

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2022 年 2 月 10 日 (10.02.2022)



(10) 国际公布号
WO 2022/028243 A1

(51) 国际专利分类号:

A61K 45/06 (2006.01) A61K 31/43 (2006.01)
A61K 31/198 (2006.01) A61K 31/407 (2006.01)
A61K 31/4172 (2006.01) A61K 31/4709 (2006.01)
A61K 31/405 (2006.01) A61K 31/7036 (2006.01)
A61K 31/401 (2006.01) A61P 31/04 (2006.01)
A61K 31/546 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2021/107306

(22) 国际申请日: 2021 年 7 月 20 日 (20.07.2021)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
202010781673.0 2020 年 8 月 6 日 (06.08.2020) CN

(71) 申请人: 中山大学 (SUN YAT-SEN UNIVERSITY)
[CN/CN]; 中国广东省广州市海珠区新港西路 135 号, Guangdong 510275 (CN)。

(72) 发明人: 李惠 (LI, Hui); 中国广东省广州市海珠区新港西路 135 号, Guangdong 510275 (CN)。 彭博 (PENG, Bo); 中国广东省广州市海珠区新港

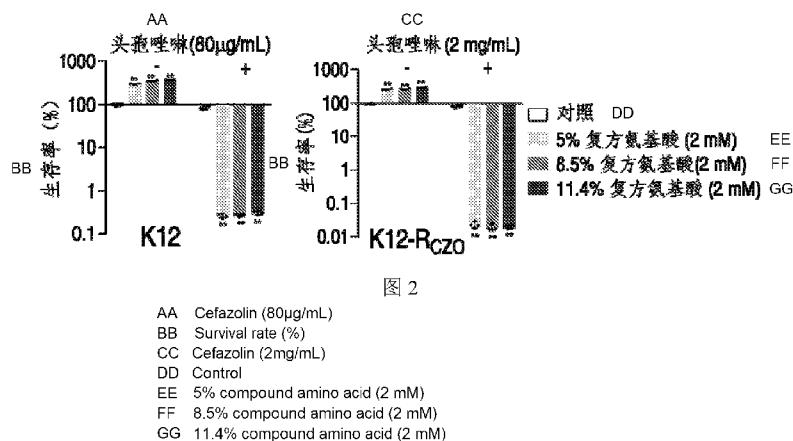
西路 135 号, Guangdong 510275 (CN)。 彭宣宪 (PENG, Xuanxian); 中国广东省广州市海珠区新港西路 135 号, Guangdong 510275 (CN)。 赖诗诗 (LAI, Shishi); 中国广东省广州市海珠区新港西路 135 号, Guangdong 510275 (CN)。

(74) 代理人: 广州粤高专利商标代理有限公司 (YOGO PATENT AND TRADEMARK AGENCY LIMITED COMPANY); 中国广东省广州市天河区体育西路中石化大厦 B 塔 4416 室, Guangdong 510620 (CN)。

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

(54) Title: USE OF COMPOUND AMINO ACIDS IN PREPARATION OF DRUGS ENHANCING SENSITIVITY OF BACTERIA TO ANTIBIOTICS

(54) 发明名称: 复方氨基酸在制备提高细菌对抗生素敏感性药物中的应用



(57) Abstract: The present disclosure relates to the technical field of biomedicine, and in particular to a use of compound amino acids in the preparation of drugs enhancing the sensitivity of bacteria to antibiotics. Experiments prove that combined application of compound amino acids and antibiotics can enhance the sensitivity of bacteria to antibiotics, facilitate entry of antibiotics into bacteria cells, significantly increase the content of antibiotics in the cells, improve the bactericidal effects of antibiotics, thereby reducing bacterial survival rates and treating illness caused by bacterial infections.

(57) 摘要: 本发明属于生物医药技术领域, 具体涉及复方氨基酸在制备提高细菌对抗生素敏感性药物中的应用。实验证明, 将复方氨基酸与抗生素联用, 可以提高细菌对抗生素的敏感性, 并促进抗生素进入细菌细胞内, 显著增加细胞内抗生素的含量, 提高抗生素的杀菌效果, 从而降低细菌生存率, 治疗细菌感染引起的疾病。

ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US,
UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

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

本国际公布:

- 包括国际检索报告 (条约第21条(3))。

复方氨基酸在制备提高细菌对抗生素敏感性药物中的应用

技术领域

- 5 本发明属于生物医药技术领域。更具体地，涉及复方氨基酸在制备提高细菌对抗生素敏感性药物中的应用。

背景技术

- 二十世纪初，抗生素的发现和应用使细菌感染疾病得到控制。然而，耐药菌、超级细菌的出现，抗生素治疗细菌性疾病出现疗效降低甚至无效的情况，人类又
10 面临着新的挑战。目前细菌产生耐药性的速度逐渐加快，而新药研发的难度和时间都在逐渐增加，照此下去，在不久的将来很可能会出现无药可用的危险局面，严重威胁人类健康和生命安全。

- 氨基酸作为广泛存在于自然界中的小分子化合物，是促进人体生长、维持身体正常代谢、提供生命活动的重要物质，也是合成机体所需抗体、激素、酶类和其他组织的原料和构成人体蛋白质的基本单位。现有研究发现，一些氨基酸与抗
15 生素联用，可以提高细菌对抗生素的敏感性，如中国专利申请 CN107308453A 公开了胱氨酸或半胱氨酸的新应用，将胱氨酸或半胱氨酸和抗生素联用可以提高细菌对抗生素的敏感性，提高抗生素的杀菌作用，但是其所达到的效果有限，并且针对的是大肠杆菌、葡萄球菌等细菌的敏感菌，而对于已经产生耐药性的细菌，
20 单个氨基酸与抗生素联用所达到的效果还有待提高。

发明内容

- 本发明要解决的技术问题是克服单一氨基酸与抗生素联用提高细菌对抗生素敏感性的效果有限，特别是对已经产生耐药性的细菌效果不理想的缺陷和不足，探索一种新的提高细菌对抗生素敏感性的方案。
25 足，探索一种新的提高细菌对抗生素敏感性的方案。

本发明的另一目的在于提供复方氨基酸在制备提高细菌对抗生素敏感性药物中的应用。

本发明上述目的通过以下技术方案实现：

- 我们前期研究显示，丙氨酸、谷氨酰胺、L-天冬氨酸具有提高细菌对抗生素
30 的敏感性的作用，然而并非所有氨基酸都有此作用，同时各种不同氨基酸作用于

机体后，发挥提高细菌对抗生素的敏感性的作用机理不尽相同，因此是否可以通过多种氨基酸的复配从而实现更大幅度地提升细菌对抗生素敏感性的能力，无法预料。我们经过大量的探索研究，组成了一种复方氨基酸组合，能够显著提升细菌对抗生素的敏感性，并促进抗生素进入细菌细胞内，显著增加细胞内抗生素的含量，提高抗生素的杀菌效果，从而降低细菌生存率，治疗细菌感染引起的疾病，将复方氨基酸制剂应用于制备提高细菌对抗生素敏感性药物中，效果非常好。

因此，本发明提出复方氨基酸在制备提高细菌对抗生素敏感性药物中的应用。

进一步地，所述复方氨基酸的总氨基酸含量为 5~12%。优选地，所述复方氨基酸的总氨基酸含量为 5~8%；更优选地，所述复方氨基酸的总氨基酸含量为 5%。

更进一步地，所述复方氨基酸含有甘氨酸、丝氨酸、色氨酸、赖氨酸和苏氨酸。

优选地，所述复方氨基酸含有天门冬氨酸、谷氨酸、丝氨酸、组氨酸、甘氨酸、苏氨酸、丙氨酸、精氨酸、酪氨酸、胱氨酸、缬氨酸、甲硫氨酸、色氨酸、苯丙氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、醋酸赖氨酸和脯氨酸。

进一步地，所述复方氨基酸中，每种氨基酸占总氨基酸的摩尔浓度比为：天门冬氨酸 2.65~2.8%、谷氨酸 4.09~4.23%、丝氨酸 2.37~4.64%、组氨酸 4.62~4.81%、甘氨酸 11.25~11.6%、苏氨酸 5.06~5.22%、丙氨酸 19.57~20.11%、精氨酸 6.88~7%、酪氨酸 0.16~0.27%、胱氨酸 0.09~0.21%、缬氨酸 6.67~6.8%、甲硫氨酸 4.04~4.17%、色氨酸 0.98~1.04%、苯丙氨酸 5.12~5.27%、异亮氨酸 4.59~4.74%、亮氨酸 6.44~6.45%，醋酸赖氨酸 6.59~6.64%和脯氨酸 6.23~6.32%。

所述复方氨基酸还可以含有药学上可接受的辅料，制成口服液、注射剂等剂型。

更进一步地，所述抗生素包括 β -内酰胺类抗生素、喹诺酮类抗生素（巴洛沙星）和氨基糖苷类抗生素（庆大霉素）。

其中， β -内酰胺类抗生素包括头孢菌素类抗生素（头孢唑啉、头孢曲松、头孢噻吩）、青霉素类抗生素（氨苄青霉素）和碳青霉烯类抗生素（亚胺培南、南美罗培南、厄他培南）。

进一步地，所述细菌包括敏感菌和耐药菌。

更进一步地，所述细菌包括革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌。

其中，革兰氏阴性菌包括大肠杆菌、溶藻弧菌、副溶血弧菌、铜绿假单胞杆菌；革兰氏阳性菌包括菌枯草芽孢杆菌、葡萄球菌、链球菌、肺炎双球菌、炭疽杆菌、破伤风杆菌。

另外的，本发明还提供了一种提高细菌对抗生素敏感性的药物，含有有效量的复方氨基酸和抗生素。

进一步地，所述抗生素和复方氨基酸中总氨基酸的质量比为 1:(12.5~1824)。

一种提高细菌对抗生素敏感性的药物，包括 5~12% 复方氨基酸、0.01~4mg/mL 抗生素和余量的水。所述提高细菌对抗生素敏感性的药物还可以包括适量的药学上可接受的辅料，制成口服液、注射剂等制剂。

10 本发明具有以下有益效果：

本发明首次公开了复方氨基酸在制备提高细菌对抗生素敏感性药物中的应用，将复方氨基酸与抗生素联用，可以提高细菌对抗生素的敏感性，并促进抗生素进入细菌细胞内，显著增加细胞内抗生素的含量，提高抗生素的杀菌效果，从而降低细菌生存率，治疗细菌侵染引起的疾病。

15 同时，基于本发明的方案，可直接利用现有的复方氨基酸制剂产品，由多种氨基酸、糖、电解质、微量元素、维生素及 pH 值调节剂等配制而成，具有纯度高、含氮量低、不良反应少和几乎全部可被利用于蛋白质合成等优点，是肠外营养的基本供氮物。目前复方氨基酸在临床上主要作为补充营养制剂，已通过临床试验，安全可靠。

20 附图说明

图 1 为实施例 1 对人工传代获得的头孢唑啉大肠杆菌耐药菌最小抑菌浓度（MIC）的测定结果统计图。

图 2 为实施例 1 三种复方氨基酸协同头孢唑啉对大肠杆菌敏感菌及大肠杆菌耐药菌的生存率的结果统计图。

25 图 3 为实施例 1 复方氨基酸提高敏感菌 K12 和耐药菌 K12-R_{CZO} 对头孢唑啉的敏感性考察实验结果统计图。

图 4 为实施例 1 复方氨基酸不同浓度梯度提高大肠杆菌对头孢唑啉敏感性影响结果统计图。

图 5 为实施例 1 复方氨基酸提高大肠杆菌头孢唑啉耐药菌对不同浓度头孢唑啉敏感性影响结果统计图。

图 6 为实施例 1 复方氨基酸提高大肠杆菌头孢唑啉耐药菌对头孢唑啉不同时间敏感性影响结果统计图。

图 7 为实施例 1 复方氨基酸增加细菌胞内抗生素的含量考察结果统计图。

图 8 为实施例 2 复方氨基酸显著提高头孢菌素类抗生素的杀菌效率结果统计图。

图 9 为实施例 2 复方氨基酸显著提高青霉素类抗生素的杀菌效率结果统计图。

图 10 为实施例 2 复方氨基酸显著提高喹诺酮类抗生素的杀菌效率结果统计图。

图 11 为实施例 2 复方氨基酸显著提高氨基糖苷类抗生素的杀菌效率结果统计图。

图 12 实施例 3 添加复方氨基酸后，多种细菌对头孢唑啉的生存率结果统计图；A 为溶藻弧菌，B 为副溶血弧菌，C 为铜绿假单胞杆菌，D 为枯草杆菌。

图 13 为实施例 4 临床大肠杆菌耐药菌对头孢唑啉耐药性测定结果统计图。

图 14 为实施例 4 添加复方氨基酸后，临床大肠杆菌耐药菌对头孢唑啉的生存率测定结果统计图。

图 15 为实施例 4 添加复方氨基酸后，临床大肠杆菌耐药菌胞内头孢唑啉的含量测定结果统计图。

图 16 为实施例 4 添加复方氨基酸后，临床大肠杆菌耐药菌对美罗培南的生存率测定结果统计图。

图 17 为实施例 4 添加复方氨基酸后，临床大肠杆菌耐药菌对左氧氟沙星的生存率测定结果统计图。

图 18 为实施例 5 复方氨基酸组分单一氨基酸单独添加时头孢唑啉对临床菌的生存率测定结果统计图。

图 19 为实施例 5 复方氨基酸组分 5 种氨基酸组合添加时头孢唑啉对临床菌的生存率测定结果统计图。

具体实施方式

以下结合说明书附图和具体实施例来进一步说明本发明，但实施例并不对本发明做任何形式的限定。除非特别说明，本发明采用的试剂、方法和设备为本技

术领域常规试剂、方法和设备。

除非特别说明，以下实施例所用试剂和材料均为市购。

实施例 1 复方氨基酸提高头孢唑啉大肠埃希耐药菌对头孢唑啉的敏感性

1.1 人工传代耐药菌-头孢唑啉大肠埃希耐药菌的获得

- 5 以大肠埃希敏感菌 K12 为起始菌株，在含 1/2 最小抑菌浓度（MIC）的头孢唑啉液体培养基中连续传代，每隔五代在平板上划线，获得单克隆并测定其对头孢唑啉的 MIC；直至获得菌株的 MIC 为 80 $\mu\text{g/mL}$ ，即是起始菌株的 64 倍（具体参见图 1），将其命名为头孢唑啉大肠埃希耐药菌（K12-R_{CZO}）。

1.2 复方氨基酸提高大肠埃希敏感菌及头孢唑啉大肠埃希耐药菌对头孢唑啉 10 敏感性

实验材料：三种总氨基酸含量分别为 5%、8.5%、11.4%的复方氨基酸，三种复方氨基酸中每种氨基酸占总氨基酸的摩尔浓度比参见表 1。

表 1 三种复方氨基酸中每种氨基酸占总氨基酸的摩尔浓度比

氨基酸	5%复方氨基酸	8.5%复方氨基酸	11.4%复方氨基酸
天门冬氨酸	2.80%	2.69%	2.65%
谷氨酸	4.23%	4.09%	4.14%
丝氨酸	2.37%	4.64%	4.58%
组氨酸	4.81%	4.62%	4.69%
甘氨酸	11.60%	11.27%	11.25%
苏氨酸	5.22%	5.06%	5.12%
丙氨酸	20.11%	19.65%	19.57%
精氨酸	7.00%	6.92%	6.88%
酪氨酸	0.27%	0.16%	0.18%
胱氨酸	0.21%	0.12%	0.09%
缬氨酸	6.80%	6.74%	6.67%
甲硫氨酸	4.17%	4.04%	4.09%
色氨酸	1.04%	0.98%	1.00%
苯丙氨酸	5.27%	5.12%	5.12%
异亮氨酸	4.74%	4.59%	4.65%

亮氨酸	6.45%	6.45%	6.44%
醋酸赖氨酸	6.64%	6.61%	6.59%
脯氨酸	6.27%	6.23%	6.32%

实验对象：

细菌样本的制备：挑取敏感菌 K12 或耐药菌 K12-R_{CZO} 单克隆细菌，分别接种于 50 mL LB 液体培养基中，37 °C，200 rpm 培养 17 h 后，8000 rpm，4 min 离心收集菌体；用 0.85% 生理盐水洗涤菌体 2 次，悬浮于 1×M9 培养基中，调 OD₆₀₀ 值为 0.6，然后分装 5mL 于试管中，用于后续试验研究。

1.2.1 复方氨基酸提高敏感菌 K12 和耐药菌 K12-R_{CZO} 对头孢唑啉的敏感性

将总氨基酸含量分别为 5%、8.5%、11.4% 的复方氨基酸配置为最终总氨基酸摩尔浓度均为 2 mM 的溶液，协同头孢唑啉（敏感菌使用浓度为 80 µg/mL，耐药菌使用浓度为 2 mg/mL）作用于细菌 6 小时后，取 100 µL 进行倍比稀释，从中取 10 µL 菌液进行平板计数；菌落在 20-200 区间的数据可用于统计分析，细菌存活率是处理组细菌 CFU（菌落形成单位/毫升）与对照组细菌 CFU 的百分比，每种处理 3 个生物学重复；结果参见图 2。

由图可见，5%、8.5% 和 11.4% 的复方氨基酸协同头孢唑啉作用于敏感菌 K12 的生存率分别降低 320 倍、310 倍和 274 倍；作用于耐药菌 K12-R_{CZO} 的生存率分别降低 3,556 倍、4,299 倍和 4,273 倍。说明三种配比的复方氨基酸均能有效恢复细菌对头孢唑啉敏感性，并且三者之间的协同杀菌效果无显著性差异。因此，后续实验采用最低浓度配比的 5% 复方氨基酸进行研究。

1.2.2 5% 复方氨基酸提高敏感菌 K12 和耐药菌 K12-R_{CZO} 对头孢唑啉的敏感性

将制备好的每种细菌样本分成 4 组：对照组，只加 2mM 5% 复方氨基酸组，只加头孢唑啉抗生素组（敏感菌 K12 浓度为 80 µg/mL，耐药菌 K12-R_{CZO} 浓度为 2 mg/mL）和头孢唑啉和 2 mM 复方氨基酸组。将细菌于 37 °C，200 rpm 孵育 6h，然后取 100 µL 进行倍比稀释，从中取 10 µL 菌液进行平板计数，计算细菌存活率；结果参见图 3。

由图可见，复方氨基酸协同头孢唑啉导致敏感菌 K12 的生存率降低 320 倍，耐药菌 K12-R_{CZO} 的生存率降低 3,556 倍，说明复方氨基酸可提高细菌包括人工传代耐药菌对头孢唑啉的敏感性。

1.2.3 复方氨基酸提高头孢唑啉耐药菌对头孢唑啉敏感性的重要条件研究

1.2.3.1 复方氨基酸提高大肠埃希菌对头孢唑啉敏感性具有浓度依赖性

为了解复方氨基酸浓度与杀菌效率之间是否存在梯度效应以及其最佳杀菌浓度，在固定头孢唑啉浓度（大肠埃希敏感菌 K12 为 80 $\mu\text{g/mL}$ ，头孢唑啉大肠埃希耐药菌为 1,000 $\mu\text{g/mL}$ ）的基础上加入不同浓度的复方氨基酸（0~64 mM）作用 6h；然后，进行活菌计数，并计算生存率，计算公式为：添加不同浓度复方氨基酸时活菌数/不添加复方氨基酸时活菌数 $\times 100\%$ ；结果参见图 4。

由图可见，大肠埃希敏感菌 K12 在 80 $\mu\text{g/mL}$ 头孢唑啉情况下，添加 0、0.125、0.5、2.0、8.0、32、64 mM 复方氨基酸后，其生存率依次为 89.6%、54.9%、0.705%、0.0341%、0.00301%、0.00247%、0.00104%；头孢唑啉大肠埃希耐药菌在 1,000 $\mu\text{g/mL}$ 头孢唑啉情况下，生存率依次为 92.6%、71.4%、20.4%、0.0211%、0.0181%、0.0167%、0.0146%。头孢唑啉敏感菌在复合氨基酸浓度为 8 mM 时，与单独添加抗生素相比，协同杀菌倍数达 29,807 倍，继续增大氨基酸浓度，促进杀菌效果不再明显增强；头孢唑啉耐药菌在复合氨基酸浓度为 2 mM 时，与单独添加抗生素相比，协同杀菌倍数达 4,396 倍，并且继续增大复方氨基酸浓度，促进杀菌效果不再明显增强。可见，为了提高耐药菌对抗生素的敏感性，2 mM 复方氨基酸可作为最佳协同杀菌浓度。

1.2.3.2 复方氨基酸提高耐药菌对头孢唑啉敏感性具有抗生素浓度梯度效应

为探讨复方氨基酸提高耐药菌对抗生素的敏感性与抗生素浓度的关系，设置了 8 个头孢唑啉浓度梯度（0、62.5、125、250、500、1,000、2,000 和 4,000 $\mu\text{g/mL}$ ）；然后，分别添加和不添加 2 mM 复方氨基酸，6h 后采用平板法进行活菌计数；比较在相同抗生素浓度情况下，未添加复方氨基酸（对照）和添加复方氨基酸后细菌的生存率；计算公式为：添加或不添加复方氨基酸时活菌数/6h 后在 M9 中活菌数 $\times 100\%$ ；结果参见图 5。

由图可见，在加入 2 mM 复方氨基酸后，随着头孢唑啉浓度的升高，对耐药菌 K12-R_{CZO} 杀菌效率大大提高。在不加复合氨基酸的 62.5、125、250、500、1,000、2,000 和 4,000 $\mu\text{g/mL}$ 头孢唑啉浓度下导致细菌的生存率依次为：87.5%、96.9%、83.3%、78.6%、83.3%、84.4%、69.8%；在添加复合氨基酸相应浓度头孢唑啉导致细菌的生存率依次为：78.1%、57.8%、35.9%、0.117%、0.0228%、0.0172%和 0.0154%。添加复合氨基酸后增加杀菌倍数分别是 1.12 倍、1.68 倍、2.32 倍、674

倍、3,661 倍、4,909 倍、4,527 倍，而头孢唑啉浓度从 62.5 $\mu\text{g/mL}$ 至 2,000 $\mu\text{g/mL}$ 可以使杀菌率从 1.12 倍提高至 4,909 倍。这些结果表明，头孢唑啉浓度在 1000 $\mu\text{g/mL}$ 以内，复方氨基酸促进杀菌能力随抗生素增加而显著增强；同时可知，1000 $\mu\text{g/mL}$ 为头孢唑啉对耐药菌 K12-R_{CZO} 的最佳杀菌浓度。

5 1.2.3.3 复方氨基酸提高耐药菌对头孢唑啉敏感性的时间效应

为进一步了解复方氨基酸提高耐药菌对抗生素敏感性的作用是否具有时间效应，在添加 2 mM 复方氨基酸和 1000 $\mu\text{g/mL}$ 头孢唑啉情况下，分别在 1~48h 内进行活菌计数，观察其杀菌效率与时间的关系，结果参见图 6。

由图可见，头孢唑啉耐药菌 K12-R_{CZO} 在添加头孢唑啉基础上再添加复方氨基酸后，活菌数随着时间的延长明显下降：从 0、2、4、6、8、10、12、24、36 和 48 h，细菌生存率依次为 100%，18.2%，0.106%，0.0563%，0.0261%，0.0198%，0.00716%，0.00227%，0.00127%，0.000208%；复方氨基酸的协同杀菌倍数依次为 1 倍、4.97 倍、765.3 倍、1,297.3 倍、2,483.3 倍、3,201.6 倍、6,951.2 倍、6,713.8 倍、10,632.0 倍和 50,000.0 倍。以上结果说明，随着作用时间的不断延长，细菌生存率持续下降，4 h 复方氨基酸协同组的细菌生存率直线下降达两个数量级，并且在 6 h 后到 10 h 之前细菌生存率稳定在同一个数量级内，因此选择 6 h 作为孵育时间，进行后续实验。

1.2.4 复方氨基酸增加细菌胞内抗生素的含量

细菌死亡与进入细菌胞内的抗生素数量有关，细菌耐药的一个关键原因是由于进入细菌体内的抗生素浓度低于使其死亡的浓度。因此测定了添加复方氨基酸后细菌胞内的头孢唑啉含量。

将制备好的细菌样本加入 2 mM 复方氨基酸和头孢唑啉（大肠埃希敏感菌 K12 为 80 $\mu\text{g/mL}$ ，头孢唑啉大肠埃希耐药菌为 1,000 $\mu\text{g/mL}$ ），37 $^{\circ}\text{C}$ ，200 rpm 孵育 6 h；然后离心收集菌体，生理盐水洗涤两次，调细菌 OD₆₀₀ 为 0.6；收集 30 mL 菌体，洗涤后加入体积比为 1: 1 的乙腈水溶液，超声波破碎（功率 30%，破碎 2s，停 3s，总计 4min），离心取上清，重复离心再取上清，用 0.22 μm 滤膜过滤处理后，用 LC/MS 检测，结果参见图 7。

复方氨基酸浓度为 0、0.5、2、8 mM 与 80 $\mu\text{g/mL}$ 头孢唑啉协同处理敏感菌 K12 后，细菌生存率分别为：89.6%、0.705%、0.0341%和 0.00301%（结果详见图 4）；图 7 中对应的胞内抗生素含量分别为：48.2 ng/mL、70.2 ng/mL、101.6 ng/mL 和 149.5ng/mL。

复合氨基酸浓度为 0、0.5、2、8 mM 的复方氨基酸协同 1000 µg/mL 头孢唑啉处理耐药菌 K12-R_{CZO} 后,细菌生存率分别为 92.6%、20.4%、0.0211%和 0.0181% (结果详见图 4), 图 7 中对应胞内抗生素含量分别为 58.7ng/mL、141.8 ng/mL、182.8 ng/mL、189.3ng/mL。

- 5 上述结果表明,随着复合氨基酸浓度增加,胞内抗生素含量上升,细菌生存率下降。

实施例 2 复方氨基酸提高细菌对抗生素的敏感性具有抗生素特异性

2.1 显著提高头孢菌素类抗生素的杀菌效率

- 10 进一步研究添加 0.125、0.5、2.0、8.0、32、64 mM 复方氨基酸后,头孢类抗生素(10 µg/mL 头孢曲松、200 µg/mL 头孢噻唑)作用大肠埃希敏感菌 K12 6 h 后,对细菌生存率的影响;结果参见图 8。

- 由图可见,0.125、0.5、2.0、8.0、32、64 mM 复方氨基酸协同头孢曲松后,细菌生存率依次为 73.1%、54.3%、13.5%、0.115%、0.00827%、0.00345%和 0.00173%,K12 生存率降低倍数达 1.35 倍~42352 倍;协同头孢噻唑后,细菌生
15 存率依次为 61.9%、77.7%、20.7%、0.00907%、0.00589%、0.00213%和 0.000711%,敏感菌 K12 生存率降低倍数达 0.797 倍~87143 倍。这些结果说明复方氨基酸可以提高细菌对头孢类抗生素的敏感性。

2.2 显著提高青霉素类抗生素的杀菌效率

- 20 以大肠埃希菌敏感菌 K12 和氨苄青霉素人工传代耐药菌(K12-R_{AMP})为研究对象,前者氨苄青霉素浓度为 40µg/mL,后者氨苄青霉素浓度为 2000 µg/mL。考察 0.125、0.5、2.0、8.0、32、64 mM 复方氨基酸分别协同上述浓度抗生素对敏感菌和相应耐药菌生存率的影响,结果参见图 9。

- 由图可见,敏感菌 K12 的生存率随复合氨基酸浓度增加而下降,依次为 100%、86.7%、67.1%、32.5%、0.613%、0.0516%、0.00722%和 0.00493%;氨
25 苄青霉素耐药菌(K12-R_{AMP})的生存率依次为 100%、87.2%、56.1%、28.9%、0.109%、0.0354%、0.0101%和 0.00946%。添加复方氨基酸降低敏感菌 K12 的生存率倍数达 1.29 倍~7,578 倍;降低耐药菌 K12-R_{AMP} 的生存率达 1.55 倍~9,314 倍。

2.3 提高对喹诺酮类抗生素的杀菌效率

- 30 以大肠埃希敏感菌 K12 和巴洛沙星人工传代耐药菌(K12-R_{BLFX})为研究对

象,前者巴洛沙星浓度为 0.2 $\mu\text{g/mL}$,后者巴洛沙星浓度为 25 $\mu\text{g/mL}$ 。考察不同浓度复方氨基酸分别协同上述浓度抗生素对敏感菌和相应耐药菌生存率的影响,结果参见图 10。

由图可见,0.125、0.5、2.0、8.0、32、64 mM 复方氨基酸协同巴洛沙星导致敏感菌 K12 的生存率依次为 100%、80.9%、97.1%、117.9%、113.3%、71.7%、65.9%和 64.7%;导致巴洛沙星耐药菌(K12-R_{BLFX})的生存率依次为 100%、90.2%、85.4%、85.4%、80.8%、59.9%、10.4%和 13.4%。结果表明仅在复方氨基酸浓度大于 8 mM 时,对巴洛沙星杀菌有一定的促进效果。

2.4 提高对氨基糖苷类抗生素的耐药性

以大肠埃希敏感菌 K12 和庆大霉素人工传代耐药菌(K12-R_{Gen})为研究对象,前者庆大霉素 1 $\mu\text{g/mL}$,后者庆大霉素 8 $\mu\text{g/mL}$ 。考察不同浓度复方氨基酸分别协同上述浓度抗生素对敏感菌和相应耐药菌生存率的影响,结果参见图 11。

由图可见,0.125、0.5、2.0、8.0、32、64 mM 复方氨基酸协同氨基糖苷类抗生素庆大霉素,导致敏感菌 K12 的生存率依次为 100%、33.9%、15.9%、48.6%、71.2%、140.1%和 151.4%;导致庆大霉素耐药菌(K12-R_{Gen})的生存率依次为 100%、8.20%、11.7%、54.6%、207.7%、269.2%、和 302.3%。结果表明在庆大霉素作用下,高浓度的复方氨基酸对敏感菌和耐药菌有明显的保护作用。

实施例 3 复方氨基酸协同头孢唑啉对其他种类细菌生存率的影响

选择其他革兰氏阴性菌如溶藻弧菌、副溶血弧菌和铜绿假单胞杆菌,以及革兰氏阳性菌枯草芽孢杆菌为研究对象,考察复方氨基酸协同头孢唑啉对它们的杀菌效果;其中,复合氨基酸浓度为 2 mM,头孢唑啉为 80 $\mu\text{g/mL}$,孵育 6 h,计算细菌的相对生存率;结果参见图 12。

由图可见,2mM 复方氨基酸添加后,头孢唑啉导致溶藻弧菌的生存率从 62.1%降低为 13.9%,协同倍数达 4.5 倍(图 12A);导致副溶血弧菌的生存率从 79.3%降低为 1.54%,协同倍数达 51.6 倍(图 12B);导致铜绿假单胞杆菌的生存率从 85.9%降低为 5.4%,协同倍数达 15.8 倍(图 12C);导致枯草杆菌的生存率从 58.0%降低为 5.1%,协同倍数达 11.3 倍(图 12D)。这些结果说明复方氨基酸协同头孢唑啉的杀菌作用对其他种类细菌亦有效果。

实施例 4 复方氨基酸提高临床大肠埃希耐药菌对头孢唑啉的敏感性

4.1 临床大肠埃希耐药菌对头孢唑啉的耐药性分析

大肠埃希菌(*Escherichia coli*, *E. coli*)是临床中最常见的一种细菌,将从

临床上获得的 35 株大肠埃希菌, 分别命名为 Y1-12, Y15-24, Y27, Y28, Y30-40。根据 NCCLS 方法检测这 35 株临床获得的大肠埃希菌对头孢唑啉抗生素的最小抑菌浓度 (MIC), 同时用大肠埃希敏感菌 K12 以及头孢唑啉耐药菌 K12-R_{CZO} 作为对照, 测定 MIC; 测定结果见图 13。

5 由图 13 可见, 35 株临床大肠埃希菌的 MIC 与大肠埃希敏感菌 K12 相比, 91.4%临床菌的 MIC 都比 K12 (1.25 $\mu\text{g/mL}$) 高。其中, Y3、Y7、Y23 的 MIC 为 2.5 $\mu\text{g/mL}$, Y8、Y15、Y16、Y19、Y22 的 MIC 为 5 $\mu\text{g/mL}$, Y5、Y11、Y17 的 MIC 为 10 $\mu\text{g/mL}$, Y18、Y20、Y21、Y24、Y40 的 MIC 为 20 $\mu\text{g/mL}$, Y1、Y6、Y12、的 MIC 为 40 $\mu\text{g/mL}$, 其余 37%的临床大肠埃希耐药菌的 MIC 均大于
10 640 $\mu\text{g/mL}$, 其中 Y28、Y32、Y36 高达 5120 $\mu\text{g/mL}$ 。结果表明临床大肠埃希菌中, 82.8%的菌株对头孢唑啉的 MIC 高敏感菌 4 倍以上, 表明对头孢唑啉耐药。

4.2 复方氨基酸提高临床菌对头孢唑啉的敏感性

参考 1.2 类似的方法制备临床耐药菌样本, 分装 5mL 于试管中, 在添加 2 mM 复方氨基酸基础上, 添加和不添加头孢唑啉孵育 6h, 然后进行活菌计数, 并计
15 算生存率; 计算公式为: 添加抗生素时活菌数/不添加抗生素时活菌数 $\times 100\%$; 结果参见图 14。

由图可见, 使用头孢唑啉浓度为 200 $\mu\text{g/mL}$, 对于 MIC 较低的 Y1、Y3、Y4、Y5、Y6、Y7、Y8、Y9、Y10、Y11、Y12、Y13、Y15、Y16、Y17、Y18、Y19、Y20、Y21、Y23、Y24、Y40 菌株, 复方氨基酸提高杀菌倍数依次为 138.6 倍、
20 1,881.7 倍、16,521.7 倍、91.3 倍、1,326.9 倍、13,700 倍、1,182.8 倍、5,128.2 倍、3,043.5 倍、723 倍、2,547.1 倍、284.7 倍、48.1 倍、166.7 倍、108.3 倍、337.4 倍、4.6 倍、1,867.5 倍、3,176.5 倍、16.3 倍、3,331.0 倍和 5,444.4 倍。

使用的头孢唑啉浓度为 8,000 $\mu\text{g/mL}$, 对于 MIC 较高的 Y2、Y27、Y28、Y30、Y31、Y32、Y33、Y34、Y35、Y36、Y37、Y38、Y39 菌株, 复方氨基酸
25 提高杀菌倍数依次为 23.1 倍、57.7 倍、4.2 倍、11.2 倍、1.7 倍、1.5 倍、4.4 倍、15.7 倍、16.4 倍、2.2 倍、2.1 倍、2.1 倍和 68.3 倍。

上述结果表明复方氨基酸能有效恢复临床耐药大肠杆菌对头孢唑啉的敏感性, 其倍数与细菌本身耐药性程度有关。

4.3 复方氨基酸增加临床耐药菌胞内抗生素的含量

30 采用 1.2.4 方法测定 Y4、16 和 Y32 菌内的抗生素含量, 结果参见图 15。

由图可见，复方氨基酸添加后，Y4 抗生素含量从 157.4 ng/mL 增加至 339.8ng/mL，胞内抗生素含量增加了 182.4 ng/mL；Y16 抗生素含量从 377.2 ng/mL 增加至 708.7ng/mL，胞内抗生素含量增加了 331.5 ng/mL；Y32 抗生素含量从 52.5 ng/mL 增加至 57.4ng/mL，胞内抗生素含量增加了 4.9 ng/mL。

5 4.4 复方氨基酸提高临床菌对其他抗生素的敏感性

4.4.1 提高临床菌对美罗培南的敏感性

随机选取 Y2、Y6、Y16、Y17、Y21、Y23、Y27、Y31、Y35 等 9 株临床菌株为研究对象，使用 2 mM 复方氨基酸及 40 μ g/mL 美罗培南进行处理，结果参见图 16。

10 由图可见，复方氨基酸协同抗生素杀菌倍数分别是 1.6 倍、8,085.7 倍、41.0 倍、175.5 倍、88.2 倍、30384.6 倍、485 倍、120.0 倍和 25.9 倍。

4.4.2 提高临床菌对喹诺酮类左氧氟沙星的敏感性

选取 Y6、Y16、Y17、Y21、Y23、Y27、Y31、Y35 等 8 株临床菌株为研究对象，使用 2 mM 复方氨基酸及 62.5 μ g/mL 左氧氟沙星处理，结果参见图 17。

15 由图可见，复方氨基酸协同抗生素杀菌倍数分别是 1,226.7 倍、3.6 倍、2.3 倍、19.3 倍、8.3 倍、16.0 倍、326.7 倍和 39.5 倍。

实施例 5 复合氨基酸组分对大肠埃希头孢唑啉耐药菌生存率的影响

5.1 单一氨基酸组分提高大肠埃希头孢唑啉耐药菌对头孢唑林敏感性研究

用 2 mM 复方氨基酸中每一种氨基酸相应的浓度单独添加，通过细菌生存率，研究每种氨基酸协同头孢唑啉提高细菌对抗生素的敏感性，结果参见图 18。

由图可见，仅仅添加头孢唑啉时细菌生存率为 85.04%，而 18 种氨基酸中的每种氨基酸以相应摩尔浓度单独添加时的生存率分别是：丙氨酸 404 μ M (73.6%)、缬氨酸 136 μ M (59.4%)、亮氨酸 95 μ M (78.8%)、异亮氨酸 95 μ M (75.7%)、脯氨酸 126 μ M (69.6%)、苯丙氨酸 106 μ M (85.4%)、色氨酸 20 μ M (98.8%)、甲硫氨酸 83 μ M (67.4%)、甘氨酸 233 μ M (91.5%)、丝氨酸 47 μ M (71.4%)、苏氨酸、酪氨酸 5 μ M (67.9%)、醋酸赖氨酸 133 μ M (80.5%)、精氨酸 140 μ M (68.6%)、组氨酸 96 μ M (97.3%)、天冬氨酸 56 μ M (97.6%)、谷氨酸 85 μ M (94.5%)、胱氨酸 4 μ M (94.1%)。与仅仅添加头孢唑林抗生素进行比较，单独添加 18 种氨基酸中的任何一种氨基酸，与仅仅添加头孢唑林对照组无明显差异。这些结果说明，单独使用的氨基酸不能提高细菌对

25

30

抗生素的敏感性。

5.2 氨基酸组合提高大肠埃希头孢唑啉耐药菌对头孢唑林敏感性研究

选取上述 18 种氨基酸效果较好的 5 种氨基酸组合: 甘氨酸 233 μM (71.4%)、丝氨酸 47 μM (67.9%)、色氨酸 20 μM (67.4%)、赖氨酸 133 μM (69.6%) 和苏氨酸 105 μM (59.4%)，探讨它们的组合使用对头孢唑啉杀菌效果的影响。这 5 种氨基酸的总浓度为约 0.5 mM，该浓度协同 1 mg/mL 头孢唑啉处理头孢唑啉耐药菌 6 h，计算细菌的生存率；结果参见图 19。

由图可见，M9 对照添加抗生素组细菌生存率为 45.9%；复方氨基酸组协同抗生素后细菌生存率为 0.001%，而 5 种氨基酸组合组，协同抗生素作用后，细菌生存率为 0.15%，比复方氨基酸协同倍数低 148 倍。这些结果表明，即使是效果较好的 5 种氨基酸组合，其协同抗生素作用效果显著低于 18 种氨基酸的效果。

上述实施例为本发明较佳的实施方式，但本发明的实施方式并不受上述实施例的限制，其他的任何未背离本发明的精神实质与原理下所作的改变、修饰、替代、组合、简化，均应为等效的置换方式，都包含在本发明的保护范围之内。

权 利 要 求 书

1、复方氨基酸在制备提高细菌对抗生素敏感性药物中的应用。

2、根据权利要求 1 所述应用，其特征在于，所述复方氨基酸的总氨基酸含量为 5~12%。

5 3、根据权利要求 1 所述应用，其特征在于，所述复方氨基酸含有甘氨酸、丝氨酸、色氨酸、赖氨酸和苏氨酸。

4、根据权利要求 2 所述应用，其特征在于，所述复方氨基酸含有天门冬氨酸、谷氨酸、丝氨酸、组氨酸、甘氨酸、苏氨酸、丙氨酸、精氨酸、酪氨酸、胱氨酸、缬氨酸、甲硫氨酸、色氨酸、苯丙氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、醋酸赖氨酸
10 和脯氨酸。

5、根据权利要求 4 所述应用，其特征在于，所述复方氨基酸中，每种氨基酸占总氨基酸的摩尔浓度比为：天门冬氨酸 2.65~2.8%、谷氨酸 4.09~4.23%、丝氨酸 2.37~4.64%、组氨酸 4.62~4.81%、甘氨酸 11.25~11.6%、苏氨酸 5.06~5.22%、丙氨酸 19.57~20.11%、精氨酸 6.88~7%、酪氨酸 0.16~0.27%、胱氨酸 0.09~0.21%、
15 缬氨酸 6.67~6.8%、甲硫氨酸 4.04~4.17%、色氨酸 0.98~1.04%、苯丙氨酸 5.12~5.27%、异亮氨酸 4.59~4.74%、亮氨酸 6.44~6.45%，醋酸赖氨酸 6.59~6.64%和脯氨酸 6.23~6.32%。

6、根据权利要求 1~5 任一所述应用，其特征在于，所述抗生素包括 β -内酰胺类抗生素、喹诺酮类抗生素和氨基糖苷类抗生素。

20 7、根据权利要求 1~5 任一所述应用，其特征在于，所述细菌包括敏感菌和耐药菌。

8、根据权利要求 7 所述应用，其特征在于，所述细菌包括革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌。

9、一种提高细菌对抗生素敏感性的药物，其特征在于，含有有效量的复方
25 氨基酸和抗生素。

10、根据权利要求 9 所述药物，其特征在于，所述抗生素和复方氨基酸中总氨基酸的质量比为 1:(12.5~1824)。

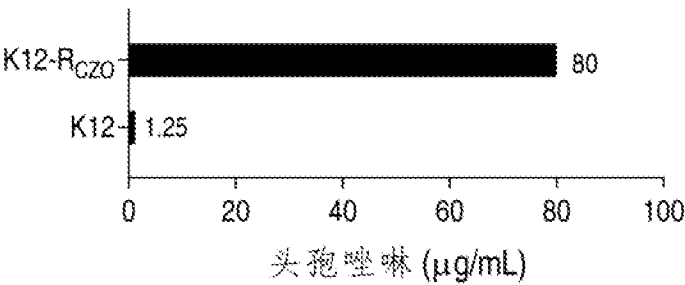


图 1

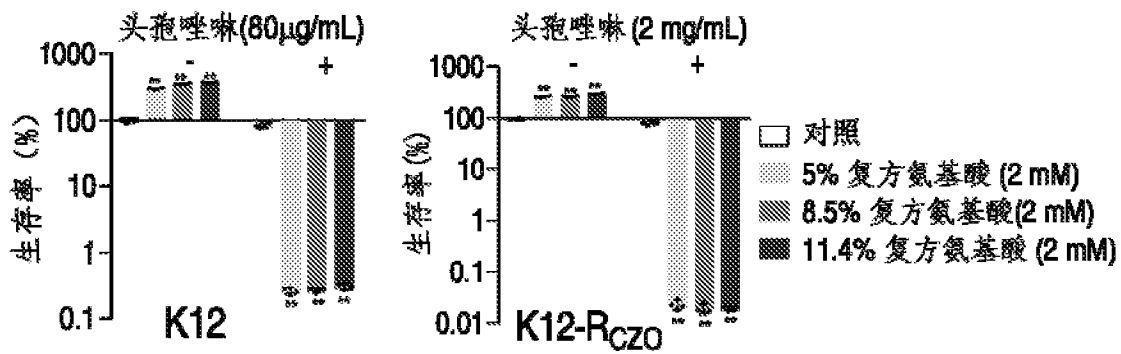


图 2

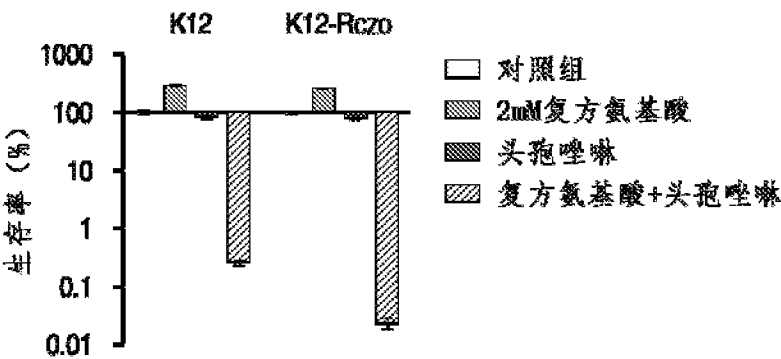


图 3

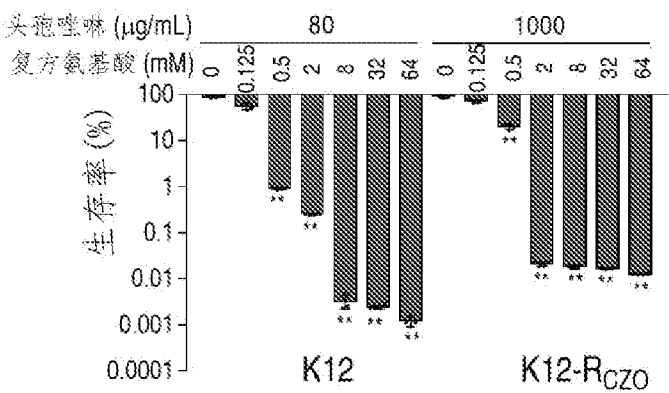


图 4

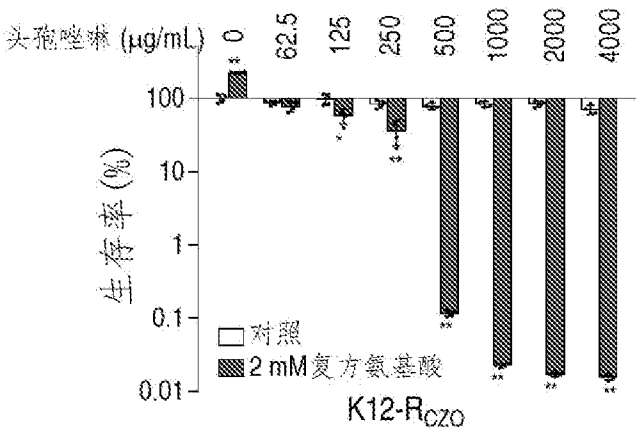


图 5

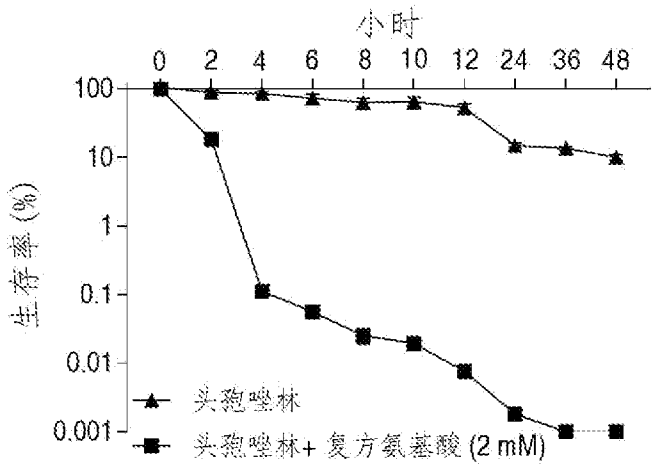


图 6

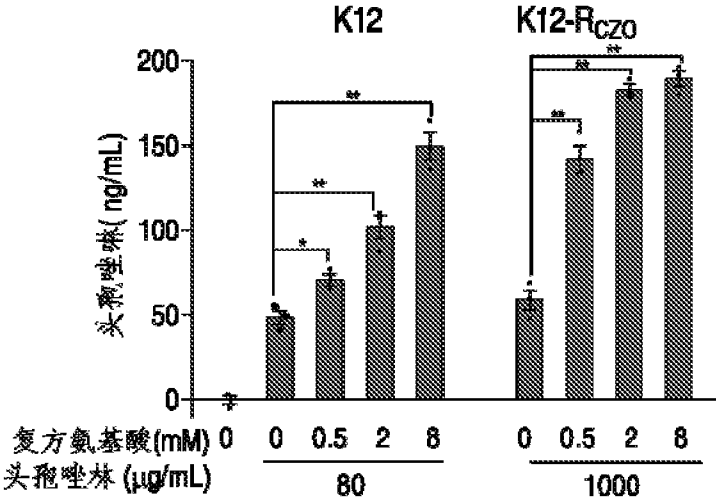


图 7

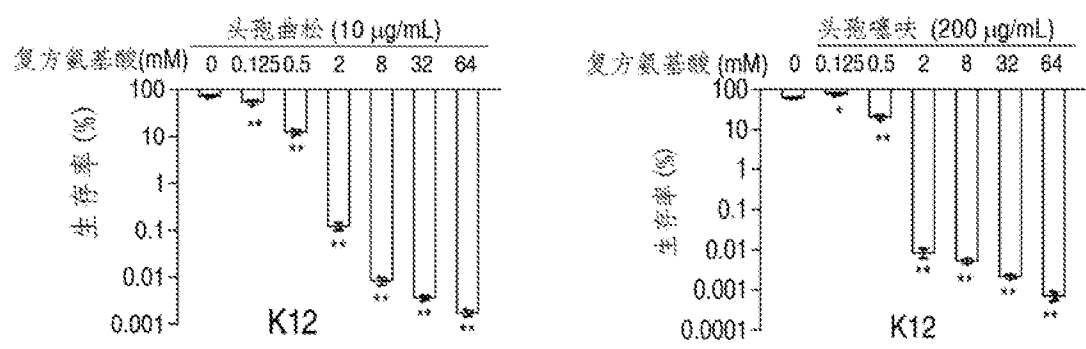


图 8

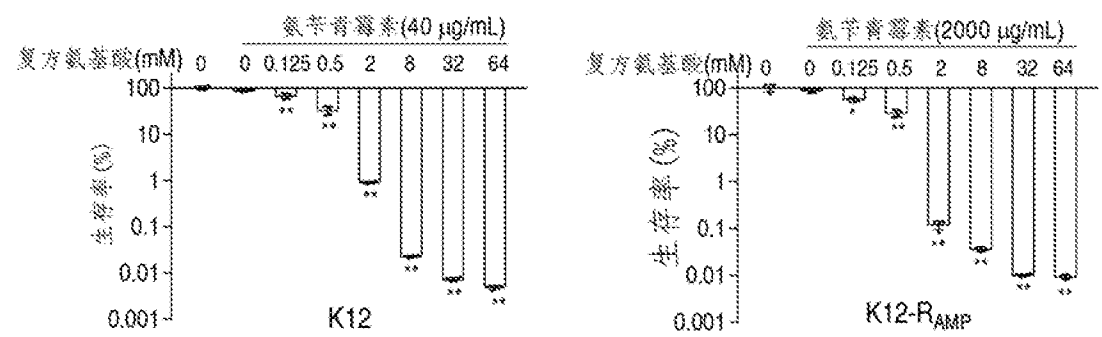


图 9

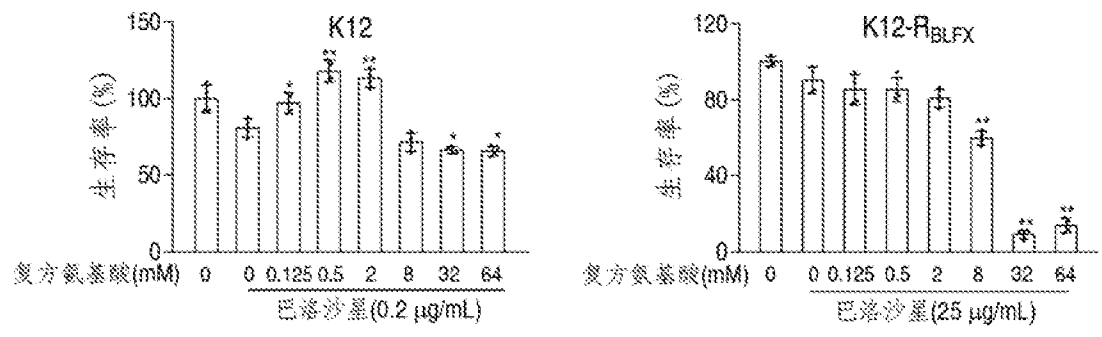


图 10

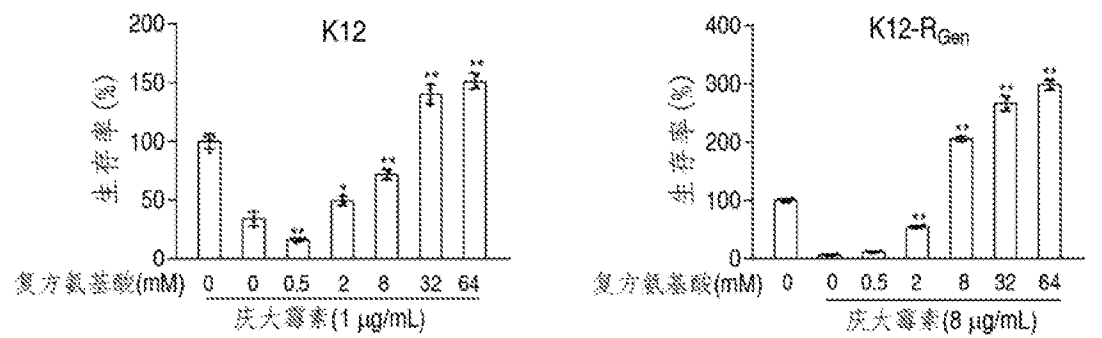


图 11

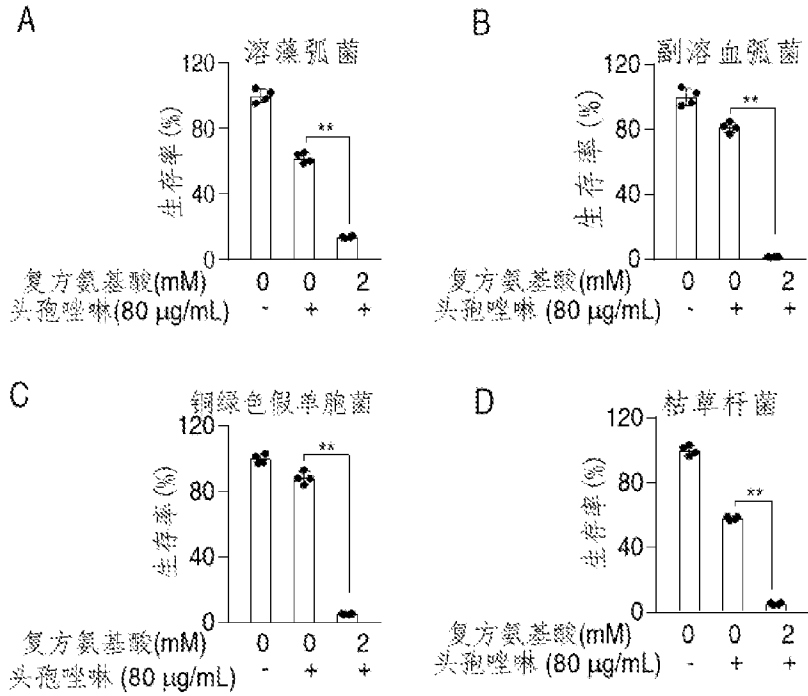


图 12

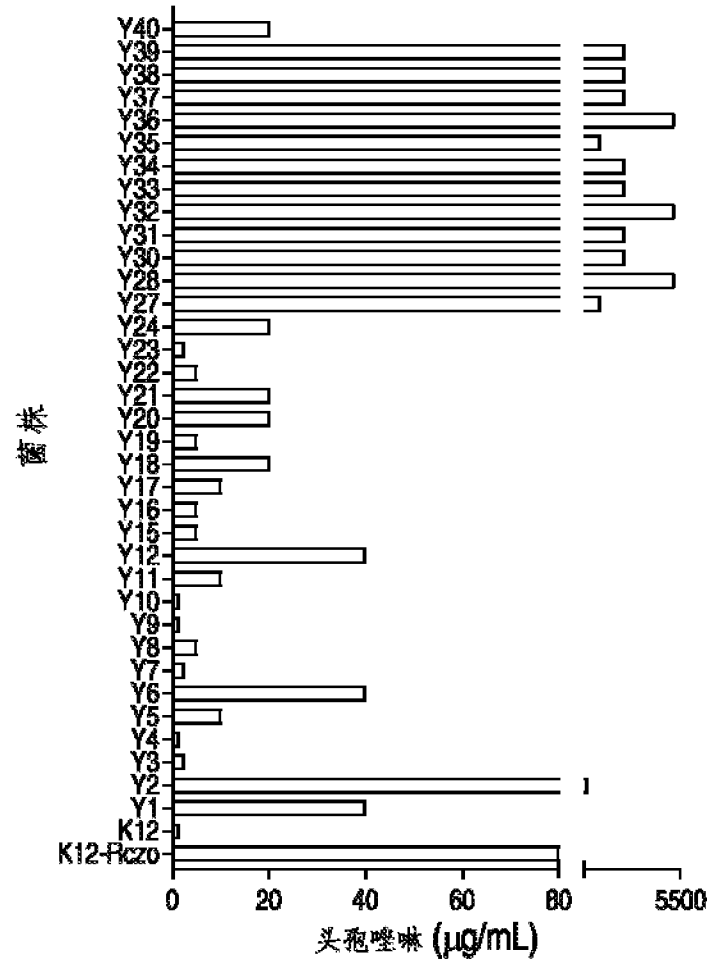


图 13

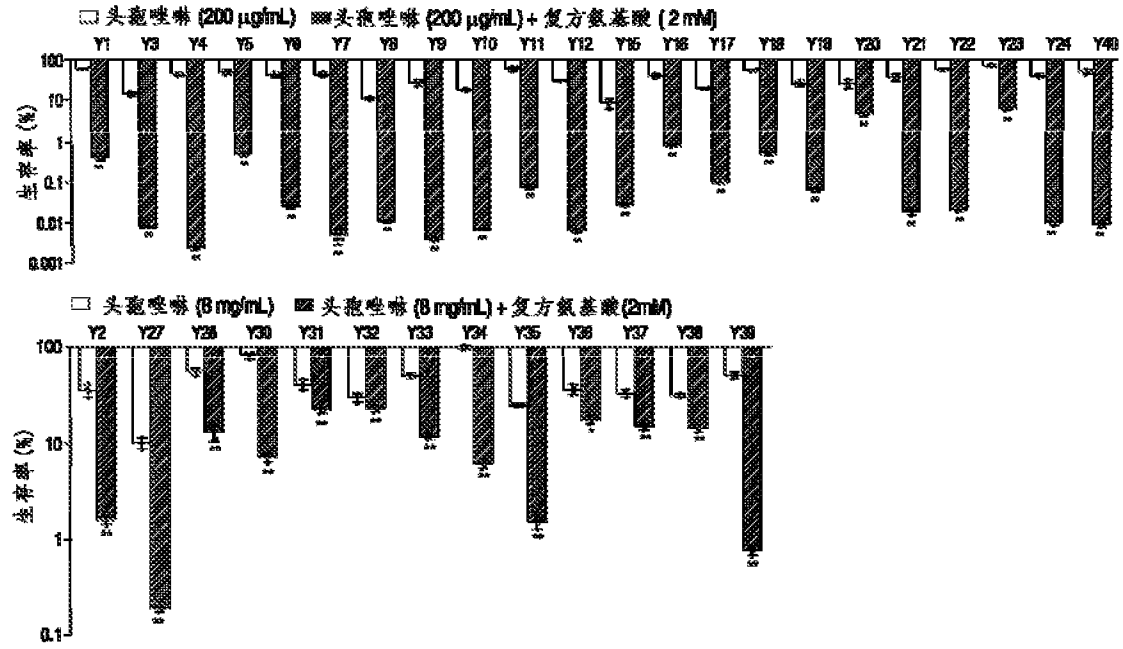


图 14

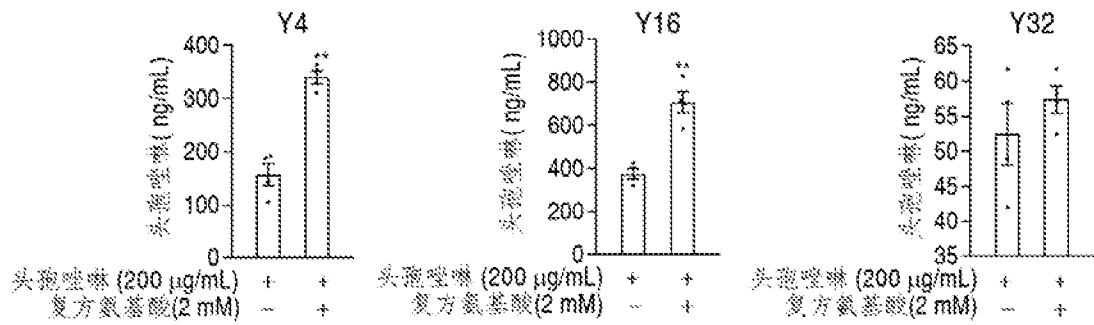


图 15

5

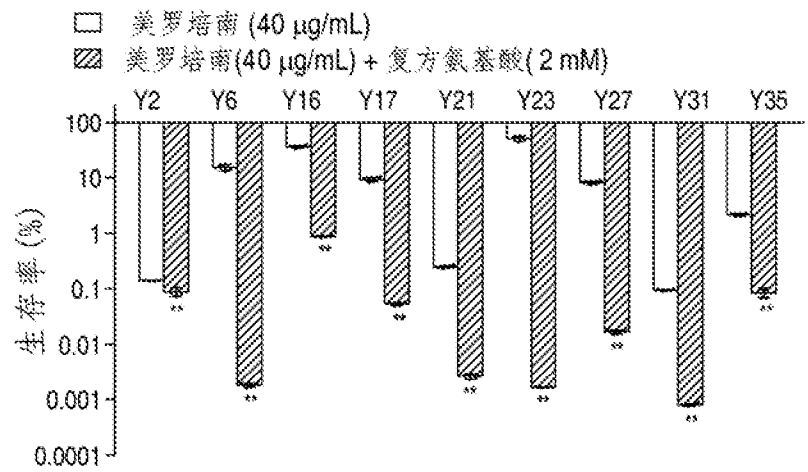


图 16

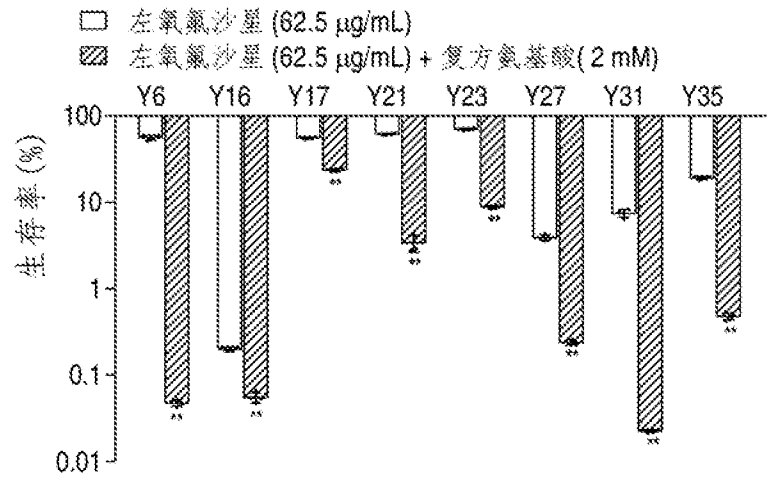


图 17

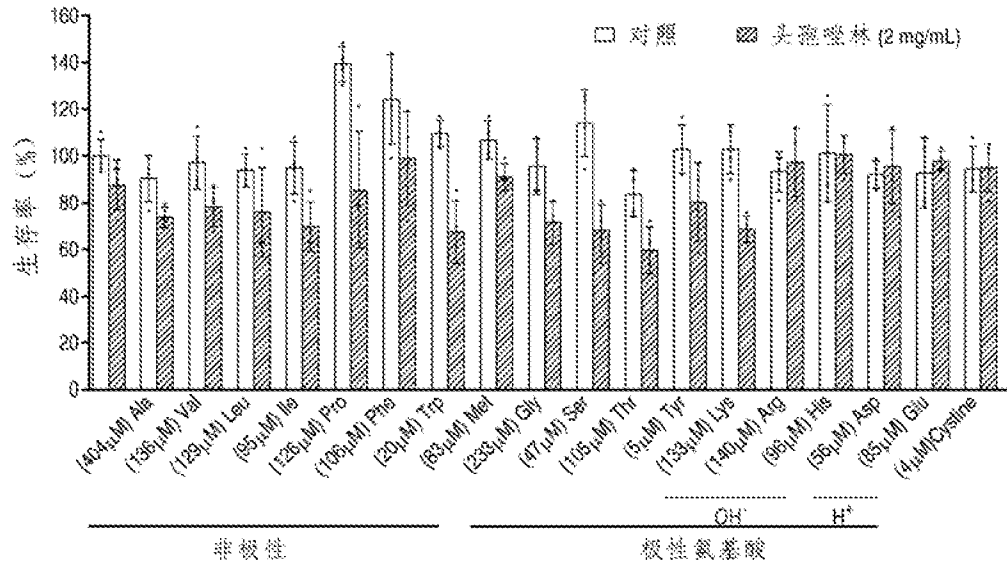


图 18

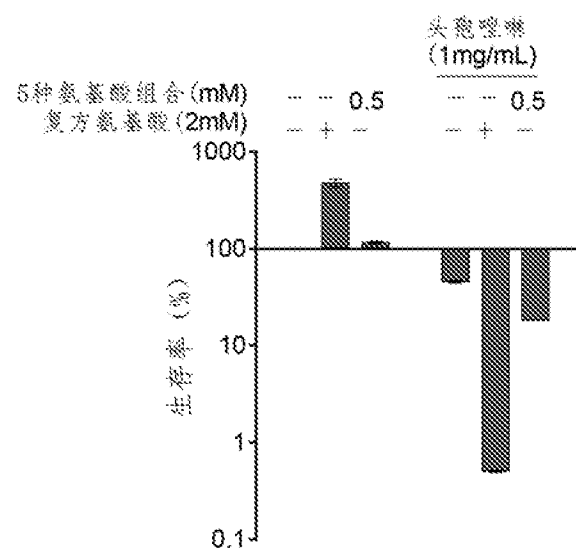


图 19

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2021/107306

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 45/06(2006.01)i; A61K 31/198(2006.01)i; A61K 31/4172(2006.01)i; A61K 31/405(2006.01)i; A61K 31/401(2006.01)i; A61K 31/546(2006.01)i; A61K 31/43(2006.01)i; A61K 31/407(2006.01)i; A61K 31/4709(2006.01)i; A61K 31/7036(2006.01)i; A61P 31/04(2006.01)i

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K; A61P

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

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

CNABS; CNTXT; CNKI; USTXT; EPTXT; WOTXT; VEN; ISI Web of Science; 百度学术; 百度: 中山大学, 李惠, 彭博, 彭宣宪, 赖诗诗, 氨基酸, 天门冬氨酸, 谷氨酸, 丝氨酸, 组氨酸, 甘氨酸, 苏氨酸, 丙氨酸, 精氨酸, 酪氨酸, 胱氨酸, 缬氨酸, 甲硫氨酸, 色氨酸, 苯丙氨酸, 异亮氨酸, 亮氨酸, 赖氨酸, 脯氨酸, 抗生素, 细菌, 杀菌, 杀灭, 杀伤, 敏感性, SUN Yat-sen University, LI Hui, PENG Bo, PENG Xuanxian, LAI Shishi, amino acids, aspartic acid, glutamic acid, serine, histidine, glycine, threonine, alanine, arginine, tyrosine, cystine, valine, methionine, tryptophan acid, phenylalanine, isoleucine, leucine, lysine, proline, antibiotics, bacteria, kill, sensitivity

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	CN 111744016 A (SUN YAT-SEN UNIVERSITY) 09 October 2020 (2020-10-09) claims 1-10	1-10
X	YE, Jinzhou et al. "Identification and Efficacy of Glycine, Serine and Threonine Metabolism in Potentiating Kanamycin-mediated Killing of <i>Edwardsiella Piscicida</i> " <i>Journal of Proteomics</i> , Vol. 183, 09 May 2018 (2018-05-09), pages 34-44, in particular abstract, page 35 section 2.1, page 36 section 2.6, page 40 sections 3.6 and 3.7, page 41 figure 5A	1-3, 6-10
X	CN 107737338 A (XIAMEN XIANDE BIOLOGICAL TECHNOLOGY CO., LTD.) 27 February 2018 (2018-02-27) claims 2-6, 8	1, 2, 6-10
X	CN 102871996 A (INSTITUTE OF MEDICINAL BIOTECHNOLOGY CHINESE ACADEMY OF MEDICAL SCIENCES) 16 January 2013 (2013-01-16) description, paragraphs [0008]-[0017]	1, 2, 6-10



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

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

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

Date of the actual completion of the international search

15 September 2021

Date of mailing of the international search report

15 October 2021

Name and mailing address of the ISA/CN

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

Facsimile No. (86-10)62019451

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2021/107306

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN 108042521 A (SUN YAT-SEN UNIVERSITY) 18 May 2018 (2018-05-18) entire document	1-10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2021/107306

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	111744016	A	09 October 2020	None			
CN	107737338	A	27 February 2018	None			
CN	102871996	A	16 January 2013	CN	102871996	B	24 December 2014
CN	108042521	A	18 May 2018	CN	108042521	B	04 December 2020

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2021/107306

A. 主题的分类

A61K 45/06(2006.01)i; A61K 31/198(2006.01)i; A61K 31/4172(2006.01)i; A61K 31/405(2006.01)i;
A61K 31/401(2006.01)i; A61K 31/546(2006.01)i; A61K 31/43(2006.01)i; A61K 31/407(2006.01)i; A61K
31/4709(2006.01)i; A61K 31/7036(2006.01)i; A61P 31/04(2006.01)i

按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

A61K; A61P

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))

CNABS;CNTXT;CNKI;USTXT;EPTXT;WOTXT;VEN;ISI Web of Science;百度学术;百度: 中山大学, 李惠, 彭博, 彭宣宪, 赖诗诗, 氨基酸, 天门冬氨酸, 谷氨酸, 丝氨酸, 组氨酸, 甘氨酸, 苏氨酸, 丙氨酸, 精氨酸, 酪氨酸, 胱氨酸, 缬氨酸, 甲硫氨酸, 色氨酸, 苯丙氨酸, 异亮氨酸, 亮氨酸, 赖氨酸, 脯氨酸, 抗生素, 细菌, 杀菌, 杀灭, 杀伤, 敏感性, SUN Yat-sen University, LI Hui, PENG Bo, PENG Xuanxian, LAI Shishi, amino acids, aspartic acid, glutamic acid, serine, histidine, glycine, threonine, alanine, arginine, tyrosine, cystine, valine, methionine, tryptophan acid, phenylalanine, isoleucine, leucine, lysine, proline, antibiotics, bacteria, kill, sensitivity

C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
PX	CN 111744016 A (中山大学) 2020年 10月 9日 (2020 - 10 - 09) 权利要求1-10	1-10
X	YE, Jinzhou 等. "Identification and Efficacy of Glycine, Serine and Threonine Metabolism in Potentiating Kanamycin-mediated Killing of Edwardsiella Piscicida" Journal of Proteomics, 第183卷, 2018年 5月 9日 (2018 - 05 - 09), 第34-44页, 尤其是摘要、第35页第2.1节、第36页第2.6节、第40页第3.6节以及第3.7节、第41页图5A	1-3、6-10
X	CN 107737338 A (厦门显德生物科技有限公司) 2018年 2月 27日 (2018 - 02 - 27) 权利要求2-6、8	1、2、6-10

☒ 其余文件在C栏的续页中列出。☒ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型: “A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 “E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 “L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的) “O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 “P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件	“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 “X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 “Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 “&” 同族专利的文件
---	---

国际检索实际完成的日期

2021年 9月 15日

国际检索报告邮寄日期

2021年 10月 15日

ISA/CN的名称和邮寄地址

中国国家知识产权局(ISA/CN)
中国 北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088

传真号 (86-10)62019451

授权官员

石良

电话号码 (86-512) 88996478

C. 相关文件		
类 型*	引用文件，必要时，指明相关段落	相关的权利要求
X	CN 102871996 A (中国医学科学院医药生物技术研究所以) 2013年 1月 16日 (2013 - 01 - 16) 说明书第[0008]-[0017]段	1、2、6-10
A	CN 108042521 A (中山大学) 2018年 5月 18日 (2018 - 05 - 18) 全文	1-10

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2021/107306

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利	公布日 (年/月/日)
CN	111744016	A	2020年 10月 9日	无	
CN	107737338	A	2018年 2月 27日	无	
CN	102871996	A	2013年 1月 16日	CN 102871996	B 2014年 12月 24日
CN	108042521	A	2018年 5月 18日	CN 108042521	B 2020年 12月 4日