

注射用磷酸特地唑胺体内抗菌作用研究

谭娇梅¹ 乔红群^{1,*} 丁亚军² 王虎斌² 杨建树¹

(1 南京工业大学, 南京 210009; 2 江苏省药物研究所, 南京 210009)

摘要: 目的 研究注射用磷酸特地唑胺对金黄色葡萄球菌、粪肠球菌、化脓性链球菌的体内抗菌作用。方法 选取SPF级ICR小鼠, 选用标准菌株金黄色葡萄球菌(ATCC29213)及金黄色葡萄球菌($n=22$)、粪肠球菌($n=18$)和化脓性链球菌($n=63$)3株临床分离的致病菌, 以0.5mL最低致死菌量腹腔注射细菌感染小鼠, 建立小鼠败血症模型; 于造模1h后, 分别静脉注射给予不同浓度的注射用磷酸特地唑胺和利奈唑胺注射液药液, 记录给药后1~7d小鼠存活数, 用BLISS法计算ED₅₀、ED₉₅及 P 值。结果 注射用磷酸特地唑胺对金黄色葡萄球菌标准菌株及3株临床分离的致病菌的ED₅₀值在1.57~3.52mg/kg, ED₉₅值在3.86~8.21mg/kg, 均明显优于对照药利奈唑胺注射液($P<0.01$)。结论 注射用磷酸特地唑胺对所测标准菌株及临床分离的致病菌有较好的体内抗菌作用, 其作用明显优于同类药利奈唑胺注射液。

关键词: 注射用磷酸特地唑胺; 败血症; 体内抗菌作用

中图分类号: R978.1 **文献标志码:** A

DOI:10.13461/j.cnki.cja.005896

In vivo activity of tedizolid phosphate injection

Tan Jiao-mei¹, Qiao Hong-qun¹, Ding Ya-jun², Wang Hu-bin² and Yang Jian-shu¹

(1 School of Pharmaceutical Sciences, Nanjing Tech University, Nanjing 210009;

2 Jiangsu Provincial Institute of Materia Medica, Nanjing 210009)

Abstract Objective To evaluate the *in vivo* activity of tedizolid phosphate injection in the treatment of mouse septicemia caused by *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* and *Streptococcus pyogenes*. **Methods** The SPF ICR mice and a standard strain of *Staphylococcus aureus* (ATCC29213) and other three clinical isolated pathogenic bacteria of *Staphylococcus aureus* ($n=22$), *Enterococcus faecalis* ($n=18$) and *Streptococcus pyogenes* ($n=63$) were selected. The mouse septicemia model was established by an intraperitoneal injection of the suspensions (minimal lethal dose) of bacteria 0.5mL. Tedizolid phosphate and linezolid were injected to the mice 1h after the bacteria injection. The survivals of the infected mice were monitored for seven days, and the ED₅₀, ED₉₅ and P values were calculated by the BLISS method. **Results** The ED₅₀ and ED₉₅ of tedizolid phosphate injection against the standard strain of *Staphylococcus aureus* (ATCC29213) and other three clinical isolated pathogenic bacteria of *Staphylococcus aureus* ($n=22$), *Enterococcus faecalis* ($n=18$) and *Streptococcus pyogenes* ($n=63$) were 1.57~3.52mg/kg and 3.86~8.21mg/kg, which were better than those of the control drug linezolid injection. **Conclusion** Against the standard strains and clinical isolates pathogens, tedizolid phosphate injection shows a better *in vivo* antibacterial activity than the drug line zolid injection.

Key words Tedizolid phosphate injection; Septicemia; *In vivo* activity

收稿日期: 2016-04-19

作者简介: 谭娇梅, 女, 生于1990年, 在读硕士研究生, 主要研究方向为药物分析和药效学, E-mail: tanjiaomei_1208@163.com

*通讯作者, E-mail: qiaohongqun@sina.com

磷酸特地唑胺是由美国Cubist制药公司研发的噁唑烷酮类抗生素,2014年6月获美国FDA批准上市,用于治疗金黄色葡萄球菌(包括耐甲氧西林菌株和甲氧西林敏感菌株)、各种链球菌及肠球菌等革兰阳性细菌引起的成人急性细菌性皮肤和皮肤组织感染(acute bacterial skin and skin structure infections, ABSSSI)^[1]。本品是一种无活性的前药,由血清磷酸酶转化为活性形式特地唑胺,后者与细菌的核糖体50S亚基结合,从而抑制蛋白质的合成^[2]。本研究通过药效学试验评价注射用磷酸特地唑胺对细菌感染小鼠败血症的体内抗菌作用,并与利奈唑胺注射液进行比较。

1 仪器与材料

1.1 试验药品

注射用磷酸特地唑胺(批号:20150301,江苏省药物研究有限公司提供,含磷酸特地唑胺为标示量的99.9%);利奈唑胺注射液(批号:14J29U49,Fresenius Kabi Norge AS, Norway生产,规格:300mL:0.6g);氯化钠注射液(批号:14062431,规格:100mL:0.9g,江苏长江药业有限公司生产);高活性干酵母(批号:20150522,安琪酵母股份有限公司生产)。

1.2 实验菌株

标准菌株:金黄色葡萄球菌(ATCC29213);临床分离致病菌:金黄色葡萄球菌(MSSA22),粪肠球菌(VRE18),化脓性链球菌(63),经东南大学附属中大医院临床检验科鉴定后使用。每株细菌在试验前都经过平板转活分纯,以新鲜菌体用于试验。

1.3 培养基与孵育条件

金黄色葡萄球菌,粪肠球菌在MH培养基,35℃孵育16~20h;化脓性链球菌在脑心浸液培养基中加入5%脱纤维养血制成,35℃ 5% CO₂培养箱中孵育16h。

1.4 实验动物

SPF级ICR小鼠,4~5周龄,体重范围18~22g,雌雄各半。由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,许可证号SCXK-(京)2012-0001。实验动物使用前得到江苏省药物安全性评价中心动物管理与使用委员会伦理审查批准,批准号20150522-1,实验动物使用许可证号:SYXK(苏)2013-0002。

2 方法与结果

2.1 感染保护实验

2.1.1 菌液稀释方法^[3]

通过感染菌量预实验确定使感染动物全部死亡的最小致死量(100%MLD),作为感染菌液浓度。将试验用菌于感染前1天接种在琼脂平板上,挑取菌苔用氯化钠注射液调至 1.5×10^8 CFU/mL比浊标准浓度,5%干酵母液稀释至感染菌液浓度,同时对菌液进行活菌计数测定。

2.1.2 药液稀释方法^[4]

供试品注射用磷酸特地唑胺加入氯化钠注射液,充分溶解,配制成相应浓度溶液用于试验。对照品利奈唑胺注射液原液,根据需要,加入氯化钠注射液稀释成相应浓度溶液后用于试验。采用低比值系列稀释,两个相邻剂量组剂量差*i*值为0.1~0.15。

2.1.3 药物剂量预实验^[3]

由高到低设置4个药物剂量组,配制MLD菌液:总量=0.5mL×试验小鼠数;每个剂量组4只小鼠,每只小鼠腹腔注射0.5mL MLD菌液后1h静脉注射给予药液(0.1mL/10g体重)。观察3d后小鼠死亡数,得出试验药物剂量的上限及下限,定出正式试验给药方案。

2.1.4 动物保护实验^[3,5-6]

(1)剂量设计与分组ICR小鼠禁食后体重18~22g,随机分组,每组10只,雌雄各半,共分16组。其中不同药物浓度组试验药、对照药各6组(表1),MLD阳性对照组(只注射细菌,不给药)1组,1/10 MLD阳性对照组1组,另设最高药物浓度阴性对照各1组,不感染致病菌,仅给予4个试验中最高浓度的药液(供试

表1 注射用磷酸特地唑胺和利奈唑胺注射液对4株细菌的体内保护实验剂量

Tab. 1 Protection test dose of tedizolid phosphate injection and linezolid injection against four strains *in vivo*

药物	金黄色葡萄球菌 (ATCC 29213)	金黄色葡萄球菌 (n=22)	粪肠球菌 (n=18)	化脓性链球菌 (n=63)
注射用磷酸特地唑胺	5	5	10	5
	3.5	3.5	7	3.5
	2.45	2.45	4.9	2.45
	1.72	1.72	3.43	1.72
	1.2	1.2	2.4	1.2
	0.84	0.84	1.68	0.84
利奈唑胺注射液	20	10	20	20
	14	7	14	14
	9.8	4.9	9.8	9.8
	6.86	3.43	6.86	6.86
	4.8	2.4	4.8	4.8
	3.36	1.68	3.36	3.36

品注射用磷酸特地唑胺10.00mg/kg，对照药利奈唑胺注射液20.00mg/kg)。

(2)感染及给药方法各给药组及MLD对照组小鼠腹腔注射0.5mL/只的MLD菌液感染小鼠，1/10 MLD对照组小鼠腹腔注射0.5mL/只的1/10 MLD菌液浓度的菌液。感染1h后按照0.1mL/10g体重静脉注射给予不同浓度的药液，MLD对照组及1/10 MLD对照组静脉注射给予等体积的氯化钠注射液。

(3)观察及统计方法给药后每天观察一次，记录感染后24、48、72、96、120、144和168h各给药组及对照组小鼠的存活数，使用DAS ver1.0软件BLIESS法计算ED₅₀和ED₉₅，Stata11.0软件进行显著性检验，计算P值。

2.2 结果

注射用磷酸特地唑胺和利奈唑胺注射液对金黄色葡萄球菌标准菌株及3株临床分离的致病菌感染小鼠败血症的体内抗菌保护作用见表2~5，结果显示注射用磷酸特地唑胺对金黄色葡萄球菌标准菌株及3株临床分离的致病菌感染小鼠败血症模型均有较好的体内抗菌作用，ED₅₀值为1.64、1.57、3.52和2.05mg/kg，与利奈唑胺注射液的ED₅₀值相比均有非常显著差异(P<0.01)。

3 讨论

磷酸特地唑胺是第二代噁唑烷酮类抗生素，与

表2 磷酸特地唑胺和利奈唑胺对金黄色葡萄球菌(ATCC29213)所致小鼠败血症体内保护作用

Tab. 2 *In vivo* activity of tedizolid phosphate injection against *Staphylococcus aureus* (ATCC29213) compared with linezolid injection in experimental septicaemia in mice

	注射用磷酸特地唑胺		利奈唑胺注射液	
	剂量/(mg/kg)	存活率/%	剂量/(mg/kg)	存活率/%
MLD对照组	0	0	0	0
1/10MLD对照组	0	20	0	20
给药组	5.00	100	20.00	90
	3.50	90	14.00	90
	2.45	80	9.80	70
	1.72	50	6.86	50
	1.20	30	4.80	40
	0.84	10	3.36	30
	ED ₅₀ /(mg/kg)	1.64	5.90	
	95%可信区间	1.28~2.03	3.53~8.08	
感染菌量/(CFU/mL)	ED ₉₅ /(mg/kg)	3.86	25.38	
	2.62×10 ⁴			
	MIC/(mg/L)	0.5	1	

表3 磷酸特地唑胺和利奈唑胺对金黄色葡萄球菌(n=22)所致小鼠败血症体内保护作用

Tab. 3 *In vivo* activity of tedizolid phosphate injection against *Staphylococcus aureus* (n=22) compared with linezolid injection in experimental septicaemia in mice

	注射用磷酸特地唑胺		利奈唑胺注射液	
	剂量/(mg/kg)	存活率/%	剂量/(mg/kg)	存活率/%
MLD对照组	0	0	0	0
1/10MLD对照组	0	30	0	30
给药组	5.00	100	10.00	80
	3.50	90	7.00	70
	2.45	70	4.90	40
	1.72	60	3.43	30
	1.20	40	2.40	10
	0.84	10	1.68	0
	ED ₅₀ /(mg/kg)	1.57	5.42	
	95%可信区间	1.18~1.98	4.26~7.36	
感染菌量/(CFU/mL)	ED ₉₅ /(mg/kg)	4.09	15.07	
	9.6×10 ⁶			
	MIC/(mg/L)	1	2	

表4 磷酸特地唑胺和利奈唑胺对粪肠球菌(n=18)所致小鼠败血症体内保护作用

Tab. 4 *In vivo* activity of tedizolid phosphate injection against *Enterococcus faecalis* (n=18) compared with linezolid injection in experimental septicaemia in mice

	注射用磷酸特地唑胺		利奈唑胺注射液	
	剂量/(mg/kg)	存活率/%	剂量/mg/kg	存活率/%
MLD对照组	0	0	0	0
1/10MLD对照组	0	30	0	30
给药组	10.00	100	20.00	90
	7.00	90	14.00	70
	4.90	70	9.80	60
	3.43	50	6.86	50
	2.40	20	4.80	40
	1.68	10	3.36	10
	ED ₅₀ /(mg/kg)	3.52	7.51	
	95%可信区间	2.78~4.37	5.16~10.45	
感染菌量/(CFU/mL)	ED ₉₅ /(mg/kg)	8.21	30.91	
	4.66×10 ⁶			
	MIC/(mg/L)	0.5	0.5	

第一代利奈唑胺相比，结构差异主要包括在C-5位用羟甲基取代了酰胺基和增加了一个D-环取代基(四唑)，这些改变增强了特地唑胺与肽基转移酶中心结合位点的相互作用，并使其对耐药菌的效力增强；延长了特地唑胺的半衰期，达到12h左右，是利奈唑胺半衰期的2倍，同时特地唑胺对利奈唑胺耐药的菌株也具有一定的抗菌活性^[2,7]。本研究结果也证

表5 磷酸特地唑胺和利奈唑胺对化脓性链球菌($n=63$)所致小鼠败血症体内保护作用

Tab. 5 *In vivo* activity of tedizolid phosphate injection against *Streptococcus pyogenes* ($n=63$) compared with linezolid injection in experimental septicemia in mice

	注射用磷酸特地唑胺		利奈唑胺注射液	
	剂量/(mg/kg)	存活率/%	剂量/(mg/kg)	存活率/%
MLD对照组	0	0	0	0
1/10MLD	0	30	0	30
给药组	5.00	90	20.00	100
	3.50	80	14.00	90
	2.45	60	9.80	60
	1.72	40	6.86	40
	1.20	20	4.80	20
	0.84	10	3.36	10
ED ₅₀ /(mg/kg)	2.05		7.54	
95%可信区间	1.56~2.70		5.96~9.42	
ED ₉₅ /(mg/kg)	6.23		18.01	
感染菌量	6.24×10 ⁵			
(CFU/mL)				
MIC/(mg/L)	0.5		1	

实磷酸特地唑胺具有较好的体内抗菌活性,与国外文献[8]报道结果一致,具有一定的临床意义。

本研究中,注射用磷酸特地唑胺和利奈唑胺注射液对金黄色葡萄球菌标准菌株及金黄色葡萄球菌($n=22$)、粪肠球菌($n=18$)和化脓性链球菌($n=63$)3株临床分离的致病菌感染小鼠败血症模型体内抗菌保护作用研究显示,注射用磷酸特地唑胺对于金黄色葡萄球菌标准菌株及3株临床分离的致病菌均有很好的体内抗菌作用,ED₅₀值在1.57~3.52mg/kg。

注射用磷酸特地唑胺ED₅₀及ED₉₅值均明显低于相应的利奈唑胺注射液ED₅₀及ED₉₅值($P<0.01$)。从表2~5可以看出,金黄色葡萄球菌(标准菌株, ATCC29213)、金黄色葡萄球菌($n=22$)、粪肠球菌($n=18$)、化脓性链球菌($n=63$)体外试验MIC值利奈唑胺分别为特地唑胺的2、2、1和2倍;体内试验ED₅₀值利奈唑胺分别为特地唑胺的3.6、3.5、2.1和3.7倍,显示出两药体内外抗菌效果之间具有一定的相关性。

ABSSSI包括蜂窝组织炎、丹毒、伤口感染等,严重的可危及生命,抗生素的不规范使用造成致病

菌对现有抗生素产生严重的耐药性,许多抗菌药物也因有不良反应而限制了其使用,因此用于治疗革兰阳性菌感染患者的新型静脉注射和口服药物有巨大的市场需求^[9]。磷酸特地唑胺作为新一代噁唑烷酮类抗生素,对于金黄色葡萄球菌等革兰阳性细菌引起的ABSSSI具有较好的疗效,且不良反应少,安全性较高,用药方便^[2],为临床治疗ABSSSI提供了新的选择。此外,因为噁唑烷酮类的独特作用机制,其与其他类抗菌药交叉耐药的可能性很小^[10],市场前景值得期待。

参考文献

- [1] 周青桐, 赵临襄. 磷酸泰地唑胺[J]. 中国药物化学杂志, 2014, 24(6): 499-500.
- [2] 张明珠, 鲁茜, 罗卓卡, 等. 新型抗生素磷酸泰地唑胺的药理作用与临床评价[J]. 中国新药杂志, 2015, 24(5): 481-483.
- [3] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学(第三版)[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 1664-1666.
- [4] 孙瑞元. 定量药理学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1987: 154-229.
- [5] 王琪, 康子胜, 李家泰. 国产盐酸加替沙星对感染小鼠败血症的体内抗菌作用[J]. 中国抗生素杂志, 2001, 26(3): 208-210.
- [6] Li S A, Lee W H, Zhang Y. Efficacy of OH-CATH30 and its analogs against drug-resistant bacteria in vitro and in mouse models[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2012, 56(6): 3309-3317.
- [7] 徐晓刚, 汪复. 一种抗革兰阳性菌感染的新型噁唑烷酮类抗菌药物——泰地唑胺[J]. 中国感染与化疗杂志, 2014, 14(5): 455-459.
- [8] Lepak A J, Marchillo K, Pichereau S, *et al.* Comparative pharmacodynamics of the new oxazolidinone tedizolid phosphate and linezolid in a neutropenic murine *Staphylococcus aureus* pneumonia model[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2012, 56(11): 5916-5922.
- [9] 倪凯. 跨国医药企业专利药到期对我国仿制药企业的影响[J]. 亚太传统医药, 2012, 8(7): 1-3.
- [10] Locke J B, John F, Mark H, *et al.* Structure-activity relationships of diverse oxazolidinones for linezolid-resistant *Staphylococcus aureus* strains possessing the cfr methyltransferase gene or ribosomal mutations[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2010, 54(12): 5337-5343.