

人用截短侧耳素类新药 Lefamulin 的研究进展

李雪瑶¹, 李吉顺^{1,3}, 朱子豪¹, 李陶汀月², 张文轩¹, 夏杰¹, 李天磊^{1*}, 吴松^{1*}

(1. 中国医学科学院、北京协和医学院药物研究所, 天然药物活性物质与功能国家重点实验室, 北京 100050;
2. 北京市一六一中学, 北京 100020; 3. 贵州中医药大学, 贵州 贵阳 550001)

摘要: Lefamulin (BC-3781) 是第一个治疗系统性细菌感染的截短侧耳素类人用药物, 属于半合成抗生素。在 2019 年 8 月由美国 FDA 批准用于治疗社区获得性细菌性肺炎 (community-acquired bacterial pneumonia, CABP), 商品名为 Xenleta。Lefamulin 通过与细菌核糖体 50S 亚基的肽基转移酶中心结合, 阻断了肽基转移过程进而抑制了蛋白质合成。Lefamulin 具有广泛的抗革兰阳性细菌活性, 同时对 CABP 相关的非典型微生物 (肺炎支原体) 也具有较强的抗菌活性。本文针对截短侧耳素类新药 Lefamulin 的作用机制、抗菌谱、临床前和临床试验数据等四个方面进行综述。

关键词: 截短侧耳素; Lefamulin; 抗菌活性; 社区获得性肺炎

中图分类号: R916 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2021)04-1006-10

Advances of Lefamulin: a new pleuromutilin antibiotic

LI Xue-yao¹, LI Ji-shun^{1,3}, ZHU Zi-hao¹, LI Tao-ting-yue², ZHANG Wen-xuan¹,
XIA Jie¹, LI Tian-lei^{1*}, WU Song^{1*}

(1. State Key Laboratory of Bioactive Substance and Function of Natural Medicines, Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China; 2. Beijing No.161 High School, Beijing 100020, China; 3. Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550001, China)

Abstract: Lefamulin (BC-3781) is a semi-synthetic pleuromutilin antibiotic, approved for the treatment of community-acquired bacterial pneumonia (CABP) by Food and Drug Administration (USA) in August 2019, with the commodity name of Xenleta. It is the first pleuromutilin antibiotics used for systemic treatment of bacterial infections in human. Lefamulin binds to the peptidyl transferase center of the 50S ribosomal subunit to prevent peptide transfer, thus inhibits protein synthesis. Lefamulin displays expanded activity against gram-positive organisms, and also shows high activity against atypical microorganism like Mycoplasma pneumoniae. This review discusses the mechanism, bacterial spectrum of activity, preclinical and clinical data of Lefamulin.

Key words: pleuromutilin; Lefamulin; antibacterial activity; community-acquired bacterial pneumonia

细菌耐药已经成为公共卫生安全的世界难题, 在后抗生素时代亟需研究和开发新型抗菌药物^[1,2]。

2010~2018 年, 美国 FDA 共计批准了 8 种抗生素新药, 分别为头孢洛林、奥利万星、达巴万星、泰地唑利、头孢洛赞/他唑巴坦、头孢他啶/阿维巴坦、地拉氟星和美罗培南/法硼巴坦复方——这些新药都是由已知抗菌药物衍生得到或者是与上市药物的组合物^[3]。在细菌对临床药物耐受加剧和新型抗菌药物研发进展缓慢的双重夹击下, 对现有抗菌药物的结构优化修饰是当前发现新型抗菌药物最有前景的途径之一^[4]。当前生

收稿日期: 2020-10-16; 修回日期: 2020-11-17.

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81703364); 中国医学科学院医学与健康科技创新工程重大协同创新项目 (2017-I2M-1-011); 北京市基础教育阶段创新人才培养项目——2019 年第十一批翱翔计划。

*通讯作者 Tel: 86-10-83163542.

E-mail: litianlei@imm.ac.cn; ws@imm.ac.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2020-1617

物医学领域对抗生素药物作用机制及耐药性机制研究的逐步深入,为现有抗生素药物的二次开发利用提供了新的机遇。

截短侧耳素 (pleuromutilin) 是从高等真菌担子菌纲侧耳属 *Pleurotus mutilis* 和 *Pleurotus passeckerianus* 菌种中分离得到的一种三环二萜类抗生素,主体骨架由一个五元环、一个六元环和一个八元环拼合而成,具有三环刚性结构(图1)^[5]。目前,截短侧耳素类抗生素已经上市近50年,泰妙菌素 (tiamulin, 1979年批准) 是首个兽用截短侧耳素类抗生素,在大约20年后沃尼妙林 (valnemulin) 被欧盟批准。两个兽用抗生素主要用于预防和治疗猪痢疾,抗菌谱较广,对多数革兰阳性细菌 (MIC 小于 $1.0 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)、肠道螺旋体和支原体 (MIC = $0.03\sim 2.0 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) 等具有较好的抗菌活性(图1)^[6]。该类化合物具有体内蓄积性低,毒性小,宿主耐受性好,不易于产生耐药性等优点,在家禽和畜牧中得到广泛的应用。

阿扎妙林 (azamulin) 是 Sandoz 公司开发的半合成人用抗生素,虽然具有良好的抗菌活性和安全性,但是在临床 II 期试验中发现口服生物利用度过低,且细胞色素 P450 (CYP450) 代谢快,半衰期短而终止了研发(图1)^[7]。瑞塔莫林 (retapamulin) 是葛兰素史克公司研发的一种局部使用的 1% 的软膏剂 (商品名为 Altabax),主要用于治疗脓疱病等皮肤感染性疾病。在 2007 年经美国 FDA 批准用于治疗脓疱病,同年获欧洲药物管理局 (European Medicines Agency, EMA) 批准用于短期治疗继发性表皮感染,成为第一个局部人用截短侧耳素类抗生素^[4]。Lefamulin (BC-3781) 是由奥地利 Nabriva Therapeutics 公司研发的治疗 CABP 的半合成抗生素,在 2019 年上半年完成了 III 期临床试验(图1)^[8],

是近 20 年 FDA 批准的第一个具有新作用机制的抗菌药物,也是第一个用于治疗人类全身性细菌感染的截短侧耳素类药物。本文针对截短侧耳素类新药 Lefamulin 的作用机制、抗菌谱、临床前和临床试验数据等四个方面进行综述。

1 Lefamulin 的作用机制

核糖体是一个复杂的生物机器,是蛋白质合成的关键场所,同时也是抗生素作用的重要靶点。细菌的核糖体沉降系数为 70S,由 30S 和 50S 亚基组成。肽键形成过程首先需要位于 50S 亚基内 tRNA 的 3'端与肽基结合位点 (A 位点) 的正确结合,通过氨酰-tRNA 上的氨基酸与其中一个肽酰-tRNA 结合后固定核糖体的 P 位点,然后在肽基转移酶的作用下与 A 位点的氨基酸脱水缩合形成肽键(图2)。任何一个环节出现问题都会直接影响蛋白质的合成,目前临床使用的诸多抗生素如氨基糖苷类抗生素、四环素类抗生素、大环内酯类抗生素和噁唑烷酮类抗生素等都是通过抑制和干扰细菌的蛋白质合成而发挥其抗菌作用^[9]。在哺乳动物中,核糖体的体积较大,沉降系数为 80S,由 40S 和 60S 亚基组成。哺乳动物和细菌核糖体的结构差异,以及近年来冷冻电镜技术在解析大型生物机器精细结构中的成功应用,为发现选择性作用于细菌核糖体亚基的抗生素提供了可能^[10]。

截短侧耳素类化合物的三环骨架母核结构对细菌核糖体具有独特的结合作用,主要是通过选择性的作用于细菌核糖体 50S 亚基的 23S rRNA 而抑制细菌蛋白质合成^[11]。金葡菌核糖体 50S 亚基的晶体结构显示, Lefamulin 结合在肽酰基转移酶活性中心 (the peptidyl transferase center, PTC) (图2)。23S rRNA 的核苷酸 U2585 和 U2506 之间的 U:U 相互作用稳定了 Lefamulin

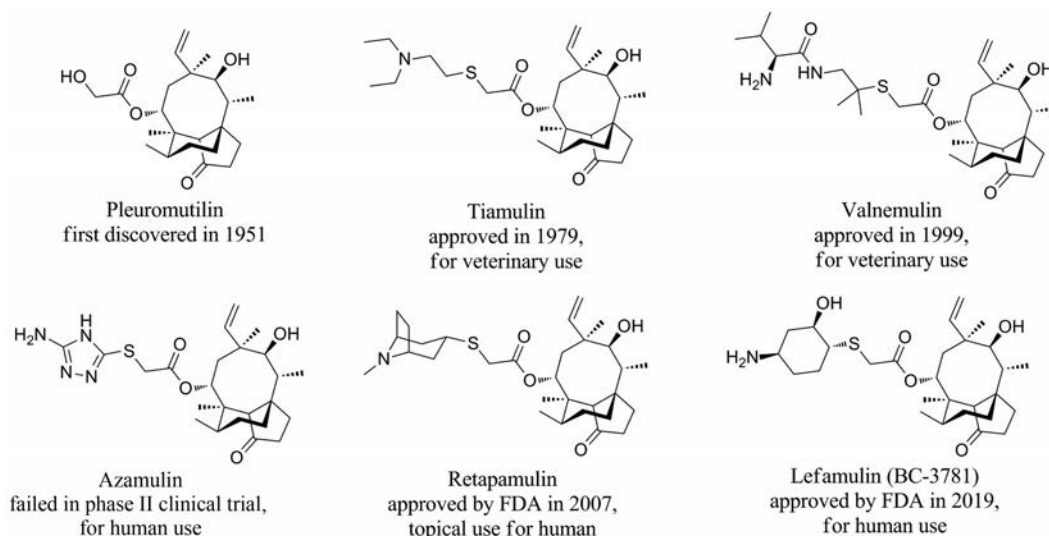


Figure 1 Clinical application of pleuromutilin derivatives

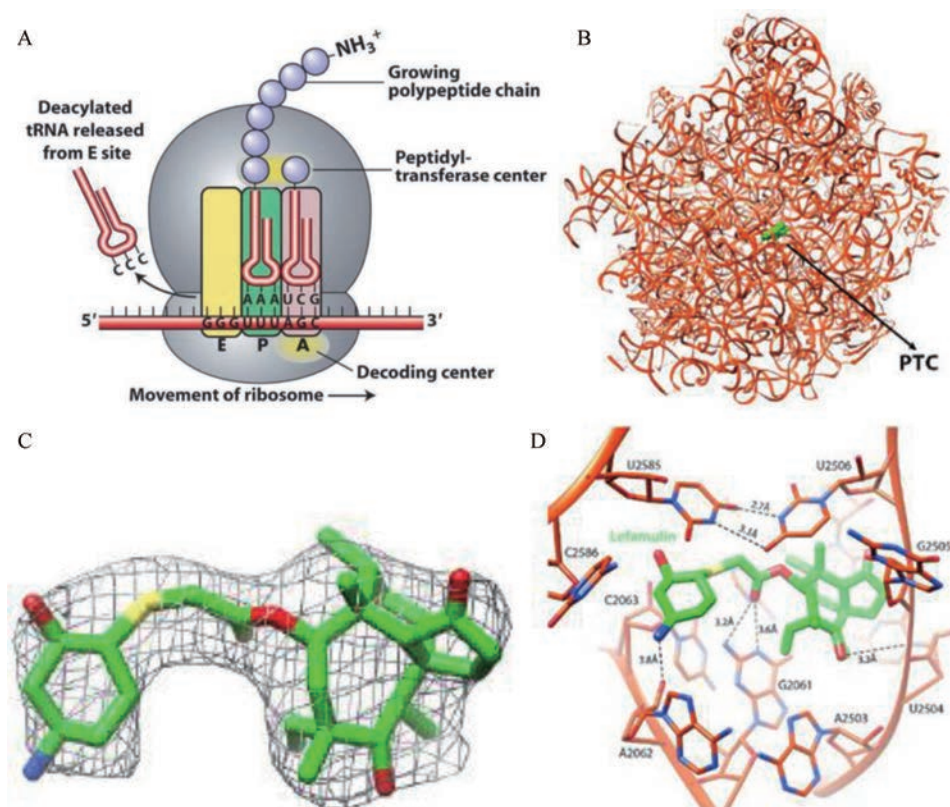


Figure 2 The mechanism and the binding site of Lefamulin with the SA50S-lef structure at the PTC^[6,11]. (A) The function of the ribosomal PTC in the protein synthesis. (B) The binding site of Lefamulin (green) within the SA50S-lef subunit at the PTC. (C) The 2Fo-Fc electron density map of the complex S50S-lefamulin contoured at 1.0 σ . (D) The complex structure of Lefamulin (green) and the PTC 23S rRNA nucleotides (orange), hydrogen bonds are presented with dashed lines

的结合部位, Lefamulin的乙酰羰基与核苷酸G2061的NH以及NH₂形成氢键, C11的羟基与G2505的磷酸基团形成氢键, C14侧链延伸的NH₂基团与A2062也形成氢键。此外, Lefamulin与rRNA核苷酸C2063、U2506、A2503、U2504、G2505、A2453、C2452、A2425和C2424的其他相互作用均为疏水作用或者范德华力(图2)^[11]。Lefamulin通过诱导契合机制与核糖体50S亚基的A位和P位结合干扰肽基转移酶中心, 阻止了肽键的形成从而抑制细菌蛋白质的合成。这种作用机制与噁唑烷酮相似, 并且可以与氯霉素竞争相同的结合位点, 但与之不同的是Lefamulin产生独特的诱导契合作用, 导致肽基转移酶中的核苷酸发生构象变化, 阻止tRNA正确定位, 从而阻止进一步的肽基转移^[12]。这是一种抑制细菌肽链延长的新机制, 使得Lefamulin显示出较低的交叉耐药性。

2 Lefamulin的抗菌活性研究

Lefamulin的体外抗菌活性较强, 对需氧革兰阳性细菌和部分厌氧及非典型的病原微生物具有抗菌活性, 另外对少部分需氧革兰阴性细菌也具有较好的抗菌活性, 尤其是引起CABP和急性细菌性皮肤和皮肤结构

感染 (acute bacterial skin and skin structure infection, ABSSSI) 的病原体^[13,14]。对金葡菌 (包括MRSA和CA-MRSA)、溶血性链球菌 (包括化脓链球菌和无乳链球菌)、肺炎链球菌、流感嗜血杆菌、卡他菌、放线杆菌、淋病奈瑟氏球菌、流感嗜血杆菌、非典型呼吸道病原体嗜肺杆菌、肺炎支原体及肺炎衣原体等病原微生物表现良好的抗菌活性, 其最小抑菌浓度 (MIC) 为0.006~0.5 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ^[13,14]。此外, 交叉耐药性研究显示Lefamulin对以下抗生素 (类别) 耐药的临床分离株仍然有效: 大环内酯类、林可酰胺类、链霉素B、噁唑烷酮、四环素类、 β -内酰胺类、喹诺酮类、甲氧苄啶/磺胺甲噁唑复方、莫匹罗星和万古霉素。

2.1 体外抗菌活性研究 Lefamulin对于革兰阳性细菌 (除部分屎肠球菌) 具有较好的抗菌活性, 对美国医院临床分离得到的506株金葡菌进行抗菌活性测试, 结果显示Lefamulin的MIC分布相似, 均不超过0.25 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ^[13]。Lefamulin对金葡菌表现出很强的抗菌活性, 在浓度不低于0.12 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时可以抑制94.6%的临床分离菌株 ($n = 5\ 527$), 并且其抗菌活性与对甲氧西林的敏感性无关^[13]。在Lefamulin浓度不低于2.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时抑制了

97.8% 的凝固酶阴性链球菌分离菌株 ($n = 267$)^[13], 在 Lefamulin 浓度不低于 $0.12 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时可抑制 99.2% 的 β -溶血性链球菌分离菌株 ($n = 763$)^[13]。Lefamulin 对草绿色链球菌^[13]中的唾液链球菌、牛链球菌、咽峡炎链球菌、轻型链球菌也具有显著抑制作用, MIC_{90} 分别为 0.12 、 2.0 、 0.25 和 $0.5 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

多种体外研究表明 Lefamulin 有广泛的抗肺炎链球菌活性。SENTRY 监测数据库显示, Lefamulin 浓度不低于 $1.0 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时, 对所有菌株 (临床分离 822 株肺炎链球菌菌株) 均具有抑制作用, MIC_{90} 为 $0.25 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ^[13]。2015 年公布的 Lefamulin 针对 CABP 病原菌的抗菌活性研究结果显示, Lefamulin 在浓度不高于 $0.5 \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时可以完全抑制 945 种临床分离的肺炎链球菌菌株^[15]。Lefamulin 对医院和社区感染中比较常见的耐药菌株如耐甲氧西林金葡菌 (MRSA)、中等耐万古霉素金葡菌 (VISA)、异源 VISA (hVISA) 和耐万古霉素金葡菌 (VRSA)、耐青霉素的肺炎链球菌 (PRSP)、耐多药肺炎链球菌和耐万古霉素的屎肠球菌 (VRE) 均表现出良好的抑制活性^[16] (表 1)。另外, Lefamulin 对氟喹诺酮类、大环内酯类和四环素类药物耐药的菌株均具有高效的抗菌活性。

2015 年 SENTRY 公布的数据中评估了 Lefamulin 对欧洲分离的革兰阴性菌卡他氏菌和流感嗜血杆菌的抗菌活性^[16]。结果显示 Lefamulin 的浓度不高于 $2.0 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时, 可以完全抑制上述菌株的生长, Lefamulin 对卡他氏菌和流感嗜血杆菌的 MIC_{90} 分别为 0.12 和 $1.0 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (表 2)。对全球 30 个国家 (包括美国和欧洲) 临床分离得到的 2 817 株菌株 (CABP 相关病原体) 进行抗菌活性测试^[16], 结果显示 Lefamulin 浓度为 $0.12 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时可抑制 99% 的黏膜炎莫拉氏菌, 而

Lefamulin 浓度为 $2.0 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时抑制 99% 的流感嗜血菌。同时, β -内酰胺酶的产生和其他耐药机制对 Lefamulin 的敏感性没有影响。

2017 年, 瑞典国家奈瑟氏病原菌标准实验室评价了 Lefamulin 对 251 株淋病奈瑟氏球菌的体外抗菌活性, 结果显示 Lefamulin 对所有淋病奈瑟氏球菌都具有较好的抑制作用, 其 MIC_{90} 和 MIC_{50} 分别为 1.0 和 $0.25 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 对临床分离得到的多药耐药菌株 MIC 值较低^[17]。经观察发现 Lefamulin 与其他药物不发生交叉耐药, 当病原体中 MtrCDE 外排泵失活时, Lefamulin 的 MIC 降至原 MIC 的 $1/6\sim 1/4$, 而外排泵 NorM 和 MacAB 的失活对 Lefamulin 敏感性没有显著影响。这些数据表明, 外排泵 MtrCDE 可能是影响 Lefamulin 敏感性的主要机制, 但是需要进一步测试以确定不同的外排泵在 Lefamulin 耐药性选择中的作用^[17,18]。

在对厌氧和非典型微生物的活性研究中, 发现 Lefamulin 对引起 CABP 的非典型微生物有良好的抑制活性, 其中包括衣原体、支原体和军团菌等 (表 3)^[14]。尽管 Lefamulin 对一些厌氧菌有活性, 包括产气荚膜梭菌、痤疮杆菌、梭状芽孢杆菌、消化链球菌、普氏菌、卟啉单胞菌, 但它对脆弱拟杆菌活性很弱, 并且对艰难梭菌无活性。

在 2018 年美国微生物学会 Microbe 会议上, Nabriva Therapeutics 公司公布了 2015~2016 年 Lefamulin 对 3 195 株葡萄球菌和 4 489 株链球菌的耐药菌株筛选结果^[19], 发现 Lefamulin 对其中 28 株菌株 (0.36% , 7 684 菌株) 中的最小抑菌浓度不小于 $0.5 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 对 25 株菌株 (0.33% , 7 684 菌株) 中的最小抑菌浓度不小于 $1.0 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。其中 11 株金葡菌经过基因组检测, 发现主要耐药机制来自于 *vga* (A) 外排蛋白, 而 *vga* (E) 和 *Isa* (E) 出现频率

Table 1 Activities of Lefamulin and comparator antimicrobial agents against Gram-positive bacterial pathogens

Gram-positive organism	Lefamulin		Linezolid		Vancomycin		Daptomycin	
	MIC_{50}	MIC_{90}	MIC_{50}	MIC_{90}	MIC_{50}	MIC_{90}	MIC_{50}	MIC_{90}
	$/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	$/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	$/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	$/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	$/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	$/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	$/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	$/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$
<i>S. aureus</i> ($n = 5\ 527$)	0.12	0.12	1	1	1	1	0.25	0.5
MRSA ($n = 2\ 370$)	0.12	0.25	1	1	1	1	0.25	0.5
β -Hemolytic streptococcus spp. ($n = 763$)	0.03	0.03	1	1	0.25	0.5	≤ 0.06	0.25
<i>S. pyogenes</i> Group A ($n = 267$)	0.03	0.03	1	1	0.25	0.5	≤ 0.06	≤ 0.06
<i>S. agalactiae</i> Group B ($n = 334$)	0.03	0.03	1	1	0.5	0.5	0.12	0.25
<i>E. faecium</i> ($n = 536$)	0.12	4	1	1	>16	>16	2	2
<i>S. pneumoniae</i> ($n = 3\ 923$)	0.06	0.12	1	1	0.25	0.5	-	-

Table 2 Activities of Lefamulin and comparator antimicrobial agents against Gram-negative bacterial pathogens

Gram-negative organism	Lefamulin		Azithromycin		Ceftriaxone		Moxifloxacin	
	MIC_{50}	MIC_{90}	MIC_{50}	MIC_{90}	MIC_{50}	MIC_{90}	MIC_{50}	MIC_{90}
	$/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	$/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	$/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	$/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	$/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	$/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	$/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	$/\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$
<i>H. influenzae</i> ($n = 360$)	1	2	1	2	≤ 0.06	≤ 0.06	≤ 0.5	≤ 0.5
<i>M. catarrhalis</i> ($n = 253$)	0.12	0.25	≤ 0.25	≤ 0.25	0.25	0.5	≤ 0.5	≤ 0.5
<i>N. gonorrhoeae</i> ($n = 251$)	0.25	1	0.5	16	0.008	0.064	-	-

Table 3 Activities of Lefamulin and comparator antimicrobial agents against atypical organisms bacterial pathogens

Atypical organism	Lefamulin		Azithromycin		Moxifloxacin	
	MIC ₅₀ /μg·mL ⁻¹	MIC ₉₀ /μg·mL ⁻¹	MIC ₅₀ /μg·mL ⁻¹	MIC ₉₀ /μg·mL ⁻¹	MIC ₅₀ /μg·mL ⁻¹	MIC ₉₀ /μg·mL ⁻¹
<i>Legionella pneumophila</i> (n = 30)	0.12	0.5	0.06	0.12	0.06	0.12
<i>Chlamydomphila pneumoniae</i> (n = 50)	0.02	0.04	–	–	–	–
<i>Mycoplasma pneumoniae</i> (n = 50)	0.006	0.006	–	–	–	–

较低。另外, 仅在无乳链球菌和弧菌类链球菌中观察到MIC值升高, 通常伴随着Isa (E) 的出现, 但耐药性的发生率总体较低。目前来看, *vga* (A) 和Isa (E) 的改变是导致Lefamulin对葡萄球菌及链球菌产生耐药的最主要原因。当前暂未分离得到具有较高MIC值的肺炎链球菌菌株, 提示该菌株不易产生耐药, 但应持续对其耐药性进行监测^[19]。

2.2 动物试验结果 在多种动物模型上, 分别进行了Lefamulin的药代动力学和药效学试验, 明确了药物的组织分布和代谢途径^[20]。动物体内实验重点探索了给药剂量和药物疗效的关系, 为后续体内研究的剂量选择提供了依据^[21]。在对金葡菌引起的菌血症的治疗中, 动物试验结果显示Lefamulin与临床常用药物达托霉素和万古霉素的作用效果相当^[22]。此外, 由于Lefamulin在泌尿生殖道中的分布特点, 对性传播感染也有潜在的治疗效果^[23]。

药代动力学试验结果表明给药后Lefamulin在体内快速分布, 主要通过粪便(约81.6%)和尿液(约13.5%)排出^[20]。在大鼠中静脉注射10 mg·kg⁻¹的[¹⁴C]-Lefamulin, 检测全血、血浆、呼出气体、尿液、粪便以及全身的相对放射性强度, 结果表明药物在皮肤、软组织以及肺部的浓度要远远高于血浆, 为Lefamulin在治疗CABP以及皮肤感染中的应用创造了条件^[20]。给药5 min后药物在身体各个器官的分布含量均高于血液, 但是在大脑和脊髓含量较低, 说明该药物能够较快的从血液分布到各个组织中, 但并不能跨过血脑屏障^[20]。在药物的消除阶段(给药后24~72 h), 所有器官的放射性迅速下降, 表明该药物在组织中无积累。给药后48 h内Lefamulin及其代谢物清除率为92%, 168 h为96%, 可以认为完全清除^[20]。

药效学研究揭示Lefamulin的体外抗菌活性与体内药效表现出很强的相关性。在小鼠的肺部感染模型中接种肺炎链球菌或金葡菌, 接种后2 h皮下注射剂量范围在1.25至320 mg·kg⁻¹的Lefamulin进行治疗, 每天注射两次^[21]。通过测量血浆和肺泡上皮细胞表面液(epithelial lining fluid, ELF)中的药物浓度, 建立Hill模型探究用药后24 h菌落形成单位的变化与Lefamulin的AUC:MIC比值间的关系^[21]。Hill模型显示, 血浆和

ELF中的AUC:MIC比值与菌落形成单位的减少呈正相关, 在肺炎链球菌的感染模型中血浆和ELF中AUC:MIC的比值分别为1.37和14.0, 在金葡菌的感染模型中该比值分别为2.13和21.7^[21], 该研究也为Lefamulin在临床应用的剂量选择提供了依据。

在小鼠菌血症模型上, Lefamulin对金葡菌引起的菌血症有效^[22]。通过皮下注射Lefamulin (70 mg·kg⁻¹) 及阳性对照药物(达托霉素-22.5 mg·kg⁻¹, 万古霉素-160 mg·kg⁻¹, 利奈唑胺-80 mg·kg⁻¹, 替加环素-6.5 mg·kg⁻¹), 然后检测血液中细菌浓度的变化评价药效^[22]。实验结果显示, 所有的抗菌药物均使血液中细菌浓度显著降低, 在Lefamulin治疗组中小鼠血液中细菌浓度均降低超过4个数量级, 其治疗效果明显优于阳性对照药物利奈唑胺和替加环素, 与达托霉素和万古霉素的活性相当^[22]。

Lefamulin在动物泌尿系统的药物分布研究结果显示, [¹⁴C]-Lefamulin在雄性大鼠的一些腺体组织(如包皮、尿道球部)和尿道中的浓度较高。与管腔相比, 囊壁(上皮和黏膜)的放射性浓度更高。给药后24 h, [¹⁴C]-Lefamulin在泌尿生殖道组织中的浓度与同一时刻肺中的浓度相似^[23]。在雌性大鼠中, [¹⁴C]-Lefamulin在阴蒂腺、子宫和尿道均有分布, 在子宫内膜的浓度高于其他部位。在阴道中, Lefamulin均匀分布于管腔、上皮组织和平滑肌壁。注射后24 h, Lefamulin在阴蒂腺的积累最多, 是同一时刻肺部浓度的3倍^[23]。Lefamulin在泌尿生殖道组织分布迅速, 浓度与肺中的浓度相似, 不受性别影响, 并且对引起性传播感染的敏感菌株及耐药菌株都有活性, 可以作为性传播感染的潜在疗法^[23]。

3 Lefamulin的临床研究

自2010年开始启动首个I期研究至今, Lefamulin主要针对两种临床适应症: ABSSSI和CABP。临床数据显示, 该药物早期临床试验中重点研究了药物的安全性、生物利用度及药代动力学性质等内容; 在ABSSSI方面进行了II期临床研究; 在CABP患者中先后进行了两次全球多中心的III期临床试验, 其主要的临床研究进展情况如表4所示。

3.1 早期临床研究(I期临床试验) 奥地利维也纳医科大学首次报道了Lefamulin的临床I期研究(欧盟临

Table 4 Summary of clinical trial results for Lefamulin in various phases of development. ABSSSI: Acute bacterial skin and skin structure infection; CABP: Community acquired bacterial pneumonia; CE: Clinically evaluable; mITT: Modified intent-to-treat; ELF: Epithelial lining fluid; IV: Intravenous; TOC: Test of cure

Phase of clinical trail	Object	Intervention	Objective	Result
Phase 1 NCT02557789	20 Healthy adults	Lefamulin	Assess the bioavailability and pharmacokinetics of Lefamulin when administered to fed and fasted healthy subjects in comparison to an intravenous formulation and a capsule formulation	Lefamulin was generally well tolerated, regardless of route of administration; Single doses of 600 mg IR tablets in the fasted state were bioequivalent to a 150 mg intravenous infusion with respect to AUC; taking the IR tablet after a meal is less bioavailable than fasted
Phase 1 EudraCT 2010-021938-54	12 Healthy adults	Lefamulin	Assess the pharmacokinetics of Lefamulin	Lefamulin has a similar exposure in subcutaneous adipose and skeletal muscle tissue, compared with plasma, while exposure levels in ELF are 5.7-fold higher than the free fraction in plasma Unpublished
Phase 1 NCT03131141	10 Healthy male adults	[¹⁴ C]-Lefamulin	Assess mass balance recovery, metabolite profile and metabolite identification of radio-labeled Lefamulin administered <i>via</i> the intravenous or oral routes	Unpublished
Phase 2 NCT01119105	210 Adult patients with ABSSSIs	Lefamulin Vancomycin	Compare the safety and efficacy of two doses of Lefamulin <i>vs</i> Vancomycin in patients with ABSSSI	Lefamulin was well tolerated and produced clinical responses similar to vancomycin; comparable clinical success rates at TOC in mITT and CE (90.0% for Lefamulin 100 mg, 88.9% for Lefamulin 150 mg, 92.2% for vancomycin) analyses
Phase 3 (LEAP 1) NCT02559310	551 Adult patients with CABP	Lefamulin Moxifloxacin Linezolid	Compare Lefamulin to Moxifloxacin (with or without Linezolid) for the treatment of adults with pneumonia	Lefamulin treatment was noninferior to moxifloxacin (with or without Linezolid) for both ECR (87.3% <i>vs</i> 90.2%) and IACR in MITT and CE groups (81.7%–86.9% <i>vs</i> 84.2%–89.4%) in success rates
Phase 3 (LEAP 2) NCT02813694	738 Adult patients with CABP	Lefamulin Moxifloxacin	Compare a 5-day course of oral Lefamulin twice daily <i>vs</i> a 7-day course of oral moxifloxacin once daily	Among patients with CABP, 5-day oral Lefamulin was noninferior to 7-day oral moxifloxacin for both ECR (90.8% <i>vs</i> 90.8%) and IACR in MITT and CE groups (87.5%–80.7% <i>vs</i> 89.1%–93.6%) in success rates

床注册号: EudraCT-2010-021938-54)。在 12 名健康男性受试者中, 在 1 h 内静脉注射 150.0 mg 的 Lefamulin 进行其临床药理学及人体安全性评价^[24]。在静脉注射后, 药物在血浆中的浓度呈多相下降过程。单剂量给药的药物终末半衰期为 8.6~11.7 h, AUC 随着用药剂量增加呈线性增长。在多次给药达到稳态后, AUC 增加但是 C_{max} 并未发生显著增加。血浆中游离药物的 AUC_{0-24h} 为 $1\ 500.8\ mg \cdot h \cdot L^{-1}$, 血浆中游离药物最大浓度 C_{max} 为 $330.1\ mg \cdot L^{-1}$, 血浆蛋白结合率为 80%~87%, 具体各项参数请见表 5。通过检测 Lefamulin 在血浆、骨骼肌组织、皮下脂肪组织和 ELF 的药物浓度发现, 骨骼肌组织 ($AUC_{0-24h} = 1\ 264.5\ mg \cdot h \cdot L^{-1}$, $C_{max} = 138.1\ mg \cdot L^{-1}$) 和皮下脂肪组织 ($AUC_{0-24h} = 1\ 456.6\ mg \cdot h \cdot L^{-1}$, $C_{max} = 145.1\ mg \cdot L^{-1}$) 中的药物浓度与血浆中游离药物浓度相似, 但 ELF ($AUC_{0-8h} = 3\ 871\ ng \cdot h \cdot mL^{-1}$, $C_{max} = 706\ ng \cdot mL^{-1}$) 的药物浓度是血浆中游离药物的 5.7 倍。这可能是因为 P-糖蛋白的主动转运, 将药物从血浆快

速转运至 ELF 中, 使其在肺组织中大量富集。

Lefamulin 在健康受试者上表现出良好耐受性, 未出现与治疗相关的严重不良反应。12 名健康受试者中的 7 名 (58%) 报告有轻度或中度不良反应^[24]: 头痛 (25%)、血清胆红素增加 (17%)、不适 (8.3%)、腹泻 (8.3%)、体温升高 (8.3%) 和局部输液部位疼痛 (8.3%)。

在 2015 年英国 Quotient Clinical Nottingham 进行了 Lefamulin 的安全性、生物利用度及药代动力学临床研究 (美国临床注册号: NCT02557789)^[25]。将 20 个健康受试者随机分成 4 组, 分别按照以下 4 种方式给药: ① 禁食条件下口服 600 mg 的 Lefamulin 片; ② 禁食条件下, 口服 600 mg 的 Lefamulin 胶囊 (200 mg/颗); ③ 静脉注射 150 mg 的 Lefamulin; ④ 早餐 1 h 后, 口服 600 mg 的 Lefamulin 片。临床研究结果表明口服 Lefamulin 的耐受性较好, 单次口服剂量为 600 mg 与单次注射 150 mg Lefamulin 的药代动力学参数相似。在禁食状态下口服 600 mg 的 Lefamulin 后, 药物被快

Table 5 Summary of the main pharmacokinetic parameters of 150 mg of Lefamulin administered as 1 h infusion. ^aFree plasma concentrations were calculated assuming plasma protein binding of 87%. ^bDerived from the mean concentrations of the three subjects per timepoint. ^c C_{12} was calculated by extrapolation and AUC_{0-12h} was derived; each subject underwent only one BAL, and therefore no range is presented for ELF. ^dValues calculated from corresponding AUC_{0-12h}

Pharmacokinetic parameter	Plasma <i>n</i> = 12	Free plasma ^a <i>n</i> = 12	Skeletal muscle tissue <i>n</i> = 10	Subcutaneous adipose tissue <i>n</i> = 8	Epithelial lining fluid ^b <i>n</i> = 3
AUC_{0-8h} /ng·h·mL ⁻¹	4 985 (3 704–7 866)	648.1 (481.5–1 022.6)	496.3 (265–850)	604.9 (328–764)	3 871
AUC_{0-12h} /ng·h·mL ⁻¹	5 772 (4 213–9 014)	750.4 (547.7–1 171.8)	632.1 (385–1 047)	738.3 (405–879)	4 489 ^c
C_{max} /ng·mL ⁻¹	2 539 (1 834–3 458)	330.1 (238.4–449.5)	138.1 (51–466)	145.1 (81–551)	706
T_{max} /h	1.00 (0.50–1.00)	–	1.50 (1.25–3.50)	1.25(1.25–2.25)	1.00
$T_{1/2}$ /h	6.866 (5.83–9.51)	–	–	–	–
CL /mg·mL ⁻¹	350.7 (228–474)	–	–	–	–
V/L	202.8 (134–376)	–	–	–	–
AUC_{0-24h} /ng·h·mL ⁻¹	11 554 (8 426–18 024) ^d	1 500.8 (1 095–2 343) ^d	1 264.2 (770–2 094) ^d	1 456.6 (810–1 758) ^d	8 978 ^d

速吸收。在餐后口服 Lefamulin 导致患者 AUC_{0-inf} 和 C_{max} 分别降低了 10% 和 28%。空腹时口服 Lefamulin 600 mg 的速释片剂与静脉注射 Lefamulin 150 mg 生物等效。在禁食状态下口服给药的绝对生物利用度为 25.8%，在饱餐状态下为 21.0%。

另外，2017 年在英国进行的一项实验中，通过同位素 [¹⁴C] 标记的方法研究了 Lefamulin 在健康受试者中的药代动力学性质 (美国临床注册号: NCT03131141)，分别设置了两个试验组，其中一组在餐后单次静脉注射 150 mg 的 Lefamulin；另外一组在禁食状态下口服 600 mg 的 Lefamulin^[26]。这项临床实验重点研究了 Lefamulin 在人体的吸收、分布、代谢和排泄的特点，其临床试验数据尚未公开。

3.2 ABSSSI (II 期临床试验) 引起 ABSSSI 的病原体主要是革兰阳性菌，包括金葡菌 (甲氧西林敏感和甲氧西林耐药菌株)、 β -溶血性链球菌 (化脓性链球菌、无乳链球菌、停乳链球菌)、咽峡炎链球菌群 (*S. anginosus*、*S. intermedius* 和 *S. constellatus*) 和粪肠球菌 (仅万古霉素敏感株)^[27]。Lefamulin 的 II 期临床试验 (美国临床注册号: NCT01119105) 主要是针对 ABSSSI 患者。临床试验采用双盲随机对照试验，比较静脉注射 Lefamulin 和静脉注射万古霉素对 ABSSSI 患者的疗效，实验组随机分为每 12 h 静脉注射 100 mg 的 Lefamulin 组和 150 mg 的 Lefamulin 组，对照组每 12 h 静脉注射 1.0 g 万古霉素。临床试验的治疗周期为 5~14 d，其主要终点是治疗后 7~14 d 的临床治愈率 (test of cure, TOC)，包括治愈、改善、失败或者无法评估。另外，根据临床治愈率的微生物检测结果，将次要终点分为微生物的根除、假定根除、残留、假定残留、重复感染、缺失和不确定。

共计 207 位患者至少接受过不少于 1 次药物治疗 [定义为改良意向-治疗分析人群 (modified intent-to-treat, mITT)]，其中 186 位患者完成了整个治疗方案 [定

义为临床可评估的人群 (clinically evaluable, CE)]。本临床试验中主要的皮肤感染类型包括两类：① 蜂窝组织炎 (Lefamulin 组 48%；万古霉素组 56%)；② 脓肿性蜂窝组织炎 (Lefamulin 组 33%；万古霉素组 26%)。在各治疗组中，病原体的分布大致相当，最常见的革兰阳性病原体是金葡菌 (mITT 人群中占 90.8%，MRSA 占 69.1%)。在参与临床评价的人群中，各组之间的 TOC 相似，分别为 Lefamulin 100 mg (90%)、Lefamulin 150 mg (88.9%) 和万古霉素 (92.2%)。在 mITT 人群中也观察到相似的结果，Lefamulin 100 mg (82%)、Lefamulin 150 mg (82.4%) 和万古霉素 (82.2%)。每组的平均治疗时间分别为：Lefamulin 100 mg 组为 5.9 (SD 3.1) d、Lefamulin 150 mg 组为 8.1 (SD 21.2) d、万古霉素组为 5.6 (SD 3.1) d。在临床试验中，有 6 名患者因为发生药物相关不良反应而终止治疗。最常见的不良反应是恶心、腹泻和头痛，万古霉素治疗组中不良反应的发生率略高，其中药物相关的不良反应发生率分别为 34.3% (100 mg 的 Lefamulin 组)、39.4% (150 mg 的 Lefamulin 组) 和 53.0% (万古霉素组)^[28]。

美国临床研究机构采用 PK 模型对 II 期临床试验的数据进行了回顾性研究，进一步确定了其关键的药代动力学参数。该分析采用了 129 名患者的 1 167 个 PK 血浆样品，PK 参数与患者的个体差异之间无强相关性，患者的个体差异约为 22%。静脉注射 100 mg 和 150 mg 的 Lefamulin 主要药代动力学参数分别为 (平均偏差)： $C_{max} = 1.57$ (0.974) 和 1.90 (0.705) $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ， $AUC_{0-24h} = 10.9$ (5.97) 和 14.1 (5.76) $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{mL}^{-1}$ ， $t_{1/2} = 11.0$ (5.18) 和 13.2 (5.79) h^[29]。

3.3 CABP 临床研究 (III 期临床试验) 截至 2020 年 9 月，ClinicalTrials.gov 未显示 FDA 批准的针对 ABSSSI 的 III 期临床试验。Lefamulin 的 III 期临床试验主要针对社区获得性细菌性肺炎，分别在 2015 年和 2016 年开

展了两次全球多中心的临床研究。

首个III期临床试验 (LEAP1, 美国临床注册号: NCT02559310) 是一项全球性非劣效试验, 旨在评价 Lefamulin 治疗 CABP 患者的有效性和安全性^[30]。在全球 18 个国家 104 个临床研究中心共计招募 551 位 CABP 患者, 通过“肺炎患者预后研究小组” (pneumonia patient outcomes research team, PORT) 评分系统对 551 位成人患者的肺炎严重程度进行评估, 结果显示除一位患者为轻症外, 其余患者的肺炎风险分级预后评分指数均大于等于 III, 72.1% 的患者为中度或重度肺炎。采用随机分组的方法将患者分为两组, 其中一组每 12 h 静脉注射 Lefamulin 150 mg, 另一组静脉注射莫西沙星 400 mg, 对疑似感染耐甲氧西林金葡菌的患者, 除注射莫西沙星以外, 每 12 h 再静脉注射利奈唑胺 600 mg, 而 Lefamulin 则辅以安慰剂。治疗周期一般为 7 d, 感染耐甲氧西林金葡菌的患者治疗周期延长至 10 d。如果符合预先确定的标准, 在 3 d 或至少 6 次用药后, 研究人员可以将给药方案改为每 12 h 口服 Lefamulin 600 mg 或每日口服莫西沙星 400 mg (辅助利奈唑胺每 12 h 600 mg)。

美国 FDA 设定的主要终点是首次给药后 96 ± 24 h 的早期临床反应 (early clinical response, ECR)。在 ITT 人群的非劣效界值为 12.5%, EMA 根据 mITT 人群和 CE 人群在最后一次用药 5~10 d 后的临床反应 (investigator assessment of clinical response, IACR) 评估了主要终点 (非劣效界值, 10%)。ECR 被定义为病人存活, 在当前 FDA 指南中概述的 4 种主要 CABP 症状中 (如呼吸困难、咳嗽、脓性痰的产生和胸痛), 至少有两种症状有所改善, 4 种主要症状中的任何一种都无恶化, 并且在首次服用研究药物后的 120 h 内没有接受除利奈唑胺以外的抗生素治疗 CABP。

在随机分配的 276 例接受 Lefamulin 治疗的患者中, 共计 273 位患者接受过不少于 1 次药物治疗 (mITT), 其中 236 位患者完成了整个治疗方案, 对 9 名疑似感染耐甲氧西林金葡菌的患者进行了辅助安慰剂治疗。在 275 例接受莫西沙星治疗的患者中, 共计 273 患者至少接受过不少于 1 次药物治疗 (mITT), 其中 245 位患者完成了整个治疗方案, 14 名患者疑似感染耐甲氧西林金葡菌, 辅助利奈唑胺治疗。在早期临床应答率上, Lefamulin 组和莫西沙星 ± 利奈唑胺组早期临床应答率分别为 87.3% 和 90.2% (差异为 -2.9%, 95% 的置信区间为 -8.5%~2.8%)。在用药 5~10 d 后的临床反应率上, Lefamulin 组和莫西沙星 ± 利奈唑胺组在 mITT 人群临床应答率分别为 81.7% 和 84.2% (差异为 -2.6%, 95% 的置信区间为 -8.9%~3.9%); CE 人群对应

的临床应答率分别为 86.9% 和 89.4% (差异为 -2.5%, 95% 的置信区间为 -8.4%~3.4%)。此外, 两组中均出现了由治疗突发不良反应导致的停药, Lefamulin 组的停药率为 2.9%, 莫西沙星 ± 利奈唑胺组为 4.4%。Lefamulin 组和对照组的患者病原微生物分布相似, 最常见的分离微生物是肺炎链球菌 (190 例)、卡他莫拉氏菌 (107 例)、非典型微生物 (101 例)、金葡菌 (45 例) 和流感嗜血杆菌 (15 例)。LEAP1 首次证明了 Lefamulin 在主要疗效终点方面不劣于莫西沙星, 总体上安全且耐受性良好^[30]。

为了进一步评价口服 Lefamulin 治疗 CABP 的疗效和安全性, 在全球 19 个国家 99 个临床研究中心进行了 Lefamulin 的第二个 III 期临床研究^[8,31] (LEAP2, 美国临床注册号: NCT02813694)。该临床研究采用非劣效性随机临床试验, 其入组要求是肺炎严重程度评分等级为 II、III 或 IV, 急性, 影像学确诊, 同时出现至少 3 种 CABP 症状并伴有两种或者以上生命体征异常。受试者随机分为两组, 共计招募 738 名成年 CABP 患者 (平均年龄 57.5 岁; 女性 351 名; 360 名患者的肺炎严重程度评分等级为 III 或 IV 类), Lefamulin 治疗组的给药方案为连续 5 d 每 12 h 口服 Lefamulin 600 mg ($n = 370$), 对照组的给药方案为连续 7 d 每 24 h 口服莫西沙星 400 mg ($n = 368$)。依据美国 FDA 主要终点评价标准, Lefamulin 和莫西沙星的早期临床有效率均为 90.8% (差异为 0.1%, 95% 的置信区间为 -4.4%~4.5%)。在用药 5~10 d 后, Lefamulin 组和莫西沙星组在 mITT 人群中的临床应答率分别为 87.5% 和 89.1% (差异为 -1.6%, 95% 的置信区间为 -6.3%~3.1%); 在 CE 人群中临床应答率分别为 89.7% 和 93.6% (差异为 -3.9%, 95% 的置信区间为 -8.2%~0.5%)。LEAP2 的临床数据表明, 口服 Lefamulin 600 mg (其口服生物利用度约为 0.25) 与 LEAP1 静脉注射 Lefamulin 150 mg 对 CABP 具有非劣效的治疗效果。

在药物安全性和耐受性方面, Lefamulin 组和莫西沙星组呈现出较为类似的临床结果 (表 6)。在 LEAP1 临床研究中, Lefamulin 组中 38.1% (104/273) 的患者至少发生过一次与治疗相关的不良反应, 其中轻度治疗突发性不良反应 (treatment-emergent adverse event, TEAE) 和严重 TEAE 占比分别为 15.0% 和 7.0%。莫西沙星 ± 利奈唑胺组中有 37.7% (103/273) 的患者至少发生过一次不良反应, 轻度 TEAE 和严重 TEAE 占比分别为 14.3% 和 4.8%。各组之间轻度 TEAE 和严重 TEAE 的发病率相似, 药物相关不良反应的发生率也相似, 但是 Lefamulin 注射后更有可能出现注射部位疼痛的症状。在 LEAP2 临床研究中, Lefamulin 组中 32.6% (120/368)

Table 6 Treatment-related adverse effects > 1% for Lefamulin in LEAP1 and LEAP2 trial. ALT: Alanine aminotransferase; AST: Aspartate aminotransferase

Adverse effect	Lefamulin (150 mg, iv), <i>n</i> = 273, % of patients	Moxifloxacin with or without linezolid (400 mg, iv), <i>n</i> = 273, % of patients	Lefamulin (600 mg, po), <i>n</i> = 368, % of patients	Moxifloxacin (400 mg, po), <i>n</i> = 368, % of patients
Nausea	2.9%	2.2%	5.2%	1.9%
Hypokalemia	2.9%	2.2%	–	–
Vomiting	–	–	3.3%	0.8%
ALT increase	2.9%	2.2%	0.8%	1.1%
AST increase	4.1%	2.6%	0.5%	1.1%
Insomnia	2.9%	1.8%	0	–
Infusion site pain	2.9%	0.0%	–	–
Infusion site phlebitis	2.2%	1.1%	–	–
Hypertension	0.7%	2.2%	1.4%	1.4%
Diarrhea	0.7%	7.7%	12.2%	1.1%
Headache	–	–	1.1%	1.6%
Gastritis	–	–	1.1%	0.5%

的患者至少发生过一次治疗相关的不良反应, 其中轻度 TEAE 和严重 TEAE 占比分别为 15.8% 和 4.6%。莫西沙星 ± 利奈唑胺组中有 25.0% (92/368) 的患者至少发生过一次不良反应, 其中轻度 TEAE 和严重 TEAE 占比分别为 7.9% 和 4.9%。Lefamulin 组和莫西沙星组由于 TEAE 导致的停药率 (3.3% vs 2.4%) 基本类似, 但是胃肠道相关不良反应的发生率差异较为显著, 包括腹泻/大便失禁 (12.2% vs 1.1%)、恶心 (5.2% vs 1.9%)、呕吐 (3.3% vs 0.8%), 值得注意的是这些不良反应并未在 LEAP1 中转口服 Lefamulin 600 mg 的患者中出现^[31]。

4 总结与展望

Lefamulin 作为第一个用于治疗人类全身性细菌感染的截短侧耳素类药物, 抗菌谱广、安全性高、适用范围较广, 且具有口服和注射给药方式, 对多种常见和难治性感染都具有潜在疗效, 其未来的临床应用空间很大^[32]。在 CABP 的治疗中, Lefamulin 具有较高的肺渗透性和有效性, 保证了药物在病灶部位具有较高的暴露量 (有效率)。同时 Lefamulin 避免了氟喹诺酮类抗生素引起的不良反应, 并对大环内酯类耐药的肺炎支原体和肺炎链球菌仍具有较好的抑制活性, 因此可以作为大环内酯类和氟喹诺酮类抗生素的替代药物, 为 CABP 患者提供了新的选择。截短侧耳素类药物的广谱抗菌活性使其在耐药菌感染的治疗中具有广阔的应用前景, 可以为多药耐药的细菌感染提供新的解决方案。在截短侧耳素为母核结构的抗菌药物开发路上, Lefamulin 是一个里程碑式的成功, 同时也为该类复杂母核天然产物的抗菌临床应用拉开了全新的序幕。

作者贡献: 李雪瑶、李天磊负责组织文章的框架、文章的撰写及修改; 吴松负责了文章的思路指导和审阅; 李吉顺、朱子豪、李陶汀月负责资料的收集和整理; 张文轩和夏杰对稿

件进行了完善。

利益冲突: 所有作者声明不存在利益冲突。

References

- [1] Levy SB, Marshall B. Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses [J]. *Nat Med*, 2004, 10: S122-S129.
- [2] Zhu YG, Johnson TA, Su JQ, et al. Diverse and abundant antibiotic resistance genes in Chinese swine farms [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110: 3435-3440.
- [3] Veve MP, Wagner JL. Lefamulin: review of a promising novel pleuromutilin antibiotic [J]. *Pharmacotherapy*, 2018, 38: 935-946.
- [4] Daum RS, Kar S, Kirkpatrick P. Retapamulin [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2007, 6: 865-866.
- [5] Kavanagh F, Hervey A, Robbins WJ. Antibiotic substances from basidiomycetes: VIII. *Pleurotus multilus* (Fr.) Sacc. and *Pleurotus passeckerianus* Pilat [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1951, 37: 570-574.
- [6] Goethe O, Heuer A, Ma X, et al. Antibacterial properties and clinical potential of pleuromutilins [J]. *Nat Prod Rep*, 2019, 36: 220-247.
- [7] Hunt E. Pleuromutilin antibiotics [J]. *Drugs Future*, 2000, 25: 1163-1168.
- [8] Lefamulin evaluation against pneumonia (LEAP2Phase) 3 topline Results [EB/OL]. <https://investors.nabriva.com/static-files/5c34b447-99cc-4739-b9d6-d4ea4c7d13b9>.
- [9] Poehlsgaard J, Douthwaite S. The bacterial ribosome as a target for antibiotics [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2005, 3: 870-881.
- [10] Merk A, Bartesaghi A, Banerjee S, et al. Breaking cryo-EM resolution barriers to facilitate drug discovery [J]. *Cell*, 2016, 165: 1698-1707.
- [11] Eyal Z, Matzov D, Krupkin M, et al. A novel pleuromutilin antibacterial compound, its binding mode and selectivity mechanism [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 39004.
- [12] Poulsen SM, Karlsson M, Johansson LB, et al. The pleuromutilin

- drugs tiamulin and valnemulin bind to the RNA at the peptidyl transferase centre on the ribosome [J]. *Mol Microbiol*, 2001, 41: 1091-1099.
- [13] Paukner S, Sader HS, Ivezic-Schoenfeld Z, et al. Antimicrobial activity of the pleuromutilin antibiotic BC-3781 against bacterial pathogens isolated in the SENTRY antimicrobial surveillance program in 2010 [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2013, 57: 4489-4495.
- [14] Sader HS, Paukner S, Ivezic-Schoenfeld Z, et al. Antimicrobial activity of the novel pleuromutilin antibiotic BC-3781 against organisms responsible for community-acquired respiratory tract infections (CARTIs) [J]. *J Antimicrob Chemother*, 2012, 67: 1170-1175.
- [15] Mendes RE, Farrell DJ, Flamm RK, et al. *In vitro* activity of lefamulin tested against *Streptococcus pneumoniae* with defined serotypes, including multidrug-resistant isolates causing lower respiratory tract infections in the United States [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2016, 60: 4407-4411.
- [16] Paukner S, Gelone SP, Arends SJR, et al. Antibacterial activity of lefamulin against pathogens most commonly causing community-acquired bacterial pneumonia: SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2015-2016) [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2019, 63: e02161-18.
- [17] Knöppel A, Näsval J, Andersson DI. Evolution of antibiotic resistance without antibiotic exposure [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2017, 61: e01495-17.
- [18] Butler MM, Waidyarachchi SL, Connolly KL, et al. Aminomethyl spectinomycins as therapeutics for drug-resistant gonorrhea and chlamydia coinfections [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2018, 62: e00325-18.
- [19] Mendes RE, Doyle TB, Paukner S, et al. Molecular characterization of resistance mechanisms associated with pleuromutilins among gram-positive clinical isolates from the worldwide SENTRY surveillance studies for lefamulin [EB/OL]. https://www.nabriva.com/Portals/0/Assets/ASM_Microbe_SENTRY%2020152016%20resistance%20mechanisms_P642.pdf.
- [20] Wicha WW, Ivezic-Schoenfeld Z, Novak R. Pharmacokinetic, mass balance and tissue distribution of [¹⁴C]-BC-3781 in non-pigmented rats [EB/OL]. https://www.nabriva.com/Portals/0/Nabriva/Posters/ECCMID_2010/2010%20ECCMID_Nabriva%20poster%20909_abstract%202415_ADME%20BC-3781.pdf.
- [21] Wicha WW, Paukner S, Strickmann DB, et al. Pharmacokinetics-pharmacodynamics of lefamulin in a neutropenic murine lung infection model [EB/OL]. https://www.nabriva.com/Portals/_default/Skins/ProfessionalUs/pdfs/2015%20pharmacokinetics-pharmacodynamics-lefamulin-in-lung-infection.pdf.
- [22] Wicha WW, Kappes CB, Fischer E. Efficacy of lefamulin against *Staphylococcus aureus* induced bacteremia in a neutropenic and immunocompetent murine model [EB/OL]. https://www.nabriva.com/Portals/_default/Skins/ProfessionalUs/pdfs/Poster_1509_ID%20Week%202017_Vivo%20Bacteremia_Final.pdf.
- [23] Wicha WW, Henson C, Webbley K. Tissue distribution of [¹⁴C]-Lefamulin in the urogenital tract in rats [EB/OL]. https://www.nabriva.com/Portals/0/Nabriva/Posters/ECCMID_2018/ECCMID%202018%20QWBA-STI_Final.pdf.
- [24] Zeitlinger M, Schwameis R, Burian A, et al. Simultaneous assessment of the pharmacokinetics of a pleuromutilin, lefamulin, in plasma, soft tissues and pulmonary epithelial lining fluid [J]. *J Antimicrob Chemother*, 2016, 71: 1022-1026.
- [25] Wicha WW, Lell C, Seltzer E, et al. Pharmacokinetics and safety of an oral, immediate-release (IR) tablet formulation of lefamulin in fed and fasted healthy subjects [EB/OL]. https://www.nabriva.com/Portals/_default/Skins/ProfessionalUs/pdfs/2017-%20pharmacokinetics-immediate-release-tablet-%20p1336-be-study.pdf.
- [26] A Study to assess mass balance recovery, metabolite profile and identification of IV and oral 14C-BC-3781 [EB/OL]. <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03131141?term=lefamulin&draw=2&rank=4>.
- [27] Cates JE, Mitrani-Gold FS, Li G, et al. Systematic review and meta-analysis to estimate antibacterial treatment effect in acute bacterial skin and skin structure infection [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2015, 59: 4510-4520.
- [28] Prince WT, Ivezic-Schoenfeld Z, Lell C, et al. Phase II clinical study of BC-3781, a pleuromutilin antibiotic, in treatment of patients with acute bacterial skin and skin structure infections [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2013, 57: 2087-2094.
- [29] Rubino CM, Xue B, Bhavnani SM, et al. Population pharmacokinetic analyses for BC-3781 using phase 2 data from patients with acute bacterial skin and skin structure infections [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2015, 59: 282-288.
- [30] File TM, Goldberg L, Das A, et al. Efficacy and safety of intravenous-to-oral lefamulin, a pleuromutilin antibiotic, for the treatment of community-acquired bacterial pneumonia: the phase III lefamulin evaluation against pneumonia (LEAP 1) trial [J]. *Clin Infect Dis*, 2019, 69: 1856-1867.
- [31] Alexander E, Goldberg L, Das AF, et al. Oral lefamulin vs moxifloxacin for early clinical response among adults with community-acquired bacterial pneumonia: the LEAP 2 randomized clinical trial [J]. *JAMA*, 2019, 322: 1661-1671.
- [32] Theuretzbacher U, Bush K, Harbarth S, et al. Critical analysis of antibacterial agents in clinical development [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2020, 18: 286-298.