殖；杀灭由杀菌剂完成。应当理解的是，抑菌剂必须与免疫系统一同起作用以清除体内的微生物。抑菌抗生素可通过多种机制限制细菌的生长，如通过干扰细菌蛋白的产生、DNA复制或细菌细胞代谢的其它方面。相反，杀菌抗生素杀灭细菌；抑菌抗生素仅减缓它们的生长或繁殖。青霉素是杀菌剂，头孢菌素也是，都属于β-内酰胺抗生素类。它们通过破坏细胞壁前体导致溶解的杀菌方式起作用。此外，氨基糖甙抗生素通常被认为是杀菌的，虽然它们对一些生物体可以是抑菌的。它们通过不可逆地结合至30s核糖体亚单位、降低翻译精确度导致蛋白质合成不准确的方式起作用。此外，它们由于mRNA与核糖体蛋白之间的复合体过早分离而抑制蛋白质合成。最后的结果是细菌的细胞死亡。其它杀菌抗生素包括氟喹诺酮、硝基呋喃、万古霉素、单内酰胺类、增效磺胺甲基异噁唑和甲硝哒唑。

[0069] 在另一实施例中，本文中所述的化合物、组合物、方法和药物包括治疗有效量的一种或多种本文中所述的化合物，其中所述治疗有效量是有效显示出针对一种或多种肺炎球菌的杀菌活性的量。据报道肺炎球菌的抗性产生得非常快。因此，不受理论的约束，据信使用抑菌剂治疗这些疾病在两个方面可能是不成功的。首先，简单地用抑菌剂停止疾病恶化可能是不够的，因为免疫系统可能不会以必要的水平介入以协助疾病的治疗。例如，一些细菌生物体未被免疫系统杀灭，因为它们存留在细胞内的间隔中。因此，在治疗过程结束后，可能导致疾病的快速复发。第二，因为细菌群的一些部分可能被消除，则剩余的群可能会选择产生抗性。据信细胞内活性剂和/或细胞内活性及杀菌剂能有效地治疗这类疾病。在一个示例性实施例中，本文中所述的化合物达到20×靶向细菌的MIC的细胞内浓度。据报道，大多数(如果不是全部)大环内酯抗生素虽然是体外杀菌的，但只是体内抑菌的。例如，如下文所述，当化合物的最后剂量之间的时间延长时，对于本文中所述的含三唑的化合物来说，生物负荷减少保持相同的水平，显示出杀菌反应。相反，当延长时间间隔时，TEL和CLR剂量组显示生物负荷的增加。因此，后两种大环内酯/酮内酯药剂显示出更经典的抑菌反应。

[0070] 在另一实施例中，本文中描述了化合物、组合物、方法和药物具有长的抗生素后效应(PAE)。在另一实施例中，本文中描述了化合物、组合物、方法和药物与其它抗菌剂协同作用。在另一实施例中，其它抗菌剂选自氨基糖苷抗生素、头孢菌素和二氢叶酸还原酶与二氢喋酸合成酶抑制剂，如庆大霉素(GEN)、头孢曲松(CRO)、甲氧苄啶/磺胺甲噁唑(TMP/SMX)。

[0071] 在每个前述实施例中，应当理解的是，可由本文中所述的化合物、组合物和方法治疗的疾病由除了以下一种或多种之外的至少一种生物体引起：金黄色葡萄球菌(ATCC 29213,MSSA,MLS-S)、肠球菌属(ATCC 19434)、肺炎克雷伯菌(13883)、大肠杆菌(ATCC 25922)、鼠伤寒沙门菌(ATCC 14028)、肺炎链球菌(ATCC 49619)、酿脓链球菌(ATCC

19615)、肺炎链球菌(163,Mef A)、肺炎链球菌(303,ErmB)、金黄色葡萄球菌(MRSA,33591)、流感嗜血杆菌(ATCC 49247)、肺炎链球菌(3773,ErmB)、肺炎链球菌(5032)、酿脓链球菌(1721)、酿脓链球菌(1850)、酿脓链球菌(3029)和酿脓链球菌(3262)。

[0072] 在另一示例性实施例中,本文描述了式(I)的化合物,其中X和Y与所连接的碳合起来形成C(O)基团。在另一实施例中,X是H,Y是OR^7,其中R^7是单糖基,如二脱氧甲基己糖基(cladinosyl)。在另一实施例中,本文描述了式(I)的化合物,其中W是氟。在另一实施例中,本文描述了式(I)的化合物,其中A与B合起来形成亚烷基(alkylene),包括但不限于亚丙基、亚丁基和亚戊基。在另一实施例中,本文描述了式(I)的化合物,其中A与B合起来形成亚丁基。在另一实施例中,本文描述了式(I)的化合物,其中A与B合起来形成亚戊基。在另一实施例中,本文描述了式(I)的化合物,其中A与B合起来形成亚丁基,且C是2-吡啶基或氨苯基,如3-氨苯基。在另一实施例中,本文描述了式(I)的化合物,其中A与B合起来形成亚丙基、亚丁基或亚戊基;且C是氨苯基,如3-氨苯基。在另一实施例中,本文描述了式(I)的化合物,其中A与B合起来形成亚戊基,且C是3-吡啶基或苯并三唑。在另一实施例中,本文描述了式(I)的化合物,其中C是任选地取代的芳基或杂芳基。在另一实施例中,本文描述了式(I)的化合物,其中V是羰基。在另一实施例中,本文描述了式(I)的化合物,其中R^{10}是氢。在另一实施例中,X是H,Y是OR^7,其中R^7是单糖基,如二脱氧甲基己糖基,且C是3-吡啶基或苯并三唑基。

[0073] 在另一实施例中,C是任选地取代的苯基,如苯基、卤代苯基、卤代烷基苯基、氨苯基等,任选地取代的吡啶基,如2-吡啶基和3-吡啶基,任选地取代的苯并三唑等。

[0074] 在另一实施例中,A与B合起来形成亚丁基或亚戊基,且X和Y与所连接的碳合起来形成C(O)基团。

[0075] 在另一实施例中描述了其中V是C(O)的任一前述实施例中所述的化合物。在另一实施例中描述了其中W是H或F的任一前述实施例中所述的化合物。在另一实施例中描述了其中A是CH_2、B是$(CH_2)_n$的任一前述实施例中所述的化合物,n是2-4的整数。在另一实施例中描述了其中C是芳基或杂芳基的任一前述实施例中所述的化合物。在另一实施例中描述了其中C是3-氨苯基或3-吡啶基的任一前述实施例中所述的化合物。在另一实施例中描述了其中R_{10}是氢的任一前述实施例中所述的化合物。在另一实施例中,在任一前述实施例所述的化合物中,A与B合起来形成亚丁基或亚戊基,且X和Y与所连接的碳合起来形成C(O)基团。在另一实施例中,在任一前述实施例所述的化合物中,A与B合起来形成亚丁基或亚戊基,X和Y与所连接的碳合起来形成C(O)基团,且W是F。

[0076] 在另一实施例中,本文描述了抗菌组合物,其中所述组合物包含有效量的一种或多种本文中所述的化合物和药学上可接受的载体、赋形剂或稀释剂或其组合。

[0077] 如本文所用,术语“组合物”一般指包含指定量的指定成分的任何产品,以及直接或间接由指定量的指定成分的组合得到的任何产品。作为例示,组合物可以包含一种或多种载体、稀释剂和/或赋形剂。本文中所述的化合物可以按本文中所述的方法以治疗有效的量配制成常规剂型,包含一种或多种载体、稀释剂和/或赋形剂。可以利用本领域中认可的产品,通过本文中所述方法的多种常规途径以多种剂量形式施用这种制剂组合物。一般可参见Remington's Pharmaceutical Sciences(第16版,1980年)。应当理解的是,可由本文中所述的分离的化合物或者由本文中所述的化合物的盐、溶液、水合物、溶剂化物及其它形

式来制备本文中所述的组合物。还应当理解的是，可以由本文中所述的化合物的各种无定形、非无定形、部分结晶、结晶和/或其它形态形式制备组合物。

[0078] 如本文所用，术语“治疗有效量”指在由研究者、兽医、医生或其它临床医师在被检查的组织系统、动物或人中诱导出生物学或药物反应(包括正在接受治疗的疾病或病症的症状减轻)的活性化合物或药剂的量。在一方面，治疗有效量是可以按适用于任何医学治疗的合理利益/风险比进行治疗或者减轻疾病或疾病的症状的量。然而应当理解的是，本文中所述的化合物和组合物的总日用量可以由主治医生在合理的医学判断范围内决定。对任何特定患者的具体治疗有效剂量水平取决于多种因素，包括治疗的病症和病症的严重程度；使用的具体化合物的活性；采用的具体组成；患者的年龄、体重、一般健康状况、性别和饮食；施用时间、施用途径和使用的具体化合物的排泄率；治疗持续期间；与使用的具体化合物组合使用或同时使用的药物；以及医药领域中熟知的类似因素。

[0079] 在一个实施例中，以约1至约10mg/kg、约2至约8mg/kg或约4至约6mg/kg患者体重的剂量给人口服施用本文中所述的化合物。在另一实施例中，每日成人剂量是约100至约1,000mg，其可以qd、bid、tid等方式施用。在另一实施例中，每日成人剂量是约400至约600mg，其可以qd、bid、tid等方式施用。可以每天一次、每天两次或每天三次施用这种剂量。示例性口服单位剂量是50mg、100mg、200mg和400mg(单次的或分次的)。不受理论的约束，据信这种示例性剂量足以达到约1μg/mL的血浆水平，其可足以观察本文中所述的化合物的杀菌活性(如对大环内酯-易感性的肺炎双球菌)。应当意识到，如本文所述，本文中所述的化合物(包括CEM-101)在组织(如肺组织)中达到高浓度。不受理论的约束，本文中据信本文中所述的化合物(包括CEM-101)可以达到菌株MIC的至少约10倍的组织水平，所述菌株包括对大环内酯为抗性的菌株，如但不限于对AZI为抗性的流感嗜血杆菌和流感嗜血杆菌、对AZI、CLR、CTH和/或TEL中任何一种为抗性的酿脓链球菌和肺炎链球菌以及本文中所述的其它抗性生物体。

[0080] 可以如本文中所述或根据美国专利申请公开第2006/0100164号和PCT国际公开第WO 2009/055557号(它们的公开内容以引用的方式全文并入本文)制备本文中所述的化合物。

[0081] 简言之，含三唑的酮内酯的合成始于已知的由CLR(2)两步制备12-酰基-咪唑中间体4(方案I)。中间体4通过与相应的3-、4-或5-碳连接的氨基醇反应被转化成11,12-环氨基甲酸酯5a-c。用甲苯磺酰氯处理5a-c得到甲苯磺酸酯6a-c。用NaN_3置换甲苯磺酰基得到相应的叠氮基化合物7a-c。通过用MeOH中的HCl处理实现7a-c的克拉定糖裂解成8a-8c。8a-c的3-羟基的斯文氧化得到相应被保护的酮内酯9a-c，其随后用甲醇脱保护以分别得到所需的叠氮基酮内酯10a-c。在碘化铜的存在下使这些叠氮基化合物与末端取代的炔在60℃甲苯中反应，以区域选择性地得到相应的4-取代-[1,2,3]-三唑11a-18a、11b-18b和11c-18c。

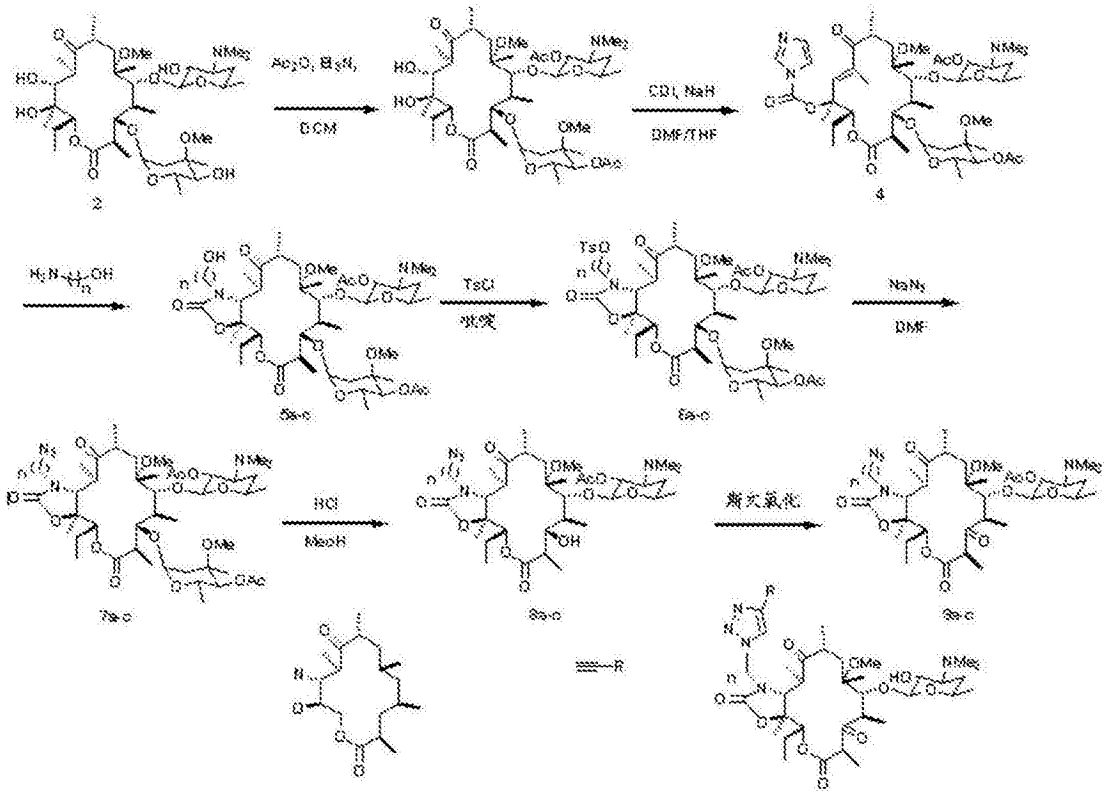
[0082] 通过与取代的乙炔进行环加成反应将中间体10a-c的叠氮化物转化成4-取代-[1,2,3]-三唑。可以通过叠氮化物与炔之间的Huisgen 1+3环加成反应形成三唑环，产生1,4-和1,5-区域异构体的化合物，如方案II的途径A中所述。作为另外的选择，可按照Rostovtsev等的程序[8]，向反应物中添加CuI催化剂以选择性地或唯一性地产生1,4-区域异构体，如方案II的途径B中所述。

[0083] 三唑环侧链也被并入CLR环系统。在一个实施例中选择丁基烷基侧链。.应当意识

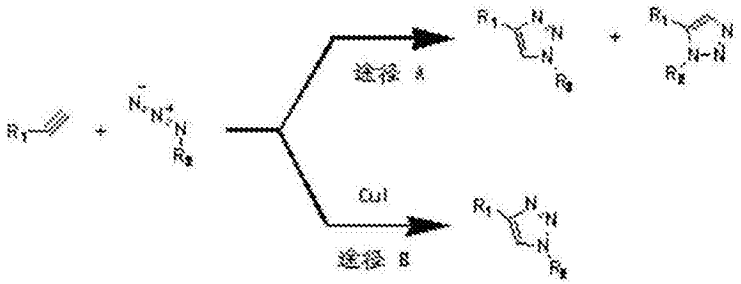
到，酮内酯系列中的许多丁基侧链类似物具有提高的抗菌活性(基于体外MIC结果)。中间体7b经与末端取代乙炔的铜催化环化反应直接转化成4-取代-[1,2,3]-三唑，如方案III所示。用甲醇中的LiOH除去19a-e的乙酸酯保护基以得到相应的4-取代-[1,2,3]-三唑20a-e。

[0084] 使用Selectfluor®，通过9b的亲电氟化完成由氟取代2-位的氢(方案IV)。按标准条件将中间体22的叠氮基转化成4-取代-[1,2,3]-三唑23a-b系列。

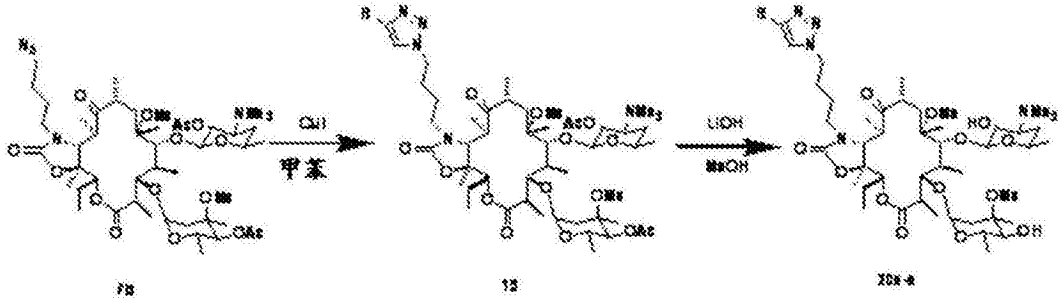
[0085] 方案I

[0086] 

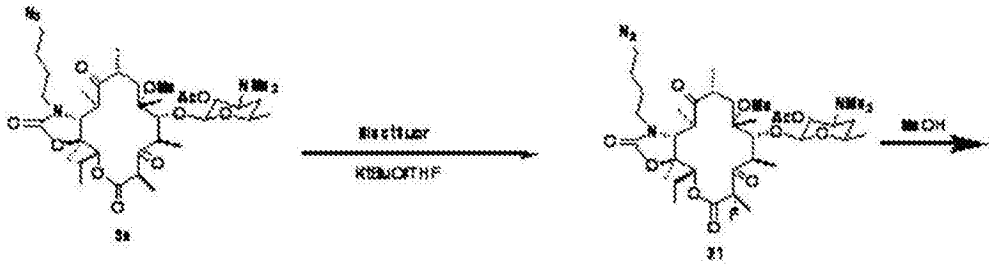
[0087] 方案II

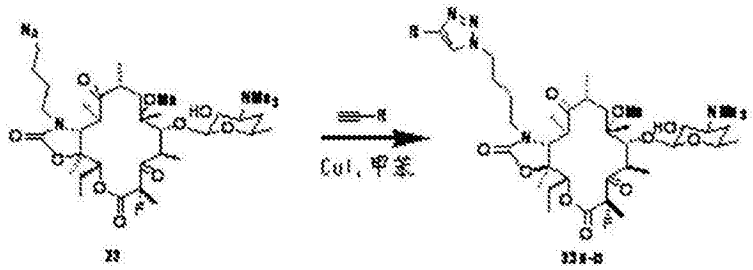
[0088] 

[0089] 方案III

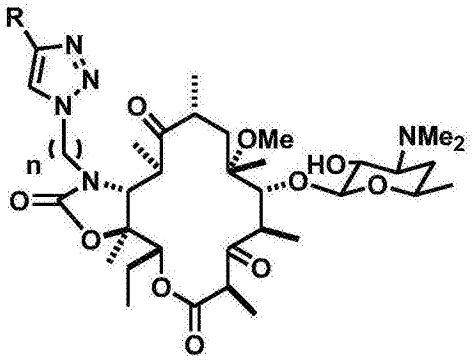
[0090] 

[0091] 方案IV

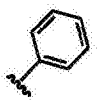
[0092] 



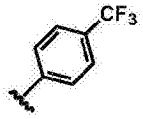
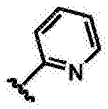
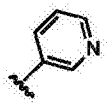
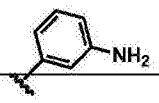
[0093] 在另一实施例中，描述了如下的化合物：

[0094] 

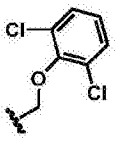
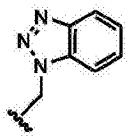
[0095]

最小抑制浓度(μg/mL)[a]								
			金黄色葡萄球菌		肺炎链球菌			流感嗜血杆菌
			29213 Ery-S	96:11480 Ery-R (MLSb)	49619 Ery-S	163 Ery-R(MefA)	303 Ery-R(ermB)	49247 Ery-S
TEL			≤0.125	≤0.125	≤0.125	≤0.125	≤0.125	4
AZI			≤0.125	>64	≤0.125	>64	>64	2
11a		3	1	1	≤0.125	≤0.125	>64	>64
11b		4	≤0.125	0.25	≤0.125	≤0.125	2	8
11c		5	≤0.125	≤0.125	≤0.125	≤0.125	0.25	16

[0096]

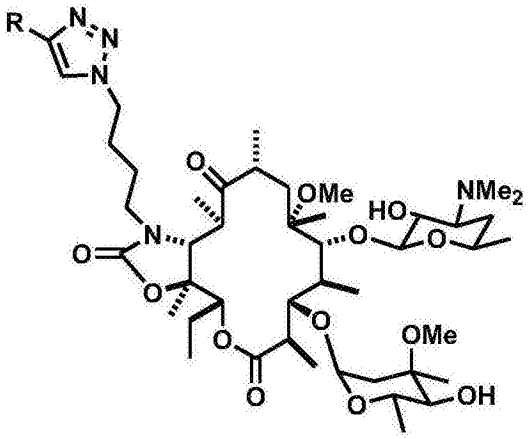
12a		3	0.25	0.5	≤0.125	≤0.125	8	64
12b		4	≤0.125	≤0.125	≤0.125	≤0.125	8	8
12c		5	≤0.125	≤0.125	≤0.125	≤0.125	1	16
13a		3	1	2	≤0.125	≤0.125	16	>64
13b		4	0.25	0.25	≤0.125	≤0.125	8	8
13c		5	0.5	1	≤0.125	0.5	2	64
14a		3	2	2	≤0.125	0.5	>64	>64
14b		4	≤0.125	≤0.125	≤0.125	≤0.125	≤0.125	4
14c		5	≤0.125	≤0.125	≤0.125	≤0.125	0.25	64
15a		3	2	2	≤0.125	1	>64	>64
15b		4	≤0.125	4	≤0.125	2	64	64
15c		5	≤0.125	0.25	≤0.125	0.25	4	16
16a		3	0.5	nt	≤0.125	≤0.125	>64	16

[0097]

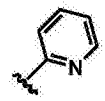
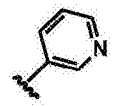
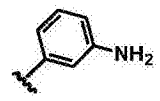
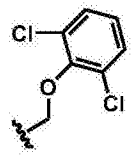
16b		4	≤0.125	≤0.125	≤0.125	≤0.125	≤0.125	2
16c		5	≤0.125	≤0.125	≤0.125	≤0.125	0.25	8
17a		3	1	1	≤0.125	≤0.125	>64	>64
17b		4	≤0.125	≤0.125	≤0.12	≤0.12	1	16
17c		5	0.25	0.5	≤0.125	≤0.125	2	32
18a		3	1	2	≤0.125	0.5	>64	>64
18b		4	1	2	≤0.125	4	64	32
18c		5	≤0.125	≤0.125	≤0.125	≤0.125	64	8

[0098] [a] Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically,第6版;认可的标准:NCCLS文献M7-A6,2003。

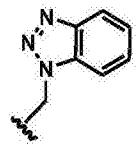
[0099] 在另一实施例中,描述了如下的化合物:

[0100] 

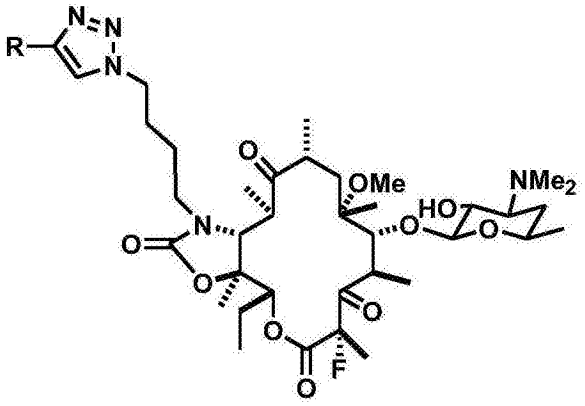
[0101]

		金黄色葡萄球菌		肺炎链球菌			流感嗜血杆菌
		25923 Ery-S	RN2 20	49619 Ery-S	163 Ery-R(MefA)	303 Ery-R(ermB)	49247 Ery-S
TEL		≤ 0.25	2	≤0.125	≤0.125	≤0.125	4
20a		0.25	8	≤ 0.0625	0.125	2	NT
20b		0.25	8	≤ 0.0625	≤0.06	1	NT
20c		1	8	≤ 0.0625	0.5	2	NT
20d		1	8	≤ 0.0625	0.5	2	NT

[0102]

20e		≤ 0.25	8	≤ 0.0625	0.5	2	NT

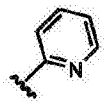
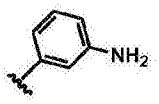
[0103] 在另一实施例中，描述了如下的化合物：

[0104] 

[0105]

		金黄色葡萄球菌		肺炎链球菌			流感嗜血杆菌
		29213 Ery-S	96:11480 Ery R (MLSb)	49619 Ery-S	163 Ery-R(MefA)	303 Ery-R(ermB)	49247 Ery-S
TEL		≤ 0.125	≤0.125	≤ 0.125	≤0.125	≤0.125	4
AZI		ND	≤0.125	>64	≤0.125	>64	>64

[0106]

23a		≤ 0.125	≤0.125	≤ 0.125	≤0.125	≤0.125	2
23b (CEM-101)		≤0.06	≤0.125	≤ 0.125	≤0.125	≤0.125	2

[0107] 在每个前述实施例中，初筛组由相关的金黄色葡萄球菌、酿脓链球菌、肺炎链球菌(包括对AZI和TEL为抗性的菌株)组成。按照NCCLS指导方针采用肉汤微稀释法确定针对所有病原体的MIC。发现本文中所述的化合物(如CEM-101)是高效力的，针对肺炎链球菌(3773)的MIC≤0.125μg/mL，针对酿脓链球菌(1850)的MIC为0.5μg/mL，相比之下，TEL的上述MIC则分别为1μg/mL和8μg/mL。发现CEM-103(20c)(含3-O-克拉定糖的CEM-101的类似物)活性较低。含非杂芳族取代的三唑的酮内酯活性较低。

[0108] 针对金黄色葡萄球菌的红霉素-敏感(Ery-S)和红霉素-抗性(Ery-R)菌株(29213(Ery-S)和96:11480(Ery-R))、肺炎链球菌(49619(Ery-S)和163和303(Ery-R))和流感嗜血杆菌(49247(Ery-S))(表1-3)测试酮内酯。按照Clinical and Laboratory Standards Institute(CLSI)规定，采用肉汤微稀释法确定针对所有病原体的最小抑制浓度(MIC)。

[0109] 烷基侧链的链长影响活性(表1)。例如，在测试浓度下，3-碳连接的苯基取代的三唑11a针对Ery-S和Ery-R金黄色葡萄球菌活性较低，针对Ery-R肺炎链球菌303(ermB)无活性，而相应的4-和5-碳连接的苯基取代的三唑11b和11c针对这些生物体活性较强。对2-吡啶取代的三唑14a-c、3-氨基-苯基取代的三唑16a-c和2,5-二氯苯氧基取代的三唑17a-c观察到类似的趋势。

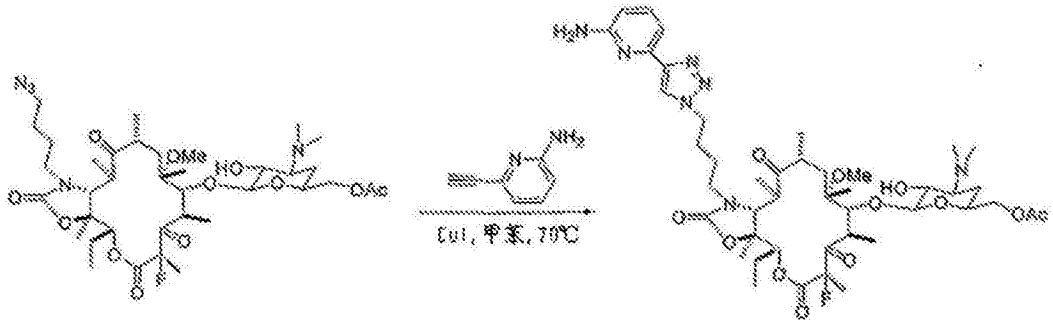
[0110] 4-碳连接的2-吡啶基取代的三唑14b和3-氨基-苯基取代的三唑16b针对肺炎链球菌303具有最高的药力，都具有比得上TEL的MIC值(≤0.125μg/mL)。含4-碳连接的3-吡啶基取代的三唑15b的酮内酯针对此株活性较低(64μg/mL的MIC)。在这一系列内，通过延长链接碳到5个原子来提高抗菌活性，例如对于化合物15c针对肺炎链球菌303的MIC从64μg/mL改善到4μg/mL。对于含苯并-三唑的酮内酯18c来说，针对金黄色葡萄球菌也观察到类似的效果，但18c针对肺炎链球菌303仍是无活性的。应当意识到，链接长度与三唑的芳族取代之性质之间的平衡可影响针对大环内酯抗性的肺炎链球菌和金黄色葡萄球菌的总活性。

[0111] 对流感嗜血杆菌(49247)也观察到了链接长度与活性之间的相关性，其中最强效的酮内酯系列具有通过4-碳(11b-14b、16b、17b)或5-碳(15c、18c)链接的取代三唑。有意思

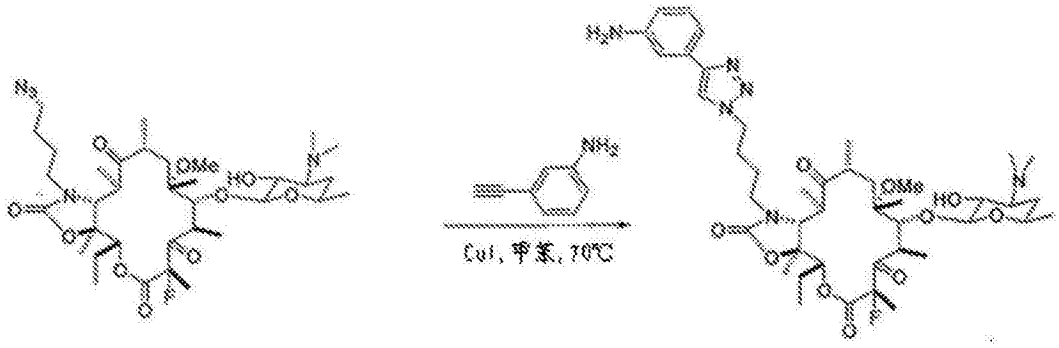
的是，针对流感嗜血杆菌的最强效的芳族系列是具有3-、4-或5-链接碳的3-氨基-苯基(16a、16b、16c)，MIC分别为16、2和8μg/mL。

[0112] 在3位含克拉定糖的大环内酯对Ery-S肺炎链球菌(49619)都是高度活性的(表2)。然而，这些类似物针对Ery-R菌株的活性比TEL低。具有2-吡啶基、2-氨苯基或2,6-二氯苯基三唑取代基的含克拉定糖的类似物的MIC显著高于相应的酮内酯的MIC(20a、20c和20d对比14b、16b和17b)。相反，通过用类似物20b(3-吡啶基)和20e(苯并-三唑)中的克拉定糖基团取代酮基使酮内酯类似物15b(3-吡啶基)和18b(苯并-三唑)重新建立起抗菌活性。MIC分别从对于15b和18b的64μg/mL改善为对于20b和20e的1μg/mL和2μg/mL。对于Ery-R肺炎链球菌163(MefA)也观察到类似的活性趋势。

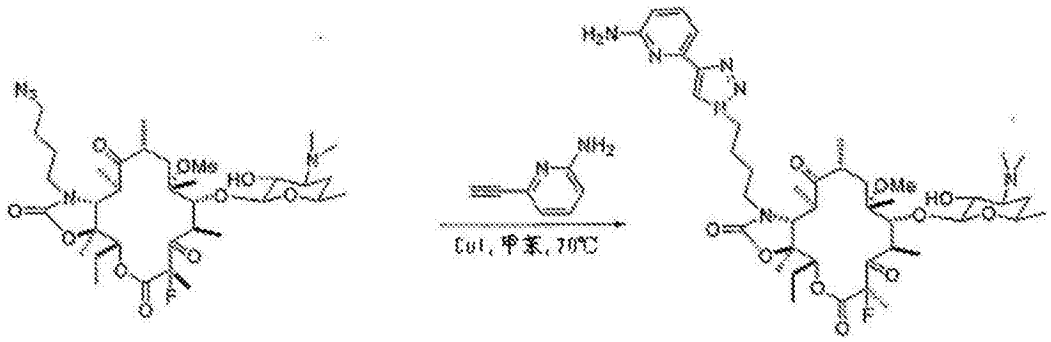
[0113] 化合物实例

[0114] 

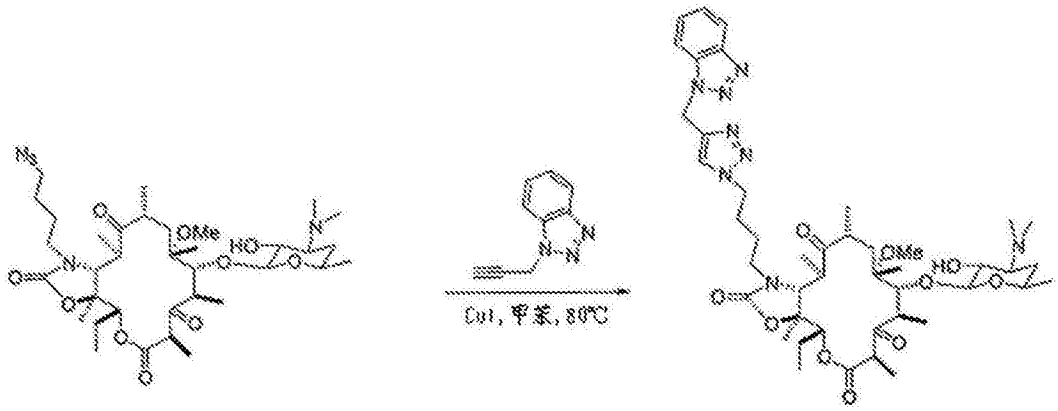
[0115] 把11-N-(4-叠氮基-丁基)-6-O-甲基-5-(3-二甲胺-4-去氧-6-O-乙酰基-吡喃葡萄糖基)-2-氟-3-氧代-红霉内酯A,11,12-氨基甲酸酯(15mg,0.019mmol)、6-乙炔基-吡啶-2-基胺(4.7mg,0.4mmol)、CuI(1mg,0.005mmol)和甲苯(0.2mL)的混合物加热至70℃。16小时后，将混合物浓缩并直接进行硅胶色谱法(9:1的氯仿:甲醇加1％氢氧化铵)以得到14mg所需化合物。MS:$C_{44}H_{66}FN_7O_{12}$计算值M^+＝903.5，实际值:$M+H^+$＝904.5。

[0116] 

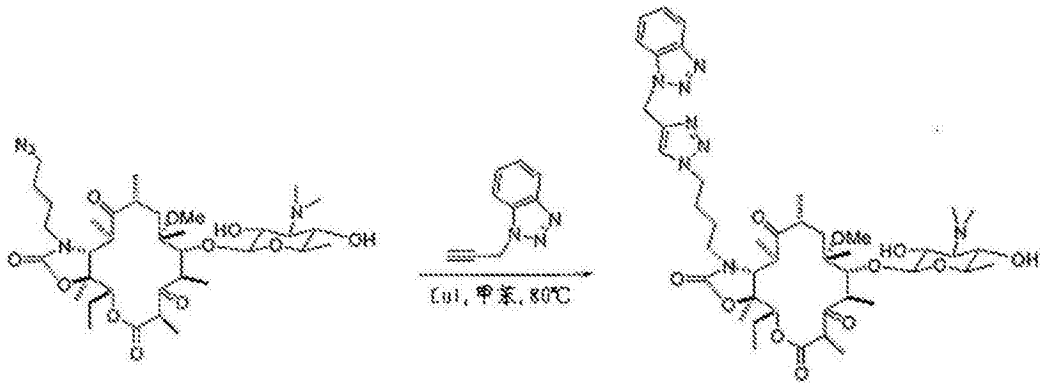
[0117] 11-N-4-(3-氨苯基)-[1,2,3]三唑-1-基]-丁基}-5-红霉脱氧糖氨基-3-氧代-2-氟-红霉内酯A,-11,12-环状氨基甲酸酯(CEM-101)。把11-N-(4-叠氮基-丁基)-6-O-甲基-5-红霉脱氧糖氨基-3-氧代-2-氟-红霉内酯A,11,12-氨基甲酸酯(17mg,0.023mmol)、3-乙炔基-苯胺(5.4mg,0.046mmol)、CuI(1mg,0.005mmol)和甲苯(0.2mL)的混合物加热至70℃。16小时后，将混合物浓缩并直接进行硅胶色谱法(9:1的氯仿:甲醇加1％氢氧化铵)以得到17mg所需化合物。MS:$C_{43}H_{65}FN_6O_{10}$计算值M^+＝844.47，实际值:$M+H^+$＝845.5。

[0118] 

[0119] 11-N-{4-[4-(6-氨基-吡啶-2-基)-[1,2,3]三唑-1-基]-丁基}-5-红霉脱氧糖氨基-3-氧代-2-氟-红霉内酯A,-11,12-环状氨基甲酸酯。把11-N-(4-叠氮基-丁基)-6-O-甲基-5-红霉脱氧糖氨基-3-氧代-2-氟-红霉内酯A,11,12-氨基甲酸酯(15mg,0.02mmol)、6-乙炔基-吡啶-2-基胺(4.7mg,0.4mmol)、CuI(1mg,0.005mmol)和甲苯(0.2mL)的混合物加热至70℃。16小时后,将混合物浓缩并直接进行硅胶色谱法(9:1的氯仿:甲醇加1%氢氧化铵)以得到14mg所需化合物OP1357。MS:$C_{42}H_{64}FN_7O_{10}$计算值M^+=845.5,实际值:$M+H^+$=846.5。

[0120] 

[0121] 11-N-[4-(4-苯并三唑-1-基甲基-[1,2,3]三唑-1-基)-丁基]-6--O-甲基-5-O-红霉脱氧糖氨基-3-氧代-红霉内酯A,11,12-氨基甲酸酯。把11-N-(4-叠氮基-丁基)-6-O-甲基-5-O-红霉脱氧糖氨基-3-氧代-红霉内酯A,11,12-氨基甲酸酯(3mg,0.0039mmol)、1-丙-2-炔基-1H-苯并三唑(3mg,0.4mmol)、CuI(1mg,0.005mmol)和甲苯(0.2mL)的混合物加热至70℃。16小时后,将混合物浓缩并直接进行硅胶色谱法(9:1的氯仿:甲醇加1%氢氧化铵)以得到3mg所需化合物。MS:$C_{44}H_{66}FN_8O_{10}$计算值M^+=866.5,实际值:$M+H^+$=867.5。

[0122] 

[0123] 11-N-[4-(4-苯并三唑-1-基甲基-[1,2,3]三唑-1-基)-丁基]-6--O-甲基-5-碳酶氨糖基-3-氧代-红霉内酯A,11,12-氨基甲酸酯。把11-N-(4-叠氮基-丁基)-6-O-甲基-5-红

霉脱氧糖氨基-3-氧代-红霉内酯A,11,12-氨基甲酸酯(3mg,0.004mmol)、1-丙-2-炔基-1H-苯并三唑(3mg,0.4mmol)、CuI(1mg,0.005mmol)和甲苯(0.2mL)的混合物加热至80℃。16小时后,将混合物浓缩并直接进行硅胶色谱法(9:1的氯仿:甲醇加1%氢氧化铵)以得到3mg所需化合物。MS:$C_{44}H_{66}FN_8O_{11}$计算值M^+=882.5,实际值:$M+H^+$=883.5。

[0124] 方法实例

[0125] 实例。将CEM-101与AZI、CLR、TEL和多西环素针对HEp-2细胞中的10种肺炎衣原体的分离物和10种沙眼衣原体的菌株的体外活性进行比较。肺炎衣原体分离物的50%和90%被CEM-101抑制的MIC为0.25μg/ml(范围:0.25至1.0μg/ml)。沙眼衣原体菌株的50%和90%被CEM-101抑制的MIC为0.25μg/ml(范围:0.125至0.5μg/ml)。沙眼衣原体和肺炎衣原体针对AZI、CLR、TEL和多西环素的MIC90分别为0.125、0.06、0.06、0.06μg/ml。CEM-101的MIC在分离物之间是一致的,仅一或两个稀释液有变化,鉴于测试的分离物的地理分布广泛,这种情况是特别令人印象深刻的。这些结果表明,CEM-101和本文所述的化合物对于治疗沙眼衣原体和由肺炎衣原体引起的呼吸道感染是有效的抗生素。

[0126] 实例。从1992年与2006年之间患有肺炎的成人与儿童的呼吸道中收集36种肺炎支原体。从2005年在Birmingham,AL的儿童中收集的2种分离物是大环内酯抗性的(AZI MIC>32μg/ml);这两种都显示出在rRNA基因的域V中有A2063G突变。5种生殖支原体包括由在美国(3个分离物)和丹麦(2个分离物)患者的泌尿生殖道中获得的参考菌株。15种呼吸道或泌尿生殖道中的发酵支原体得自美国国立卫生研究院的支原体保藏和1992年至2004年间在Birmingham,AL的患者中。13种人型支原体得自1994年至2007年间的泌尿生殖道或伤口的临床样本。2种分离物是对多西环素为抗性的(MIC8-16μg/ml)。10种微小脲原体得自2002年至2005年间的泌尿生殖样本。7种是对多西环素为抗性的(MIC 4-16μg/ml)。10种解脲脲原体得自1990年至2005年间的各种泌尿生殖道样本、胎盘或新生儿呼吸道分泌物。4种是对多西环素为抗性的(MIC 4-32μg/ml)。

[0127] 在<0.5μg/ml的浓度下,CEM-101抑制所有的支原体和脲原体分离物,使其成为所测试的全部化合物中最强效的化合物。CEM-101的肺炎支原体MIC在0.000000063-0.5μg/ml范围内,MIC90=0.000125,这使其活性比AZI大4倍,比TEL大8倍。LZD对肺炎支原体是无活性的,但某些发酵支原体和人型支原体具有<1mg/ml的MIC。2种具有AZI和TEL的大环内酯抗性的MP(MIC大于32μg/ml)受0.5μg/ml的CEM-101抑制。CEM-101MBC大于9种肺炎支原体的MIC的16倍,表明该药物对这种生物体是抑菌的。CEM-101对所有的多西环素抗性的人型支原体和脲原体属具有活性。除了2种大环内酯抗性的肺炎支原体外,所测试的任何物种的分离物对于CEM-101的MIC都不大于0.063μg/ml。

[0128] MIC测试。按照生产商的指示溶解抗微生物粉末并在含2048μg/ml的1ml等分试样中冷冻。所测试的药物包括:CEM-101、AZI、TEL、多西环素、左氧氟沙星和利奈唑胺。基于对每种药物所期望的MIC范围,在每次试验的当天准备每种药物的工作稀释液。在96孔微滴板中,对脲原体属的10B肉汤和对支原体属的SP4肉汤进行连续的2倍抗菌稀释。对于针对肺炎支原体所测试的大环内酯和酮内酯来说,稀释降到0.000000063μg/ml以测量这些强效药剂的终点MIC。把104-105CCU/ml的0.175mL接种体添加到药物稀释液中,所述接种体是通过将来自已知浓度的冷冻储备液的生物体接种到预温热的肉汤中并在37℃下温育2小时而获得。将板密封,在37℃空气中进行有氧温育并每日进行检查,直到在不含药物的生长对照物

中检测到颜色变化。MIC＝生物体的代谢受到抑制的最低药物浓度，这可通过没有颜色变化而得到证实，而这时不含药物的对照物首次显示出颜色变化。

[0129] 质量控制。通过连续稀释和平板计数检验每种分离物的接种体。用于确认比较物(comparator)抗微生物剂的MIC的准确性的质量控制菌株包括肺炎支原体(UAB-834)、人型支原体(UAB-5155)和解脲脲原体(UAB-4817)，它们全都是低传代临床分离物，已对其确立了3倍稀释MIC范围。

[0130]

肺炎支原体 (36种分离物)			
	MIC范围 μg/mL	**MIC_{50} μg/mL**	**MIC_{90} μg/mL**
CEM-101	≤0.000000063 - 0.5	0.000032	0.000125

[0131]

AZI	≤0.000016 - ≥32	0.00025	0.0005
TEL	0.000031 - ≥32	0.00025	0.001
多西环素	0.016 - 0.25	0.125	0.25
左氧氟沙星	0.125 - 1	0.5	0.5
利奈唑胺	32 - 128	64	128
生殖支原体 (5种分离物)			
CEM-101	≤0.000032	不适用	不适用
AZI	≤0.000032 - 0.005	不适用	不适用
TEL	≤0.00003 - 0.00025	不适用	不适用
多西环素	≤0.008 - 0.031	不适用	不适用
左氧氟沙星	0.125 - 1	不适用	不适用
利奈唑胺	4 - 128	不适用	不适用
发酵支原体 (15种分离物)			
CEM-101	≤0.008	≤0.008	≤0.008
AZI	0.125 - 1	0.5	0.5
TEL	0.002 - 0.031	≤0.008	0.016
CLN	≤0.008 - 0.063	0.016	0.031

[0132]

多西环素	0.016 - 0.5	0.125	0.5
左氧氟沙星	≤0.008 - 0.25	0.031	0.125
利奈唑胺	0.5 - 4	1	4
人型支原体 (13种分离物)			
CEM-101	0.002 - 0.008	0.004	0.008
AZI	0.5 - 4	4	2
TEL	0.125 - 0.5	0.25	0.5
CLN	≤0.008 - 0.031	≤0.008	0.016
多西环素	≤0.008 - 0.016	0.125	8
左氧氟沙星	0.125-0.5	0.25	0.5
利奈唑胺	1-8	2	4
微小脲原体 (10种分离物)			
CEM-101	0.002 - 0.031	0.008	0.016
AZI	0.5 - 4	2	4
TEL	0.008 - 0.063	0.063	0.125
多西环素	0.031 - 16	8	16
左氧氟沙星	0.125 - 2	0.5	2

[0133]

利奈唑胺	128 - >256	>256	>256
解脲脲原体 (10种分离物)			
CEM-101	0.004 - 0.063	0.008	0.031
AZI	0.5 - 4	2	4
TEL	0.016 - 0.25	0.063	0.25
多西环素	0.031 - 32	1	16
左氧氟沙星	0.5 - 2	0.5	1
利奈唑胺	256 - >256	> 256	> 256

[0134] 肺炎支原体大环内酯MIC分布。针对CEM-101测试的所有分离物，除了两个以外都显示出0.0001μg/mL或更小的MIC。相反，针对AZI或TEL测试的所有分离物超过一半显示出0.0001μg/mL或更大的MIC。

[0135] MBC测试。测试9种肺炎支原体以确定CEM-101的MBC。将在读取MIC时未变色的每个孔中的等分试样(30μl)添加到2.97mL肉汤(1:100稀释)中，以确定药物被稀释至抑制浓度以下而允许活生物体生长至可检测的水平。继代培养生长对照物以保证在不存在药物的情况下有存活的生物体。在37℃下温育肉汤。MBC＝在长时间温育之后在肉汤中没有颜色变化而不存在明显生长的抗微生物剂的浓度。9种肺炎支原体的MBC全部比相应的MIC大16倍以上，表明CEM-101针对该生物体是抑菌的。

[0136] 实施例。使用牛分枝杆菌BCG开发分枝杆菌属生长停滞的体外模型。指数生长培养物被转移至真空管时继续生长；然而，用氧化氮源(50mM DETA-NO)处理则立即使生长停止。通风使生长恢复。若生长停滞时间超过4小时，在通风能够恢复生长之前出现时滞。这一滞后时间在生长停滞后的16小时为最大，此时，生长恢复之前的滞后为24小时。不受理论的约束，本文中据信这些时滞可表明需要一个过渡时期来实现完全的生长停滞，并且需要另一个过渡时期来从生长停滞中完全恢复。不受理论的约束，本文中还相信DETA-NO诱导的生长停滞不能实现阻止厌氧休克杀伤效果的目的，后者可能已造成生长细胞和生长停滞细胞两者的快速细胞溶解。虽然生长停滞对利福平的杀伤作用没有影响，但它将氟喹诺酮的杀伤力降低4倍至20倍。两种氟喹诺酮(莫西沙星和加替沙星)对指数生长的细胞具有同等的杀伤性，但在生长停滞期间，莫西沙星的活性高2倍多。

[0137] 实施例。CEM-101针对肺炎链球菌、β-溶血性和草绿色链球菌、葡萄球菌属和肠球菌的高药力已经记录在采用参考的临床和实验室标准化研究所(CLSI)的方法进行的早期

筛查研究中。由于可能损害MLSB-酮内酯类的抗性机制和出现迅速增多，因此评价了在测试野生型(WT)和表型/基因型定义的抗性生物体亚型时的抗生素后效应(PAE)、杀菌活性(MBC和杀灭曲线)和CEM-101与五种选定类抗微生物剂可能的协同作用。对CEM-101、TEL和CLR的MBC测定是对40株(6个物种组)采用CLSI方法。KC使用8株(6个物种组)。以4X浓度暴露1或2小时测试PAE(5株)；TEL对照。通过棋盘法(checkerboard method)对20株(7种金黄色葡萄球菌、6种β-溶血性链球菌和7种肺炎链球菌)进行药物相互作用(协同)研究。CEM-101与五种药剂(头孢曲松、庆大霉素、左氧氟沙星、甲氧苄啶/磺胺甲噁唑[TMP/SMX]和万古霉素)结合，每一种代表不同的抗微生物剂类型。

[0138] 抗微生物剂相互作用分类表征的定义为：完全协同＝两种药剂的MIC值减少四倍或更多；部分协同＝一种药剂的MIC值减少四倍或更多，另一种的MIC减少两倍；加合＝两种测试的药剂的MIC值减少两倍；对抗作用＝两种药剂的MIC值减少四倍或更多；以及不重要＝任一药剂都没有MIC值的减少或仅有一种药剂的MIC减少或增加两倍。

[0139] CEM-101药物与其它抗微生物剂组合的相互作用(协同)的测试类型。

[0140]

	协同作用					
联合药物	完全	部分	加合	不重要	对抗作用	不确定
CRO	0	2	5	12	0	1
GEN	2	2	4	12	0	0
LEV	0	0	3	17	0	0
TMP/SMX	0	2	4	14	0	0
VAN	0	1	6	13	0	0
All	2	7	22	68	0	1

[0141] 对CEM-101药物组合研究所观察到的最常见的相互作用类型是不重要类型(68)，然后是加合(22)和部分协同(7)作用。仅对用于两种肺炎链球菌菌株的CEM-101和庆大霉素观察到协同作用。CEM-101与庆大霉素、头孢曲松、TMP/SMX、万古霉素和左氧氟沙星的组合在测试肺炎链球菌菌株时显示出有利的相互作用(完全/部分协同或加合；所有结果为31％)；但在测试的金黄色葡萄球菌与酿脓链球菌中主要是不重要的相互作用。评价的组合中都没有显示出对抗作用。

[0142] MBC和杀灭曲线研究：对总共40株(10种肺炎链球菌、10种金黄色葡萄球菌以及β-溶血性链球菌、草绿色链球菌、凝固酶阴性葡萄球菌[CoNS]和肠球菌各5种)进行MIC测试，

然后是采用CLSI程序的MBC测定(MIC和MBC范围0.008-16μg/ml)。将杀灭≥99.9%的初始接种体的测试药剂的最低浓度定义为MBC终点(表2和表3)。按照Moody&Knapp,NCCLS M21-A3和M26-A描述的方法对CEM-101、TEL、CLR和AZI的8种选定的菌株进行时间杀菌活性测试。以2X、4X、8X MIC测试化合物;并且在T0、T2、T4、T8和T24进行菌落计数。

[0143] CEM-101对BSA、SA和凝固酶阴性葡萄球菌显示出低的MBC/MIC比(≤4);并且药力比TEL高两倍。SA、肠球菌和某些大环内酯/CLN抗性的(R)菌株具有较高的比例。KC结果显示出CEM-101与TEL相比具有更快更大的杀灭活性(依赖浓度的)。CEM-101/TEL PAE(小时)为:SA(2.3/2.6小时)、SPN(3.0/1.9)、BSA(6.1/3.4)、流感嗜血杆菌(3.7/1.2)、卡他莫拉菌(5.3/4.0)。CEM-101的相互作用结果显示没有对抗作用,主要是加合或不重要的作用。CEM-101针对若干革兰氏阳性物种显示出比率和程度比TEL大的杀菌活性。对于革兰氏阳性和革兰氏阴性的菌株,CEM-101的PAE分别为2.3-6.1和3.7-5.3小时。在协同分析中未发现对抗作用,与CRO、GEN和TMP/SMX的组合的增强抑制作用最显著。

[0144] 对于CEM-101、TEL、CLR和AZI,根据MBC/MIC比例的分离物的分布

[0145]

生物体/抗微生物剂(测试的编号)	MBC/MIC值如下的菌株编号:					
	1	2	4	8	16	≧32
肺炎链球菌(10)						
CEM-101	3	5	0	0	0	2
泰利霉素	2	6[a]	0	0	0	2
克拉霉素	2	3	1	0	0	[b]

[0146]

阿奇霉素	2	4	0	0	0	–[b]
β-溶血性链球菌(5)						
CEM-101	0	1	2	0	0	2
泰利霉素	0	1	1	1	0	2
克拉霉素	0	0	1	1	0	2[b]
阿奇霉素	0	0	0	0	2	2[b]
草绿色链球菌(5)						
CEM-101	3	0	1	0	0	1
泰利霉素	2	1	1	0	0	1
克拉霉素	0	0	1	0	0	3[b]
阿奇霉素	0	0	0	0	1	3[b]
金黄色葡萄球菌(10)						
CEM-101	1	0	0	0	1	8
泰利霉素	0	0	0	0	0	10
克拉霉素	0	0	0	0	0	6[b]
阿奇霉素	0	0	0	0	0	6[b]
凝固酶阴性葡萄球菌(5)						
CEM-101	1	1	0	3	0	0
泰利霉素	0	0	0	0	2	3
克拉霉素	0	0	0	0	0	4[b]
阿奇霉素	0	0	0	0	0	4[b]
肠球菌属(5)						
CEM-101	0	0	0	0	0	5

[0147]

泰利霉素	0	0	0	0	0	5
克拉霉素	0	0	0	0	0	2[b]
阿奇霉素	0	0	0	0	0	2[b]
a. 包括 MIC≤0.008 μg/ml 和 MBC 为 0.015 μg/ml 的 6 种分离物(超出范围的比较)。 b. 对于具有抗性水平 MIC 结果的分离物未评价 MBC。						

[0148] CEM-101针对金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌、肺炎链球菌、酿脓链球菌(仅在8X MIC)和草绿色链球菌的大环内酯易感的菌株以及大环内酯抗性的酿脓链球菌显示出快速杀菌活性(减少≥3log10CFU/ml)。当与TEL或大环内酯CLR和AZI比较时,CEM-101产生更大的CFU/ml减少以及更快速的杀菌。

[0149] 时间杀灭曲线结果归纳

[0150]

生物体	抗微生物剂	抗微生物活性
金黄色葡萄球菌 (ATCC 29213)	CEM-101	在2X、4X、8X下的杀灭
	泰利霉素	仅在8X下的杀灭
	克拉霉素	仅在8X下的杀灭
	阿奇霉素	仅在8X下的杀灭
表皮葡萄球菌 (095-2777A)	CEM-101	在2X、4X、8X下的杀灭
	泰利霉素	静态
	克拉霉素	静态
	阿奇霉素	静态

[0151]

粪肠球菌 (ATCC 29212)	CEM-101	静态
	泰利霉素	静态
	克拉霉素	静态
	阿奇霉素	静态
肺炎链球菌 (ATCC 49619)	CEM-101	在2X、4X、8X下的杀灭
	泰利霉素	在2X、4X、8X下的杀灭
	克拉霉素	在2X、4X、8X下的杀灭(缓慢杀灭)
	阿奇霉素	在2X、4X、8X下的杀灭(缓慢杀灭)
肺炎链球菌 (075-241B)	CEM-101	静态
	泰利霉素	静态
酿脓链球菌 (117-1612A)	CEM-101	仅在8X下的杀灭
	泰利霉素	仅在8X下的杀灭(缓慢杀灭)
	克拉霉素	仅在8X下的杀灭(缓慢杀灭)
	阿奇霉素	仅在8X下的杀灭(缓慢杀灭)
酿脓链球菌 (088-11708A)	CEM-101	在2X、4X、8X下的杀灭
	泰利霉素	仅在8X下的杀灭(缓慢杀灭)

[0152]

缓症链球菌 (112-1885A)	CEM-101	在2X、4X、8X下的杀灭
	泰利霉素	在2X、4X、8X下的杀灭
	克拉霉素	仅在8X下的杀灭(缓慢杀灭)
	阿奇霉素	在4X和8X下的杀灭(缓慢杀灭)

[0153] 当针对大环内酯易感的链球菌、CoNS和大环内酯抗性的CLN易感的肺炎链球菌测试时，CEM-101显示出杀菌活性。CEM-101MBC/MIC比例对于金黄色葡萄球菌可能是高的，但某些菌株显示出的MBC结果保持在易感的浓度范围内。

[0154] PAE测试：采用与Craig和Gudmundsson推荐的程序一致的确立程序来确定CEM-101和TEL的PAE值。以4X和8X的MIC针对每种分离物测试这两种抗微生物剂。在抗菌暴露前(T0)和在抗菌暴露后1或2小时(T1或T2)进行菌落计数。在“稀释掉”抗微生物剂(1:100)之后，每小时进行菌落计数直到观察到浑浊(稀释后多达10小时)以确定PAE的长度。所测试的革兰氏阳性和革兰氏阴性的病原体如下：金黄色葡萄球菌ATCC 29213；流感嗜血杆菌ATCC 49247；肺炎链球菌ATCC 49619；酿脓链球菌WT(177-1612A)；和卡他莫拉菌WT(117-10142A)。

[0155] 与测量的TEL相比的CEM-101的PAE结果，以小时计。

[0156]

抗微生物剂浓度	金黄色葡萄球菌ATCC 29213	肺炎链球菌ATCC 49619	酿脓链球菌 117-1612A	流感嗜血杆菌ATCC 49247	卡他莫拉菌 117-10142A

[0157]

CEM-101(4×MIC)	2.3	3.0	6.1	3.2	6.3
泰利霉素(4×MIC)	2.6	1.9	3.4	1.2	4.0
暴露(小时)	2	1	2	1	2

[0158] 暴露2小时后，当针对金黄色葡萄球菌以4X MIC值测试时，CEM-101的PAE(2.3小时)与TEL(2.6小时)类似。通过在暴露期间将浓度增加至8X MIC，CEM-101的PAE被延长至3.9小时(数据未显示出)。针对肺炎链球菌和酿脓链球菌测试的CEM-101PAE分别为3.0和6.1小时，相比之下对于TEL则为1.9和3.4小时。针对革兰氏阴性病原体的CEM-101PAE与较老的酮内酯相比也有利于该新药剂。

[0159] 本文中所述的化合物针对革兰氏阳性显示出显著的浓度和依赖于暴露的PAE，如通过通常与CA-RTI和uSSSI相关的CEM-101(平均PAE，3.8小时)和革兰氏阴性(平均PAE，4.5小时)病原体所证实。总的来说，CEM-101的PAE比TEL的长。

[0160] 实施例。衣原体活性研究。以粉末形式提供CEM-101、TEL、AZI、CLR和多西环素并按照生产商的说明溶解。进行每次试验时使药物悬浮液为新鲜的。

[0161] 肺炎衣原体：测试的肺炎衣原体的分离物包括参照菌株(TW183)、9种来自美国患有肺炎的儿童和成人的分离物(AR39、T2023、T2043、W6805、CWL 029、CM-1)、1种来自日本患有肺炎的儿童的分离物(J-21)和2种来自美国患有人类免疫缺陷病毒感染和肺炎的患者的支气管肺泡灌洗样本的菌株(BAL15和BAL16)。

[0162] 沙眼衣原体：10种沙眼衣原体的分离物，包括来自ATCC的标准分离物(E-BOUR、F-IC-CAL3、C-HAR32、J-UW-36、L2434、D-UW-57kx、B-HAR-36)和近期的临床分离物(N18(宫颈)、N19(宫颈)、7015(婴儿眼睛))。

[0163] 体外易感性测试：使用在96孔微量滴定板生长的HEp-2细胞，在细胞培养物中进行肺炎衣原体和沙眼衣原体的易感性测试。每个孔用0.1ml被稀释得到10^3至10^4IFU/ml的测试菌株温育1小时，并在35℃下温育1小时。使孔通风并用0.2mL在每mL中含有1μg的环己酰亚胺的培养基覆盖并连续两倍稀释该测试药物。用一样两个板进行接种。在35℃温育48-72小时后，固定培养物并染色以包含脂多糖属抗原的荧光素共轭抗体(Pathfinder,Kallestad Diagnostics,Chaska,Minn)。最小抑制浓度(MIC)是没有观察到内含物的最低抗生素浓度。最小杀灭浓度(MBC)的确定方式是，使含抗生素的培养基通风，用磷酸盐缓冲盐水洗涤孔两次并添加不含抗生素的培养基。将培养物在-70℃下冷冻、解冻、传代至新细胞、温育72小时

然后如上固定并染色。MBC是在传代后导致没有内含物的最低抗生素浓度。所有测试都同样进行三次。

[0164] CEM-101及其它抗生素针对肺炎衣原体的10种分离物的活性

药物	MIC(μg/ml)			MBC(μg/ml)	
	范围	50%	90%	范围	90%
CEM101	0.25-1.0	0.25	0.25	0.25-1.0	0.25
泰利霉素	0.015-0.25	0.06	0.06	0.015-0.25	0.06
阿奇霉素	0.015-0.125	0.125	0.125	0.015-0.125	0.125
克拉霉素	0.015-0.125	0.06	0.06	0.015-0.125	0.06
多西环素	0.015-0.06	0.06	0.06	0.015-0.06	0.06

[0165]

[0166] CEM-101及其它抗生素针对沙眼衣原体的10种分离物的活性

药物	MIC(μg/ml)			MBC(μg/ml)	
	范围	50%	90%	范围	90%
CEM101	0.125-0.5	0.25	0.25	0.125-0.5	0.25
泰利霉素	0.015-0.25	0.06	0.06	0.015-0.25	0.06
阿奇霉素	0.015-0.125	0.125	0.125	0.015-0.125	0.125
克拉霉素	0.015-0.125	0.06	0.06	0.015-0.125	0.06
多西环素	0.015-0.06	0.06	0.06	0.015-0.06	0.06

[0167]

[0168] 本研究的结果证实，针对沙眼衣原体和肺炎衣原体，CEM-101具有与其它大环内酯和酮内酯相当的体外活性。

[0169] 实例。组织分布。CEM-101被很好地吸收并分布到组织中。在250mg/kg/d的大鼠中，CEM-101的平均肺部浓度和肝脏浓度比血浆中的浓度高17倍和15倍。在200mg/kg/d剂量的猴子中，肺部浓度和肝脏浓度比血浆浓度高503倍和711倍。心脏中的CEM-101浓度显著低于肺部或肝脏中发现的水平，在大鼠和猴子中，肺部或肝脏中发现的水平分别比血浆浓度高5倍和54倍。

[0170] 实例。CEM-101针对来自世界范围收集的脑膜炎奈瑟氏菌(NM)的侵入性分离物的活性。NM在鼻咽(NP)的定殖可导致侵入性脑膜炎球菌病。采用化学预防来清除NP定殖并防止非免疫接触传染。本文中所述的是针对NM的侵入性临床分离物所测试的CEM-101的活性测定。从北美和南美以及欧洲的29个医疗中心(1997-2008)收集NM的62种分离物(91.9％血培养物)。通过CLSI肉汤微量稀释法测定菌株对CEM-101和包括β-内酰胺、氟喹诺酮(FQ)、大环内酯和三种其它类型在内的10种比较物的易感性。对于血清组(SG)B、C、Y和W135进行血清学鉴定。

[0171] 对青霉素的易感性为82.3％，未检测到抗性(R)菌株。所有分离物都对头孢曲松、

AZI、米诺环素和利福平易感。分离物对FQ易感(≤0.015μg/ml)；然而，13株对萘啶酸的易感性减少(MIC≥8μg/ml)，这可能与对FQ的易感性减少有关。对甲氧苄啶/磺胺甲噁唑(T/S)的抗性是59.7％。在MLS_B类型的药剂中，与TEL(0.03μg/ml)、AZI和CLR(0.12μg/ml)和红霉素(0.25μg/ml)相比，CEM-101是最有活性的(MIC_{90}，≤0.015μg/ml)。SG的流行率(％)为C(41.7)、B(38.3)、Y(16.7)和W135(3.3)。CEM-101是针对MLS_B NM菌株测试的最有活性的化合物(所有的MIC≤0.06μg/ml)，其药力比其它类型的药剂高≥2倍至32倍。CEM-101针对NM分离物非-S至β-内酰胺以及T/S是活性的。

[0172]

	MIC (μg/ml)				
抗微生物剂	50%	90%	范围	%易感性[a]	%抗性[a]
CEM-101	≤0.015	≤0.015	≤0.015-0.06	-[b]	-
TEL	≤0.015	0.03	≤0.015-0.12	-	-
AZI	0.06	0.12	≤0.015-0.12	100.0	-
CLR	0.03	0.12	≤0.015-0.25	-	-
红霉素	0.12	0.25	0.03-0.5	-	-
青霉素	0.03	0.12	≤0.015-0.25	82.3	0.0
头孢曲松	≤0.015	≤0.015	≤0.015	100.0	-
环丙沙星	≤0.008	≤0.008	≤0.008-0.015	100.0	0.0
左氧氟沙星	≤0.008	≤0.008	≤0.008-0.015	100.0	0.0
米诺环素	0.12	0.12	≤0.008-0.25	100.0	-

[0173]

利福平	0.015	0.06	≤0.008-0.12	100.0	0.0
甲氧苄啶/磺胺甲噁唑	0.5	2	≤0.06-4	37.1	59.7

[0174] a.基于CLSI(M100-S19,2009)的易感性标准。

[0175] b.尚未提出易感性标准,但AZI≤2μg/ml被视为易感。

[0176] 实例。CEM-101通过多步法选择抗性酿脓链球菌克隆的能力。已报导,酿脓链球菌保持β-内酰胺易感性,但有时对大环内酯为抗性的。TEL针对除了erm(B)以外的所有大环内酯抗性的酿脓链球菌基因型是活性的。本文中已发现,CEM比TEL的活性高2至4倍。本文中所述的是测试CEM、AZI、CLR、TEL和CLN在具有不同抗性类型(resistotype)的5株中选择酿脓链球菌的抗性克隆的能力。

[0177] 每一株的测试如下:大环内酯易感的,erm(B)、mef(A)、erm(A)、L4核糖体蛋白突变。对于MIC测试采用CLSI大量稀释。连续传代是每天在MHB+5%溶解的马血中对每株以亚抑制的药物浓度进行,认为每一次后来的传代是来自MIC以下1-2倍稀释的管中的接种体,其匹配生长对照物的浑浊。继续每天传代,直到MIC增加>4倍(最大50传代)。在不含药物的培养基中继代培养抗性克隆10x,以测试选定抗性的稳定性。亲代与抗性克隆之间的同一性由PFGE得到证实,大环内酯抗性表型由PCR得到确认。

[0178] 亲代MIC(μg/ml)为:CEM-101,0.008-1;AZI,0.06-4;CLR,0.03-4;TEL,0.03-8;以及CLN,0.06(AZI、CLR、CLN MIC>64μg/ml的一株未测试)。在3/5菌株中,CEM-101MIC在18-43天后增加,从0.03-1μg/ml(亲代)→0.25-8μg/ml(抗性克隆)升高。当传代继续进行到最多50天时,2种克隆的MIC未到达0.25μg/ml以上。在测试的3/4菌株中,AZI在5-35天后具有抗性克隆,MIC从0.06-4μg/ml(亲代)→1->64μg/ml(R克隆)升高。在测试的1/4菌株中,CLR在6天后具有抗性克隆,MIC从0.5μg/ml(亲代)→>64μg/ml(抗性克隆)升高。在测试的2/4菌株中,TEL在6-22天后具有抗性克隆,MIC从0.03-8μg/ml(亲代)→0.25->64μg/ml(抗性克隆)升高。在测试的2/3菌株中,CLN在34-43天后具有抗性克隆,MIC从0.06μg/ml(亲代)→0.5->64μg/ml(抗性克隆)升高。在具有CEM-101[亲代erm(A),L4]的3个克隆的2个中,MIC为0.25μg/ml,只在具有erm(B)的1株中,CEM-101MIC确实从1-8μg/ml升高。

[0179] 实例。CEM-101通过多步法选择抗性(R)肺炎球菌克隆的能力。肺炎链球菌的药物抗性株出现在世界范围内。本文中已发现,CEM-101针对大环内酯抗性的肺炎双球菌的活性比TEL高2至4倍。本文中所述的是测试在具有不同抗性类型的8种肺炎球菌菌株中,CEM与AZI、CLR、TEL、CLN相比选择肺炎链球菌的抗性克隆的能力。

[0180] 测试以下的每一菌株:大环内酯易感的erm(B)、mef(A)、ermB+mefA、erm(A)、L4、L22和23S rRNA核糖体蛋白突变。对于MIC测试采用CLSI大量稀释。连续传代是每天在MHB+5%细胞溶解的马血中对每株以亚抑制的药物浓度进行,认为每一次后来的传代是来自<

MIC 1-2倍稀释的管中的接种体，其匹配生长对照物的浑浊。继续每天传代，直到MIC增加>4倍(最小14，最大50传代)。在不含药物的培养基中继代培养抗性克隆10x，以测试选定抗性的稳定性。亲代与抗性克隆之间的同一性由PFGE得到证实，大环内酯抗性的表型由PCR得到确定。

[0181] 亲代MIC(μg/ml)为：CEM-101，0.004-1；AZI，0.03-8；CLA，0.016-16；TEL，0.004-0.5；CLI，0.016-1(具有AZI、2CLR、2CLN MIC>64μg/ml的4菌株未测试)。在测试的所有8株中，CEM-101MIC在14-43天后增加。对于7株，MIC在14-43天后从0.004-0.03μg/ml(亲代)→0.06-0.5μg/ml(抗性克隆)升高。对于含有erm(B)+mef(A)的第8株，MIC在18天后从1μg/ml(亲代)→32μg/ml(抗性克隆)升高。在3/4菌株中，AZI在14-29天后具有抗性克隆，MIC从0.03-2μg/ml(亲代)→0.5->64μg/ml(抗性克隆)升高。在5/6菌株中，CLR在14-49天后具有抗性克隆，MIC从0.03-16μg/ml(亲代)→16->64μg/ml(抗性克隆)升高。在5/8菌株中，TEL在14-38天后具有抗性克隆，MIC从0.004-0.5μg/ml(亲代)到0.06->64μg/ml(抗性克隆)升高。在2/5菌株中，CLN在14-43天后具有抗性克隆，MIC从0.03-0.06μg/ml(亲代)→0.25->64μg/ml(抗性克隆)升高。在所有8株中，CEM-101产生具有较高MIC的克隆，但8株中的7株的克隆为CEM-101MIC≤0.5μg/ml，只有具有erm(B)+mef(A)的1株(亲代MIC＝1μg/ml)具抗性克隆，发现的MIC＝32μg/ml。

[0182] 实例。使用人THP-1巨噬细胞。通过微生物试验测量累积。采用剂量-响应方法(AAC 2006；50：841-51)，针对吞噬的金黄色葡萄球菌(ATCC 25923；MIC：CEM-101，0.125mg/L；AZI，0.5mg/L)确定细胞内活性。分别使用维拉帕米(100μM)和吉非贝齐(250μM)作为P-糖蛋白和MRP的抑制剂。

[0183] 下表中显示在有和没有流出物运载蛋白抑制剂的情况下，在24小时温育后的累积和活性，其中是Cc/Ce是表观的细胞与细胞外浓度之比，E_{max}是与吞噬后接种体比较的细胞内cfu的最大降低(由剂量-效应响应实验的非线性回归[S形]计算)。

[0184]

	AZI			CEM-101		
		细胞内活性 (Δ log cfu 在24 h时)			细胞内活性 (Δ log cfu，在24 h时)	
		静态剂量 (mg/L)	E_{max} [2]		静态剂量 (mg/L)	E_{max} [2]

[0185]

对照	127.7 ± 23.5	~ 7.0	0.10 ± 0.09	268.1 ± 7.1	~ 0.02	- 0.85 ± 0.23 (b)
维拉帕米	216.37 ± 46.6 (a)	~ 0.2	- 0.37 ± 0.15	290.2 ± 12.9	~ 0.03	- 0.59 ± 0.22 (b)
吉非贝齐	129.12 ± 2.69	~ 3.8	-0.12 ± 0.20	308.2 ± 47.8	~ 0.03	- 0.73 ± 0.20 (b)

[0186] (a)从对照物和吉非贝齐的统计学上的显著；(b)非统计学上的显著。

[0187] 实例。抗生素的细胞内活性。确定针对吞噬细胞内的金黄色葡萄球菌菌株ATCC 25923的抗菌活性。进行全面的剂量-响应研究以评价在调节CEM-101和AZI针对吞噬细胞内的金黄色葡萄球菌(菌株ATCC 25923[MIC:CEM-101,0.125mg/L;AZI,0.5mg/L])的细胞内活性中的活性流出物的影响。在24小时比较抗生素的以下方面：(i)其相对静态浓度(Cs)，和(ii)其相对最大疗效(E)。虽然维拉帕米(但不是吉非贝齐)增加AZI的细胞内活性，但任一抑制剂对CEM-101的活性都不具有显著作用，这表明与AZI相反，后者不是相应的真核运载蛋白的底物。

[0188] 实例。抗生素的细胞累积。通过微生物试验，使用金黄色葡萄球菌ATCC 25923作为测试生物体，在THP-1巨噬细胞中测量大环内酯中的细胞含量。采用Folin-Ciocalteu/Biuret方法平行分析细胞蛋白。细胞在大环内酯中的相关含量参考总细胞蛋白含量来表达，并采用每mg细胞蛋白(如培养的细胞常用的)5μL的转化因子转化为表观浓度。

[0189] 首先在图5中(A图)测定。CEM-101在THP-1细胞中的细胞累积(与AZI的细胞累积相比较)。在24小时，两种抗生素在细胞中很大程度上浓缩，但CEM-101具有较大的值(Cc/Ce)。在第二阶段，不管CEM-101是Pgp还是MRP的底物，在图5(B图)中研究流出物运载蛋白。使用Pgp(维拉帕米)或MRP抑制剂(吉非贝齐)，未观察到CEM-101的细胞累积的显著变化，而维拉帕米显著增加了AZI的细胞累积。

[0190] CEM-101的吸收随时间是线性的，在24小时内达到约375倍的累积水平(AZI,160X,CLR,30X,TEL,21X)。通过酸性pH值或添加质子离子载体莫能菌素抑制累积，但不能通过维拉帕米或吉非贝齐(分别为Pgp和MRP的优选抑制剂)调节。B图显示出当试验在酸性pH值下进行时，CEM-101和AZI的累积都被降低，这种变化几乎完全发生在使pH值从7变为6时。C图显示，已知可降低许多弱有机碱的细胞累积的莫能菌素也几乎完全抑制CEM-101和AZI两者的累积。相反，P-糖蛋白流出物运载蛋白(Pgp，也称为MDR1)的抑制剂，维拉帕米，增加AZI的累积而不影响CEM-101的累积，然而，多药抗性蛋白(MRP)和其它有机阴离子运载蛋白的抑制剂，吉非贝齐，不影响任一化合物。维拉帕米和吉非贝齐都不影响TEL或CLR的累积(数据未显示出)。检查从用10mg/LCEM-101温育1小时并然后转移至不含药物的培养基中的细胞的CEM-101的流出物。流出物以双峰模式行进，一半与细胞相关的药物在大约10分钟内被释

放，然后是若干小时较慢的释放阶段(数据未显示出)。

[0191] 实例。大环内酯在真核细胞中累积，并被视为对细胞内感染的治疗是有利的。酮内酯针对红霉素-抗性生物体是有活性的。下表中显示出了与AZI、CLR和TEL相比，CEM-101向金黄色葡萄球菌(S.a.)、单核细胞增生李斯特菌(L.m.)和嗜肺军团菌(L.p.)的细胞内形式的细胞累积和细胞内活性。

[0192]

	MIC[a]	Cs[b]	E_{max} [c]
		CEM-101	
S. a.	0.06	0.022	-0.86
L. m.	0.004	0.11	-0.66
L. p.	0.004	0.018	-1.03
		AZI	
S. a.	0.5	> 50	0.04
L. m.	1	11.6	-0.81
L. p.	0.016	2.90	-0.83
		CLR	
S. a.	0.5	0.84	-0.18
L. m.			
L. p.	0.007	0.12	-0.71
		TEL	
S. a.	0.25	0.63	-0.29
L. m.			
L. p.	0.007	0.06	-0.63

[0193] [a] mg/L;[b]在24时的静态浓度(mg/L);[c]与吞噬后接种体相比,在24时的Δ log_{10}CFU

[0194] 实例。在中性和酸性pH值下,在MHB中测定了抗生素的MIC和细胞外活性。如前所述,针对由THP-1巨噬细胞吞噬的金黄色葡萄球菌(ATCC 25923)确定细胞内活性(AAC,2006,50:841-851)。结果表示为与时间0时相比的疗效变化。

[0195]

条件	CEM-101	AZI	CLR	TEL
MIC (mg/L)				
(i) pH值 7.4	0.125	0.5	0.5	0.5
(ii) pH值 5.5	1-2	256	16	8
细胞外活性(24h) :Δlog cfu ， 从0时				
(i) 肉汤 pH值 7.4				
Emax[1]	-1.4 ± 0,1	-1.2 ± 0.6	-1.4 ± 0.2	-1.0 ± 0.4
静态剂量[2]	~ 0.06	~ 3.63	~ 1.41	~ 0.28
R^2	0.964	0.860	0.965	0.868
(ii) 肉汤pH值 5.5				
	-1.6 ± 0.4	+ 2.1 ± 0.1	-1.5 ± 0.8	-1.4 ± 0.9

[0196]

Emax[1]				
静态剂量[2]	~1.48	/	~10.47	~9.33
R^2	0.915	/	0.911	0.879
细胞内活性 (24h) :Δlog cfu，从0时				
Emax[1]	-0.8±0.2	0.10±0.0	-0.1±0.1	-0.4±0.2
静态剂量[2]	~0.02	~7.8	~0.98	~0.23
R^2	0.906	0.980	0.974	0.935
THP-1				
Emax[1]	-0.8±0.2	0.1±0.1	-0.1±0.1	-0.4±0.1
静态剂量[2]	~0.02	~10	~0.98	~0.28

[0197] 1-与最初吞噬后接种体相比的细胞内cfu的最大降低(由剂量-效应响应的非线性回归[S形]计算)，在肉汤中(细胞外)或采用感染的巨噬细胞(细胞内)进行。2-产生表观静态效应的细胞外浓度(C，以mg/L计)。比较的药理学描述符(Emax和静态浓度[Cs])得自剂量-响应研究。在Mueller-Hinton肉汤中研究剂量-响应。针对金黄色葡萄球菌ATCC25923并且在肉汤中，在pH值为7.4条件下，CEM-101比AZI、CLR和TEL更系统地有活性；在pH值为5.5条件下，AZI、CLR和TEL显示出其药力的显著降低，而CEM-101显示出较少的改变。

[0198] 与AZI、CLR和TEL相比，CEM-101活性较少受肉汤的酸性pH值影响，并且显示出针对细胞内金黄色葡萄球菌更大的药力(较低的静态剂量)和更大的最大疗效(Emax)。

[0199] 实例。细胞系。对THP-1细胞(ATCC TIB-202；American Tissue Culture Collection，Manassas，VA)进行试验，该THP-1细胞是呈现巨噬细胞样活性的人髓样单核细胞系(参见，例如Barcia-Macay等人，Antimicrob.Agents Chemother.50:841-851(2006))。细胞相关的大环内酯的试验和表观细胞与细胞外浓度比的计算。使用金黄色葡萄球菌ATCC 25923作为测试生物体，通过微生物法测定大环内酯。使用Folin-Ciocalteu/Biuret方法平行测定细胞蛋白。参考总细胞蛋白含量来表达在大环内酯中细胞相关的含量，并使用每mg细胞蛋白5μL的转化因子转化为表观浓度(见于许多培养细胞中的平均值)。

[0200] 采用肉汤的菌株、易感性测试和24小时剂量-响应曲线研究。在本研究中使用金黄

色葡萄球菌ATCC 25923(甲氧西林(methicillin)[甲氧西林(meticillin)]易感的)、单核细胞增生李斯特菌株EGD和嗜肺军团菌株ATCC 33153h。在Mueller-Hinton肉汤(用于金黄色葡萄球菌)和胰酶大豆肉汤(用于单核细胞增生李斯特菌)中24小时温育后进行MIC测定，或在α-酮戊二酸盐缓冲的酵母提取物肉汤(用于嗜肺军团菌)中48小时温育后进行MIC测定。对于金黄色葡萄球菌的研究，在Mueller-Hinton肉汤中进行无细胞培养基中的24小时浓度-响应实验。

[0201] 细胞感染和抗生素细胞内活性的评价。采用常规方法对金黄色葡萄球菌和单核细胞增生李斯特菌进行THP-1细胞的感染和抗生素细胞内活性的评价，或者对嗜肺军团菌采用很小的调整，使用(i)每种巨噬细胞10种细菌的多感染和(ii)庆大霉素(50mg/升)施用30至45分钟，用于消除未被吞噬的细菌。

[0202] 统计分析。用4.03版GraphPad Prism和3.06版GraphPad Instat(GraphPad Software,San Diego,CA)进行曲线拟合统计分析。

[0203] 实例。对金黄色葡萄球菌ATCC 25923、单核细胞增生李斯特菌EGD和嗜肺军团菌ATCC 33153的易感性。在常规的易感性测试中，针对三种所选生物体(金黄色葡萄球菌，0.06和0.5mg/升；单核细胞增生李斯特菌，0.004和1mg/升；和嗜肺军团菌，0.004和0.016mg/升)，CEM-101显示出比AZI低的MIC。在pH值被调节到5.5至7.4范围的肉汤中测量CEM-101、TEL、AZI和CLR针对金黄色葡萄球菌和单核细胞增生李斯特菌的MIC。选择该范围是为了涵盖抗生素能够暴露于细胞外的环境或所考虑的这两种生物体的细胞内的值。如图1所示，当pH值从7.4降低至5.5时，所有四种药物均显示出针对两种生物体的药力的显著降低，AZI显示出最显著的活性损失。CEM-101保持最大活性，一致地显示出贯穿所研究的整个pH值范围的最低MIC，其值(mg/升)对于金黄色葡萄球菌(ATCC 25923)在从0.06(pH值7.4)至0.5(pH值5.5)的范围内，对于单核细胞增生李斯特菌(EDG)在0.0039(pH值7.4)至0.25(pH值5.5)的范围。对于嗜肺军团菌(数据未显示出)，当肉汤的pH值从7.4降低至6.5时(因为不存在生长，因此不能在更低的pH值下进行测定)，CEM-101的MIC从0.005增至0.01，而AZI的MIC从大约0.01增至0.25mg/升。

[0204] 实例。针对细胞外和吞噬细胞内的金黄色葡萄球菌的时间和浓度效果。使用两种单独、固定的浓度0.7和4mg/升，针对在肉汤中和在被THP-1巨噬细胞吞噬后的金黄色葡萄球菌(ATCC 25923)获得CEM-101的短期(6小时)时间-杀灭曲线，与AZI的时间-杀灭曲线相比较。选择较低的浓度以与AZI和CEM-101的血清浓度相关，选择较高浓度以对目标生物体高于AZI的MIC。图3中给出的结果显示，在这些条件下，只有CEM-101在0.7-mg/升浓度下能够显著降低肉汤中以及THP-1巨噬细胞中的CFU。在肉汤中4-mg/升浓度下，AZI最终获得了与CEM-101相同的抗菌效果，但速率较低(5小时对1小时)。在THP-1巨噬细胞中，对AZI即使在4-mg/升浓度下也未检测到一致的活性，而CEM-101再次获得约1.5log10CFU的减少，类似于在0.7-mg/升浓度所见到的幅度。在CEM-101的所有情况下，在1小时内获得CFU的最大降低并在其后保持。

[0205] 然后，我们在固定的时间点(24h)进行浓度-响应实验以获得与CLR、AZI和TEL活性相比较的CEM-101活性的相关药理学描述符(相对药力[50％有效浓度{EC50}]、表观静态浓度[C_s]和相对最大疗效功效[E_{max}](另外的细节描述在Barcia-Macay等，Pharmacodynamic evaluation of the intracellular activities of antibiotics against

Staphylococcus aureus in a model of THP-1macrophages Antimicrob.Agents Chemother.50:841-851(2006)中)。数据在图2中呈现作为(i)重量浓度(mg/升)和(ii)MIC的倍数(如在pH值7.4的肉汤中测定的)的函数。在表中显示出相应的药理学描述符数值。

[0206] 在图2中说明的剂量-响应曲线的相关回归参数[a](具有置信区间[Cl])和统计分析

[0207]

		肉汤[+]			
抗生素	E_{max}[♦] (CI)	EC_{50}[◊] (CI)		C_S[◊◊]	R^2
CEM-101	-1.37	mg/L	0.03	0.06	0.973
	(-1.67至-1.08)		(0.02至0.06)		
	a; A		a; A		
		x MIC	0.48	0.88	
			(0.26至0.91)		
			a; A		
TEL	-1.00	mg/L	0.12	0.29	0.892
	(-1.78至-0.22)		(0.03至0.52)		
	a; A		b; A		

[0208]

		x MIC	0.46	0.96	
			(0.11至2.06)		
			a；A		
AZI	-1.23	mg/L	1.78	3.4	0.872
	(-2.55至0.083)		(0.45至7.02)		
	a；A		c；A		
		x MIC	3.55	6.87	
			(0.90至14.0)		
			b；A		
CLR	-1.41	mg/L	0.80	1.32	0.956
	(-1.95至-0.87)		(0.41至1.56)		
	a；A		c；A		
		x MIC	1.59	2.65	
			(0.81至3.1)		
			a,b；A		

[0209]

		THP-1 巨噬细胞 ++			
抗生素	E_{max}♦ (CI)		EC_{50}◊ (CI)	C_5◊◊	R^2 (CI)
CEM-101	-0.86	mg/L	0.0068	0.022	0.927
	(-1.36至-0.37)		(0.0023至		

[0210]

			0.020)		
	a； B		a； B		
		x MIC	0.11	0.35	
			(0.037至0.32)		
			a； B		
TEL	-0.29	mg/L	0.024	0.63	0.954
	(-0.70至0.12)		(0.007至 0.088)		
	b； B		b； B		
		x MIC	0.097	1.04	
			0.027至0.35		
			a； B		
AZI	0.04	mg/L	0.11	> 50	0.983
	(-0.23至0.32)		(0.05至0.22)		
	b； B		c； B		
		x MIC	0.22	> 100	
			0.11至0.45		
			a； B		
CLR	-0.18	mg/L	0.046	0.84	0.974
	(-0.52至0.16)		(0.018至0.12)		

[0211]

	b; B		b,c; B		
		x MIC	0.093	1.68	
			0.035至0.25		
			a; B		

[0212] [a]使用图4中所示的所有数据点(数据来自当抗生素的细胞外浓度低于0.01 x MIC(5)时的没有抗生素的样品，

[0213] [+]初始接种体[时间＝0 h]:0.97±0.24 x10^6 CFU/mL(n＝3)

[0214] [++]初始(吞噬后)接种体[时间＝0h]:2.74±0.55x10^6CFU/mg蛋白(n＝3)◆在时间＝24h，与相应的初始接种体相比的CFU减少(以log_{10}为单位)，如外推的抗生素浓度＝∞；得到少于5次计数的样品被视为低于检测水平。

[0215] ◇导致接种体减少在初始(E_0)与最大(E_{max})值之间的浓度(以mg/L或以xMIC为单位)，如由希尔(Hill)方程获得(使用斜率因子1)；

[0216] ◇◇导致没有明显细菌生长(CFU数与初始接种体相同)的浓度(以mg/L或以xMIC为单位)，如通过图解内推(graphical intrapolation)确定；统计分析。分析抗生素之间的差异(每列对应的行；采用对于所有药物的每个参数之间的多重比较的Tuckey测试的单向ANOVA)：具有不同小写字母的图彼此显著不同($p<0.05$)。肉汤与THP-1巨噬细胞之间的差异分析(每行对应的列；未配对的、双尾t-测试)：具有不同大写字母的图彼此显著不同($p<0.05$)。

[0217] 肉汤和THP-1巨噬细胞中的活性以浓度依赖的方式形成，如通过每个最佳拟合函数的S形(希尔方程)所表示。在肉汤中，CEM-101的相对疗效(E_{max}为-1.37 log_{10})与其它药物的相近(E_{max}值为-1.00至-1.41 log_{10})。在THP-1巨噬细胞中，CEM-101的相对疗效与在肉汤中(E_{max}为-0.86 log_{10})相比显著降低，但与其它药物的程度不同，其基本上变成仅是抑菌的(E_{max}值为0.04至-0.29log_{10})。基于重量而言，与肉汤和THP-1巨噬细胞两者中的所有三种比较药物相比，CEM-101具有较高的相对药力(较低的E_{50}值)和较低的静态浓度(较低的C_s值)。当数据作为等效浓度的函数(MIC的倍数)被分析时，这些EC_{50}值的差异减少，表明MIC就此而言是主要的驱动参数。在肉汤中，即使当作为MIC的倍数分析时，CEM-101和CLR仍显示出比TEL和AZI显著较低的EC_{50}。

[0218] 实例。针对吞噬细胞内的单核细胞增生李斯特菌和嗜肺军团菌的活性。采用与用于金黄色葡萄球菌相同的方法来评估CEM-101和AZI针对吞噬的单核细胞增生李斯特菌和嗜肺军团菌的活性，以获得浓度效果关系的信息和相应的相关药理学描述符的信息。如图4所示，在所有情况下都观察到符合希尔方程的关系，尽管嗜肺军团菌的有限生长使得函数的拟合有些较不确定。当用数据对重量浓度作图时，似乎CEM-101对于单核细胞增生李斯特菌和嗜肺军团菌两者都具有比AZI较高的相对药力(较低的EC50)。当用嗜肺军团菌的数据对MIC的倍数作图时，这种差异减小但仍然显著，表明MIC对该生物体的细胞内活性来说是

重要的但不是独有的驱动力。相反，当数据表达为MIC的倍数时，对于单核细胞增生李斯特菌未观察到响应的差异。在表中显示了相关药理学描述符的数值及其差异的统计分析。

[0219] 剂量-响应曲线的相关回归参数[a]（具有置信区间[CI]）和统计分析示于图4。

[0220]

		单核细胞增生李斯特			
抗生素	E^{max}♦ (CI)		EC_{50} ◊(CI)	C_S◊◊	R^2
	-0.66	mg/L	0.020	0.11	0.934
CEM-101	(-1.28至		(0.005至0.073)		
	a		a		

[0221]

		x MIC	5.00	0.88	
			(1.36至18.5)		
			a		
AZI	-0.81	mg/L	2.66	11.6	0.953
	(-2.11至0.48)		(0.91至7.73)		
	a		b		
		x MIC	2.66	11.6	
			(0.81至3.1)		
			a		

[0222]

		嗜肺军团菌 ATCC 33153 ++			
抗生素	E_{max}◆ (CI)		EC_{50}◇ (CI)	C_S◇◇	R^2
	-1.03	mg/L	0.052	0.018	0.920
CEM-101	(-1.34至-0.72)		(0.012至0.23)		
	a		a		
		x MIC	13.1	4.56	
			(3.02至57.0)		
			a		
AZI	-0.83	mg/L	2.86	2.90	0.903
	(-2.00至0.34)		(0.17至48.6)		
	a		b		
		x MIC	179.0	181	
			(10.5至3038)		
			b		

[0223] [a]使用图4中所示的所有数据点(由于当抗生素的细胞外浓度低于0.01x MIC(5)时的细胞外生长迹象原因,未使用来自没有抗生素的样品的数据。[+]初始(吞噬后)接种体[时间＝0h;CFU/mg蛋白]:单核细胞增生李斯特菌,1.67±0.22x10^6(n＝3);嗜肺军团菌,0.94±0.60x10^6。◆在时间＝24h(单核细胞增生李斯特菌)或48h(嗜肺军团菌),自相应的初始接种体的CFU减少,如外推的抗生素浓度∞;得到少于5次计数的样品被视为低于检测水平。◇导致接种体减少在初始(E_0)与最大(E_{max})值之间的浓度(以mg/L或以x MIC为单位),如由希尔方程获得(使用斜率因子1);◇◇导致没有明显细菌生长(CFU数与初始接种体相同)的浓度(以mg/L或以x MIC为单位),如通过图解内推确定。统计分析:分析两种抗生素之间的差异(每行对应的列;未配对的、双尾t-测试):具有不同小写字母的图彼此显著不同($p<0.05$)。

[0224] 实例。在感染的THP-1巨噬细胞中的剂量-响应研究。针对吞噬细胞内的金黄色葡萄球菌ATCC 25923,CEM-101比AZI、CLR和TEL药力更强(较低的Cs)。此外,CEM-101能够减少细胞内接种体(E_{max}～1 log),这对于AZI、CLR和TEL中任一个都未观察到。

[0225] CEM-101在细胞内的吸收(ii):细胞类型的作用

[0226]

细胞	THP-1 (人巨噬细胞)	J774 (鼠科动物巨噬细胞)	MDCK (犬科动物上皮细胞)	MDCK过度表达 (sur-expressing) MDR1流出物运载蛋白
Cc/Ce 在5 h	~ 50 - 150	~ 60	~ 45	~ 30

[0227] 实例。CEM-101与比较物(AZI、CLR和TEL)针对细胞内金黄色葡萄球菌ATCC 25923(THP-1巨噬细胞)的剂量-响应研究。参加图7和下表。

[0228]

	CEM-101	AZI	CLR	TEL
Emax	-0.80 ± 0.11	0.04 ± 0.11	-0.18 ± 0.13	-0.29 ± 0.16
Cs (mg/L)	~0.01	> 50	~ 0.86	~ 0.27

[0229] 实例。细胞内活性:与其它抗葡萄球菌剂的比较研究。测定了抗生素针对THP-1巨噬细胞中的细胞内金黄色葡萄球菌(ATCC 25923株)的比较剂量-静态响应。参见图6,条表示MIC(mg/L)或细胞外静态剂量。

[0230] 方法。用活的麻风杆菌感染小鼠腹膜巨噬细胞,添加药物并在33℃下温育3天。3天后,巨噬细胞溶解以释放细胞内的麻风杆菌,然后通过放射性呼吸测定法和存活力染色测定细胞内麻风杆菌的存活力。CEM-101针对细胞内麻风杆菌存活力显示出疗效。

[0231] 在所有实验中使用通过在无胸腺的nu/nu小鼠足垫中连续传代保持的麻风杆菌的Thai-53分离物。对于无菌测试,将新收获的活的麻风杆菌在33℃下连同不同浓度的药物(CEM-101、CLR和利福平)一起在培养基中温育7天。此温育结束时,对经药物处理的麻风杆菌进行放射性呼吸测定,用以基于棕榈酸盐的氧化和用存活力染料染色来评估存活力,从而评估膜损伤的程度。对于细胞内测试,用新收获的活的麻风杆菌以20:1的MOI感染来自瑞士小鼠的腹膜巨噬细胞12小时。感染结束时,洗涤细胞外的细菌,以不同浓度添加药物并在33℃下温育3天。3天结束时,细胞溶解以得到细胞内麻风杆菌,用于放射性呼吸测定和存活力染色。

[0232] 当与对照物比较时,0.15μg/ml的CEM-101能够显著地($P<0.001$)降低麻风杆菌在无菌和细胞内培养物中的存活力。CEM-101的抑制作用与在同一条件下且在相同浓度下采用CLR获得的抑制作用在统计学上没有不同。

[0233] 实例。新出现的泰利霉素抗性β-溶血性链球菌(BHS)。针对一批43个TEL-R BHS测试CEM-101。在SENTRY抗微生物监测计划(SENTRY Antimicrobial Surveillance Program)(2003-2006)中,在3,958个BHS中总共确定出53个(1.3%)BHS,为TEL-R(MIC,≥2μg/ml)。来

自欧洲(31株)、北美(11)和拉丁美洲(1)的20家医院的43株(36组A,1组C,6组G)供测试。易感性(S)测试采用CLSI肉汤微量稀释法,3株为需要D-测试的红霉素(ERY)-R、CLN(CC)-S。测试9种对照药剂(4种在表中)。

[0234] 作为MLSB-大环内酯对照药剂的CEM-101的MIC分布:在MIC出现(μg/ml):

[0235]

抗微生物剂	≤0.015	0.03	0.06	0.12	0.25	0.5	1	2	4	>4
CEM-101	4	0	1	18	10	6	4	0	0	0
TEL	0	0	0	0	0	0	0	8	16	19
红霉素	0	0	0	0	0	0	0	0	-	43
CLN	-	-	-	-	2	1	0	0	-	40
Q/D	-	-	-	-	37	6	0	0	-	0

[0236] CEM-101保持针对所有TEL-R(MIC,≥2μg/ml)BHS的活性,且所有MIC均为≤1μg/ml(MIC50,0.12μg/ml)。TEL-R菌株的最高出现频率在欧洲(最大在意大利)。CEM-101使由BHS导致的感染进一步恶化。

[0237] CEM-101针对每种BHS血清组的药力是相同的,大体上的MIC50和MIC90分别为0.12和0.5μg/ml。CEM-101的活性比TEL的活性大32倍(MIC50比较)。所有菌株都是ERY抗性的,但是奎奴普丁/达福普汀(Q/D)为100%S。三种CC-S菌株(酿脓链球菌)为D-测试(+)且2种具有CEM-101的(+)诱导。对于其它比较物的易感率为:青霉素、四环素、头孢曲松、阿莫西林/克拉维酸盐和左氧氟沙星(100.0%);且四环素(46.8%)。

[0238] 实例。在肉汤中的易感性测试:采用另外的菌株(包括CA-MRSA)的研究:在7.4下的MIC

[0239]

菌株	MSSA/MRSA	CEM-101	AZI	CLR	TEL
ATCC 25923	MSSA	0.125	0.5	0.5	0.5
NRS 192 (US)	CA-MRSA	0.25	1	0.5	0.25
N4090440 (BE)	CA-MRSA	0.06	0.5-1	0.5	0.5
N7112046 (BE; 动物 MRSA)	MRSA	0.06	2	1	0.25
STA 44 (亚洲)	CA-MRSA	0.5	256	128	8
CHU (亚洲)	CA-MRSA	2	256	256	32
STA 268 (亚洲)	CA-MRSA	0.5-1	128	128	16
MEH (亚洲)	CA-MRSA	0.125	1	0.5	0.25

[0240] 体内:腹膜内(IP)-小鼠感染模型(ED_{50})

[0241]

化合物	MAC-S 肺炎链球菌 ATCC 49619 (MIC)	MAC-R 酿脓链球菌 3029 (MIC)
CEM-101	2.5 mg/kg (<=0.125)	2.5 mg/kg (<=0.125)
AZI	15 mg/kg (<=0.125)	>150 mg/kg (>64)
TEL	1 mg/kg (<=0.125)	>150 mg/kg (16)

[0242] 实例。在鼠科动物系统感染模型中针对若干菌株评估抗微生物剂活性,所述若干菌株包括抗性分离物,如MRSA、MRSA 300、mefR肺炎链球菌、红霉素抗性的酿脓链球菌和血清型19A肺炎链球菌分离物。

[0243] 实例。在若干感染模型中评价疗效。CD-1雌性小鼠感染IP;在感染后1hr作为单一口服剂量施用CEM-101或比较物。在感染后24hr确定PD50。在皮下脓肿小鼠模型中针对肺炎链球菌进一步评价CEM-101。经与环糊精珠(cyclodextran bead)混合的细菌的SC注射感染CD-1雌性小鼠。在感染后2hr,小鼠接受口服单剂量的CEM-101或对照药剂。在给药后48hr,对小鼠实施无痛致死术,脓肿被无菌地去除并对细菌计数。确定每个脓肿的CFU并与未治疗

的对照物进行比较。在环磷酰胺诱导的嗜中性白血球减少症的小鼠中进行CEM-101的进一步评价。在采用肺炎链球菌的大腿感染后1.5hr，用CEM-101或对照药物对小鼠口服给药。治疗后24hr，处理大腿并确定大腿的CFU/克。

[0244] 小鼠全身感染模型(mg/kg)

[0245]

	CEM-101	TEL	CLR
金黄色葡萄球菌	16.3 (11.2-21.3)	>30	22.7 (11.3-34.1)
MRSA	7.5 (6.0-8.9)	ND	5.0
肺炎链球菌 (大环内酯易感的)	6.0 (2.0-10.0)	19.9 (9.6-30.2)	32.1 (12.3-52.0)
肺炎链球菌 (mef R)	23.2 (15.6-30.7)	10.6 (2.6-18.6)	>30

[0246]

酿脓链球菌 (大环内酯易感的)	9.4 (7.3-11.5)	7.8 (5.7-9.8)	24.8 (18.1-30.4)
酿脓链球菌 (红霉素 R)	5.1 (4.2-6.1)	4.4 (3.8-4.9)	22.8 (14.6-30.9)

[0247] ND＝未测定

[0248] 在脓肿中，10mg/Kg QD剂量的CEM-101显示出4.2$\log_{10}$的降低，而未治疗小鼠的CLR(CL)仅获得1.5$\log_{10}$的减少。大腿中的CEM-101需要8.0mg/Kg以获得未治疗小鼠中的3$\log_{10}$的减少。TEL和CL分别需要15.5和13.5mg/Kg以获得相同的1$\log_{10}$CFU减少。

[0249] 实例。培养基。胰酪胨大豆琼脂(TSA)板-BBL(Franklin Lakes,NJ)；具有5％羊血的胰酪胨大豆琼脂(TSA-II)-BBL(Franklin Lakes,NJ)；脑心浸液(BHI)肉汤-BBL(Franklin Lakes,NJ)；III型猪胃粘蛋白(Sigma Aldrich,St Louis MO)；环糊精珠(Sigma-Aldrich,St.Louis,MO)；环磷酰胺(Sigma-Aldrich,St.Louis,MO)。

[0250] 实例。实验设计。在开始研究之前，使来自查理斯河实验室(Charles River Laboratories)(Wilmington,MA)的CD-1雌性小鼠(重18至22克)适应新环境5天。所有研究均在批准的IACUC协议下进行并符合OLAW标准。在整个研究中，动物可自由获得食物和水并

且提供得很丰富。

[0251] 小鼠全身感染研究。在此模型中评价8种细菌分离物。对每种菌株，采用过夜培养。将细菌再悬浮于培养基中，并在BHI，5％或8％猪胃粘蛋白中稀释到按初始毒力研究确定将导致在感染后48小时小鼠存活为0％的浓度。进行细菌计数以确定接种体剂量。感染后1小时，小鼠经口管饲法接受治疗。在研究结束时计算存活百分比，并且将达到50％存活的剂量、保护性剂量50％(PD50)连同通过使用GraphPad Prism 4.03版(GraphPad Software)的概率分析所计算的95％置信区间一起记录。

[0252] 实例。小鼠皮下脓肿。由通过再悬浮于盐水中并将该悬浮液调节至0.10D的过夜平板培养物在以1:10稀释的625nm下制得细菌。将受调节的细菌悬浮液与按照包装说明书制备的环糊精珠以1:2混合。刮干净小鼠的右侧腹并皮下注入0.2ml的细菌接种体。感染后2小时，经口管饲法，用测试样品或对照药物治疗小鼠。感染后48小时，对小鼠实施无痛致死术，脓肿被无菌地去除，均匀化，连续稀释并涂于细菌生长琼脂上。过夜温育后，对菌落计数并确定脓肿的CFU/克。

[0253] 实例。嗜中性白血球减少症的小鼠大腿感染。在第4天和第1天，分别采用150mg/Kg和100mg/Kg的环磷酰胺(cyclophosamide)的IP注射来使小鼠患有嗜中性白血球减少症。在第0天，用0.1ml体积中的约5x 10^5CFU/ml的细菌感染小鼠的右大腿。感染后1.5小时，小鼠经口管饲法接受治疗。对一组受感染的小鼠实施无痛致死术，并处理大腿用于细菌浓度测定以作为T＝0对照物。治疗后24小时，对余下的小鼠实施无痛致死术，将大腿无菌地去除，称重，均匀化，连续稀释并涂于细菌生长培养基上。过夜温育细菌平板后计算每克大腿的CFU。计算获得与24小时对照大腿相比的1$\log_{10}$、2$\log_{10}$和3$\log_{10}$减少所需的测试样品的量。进行另外的研究，使治疗单剂量(Q24)分为2份相等剂量(Q12)、3份相等剂量(Q8)和4份相等剂量(Q6)，以便确定该化合物的药效特性。进一步的分析包括静态剂量、EC50、1log杀灭及最大效果(Emax)。

[0254] 实例。药代动力学。CEM-101的小鼠药代动力学

[0255]

剂量 (mg/kg)	途径	Tmax(h)	Cmax(ng/ml)	AUC0-24, (ng*hr/mL)	半衰期 (h)

[0256]

2.5	PO	1	359.15	1172.63	2.85
10.0	PO	0.5	1436.60	4757.93	2.85

[0257] 本文中应意识到，在本文中所述的小鼠中的皮下脓肿模型和嗜中性白血球减少症的大腿模型与对理解和/或预测本文中所述的化合物在治疗人类体内感染的疗效方面可能比小鼠保护模型更相关，小鼠保护模型对理解和/或预测本文中所述的化合治疗血源性感染(如菌血症)的疗效来说可能是更好的模型。例如，相对于CLR和TEL来说，如果含三唑的化合物(如CEM-101)在相同剂量下的小鼠中具有较低的C_{max}，则MIC在用于易感菌株的小鼠保

护测试中被准确反映。观察到当针对C_{max}调节剂量时，CEM-101在小鼠中是非常有活性的。针对抗性菌株，即使是在小鼠保护测试中也只有CEM-101是有效的，。相比之下，在更相关的人感染模型(如皮下脓肿模型或嗜中性白血球减少症的大腿模型)中，CEM-101表现非常好，并且反映其体外药力。

[0258] 实例。还针对肺炎链球菌分离物评估了CEM-101减少脓肿感染模型中的微生物负荷的能力。

[0259] 实例。小鼠全身感染。

[0260]

	CEM-101		TEL		CLR	
	MIC (μg/ml)	PD50 (mg/Kg; 95% CI))	MIC (μg/ml)	PD50 (mg/Kg; 95% CI))	MIC (μg/ml)	PD50 (mg/Kg; 95% CI))
金黄色葡萄球菌	0.12	16.3 (11.2-21.3)	0.06	>30	>16	22.7 (11.3-34.1)

[0261]

MRSA	0.12	7.5 (6.0-8.9)	0.5	ND	>16	5.0
MRSA 300 (CA)	0.12	9.5 (5.0-13.9)	0.25	9.2 (6.3-12.1)	>16	19.5 (8.2-30.5)
肺炎链球菌(大环内酯易感的)	<0.03	6.0 (2.0-10.0)	<0.06	19.9 (9.6-30.2)	>16	32.1 (12.3-52.0)
肺炎链球菌 (mefR)	<0.03	23.2 (15.6-30.7)	0.25	10.6 (2.6-18.6)	0.5	>30
肺炎链球菌血清型 19A	0.25	6.6 (4.4-8.9)	0.5	5.7 (4.8-6.7)	>16	5.03 (4.8-5.3)
酿脓链球菌 (大环内酯易感的)	0.015	9.4 (7.3-11.5)	0.015	7.8 (5.7-9.8)	0.015	24.8 (18.1-30.4)
酿脓链球菌(红霉素 R)	1.0	5.1 (4.2-6.1)	1.0	4.4 (3.8-4.9)	1.0	22.8 (14.6-30.9)

[0262] ND＝未测定

[0263] 实例。小鼠皮下脓肿～酿脓链球菌ATCC 8668(平均Log_{10}CFU/克的脓肿)。脓肿在感染后48小时处理。

[0264]

	剂量 (mg/Kg)	48 hr.
对照	-	8.22
CEM-101	10	5.35

[0265]

	20	2.53
CLR	10	7.63
	20	7.82
TEL	10	7.06
	20	6.10

[0266] 实例。嗜中性白血球减少症的大腿模型。小鼠嗜中性白血球减少症的大腿肺炎链球菌1629(剂量(mg/Kg)QD,PO在感染后2h;与24小时对照物相比的减少)

[0267]

化合物	给药途径	1 log10减少	2 log10减少	3 log10减少	与24 hr对照物相比的log10CFU最大变化
CEM-101	PO	6.0	7.0	8.0	-5.81
TEL	PO	11.0	13.2	15.5	-6.82
CLR	PO	4.5	9.0	13.5	-5.75

[0268] 在等效的小鼠皮下脓肿～肺炎链球菌1629(10mg/Kg PO在感染后2小时)CEM-101和CLR平均$\log_{10}$CFU/克的脓肿在24小时至48小时分别保持恒定为约4和5.5;TEL从约3增加至约4.5。

[0269] 实例。小鼠嗜中性白血球减少症的大腿肺炎链球菌6303(剂量(mg/Kg)QD,PO;与24小时对照物相比的减少)

[0270]

化合	给药途	1 log10	2 log10	3 log10	与24 hr对照物相比的

[0271]

物	径	减少	减少	减少	log10CFU最大变化
CEM-101	PO	1.2	3.0	5.0	-6.17
TEL	PO	4.75	6.5	8.75	-5.27
CLR	PO	5.5	9.2	14.0	-5.20

[0272] 实例。小鼠嗜中性白血球减少症的大腿模型分次剂量研究:肺炎链球菌6303对CEM-101PO

[0273]

	Q24	Q12	Q8	Q6
静态剂量(mg/Kg)	8.2	19.2	12.1	20.5
EC50(mg/Kg)	5.7	14.5	9.0	16.7
1log杀灭(mg/Kg)	10.8	24.0	23.0	23.0
Emax(log10CFU/大腿)	6.38	4.95	5.01	5.83

[0274] 实例。小鼠肺部感染。还针对肺炎链球菌分离物评估了CEM-101减少肺部感染模型中的微生物负荷的能力。由通过再悬浮于盐水中并将该悬浮液调节至0.10D的过夜平板培养,在以1:10稀释的625nm下制得细菌。将小鼠在浅麻醉下经鼻内吸入而灌注50μl肺炎链球菌1629细菌接种体。小鼠在感染后5、24和36小时经口管饲法接受治疗。治疗结束后48小时,对小鼠实施无痛致死术,脓肿被无菌地去除,均匀化,连续稀释并涂于细菌生长琼脂上。过夜温育后,对菌落计数并确定肺部的CFU/克。从24小时至48小时,肺部的平均$\log_{10}$CFU/克在CLR治疗的小鼠中的增加(从3到大于7)比在CEM-101治疗的小鼠中的增加(从5到约5.5)更多。

[0275] 实例。世界范围的生物体的样品包括肺炎链球菌(SPN;168,59.3%红霉素[ERY]-R和18多抗药性的[MDR]-19A菌株)、卡他莫拉菌(MCAT;21,11β-内酰胺酶[+])、流感嗜血杆菌(HI;100,48β-内酰胺酶[+])、副流感嗜血杆菌和溶血性嗜血杆菌(12)和嗜肺军团菌(LPN;30)。所有的S测试均参照CLSI方法(M7-A7,M100-S18)且根据CLSI(2008)的判断标准比较药剂,如AZI(AZ)、CLR(CLR)、ERY、TEL(TEL)、CLN(CC)、Synercid®(SYN)、左氧氟沙星(LEV)、利奈唑胺、和利福平(RIF)。SPN对CEM很敏感(MIC_{90},0.25μg/ml;最高MIC在0.5μg/ml),并且CEM药力分别比TEL和CC高2倍和8倍。

[0276] 18血清组19A菌株对以下显示出高水平的非易感性:大环内酯(100.0%)、CLN(83.3%)、青霉素(83.3%)、amox/clav(88.9%)、头孢曲松(33.3%)、四环素(83.3%和TMP/SMX(100.0%)。剩下很少的治疗选择只有TEL(MIC_{90},1μg/ml;100.0%易感的)、Q/D(MIC_{90},1μg/ml;100.0%易感的)和氟喹诺酮(MIC_{90},1μg/ml;100.0%易感的)具有可利用的药力(表3)。CEM-101显示的药力比TEL大2倍。

[0277] 与TEL(MIC_{90},1μg/ml)、ERY(MIC_{90},>32μg/ml)、AZI(MIC_{90},>16μg/ml)、CLR(MIC_{90},>

32μg/ml)和CLN(MIC90,>16μg/ml)相比较,MDR-19A置换菌株也是CEM-S(MIC90,0.5μg/ml)。

[0278] LPN大部分是S至CEM,所有MIC值≤0.015μg/ml(TEL MIC90,0.03μg/ml)。嗜血菌属RTI病原体较少是CEM-S(MIC90,CEM/TEL):HI(2/4μg/ml)及其它的(2/4μg/ml),对β-内酰胺酶(+)菌株无变化。MCAT CEM-101MIC全部为≤0.5μg/ml,等于TEL。

[0279] 肺炎链球菌对具有仅0.25μg/ml的MIC90的CEM-101非常易感。这种记录的药力(表1)比TEL大两倍,比利奈唑胺(MIC90,2μg/ml)优8倍。β-溶血性链球菌对CEM-101(MIC90,0.03μg/ml)也是易感的,此新药剂的优势(MIC90,0.12μg/ml;100.0%易感性)比TEL高出4倍。测试了5组β-溶血性菌株并且所有菌株显示出单模态的MIC(0.015μg/ml)分布,且最高CEM-101MIC仅为0.12μg/m(表1)。

[0280] 如同TEL,CEM-101对所有大环内酯和CLN抗性的草绿色链球菌(5个物种组;51株)是活性的,但所有CEM-101MIC值≤0.12μg/ml,药力比TEL高4倍,活性比红霉素大64倍。

[0281] 对于嗜血杆菌属的所有CEM-101MIC结果具有仅为0.5-4μg/ml的窄范围(除了2种不显示流出泵的菌株为0.12μg/ml)。对于这一属中的菌株的总体MIC90为2μg/ml,与AZI相等,比TEL的活性大两倍。各物种(流感嗜血杆菌、副流感嗜血杆菌)和β-内酰胺酶的产生未显著改变CEM-101活性(MIC90,2μg/ml;表1)。

[0282] 在MLSB药剂中,针对卡他莫拉菌的药力(以μg/ml计的MIC90)的等级次序为:AZI(0.06)>CEM-101=CLR(0.12)>红霉素=TEL(0.25)>Q/D(0.5)>CLN(2;见表1)。β-内酰胺酶活性对CEM-101MIC90值没有显著影响(0.12μg/ml)。

[0283] 针对军团菌属,CEM-101(MIC90,≤0.015μg/ml)是最有活性的药剂(表1),优于其它的大环内酯、左氧氟沙星和利福平。注意,测试培养基的炭含量能够干扰该物种的参考MIC测试。

[0284]

	CEM MIC (MG/ML)			TEL MIC (MG/ML)		
生物体 (编号)	50%	90%	范围	50%	90%	范围
SPN (150)	0.015	0.25	≤ 0.008-0.5	0.03	0.5	≤0.008-1
MDR-19A (18)	0.25	0.5	0.06-0.5	0.5	1	0.12-1
MCAT (21)	0.12	0.12	≤ 0.008-0.5	0.12	0.25	≤ 0.015-0.5
HI (100)	1	2	0.12-4	2	4	0.25-16
其它嗜血杆菌 (12)	2	2	0.12-2	2	4	0.25-8
LPN (30)	≤0.015	≤ 0.015	≤0.015	0.03A	0.03A	0.03-0.06[A]

[0285] 1.RIF结果,非TEL。

[0286] 本文中所述的化合物的体外筛选研究显示出与TEL、ERY、AZI和CLR相当或更优的药力,以及针对记录的对大环内酯或林可酰胺具有抗性的革兰氏阳性分离物的活性。CEM-101活性通常集中针对革兰氏阳性病原体,但对需要复杂营养的革兰氏阴性物种(嗜血杆菌、摩拉克氏菌属)、一些肠杆菌科(沙门氏菌、志贺氏菌)和导致各种性传播疾病(STD)的病原体也具有可测量的药力。当测试与CARTI有关的生物体(链球菌、嗜血杆菌属、卡他莫拉菌、嗜肺军团菌)时,通过参考临床和实验室标准化研究所(CLSI)的方法测定CEM-101活性,在测试的链球菌中出现了抗性亚类(血清组19A肺炎链球菌)和各种形式的MLSB-酮内酯抗性。

[0287] 生物体收集:所有测试的生物体收集自从2005年到现在的美国和欧洲医疗中心的

患者。回收的分离物源包括血流、皮肤和软组织及呼吸道感染。不常见的/稀有的生物体物种和表型需要使用在2005之前分离的菌株或来自其它地理区域的菌株。测试的生物体:链球菌(319)、肺炎链球菌(150野生型)、肺炎链球菌(18血清组19A,仅USA)、β-溶血性物种(100,5组)、草绿色组(51,5个物种)、嗜血杆菌物种(111)、流感嗜血杆菌(100,48β-内酰胺酶生产者)、副流感嗜血杆菌(11)、卡他莫拉菌(21,11β-内酰胺酶生产者)、嗜肺军团菌(30)。

[0288] 易感性测试:96孔冷冻形式的检测板由JMI实验室生产并包括三种培养基类型:阳离子调节的Mueller-Hinton肉汤、具有2.5-5%细胞溶解的马血的阳离子调节的Mueller-Hinton肉汤(用于测试链球菌)和嗜血杆菌测试培养基(HTM)。采用按照M7-A7[2006]的CLSI肉汤微量稀释法和琼脂稀释法。对于比较化合物的质量控制(QC)范围和判定标准是在CLSI M100-S18[2008]中公布的那些。测试的QC菌株包括金黄色葡萄球菌ATCC 29213、粪肠球菌ATCC 29212、肺炎链球菌ATCC 49619和流感嗜血杆菌ATCC 49247及49766。所有QC结果都在公布的限度内。对于在BCYE琼脂上测试的嗜肺军团菌采用琼脂稀释法。通过也是在BCYE培养基上进行的E测试来测试比较药剂。使用多种比较药剂,包括:阿莫西林/克拉维酸盐(amox/clav)、AZI、头孢地尼、CLR、CLN、红霉素、左氧氟沙星、利奈唑胺、奎奴普汀/达福普汀(Q/D)、TEL和甲氧苄啶/磺胺甲噁唑(TMP/SMX),全部通过肉汤微量稀释法进行评价;并且环丙沙星、四环素、阿莫西林和利福平另外在琼脂上测试。

[0289] 表中显示出针对链球菌的极好的CEM-101药力(所有MIC,≤0.5μg/ml)和针对革兰氏阴性CA-RTI病原体的中等活性(MIC,≤0.008-4μg/ml)。

[0290] 对于在MIC显示出现的所有测试的RTI生物体(398株)的CEM-101MIC分布(μg/ml)。

[0291]

生物体 (测试的编号)	≤ 0.008	0.015	0.03	0.06	0.12	0.25	0.5	1	2	4	8	≥ 16
肺炎链球菌 (150)	62	25	8	9	7	33	6	0	0	0	0	0
ß-溶血性链球菌 (100)	21	65	4	8	2	0	0	0	0	0	0	0
草绿色链球菌 (15)	27	11	4	7	2	0	0	0	0	0	0	0
卡他莫拉菌 (21)	1	1	1	5	12	0	1	0	0	0	0	0
流感嗜血杆菌 (100)	0	0	0	0	1	0	5	48	42	4	0	0
嗜血杆菌, 其它 (12)	0	0	0	0	1	0	0	4	7	0	0	0

[0292] CEM-101显示出针对链球菌(MIC50,0.015μg/ml)以及多种其它的革兰氏阳性球菌(包括对红霉素和CLN为抗性的菌株)的药力活性。CEM-101针对MDR血清组19A肺炎双球菌显示出完全的活性(18个MIC值中的16个为0.25或0.5μg/ml),并且活性比TEL和Q/D大2倍。CEM-101还抑制与CA-RTI有关的革兰氏阴性物种(流感嗜血杆菌[MIC90,2μg/ml]、军团菌[MIC90,≤0.015μg/ml]以及卡他莫拉菌[MIC90,0.12μg/ml])。

[0293] 实例。选择大环内酯抗性的分离物(29)(基于CLR MIC测定;19MLSB,10M-表型,基于红霉素和CLN抗性分裂)(6种为TEL-I而7种为TEL-R,基于EUCAST判断标准[S<＝0.25-R>0.5])。通过在CAMH肉汤+2.5%细胞溶解的马血中的几何微量稀释法,根据CLSI,使用SP ATCC-49619作为对照测定MIC。

[0294] 实例。对于TEL和CEM-101,ATCC-49619MIC为≤0.008mg/L。ML抗性分离物的数据示于表中。在这种来自确定的大环内酯抗性的CAP的比利时保藏的肺炎链球菌中,CEM-101与

TEL相比显示出整体较低的MIC,特别是关于TEL-I和TEL-R分离物。

[0295]

表型*	编号	TEL			CEM-101		
		范围	几何平均数	MIC_{90}	范围	几何平均数	MIC_{90}
TEL-S	16	0.008-0.25	0.021	0.25	0.008-0.063	0.022	0.063
TEL-I	6	0.5-0.5	0.5	0.5	0.063-0.5	0.223	0.5
TEL-R	7	1-3	1.426	3.0	0.5-1.0	0.906	1.0
* 对于7/16的TEL-S、5/6的TEL-I以及 7/7的TEL-R分离物的MLS_B (基于EUCAST判断标准定义S / I / R (S ≤ 0.25 - R > 0.5)							

[0296] 与TEL相比,CEM-101显示出整体较低的MIC,特别是关于针对大环内酯抗性的CAP的确定例的比利时保藏的肺炎链球菌测试的TEL-I和TEL-R分离物。如本文所述,在具有高ML抗性和对TEL出现抗性的领域中,CEM-101具有可用作泰利霉素的替代物的可能性。

[0297]

	肺炎链球菌 ATCC 49619	肺炎链球菌 ErmB 303	肺炎链球菌 163 (Mef A)	肺炎链球菌 3773 (Erm B)	肺炎链球菌 5032
AZI	≦0.125	>64	8	>64	>64
TEL	≦0.125	≦0.125	≦0.125	1	0.5
CEM-101	≦0.125	≦0.125	≦0.125	0.5	0.5

[0298]

	酿脓链球菌 1721	酿脓链球菌 1850	酿脓链球菌 3029	酿脓链球菌 3262	流感嗜血杆菌 ATCC 49247
AZI	>64	>64	>64	>64	2
TEL	64	8	16	32	4
CEM-101	0.5	≦0.125	≦0.125	0.5	2

[0299] MIC_{50}和MIC_{90}[μg/mL]

[0300]

		CEM-101		OP 1055		TEL	
	#菌株	MIC_{50}	MIC_{90}	MIC_{50}	MIC_{90}	MIC_{50}	MIC_{90}
肺炎链球菌 PEN-S, TEL S; Macr-S	10	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03

[0301]

肺炎链球菌 PEN-R, TEL I/R； Macr-R	12	0.5	0.5	4	4	2	8
肺炎链球菌 PEN-S, TEL S； Macr-R	24	0.03	0.03	0.06	0.06	0.06	0.06
酿脓链球菌 TEL S； Macr-S	10	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03
酿脓链球菌 TEL R； Macr-R	10	0.125	0.25	2	2	32	32
酿脓链球菌 TEL S； Macr-R	30	0.03	0.03	0.125	0.25	0.125	0.5

[0302]

		2-F-TEL		AZI		PEN	
	# 菌株	MIC_{50}	MIC_{90}	MIC_{50}	MIC_{90}	MIC_{50}	MIC_{90}
肺炎链球菌 PEN-S, TEL S； Macr-S	10	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03
肺炎链球菌 PEN-R, TEL I/R； Macr-R	12	1	8	>32	>32	4	8

[0303]

肺炎链球菌 PEN-S, TEL S; Macr-R	24	0.03	0.06	>32	>32	0.03	0.03
酿脓链球菌 TEL S; Macr-S	10	0.03	0.03	0.125	0.125	0.03	0.03
酿脓链球菌 TEL R; Macr-R	10	32	32	>32	>32	0.03	0.03
酿脓链球菌 TEL S; Macr-R	30	0.25	0.5	>32	>32	0.03	0.03

[0304] 实例。当可得到测量范围内的MIC结果时，针对对红霉素易感的链球菌，CEM-101(MIC90,0.015μg/ml)的活性分别比CLR或TEL和AZI大2倍和8倍。对于对红霉素不易感的链球菌，CEM-101的MIC提高(MIC90,0.25μg/ml)；然而，CEM-101的活性比TEL或CLN至少大2倍。当针对对于红霉素和CLN不易感的链球菌测试时，除了一株以外所有的菌株保持对TEL的易感性，但全部都被CEM-101抑制在≤0.5μg/ml。

[0305] CEM-101和所选的比较药剂针对具有各种MLS_B抗性模式的链球菌的活性(三组，300株*)。

[0306]

			MIC (μg/ml	

[0307]

			)	
MLS_B-酮内酯抗性模式 (测试的编号)a	抗微生物剂	50%	90%	范围
ERY-S (164)[b]	CEM-101	≤0.008	0.015	≤0.008-0.03
	TEL	0.03	0.03	0.008-0.06
	CLR	0.03	0.03	≤0.008-0.25
	AZI	0.06	0.12	≤0.008-0.5
	CLN	≤0.12	≤0.12	≤0.12-0.5
	Q/D	0.5	0.5	≤0.12-2
	Amox/clav	≤0.25	2	≤0.25->4
	左氧氟沙星	1	1	0.25->4
	利奈唑胺	1	2	0.25-2
ERY-NS、CLN-和TEL-S (48)[c]	CEM-101	0.03	0.12	≤0.008-0.25
	TEL	0.12	0.5	0.03-1
	CLN	≤0.12	0.25	≤0.12-0.25
	Q/D	0.5	1	0.25-2
	Amox/clav	≤0.25	2	≤0.25->4
	左氧氟沙星	1	2	0.25->4
	利奈唑胺	1	2	0.5-2
ERY-和CLN-NS、	CEM-101	0.06	0.25	≤0.008-0.5

[0308]

TEL-S (88)[d]	TEL	0.12	1	0.03-1
	Q/D	0.5	1	0.25-2
	Amox/clav	2	>8	≤0.25->8
	左氧氟沙星	1	1	0.25-2
	利奈唑胺	1	1	0.5-2

[0309] a.S＝易感的,NS＝不易感的,例如包括中间体和抗性菌株。

[0310] b.包括:咽峡炎链球菌(9株)、星座链球菌(8株)、中间链球菌(7株)、缓症链球菌(2株)、口腔链球菌(3株)、肺炎链球菌(61株)、A组(29株)、B组(17株)、C组(11株)、F组(6株)和G组链球菌(11株)。

[0311] c.包括:咽峡炎链球菌(2株)、星座链球菌(2株)、中间链球菌(3株)、缓症链球菌(7株)、口腔链球菌(7株)、肺炎链球菌(14株)、A组(1株)、B组(7株)和G组链球菌(5株),

[0312] d.包括:星座链球菌(1株)、肺炎链球菌(75株)、B组(7株)、C组(2株)和F组链球菌(3株)。

[0313] 一株(C组链球菌)是NS到ER、CLN和TEL,但具有0.06μg/ml的CEM-101MIC。这是重要的出现方式,特别是在欧洲。

[0314] 实例。大环内酯易感性和大环内酯抗性的链球菌。测试CEM-101针对一系列的肺炎双球菌的活性,并与红霉素、AZI、CLR、TEL、CLN、青霉素G、阿莫西林/克拉维酸盐、左氧氟沙星和莫西沙星的活性相比较。还测试了CEM-101、红霉素、AZI、CLR、TEL、CLN、青霉素G、阿莫西林/克拉维酸盐、左氧氟沙星和莫西沙星针对124酿脓链球菌菌株的药力。

[0315] 肺炎球菌的MIC50和MIC90值(μg/ml)

[0316]

药物	大环内酯易感的(50)			大环内酯抗性的(171)		
	范围	MIC50	MIC90	范围	MIC50	MIC90
CEM-101	0.002-0.015	0.03	0.25	0.004-1	0.06	0.25
ERY	0.03-0.25	0.06	0.125	1->64	>64	>64
AZI	0.06-0.25	0.125	0.125	1->64	>64	>64
CLR	0.015-0.06	0.03	0.06	0.25->64	32	>64
TEL	0.015-0.03	0.03	0.03	0.03-2	0.125	0.5
CLN	0.015-0.06	0.03	0.06	0.03->64	0.125	>64
AMOX/CLAV	0.015-8	0.5	2	0.015-16	1	8
PEN G	0.015-8	1	2	0.008->16	1	4
LEVO	1-32	1	16	0.06-32	1	2
MOXI	0.125-8	0.25	4	0.125-4	0.25	0.5

[0317] A型链球菌属的MIC

[0318]

药物	大环内酯易感的 (26)			大环内酯抗性的(98)		
	范围	MIC50	MIC90	范围	MIC50	MIC90
CEM-101	0.008-0.03	0.015	0.3	0.015-1	0.06	0.5
ERY	0.03-0.25	0.06	0.125	2->64	16	>64
AZI	0.06-0.25	0.125	0.25	0.5->64	8	>64
CLR	0.015-0.06	0.03	0.06	0.25->64	4	>64
TEL	0.03-0.06	0.06	0.06	0.03-16	0.25	8
CLN	0.03-0.125	0.06	0.06	0.03->64	0.125	>64
AMOX/CLAV	0.015-0.03	0.03	0.03	<0.015-0.125	0.03	0.03
PEN G	<0.008-0.125	0.015	0.015	<0.008-0.125	0.015	0.015
LEVO	0.5-1	0.5	0.5	0.5-2	0.5	1
MOXI	0.125-0.25	0.25	0.25	0.125-0.5	0.25	0.25

[0319] 所有A型链球菌株都是青霉素G易感的。针对大环内酯易感的菌株，CEM-101MIC是0.008-0.03μg/ml，针对大环内酯抗性的菌株(全部为表型)，MIC是0.008-0.5μg/m。TEL MIC

比CEM-101的MIC高出多达四倍。重要的是，11/13erm(B)菌株是TEL抗性的，MIC为4和8μg/ml(6)，而全部具有低CEM-101MIC，类似于其它抗性表型的MIC(范围0.016-0.5μg/ml)。

[0320] 实例。细菌和抗微生物剂。确定221个临床肺炎球菌菌株的MIC，所述菌株包括50个大环内酯易感的生物体和171个大环内酯抗性的生物体。大环内酯抗性的菌株全部具有明确的基因型并包括具有erm(B)(54株)、mef(A)(51株)、erm(B)+mef(A)(31株)、erm(A)(4株)和在L4核糖体蛋白(27株)以及23SrRNA(4株)中的突变的菌株。这221株还包括27个喹诺酮不易感的表型(左氧氟沙星MIC 4-32μg/ml)，其具有明确的喹诺酮抗性决定区(QRDR)和全谱的青霉素G抗性表型，采用的是最新的临床实验室标准化研究所(CLSI)口服青霉素V易感性分类(4)。通过MIC测试的124个A型链球菌属包括26个大环内酯易感性和98个大环内酯抗性的菌株。后者包括具有erm(B)、38mef(A)、40erm(A)的19株以及具有L4突变的1株。因为两物种的菌株因其大环内酯抗性表型而被选择，只有易感的菌株一贯是最近的(2003-2008年)分离物；一些抗性菌株在多达5年前(1998年)被分离。在每次试验中包括肺炎链球菌ATCC 49619作为每个物种的质量控制菌株。

[0321] 对于抗性选择测试，测试了以下肺炎球菌的抗性表型的每一种：大环内酯易感的，erm(B)阳性的，mef(A)阳性的，erm(B)+mef(A)阳性的，erm(A)阳性的和在核糖体蛋白(L4，L22)以及23S rRNA中具有突变的。测试A型链球菌属的5株，大环内酯易感的、erm(B)阳性的、mef(A)阳性的、erm(A)阳性的和具有L4突变的菌株各一个。

[0322] 通过琼脂稀释技术得到MIC，该技术使用Mueller-Hinton琼脂(BD Diagnostics，Sparks，Md)+5％羊血琼脂，具有10^4CFU/点并在环境空气中在35℃下过夜温育。通常的质量控制菌株包括在每一次试验中。对于抗性选择，采用CLSI大量稀释用于MIC测试。

[0323] 通过PCR扩增测试所有大环内酯抗性的亲代菌株是否存在erm(B)、erm(A)、mef(E)和mef(A)基因。采用常规的引物和条件，在所有亲代分离物中以及在CEM-101抗性克隆中(CEM-101MIC>1μg/ml)检测在L4和L22核糖体蛋白以及23S rRNA(II区和V区)中的突变的存在。通过采用CEQ8000基因分析系统(Beckman Coulter，Fullerton，CA)的直接测序获得了核苷酸序列。

[0324] 在所有抗微生物剂的亚抑制浓度下，对每一菌株每天进行连续传代。在所有情况下，肉汤培养基为每管1ml的阳离子调节的Mueller-Hinton肉汤(BD Diagnostics，Sparks，MD)+5％细胞溶解的马血。对于每一次随后的每天传代，从管中取出接种体(10μl)，1至2次稀释到MIC以下，其匹配生长控制管的浊度。使用该接种体来确定下一MIC。每天进行传代直到获得MIC的显著增加(≥8倍)。进行最少14次传代，除非获得MIC≥32μg/ml。传代的最大数为50。通过突变体在没有抗生素的血琼脂上的10次每天传代之后的MIC确定来确定所获得的抗性的稳定性。通过大量稀释MIC确定对每种化合物的每一抗性肺炎球菌的克隆的MIC。通过在本研究的最后的脉冲场凝胶电泳(PFGE)证实所获得的突变体与其各自的亲代的同一性。使用CHEF DR III设备(Bio-Rad，Hercules，CA)，采用以下运行参数进行SmaI消化的DNA的PFGE：切换时间5至20s，运行时间为16h。

[0325] 通过在含有5％羊血的Mueller Hinton琼脂(BD Diagnostics，Sparks，MD)上将悬浮液(约10^{10}CFU/ml)以2、4和8x MIC铺开，测定自发单步突变的频率。在5％的CO_2中，在35℃下温育48h后，抗性频率被计算为每一接种体的MIC增加至少4x亲代MIC的菌落数。对于MIC≥4μg/ml的菌株，没有对AZI、CLR、CLN和TEL进行单步研究。肺炎球菌的MIC测试的结果示于

下表。针对肺炎球菌菌株的药物的MIC(μg/ml)

[0326]

药物	MIC范围	MIC_{50}	MIC_{90}
青霉素 G (221[a])	0.008->16	1	4
青霉素 S (53)	0.008-0.06	.03	.06
青霉素 I (63)	0.125-1	.5	1
青霉素 R (105)	2->16	4	8
大环内酯 S (50)	0.015-8	1	2
erm(B) (54)	0.03-16	1	4
mef(A) (51)	0.008-4	0.125	4
erm(A) (4)	0.03-0.03	------	-----
erm(B) + mef(A) (31)	0.03-8	2	4
L4 (27)	1->16	4	16
23S rRNA (4)	0.015-0.5	----	----
喹诺酮S (195)	0.008->16	1	4
喹诺酮R (27)	0.015-8	0.25	4
CEM-101	0.002-1	0.03	0.25
青霉素 S	0.002-0.25	0.03	0.125
青霉素 I	0.002-0.25	0.03	0.25
青霉素 R	0.004-1	0.06	0.25
大环内酯 S	0.002- 0.015	0.008	0.015

[0327]

erm(B)	0.004-1	0.03	0.5
mef(A)	0.008-0.25	0.03	0.125
erm(A)	0.008-0.015	-----	-----
erm (B) + mef(A)	0.015-1	0.125	0.25
L4	0.03-0.125	0.06	0.125
23S rRNA	0.002-0.03	----	----
喹诺酮S	0.002-1	0.03	0.25
喹诺酮R	0.004--.25	0.008	0.06
红霉素	0.03->64	64	>64
青霉素 S	0.03->64	4	>64
青霉素 I	0.03->64	>64	>64
青霉素 R	0.03->64	>64	>64
大环内酯 S	0.03-0.25	0.06	0.125
erm(B)	16->64	>64	>64
mef(A)	1->64	4	32
erm(A)	2-4	----	----
erm(B) + mef(A)	4->64	>64	>64
L4	4->64	>64	>64
23S rRNA	8->64	----	----
喹诺酮S	0.03->64	>64	>64
喹诺酮R	0.03->64	0.06	>64

[0328]

AZI	0.06->64	16	>64
青霉素 S	0.06->64	4	>64
青霉素 I	0.06->64	>64	>64
青霉素 R	0.06->64	>64	>64
大环内酯 S	0.06-0.25	0.125	.0125
erm(B)	>64->64	>64	>64
mef(A)	1->64	4	8
erm(A)	2-8	----	----
erm (B) + mef(A)	2->64	>64	>64
L4	2->64	>64	>64
23S rRNA	32->64	----	----
喹诺酮S	0.06->64	>64	>64
喹诺酮R	0.06->64	0.125	>64
CLR	0.125->64	8	>64
青霉素 S	0.015->64	1	>64
青霉素 I	0.03->64	16	>64
青霉素 R	0.015->64	16	>64
大环内酯 S	0.015-0.06	0.03	0.06
erm(B)	4->64	>64	>64
mef(A)	0.5-32	2	4
erm(A)	0.25-0.5	----	----

[0329]

erm (B) + mef(A)	1->64	>64	>64
L4	1-32	16	32
23S rRNA	8-16	----	----
喹诺酮S	0.015 ->64	16	>64
喹诺酮R	0.015->64	0.03	>64
TEL	0.015-2	0.06	0.5
青霉素 S	0.015-1	0.06	0.25
青霉素 I	0.015-1	0.06	0.5
青霉素 R	0.015-2	0.125	0.5
大环内酯 S	0.015-0.03	0.03	0.03
erm (B)	0.03-2	0.06	1
mef(A)	0.03-0.5	0.125	0.25
erm (A)	0.03-0.06	----	----
erm (B) + mef(A)	0.03-2	0.5	1
L4	0.06-0.25	0.125	0.25
23S rRNA	0.03-0.06	-----	-----
喹诺酮S	0.015 -2	0.125	0.5
喹诺酮R	0.015-1	0.03	0.125
CLN	0.015->64	0.06	>64
青霉素 S	0.03->64	0.06	>64
青霉素 I	0.03->64	0.125	>64

	青霉素 R	0.015->64	0.06	>64
	大环内酯 S	0.015-0.06	0.03	0.06
	erm (B)	0.06->64	>64	>64
	mef(A)	0.03-0.125	0.06	0.06
	erm (A)	0.125-0.25	----	----
	erm (B) + mef(A)	0.03->64	0.06	>64
	L4	0.03-0.125	0.06	0.125
	23S rRNA	0.03-1	----	----
	喹诺酮S	0.015->64	0.06	>64
	喹诺酮R	0.03-64	0.03	64
[0330]	阿莫西林/克拉维酸盐	0.015-16	0.05	8
	青霉素 S	0.015-0.125	0.03	0.06
	青霉素 I	0.03-2	0.5	1
	青霉素 R	0.125-16	2	8
	大环内酯 S	0.015-8	0.5	2
	erm(B)	0.015-8	0.5	8
	mef(A)	0.015-8	0.125	2
	erm (A)	0.03-0.03	----	----
	erm (B) + mef(A)	0.03-16	2	8
	L4	0.125-8	4	8
	23S rRNA	0.03-0.06	-----	-----

[0331]

喹诺酮S	0.015-16	1	8
喹诺酮R	0.015-4	0.5	2
左氧氟沙星	0.06-32	1	8
青霉素 S	0.06-32	1	16
青霉素 I	1-32	1	2
青霉素 R	0.5-16	1	2
大环内酯 S	1-32	1	16
erm (B)	0.5-32	1	2
mef(A)	0.5-8	1	2
erm (A)	1-1	-----	-----
erm (B) + mef(A)	1-16	1	16
L4	0.5-16	1	2
23S rRNA	0.06-1	-----	------
喹诺酮S	0.06-2	1	2
喹诺酮R	4-32	16	16
莫西沙星	0.125-8	0.25	2
青霉素 S	0.125-8	0.5	4
青霉素 I	0.125-4	0.25	0.5
青霉素 R	0.125-4	0.25	0.5
大环内酯 S	0.125-8	0.25	4
erm (B)	0.125	0.25	0.5

[0332]

mef(A)	0.125-4	0.25	0.5
erm (A)	0.25-0.5	----	----
erm (B) + mef(A)	0.125-2	0.25	0.5
L4	0.125-4	0.25	0.5
23S rRNA	0.25-0.5	------	-----
喹诺酮S	0.125-1	0.25	0.5
喹诺酮R	0.5-8	4	4

[0333] [a]测试的菌株编号。

[0334] 具有明确的大环内酯抗性机制的肺炎球菌菌株的MIC50和MIC90值(μg/ml)。

[0335]

药物	erm(B) (54)		mef(A) (51)		erm(B) + mef(A) (31)		L4突变 (27)	
	MIC_{50}	MIC_{90}	MIC_{50}	MIC_{90}	MIC_{50}	MIC_{90}	MIC_{50}	MIC_{90}
CEM-101	0.03	0.5	0.03	0.125	0.125	0.25	0.06	0.125
红霉素	>64	>64	4	32	>64	>64	>64	>64
AZI	>64	>64	4	8	>64	>64	>64	>64
CLR	>64	>64	2	4	>64	>64	16	32
TEL	0.06	1	0.125	0.25	0.5	1	0.125	0.25

[0336]

CLN	>64	>64	0.06	0.06	0.06	>64	0.06	0.125
阿莫西林克拉维酸盐	0.5	8	0.125	2	2	8	4	8
左氧氟沙星	1	2	1	2	1	16	1	2
莫西沙星	0.25	0.5	0.25	0.5	0.25	0.5	0.25	0.5
青霉素G	1	4	0.125	4	2	4	4	16

[0337] 针对大环内酯易感的肺炎双球菌,CEM-101具有的MIC范围为0.002-0.015μg/ml,而针对大环内酯抗性的肺炎双球菌(全部为表型)的范围为0.004-1μg/ml。具有erm(B)[有和没有mef(A)]的只有3株具有1.0μg/ml的CEM-101MIC,218/221株具有≤0.5μg/ml的CEM-101MIC。作为对照,针对大环内酯易感的菌株,相应的TEL MIC范围为0.015-0.03μg/ml,而针对大环内酯抗性的菌株为0.015-2μg/ml。针对大环内酯易感的和大环内酯抗性的菌株,CEM-101MIC比TEL的MIC低了多达四倍。所有A型链球菌菌株是青霉素G易感的。下表中列出MIC。

[0338] 针对A型链球菌的药物的MIC(μg/ml)

[0339]

药物	MIC 范围	MIC_{50}	MIC_{90}
CEM - 101 (124^a)	0.008-1	0.06	0.5
大环内酯 S (26)	0.008-0.03	0.015	0.03
Erm(B) (19)	0.03-1	0.5	1

[0340]

Mef(A) (38)	0.06-0.25	0.125	0.25
Erm(A) (40)	0.016-0.5	0.03	0.125
L4 (1)	0.06	-----	-----
红霉素	0.03->64	16	>64
大环内酯 S	0.03-0.25	0.06	0.125
Erm(B)	>64->64	>64	>64
Mef(A)	8-32	16	32
Erm(A)	2->64	4	>64
L4	2	----	----
AZI	0.06->64	8	>64
大环内酯 S	0.06-0.25	0.125	0.25
Erm(B)	>64->64	>64	>64
Mef(A)	0.5-16	8	8
Erm(A)	2->64	16	>64
L4	2	----	----
CLR	0.015->64	4	>64
大环内酯 S	0.015-0.06	0.03	0.06
Erm(B)	32->64	>64	>64
Mef(A)	0.5-8	4	8
Erm(A)	0.25->64	2	>64

[0341]

L4	1	----	----
TEL	0.03-16	0.125	8
大环内酯 S	0.03-0.06	0.06	0.06
Erm(B)	0.03-16	8	16
Mef(A)	0.125-1	0.5	1
Erm(A)	0.03-0.25	0.06	0.125
L4	0.06	-----	-----
阿莫西林/克拉维酸盐	<0.015-0.125	0.03	0.03
大环内酯 S	0.015-0.03	0.03	0.03
Erm(B)	<0.015-0.125	<0.015	0.03
Mef(A)	<0.015-0.125	0.015	0.06
Erm(A)	<0.015-0.03	0.03	0.03
L4	0.03	-----	-----
左氧氟沙星	0.5-2	0.5	1
大环内酯 S	0.5-1	0.5	0.5
Erm(B)	0.5-1	0.5	1
Mef(A)	0.5-2	0.5	1
Erm(A)	0.5-2	0.5	1
L4	0.5	----	----
莫西沙星	0.0125-0.5	0.25	0.25

[0342]

大环内酯 S	0.125-0.25	0.25	0.25
Erm(B)	0.125-0.25	0.25	0.25
Mef(A)	0.25-0.5	0.25	0.25
Erm(A)	0.125-0.5	0.25	0.25
L4	0.25	-----	-----
Pen G	<0.008-0.125	0.015	0.015
大环内酯 S	0.008-0.015	0.015	0.015
Erm(B)	<0.008-0.125	0.015	0.015
Mef(A)	<0.008-0.125	0.015	0.03
Erm(A)	<0.008-0.015	0.015	0.015
L4	0.015	-----	-----
CLN	0.03->64	0.125	>64
大环内酯 S	0.03-0.125	0.06	0.06
Erm(B)	0.06->64	>64	>64
Mef(A)	0.03-0.125	0.06	0.125
Erm(A)	0.06-0.5	0.125	0.25
L4	0.06	-----	-----

[0343] a测试菌株的编号

[0344] 具有明确的大环内酯抗性机制的A型链球菌菌株的MIC50和MIC90值(μg/ml)。

[0345]

	erm(B) (19)		mef(A) (38)		erm(A) (40)	
药物	MIC50	MIC90	MIC50	MIC90	MIC50	MIC90
CEM-101	0.5	1	0.125	0.25	0.03	0.125
红霉素	>64	>64	16	32	4	>64
AZI	>64	>64	8	8	16	>64
CLR	>64	>64	4	8	2	>64
TEL	8	16	0.5	1	0.06	0.125
CLN	>64	>64	0.06	0.125	0.125	0.25
阿莫西林/克拉维酸盐	<0.015	0.03	0.015	0.06	0.03	0.03
左氧氟沙星	0.5	1	0.5	1	0.5	1
莫西沙星	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
青霉素 G	0.015	0.015	0.015	0.03	0.015	0.015

[0346] 针对大环内酯易感的菌株，CEM-101MIC为0.008-0.03μg/ml，而针对大环内酯抗性的菌株(全部为表型)的MIC为0.015-1μg/ml。TEL MIC比CEM-101的MIC高出多达4倍。erm(B)菌株的大部分(17/19)是TEL抗性的，MIC在4与16μg/ml之间，并且全部具有低CEM-101MIC，类似于其它抗性表型的MIC(范围0.03-1μg/ml)。肺炎球菌的多步抗性选择研究的结果示于下表。

[0347] 肺炎链球菌多步选择结果。

[0348]

菌株编号	初始	所选的抗性	在10次不含抗生素菌株编号药物的继

[0349]

表型[R-确定的]药物	MIC (μg/ml)			代培养之后再测试MIC				
		MIC	# 传代	CEM	AZI	CLA	TEL	CLI
1077 大环内酯-S								
CEM-101	0.008	0.06	43	0.06	0.03	0.06	0.06a	0.03
AZI	0.03	>64	29	0.03	>64	>64	0.125	4
CLR	0.016	0.008	50	-	-	-	-	-
TEL	0.004	0.25	15	0.06	>64	>64	0.25	8
CLN	0.016	4	49	0.06	>64	>64	0.06	8
24 大环内酯-R[erm(B)]								
CEM-101	0.004	0.06	14	0.06	>64	>64	0.125	>64
AZI	>64	NT	NT	-	-	-	-	-
CLR	>64	NT	NT	-	-	-	-	-
TEL	0.25	32	14	0.06	>64	>64	16	>64
CLN	>64	NT	NT	-	-	-	-	-

[0350]

3665 大环内酯-R [mef(A)]								
CEM-101	0.03	0.5	14	0.5	16	4	0.25	0.03
AZI	8	16	50	-	-	-	-	-
CLR	2	16	26	0.06	8	8	0.06	0.03
TEL	0.125	2	14	0.03	4	2	0.25	0.03
CLN	0.016	0.03	50	-	-	-	-	-
1076 大环内酯-R [erm(B)&mef(A)]								
CEM-101	1	32	18	32	>64	>64	32	>64
AZI	>64	NT	NT	-	-	-	-	-
CLR	>64	NT	NT	-	-	-	-	-
TEL	0.5	>64	14	2	>64	>64	>64	>64
CLN	64	NT	NT	-	-	-	-	-
1635 大环内酯-R [erm(A)]								
CEM-101	0.008	0.06	32	0.125	4	1	0.03	0.03

[0351]

AZI	2	>64	14	0.004	>64	>64	0.004	0.03
CLR	0.5	>64	49	0.008	>64	>64	0.016	0.25
TEL	0.004	0.008	50	-	-	-	-	-
CLN	0.06	>64	14	0.004	4	0.5	0.008	>64
2686 大环内酯-R [L4 突变]								
CEM-101	0.03	0.5	22	1	>64	32	0.25	0.03
AZI	>64	NT	NT	-	-	-	-	-
CLR	8	>64	14	0.03	>64	>64	0.06	0.03
TEL	0.06	0.5	25	0.016	>64	16	0.5	0.03
CLN	0.03	0.125	50	-	-	-	-	-
7127 大环内酯-S [S20N 在 L4, A105V 在L22]								
CEM-101	0.008	0.125	16	0.06	0.06	0.125	0.06	0.03
AZI	0.06	0.5	29	0.016	1	0.5	0.016	0.06
CLR	0.03	16	15	0.008	>64	16	0.008	1

[0352]

TEL	0.008	0.06	38	0.008	0.06	0.06	0.03	0.03
CLN	0.03	0.25	43	0.004	0.03	0.016	0.008	0.25
3009 大环内酯-R [23SrRNA 突变]								
CEM-101	0.016	0.25	20	0.25	>64	>64	0.06	1
AZI	>64	NT	NT	-	-	-	-	-
CLR	16	>64	25	0.03	>64	64	0.06	1
TEL	0.016	0.03	50	-	-	-	-	-
CLN	1	2	50	-	-	-	-	-

[0353] b以粗体表示交叉反应性。

[0354] 对肺炎双球菌，亲代MIC(μg/ml)为：CEM-101，0.004-1；AZI，0.03-8；CLR，0.016-16；TEL，0.004-0.5；CLN，0.016-1。4株AZI、2株CLR和2株CLN MIC≥64μg/ml的菌株未测试。在14-43天后，所有测试的8株中CEM-101MIC都增加。对于7株，MIC在14-43天内从0.004-0.03μg/ml(亲代)升高至0.06-0.5μg/ml(抗性克隆)。对于含erm(B)+mef(A)的第8株，MIC在18天内从1μg/ml(亲代)升高至32μg/ml(抗性克隆)。对这种CEM-101抗性克隆进行测序分析，测序分析揭示，与亲代序列相比，在L4，L22蛋白和23S rRNA的II区和V区中没有改变。AZI在14-29天后在3/4菌株中具有抗性克隆，MIC从0.03-2μg/ml(亲代)升高至0.5->64μg/ml(抗性克隆)。CLR在14-49天后在5/6菌株中具有抗性克隆，MIC从0.03-16μg/ml(亲代)升高至16->64μg/ml(抗性克隆)。TEL在14-38天后在测试的5/8中具有稳定的抗性克隆，MIC从0.004-0.5μg/ml(亲代)升高至0.06->64μg/ml(抗性克隆)。CLN在14-43天后在2/5菌株中具有抗性克隆，MIC从0.03-0.06μg/ml(亲代)升高至0.25->64μg/ml(抗性克隆)。

[0355] 下表中显示酿脓链球菌的结果。

[0356] 酿脓链球菌多步选择结果

[0357]

菌株编号表型 [R确定的] 抗生素	初始 MIC (μg/ml)	所选的抗性		在10次不含抗生素的继代培养后再测试MIC				
2132 大环内酯-S								
CEM-101	0.008	0.016	50	CEM	AZI	CLA	TEL	CLI
AZI	0.06	1	28	0.016	1	0.25b	0.03	0.03
CLR	0.03	0.016	50	-	-	-	-	-
TEL	0.008	0.03	50	-	-	-	-	-
CLN	0.06	0.06	50	-	-	-	-	-
2368 大环内酯-R [erm(B)]								
CEM-101	1	8	18	8	>64	>64	>64	>64

[0358]

AZI	>64	NT	NT	-	-	-	-	-
CLR	>64	NT	NT	-	-	-	-	-
TEL	8	>64	6	0.5	>64	>64	>64	>64
CLN	>64	NT	NT	-	-	-	-	-
2094 大环内酯-R [erm(A)]								
CEM-101	0.03	0.25	43	0.25	4	8	0.5	0.06
AZI	4	>64	5	0.016	>64	1	0.03	0.06
CLR	0.5	>64	6	0.016	>64	>64	0.03	0.06
TEL	0.03	0.25	22	0.03	>64	8	0.125	>64
CLN	0.06	>64	34	0.03	16	1	0.03	>64
2011 大环内酯-R [mef(A)]								
CEM-101	0.125	0.125	50	-	-	-	-	-
AZI	4	32	35	0.06	16	4	0.25	0.06
CLR	4	8	50	-	-	-	-	-
TEL	0.5	1	50	-	-	-	-	-
CLN	0.06	0.06	50	-	-	-	-	-
237								

[0359]

大环内酯-R [L4 突变]								
CEM-101	0.03	0.25	20	0.5	4	1	1	0.03
AZI	4	8	50	-	-	-	-	-
CLR	0.25	1	50	-	-	-	-	-
TEL	0.06	0.125	50	-	-	-	-	-
CLN	0.06	0.5	43	0.03	8	0.5	0.06	1

[0360] b以粗体表示交叉反应性。

[0361] 亲代MIC(μg/ml)为:CEM-101,0.008-1;AZI,0.06-4;CLR,0.03-4;TEL,0.008-8;CLN 0.06。AZI、CLR和CLN MIC>64μg/ml的一株未测试。CEM-101MIC在18-43天后在3/5菌株中增加,从0.03-1μg/ml(亲代)升高至0.25-8μg/ml(抗性克隆)。对CEM-101MIC为8μg/ml的抗性克隆进行测序分析,测序分析显示,在测试的所有基因(L4、L22和23S rRNA的II区和V区)中没有变化。当传代继续进行最长50天时,剩下2个克隆的CEM-101MIC未超过0.25μg/ml。AZI在5-35天后在测试的3/4菌株中具有抗性克隆,MIC从0.06-4μg/ml(亲代)升高至1->64μg/ml(抗性克隆)。CLR在6天后在测试的1/4菌株中具有抗性克隆,MIC从0.5μg/ml(亲代)升高至>64μg/ml(抗性克隆)。TEL在6-22天后在测试的2/5菌株中具有抗性克隆,MIC从0.03-8μg/ml(亲代)升高至0.25->64μg/ml(抗性克隆)。CLN在34-43天后在测试的2/4菌株中具有抗性克隆,MIC从0.06μg/ml(亲代)升高至0.5->64μg/ml(抗性克隆)。下表中列出对肺炎双球菌的单步抗性选择研究的结果。

[0362] 肺炎链球菌单步突变频率

[0363]

菌株	表型[R-	选择药物	2×MIC	4×MIC	8×MIC

[0364]

编号	确定的]				
1077	大环内酯-S^a	**CEM-101**	$<9.1\times10^{-9}$	$<9.1\times10^{-9}$	$<9.1\times10^{-9}$
		阿奇霉素	$<7.2\times10^{-9}$	$<1.9\times10^{-10}$	$<1.9\times10^{-10}$
		克拉霉素	1.1×10^{-9}	$<1.2\times10^{-10}$	$<1.2\times10^{-10}$
		泰利霉素	1.1×10^{-9}	$<5.5\times10^{-10}$	$<5.5\times10^{-10}$
		克林霉素	$<3.8\times10^{-10}$	$<3.8\times10^{-10}$	$<3.8\times10^{-10}$
24	大环内酯-R^a[*erm*(B)]	**CEM-101**	1.8×10^{-7}	$<5.0\times10^{-9}$	$<5.0\times10^{-9}$
		阿奇霉素	NT	NT	NT
		克拉霉素	NT	NT	NT
		泰利霉素	1.3×10^{-4}	2.5×10^{-6}	1.7×10^{-6}
		克林霉素	NT	NT	NT
3665	大环内酯-R^a[*mef*(A)]	**CEM-101**	6.8×10^{-7}	1.4×10^{-7}	$<4.5\times10^{-10}$
		阿奇霉素	NT	NT	NT
		克拉霉素	5.0×10^{-7}	$<5.0\times10^{-10}$	$<5.0\times10^{-10}$
		泰利霉素	7.5×10^{-9}	2.5×10^{-9}	2.5×10^{-10}
		克林霉素	$<2.4\times10^{-10}$	$<2.4\times10^{-10}$	$<2.4\times10^{-10}$
1076	大环内酯-R^a[*erm*(B)&*mef*(A)]	**CEM-101**	$<2.5\times10^{-8}$	7.5×10^{-9}	2.0×10^{-9}
		阿奇霉素	NT	NT	NT
		克拉霉素	NT	NT	NT
		泰利霉素	6.5×10^{-6}	9.7×10^{-6}	4.8×10^{-6}
		克林霉素	NT	NT	NT
1635	大环内酯-R^a[*erm*(A	**CEM-101**	1.6×10^{-8}	$<2.0\times10^{-10}$	$<2.0\times10^{-10}$
		阿奇霉素	$<2.0\times10^{-10}$	$<2.0\times10^{-10}$	$<2.0\times10^{-10}$

[0365]

	)]	克拉霉素	$<3.1\times10^{-9}$	$<3.1\times10^{-9}$	$<3.1\times10^{-9}$
		泰利霉素	$<2.7\times10^{-9}$	$<2.7\times10^{-9}$	$<2.7\times10^{-9}$
		克林霉素	7.3×10^{-7}	5.5×10^{-7}	5.6×10^{-7}

[0366] 肺炎链球菌单步突变频率(续)

[0367]

2686	大环内酯-R [L4 突变]	CEM-101	$<2.5\times10^{-9}$	$<2.5\times10^{-9}$	$<2.5\times10^{-9}$
		阿奇霉素	NT	NT	NT
		克拉霉素	NT	NT	NT
		泰利霉素	2.2×10^{-5}	2.2×10^{-9}	$<1.1\times10^{-9}$
		克林霉素	$<1.2\times10^{-9}$	$<1.2\times10^{-9}$	$<1.2\times10^{-9}$
7127	大环内酯-S[S20N 在 L4, A105V 在 L22]	CEM-101	$<2.0\times10^{-10}$	$<2.0\times10^{-10}$	$<2.0\times10^{-10}$
		阿奇霉素	$<2.0\times10^{-10}$	$<2.0\times10^{-10}$	$<2.0\times10^{-10}$
		克拉霉素	$<1.0\times10^{-9}$	$<1.0\times10^{-9}$	$<1.0\times10^{-9}$
		泰利霉素	$<5.0\times10^{-9}$	$<5.0\times10^{-9}$	$<5.0\times10^{-9}$
		克林霉素	$<2.9\times10^{-8}$	$<2.9\times10^{-8}$	$<2.9\times10^{-8}$
3009	大环内酯-R [23S rRNA突变]	CEM-101	$<5.9\times10^{-9}$	$<5.9\times10^{-9}$	$<5.9\times10^{-9}$
		阿奇霉素	NT	NT	NT
		克拉霉素	NT	NT	NT
		泰利霉素	3.8×10^{-7}	<	$<1.5\times10^{-10}$

[0368]

				1.5×10^{-10}	
		克林霉素	1.7×10^{-4}	7.3×10^{-9}	$<1.2\times10^{-10}$

[0369] a S＝易感的;R＝抗性的

[0370] 对用于多步选择中的相同的4种比较物测试其产生自发突变的倾向性。对于CEM-101的突变体选择频率范围是从2x MIC下的$<2.0x10^{-10}$-$6.8x10^{-7}$到8x MIC下的$<2.0x10^{-10}$-$9.1x10^{-9}$。这些比较物具有较高的抗性频率:TEL,2x MIC下的$1.1x10^{-9}$-$1.3x10^{-4}$到8x MIC下的$<1.5x10^{-10}$-$4.8x10^{-6}$;CLN,2x MIC下的$<2.4x10^{-10}$-$1.7x10^{-4}$到8x MIC下的$<1.2x10^{-10}$-$5.6x10^{-7}$;以及CLR,2xMIC下的$<1.0x10^{-9}$-$5.0x10^{-7}$到8x MIC下的$<1.2x10^{-10}$-$<3.1x10^{-9}$。对于AZI,测试了少数的3株;突变体选择频率为2x MIC下的$<2.0x10^{-10}$-$7.2x10^{-9}$到8x MIC下的$<1.9x10^{-10}$-$<2.0x10^{-10}$。酿脓链球菌的单步抗性选择研究的结果在下表中列出。

[0371] 酿脓链球菌单步突变频率

[0372]

菌株编号	表型[R-确定的]	选择药物	2×MIC	4×MIC	8×MIC
2132	大环内酯-S[a]	CEM-101	$<1.0\times10^{-10}$	$<1.0\times10^{-10}$	$<1.0\times10^{-10}$
		阿奇霉素	$<1.0\times10^{-10}$	$<1.0\times10^{-10}$	$<1.0\times10^{-10}$
		克拉霉素	$<1.0\times10^{-10}$	$<1.0\times10^{-10}$	$<1.0\times10^{-10}$
		泰利霉素	$<8.3\times10^{-11}$	$<8.3\times10^{-11}$	$<8.3\times10^{-11}$
		克林霉素	$<7.7\times10^{-11}$	$<7.7\times10^{-11}$	$<7.7\times10^{-11}$
2368	大环内酯-R[a][*erm*(B)]	CEM-101	$<5.9\times10^{-11}$	$<5.9\times10^{-11}$	$<5.9\times10^{-11}$
		阿奇霉素	NT	NT	NT
		克拉霉素	NT	NT	NT

[0373]

		泰利霉素	NT	NT	NT
		克林霉素	NT	NT	NT
2094	大环内酯-R[*erm*(A)]	CEM-101	5.3×10^{-8}	2.1×10^{-9}	$<5.3\times10^{-10}$
		阿奇霉素	NT	NT	NT
		克拉霉素	1.7×10^{-7}	1.0×10^{-7}	5.0×10^{-9}
		泰利霉素	7.7×10^{-8}	$<1.5\times10^{-10}$	$<1.5\times10^{-10}$
		克林霉素	2.1×10^{-7}	1.3×10^{-7}	1.1×10^{-7}
2011	大环内酯-R[*mef*(A)]	CEM-101	3.9×10^{-8}	$<1.1\times10^{-10}$	$<1.1\times10^{-10}$
		阿奇霉素	NT	NT	NT
		克拉霉素	NT	NT	NT
		泰利霉素	3.8×10^{-8}	$<6.3\times10^{-10}$	$<6.3\times10^{-10}$
		克林霉素	$<1.0\times10^{-10}$	$<1.0\times10^{-10}$	$<1.0\times10^{-10}$
237	大环内酯-R [L4突变]	CEM-101	$<1.3\times10^{-10}$	$<1.3\times10^{-10}$	$<1.3\times10^{-10}$
		阿奇霉素	NT	NT	NT
		克拉霉素	$<3.3\times10^{-10}$	$<3.3\times10^{-10}$	$<3.3\times10^{-10}$
		泰利霉素	$<2.0\times10^{-10}$	$<2.0\times10^{-10}$	$<2.0\times10^{-10}$
		克林霉素	$<1.0\times10^{-10}$	$<1.0\times10^{-10}$	$<1.0\times10^{-10}$

[0374] a S＝易感的;R＝抗性的

[0375] 与肺炎双球菌一样,对在多步选择中使用的4种比较物测试其产生自发突变的倾向性。对于CEM-101的突变体选择频率范围是从2x MIC下的<5.9x10-11-5.3x10-8到8x MIC下的<5.9x10-11-<5.3x10-10的。以下比较物的抗性频率高于CEM-101:CLN,2xMIC下的<7.7x10-11-2.1x10-7到8x MIC下的<7.7x10-11-1.1x10-7;以及CLR,2x MIC下的<1.0x10-10-1.7x10-7到8x MIC下的<1.0x10-10-5.0x10-9。TEL的频率类似于CEM-101:2x MIC下的<8.3x10-11-7.7x10-8到8x MIC下的<8.3x10-11-<6.3x10-10。对于用AZI测试的一种大环内酯敏感的菌株的突变频率为2x MIC和8x MIC下的$<1.0\times10^{-10}$。本文中所述的化合物与TEL相

比，在针对TEL中间体和TEL抗性生物体的活性方面表现出增强的药力。当与TEL、AZI和CLR比较时，本文中所述的化合物针对吞噬的金黄色葡萄球菌显示出显著较大的药力。针对吞噬的单核细胞增生李斯特菌和嗜肺军团菌，本文中所述的化合物的药力比AZI大约50倍和100倍。与AZI、CLR、红霉素、TEL、CLN和奎奴普丁/达福普汀相比，本文中所述的化合物针对呼吸道病原体(包括多抗药性肺炎球菌型19A)显示出最广谱的活性。本文中所述的化合物对沙眼衣原体、肺炎衣原体、人支原体和脲原体也是具有药力的，并且MIC还意味着针对大部分肠球菌、淋球菌和革兰氏阳性厌氧菌的临床应用。本文中所述的化合物针对导致肠胃炎的常见生物体(如空肠弯曲菌、沙门氏菌和志贺氏菌)是活性的，并且针对幽门螺杆菌也是活性的。针对若干革兰氏阳性物种，本文中所述的化合物显示出比TEL更具杀菌性，针对革兰氏阳性和阴性菌株，抗生素后效应分别为2.3-6.1和3.7-5.3。本文中所述的化合物在多种鼠科动物感染模型中显示出显著的体内活性。初步的多步研究显示，本文中所述的化合物在金黄色葡萄球菌、粪肠球菌和2种肺炎链球菌中的每一种的一株中的MIC没有变化或仅有很小的变化；在单步实验中发现低速率的自发突变。

[0376] 针对测试的肺炎链球菌和酿脓链球菌的所有抗性表型，包括抗药性肺炎球菌型19A和erm(B)阳性的酿脓链球菌，本文中所述的化合物具有的MIC通常比TEL低至少1或2倍的稀释。CEM-101在所有8个肺炎球菌的菌株中得到具有较高MIC的克隆，但8株中的7株具有CEM-101MIC≤0.5μg/ml的克隆，仅在具有1μg/ml的亲代MIC的1个erm(B)+mef(A)菌株中是抗性克隆，且发现MIC为32μg/ml。在2/3抗性酿脓链球菌中，CEM-101克隆[亲代erm(A)，L4]MIC为0.25μg/ml，仅在具有erm(B)的1株中，CEM-101MIC从1μg/ml升高至8μg/ml。单步研究还显示出与其它测试药剂相比为低产的自发突变。

[0377] 基于由1期临床试验报导的药代动力学，已将暂定的CEM-101易感性判断标准建议为，针对链球菌，≤1μg/ml为易感的，≥4μg/ml为抗性的。

[0378] 实例。葡萄球菌、β-溶血性和草绿色链球菌。很多2006-2007年的临床分离物通过CLSI方法(M7-A7)进行S测试，该方法具有相关的说明性标准(M100-S18)和用于链球菌测试的补充物(2-5％LHB)。使用CEM-101、TEL(TEL)和10种比较物，对比201金黄色葡萄球菌(75WT-MRSA、75WT-MSSA、30CA-MRSA、17VISA或hVISA、7VRSA)、100凝固酶阴性葡萄球菌(CoNS；10物种)、100β-溶血性链球菌(BHS；30A组、31B组、14C组、9F组、16G组)和51草绿色链球菌(VGS；5个物种)，见表。

[0379] MSSA菌株比MRSA或CA-MRSA菌株(MIC50，0.12μg/ml)具有稍多的CEM-101-S(MIC50，0.06μg/ml)。VISA、hVISA和VRSA通常比CEM-101和TEL更难控制。针对所有葡萄球菌，CEM-101的药力比TEL大2倍。链球菌对CEM-101是非常S的(MIC90，0.03-0.06μg/ml)，并且TEL的活性低4倍，没有观察到BHS的S分离物。除了TEL-R分离物和CLN(CC)-R分离物外，ERY-R葡萄球菌保持CEM-101-S，但所有BHS和VGS对CEM-101是S。

[0380]

	CEM-101 MIC (μg/ml)			TEL MIC (μg/ml)		
生物体(编号)	50%	90%	范围	50%	90%	范围
MSSA (75)	0.06	0.12	0.03->16	0.12	0.25	0.06->16
MRSA (75)	0.12	>16	0.03->16	0.25	>16	0.06->16
CA-MRSA (30)	0.12	0.12	0.06-0.12	0.25	0.25	0.12-0.5

[0381]

VISA, hVISA (14)	>16	>16	0.06->16	>16	>16	0.25->16
VRSA (7)	>16	-	0.12->16	>16	-	0.12->16
CoNS (100)	0.06	>16	0.03->16	0.12	>16	0.03->16
BHS (100)	0.015	0.03	≤ 0.008-0.12	0.03	0.12	≤0.008-2
VGS (51)	≤ 0.008	0.06	≤ 0.008-0.12	0.015	0.25	≤ 0.008-0.5

[0382] CEM-101针对除了CC-R菌株外的所有葡萄球菌是有药力的(MIC50,0.06μg/ml);并抑制所有≤0.12μg/ml的链球菌。活性比TEL大2至4倍。

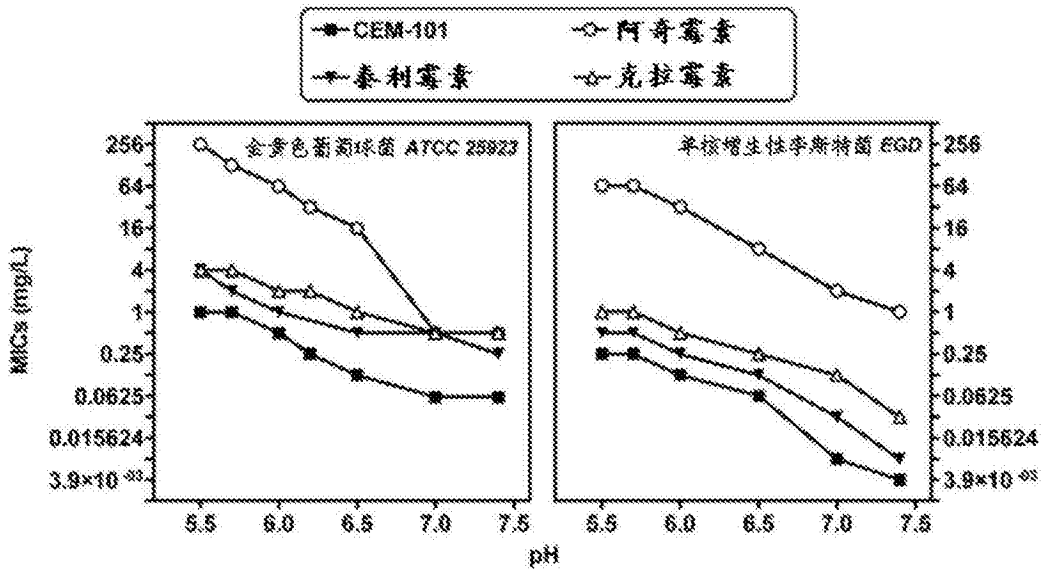

CEM-101
阿奇霉素
泰利霉素
克拉霉素
金黄色葡萄球菌 ATCC 29923
卡塔哥生性李斯特菌 EGD
MICs (mg/L)
256
64
16
4
1
0.25
0.0625
0.015624
3.9×10-03
5.5
6.0
6.5
7.0
7.5
pH

图1

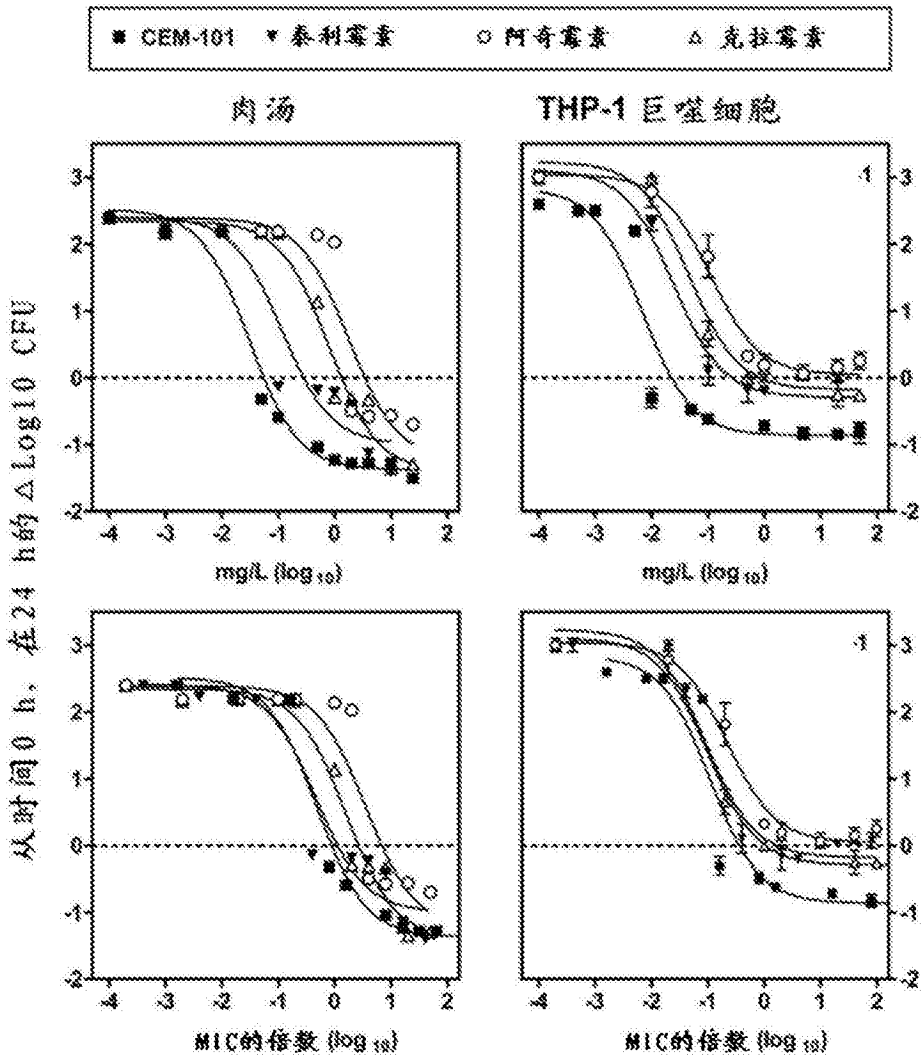

CEM-101
泰利霉素
阿奇霉素
克拉霉素
肉汤
THP-1 巨噬细胞
从时间0 h，在24 h的ΔLog10 CFU
mg/L (log10)
MIC的倍数 (log10)

图2

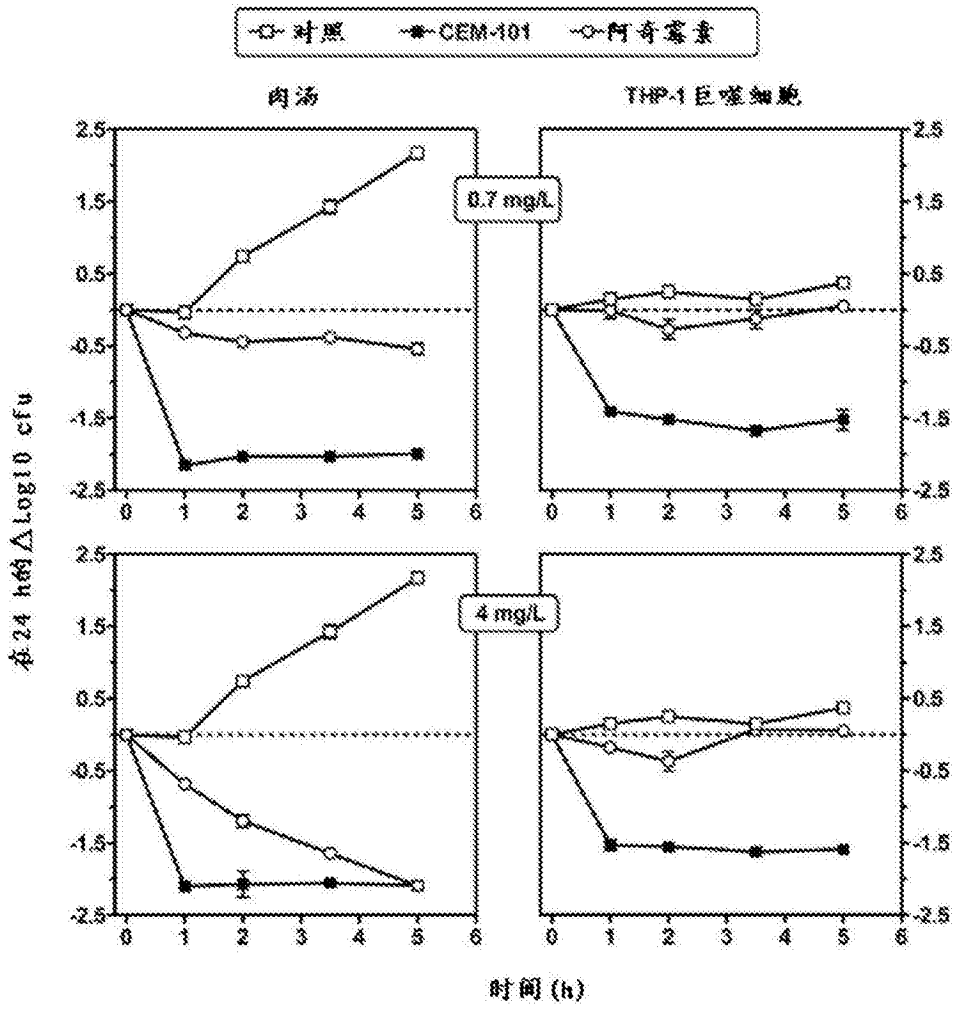


图3

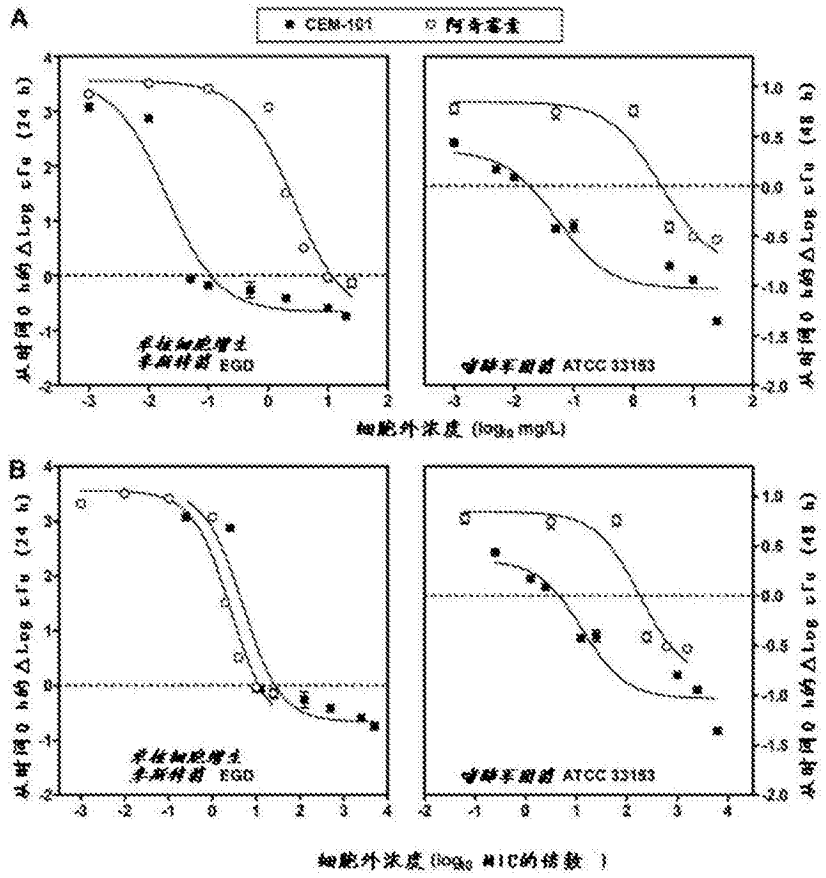

A
B
CEM-101
阿奇霉素
EGD
ATCC 33183
细胞外浓度 (log_{10} mg/L)
细胞外浓度 (log_{10} MIC的倍数)

图4

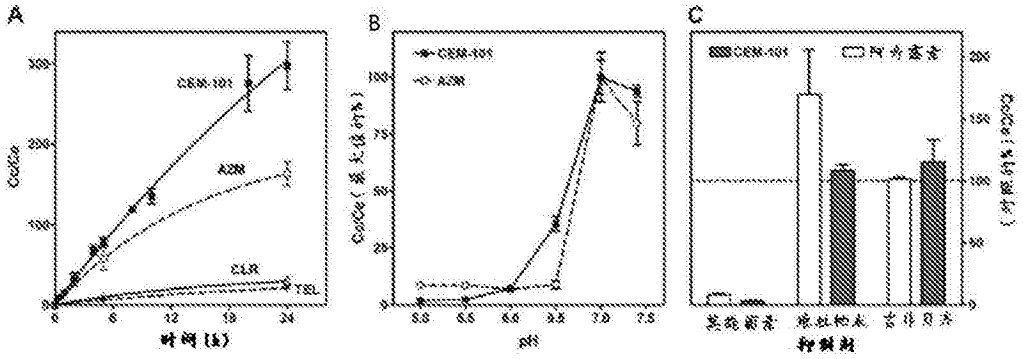

A
B
C
CEM-101
A2R
CLR
TEL
时间 (h)
pH
阿奇霉素

图5

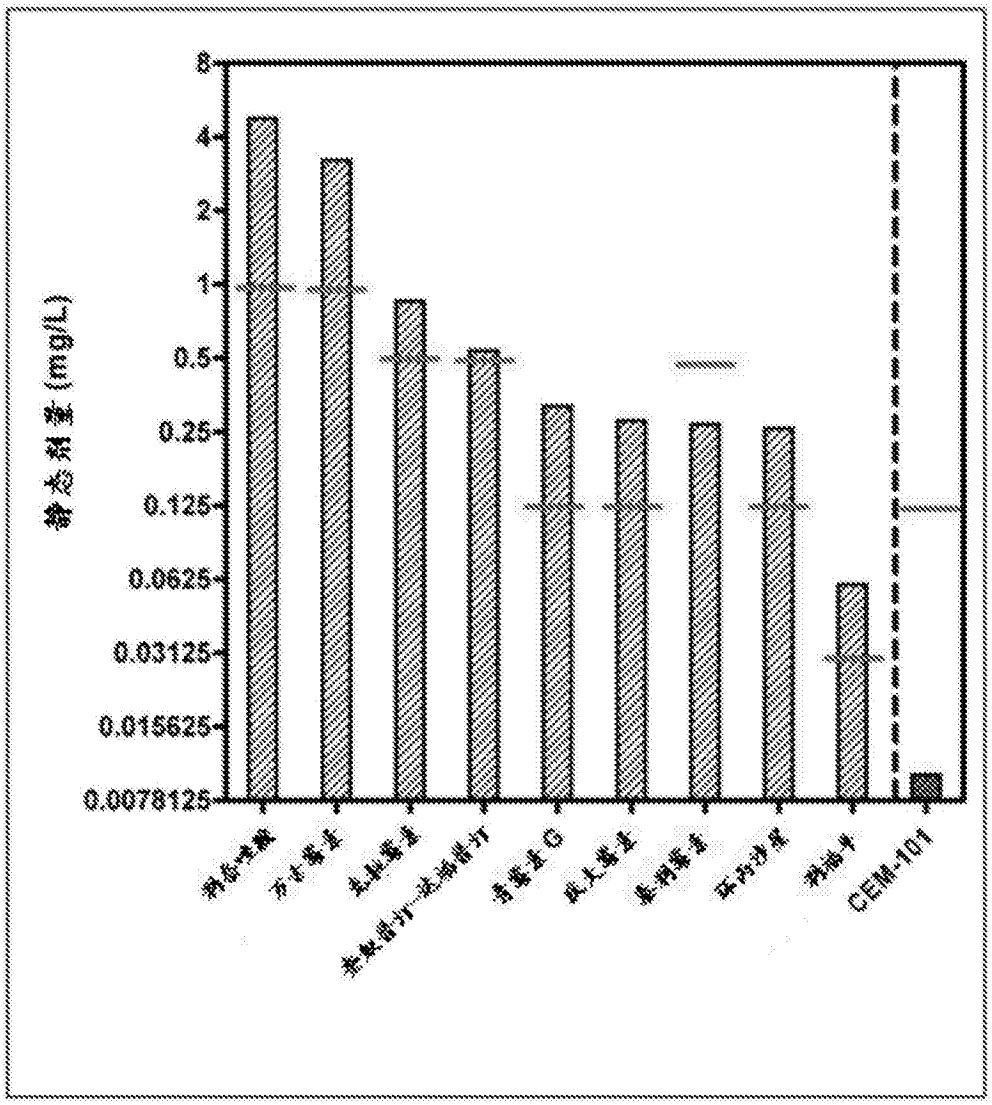


图6

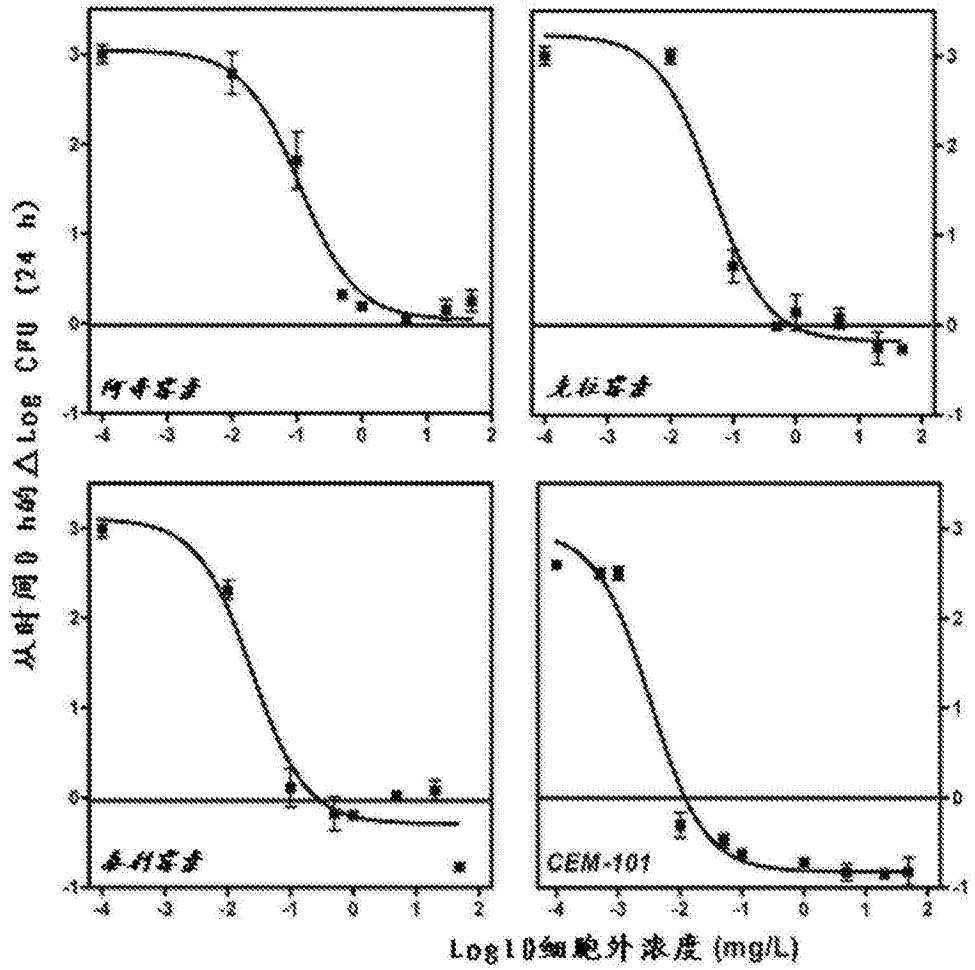


图7