(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 117750882 A
(43)申请公布日 2024.03.22

(21)申请号 202280051094.8
(22)申请日 2022.06.14
(30)优先权数据
2108465.2 2021.06.14 GB
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2024.01.19
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/EP2022/066234 2022.06.14
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2022/263475 EN 2022.12.22
(71)申请人 埃米考特公司
地址 挪威特罗姆瑟
(72)发明人 安德烈亚斯·斯皮尔伯格
文哲·斯坦森
约翰·西古尔·斯文森
(74)专利代理机构 北京弘权知识产权代理有限公司 11363
专利代理师 许伟群 林潮
(51)Int.Cl.
A01N 43/38(2006.01)
A01P 1/00(2006.01)
A01N 47/44(2006.01)

权利要求书4页 说明书53页 附图6页

(54)发明名称

包含聚氨酯的抗微生物制品

(57)摘要

本发明提供了包含聚氨酯的抗微生物制品，其中所述聚氨酯用式(I)化合物浸渍AA-AA-AA-X-Y(I)本发明还提供了用式(I)化合物浸渍的聚氨酯。本发明还提供了包含至少一种有机溶剂、热塑性聚氨酯和式(I)化合物的组合物，以及使用此类组合物产生的涂层。本发明还提供了产生用式(I)化合物浸渍的聚氨酯的方法、结合有用式(I)化合物浸渍的聚氨酯的医疗设备以及用式(I)化合物浸渍的聚氨酯的医疗用途。

CN 117750882 A

1.一种包含聚氨酯的抗微生物制品,其中所述聚氨酯用式(I)化合物浸渍

AA-AA-AA-X-Y(I)

其中,以任何顺序,2个所述AA(氨基酸)部分是阳离子型氨基酸,并且1个所述AA是具有亲脂性R基团的氨基酸,所述R基团具有14-27个非氢原子;

X是N原子,其可被支链或非支链C_1-C_{10}烷基或芳基基团取代,所述基团可并入至多2个选自N、O和S的杂原子;并且

Y选自R_1-R_2-R_3、R_1-R_2-R_2-R_3、R_2-R_2-R_1-R_3、R_1-R_3和R_4

其中:

R_1是C、O、S或N,

R_2是C;

R_1和R_2各自可被C_1-C_4烷基基团取代或未被取代;

R_3是包含1至3个环状基团的基团,每个所述环状基团具有5或6个非氢原子,2个或更多个所述环状基团可稠合,并且一个或更多个所述环状基团可被取代;R_3并入最多15个非氢原子;并且

R_4是具有2-20个非氢原子的脂族部分,所述部分是直链、支链或环状的。

2.如权利要求1所述的抗微生物制品,其中所述化合物是肽。

3.如权利要求1或2所述的抗微生物制品,其中所述阳离子型氨基酸是精氨酸和/或赖氨酸。

4.如权利要求1至3中任一项所述的抗微生物制品,其中所述具有亲脂性R基团的氨基酸选自三丁基色氨酸(Tbt)或联苯基丙氨酸衍生物,所述联苯基丙氨酸衍生物选自Phe(4-(2-萘基))、Phe(4-(1-萘基))、Bip(4-n-Bu)、Bip(4-Ph)或Bip(4-T-Bu);Bip(4-(2-萘基))。

5.如权利要求1至4中任一项所述的抗微生物制品,其中所述化合物是式(II)的化合物

AA_1-AA_2-AA_1-X-Y(II)

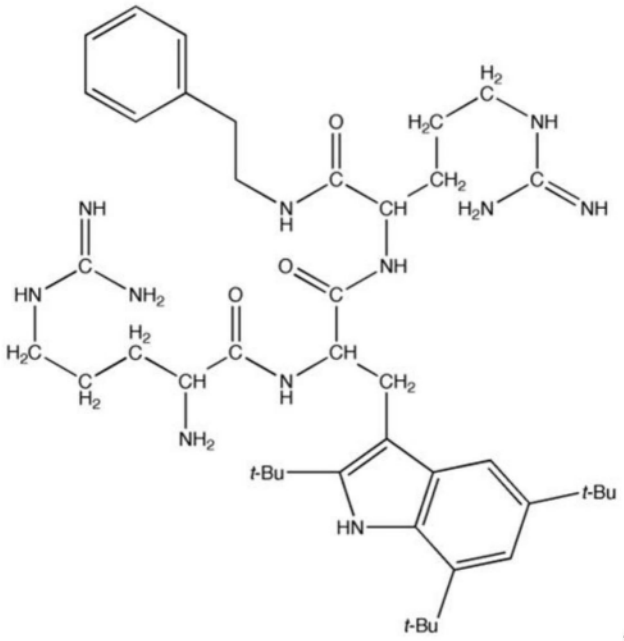
其中:

AA_1是阳离子型氨基酸;

AA_2是具有亲脂性R基团的氨基酸,所述R基团具有14-27个非氢原子;并且

X和Y如权利要求1所定义。

6.如权利要求1至5中任一项所述的抗微生物制品,其中所述化合物具有结构式



。

7.如权利要求1至6中任一项所述的抗微生物制品,其中所述聚氨酯是热塑性聚氨酯(TPU)。

8.如权利要求1至7中任一项所述的抗微生物制品,其中所述聚氨酯不是泡沫形式。

9.如权利要求1至8中任一项所述的抗微生物制品,其中用所述化合物浸渍的所述聚氨酯呈所述制品上的涂层的形式。

10.如权利要求1至9中任一项所述的抗微生物制品,其中所述抗微生物制品是医疗设备。

11.如权利要求1至10中任一项所述的抗微生物制品,其中所述抗微生物制品是伤口敷料。

12.如权利要求1至10中任一项所述的抗微生物制品,其中所述抗微生物制品是内置医疗设备。

13.如权利要求1至10或12中任一项所述的抗微生物制品,其中所述抗微生物制品是导管。

14.用如权利要求1至6中任一项定义的化合物浸渍的聚氨酯。

15.如权利要求14所述的浸渍聚氨酯,其中所述浸渍聚氨酯或所述化合物如前述权利要求中任一项所定义。

16.一种产生非泡沫形式的用如前述权利要求中任一项所定义的化合物浸渍的聚氨酯的方法,所述方法包括(i)将如前述权利要求中任一项所定义的化合物的溶液施加至所述聚氨酯,所述溶液中的溶剂是有机溶剂,以及(ii)干燥已被施加所述溶液的所述聚氨酯,从而产生用如前述权利要求中任一项所定义的化合物浸渍的所述聚氨酯。

17.用如前述权利要求中任一项定义的化合物浸渍的聚氨酯,其中所述聚氨酯由权利要求16所述的方法产生。

18.用如前述权利要求中任一项定义的化合物浸渍的聚氨酯,其中所述聚氨酯不是泡沫形式,并且所述化合物仅在从所述聚氨酯的表面起的总深度的一部分上浸渍到所述聚氨酯中。

19.一种组合物,其包含至少一种有机溶剂、热塑性聚氨酯(TPU)和如前述权利要求中任一项所定义的化合物,其中所述TPU和所述化合物各自溶解于所述至少一种有机溶剂中。

20.如权利要求19所述的组合物,其中所述有机溶剂是极性非质子溶剂。

21.如权利要求19或20所述的组合物,其中所述有机溶剂是四氢呋喃(THF)、二氯甲烷(DCM)、丙酮或乙酸乙酯。

22.如权利要求19至20中任一项所述的组合物,其中所述有机溶剂是THF。

23.一种产生权利要求19所述的组合物的方法,所述方法包括:

(i)将热塑性聚氨酯(TPU)溶解在有机溶剂中;

(ii)将前述权利要求中任一项所定义的化合物溶解在溶剂中;

(iii)将(i)中所获得的溶解在所述有机溶剂中的所述TPU与在(ii)中所获得的溶解在所述溶剂中的所述化合物混合,

由此产生所述组合物。

24.如权利要求23所述的方法,其中(ii)的所述溶剂是有机溶剂。

25.如权利要求23或24所述的方法,其中(i)和/或(ii)的所述溶剂如权利要求21或22所定义。

26.如权利要求23至25中任一项所述的方法,其中(i)的所述溶剂与(ii)的所述溶剂相同。

27.如权利要求23至25中任一项所述的方法,其中(i)的所述溶剂与步骤(ii)的所述溶剂不同。

28.一种产生权利要求19所述的组合物的方法,所述方法包括(i)提供包含有机溶剂中的热塑性聚氨酯(TPU)的第一溶液;(ii)提供包含式(I)化合物的第二溶液,其中所述第二溶液与所述第一溶液可混溶;以及(iii)混合所述第一和第二溶液。

29.如权利要求28所述的方法,其中所述有机溶剂如权利要求20至22中任一项所定义。

30.如权利要求28或29所述的方法,其中所述第二溶剂包含式(I)化合物和有机溶剂。

31.如权利要求28至30中任一项所述的方法,其中所述有机溶剂如权利要求20至22中任一项所定义。

32.一种产生用于可能易受微生物污染的制品或表面的涂层的方法,所述方法包括(i)将权利要求19至22中任一项所述的组合物施加于所述制品或表面,和(ii)蒸发掉来自所述施加的组合物的溶剂。

33.一种用于可能易受微生物污染的制品或表面的涂层,其中所述涂层包括用如前述权利要求中任一项所定义的式(I)化合物浸渍的热塑性聚氨酯。

34.如权利要求33所述的涂层,其中所述涂层是通过将权利要求19至22中任一项所述的组合物施加于所述制品或表面并蒸发掉来自所述施加的组合物中的溶剂而产生的。

35.一种产生具有抗微生物涂层的制品或表面的方法,所述抗微生物涂层包含用前述权利要求中任一项所定义的化合物浸渍的热塑性聚氨酯,所述方法包括(i)提供权利要求19至22中任一项所述的组合物;和(ii)将所述组合物施加于所述制品或表面,或施加于所述制品或表面的至少一部分。

36.如权利要求35所述的方法,其中所述施加是通过将所述制品或表面浸入所述组合物中或通过将所述组合物涂到所述制品或表面上。

37.一种涂覆有或至少部分涂覆有权利要求19至22中任一项所述的涂层组合物或权利要求33或34所述的涂层的可能易受微生物污染的制品。

38.权利要求19至22中任一项所述的组合物用于涂覆或至少部分涂覆可能易受微生物污染或定植的制品或表面的用途。

39.权利要求33或34所述的涂层或权利要求35或36所述的方法或权利要求37所述的制品或权利要求38所述的用途,其中所述制品是医疗设备。

40.如权利要求1至13中任一项所述的抗微生物制品,其中所述浸渍聚氨酯具有前述权利要求中任一项的特征。

41.如权利要求1至13或40中任一项所述的抗微生物制品,如权利要求14、15、17、18或40中任一项所述的浸渍聚氨酯,如权利要求33、34或39中任一项所述的涂层,或如权利要求37所述的制品,其中所述聚氨酯包含允许所述聚氨酯吸收水的多元醇衍生部分。

42.如权利要求41所述的抗微生物制品,如权利要求41所述的浸渍聚氨酯,如权利要求41所述的涂层,或如权利要求41所述的制品,其中所述多元醇是聚醚多元醇。

43.如权利要求1至13或40至42中任一项所述的抗微生物制品,如权利要求14、15、17、18、41或42中任一项所述的浸渍聚氨酯,如权利要求33、34、39或41中任一项所述的涂层,或如权利要求37、41或42所述的制品,其中所述聚氨酯由聚醚多元醇与脂族二异氰酸酯反应产生。

44.如权利要求1至13或40-43中任一项所述的抗微生物制品,如权利要求14、15、17、18或41-43中任一项所述的浸渍聚氨酯,如权利要求33、34、39或41-43中任一项所述的涂层,或如权利要求37或41-43中任一项所述的制品,其中,在使用中,所述式(I)化合物从所述聚氨酯持续释放。

45.如前述权利要求中任一项所定义的浸渍聚氨酯,其用于疗法。

46.如权利要求1至6中任一项所定义的化合物,其用于疗法,其中所述化合物以包含用所述化合物浸渍的聚氨酯的抗微生物制品的形式施用于受试者。

47.如权利要求45所述使用的浸渍聚氨酯或如权利要求46所述使用的化合物,其中所述疗法是治疗或预防受试者的感染。

48.一种治疗或预防感染的方法,所述方法包括向有需要的受试者施加治疗有效量的如权利要求1至6中任一项所定义的化合物,其中所述化合物以包含用所述化合物浸渍的聚氨酯的抗微生物制品的形式施用于所述受试者。

49.用如权利要求1至6中任一项所定义的化合物浸渍的聚氨酯在制造用于疗法、优选用于治疗或预防感染的抗微生物制品或药物中的用途。

50.如权利要求47所述使用的浸渍聚氨酯、如权利要求47所述使用的化合物、如权利要求48所述的方法或如权利要求49所述的用途,其中所述感染是细菌感染。

包含聚氨酯的抗微生物制品

[0001] 本发明总体上涉及抗微生物制品领域,例如伤口敷料和可能易受微生物污染的其他制品。更具体地,本发明涉及包含某些抗微生物化合物的抗微生物制品。此类制品具有医疗用途,例如在伤口护理和感染管理领域。本发明还涉及包含某些抗微生物化合物的抗微生物涂层和涂层组合物。

[0002] 皮肤作为抵御外部环境的保护屏障起着至关重要的作用,例如防止细菌感染。保持皮肤的完整性很重要,如果皮肤的完整性受到损害,例如存在伤口,则重要的是皮肤有效愈合以恢复其完整性。

[0003] 为了在伤口愈合过程中保护伤口并促进伤口愈合,通常将伤口敷料等施加于伤口。在伤口愈合过程中,伤口敷料能够吸收伤口渗出物并保持伤口适当的水分含量非常重要。适当的水分含量对于伤口愈合过程中的上皮再形成和组织重建非常重要。

[0004] 伤口敷料有许多不同类型,并且在许多情况下(例如,在护理渗出伤口时),伤口敷料能够维持有利于伤口愈合的湿润伤口环境非常重要。聚氨酯敷料代表了在这方面经常使用的一类伤口敷料的一个实例。基于聚氨酯的敷料(例如聚氨酯泡沫敷料)通常能够吸收伤口渗出物并保持伤口适当的湿度。

[0005] 然而,伤口护理领域的一个主要问题是,尽管使用了伤口敷料,但伤口仍经常被感染,例如被葡萄球菌(Staphylococci)等细菌感染。感染通常会损害伤口愈合,症状通常包括疼痛加剧、肿胀和发红,更严重的情况下会出现恶心、发冷或发烧。除了伤口(或伤口床)本身被感染之外,伤口敷料本身也常常被微生物(通常是细菌)定植。这当然是不希望的,因为它会导致伤口及其周围形成“富含细菌”的环境,从而损及愈合过程。其他制品例如其他医疗设备也可能容易受到微生物污染。

[0006] 为了对抗细菌伤口感染,已经推出了多种商业伤口敷料产品,其中伤口敷料包含抗微生物剂。举例来说,浸渍有重金属银(Ag)的聚氨酯泡沫敷料已经被开发出来并且可以在市场上买到。银离子(Ag^+)能够与许多生物分子(例如DNA、氨基酸和具有硫氢基团(sulfhydrul group)的化合物)发生反应,并能引起细胞毒性作用。**Optifoam ®**Gentle AG+(Medline Industries Inc.,USA)是市售的浸渍有银的聚氨酯泡沫伤口敷料的一个实例。

[0007] 然而,尽管银浸渍敷料可用于对抗某些伤口感染,但使用银等重金属作为抗微生物剂存在某些缺点。例如,由于银是一种元素,因此它不可生物降解,并且众所周知,从环境角度来看,银(重金属)的积累是不希望的。使用银浸渍敷料可能会导致银(Ag)在环境中发生不良累积,例如在处置此类敷料的场所。此外,有报道称细菌感染对银处理有抗性,因此银浸渍敷料对此类感染没有抗微生物作用。

[0008] 因此,本领域需要的是替代性的且优选有利的伤口敷料(和可能容易受到微生物污染的其他制品),其具有其他伤口敷料(或可能容易受到微生物污染的其他制品)的期望特征并且还提供了具有良好抗微生物活性的化合物。此类敷料(或其他制品)可用于控制例如伤口中的(或预防)感染(例如细菌感染),并且优选地由于存在抗微生物化合物而保持其自身(即,保持敷料或制品本身)无感染(或“自我灭菌”)。

[0009] 本发明人有利地提供了此类替代性伤口敷料和其他抗微生物制品。例如,本发明

人已经开发了聚氨酯伤口敷料,其具有某一类短阳离子型抗微生物肽,该肽具有从聚氨酯敷料材料中滤出并抑制细菌生长的优异能力。不希望受理论束缚,据信此类敷料比银浸渍的聚氨酯泡沫敷料具有许多优点,例如因为(i)阳离子型抗微生物肽是可生物降解的,因此不存在与银浸渍敷料相关的环境问题和(ii)细菌对阳离子型抗微生物肽的抗性非常罕见(因为作为此类肽的目标的脂质膜不太可能发生根本变化以防止细胞毒性作用)。本发明人还有利地提供了具有此类短阳离子型抗微生物肽的聚氨酯涂层。此类涂层可用于涂覆可能暴露于(或易受)细菌污染的制品(或表面)(例如医疗设备,如导管等)。

[0010] 因此,在一方面,本发明提供了一种包含聚氨酯的抗微生物制品,其中所述聚氨酯用式(I)化合物浸渍

[0011] AA-AA-AA-X-Y (I)

[0012] 其中,以任何顺序,2个所述AA(氨基酸)部分是阳离子型氨基酸,优选赖氨酸或精氨酸,但也可能是组氨酸或任何在pH 7.0时带正电荷的非基因编码或修饰的氨基酸,1个所述AA是具有大亲脂性R基团的氨基酸,所述R基团具有14-27个非氢原子并且优选含有2个或更多个、例如2或3个可稠合或连接的环状基团,这些环状基团通常包含5或6个非氢原子,优选6个非氢原子(当然,在稠合环的情况下,非氢原子可共享);

[0013] X是N原子,其可被取代,但优选不被支链或非支链C_1-C_{10}烷基或芳基基团(例如,甲基、乙基或苯基)取代,并且此基团可并入至多2个选自N、O和S的杂原子;并且

[0014] Y选自R_1-R_2-R_3、R_1-R_2-R_2-R_3、R_2-R_2-R_1-R_3、R_1-R_3和R_4

[0015] 其中:

[0016] R_1是C、O、S或N,优选C;

[0017] R_2是C;

[0018] R_1和R_2各自可被C_1-C_4烷基基团取代或未被取代,优选Y为-R_1-R_2-R_3(其中R_1优选为C),且优选此基团未被取代,当Y为-R_1-R_2-R_2-R_3或R_2-R_2-R_1-R_3时则优选R_1和R_2中的一个或更多个被取代;

[0019] R_3是包含1至3个环状基团的基团,每个环状基团具有5或6个非氢原子(优选全部为C原子,但任选地还包含N、O或S),2个或更多个环状基团可以稠合;一个或更多个所述环可以被取代,并且这些取代可以包括、但通常不包括极性基团,合适的取代基包括卤素(优选溴或氟)和C_1-C_4烷基基团;R_3并入至多15个非氢原子,优选5-12个,最优选它是苯基;并且

[0020] R_4是具有2-20个非氢原子的脂族部分,优选地这些非氢原子是碳原子,但可以并入氧、氮或硫原子,优选地R_4包含3-10个、最优选3-6个非氢原子,并且所述部分可以是直链、支链或环状的。如果R_4基团包含环状基团,则其优选直接附接至X的氮原子。

[0021] 优选的化合物包含直链或支链的R_4基团,特别是直链或支链的烷基基团,包括乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、戊基及其异构体、己基及其异构体等;特别优选丙基、异丙基、丁基和异丁基。

[0022] 在一些实施方案中,R_4是具有6-16个非氢原子的脂族部分(优选烷基基团),优选这些是碳原子,但可以并入氧、氮或硫原子,并且该部分可以是直链、支链或环状的。

[0023] 在一些优选的实施方案中,R_4是异丙基基团。

[0024] 在包含环状基团的R_4基团中,优选其中R_4是环己基或环戊基的分子。

[0025] 可以提供阳离子型氨基酸的合适的非遗传编码氨基酸和修饰氨基酸包括赖氨酸、

精氨酸和组氨酸的类似物,如高赖氨酸、鸟氨酸、二氨基丁酸、二氨基庚二酸、二氨基丙酸和高精氨酸以及三甲基赖氨酸和三甲基鸟氨酸、4-氨基哌啶-4-羧酸、4-氨基-1-甲脒酰基哌啶-4-羧酸和4-胍基苯丙氨酸。

[0026] AA的大亲脂性R基团可以含有杂原子,例如O、N或S,通常不超过一个杂原子,优选杂原子为氮。该R基团优选具有不超过2个极性基团,更优选不含或一个,最优选不含。

[0027] 优选为肽的化合物优选为式(II)的化合物

[0028] AA_1-AA_2-AA_1-X-Y (II)

[0029] 其中:

[0030] AA_1是阳离子型氨基酸,优选赖氨酸或精氨酸,但也可能是组氨酸或任何在pH 7.0时带正电荷的非基因编码或修饰的氨基酸;

[0031] AA_2是具有大亲脂性R基团的氨基酸,所述R基团具有14-27个非氢原子并且优选含有2个或更多个、例如2或3个可稠合或连接的环状基团,这些环状基团通常包含5或6个非氢原子,优选6个非氢原子;并且

[0032] X和Y如上所定义。

[0033] 进一步优选的化合物包括式(III)和(IV)的化合物:

[0034] AA_2-AA_1-AA_1-X-Y (III)

[0035] AA_1-AA_1-AA_2-X-Y (IV)

[0036] 其中AA_1、AA_2、X和Y如上所定义。更优选式(II)的分子。

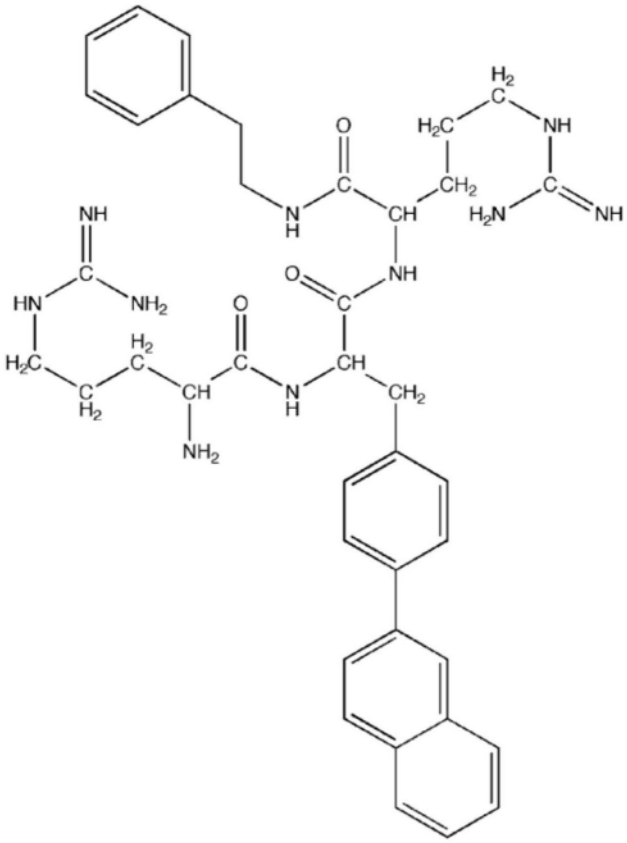
[0037] 在上述化合物中,某些化合物是特别优选的。具体地,其中具有大亲脂性R基团(本文中方便地称为AA_2)的氨基酸是三丁基色氨酸(Tbt)或联苯丙氨酸衍生物如Phe(4(2-萘基))[本文中也称为Bip(4-(2-萘基)]、Phe(4-(1-萘基))[本文中也称为Bip(4-(1-萘基)]、Bip(4-nBu)、Bip(4-Ph)或Bip(4-TBu);最优选Phe(4-(2-萘基))和Tbt。在一些优选的实施方案中,具有大亲脂性R基团的氨基酸是三丁基色氨酸(Tbt)。

[0038] 另一组优选的化合物是其中Y是如上所定义的-R_1-R_2-R_3的那些,优选其中R_1和R_2未被取代,最优选其中R_1和R_2都是碳原子。

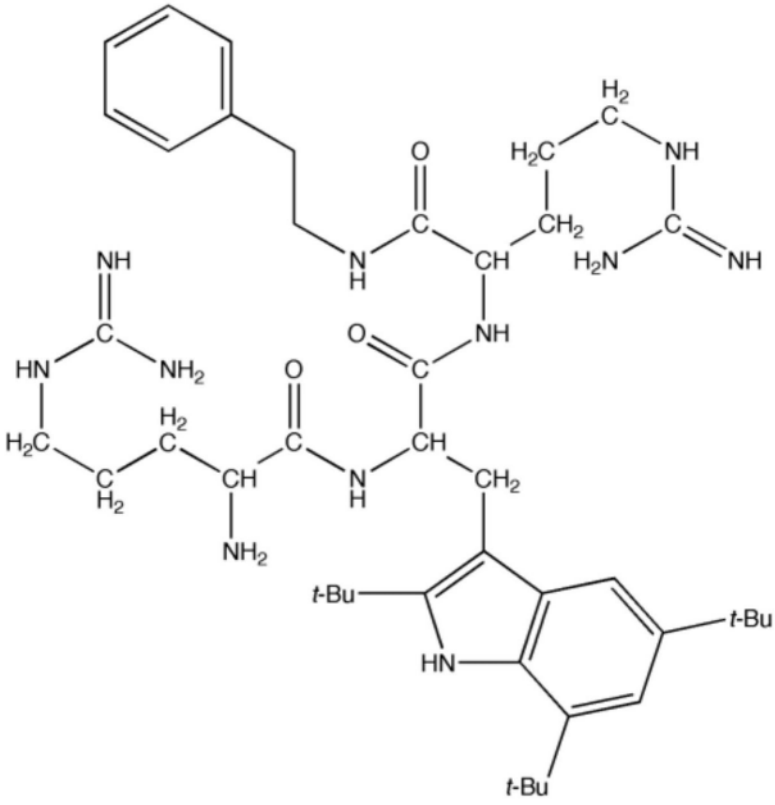
[0039] 另一组优选的化合物是其中-X-Y一起为基团-$NHCH_2CH_2$Ph的那些。

[0040] 这些化合物包括所有对映体形式,D和L氨基酸以及由氨基酸R基团和C端封端基团“-X-Y”内的手性中心产生的对映体。β和γ氨基酸以及α氨基酸都包括在术语“氨基酸”内,N取代的甘氨酸也是如此,它们都可以被认为是AA单元。本发明的分子包括β肽和缩酚酸肽。

[0041] 最优选的化合物如下:



[0042]



[0043] t-Bu表示叔丁基基团。并入氨基酸2,5,7-三叔丁基-L-色氨酸的第二种化合物是本发明中使用的最优选的化合物(并且在本文中也称为AMC-109)。并入其他阳离子型残基代替Arg、特别是Lys的该化合物的类似物也是非常优选的。并入如上定义的替代C末端封端

基团的类似物也是极为优选的。

[0044] 另一组优选的化合物是其中-X-Y一起选自-NHCH(CH$_3$)$_2$、-NH(CH$_2$)$_5$CH$_3$、-NH(CH$_2$)$_3$CH$_3$、-NH(CH$_2$)$_2$CH$_3$、-NHCH$_2$CH(CH$_3$)$_2$、-NH环己基和-NH环戊基的那些化合物,特别优选的是其中-X-Y一起是基团NHCH(CH$_3$)$_2$或NH(CH$_2$)$_5$CH$_3$的化合物。特别优选的一组化合物是其中-X-Y一起为NHCH(CH$_3$)$_2$的那些。

[0045] 优选的化合物是其中AA$_1$是精氨酸、AA$_2$是三丁基色氨酸且-X-Y一起是NHCH(CH$_3$)$_2$的化合物。

[0046] 用于本发明的化合物优选是肽。

[0047] 式(I)至(IV)的化合物可以是肽模拟物,并且本文描述和定义的肽的肽模拟物也代表根据本发明使用的化合物。肽模拟物的典型特征在于保留其肽等同物的极性、三维尺寸和功能性(生物活性),但其中肽键已被替代,通常被更稳定的连接替代。“稳定”是指对水解酶的酶促降解具有更强的抵抗力。一般来说,替代酰胺键的键(酰胺键替代物)保留了酰胺键的许多特性,例如构象、空间体积、静电特性、氢键的可能性等。Krogsgaard,Larsen,Liljefors and Madsen(Eds)1996,Horwood Acad.Pub的“Drug Design and Development”的第14章对肽模拟物的设计和合成技术进行了一般性讨论。在目前的情况下,当分子与膜而不是酶的特定活性位点反应时,所描述的一些精确模拟亲和力和功效或底物功能的问题是不相关的,并且可以基于给定的肽结构或所需官能团的基序来容易地制备肽模拟物。合适的酰胺键替代物包括以下基团:N-烷基化(Schmidt,R.等人,Int.J.Peptide Protein Res.,1995,46,47)、逆向酰胺(Chorev,M and Goodman,M.,Acc.Chem.Res,1993,26,266)、硫代酰胺(Sherman D.B.and Spatola,A.F.J.Am.Chem.Soc.,1990,112,433)、硫酯、膦酸酯、酮亚甲基(Hoffman,R.V.and Kim,H.O.J.Org.Chem.,1995,60,5107)、羟基亚甲基、氟乙烯基(Allmendinger,T.等人,Tetrahydron Lett.,1990,31,7297)、乙烯基、亚甲基氨基(Sasaki,Y and Abe,J.Chem.Pharm.Bull.1997 45,13)、亚甲硫基(Spatola,A.F.,Methods Neurosci,1993,13,19)、烷烃(Lavielle,S.等人,Int.J.Peptide Protein Res.,1993,42,270)和磺酰胺(Luisi,G.等人Tetrahedron Lett.1993,34,2391)。

[0048] 本发明的肽模拟物化合物通常会具有3个可识别的亚单元,其大小和功能与氨基酸(AA单元)大致相同。因此,术语“氨基酸”可以在本文中方便地用于指肽模拟物化合物的等价亚单元。此外,肽模拟物可以具有与氨基酸的R基团等同的基团,并且本文中关于合适的R基团以及N和C末端修饰基团的讨论(经必要修正)适用于肽模拟物化合物。

[0049] 正如上面引用的教科书以及酰胺键的取代中所讨论的,肽模拟物可能涉及用二或三肽模拟结构替换较大的结构部分,在这种情况下,模拟部分涉及肽键,如唑衍生的模拟物可用作二肽替代物。然而,其中酰胺键已被如上所述替代的肽模拟物和因此已替代的肽模拟主链是优选的。

[0050] 合适的肽模拟物包括还原肽,其中酰胺键已通过用还原剂例如硼烷或氢化物试剂(如氢化铝锂)处理而还原为亚甲基胺。这种还原具有增加分子整体阳离子性的额外优点。

[0051] 其他肽模拟物包括例如通过逐步合成酰胺官能化的聚甘氨酸而形成的类肽。一些肽模拟物主链可以容易地从它们的肽前体获得,例如已经全甲基化的肽,Ostresh,J.M.等人in Proc.Natl.Acad.Sci.USA(1994)91,11138-11142描述了合适的方法。强碱性条件将有利于N-甲基化而不是O-甲基化,并导致肽键和N末端氮中的部分或全部氮原子甲基化。

[0052] 优选的肽模拟物主链包括聚酯、聚胺及其衍生物以及取代的烷烃和烯烃。肽模拟物优选具有可以如本文所讨论地进行修饰的N和C末端。

[0053] 根据本发明使用的化合物(例如肽)表现出抗微生物活性(通常为抗细菌活性),特别是它们通过直接影响膜的机制发挥细胞毒性作用并且可以被称为膜作用抗微生物剂。这些化合物具有裂解、破坏细胞膜稳定性甚至刺穿细胞膜的作用。与作用于靶细胞的蛋白质成分(例如细胞表面受体)或与靶细胞的蛋白质成分相互作用的药剂相比,这提供了独特的治疗优势。虽然突变可能会导致靶蛋白的新形式,从而导致抗生素耐药性,但脂膜发生根本性变化以防止细胞毒性作用的可能性要小得多。裂解作用会导致非常快速的细胞死亡,因此具有在细菌有机会繁殖之前将其杀死的优点。此外,这些分子可能具有其他有用的可以杀死或伤害目标微生物的特性,例如有抑制蛋白质合成的能力,因此它们可能具有多靶点活性。抗微生物活性可以通过任何合适的方法容易地确定,并且技术人员熟悉这些方法,例如,在本文实施例部分中描述的方法。

[0054] 用于本发明的化合物可以以任何方便的方式合成。通常,存在的反应性基团(例如氨基、硫醇和/或羧基)将在整个合成过程中受到保护。因此,合成的最后一步是本发明的受保护衍生物的脱保护。

[0055] 在构建肽时,原则上可以从C末端或N末端开始,但C末端起始程序是优选的。

[0056] 肽合成的方法是本领域众所周知的,但对于本发明来说,在固相支持物上进行合成可能是特别方便的,这样的支持物是本领域众所周知的。

[0057] 已知氨基酸保护基团的多种选择,合适的胺保护基团可包括苯甲氧基(也称为Z)、叔丁氧基羰基(也称为Boc)、4-甲氧基-2,3,6-三甲基苯磺酰基(Mtr)和9-芴基甲氧基-羰基(也称为Fmoc)。应当理解,当肽从C末端构建时,胺保护基团将存在于添加的每个新残基的α-氨基基团上,并且需要在下一个偶联步骤之前选择性地去除。

[0058] 例如可以使用的羧基保护基团包括容易裂解的酯基团,如苄基(Bzl)、对硝基苄基(ONb)、五氯苯基(OPClP)、五氟苯基(OPfp)或叔丁基(OtBu)基团以及在固体支持物上的偶联基团,例如连接至聚苯乙烯的甲基。

[0059] 硫醇保护基团包括对甲氧基苄基(Mob)、三苯甲基(Trt)和乙酰氨基甲基(Acm)。

[0060] 存在多种去除胺基和羧基保护基团的方法。然而,这些方法必须与所采用的合成策略一致。在下一个偶联步骤之前,侧链保护基团必须在用于除去临时α-氨基保护基团的条件下保持稳定。

[0061] 胺保护基团如Boc和羧基保护基团如tBu可以通过酸处理(例如用三氟乙酸)同时除去。硫醇保护基团如Trt可以使用氧化剂如碘选择性地除去。

[0062] 在一些实施方案中,根据本发明使用的化合物(例如肽)被封装(例如纳米封装或微封装)。化合物的封装可以被认为是将化合物包装在第二材料(其可以被称为基体或壳)内以形成胶囊(例如纳米胶囊)。技术人员熟悉用于化合物的封装(例如纳米封装)(例如肽的封装)的方法和材料。

[0063] 如上所述,一方面,根据本发明的抗微生物制品包含用式(I)化合物浸渍的聚氨酯。因此,在该方面,聚氨酯可以被认为是式(I)化合物浸渍到其中的基材(或材料)。

[0064] 为了避免疑问,浸渍不涉及聚氨酯和式(I)化合物之间的共价附接,相反,浸渍是聚氨酯和式(I)化合物之间的非共价的、可释放的缔合。因此,该化合物可以被认为是与聚

氨酯可释放地缔合。

[0065] 因此,式(I)化合物能够从其所浸渍至的聚氨酯(或聚氨酯基材)中释放(或浸出或扩散出)(例如当与水分接触时,例如在伤口处)。这在本发明的上下文中是重要的,因为式(I)化合物具有抗微生物活性,并且期望的是,在使用中(例如当接触伤口时),该化合物能够从制品的聚氨酯释放到需要抗微生物活性的区域,例如以预防或治疗伤口感染。

[0066] 优选地,在使用中,式(I)化合物从聚氨酯(或聚氨酯基材)受控(即持续)释放。例如,可以释放治疗有效量的化合物至少2、3、4或5天。在一些实施方案中,可以持续释放化合物(优选治疗有效量的化合物)至少6小时、12小时、1天、2天、3天、4天、5天、10天、12天、15天、18天、20天、25天或30天。在一些实施方案中,可以持续释放化合物(优选治疗有效量的化合物)1至5、1至10、1至15、1至18、1至20、1至25或1至30天。在一些实施方案中,可以持续释放化合物(优选治疗有效量的化合物)2至5、2至10、2至15、2至18、2至20、2至25或2至30天。在一些实施方案中,可以持续释放化合物(优选治疗有效量的化合物)5至10、5至15、5至18、5至20、5至25或5至30天。

[0067] 治疗有效量将优选导致递送至局部环境的化合物浓度超过该化合物对于靶细菌的最低抑制浓度(MIC)。

[0068] 如上所述,优选地,在使用中,式(I)化合物从聚氨酯(或聚氨酯基材)持续释放。因此,优选地,对于根据本发明的抗微生物制品(例如,医疗设备)或根据本发明的涂层,在使用中(例如,当与水或水分或水溶液或体液接触时),式(I)化合物从聚氨酯(或聚氨酯基材)持续释放。例如,对于根据本发明的医疗设备,在使用中(例如当在受试者体内使用时,或当与受试者(例如受试者的伤口)接触时,或当植入受试者时),优选地,式(I)化合物从聚氨酯(或聚氨酯基材)持续释放。

[0069] 浸渍化合物从聚氨酯释放的能力可通过任何合适的方法容易地确定,并且技术人员熟悉此类方法。例如,可以使根据本发明的浸渍有化合物的抗微生物制品(或抗微生物涂层)与已经接种了细菌(例如葡萄球菌属细菌)的琼脂板接触,并且在适当的温育时间(例如37℃16小时)后,可以检查板上抗微生物制品周围是否存在“抑制区”(即没有细菌生长或细菌生长减少的区域)。“抑制区”的存在(例如,与使用未浸渍抗微生物化合物的对照制品或涂层的测试相比)表明化合物可以从聚氨酯释放。示例性方法在本文的实施例部分中描述。“提取”测试,例如如本文实施例部分所述,也可用于评估浸渍化合物从聚氨酯释放的能力。

[0070] 根据本发明可以使用具有任何合适的物理性质的聚氨酯。当然,典型地,物理性质应当使得聚氨酯能够释放式(I)化合物(已浸渍),如本文其他地方所讨论的。

[0071] 换言之,式(I)化合物可以被认为分散(可释放地分散)通过(或至少部分地分散通过)聚氨酯(聚氨酯基材)。

[0072] 在一些实施方案中,式(I)化合物可均匀分散(均匀且可释放地分散)通过聚氨酯(聚氨酯基材)。

[0073] 聚氨酯(也可以方便地称为PU)是通过每分子具有两个或更多个反应性羟基(-OH)的醇(例如二醇、三醇或其他多元醇)与每分子具有一个以上反应性异氰酸酯基团(-NCO)的异氰酸酯(例如二异氰酸酯或三异氰酸酯或其他多异氰酸酯)之间的反应而形成的聚合物。这种醇和异氰酸酯之间的反应导致主链中形成氨基甲酸酯键。通常,聚氨酯聚合物通过二异氰酸酯或三异氰酸酯与多元醇(例如二醇,如聚乙二醇(PEG)或聚四氢呋喃)的反应形成。

优选的多元醇是二醇。优选的异氰酸酯是二异氰酸酯。在一些情况下,聚氨酯还可包含一种或更多种扩链剂(即,一种或更多种扩链剂也可用于PU的生产中)。

[0074] 许多类型的聚氨酯是本领域已知的,并且技术人员熟悉这些聚氨酯和生产聚氨酯的方法。具体地,包含聚氨酯的抗微生物制品(例如伤口敷料)是本领域众所周知的,并且技术人员同样熟悉此类制品及其制造方法。

[0075] 在一些实施方案中,聚氨酯是聚醚聚氨酯,例如基于聚乙二醇(PEG)的聚氨酯。因此,在一些实施方案中,聚氨酯是通过聚醚醇(聚醚多元醇,优选聚醚二醇)与异氰酸酯)之间的反应、例如PEG与异氰酸酯(优选二异氰酸酯)之间的反应或聚四氢呋喃与异氰酸酯(优选二异氰酸酯)之间的反应而形成的聚氨酯。

[0076] 在一些实施方案中,聚氨酯是基于PEG类似物的聚氨酯。举例来说,在一些实施方案中,聚氨酯是基于聚四氢呋喃(PTHF)的聚氨酯。聚四氢呋喃也可称为聚(四亚甲基氧化物)或聚(四亚甲基醚)二醇或聚四亚甲基醚二醇(PTMEG)。

[0077] 通常且优选地根据本发明,PU(例如热塑性聚氨酯;TPU)能够吸收水(或其他水溶液或体液等)。换言之,在一些实施方案中,PU能够吸收水(或其他水溶液或体液等)或当与水(或其他水溶液或体液等)接触时可以溶胀。

[0078] 通常且优选地根据本发明,PU(例如TPU)的(或其中的)的多元醇(优选二醇)衍生的一部分(或单体)或部分使得PU吸收水(或其他水溶液或体液等)。换言之,在一些实施方案中,PU的多元醇(优选二醇)衍生的一部分(或单体或部分)能够吸收水(或其他水溶液或体液等)或当与水(或其他水溶液或体液等)接触时可以溶胀。

[0079] 因此,在一些实施方案中,PU(例如TPU)包含多元醇(优选二醇)衍生的一部分(或单体或部分),其允许PU吸收(或吸纳)水(或其他水溶液或体液等)。这种多元醇(优选二醇)衍生的一部分(或单体或部分)可以被认为是亲水性的。允许PU吸收(或吸纳)水(或其他水溶液或体液等)的多元醇(优选二醇)衍生部分有时可被视为“软域(soft domain)”。术语“软域”用于与PU也可能拥有的“硬域(hard domain)”形成对比。术语“硬域”通常用于指PU的异氰酸酯衍生的一部分(或域或部分)。软域和硬域也可以分别称为软链段和硬链段。

[0080] 不希望受理论束缚,一旦水渗入PU(PU基材)中,浸渍在(或分散在或夹带在)PU的已被水触及的部分中的根据本发明的式(I)化合物可以溶解并释放。

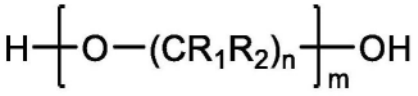
[0081] 通常且优选地,根据本发明的多元醇是聚合多元醇(例如聚合二醇)。因此,在一些优选的实施方案中,PU(例如TPU)包含聚合多元醇(优选聚合二醇)衍生的一部分(或单体或部分)。换言之,在一些优选的实施方式中,PU(例如TPU)是(或已经)通过聚合多元醇(优选聚合二醇)与异氰酸酯(优选二异氰酸酯)的反应形成(或合成或产生或获得)。任选地,还可以包括扩链剂,即反应可以进一步包含扩链剂。

[0082] 在一些实施方案中,优选聚醚多元醇(优选聚醚二醇)。因此,在一些优选的实施方案中,PU(例如TPU)包含聚醚多元醇(优选二醇)衍生的一部分(或单体或部分)。换言之,在一些优选的实施方式中,PU(例如TPU)是(或已经)通过聚醚多元醇(优选聚醚二醇)与异氰酸酯(优选二异氰酸酯)的反应形成(或合成或产生或获得)。任选地,还可以包括扩链剂,即反应可以进一步包含扩链剂。

[0083] 不希望受理论束缚,据信使用聚醚多元醇(优选聚醚二醇)形成的PU在本发明的上下文中特别有用,因为它们是亲水性的,允许PU吸收水。据信这是由于氧原子的存在。

[0084] 在一些实施方案中,包含衍生自(或基于)聚醚多元醇(优选聚醚二醇)的软域的PU是优选的。

[0085] 在一些优选的实施方案中,根据本发明的聚醚多元醇是式(V)的聚醚多元醇(更具体地聚醚二醇):

[0086] 

(V)

[0087] 其中"n"为2、3或4(优选2或4);

[0088] 其中R_1和R_2各自独立地选自H或C_1-C_6烷基(优选R_1和R_2各自为H);并且

[0089] 其中"m"至少为2。

[0090] 在一些实施方案中,"m"为2至500,例如2-250、2-100、2-50、2-10、5-500、5-250、5-100、5-50、5-10、10-500、10-250、10-100或10-50。在一些实施方案中,"m"为约5-75、5-50、5-40、5-30或5-20。在一些实施方案中,"m"为约10-75、10-50、10-40、10-30或10-20。在一些实施方案中,"m"为约15-75、15-50、15-40、15-30或15-20。在一些实施方案中,"m"为约20-75、20-50、20-40、20-30。在一些实施方案中,"m"为约5-150或约5至140或约6至150或约6至140。在一些实施方案中,"m"为约15-40。

[0091] 在一些优选的实施方案中,"n"为2。

[0092] 在一些优选的实施方案中,"n"为4。

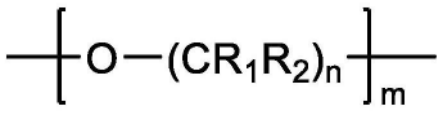
[0093] 在一些优选的实施方案中,n为2或4,且R_1和R_2各自为H。

[0094] 在"n"为2或4的一些优选实施方案中,"m"为如上所述的数字范围之一。

[0095] 在一些优选的实施方案中,"n"是2或4,R_1和R_2各自为H,并且"m"是如上所述的数字范围之一。

[0096] 在一些实施方案中,PU(例如TPU)是(或已经)通过式(V)的聚醚多元醇与异氰酸酯(优选二异氰酸酯)的反应形成(或合成或产生)。

[0097] 换言之,在一些实施方案中,PU(例如TPU)包含式(VI)的聚醚多元醇(优选二醇)衍生的一部分(或单体或部分或域):

[0098] 

(VI)

[0099] 其中R_1、R_2、"n"和"m"各自如上文结合式(V)所述。

[0100] 换言之,在一些实施方案中,PU(例如TPU)包含式(VI)的单体(或部分)。

[0101] 在一些实施方案中,根据本发明的多元醇(例如聚(四亚甲基醚)二醇或根据式(V)的其他多元醇)可具有约500至约10,000之间的分子量。

[0102] 在一些实施方案中,PU是(或已经)通过聚亚烷基二醇(例如具有上述通式(V)的聚亚烷基二醇)与具有多于一个反应性异氰酸酯基团的异氰酸酯(优选二异氰酸酯)的反应形成。任选地,还可以包括扩链剂。

[0103] 在一些实施方案中,异氰酸酯(优选二异氰酸酯)是脂族异氰酸酯(优选脂族二异氰酸酯)。例如,脂族二异氰酸酯可以是脂族氢化4,4'-亚甲基二苯基二异氰酸酯。脂族氢化4,4'-亚甲基二苯基二异氰酸酯也可称为二环己基甲烷二异氰酸酯或HMDI。

[0104] 在一些其他实施方案中,异氰酸酯(优选二异氰酸酯)是芳族异氰酸酯(优选芳族二异氰酸酯)。例如,芳族二异氰酸酯可以是芳族4,4'-亚甲基二苯基二异氰酸酯。

[0105] 在优选的实施方案中,异氰酸酯是脂族异氰酸酯(优选脂族二异氰酸酯)。

[0106] 因此,在一些优选的实施方案中,PU(例如TPU)是(或已经)通过多元醇(优选聚醚多元醇,例如聚醚二醇,例如根据上述式(V))与脂族异氰酸酯(优选脂族二异氰酸酯)的反应形成(或合成)。任选地,还可以包括扩链剂(例如1,4-丁二醇)。

[0107] 在某些其他实施方案中,PU(例如TPU)是(或已经)通过多元醇(优选聚醚多元醇,例如聚醚二醇,例如根据上述式(V))与芳族异氰酸酯(优选芳族二异氰酸酯)的反应形成(或合成)。任选地,还可以包括扩链剂(例如1,4-丁二醇)。

[0108] 在一些实施方案中,PU(例如TPU)是(或已经)通过聚(四亚甲基醚)二醇与脂族异氰酸酯(优选脂族二异氰酸酯)的反应形成(或合成)。在一些实施方案中,PU(例如TPU)是(或已经)通过聚(四亚甲基醚)二醇(例如根据上述式(V))与二环己基甲烷二异氰酸酯的反应形成(或合成)。任选地,还可以包括扩链剂(例如1,4-丁二醇),即反应可以进一步包含扩链剂。

[0109] 在一些实施方案中,PU(例如TPU)是(或已经)通过聚(四亚甲基醚)二醇与芳族异氰酸酯(优选芳族二异氰酸酯)的反应形成(或合成)。在一些实施方案中,PU(例如TPU)是(或已经)通过聚(四亚甲基醚)二醇(例如根据上述式(V))与芳族4,4'-亚甲基二苯基二异氰酸酯的反应形成(或合成)。任选地,还可以包括扩链剂(例如1,4丁二醇),即反应可以进一步包含扩链剂。

[0110] 从以上讨论明显看出,在一些实施方案中,根据本发明优选聚醚多元醇(即基于聚醚多元醇的PU)。然而,在一些其他实施方案中,可以采用聚酯多元醇(即基于聚酯多元醇的PU)。因此,在一些实施方案中,PU(例如TPU)包含聚酯多元醇(优选二醇)衍生的一部分(或单体或部分)。换言之,在一些优选的实施方式中,PU(例如TPU)是(或已经)通过聚酯多元醇(优选聚酯二醇)与异氰酸酯(优选二异氰酸酯)的反应形成(或合成或产生或获得)。优选的异氰酸酯在本文其他地方讨论。任选地,还可以包括扩链剂,即反应可以进一步包含扩链剂。

[0111] 从以上讨论可以明显看出,聚氨酯还可包含扩链剂(即,除了异氰酸酯和多元醇衍生的一部分之外)。本技术领域的技术人员熟悉扩链剂。扩链剂通常是低分子量(或短链)二醇或二胺,它们与异氰酸酯(例如二异氰酸酯)反应以建立聚氨酯分子量并增加硬链段(或硬域)的嵌段长度。扩链剂可以是脂族的或芳族的。技术人员熟悉合适的扩链剂,其包括例如1,4丁二醇(BDO)。

[0112] 在一些实施方案中,聚氨酯是热塑性聚氨酯。热塑性聚氨酯可以缩写为TPU。在一些优选的实施方案中,TPU是医用级TPU。在一些实施方案中,TPU是脂族TPU。在一些实施方案中,TPU是基于脂族聚醚的TPU。在一些实施方案中,TPU是Tecoflex(例如Tecoflex EG 80A)(Lubrizol Advanced Materials,Inc.),或者是与Tecoflex(例如Tecoflex EG 80A)类似(例如具有其一种或更多种特性)的TPU。在一些实施方案中,TPU是芳族TPU。在一些实施方案中,TPU是基于芳族共聚酯的TPU。在一些实施方案中,TPU是基于芳族聚己内酯共聚酯的TPU。在一些实施方案中,TPU是Pearlcoat DIPP 119(Lubrizol Advanced Materials,Inc.),或者是与Pearlcoat DIPP 119类似(例如具有其一种或更多种特性)的TPU。在一些

实施方案中,TPU是基于芳族聚醚的TPU。在一些实施方案中,TPU是Estane 58300(Lubrizol Advanced Materials,Inc.),或者是与Estane58300类似(例如具有其一种或更多种特性)的TPU。

[0113] 在一些实施方案中,聚氨酯是**Biatain®**系列产品(Coloplast)中使用的聚氨酯类型,或者是Pellidine™(例如Pellethane 80A,Lubrizol Advanced Materials,Inc),或者是与此类聚氨酯类似(例如具有其一种或更多种特性)的聚氨酯。

[0114] 根据本发明的聚氨酯可以是吸收性的,例如吸湿的,例如能够吸收渗出物,如伤口渗出物。

[0115] 吸收性聚氨酯通常优选用于伤口敷料(例如需要吸收渗出物的伤口敷料)。吸收性聚氨酯在接触水分(例如伤口渗出物)时可溶胀。因此,根据本发明的聚氨酯可以是吸湿的。根据本发明的聚氨酯可以是亲水性的。

[0116] 优选地,根据本发明的聚氨酯是医用级聚氨酯。因此,优选地,根据本发明的聚氨酯是生物相容的。

[0117] 根据本发明的聚氨酯可以是聚氨酯泡沫的形式。因此,在一些实施方案中,本发明提供了包含用如本文所定义的式(I)化合物浸渍的聚氨酯泡沫的抗微生物制品。

[0118] 根据本发明的聚氨酯泡沫具有开孔结构。因此,聚氨酯泡沫可被认为是可渗透的(或半渗透的)或多孔聚氨酯。根据本发明,此类聚氨酯泡沫用式(I)化合物浸渍。此类聚氨酯泡沫能够释放(例如通过持续释放)式(I)化合物,例如当与水分接触时(例如在伤口处,例如渗出的伤口处)。通常且优选地,聚氨酯泡沫还能够吸收水分,例如伤口渗出物。

[0119] 技术人员熟悉聚氨酯泡沫,包括适用于抗微生物制品的聚氨酯泡沫(例如聚氨酯泡沫敷料)。

[0120] 根据本发明可以采用具有任何合适的物理性质的聚氨酯泡沫,例如可以采用具有任何孔径、密度、厚度、水分透过率(MVTR)或吸收能力的聚氨酯泡沫。当然,典型地,物理性质应当使得聚氨酯泡沫能够释放如本文其他地方讨论的式(I)化合物(其被浸渍)并吸收水分(例如伤口渗出物)。

[0121] 在一些实施方案中,氨酯泡沫中的平均(例如平均)孔径直径为10μm至1000μm,例如10μm至900μm、10μm至800μm、10μm至700μm、10μm至600μm、10μm至500μm、10μm至400μm、10μm至300μm、10μm至200μm或10μm至100μm。在一些实施方案中,聚氨酯泡沫的平均(例如平均)孔径直径为20μm至1000μm,例如20μm至900μm、20μm至800μm、20μm至700μm、20μm至600μm、20μm至500μm、20μm至400μm、20μm至300μm、20μm至200μm或20μm至100μm。在一些实施方案中,聚氨酯泡沫的平均(例如平均)孔径为100μm至1000μm,例如100μm至900μm、100μm至800μm、100μm至700μm、100μm至600μm、100μm至500μm、100μm至400μm、100μm至300μm或100μm至200μm。在一些实施方案中,聚氨酯泡沫表面处的孔的平均孔径直径小于内部聚氨酯泡沫中的平均孔径直径。平均(例如中位数)孔径直径可以通过任何合适的方式评估并且技术人员熟悉合适的方法,例如场发射扫描电子显微镜。

[0122] 在一些实施方案中,聚氨酯泡沫具有均匀的(或相对均匀的)孔径。在其他实施方案中,聚氨酯泡沫具有大小不均匀的孔。孔的形态可以是同质的(或基本上同质的)或者可以是非同质的。

[0123] 在一些实施方案中,聚氨酯泡沫的密度为0.05g/cm^{3}至0.5g/cm^3,0.05g/cm^{3}至

0.4g/cm^3、0.05g/cm^{3}至0.3g/cm^3、0.05g/cm^{3}至0.2g/cm^{3}或0.05g/cm^{3}至0.1g/cm^3。在一些实施方案中,聚氨酯泡沫的密度为0.1g/cm^{3}至0.5g/cm^3、0.1g/cm^{3}至0.4g/cm^3,0.1g/cm^{3}至0.3g/cm^{3}或0.1g/cm^{3}至0.2g/cm^3。

[0124] 在一些实施方案中,聚氨酯泡沫的厚度为1mm至20mm、1mm至10mm、1mm至5mm、1mm至4mm、1mm至3mm、1mm至2mm。在一些实施方案中,聚氨酯泡沫的厚度为2mm至20mm、2mm至10mm、2mm至5mm、2mm至4mm或2mm至3mm。在一些实施方案中,聚氨酯泡沫的厚度为3mm至20mm、3mm至10mm、3mm至5mm或3mm至4mm。在一些实施方案中,聚氨酯泡沫的厚度为4mm至20mm、4mm至10mm或4mm至5mm。在一些实施方案中,聚氨酯泡沫的厚度为5mm至20mm或5mm至10mm。泡沫的厚度可以通过任何合适的方式来评估并且技术人员熟悉合适的方法,例如,通过使用千分尺。

[0125] 在一些实施方案中,聚氨酯泡沫的水分透过率(MVTR)为100至3000g/m^2/天、100至2000g/m^2/天、100至1000g/m^2/天或100至500g/m^2/天。天。在一些实施方案中,聚氨酯泡沫具有500至3000g/m^2/天或500至2000g/m^2/天或500至1000g/m^2/天的水分透过率(MVTR)。MVTR是一种众所周知的水蒸气通过物质或材料的测量方法。MVTR可以通过任何合适的方式来评估,并且技术人员熟悉合适的方法,例如通过使用恒温恒湿器。

[0126] 在一些实施方案中,聚氨酯泡沫具有0.05g/cm^{2}至5g/cm^2、0.05g/cm^{2}至2g/cm^2、0.05g/cm^{2}至1g/cm^{2}的吸收能力(液体或水分吸收能力,例如吸水能力)。在一些实施方案中,聚氨酯泡沫具有0.5g/cm^{2}至5g/cm^2、0.5g/cm^{2}至2g/cm^2、0.5g/cm^{2}至1g/cm^{2}的吸收能力。在一些实施方案中,聚氨酯泡沫具有1g/cm^{2}至5g/cm^{2}或1g/cm^{2}至2g/cm^{2}的吸收能力。吸收能力可以通过任何合适的方式来评估,并且技术人员熟悉合适的方法,例如通过称重聚氨酯泡沫样品并记录其重量(W1),然后将所述聚氨酯泡沫样品浸入过量的去离子水中(例如在37℃下30分钟),然后重新称重所述聚氨酯泡沫样品并记录其重量(W2),其中吸收能力(g/cm^2)=(W2-W1)g/聚氨酯泡沫初始面积(cm^2)。

[0127] 如上所述,本领域技术人员熟悉聚氨酯泡沫,包括适合用于医疗用途的抗微生物制品(例如聚氨酯泡沫敷料)的聚氨酯泡沫,因此熟悉用于生产根据本发明使用的聚氨酯泡沫的方法。

[0128] 在聚氨酯泡沫的生产中,通常使用发泡剂。发泡剂是能够通过发泡过程在生产过程中经历一定程度的硬化或相变的材料(如聚合物和塑料)中产生(或引入)多孔结构的物质。发泡剂(有时也称为“致气剂”)产生孔(或洞),因此可以促进具有多孔结构的聚氨酯(聚氨酯泡沫)的生产。举例而言,聚氨酯泡沫可以通过在聚氨酯生产过程中添加水(以及任选过量的异氰酸酯)来生产,其中水与异氰酸酯基团反应,释放出充当发泡剂的二氧化碳,以产生泡沫结构。这种发泡反应可以由胺例如叔胺催化。可以使用表面活性剂(例如硅树脂表面活性剂)来稳定聚氨酯发泡过程中的泡沫单元。用于生产聚氨酯泡沫的其他方法也是已知的并且技术人员熟悉这些方法,并且根据本发明可以使用通过任何合适的方式生产的泡沫。

[0129] 尽管在一些实施方案中,聚氨酯(PU)泡沫代表PU的一种优选形式,但在其他实施方案中,聚氨酯不是聚氨酯泡沫(即,它是非发泡聚氨酯)。当抗微生物制品是伤口敷料时,PU泡沫可能是优选的。

[0130] 因此,在一些实施方案中,聚氨酯是聚氨酯泡沫。

[0131] 在其他实施方案中,聚氨酯不是泡沫(即不是泡沫的形式)。例如与PU泡沫相比,非泡沫PU可被认为是固体或相对固体。尽管非泡沫聚氨酯可能被认为是固体(或相对固体),但它们仍然可能是柔性的。因此,在一些实施方案中,PU是固体但柔性的。

[0132] 在一些实施方案中,聚氨酯为聚氨酯片材、层、贴片或垫(或类似物)的形式。因此,在一些实施方案中,抗微生物制品包含聚氨酯的片材、层、贴片或垫,所述片材、层、贴片或垫浸渍有式(I)化合物。

[0133] 用式(I)化合物浸渍聚氨酯(例如PU泡沫或非泡沫PU)可以通过任何合适的方式实现。

[0134] 例如,聚氨酯的浸渍可以通过将式(I)化合物的溶液施加至聚氨酯(或者用式(I)化合物的溶液温育或浸泡聚氨酯),然后使聚氨酯干燥来进行。在施加式(I)化合物的溶液之后,(当它吸收溶液时)聚氨酯可以溶胀(或者至少聚氨酯的外层/表面层可以溶胀)。施加后(如果发生溶胀则溶胀),让聚氨酯干燥。可以使用用于式(I)化合物的溶液的任何合适的溶剂。在一些实施方案中,溶液是式(I)化合物的水溶液。例如,式(I)化合物的溶液的溶剂可以是水(例如蒸馏水)。在其他实施方案中,溶剂可以是或可以包含有机溶剂,例如可包含乙醇和/或氯仿或可包含极性非质子溶剂(例如如本文其他地方所述)。在一些实施方案中,溶剂是乙醇/氯仿混合物(例如2:1乙醇:氯仿混合物)。在一些实施方案中,溶剂是极性非质子溶剂(或极性非质子有机溶剂)。有机溶剂(例如氯仿:乙醇溶剂或极性非质子溶剂,如本文其他地方所述)对于非泡沫PU材料可能特别有用。

[0135] 当然,通常可以将式(I)化合物的溶液施加于聚氨酯(或与聚氨酯一起温育),使得治疗有效(抗微生物有效)量的化合物浸渍到聚氨酯中。在一些情况下,可以将式(I)化合物的溶液施加于聚氨酯,使得每cm^2聚氨酯存在至少0.1mg、至少0.5mg、至少1mg、至少2mg、至少5mg、至少10mg或至少20mg浸渍(或施加)的化合物。在一些情况下,可以将式(I)化合物的溶液施加于聚氨酯,使得存在0.1mg-20mg、0.5mg-20mg、1mg-20mg、2mg-20mg、5mg-20mg、10mg-20mg、0.1mg-10mg、0.5mg-10mg、1mg-10mg、2mg-10mg、5mg-10mg、0.1mg-5mg、0.5mg-5mg、1mg-5mg、2mg-5mg、0.1mg-5mg、0.5mg-5mg、1mg-5mg、2mg-5mg、0.1mg-2mg、0.5mg-2mg、1mg-2mg、0.1mg-1mg或0.5mg-1mg化合物浸渍(或施加)到聚氨酯中。在一些情况下,可以将式(I)化合物的溶液施加至聚氨酯,使得每cm^2聚氨酯浸渍(或施加)0.5mg的化合物。

[0136] 在一些情况下,可以将式(I)化合物的溶液施加于聚氨酯,使得每cm^2聚氨酯存在至少0.05mg、至少0.1mg、至少0.5mg、至少1mg、至少2mg、至少5mg、至少10mg、至少20mg、至少40mg、至少50mg、至少100mg或至少200mg浸渍(或施加)的化合物。在一些情况下,可以将式(I)化合物的溶液施加于聚氨酯,使得每cm^2聚氨酯存在0.05-200mg、0.1mg-200mg、0.5mg-200mg、1mg-200mg、2mg-200mg、5mg-200mg、10mg-200mg、20mg-200mg、40mg-200mg、50mg-200mg、100mg-200mg、0.05-50mg、0.1mg-50mg、0.5mg-50mg、1mg-50mg、2mg-50mg、5mg-50mg、10mg-50mg、20mg-50mg、0.05-10mg、0.1mg-10mg、0.5mg-10mg、1mg-10mg、2mg-10mg或5mg-10mg浸渍(或施加)的化合物。在一些情况下,可以将式(I)化合物的溶液施加于聚氨酯,使得每cm^2聚氨酯存在0.5-10mg、0.5-5mg、0.5-2mg、0.5-1mg、1-10mg、1-5mg或1mg-2mg浸渍(或施加)的化合物。

[0137] 在一些实施方案中,根据本发明的聚氨酯用上述量(或浓度)的化合物之一浸渍(或负载或施加)。

[0138] 在一些实施方案中,施加到聚氨酯的式(I)化合物(其可以方便地称为溶胀剂,因为PU可以如本文其他地方所述溶胀)的溶液中式(I)化合物的浓度为具有0.01%-10%、0.05%-10%、0.1%-10%、0.2%-10%、0.25%-10%、0.5%-10%、1%-10%、2%-10%or5%-10%、0.01%-5%、0.05%-5%、0.1%-5%、0.2%-5%、0.25%-5%、0.5%-5%、1%-5%、2%-5%、0.01%-3%、0.05%-3%、0.1%-3%、0.2%-3%、0.25%-3%、0.5%-3%、1%-3%、2%-3%(例如重量/体积%)。在一些实施方案中,式(I)化合物(溶胀剂)的溶液中式(I)化合物的浓度为至多0.5%、至多1%、至多2%、至多3%、至多5%或至多10%(例如重量/体积%)。在一些实施方案中,式(I)化合物(溶胀剂)的溶液中式(I)化合物的浓度为至少0.01%、至少0.05%、至少0.1%、至少0.2%、至少0.25%、至少0.5%、至少1%、至少2%、至少3%或至少5%(例如重量/体积%)。在一些实施方案中,式(I)化合物(溶胀剂)的溶液中式(I)化合物的浓度为约1%、约2%、约3%、约4%、约5%或约10%(例如重量/体积%)。举例来说,式(I)化合物(溶胀剂)的溶液可具有2.8%(w/v)的式(I)化合物浓度。

[0139] 在一些实施方案中,用式(I)化合物浸渍PU泡沫可以通过将式(I)化合物的溶液(例如水溶液,例如溶剂可以是水)施加于PU泡沫(或用此类溶液温育或浸泡聚氨酯泡沫),然后让聚氨酯干燥。本文其他地方讨论的浸渍方法的优选特征可应用于PU泡沫。

[0140] 在一些实施方案中,用式(I)化合物浸渍非泡沫形式的PU(即,不是PU泡沫的PU)可通过施加式(I)化合物的溶液(通常其中溶剂是有机溶剂(或多于一种有机溶剂)的溶液,例如如本文其他地方所述)至PU(或用这样的溶液温育或浸泡PU),然后让聚氨酯干燥来进行。在此类实施方案中,PU通常在施加溶液(或用其温育)时溶胀。如本文其他地方所述,可以基于期望的待浸渍的PU的性质(例如厚度)和/或PU的浸渍深度来选择施加(或温育)的时间长度或溶胀时间。本文其他地方讨论的浸渍方法的优选特征可以应用于非泡沫形式的PU。

[0141] 用式(I)化合物浸渍聚氨酯的另一种方法是静电纺丝。静电纺丝是一种众所周知的电压驱动过程,受电流体动力学现象控制,在其中可以由聚合物溶液制成纤维(例如纳米纤维)。为了通过静电纺丝方法获得根据本发明的浸渍聚氨酯,将包含聚氨酯和式(I)化合物的溶液(或“纺丝溶液”)静电纺丝成用所述化合物浸渍的聚氨酯纤维。当通过静电纺丝挤出聚氨酯纤维时,式(I)化合物与聚氨酯纤维缔合并因此浸渍到产生的静电纺丝聚氨酯纤维(或纤维产品、或PU纤维网、或PU纤维网络、或PU纤维垫)中。静电纺丝是本领域众所周知的,并且技术人员将熟悉合适的静电纺丝材料和方法。

[0142] 在一些实施方案中,根据本发明的聚氨酯是聚氨酯纤维网(或PU纤维产品、或PU纤维片材、或PU纤维网络、或PU纤维垫等)。在一些这样的实施方案中,聚氨酯纤维(或PU纤维的网或垫等)通过静电纺丝产生。在一些实施方案中,用式(I)化合物浸渍的聚氨酯通过静电纺丝方法产生(例如,如本文其他地方所讨论的)。

[0143] 用式(I)化合物浸渍聚氨酯的另一种方法是在聚氨酯聚合物的生产过程中将所述化合物包含在反应混合物中,即将所述化合物与彼此反应形成聚氨酯的醇和异氰酸酯一起包含在反应混合物中。为了避免疑问,这不会导致式(I)化合物共价附接至所产生的聚氨酯聚合物。相反,式(I)化合物与所产生的聚氨酯缔合并因此在聚氨酯生产时浸渍到聚氨酯中。在一些情况下,如果式(I)化合物在聚氨酯聚合物的生产过程中包含在反应混合物中,则该化合物可以以封装形式(例如纳米封装形式或微封装形式)包含。

[0144] 获得用式(I)化合物浸渍的聚氨酯的另一种方法是提供组合物(液体组合物或溶

液或制剂),其包含至少一种有机溶剂(例如至少一种极性非质子溶剂)、热塑性聚氨酯(TPU)和式(I)化合物,其中TPU和式(I)化合物溶解在所述至少一种有机溶剂中。此类组合物可以方便地称为涂层组合物或涂漆组合物。这种组合物可用于涂覆(或涂漆)制品(或制品的一部分),并且当溶剂随后从组合物蒸发时(在制品或其部分已经用溶液涂漆/涂覆之后),制品具有(即留下)包含用式(I)化合物浸渍的聚氨酯的涂层(或层或表面层或涂漆)。本文其他地方讨论的浸渍方法的优选特征可以酌情应用于本发明的涉及涂漆(或涂层)组合物、涂漆(或涂覆)方法或已经用涂漆(或涂层)组合物涂漆(或涂覆)的制品的方面或实施方案。与涂漆(或涂层)组合物、涂漆(或涂覆)方法以及已用涂漆(或涂层)组合物涂漆(或涂覆)的制品相关的优选特征在本文其他地方结合本发明的其他方面进行讨论。根据本发明的涂漆/涂覆方法可能是特别有利的,因为简单地通过用涂漆/涂层组合物"涂漆"它们,可以容易地为多种制品(或其部件)提供本发明的抗微生物涂层(或层)。

[0145] 抗微生物制品可以是可能容易受到微生物(通常是细菌)污染的任何制品。

[0146] 通常,抗微生物制品是医疗设备。因此,在一些实施方案中,抗微生物制品是适合用于预防或治疗医疗环境中的感染(优选细菌感染)的制品。

[0147] 在优选实施方案中,抗微生物制品是敷料。

[0148] 在优选实施方案中,抗微生物制品是伤口敷料、手术垫、抗疤痕敷料等。

[0149] 在特别优选的实施方案中,抗微生物制品是伤口敷料。

[0150] 在一些实施方案中,伤口敷料由浸渍有式(I)化合物的聚氨酯片材(或层或贴片或垫)组成。

[0151] 在一些实施方案中,伤口敷料可包含一种或更多种附加组分。

[0152] 在一些实施方案中,用式(I)化合物浸渍的聚氨酯片材(或层或贴片或垫等)可以与其他伤口敷料组分(例如纱布、绷带、二次敷料等)组合使用。例如,在一些实施方案中,伤口敷料可以包含用式(I)化合物浸渍的聚氨酯片材(或层或贴片或垫等)和一个或更多个附加的伤口敷料组件,例如附加的吸收层和/或第二层(或外层或覆盖层或背衬层),其例如可用于将伤口敷料固定至皮肤。例如,用式(I)化合物浸渍的聚氨酯贴片可设有粘合剂背衬层以将聚氨酯贴片固定至皮肤。

[0153] 因此,在一些实施方案中,伤口敷料可以是多组分伤口敷料(或多层)伤口敷料,其中用式(I的化合物)浸渍的聚氨酯片材(或层或贴片或垫等)是一个组件(或一层)。

[0154] 在一些实施方案中,伤口敷料由用式(I)化合物浸渍的聚氨酯(例如PU泡沫)片材(或层或贴片或垫等)组成。

[0155] 在一些实施方案中,伤口敷料由包含用式(I)化合物浸渍的聚氨酯(例如PU泡沫)片材(层或贴片或垫等)组成。

[0156] 伤口可以是部分层伤口或全层伤口。伤口可能是皮肤撕裂、擦伤、割伤(砍伤)或烧伤(例如一级或二级烧伤)。伤口可以是切割(incisional)伤口。伤口可以是切除(excisional)伤口。伤口可以是手术伤口。

[0157] 伤口可以是急性的或慢性的。急性伤口是指有序地经历愈合过程的三个公认阶段(即炎症阶段、增殖阶段和重建阶段)的伤口,且时间进程不长。然而,慢性伤口是那些由于伤口在愈合阶段之一停滞而未完成生化事件的有序顺序的伤口。替代地,慢性伤口是在至少40天、优选至少50天、更优选至少60天、最优选至少70天内未愈合的伤口。在一些实施方

案中,慢性伤口是优选的。

[0158] 在一些实施方案中,伤口是渗出伤口(即产生伤口渗出物或伤口流体的伤口)。

[0159] 待治疗的伤口可以是组织的破裂或剥脱,例如由手术切口或创伤(例如机械、热、电、化学或辐射创伤)引起的;自发形成的病变,如皮肤溃疡(例如静脉性溃疡、糖尿病性溃疡或压疮);水泡(例如摩擦或热水泡或由水痘等病原体感染引起的水泡);肛裂或口腔溃疡。

[0160] 在其他实施方案中,抗微生物制品不是敷料。抗微生物制品可以是另一种类型的医疗设备。例如,医疗设备包括手术紧固件、导管(例如导尿管或中心静脉导管)、管线等以及植入物或假体(包括骨科(或关节)植入物,如髋部和膝部植入物,以及牙科植入物)、销钉、支架、心律装置、深部脑刺激装置和宫内节育器。在一些实施方案中,“内置”医疗设备是优选的。一种特别优选类型的医疗设备是导管(例如导尿管)。

[0161] 另一方面,本发明提供了用式(I)化合物浸渍的聚氨酯(例如聚氨酯泡沫,或非泡沫形式的聚氨酯(其可以被认为是固体PU),或聚氨酯(例如TPU)涂层)。本文描述的发明的其他方面的实施方案经必要修改后适用于本发明的该方面。

[0162] 另一方面,本发明提供了一种产生用式(I)化合物浸渍的聚氨酯的方法,所述方法包括(i)将式(I)化合物的溶液施加至聚氨酯(或者将聚氨酯与式(I)的溶液一起温育)和(ii)干燥已被施加所述溶液的聚氨酯,从而产生用式(I)化合物浸渍的聚氨酯。步骤(i)的施加可能导致聚氨酯溶胀。因此,步骤(ii)的干燥可以是在步骤(i)中施加(或温育)溶液之后获得的溶胀的聚氨酯的干燥。干燥可以在环境温度下进行(即被动干燥)或者可替代地可以进行主动干燥步骤。在一些实施方案中,干燥可以在约20℃下进行(例如约12小时)。本文描述的发明的其他方面的实施方案经必要修改后适用于本发明的该方面。例如,式(I)化合物的优选化合物和溶液中式(I)化合物的优选量或浓度在本文其他地方描述。用于式(I)化合物溶液的合适溶剂(例如水或乙醇:氯仿或其他有机溶剂)也在本文其他地方描述。

[0163] 在产生用式(I)化合物浸渍的聚氨酯的方法的一些实施方案中,该方法包括将式(I)化合物的溶液(可使聚氨酯溶胀)施加至聚氨酯(或将聚氨酯与式(I)的溶液一起温育),可以将溶液施加于聚氨酯1分钟至24小时、1分钟至12小时、1分钟至10小时、1分钟至5小时、1分钟至2小时、1分钟至1小时、1分钟至30分钟、1分钟至10分钟或1分钟至5分钟。在一些实施方案中,可以将溶液施加于聚氨酯3分钟至24小时、3分钟至12小时、3分钟至10小时、3分钟至5小时、3分钟至2小时、3分钟至1小时、3分钟至30分钟、3分钟至10分钟或3分钟至5分钟。

[0164] 在一些实施方案中,可以将溶液施加至聚氨酯(或与式(I)的溶液一起温育)至多3分钟、至多5分钟、至多10分钟、至多30分钟、至多1小时、至多5小时、至多10小时、至多12小时或至多24小时。在一些实施方案中,可以将溶液施加于聚氨酯至少3分钟、至少5分钟、至少10分钟、至少30分钟、至少1小时、至少5小时、至少10小时或至少12小时。在一些实施方案中,可以将溶液施加至聚氨酯约3分钟或约10小时。

[0165] 在产生用式(I)化合物浸渍的聚氨酯的方法的一些实施方案中,该方法包括将式(I)化合物的溶液施加于聚氨酯(或者如果是式(I)则与溶液一起温育)以使聚氨酯溶胀,可以将溶液施加于聚氨酯一段时间(或溶胀时间),使得实现至少5%、至少10%、至少15%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%或至少

95％的吸收(即聚氨酯的溶胀)。在一些实施方案中,可以将溶液施加于聚氨酯一段时间,使得实现至多5％、至多10％、至多15％、至多20％、至多30％、至多40％、至多50％、至多60％、至多70％、至多80％、至多90％、至多95％或至多100％的吸收(即聚氨酯的溶胀)。在一些实施方案中,可以将溶液施加于聚氨酯一段时间,使得实现5％至100％之间、10％至100％之间、20％至100％之间、30％至100％之间、40％至100％之间、50％至100％之间、60％至100％之间、70％至100％之间、80％至100％之间、90％至100％之间、5％至50％、10％至50％之间、20％至50％之间、30％至50％之间、40％至50％之间、5％至20％之间、10％至20％之间、或15％和20％之间的吸收(即聚氨酯的溶胀)。“％吸收”是与施加式(I)化合物的溶液之前(即溶胀前)的聚氨酯重量相比,在施加式(I)化合物的溶液之后(即溶胀后)的聚氨酯重量增加％。任选地,在施加后(溶胀后)称重之前,可以将聚氨酯表面上的残留溶液表面干燥(例如用纤维素擦拭物)。

[0166] 施加的时间长度(溶胀时间)可以基于待浸渍的聚氨酯的性质(例如厚度)和/或聚氨酯所需的浸渍深度来选择。

[0167] 在一些实施方案中,本发明提供了一种产生用式(I)化合物浸渍的聚氨酯泡沫的方法,所述方法包括(i)将式(I)化合物的溶液施加到聚氨酯泡沫(或者将聚氨酯泡沫与式(I)的溶液一起温育)和(ii)将已被施加所述溶液的聚氨酯泡沫干燥,从而产生用式(I)化合物浸渍的聚氨酯泡沫。在一些这样的实施方案中,溶液可以是水溶液(例如,溶剂可以是水),但在其他实施方案中,溶剂可以是有机溶剂。本文其他地方讨论的浸渍方法的优选特征可应用于产生浸渍PU泡沫的方法。

[0168] 浸渍PU泡沫的方法通常产生浸渍的PU泡沫,其中式(I)化合物均匀地或一致地(或基本上均匀地或基本上一致地)浸渍(或分散)在整个PU泡沫(即整个PU泡沫基材)中。

[0169] 一方面,本发明提供了用式(I)化合物浸渍的PU泡沫,其中所述式(I)化合物均匀地或一致地(或基本上均匀地或基本上一致地)浸渍(或分散)在整个PU泡沫(即整个PU泡沫基材)中。

[0170] 一方面,本发明提供了一种用式(I)化合物浸渍的PU泡沫,其通过根据本发明的产生浸渍聚氨酯泡沫的方法来产生。

[0171] 在一些实施方案中,本发明提供了抗微生物制品(例如伤口敷料),其包含通过根据本发明的产生浸渍聚氨酯泡沫的方法来产生的用式(I)化合物浸渍的PU泡沫。

[0172] 在一些实施方案中,本发明提供了产生用式(I)化合物浸渍的非泡沫形式的聚氨酯(即,不是PU泡沫的PU)的方法,所述方法包括(i)将式(I)化合物的溶液(通常其中溶剂是有机溶剂(或多于一种有机溶剂)的溶液,例如如本文其他地方所述)施加至PU(或用这样的溶液温育或浸泡PU),和(ii)干燥已被施加所述溶液的PU,从而产生用式(I)化合物浸渍的聚氨酯。在此类实施方案中,PU(或至少PU的外层/表面层)通常在施加溶液(或与其一起温育)时溶胀。如本文其他地方所述,可以基于待浸渍的PU的性质(例如厚度)和/或期望的PU浸渍深度来选择施加(或温育)的时间长度或溶胀时间。本文其他地方讨论的浸渍方法的优选特征可应用于产生非泡沫形式的浸渍PU的方法。例如,干燥可以在环境温度下进行(即被动干燥)或者可替代地可以进行主动干燥步骤。

[0173] 任何合适的溶剂(或溶剂的组合)可以用作式(I)化合物的溶液中的溶剂,以实现非泡沫形式(或至少PU外层/面层)的PU的溶胀,从而将化合物浸渍到PU中。技术人员可以选

择合适的溶剂。通常,溶剂是有机溶剂,例如可以使用醇(例如乙醇)和/或氯仿(例如可以使用醇和氯仿的混合物,例如乙醇和氯仿的混合物)。替代地,可以使用极性非质子溶剂,例如如本文其他地方所述。

[0174] 浸渍非泡沫形式的PU的方法通常产生浸渍的PU,其中式(I)化合物没有均匀地浸渍或分散在整个PU中(即没有均匀地浸渍或分散在整个PU基材中)。

[0175] 不希望受理论束缚,当浸渍非泡沫形式的PU(例如固体聚氨酯或非泡沫聚氨酯)时,在溶胀过程期间,可能存在浓度梯度,其中聚氨酯的外层(即位于或最接近PU基材表面的聚氨酯)是饱和的,而内层(距表面最远的)仅部分饱和(或不饱和)。通过在整个聚氨酯样品/制品达到完全饱和(或浸渍)之前停止溶胀过程,可以获得其中表面/外层含有期望浓度的化合物的聚氨酯样品/制品。因此,聚氨酯的内层(即距离表面更远/最远的聚氨酯)可以含有比表面/外层更少的化合物(或者不含有肽)。换言之,同样不受理论的束缚,通过控制溶胀时间,可以控制溶胀剂(以及因此化合物)渗透聚氨酯的程度(或深度)。因此,如果需要,通过控制溶胀时间,可以控制聚氨酯的浸渍以实现聚氨酯的仅表面/外层的浸渍。然后,浸渍部分(或层)的厚度可以确定化合物的浸出率和化合物的至耗尽时间。

[0176] 因此,在一些实施方案中,浸渍非泡沫形式的PU的方法产生仅在PU的外层(或PU或PU基材的表层)处用式(I)化合物浸渍并且未在PU的内层处浸渍(或浸渍程度较低)的PU。因此,在一些实施方案中,浸渍非泡沫形式的PU的方法可以产生用式(I)化合物浸渍的PU,其中PU中存在化合物的浓度梯度,发现与PU的内层相比,PU的外层中发现了更高的浓度。

[0177] 因此,在一些实施方案中,浸渍非泡沫形式的PU的方法产生PU,其中将根据式(I)化合物浸渍到所述PU中,PU(PU基材)的总深度的仅一部分中(或之上)被浸渍。换言之,在一些实施方案中,浸渍非泡沫形式的PU的方法产生PU,其中将根据式(I)化合物浸渍到所述PU中,从PU(PU基材)表面起的总深度的仅一部分中(或之上)被浸渍。

[0178] 在一些实施方案中,用式(I)化合物浸渍的基底总深度(或从PU表面起的总深度)的部分是PU总深度的≤90%、≤80%、≤70%、≤60%、≤50%、≤40%、≤30%、≤20%、≤10%、≤5%或≤2%。优选地,PU总深度的至少1%、至少2%、至少5%、至少10%、至少20%、至少30%、至少40%或至少50%(或从PU基材表面起的总深度)用式(I)化合物浸渍。在一些实施方案中,PU总深度(或从PU基材表面起的总深度)的1%至90%被式(I)化合物浸渍,优选1%至90%、2%至90%、5%至90%、10%至90%、20%至90%、30%至90%、40%至90%、50%至90%、1%至50%、2%至50%、5%至50%、10%至50%、20%至50%、30%至50%、40%至50%、1%至20%、2%至20%、5%至20%、10%至20%、1%至10%、2%至10%、5%至10%、1%至5%或2%至5%。

[0179] 在一些实施方案中,根据待浸渍的PU的性质(例如厚度)和/或期望的PU浸渍深度来选择溶胀时间。在一些此类实施方案中,(i)当待浸渍的PU较薄(或相对较薄)并且/或者不希望浸渍PU的内(或更深)层时,可使用短(或更短)溶胀时间,或(ii)当PU较厚(或相对较厚)并且/或者希望浸渍PU的内(或更深)层时,可以使用长(或更长)溶胀时间。技术人员可以根据浸渍的PU的所需特性来确定合适的溶胀时间。

[0180] 一方面,并且在一些实施方案中,本发明提供了不呈用式(I)化合物浸渍的泡沫形式的PU,其通过根据本发明的产生浸渍非泡沫形式的聚氨酯的方法来产生。

[0181] 一方面,并且在一些实施方案中,本发明提供了用式(I)化合物浸渍的非泡沫形式

的PU,其中所述PU用所述式(I)化合物不一致地或非均匀地浸渍。换言之,在一些方面和实施方案中,本发明提供了用式(I)化合物浸渍的非泡沫形式的PU,其中所述化合物没有均匀地分散在整个PU(或PU基材)中。一方面,本发明提供了用式(I)化合物浸渍的非泡沫形式的PU,其中PU(或PU基材)中的化合物存在浓度梯度,与PU的内(或更深)层相比,PU的外层中存在更高的浓度。

[0182] 一方面,并且在一些实施方案中,本发明提供了用式(I)化合物浸渍的非泡沫形式的PU,其中所述化合物仅在PU(PU基材)的总深度的一部分(或从表面起的总深度的一部分)中(或上)浸渍在所述PU中。优选的深度在本文其他地方描述。

[0183] 在一些实施方案中,本发明提供了一种抗微生物制品(例如医疗设备),该包含不呈用式(I)化合物浸渍的泡沫形式的PU(或由其组成),该PU通过产生根据本发明的非泡沫形式的浸渍聚氨酯的方法来产生。

[0184] 在一些实施方案中,本发明提供了一种抗微生物制品(例如医疗设备),其包含用式(I)化合物浸渍的非泡沫形式的PU(或由其组成),其中所述PU是用所述式(I)化合物非一致或非均匀浸渍。在一些实施方案中,本发明提供了一种抗微生物制品(例如医疗设备),其包含用式(I)化合物浸渍的非泡沫形式的PU(或由其组成),其中所述化合物没有均匀地分散在整个PU(或PU基材)中。在一些实施方案中,本发明提供了一种抗微生物制品(例如医疗设备),其包含用式(I)化合物浸渍的非泡沫形式的PU(或由其组成),其中PU中存在化合物的梯度浓度,与PU内层相比,PU外层中的浓度更高。在一些实施方案中,本发明提供了一种抗微生物制品(例如医疗设备),其包含用式(I)化合物浸渍的非泡沫形式的PU(或由其组成),其中所述化合物浸渍在所述PU中,PU的总深度的仅一部分(从表面起的总深度的仅一部分)中(或上)被浸渍。

[0185] 如本文其他地方所讨论的,本发明人还提供了涂层组合物(或涂漆组合物),其为液体组合物,包含至少一种(例如1或2种)有机溶剂(例如至少一种极性非质子溶剂)、热塑性聚氨酯(TPU)和式(I)化合物,其中TPU和式(I)化合物溶解在所述至少一种有机溶剂中。这些组合物可用于“涂覆”或“涂漆”任何所需的制品或其部分(例如医疗设备),该制品本身可以或可以不是由聚氨酯制成(即,施加涂层组合物的制品的材料尽管可以是聚氨酯,但不一定是聚氨酯)。一旦溶剂蒸发,制品的表面就留下包含用式(I)化合物浸渍的热塑性聚氨酯(或由其组成)的涂层(或层或表面层或漆层)。

[0186] 因此,在一个方面,本发明提供了一种组合物(其可以方便地称为涂漆或涂层组合物、或制剂、或溶液),其包含至少一种有机溶剂、热塑性聚氨酯(TPU)和式(I)化合物,其中TPU和式(I)化合物(各自)溶解在所述至少一种有机溶剂中(或溶解在所述组合物中)。

[0187] 换言之,本发明提供了一种液体组合物,其包含至少一种有机溶剂、热塑性聚氨酯(TPU)和式(I)化合物。

[0188] 在一些实施方案中,有机溶剂是极性非质子溶剂。例如,极性非质子溶剂可以是四氢呋喃(THF)、二氯甲烷(DCM)、丙酮、乙酸乙酯、二甲亚砜(DMSO)、N-甲基吡咯烷酮(NMP)、二甲基甲酰胺或二甲基乙酰胺。在一些实施方案中,优选四氢呋喃(THF)、二氯甲烷(DCM)、丙酮或乙酸乙酯。优选THF和DCM。特别优选THF。在一些实施方案中,有机溶剂是醇(例如乙醇)和/或氯仿(例如可以使用醇和氯仿的混合物,例如乙醇和氯仿的混合物)。在一些实施方案中,有机溶剂不是二甲基甲酰胺。

[0189] 在一些实施方案中,组合物中仅存在一种溶剂。在组合物中仅存在一种溶剂的一些实施方案中,所述溶剂是THF。在其他实施方案中,存在多于一种不同的溶剂(例如可以存在两种不同的溶剂)。

[0190] 在组合物中存在多于一种不同溶剂(例如两种不同溶剂)的实施方案中,不同溶剂必须是可混溶的(相容的)。可以容易地选择可混溶溶剂的组合。

[0191] 在组合物中存在多于一种不同溶剂(例如两种不同溶剂)的实施方案中,溶剂的组合可优选为上述溶剂(或溶剂类型)的组合(或可混溶的组合)。

[0192] 在一些实施方案中,涂层组合物(或制剂)中仅存在一种类型的有机溶剂。在其他实施方案中,涂层组合物中可以存在多于一种不同的溶剂(例如两种不同的溶剂,例如两种不同的有机溶剂)。在制剂(或组合物)中存在多于一种(例如,2种)不同溶剂(例如,多于一种(例如,2种)不同有机溶剂)的实施方案中,不同溶剂(例如,不同有机溶剂)必须是可混溶的(即,相互混溶)。因此,在组合物中存在多于一种(例如,2种)不同溶剂(例如多于一种(例如,2种)不同有机溶剂)的一些实施方案中,TPU和式(I)化合物可溶于所述多于一种溶剂的混合物。可混溶的溶剂也可称为彼此"相容"。如从本文其他地方的讨论显而易见的,在一些情况下,可以存在多于一种不同的溶剂,因为TPU和式(I)化合物可以各自溶解在不同的溶剂中,然后混合在一起以产生本发明的涂层组合物。在其他情况下,TPU和式(I)化合物可以各自溶解在相同的溶剂中,然后混合在一起以产生本发明的涂层组合物。

[0193] 用于涂层组合物的TPU必须可溶于至少一种有机溶剂。优选的TPU在本文其他地方进行了描述,并且此类优选的TPU经过必要的修改可以应用于本发明涉及涂层组合物的方面和实施方案。例如,TPU可以是脂族TPU、芳族TPU、基于脂族聚醚的TPU、基于芳族聚醚的TPU或基于芳族聚己内酯共聚酯的TPU。优选地,TPU是基于聚合多元醇的TPU(例如,如本文其他地方所述)。优选地,TPU是医用级TPU。

[0194] 本发明涂层组合物中存在的式(I)化合物的量应足以在将涂层组合物施加于制品(或表面)且溶剂已蒸发时在浸渍PU涂层中提供抗微生物有效量(通常抗微生物有效量)的化合物。

[0195] 在一些实施方案中,本发明的涂层组合物(或溶液)中式(I)化合物的浓度或量(例如w/w)相对于TPU的浓度或量为至少0.01%、至少0.05%、至少0.1%、至少1%、至少5%、至少10%或至少20%。在一些实施方案中,本发明的涂层组合物中式(I)化合物的浓度或量(例如w/w)相对于TPU的浓度或量为至多1%、至多5%、至多10%、至多20%或至多50%。在一些实施方案中,本发明的涂层组合物中式(I)化合物的浓度或量(例如w/w)相对于TPU的浓度或量为0.01%-50%、0.05%-50%、0.1%-50%、1%-50%、2%-50%、5%-50%、10%-50%、20%-50%、0.01%-20%、0.05%-20%、0.1%-20%、1%-20%、2%-20%、5%-20%、0.01%-10%、0.05%-10%、0.1%-10%、1%-10%、2%-10%、0.01%-5%、0.05%-5%、0.1%-5%、1%-5%、2%-5%。在一个示例性实施方案中,本发明涂层组合物中式(I)化合物的浓度或量(例如w/w)相对于TPU的浓度或量为5%(或约5%)。

[0196] 在一些实施方案中,本发明的涂层组合物(或溶液)中式(I)化合物与TPU的比率(w/w)为至少1:10,000、至少1:2000、至少1:1000、至少1:100、至少1:20、至少1:10或至少1:5。在一些实施方案中,本发明的涂层组合物(或溶液)中式(I)化合物与TPU的比率(w/w)为至多1:100、至多1:20;至多1:10、至多1:5或至多1:2。在一些实施方案中,本发明的涂层组

合物(或溶液)中式(I)化合物与TPU的比率(w/w)为1:10,000-1:2、1:2,000-1:2、1:1,000-1:2、1:100-1:2、1:50-1:2、1:20-1:2、1:10-1:2、1:5-1:2、1:10,000-1:5、1:2,000-1:5、1:1,000-1:5、1:100-1:5、1:50-1:5、1:20-1:5、1:10,000-1:10、1:2,000-1:10、1:1,000-1:10、1:100-1:10、1:50-1:10、1:10,000-1:20、1:2,000-1:20、1:1,000-1:20、1:100-1:20或1:50-1:20。

[0197] 在一些实施方案中,本发明的涂层组合物(或溶液)中式(I)化合物的浓度(例如w/v)为至少0.25mg/ml、至少0.5mg/ml、至少1mg/ml、至少1.5mg/ml、至少2mg/ml、至少3mg/ml、至少4mg/ml、至少5mg/ml、至少10mg/ml或至少20mg/ml。在一些实施方案中,本发明的涂层组合物(或溶液)中式(I)化合物的浓度(例如w/v)为至少1mg/ml、至少1.5mg/ml或至少2mg/ml(例如约1mg/ml、约1.5mg/ml或约2mg/ml)。在一些实施方案中,本发明的涂层组合物(或溶液)中式(I)化合物的浓度(例如w/v)为0.25mg/ml至5mg/ml、0.25mg/ml至10mg/ml或0.25mg/ml至20mg/ml。在一些实施方案中,本发明的涂层组合物(或溶液)中式(I)化合物的浓度(例如w/v)为1mg/ml至5mg/ml、1mg/ml至10mg/ml或1mg/ml至20mg/ml。在一些实施方案中,本发明的涂层组合物(或溶液)中式(I)化合物的浓度(例如w/v)为1.5mg/ml至5mg/ml、1.5mg/ml至2mg/ml或1.5mg/ml至20mg/ml。在一些实施方案中,本发明的涂层组合物(或溶液)中式(I)化合物的浓度(例如w/v)为2mg/ml至5mg/ml、2mg/ml至10mg/ml或2mg/ml至20mg/ml。在一些实施方案中,本发明的涂层组合物(或溶液)中式(I)化合物的浓度(例如w/v)为至多5mg/ml、至多10mg/ml或至多20mg/ml。

[0198] 在一些实施方案中,根据本发明的组合物(涂漆或涂层组合物)还可包含一种或更多种释放增强剂。释放增强剂是可以增强(或改善或促进)式(I)化合物从(所得)聚氨酯涂层(或聚氨酯涂漆层)释放的药剂,所述聚氨酯涂层是通过用根据本发明的组合物涂漆表面(或设备)而产生的。释放增强剂包括但不限于聚乙二醇(例如PEG 400或PEG 1000)。

[0199] 另一方面,本发明提供了一种产生本发明的组合物(涂层组合物)的方法。

[0200] 一方面,本发明提供了一种产生组合物(涂层组合物或涂漆组合物或溶液)的方法,所述方法包括:

[0201] (i)将热塑性聚氨酯(TPU)溶解在有机溶剂中;

[0202] (ii)将式(I)化合物溶解于溶剂中;

[0203] (iii)将溶解在(i)中获得的有机溶剂中的TPU与溶解在(ii)中获得的溶剂中的式(I)化合物混合,

[0204] 从而产生根据本发明的组合物。本文描述的发明的其他方面的实施方案经必要修改后适用于本发明的该方面。

[0205] 能够溶解TPU的任何有机溶剂可以在步骤(i)中使用,并且能够溶解式(I)化合物的任何溶剂可以在步骤(ii)中使用。步骤(i)和步骤(ii)中使用的溶剂必须彼此混溶(或相容)。

[0206] 在一些实施方案中,步骤(i)中的有机溶剂是极性非质子溶剂,例如如本文其他地方结合本发明的其他方面所描述的。THF和DCM是优选的有机溶剂。特别优选THF。在一些实施方案中,步骤(i)中的有机溶剂是醇(例如乙醇)和/或氯仿(例如可以使用醇和氯仿的混合物,例如乙醇和氯仿的混合物)。

[0207] 在优选实施方案中,步骤(ii)中的溶剂是有机溶剂,优选极性非质子溶剂(例如

THF),如本文其他地方结合本发明的其他方面所描述的。在一些实施方案中,步骤(ii)中的溶剂是醇(例如乙醇)和/或氯仿(例如可以使用醇和氯仿的混合物,例如乙醇和氯仿的混合物)。在一些实施方案中,步骤(ii)中的溶剂是氯仿。

[0208] 在一些实施方案中,步骤(i)的溶剂(即用于溶解TPU的溶剂)不同于步骤(ii)的溶剂(即用于溶解式(I)化合物的溶剂)。

[0209] 在一些实施方案中,步骤(i)的有机溶剂(即用于溶解TPU的溶剂)与步骤(ii)的溶剂(即用于溶解式(I)化合物的溶剂)相同。在一些这样的实施方案中,步骤(i)和步骤(ii)中使用的溶剂是极性非质子溶剂,优选THF。

[0210] 溶解步骤(i)可以进行任何合适的时间长度以溶解TPU。例如,溶解步骤(i)可以进行至少1小时、至少2小时、至少5小时、至少12小时、至少24小时、至少48小时、至少72小时或至少92小时。如果给定的TPU在给定的时间内没有溶解,那么如果放置额外的时间,它仍然可能溶解。TPU的溶解可以通过任何适当的方式来评估(或按评估),包括例如通过目视检查。步骤(i)中获得的溶解的TPU可以是粘性的或者可以是自由流动的(或非粘性的)。

[0211] 溶解步骤(ii)可以进行任何合适的时间长度以溶解化合物。例如,溶解步骤(ii)可以进行至少1小时、至少2小时、至少5小时、至少12小时或至少24小时。如果式(I)化合物在给定的时间长度内没有溶解,则如果放置额外的时间,它仍然可以溶解。化合物的溶解可以通过任何适当的方式来评估(或按评估),包括例如通过目视检查。

[0212] 混合步骤(iii)可以通过任何合适的方式进行,例如通过机械搅拌或振荡。

[0213] 溶解步骤(i)和(ii)以及混合步骤(iii)可以在任何合适的温度,例如环境温度下进行。

[0214] 另一方面,本发明提供了一种产生本发明的涂层组合物(或溶液)的方法,所述方法包括(i)提供在有机溶剂中包含热塑性聚氨酯(TPU)的第一溶液;(ii)提供包含式(I)化合物的第二溶液,其中所述第二溶液与第一溶液混溶;和(iii)混合所述第一和第二溶液。本文描述的发明的其他方面的实施方案经必要修改后适用于本发明的该方面。

[0215] 另一方面,本发明提供了一种产生组合物(涂层组合物或涂漆组合物或溶液)的方法,所述方法包括将热塑性聚氨酯(TPU)和式(I)化合物溶解在有机溶剂中,并且任选地混合获得的溶液。本文描述的发明的其他方面的实施方案经必要修改后适用于本发明的该方面。

[0216] 另一方面,本发明提供了通过产生本发明的组合物的方法来产生的组合物。

[0217] 另一方面,本发明提供了本发明的涂层组合物用于涂覆制品(或制品的至少一部分)或表面例如易受微生物(例如细菌)污染或定植的物品或表面(例如医疗设备)的用途。

[0218] 另一方面,本发明还提供了用于可能易受微生物污染的制品(例如医疗设备)或表面的涂层(或干涂层或涂层材料或涂漆层),其中所述涂层包含用式(I)化合物浸渍的TPU。优选地,这样的涂层是通过将本发明的涂层组合物施加到制品或表面并从所施加的组合物中蒸发掉(或干燥掉)溶剂来产生或形成的,从而提供涂层(干涂层)。蒸发(或干燥)可以在环境温度下进行(即被动干燥),或者替代地可以进行主动蒸发(或干燥)步骤。蒸发可以进行持续(历经)任何合适的时间段(例如约2小时、5小时、12小时、1天、2天、3天、4天、5天、6天或7天)。本文描述的发明的其他方面的实施方案经必要修改后适用于本发明的该方面。

[0219] 在一些实施方案中,涂层(或涂漆层)总质量的至少0.01%、至少0.05%、至少

0.1%、至少1%、至少5%、至少10%或至少20%由式(I)化合物提供。在一些实施方案中,涂层(或涂漆层)的总质量的至多5%、至多10%、至多20%或至多50%由式(I)化合物提供。在一些实施方案中,涂层(或涂漆层)总质量的0.01%-50%、0.05%-50%、0.1%-50%、1%-50%、2%-50%、5%-50%、10%-50%、20%-50%、0.01%-20%、0.05%-20%、0.1%-20%、1%-20%、2%-20%、5%-20%、0.01%-10%、0.05%-10%、0.1%-10%、1%-10%、2%-10%、5%-10%、0.01%-5%、0.05%-5%、0.1%-5%、1%-5%、2%-5%由式(I)化合物提供。

[0220] 在一些实施方案中,涂层(或干涂层或涂漆层)具有至少1μm、至少5μm、至少10μm、至少20μm、至少50μm、至少100μm或至少500μm的厚度。在一些实施方案中,涂层(或干涂层或涂漆层)具有至多5μm、至多10μm、至多20μm、至多50μm、至多100μm、至多500μm或至多1000μm的厚度。在一些实施方案中,涂层(或干涂层或涂漆层)具有约1μm至约5μm、约1μm至约10μm、约1μm至约20μm、约1μm至约50μm、约1μm至约100μm、约1μm至约500μm或约1μm至约1000μm的厚度。在一些实施方案中,涂层(或干涂层或涂漆层)具有约5μm至约10μm、约5μm至约20μm、约5μm至约50μm、约5μm至约100μm、约5μm至约500μm或约5μm至约1000μm的厚度。在一些实施方案中,涂层(或干涂层或涂漆层)具有约10μm至约20μm、约10μm至约50μm、约10μm至约100μm、约10μm至约500μm或约10μm至约1000μm的厚度。在一些实施方案中,涂层(或干涂层或涂漆层)具有约20μm至约50μm、约20μm至约100μm、约20μm至约500μm或约20μm至约1000μm的厚度。厚度可以是平均(例如平均)厚度。在一些实施方案中,涂层可具有一致或基本上一致(或均匀或基本上均匀)的厚度。在其他实施方案中,涂层可以具有不一致(或不均匀)的厚度。

[0221] 一方面,本发明提供了一种产生用于可能易受微生物污染的制品或表面的涂层的方法,所述方法包括(i)将本发明的组合物(或涂层组合物或涂漆组合物)施加于所述制品或表面和(ii)将溶剂从所述施加的组合物中蒸发除掉(或干燥除掉)。本文描述的发明的其他方面的实施方案经必要修改后适用于本发明的该方面。

[0222] 另一方面,本发明提供了一种产生具有抗微生物涂层的制品(例如医疗设备)或表面的方法,所述抗微生物涂层包含用式(I)化合物浸渍的热塑性聚氨酯,所述方法包括(i)提供本发明的涂层组合物;和(ii)将所述组合物施加至制品或表面,或施加至制品或表面的至少一部分(例如通过将制品浸入所述组合物中,或将所述组合物涂漆(例如喷涂)到制品上)。当然,通常随后将涂层组合物中的溶剂蒸发(或干燥)除掉。本文描述的发明的其他方面的实施方案经必要修改后适用于本发明的该方面。

[0223] 医疗设备(如导管或本文描述的其他医疗设备)是特别优选的制品,其具有用式(I)化合物浸渍的热塑性聚氨酯的抗微生物涂层。

[0224] 本发明的另一方面是用如本文所定义的本发明的涂层组合物或如本文所定义的本发明的涂层(例如干涂层)涂覆(包括部分涂覆)的制品(通常是可能容易受到微生物污染的制品),优选医疗设备。本发明的另一方面是已用本文所定义的本发明的涂层组合物涂覆(包括部分涂覆)的制品,优选医疗设备。当然,通常涂层组合物中的溶剂被(已经被)蒸发(或干燥)除掉。本文描述的发明的其他方面的实施方案经必要修改后适用于本发明的该方面。

[0225] 在本发明的又一个方面中,提供了如本文所定义的本发明的涂层组合物,其已被

施加于制品,优选施加于医疗设备。

[0226] 另一方面,且在一些实施方案中,本发明提供了一种包含聚氨酯的抗微生物制品(例如医疗设备),其中所述聚氨酯用式(I)化合物浸渍,其中用式(I)化合物浸渍的聚氨酯是所述制品上的涂层(或表面层)的形式。优选地,所述涂层是(或已经)通过将本发明的涂层组合物(或涂漆组合物)施加于所述制品而形成(当然通常所述组合物中的溶剂已被蒸发掉)。本文描述的发明的其他方面的实施方案经必要修改后适用于本发明的该方面。

[0227] 另一方面,且在一些实施方案中,本发明提供了一种抗微生物制品(例如医疗设备),其涂覆有或至少部分涂覆有浸渍有式(I)化合物的热塑性聚氨酯层(或涂层)。本文描述的发明的其他方面的实施方案经必要修改后适用于本发明的该方面。

[0228] 在涉及涂覆(或涂覆的)制品(例如医疗设备)或表面的本发明的实施方案中,涂层组合物施加(或已经施加)至的制品或表面(即潜在的制品或表面)可以由任何材料(或任何能够被涂覆的材料)制成。尽管在一些情况下它可以是聚氨酯,但涂层组合物施加(或已经施加)至的制品或表面的材料不一定是聚氨酯。例如,在一些实施方案中,制品或表面可以由硅树脂制成,例如该制品可以是硅树脂医疗设备,如硅树脂导管(例如导尿管)。

[0229] 另一方面,本发明提供了一种用式(I)化合物浸渍的PU涂层,其中用所述化合物浸渍的所述PU涂层是通过根据本发明的产生PU涂层的方法产生的。

[0230] 在一些实施方案中,本发明提供了一种抗微生物制品或表面,其包含用式(I)化合物浸渍的PU涂层,其中用所述化合物浸渍的所述PU涂层是通过根据本发明的产生PU涂层的方法来产生。

[0231] 另一方面,本发明提供了一种产生用式(I)化合物浸渍的聚氨酯的方法,所述方法包括(i)提供包含聚氨酯和式(I)化合物的溶液(或"纺丝溶液"),和(ii)使所述溶液经历静电纺丝,从而产生(或挤出)用式(I)化合物浸渍的聚氨酯纤维。任选地,所述纤维可以形成为片材或网或垫(或类似物)。本文描述的发明的其他方面的实施方案经必要修改后适用于本发明的该方面。

[0232] 另一方面,本发明提供了一种产生用式(I)化合物浸渍的聚氨酯的方法,所述方法包括(i)提供反应混合物,所述反应混合物包含(a)每个醇分子具有两个或更多个反应性羟基基团(-OH)的醇(例如二醇、三醇或其他多元醇,例如本文其他地方所述的聚合多元醇;优选二醇(优选聚合二醇)),(b)每个异氰酸酯分子具有多于一个反应性异氰酸酯基团(-NCO)的异氰酸酯(例如二异氰酸酯或三异氰酸酯或多异氰酸酯;优选二异氰酸酯)和(c)式(I)化合物,和(ii)使所述反应混合物经历某条件,在该条件下(a)的所述醇和(b)的所述异氰酸酯彼此反应产生(或形成)聚氨酯,从而产生用式(I)化合物浸渍的聚氨酯。在一些这样的方法中,式(I)化合物可以是胶囊化的形式,如本文其他地方所述。

[0233] 在一些实施方案中,根据本发明的抗微生物制品由包含用式(I)化合物浸渍的聚氨酯(例如PU泡沫)的片材(或层或贴片或垫等)组成。在这种情况下,产生用式(I)化合物浸渍的聚氨酯的方法或者可以被认为是产生根据本发明的抗微生物制品的方法。

[0234] 在一些其他实施方案中,用式(I)化合物浸渍的聚氨酯(例如PU泡沫)存在于多组分(例如多层或更复杂)抗微生物制品中,例如它们可以代表更复杂的抗微生物制品的一层(或一部分)。因此,另一方面,本发明提供了一种产生本发明的抗微生物制品的方法,所述方法包括(i)提供用式(I)化合物浸渍的聚氨酯(例如PU泡沫)(例如如本文所述产生)和

(ii)将所述浸渍的聚氨酯并入(或组合)到多组分(例如多层)抗微生物制品中(例如,将其与额外的吸收层和/或外层(或覆盖层或次级层或背衬层,如粘合剂背衬层)组合)。本文描述的发明的其他方面的实施方案经必要修改后适用于本发明的该方面。

[0235] 另一方面提供了用式(I)化合物浸渍的聚氨酯(例如PU泡沫,或非泡沫形式的PU(固体PU或非发泡PU),或PU涂层如TPU涂层),或包含通过本发明的方法产生的这种浸渍的聚氨酯的抗微生物制品。本文描述的发明的其他方面的实施方案经必要修改后适用于本发明的该方面。

[0236] 另一方面(或换言之),本发明提供了一种聚氨酯基材,其包含如本文其他地方所定义的式(I)化合物。本文描述的发明的其他方面的实施方案经必要修改后适用于本发明的该方面。例如,所述基材可包含在抗微生物制品中(或提供为抗微生物制品上的涂层或层),如敷料或其他医疗设备,如本文其他地方所述。

[0237] 本发明的另一方面提供了用于疗法的本发明的抗微生物制品。

[0238] "疗法"包括治疗和预防,即它包括治疗和预防用途。

[0239] 在一些实施方案中,本发明提供了本发明的抗微生物制品,其用于治疗或预防受试者的感染。

[0240] 感染可以是易受感染(通常是细菌感染)的任何"生理"部位或表面的感染。

[0241] 在一些优选实施方案中,感染是伤口感染(例如本文其他地方描述的伤口感染)。通常,当感染是伤口感染时,抗微生物制品是敷料(例如伤口敷料)。

[0242] 在一些实施方案中,感染可以是医疗设备相关感染(例如"内置"医疗设备相关感染)。通常,当感染是与医疗设备相关的感染时,抗微生物制品是医疗设备。因此,在一些实施方案中,感染是在植入(或已经植入)医疗设备("内置"装置)的部位处的感染。此类装置包括例如宫内节育器、假体(例如假体关节)和导管(例如中心静脉或导尿管)。在一些实施方案中,感染是导管插入部位处的感染。

[0243] 优选地,感染是细菌感染,例如革兰氏阳性细菌(例如葡萄球菌属或链球菌属(Streptococcus)的细菌)的感染。在一些实施方案中,感染是金黄色葡萄球菌(Staphylococcus aureus)感染。在一些实施方案中,感染是表皮葡萄球菌(Staphylococcus epidermidis)感染。在一些实施方案中,感染是革兰氏阴性细菌(例如埃希氏菌属(Escherichia)细菌)的感染。在一些实施方案中,感染是大肠杆菌(Escherichia coli)感染。

[0244] 本发明的另一方面提供了用式(I)化合物浸渍的聚氨酯,其用于抑制细菌生长,例如在受试者的伤口中。本文描述的发明的其他方面的实施方案经必要修改后适用于本发明的该方面。

[0245] 本发明的另一方面提供了用式(I)化合物浸渍的聚氨酯,其用于疗法,优选用于治疗或预防受试者的感染。在一些实施方案中,所述用式(I)化合物浸渍的聚氨酯以抗微生物制品(例如伤口敷料或其他医疗设备)的形式施用于(或施加于)受试者。本文描述的发明的其他方面的实施方案经必要修改后适用于本发明的该方面。

[0246] 本发明的另一方面提供了用于疗法的式(I)化合物,优选用于治疗或预防受试者的感染,其中所述化合物以用所述化合物浸渍的聚氨酯的形式或以包含这种浸渍的聚氨酯的抗微生物制品(例如伤口敷料或其他医疗设备)的形式施用于(或施加于)受试者。本文描

述的发明的其他方面的实施方案经必要修改后适用于本发明的该方面。

[0247] 本发明的另一方面提供了用于疗法的式(I)化合物,优选用于治疗或预防受试者的感染,其中所述化合物以用所述化合物浸渍的聚氨酯涂层的形式或以包含这种浸渍的聚氨酯涂层的抗微生物制品(例如医疗设备)的形式施用于(或施加于)受试者。本文描述的发明的其他方面的实施方案经必要修改后适用于本发明的该方面。

[0248] 换言之,本发明提供了一种治疗或预防感染的方法,该方法包括向有需要的受试者(例如,向有需要的受试者的伤口)施加(或施用)根据本发明的抗微生物制品。本文描述的发明的其他方面的实施方案经必要修改后适用于本发明的该方面。

[0249] 换言之,本发明提供了一种治疗或预防感染的方法,该方法包括向有需要的受试者施加(或施用)治疗有效量的用式(I)化合物浸渍的聚氨酯。在一些实施方案中,所述用式(I)化合物浸渍的聚氨酯以抗微生物制品(例如伤口敷料或其他医疗设备)的形式施用于(或施加于)受试者。本文描述的发明的其他方面的实施方案经必要修改后适用于本发明的该方面。

[0250] 换言之,本发明提供了一种治疗或预防感染的方法,该方法包括向有需要的受试者施加(或施用)治疗有效量的式(I)化合物,其中将所述化合物以用所述化合物浸渍的聚氨酯的形式或以包含这种浸渍的聚氨酯的抗微生物制品(例如伤口敷料或其他医疗设备)的形式施用于(或施加于)受试者。本文描述的发明的其他方面的实施方案经必要修改后适用于本发明的该方面。

[0251] 换言之,本发明提供了一种治疗或预防感染的方法,该方法包括向有需要的受试者施加(或施用))治疗有效量的式(I)化合物,其中将所述化合物以用所述化合物浸渍的聚氨酯涂层的形式或以包含这种浸渍的聚氨酯涂层的抗微生物制品(例如医疗设备)的形式施用于(或施加于)受试者。本文描述的发明的其他方面的实施方案经必要修改后适用于本发明的该方面。

[0252] 治疗有效量将根据临床评估确定并且可以容易地监测。

[0253] 进一步换言之,本发明提供了用如本文所定义的式(I)化合物浸渍的聚氨酯在制造用于疗法的抗微生物制品(或药物)中的用途。优选的疗法是治疗或预防感染,如本文其他地方所述。本文描述的发明的其他方面的实施方案经必要修改后适用于本发明的该方面。

[0254] 本发明还提供了用式(I)化合物浸渍的聚氨酯用于抑制(或防止)制品(例如医疗设备)或表面的细菌定殖的用途,其中所述制品或表面包含所述浸渍的聚氨酯。本文描述的发明的其他方面的实施方案经必要修改后适用于本发明的该方面。

[0255] 本发明还提供了用式(I)化合物浸渍的聚氨酯,其用于抑制(或防止)已施加于(或植入)受试者的医疗设备的细菌定植,其中所述医疗设备包含所述浸渍的聚氨酯。本文描述的发明的其他方面的实施方案经必要修改后适用于本发明的该方面。

[0256] 本发明还提供了式(I)化合物,其用于抑制(或防止)已施加于(或植入)受试者的医疗设备的细菌定殖,其中所述医疗设备包含用所述化合物浸渍的聚氨酯。本文描述的发明的其他方面的实施方案经必要修改后适用于本发明的该方面。

[0257] 本发明还提供了抑制(或防止)制品(例如医疗设备)或表面的细菌定植的方法,所述方法包括向所述制品或表面提供用式(I)化合物浸渍的聚氨酯。本文描述的发明的其他

方面的实施方案经必要修改后适用于本发明的该方面。

[0258] 本文使用的术语“受试者”或“患者”包括任何哺乳动物,例如人类和任何家畜、家畜或实验动物。具体实例包括小鼠、大鼠、猪、猫、狗、羊、兔、牛和猴。然而,优选地,受试者或患者是人类受试者。因此,根据本发明治疗的受试者或患者优选是人类。

[0259] 在一些实施方案中,受试者或患者是患有感染(例如,患有伤口感染或医疗设备相关的感染)的那些,或怀疑患有感染(例如怀疑患有伤口感染或医疗设备相关的感染)的那些,或处于患上(或获得)感染的风险的那些(例如有伤口感染或医疗设备相关感染风险的那些)。

[0260] 在本发明的治疗用途和方法的背景下,抗微生物制品(例如伤口敷料或其他医疗设备)通常被施加(或固定或紧固或粘附)至需要预防或治疗感染的受试者身体的一部分(例如伤口)。可以使用任何合适的方式将抗微生物制品施加(或紧固)至身体。

[0261] 本发明还提供了包含一种或更多种本发明抗微生物制品的试剂盒。优选地,所述试剂盒用于本文描述的治疗方法和用途。优选地,所述试剂盒包含试剂盒组分的使用说明书。优选地,所述试剂盒用于治疗或预防感染,例如如本文其他地方所述,并且任选地包括使用试剂盒组分来治疗此类感染的说明书。

[0262] 如在整个申请中所使用的,术语“一个”和“一种”的使用含义是指“至少一个”、“至少第一”、“一个或更多个”或“多个”所引用的组件或步骤,除非其后具体说明上限的情况。

[0263] 另外,当本文使用术语“包括”、“包含”、“具有”或“有”或其他等同术语时,则在一些更具体的实施方案中,这些术语包括术语“由...组成”或“基本上由...组成”,或其他同等术语。

[0264] 现在将参考以下非限制性实施例和附图进一步描述本发明,其中:

[0265] 图1:是显示在鼠皮肤感染模型中使用化合物2针对金黄色葡萄球菌FDA486进行一天局部治疗的效果的图。Y轴上显示菌落形成单位(CFU)数,而X轴上显示对小鼠施加的局部治疗类型。化合物2在本文中也称为AMC-109。

[0266] 图2:是显示在鼠皮肤感染模型中使用化合物2针对酿脓链球菌(Streptococcus pyogenes)进行一天局部治疗的效果的图。Y轴上显示菌落形成单位(CFU)数,而X轴上显示对小鼠施加的局部治疗类型。化合物2在本文中也称为AMC-109。

[0267] 图3:是显示在鼠皮肤感染模型中针对金黄色葡萄球菌FDA486进行一天局部治疗的效果的图。每只小鼠在上午9点、中午12点和下午3点接受治疗。下午6点采集皮肤活检。显示的是中值。

[0268] 图4:是显示在鼠皮肤感染模型中针对酿脓链球菌CS301进行一天局部治疗的效果的图。每只小鼠在上午7点、上午10点和下午1点接受治疗。下午4点采集皮肤活检。显示的是中值。

[0269] 图5:是显示在鼠皮肤感染模型中针对金黄色葡萄球菌FDA486进行一天局部治疗的效果的图。每只小鼠在上午9点、中午12点和下午3点接受治疗。下午6点采集皮肤活检。显示的是中值。

[0270] 图6:用AMC-109浸渍的干PU泡沫敷料(A)、用AMC-109浸渍的湿敷料(B)以及未浸渍AMC-109的对照敷料(C)周围的抑制区。

[0271] 图7:显示干燥后以及从其背衬表面去除后的AMC-109浸渍Tecoflex涂膜(或涂

层)。

实施例:

[0272] 实施例1

[0273] 肽合成

[0274] 化学品

[0275] 受保护的氨基酸Boc-Trp-OH、Boc-Arg-OH、Boc-4-苯基-Phe和Ac-Arg-OH购自Bachem AG,而Boc-4-碘苯丙氨酸、Boc-3,3-二苯丙氨酸和Boc-(9-蒽基)丙氨酸购自Aldrich。组成肽的C-末端的苄胺、2-苯基乙胺、3-苯基丙胺、(R)-2-苯基丙胺、(S)-2-苯基丙胺、N,N-甲基苄胺、N,N-乙基苄胺和N,N-二苄胺购自Fluka,而N-乙基苄胺购自Acros。二异丙基乙胺(DIPEA)、1-羟基苯并三唑(1-HOBt)、氯三吡咯烷鏻六氟磷酸盐(PyCloP)和O-(苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'四甲基脲六氟磷酸盐(HBTU)购自Fluka。4-正丁基苯基硼酸、4-叔丁基苯基硼酸、4-联苯基硼酸、2-萘基硼酸、三邻甲苯基膦、苄基溴和乙酸钯购自Aldrich。溶剂购自Merck、Riedel-de **Haën**或Aldrich。

[0276] 氨基酸的制备

[0277] Boc-2,5,7-三叔丁基色氨酸-OH的制备:H2N-Trp-OH(1.8g,8,8mmol)、t-BuOH(4,7g,63,4mmol)在三氟乙酸(19mL)中的混合物于70℃搅拌3小时。将所得中棕色半透明溶液的体积在旋转蒸发器上于室温下减少30分钟,然后通过逐滴添加60mL的7%(按重量计)NaHCO3进行研磨。然后通过真空过滤回收获得的灰/白色粒状固体并在室温下真空干燥24小时。通过从近沸点的40%乙醇水溶液混合物中结晶来分离产物。体积通常为每克粗产品约20mL。

[0278] 首次从粗品结晶产生分离的产物,相对于样品中的所有其他物质时纯度(HPLC)为80-83%,而相对于已知的TBT类似物时纯度为约94-95%。此阶段的产率在60-65%范围内。

[0279] Boc-4-碘苯丙氨酸的苄基化。将Boc-4-碘苯丙氨酸(1当量)溶解在90%甲醇水溶液中,并通过添加碳酸铯中和至弱碱性pH(通过石蕊试纸确定)。通过旋转蒸发除去溶剂,并通过与甲苯反复共沸蒸馏进一步减少Boc-4-碘苯丙氨酸铯盐中残留的水。将所得的干燥盐溶解在二甲基甲酰胺(DMF)中,添加苄基溴(1.2当量),并将所得混合物搅拌6-8小时。反应结束时,减压除去DMF,形成含有标题化合物的油状物。将该油状物溶解在乙酸乙酯中,并用等体积的柠檬酸溶液(3次)、碳酸氢钠溶液和盐水洗涤所得溶液。通过快速色谱法使用二氯甲烷:乙酸乙酯(95:5)作为洗脱液分离出浅黄色油状的标题化合物,产率85%。结晶苄基Boc-4-碘苯丙氨酸可以通过从正庚烷重结晶获得。

[0280] Suzuki偶联的一般程序:将苄基Boc-4-碘苯丙氨酸(1当量)、芳基硼酸(1.5当量)、碳酸钠(2当量)、乙酸钯(0.05当量)和三邻甲苯基膦(0.1当量)添加至二甲氧基乙烷(6ml/mmol苄基Boc-4-碘苯丙氨酸)和水(1ml/mmol苄基Boc-4-碘苯丙氨酸)的脱气混合物。将反应混合物保持在氩气下并加热至80℃持续4-6小时。冷却至室温后,将混合物通过硅树脂和碳酸钠的短垫过滤。滤饼进一步用乙酸乙酯洗涤。合并滤液并减压除去溶剂。使用乙酸乙酯和正己烷的混合物作为洗脱液通过快速色谱法分离产物。

[0281] Boc-Bip(n-Bu)-OBn的制备:使用Suzuki偶联的一般程序,由4-正丁基苯基硼酸制备标题化合物,产率为53%。使用80:20乙酸乙酯:正己烷洗脱液分离Boc-Bip(n-Bu)-OBn。

[0282] Boc-Bip(t-Bu)-OBn的制备:使用Suzuki偶联的一般程序,由4-叔丁基苯基硼酸制备标题化合物,产率为79%。使用80:20乙酸乙酯:正己烷洗脱液分离Boc-Bip(t-Bu)-OBn。

[0283] Boc-Bip(4-Ph)-OBn的制备:使用Suzuki偶联的一般程序,由4-联苯硼酸制备标题化合物,产率为61%。通过从正庚烷重结晶粗产物来分离Boc-Bip(4-Ph)-OBn。

[0284] Boc-Bip(4-(2-萘基))-OBn的制备:使用Suzuki偶联的一般程序,由2-萘基硼酸制备标题化合物,产率为68%。通过从正庚烷重结晶粗产物来分离Boc-Bip(4-(2-萘基))-OBn。

[0285] Boc-Bip(4-(1-萘基))-OBn的制备:使用Suzuki偶联的一般程序,由2-萘基硼酸制备标题化合物。通过从正庚烷重结晶粗产物来分离Boc-Bip(4-(1-萘基))-OBn。

[0286] 苄基酯脱酯化的一般程序:将苄基酯溶解在DMF中并使用10%钯碳作为催化剂在环境压力下氢化2天。反应结束时,通过过滤除去催化剂并在减压下除去溶剂。通过从乙醚重结晶来分离游离酸。

[0287] Boc-Bip(4-n-Bu)-OH的制备:使用脱酯化的一般程序,由Boc-Bip(n-Bu)-OBn制备标题化合物,产率为61%。

[0288] Boc-Bip(4-t-Bu)-OH的制备:使用脱酯化的一般程序,由Boc-Bip(t-Bu)-OBn制备标题化合物,产率为65%。

[0289] Boc-Bip(4-Ph)-OH的制备:使用脱酯化的一般程序,由Boc-Bip(4-ph)-OBn制备标题化合物,产率为61%。

[0290] Boc-Bip(4-(2-萘基))-OH的制备:使用脱酯化的一般程序,由Boc-Bip(4-(2-萘基))-OBn制备标题化合物,产率为68%。

[0291] Boc-Bip(4-(2-萘基))-OH的制备:使用脱酯化的一般程序,由Boc-Bip(4-(2-萘基))-OBn制备标题化合物,产率为68%。

[0292] 使用HBTU进行液相肽合成的一般程序。根据以下一般程序,使用Boc保护策略通过逐步氨基酸偶联在溶液中制备肽。将具有游离氨基基团的C末端肽部分(1当量)和Boc保护的氨基酸(1.05当量)和1-羟基苯并三唑(1-HOBt)(1.8当量)溶解在DMF(2-4ml/mmol氨基组分)中,然后添加二异丙基乙胺(DIPEA)(4.8当量)。将混合物在冰上冷却并添加O-(苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'四甲基脲六氟磷酸盐(HBTU)(1.2当量)。将反应混合物在环境温度下振荡1-2小时。将反应混合物用乙酸乙酯稀释并用柠檬酸、碳酸氢钠和盐水洗涤。真空除去溶剂,并在黑暗中使用95%TFA或乙酰氯的无水甲醇溶液将所得肽的Boc保护基团予以脱保护。

[0293] 使用PyCloP形成溶液相酰胺。Boc-Arg-N(CH_2Ph)$_2$的合成。Boc-Arg-OH(1当量)、NH(CH_2Ph)$_2$(1.1当量)和PyCloP(1当量)在干燥DCM(通过氧化铝过滤)(2ml)和DMF(1ml)中的溶液。将溶液在冰上冷却并在搅拌下添加DIPEA(2当量)。将溶液在室温下搅拌1小时。将反应混合物蒸发,并重新溶解在乙酸乙酯中,并用柠檬酸、碳酸氢钠和盐水洗涤。真空除去溶剂,并在黑暗中使用95% TFA将所得肽的Boc保护基团予以脱保护。

[0294] 肽纯化和分析。使用反相HPLC在Delta-Pak(Waters)C_{18}柱(**100 Å,**15μm,25x 100mm)上纯化肽,以水和乙腈(均含有0.1% TFA)的混合物作为洗脱液。通过使用分析型Delta-Pak(Waters)C_{18}柱(**100 Å,**5μm,3.9x 150mm)的RP-HPLC和VG Quattro四极杆质谱仪(VG Instruments Inc.,Altringham,UK)上的正离子电喷雾质谱法对肽进行分析。

[0295] 实施例2

[0296] 本文定义的肽的体外活性

[0297] 材料和方法

[0298] 抗微生物剂

[0299] 预先称重的化合物1和化合物2的小瓶由Lytix Biopharma AS提供。

[0300]

化合物通式: AA_1-AA_2-AA_1-XY			
	AA_1	AA_2	XY
化合物1	Arg	Phe(4-(2-萘基))	$NHCH_2CH_2Ph$

[0301]

化合物2	Arg	2,5,7-叔丁基-丁基色氨酸	$NHCH_2CH_2Ph$

[0302] 细菌分离株

[0303] 本研究中使用的细菌分离株来自世界各地的不同来源,它们储存在GR Micro Ltd.并以很少的传代培养物进行维持,该培养物在-70℃下以未稀释马血清的高蛋白基体中的浓密悬浮液形式深度冷冻。使用的菌种及其特征列于表1。其中包括54种革兰氏阳性菌、33种革兰氏阴性菌和10种真菌。

[0304] 最低抑菌浓度(MIC)的确定

[0305] 使用临床和实验室标准研究所(CLSI,其前称为NCCLS)发布的以下用于抗微生物药物敏感性测试的微肉汤稀释方法确定MIC:

[0306] M7-A6 Vol.23No.2 2003年1月针对有氧生长细菌的稀释抗菌药敏试验方法;批准的标准—第六版。M100-S15 Vol.25No 1.2005年1月抗菌药物敏感性试验执行标准;第十五信息补充。M11-A6 Vol.24No.2厌氧菌药敏试验方法;批准的标准—第六版。M27-A2 Vol.22No.15酵母的肉汤稀释抗真菌药敏试验参考方法;批准的标准—第二版。M38-A Vol.22No.16丝状真菌的肉汤稀释抗真菌药敏试验参考方法;批准的标准。

[0307] 使用GR Micro Ltd处制备的含有抗微生物剂或抗真菌剂的湿板进行MIC估算。

[0308] 将阳离子调节的Mueller-Hinton肉汤(Oxoid Ltd.,Basingstoke,UK和Trek Diagnostic Systems Ltd.,East Grinstead,UK)(补充有5%裂解马血,用于链球菌属、杰氏棒杆菌(Corynebacterium jeikeium)和单核细胞增生李斯特氏菌(Listeria monocytogenes))用于需氧细菌,初始接种量约为10^5个菌落形成单位(CFU)/mL。

[0309] 将嗜血杆菌测试培养基(含有0.5%酵母提取物的Mueller-Hinton肉汤和含有血红素和NAD各15mg/L的嗜血杆菌测试培养基补充剂,均来自Oxoid Ltd.,Basingstoke,UK)用于流感嗜血杆菌(Haemophilus influenzae)并以约10^5CFU/mL接种。

[0310] 将补充布鲁氏菌肉汤(SBB)用于厌氧菌株,接种量为约10^6CFU/mL。SBB是由1%蛋白胨、0.5%‘Lab-lemco’、1%葡萄糖和0.5%氯化钠以及补充的5μg/L血红素和1μg/L维生素K(均来自Sigma Aldrich Ltd.)组成的肉汤。

[0311] 酵母和丝状真菌MIC在MOPS缓冲的RPMI 1640培养基中进行(MOPS缓冲液获自Sigma Aldrich Ltd.,RPMI 1640获自Invitrogen Ltd,Paisley,Scotland)。酵母接种物的范围为7.5x 10^2-4x 10^3CFU/mL,而丝状真菌的范围约为8x 10^3-1x 10^5CFU/mL。

[0312] 按照正常做法,预先制备所有含有Mueller-Hinton肉汤的板,在制备当天冷冻于-

70℃,并在使用当天解冻。真菌、嗜血杆菌和厌氧菌MIC确定均在同一天制备的板中进行。

[0313] 为了评估冷冻是否影响肽的活性,使用含有新鲜制备的Mueller-Hinton肉汤的板重复进行一些MIC确定。

[0314] 对照菌株

[0315] 测试菌株分组中包含以下对照(参考)菌株

[0316] 大肠杆菌ATCC 25922

[0317] 金黄色葡萄球菌ATCC 29213

[0318] 粪肠球菌(Enterococcus faecalis)ATCC 29212

[0319] 肺炎链球菌(Streptococcus pneumoniae)ATCC 49619

[0320] 铜绿假单胞菌(Pseudomonas aeruginosa)ATCC 27853

[0321] 克鲁斯假丝酵母(Candida krusei)ATCC 6258

[0322] 下面的对照菌株是测试菌株分组的额外内容,并在适当的情况下包括在内,以检查比较项是否在范围内。

[0323] 流感嗜血杆菌ATCC 49247

[0324] 近平滑假丝酵母(Candida parapsilosis)ATCC 22019

[0325] 脆弱拟杆菌(Bacteroides fragilis)ATCC 25285

[0326] 迟缓艾格氏菌(Eggerthella lenta)ATCC 43055

[0327] 结果

[0328] 结果以单行列表形式显示在表1中。重复对照菌株结果如表2所示。可以看出,对照菌株结果具有高度可重复性,包括来自含有冷冻保存或新鲜使用的Mueller Hinton肉汤的板的数据。冷冻板对其他细菌菌株的MIC也没有影响。

[0329] 获得的MIC数据非常令人鼓舞,表明这些肽具有相当广泛的活性。

[0330] 表1:两种抗微生物肽和比较项针对革兰氏阳性细菌、革兰氏阴性细菌和真菌的分组的体外活性的单行列表。

[0331]

物种和性质

[0332]

	化合物 1	化合物 2
白色假丝酵母 ATCC90028 – 参考株	2	8
白色假丝酵母 ATCC24433 – 参考株	2	8
热带假丝酵母 ATCC750 – 参考株	2	4
近平滑假丝酵母 ATCC90018 – 参考株	4	16
*克鲁斯假丝酵母(伊萨酵母)*ATCC6258 – 参考株	4	4
黑曲霉– G.R.微生物保藏中心	4	8
须毛癣菌– G.R.微生物保藏中心	16	8
指间毛癣菌– G.R.微生物保藏中心	8	8
犬小孢子菌– G.R.微生物保藏中心	8	8
新型隐球菌– G.R.微生物保藏中心	4	4
大肠杆菌 ATCC25922 - 抗生素敏感型菌株	32	8
大肠杆菌 ATCC32518 - β-内酰胺酶阳性型菌株	32	8
大肠杆菌- 多重耐药的临床分离株	32	8
产气克雷伯氏菌 NCTC11228 - 抗生素敏感型菌株	32	16
产气克雷伯氏菌- 多重耐药的临床分离株	64	16
肠杆菌属种 - 抗生素敏感的临床分离株	32	4
肠杆菌属种 - 多重耐药的临床分离株	64	16
铜绿假单胞菌 ATCC27853 - 抗生素敏感型菌株	16	8
铜绿假单胞菌- 多重耐药的临床分离株	32	4
嗜麦芽寡养单胞菌- 抗生素敏感的临床分离株	64	8
沙门氏菌种 - 抗生素敏感的临床分离株	16	8
沙门氏菌种 - 多重耐药的临床分离株	16	8
志贺氏菌种 - 抗生素敏感的临床分离株	32	8
莫氏摩根菌- 多重耐药的临床分离株	≥128	16
嗜血杆菌流感- β-内酰胺酶阴性临床分离株	≥128	8
嗜血杆菌流感- β-内酰胺酶阳性临床分离株	≥128	8
嗜血杆菌流感 β-内酰胺酶阴性氨苄西林耐药性	≥128	8
卡他莫拉菌 - β-内酰胺酶阳性临床分离株	4	4
卡他莫拉菌 - 氟喹诺酮敏感性降低的临床分离株	8	8
鲍曼不动杆菌- 抗生素敏感的临床分离株	64	16
金黄色葡萄球菌 ATCC 29213 - 抗生素敏感的对照菌株	4	2
金黄色葡萄球菌 ATCC 25923 - 抗生素敏感的对照菌株	4	4
金黄色葡萄球菌 ATCC 43300 - 甲氧西林耐药的对照菌株	4	2
金黄色葡萄球菌 - 甲氧西林耐药的临床分离株	4	4
金黄色葡萄球菌 - 多重耐药的临床分离株	8	4
金黄色葡萄球菌 - 替考拉宁中度敏感的临床分离株	4	4
表皮葡萄球菌 抗生素敏感的临床分离株	16	8
表皮葡萄球菌 甲氧西林耐药的临床分离株	2	4
溶血葡萄球菌- 抗生素敏感的临床分离株	4	4
腐生葡萄球菌- 抗生素敏感的临床分离株	1	1
粪肠球菌- ATCC 29212 抗生素敏感的对照菌株	4	4
粪肠球菌 万古霉素敏感的临床分离株	8	8
粪肠球菌 万古霉素耐药的(VanA)临床分离株	16	8
粪肠球菌 万古霉素耐药的(VanB)临床分离株	16	16
粪肠球菌 高水平庆大霉素耐药的临床分离株	16	8
屎肠球菌 万古霉素敏感的临床分离株	8	8

[0333]

物种和性质	化合物 1	化合物 2
屎肠球菌 万古霉素耐药的(VanA)临床分离株	16	8
屎肠球菌 万古霉素耐药的(VanB)临床分离株	8	4
鸡肠球菌 万古霉素耐药的(VanC)临床分离株	4	4
肺炎链球菌 - ATCC 49619 抗生素敏感的对照菌株	32	16
肺炎链球菌 - 青霉素敏感的临床分离株	64	32
肺炎链球菌 - 青霉素中度敏感的临床分离株	32	32
肺炎链球菌 - 青霉素耐药的临床分离株	32	16
肺炎链球菌 - 多重耐药的临床分离株	64	32
酿脓链球菌 - 大环内酯 (MLS) 耐药的临床分离株	32	16
酿脓链球菌 - 大环内酯类(M 型)耐药的临床分离株	32	16
杰氏棒杆菌- 抗生素敏感的临床分离株	32	16
杰氏棒杆菌 - 多重耐药的临床分离株	32	8
单核细胞增生李斯特氏菌- 抗生素敏感的临床分离株	32	16
MU50 *金黄色葡萄球菌*(MRSA) - VISA 型菌株	4	4
EMRSA3 *金黄色葡萄球菌*(MRSA) - SSCmec1 型	4	4
EMRSA16 *金黄色葡萄球菌*(MRSA) - SSCmec2 型	4	4
EMRSA1 *金黄色葡萄球菌*(MRSA) - SSCmec3 型	8	8
EMRSA15 *金黄色葡萄球菌*(MRSA) - SSCmec4 型	4	4
HT2001254 *金黄色葡萄球菌*(MRSA) - PVL 阳性	4	4
无乳链球菌- 抗生素敏感的临床分离株	16	8
无乳链球菌- 大环内酯耐药的临床分离株	32	16
C 群链球菌- 抗生素敏感的临床分离株	32	16
C 群链球菌- 大环内酯耐药的临床分离株	64	32
G 群链球菌- 抗生素敏感的临床分离株	32	8
G 群链球菌- 大环内酯耐药的临床分离株	32	16
缓症链球菌- 抗生素敏感的临床分离株	64	16
缓症链球菌- 大环内酯耐药的临床分离株	≥128	32
星座链球菌- 抗生素敏感的临床分离株	64	32
星座链球菌- 大环内酯耐药的临床分离株	64	32
口腔链球菌- 抗生素敏感的临床分离株	64	32
口腔链球菌- 大环内酯耐药的临床分离株	32	32
牛链球菌- 抗生素敏感的临床分离株	64	32
牛链球菌- 大环内酯耐药的临床分离株	8	8
血链球菌- 抗生素敏感的临床分离株	64	32
血链球菌- 大环内酯耐药的临床分离株	32	32
产气荚膜梭菌- 抗生素敏感的临床分离株	≥128	32
艰难梭菌- 抗生素敏感的临床分离株	32	16

[0334] 表2:两种抗微生物肽和比较项针对ATCC对照菌株的体外活性(包括测试菌株分组之外的ATCC对照菌株)

[0335]

菌株编号	物种和性质	化合物		板类型
		1	2	
GP01	*金黄色葡萄球菌* ATCC 29213	8	4	冷冻的 MHB

[0336]

	抗生素敏感的对照菌株			
GP01	*金黄色葡萄球菌* ATCC 29213 抗生素敏感的对照菌株	4	4	冷冻的 MHB
GP01	*金黄色葡萄球菌* ATCC 29213 抗生素敏感的对照菌株	4	2	新鲜 MHB
GN01	*大肠杆菌* ATCC 25922 抗生素敏感型菌株	32	8	冷冻的 MHB
GN01	*大肠杆菌* ATCC 25922 抗生素敏感型菌株	32	8	冷冻的 MHB
GN01	*大肠杆菌* ATCC 25922 抗生素敏感型菌株	16	8	新鲜 MHB
GN10	*铜绿假单胞菌* ATCC 27853 抗生素敏感型菌株	16	8	冷冻的 MHB
GN10	*铜绿假单胞菌* ATCC 27853 抗生素敏感型菌株	32	8	冷冻的 MHB
GN10	*铜绿假单胞菌* ATCC 27853 抗生素敏感型菌株	8	8	新鲜 MHB
GP11	*粪肠球菌*- ATCC 29212 抗生素敏感的对照菌株	8	8	冷冻的 MHB
GP11	*粪肠球菌*- ATCC 29212 抗生素敏感的对照菌株	8	8	冷冻的 MHB
GP11	*粪肠球菌*- ATCC 29212 抗生素敏感的对照菌株	4	4	新鲜 MHB
	嗜血杆菌流感- ATCC 47247	32	4	HTM
	近平滑假丝酵母 ATCC 22019	4	8	RPMI 1640
F05	*克鲁斯假丝酵母(伊萨酵母)*ATCC 6258 参考株	8	8	RPMI 1640
F05	*克鲁斯假丝酵母(伊萨酵母)*ATCC 6258 参考株	8	8	RPMI 1640
	脆弱拟杆菌- ATCC 25285	64	64	SBB
	迟缓艾格氏菌 - ATCC 43055	16	32	SBB

[0337] MHB,Mueller Hinton肉汤;HTM,嗜血杆菌测试培养基;SBB,补充布鲁氏菌肉汤。

[0338] 实施例3

[0339] 对胰蛋白酶降解的稳定性和抗微生物活性

[0340] 测试了式AA_1-AA_2-AA_1-$NHCH_2CH_2Ph$化合物的胰蛋白酶抗性和抗微生物活性。

[0341] 肽半衰期的测量和计算

[0342] 将每种肽溶解在0.1M NH_4HCO_3缓冲液(pH 6.5)中,得到最终肽浓度为1mg/ml。将1mg胰蛋白酶溶解在50ml 0.1M NH_4HCO_3缓冲液(pH 8.2)中制备胰蛋白酶溶液。为了确定稳定性,将250μl新鲜制得的胰蛋白酶溶液和250μl肽溶液在2ml 0.1M NH_4HCO_3缓冲液(pH 8.6)中在摇床上于37℃下温育。在不同的时间间隔取样0.5ml等分试样,用含有1% TFA的0.5ml水:乙腈(60:40v/v)稀释,并如上所述通过RP-HPLC进行分析。在37℃下的0小时和20小时采集的未添加胰蛋白酶的样品用作阴性对照。测定的前5小时内采集的样品在254nm处的峰面积积分用于生成$\tau_{1/2}$。在前24小时内未表现出降解的肽被归类为稳定的。

[0343] 抗微生物测定

[0344] 使用Toslab AS使用标准方法来执行对金黄色葡萄球菌菌株ATCC 25923、耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)菌株ATCC 33591和耐甲氧西林表皮葡萄球菌(MRSE)菌株ATCC 27626的MIC测定。Amsterdam,D.(1996)Susceptibility testing of antimicrobials in liquid media,于Antibiotics in Laboratory Medicine.第4版(Lorian,V.,Ed.)pp75-78,Williams and Wilkins Co,Baltimore中。

[0345] 表3.以半衰期($\tau_{1/2}$)测量的AA_1-AA_2-AA_1-$NHCH_2CH_2Ph$肽对胰蛋白酶的稳定性和表现为MIC的抗微生物活性。

[0346]

肽	AA_1	AA_2	$\tau_{1/2}$[a] (h)	MIC[b] (μM)		
				金黄色葡萄球菌[c]	*MRSA*[d]	*MRSE*[e]
化合物 6[f]	Arg	Trp	7	145	97	81
化合物 5	Arg	Bip(4-Ph)	稳定	5	3	3
化合物 4	Lys	2,5,7-三叔丁基色氨酸	稳定		3	<2
化合物 3	Arg	Phe(4-(1-萘基))	20		3	3
化合物 2	Arg	2,5,7-三叔丁基色氨酸	稳定	<3	<3	<3
化合物 1	Arg	Phe(4-(2-萘基))	稳定	4	<3	<3

[0347] [a]使用康奈尔大学的医学计算器来计算半衰期。

[0348] [b]最低抑菌浓度

[0349] [c]金黄色葡萄球菌菌株ATCC 25923

[0350] [d]耐甲氧西林金黄色葡萄球菌ATCC 33591

[0351] [e]耐甲氧西林表皮葡萄球菌ATCC 27626

[0352] [f]不在发明的化合物定义范围内

[0353] 实施例4

[0354] 化合物2的体内活性

[0355] 小鼠皮肤感染了金黄色葡萄球菌或酿脓链球菌,随后每隔三个小时给予总共三次

治疗。最后一次治疗后三小时,收集皮肤活检并确定皮肤样品中存在的菌落形成单元(CFU)数。

[0356] 结果如图1和图2所示,以每只小鼠的菌落形成单元数表示。

[0357] 在实验1(图1)中,将化合物2作为含有2%(w/w)化合物2的乳膏或凝胶的一部分施加于鼠皮肤。不含化合物2的相同乳膏或凝胶用作阴性对照(安慰剂)。可以清楚地看出,与阴性对照相比,当将含有化合物2的乳膏或凝胶施加于鼠皮肤时,CFU数减少,表明化合物2对金黄色葡萄球菌发挥抗微生物作用。载体(乳膏或凝胶)的性质没有显著影响。

[0358] 在实验2(图2)中,化合物2以两种不同的浓度(1%或2%凝胶)施加。使用安慰剂凝胶和已知的抗微生物剂"百多邦"作为对照。可以看出,含有化合物2的凝胶比安慰剂凝胶或百多邦更能有效地减少CFU数。含有2%化合物2的凝胶比仅含有1%化合物2的凝胶更有效。

[0359] 实施例5

[0360] 本发明所用化合物的制备以及物理、抗微生物和溶血特性

[0361] 肽合成——相关信息也在实施例1中提供。

[0362] 化学品

[0363] 受保护的氨基酸Boc-Arg-OH和Boc-4-苯基-Phe购自BachemAG,而Boc-4-碘苯丙氨酸购自Aldrich。构成肽的C末端的异丙胺、丙胺、己胺、丁胺、十六胺、异丁胺、环己胺和环戊胺购自Fluka。二异丙基乙胺(DIPEA)、1-羟基苯并三唑(1-HOBt)、氯三吡咯烷鏻六氟磷酸盐(PyCloP)和O-(苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'四甲基脲六氟磷酸盐(HBTU)购自Fluka。4-正丁基苯基硼酸、4-叔丁基苯基硼酸、4-联苯基硼酸、2-萘基硼酸、三邻甲苯基膦、苄基溴和乙酸钯购自Aldrich。溶剂购自Merck、Riedel-**deHaën**或Aldrich。

[0364] Boc-Phe(4-4'-联苯基)-OBn的制备:使用Suzuki偶联的一般程序,由4-联苯硼酸制备标题化合物,产率为61%。通过从正庚烷重结晶粗产物来分离Boc-Phe(4-4'-联苯基)-OBn。

[0365] Boc-Phe(4-(2'-萘基))-OBn的制备:使用Suzuki偶联的一般程序,由2-萘基硼酸制备标题化合物,产率为68%。通过从正庚烷重结晶粗产物来分离Boc-Phe(4-(2'-萘基))-OBn。

[0366] Boc-Phe(4-4'-联苯基)-OH的制备:使用脱酯化的一般程序,由Boc-Phe(4-4'-联苯基)-OBn制备标题化合物,产率为61%。

[0367] Boc-Phe(4-(2'-萘基))-OH的制备:使用脱酯化的一般程序,由Boc-Phe(4-(2-萘基))-OBn制备标题化合物,产率为68%。

[0368] 使用HBTU进行液相肽合成的一般程序在实施例1中描述。

[0369] 实施例1描述了使用PyCloP形成溶液相酰胺。

[0370] 肽纯化和分析描述于实施例1中。

[0371] 表4

[0372] 化合物通式:Arg-AA_2-Arg-X-Y

[0373]

化合物	AA_2	XY	纯度 (HPLC)
7	2,5,7-三叔丁基色氨酸	$NHCH(CH_3)_2$	
8	2,5,7-三叔丁基色氨酸	$NH(CH_2)_5CH_3$	
9	2,5,7-三叔丁基色氨酸	$NH(CH_2)_3CH_3$	87
10	2,5,7-三叔丁基色氨酸	$NH(CH_2)_2CH_3$	99
11	2,5,7-三叔丁基色氨酸	$NH(CH_2)_{15}CH_3$	80
12	2,5,7-三叔丁基色氨酸	$NHCH_2CH(CH_3)_2$	97
13	2,5,7-三叔丁基色氨酸	NH环己基	95
14	2,5,7-三叔丁基色氨酸	NH环戊基	91

[0374]

15	Phe(4-4'-联苯基)	$NHCH(CH_3)_2$	
16	Phe(4-4'-联苯基)	$NH(CH_2)_5CH_3$	
17	Phe(4-(2'-萘基))	$NHCH(CH_3)_2$	
18	Phe(4-(2'-萘基))	$NH(CH_2)_5CH_3$	

[0375] 抗微生物测定

[0376] 通过Toslab AS使用标准方法来执行针对金黄色葡萄球菌菌株ATCC 25923、耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)菌株ATCC 33591和耐甲氧西林表皮葡萄球菌(MRSE)菌株ATCC 27626的MIC测定。Amsterdam,D.(1996)Susceptibility testing of antimicrobials in liquid media,于Antibiotics in Laboratory Medicine.第4版(Lorian,V.,Ed.)pp 75-78,Williams and Wilkins Co,Baltimore中。

[0377] 表5

[0378] 本发明中使用的化合物的抗微生物和毒性特性

[0379]

化合物	白色假丝酵母(mg/L)	金黄色葡萄球菌(mg/L)	MRSA(mg/L)	MRSE(mg/L)	酿脓链球菌(mg/L)	大肠杆菌(mg/L)	铜绿假单胞菌(mg/L)	EC50
7	25	<2	<2	<2	<2	7	7	720
8	5	2	2	<1	2	5	5	32
9	10	2	3	<2	2			350
10	10	2	3	<2	2			620
11	>100	5	4	4	6	>100	>100	38
12	10	<2	3	2	2			300
13	10	<2	2	2	<2			55
14	10	<2	>15	<2	2			340

[0380] 实施例6

[0381] 所选化合物的体外广泛分组筛选

[0382] 材料和方法

[0383] 抗微生物剂

[0384] 预先称重的化合物7和化合物8的小瓶由Lytix Biopharma AS提供。

[0385]

通式化合物: AA_1-AA_2-AA_1-X-Y			
	AA_1	AA_2	XY
化合物7	Arg	2,5,7-三叔丁基色氨酸	$NHCH(CH_3)_2$
化合物8	Arg	2,5,7-三叔丁基色氨酸	$NH(CH_2)_5CH_3$

[0386] 细菌分离株

[0387] 本研究中使用的细菌分离株如实施例2中所述。

[0388] 最低抑菌浓度(MIC)的确定

[0389] 如实施例2中所述确定MIC。

[0390] 结果

[0391] 结果以单行列表形式显示在表6中。

[0392] 获得的MIC数据非常令人鼓舞,表明这些肽具有相当广泛的活性。

[0393] 表6:两种抗微生物肽针对革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌和真菌的分组的体外活性的单行列表。

[0394]

物种和性质	化合物 7 (mg/L)	化合物 8 (mg/L)
白色假丝酵母 ATCC90028 – 参考株	32	4
白色假丝酵母 ATCC24433 – 参考株	64	8
热带假丝酵母 ATCC750 – 参考株	4	4
近平滑假丝酵母 ATCC90018 – 参考株	64	8
*克鲁斯假丝酵母(伊萨酵母)*ATCC6258 – 参考株	8	32
黑曲霉– G.R.微生物保藏中心	32	4
须毛癣菌– G.R.微生物保藏中心	8	4
指间毛癣菌– G.R.微生物保藏中心	16	4
犬小孢子菌– G.R.微生物保藏中心	16	4
新型隐球菌– G.R.微生物保藏中心	8	2
大肠杆菌 ATCC25922 - 抗生素敏感型菌株	32	4
大肠杆菌 ATCC32518 - β-内酰胺酶阳性型菌株	32	8

[0395]

物种和性质	化合物 7 (mg/L)	化合物 8 (mg/L)
大肠杆菌- 多重耐药的临床分离株	32	8
产气克雷伯氏菌 NCTC11228 - 抗生素敏感型菌株	64	8
产气克雷伯氏菌- 多重耐药的临床分离株	32	8
肠杆菌属种 - 抗生素敏感的临床分离株	64	8
肠杆菌属种 - 多重耐药的临床分离株	≥128	8
铜绿假单胞菌 ATCC27853 - 抗生素敏感型菌株	32	8
铜绿假单胞菌- 多重耐药的临床分离株	8	4
嗜麦芽寡养单胞菌- 抗生素敏感的临床分离株	32	4
沙门氏菌种 - 抗生素敏感的临床分离株	16	8
沙门氏菌种 - 多重耐药的临床分离株	16	8
志贺氏菌种 - 抗生素敏感的临床分离株	32	4
莫氏摩根菌- 多重耐药的临床分离株	32	8
嗜血杆菌流感- β-内酰胺酶阴性临床分离株	32	16
嗜血杆菌流感- β-内酰胺酶阳性临床分离株	16	4
嗜血杆菌流感 β-内酰胺酶阴性氨苄西林耐药性临床分离株	16	8
卡他莫拉菌 - β-内酰胺酶阳性临床分离株	4	16
卡他莫拉菌 - 氟喹诺酮敏感性降低的临床分离株	8	16
鲍曼不动杆菌- 抗生素敏感的临床分离株	64	16
金黄色葡萄球菌 ATCC 29213 - 抗生素敏感的对照菌株	8	4
金黄色葡萄球菌 ATCC 25923 - 抗生素敏感的对照菌株	8	4
金黄色葡萄球菌 ATCC 43300 - 甲氧西林耐药的对照菌株	8	4
金黄色葡萄球菌 - 甲氧西林耐药的临床分离株	8	4
金黄色葡萄球菌 - 多重耐药的临床分离株	16	4
金黄色葡萄球菌 - 替考拉宁中度敏感的临床分离株	16	4
表皮葡萄球菌 抗生素敏感的临床分离株	4	8
表皮葡萄球菌 甲氧西林耐药的临床分离株	4	2
溶血葡萄球菌- 抗生素敏感的临床分离株	4	4
腐生葡萄球菌- 抗生素敏感的临床分离株	2	0.5
粪肠球菌- ATCC 29212 抗生素敏感的对照菌株	16	4
粪肠球菌 万古霉素敏感的临床分离株	32	4
粪肠球菌 万古霉素耐药的(VanA)临床分离株	32	4
粪肠球菌 万古霉素耐药的(VanB)临床分离株	≥128	8
粪肠球菌 高水平庆大霉素耐药的临床分离株	64	8
屎肠球菌 万古霉素敏感的临床分离株	16	4
屎肠球菌 万古霉素耐药的(VanA)临床分离株	32	4
屎肠球菌 万古霉素耐药的(VanB)临床分离株	16	4
鸡肠球菌 万古霉素耐药的(VanC)临床分离株	8	4
肺炎链球菌 - ATCC 49619 抗生素敏感的对照菌株	32	16
肺炎链球菌 - 青霉素敏感的临床分离株	32	8
肺炎链球菌 - 青霉素中度敏感的临床分离株	32	16
肺炎链球菌 - 青霉素耐药的临床分离株	32	16
肺炎链球菌 - 多重耐药的临床分离株	32	16
酿脓链球菌 - 大环内酯 (MLS) 耐药的临床分离株	16	8

[0396]

物种和性质	化合物 7 (mg/L)	化合物 8 (mg/L)
酿脓链球菌 - 大环内酯类(M 型)耐药的临床分离株	16	8
杰氏棒杆菌- 抗生素敏感的临床分离株	8	4
杰氏棒杆菌- 多重耐药的临床分离株	8	2
单核细胞增生李斯特氏菌- 抗生素敏感的临床分离株	16	8
MU50 *金黄色葡萄球菌*(MRSA) - VISA 型菌株	16	4
EMRSA3 *金黄色葡萄球菌*(MRSA) - SSCmec1 型	8	4
EMRSA16 *金黄色葡萄球菌*(MRSA) - SSCmec2 型	16	4
EMRSA1 *金黄色葡萄球菌*(MRSA) - SSCmec3 型	16	4
EMRSA15 *金黄色葡萄球菌*(MRSA) - SSCmec4 型	8	4
HT2001254 *金黄色葡萄球菌*(MRSA) - PVL 阳性	8	4
无乳链球菌- 抗生素敏感的临床分离株	8	8
无乳链球菌- 大环内酯耐药的临床分离株	16	8
C 群链球菌- 抗生素敏感的临床分离株	16	8
C 群链球菌- 大环内酯耐药的临床分离株	32	16
G 群链球菌- 抗生素敏感的临床分离株	16	8
G 群链球菌- 大环内酯耐药的临床分离株	16	8
缓症链球菌- 抗生素敏感的临床分离株	32	16
缓症链球菌- 大环内酯耐药的临床分离株	64	16
星座链球菌- 抗生素敏感的临床分离株	64	16
星座链球菌- 大环内酯耐药的临床分离株	32	16
口腔链球菌- 抗生素敏感的临床分离株	64	16
口腔链球菌- 大环内酯耐药的临床分离株	64	16
牛链球菌- 抗生素敏感的临床分离株	32	8
牛链球菌- 大环内酯耐药的临床分离株	8	2
血链球菌- 抗生素敏感的临床分离株	32	16
血链球菌- 大环内酯耐药的临床分离株	32	16
产气荚膜梭菌- 抗生素敏感的临床分离株	≥128	32
艰难梭菌- 抗生素敏感的临床分离株	64	32
痤疮丙酸杆菌- 抗生素敏感的临床分离株		4
痤疮丙酸杆菌-抗生素耐药的临床分离株		2

[0397] 实施例7

[0398] 化合物7和8的体内活性

[0399] 小鼠皮肤感染了金黄色葡萄球菌或酿脓链球菌,随后每隔三个小时给予总共三次治疗。最后一次治疗后三小时,收集皮肤活检并确定皮肤样品中存在的菌落形成单元(CFU)数。

[0400] 结果如图3、4和5所示,以每只小鼠的菌落形成单元数表示。

[0401] 在实验1(图3)中,将化合物7作为含有2%(w/w)化合物7的乳膏或凝胶的一部分施加于鼠皮肤。不含化合物7的相同乳膏或凝胶用作阴性对照(安慰剂)。2%百多邦乳膏用作阳性对照。可以清楚地看出,与阴性对照相比,当将含有化合物7的乳膏或凝胶施加于鼠皮肤时,CFU数减少,表明化合物7对金黄色葡萄球菌发挥抗微生物作用。标准临床治疗2%百多邦乳膏的疗效在该治疗方案下没有显著影响。载体(乳膏或凝胶)的性质没有显著影响。

[0402] 在实验2(图4)中,化合物7以两种不同的浓度(1%或2%凝胶)施加。使用安慰剂凝

胶和已知的抗微生物剂“百多邦(mupericin)”作为对照。可以看出,含有化合物7的凝胶比安慰剂凝胶或百多邦更能有效地减少来自酿脓链球菌CS 301感染的CFU数。含有2%化合物7的凝胶比仅含有1%化合物7的凝胶更有效。

[0403] 在实验3(图5)中,将化合物8以2%霜剂配方施加于鼠皮肤感染模型中的金黄色葡萄球菌FDA486感染。使用安慰剂乳膏和两种已知抗菌剂“Fucidin(夫西地酸)软膏2%”和“百多邦(mupericin)乳膏2%”作为对照。可以看出,含有化合物8的乳膏在减少CFU数方面比安慰剂和夫西地酸或百多邦更有效。

[0404] 实施例8

[0405] 浸渍聚氨酯泡沫

[0406] 材料与方法:

[0407] 菌株:金黄色葡萄球菌ATCC29213。

[0408] 原初的PU泡沫伤口敷料(Biatain,Coloplast)或用AMC-109加以浸渍。

[0409] PU泡沫贴片的制备

[0410] 使用锋利的手术刀将市售的吸收性PU泡沫伤口敷料(Biatain,Coloplast)切成1平方厘米的贴片(1cm^2)。通过在每个贴片上小心添加0.5ml 2mg/mlAMC-109的蒸馏水溶液,将贴片用AMC-109浸渍。然后让这些贴片干燥并在微生物测试之前恢复其原始形状。

[0411] 微生物学

[0412] 将金黄色葡萄球菌稀释至0.5McFarland并铺展在Mueller Hinton琼脂板上以提供接种板。

[0413] 为了研究通过对敷料进行润湿是否提高AMC-109浸渍的杀菌效果,在将敷料施加到接种板之前,向敷料添加100μl NaCl。

[0414] 将用AMC-109浸渍的润湿和干燥的敷料以及原初对照(即未用AMC-109浸渍的对照敷料)放置在接种板上。所有实验一式三份进行。将板在37℃下温育16小时。然后检查MH琼脂板对细菌生长的抑制情况并拍照以备记录。

[0415] 结果:

[0416] • 在浸渍有1mg/cm^2 AMC-109的干燥PU泡沫敷料周围观察到清晰的抑制区(4mm)(图6A)。

[0417] • 在浸渍有1mg/cm^2 AMC-109的湿润PU泡沫敷料周围观察到清晰的抑制区(2mm)(图6B)。

[0418] • 对照敷料周围未观察到抑制区(图6C)。

[0419] 结论:

[0420] 浸渍有AMC-109(1mg/cm^2)的PU泡沫敷料明显抑制了敷料下方的细菌生长,并形成了周围的抑制区。该结果表明AMC-109从泡沫释放到下面的琼脂中并消除细菌。通过预润湿敷料并不能改善这种效果,这表明温育箱中存在的水分足以从干敷料释放AMC-109。

[0421] 这些发现支持使用AMC-109浸渍的PU泡沫敷料作为控制敷料定植的方法,并且还用于预防或治疗应用此类AMC-109敷料的下方伤口的感染。

[0422] 实施例9

[0423] 浸渍聚氨酯实例(非泡沫)

[0424] 介绍

[0425] 如实施例8所示,抗微生物肽AMC-109可浸渍在聚氨酯泡沫中,并且肽可从聚氨酯泡沫释放并发挥抗微生物活性。

[0426] 如下所述,已经进行了进一步的聚氨酯浸渍研究。

[0427] 为了使肽的使用更加经济(肽相对昂贵),在某些情况下可能需要仅浸渍材料(聚氨酯)的表面层,特别是在厚壁产品中。

[0428] 本研究表明,聚氨酯对含有AMC-109的溶胀剂(含有AMC-109的溶液)的吸收可以通过控制溶胀时间来控制,并且即使溶胀时间很短,AMC-109浸渍的聚氨酯也具有良好的抗微生物活性。

[0429] 材料和方法

[0430] 浸渍聚氨酯的制造

[0431] 所用聚氨酯为Pellethane 80A片材(Lubrizol Advanced Materials,Inc.,USA),厚度为1mm。Pellacetan是一种生物相容性芳族聚醚聚氨酯。将片材切割成2x1 cm的样品。本研究中使用的Pellethane不是泡沫。

[0432] 将0.18g AMC-109与4ml乙醇和2ml氯仿混合,得到2.8%的溶液。

[0433] 将聚氨酯样品在溶胀剂(即含有AMC-109的乙醇/含有AMC-109的氯仿)中浸泡两个不同的时间,导致不同的吸收(即聚氨酯的溶胀程度不同),目的是达到吸收百分比10%和100%。

[0434] 浸泡后,将样品用纤维素抹布表面干燥,称重,在20℃下干燥12小时,装袋并贴标签。

[0435] "%吸收"是在施加式(I)化合物的溶液之后(即溶胀之后)聚氨酯重量的%增加,即与施加溶胀剂之前(即肿胀前)的聚氨酯重量相比。

[0436] 浸渍聚氨酯的微生物测试

[0437] 将表皮葡萄球菌(表皮葡萄球菌RP62A)过夜菌落在0.85%NaCl中稀释至0.5McFarland(1x10^8CFU)。将细菌溶液在胰蛋白酶大豆肉汤培养基(1x10^5)中进一步稀释,并将多个100μl滴到聚氨酯样品的表面。将聚氨酯样品置于显微镜载玻片上,将载玻片置于潮湿的温育室中,在37℃下温育24小时。

[0438] 为了确定CFU(菌落形成单位),将聚氨酯样品(如上所述与细菌溶液一起温育后)在2ml 0.85% NaCl中涡旋并进行连续稀释(10^{-1}至10^{-6})。将连续稀释液的100μl等分试样在血琼脂板上划线,并在CFU计数之前进一步温育过夜。所有实验均进行两次。

[0439] 结果与讨论

[0440] 表A-样品编号、溶胀剂中AMC-109的百分比、暴露时间(或浸泡/溶胀时间)、样品初始重量(37/20中共4片,42/20中共3片)、暴露后样品重量和吸收百分比。

[0441]

样品编号	溶 胀 剂 AMC-109 含量	暴露时间	初始重量 (g)	溶胀后重量 (g)	%吸收
37/20	2.8%	3 min	1.029	1.133	10.1%
42/20	2.8%	10 h	0.731	1.398	91.2%
49/20	对照。未进行溶胀				

[0442] 这些结果表明,含有AMC-109的溶胀剂可以使聚氨酯溶胀,并且不同的暴露时间(溶胀时间)可以导致不同程度的吸收(溶胀)。

[0443] 37/20(即暴露/溶胀时间为3分钟)和42/20(即暴露/溶胀时间为10小时)两个样品在微生物测定中均显示出有效的抗微生物活性。对照样品显示出高水平的细菌表面定植。

[0444] 不希望受理论束缚,据信在溶胀过程中存在浓度梯度,其中聚氨酯的外层(即,位于或最接近表面的聚氨酯)饱和,而内层(距离表面最远)仅部分饱和。通过在整个聚氨酯样品/制品达到完全饱和之前停止溶胀过程,据信获得了其中表面/外层含有所需浓度的肽的聚氨酯样品/制品,这可以通过溶胀剂的肽浓度和饱和时的总吸收来确定。据信聚氨酯的内层(即距离表面更远/最远的聚氨酯)将比表面/外层含有更少的肽。换言之,同样不受理论的束缚,据信通过控制溶胀时间,可以控制溶胀剂(以及因此肽)渗透聚氨酯的程度(或深度)。因此,据信,通过控制溶胀时间,可以控制聚氨酯的浸渍,以实现如果需要的话仅浸渍聚氨酯的表面/外层。考虑到材料的成本(例如肽的成本),与浸渍整个聚氨酯产品(即聚氨酯样品的整个厚度)相比,仅浸渍聚氨酯的表面和外层(即仅浸渍聚氨酯的整个厚度的一部分)将具有成本效益。然后,浸渍部分(或层)的厚度可以决定肽的浸出率和肽的耗尽时间。对于所有预期用途而言,不一定需要在聚氨酯制品的整个厚度上用抗微生物肽来浸渍。

[0445] 实施例10

[0446] 本研究的目的是研究TPU(热塑性聚氨酯)聚合物是否可以溶解在与AMC-109溶解相容的溶剂中。结果表明,THF(四氢呋喃)和二氯甲烷(DCM)是非常通用的溶解溶剂,并且涂漆溶液(即溶解在溶剂中的AMC-109和TPU)可以施加于表面以提供涂漆表面(涂层)。这项研究还表明,AMC-109可以从涂漆(涂层)中提取(即可以浸出),并且AMC109/TPU涂漆(涂层)具有良好的抗定殖活性。

[0447] 材料和方法

[0448] 样品材料

[0449] Tecoflex是一种商业医用级TPU(Lubrizol)。使用的Tecoflex的具体类型是Tecoflex EG-80A。Pearlcoat DIPP 119是一种市售TPU(Lubrizol)。Estane 58300是一种市售TPU(Lubrizol)。样品材料的特性列于表C中。

[0450] 表C.用于溶解度测试的样品。

[0451]

样品	描述

[0452]

Estane 58300	**完整的基于聚酯和聚醚的 TPU 产品线，主要设计用于挤出和注塑成型。**
Pearlcoat Dipp 119	**基于芳香族聚己内酯共聚酯的热塑性聚氨酯。**
Tecoflex	**基于脂肪族聚醚的热塑性聚氨酯。**

[0453] 溶解度实验

[0454] 将每种TPU材料的样品(0.01-0.2g)放入含有四氢呋喃(THF)、二氯甲烷(DCM)、丙酮、乙酸乙酯(EtOAc)或乙醇(EtOH)的小瓶中。48小时后在环境温度下目测评估溶解度。

[0455] 涂漆溶液的制备

[0456] 将选定的TPU样品材料溶解在THF中。在这方面,将Tecoflex(1.0g)溶解在THF(四氢呋喃)(40ml)中,或者将Pearlcoat DIPP 119(1.0g)溶解在THF(25ml)中(表D)。AMC-109(53mg)也溶解在THF(4ml)中(表D)。然后将溶解在THF中的AMC-109与溶解在THF中的TPU(即Tecoflex或Pearlcoat DIPP 119)混合。该混合物被称为“涂漆溶液”(或“涂漆溶液”或“最终涂漆溶液”)。最终涂漆溶液中AMC-109的浓度相对于TPU为5%。AMC-109在THF中的溶解则需要数个小时。

[0457] 表D.用于制备涂漆溶液的溶剂。

[0458]

样品(TPU 类型)	**用于溶解 TPU 的溶剂**	**用于溶解 AMC-109 的溶剂**
Estane 58300	**THF**	**THF**
Pearlcoat Dipp 119	**THF**	**THF**
Tecoflex	**THF**	**THF**

[0459] 涂漆程序

[0460] 通过将8ml涂漆溶液放置在具有浅凹痕的铝箔上或通过将涂漆溶液倒在表面玻璃上来制备涂漆样品。干燥后(几天),相当厚的涂膜可以从其表面机械地松开。图7显示了干燥后且从其背衬表面机械取下后的AMC-109浸渍Tecoflex涂膜(或涂层)。

[0461] 提取

[0462] 从涂膜切割样品并精确称重(100-150mg),并计算样品中AMC-109的量。将样品放入小瓶中,添加水(2ml)并振荡小瓶。进行六次连续提取。对于每次提取,用去离子水(2ml)代替旧的提取物。提取的振荡时间为10秒、5分钟、30分钟、3小时、22小时和48小时。使用预先制作的标准曲线,通过紫外分光光度法在280nm处确定每种提取物中AMC-109的量。

[0463] 微生物学

[0464] 细菌菌株:

[0465] • 金黄色葡萄球菌8325

[0466] 改进的AATCC-100方法

[0467] 将过夜的金黄色葡萄球菌菌落在0.9% NaCl中稀释0.5McFarland,得到细菌浓度为1.5x10^{8}CFU/ml。该悬浮液在TSB(胰蛋白酶大豆肉汤)中进一步稀释至1x10^{5}CFU/ml。

[0468] 将TPU材料(即含有AMC-109的涂膜)切成约0.4x 0.4cm的片。然后将该材料浸入dH_2O中2分钟并在使用前风干。向不同的样品(材料)接种100μl细菌溶液(即100μl1x10^{5}CFU/ml悬浮液)。将样品放置在载玻片上并在37℃的湿度室中温育24小时。对每种测试材料进行了两次生物复制。

[0469] 温育后,将TPU材料置于1000μl NaCl(0.9%)中并涡旋45秒,然后进行系列稀释(0-10^{-6})并铺板100μl用于CFU计数。

[0470] 结果

[0471] 在环境温度下48小时后,TPU材料在各种溶剂中的溶解汇总于表E。

[0472] 表E.TPU材料在各种溶剂中的溶解。

[0473]

样品	THF	DCM	丙酮	EtOAc	EtOH
Estane 58300	**溶剂粘**	**溶胀**	**未溶解**	**未溶解**	**未溶解**
Pearlcoat Dipp 119	**溶解自由流动**	**溶解/溶胀**	**溶解非常粘**	**溶解/溶胀**	**未溶解**
Tecoflex	**溶解非常粘**	**溶解非常粘**	**未溶解**	**未溶解**	**未溶解**

[0474] 四氢呋喃(THF)似乎是TPU样品最有效的溶剂。AMC-109溶解在THF中,尽管溶解速度非常慢。二氯甲烷(DCM)也能非常有效地溶解TPU样品。实验还表明,AMC-109也易溶于氯仿(数据未显示)。

[0475] 涂漆

[0476] 表F.涂漆表面的外观。

[0477]

样品	外观
Estane 58300	中等厚度,柔韧(有弹性),轻微不透明,无可见颗粒
Pearlcoat Dipp 119	薄、有弹性、略不透明、内部有颗粒(气泡)
Tecoflex	薄、柔韧、轻微不透明、无视觉颗粒

[0478] 提取和渗漏动力学

[0479] 使用紫外分光光度法标准曲线计算每种提取物中AMC-109的量。将数据相对于原始样品中存在的AMC-109总量归一化。标准化数据汇总于表G中。

[0480] 表G.不同时间点(分钟)的AMC-109渗漏,以样品总量的百分比表示。

[0481]

时间 (min)	Pearlcoat	Tecoflex	Estane
0,16	6,6	6,9	5,9
5	10,1	0,8	1,0
30	3,6	0,3	0,65
180	1,9	0,24	0,65
1320	0,9	0,4	0,81
2880	0,5	0,42	0,42

[0482] 微生物学功效

[0483] 菌落形成单元

[0484] 将材料(即含有AMC-109的涂膜)彻底清洗2分钟,以去除易于提取或直接驻留在表面上的AMC-109。CFU数低于针对含有AMC-109材料的检测限。与对照材料(即不含AMC-109的相关TPU涂漆)相比,CFU数减少7个数量级(表H)。

[0485] 表H.用AMC-109涂漆的选定样品的CFU值。

[0486]

TPU/聚合物	AMC-109	对照
Estane 58300	0	5.7×10^7
Tecoflex	0	8.8×10^7
Pearlcoat Dipp	0	3.8×10^7

[0487] 结论

[0488] • TPU可被多种溶剂溶解。在测试的溶剂中,THF和二氯甲烷具有最普遍的适用性。

[0489] • 溶解在溶剂(例如THF)中的AMC-109可以混合到溶剂(例如THF)溶解的聚合物(TPU)中。

[0490] • 所得涂漆溶液可应用于多种表面。

[0491] • 涂漆表面的性能根据聚合物(TPU)的不同而不同,不同的聚合物可能适合于不同的应用。

[0492] • 涂漆表面(涂层)会渗漏AMC-109(即AMC-109可渗出),通常一开始会迅速渗漏,但会在至少两天内保持低浓度。

[0493] • 涂漆表面具有很强的抗定殖能力(即使用水清洗2分钟以除去易于提取或直接驻留在表面上的AMC-109)。

[0494] 该研究表明,包含AMC-109、TPU和适当溶剂(例如THF)的组合物,也可称为含有AMC-109的涂层(或含有AMC-109/TPU的涂漆),可用作为针对可能易受微生物污染的表面的涂漆(或为其提供涂层),因为此类涂漆(涂层)可抵抗微生物在其上的生长。

[0495] 研究的延伸

[0496] 在上述研究的延伸中,还进行了实验来评估Tecoflex-AMC-109和Pearlcoat

Dipp119-AMC-109涂层/膜样品(两者都是使用通过将溶解在THF中的TPU与溶解在THF中的AMC-109混合得到的涂漆溶液来制得的)抵抗细菌(金黄色葡萄球菌)的定殖的能力,甚至在所述样品已经经历AMC-109的提取(通过在水中振荡不同时间段)之后。据观察,Tecoflex-AMC-109涂漆的这种提取后样品在至少20小时的时间段内不会被金黄色葡萄球菌定殖,并且观察到Pearlcoat Dipp 119--AMC-109涂漆的这种提取后样品在至少3小时的时间段内不会被金黄色葡萄球菌定植(数据未显示)。

[0497] 实施例11

[0498] 本研究的目的是研究含有AMC-109的TPU(热塑性聚氨酯)涂漆是否可以应用于导尿管(在本例中,导尿管由硅树脂制成)以及这种AMC109/TPU涂漆是否赋予抗微生物特性。

[0499] 材料和方法(涂漆溶液的制备和涂漆程序)

[0500] 样品材料

[0501] Tecoflex TPU是一种市售医用级TPU(Lubrizol)。Tecoflex是一种基于脂族聚醚的热塑性聚氨酯(TPU)。本研究中使用的Tecoflex的具体类型是Tecoflex EG-80A。

[0502] Pearlcoat DIPP 119是一种市售TPU(Lubrizol)。Pearlcoat DIPP 119是一种基于芳族聚己内酯共聚酯的热塑性聚氨酯(TPU)。

[0503] 涂漆溶液的制备

[0504] 将Tecoflex(1.0g)溶解在THF(四氢呋喃)(40ml)中,或者将Pearlcoat DIPP 119(1.0g)溶解在THF(25ml)中。将AMC-109(53mg)也溶解在THF(4ml)中。然后将溶解在THF中的AMC-109与溶解在THF中的TPU(即Tecoflex或Pearlcoat DIPP 199)混合。这种混合物被称为“最终涂漆溶液”。最终涂漆溶液中AMC-109的浓度相对于TPU为5%。AMC-109在THF中的溶解需要几个小时。

[0505] 涂漆程序

[0506] 将一片Covidien Foley导尿管(由硅树脂制成的导尿管)纵向分开并浸入如上所述的Tecoflex和AMC-109于THF中的44ml最终涂漆溶液中,或浸入如上所述的Pearlcoat DIPP 119和AMC-109于THF中的29ml最终涂漆溶液中。然后将样品(即浸渍的导管片)干燥。使用不含AMC-109的溶液制得等效涂层作为对照。

[0507] 材料和方法(微生物学)

[0508] 细菌菌株:

[0509] • 金黄色葡萄球菌8325

[0510] 改进的AATCC-100方法

[0511] 将过夜的金黄色葡萄球菌菌落在0.9% NaCl中稀释至0.5McFarland,得到细菌浓度为$1.5x10^{8}$CFU/ml。该悬浮液在TSB(胰蛋白酶大豆肉汤)中进一步稀释至$1x10^{5}$CFU/ml。

[0512] 将测试材料(即涂漆后干燥的导管)切成约1cm的片。将50μl细菌溶液(即50μl $1x10^{5}$CFU/ml悬浮液)接种到不同样品的管空心侧(即管腔侧)上。将样品置于载玻片上,并在37℃的湿度箱中温育24小时。对每种测试材料均做了三个生物复制。

[0513] 温育后,将测试材料置于900μl NaCl(0.9%)中并涡旋45秒,然后进行系列稀释($0-10^{-6}$)并铺板100μl用于CFU计数。

[0514] 结果

[0515] 微生物学功效

[0516] 菌落形成单元

[0517] CFU数低于针对含有AMC-109材料的检测限。与对照材料相比,CFU数减少了7个对数,见表B。

[0518] 表B.使用TPU/AMC-109涂漆进行涂刷的样品的CFU值。

[0519]

TPU/聚合物	*AMC-109(即最终涂漆溶液中有AMC-109)*	*对照(即无AMC-109)*
Tecoflex	**0**	**8.0×10^7**
Pearlcoat Dipp 119	**0**	**4.1×10^7**

[0520] 结论

[0521] 由溶解在THF中的AMC-109和TPU组成的涂漆可以成功地作为涂漆应用于硅树脂导尿管。这已通过两种不同的TPU(Tecoflex和PearlcoatDipp119)得到证实。

[0522] 涂漆(即涂覆的)导尿管表现出优异的抗微生物和抗定植行为。

[0523] 本研究表明,包含AMC-109、TPU和适当溶剂(例如THF)的组合物,也可称为含AMC-109的涂漆(或含AMC-109/TPU的涂漆),可用于对可能易受微生物污染的物品(例如医疗设备)进行涂漆(或涂覆),因为这样的涂漆(或涂覆)物品可抵抗其上的微生物生长。

[0524] 实施例12

[0525] 本研究的目的是研究AMC-109从含有AMC-109的热塑性聚氨酯(Tecoflex)涂漆(即从涂有此类涂漆的表面)的释放特性。还研究了含有AMC-109的热塑性聚氨酯(TPU)涂层的抗微生物性能。

[0526] 材料和方法

[0527] 样品材料

[0528] Tecoflex EG 80A(Lubrizol Advanced Materials,Inc.)和AMC-109的储备涂漆溶液(涂漆)是通过将在30ml THF(四氢呋喃)中的920mg Tecoflex与在1ml THF中的50mg AMC-109混合来制备的。储备涂漆溶液分为三部分:

[0529] • 10ml储备Tecoflex和AMC-109涂漆(相对于Tecoflex,AMC-109为约5%)

[0530] • 10ml储备Tecoflex和AMC-109涂漆+PEG400(112mg)

[0531] • 10ml储备Tecoflex和AMC-109涂漆+PEG1000(108mg)

[0532] 在上述三种情况中的两种情况下,将PEG添加到涂层中,因为它可以作为释放增强剂,其平均分子量为400(PEG400)或1000(PEG1000)。含有AMC-109的Tecoflex涂层的薄膜是通过将Tecoflex样品(切割成边缘约1.5cm的方形片材)浸入涂漆溶液中并挂在夹子上晾干而制成的。为避免疑义,在这些实验中,Tecoflex是涂层中使用的TPU,而且Tecoflex也是被施加涂漆的样品材料(即Tecoflex也是涂有含有AMC-109的Tecoflex涂漆的材料)。

[0533] AMC-109释放实验(提取实验)

[0534] 每个涂漆样品被切成三个大小相等的部分,并放入含有1.5mL水的小瓶中。将小瓶放置在轨道摇床上。在一系列的时间间隔(10分钟、3小时、20小时、2天、5天、8天、14天和18

天),吸出水提取物并用1.5ml新鲜水替换,并将小瓶放回摇床。通过UV-Vis方法分析每个时间间隔获取的水提取物的AMC-109含量(即使用预先制作的标准曲线通过紫外分光光度法在280nm处确定每个提取物中AMC-109的量)。

[0535] 微生物学

[0536] 细菌菌株:

[0537] • 金黄色葡萄球菌8325

[0538] • 大肠杆菌

[0539] 改进的AATCC-100

[0540] 将过夜的金黄色葡萄球菌菌落在0.9% NaCl中稀释至0.5McFarland,得到细菌浓度为$1.5x10^8$CFU/ml。该溶液在TSB(胰蛋白酶大豆肉汤)中进一步稀释至$1x10^5$CFU/ml。对大肠杆菌进行了类似的处理。

[0541] 将测试材料(即涂漆样品)切成约1x1 cm的片。向不同样品(测试材料)接种50μl细菌悬浮液($1x10^5$CFU/ml)。将样品在37℃的湿度室中温育24小时。对每种测试材料均做了三个生物复制。

[0542] 温育后,将测试材料置于900μl NaCl中并涡旋45秒,然后进行系列稀释($0-10^{-6}$)并铺板100μl用于CFU计数。

[0543] 结果

[0544] 涂漆取样片的产生

[0545] 对于每种类型的涂漆(即对于上面要点中列出的三种类型的涂漆溶液中的每一种),制备一组一式三份的涂漆样品。因此,存在三组涂漆样品(每组三个样品),它们是涂有含有AMC-109的涂漆(活性涂漆)的。还制备了一组涂漆样品(该组中包含三个样品),其中涂漆为仅有Tecoflex的涂漆(即不包含AMC-109);这是用于微生物学实验中的对照。涂漆样品的质量在682mg到772mg之间变化,且涂漆层在6.09mg到8.87mg之间变化。每个活性涂漆样品的涂漆层质量汇总在下表I中。涂漆层厚度经计算在10-20μm之间,但层厚很可能存在很大的不均匀性。

[0546] 水提取(释放)

[0547] 涂漆的样品在含有1.5ml水的小瓶中提取(这里的水中提取是指将样品暴露在水中以使AMC-109从涂漆层中释放或提取)。选择水量(1.5ml)来代表“下沉”条件,同时也是允许通过UV方法测量释放(或提取)到水中的AMC-109量的水量(如果使用的水量太大,可能难以测量释放/提取的AMC-109)。每个提取物(第一个提取物除外)在1.5ml水中的含量少于10μg AMC-109,表明AMC-109回流到涂漆中的情况很大程度上是微不足道的。如上所述,在每个时间点将水提取物更换为新鲜水。提取数据如下表I所示。

[0548] 表I.在不同时间点(第3-10行)从含有AMC-109的Tecoflex EG 80涂漆中可提取的AMC-109量(mg/小时),以mg为单元的提取的AMC-109总量(第11行,“总计”)、以mg为单元的每个样品的涂漆质量)(第12行)、以mg为单元的每个样品的涂漆中AMC-109的计算质量(第13行)以及每个样品中的AMC-109回收百分比(第14行)。AMC-109回收百分比(回收%)是指到第18天从涂漆提取(释放)的涂层中AMC-109的百分比。题为1、2和3的列是用涂有含AMC-109的涂漆(上面“样品材料”部分第一项中描述的)的样品进行的实验重复。题为4、5和6的列是用涂有含AMC-109的涂漆(上面“样品材料”部分第二项中描述的)的样品进行的实验重

复。题为7、8和9的列是用涂有含AMC-109的涂漆(上面“样品材料”部分第三项中描述的)的样品进行的实验重复。

[0549]

时间(d)	AMC-109	AMC-109 + PEG400	AMC-109 + PEG1000

[0550]

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0,0067	0,13125	0,12188	0,10313	0,10313	0,11250	0,12188	0,12188	0,12188	0,12188
0,1316	0,00150	0,00150	0,00150	0,00200	0,00250	0,00250	0,00250	0,00250	0,00250
0,965	0,00053	0,00045	0,00045	0,00045	0,00045	0,00045	0,00053	0,00053	0,00053
2	0,00038	0,00038	0,00038	0,00031	0,00038	0,00038	0,00038	0,00031	0,00031
5	0,00021	0,00021	0,00023	0,00019	0,00019	0,00019	0,00019	0,00017	0,00019
8	0,00019	0,00023	0,00019	0,00017	0,00017	0,00017	0,00017	0,00015	0,00015
14	0,00013	0,00014	0,00011	0,00011	0,00014	0,00013	0,00011	0,00010	0,00011
18	0,00013	0,00013	0,00014	0,00011	0,00013	0,00011	0,00009	0,00009	0,00011
总计	0,1035	0,105	0,099	0,0915	0,1005	0,099	0,0975	0,0915	0,096
涂漆质量	7,38	7,29	6,09	6,53	7,46	7,94	7,26	7,50	8,87
AMC-109 质量	0,3801	0,3754	0,3136	0,3363	0,3842	0,4089	0,3739	0,3863	0,4568
回收(%)	27,2	28,0	31,6	27,2	26,2	24,2	26,1	23,7	21,0

[0551] 将提取的AMC-109量转换为可提取量/h(mg/h),以补偿不均匀的采样率。

[0552] 原始数据显示在下表J中。

[0553] 表J.原始数据:不同时间点处提取物中的AMC-109含量(mg/ml)(第2-9行);总回收(mg)(即提取的AMC-109总量(mg);第10行);%回收(到第18天从涂漆提取(释放)的涂漆中AMC-109的百分比;第11行);可提取量(mg/h)(第13-20行),涂层质量(mg)(第23行);以及涂层中AMC-109的计算质量(mg)(第24行)。

[0554]

	总时间(d)	时间差(h)	Tecoflex + AMC	Tecoflex + AMC	Tecoflex + AMC	Tecoflex + AMC + PEG400	Tecoflex + AMC + PEG400	Tecoflex + AMC + PEG400	Tecoflex + AMC + PEG1000	Tecoflex + AMC + PEG1000	Tecoflex + AMC + PEG1000
原始数据(mg/ml)	0,0067	0,16	0,014	0,013	0,011	0,011	0,012	0,013	0,013	0,013	0,013
	0,1316	3	0,003	0,003	0,003	0,004	0,005	0,005	0,005	0,005	0,005
	0,965	20	0,007	0,006	0,006	0,006	0,006	0,006	0,007	0,007	0,007
	2	24	0,006	0,006	0,006	0,005	0,006	0,006	0,006	0,005	0,005
	5	72	0,010	0,010	0,011	0,009	0,009	0,009	0,009	0,008	0,009
	8	72	0,009	0,011	0,009	0,008	0,008	0,008	0,008	0,007	0,007
	14	144	0,012	0,013	0,011	0,011	0,013	0,012	0,011	0,010	0,011
	18	96	0,008	0,008	0,009	0,007	0,008	0,007	0,006	0,006	0,007
总回收(mg)			0,1035	0,105	0,099	0,0915	0,1005	0,099	0,0975	0,0915	0,096
回收(%)			27,2	28,0	31,6	27,2	26,2	24,2	26,1	23,7	21,0

[0555]

可提取量(mg/h)	0,0067		0,13125	0,12188	0,10313	0,10313	0,11250	0,12188	0,12188	0,12188	0,12188
	0,1316		0,00150	0,00150	0,00150	0,00200	0,00250	0,00250	0,00250	0,00250	0,00250
	0,965		0,00053	0,00045	0,00045	0,00045	0,00045	0,00045	0,00053	0,00053	0,00053
	2		0,00038	0,00038	0,00038	0,00031	0,00038	0,00038	0,00038	0,00031	0,00031
	5		0,00021	0,00021	0,00023	0,00019	0,00019	0,00019	0,00019	0,00017	0,00019
	8		0,00019	0,00023	0,00019	0,00017	0,00017	0,00017	0,00017	0,00015	0,00015
	14		0,00013	0,00014	0,00011	0,00011	0,00014	0,00013	0,00011	0,00010	0,00011
	18		0,00013	0,00013	0,00014	0,00011	0,00013	0,00011	0,00009	0,00009	0,00011
提取体积(ml)	1,5										
样品编号			1	2	3	4	5	6	7	8	9
涂漆质量(mg)			7,38	7,29	6,09	6,53	7,46	7,94	7,26	7,50	8,87
涂漆中AMC-109质量(mg)			0,3801	0,3754	0,3136	0,3363	0,3842	0,4089	0,3739	0,3863	0,4568

[0556] 在水提取18天后停止实验,并使用改进的AATCC-100方法对涂漆样品进行微生物学测试。此时,涂漆样品在涂漆层中损失了约30%的AMC-109。

[0557] 抗定植功效

[0558] 使用改进的AATCC-100方法评估18天连续水提取后针对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的抗定植功效。在此方法中,将细菌接种物直接放置在涂漆样品的表面上,并在37℃下温育24小时。通过确定温育结束时的菌落形成单位(CFU)数来测量对接种物的抗微生物效果。

[0559] 针对金黄色葡萄球菌的抗定殖功效的结果示于下表K中。

[0560] 表K.通过改进的AATCC-100方法确定的针对金黄色葡萄球菌的抗定植功效。

[0561]

样品类型	*菌落形成单位*
AMC-109	**0**
AMC-109 + PEG400	**0**
AMC-109 + PEG1000	**0**
Tecoflex	**$7.0x10^7$**

[0562]

仅材料	**$7.1x10^7$**

[0563] 表K中的结果表明,在暴露于水至少18天后,用涂有含有AMC-109的TPU涂漆的表面仍然不能被金黄色葡萄球菌定植。

[0564] 针对大肠杆菌的抗定殖功效的结果显示在下表L中。

[0565] 表L.通过改进的AATCC-100方法确定的针对大肠杆菌的抗定植功效。

[0566]

样品类型	菌落形成单位
AMC-109	0

AMC-109+PEG400	0,0,8.2x10^{7*}
AMC-109+PEG1000	0
对照	8.4x10^{7}

[0567] *异常值可能是由于测试样品之一(三个重复样品之一)的表面涂漆不完整(不完整涂覆)造成的。

[0568] 表L中的结果表明,在暴露于水至少18天后,涂有含有AMC-109的TPU涂漆的表面仍然无法被大肠杆菌定植。

[0569] 为避免疑义,表K和L中的“AMC-109”样品类型是涂有上面“样品材料”部分第一项中描述的含有AMC-109的TPU涂漆的样品。表K和表L中的“AMC-109+PEG400”样品类型是涂有上面“样品材料”部分第二项中描述的含有AMC-109的TPU涂漆的样品。表K和表L中的“AMC-109+PEG1000”样品类型是涂有上面“样品材料”部分第三项中描述的含有AMC-109的TPU涂漆的样品。表K中的“Tecoflex”样品类型是涂有仅有Tecoflex的涂漆的样品(即涂漆中不含AMC-109)。表K中的“仅材料”样品类型是未涂漆样品(即未涂漆的Tecoflex材料)。表L中的“对照”样品类型是涂有仅有Tecoflex的涂漆的样品(即涂漆中不含AMC-109)。

[0570] 结论

[0571] 水提取实验的目的是模拟装置经历连续18天水流的情况。结果表明,平均而言,在此期间提取的AMC-109含量略低于30%。在总提取量中,到10min释放了12-15%,而其余部分(85-88%)在提取期间的其余时间以几乎恒定的速率缓慢释放。数据表明,用含有AMC-109的TPU涂漆涂刷完全能够阻碍涂漆表面的细菌定植,即使在连续冲洗近3周后也是如此。

[0572] 本研究的主要结果是:

[0573] • 含有AMC-109的Tecoflex薄膜可以使用浸渍技术施加在表面上。因此,可以用含有AMC-109的TPU涂漆对材料表面进行涂漆,以提供具有涂漆表面的材料。

[0574] • 目前AMC-109的释放(或提取)在前10分钟内是最大的,并且稳定在一个低但稳定的水平,持续至少18天。

[0575] • 含有AMC-109的TPU薄膜(或涂漆层)的表面在至少18天的时间段内不会被金黄色葡萄球菌或大肠杆菌定殖。

[0576] • 质量平衡表明,平均而言,Tecoflex涂漆层中存在的AMC-109略低于30%会在18天内从材料中渗漏(即从材料中释放或提取),并且该量中的12-15%在10min内释放,其余部分以几乎恒定的速率缓慢渗漏。因此,数据表明AMC-109随着时间的推移持续释放。

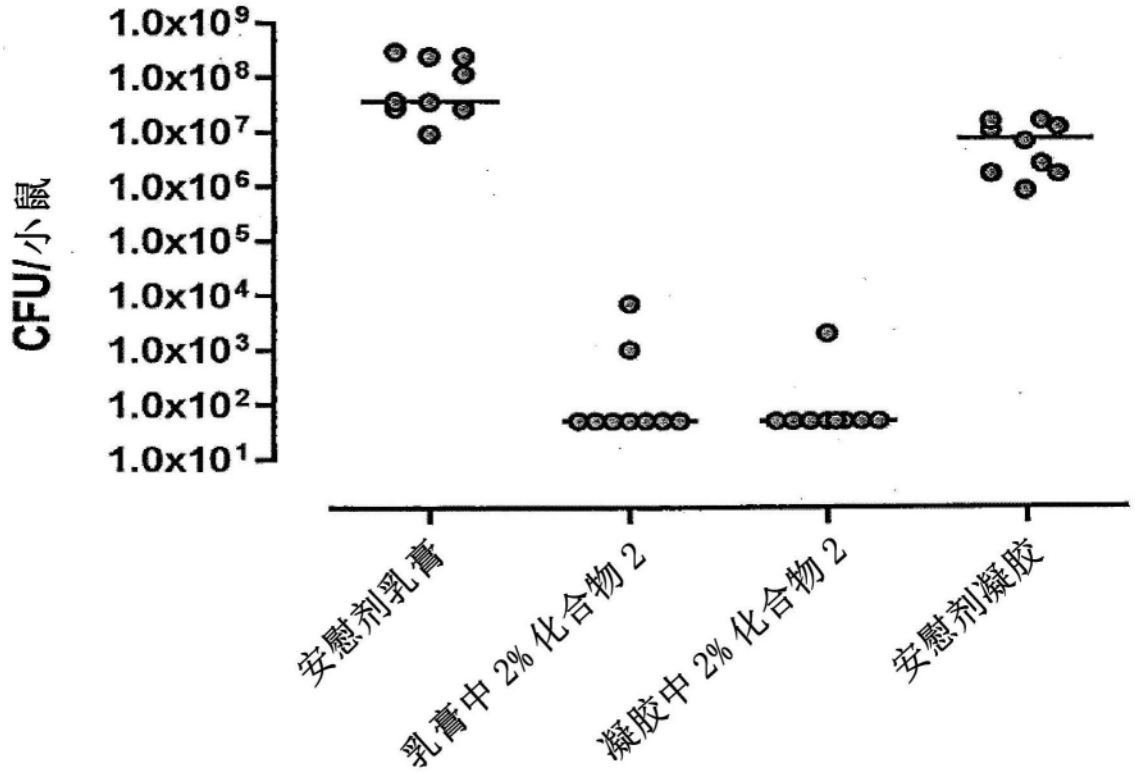

CFU/小鼠
1.0x10⁹
1.0x10⁸
1.0x10⁷
1.0x10⁶
1.0x10⁵
1.0x10⁴
1.0x10³
1.0x10²
1.0x10¹
安慰剂乳膏
乳膏中 2% 化合物 2
凝胶中 2% 化合物 2
安慰剂凝胶

图1

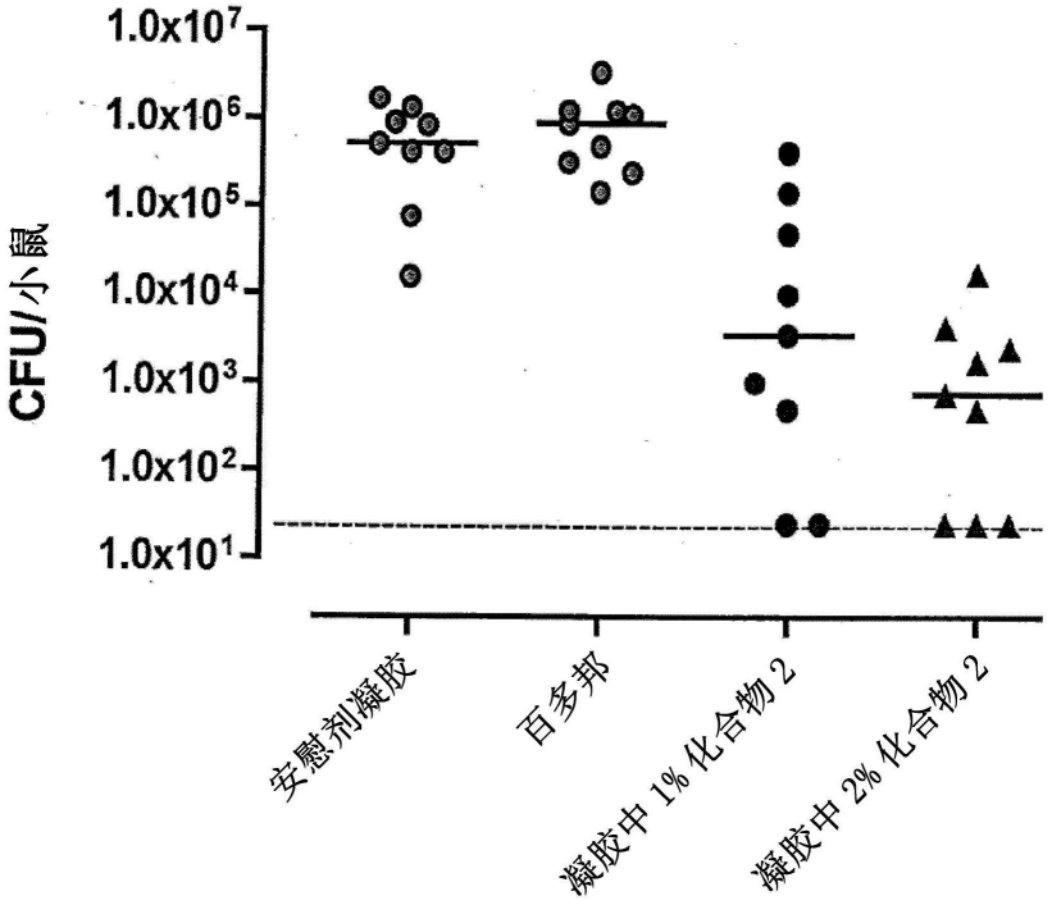

1.0x10⁷
1.0x10⁶
1.0x10⁵
1.0x10⁴
1.0x10³
1.0x10²
1.0x10¹
CFU/小鼠
安慰剂凝胶
百多邦
凝胶中 1% 化合物 2
凝胶中 2% 化合物 2

图2

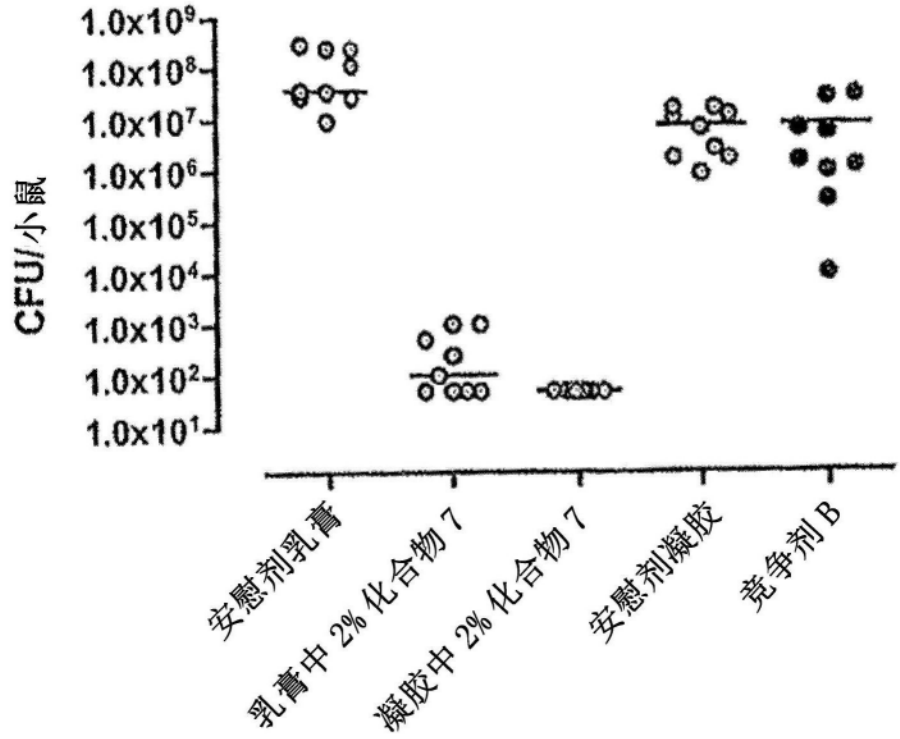

1.0x10⁹
1.0x10⁸
1.0x10⁷
1.0x10⁶
1.0x10⁵
1.0x10⁴
1.0x10³
1.0x10²
1.0x10¹
CFU/小鼠
安慰剂乳膏
乳膏中 2% 化合物 7
凝胶中 2% 化合物 7
安慰剂凝胶
竞争剂 B

图3

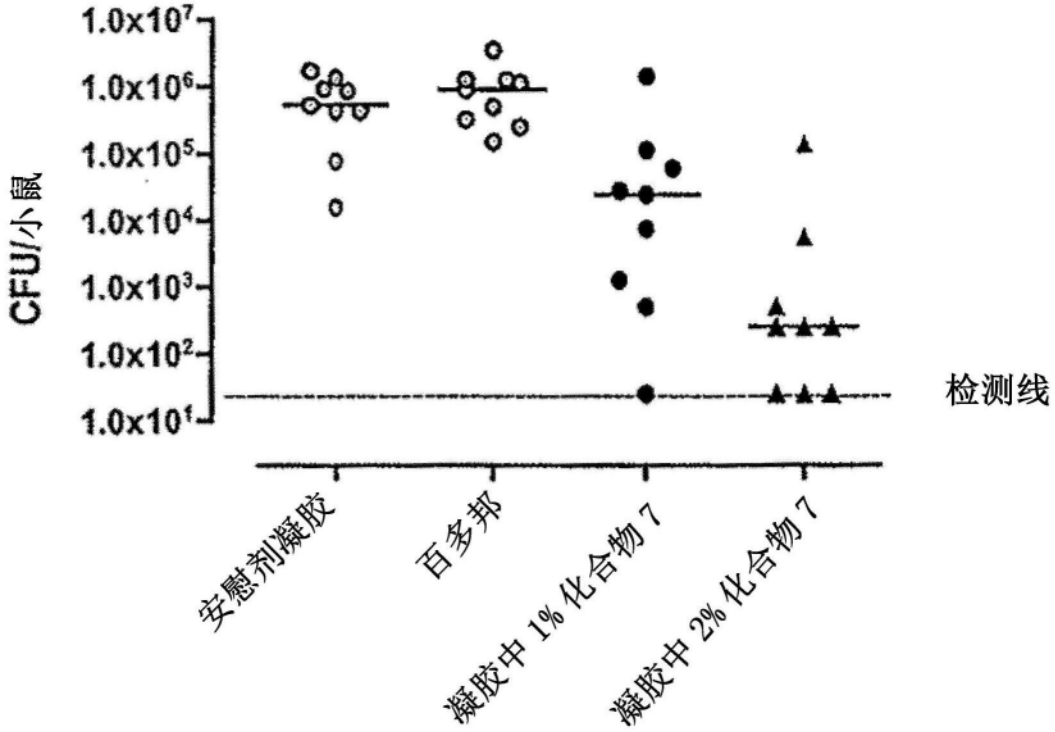

1.0x10⁷
1.0x10⁶
1.0x10⁵
1.0x10⁴
1.0x10³
1.0x10²
1.0x10¹
CFU/小鼠
检测线
安慰剂凝胶
百多邦
凝胶中 1% 化合物 7
凝胶中 2% 化合物 7

图4

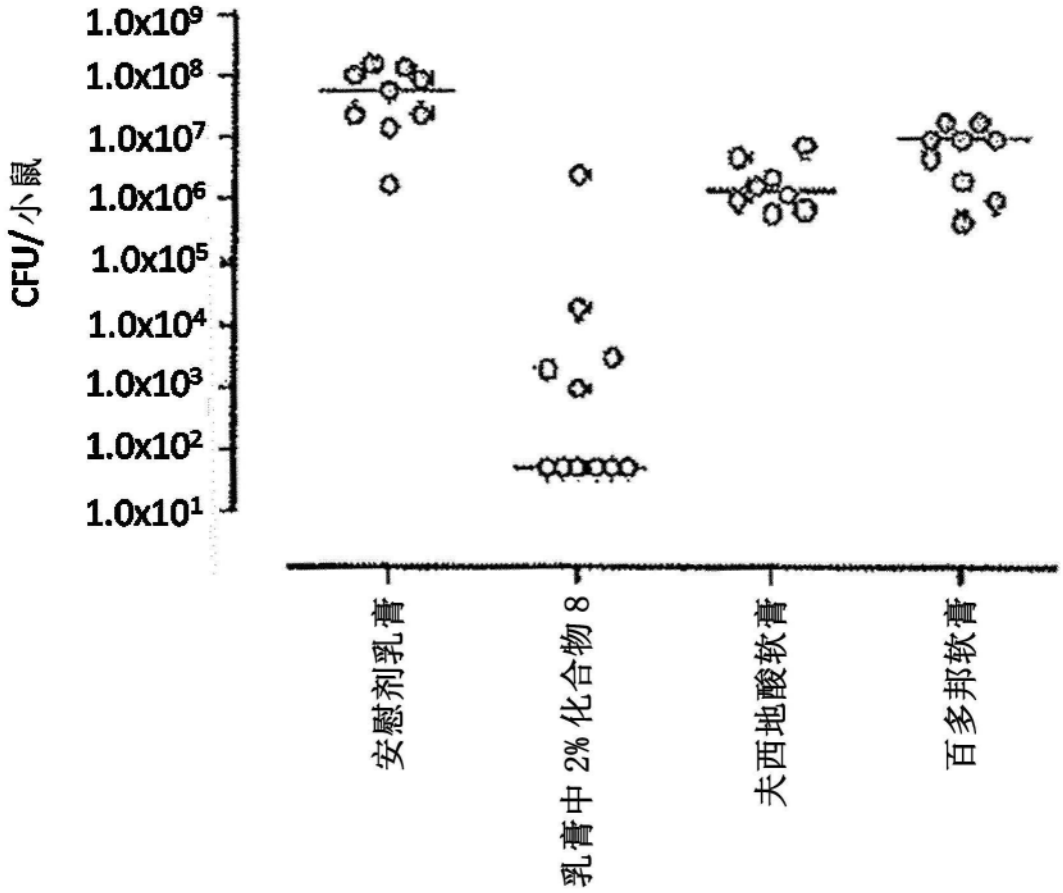

CFU/小鼠
1.0x10⁹
1.0x10⁸
1.0x10⁷
1.0x10⁶
1.0x10⁵
1.0x10⁴
1.0x10³
1.0x10²
1.0x10¹
安慰剂乳膏
乳膏中 2% 化合物 8
夫西地酸软膏
百多邦软膏

图5

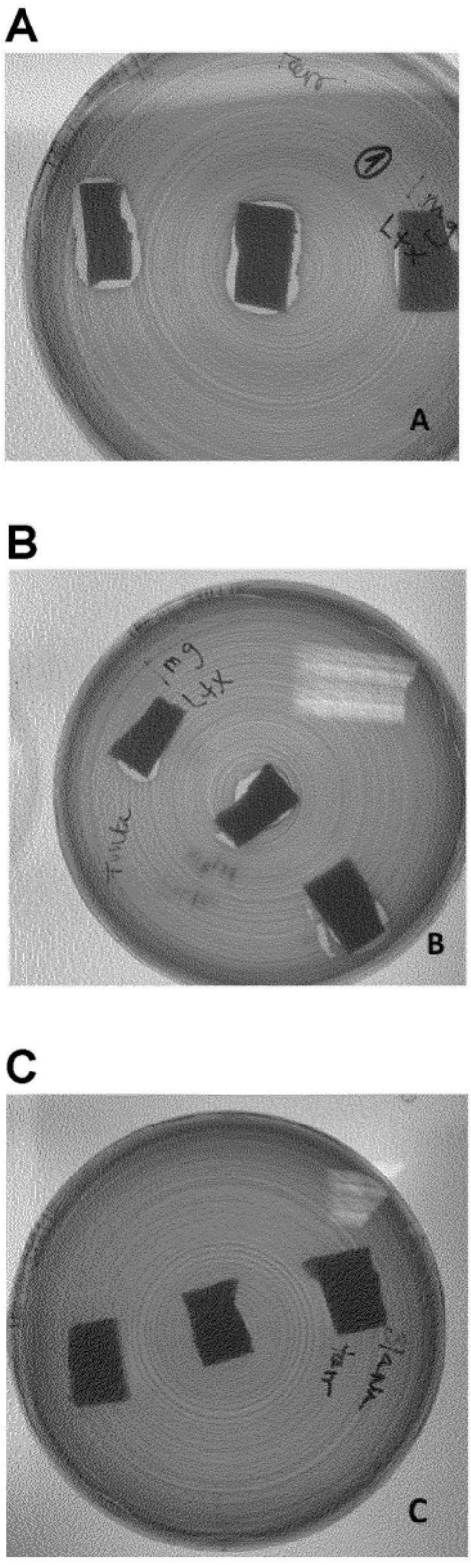


图6

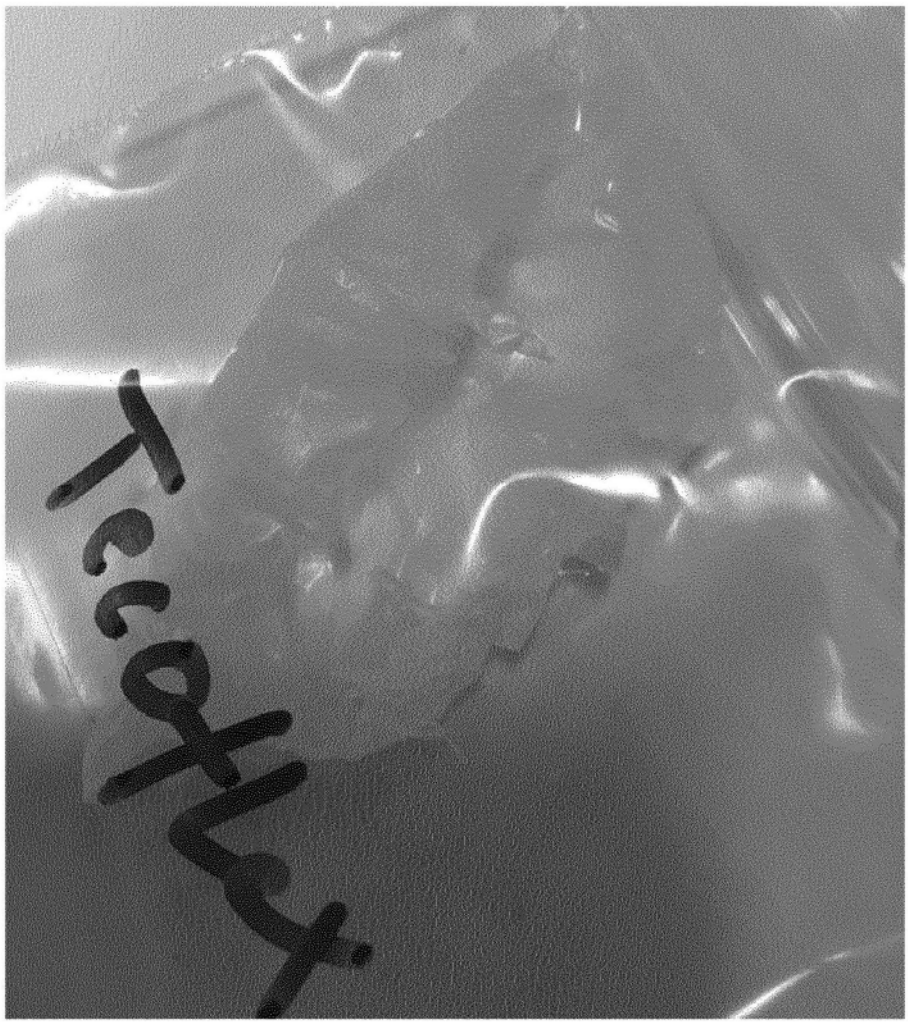


图7