



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102724973 B

(45) 授权公告日 2014. 08. 27

(21) 申请号 201080060119. 8

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2010. 10. 29

A61K 31/10 (2006. 01)

(30) 优先权数据

A61K 31/437 (2006. 01)

61/259, 098 2009. 11. 06 US

A61K 39/085 (2006. 01)

61/294, 437 2010. 01. 12 US

61/257, 751 2009. 11. 03 US

61/256, 935 2009. 10. 30 US

(56) 对比文件

CN 1123141 A, 1996. 05. 29, 说明书全文.

CN 1282577 A, 2001. 02. 07, 说明书全文.

US 4559329, 1985. 12. 17, 说明书全文.

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2012. 06. 29

审查员 封明艳

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2010/054837 2010. 10. 29

(87) PCT国际申请的公布数据

W02011/053848 EN 2011. 05. 05

(73) 专利权人 生物基因创新有限责任公司

地址 美国华盛顿州

(72) 发明人 R·本杰明 J·瓦雷尔曼 A·凯勒

(74) 专利代理机构 北京北翔知识产权代理有限公司

11285

代理人 张广育 姜建成

权利要求书2页 说明书68页 附图7页

(54) 发明名称

用于处理药物抗性微生物的甲基磺酰甲烷
(MSM)

(57) 摘要

本发明中的实施方案在广义上涉及含甲基磺酰甲烷(MSM)和一种或多种试剂的组合物用于处理药物敏感的和药物抗性微生物的用途。在数个实施方案中,这种组合物可有效治疗药物抗性感染性疾病,例如 MRSA。

1. 一种组合物用于制备抑制甲氧苯青霉素抗性金黄色葡萄球菌的药剂的用途,其中所述组合物含有治疗有效量的甲基磺酰甲烷和治疗有效量的抑制药物敏感形式的所述甲氧苯青霉素抗性金黄色葡萄球菌的青霉素衍生物、头孢菌素、青霉烯、单酰胺菌素、碳青霉烯、 β -内酰胺酶抑制剂或其中两种或两种以上的组合,

其中所述青霉素衍生物选自氨基青霉素、羧基青霉素、脲基类青霉素、甲亚胺青霉素、磺苄青霉素、苄星青霉素、苄青霉素、苯氧甲基青霉素、烯丙基巯基甲基青霉素、普鲁卡因青霉素、苯唑西林、甲氧苯青霉素、乙氧萘胺青霉素、邻氯青霉素、双氯青霉素、氟氯青霉素、呋氨苄青霉素、缩酮氯苄青霉素、巴氨西林、甲烯氨苄青霉素、酞氨苄青霉素、阿莫西林+克拉维酸、或者氧哌嗪青霉素,

所述头孢菌素选自头孢菌素 IV、头孢菌素 I、头孢唑啉、羟氨头孢菌素、呋肟头孢菌素、羟唑头孢菌素、头孢替坦、甲氧噻吩头孢菌素、氨唑头孢菌素、氨噻三嗪头孢菌素、氨噻肟头孢菌素、头孢泊肟、噻甲羧肟头孢菌素、头孢吡肟、哌酮头孢菌素、去甲噻肟头孢菌素、头孢克肟或头孢匹罗,

所述青霉烯选自法罗培南,

所述单酰胺菌素选自噻肟单酰胺菌素或替吉莫南,

所述碳青霉烯选自 biapenem、dorzipenem、尔他培南、亚胺培南、美罗培南或帕尼培南,

所述 β -内酰胺酶抑制剂选自三唑巴坦、舒巴克坦或克拉维酸,

并且其中所述抑制包括:

选择甲氧苯青霉素抗性的金黄色葡萄球菌;并且

使所述甲氧苯青霉素抗性金黄色葡萄球菌与所述药剂接触,以此抑制所述甲氧苯青霉素抗性金黄色葡萄球菌。

2. 一种组合物用于制备使甲氧苯青霉素抗性金黄色葡萄球菌对所述甲氧苯青霉素抗性金黄色葡萄球菌所抗药物敏感的药剂的用途,其中所述组合物含有治疗有效量的 MSM,并且其中所述致敏包括

选择甲氧苯青霉素抗性金黄色葡萄球菌;并且

使所述甲氧苯青霉素抗性金黄色葡萄球菌与所述药剂接触,以此使所述甲氧苯青霉素抗性金黄色葡萄球菌对所述甲氧苯青霉素抗性金黄色葡萄球菌所抗药物敏感。

3. 权利要求 1 的用途,其中所述青霉素衍生物为甲氧苯青霉素或苯唑西林。

4. 权利要求 1、2 或 3 的用途,其中所述有效量的 MSM 是 5-20% MSM,并且其中% MSM 为所述组合物中含 MSM 的重量百分数。

5. 权利要求 4 的用途,其中所述有效量的 MSM 是 5-16% MSM,并且其中% MSM 为所述组合物中含 MSM 的重量百分数。

6. 权利要求 4 的用途,其中所述有效量的 MSM 是 5-10% MSM,并且其中% MSM 为所述组合物中含 MSM 的重量百分数。

7. 权利要求 4 的用途,其中所述有效量的 MSM 是 5-8% MSM,并且其中% MSM 为所述组合物中含 MSM 的重量百分数。

8. 权利要求 4 的用途,其中所述有效量的 MSM 是 9-16% MSM,并且其中% MSM 为所述组合物中含 MSM 的重量百分数。

9. 权利要求 4 的用途,其中所述有效量的 MSM 是 10-15% MSM,并且其中% MSM 为所述

组合物中含 MSM 的重量百分数。

10. 权利要求 1、2 或 3 的用途,其中所述有效量的 MSM 是 5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15 或 16% MSM,并且其中% MSM 为所述组合物中含 MSM 的重量百分数。

11. 权利要求 4 的用途,其中所述有效量的 MSM 是 5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15 或 16% MSM,并且其中% MSM 为所述组合物中含 MSM 的重量百分数。

12. 权利要求 1、2 或 3 的用途,其中所述有效量的 MSM 是 5-10% MSM,并且其中% MSM 为所述组合物中含 MSM 的重量百分数。

13. 权利要求 1 或 2 的用途,其中所述甲氧苯青霉素抗性金黄色葡萄球菌在表面上。

14. 权利要求 1 或 2 的用途,其中所述甲氧苯青霉素抗性金黄色葡萄球菌在受试者内。

15. 权利要求 1 或 2 的用途,其中所述药剂被外用。

16. 权利要求 1 或 2 的用途,其中所述药剂经吸入装置给药。

17. 权利要求 1 或 2 的用途,其中所述甲氧苯青霉素抗性金黄色葡萄球菌与所述药剂接触 24、36、48、60、72、84、96、108 或 120 小时。

18. 权利要求 1 或 2 的用途,其中所述组合物含有 0-5%的氯化钠。

用于处理药物抗性微生物的甲基磺酰甲烷 (MSM)

[0001] 相关专利申请的交叉引用

[0002] 本申请要求 2009 年 10 月 30 日提交的美国临时申请 No. 61/256, 935、2009 年 11 月 3 日提交的美国临时申请 No. 61/257, 751、2009 年 11 月 6 日提交的美国临时申请 No. 61/259, 098 以及 2010 年 1 月 12 日提交的美国临时申请 No. 61/294, 437 的优先权, 这些临时申请的每一篇在此以引用的方式全文纳入本文。

技术领域

[0003] 本发明在广义上涉及含甲基磺酰甲烷 (MSM) 组合物用于治疗药物抗性感染疾病。一些实施方案涉及使药物抗性微生物对药物敏感。例如, 本文公开的数种组合物可用于治疗 MRSA。

背景技术

[0004] 甲基磺酰甲烷 (MSM; $(\text{CH}_3)_2\text{SO}_2$) 又称为二甲基砜, 是一种有机硫化合物, 是 DMSO 和一些含硫氨基酸的代谢产物。MSM 在市场上主要用作食品添加剂。

[0005] 感染性疾病是一种由病原微生物媒介, 包括病毒、细菌、真菌、寄生虫和朊病毒 (prion) 等引起的疾病。尽管在药物治疗中对感染性疾病有一定的改善 (抗生素和疫苗), 但降低感染性疾病引起的死亡率还有许多障碍。主要的问题是药物抗性病原体的出现和传播。

[0006] 甲氧苯青霉素抗性的金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*, MRSA) 是一种药物抗性细菌病原体, 在医院中尤其麻烦, 开放伤口、侵入性装置 (invasive devices) 和免疫系统弱的患者比普通公众的感染风险高。因此, 需要一种针对药物抗性感染疾病的有效且方便给药的治疗物。

发明内容

[0007] 本文所述的意外发现是 MSM 使药物抗性细菌病原体——包括 MRSA——对它们所抗的药物敏感。因此, 意外的是, 药物抗性细菌病原体能够通过将所述病原体与 MSM 接触使之对所述病原体所抗的药物敏感, 并且能够通过使病原体与 MSM 和它们本来有抗性的药物接触而受到抑制。

[0008] 因此, 本发明提供了一种抑制药物抗性细菌病原体的方法, 所述方法包括选择一种药物抗性细菌病原体; 并使细菌病原体与含有治疗有效量的 MSM 和治疗有效量的抑制药物敏感形式的药物抗性细菌病原体的试剂的组合物接触, 以此抑制药物抗性细菌病原体。在一些实施方案中, 药物抗性细菌病原体是 MRSA。

[0009] 还提供了一种使药物抗性细菌病原体对它们所抗药物敏感的方法, 所述方法包括选择药物抗性细菌病原体; 并使所述细菌病原体与含有治疗有效量的 MSM 的组合物接触, 以此使所述药物抗性细菌病原体对它们所抗药物敏感。在一些实施方案中, 所述药物抗性细菌病原体是 MRSA。

[0010] 本发明还提供了一种抑制药物敏感的细菌病原体产生药物抗性的方法,所述方法包括选择药物敏感的细菌病原体;使所述药物敏感的细菌病原体与含有治疗有效量的 MSM 和治疗有效量的抑制所述药物敏感的细菌病原体的试剂的组合物接触,以此抑制所述药物敏感的细菌病原体形成药物抗性。在一些实施方案中,所述药物敏感的细菌病原体是金黄色葡萄球菌。

[0011] 本发明所述方法的多种实施方案中,所述细菌病原体是在受试者体内(或受试者上)。在一些实施方案中,所述组合物被外用或用吸入装置给药至所述受试者。

[0012] 在一些实施方案中,所述试剂是 β -内酰胺(β -lactam)类抗生素。

[0013] 在多种实施方案中,所述有效量的 MSM 是约 5-20%MSM、约 5-16%MSM、约 5-10%MSM、约 5-8%MSM、约 9-16%MSM 或约 10-15%MSM。MSM (组合物中含 MSM 的重量百分比)。

[0014] 在抑制药物抗性细菌病原体的方法的一个具体实施方案中,所述细菌病原体是 MRSA,所述试剂是 β -内酰胺类抗生素,所述有效量的 MSM 是约 5-10 重量百分比 %MSM,组合物是外用。

[0015] 在使药物抗性细菌病原体对它们所抗药物敏感的方法的一个具体实施方案中,所述细菌病原体是 MRSA,所述有效量的 MSM 是约 5-10 重量百分比 %MSM,并且组合物被外用。

[0016] 在抑制药物抗性细菌病原体形成药物抗性的方法的一个具体实施方案中,所述细菌病原体是金黄色葡萄球菌,所述试剂是 β -内酰胺类抗生素,所述有效量的 MSM 是约 5-10%MSM,所述组合物被外用。

[0017] 可以进一步理解的是,本公开中使细菌病原体敏感或抑制细菌病原体的方法可用于在此处详述的情况以外,例如预计可用于任何数目的以下情况:其中细菌病原体已经产生药物抗性或希望抑制药物敏感的细菌病原体产生药物抗性。

附图说明

[0018] 图 1. 显示了 MSM 使 MRSA 对苯唑西林(oxacillin)敏感。ATCC 菌株 43300 金黄色葡萄球菌(一个对苯唑西林和甲氧苯青霉素有抗性的 MRSA 菌株)的体外存活率在 MSM、DMSO 和苯唑西林存在的情况下进行测试。将 ATCC 菌株 43300 金黄色葡萄球菌以 5-16%MSM 和 6 μ g/ml 苯唑西林(“MA”)、5-16%MSM、6 μ g/ml 苯唑西林和 1%DMSO (“MDA”) 或者 1%DMSO 和 6 μ g/ml 苯唑西林(“DA”)在 25°C 下孵育 48 小时。6 μ g/ml 苯唑西林是对该株 MRSA(ATCC)的 MIC。细菌的起始接种量是 3.15×10^7 cfu/ml(对数值 =7.49)。在 24 小时期间测试中,所有测试条件都显示 cfu/ml 下降。阳性对照在 10^7 稀释度平板上显示 TNTC (太多而无法计数)。在 9-16%MSM 和 6 μ g/ml 苯唑西林下比在 1%DMSO 和 6 μ g/ml 苯唑西林下或在 1%DMSO、9-16%MSM 和 6 μ g/ml 苯唑西林下观察到更低的存活率。最低存活率出现在 12 和 13%MSM 与 6 μ g/ml 抗生素条件下。这些结果表明,一些浓度的 MSM 单独可以比 DMSO 或者 MSM 和 DMSO 的结合物更有效地增加 MRSA 菌株对抗生素的敏感性。

[0019] 图 2. 显示了 MSM 在模拟疗程中使 MRSA 对苯唑西林敏感。ATCC 菌株 43300 金黄色葡萄球菌(一个对苯唑西林和甲氧苯青霉素有抗性的 MRSA 菌株)的体外存活率在 MSM 和苯唑西林存在的情况下进行测试。将 ATCC 菌株 43300 金黄色葡萄球菌以 5-16%MSM 和 6 μ g/ml 苯唑西林在 25°C 下孵育 24 小时。24 小时后,向孵育物中再加入 6 μ g/ml 苯唑西林,将苯唑西林的总量增加至 12 μ g/ml。6 μ g/ml 是该株 MRSA 的 MIC。因此,使所述细菌在 MIC 的

苯唑西林下 24 小时,在 $2\times\text{MIC}$ 下继续 24 小时。该实验模型模拟对受试者重复施用在疗程中将接受的抗生素。细菌的起始接种量是 $9.14\times 10^5\text{cfu/ml}$ (对数值 =5.96)。阳性对照在 10^5 稀释度平板显示 TNTC。类似于图 1 所示结果,最低存活率出现在存在 12 和 13%MSM 时。这些结果证实了 MSM 使 MRSA 对抗生素治疗敏感,并且表明模拟疗程中一些浓度的 MSM 单独可以增加 MRSA 菌株对抗生素的敏感性。

[0020] 图 3A-C. 显示了 MSM 使 MRSA 对多种抗生素敏感。ATCC 菌株 43300 金黄色葡萄球菌(一个对苯唑西林和甲氧苯青霉素有抗性的 MRSA 菌株)的体外存活率在 MSM 和苯唑西林或者 MSM 和甲氧苯青霉素存在的情况下进行测试。将 ATCC 菌株 43300 金黄色葡萄球菌以 5-16%MSM 和 $6\mu\text{g/ml}$ 苯唑西林或 $6\mu\text{g/ml}$ 甲氧苯青霉素的结合物孵育。细菌的起始接种量是 $2.13\times 10^6/\text{ml}$ (对数值 =6.3)。所测试的生长期间是 24 小时(图 3A)、48 小时(图 3B)和 5 天(图 3C)。这是苯唑西林和甲氧苯青霉素对该株细菌的 MIC。每天再加入 3.5%MSM,并且再加入 $6\mu\text{g/ml}$ 苯唑西林或 $6\mu\text{g/ml}$ 甲氧苯青霉素。在第 24 小时,5%MSM 和抗生素显示了最低水平的细菌存活率。在第 48 小时,5%MSM 和甲氧苯青霉素或者 8%MSM 和苯唑西林显示了最低水平的细菌存活率。在第 5 天,13-16%MSM 和抗生素显示了最低水平的细菌存活率。总之,这些结果显示了 MSM 增加了该 MRSA 菌株对苯唑西林和甲氧苯青霉素的敏感性。

[0021] 图 4. 显示了 MSM 使 MRSA 对多个浓度的苯唑西林敏感。ATCC 菌株 43300 金黄色葡萄球菌(一个对苯唑西林和甲氧苯青霉素有抗性的 MRSA 株)的体外存活率在 MSM 和苯唑西林存在的情况下进行测试。用三个不同浓度的苯唑西林进行测试,分别对应于每种抗生素对该株 MRSA 的 2 倍、5 倍和 10 倍 MIC。将 ATCC 株 43300 金黄色葡萄球菌以 5-16%MSM 和所标明量的抗生素在 25°C 下孵育 24 小时。因此,所述细菌是在 $2\times$ 、 $5\times$ 或 $10\times\text{MIC}$ 浓度的苯唑西林下 24 小时。细菌的起始接种量是 $3.3\times 10^5/\text{ml}$ (对数值 =5.52)。在此时间点,较低浓度 MSM 和抗生素比较高浓度 MSM 对细菌存活率有更大的效应。但是,总之,这些结果证实了 MSM 可使 MRSA 对苯唑西林敏感。

[0022] 图 5. 显示了 MSM 使 MRSA 对多个浓度甲氧苯青霉素敏感。ATCC 株 43300 金黄色葡萄球菌(一个对苯唑西林和甲氧苯青霉素有抗性的 MRSA 株)的体外存活率在 MSM 和甲氧苯青霉素存在的情况下进行测试。用三个不同浓度的甲氧苯青霉素进行测试,分别对应于每种抗生素对该株 MRSA 的 2 倍、5 倍和 10 倍 MIC。将 ATCC 株 43300 金黄色葡萄球菌以 5-16%MSM 和所标明量的抗生素在 25°C 下孵育 24 小时。因此,所述细菌是在 $2\times$ 、 $5\times$ 或 $10\times\text{MIC}$ 浓度的甲氧苯青霉素下 24 小时。细菌的起始接种量是 $1.49\times 10^5/\text{ml}$ (对数值 =5.17)。在此时间点,较低浓度 MSM 和抗生素比较高浓度 MSM 对细菌存活率有更大的效应。总之,这些结果证实了 MSM 可使 MRSA 对甲氧苯青霉素敏感。

具体实施方式

[0023] I. 术语和缩略词

[0024]

CFU:	菌落形成单位
DMEM:	Dulbecco 改良的 eagle 培养基
DMSO:	二甲基亚砷
DNA:	脱氧核糖核苷酸
ELISA:	酶联免疫吸附测定
IC₅₀:	50%抑制浓度
LAB:	乳酸菌
MDSA:	多药抗性金黄色葡萄球菌
MDR:	多药抗性
MIC:	最小抑制浓度
MRSA:	甲氧苯青霉素抗性金黄色葡萄球菌
MSM:	甲基磺酰甲烷
OSRA:	苯唑西林抗性金黄色葡萄球菌
PAGE:	聚丙烯酰胺凝胶电泳
PBP	青霉素结合蛋白
PBS:	磷酸盐缓冲盐水
PDA:	马铃薯葡萄糖琼脂

[0025]

SDS:	十二烷基硫酸钠
TNTC:	太多而无法计数
TSB:	胰蛋白酶大豆肉汤

[0026] 提供下述对术语和方法的解释以更好地描述本发明并且以指导本领域普通技术人员实施本发明。单数形式的“一(a)”、“一种(an)”和“该(the)”是指一个或超过一个，文中另有标明除外。例如，术语“包含一个细菌细胞”包括单数或复数的细菌细胞，视为等价于短语“包含至少一个细菌细胞”。术语“或”是指所述的供选要素中的单个要素或者两个或多个要素的结合物，文中清楚地标明除外。本文所用的“包含”意为“包括”。因此，“包含 A 或 B”意为“包括 A、B 或者同时 A 和 B”，不排除另外的要素。

[0027] 除非另有说明，本文所用的所有技术和科学术语与本公开所属领域普通技术人员通常理解相同的意义。虽然与本文所述类似或等同的方法和材料可以用于实施或测试本发明，但下文描述了合适的方法和材料。所述材料、方法和实例仅示例性的而不是意欲进行限定。例如，本发明所属领域中公知的常规方法在多篇总括性的和更具体的参考文献中有所描述，所述参考文献包括例如 Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 第二版, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989; Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 第三版, Cold Spring Harbor

Press, 2001; Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing Associates, 1992 (and Supplements to 2000); Ausubel et al., Short Protocols in Molecular Biology: A Compendium of Methods from Current Protocols in Molecular Biology, 第四版, Wiley & Sons, 1999; Harlow and Lane, Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1990 以及 Harlow and Lane, Using Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999; Loudon, Organic Chemistry, 第四版, New York: Oxford University Press, 2002, pp. 360-361, 1084-1085; Smith and March, March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure, 第五版, Wiley-Interscience, 2001 或 Vogel, A Textbook of Practical Organic Chemistry, Including Qualitative Organic Analysis, 第四版, New York: Longman, 1978。

[0028] 分子遗传学常用的其它术语可以从 Benjamin Lewin, Genes V, Oxford University 出版社出版, 1994 (ISBN 0-19-854287-9); Kendrew et al. (eds.), The Encyclopedia of Molecular Biology, Blackwell Science Ltd. 出版, 1994 (ISBN 0-632-02182-9) 和 Robert A. Meyers (ed.), Molecular Biology and Biotechnology: a Comprehensive Desk Reference, VCH 出版社出版, Inc., 1995 (ISBN 1-56081-569-8) 中查得。

[0029] 化学常用的其它术语可以从 Loudon, Organic Chemistry, 第四版, New York: Oxford University Press, 2002, pp. 360-361, 1084-1085; Smith and March, March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure, 第五版, Wiley-Interscience, 2001 或 Vogel, A Textbook of Practical Organic Chemistry, Including Qualitative Organic Analysis, 第四版, New York: Longman, 1978 中查得。

[0030] 给药: 通过有效途径向受试者、细胞或表面提供或给以化合物或试剂例如 MSM, 或含有化合物或试剂例如 MSM 的组合物。向表面的示例性给药途径包括将试剂或含有试剂的组合物喷雾或擦拭至表面。向受试者的示例性给药途径包括但不限于注射 (例如皮下注射、肌肉注射、真皮内注射、腹膜内注射和静脉注射)、口服、舌下给药、直肠给药、经皮肤给药 (例如外用)、鼻内给药、阴道给药和吸入途径给药。特定类型给药至受试者的方式包括外用或通过吸入方式给药至鼻粘膜或肺。

[0031] 试剂: 用于实现目的或结果的任何物质或任何物质结合物; 例如用于抑制细菌生长或存活物质或物质的组合。试剂的实例包括 MSM、DMSO 和 β -内酰胺类抗生素等。试剂包括抗微生物剂, 其可用于抑制微生物。抗生素剂可用于抑制细菌。

[0032] 细菌病原体: 可引起疾病的细菌 (致病菌)。可以用 MSM 缓解的致病菌的实例包括但不限于鲍曼不动杆菌 (*Acinetobacter baumannii*)、放线杆菌属 (*Actinobacillus* sp.)、放线菌 (*Actinomycetes*)、放线菌属 (*Actinomyces* sp.) (例如以色列放线菌 (*Actinomyces israelii*) 和内氏放线菌 (*Actinomyces naeslundii*))、气单胞菌属 (*Aeromonas* sp.) (例如嗜水气单胞菌 (*Aeromonas hydrophila*)、维罗纳气单胞菌温和生物变种 (*Aeromonas veronii* biovar *sobria*) (温和气单胞菌 (*Aeromonas sobria*)) 和豚鼠气单胞菌 (*Aeromonas caviae*))、嗜吞噬细胞无形体 (*Anaplasma phagocytophilum*)、木糖氧化产碱菌

(*Alcaligenes xylosoxidans*)、鲍曼不动杆菌(*Acinetobacter baumannii*)、伴放线菌放线杆菌(*Actinobacillus actinomycetemcomitans*)、杆菌属(*Bacillus* sp.) (例如炭疽杆菌(*Bacillus anthracis*)、蜡样杆菌(*Bacillus cereus*)、枯草杆菌(*Bacillus subtilis*)、苏芸金杆菌(*Bacillus thuringiensis*)和嗜热脂肪杆菌(*Bacillus stearothermophilus*))、拟杆菌属(*Bacteroides* sp.) (例如脆弱拟杆菌(*Bacteroides fragilis*))、巴尔通体属(*Bartonella* sp.) (例如杆菌状巴尔通体(*Bartonella bacilliformis*)和汉赛巴尔通体(*Bartonella henselae*))、双歧杆菌属(*Bifidobacterium* sp.)、博德特氏菌属(*Bordetella* sp.) (例如百日咳博德特氏菌(*Bordetella pertussis*)、副百日咳博德特氏菌(*Bordetella parapertussis*)和支气管败血性博德特氏菌(*Bordetella bronchiseptica*))、包柔氏螺旋体属(*Borrelia* sp.) (例如回归热包柔螺旋体(*Borrelia recurrentis*)和伯氏包柔氏螺旋体(*Borrelia burgdorferi*))、布鲁氏杆菌属(*Brucella* sp.) (例如流产布鲁氏杆菌(*Brucella abortus*)、犬布鲁氏菌(*Brucella canis*)、马尔他布鲁氏菌(*Brucella melitensis*)和猪流产布鲁氏杆菌(*Brucella suis*))、伯克氏菌属(*Burkholderia* sp.) (例如类鼻疽伯克氏菌(*Burkholderia pseudomallei*)和洋葱伯克氏菌(*Burkholderia cepacia*))、弯曲杆菌属(*Campylobacter* sp.) (例如空肠弯曲杆菌(*Campylobacter jejuni*)、结肠弯曲杆菌(*Campylobacter coli*)、红嘴鸥弯曲杆菌(*Campylobacter lari*)和胎儿弯曲杆菌(*Campylobacter fetus*))、噬碳酸菌属(*Capnocytophaga* sp.)、人心杆菌(*Cardiobacterium hominis*)、沙眼衣原体(*Chlamydia trachomatis*)、肺炎披衣菌(*Chlamydophila pneumoniae*)、鹦鹉披衣菌(*Chlamydophila psittaci*)、柠檬酸细菌属(*Citrobacter* sp.)、伯纳特氏立克次氏体(*Coxiella burnetii*)、棒状杆菌属(*Corynebacterium* sp.) (例如白喉棒状杆菌(*Corynebacterium diphtheriae*)、杰氏棒杆菌(*Corynebacterium jeikeum*)和棒状杆菌(*Corynebacterium*))、梭状芽胞杆菌属(*Clostridium* sp.) (例如产气荚膜梭状芽胞杆菌(*Clostridium perfringens*)、艰难梭状芽胞杆菌(*Clostridium difficile*)、肉毒梭状芽胞杆菌(*Clostridium botulinum*)和破伤风梭状芽胞杆菌(*Clostridium tetani*))、嗜蚀艾肯氏菌(*Eikenella corrodens*)、肠杆菌属(*Enterobacter* sp.) (例如产气肠杆菌(*Enterobacter aerogenes*)、聚团肠杆菌(*Enterobacter agglomerans*)、阴沟肠杆菌(*Enterobacter cloacae*)和大肠杆菌包括条件性大肠杆菌(opportunistic *Escherichia coli*)例如趋肠粘膜毒性大肠杆菌(enterotoxigenic *E. coli*)、肠侵袭性大肠杆菌(enteroinvasive *E. coli*)、致病性大肠杆菌(enteropathogenic *E. coli*)、肠出血性大肠杆菌(enterohemorrhagic *E. coli*)、肠聚集性大肠杆菌(enteroaggregative *E. coli*)和尿路致病性大肠杆菌(uropathogenic *E. coli*))、肠道球菌属(*Enterococcus* sp.) (例如粪肠球菌(*Enterococcus faecalis*)和屎肠球菌(*Enterococcus faecium*))、埃里希体属(*Ehrlichia* sp.) (例如恰菲埃里希氏体(*Ehrlichia chaffeensis*)和犬埃里希体(*Ehrlichia canis*))、猪红斑丹毒丝菌(*Erysipelothrix rhusiopathiae*)、真细菌属(*Eubacterium* sp.)、土拉热弗朗西斯菌(*Francisella tularensis*)、具核梭杆菌(*Fusobacterium nucleatum*)、阴道加德菌(*Gardnerella vaginalis*)、麻疹孪生球菌(*Gemella morbillorum*)、嗜血杆菌属(*Haemophilus* sp.) (例如流感嗜血杆菌(*Haemophilus influenzae*)、杜克雷氏嗜血杆菌(*Haemophilus ducreyi*)、埃及嗜血杆菌(*Haemophilus aegyptius*)、副流感嗜血杆菌

(*Haemophilus parainfluenzae*)、溶血性嗜血杆菌(*Haemophilus haemolyticus*)和副溶血性嗜血杆菌(*Haemophilus parahaemolyticus*))、缠绕杆菌属(*Helicobacter* sp.) (例如幽门螺旋杆菌(*Helicobacter pylori*)、同性恋螺杆菌(*Helicobacter cinaedi*)和芬纳尔螺杆菌(*Helicobacter fennelliae*))、金氏金氏菌(*Kingella kingii*)、克雷白氏杆菌属(*Klebsiella* sp.) (例如肺炎克雷白氏杆菌(*Klebsiella pneumoniae*)、肉芽肿克雷白氏杆菌(*Klebsiella granulomatis*)和奥克西托克雷白杆菌(*Klebsiella oxytoca*))、乳杆菌属(*Lactobacillus* sp.)、单核细胞增多性李司忒氏菌(*Listeria monocytogenes*)、问号钩端螺旋体(*Leptospira interrogans*)、嗜肺性军团病杆菌(*Legionella pneumophila*)、问号钩端螺旋体(*Leptospira interrogans*)、消化链球菌属(*Peptostreptococcus* sp.)、粘膜炎莫拉菌(*Moraxella catarrhalis*)、摩根氏菌属(*Morganella* sp.)、动弯杆菌属(*Mobiluncus* sp.)、细球菌属(*Micrococcus* sp.)、支原菌属(*Mycoplasma* sp.) (例如肺炎支原体(*Mycoplasma pneumoniae*)、人支原体(*Mycoplasma hominis*)和生殖器支原体(*Mycoplasma genitalium*))、诺卡氏菌属(*Nocardia* sp.) (例如星形诺卡氏菌(*Nocardia asteroides*)、盖尔森基兴诺卡氏菌(*Nocardia cyriacigeorgica*)和巴西诺卡氏菌(*Nocardia brasiliensis*))、奈瑟氏菌属(*Neisseria* sp.) (例如淋病奈瑟氏菌(*Neisseria gonorrhoeae*)和脑膜炎奈瑟氏菌(*Neisseria meningitidis*))、出血败血性巴斯德氏菌(*Pasteurella multocida*)、类志贺氏毗邻单胞菌(*Plesiomonas shigelloides*)、普雷沃氏菌属(*Prevotella* sp.)、卟啉单胞菌属(*Porphyromonas* sp.)、产黑素普雷沃氏菌(*Prevotella melaninogenica*)、变形菌属(*Proteus* sp.) (例如普通变形菌(*Proteus vulgaris*)和奇异变形菌(*Proteus mirabilis*))、普罗威登斯菌属(*Providencia* sp.) (例如产碱普罗威登斯菌(*Providencia alcalifaciens*)、雷氏普罗威登斯菌(*Providencia rettgeri*)和斯氏普罗威登斯菌(*Providencia stuartii*))、绿脓假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)、短小棒状杆菌(*Propionibacterium acnes*)、马红球菌(*Rhodococcus equi*)、立克次体(*Rickettsia* sp.) (例如立克氏立克次体(*Rickettsia rickettsii*)、螨立克次体(*Rickettsia akari*)和普氏立克次体(*Rickettsia prowazekii*)、恙虫病东方体(*Orientia tsutsugamushi*) (学名:恙虫病立克次体(*Rickettsia tsutsugamushi*))和地方性斑疹伤寒立克次氏体(*Rickettsia typhi*))、红球菌属(*Rhodococcus* sp.)、粘质沙雷氏杆菌(*Serratia marcescens*)、嗜麦芽寡养单胞菌(*Stenotrophomonas maltophilia*)、沙门氏菌属(*Salmonella* sp.) (例如肠道沙门氏菌(*Salmonella enterica*)、伤寒沙门氏菌(*Salmonella typhi*)、副伤寒沙门氏菌(*Salmonella paratyphi*)、肠炎沙门氏菌(*Salmonella enteritidis*)、猪霍乱沙门菌(*Salmonella choleraesuis*)和鼠伤寒沙门氏菌(*Salmonella typhimurium*))、沙雷氏菌属(*Serratia* sp.) (例如粘质沙雷氏菌(*Serratia marcescens*)和液化沙雷氏菌(*Serratia liquifaciens*))、志贺氏菌属(*Shigella* sp.) (例如志贺氏痢疾菌(*Shigella dysenteriae*)、弗氏志贺氏菌(*Shigella flexneri*)、波伊德志贺氏菌(*Shigella boydii*)和宋内志贺菌(*Shigella sonnei*))、葡萄球菌属(*Staphylococcus* sp.) (例如金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、表皮葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*)、溶血葡萄球菌(*Staphylococcus hemolyticus*)、腐生性葡萄球菌(*Staphylococcus saprophyticus*))、链球菌属(*Streptococcus* sp.) (例如肺炎链球菌(*Streptococcus*

pneumoniae) (例如氯霉素-抗性血清型 4 肺炎链球菌(chloramphenicol-resistant serotype4Streptococcus pneumoniae)、壮观霉素-抗性血清型 6B 肺炎链球菌(spectinomycin-resistant serotype6B Streptococcus pneumoniae)、链霉素-抗性血清型 9V 肺炎链球菌(streptomycin-resistant serotype9V Streptococcus pneumoniae)、红霉素-抗性血清型 14 肺炎链球菌(erythromycin-resistant serotype14Streptococcus pneumoniae)、奥普托欣-抗性血清型 14 肺炎链球菌(optochin-resistant serotype14Streptococcus pneumoniae)、利福平-抗性血清型 18C 肺炎链球菌(rifampicin-resistant serotype18C Streptococcus pneumoniae)、四环素-抗性血清型 19F 肺炎链球菌(tetracycline-resistant serotype19F Streptococcus pneumoniae)、青霉素-抗性血清型 19F 肺炎链球菌(penicillin-resistant serotype19F Streptococcus pneumoniae) 和 甲氧苄啶-抗性血清型 23F 肺炎链球菌(trimethoprim-resistant serotype23F Streptococcus pneumoniae)、氯霉素-抗性血清型 4 肺炎链球菌(chloramphenicol-resistant serotype4Streptococcus pneumoniae)、壮观霉素-抗性血清型 6B 肺炎链球菌(spectinomycin-resistant serotype6B Streptococcus pneumoniae)、链霉素-抗性血清型 9V 肺炎链球菌(streptomycin-resistant serotype9V Streptococcus pneumoniae)、奥普托欣-抗性血清型 14 肺炎链球菌(optochin-resistant serotype14Streptococcus pneumoniae)、利福平-抗性血清型 18C 肺炎链球菌(rifampicin-resistant serotype18C Streptococcus pneumoniae)、青霉素-抗性血清型 19F 肺炎链球菌(penicillin-resistant serotype19F Streptococcus pneumoniae) 或 甲氧苄啶-抗性血清型 23F 肺炎链球菌(trimethoprim-resistant serotype23F Streptococcus pneumoniae))、无乳链球菌(Streptococcus agalactiae)、变形链球菌(Streptococcus mutans)、化脓性链球菌(Streptococcus pyogenes)、A 组链球菌属(Group A streptococci)、化脓性链球菌(Streptococcus pyogenes)、B 组链球菌属(Group B streptococci)、无乳链球菌(Streptococcus agalactiae)、C 组链球菌属(Group C streptococci)、咽峡炎链球菌(Streptococcus anginosus)、类马链球菌(Streptococcus equismilis)、D 组链球菌属(Group D streptococci)、牛链球菌(Streptococcus bovis)、F 组链球菌属(Group F streptococci) 和 咽峡炎链球菌(Streptococcus anginosus)、G 组链球菌属(Group G streptococci)、鼠咬热螺旋体(Spirillum minus)、念珠状链杆菌(Streptobacillus moniliformi)、密螺旋体属(Treponema sp.) (例如品他病密螺旋体(Treponema carateum)、细弱密螺旋体(Treponema petenue)、苍白密螺旋体(Treponema pallidum) 和 地方性密螺旋体(Treponema endemicum)、Tropheryma whippelii、解脲支原体(Ureaplasma urealyticum)、韦荣球菌属(Veillonella sp.)、弧菌属(Vibrio sp.) (例如霍乱弧菌(Vibrio cholerae)、副溶血性弧菌(Vibrio parahemolyticus)、嗜盐弧菌(Vibrio vulnificus)、副溶血性弧菌(Vibrio parahaemolyticus)、嗜盐弧菌(Vibrio vulnificus)、溶藻弧菌(Vibrio alginolyticus)、拟态弧菌(Vibrio mimicus)、霍氏弧菌(Vibrio hollisae)、河流弧菌(Vibrio fluvialis)、梅氏弧菌(Vibrio metchnikovii)、海鱼弧菌(Vibrio damsela) 和 弗氏弧菌(Vibrio furnisii))、耶尔森氏菌属(Yersinia sp.) (例如小肠结肠炎耶尔森氏菌(Yersinia enterocolitica)、鼠疫耶尔森氏菌(Yersinia pestis))、嗜麦芽黄单胞菌(Xanthomonas maltophilia) 等中的一种或多种(或其任意组

合)。本文使用的细菌病原体不包括结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*)或其它能够引起结核病的细菌。

[0033] β -内酰胺类抗生素:分子结构中含有 β -内酰胺核的一类抗生素试剂。 β -内酰胺类抗生素的实例包括但不限于青霉素衍生物、头孢菌素类、青霉烯类、单酰胺菌素类、碳青霉烯类、 β -内酰胺酶抑制剂及其组合。青霉素衍生物的实例包括但不限于氨基青霉素(例如阿莫西林、氨苄青霉素和环烯氨甲青霉素);羧基青霉素(例如羧苄青霉素、羧噻吩青霉素钠和羧噻吩甲氧青霉素);脲基类青霉素(例如苯咪唑青霉素、氧哌嗪青霉素和硫苯咪唑青霉素);甲亚胺青霉素、磺苄青霉素、苄星青霉素、青霉素 G (苄青霉素)、青霉素 V (苯氧甲基青霉素)、青霉素 O (烯丙基巯基甲基青霉素)、普鲁卡因青霉素、苯唑西林、甲氧苯青霉素、乙氧萘胺青霉素、邻氯青霉素、双氯青霉素、氟氯青霉素、呋氨苄青霉素、缩酮氯苄青霉素、巴氨西林(becampicillin)、甲烯氨苄青霉素、酞氨苄青霉素、阿莫西林克拉维酸(co-amoxiclav)(阿莫西林+克拉维酸)和氧哌嗪青霉素。头孢菌素类的实例包括但不限于头孢菌素 IV、头孢菌素 I、头孢唑啉、羟氨头孢菌素、呋肟头孢菌素、羟唑头孢菌素、头孢替坦、甲氧噻吩头孢菌素、氨唑头孢菌素、氨噻三嗪头孢菌素、氨噻肟头孢菌素、头孢泊肟、噻甲羧肟头孢菌素、头孢吡肟、哌酮头孢菌素、去甲噻肟头孢菌素、头孢克肟和头孢匹罗。青霉烯类实例包括但不限于法罗培南。单酰胺菌素类实例包括但不限于噻肟单胺菌素和替吉莫南。碳青霉烯类实例包括但不限于 biapenenvdoripenem、尔他培南、亚胺培南、美罗培南和帕尼培南。 β -内酰胺酶抑制剂实例包括但不限于三唑巴坦([2S-(2 α , 3 β , 5 α)]-3-甲基-7-氧代-3-(1H-1, 2, 3-三唑-1-基甲基)-4-硫杂-1-氮杂二环[3.2.0]庚烷-2-羧酸 4, 4-二氧钠盐)、舒巴克坦(2S, 5R)-3, 3-二甲基-7-氧代-4-硫杂-1-氮杂二环[3.2.0]庚烷-2-羧酸 4, 4-二氧钠)和克拉维酸((2R, 5R, Z)-3-(2-羟基亚乙基)-7-氧代-4-氧杂-1-氮杂-二环[3.2.0]庚烷-2-羧酸)。

[0034] 生物活性:描述物质对活物质的有益或不良效应的表达。当试剂是复杂的化学混合物时,该活性由物质的活性成分或药效团发挥,但是可以被其它成分改善。活性通常是剂量依赖的,当一种物质的剂量从低到高时,其效果从有益到不良并不少见。在一个实例中,MSM 改变例如增加或降低微生物例如细菌的生物活性。

[0035] 生物样本:含有基因组 DNA、RNA (包括 mRNA)、蛋白质、全细胞、细胞膜或其组合的取自受试者的生物样品。实例包括但不限于粘液、外周血液、尿、唾液、组织活检物、针吸物、外科样品、羊膜穿刺样品好尸检材料。在一个实例中,样品包括从具有细菌感染,例如 MRSA 或金黄色葡萄球菌感染,的受试者获得的组织活检物。在另一个实例中,样品包括从具有肺部细菌感染,例如 MRSA 或金黄色葡萄球菌感染,的受试者取得的粘液样品。

[0036] 组合物(或制剂):恰当给药时能够诱导期望效应的化合物或化合物的混合物。组合物通常包括至少一种试剂。产业组合物是当恰当给药至表面时能够诱导期望效应的化合物或组合物。药物组合物是恰当给药至受试者或细胞时能够诱导期望治疗或预防效果的化合物或组合物。在许多例子中,产业组合物也可以给药至受试者。在许多例子中,药物组合物也可以给药至表面。在具体实例中,组合物包括能够抑制药物抗性细菌病原体的一种或多种试剂。例如,组合物能可以包括 MSM 和抗微生物剂。在一些实施方案中,组合物包括 MSM 并包括甲氧苯青霉素或苯唑西林。一些实施方案提供了包括 MSM 但不含 DMSO 的组合物。

[0037] 接触:以直接的物理关联放置;包括以固体、液体和气体形式。接触包括一个分子

和另一个分子之间的接触。接触可以与分离的细胞或组织在体外发生,或通过给药至受试者在体内发生。

[0038] 对照:相信是正常的样品(例如,不存在测试的变量时的代表性的活性或功能)以及实验室值,即使有可能被任意设定,但要牢记这类值可以随实验室而变化。除仅适用于处理组的其效应被测试的单个目标变量外,对照组与处理组实际上相同。

[0039] 降低或抑制:降低某物质的质量、数量或强度。在一个实例中,给予 MSM 可减少或降低微生物的一种或多种生物活性,例如生长、生殖、增殖、存活率、代谢、生活力、稳健性、作用和/功能至少 10%、至少 20%、至少 50% 或者甚至至少 90%,包括 10% 至 95%、20% 至 80%、30% 至 70%、40% 至 50%,例如 10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、95%、98% 或 100%。这种减少可以用本文公开的方法或本领域普通技术人员所知的方法测量。在一些实施方案中,MSM 用于抑制具体微生物的存活。在一些实施方案中,在第一个 24 小时后产生对数级的降低。

[0040] 二甲基亚砜(DMSO):二甲基亚砜又称为甲基磺酰甲烷(methylsulfonylmethane)或二甲亚砜(methyl sulfoxide),是分子式为 $(CH_3)_2SO$ 的有机硫化合物。这种无色液体是一种极性非质子溶剂,可以溶解极性和非极性化合物,并且可以与大范围的有机溶剂和水混溶。它的一个有特征性的性质是很容易穿透皮肤,使得它接触到皮肤后很快就可以被感受到。DMSO 是公知的营养补充剂和制药剂。相关领域的技术人员会熟悉这些用途。多种级别的 DMSO 可市购获得(例如,来自 Sigma-Aldrich 公司, St. Louis, MO 的产品号 472301)并且本领域技术人员会熟悉 DMSO 的来源。

[0041] 药物抗性细菌病原体:该术语是指对一种或多种抗微生物剂具有抗性的细菌病原体。药物抗性是指部分和全部抗性。例如,MRSA 是对 β -内酰胺类抗生素具有抗性的药物抗性细菌病原体。如果细菌病原体对一种抗微生物剂敏感但对另一种抗微生物剂具有抗性,它可以既是药物抗性的又是药物敏感的。如本文中所使用的,接触药物抗性细菌病原体的受试者是药物抗性细菌感染的受试者。如本文中所使用的,药物抗性细菌病原体不包括药物抗性结核分支杆菌或其它可引起结核病的药物抗性细菌病原体。

[0042] 药物敏感的细菌病原体:该术语是指对一种或多种抗微生物剂敏感的细菌病原体。如果细菌病原体对一种抗微生物剂敏感但对另一种抗微生物剂具有抗性,它可以既是药物抗性的又是药物敏感的。在一些实施方案中,如果细菌病原体接触 MSM,对具体抗微生物剂有抗性的细菌病原体可以变为对该试剂敏感。如本文中所使用的,接触药物敏感的细菌病原体的受试者是药物敏感的细菌感染的受试者。如本文中所使用的,药物敏感的细菌病原体不包括药物敏感的结核分支杆菌或可以引起结核病的其它药物敏感的细菌病原体。

[0043] 增强或增加:增加某物的质量、数量或强度。

[0044] 真菌病原体:能够引起疾病的真菌。可以用 MSM 改善的真菌病原体实例包括但不限于如下的任何一种或多种(或任意组合):红色毛癣菌(*Trichophyton rubrum*)、须发癣菌(*T. mentagrophytes*)、絮状表皮癣菌(*Epidermophyton floccosum*)、犬小孢子菌(*Microsporum canis*)、环状糠秕孢子菌(*Pityrosporum orbiculare*) (糠秕马拉色菌(*Malassezia furfur*))、念珠菌属(*Candida* sp.) (例如白念珠菌(*Candida albicans*))、曲霉属(*Aspergillus* sp.) (例如烟曲霉(*Aspergillus fumigatus*)、黄曲霉(*Aspergillus flavus*)、灰绿曲霉(*Aspergillus glaucus*)、构巢曲霉(*Aspergillus nidulans*)、米

曲霉(*Aspergillus oryzae*)、土曲霉(*Aspergillus terreus*)、焦曲霉(*Aspergillus ustus*)、花斑曲霉(*Aspergillus versicolor*)和棒曲霉(*Aspergillus clavatus*)、隐球菌属(*Cryptococcus* sp.) (例如新型隐球菌(*Cryptococcus neoformans*)、格特隐球菌(*Cryptococcus gattii*)、劳伦梯隐球菌(*Cryptococcus laurentii*)和白色隐球菌(*Cryptococcus albidus*))、球孢子菌属(*Coccidioides* sp.)、组织胞浆菌属(*Histoplasma* sp.) (例如荚膜组织胞浆菌(*Histoplasma capsulatum*))、肺孢子虫属(*Pneumocystis* sp.) (例如杰氏肺囊虫(*Pneumocystis jirovecii*))、葡萄穗霉属(*Stachybotrys* sp.) (例如纸葡萄穗霉(*Stachybotrys chartarum*))、副球孢子菌属(*Paracoccidioides*)、芽酵母属(*Blastomyces*)、镰孢菌属(*Fusarium*)、孢子丝菌属(*Sporothrix*)、毛孢子菌属(*Trichosporon*)、根霉菌属(*Rhizopus*)、假性阿利什利菌属(*Pseudallescheria*)、拟青霉属(*Paecilomyces*)、链格孢属(*Alternaria*)、弯孢属(*Curvularia*)、外瓶霉属(*Exophiala*)、万吉拉菌属(*Wangiella*)、青霉菌(*Penicillium*)和头孢属(*Cephalosporium*)。在一些实施方案中,给予 MSM 以抑制或阻止与上述真菌病原体中一种或多种相关的感染或病症。

[0045] 孵育:涉及试剂例如 MSM 与某物例如细胞或组织相互作用足够时间的术语。

[0046] 吸入装置:能够送递组合物至受试者的装置,例如送递至受试者的肺组织。例如,吸入装置可以是吸入器、喷雾器或通风器。本文所述的吸入装置是用适合接触 DMSO 和 / 或 MSM 的材料制成的。在一些实施方案中,吸入装置是用完即可处理的或可替换的。本文所述的吸入装置被设计成送递含有 DMSO 或 MSM 的化合物直接与受试者肺组织中的细菌病原体接触。吸入装置可被设计成生成不同大小的组合物颗粒。在一些实施方案中,吸入装置被设计成生成大小从约 $0.1\ \mu\text{m}$ 至约 $10\ \mu\text{m}$ 或从约 $0.5\ \mu\text{m}$ 至约 $5\ \mu\text{m}$ 的组合物颗粒。

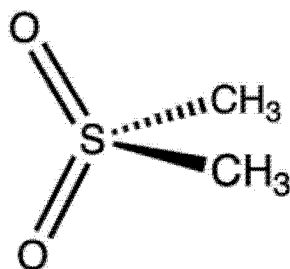
[0047] 抑制或治疗感染或疾病:抑制感染、疾病或病症的完全发生,例如在具有发生感染风险的受试者中,例如细菌感染。“治疗”是指在开始发生后改善疾病或病理病症的体征或症状的治疗介入。本文提及疾病、病理病症或症状时所用的术语“改善”是指治疗的任何可以观察到的有益效果。有益效果可以是有明显的,例如易感染受试者中感染 / 疾病的临床症状的发生延迟、感染 / 疾病的一些或全部临床症状严重程度降低、感染 / 疾病的进展缓慢、感染 / 疾病的复发数目减少、受试者整体健康或幸福感改善或者通过本领域技术人员公知的具体感染 / 疾病例如具体细菌感染特异的其它参数。

[0048] 甲氧苯青霉素抗性金黄色葡萄球菌(MRSA):对一种或多种 β -内酰胺类抗生素具有完全或部分(或中间)抗性的金黄色葡萄球菌细菌。MRSA 又称为多药物抗性金黄色葡萄球菌(MRDA)、苯唑西林抗性金黄色葡萄球菌(ORSA)或“金黄色葡萄球菌(Golden Staph)”。在一些实施方案中,MRSA 与 MSM 接触可使与 MSM 接触前对 β -内酰胺类抗生素有抗性的 MSM 对 β -内酰胺类抗生素敏感。使用 **Etest®** 系统确定抗生素敏感性,MRSA 显示出对苯唑西林至少 $2\ \mu\text{g/ml}$ 的 MIC (见,例如 **Etest®** 技术手册,AB bioMérieux, 2008)。

[0049] 甲基磺酰甲烷(MSM):分子式为 $(\text{CH}_3)_2\text{SO}_2$ 的有机硫化合物,MSM 又称为 DMSO_2 、二甲基砜、二甲砜和磺酰基二甲烷。MSM 已经作为食品添加剂被大规模面市场并销售。

[0050] MSM 与二甲基亚砜(DMSO)在结构上相关,但是两者性质不同。DMSO 是高度极性的溶剂和非常好的配体,具有像水一样的溶解性质,而 MSM 的极性较低且活性较低。MSM 还是 DMSO 的代谢产物。MSM 具有如下化学结构:

[0051]



[0052] 微生物：来自古细菌、细菌和真核生物界的大量原核或真核微生物物种，后者包括酵母和丝状真菌、原生动物、藻类或高等的原生生物。术语“微生物细胞”和“微生物(microbe)”可以与微生物(microorganism)互换使用。

[0053] 最小抑制浓度(MIC)：孵育过夜后，抑制微生物可见生长的抗微生物剂最低浓度。最小抑制浓度在诊断实验室中对于证实微生物对抗微生物剂的抗性以及对于检测新的抗微生物剂的活性是重要的。

[0054] 调制或进行调制：调节、改变或调整包括增加或降低分子的生物活性这类的活性、程度或速率。在一个实例中，给予 MSM 以调制细菌对抗微生物剂的敏感性。

[0055] 寄生物：生活在作为(寄生物的)宿主的人或其它生物体体内的生物。寄生物依靠它们的宿主完成它们生命周期的至少一部分。寄生物对人是有害的，因为它们消耗必须的食物、吃掉身体的组织或细胞以及释放有毒废物，这些可使人患病。用于所公开的方法和组合物的真菌病原体实例包括但不限于疟疾(镰状疟原虫(*Plasmodium falciparum*)、间日疟原虫(*P. vivax*)、三日疟原虫(*P. malariae*))、血吸虫、锥虫、利什曼原虫、丝状线虫、毛滴虫、肉孢子虫、带绦虫(肥胖带绦虫(*T. saginata*)、猪带绦虫(*T. solium*))、利什曼原虫、鼠弓形体(*Toxoplasma gondii*)、旋毛虫(*Trichinella spiralis*)、球虫(艾美虫属种)中的一种或多种(或任意组合)。MSM 可以用于抑制或阻止上文所列一种或多种生物的活性。

[0056] 可药用载体或运载体：本公开中所用的可药用载体(运载体)是常规的。Remington's Pharmaceutical Sciences, by E.W.Martin, Mack Publishing Co., Easton, PA, 19th Edition(1995)中描述了组合物和适合于药物递送一种或多种治疗化合物或分子例如本文提供的一种或多种多肽的组合物。一般而言，载体的性质将取决于应用的具体给药方式。例如，肠胃外组合物通常包括可注射的液体，其包括可药用的生理上可接受的液体，例如水、生理盐水、平衡盐溶液、葡萄糖水溶液、甘油等作为运载体。在具体的实施方案中，载体是允许治疗化合物穿过真皮层的物质。对于固体组合物(例如粉末、丸药、片剂或胶囊形式)，通常的无毒固态载体可以包括，例如药品级的甘露醇、乳糖、淀粉或硬脂酸镁。除天然的生物载体外，给予的组合物可以包括少量的无毒辅料，例如增湿剂或乳化剂、防腐剂和 pH 缓冲剂等，例如醋酸钠或失水山梨醇单月桂酸酯。

[0057] 定量：确定或测量分子或分子活性的量(例如相对量)，例如样品中存在的分析物的量。

[0058] 使药物抗性微生物敏感：降低微生物包括细菌病原体的药物抗性的任何方式。这包括对微生物的修饰，以及使用可增加其它试剂抑制微生物效应的试剂。例如，使 MRSA 对甲氧苯青霉素敏感包括调制 MRSA 使其不再对甲氧苯青霉素有抗性，以及使 MRSA 与可降低 MRSA 对甲氧苯青霉素抗性的试剂接触，例如使 MRSA 与 MSM 接触。

[0059] 金黄色葡萄球菌：具有圆形细胞的革兰氏阳性菌，直径约 $1\mu\text{m}$ ，其形成葡萄样

簇,指示以超过一个平面分裂的能力。它们能够进行有氧和厌氧呼吸,多数菌株在厌氧条件下发酵甘露醇。在血琼脂上,它们形成特有的金色或白色菌落。它们产生过氧化氢酶、凝固酶和细胞外细胞凝集因子,一些菌株产生荚膜(见 Brown et al., J. Antimicrob. Chemother., 56:1000-1018, 2005)。

[0060] 受试者:活的多细胞脊椎生物,该类别包括人和非人哺乳动物。“在受试者中”是指物质或微生物(例如细菌病原体)与受试者接触或与受试者物理关联。

[0061] 对疾病或病症敏感的受试者:能够、易于或倾向于发生疾病或病症的受试者。可以理解的是,已经具有或显示疾病或病症症状的受试者被认为是“敏感的”,因为他们已经发生了疾病或病症。

[0062] 表面:物体的外层。

[0063] 症状和体征:疾病或受试者的病症的任何主观迹象,例如受试者感觉到的之类的迹象;指示身体或精神状态的受试者状况的可察觉变化。“体征”是指示疾病的任何异常,可在对受试者检查或评估时发现。体征通常是疾病的客观指示。体征包括但不限于任何可测量的参数,例如检测病症或疾病的测试,例如细菌或病毒感染。在一个实例中,减少或抑制一种或多种与细菌或病毒感染的症状或体征包括与不存在 MSM 时的细菌存活率或病毒感染率相比,减少或抑制细菌存活率或病毒感染达到预计量,例如至少 20%、至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 80%、至少 90%、至少 95%、至少 98% 或者甚至至少 100%。

[0064] 治疗有效量或浓度:在给予组合物的受试者或细胞中或表面上单独或与另外的试剂配合足以有效达到所需效应的组合物量。试剂或组合物的有效量取决于多个因素,包括但不限于给予试剂或组合物的受试者、细胞或表面以及给药方式。在一个实例中,治疗有效量或浓度是足以有效抑制细菌病原体,例如药物抗性细菌病原体,例如 MRSA,的有效量和浓度。

[0065] 在一个实例中,所需效应是减少或抑制一种或多种疾病相关的症状。例如与 MRSA 感染相关的症状。组合物或试剂有效并不必须完全消除一种或多种症状。例如,组合物或试剂可以减少所需量的体征或症状,例如与不存在所述组合物或试剂时的体征或症状相比减少至少 20%、至少 50%、至少 80%、至少 90%、至少 95%、至少 98% 或者甚至至少 100%。在一个实例中,所需效应是降低或抑制所需量的微生物(例如微生物存活率),例如与不存在所述组合物或试剂时的微生物存活率相比减少或抑制至少 20%、至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 80%、至少 90%、至少 95%、至少 98% 或者甚至至少 100%。在另一个实例中,所需效应是使药物抗性微生物对所述微生物所抗药物以所需量敏感,例如与不存在所述组合物或试剂时微生物对药物的敏感性相比增加至少 20%、至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 80%、至少 90%、至少 95%、至少 98% 或者甚至至少 100%。

[0066] 在疗程中,治疗有效量的本公开的组合物或试剂可以单剂量或以多个剂量,例如日服,给药。但是,治疗有效量可取决于给予组合物或试剂的受试者、细胞或表面,所治疗病症的严重程度和类型以及给药方式。治疗有效量的试剂或组合物可测量为产生所需效应的试剂或组合物在血液(体内)或缓冲液(体外)等的浓度(摩尔每升、摩尔 -M、每体积中质量或其它浓度测量值)。或者,治疗有效量的试剂或组合物可以测量为给予受试者每单位体重的量,例如 mg 试剂/kg 体重。

[0067] 未处理的细胞:尚未与所需试剂例如 MSM 接触的细胞。在一个实例中,未处理的细

胞是接受了 MSM 在其中送递的运载体的细胞。

[0068] 病毒：在活细胞中复制的显微的感染性生物。病毒主要由蛋白包围的核酸核心组成，仅在活细胞内具有复制能力。“病毒复制”是通过发生至少一个病毒生活周期产生另外的病毒。病毒可以破坏宿主细胞的正常功能，引起细胞以病毒确定的方式向前进行。例如，病毒感染可以导致细胞产生细胞因子或对细胞因子作出反应，而未感染的细胞正常不会如此。在一些实例中，病毒是病原体。

[0069] 可依照本公开的方法和组合物进行治疗的病毒病原体的实例包括但不限于以下的任一种或多种(或任意组合)：沙粒病毒(Arenaviruses) (例如瓜纳瑞托病毒(Guanarito virus)、拉沙病毒(Lassa virus)、胡宁病毒(Junin virus)、马丘坡病毒(Machupo virus)和萨比亚病毒(Sabia))、动脉炎病毒(Arteriviruses)、Roniviruses、星状病毒(Astroviruses)、布亚病毒(Bunyaviruses) (例如克里米亚-刚果出血热病毒(Crimean-Congo hemorrhagic fever virus)和汉坦病毒(Hantavirus))、杆状 RNA 病毒(Barnaviruses)、双 RNA 病毒(Birnaviruses)、博尔纳病毒(Bornaviruses) (例如伯尔纳病病毒(Borna disease virus))、雀麦花叶病毒(Bromoviruses)、萼状病毒(Caliciviruses)、青霉病毒(Chrysoviruses)、冠状病毒(Coronaviruses) (例如冠状病毒(Coronavirus)和 SARS)、囊状病毒(Cystoviruses)、长线形病毒(Closteroviruses)、豇豆花叶病毒(Comoviruses)、Dicistroviruses、黄病毒属(Flaviruses) (例如黄热病病毒(Yellow fever virus)、西尼罗病毒(West Nile virus)、丙型肝炎病毒(Hepatitis C virus)和登革热病毒(Dengue fever virus))、纤丝病毒(Filoviruses) (例如埃博拉病毒(Ebola virus)和马尔堡病毒(Marburg virus))、Flexiviruses、戊型肝炎病毒(Hepeviruses) (例如戊型肝炎病毒(Hepatitis E virus))、人腺病毒(human adenoviruses) (例如人腺病毒 A-F)、人星状病毒(human astroviruses)、人 BK 多瘤病毒、人博卡病毒(human bocaviruses)、人冠状病毒(例如人冠状病毒 HKU1、NL63 和 OC43)、人肠道病毒(例如人肠道病毒 A-D)、人红细胞病毒 V9、人泡沫病毒(human foamy viruses)、人疱疹病毒(human herpesviruses) (例如人疱疹病毒 1 (1 型单纯疱疹病毒)、人疱疹病毒 2 (2 型单纯疱疹病毒)、人疱疹病毒 3 (水痘-带状疱疹病毒)、1 型人疱疹病毒 4 (1 型 Epstein-Barr 病毒)、2 型人疱疹病毒 4 (2 型 Epstein-Barr 病毒)、人疱疹病毒 5 株 AD169、人疱疹病毒 5Merlin 株、人疱疹病毒 6A、人疱疹病毒 6B、人疱疹病毒 7、M 型人疱疹病毒 8、P 型人疱疹病毒 8 和人巨细胞病毒(Human Cyotomegalovirus))、人免疫缺陷病毒(HIV) (例如 HIV1 和 HIV2)、人偏肺病毒(human metapneumoviruses)、人乳头状瘤病毒(human papillomaviruses) (例如人乳头状瘤病毒 -1、人乳头状瘤病毒 -18、人乳头状瘤病毒 -2、人乳头状瘤病毒 -54、人乳头状瘤病毒 -61、人乳头状瘤病毒 -cand90、人乳头状瘤病毒 RTRX7、10 型人乳头状瘤病毒、101 型人乳头状瘤病毒、103 型人乳头状瘤病毒、107 型人乳头状瘤病毒、16 型人乳头状瘤病毒、24 型人乳头状瘤病毒、26 型人乳头状瘤病毒、32 型人乳头状瘤病毒、34 型人乳头状瘤病毒、4 型人乳头状瘤病毒、41 型人乳头状瘤病毒、48 型人乳头状瘤病毒、49 型人乳头状瘤病毒、5 型人乳头状瘤病毒、50 型人乳头状瘤病毒、53 型人乳头状瘤病毒、60 型人乳头状瘤病毒、63 型人乳头状瘤病毒、6b 型人乳头状瘤病毒、7 型人乳头状瘤病毒、71 型人乳头状瘤病毒、9 型人乳头状瘤病毒、92 型人乳头状瘤病毒和 96 型人乳头状瘤病毒)、人副流感病毒(human parainfluenza viruses) (例如人副流感病毒 1-3)、人双埃

可病毒(human parechoviruses)、人细小病毒(human parvoviruses)(例如人细小病毒 4 和人类细小病毒 B19)、人呼吸器官合胞体病毒(human respiratory syncytial viruses)、人鼻病毒(human rhinoviruses)(例如人鼻病毒 A 和人鼻病毒 B)、人泡沫病毒(human spumaretroviruses)、人 T- 淋巴营养性病毒(human T-lymphotropic viruses)(例如人 T- 淋巴营养性病毒 1 和人 T- 淋巴营养性病毒 2)、人多瘤病毒(Human polyoma viruses)、减毒病毒(Hypoviruses)、轻小病毒(Leviviruses)、大麦黄矮病毒(Luteoviruses)、淋巴细胞性脉络丛脑膜炎病毒(Lymphocytic choriomeningitis viruses)(LCM)、Marnaviruses、裸露 RNA 病毒(Narnaviruses)、套式病毒(Nidovirales)、野田村病毒(Nodaviruses)、正黏液病毒(Orthomyxoviruses)(例如流感病毒(Influenza viruses))、双组分双链 RNA 球状真菌病毒(Partitiviruses)、副黏液病毒(Paramyxoviruses)(例如麻疹病毒(Measles virus)和腮腺炎病毒(Mumps virus))、微小 RNA 病毒(Picornaviruses)(例如脊髓灰质炎病毒(Poliovirus)、普通感冒病毒(common cold virus)和甲型肝炎病毒)、马铃薯 Y 病毒(Potyviruses)、痘病毒(Poxviruses)(例如天花(Variola)和牛痘(Cowpox))、欧防风黄点病毒(Sequiviruses)、呼吸道肠道病毒(Reoviruses)(例如轮状病毒(Rotavirus))、杆状病毒(Rhabdoviruses)(例如狂犬病毒(Rabies virus))、杆状病毒(Rhabdoviruses)(例如水泡性口膜炎病毒(Vesicular stomatitis virus)、四病毒(Tetraviruses)、披膜病毒(Togaviruses)(例如风疹病毒(Rubella virus)和罗斯河病毒(Ross River virus))、番茄丛矮病毒(Tombusviruses)、单组分双链 RNA 球状真菌病毒(Totiviruse)、芜菁黄花叶病毒(Tymoviruses)、诺如病毒(Noroviruses)等。

[0070] 在一些实施方案中, MSM 用于抑制上文列出的一种或多种病毒的生物活性。

[0071] 酵母:分类在真菌界的真核微生物,已发现的约有 1,500 种。大多数通过出芽无性繁殖,但少数通过二分分裂繁殖。酵母通常是单细胞的,但部分种可以通过形成称为假菌丝(pseudohyphae 或 false hyphae)的连接の出芽细胞的串变成多细胞。可用于本公开的方法和组合物中的示例性酵母包括但不限于酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)、白色念珠菌(*Candida albicans*)、栗酒裂殖糖酵母(*Schizosaccharomyces pombe*)、毕赤酵母(*Pichia*)、隐球菌(*Cryptococcus*)、接合酵母(*Zygosaccharomyces*)、球拟酵母(*Torulopsis*)、汉森酵母(*Hansenula*)和德巴利酵母(*Debaryomyces*)。

[0072] II. 几个实施方案的概述

[0073] 本文提供了一种抑制药物抗性细菌病原体的方法,所述方法包括选择药物抗性细菌病原体;并使所述细菌病原体与含有治疗有效量的 MSM 和治疗有效量的可抑制药物抗性形式的所述药物抗性细菌病原体的试剂的组合物接触,以此抑制药物抗性的细菌病原体。在一些实施方案中,所述药物抗性细菌病原体是 MRSA。

[0074] 还提供了一种使药物抗性细菌病原体对其所抗药物敏感的方法,所述方法包括选择药物抗性细菌病原体,并使所述细菌病原体与含有治疗有效量的 MSM 的组合物接触,以此使所述药物抗性细菌病原体对其所抗药物敏感。在一些实施方案中,所述药物抗性细菌病原体是 MRSA。

[0075] 还提供了一种抑制药物敏感性细菌病原体形成药物抗性的方法,所述方法包括选择药物敏感的细菌病原体,并使所述药物敏感的细菌病原体与含有治疗有效量的 MSM 和治疗有效量的可抑制所述药物敏感的细菌病原体的试剂的组合物接触,以此抑制所述药物敏

感的细菌病原体形成药物抗性。在一些实施方案中,所述药物敏感的细菌病原体是金黄色葡萄球菌。

[0076] 在本文所述的方法的多个实施方案中,所述试剂是 β -内酰胺类抗生素。在一些实施方案中,所述试剂包含青霉素衍生物、头孢菌素类、青霉烯类、单酰胺菌素类、碳青霉烯类、 β -内酰胺酶抑制剂或其结合物。在一些实施方案中,所述试剂包含甲氧苯青霉素或苯唑西林。在多个实施方案中,治疗有效量的试剂包含约 1-5、5-10、10-20、20-30、30-40、40-50、50-60、60-70、70-80、80-90 或约 90-100MIC 的 β -内酰胺类抗生素。在一些实施方案中,治疗有效量的试剂包含约 0.001、0.01、0.1、0.5 或 1MIC 的 β -内酰胺类抗生素。

[0077] 在本文所述的方法的多个实施方案中,所述细菌病原体是在受试者中。在一些实施方案中,所述细菌病原体在表面上。

[0078] 在多个实施方案中,有效量的 MSM 是约 5-20%MSM、约 5-16%MSM、约 5-10%MSM、约 5-8%MSM、约 9-16%MSM 或约 10-15%MSM。MSM (组合物中含 MSM 的质量百分比)。在其它实施方案中,有效量的 MSM 是约 5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15 或 16%MSM。在又一些实施方案中,有效量的 MSM 是约 10-16%MSM。

[0079] 在多个实施方案中,所述细菌病原体与组合物接触约 24、36、48、60、72、84、96、108 或 120 小时。

[0080] 在一些实施方案中,所述组合物被外用给予或用吸入装置给予。在一些实施方案中,所述组合物含有 0-5% 氯化钠。

[0081] 例如,在抑制药物抗性细菌病原体的方法的一个具体实施方案中,所述细菌病原体是 MRSA、所述试剂是 β -内酰胺类抗生素、有效量的 MSM 是约 5-10%MSM,所述组合物被外用给予。

[0082] 例如,在使药物抗性细菌病原体对其所抗药物敏感的方法的一个具体实施方案中,所述细菌病原体是细菌病原体是 MRSA,有效量的 MSM 是约 5-10%MSM,所述组合物被外用给予。

[0083] 例如,在抑制药物敏感的细菌病原体形成药物抗性方法的一个具体实施方案中,所述细菌病原体是金黄色葡萄球菌,所述试剂是 β -内酰胺类抗生素,有效量的 MSM 是约 5-10%MSM,所述组合物被外用给予。

[0084] 可以进一步理解的是,本文公开的使细菌病原体敏感或抑制细菌病原体的方法可以用于本文详细描述的情形之外,例如预计可用于其中细菌病原体已变得药物抗性或需要抑制药物敏感的细菌病原体变得药物抗性。

[0085] III. MSM

[0086] MSM 是具有式 $(CH_3)_2SO_2$ 的有机硫化合物。MSM 与二甲基亚砜(DMSO)在结构上相关,但是两者性质不同。DMSO 是极性溶剂和非常好的配体,具有像水一样的溶解性质,而 MSM 的极性较低且活性较低。MSM 公知作为营养补充剂和作为制药剂(见,例如 Jacob and Appleton, MSM; the definitive guide: A comprehensive review of the science and therapeutics of Methylsulfonylmethane, Topanga, CA: Freedom Press, 2003)。MSM 还已知可用于治疗骨性关节炎(Kim et al., Osteoarthritis Cartilage, 14:286-94, 2006) 和 枯草热(Barrager et al., J. Altern. Complement. Med., 8:167-74, 2002)。相关领域技术人员熟悉这些用途。市售有多种级别的 MSM(例如,

Bergstrom Nutrition, Corp., Vancouver, WA 所售的 **OptiMSM®**); 本领域技术人员熟悉 MSM 的来源。MSM 是高度水溶的。在室温下, 20%MSM 水溶液是很容易制备的。更高浓度 MSM 水溶液可在温度提高到超过室温时得到。

[0087] IV. DMSO

[0088] 二甲基亚砜(DMSO)是具有式 $(\text{CH}_3)_2\text{SO}$ 的有机硫化合物。这种无色液体是一种极性非质子溶剂, 可以溶解极性和非极性化合物, 并且可以与大范围的有机溶剂和水混溶。它的一个显著特征是很容易穿透皮肤, 使得它接触到皮肤后很快就可以被感受到。DMSO 是公知的营养补充剂和制药剂。相关领域技术人员会熟悉这些用途。多种级别的 DMSO 可市购获得(例如, 来自 Sigma-Aldrich, Corp., St. Louis, MO 的产品号 472301)并且本领域技术人员会熟悉 DMSO 的来源。

[0089] V. β -内酰胺类抗生素

[0090] β -内酰胺类抗生素是一大类抗生素剂, 包括分子结构中含有 β -内酰胺原子团的所有抗生素剂。这类抗生素是最广使用的一类抗生素, 相关领域技术人员会理解如何选择适合的 β -内酰胺类抗生素用于抑制或处理细菌。

[0091] β -内酰胺类抗生素实例包括但不限于青霉素衍生物、头孢菌素类、青霉烯类、单酰胺菌素类、碳青霉烯类、 β -内酰胺酶抑制剂或其中组合。青霉素衍生物的实例包括但不限于氨基青霉素(例如, 阿莫西林、氨苄青霉素和环烯氨甲青霉素); 羧基青霉素(例如羧苄青霉素、羧噻吩青霉素钠和羧噻吩甲氧青霉素); 脲基类青霉素(例如苯咪唑青霉素、氧哌嗪青霉素和硫苯咪唑青霉素); 甲亚胺青霉素、磺苄青霉素、苄星青霉素、青霉素 G (苄青霉素)、青霉素 V (苯氧甲基青霉素)、青霉素 O (烯丙基巯基甲基青霉素)、普鲁卡因青霉素、苯唑西林、甲氧苯青霉素、乙氧萘胺青霉素、邻氯青霉素、双氯青霉素、氟氯青霉素、呋氨苄青霉素、缩酮氯苄青霉素、巴氨西林(becampicillin)、甲烯氨苄青霉素、酞氨苄青霉素、阿莫西林克拉维酸(co-amoxiclav) (阿莫西林 + 克拉维酸) 和氧哌嗪青霉素。头孢菌素类的实例包括但不限于头孢菌素 IV、头孢菌素 I、头孢唑啉、羟氨头孢菌素、呋肟头孢菌素、羟唑头孢菌素、头孢替坦、甲氧噻吩头孢菌素、氨唑头孢菌素、氨噻三嗪头孢菌素、氨噻肟头孢菌素、头孢泊肟、噻甲羧肟头孢菌素、头孢吡肟、哌酮头孢菌素、去甲噻肟头孢菌素、头孢克肟和头孢匹罗。青霉烯类实例包括但不限于法罗培南。单酰胺菌素类实例包括但不限于噻肟单胺菌素和替吉莫南。碳青霉烯类实例包括但不限于 biapenenvdoripenem、尔他培南、亚胺培南、美罗培南和帕尼培南。 β -内酰胺酶抑制剂实例包括但不限于三唑巴坦([2S-(2 α , 3 β , 5 α)]-3-甲基-7-氧代-3-(1H-1, 2, 3-三唑-1-基甲基)-4-硫杂-1-氮杂二环[3.2.0]庚烷-2-羧酸 4, 4-二氧钠盐)、舒巴克坦(2S, 5R)-3, 3-二甲基-7-氧代-4-硫杂-1-氮杂二环[3.2.0]庚烷-2-羧酸 4, 4-二氧钠)和克拉维酸((2R, 5R, Z)-3-(2-羟基亚乙基)-7-氧代-4-氧杂-1-氮杂-二环[3.2.0]庚烷-2-羧酸)。这些抗生素可市购获得, 并且本领域技术人员会熟悉本文公开的每种抗生素的来源。

[0092] β -内酰胺类抗生素是杀菌性的, 通过抑制细菌细胞壁的肽聚糖层的合成起作用。这些抗生素通过不可逆地结合到青霉素结合蛋白(PBP)起作用, 这种结合可破坏细胞壁合成, 阻止细胞分裂。

[0093] 所有 β -内酰胺类抗生素在其结构中有 β -内酰胺环。这些抗生素的效应依赖于它们到达完整的 PBP 的能力以及它们与 PBP 结合的能力。因此, 细菌对 β -内酰胺的抗性

有两种主要的模式。

[0094] 第一,细菌有时候通过合成 β -内酰胺酶(一种攻击 β -内酰胺环的酶)形成对 β -内酰胺类抗生素的抗性。如果细菌产生 β -内酰胺酶(或青霉素酶),这种酶将打破该抗生素的 β -内酰胺环,导致该抗生素无效。编码这些酶的基因可以固有地存在于细菌染色体上或可以通过质粒转移(质粒介导的抗性)获得, β -内酰胺酶基因表达可以通过暴露至 β -内酰胺诱导。细菌产生 β -内酰胺酶不需要排除所有以 β -内酰胺类抗生素处理选项。例如,为克服这种类型的抗性, β -内酰胺类抗生素通常与 β -内酰胺酶抑制剂例如克拉维酸一起给予。但是,在所有怀疑有 β -内酰胺酶产生细菌感染的情况下,选择合适的 β -内酰胺类抗生素应该仔细考虑,然后进行治疗。特别地,选择合适的 β -内酰胺类抗生素治疗对于抵抗诱导型 β -内酰胺酶表达的生物是最重要的。如果 β -内酰胺酶产生是可诱导的,那么起始治疗时没有使用最合适的 β -内酰胺类抗生素治疗将诱导 β -内酰胺酶产生,由此使得以其它 β -内酰胺类抗生素的其他尝试更加困难。

[0095] 第二,细菌可以表达改变的 PBP, β -内酰胺无法象与未改变 PBP 结合一样与之结合。结果, β -内酰胺破坏细胞壁合成的效率降低。这种抗性模式的著名实例包括青霉素抗性的肺炎链球菌和 MRSA。

[0096] VI. MRSA

[0097] 甲氧苯青霉素抗性金黄色葡萄球菌(MRSA)是对一种或多种 β -内酰胺类抗生素有抗性的金黄色葡萄球菌细菌。对 β -内酰胺类抗生素的抗性水平取决于 MRSA 菌株而不同。例如,具体 MRSA 菌株可以呈现对 β -内酰胺类抗生素的完全或部分抗性。

[0098] 金黄色葡萄球菌细菌的 β -内酰胺类抗生素抗性通常是由于表达改变的 PBP,例如 PBP2a 或 PBP2',它们对 β -内酰胺类抗生素具有低亲和力的,并能代替天然 PBP 行使功能。PBP2a 由 *mecA* 基因编码(见 Brown et al., J. Antimicrob. Chemother., 56:1000-1018, 2005)。也见于敏感分离株的其它基因能够影响金黄色葡萄球菌中甲氧苯青霉素抗性的表达,导致抗性的异质性(见 Brown et al., J. Antimicrob. Chemother., 56:1000-1018, 2005)。

[0099] 金黄色葡萄球菌引起的 MRSA 感染对一种或多种 β -内酰胺类抗生素具有全部或部分抗性。金黄色葡萄球菌最常定殖在前鼻孔(鼻孔),但呼吸道、开放伤口、静脉内导管和尿道也是可能的感染部位。健康个体可以无症状携带 MRSA 从数周至许多年的时间。免疫系统低下的受试者具有显著更高的有症状次级感染的风险。

[0100] MRSA 可以在 24-48 小时内发展初始发症状,包括始发局部症状。72 小时后, MRSA 能够侵入人体组织并最终变得对治疗有抗性。局部地, MRSA 的始发表观是类似丘疹、蜘蛛咬伤或疖的小的红色肿块,并可能伴随发烧或偶尔出现皮疹。在几天之内,肿块变大、更疼痛并最终破裂成深的、充满脓的疖。

[0101] 已知存在许多 MRSA 菌株,包括医院(或医疗保健)相关的 MRSA (HA-MRSA) 以及社区相关的 MRSA (CA-MRSA)。约 75% 的 CA-MRSA 感染位于皮肤和软组织,通常可以被有效治疗。但是,一些 CA-MRSA 菌株显示出毒性增强,传播更迅速并引起比普通 HA-MRSA 感染更严重的疾病,并且它们可以影响重要器官并导致的感染(脓毒症)广泛传播、中毒性休克综合征和坏死性(“噬肉型”)肺炎。这被认为是 CA-MRSA 菌株携带的毒素引起。不知道为什么一些健康的人体产生可治疗的 CA-MRSA 皮肤感染,而感染相同菌株的其他人却形成严重的感

染或死亡。

[0102] CA-MRSA 的最常见表现是皮肤感染,例如坏死性筋膜炎或脓性肌炎(最常见于热带)、坏死性肺炎、感染性心内膜炎(影响心脏瓣)或者骨或关节感染。CA-MRSA 通常会导致需要切开引流的脓肿形成。在 MRSA 传播进入社区以前,脓肿并不被认为是可传染的,因为假定感染需要破坏皮肤的完整性并从正常的皮肤定殖引入葡萄球菌。但是,新出现的 CA-MRSA 可由 HA-MRSA 传播(类似但具有很重要的不同)。另外,CA-MRSA 比其它形式的 MRSA 引起蜂窝织炎的可能性更小。

[0103] 在一些实施方案中,本文所述的组合物可用于治疗和 / 或抑制 MRSA 并且 / 或者使 MRSA 敏感。在一些实施方案中,本文所述的组合物可用于在受试者中治疗和 / 或抑制 MRSA 并且 / 或者使 MRSA 敏感。本文公开了检测 MRSA 和选择具有 MRSA 感染的受试者的方法。

VII. 其它药物抗性细菌病原体

[0104] 药物抗性细菌病原体是对一种或多种抗微生物剂有抗性的细菌病原体。如果细菌病原体对一种抗微生物剂敏感但对另一种抗微生物剂具有抗性,它可以既是药物抗性的又是药物敏感的。

[0105] 在一些实施方案中,本文公开的组合物可用于治疗或抑制药物抗性细菌病原体或者使药物抗性细菌病原体敏感。

[0106] 在一些实施方案中,本文公开的组合物可有效治疗或抑制多种药物抗性形式细菌病原体或者使多种药物抗性形式细菌病原体敏感,所述药物抗性形式细菌病原体包括但不限于药物抗性形式的一种或多种鲍曼不动杆菌、放线杆菌属、放线菌、放线菌属(例如以色列放线菌和内氏放线菌)、气单胞菌属(例如嗜水气单胞菌、维罗纳气单胞菌温和生物变种(温和气单胞菌)和豚鼠气单胞菌)、嗜吞噬细胞无形体、木糖氧化产碱菌、鲍曼不动杆菌、伴放线菌放线杆菌、杆菌属(例如炭疽杆菌、蜡样杆菌、枯草杆菌、苏芸金杆菌和嗜热脂肪杆菌)、拟杆菌属(例如脆弱拟杆菌)、巴尔通体属(例如杆菌状巴尔通体和汉赛巴尔通体)、双歧杆菌属、博德特氏菌属(例如百日咳博德特氏菌、副百日咳博德特氏菌和支气管败血性博德特氏菌)、包柔氏螺旋体属(例如回归热包柔螺旋体和伯氏包柔氏螺旋体)、布鲁氏杆菌属(例如流产布鲁氏杆菌、犬布鲁氏菌、马尔他布鲁氏菌和猪流产布鲁氏杆菌)、伯克氏菌属(例如类鼻疽伯克氏菌和洋葱伯克氏菌)、弯曲杆菌属(例如空肠弯曲杆菌、结肠弯曲杆菌、红嘴鸥弯曲杆菌和胎儿弯曲杆菌)、噬碳酸菌属、人心杆菌、沙眼衣原体、肺炎披衣菌、鹦鹉披衣菌、柠檬酸细菌属、伯纳特氏立克次氏体、棒状杆菌属(例如白喉棒状杆菌、杰氏棒状杆菌和棒状杆菌)、梭状芽胞杆菌属(例如产气荚膜梭状芽胞杆菌、艰难梭状芽胞杆菌、肉毒梭状芽胞杆菌和破伤风梭状芽胞杆菌)、嗜蚀艾肯氏菌、肠杆菌属(例如产气肠杆菌、聚团肠杆菌、阴沟肠杆菌和大肠杆菌包括条件性大肠杆菌例如趋肠粘膜毒性大肠杆菌、肠感染性大肠杆菌、致肠病大肠杆菌、肠出血性大肠杆菌、肠聚集性大肠杆菌和尿路致病性大肠杆菌)、肠道球菌属(例如粪肠球菌和屎肠球菌)、埃里希体属(例如恰菲埃里希氏体和犬埃里希体)、猪红斑丹毒丝菌、真细菌属、土拉热弗朗西斯菌、具核梭杆菌、阴道加德菌、麻疹孪生球菌、嗜血杆菌属(例如流感嗜血杆菌、杜克雷氏嗜血杆菌、埃及嗜血杆菌、副流感嗜血杆菌、溶血性嗜血杆菌和副溶血性嗜血杆菌)、缠绕杆菌属(例如幽门螺旋杆菌、同性恋螺杆菌和芬纳尔螺杆菌)、金氏金氏菌、克雷白氏杆菌属(例如肺炎克雷白氏杆菌、肉芽肿克雷白氏杆菌和奥克西托克雷白杆菌)、乳杆菌属、单核细胞增多性李司忒氏菌、问号钩端螺旋体、嗜肺性军团

病杆菌、问号钩端螺旋体、消化链球菌属、粘膜炎莫拉菌、摩根氏菌属、动弯杆菌属、细球菌属、支原菌属(例如肺炎支原体、人支原体和生殖器支原体)、诺卡氏菌属(例如星形诺卡氏菌、盖尔森基兴诺卡氏菌和巴西诺卡氏菌)、奈瑟氏菌属(例如淋病奈瑟氏菌和脑膜炎奈瑟氏菌)、出血败血性巴斯德氏菌、类志贺氏毗邻单胞菌、普雷沃氏菌属、卟啉单胞菌属、产黑素普雷沃氏菌、变形菌属(例如普通变形菌和奇异变形菌)、普罗威登斯菌属(例如产碱普罗威登斯菌、雷氏普罗威登斯菌和斯氏普罗威登斯菌)、绿脓假单胞菌、短小棒状杆菌、马红球菌、立克次体(例如立克氏立克次体、螨立克次体和普氏立克次体、恙虫病东方体(学名:恙虫病立克次体)和地方性斑疹伤寒立克次氏体)、红球菌属、粘质沙雷氏杆菌、嗜麦芽寡养单胞菌、沙门氏菌属(例如肠道沙门氏菌、伤寒沙门氏菌、副伤寒沙门氏菌、肠炎沙门氏菌、猪霍乱沙门菌和鼠伤寒沙门氏菌)、沙雷氏菌属(例如粘质沙雷氏菌和液化沙雷氏菌)、志贺氏菌属(例如志贺氏痢疾菌、弗氏志贺氏菌、波伊德志贺氏菌和宋内志贺菌)、葡萄球菌属(例如表皮葡萄球菌、溶血葡萄球菌、腐生性葡萄球菌)、链球菌属(例如肺炎链球菌(例如氯霉素-抗性血清型 4 肺炎链球菌、壮观霉素-抗性血清型 6B 肺炎链球菌、链霉素-抗性血清型 9V 肺炎链球菌、红霉素-抗性血清型 14 肺炎链球菌、奥普托欣-抗性血清型 14 肺炎链球菌、利福平-抗性血清型 18C 肺炎链球菌、四环素-抗性血清型 19F 肺炎链球菌、青霉素-抗性血清型 19F 肺炎链球菌和甲氧苄啶-抗性血清型 23F 肺炎链球菌、氯霉素-抗性血清型 4 肺炎链球菌、壮观霉素-抗性血清型 6B 肺炎链球菌、链霉素-抗性血清型 9V 肺炎链球菌、奥普托欣-抗性血清型 14 肺炎链球菌、利福平-抗性血清型 18C 肺炎链球菌、青霉素-抗性血清型 19F 肺炎链球菌或甲氧苄啶-抗性血清型 23F 肺炎链球菌)、无乳链球菌、变形链球菌、化脓性链球菌、A 组链球菌属、化脓性链球菌、B 组链球菌属、无乳链球菌、C 组链球菌属、咽峡炎链球菌、类马链球菌、D 组链球菌属、牛链球菌、F 组链球菌属和咽峡炎链球菌、G 组链球菌属)、鼠咬热螺旋体、念珠状链杆菌、密螺旋体属例如品他病密螺旋体、细弱密螺旋体、苍白密螺旋体和地方性密螺旋体、*Tropheryma whippelii*、解脲支原体、韦荣球菌属、弧菌属(例如霍乱弧菌、副溶血性弧菌、嗜盐弧菌、副溶血性弧菌、嗜盐弧菌、溶藻弧菌、拟态弧菌、霍氏弧菌、河流弧菌、梅氏弧菌、海鱼弧菌和弗氏弧菌)、耶尔森氏菌属(例如小肠结肠炎耶尔森氏菌、鼠疫耶尔森氏菌)、嗜麦芽黄单胞菌等。

[0107] VIII. 药物抗性疾病

[0108] 在多个实施方案中,本文公开的组合物可用于治疗或抑制药物抗性感染性疾病或者使药物抗性感染性疾病敏感。

[0109] 在一些实施方案中,本文公开的组合物可有效治疗或抑制药物抗性、麻疹、破伤风、疟疾、上呼吸道和下呼吸道感染、肝炎、伤寒、万古霉素/糖肽介导的金黄色葡萄球菌感染、万古霉素抗性肠球菌、MRSA 和链球菌性肺炎等。

[0110] 在其它实施方案中,本文公开的组合物能够有效治疗或抑制多种药物抗性形式的感染性疾病或者使多种药物抗性形式的感染性疾病敏感,所述药物抗性形式的感染性疾病包括但不限于药物抗性形式的一种或多种不动杆菌感染(*acinetobacter infection*)、放线菌病(*actinomycosis*)、腺病毒感染(*Adenovirus infection*)、非洲昏睡病(*African sleeping sickness*) (非洲锥虫病(*African trypanosomiasis*))、AIDS、阿米巴病(*amebiasis*)、边虫病(*anaplasmosis*)、炭疽(*Anthrax*)、溶血隐秘杆菌感染(*Arcanobacterium haemolyticum infection*)、阿根廷出血热(*Argentine hemorrhagic*

fever)、蛔虫病(ascariasis)、曲菌病(aspergillosis)、星状病毒感染(astrovirus infection)、巴贝西虫病(babesiosis)、蜡样芽孢杆菌感染(*Bacillus cereus* infection)、细菌性肺炎(bacterial pneumonia)、细菌性阴道病(bacterial vaginosis) (BV)、类杆菌感染(*Bacteroides* infection)、纤毛虫病(balantidiasis)、贝利蛔线虫感染(*Baylisascaris* infection)、BK 病毒感染、黑色毛结节菌病(black piedra)、人酵母菌感染(*Blastocystis hominis* infection)、芽生菌病(blastomycosis)、玻利维亚出血热(Bolivian hemorrhagic fever)、包柔螺旋体感染(*Borrelia* infection)、肉毒中毒(botulism)、巴西出血热(Brazilian hemorrhagic fever)、布氏菌病(brucellosis)、布克氏菌感染(*Burkholderia* infection)、萼状病毒感染(*Calicivirus* infection)、弯曲菌病(*campylobacteriosis*)、念珠菌病(*candidiasis*) (念珠菌病(moniliasis)); 鹅口疮(thrush))、猫抓病(cat-scratch disease)、蜂窝织炎(cellulitis)、南美洲锥虫病(Chagas disease)、软下疳(chancroid)、水痘(chickenpox)、衣原体病(chlamydia)、足衣虫(*Chlamydophila*) 肺炎感染、霍乱(cholera)、着色芽生菌病(chromoblastomycosis)、肝双盘吸虫病(clonorchiasis)、艰难梭状芽孢杆菌感染(*clostridium difficile* infection)、球孢子菌病(coccidioidomycosis)、科罗拉多蜱传热(Colorado tick fever)、感冒(common cold)、传染性海绵样脑病(creutzfeldt-Jacob disease)、克里米亚-刚果出血热(Crimean-Congo hemorrhagic fever)、隐球菌病(cryptococcosis)、隐孢子虫病(cryptosporidiosis)、皮肤幼虫移行症(cutaneous larva migrans)(CLM)、圆孢球虫病(cyclosporiasis)、囊尾蚴病(cysticercosis)、巨细胞病毒感染(cytomegalovirus infection)、登革热(dengue fever)、双核阿米巴病(dientamoebiasis)、白喉(diphtheria)、裂头绦虫病(diphyllobothriasis)、龙线虫病(dracunculiasis)、埃博拉出血热(ebolavirus hemorrhagic fever)、包虫病(echinococcosis)、埃里希体病(ehrlichiosis)、蛲虫病(enterobiasis) (蛲虫感染(Pinworm infection))、肠球菌感染(*Enterococcus* infection)、肠道病毒感染(enterovirus infection)、流行性斑疹伤寒(epidemic typhus)、传染性红斑(erythema infectiosum)、幼儿急疹(exanthema subitum)、姜片虫病(fasciolopsiasis)、肝片吸虫病(fasciolosis)、致命性家族性失眠症(fatal familial insomnia)(FFI)、丝虫病(filariasis)、食物中毒(food poisoning)、自由生活阿米巴感染(free-living amebic infection)、梭状杆菌感染(*Fusobacterium* infection)、气性坏疽(gasgangrene) (气性坏疽(*Clostridial myonecrosis*))、地霉病(geotrichosis)、格-施-沙综合征(Gerstmann-**Sträussler**-Scheinker syndrome (GSS)、贾第虫病(giardiasis)、马鼻疽病(glanders)、腭口线虫病(gnathostomiasis)、淋病(gonorrhea)、腹股沟肉芽肿(granuloma inguinale) (腹股沟肉芽肿(Donovanosis))、A 类链球菌感染、B 类链球菌感染、流感嗜血菌感染(*Haemophilus influenzae* infection)、手足口病(HFMD)、汉坦病毒病(Hantavirus)、幽门螺旋杆菌感染(*Helicobacter pylori* infection)、溶血性尿毒症综合征(hemolytic-uremic syndrome) (HUS)、出血热肾病综合征(hemorrhagic fever with renal syndrome)(HFRS)、甲型肝炎、乙型肝炎、丙型肝炎、丁型肝炎、戊型肝炎、单纯疱疹、组织胞浆菌病、钩虫感染(hookworm infection)、人博卡病毒感染(human bocavirus infection)、人慢性埃立克体病(Human ewingii ehrlichiosis)、人粒细胞无形体病(human granulocytic anaplasmosis) (HGA)、人偏肺病毒感染(human

metapneumovirus infection)、人单核埃里克体病(human monocytic ehrlichiosis)、人乳头状瘤病毒(human papillomavirus) (HPV) 感染、人副流感病毒感染(human parainfluenza virus infection)或膜壳绦虫病(hymenolepiasis)等。

[0111] 在其它实施方案中,本文公开的组合物还可以有效治疗或抑制多种药物抗性形式的感染疾病或者使多种药物抗性形式的感染疾病敏感,所述药物抗性形式的感染疾病包括但不限于药物抗性形式的一种或多种 Epstein-Barr 病毒传染性单核细胞增多症(Epstein-Barr Virus Infectious Mononucleosis) (Mono)、流行性感 冒(Influenza) (flu)、等孢球虫病(Isosporiasis)、川崎病(Kawasaki disease)、角膜炎(Keratitis)、金氏杆菌感染(Kingella kingae infection)、库鲁病(Kuru)、拉沙热(Lassa fever)、军团杆菌病(Legionellosis)、利什曼病(Leishmaniasis)、麻风(Leprosy)、钩端螺旋体病(Leptospirosis)、利斯特菌病(Listeriosis)、莱姆病(Lyme diseases)、淋巴丝虫病(Lymphatic filariasis)、淋巴细胞性脉络丛脑膜炎(Lymphocytic choriomeningitis)、疟疾、马尔堡出血热(Marburg hemorrhagic fever) (MHF)、麻疹(Measles)、类鼻疽(Melioidosis) (惠特莫尔病(Whitmore's disease))、脑脊膜炎(Meningitis)、脑膜炎球菌疾病(Meningococcal disease)、后殖吸虫病(Metagonimiasis)、微孢子虫病微孢子虫(Microsporidiosis Microsporidia)、传染性软疣(Molluscum contagiosum) (MC)、流行性腮腺炎(Mumps)、鼠斑疹伤寒(Murine typhus)、支原体肺炎(Mycoplasma pneumonia)、足菌肿(Mycetoma)、蝇蛆病(Myiasis)、新生儿结膜炎(Neonatal conjunctivitis)、盘尾丝虫病(Onchocerciasis) (河盲(River blindness))、副球孢子菌病(Paracoccidioidomycosis) 南美芽生菌病(South American blastomycosis)、肺吸虫病(Paragonimiasis)、巴斯德氏菌病(Pasteurellosis)、头虱病(Pediculosis capitis) (头虱(Head lice))、体虱病(Pediculosis corporis) (体虱(Body lice))、阴虱病(Pediculosis pubis) (阴虱(Pubic lice)、阴虱(Crab lice))、盆腔炎症性疾病(Pelvic inflammatory disease) (PID)、百日咳(Pertussis) (百日咳(Whooping cough))、鼠疫(Plague)、肺炎球菌感染(Pneumococcal infection)、卡氏肺囊虫性肺炎(Pneumocystis pneumonia) (PCP)、肺炎(Pneumonia)、脊髓灰质炎(Poliomyelitis)、脊髓灰质炎病毒(Poliovirus)、原发性阿米巴脑膜脑炎(Primary amoebic meningoencephalitis) (PAM)、进行性多灶性白质脑病(Progressive multifocal leukoencephalopathy)、鹦鹉热(Psittacosis)、Q 热(Q fever)、狂犬病(Rabies)、鼠咬热(Rat-bite fever)、呼吸道合胞体病毒(Respiratory syncytial virus)、鼻孢子菌病(Rhinosporidiosis)、鼻病毒感染(Rhinovirus infection)、立克次体感染(Rickettsial infection)、立克次体痘(Rickettsialpox)、裂谷热(Rift Valley fever) (RVF)、落矶山斑疹热(Rocky mountain spotted fever) (RMSF)、轮状病毒感染(Rotavirus infection)、风疹(Rubella)、沙门氏菌病(Salmonellosis)、SARS (严重急性呼吸器官综合症(Severe Acute Respiratory Syndrome))、疥疮(Scabies)、血吸虫病(Schistosomiasis)、败血病(Sepsis)、志贺氏菌病(Shigellosis)、带状疱疹(Shingles) (带状疱疹(Herpes zoster))、天花(Smallpox)、孢子丝菌病(Sporotrichosis)、葡萄球菌食物中毒(Staphylococcal food poisoning)、葡萄球菌感染(Staphylococcal infection)、类圆线虫病(Strongyloidiasis)、梅毒(Syphilis)、绦虫病(Taeniasis)、破伤风(Tetanus) (牙关紧闭症(Lockjaw))、须癣(Tinea

barbae) (Barber's itch)、头癣(Tinea capitis) (头皮癣(Ringworm of the Scalp))、体癣(Tinea corporis) (体癣(Ringworm of the Body))、股癣(Tinea cruris) (Jock itch)、手癣(Tinea manuum)(Ringworm of the Hand)、掌黑癣(Tinea nigra)、脚癣(Tinea pedis) (Athlete's foot)、甲癣(Tinea unguium) (Onychomycosis)、花斑癣(Tinea versicolor)(Pityriasis versicolor)、弓蛔虫病(Toxocariasis)(眼幼虫移行症(Ocular Larva Migrans) (OLM OLM))、弓蛔虫病(Toxocariasis) (内脏幼虫移行症(Visceral Larva Migrans) (VLM))、弓形虫病(Toxoplasmosis)、旋毛虫病(Trichinellosis)、滴虫病(Trichomoniasis)、鞭虫病(Trichuriasis) (鞭虫感染(Whipworm infection))、兔热病(Tularemia)、尿素分解尿素原体感染(Ureaplasma urealyticum infection)、委内瑞拉马脑炎(Venezuelan equine encephalitis)、委内瑞拉出血热(Venezuelan hemorrhagic fever)、病毒性肺炎(Viral pneumonia)、西尼罗热(West Nile Fever)、白色毛结节菌病(White piedra)、耶尔森菌病(Yersiniosis)、黄热病(Yellow fever) 或接合菌病(Zygomycosis) 等。

[0112] VIII. 治疗或抑制细菌病原体或者使细菌病原体敏感的方法

[0113] 本文公开的实施方案包括在抑制药物抗性细菌病原体的方法、使药物抗性细菌病原体对其所抗药物敏感的方法以及抑制药物敏感的细菌病原体形成药物抗性的方法等中使用组合物。

[0114] 一些实施方案包括通过选择药物抗性病原体并使所述病原体与本文所述的组合物例如含 MSM 和抗微生物剂的组合物相接触而抑制细菌病原体的方法。例如, 使选择的药物抗性细菌病原体与含有 10-16% 的 MSM 和 MIC 水平的抗微生物剂的组合物接触。在一些实施方案中, 所述细菌病原体是 MRSA, 所述抗微生物剂是 β -内酰胺类抗生素, 例如甲氧苯青霉素或苯唑西林。在一些实施方案中, 所述细菌病原体在受试者中, 或在表面上。

[0115] 一些实施方案包括通过如下方式使药物抗性细菌病原体对其所抗药物敏感的方法: 选择药物抗性细菌病原体并使所述病原体与含 MSM 组合物接触。例如, 使选择的细菌病原体与含 10-16%MSM 的组合物接触。在一些实施方案中, 所述选择的细菌病原体是 MRSA。在一些实施方案中, 所述细菌病原体在受试者中, 或在表面上。

[0116] 一些实施方案包括通过如下方式抑制药物敏感的细菌病原体形成药物抗性的方法: 选择药物敏感的细菌病原体并使所述病原体与本文所述的组合物例如含 MSM 和抗微生物剂的组合物接触。例如, 使选择的药物敏感的细菌病原体与 10-16%MSM 和 MIC 水平的抗微生物剂接触。在一些实施方案中, 所述细菌病原体是金黄色葡萄球菌, 所述抗微生物剂是 β -内酰胺类抗生素, 例如甲氧苯青霉素或苯唑西林。在一些实施方案中, 所述细菌病原体在受试者中, 或在表面上。

[0117] 在一些实施方案中, 含有 MSM 和亚 MIC 浓度的抗生素的组合物在减少或杀死具体药物抗性细菌方面与仅 MIC 水平的抗生素相比是等效的或更有效的。在其它实施方案中, 含 MSM 和抗生素的组合物在减少或清除感染部位的细菌方面与仅抗生素相比是更有效的。在数个实施方案中, 本文公开的组合物可增加对 MRSA 的治疗。选择药物敏感的细菌病原体

[0118] 选择药物敏感的细菌病原体的方法是本领域技术人员公知的。例如, 在一些实施方案中, 本文公开的药物敏感的细菌病原体被检测, 然后被选择, 以此选择药物敏感的细菌病原体。本文所述的检测细菌病原体的方法是本领域技术人员公知的。例如, 这种检测可

以基于确定抗生素对药物敏感的细菌病原体的 MIC。检测 MIC 的方法是本领域技术人员公知的(见,例如 Andrews, J. of Antimicrobial Chemotherapy, 48:5-16, 2001)。例如, MIC 可以通过琼脂或肉汤稀释方法确定,通常依据参照体例如 CLSI、BSAC 或 EUCAST 的指导。有数种市购的方法可用,包括公认的 **Etest®** strips (bioMérieux SA, France) 和 Oxoid MICEvaluator 方法。**Etest®** 系统包括预设的不同抗微生物剂的连续浓度梯度,当其被施加于接种的琼脂平板并孵育时,产生椭圆的微生物抑制。MIC 被确定为抑制椭圆与条带相交处,并且很容易读出所述条带上 MIC 的读数刻度(见,例如 Andrews, J. of Antimicrobial Chemotherapy, 48:5-16, 2001)。

[0119] 在一些实施方案中,本文所述的金黄色葡萄球菌被检测,然后被选择,以此选择药物敏感的细菌病原体。金黄色葡萄球菌是革兰氏阳性球菌,其中直径约 $1\ \mu\text{m}$ 的球形细胞形成葡萄样簇,指示以超过一个平面分裂的能力。这种细菌能够进行有氧和厌氧呼吸,多数菌株在厌氧条件下发酵甘露醇。在血琼脂上,它们形成特征性的金黄色或白色菌落。它们产生过氧化氢酶、凝固酶和细胞外细胞凝集因子,一些菌株产生荚膜(见 Brown et al., J. Antimicrob. Chemother., 56:1000-1018, 2005)。

[0120] 检测金黄色葡萄球菌的方法是本领域技术人员已知的。非限制性的检测方法包括管中凝固酶试验、玻片凝固酶试验、乳胶凝集试验、DNase 和热稳定核酸酶试验、市售的生化试验例如 VITEK2 系统(bioMérieux)、Staphychrom II (International Microbio, Signes, France)、Phoenix 系统(Becton Dickinson Microbiology Systems, Sparks, MD)和分子试验,包括基于 PCR 的和基于 DNA 探针的试验。综述参见 Brown et al., J. Antimicrob. Chemother., 56:1000-1018, 2005)。使用 **Etest®** 系统,药物敏感金黄色葡萄球菌细菌病原体将通常具有 $2\ \mu\text{g/ml}$ 或更低的苯唑西林的 MIC(见,例如 **Etest®** 技术手册, AB bioMérieux, 2008)。

[0121] 一些实施方案包括选择药物敏感的细菌病原体,其中所述病原体在表面上。这些实施方案包括确定药物敏感的细菌病原体是否在表面上,选择这类表面,以此选择表面上的药物敏感的细菌病原体。或者,一些实施方案包括选择带有药物敏感的细菌病原体的表面。相关领域技术人员会理解如何实施这些方法。非限制性实例包括观察所述表面或从所述表面取样并检测样品中的药物敏感的细菌病原体。检测药物敏感的细菌病原体的方法是本领域技术人员已知的,在本文中有描述。观察表面的实例包括当表面接触药物敏感的细菌病原体时,例如如果已知药物敏感的细菌病原体已经接触所述表面后,进行识别。

[0122] 一些实施方案包括选择药物敏感的细菌病原体,其中所述病原体在受试者中。这些实施方案包括确定药物敏感的细菌病原体是否在受试者中,并选择这种受试者,以此选择受试者中的药物敏感感病原体。或者,一些实施方案包括选择带有药物敏感的细菌病原体的受试者。相关领域技术人员会理解如何实施这些方法。非限制性的实例包括观察所述受试者,或者从所述受试者中取得生物样品,并检测所述样品中的药物敏感的细菌病原体。检测药物敏感的细菌病原体的方法是本领域技术人员已知的,在本文中有描述。观察受试者的实例包括识别体内有药物敏感的细菌病原体的受试者表现的症状以及观察对所述受试者中的细菌病原体的成功药物治疗。

[0123] 选择药物抗性细菌病原体

[0124] 选择药物抗性细菌病原体的方法是本领域技术人员公知的。例如,在一些实施方案中,本文所述的药物抗性细菌病原体被检测,然后被选择,以此选择药物抗性细菌病原体。本文所述的检测药物抗性细菌病原体的方法是本领域技术人员公知的。例如,这种选择可以基于抗生素对细菌病原体的 MIC。检测 MIC 的方法是本领域技术人员公知的,在本文中有描述。

[0125] 在一些实施方案中,选择药物抗性细菌病原体包括选择 MRSA。本领域技术人员所已知选择药物抗性细菌病原体的方法,其中细菌病原体是 MRSA。例如,在一些实施方案中,本文所述的细菌 MRSA 被检测,然后被选择,以此选择 MRSA。检测 MRSA 的方法是本领域技术人员已知的。

[0126] 例如,检测 MRSA 的非限制性实例包括 **Etest®** 系统(bioMérieux SA, France)结合正研究的细菌是金黄色葡萄球菌的发现、皿扩散、用 PBP2a 或 PBP2' 的抗体进行的乳胶凝集试验以及分子测试包括基于 PCR 的和基于 DNA 探针的测试。综述参见 Brown et al., J. Antimicrob. Chemother., 56:1000-1018, 2005 and Sturenburg, Ger. Med. Sci., 6:Doc06, 2009。另外的方法在美国专利 7,449,289、7,297,517、5,496,706、5,776,712 和 6,197,504 以及美国专利申请公开文本 No. 2003/0165953、2006/0040871、2007/0082340、2008/0220428、2008/0227087、2009/0081663、2009/0130115、2009/0181395、2009/0203013、2009/0325147、2010/0197649 中有描述。使用 **Etest®** 系统,MRSA 细菌病原体将通常具有 2 µg/ml 或更高的苯唑西林的 MIC (见,例如 **Etest®** 技术手册,AB bioMérieux, 2008)。

[0127] 一些实施方案包括选择药物抗性细菌病原体,其中所述病原体在表面上。这些实施方案包括,确定药物抗性细菌病原体是否在表面上,并选择这种表面,以选择表面上的细菌病原体。或者,一些实施方案包括选择带有药物抗性细菌病原体的表面。相关领域技术人员会理解如何实施这些方法。非限制性的实例包括观察所述表面,或从所述表面取样并检测所述样品中的药物抗性细菌病原体。检测药物抗性细菌病原体的方法是本领域技术人员已知的,并在本文中有描述。观察表面的实例包括当表面与药物抗性细菌病原体接触时,例如如果已知药物抗性细菌病原体已经接触所述表面,进行识别。

[0128] 一些实施方案包括选择药物抗性细菌病原体,其中病原体在受试者中。这些实施方案包括确定药物抗性细菌病原体是否在受试者中,并选择这种受试者,以此选择受试者中的药物抗性病原体。或者,一些实施方案包括选择带有药物抗性细菌病原体的受试者。相关领域技术人员会理解如何实施这些方法。非限制性的实例包括观察所述受试者,或者从所述受试者中取得生物样品并检测所述样品中的药物抗性细菌病原体。检测药物抗性细菌病原体的方法是本领域技术人员已知的,在本文中有描述。观测所述受试者的实例包括识别体内有药物抗性细菌病原体的受试者表现的症状以及观察对所述受试者中细菌病原体的药物治疗无效。

[0129] 一些实施方案包括选择受试者中的药物抗性细菌病原体,其中所述药物抗性病原体是 MRSA。这些实施方案包括确定 MRSA 是否在受试者中,并选择这种受试者,以此选择在受试者中的 MRSA。或者,一些实施方案包括选择带有 MRSA 的受试者。本领域技术人员会知道如何实施这些方法。非限制性实例包括观察所述受试者,或者从所述受试者取得生物样品并检测所述样品中 MRSA 的存在情况。

[0130] 观察所述受试者的实例包括识别受试者中 MRSA 感染的症状,观察对具有细菌病原体感染例如金黄色葡萄球菌感染受试者的 β -内酰胺类抗生素治疗无效,以及观察对具有 MRSA 症状受试者的 β -内酰胺类抗生素治疗无效。观测受试者以确定受试者是否为携带 MRSA 的受试者的其它方法是本领域技术人员已知的。

[0131] 从所述受试者取得生物样品并检测样品中 MRSA 存在情况的方法是本领域技术人员公知的。例如,MRSA 可以通过擦拭患者的鼻孔并分离其中发现的细菌进行检测。检测药物抗性细菌病原体的方法是本领域技术人员已知的,在本文中有描述。观察所述受试者的实例包括识别体内有细菌病原体的受试者表现的症状以及观察对所述受试者中细菌病原体的药物治疗无效。

[0132] 接触细菌病原体

[0133] 使细菌病原体与组合物接触的方法是相关领域技术人员公知的。这些方法将取决于细菌病原体的类型和位置以及所用组合物的类型。本文描述了接触细菌病原体的方法,包括接触受试者中的细菌病原体的方法,以及接触表面上的细菌病原体的方法等。本领域技术人员会知道适用哪种方法。

[0134] 在一些实施方案中,提供了本文所述的使表面上的细菌病原体与组合物接触的方法。例如,通过喷洒本文提供的组合物至所述表面上,或者用含有本文提供的组合物的擦具擦拭表面。本领域技术人员会理解如何将本文所述的组合物施用于表面。

[0135] 在一些实施方案中,提供了使受试者中的细菌病原体与本文所述的组合物接触的方法。这些方法包括将本文所述的化合物给予受试者,以使所述化合物与细菌病原体接触。例如,可以将化合物或试剂,例如 MSM,通过任何有效途径给予至受试者。示例性给药途径包括但不限于注射(例如皮下注射、肌肉注射、真皮内注射、腹膜内注射和静脉注射)、口服、舌下、直肠、经皮(例如表面)、鼻内、阴道和吸入途径。具体的给药类型包括外用或通过吸入法给药至鼻粘膜或肺。

[0136] 在一些实施方案中,配制成用于外用的组合物可以用于接触位于受试者皮肤上或中的细菌病原体。配制成用于吸入给药的组合物可以用于接触位于受试者的呼吸道、鼻粘膜或肺等中的细菌病原体。

[0137] 在一些实施方案中,含 MSM 的或者含 MSM 和抗微生物剂的组合物可配制成用于外用,可用于接触受试者上或中的药物抗性细菌病原体。本领域技术人员会理解适合外用的时机。例如,当细菌病原体在受试者的皮肤上或在受试者身体的表面上时适合外用。

[0138] 在其它实施方案中,含 MSM 的或者含 MSM 和抗微生物剂的组合物可配制成用于经吸入装置给药,用于接触受试者上或中的药物抗性细菌病原体。本领域技术人员会理解用于适合经吸入装置给药的时机。例如,当所述细菌病原体位于受试者粘膜中或在受试者肺中时适合经吸入装置给药。

[0139] 接触细菌病原体的方法可以应用专门的装置,例如吸入装置。吸入装置可用于将本文所述的组合物递送至位于受试者的粘膜、呼吸道和 / 或肺中的细菌病原体。

[0140] 依据一些实施方案,吸入剂可使 MSM 和 / 或其它试剂直接到达感染的肺部组织以使细菌病原体对所述抗生素敏感。或者,吸入剂可使 MSM 和抗微生物剂直接到达感染的肺部组织以抑制或治疗所述细菌病原体。依据一些实施方案,吸入剂可用于治疗 MRSA 感染的肺部组织。

[0141] 在一个实施方案中,提供了靶向数种感染性疾病例如 MRSA 感染的感染部位(例如肺)的吸入剂。在一些这种实施方案中,吸入装置包括雾化器。在其它实施方案中,使用吸入器。在一些实施方案中,使用压力定量吸入器,所述组合物以液体气雾剂形式被吸入。在其它实施方案中,使用干粉吸入器,所述组合物以干粉气雾剂形式被吸入。在数个实施方案中,除吸入治疗之外或代替吸入治疗,可使用口服、静脉、肌内或皮下给药。

[0142] 在某些实施方案中,吸入装置可递送能够到达患者肺部细支气管的大小的吸入剂型微滴或微粒。在一些实施方案中,吸入装置与患者的呼吸节律同步以携带所述剂型至细支气管。依据一个实施方案,吸入治疗能够更直接将所述吸入剂型给药至感染的肺部靶组织。在一些实施方案中,直接靶向是有利的,原因是这使得剂型中纳入的抗微生物化合物的量减少,而又保持或提高剂型抗感染微生物的有效性。在其它实施方案中,直接给药可增加给定的抗微生物方案抗微生物的一个或多个药物抗性菌株的有效性。根据其它实施方案,直接靶向通过使与非靶组织的接触最小化而使副作用最小化。

[0143] 根据一些实施方案,提供的所述微滴或微粒大小与传统通气机治疗相比可减小给药的 MSM 体积。

[0144] 在一些实施方案中,将抗微生物剂作为吸入剂(例如以粉末气雾剂形式)与 MSM 一起给药的能力是特别有利的,因为这使得可增加保存稳定性以及将剂量预包装。这特别有助于不能定期到健康保健机构的不发达国家或发展中国家的个体。整个疗程可以在一次就诊于医疗保健医生就感染的受试者提供,而不需要住院或再次就诊。在数个实施方案中,本文公开的组合物适合用于自我给药(例如通过吸入装置),因此尤其适合不方便进行医疗保健的患者。

[0145] 在某些实施方案中,含有 MSM 和 / 或其它试剂的吸入组合物的总体积是约 2-8ml。在一些实施方案中,含有 MSM 和 / 或其它试剂的吸入组合物的总体积是约 2ml 至约 4ml。在一些实施方案中,含有 MSM 和 / 或其它试剂的总体积是约 6ml 至约 8ml。还在一些实施方案中,含有 MSM 和 / 或其它试剂的吸入组合物的总体积是约 3ml 至约 7ml,包括 4、5 和 6ml。因此,在一些实施方案中,经吸入给予的 MSM 浓度从约 0.01% 至约 20%,包括约 5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19 或 20%。

[0146] 在多个实施方案中,接触细菌病原体包括使所述病原体与治疗有效量的抗微生物剂接触。这种接触包括在疗程中以单剂量或多个剂量,例如每日,给药。

[0147] 在一些实施方案中,使细菌病原体与本文所述的组合物接触包括使所述病原体与所述组合物接触约 1 小时至约 10 天,或它们之间的任何时间。在一些实施方案中,将所述细菌病原体与本文所述的组合物接触约 12、24、36、48、60、72、84、96、108 或约 120 小时。在一些实施方案中,将所述细菌病原体与本文所述的组合物接触约 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23 或约 24 小时。在一些实施方案中,将所述细菌病原体与本文所述组合物接触约 24、36、48、60、72、84、96、108 或约 120 小时。在一些实施方案中,可以使用更长或更短的接触时间。

[0148] X. 组合物

[0149] 本文所述的试剂(例如 MSM 和 β -内酰胺类抗生素)可根据使用目的以多种方式进行配制。本文公开了多种类型的组合物,包括用于受试者和用于产业设备的组合物。本领域技术人员能够知道使用具体组合物的时机。

[0150] 用于受试者的组合物可根据需要治疗或预防的受试者中疾病的位置和类型以多种方式进行配制。因此,可以提供这些组合物在感染区域处或附近局部使用,或者全身使用(其中所述试剂以经心血管系统广泛散布的方式给药)。本文还公开了其它类型的组合物,例如用于表面的组合物。

[0151] 在本公开范围包括被配制用于人药或兽药的组合物的,其包含 DMSO、DMSO 而不含 MSM、MSM、MSM 而不含 DMSO 并且 / 或者包含抗微生物剂,或者其结合物。

[0152] 例如,所提供的组合物可以包括含有约 0.01 重量 % 至约 20 重量 % 的 MSM 的组合物。在其它实施方案中,所述组合物含有介于约 0.01 重量 % 和 5 重量 % 之间的 MSM。其它实施方案中可含有介于约 5 和 10%MSM、约 10-15%MSM、约 15-20%MSM。其它组合物可含有约 5-20%MSM、约 5-16%MSM、约 5-10%MSM、约 5-8%MSM、约 9-16%MSM 或约 10-15%MSM。其它实施方案包括约 5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19 或 20%MSM。一些实施方案包括约 10-16%MSM、约 10-14%MSM 或约 10-12%MSM。在一些实施方案中,可以使用更大或更小的百分比。虽然含 MSM 组合物通常用于治疗人受试者,它们也可以用于治疗其它脊椎动物,例如灵长类、狗、猫、马和牛中类似或相同的疾病。

[0153] 本文提供的组合物还包括含有抗微生物剂例如 β -内酰胺类抗生素的组合物。例如,本文所述的组合物可以包括青霉素衍生物、头孢菌素类、青霉烯类、单酰胺菌素类、碳青霉烯类、 β -内酰胺酶抑制剂及其结合物。青霉素衍生物的实例包括但不限于氨基青霉素(例如阿莫西林、氨苄青霉素和环烯氨甲青霉素);羧基青霉素(例如羧苄青霉素、羧噻吩青霉素钠和羧噻吩甲氧青霉素);脲基类青霉素(例如苯咪唑青霉素、氧哌嗪青霉素和硫苯咪唑青霉素);甲亚胺青霉素、磺苄青霉素、苄星青霉素、青霉素 G (苄青霉素)、青霉素 V (苯氧甲基青霉素)、青霉素 O (烯丙基巯基甲基青霉素)、普鲁卡因青霉素、苯唑西林、甲氧苄青霉素、乙氧萘胺青霉素、邻氯青霉素、双氯青霉素、氟氯青霉素、呋氨苄青霉素、缩酮氯苄青霉素、巴氨西林(becampicillin)、甲烯氨苄青霉素、酞氨苄青霉素、阿莫西林克拉维酸(co-amoxiclav)(阿莫西林+克拉维酸)和氧哌嗪青霉素。头孢菌素类的实例包括但不限于头孢菌素 IV、头孢菌素 I、头孢唑啉、羟氨头孢菌素、呋肟头孢菌素、羟唑头孢菌素、头孢替坦、甲氧噻吩头孢菌素、氨唑头孢菌素、氨噻三嗪头孢菌素、氨噻肟头孢菌素、头孢泊肟、噻甲羧肟头孢菌素、头孢吡肟、哌酮头孢菌素、去甲噻肟头孢菌素、头孢克肟和头孢匹罗。青霉烯类实例包括但不限于法罗培南。单酰胺菌素类实例包括但不限于噻肟单胺菌素和替吉莫南。碳青霉烯类实例包括但不限于 biapenenvdoripenem、尔他培南、亚胺培南、美罗培南和帕尼培南。 β -内酰胺酶抑制剂实例包括但不限于三唑巴坦([2S-(2 α , 3 β , 5 α)]-3-甲基-7-氧代-3-(1H-1, 2, 3-三唑-1-基甲基)-4-硫杂-1-氮杂二环[3.2.0]庚烷-2-羧酸 4,4-二氧钠盐)、舒巴克坦(2S, 5R)-3,3-二甲基-7-氧代-4-硫杂-1-氮杂二环[3.2.0]庚烷-2-羧酸 4,4-二氧钠)和克拉维酸((2R, 5R, Z)-3-(2-羟基亚乙基)-7-氧代-4-氧杂-1-氮杂-二环[3.2.0]庚烷-2-羧酸)或其它 β -内酰胺类抗生素。

[0154] 许多抗生素具有确立的最小抑菌浓度(MIC),在此浓度下可有效减少或杀死一些细菌。本文提供的一些组合物包括等于对本文公开的具体细菌病原体约 0.001 至 100MIC 的 β -内酰胺类抗生素。在一些实施方案中,所述组合物包括约 1-5、5-10、10-20、20-30、30-40、40-50、50-60、60-70、70-80、80-90 或约 90-100MIC 的 β -内酰胺类抗生素。在一些实施方案中,所述组合物包括约 0.001、0.01、0.1、0.5 或 1MIC 的 β -内酰胺类抗生素。本

领域技术人员会知道对具体细菌病原体的抗生素 MIC 或者本领域技术人员会知道如何确定对具体细菌病原体的抗生素 MIC。本公开了确定对具体细菌病原体的具体抗生素 MIC 的方法,例如使用 **Etest®** 系统。对本领域技术人员而言,计算具体抗生素对于具体细菌病原体的 MIC 是常规的。

[0155] 本文提供的组合物还包括 MSM 和抗微生物化合物的结合物,例如 MSM 和 β -内酰胺类抗生素的结合物。这些组合物可以包括任意量的 MSM 和 / 或抗微生物剂,作为仅包括 MSM 或抗微生物剂的组合物。在一些实施方案中,本文提供的组合物包括 10-16%MSM 和等于对所述组合物将要接触的细菌病原体的 1MIC 的 β -内酰胺类抗生素的量。

[0156] 本文提供的含 MSM 的组合物可以是基于水的组合物。本文提供的含 MSM 组合物优选含有约 0 重量 % 至约 5 重量 % 的氯化钠。在一些实施方案中,所述组合物包含约 0.0001、0.001、0.01、0.1、0.5、1、2、3、4 或 5% 的氯化钠。

[0157] 所述组合物的剂型受到所选给药方式的影响。例如,除注射液之外,可以使用吸入制剂、外用制剂、眼药制剂、腹膜制剂和口服制剂。吸入制品可以包括气溶胶、微粒等。一般而言,吸入的粒子大小的目标是 $1\mu\text{m}$ 或更小,目的是为使所述试剂到达肺部的肺泡区域进行吸收。

[0158] 本文所述的组合物包括本文描述的 MSM、DMSO、抗微生物剂或治疗化合物作为活性成分或者包括其中两种或多种的混合物,有或无另外的试剂作为活性成分,其可以与适合的固体或液体载体一起配制,取决于所选的具体给药方式。口服制剂可以是液体(例如糖浆剂、溶液剂或悬浮剂)或固体(例如粉剂、丸剂、片剂或胶囊)。对于固体组合物,常用的无毒性固体载体可以包括药品级的甘露醇、乳糖、淀粉或硬脂酸镁。制备这些剂型的实际方法是本领域技术人员已知的,或者对于本领域技术人员是显而易见的。

[0159] 对于口服给药,所述组合物可以取通过常规方式与可药用赋形剂一块制备的例如片剂或胶囊的形式,所述赋形剂例如结合试剂(例如预胶化玉米淀粉、聚乙烯吡咯酮或羟丙基甲基纤维素)、填充剂(例如乳糖、微晶纤维素或磷酸氢钙)、润滑剂(例如硬脂酸镁、滑石或二氧化硅)、崩解剂(例如马铃薯淀粉或羧甲基淀粉钠)或湿润剂(例如十二烷基硫酸钠)。片剂可以用本领域已知的方法包衣。用于口服给药的液体制剂可以取例如溶液剂、糖浆剂或悬浮剂的形式,或者以干产品形式存在,在使用前与水或其它适合的运载体配制。这种液体制剂可以通过常用方式与适合的可药用添加剂一起制备,所述添加剂例如悬浮剂(例如山梨醇糖浆、纤维素衍生物或氢化食用脂肪)、乳化剂(例如卵磷脂或阿拉伯胶)、非水性赋形剂(例如杏仁油、油脂、乙醇或分级的植物油)和防腐剂(例如对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸丙酯或山梨酸)。所述制剂中根据需要还可以包含盐缓冲液、调味剂、色素和增甜剂。

[0160] 对于吸入给药,根据本公开使用的试剂或组合物可以来自加压的包装物或喷雾器的喷雾剂制品形式常规地递送,使用适合的推进剂,例如二氯二氟甲烷、三氯氟甲烷、二氯四氟乙烷、二氧化碳或其它适合的气体。对于加压气雾剂,剂量单位可以通过提供按计量递送的阀进行确定。用于吸入器或吹入器的胶囊和药筒剂可以被配制为包含所述化合物和适合的粉基载体例如乳糖或淀粉的粉末混合物。

[0161] 对于外用,所述化合物可以是例如与用于局部给药的液体递送剂混合。治疗使用的试剂(例如本文所述的 DMSO、MSM 和 / 或 β -内酰胺类抗生素其它抑制剂或治疗化合物)易于溶解于或悬浮于水中,如此这可用于递送,因为水不会引起不利的生物组织效应。这使

得可外用或全身给予有效的高剂量,而无来自送递运载体的次级毒性。本领域技术人员会理解对 MSM 和 β -内酰胺类抗生素适合的缓冲液条件。

[0162] 包含本文所述的至少一种试剂作为活性成分的组合通常与适合的固体载体或液体载体一块进行制成,取决于所选的具体给药方式。可用于本公开的可药用载体和赋形剂是常规的。例如,肠胃外剂型通常包含可注射流体,其是可药用的生理上可接受的流体赋形剂,例如水、生理盐水、其它平衡盐溶液、葡萄糖水溶液、甘油等。可以包括的赋形剂有例如蛋白质,例如人血清白蛋白或血浆制剂。如果需要,被给予的组合还可以包含少量的无毒辅助物质,例如湿润剂或乳化剂、防腐剂、pH 缓冲剂等,例如醋酸钠或脱水山梨醇单月桂酸酯。制备这种药剂形式的实际方法是本领域技术人员已知的或者对于本领域技术人员是显而易见的。

[0163] 例如,对于肠胃外给药,治疗剂通常通过以下方式配制:将它们以所需纯度在单位剂量可注射形式(溶液剂、悬浮剂或乳剂)中与可药用载体例如在所应用的剂量和浓度下对受者无毒并且与所述制剂的其它成分相容的载体混合。可药用载体是无毒的固体、半固体或液体填充剂、稀释剂、包封材料或任何形式的制剂辅料。

[0164] 在通常情况下,制剂通过使试剂均与液体载体或细分的固体载体或两者均质且紧密接触制成。然后,根据需要,可将产品定形成需要的制剂。任选择地,所述载体是肠胃外载体,在一些实施方案中,载体是与受者的血液等渗的溶液。这种载体运载体的实例包括水、盐水、林格液和葡萄糖溶液。非水性运载体,例如非挥发性油、油酸乙酯以及脂质体也可用于本文。

[0165] 在一些实施方案中,含有至少一种试剂的组合可配制在单位剂型中,适合用于单次精确剂量给药。所给予的活性化合物的量将取决于被治疗的受试者、疾病的严重程度和给药方式,最好由开处方的医师判断。在这些范围内,待给予的制剂含有在被治疗的受试者中有效达到所需效应的量的活性组分量。

[0166] 用于给药的制品可以适合地配制以得到受控释放的所述药物剂(例如 DMSO、MSM、 β -内酰胺类抗生素等)。例如,所述组合可以是颗粒的形式,所述颗粒含有可生物降解的聚合物和/或多糖凝胶和/或生物粘附性聚合物、两亲聚合物、改变所述颗粒界面性质的试剂和药理活性物质。这些组合呈现使活性物质受控释放的一些生物相容性特征。见例如美国专利 No. 5,700,486。

[0167] 聚合物可以用于受控释放。用于受控药物送递的多种可降解的和不可降解的聚合物基质是本领域中已知的(Langer, Accounts Chem. Res. 26:537, 1993)。例如,嵌段共聚物 polaxamer407 在低温下以粘稠但可流动的液体形式存在,但是在体温下形成半固体胶。它已经表明是配制和持续送递重组白细胞介素-2 和尿素酶的有效运载剂(Johnston et al., Pharm. Res. 9:425, 1992; Pec, J. Parent. Sci. Tech. 44(2):58, 1990)。或者,羟基磷灰石已经被作为微载体用于蛋白受控释放(Ijntema et al., Int. J. Pharm. 112:215, 1994)。在又一方面,脂质体可用于受控释放和脂质包被的化合物的药物靶向(Betageri et al., Liposome Drug Delivery Systems, Technomic Publishing Co., Inc., Lancaster, PA, 1993)。已知有多种治疗性蛋白受控送递的其他系统(例如美国专利 No. 5,055,303;美国专利 No. 5,188,837;美国专利 No. 4,235,871;美国专利 No. 4,501,728;美国专利 No. 4,837,028;美国专利 No. 4,957,735 和美

国专利 No. 5, 019, 369 ; 美国专利 No. 5, 055, 303 ; 美国专利 No. 5, 514, 670 ; 美国专利 No. 5, 413, 797 ; 美国专利 No. 5, 268, 164 ; 美国专利 No. 5, 004, 697 ; 美国专利 No. 4, 902, 505 ; 美国专利 No. 5, 506, 206 ; 美国专利 No. 5, 271, 961 ; 美国专利 No. 5, 254, 342 和美国专利 No. 5, 534, 496)。

[0168] 在产业情形下使用的组合物可以以多种方式配制, 取决于待治疗表面部位和类型。这些组合物可以根据药物组合物可以被配制的任何方式配制, 但是另外可以用在正常情况下给药至受试者所不能接受的其他方式配制。在产业情形下使用的组合物是基于水的, 含有 0-5% 氯化钠。在一些实施方案中, 这些组合物被配制, 以经由擦拭物应用于表面。在一些实施方案中, 这些组合物被制, 以喷洒至表面上。本领域技术人员会理解如何制备这些制剂。

[0169] X. 其它实施方案

[0170] 在本文所述的数个实施方案中, 提供了含有 DMSO 和 / 或 MSM 的制剂。尽管药物抗性病原微生物流行率增加, 本文公开的制剂的数个实施方案在治疗药物抗性细菌或其它微生物中有出乎意料的效果。其它药物抗性病原微生物也用仅 DMSO、仅 MSM 或 DMSO 和 MSM 的结合物以及治疗剂治疗。

[0171] 在多个实施方案中, DMSO 和 MSM 的结合物使得可以使用较低浓度的 DMSO 和 / 或 MSM。在另一实施方案中, 使用 DMSO 和 / 或 MSM 可降低所述制剂中其它组分的最低有效浓度, 因此还可以降低这些组分的副作用。例如, 在一个实施方案中, 加入 DMSO 或 MSM 或者加入 DMSO 和 MSM 将降低达到同等或增强治疗效果的抗生素剂量。

[0172] 在数个实施方案中, 含有 DMSO 和 / 或 MSM 的制剂可使药物抗性病原体对药物敏感。在一个实施方案中, 含有 DMSO 和 / 或 MSM 的制剂可部分地或全部地去除细菌菌株的药物抗性性质。

[0173] 在数个实施方案中, 含有 DMSO 和 / 或 MSM 并含有至少一种治疗剂的剂型使得有效治疗一种或多种类型感染需要的 DMSO、MSM 和 / 或治疗剂的浓度降低。在一个实施方案中, 含有 DMSO、MSM 或两者结合物的制剂使细菌(无论是否是药物抗性的)对抗生素敏感。因此, 这种制剂:(i)可降低所需抗生素的剂量;(ii)可减少处理时间;(iii)减少所需不同抗生素的数量;和/或(iv)使抗生素有效。因此, 在数个实施方案中, 可以降低与抗生素相关的不利副作用, 包括肝损伤、肾损伤、眼睛缺陷、高尿酸血症、血小板减少症、白细胞减少症和中性粒细胞减少症。在一个实施方案中, DMSO 和 / 或 MSM 制剂可使药物抗性病原体对异烟肼、利福平、吡嗪酰胺和 / 或乙胺丁醇敏感。在另一实施方案中, DMSO 和 / 或 MSM 可增强异烟肼、利福平、吡嗪酰胺和 / 或乙胺丁醇对非药物抗性结核病的效果。

[0174] 许多感染会导致局部炎症(或者甚至是感染部位周围大面积组织炎症)。在一些实施方案中, DMSO 和 / 或 MSM 与治疗剂协同作用, 以比仅 DMSO、MSM 或试剂在更大程度上减少炎症。

[0175] 在数个实施方案中, 单制剂中 DMSO 和 MSM 与治疗剂协同作用, 以减少实现有效量的治疗剂递送至感染靶部位需要的 DMSO 量。在一些实施方案中, MSM 可增强 DMSO 的渗透效果, 使得治疗剂以升高的浓度(或减少的时间窗)到达感染的靶区域。因此, 在一些这样的实施方案中, MSM 和 DMSO 之间的协作作用可降低 DMSO 给药相关的副作用, 所述副作用包括给药后令人不愉快的气味、恶心、腹泻、皮肤 / 咽喉刺激等。

[0176] 在又一些实施方案中,单制剂中 DMSO 和 MSM 与治疗剂协同作用以减少有效治疗感染所需治疗剂的量。例如,许多抗生素有确定的最小抑菌浓度(MIC),在此浓度下它们可有效减少或杀死一些细菌。在一些实施方案中,含 DMSO、MSM 和亚 MIC 浓度的抗生素的制剂在减少或杀死一些细菌方面与仅 MIC 水平的抗生素相比是等效的或者更有效的。在其它实施方案中,含 DMSO、MSM 和抗生素的制剂在减少或清除感染部位细菌方面与仅抗生素相比是更有效的。在数个实施方案中,本文公开的制剂可增强对多个药物抗性细菌病原体的治疗。

[0177] 在一个实施方案中,含有 DMSO 和乙胺丁醇的制剂可使细菌对乙胺丁醇以外药物敏感。在一些实施方案中,含有 DMSO 的制剂可增强对药物例如亚 MIC 浓度的乙胺丁醇、异烟肼、利福平和链霉素的敏感性或易感性约 2 倍至约 10 倍。与以前报道不同的是,在一些实施方案中,DMSO 浓度超过 50% 是尤其有利的(Jagannath et al. J. Antimicrobial Chemotherapy 35, 381-390, 1995, 通过引用纳入本文)。

[0178] 在一些实施方案中,DMSO 和 / 或 MSM 使得抗生素(或其它治疗剂)穿透被细菌病原体包括药物抗性细菌病原体感染的肺组织。在一个实施方案中,DMSO 和 / 或 MSM:(i)使抗生素到达感染组织的较深层;(ii)使得与感染组织直接接触;(iii)延长抗生素对感染组织的暴露时间;和 / 或(iiv)减少获得所需抗生素效应的时间。在一个实施方案中,DMSO 和 / 或 MSM 通过用作吸入剂达到一种或多种这些所需效应,其中所述吸入剂另外含有一种或多种抗生素或其它治疗剂。

[0179] 在数个实施方案中,结合使用 MSM 可减少或清除通常与 DMSO 相关的气味。在数个实施方案中,这有出乎意料之外的益处,因为医生避免了使用有令人不快气味的高浓度(或任意量)的 DMSO。

[0180] 在一些实施方案中,DMSO 和 / 或 MSM 制剂包括可有效治疗寄生物例如线虫、绦虫、吸虫、原生动物或阿米巴引起感染的抗寄生物剂。

[0181] 在一些实施方案中,DMSO 和 / 或 MSM 制剂包括可有效治疗真菌感染例如癣、念珠菌、隐球菌引起的感染(例如隐球菌性脑膜炎)的抗真菌剂。

[0182] 在一些实施方案中,DMSO 和 / 或 MSM 制剂包括可有效治疗病毒感染的抗病毒剂。在一些实施方案中,具体种类的抗病毒剂用于治疗具体类型病毒引起的感染。在一些实施方案中,使用靶向 HIV、疱疹病毒、肝炎 B 或 C 病毒以及流感病毒。

[0183] 在一些实施方案中,DMSO 和 / 或 MSM 制剂包含可通过例如抑制细菌生长、代谢、增殖、活性和 / 或功能有效治疗细菌感染的抗生素。在一些实施方案中,使用了抑菌性抗生素,而在另一些实施方案中,使用了杀菌性抗生素。在又一些实施方案中,抑菌性抗生素和杀菌性抗生素被整合到含有 DMSO 和 / 或 MSM 的单制剂中。在一些实施方案中,一种或多种类别的抗生素被整合到含有 DMSO 和 / 或 MSM 的制剂中。在一些实施方案中,制剂含有一种或多种的:氨基葡萄糖、安沙霉素、碳头孢烯、碳杂青霉烯、头孢菌素(第一、二、三、四或五代)、糖肽类、大环内酯、单酰胺菌素、青霉素、多肽、喹诺酮、氨苯磺胺、四环素等。

[0184] 在一些实施方案中,具体疾病通过将具体抗生素整合至含有 DMSO 和 / 或 MSM 制剂靶向。例如大环内酯类如阿奇霉素或红霉素被整合至用于治疗呼吸器官或支原体病感染的制剂中。同样地,青霉素类如阿莫西林或苯唑西林被整合至用于治疗大范围链球菌感染的制剂中。

[0185] 在又一些实施方案中,引起具体疾病的微生物被整合至含有 DMSO 和 / 或 MSM 的制

剂中的具体抗生素靶向。例如,氨基糖甙类如新霉素被整合至用于治疗大肠杆菌感染的制剂中。在数个实施方案中,使用了通常用于对抗微生物感染的抗生素。在一些实施方案中,包括但不限于异烟酰肼、利福平、吡嗪酰胺和乙胺丁醇的抗生素被整合至含有一种或多种 DMSO 和 MSM 的制剂中,并用于治疗细菌病原体,包括药物抗性细菌病原体。

[0186] 在本发明的数个实施方案中,提供了包含 DMSO、MSM 和一种或多种下述治疗剂的制剂:利福平、异烟酰肼、吡嗪酰胺和乙胺丁醇。在其它实施方案中,提供了含有 DMSO 并含有利福平、异烟酰肼、吡嗪酰胺和乙胺丁醇中至少一种的制剂。在再一些实施方案中,提供了含有 DMSO 并含有利福平、异烟酰肼、吡嗪酰胺和乙胺丁醇中至少一种的制剂。在数个实施方案中,提供了含有与利福平、异烟酰肼、吡嗪酰胺和乙胺丁醇结合的 DMSO 和 / 或 MSM 的制剂,用于治疗细菌病原体,包括药物抗性细菌病原体。

[0187] 在一些实施方案中,利福平以每日约 400mg 至约 800mg 的全部日剂量提供。在一些实施方案中,利福平以每日约 500mg 至约 700mg 的全部日剂量提供,而在又一些实施方案中,利福平是以每日约 550mg 至约 650mg 的全部日剂量提供,包括每日 560、570、580、590、600、610、620、630 和 640mg。

[0188] 在一些实施方案中,异烟酰肼以每日约 100mg 至约 500mg 的全部日剂量提供。在一些实施方案中,异烟酰肼以每日约 200mg 至约 400mg 的全部日剂量提供,而在又一些实施方案中,异烟酰肼是以每日约 250mg 至约 350mg 的全部日剂量提供,包括每日 260、270、280、290、300、310、320、330 和 340mg。

[0189] 在一些实施方案中,吡嗪酰胺以每日约 1.0 至约 4.0g 的全部日剂量提供。在一些实施方案中,吡嗪酰胺以每日约 2.0 至约 3.0g 的全部日剂量的形式提供,而在又一些实施方案中,吡嗪酰胺是以每日约 2.0 至 2.5g 的全部日剂量的形式提供,包括每日 2.1、2.2、2.3 和 2.4g。

[0190] 在一些实施方案中,乙胺丁醇以每日约 0.5 至约 2.5g 的全部日剂量提供。在一些实施方案中,乙胺丁醇以每日约 1.0 至 2.0g 的全部日剂量提供,而在又一些实施方案中,乙胺丁醇是以每日约 1.0 至约 1.5g 的全部日剂量的形式提供,包括每日 1.1、1.2、1.3 和 1.4g。

[0191] 在一些实施方案中,DMSO 和 / 或 MSM 用于预治疗具有感染性疾病的患者。在一些实施方案中,用于预治疗患者的 DMSO 和 / 或 MSM 剂量约 10% 至 50% 质量体积比。在一些实施方案中,预治疗 DMSO 和 / 或 MSM 剂量从约 20% 至约 40%,从约 25% 至 35%,包括 26、27、28、29、30、31、32、33 和 34%。在一些实施方案中,使用约 50% 至约 100% 的 DMSO 和 / 或 MSM。在数个实施方案中,用 DMSO 和 / 或 MSM 预治疗可提高抗生素抑制细菌活性和 / 或使药物抗性菌株对原本无效药物的敏感的能力。

[0192] 在一些实施方案中,制备了一种制剂,其中在给药前将抗微生物剂溶解于 DMSO 和 / 或 MSM 中。在一些实施方案中,这是尤其有利的,因为抗微生物剂和 DMSO (和任选的 MSM) 可以经吸入给予受试者。根据一些实施方案,吸入剂使 DMSO 和 / 或 MSM 直接到达感染的肺。

[0193] 在数个实施方案中,使用 MSM 可降低达到同等效果需要的 DMSO 量,并且 / 或者提高 DMSO 的有效性至少 10%、25%、50%、100%、2 倍、3 倍、5 倍、10 倍、50 倍或 100 倍。在其它的实施方案中,使用 MSM 可降低达到同等效果需要的治疗剂的量,并且 / 或者提高治疗剂的有效性至少 10%、25%、50%、100%、2 倍、3 倍、5 倍、10 倍、50 倍或 100 倍。在再一些实施方案中,

使用 DMSO 可降低达到同等效果需要的治疗剂的量,并且 / 或者提高治疗剂的有效性至少 10%、25%、50%、100%、2 倍、3 倍、5 倍、10 倍、50 倍或 100 倍。在又一些实施方案中,与仅 DMSO 或 MSM 和 / 或仅治疗剂相比,使用 DMSO 和 MSM 可降低达到同等效果需要的治疗剂的量,并且 / 或者提高治疗剂的有效性至少 10%、25%、50%、100%、2 倍、3 倍、5 倍、10 倍、50 倍或 100 倍。

[0194] 在数个实施方案中,仅包含 DMSO 或包含与 MSM 结合的 DMSO 的预治疗制剂通过静脉、肌内、外用或口服给予受试者,以提高含有 DMSO 和 / 或 MSM 以及治疗剂如抗生素的吸入剂治疗的效果。以仅 DMSO 或与 MSM 结合的 DMSO 预治疗可提高吸入剂治疗效果至少 10%、25%、50%、100%、2 倍、3 倍、5 倍、10 倍、50 倍或 100 倍。

[0195] 在数个实施方案中,将有药物抗性感染性疾病的受试者用含有一种或多种治疗剂例如抗生素以及仅 DMSO 或与 MSM 结合的 DMSO 的制剂,或者由或基本由一种或多种治疗剂例如抗生素以及仅 DMSO 或与 MSM 结合的 DMSO 组成的制剂治疗。在一些实施方案中,所述制剂另外包括其它治疗剂、载体或赋形剂。在一个实施方案中,所述制剂另外包括精氨酸、维生素 D、抗氧化剂、大环内酯类、利奈唑胺、胺苯硫脲、硫利达嗪或其中结合物。

[0196] DMSO 可容易地破坏许多材料的完整性(尤其是用于制造一次性医疗器材的塑料和聚合物)。因此,本发明的数个实施方案包含用于方便 DMSO 储存和给药的装置。在一些实施方案中,DMSO 储存在玻璃瓶中,通过不反应的输液管给药。在其它实施方案中,吸入装置专门设计为具有 DMSO 抗性。在一些实施方案中,吸入装置的部分是可丢弃的或可替换的。根据数个实施方案,含有 DMSO 的制剂使用美国专利申请 No. :12/066,480 公开的材料和装置制造、储存和 / 或给药,该申请是于 2006 年 9 月 11 日提交的国际申请 No. :PCT/US06/35499 的国家阶段,在此以引用方式全文纳入本文。

[0197] 在数个实施方案中,加入 MSM 出乎意料地减少了使用 DMSO 时通常出现的难闻气味。例如,在一些实施方案中,DMSO 和 MSM 制剂使用后不会产生可察觉的气味。在其它一些实施方案中,DMSO 浓度达到或超过 50% 时,制剂中与 MSM 的结合物可减少或消除基于 DMSO 的气味。该结果是出乎意料的,因为 DMSO 使用通常伴随强的难闻气味。

[0198] 在一些实施方案中,将 DMSO 和 / 或 MSM 与治疗剂(例如抗生素)一起使用使得可制成和 / 或给药小滴或颗粒大小,由此可以降低对口腔黏膜和喉粘膜的刺激,因为小滴或颗粒可更深入进入受试者的肺部。在一些实施方案中,小滴或颗粒进入的深度可增加溶解在患者肺的抗生素浓度。

[0199] 在数个实施方案中,将 DMSO 和 / 或 MSM 制剂与治疗剂(例如抗生素)结合,作为气雾剂提供以将局部活性的药物递送至呼吸系统,以治疗感染性疾病或其它呼吸系统疾病。在一个实施方案中,下呼吸道与所述制剂接触(或排他性地接触)。在其它实施方案中,所述制剂用于全身性地治疗疾病。对于全身性活性的药物,调整气雾剂可粒大小以到达肺部外围区域的肺泡表面。

[0200] 在一些实施方案中,使用含有治疗剂(例如抗生素)的 DMSO 和 / 或 MSM 制剂是尤其有利的,因为这使作用快速起始。在一个实施方案中,吸入递送可提供肺部大面积吸收。对于局部作用的药物,在一些实施方案中,作用立即起始。依据一些实施方案,全身活性的吸入制剂迅速到达血流。在一些实施方案中,吸入治疗可在约 1-90 分钟产生治疗效果。在一个实施方案中,DMSO 和 / 或 MSM 可提高所述治疗剂的生物利用度。在又一个实施方案中,

DMSO 和 / 或 MSM 可降低所述治疗剂的降解。在另一实施方案中,本文公开的气雾剂制剂可降低口服或外部治疗时可能出现胃肠道副作用或者皮肤刺激。

[0201] 在数个实施方案中,调整所述吸入颗粒的大小以使如下现象最小化:这些颗粒通过惯性撞击沉积在上呼吸道而无法到达作用部位。在数个实施方案中,调整所述颗粒的大小以口腔或喉咙中的沉积最小化,以此使吞咽和不希望的局部或全身副作用最小化。在数个实施方案中,所述颗粒小于 2.5 或 10 μm 。在一个实施方案中,所述颗粒是约 3-5 μm ,被输送至细支气管(bronchii and bronchiole)的分叉或小气道。在另一实施方案中,所述颗粒小于 3 μm ,随气流至肺泡。在数个实施方案中,使用 DMSO 和 / 或 MSM 使得可优化治疗剂的颗粒大小。另外,在数个实施方案中,使用 DMSO 和 / 或 MSM 可使药物抗性细菌病原体对抗生素敏感。

[0202] 在数个实施方案中,DMSO 和 / 或 MSM 可与治疗剂形成溶液、混合物、乳剂、悬浮液或其它适合的结合物。在一个实施方案中,匀浆法、超声法、高剪切流体法或其它机械方法可用于将治疗剂与 DMSO 和 / 或 MSM 结合。在其它实施方案中,所述治疗剂易溶于 DMSO。不像其它强的溶剂,DMSO 对肺组织无害。因此,在一些实施方案中,DMSO 是尤其有利的,因为它既能溶解所述治疗剂又能送递所述试剂而不伤害肺组织。在一些实施方案中,DMSO 溶解至少 50%、75%、90%、95% 或 99% 的所述治疗剂,在一个实施方案中,DMSO 能够防止不希望的所述治疗剂的沉淀。

[0203] 提供下述实施例以解释一些具体特征和 / 或实施方案。这些实施例不应被解释为将本发明限定于所述的具体特征或实施方案。

[0204] 实施例

[0205] 实施例 1. MSM 单独不影响 MRSA 存活率

[0206] 本实施例描述了在仅存在 MSM 下测试 ATCC 菌株 43300 金黄色葡萄球菌(一个甲氧苯青霉素和苯唑西林抗性菌株)的存活率的体外试验。将 ATCC 菌株 43300 金黄色葡萄球菌与 5-16%MSM 孵育 24 和 48 小时。每天另外加入 3.5%MSM。结果显示,MSM 不影响该细菌菌株的存活率。

[0207] 方法:

[0208] 将 USP<51> 抗微生物效率方案用作模式实验模型。测试的起始 MSM 浓度是 5、8、10、12、13、14、15 和 16%MSM。将所有浓度板出(plated out)至 10^{-7} 稀释度以确定 cfu/ml。

[0209] 使用的材料是 Flake **OptiMSM®** MSM (批号 0604751)、ATCC 菌株 43300 金黄色葡萄球菌、30ml 硼硅玻璃培养管、乳糖肉汤(LB;Alpha Biosciences;Lot:L07-03)、改良的Lethen肉汤(MLB,Alpha Biosciences,lot I08-09)、含卵磷脂和吐温 80 的胰蛋白胍大豆琼脂(TSA;Alpha Biosciences,lot:F08-42)、苯唑西林钠 USP 级 lot J 和甲氧苯青霉素钠(AS;Cat No. 1410002,lot KOH338)。

[0210] Flake **OptiMSM®** MSM用经过检验的Mettler Toledo AG245SN:1115210833称量并按每个浓度分成小份。将 MSM 放入 30ml 硼硅玻璃培养管中。将 MSM 按照如下加入管中:5% (0.5g)、8% (0.8g)、10% (1.0g)、12% (1.2g)、13% (1.3g)、14% (1.4g)、15% (1.5g) 和 16% (1.6g)。材料以 10ml 的体积计算。

[0211] 将所有的管用稀释的 MRSA 接种,得到 2.0×10^5 cfu/ml (对数值 =5.23) 的最终菌

落形成单位水平。将所述管在 25℃ 下孵育并定期混匀。在第 24 和 48 小时时进行铺板。将每种条件通过将 1ml 生长物稀释至 9ml 的 MLB 稀释肉汤中进行铺板。将该混合物系列稀释向下至 10^{-7} , 将 1ml 放入每个稀释点的无菌培养皿中。将 20ml TSA 加入每个稀释物中, 涡旋并使其凝固。将所有稀释物在 35℃ 下孵育 24 小时。对每个平板上的细菌菌落进行计数, 并将菌落计数转换为对数形式。确定阳性和阴性对照。

[0212] 结果:

[0213] 结果表明, 在 24 小时或 48 小时时间点, 所测试的 MSM 浓度对 ATCC 菌株 43300 金黄色葡萄球菌的存活率都无影响。

[0214] 实施例 2. MSM 使 MRSA 对苯唑西林敏感

[0215] 本实施例描述了在存在 MSM、DMSO 和苯唑西林下测试 ATCC 菌株 43300 金黄色葡萄球菌(一个甲氧苯青霉素和苯唑西林抗性菌株)的存活率的体外试验。结果显示于见图 1。存在 9-16%MSM 和 6 μ g/ml 苯唑西林下比存在 1%DMSO 和 6 μ g/ml 苯唑西林下或存在 1%DMSO、9-16%MSM 和 6 μ g/ml 苯唑西林下出现更低的存活率。最低存活率出现在 12 和 13%MSM 与 6 μ g/ml 抗生素的条件下。这些结果表明, 一些浓度的 MSM 单独可比仅 DMSO 或者 MSM 和 DMSO 的结合物更有效增加 MRSA 菌株对抗生素的敏感性。

[0216] 方法:

[0217] 将 USP<51> 抗微生物效率方案用作模式实验模型。测试的 MSM 浓度是 5-16%, 增量为 1。将所有浓度板出至 10^{-7} 稀释度以确定 cfu/ml。使用的苯唑西林的起始浓度是 6 μ g/ml, 这是苯唑西林的 MIC。该浓度是在临床应用中确定 MRSA 抗性的产业标准。

[0218] 使用的材料是 Flake **OptiMSM®** MSM (批号 0604751)、DMSO (Jacob Labs, lot number 48074)、ATCC 菌株 43300 金黄色葡萄球菌、30ml 硼硅玻璃培养管、乳糖肉汤 (LB; Alpha Biosciences; Lot: L07-03)、改良的 Lethen 肉汤 (MLB, Alpha Biosciences, lot I08-09)、含卵磷脂和吐温 80 的胰蛋白胍大豆琼脂 (TSA; Alpha Biosciences, lot: F08-42) 和苯唑西林钠 USP 级 lot J。

[0219] Flake **OptiMSM®** MSM 用经过检验的 Mettler Toledo AG245SN: 1115210833 称量并按每个浓度分成小份。将 MSM 放入 30ml 硼硅玻璃培养管中。材料以 10ml 的体积计算。将 MSM 按照如下加入管中: 5% (0.5g)、6% (0.6g)、7% (0.7g)、8% (0.8g)、9% (0.9g)、10% (1.0g)、11% (1.1g)、12% (1.2g)、13% (1.3g)、14% (1.4g)、15% (1.5g) 和 16% (1.6g)。将无菌 DMSO 加入合适的管中。将 300 μ l 浓度为 30mg/10ml 的无菌苯唑西林加入合适的管中, 得到终浓度 6 μ g/ml。对照条件是乳糖肉汤在有和无 6 μ g/ml 苯唑西林下接种 ATCC 菌株 43300 金黄色葡萄球菌, 以及未接种的阴性对照来显示无污染迹象。

[0220] 将适合的管接种稀释的 ATCC 菌株 43300 金黄色葡萄球菌, 得到菌落形成单位 3.15×10^7 cfu/ml (对数值 = 7.49) 的终水平。将所述管在 25℃ 下孵育并定期混匀。在第 48 小时时进行铺板。将 5-16% 管通过将 1ml 材料稀释至 9ml MLB 稀释肉汤中进行铺板。将它们系列稀释向下至 10^{-7} , 将 1ml 放入每个稀释点的无菌培养皿中。然后, 将 20ml TSA 加入每个稀释物中, 涡旋并使其凝固。将所有稀释物在 35℃ 下孵育 24 小时。对平板进行计数, 并将菌落计数转换为对数形式。确定阳性和阴性对照。

[0221] 结果:

[0222] 本研究的结果显示于表 1 和图 1 中。

[0223] 表 1 :ATCC 菌株 43300 金黄色葡萄球菌在 5-16%MSM 和苯唑西林中 48 小时的存活率。

[0224]

% MSM (如果加入)	(MA) 6 µg/ml 苯唑西林 MSM (cfu/ml 对数值)	(MDA) 6 µg/ml 苯唑西林 MSM 1% DMSO (cfu/ml 对数值)	(DA) 6 µg/ml 苯唑西林 无 MSM 1% DMSO (cfu/ml 对数值)
16	5.1	5.5	5.8
15	4.9	5.7	5.7
14	4.8	5.7	5.7
13	4.6	5.8	5.4
12	4.6	5.8	5.8
11	4.8	5.8	5.8
10	5.1	5.8	5.7
9	5.5	5.9	5.9
8	5.9	5.8	5.9
7	6.8	5.9	5.9
6	6.6	6.1	6.3
5	6.7	6.2	6.2

[0225] 这些结果表明, 9-16%MSM 增加了 ATCC 菌株 43300 金黄色葡萄球菌对苯唑西林的敏感性至少 48 小时。在 5-8%MSM 浓度范围下, 观察到了 MA、DA 和 MDA 条件的最小的 cfu/ml 对数值降低。“cfu/ml 对数值降低”是指细菌培养物的 cfu/ml 比起始接种细菌培养物 cfu/ml 的减少(降低)。在 9%MSM 浓度下, MA 条件显示 2.0 的 cfu/ml 对数值降低, 而 DA 和 MDA 条件显示 1.6 的 cfu/ml 对数值降低。在 10-16%MSM 浓度下, MA 条件显示 2.9 的最大的 cfu/ml 对数值降低, 而 DA 和 MDA 条件分别显示 1.69 和 2.0 的 cfu/ml 对数值降低。在 5-7%MSM 浓度下, 与 DA 和 MDA 条件相比, MA 条件显示细菌生长增加。DMSO 可能对 9-16%MSM/ 苯唑西林抑制 ATCC 菌株 43300 金黄色葡萄球菌生长的能力有一些抑制作用。

[0226] 阳性对照在 10^6 稀释度板上显示 TNTC。阴性对照显示无污染迹象。总之, 这些结果表明 MSM 可以使 MRSA 菌株对抗生素治疗敏感。

[0227] 实施例 3. MSM 在模拟疗程中使 MRSA 对苯唑西林敏感本实施例描述了在存在 MSM 和苯唑西林下测试 ATCC 菌株 43300 金黄色葡萄球菌(一个甲氧苯青霉素和苯唑西林抗性菌株)的存活率的体外试验。结果显示于图 2 中。将 ATCC 菌株 43300 金黄色葡萄球菌与 5-16%MSM 和 6 µg/ml 苯唑西林在 25℃ 下孵育 24 小时。在 24 小时后, 向孵育物中另外加入 6 µg/ml 苯唑西林, 得到苯唑西林总浓度增加至 12 µg/ml。6 µg/ml 是对 MRSA 菌株的 MIC。因此, 细菌在 MIC 苯唑西林下培养 24 小时, 然后在 2×MIC 苯唑西林下培养 24 小时。该试验模型模拟对受试者重复施用在疗程中将接受的抗生素。类似实施例 2 中所示的结果, 在存在 12 和 13%MSM 下观察到最低存活率。这些结果确认了 MSM 可使 MRSA 对抗生素治疗敏感, 并且表明一些浓度 MSM 单独可增加模拟疗程中 MRSA 菌株对抗生素的敏感性。

[0228] 方法:

[0229] 将 USP<51> 抗微生物效率方案用作模式实验模型。测试的 MSM 浓度是 5、8、10、12、13、14、15 和 16%。将所有浓度板出至 10^{-7} 稀释度以确定 cfu/ml。使用的苯唑西林的起始

浓度是 $6 \mu\text{g/ml}$, 这是苯唑西林对该细菌菌株的 MIC。该浓度是在临床应用中确定 MRSA 抗性的产业标准。每日另外加入 $6 \mu\text{g/ml}$ 苯唑西林。

[0230] 使用的材料是 Flake **OptiMSM®** MSM (批号 0604751)、ATCC 菌株 43300 金黄色葡萄球菌、30ml 硼硅玻璃培养管、乳糖肉汤 (LB; Alpha Biosciences; Lot: L07-03)、改良的 Letheen 肉汤 (MLB, Alpha Biosciences, lot I08-09)、含卵磷脂和吐温 80 的胰蛋白胍大豆琼脂 (TSA; Alpha Biosciences, lot: F08-42) 和苯唑西林钠 USP 级 lot J。Flake **OptiMSM®** MSM 用经过检验的 Mettler Toledo AG245SN: 1115210833 称量并按每个浓度分成小份。将 MSM 放入 30ml 硼硅玻璃培养管中。将 MSM 按照如下加入管中: 5% (0.5g)、8% (0.8g)、10% (1.0g)、12% (1.2g)、13% (1.3g)、14% (1.4g)、15% (1.5g)、16% (1.6g)。材料以 10ml 的体积计算。每天向每个实验条件中加入 $300 \mu\text{l}$ 浓度为 30mg/10ml 的无菌苯唑西林, 得到终浓度 $6 \mu\text{g/ml}$ 。

[0231] 将所有管接种稀释的 MRSA, 得到菌落形成单位 $9.14 \times 10^5 \text{cfu/ml}$ (对数值 = 5.96) 的终水平。将所述管在 25°C 下孵育并定期混匀。在第 48 小时和第 7 天时进行铺板。将 5-16%MSM 管通过将 1ml 材料稀释至 9ml MLB 稀释肉汤进行铺板。将它们系列稀释向下至 10^{-7} , 将 1ml 放入每个稀释点的无菌培养皿中。将 20ml 的 TSA 加入每个稀释物中, 涡旋并使其凝固。将所有的稀释物在 35°C 下孵育 24 小时。对平板进行计数, 并将菌落计数转换为对数形式。确定阳性和阴性对照。

[0232] 本研究的结果显示于表 2 和图 2 中。

[0233] 表 2: ATCC 菌株 43300 金黄色葡萄球菌在 5-16%MSM 和苯唑西林中 48 小时和 168 小时的存活率。

[0234]

% MSM	48 小时	7 天
	6 $\mu\text{g/ml}$ 苯唑西林 MSM (cfu/ml 对数值)	6 $\mu\text{g/ml}$ 苯唑西林 MSM (cfu/ml 对数值)
16	5.3	1.0
15	4.1	6.9
14	4.0	7.0
13	3.8	7.2
12	3.8	7.1
10	4.6	7.2
8	4.0	7.6
5	7.0	7.9

[0235] 这些结果表明, MSM 增加了 ATCC 菌株 43300 金黄色葡萄球菌对苯唑西林的敏感性至少 48 小时。在第 48 小时的时间点, 12-15%MSM 增加 ATCC 菌株 43300 金黄色葡萄球菌对苯唑西林的敏感性超过任何其它的 MSM 测试浓度。在第 7 天的时间点, 除最高 MSM 测试浓度 (16%) 以外, MSM 没有增加 ATCC 菌株 43300 金黄色葡萄球菌对苯唑西林的敏感性。16%MSM 和每天加入 $6 \mu\text{g/ml}$ 在第 7 天显示没有活细菌。该结果表明, 除最高 MSM 测试浓度 (16%) 以外, 任何起始 MSM 诱导的 ATCC 菌株 43300 金黄色葡萄球菌对苯唑西林敏感在延长暴露于 MSM 和抗生素后均降低。对照在 48 小时后终止, 以使未检查的 MRSA 生物生长的相关风险最小化。

[0236] 实施例 4. MSM 使 MRSA 对多种抗生素敏感

[0237] 本实施例描述了在存在 MSM 和苯唑西林或存在 MSM 和甲氧苯青霉素下测试 ATCC 菌株 43300 金黄色葡萄球菌(一个甲氧苯青霉素和苯唑西林抗性菌株)的存活率的体外试验。测试的生长期间是 24 小时、48 小时和 5 天。测试了与 6 μ g/ml 苯唑西林或 6 μ g/ml 甲氧苯青霉素结合的 5-16%MSM。这是苯唑西林和甲氧苯青霉素对该细菌菌株的 MIC。每天另外加入 3.5%MSM 并加入 6 μ g/ml 苯唑西林或 6 μ g/ml 甲氧苯青霉素。结果显示于图 3A-3C 中。在第 24 小时,5%MSM 和抗生素显示最低水平的细菌存活率。在第 48 小时,5%MSM 和甲氧苯青霉素或者 8%MSM 和苯唑西林显示最低水平的细菌存活率。在第 5 天,13-16%MSM 和抗生素显示最低水平的细菌存活率。总是,这些结果表明,MSM 增加了该 MRSA 菌株对苯唑西林和甲氧苯青霉素的敏感性。

[0238] 方法:

[0239] 将 USP<51> 抗微生物效率方案用作模式实验模型。测试的起始 MSM 浓度是 5、8、10、12、13、14、15 和 16%MSM。将所有浓度板出至 10^{-7} 稀释度以确定 cfu/ml。使用的苯唑西林和甲氧苯青霉素的起始浓度是 6 μ g/ml,这是苯唑西林的 MIC。该浓度是在临床应用中确定 MRSA 抗性的产业标准。每日另外加入 3.5%MSM 并加入 6 μ g/ml 苯唑西林或 6 μ g/ml 甲氧苯青霉素。

[0240] 使用的材料是 Flake **OptiMSM®** MSM (批号 0604751)、ATCC 菌株 43300 金黄色葡萄球菌、30ml 硼硅玻璃培养管、乳糖肉汤(LB;Alpha Biosciences;Lot:L07-03)、改良的Lethen肉汤(MLB,Alpha Biosciences,lot I08-09)、含卵磷脂和吐温 80 的胰蛋白胍大豆琼脂(TSA;Alpha Biosciences,lot:F08-42)、苯唑西林钠 USP 级 lot J 和甲氧苯青霉素钠(AS;Cat No. 1410002,lot KOH338)。

[0241] Flake **OptiMSM®** MSM用经过检验的Mettler Toledo AG245SN:1115210833称量并按每个浓度分成小份。将MSM放入30ml硼硅玻璃培养管中。将MSM按照如下加入管中:5% (0.5g)、8% (0.8g)、10% (1.0g)、12% (1.2g)、13% (1.3g)、14% (1.4g)、15% (1.5g)、16% (1.6g)。材料以10ml的体积计算。每天向每个实验条件中加入300 μ l浓度为30mg/10ml的无菌苯唑西林或甲氧苯青霉素,得到起始浓度为6 μ g/ml。每天另外加入3.5%MSM和6 μ g/ml。

[0242] 将所有管接种稀释的MRSA,得到菌落形成单位 2.13×10^6 /ml (对数值 =6.3) 的终水平。将所述管在 25°C 下孵育并定期混匀。在第 24 小时、48 小时和第 5 天时进行铺板。每个条件通过将 1ml 生长材料稀释至 9ml MLB 稀释肉汤中进行铺板。将所述混合物系列稀释至 10^{-7} ,将 1ml 放入每个稀释点的无菌培养皿中。向每个稀释物中加入 20ml 的 TSA,涡旋并使其凝固。将所有的稀释物在 35°C 下孵育 24 小时。对每个平板上的细菌菌落进行计数,并将菌落计数转换为对数形式。确定阳性和阴性对照。

[0243] 结果:

[0244] 这些研究的结果显示于表 3 中。

[0245] 表 3 :ATCC 菌株 43300 金黄色葡萄球菌在 5-16%MSM 以及苯唑西林或甲氧苯青霉素中 24、48 和 120 小时的存活率。

[0246]

24 小时		
% MSM	6 µg/ml 甲氧苯青霉素 MSM (cfu/ml对数值)	6 µg/ml 苯唑西林 MSM (cfu/ml对数值)
16	5.00	5.25
15	5.00	5.23
14	4.90	5.20
13	4.90	5.00
12	4.60	5.20
10	4.40	5.00
8	4.50	5.00
5	4.30	4.90
48 小时		
% MSM	6 µg/ml 甲氧苯青霉素 MSM (cfu/ml对数值)	6 µg/ml 苯唑西林 MSM (cfu/ml对数值)
16	4.17	4.17
15	4.00	4.40
14	3.98	4.40
13	3.90	4.20
12	3.70	4.30
10	3.70	4.20
8	3.60	3.60
5	3.60	5.20
120 小时		
% MSM	6 µg/ml 甲氧苯青霉素 MSM (cfu/ml对数值)	6 µg/ml 苯唑西林 MSM (cfu/ml对数值)
16	2.80	3.00
15	2.80	3.00
14	2.90	3.00
13	2.80	TNTC
12	4.20	TNTC
10	TNTC	TNTC
8	TNTC	TNTC
5	TNTC	TNTC

[0247] 该研究结果表明,MSM 增加了 MRSA 菌株对苯唑西林和甲氧苯青霉素的敏感性。在第 24 小时,测试所有 MSM 浓度中,在 MSM 和甲氧苯青霉素中比在 MSM 和苯唑西林中观察到较少的 cfu/ml。由于甲氧苯青霉素和苯唑西林对该 MRSA 菌株的 MIC 相同(6 µg/ml),该结果表明 MSM 增加甲氧苯青霉素敏感性多于增加苯唑西林敏感性。在第 24 小时,5%MSM 和抗生素显示了最低水平的细菌存活率。

[0248] 在第 48 小时观察到类似结果。在这一时间点,对甲氧苯青霉素观察到的 cfu/ml 对数平均值降低是 2.7 (起始 5%MSM) 至 2.1 (起始 16%MSM);对苯唑西林观察到的 cfu/ml 对数平均值降低是 2.7 (起始 8%MSM)至 2.1 (起始 16%MSM)。在第 48 小时,5%MSM 和甲氧苯青霉素或 8%MSM 和苯唑西林显示了最低水平的细菌存活率。在第 48 小时,起始 8%MSM 和苯

唑西林或者起始 8%MSM 和甲氧苯青霉素的条件中的细菌存活率相同。

[0249] 在第 120 小时,起始 14-16%MSM 和苯唑西林条件以及起始 13-16%MSM 和甲氧苯青霉素条件显示了 cfu/ml 对数值降低分别为约 3.3-3.5。起始 5-10%MSM 和甲氧苯青霉素以及起始 13%MSM 和苯唑西林显示了菌落数太多而无法计数(TNTC)。13-16%MSM 和抗生素显示了最低水平的细菌存活率。

[0250] 总之,这些结果表明,MSM 可以增加 MRSA 菌株细菌对甲氧苯青霉素和苯唑西林的敏感性。这些结果还说明,甲氧苯青霉素和 MSM 的结合物比 MSM 和苯唑西林的结合物对使 MRSA 菌株敏感更有效。对这些结果的一个纯粹假设性的解释是,MSM 分子可在一定程度上克服抗生素抗性,可能通过渗透或携带抗生素进入细胞中。另一个纯粹假设的结论是,甲氧苯青霉素可以结合到 MSM 并被携带进入 MRSA 细胞,直接原因是比苯唑西林有更多的 MSM 结合位点数目。本发明人观察到:较低浓度 MSM 和抗生素对细菌存活率在第 24 和 48 小时的时间点比在第 5 天时间点有更大影响。对此的一个纯粹假设和非限制性解释是,测试管中的 MSM 浓度随时间而降低,可能是由细菌起作用。

[0251] 实施例 5. MSM 使 MRSA 对多种抗生素敏感

[0252] 本实施例描述了在存在 MSM 和苯唑西林或者存在 MSM 和甲氧苯青霉素下测试 ATCC 菌株 43300 金黄色葡萄球菌(一个甲氧苯青霉素和苯唑西林抗性菌株)的存活率的体外试验。测试了这两种抗生素的三种不同浓度:12、30 和 60 μ g/ml,对应于每种抗生素对该 MRSA 菌株的 2 $\times$ 、5 $\times$ 和 10 $\times$ MIC。将 ATCC 菌株 43300 金黄色葡萄球菌与 5-16%MSM 和所示量的抗生素在 25 $^{\circ}$ C 下孵育 24、48 或 96 小时。

[0253] 方法:

[0254] USP<51> 抗微生物效率方案用作模式实验模型。测试的起始 MSM 浓度是 5-16%,增量为 1。将所有浓度板出至 10^{-7} 稀释度以确定 cfu/ml。使用的所用苯唑西林和甲氧苯青霉素的起始浓度是 12、30 或 60 μ g/ml。这对应于苯唑西林的 2 $\times$ 、5 $\times$ 和 10 $\times$ MIC。该浓度是在临床应用中确定 MRSA 抗性的产业标准。

[0255] 使用的材料是 Flake **OptiMSM[®]** MSM (批号 0604751)、ATCC 菌株 43300 金黄色葡萄球菌、30ml 硼硅玻璃培养管、乳糖肉汤(LB;Alpha Biosciences;Lot:L07-03)、改良的 Lethen 肉汤(MLB, Alpha Biosciences, lot I08-09)、含卵磷脂和吐温 80 的胰蛋白胍大豆琼脂(TSA;Alpha Biosciences, lot:F08-42)、苯唑西林钠 USP 级 lot J 和甲氧苯青霉素钠(AS;Cat No. 1410002, lot KOH338)。

[0256] 将 ATCC 菌株 43300 金黄色葡萄球菌划线用于分离,挑出 25 个克隆并稀释至 McFarland 标准物(standard of one)中。然后,取估计值来以约 10^{-7} cfu/管接种含有生长培养基和 12、30 或 60 μ g/ml 甲氧苯青霉素或苯唑西林的管中。选择在所有浓度抗生素中在 24 小时内呈现浑浊生长的克隆用于下一实验。

[0257] Flake **OptiMSM[®]** MSM 用经过检验的 Mettler Toledo AG245SN:1115210833 称量并按每个浓度分成小份。将 MSM 放入 30ml 硼硅玻璃培养管中。将 MSM 按照如下加入管中:5% (0.5g)、6% (0.6g)、7% (0.7g)、8% (0.8g)、9% (0.9g)、10% (1.0g)、11% (1.1g)、12% (1.2g)、13% (1.3g)、14% (1.4g)、15% (1.5g) 和 16% (1.6g)。材料以 10ml 的体积计算。向每个实验条件中加入无菌的苯唑西林或甲氧苯青霉素,至终浓度为 12、30 或 60 μ g/

ml 抗生素。对 5-16%MSM 且无抗生素的对照条件测试 MRSA 存活率。对有 12、30 或 60 μ g/ml 抗生素但无 MSM 的对照条件测试 MRSA 生长。

[0258] 然后,将所有管接种稀释的所选 ATCC 菌株 43300 金黄色葡萄球菌,得到菌落形成单位 9.4×10^7 /ml (对数值 =7.97)的终水平。将所述管在 25℃下孵育并定期混匀。每天向所述管中另外加入 3.5%MSM 和起始量的抗生素。在第 24 小时时进行铺板。每个条件通过将 1ml 生长材料稀释至 9ml MLB 稀释肉汤中进行铺板。将所述混合物系列稀释至 10^{-7} ,将 1ml 放入每个稀释点的无菌培养皿中。向每个稀释物中加入 20ml 的 TSA,涡旋并使其凝固。将所有的稀释物在 35℃下孵育 24 小时。对每个平板上的细菌菌落进行计数,并将菌落计数转换为对数形式。确定阳性和阴性对照。

[0259] 结果

[0260] 本研究的结果显示于表 4 和图 3A-C 中。

[0261] 表 4 :ATCC 菌株 43300 金黄色葡萄球菌在 5-16%MSM 和 12、30 或 60 μ g/ml 苯唑西林或甲氧苯青霉素中 24 小时的存活率。

[0262]

%MSM	12 µg/ml 甲氧苯青霉素 MSM (cfu/ml对数值)	12 µg/ml 苯唑西林 MSM (cfu/ml对数值)
16	4.56	4.77
15	4.7	4.93
14	4.7	4.88
13	4.77	4.9
12	4.89	4.8
11	4.87	4.8
10	4.8	4.96
9	4.99	5.16
8	5.0	5.18
7	5.46	5.18
6	5.2	5.26
5	5.43	5.28
%MSM	30 µg/ml 甲氧苯青霉素 MSM (cfu/ml)	30 µg/ml 苯唑西林 MSM (cfu/ml对数值)
16	4.47	4.59
15	4.54	4.74
14	4.6	4.82
13	4.7	4.9
12	4.7	4.87
11	4.8	4.94
10	4.8	4.99
9	5.07	5.02
8	5.09	5.2
7	5.13	5.12
6	5.18	5.15
5	5.3	5.17
%MSM	60 µg/ml 甲氧苯青霉素 MSM (cfu/ml对数值)	60 µg/ml 苯唑西林 MSM (cfu/ml对数值)
16	4.8	4.6
15	4.65	4.75
14	4.77	4.8
13	4.77	4.83
12	4.68	4.77

[0263]

11	4.66	4.8
10	4.66	4.87
9	4.9	4.95
8	5.1	5.0
7	5.0	5.14
6	5.2	5.12
5	5.2	5.2

[0264] 对所有抗生素浓度观察到的 cfu/ml 对数值降低都是类似的。5%MSM 和抗生素的 cfu/ml 对数值降低平均值是 2.2, 而 16%MSM 和抗生素的 cfu/ml 对数值降低平均值是 3.3 (除 60 µg/ml 甲氧苯青霉素离群值以外)。甲氧苯青霉素的整体效应略微好于苯唑西林。总之, 在高较高 MSM 浓度下观察到对抗生素的较高敏感性。不含抗生素的 MSM 对照条件显示

比起始接种量更多的菌落数目。含有抗生素但不含 MSM 的对照条件下显示 TNTC, 证明抗生素单独无抑制。

[0265] 48 小时和 96 小时时间点的结果表明, 这些时间点的所有培养物数目太多而无法计数。这可以通过使用在所有三种抗生素浓度下都有大量生长的克隆, 那么选择更高抗性的 MRSA 菌株自然实现进行解释。除此之外是 $9.4 \times 10^7/\text{ml}$ (对数值 = 7.97) 的更高接种值; 正常情况下, 接种量应介于 10^4 和 10^6cfu/ml 之间。对此的一个纯粹假设的非限制性解释是, 在这些实验条件下, MSM 和抗生素对细菌存活率的任何效应都被其它因素屏蔽了。或者, 抗生素也可能已经降解, 原因是本发明人将它用于最后的实验经过了一段较长时间。

[0266] 这些结果表明, 在 24 小时时间点 MSM 增加了 ATCC 菌株 43300 金黄色葡萄球菌对苯唑西林和甲氧苯青霉素的敏感性; 但是, 在其它时间点这些结果却并不确定。在 24 小时时间点, 在所有测试抗生素浓度和所有测试 MSM 浓度下观察到敏感性增加。较高浓度的 MSM 比较低浓度 MSM 更大程度地增加抗生素的敏感性。本实验和前述实验的不同是, 本发明人选择菌落来满足所有三种抗生素浓度下的生长需要。

[0267] 实施例 6. MSM 和 12、30 或 $60 \mu\text{g/ml}$ 苯唑西林对 MRSA 的影响

[0268] 本实施例描述在存在 5-16%MSM 和起始浓度 12、30 或 $60 \mu\text{g/ml}$ 苯唑西林下测试 ATCC 菌株 43300 金黄色葡萄球菌(一个甲氧苯青霉素和苯唑西林抗性菌株)的存活率的体外试验。这些对应于苯唑西林的 $2\times$ 、 $5\times$ 和 $10\times \text{MIC}$ 。每 24 小时另外加入抗生素。测试的生长期间是 24 (见图 4)、48、72、96 和 120 小时。结果显示, MSM 使 MRSA 菌株对苯唑西林敏感。在最早的时间点(24 和 48 小时), 结果显示在所有测试抗生素浓度和所有测试 MSM 浓度下细菌存活率降低, 表明苯唑西林敏感性增加。但是, 在较后时间点(96 和 120 小时), 只在较高 MSM 浓度(10-16%MSM)下观察到细菌存活率降低, 表明 MSM 诱导的苯唑西林敏感性是时间依赖的。这些结果还表明, 在较后时间点, 高浓度苯唑西林与细菌存活率降低有关。

[0269] 方法:

[0270] 将 USP<51> 抗微生物效率方案用作模式实验模型。测试的起始 MSM 浓度是 5-16%, 增量为 1。将所有浓度板出至 10^{-7} 稀释度以确定 cfu/ml。使用的苯唑西林的起始浓度是 12、30 或 $60 \mu\text{g/ml}$, 对应于苯唑西林的 $2\times$ 、 $5\times$ 和 $10\times \text{MIC}$ 。每 24 小时另外加入起始浓度的抗生素。

[0271] 使用的材料是 Flake **OptiMSM®** MSM (批号 0604751)、ATCC 菌株 43300 金黄色葡萄球菌、30ml 硼硅玻璃培养管、乳糖肉汤(LB; Alpha Biosciences; Lot: L07-03)、改良的 Lethen 肉汤(MLB, Alpha Biosciences, lot I08-09)、含卵磷脂和吐温 80 的胰蛋白胍大豆琼脂(TSA; Alpha Biosciences, lot: F08-42)、苯唑西林钠 USP 级 lot J。

[0272] 将 ATCC 菌株 43300 金黄色葡萄球菌划线用于分离。挑选分离的菌落, 再次划线并孵育。挑选分离的隔离群, 然后稀释至 McFarland 标准物。然后, 取估计值来以约 10^{-5}cfu/ml 接种含有生长培养基和 12、30 或 $60 \mu\text{g/ml}$ 苯唑西林的管中。将这些管孵育并铺板用于计数 cfu。选择没有观察到 cfu 对数值降低的克隆用于剩下的实验。

[0273] Flake **OptiMSM®** MSM 用经过检验的 Mettler Toledo AG245SN: 1115210833 称量并按每个浓度分成小份。将 MSM 放入 30ml 硼硅玻璃培养管中。将 MSM 按照如下加入管中: 5% (0.5g)、6% (0.6g)、7% (0.7g)、8% (0.8g)、9% (0.9g)、10% (1.0g)、11% (1.1g)、12%

(1.2g)、13% (1.3g)、14% (1.4g)、15% (1.5g)和 16% (1.6g)。材料以 10ml 的体积计算。向每个实验条件中加入无菌的苯唑西林或甲氧苯青霉素,至终浓度为 12、30 或 60 $\mu\text{g/ml}$ 抗生素。测试了有 5、10 和 16%MSM 且无抗生素的对照条件,或者无 MSM 且有 12、30 或 60 $\mu\text{g/ml}$ 抗生素的对照条件。

[0274] 然后,将所有管接种稀释的所选 ATCC 菌株 43300 金黄色葡萄球菌,得到菌落形成单位 $3.3 \times 10^5/\text{ml}$ (对数值 =5.52) 的终水平。将所述管在 25℃ 下孵育并定期混匀。每 24 小时再次接种起始量的抗生素以维持对所述生物的压力。在第 24、48、72 和 120 小时时进行铺板。每个条件通过将 1ml 生长材料稀释至 9ml MLB 稀释肉汤中进行铺板。每次进行此操作时,将 1ml 含 MSM 的生长培养基加回管中以维持恒定体积和 MSM 浓度。将所述混合物系列稀释至 10^{-7} ,重复三次将 1ml 放入每个稀释点的无菌培养皿中。向每个稀释物中加入 20ml 的 TSA,涡旋并使其凝固。将所有的稀释物在 35℃ 下孵育 24 至 72 小时。对每个平板上的细菌菌落进行计数,然后将平均值转换为对数形式。将观察到大于 3.3×10^5 (对数值 =5.5) 的任何 cfu/ml 记为 $>3.3 \times 10^5$ 。

[0275] 结果

[0276] 在本实验中单独使用的三种浓度 (12 $\mu\text{g/ml}$ 、30 $\mu\text{g/ml}$ 和 60 $\mu\text{g/ml}$) 苯唑西林的阳性对照 (它们以 MRSA 接种) 没有显示出菌落形成单位比起始接种值有显著降低。本研究的结果显示于表 5-9 中。表 5:ATCC 菌株 43300 金黄色葡萄球菌在 5-16%MSM 和 12、30 或 60 $\mu\text{g/ml}$ 苯唑西林中 24 小时的存活率。

[0277]

% MSM	12 $\mu\text{g/ml}$ 苯唑西林 MSM (cfu/ml)	12 $\mu\text{g/ml}$ 苯唑西林 MSM (cfu/ml)	12 $\mu\text{g/ml}$ 苯唑西 林 MSM (cfu/ml)	24小时 对数平 均值
16	7.6×10^3	7.4×10^3	7.6×10^3	3.88
15	1.35×10^4	1.30×10^4	1.29×10^4	4.11
14	1.00×10^4	1.02×10^4	1.01×10^4	4.00
13	9.0×10^3	8.7×10^3	9.2×10^3	3.95
12	7.0×10^3	7.0×10^3	7.3×10^3	3.85
11	8.2×10^3	8.5×10^3	8.0×10^3	3.91
10	5.8×10^3	5.6×10^3	6.0×10^3	3.76
9	5.6×10^3	5.2×10^3	5.0×10^3	3.72
8	6.6×10^3	6.6×10^3	6.9×10^3	3.82
7	8.2×10^3	8.5×10^3	8.3×10^3	3.91
6	8.6×10^3	8.5×10^3	8.0×10^3	3.92
5	8.4×10^3	8.0×10^3	8.0×10^3	3.91
0	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	5.5
% MSM	30 $\mu\text{g/ml}$ 苯唑西林 MSM (cfu/ml)	30 $\mu\text{g/ml}$ 苯唑西 林 MSM (cfu/ml)	30 $\mu\text{g/ml}$ 苯唑西 林 MSM (cfu/ml)	24小时 对数平 均值

[0278]

16	8.3×10^3	8.3×10^3	8.0×10^3	3.91
15	8.7×10^3	8.9×10^3	8.8×10^3	3.94
14	6.1×10^3	6.0×10^3	6.0×10^3	3.78
13	4.4×10^3	4.1×10^3	4.2×10^3	3.62
12	3.9×10^3	3.9×10^3	3.9×10^3	3.59
11	3.9×10^3	3.7×10^3	3.7×10^3	3.57
10	2.2×10^3	2.2×10^3	2.0×10^3	3.32
9	1.06×10^3	1.05×10^3	1.02×10^3	3.01
8	1.18×10^3	1.18×10^3	1.16×10^3	3.07
7	9.7×10^2	9.6×10^2	9.2×10^2	2.98
6	2.9×10^2	2.9×10^2	2.9×10^2	2.46
5	3.1×10^2	3.3×10^2	3.3×10^2	2.51
0	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	5.5
% MSM	60 $\mu\text{g/ml}$ 苯唑西林 MSM (cfu/ml)	60 $\mu\text{g/ml}$ 苯唑西 林 MSM (cfu/ml)	60 $\mu\text{g/ml}$ 苯唑西 林 MSM (cfu/ml)	24小时 对数平 均值
16	6.9×10^3	6.9×10^3	6.9×10^3	3.83
15	6.6×10^3	6.2×10^3	6.4×10^3	3.81
14	1.8×10^2	1.7×10^2	1.8×10^2	2.03
13	6.3×10^2	6.0×10^2	6.0×10^2	2.80
12	7.3×10^2	7.1×10^2	7.5×10^2	2.86
11	6.7×10^2	6.7×10^2	6.9×10^2	2.83
10	4.2×10^2	4.4×10^2	4.4×10^2	2.63
9	3.2×10^2	3.2×10^2	3.2×10^2	2.50
8	4.6×10^2	4.6×10^2	5.0×10^2	2.67
7	2.1×10^2	2.3×10^2	2.1×10^2	2.34
6	2.4×10^2	2.4×10^2	2.4×10^2	2.38
5	3.5×10^2	3.3×10^2	3.6×10^2	2.54
0	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	5.5

[0279] 如表 5 和图 4 中所示,在第 24 小时时间点观察到的 cfu/ml 值在所有苯唑西林浓度下都是类似的。较低 MSM 浓度下比较高 MSM 浓度有较大的菌落计数对数值降低。 $12 \mu\text{g/ml}$ 苯唑西林的 cfu/ml 值的对数平均值降低是 1.5,这在所有浓度下被保持,有很小变化或没有变化。 $30 \mu\text{g/ml}$ 和 $60 \mu\text{g/ml}$ 条件在 MSM 浓度的低端有 cfu/ml 值的对数值降低,对数平均值差异为 3。 $60 \mu\text{g/ml}$ 条件在所述三种苯唑西林浓度的第一个 24 小时期间出现最大的 cfu/ml 值对数值降低。 $60 \mu\text{g/ml}$ 苯唑西林条件在 14%MSM 下 cfu/ml 值的对数值降低 3.5。阴性 LB 对照显示无污染迹象。LB 阳性对照显示浑浊生长。阴性 5%、10% 和 16%MSM 对照显示无污染迹象。阳性 5%、10% 和 16%MSM 对照有浑浊生长迹象。苯唑西林对照显示相对于起始接种量无显著降低迹象,阴性对照显示无污染迹象。

[0280] 表 6 :ATCC 菌株 43300 金黄色葡萄球菌在 5-16%MSM 和 12、30 或 $60 \mu\text{g/ml}$ 苯唑西林中 48 小时的存活率。

[0281]

% MSM	12 µg/ml 苯唑西林 MSM (cfu/ml)	12 µg/ml 苯唑西林 MSM (cfu/ml)	12 µg/ml 苯唑西林 MSM (cfu/ml)	48小时 对数平均 值
16	4.2×10^3	5.0×10^3	4.3×10^3	3.7
15	5.0×10^3	4.5×10^3	4.6×10^3	3.7
14	1.0×10^1	1.2×10^1	1.1×10^1	1.0
13	6.8×10^2	6.8×10^2	5.8×10^2	2.8
12	3.6×10^2	4.0×10^2	4.2×10^2	2.8
11	6.4×10^2	5.8×10^2	6.5×10^2	2.8
10	5.6×10^2	5.4×10^2	5.4×10^2	2.7
9	2.4×10^3	2.5×10^3	2.3×10^3	3.4
8	4.9×10^3	4.9×10^3	5.4×10^3	3.7
7	9.0×10^3	8.9×10^3	8.5×10^3	3.9
6	1.7×10^3	1.4×10^3	1.7×10^3	3.2
5	4.5×10^3	4.0×10^3	4.2×10^3	3.6
0	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	5.5
% MSM	30 µg/ml 苯唑西林 MSM (cfu/ml)	30 µg/ml 苯唑西林 MSM (cfu/ml)	30 µg/ml 苯唑西林 MSM (cfu/ml)	48小时 对数平均 值
16	4.6×10^2	4.0×10^2	4.1×10^2	2.6
15	6.2×10^2	6.4×10^2	6.4×10^2	2.8
14	3.6×10^2	3.2×10^2	3.5×10^2	2.5
13	3.0×10^2	3.1×10^2	3.1×10^2	2.5
12	3.9×10^2	3.6×10^2	4.0×10^2	2.6
11	2.5×10^2	2.7×10^2	2.8×10^2	2.4
10	4.3×10^2	4.3×10^2	4.0×10^2	2.6
9	2.8×10^2	2.6×10^2	2.2×10^2	2.4
8	1.23×10^3	1.24×10^3	1.20×10^3	3.1
7	2.0×10^2	2.1×10^2	2.2×10^2	2.3
6	5.5×10^3	5.5×10^3	5.9×10^3	3.7
5	5.8×10^3	6.0×10^3	5.9×10^3	3.8
0	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	5.5
% MSM	60 µg/ml 苯唑西林 MSM (cfu/ml)	60 µg/ml 苯唑西林 MSM (cfu/ml)	60 µg/ml 苯唑西林 MSM (cfu/ml)	48小时 对数平均 值
16	9.0×10^1	9.0×10^1	6.0×10^1	1.9
15	1.2×10^2	1.3×10^2	1.2×10^2	2.1
14	1.5×10^2	1.7×10^2	1.2×10^2	2.2
13	6.0×10^1	4.0×10^1	5.0×10^1	1.7
12	1.1×10^2	1.0×10^2	1.0×10^2	2.0
11	1.3×10^2	1.7×10^2	1.2×10^2	2.1
10	1.6×10^2	1.4×10^2	1.6×10^2	2.2
9	1.8×10^2	1.7×10^2	1.5×10^2	2.2
8	7.5×10^2	7.3×10^2	7.0×10^2	2.8
7	1.0×10^4	1.1×10^4	1.1×10^4	4.0
6	6.0×10^1	5.0×10^1	6.0×10^1	1.8
5	3.0×10^3	2.7×10^3	3.3×10^3	3.5
0	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	5.5

[0282]

[0283] 如表 6 所示,在第 48 小时时间点观察到的 cfu/ml 值在所有苯唑西林浓度下都是类似的。观察到了这样的趋势,即在所有苯唑西林浓度中大多数较低 MSM 浓度比较高 MSM 浓度具有更小的 cfu/ml 值的对数值降低。在 8%-16%MSM 浓度下,30 μ g/ml 和 60 μ g/ml 苯唑西林条件在第 48 小时时间点比 24 小时时间点显示更大的 cfu/ml 值的对数值降低。60 μ g/ml 苯唑西林条件与所有三种浓度苯唑西林的相应 24 小时时间点相比,维持了更大的 cfu/ml 值的平均对数值降低。关注的两个点是 14%MSM 在 12 μ g/ml 苯唑西林下的 cfu/ml 值的对数值降低 4.5,14%MSM 在 60 μ g/ml 苯唑西林下比相应 24 小时时间点仅显示略高的 cfu/ml 值的对数值降低。这可能代表了苯唑西林和 MSM 治疗的最佳点。阴性 LB 对照显示无污染迹象。LB 阳性对照显示了浑浊生长。阴性 5%、10% 和 16%MSM 对照无污染迹象。苯唑西林对照与起始接种量相比显示无显著降低迹象,并且阴性对照显示无污染迹象。

[0284] 表 7 :ATCC 菌株 43300 金黄色葡萄球菌在 5-16%MSM 和 12、30 或 60 μ g/ml 苯唑西林中 72 小时的存活率。

[0285]

% MSM	12 μ g/ml 苯唑西林 MSM (cfu/ml)	12 μ g/ml 苯唑西林 MSM (cfu/ml)	12 μ g/ml 苯唑西林 MSM (cfu/ml)	72小时 对数平均值
16	1.1×10^2	1.2×10^2	1.6×10^2	2.1
15	2.3×10^2	2.2×10^2	1.2×10^2	2.3
14	1.1×10^2	1.2×10^2	1.1×10^2	2.0
13	5.2×10^2	5.1×10^2	5.4×10^2	2.7
12	1.5×10^3	1.1×10^3	1.3×10^3	3.1
11	4.4×10^3	4.5×10^3	4.0×10^3	3.6
10	1.2×10^4	1.1×10^4	1.0×10^4	4.0
9	4.7×10^4	4.2×10^4	4.5×10^4	4.5
8	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	5.5
7	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	5.5
6	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	5.5
5	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	5.5
0	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	5.5
% MSM	30 μ g/ml 苯唑西林 MSM (cfu/ml)	30 μ g/ml 苯唑西林 MSM (cfu/ml)	30 μ g/ml 苯唑西林 MSM (cfu/ml)	72小时 对数平均值
16	9×10^1	8.0×10^1	8.0×10^1	1.9
15	2.3×10^2	2.2×10^2	2.8×10^2	2.4

[0286]

14	1.4×10^2	1.7×10^2	1.8×10^2	2.2
13	9.0×10^1	8.0×10^1	4.0×10^1	1.8
12	4.8×10^2	3.9×10^2	4.9×10^2	2.6
11	1.2×10^3	1.7×10^3	1.5×10^3	3.2
10	8.9×10^3	9.0×10^3	8.5×10^3	3.9
9	8.8×10^2	8.1×10^2	8.5×10^2	2.9
8	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	5.5
7	3.6×10^4	3.6×10^4	3.2×10^4	4.5
6	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	5.5
5	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	5.5
0	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	5.5
% MSM	60 $\mu\text{g/ml}$ 苯唑西林 MSM (cfu/ml)	60 $\mu\text{g/ml}$ 苯唑西林 MSM (cfu/ml)	60 $\mu\text{g/ml}$ 苯唑西林 MSM (cfu/ml)	72小时 对数平均值
16	6.0×10^1	6.0×10^1	5.0×10^1	1.8
15	0	0	0	
14	2.0×10^1	2.0×10^1	4.0×10^1	1.5
13	1.0×10^1	1.0×10^1	1.0×10^1	1
12	2.8×10^2	2.1×10^2	2.5×10^2	2.4
11	1.0×10^1	1.0×10^1	2.0×10^1	1
10	3.9×10^2	4.0×10^2	3.4×10^2	2.6
9	3.3×10^3	3.3×10^3	3.2×10^3	2.5
8	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	5.5
7	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	5.5
6	6.5×10^2	6.4×10^2	6.1×10^2	2.8
5	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	5.5
0	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	5.5

[0287] 如表 7 所示,在第 72 小时,15%MSM 和 60 $\mu\text{g/ml}$ 苯唑西林条件显示无菌落迹象。然后,将所述管从实验中取出,测试 ATCC 菌株 43300 葡萄球菌生长。将所述管以 5000rpm 离心 10 分钟进行沉淀。然后,将上清液倒入含有 6 $\mu\text{g/ml}$ 苯唑西林的 90ml Mueller-Hinton 肉汤中。这用于富集和恢复可能存在的任何健康或应激的 MRSA 细胞。向沉淀物中加入含 6 $\mu\text{g/ml}$ 苯唑西林的 10ml Mueller-Hinton 肉汤,以恢复可能存在的任何细胞。将两个管在 35℃下孵育 48 小时,然后每 24 小时铺板。将每个管以 10 稀释度铺板,以获得 1cfu 检出限。未观察到菌落,表明全部被杀死。为绘制曲线的目的,该时间点记为对数值 0。

[0288] 如表 7 所示,在第 72 小时观察到的 cfu/ml 数值在所有苯唑西林浓度下都是类似的。5-12%MSM 条件在此时间点较早时间点显示更小的 cfu/ml 值的对数平均值降低。这可以证明 MRSA 对苯唑西林敏感性降低。如此,该降低与 MSM 浓度相关(即较低 MSM 浓度 = 较高苯唑西林抗性)。对于 12%-16% 的 MSM 浓度,12 $\mu\text{g/ml}$ 苯唑西林条件的 cfu/ml 值的对数值降低 1。60 $\mu\text{g/ml}$ 苯唑西林条件在三个苯唑西林浓度中维持了较大的 cfu/ml 值的对数平均值降低,这与第一个 24 小时期间不同。关注的两个点是 14%MSM 在 12 $\mu\text{g/ml}$ 苯唑西林条件下显示 cfu/ml 值的对数值降低 4.5,12%MSM 在 60 $\mu\text{g/ml}$ 苯唑西林条件下显示比以前的时间点略大的 cfu/ml 值的对数值降低。这可能代表了苯唑西林治疗的最佳点。阴性 LB 对照显示无污染迹象。阴性 5%、10% 和 16%MSM 对照无污染迹象。苯唑西林对照与起始接种量相比显示无显著降低迹象,阴性对照显示无污染迹象。

[0289] 表 8 :ATCC 菌株 43300 金黄色葡萄球菌在 5-16%MSM 和 12、30 或 60 $\mu\text{g/ml}$ 苯唑西林中 96 小时的存活率。

% MSM	12 $\mu\text{g/ml}$ 苯唑西林MSM (cfu/ml)	12 $\mu\text{g/ml}$ 苯唑西林MSM (cfu/ml)	12 $\mu\text{g/ml}$ 苯唑西林MSM (cfu/ml)	96小时 对数平均值
16	1.4×10^2	1.4×10^2	1.6×10^2	2.2
15	1.2×10^2	1.3×10^2	1.2×10^2	2.1
14	6.0×10^1	6.0×10^1	5.0×10^1	1.8
13	1.6×10^3	1.7×10^3	1.2×10^3	3.2
12	6.8×10^3	7.0×10^3	6.8×10^3	3.8
11	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	5.5
10	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	5.5
9	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	5.5
8	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	5.5
7	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	5.5
6	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	5.5
5	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	5.5
0	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	5.5
% MSM	30 $\mu\text{g/ml}$ 苯唑西林MSM (cfu/ml)	30 $\mu\text{g/ml}$ 苯唑西林MSM (cfu/ml)	30 $\mu\text{g/ml}$ 苯唑西林MSM (cfu/ml)	96小时 对数平均值
16	3.0×10^1	3.0×10^1	1.0×10^1	1.3
15	8.0×10^1	8.0×10^1	8.0×10^1	1.9
14	5.0×10^1	5.0×10^1	6.0×10^1	1.7
13	3.3×10^2	3.1×10^2	3.2×10^2	2.5
12	6.9×10^3	3.9×10^3	3.9×10^3	3.7
11	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	5.5
10	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	5.5
9	1.0×10^4	1.02×10^4	1.01×10^4	4.0
8	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	5.5
7	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	5.5
6	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	5.5
5	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	5.5
0	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	5.5

[0290]

[0291]

% MSM	60 $\mu\text{g/ml}$ 苯唑西林 MSM (cfu/ml)	60 $\mu\text{g/ml}$ 苯唑西林 MSM (cfu/ml)	60 $\mu\text{g/ml}$ 苯唑西林 MSM (cfu/ml)	96小时 对数平均值
16	2.0×10^1	3.0×10^1	2.0×10^1	1.3
15	0	0	0	
14	0	0	0	
13	4.0×10^1	4.0×10^1	5.0×10^1	1.6
12	3.0×10^3	3.5×10^3	3.1×10^3	3.5
11	0	0	0	
10	3.9×10^3	4.0×10^3	3.5×10^3	3.6
9	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	5.5
8	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	5.5
7	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	5.5
6	4.4×10^3	4.5×10^3	4.4×10^3	3.6
5	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	5.5
0	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	5.5

[0292] 如表 8 所示,在第 96 小时,11% 和 14%MSM 与 60 $\mu\text{g/ml}$ 苯唑西林条件显示无菌落迹象。然后,将所述管从实验中取出并测试 ATCC 菌株 43300 葡萄球菌生长。将所述管以 5000rpm 离心 10 分钟进行沉淀。然后,将上清液倒入含有 6 $\mu\text{g/ml}$ 苯唑西林的 90ml 的 Mueller-Hinton 肉汤中。这用于富集和恢复可能存在的任何健康的或应激的 MRSA 细胞。向沉淀物中加入含 6 $\mu\text{g/ml}$ 苯唑西林的 10ml Mueller-Hinton 肉汤,以恢复可能存在的任何细胞。将两个管在 35 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育 48 小时,然后每 24 小时铺板。将每个管以 10 稀释度铺板,以获得 1cfu 检出限。未观察到菌落,表明全部被杀死。为绘制曲线的目的,该时间点记为对数值 0。

[0293] 如表 8 所示,12 $\mu\text{g/ml}$ 苯唑西林与 12 和 13%MSM 条件与较早时间点相比菌落计数增加。12 $\mu\text{g/ml}$ 苯唑西林与 14-16% 条件显示与之前的 72 小时时间点相同的菌落计数。在 5-13% 的较低 MSM 百分比,30 $\mu\text{g/ml}$ 苯唑西林条件显示反转成苯唑西林抗性增加。14-16% 下观测到的 cfu/ml 对数值降低与之前时间点相比是很小的,并且似乎保持恒定。60 $\mu\text{g/ml}$ 苯唑西林在 11 和 14% 的 MSM 浓度下显示无菌落。在 60 $\mu\text{g/ml}$ 苯唑西林和 5-10% 和 12% 的 MSM 浓度下观察到的 cfu/ml 值超过检出限。11-12% 浓度下的数据可能显示,加入 MSM 的量完全减少生物是关键的原因,原因是更高的量(14 和 15%)显示减少至全部杀死的迹象。

[0294] 表 9 :ATCC 菌株 43300 金黄色葡萄球菌在 5-16%MSM 和 12、30 或 60 $\mu\text{g/ml}$ 苯唑西林中 120 小时的存活率。

[0295]

% MSM	12 µg/ml 苯唑西林 MSM (cfu/ml)	12 µg/ml 苯唑西林 MSM (cfu/ml)	12 µg/ml 苯唑西林 MSM (cfu/ml)	120小时 对数平均值
16	3.0×10^1	3.0×10^1	2.0×10^1	1.5
15	1.1×10^2	1.3×10^2	1.2×10^2	2.0
14	1.1×10^2	1.2×10^2	1.1×10^2	2.0
13	6.2×10^3	6.7×10^3	6.2×10^3	3.8
12	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	5.5
11	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	5.5
10	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	5.5
9	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	5.5
8	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	5.5
7	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	5.5
6	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	5.5
5	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	5.5
0	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	5.5
% MSM	30 µg/ml 苯唑西林 MSM (cfu/ml)	30 µg/ml 苯唑西林 MSM (cfu/ml)	30 µg/ml 苯唑西林 MSM (cfu/ml)	120小时 对数平均值
16	2.0×10^1	3.0×10^1	2.0×10^1	1.3
15	0	0	0	0
14	3.0×10^1	2.0×10^1	2.0×10^1	1.3
13	1.02×10^3	1.01×10^3	1.02×10^3	3.0
12	6.8×10^4	3.9×10^4	6.9×10^4	4.7
11	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	5.5
10	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	5.5
9	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	5.5
8	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	5.5
7	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	5.5
6	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	5.5
5	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	5.5
0	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	5.5
% MSM	60 µg/ml 苯唑西林 MSM (cfu/ml)	60 µg/ml 苯唑西林 MSM (cfu/ml)	60 µg/ml 苯唑西林 MSM (cfu/ml)	120小时 对数平均值
16	0	0	0	0
15	0	0	0	0
14	0	0	0	0
13	0	0	0	0
12	1.72×10^4	1.6×10^4	1.5×10^4	4.2
11	0	0	0	0
10	1.6×10^4	1.5×10^4	1.7×10^4	4.2
9	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	5.5
8	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	5.5
7	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	5.5
6	3.7×10^4	3.4×10^4	2.4×10^4	4.5
5	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	5.5
0	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	$>3.3 \times 10^5$	5.5

[0296] 如表 9 所示,在第 120 小时,15%MSM 与 30 µg/ml 苯唑西林条件以及 13 和 16%MSM 与 60 µg/ml 苯唑西林条件显示无菌落迹象。然后,将所述管从实验中取出并测试 ATCC

菌株 43300 葡萄球菌生长。将所述管以 5000rpm 离心 10 分钟进行沉淀。然后,将上清液倒入含有 $6\mu\text{g/ml}$ 苯唑西林的 90ml Mueller-Hinton 肉汤中。这用于富集和恢复可能存在的任何健康的或应激的 ATCC 菌株 43300 葡萄球菌细胞。向沉淀物中加入含 $6\mu\text{g/ml}$ 苯唑西林的 10ml Mueller-Hinton 肉汤 (Mueller&Hinton, Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.; 48:330-333, 1941), 以恢复可能出现的任何细胞。将两个管在 35°C 下孵育 48 小时, 然后每 24 小时铺板。将每个管以 10 个稀释度铺板, 以获得 1cfu 检出限。未观察到菌落, 表明全部被杀死。为绘制曲线的目的, 该时间点记为对数值 0。

[0297] 在 14-16%MSM 浓度下, $12\mu\text{g/ml}$ 的浓度显示轻微的减少或增加。在 $30\mu\text{g/ml}$ 下, 15%MSM 浓度显示真得杀死, 没有发现恢复。14% 和 16% 浓度点与之前时间点没有显著改变的值。 $60\mu\text{g/ml}$ 的 13% 和 16%MSM 浓度点具有真得杀死, 没有生物恢复。12% 浓度点显示对数值承之前时间点继续增加。

[0298] 总之, 表 5-9 中呈现的数据表明, 在第一个 24 小时, 在三个苯唑西林水平中的每一个下, 较低浓度 (5-10%) 的对数值显著降低 (16-5%MSM 浓度的趋势线斜率为负)。下一个时间点第 48 小时显示下降速率开始从下端 5-10% 向上端 11-16% 转变 (16-5%MSM 浓度的趋势线斜率为正)。第 72 小时标记物显示在较高 MSM 下 cfu/ml 的对数值降低, 较低 MSM 浓度显示 cfu/ml 只有很少降低或没有降低。在最高 MSM 浓度下, 第 96 和 120 小时时间点显示细菌存活率下降, 但在较低 MSM 浓度对细菌存活率没有影响。

[0299] 本实验的这些结果产生了一些值得关注的问题。对于评估的所有三种苯唑西林浓度, 在较低 MSM 百分比下第 24 小时的数据显示降低较多。该趋势在第 48 小时下略微有所改变, 在中或高 MSM 浓度下观察到最大降低。在 72 小时之前, 趋势明确改变为在较高 MSM 浓度下较大对数值降低。当另外加入生长培养基 (含有与生长瓶中起始 MSM 浓度相同的 LB) 以保持所述瓶中原体积时才加入 MSM。例如, 如果取出 1ml 等分部分的 $12\mu\text{g/ml}$ 苯唑西林 5%MSM 用于铺板, 则将加回 1ml 含 5%MSM 的 LB。

[0300] 下述提供了对上文观察到的一些效应的假设性解释; 但是, 这些解释不是意欲进行限定。这些观察结果的一个假设且非限制性的可能性是, MSM 被所述生物消费。这些观察结果的另一个假设且非限制性的可能性是, MSM 引起敏感性反转的能力可能是由于 MSM 携带苯唑西林进入 MRSA 细胞的能力。对这些观察结果的另一个假设且非限制性的可能性是, 在某些时间点太高的 MSM 水平有效性较低。例如, 这可能是由于在较高浓度下过量的游离 MSM 分子与已经与苯唑西林结合的 MSM 竞争造成的。这将有比与苯唑西林结合的 MSM 更多的游离 MSM 进入细胞。较低浓度在溶液中有较高总体百分比的总 MSM 分子与苯唑西林结合, 使得更多的结合苯唑西林进入细胞, 原因是游离 MSM 的竞争较少。在这种假设下, 对于给定数目的将进入 MRSA 细胞的 MSM 分子, MSM 与苯唑西林的比例对于获得最大效应是重要的。如果存在过量 MSM, 那么没有结合苯唑西林的 MSM 渗透细胞的几率会增加。

[0301] 实施例 8. 治疗受试者中的药物抗性细菌病原体

[0302] 本实施例描述了一种通过以下方式治疗有药物抗性细菌感染 (如 MRSA 感染) 的受试者的代表性方法: 选择有药物抗性细菌感染的受试者, 向所述受试者给予治疗有效量的 MSM 和可抑制引起所述药物抗性细菌感染的药物敏感形式的所述细菌病原体的试剂。在本实施例中, 所述受试者在皮肤上有 MRSA 感染, 所述治疗包括外用含 12%MSM 和 $30\mu\text{g/ml}$ 苯唑西林的组合物。

[0303] 首先,选择有 MRSA 感染的受试者。该受试者选择通过从受试者中取得生物样品,对所述生物样品测试金黄色葡萄球菌的存在情况,然后检测苯唑西林对所述细菌的 MIC。如果苯唑西林对所述来自所述受试者的生物样品中的金黄色葡萄球菌的 MIC 超过 $2\mu\text{g/ml}$,那么所述细菌是 MRSA 菌株细菌。如果所述样品含有金黄色葡萄球菌,并且对于苯唑西林使用 **Etest®** 系统 (AB bioMérieux, SA France), 所检测的苯唑西林对所述细菌的 MIC 超过 $2\mu\text{g/ml}$ 。因此,就选择该受试者。

[0304] 选择有 MRSA 的受试者以后,将含 12%MSM 和 $30\mu\text{g/ml}$ 苯唑西林的组合物外用至受试者皮肤 MRSA 感染周围的区域。所述组合物是基于水的、配制用于外用的并含有 1%NaCl。所述组合物每天给予两次,共 10 天。在该疗程后,观察到受试者 MRSA 感染的症状比用 MSM 和苯唑西林治疗前存在的 MRSA 感染症状降低至少 50%,表明受试者已经被治疗。

[0305] 实施例 9. 外用制剂的 MSM 吸收在推荐的安全水平之内

[0306] 本实施例表明,外用制剂的 MSM 吸收在推荐的安全水平之内。

[0307] 将新西兰白兔——一种公认用于真皮吸收研究的动物模型——用于评估吸收和形成的血液 MSM 水平。兔获自 Charles River Canada (Saint-Constant, Quebec)。将五只年龄 12-13 周、体重 2.6kg 至 2.7kg 的雄兔用于真皮吸收研究。使用兔是因为与大鼠、猪和人相比它们具有更高的皮肤透性。因此,在兔上测试是人用的外用产品安全性更保守的方法。兔大小是基于在两期间内收集超过 6ml/kg 体重的血液的伦理限制。本研究过程中单日取血总体积是 10ml。为使需要动物的数目最小化,每组使用一只动物。动物在不锈钢笼中 12 小时光照 / 黑暗周期独立养殖。动物房环境每日监测 (目标范围: $18-26^{\circ}\text{C}$, 相对湿度 25-50%)。以足够速率提供新鲜空气,以提供室内空气每小时更换大约 15 至 17 次。对所有动物进行临床观察以确保动物在给予剂量前是健康的。本研究期间内还进行发病率和死亡率观察。

[0308] 处理组显示于表 10 中。

[0309] 表 10: 研究设计

[0310]

组	测试物	暴露的表面积	应用体积	动物数目	血液收集时间 (分钟)
A	10% MSM + 90% 水	6cm^2	0.5ml	1	0 (给予剂量前), 10, 30, 120, 480 分钟
B	50% DMSO + 50% 水	6cm^2	0.5ml	1	0 (给予剂量前), 10, 30, 120, 480 分钟
C	70% DMSO + 30% 水	6cm^2	0.5ml	1	0 (给予剂量前), 10, 30, 120, 480 分钟
D	10% MSM + 50% DMSO + 40% 水	6cm^2	0.5ml	1	0 (给予剂量前), 10, 30, 120, 480 分钟
E	10% MSM + 70% DMSO + 20% 水	6cm^2	0.5ml	1	0 (给予剂量前), 10, 30, 120, 480 分钟

[0311] 在本研究之前的一天,每只兔的臀部用理发推子近乎剃光。测量 6cm^2 的区域并标记以确保在应用各种化合物中等同。通过如下方式应用每种产品:将 0.5ml 的每种组合物移液至测试区域中央并扩散覆盖整个测试区域。在 5 分钟暴露期间后,通过擦拭、清洗和干

干燥所述测试区域除去所述组合物。

[0312] 在血样收集之前,使动物通过右后足肌肉肌内注射乙酰丙嗪(1mg/kg)安定,此后将 EMLA 乳膏(利多卡因 / 丙胺卡因)沿耳动脉应用于两耳。血样通过将 21G 注射针头(去除针筒)插入耳动脉进行收集。将约 2ml 全血收集至含有 K₂EDTA 的 4ml vacuutainer 管中(Becton Dickinson, Mississauga, ON)。将管反转以与抗凝血剂混合并冷冻储存直至通过离心分离血浆。通过以 3000×g 离心 10 分钟从全血中分离血浆。收集血浆,转移并在冷冻管中储存于 -70℃ 下,直至进一步处理用于 MSM 分析。

[0313] 在暴露于各种测试产品(见表 1)5 分钟的时间后,在 10 分钟、30 分钟、2 小时和 8 小时后收集血液。在 2 和 8 小时血样收集前,将 EMLA 乳膏应用于耳(每次抽取血液前约 30 分钟),原因和 EMLA 乳膏的麻醉效应持续约 1 至 2 小时。出于伦理学考虑并且为了维持本研究中所用动物健康,使用 EMLA 乳膏和乙酰丙嗪。

[0314] 血浆中 MSM 浓度用气相色谱-质谱(GC/MS)基于已知的方法进行定量。简言之,将 450 μL 血浆样品与 50 μL 生理盐水混合并涡旋 30 秒。此后,向所述混合物中加入 1ml 乙腈(Fisher, HPLC 等级)。将所述溶液剧烈涡旋 60 秒并在 2000rpm 下离心 5 分钟。将 1 μL 上清液加入 GC/MS 系统(GC/MS QP20108EI, Shimadzu, Kyoto, Japan)。分析在 Shimadzu SHR5XLB 柱(0.25mm ID×length30m, film0.25um, Kyoto, Japan)上进行。MSM 的保留时间为 6.1-6.3 分钟。MSM 用 MS 检测,将 m/z79 (M+-15)用于检测 MSM 离子 SIM 谱。将氦气用作载体气体,排出压力是 0.25kg/cm²、补给气为 30ml/min、柱温是 80℃、注入器温度为 120℃、分离器温度为 200℃、离子源温度为 250℃。电离能是 70eV。外部标准曲线以按如下浓度溶解在乙腈中的 MSM 进行制备:62.5 μg/ml、31.3 μg/ml、15.6 μg/ml、7.8 μg/ml、3.9 μg/ml、1.9 μg/ml、0.98 μg/ml 和 0.49 μg/ml。血浆样品中的 MSM 浓度通过所述标准曲线的斜率计算。最佳拟合曲线是 R² 值为 0.998 的直线。

[0315] 本研究开始之前对所有动物进行观察,都显示健康。本研究过程中和本研究之后,所有的动物都显示健康。每天两次评估发病、死亡和损伤。没有动物显示任何的发病、死亡或损伤。

[0316] 表 11:暴露于 MSM 和 DMSO 后血浆中的 MSM 浓度

[0317]

治疗	时间点 (分钟)	MSM 浓度 ($\mu\text{g/ml}$)
10% MSM + 90% 水	0	25.6
	10	17.6
	30	16.3
	120	14.0
	480	15.4
50% DMSO + 50% 水	0	4.2
	10	6.9
	30	6.9
	120	7.4
	480	12.6
70% DMSO + 30% 水	0	56.7
	10	89.0
	30	98.9
	120	128.7
	480	120.2
10% MSM + 50% DMSO + 40% 水	0	104.2
	10	116.5
	30	127.9
	120	128.4
	480	140.4
10% MSM + 70% DMSO + 20% 水	0	26.8
	10	37.3
	30	30.9
	120	33.9
	480	44.4

[0318] 吸收研究的结果总结于表 11。MSM 的基线血浆浓度(暴露于测试物之前)范围介于 $4.2 \mu\text{g/ml}$ 和 $104.2 \mu\text{g/ml}$ 之间。基线变化在以前的研究已经建立的自然 MSM 浓度正常变化范围内。在暴露于各种测试物后,测量的 MSM 的最高血浆浓度小于或等于约 $140 \mu\text{g/ml}$ 。该浓度峰值来自暴露于 10%MSM+70%DMSO+20% 水。当对基线 MSM 浓度的自然变化进行校正时,血浆 MSM 中的最大变化在 70%DMSO+30% 水的组被检测到。这些数据表明,由于吸收或 DMSO 代谢造成的 MSM 变化在 MSM 浓度的自然变化范围内。

[0319] 实施例 10. MSM 对 MRSA 对 12、30 或 $60 \mu\text{g/ml}$ 甲氧苯青霉素的敏感性的效应

[0320] 本实施例描述了在存在 5-16%MSM 和起始浓度 12、30 或 $60 \mu\text{g/ml}$ 甲氧苯青霉素下测试 ATCC 菌株 43300 金黄色葡萄球菌(一个甲氧苯青霉素和苯唑西林抗性菌株)的存活率的体外试验。这对应于甲氧苯青霉素的 $2\times$ 、 $5\times$ 和 $10\times\text{MIC}$ 。每 24 小时另外加入抗生素。

测试的生长期间是 24 (图 4)、48、72、96 和 120 小时。结果显示,MSM 使得 MRSA 菌株对甲氧苯青霉素敏感。

[0321] 方法:

[0322] 将 USP<51> 抗微生物效率方案用作模式实验模型。测试的起始 MSM 浓度是 5-16%, 增量为 1。将所有浓度板出至 10^{-7} 稀释度以确定 cfu/ml。使用甲氧苯青霉素的起始浓度是 12、30 或 60 $\mu\text{g/ml}$, 对应于甲氧苯青霉素的 $2\times$ 、 $5\times$ 和 $10\times$ MIC。每 24 小时另外加入起始浓度的抗生素。

[0323] 使用的材料是 Flake **OptiMSM®** MSM (批号 0604751)、ATCC 菌株 43300 金黄色葡萄球菌、30ml 硼硅玻璃培养管、乳糖肉汤 (LB; Alpha Biosciences; Lot: L07-03)、改良的 Lethen 肉汤 (MLB, Alpha Biosciences, lot I08-09)、含卵磷脂和吐温 80 的胰蛋白胍大豆琼脂 (TSA; Alpha Biosciences, lot: F08-42) 和甲氧苯青霉素钠 USP 级 lot KOH338。

[0324] 将 ATCC 菌株 43300 金黄色葡萄球菌划线用于分离。挑选分离的菌落,再次划线并孵育。挑选分离的隔离群,然后稀释至 McFarland 标准物。然后,取估计值来以约 10^5 cfu/ml 接种含有生长培养基和 12、30 或 60 $\mu\text{g/ml}$ 甲氧苯青霉素的管中。将这些管孵育并铺板用于计数 cfu。选择没有观察到 cfu 对数值降低的克隆用于剩下的实验。

[0325] Flake **OptiMSM®** MSM 用经过检验的 Mettler Toledo AG245SN:1115210833 称量并按每个浓度分成小份。将 MSM 放入 30ml 硼硅玻璃培养管中。将 MSM 按照如下加入管中: 5% (0.5g)、6% (0.6g)、7% (0.7g)、8% (0.8g)、9% (0.9g)、10% (1.0g)、11% (1.1g)、12% (1.2g)、13% (1.3g)、14% (1.4g)、15% (1.5g) 和 16% (1.6g)。材料以 10ml 的体积计算。向每个实验条件中加入无菌的甲氧苯青霉素,至终浓度为 12、30 或 60 $\mu\text{g/ml}$ 抗生素。对有或无 12 $\mu\text{g/ml}$ 、30 $\mu\text{g/ml}$ 、60 $\mu\text{g/ml}$ 抗生素的乳糖肉汤阳性对照接种 MRSA。乳糖肉汤还有一组阴性对照。有和无 MRSA 的浓度 5、10 和 16% 的 MSM 对照(无抗生素)也被测试。如下文所述,管建立为单次,但平板有三次重复。

[0326] 然后,将所有管接种稀释的所选 ATCC 菌株 43300 金黄色葡萄球菌,得到菌落形成单位 $1.49 \times 10^5/\text{ml}$ (对数值 =5.17) 的终水平。将所述管在 25°C 下孵育并定期混匀。每 24 小时再次接种起始量的抗生素以维持对所述生物的压力。在第 24、48、72 和 120 小时时进行铺板。每个条件通过将 1ml 生长材料稀释至 9ml MLB 稀释肉汤中进行铺板。每次进行此操作,将 1ml 含 MSM 的生长培养基加回管中以维持恒定体积和 MSM 浓度。将所述混合物系列稀释至 10^{-7} , 重复三次将 1ml 放入每个稀释点的无菌培养皿中。向每个稀释物中加入 20ml 的 TSA, 涡旋并使其凝固。将所有的稀释物在 35°C 下孵育 24 至 72 小时。对每个平板上的细菌菌落进行计数,然后将取得的平均值转换为对数形式。将观察到大于 $1.49 \times 10^5/\text{ml}$ (对数值 =5.17) 的任何 cfu/ml 记为 TNTC。曲线图中对 TNTC 记为对数值 5.2 以显示与其它数据点比较。

[0327] 结果

[0328] 在本实验中单独使用的三种浓度 (12 $\mu\text{g/ml}$ 、30 $\mu\text{g/ml}$ 和 60 $\mu\text{g/ml}$) 甲氧苯青霉素的阳性对照(它们以 MRSA 接种)没有显示出菌落形成单位比起始接种值有显著降低。本研究的结果显示于表 12-16 中。

[0329] 表 12 :ATCC 菌株 43300 金黄色葡萄球菌在 5-16%MSM 和 12、30 或 60 $\mu\text{g/ml}$ 甲氧苯

青霉素中 24 小时的存活率。

[0330]

%MSM 浓度	12 µg/ml 甲氧 苯青霉素 / MSM	12 µg/ml 甲氧 苯青霉素 / MSM	12 µg/ml 甲氧 苯青霉素 / MSM	24小时 对数平均 值
----------------	---------------------------------------	---------------------------------------	---------------------------------------	----------------------------

	(cfu/ml)	(cfu/ml)	(cfu/ml)	
16	1.01×10^3	1.03×10^3	1.04×10^3	3.0
15	6.4×10^3	6.6×10^3	6.5×10^3	3.8
14	8.8×10^3	8.5×10^3	8.2×10^3	3.9
13	3.3×10^3	3.5×10^3	3.4×10^3	3.5
12	2.9×10^3	3.0×10^3	2.8×10^3	3.5
11	2.2×10^3	2.3×10^3	2.3×10^3	3.3
10	1.4×10^3	1.4×10^3	1.4×10^3	3.1
9	9.0×10^2	9.4×10^2	9.2×10^2	3.0
8	9.6×10^2	9.5×10^2	9.3×10^2	3.0
7	4.4×10^2	4.4×10^2	5.0×10^2	2.7
6	4.0×10^2	4.4×10^2	4.5×10^2	2.6
5	7.8×10^2	8.0×10^2	8.2×10^2	2.9
0	TNTC	TNTC	TNTC	
%MSM 浓度	30 μ g/ml 甲氧 苯青霉素 / MSM (cfu/ml)	30 μ g/ml 甲氧 苯青霉素 / MSM (cfu/ml)	30 μ g/ml 甲氧 苯青霉素 / MSM (cfu/ml)	24小时 对数平均 值
16	9.6×10^3	9.8×10^3	9.7×10^3	4.0
15	7.8×10^3	7.6×10^3	8.0×10^3	3.9
14	6.3×10^3	6.7×10^3	6.9×10^3	3.8
13	6.5×10^3	6.5×10^3	6.4×10^3	3.8
12	3.3×10^3	3.3×10^3	3.3×10^3	3.5
11	3.3×10^3	2.8×10^3	3.1×10^3	3.5
10	1.2×10^3	1.3×10^3	1.1×10^3	3.1
9	1.1×10^3	1.3×10^3	1.2×10^3	3.1
8	9.4×10^2	9.6×10^2	9.6×10^2	3.0
7	3.4×10^2	3.5×10^2	3.3×10^2	2.5
6	2.2×10^2	2.2×10^2	2.5×10^2	2.4
5	3.8×10^2	4.1×10^2	4.0×10^2	2.6
0	TNTC	TNTC	TNTC	
%MSM 浓度	60 μ g/ml 甲氧 苯青霉素 / MSM (cfu/ml)	60 μ g/ml 甲氧 苯青霉素 / MSM (cfu/ml)	60 μ g/ml 甲氧 苯青霉素 / MSM (cfu/ml)	24小时 对数平均 值
16	8.4×10^3	8.4×10^3	8.5×10^3	3.9
15	8.3×10^3	8.5×10^3	8.4×10^3	3.9
14	8.3×10^3	8.8×10^3	8.5×10^3	3.9
13	7.0×10^3	6.8×10^3	6.5×10^3	3.8
12	4.5×10^3	4.1×10^3	4.7×10^3	3.6
11	3.5×10^3	3.8×10^3	3.9×10^3	3.6
10	2.2×10^3	2.1×10^3	2.0×10^3	3.3
9	2.0×10^3	1.6×10^3	1.8×10^3	3.2
8	9.4×10^2	9.8×10^2	9.7×10^2	3.0
7	6.1×10^2	6.3×10^2	6.2×10^2	2.8
6	4.2×10^2	4.2×10^2	4.8×10^2	2.6
5	8.3×10^2	8.1×10^2	8.1×10^2	2.9
0	TNTC	TNTC	TNTC	

[0332] 如表 12 和图 5 中所示,在第 24 小时时间点观察到的 cfu/ml 值在所有浓度下都是类似的。较低端的 MSM 浓度倾向于比较高 MSM 浓度具有更大的菌落数的对数值降低。 $12 \mu\text{g}/$

ml 甲氧苯青霉素的菌落计数的平均对数值降低是 1.5,这在所有 MSM 浓度下被保持,有很小变化或没有变化。30 μ g/ml 甲氧苯青霉素条件下在较低端 MSM 浓度有显著降低,对数平均值差异为 3。60 μ g/ml 甲氧苯青霉素条件在所述三种浓度抗生素浓度的第一个 24 小时期间显示略小的菌落计数对数值降低。一个令人关注的点是,12 μ g/ml 在 16%MSM 下对数值降低 2.2,这在较高浓度下观察到了最大值。一个假设的可能性是,这是该浓度下抗生素吸收的异常值或最佳点。30 μ g/ml 在 6% 浓度下具有 2.8 的最大的菌落计数对数值降低。阴性 LB 对照显示无污染迹象。LB 阳性对照显示浑浊生长,出于安全原因此时将其终止。阴性 5%、10% 和 16%MSM 对照中没有污染迹象。阳性 5%、10% 和 16%MSM 对照有浑浊生长迹象,所有稀释铺板都是 TNTC,出于安全原因此时将其终止。抗生素对照显示与起始接种物相比无显著降低迹象,阴性对照显示无污染迹象。

[0333] 表 13 :ATCC 菌株 43300 金黄色葡萄球菌在 5-16%MSM 和 12、30 或 60 μ g/ml 甲氧苯青霉素中 48 小时的存活率。

[0334]

%MSM 浓度	12 μ g/ml 甲氧 苯青霉素 / MSM (cfu/ml)	12 μ g/ml 甲氧 苯青霉素 / MSM (cfu/ml)	12 μ g/ml 甲氧 苯青霉素 / MSM (cfu/ml)	48小时 对数平均 值
16	8.1×10^2	8.3×10^2	8.4×10^2	2.9
15	5.1×10^2	5.3×10^2	5.6×10^2	2.7
14	5.1×10^2	5.4×10^2	5.2×10^2	2.7
13	3.6×10^2	3.3×10^2	3.4×10^2	2.5
12	6.3×10^2	6.4×10^2	6.2×10^2	2.8
11	5.9×10^2	5.7×10^2	6.0×10^2	2.8
10	4.1×10^2	4.6×10^2	4.7×10^2	2.6
9	2.5×10^2	2.8×10^2	3.2×10^2	2.4
8	1.0×10^2	1.0×10^2	1.1×10^2	2.0
7	4.0×10^1	3.0×10^1	4.0×10^1	1.6
6	1.0×10^1	1.0×10^1	2.0×10^1	1.1
5	2.0×10^2	1.8×10^2	2.1×10^2	2.3
0	TNTC	TNTC	TNTC	
%MSM 浓度	30 μ g/ml 甲氧 苯青霉素 / MSM (cfu/ml)	30 μ g/ml 甲氧 苯青霉素 / MSM (cfu/ml)	30 μ g/ml 甲氧 苯青霉素 / MSM (cfu/ml)	48小时 对数平均 值
16	4.5×10^2	4.7×10^2	4.6×10^2	2.7

[0335]

15	5.3×10^2	5.2×10^2	5.6×10^2	2.7
14	7.0×10^2	6.8×10^2	7.4×10^2	2.8
13	4.0×10^2	4.0×10^2	4.0×10^2	2.6
12	4.8×10^2	5.0×10^2	5.1×10^2	2.7
11	1.9×10^2	1.8×10^2	2.1×10^2	2.3
10	1.2×10^2	1.8×10^2	1.6×10^2	2.2
9	2.1×10^2	2.3×10^2	2.4×10^2	2.3
8	4.1×10^2	4.0×10^2	3.4×10^2	2.6
7	1.8×10^2	1.5×10^2	1.6×10^2	2.2
6	2.9×10^2	2.2×10^2	2.5×10^2	2.4
5	4.6×10^2	4.8×10^2	4.4×10^2	2.7
0	TNTC	TNTC	TNTC	
%MSM 浓度	60 $\mu\text{g/ml}$ 甲氧 苯青霉素 / MSM (cfu/ml)	60 $\mu\text{g/ml}$ 甲氧 苯青霉素 / MSM (cfu/ml)	60 $\mu\text{g/ml}$ 甲氧 苯青霉素 / MSM (cfu/ml)	48小时 对数平均 值
16	2.1×10^2	2.2×10^2	1.8×10^2	2.3
15	3.5×10^2	3.8×10^2	3.8×10^2	2.6
14	2.9×10^2	2.9×10^2	3.1×10^2	2.5
13	4.0×10^2	3.7×10^2	3.6×10^2	2.6
12	3.3×10^2	3.8×10^2	3.7×10^2	2.6
11	5.0×10^1	5.0×10^1	4.0×10^1	1.7
10	2.1×10^2	2.4×10^2	2.5×10^2	2.4
9	1.3×10^2	1.2×10^2	1.3×10^2	2.1
8	8.0×10^1	6.0×10^1	7.0×10^1	1.8
7	2.4×10^2	2.1×10^2	2.3×10^2	2.4
6	2.0×10^2	2.0×10^2	3.0×10^2	2.4
5	1.0×10^1	2.0×10^1	1.0×10^1	1.1
0	TNTC	TNTC	TNTC	

[0336] 如表 13 所示,所有浓度之间的菌落计数的对数值降低开始变得更类似。该趋势开始显示,较高端 MSM 百分比条件的对数值降低比低端 MSM 百分比条件更加相似。12 $\mu\text{g/ml}$ 甲氧苯青霉素条件在 6%-7%MSM 下整体显示较大的菌落计数的对数值降低,例外是 5%MSM 和 60 $\mu\text{g/ml}$ 条件以及 6%MSM 和 12 $\mu\text{g/ml}$ 甲氧苯青霉素条件,它们具有最大的菌落计数的对数值降低。对该结果的一个假设性解释是,这可能显示了该时间周间的最佳浓度。

[0337] 30 和 60 $\mu\text{g/ml}$ 甲氧苯青霉素比 8%-12%MSM 条件下 24 小时的结果具有整体更多的降低。在三种抗生素浓度中,60 $\mu\text{g/ml}$ 维持了比第一个 24 小时期间更大的菌落计数的平均对数值降低。令人关注的两点是:(1) 6%MSM 在 12 $\mu\text{g/ml}$ 甲氧苯青霉素条件下有 4.1 的菌落计数的对数值降低,(2) 5%MSM 和 60 $\mu\text{g/ml}$ 甲氧苯青霉素条件有 4.1 的菌落计数的对数值降低。对此的一个纯粹假设性的解释是,甲氧苯青霉素具有对 MSM 的另外的极性结合位点,因此提供了可能摄入细胞的最佳浓度。在 8% 至 16%MSM 的浓度下,整个曲线显示甚至更大降低。阴性 LB 对照显示无污染迹象。在 105 铺板下, LB 阳性对照显示浑浊生长,具有 TNTC。阴性 5%、10% 和 16%MSM 对照没有污染迹象。抗生素对照显示与起始接种量相比无显著降低迹象,阴性对照显示无污染迹象。

[0338] 表 14 :ATCC 菌株 43300 金黄色葡萄球菌在 5-16%MSM 和 12、30 或 60 $\mu\text{g/ml}$ 甲氧苯

青霉素中 72 小时的存活率。

[0339]

%MSM 浓度	12 µg/ml 甲氧 苯青霉素 / MSM (cfu/ml)	12 µg/ml 甲氧 苯青霉素 / MSM (cfu/ml)	12 µg/ml 甲氧 苯青霉素 / MSM (cfu/ml)	72小时 对数平均 值
16	3.3×10^2	3.1×10^2	3.4×10^2	2.5
15	1.6×10^2	2.1×10^2	2.2×10^2	2.3
14	2.2×10^2	2.5×10^2	2.0×10^2	2.3
13	1.4×10^2	1.7×10^2	1.6×10^2	2.2
12	2.3×10^2	2.5×10^2	2.6×10^2	2.4
11	5.1×10^2	4.9×10^2	5.0×10^2	2.7
10	2.1×10^2	1.9×10^2	1.8×10^2	2.3
9	1.1×10^2	1.3×10^2	1.4×10^2	2.1
8	4×10^1	5×10^1	5×10^1	1.7
7	0	0	0	0
6	0	0	0	0
5	2.4×10^2	2.7×10^2	2.6×10^2	2.4
0	TNTC	TNTC	TNTC	
%MSM 浓度	30 µg/ml 甲氧 苯青霉素 / MSM (cfu/ml)	30 µg/ml 甲氧 苯青霉素 / MSM (cfu/ml)	30 µg/ml 甲氧 苯青霉素 / MSM (cfu/ml)	72小时 对数平均 值
16	1.0×10^2	1.2×10^2	1.1×10^2	2.0
15	2.7×10^2	2.7×10^2	2.9×10^2	2.4
14	1.9×10^2	2.0×10^2	2.2×10^2	2.3
13	1.7×10^2	1.8×10^2	1.7×10^2	2.2
12	1.6×10^2	1.9×10^2	1.9×10^2	2.3
11	1.1×10^2	1.3×10^2	1.1×10^2	2.1
10	1.0×10^2	1.0×10^2	1.0×10^2	2.0
9	1.2×10^2	1.1×10^2	1.0×10^2	2.0
8	2.2×10^2	2.5×10^2	2.4×10^2	2.4
7	2.0×10^1	2.0×10^1	2.0×10^1	1.3
6	TNTC	TNTC	TNTC	5.2
5	6×10^1	8×10^1	7×10^1	1.8
0	TNTC	TNTC	TNTC	
	60 µg/ml 甲氧	60 µg/ml 甲氧	60 µg/ml 甲氧	72小时

[0340]

%MSM 浓度	苯青霉素 / MSM (cfu/ml)	苯青霉素 / MSM (cfu/ml)	苯青霉素 / MSM (cfu/ml)	对数平均 值
16	2.0×10^1	4.0×10^1	2.0×10^1	1.4
15	1.3×10^2	1.3×10^2	1.3×10^2	2.1
14	1.1×10^2	1.4×10^2	1.4×10^2	2.1
13	1.7×10^2	1.5×10^2	1.8×10^2	2.2
12	1.2×10^2	1.3×10^2	1.2×10^2	2.1
11	1.0×10^2	1.0×10^2	1.1×10^2	2.0
10	8.0×10^1	9.0×10^1	8.0×10^1	1.9
9	8.0×10^1	8.0×10^1	8.0×10^1	1.9
8	1.0×10^2	1.1×10^2	1.1×10^2	2.0
7	5.0×10^1	4.0×10^1	6.0×10^1	1.7
6	0	0	0	0
5	0	0	0	0
0	TNTC	TNTC	TNTC	

[0341] 如表 14 所示,第 72 小时,6% 和 7%MSM 以及 $12 \mu\text{g/ml}$ 甲氧苯青霉素条件在所有铺板中显示无菌落迹象。然后,将 6% 和 7%MSM 管从实验中取出,测试 MRSA。将所述管以 5000rpm 离心 10 分钟进行沉淀。然后,将上清倒入含有 $6 \mu\text{g/ml}$ 甲氧苯青霉素的 90ml Mueller-Hinton 肉汤中。这用于富集和恢复可能存在的任何健康或应激的 MRSA 细胞。向沉淀物中加入含 $6 \mu\text{g/ml}$ 甲氧苯青霉素的 10ml Mueller-Hinton 肉汤,以恢复可能存在的任何细胞。将两个管在 35°C 下孵育 48 小时,然后每 24 小时铺板。将每个管以 10 稀释度铺板,以获得 1cfu 检出限。由于所有管都是以 1/10 稀释度至富集溶液中,以此方式对每个管铺板得到 1cfu/ml 的检出限。这被认为是真正完全杀死,因为不能对所述生物进行恢复。为绘制曲线的目的,该时间点记为对数值 0。

[0342] 如表 14 所示,在第 72 小时,5%和 6%MSM 以及 $60 \mu\text{g/ml}$ 甲氧苯青霉素条件在所有平板上显示无菌落迹象。将 5%和 6%MSM 管从实验中取出,测试 MRSA。将所书管以 5000rpm 离心 10 分钟进行沉淀。然后,将上清液倒入含有 $6 \mu\text{g/ml}$ 甲氧苯青霉素的 90ml Mueller-Hinton 肉汤中。这用于富集和恢复可能存在的任何健康或应激的 MRSA 细胞。向沉淀物中加入含 $6 \mu\text{g/ml}$ 甲氧苯青霉素的 10ml Mueller-Hinton 肉汤,以恢复可能存在的任何细胞。将两个管在 35°C 下孵育 48 小时,然后每 24 小时铺板。将每个管以 10 稀释度铺板,以获得 1cfu 检出限。由于所有管都是以 1/10 稀释度至富集溶液中,以此方式对每个管铺板得到 1cfu/ml 的检出限。这被认为是真正完全杀死,因为不能对所述生物进行恢复。为绘制曲线的目的,该时间点记为对数值 0。

[0343] 当与实施例 6 中所示的苯唑西林实验比较时,除 6%MSM 在 $30 \mu\text{g/ml}$ 甲氧苯青霉素条件以外,72 小时时间点的结果显示有更大的菌落计数的对数值降低。对此的一个纯粹假设性的解释是,甲氧苯青霉素有更多的 MSM 结合位点,并倾向于在所有浓度之间降低更加一致。第 72 小时标志性趋势是开始显示较低和较高浓度具有更加一致的降低,较低端对浓度 5-7%MSM 下活生物不恢复有更大影响。甲氧苯青霉素测定比前述试验中的苯唑西林测定显示更低速率的反转抗生素抗性。对此的一个纯粹假设性解释是,由于可能的甲氧苯青霉素结合位点增加,MSM 更有效地进入细胞中。甲氧苯青霉素的 72 小时时间点比以前观察的结果显示更真正杀死 MRSA。需要指出的一点是,MSM 用相同浓度代替,而不是如前述试验中

进行的以固定浓度代替。表 15 :ATCC 菌株 43300 金黄色葡萄球菌在 5-16%MSM 和 12、30 或 60 μ g/ml 甲氧苯青霉素中 96 小时的存活率。

[0344]

%MSM 浓度	12 μ g/ml 甲氧 苯青霉素 / MSM (cfu/ml)	12 μ g/ml 甲氧 苯青霉素 / MSM (cfu/ml)	12 μ g/ml 甲氧 苯青霉素 / MSM (cfu/ml)	96小时 对数平均 值
16	1.1×10^2	1.3×10^2	1.2×10^2	2.1
15	1.4×10^2	1.3×10^2	1.6×10^2	2.2
14	1.2×10^2	1.2×10^2	1.3×10^2	2.1
13	1.1×10^2	1.0×10^2	1.0×10^2	2.0
12	1.6×10^2	1.8×10^2	1.8×10^2	2.2
11	1.0×10^2	1.1×10^2	1.2×10^2	2.0
10	1.1×10^2	1.2×10^2	1.2×10^2	2.1
9	TNTC	TNTC	TNTC	5.2
8	0	0	0	0
7	0	0	0	0
6	0	0	0	0
5	1.33×10^3	1.40×10^3	1.47×10^3	3.1
0	TNTC	TNTC	TNTC	
%MSM 浓度	30 μ g/ml 甲氧 苯青霉素 / MSM (cfu/ml)	30 μ g/ml 甲氧 苯青霉素 / MSM (cfu/ml)	30 μ g/ml 甲氧 苯青霉素 / MSM (cfu/ml)	96小时 对数平均 值
16	2.0×10^1	1.8×10^1	1.6×10^1	2.3
15	1.1×10^2	1.1×10^2	1.3×10^2	2.1
14	1.2×10^2	1.3×10^2	1.1×10^2	2.1
13	1.0×10^2	1.5×10^2	1.0×10^2	2.1

[0345]

12	4.0×10^1	4.0×10^1	4.0×10^1	1.6
11	3.0×10^1	4.0×10^1	3.0×10^1	1.5
10	2.0×10^1	2.0×10^1	1.0×10^1	1.2
9	2.5×10^2	2.7×10^2	2.8×10^2	2.4
8	4.5×10^2	4.5×10^2	4.0×10^2	2.6
7	1.1×10^2	1.3×10^2	1.5×10^2	2.1
6	TNTC	TNTC	TNTC	5.2
5	4.2×10^2	4.1×10^2	4.5×10^2	2.6
0	TNTC	TNTC	TNTC	5.2
%MSM 浓度	60 $\mu\text{g/ml}$ 甲氧 苯青霉素 / MSM (cfu/ml)	60 $\mu\text{g/ml}$ 甲氧 苯青霉素 / MSM (cfu/ml)	60 $\mu\text{g/ml}$ 甲氧 苯青霉素 / MSM (cfu/ml)	96小时 对数平均 值
16	4.0×10^1	7.0×10^1	6.0×10^1	1.75
15	1.0×10^1	1.0×10^1	1.0×10^1	1
14	1.0×10^1	1.0×10^1	1.0×10^1	1
13	6.0×10^1	3.0×10^1	3.0×10^1	1.6
12	3.0×10^1	2.0×10^1	2.0×10^1	1.4
11	1.0×10^1	2.0×10^1	1.0×10^1	1.1
10	6.0×10^1	6.0×10^1	6.0×10^1	1.8
9	2.0×10^1	3.0×10^1	1.0×10^1	1.3
8	1.39×10^4	1.41×10^4	1.36×10^4	4.1
7	1.2×10^4	1.2×10^4	1.5×10^4	4.1
6	0	0	0	0
5	0	0	0	0
0	TNTC	TNTC	TNTC	5.2

[0346] 如表 15 所示,第 96 小时和 12 $\mu\text{g/ml}$ 甲氧苯青霉素下,9%MSM 浓度显示了更大的细菌存活率。对此一个纯粹假设性的解释是,细菌已经回复抗生素抗性。5%MSM 条件还显示出较高的细菌存活率。8%MSM 浓度在所有铺板上都显示无菌落迹象。然后,将 8%管从实验中取出,测试 MRSA。将所述管以 5000rpm 离心 10 分钟进行沉淀。然后,将上清液倒入含有 6 $\mu\text{g/ml}$ 甲氧苯青霉素的 90ml Mueller-Hinton 肉汤中。这用于富集和恢复可能存在的任何健康或应急的 MRSA 细胞。向沉淀物中加入含 6 $\mu\text{g/ml}$ 甲氧苯青霉素的 10ml Mueller-Hinton 肉汤,以恢复可能存在的任何细胞。将两个管在 35 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育 48 小时,然后每 24 小时铺板。将每个管以 10 稀释度铺板,以获得 1cfu 检出限。由于所有管都是以 1/10 稀释度至富集溶液中,以此方式对每个管铺板得到 1cfu/ml 的检出限。这被认为是真正完全杀死,因为不能对所述生物进行恢复。为绘制曲线的目的,该时间点记为对数值 0。

[0347] 如表 15 所示,在第 96 小时和 30 $\mu\text{g/ml}$ 甲氧苯青霉素下,较高 MSM 浓度显示更大的 cfu/ml 的对数值降低。5%至 9%MSM 浓度(6%MSM 除外)显示较低的 cfu/ml 降低。在第 96 小时和 60 $\mu\text{g/ml}$ 甲氧苯青霉素下,9%至 16%MSM 浓度比 72 小时时间点下显示了更大的菌落数对数值降低。7%和 8%MSM 条件显示较少的 cfu/ml 降低。

[0348] 8%MSM 和 12 $\mu\text{g/ml}$ 条件显示没有活生物存活。在 7%和 8%MSM 与 60 $\mu\text{g/ml}$ 甲氧苯青霉素条件以及 5%MSM 与 12 $\mu\text{g/ml}$ 甲氧苯青霉素条件下观察到 TNTC。总之,在第 96 小时,10-16%MSM 条件与之前的 72 小时时间点相比显示了略低或类似的菌落计数。

[0349] 从 5 至 9%MSM 条件下,30 $\mu\text{g/ml}$ 显示了菌落计数增加。10-16%与之前的时间点相

比,菌落计数的对数值降低略小或维持相同,并似乎保持恒定。

[0350] 表 16 :ATCC 菌株 43300 金黄色葡萄球菌在 5-16%MSM 和 12、30 或 60 μ g/ml 甲氧苯青霉素中 120 小时的存活率。

[0351]

%MSM 浓度	12 μ g/ml 甲氧 苯青霉素 / MSM (cfu/ml)	12 μ g/ml 甲氧 苯青霉素 / MSM (cfu/ml)	12 μ g/ml 甲氧 苯青霉素 / MSM (cfu/ml)	120小时 对数平均 值
16	2.0×10^2	2.3×10^2	2.4×10^2	2.3
15	2.9×10^2	3.4×10^2	3.1×10^2	2.5
14	3.5×10^2	4.0×10^2	3.8×10^2	2.6
13	2.0×10^2	1.8×10^2	2.1×10^2	2.3
12	1.21×10^3	1.21×10^3	1.21×10^3	4.1
11	1.24×10^4	1.22×10^4	1.23×10^4	4.1
10	1.10×10^4	1.10×10^4	1.13×10^4	4.0
9	TNTC	TNTC	TNTC	5.2
8	0	0	0	0
7	0	0	0	0
6	0	0	0	0
5	TNTC	TNTC	TNTC	5.2
0	TNTC	TNTC	TNTC	5.2
%MSM 浓度	30 μ g/ml 甲氧 苯青霉素 / MSM (cfu/ml)	30 μ g/ml 甲氧 苯青霉素 / MSM (cfu/ml)	30 μ g/ml 甲氧 苯青霉素 / MSM (cfu/ml)	120小时 对数平均 值
16	0	0	0	0
15	3.0×10^1	4.0×10^1	3.0×10^1	1.5
14	5.0×10^1	7.0×10^1	6.0×10^1	1.8
13	5.0×10^1	4.0×10^1	4.0×10^1	1.6
12	0	0	0	0
11	0	0	0	0
10	0	0	0	0

[0352]

9	1.3×10^3	1.1×10^3	1.2×10^3	3.1
8	9.0×10^2	9.1×10^2	9.5×10^2	3.0
7	TNTC	TNTC	TNTC	5.2
6	TNTC	TNTC	TNTC	5.2
5	1.21×10^3	1.21×10^3	1.21×10^3	3.0
0	TNTC	TNTC	TNTC	5.2
%MSM 浓度	60 μg/ml 甲氧 苯青霉素 / MSM (cfu/ml)	60 μg/ml 甲氧 苯青霉素 / MSM (cfu/ml)	60 μg/ml 甲氧 苯青霉素 / MSM (cfu/ml)	120小时 对数平均 值
16	1.0×10^1	2.0×10^1	2.0×10^1	1.2
15	0	0	0	0
14	0	0	0	0
13	3.0×10^1	3.0×10^1	3.0×10^1	1.5
12	0	0	0	0
11	0	0	0	0
10	1.0×10^1	1.0×10^1	1.0×10^1	1
9	1.0×10^1	1.0×10^1	1.0×10^1	1
8	TNTC	TNTC	TNTC	5.2
7	TNTC	TNTC	TNTC	5.2
6	0	0	0	0
5	0	0	0	0
0	TNTC	TNTC	TNTC	5.2

[0353] 如表 16 所示,在第 120 小时和 30 μ g/ml 甲氧苯青霉素下,10%、11%、12% 和 16%MSM 浓度显示无菌落迹象;在第 120 小时和 60 μ g/ml 甲氧苯青霉素下,11%、12%、14% 和 15%MSM 浓度显示无菌落迹象。然后,将对应于这些条件的管从实验中取出,测试 MRSA。将所述管 5000rpm 离心 10 分钟进行沉淀。然后,将上清液倒入含有 6 μ g/ml 甲氧苯青霉素的 90ml Mueller-Hinton 肉汤中。这用于富集和恢复可能存在的任何健康的或应激的 MRSA 细胞。向沉淀物中加入含 6 μ g/ml 甲氧苯青霉素的 10ml Mueller-Hinton 肉汤,以恢复可能存在的任何细胞。将两个管在 35℃下孵育 48 小时,然后每 24 小时铺板。将每个管以 10 稀释度铺板,以获得 1cfu 检出限。由于所有管都是以 1/10 稀释度至富集溶液中,以此方式对每个管铺板得到 1cfu/ml 的检出限。这被认为是真正完全杀死,因为不能对所述生物进行恢复。为绘制曲线的目的,该时间点记为对数值 0。

[0354] 总之,在第 120 小时和 12 μ g/ml 甲氧苯青霉素下,与之前时间点相比在 13-16%MSM 浓度下 cfu/ml 有略微的增加,在 10%-12%MSM 浓度下有更大增加。5%MSM 和 12 μ g/ml 甲氧苯青霉素显示 TNTC 的 cfu/ml。更高浓度的 13-16%MSM 只显示 cfu/ml 略微增加。对此一个纯粹假设性的解释是,细菌反转抗生素抗性,但是较高 MSM 浓度对减缓该反转过程有显著的影响,因为本发明人观察到在较高 MSM 浓度下 cfu/ml 略微增加,而较低浓度有 cfu/ml 的显著增加。

[0355] 在 30 μ g/ml 甲氧苯青霉素下,16%、12%、11% 和 10%MSM 条件显示真正杀死,没有观察到恢复。15%、14% 和 13%MSM 条件与之前时间点相比显示 cfu/ml 略微降低。5%、8% 和 9%MSM 条件比之前时间点显示略高的 cfu/ml。

[0356] 在 60 μ g/ml 甲氧苯青霉素下,15%、14%、12% 和 11%MSM 条件显示真正杀死,没有生

物恢复。10%和9%浓度点与之前时间点相比有cfu/ml的持续降低。一个可能性是,这些浓度的MSM和抗生素对MRSA有更大影响。

[0357] 总之,MSM和甲氧苯青霉素的结合物证明了在所有评估时间点显著降低MRSA菌落形成单位的能力。基于本实验的这些结果,MSM似乎具有在体外回复MRSA对甲氧苯青霉素敏感性的能力。当与之前的实验中的苯唑西林比较时,甚至在所有浓度下对数值的降低速率都更大。对此的一个假设性的解释是,在所有实验中,在结构上与苯唑西林比较,甲氧苯青霉素具有更多的结合位点。在所有浓度下,甲氧苯青霉素比苯唑西林有更显著的真正杀死和降低。

[0358] 总之,表12-16中呈现的数据表明,对于所评估的所有三个浓度的甲氧苯青霉素,在较低MSM百分比下在第一个24小时有较高的降低。该趋势在第48小时稍微改变,最大降低出现在中至高MSM浓度。至第72小时,该趋势明确转变为在较高MSM浓度下有更大的对数值降低。当另外加入生长培养基(含有与生长瓶中起始MSM浓度相同的LB)以维持所述瓶中原始体积时才加入MSM。例如,如果取出1ml等分部分的12 μ g/ml甲氧苯青霉素和5%MSM用于铺板,则加回1ml含5%MSM的LB。如前所述,每24小时加入合适浓度的抗生素。

[0359] 下述提供了对以上文观察到的一些效应的假设性解释;但是,这些解释不是意欲进行限定。这些观察结果的一个假设且非限制性的可能性是,MSM被所述生物消费。这些观察结果的另一个假设且非限制性的可能性是,MSM引起反转成敏感性的能力可能是由于MSM携带甲氧苯青霉素进入MRSA细胞的能力。对这些观察结果的另一个假设且非限制性的可能性是,在某些时间点太高的MSM水平有效性较低。例如,这可能是由于在较高浓度下过量的游离MSM分子与已经与甲氧苯青霉素结合的MSM竞争造成的。这将有比与甲氧苯青霉素结合的MSM更多的游离MSM进入细胞。较低浓度在溶液中有较高总体百分比的总MSM分子与甲氧苯青霉素结合,使得更多的结合甲氧苯青霉素进入细胞,原因是游离MSM的竞争较少。在这种假设下,对于给定数目的将进入MRSA细胞的MSM分子,MSM与甲氧苯青霉素的比例对于获得最大效应是重要的。如果存在过量MSM,那么没有结合甲氧苯青霉素的MSM渗透细胞的几率会增加。

[0360] 本领域技术人员会理解,在不偏离本公开的主旨下,可以进行大量的和多种的修饰。因此,应清楚地理解,本文公开的实施方案仅用于说明。

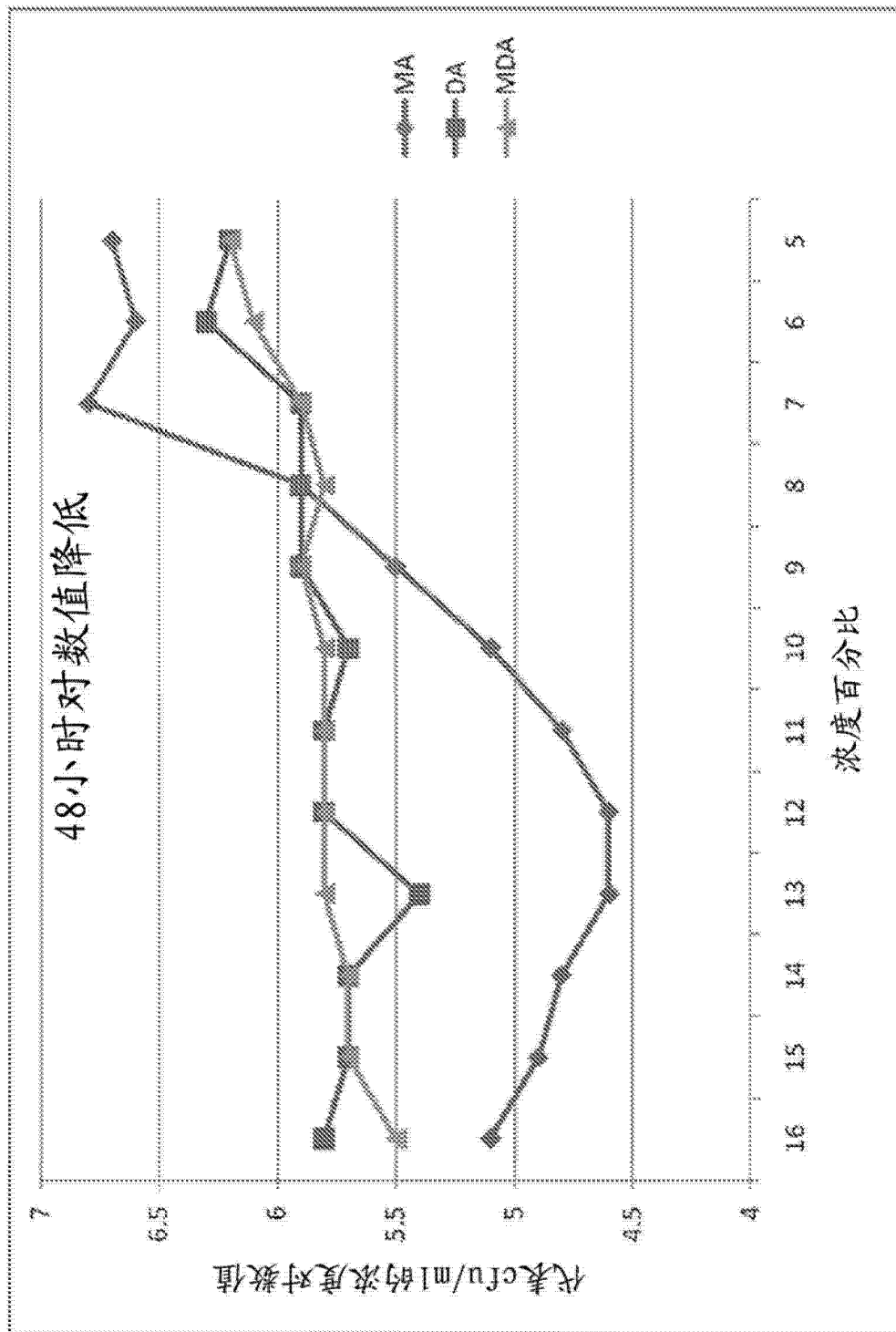


图 1

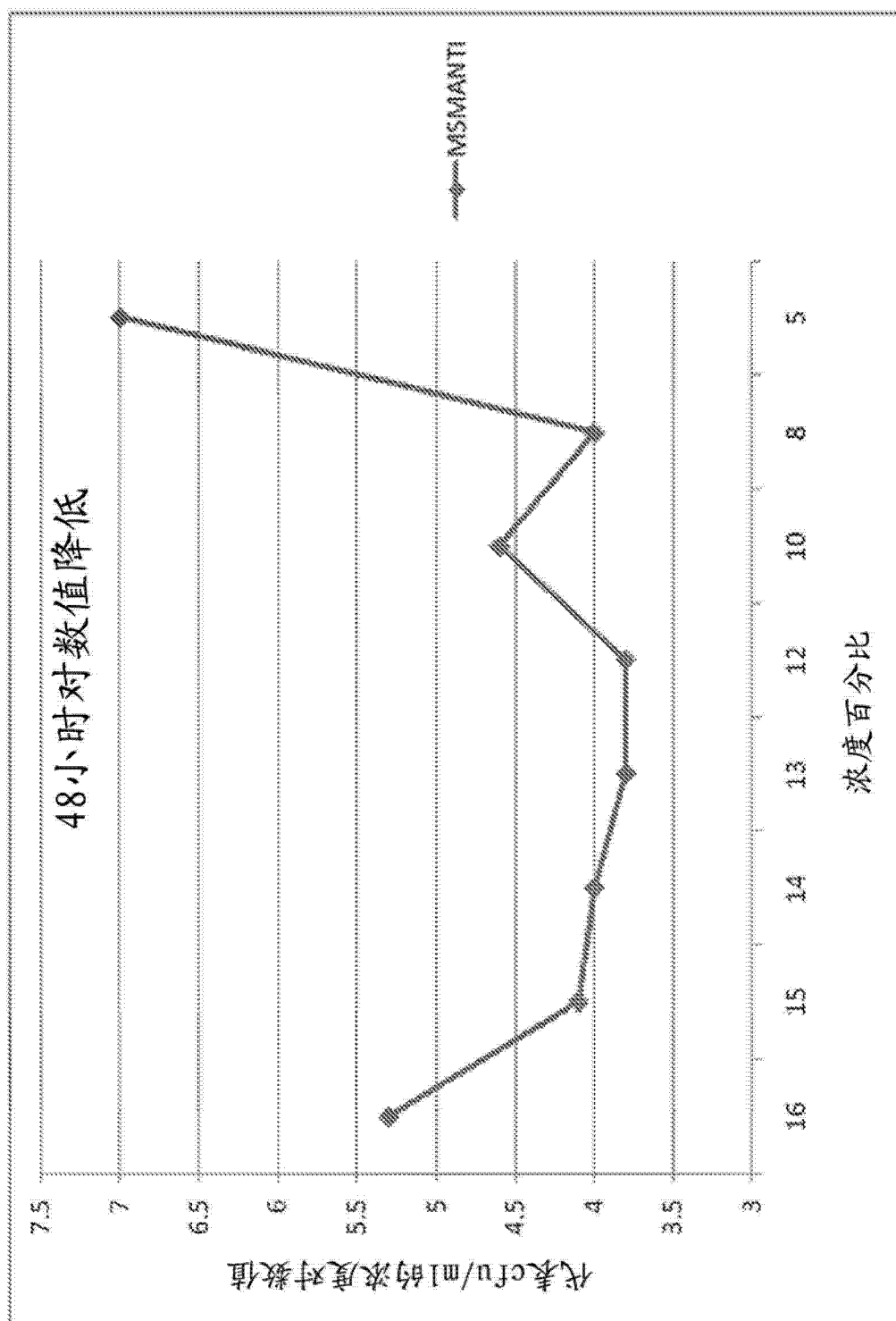


图 2

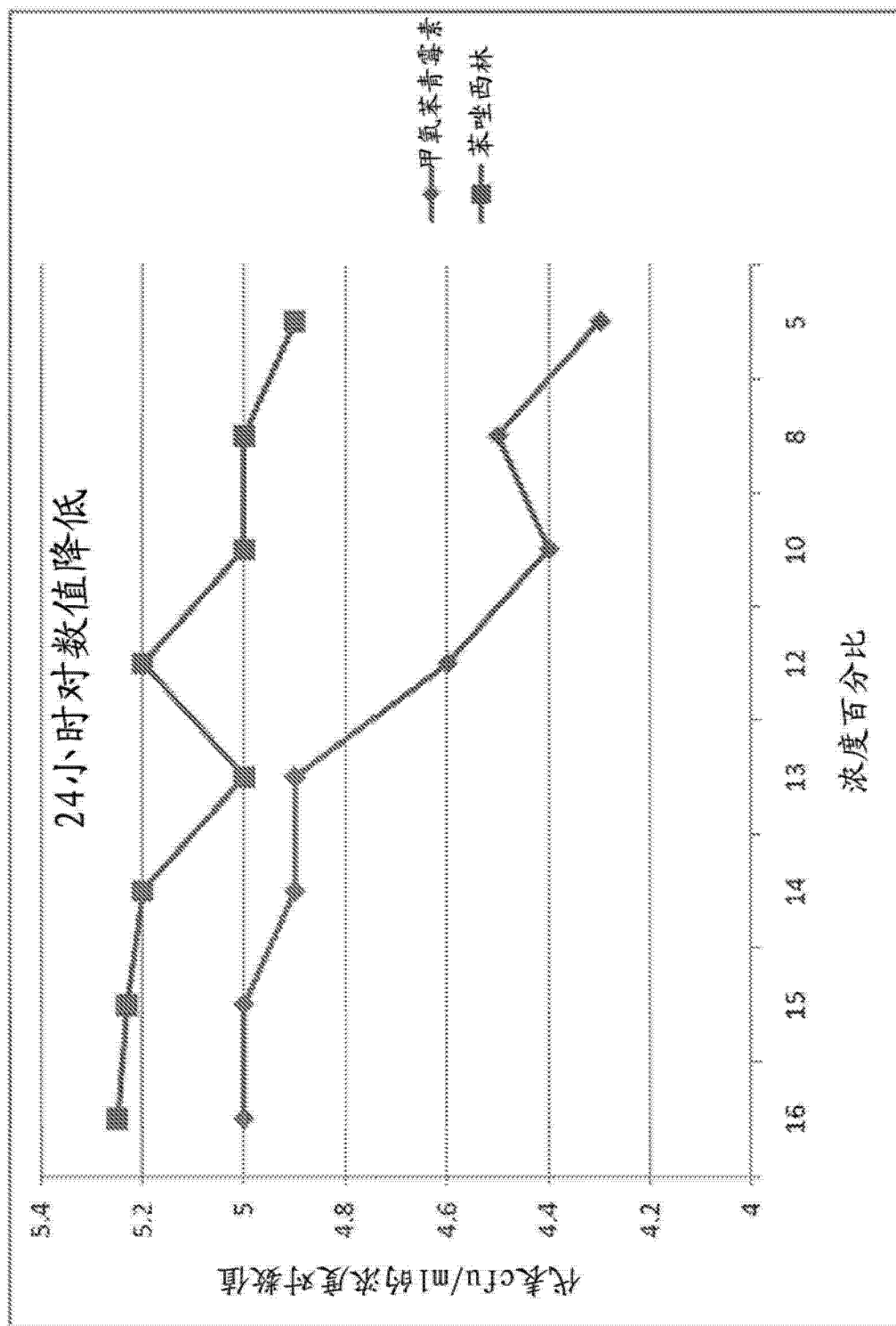


图 3A

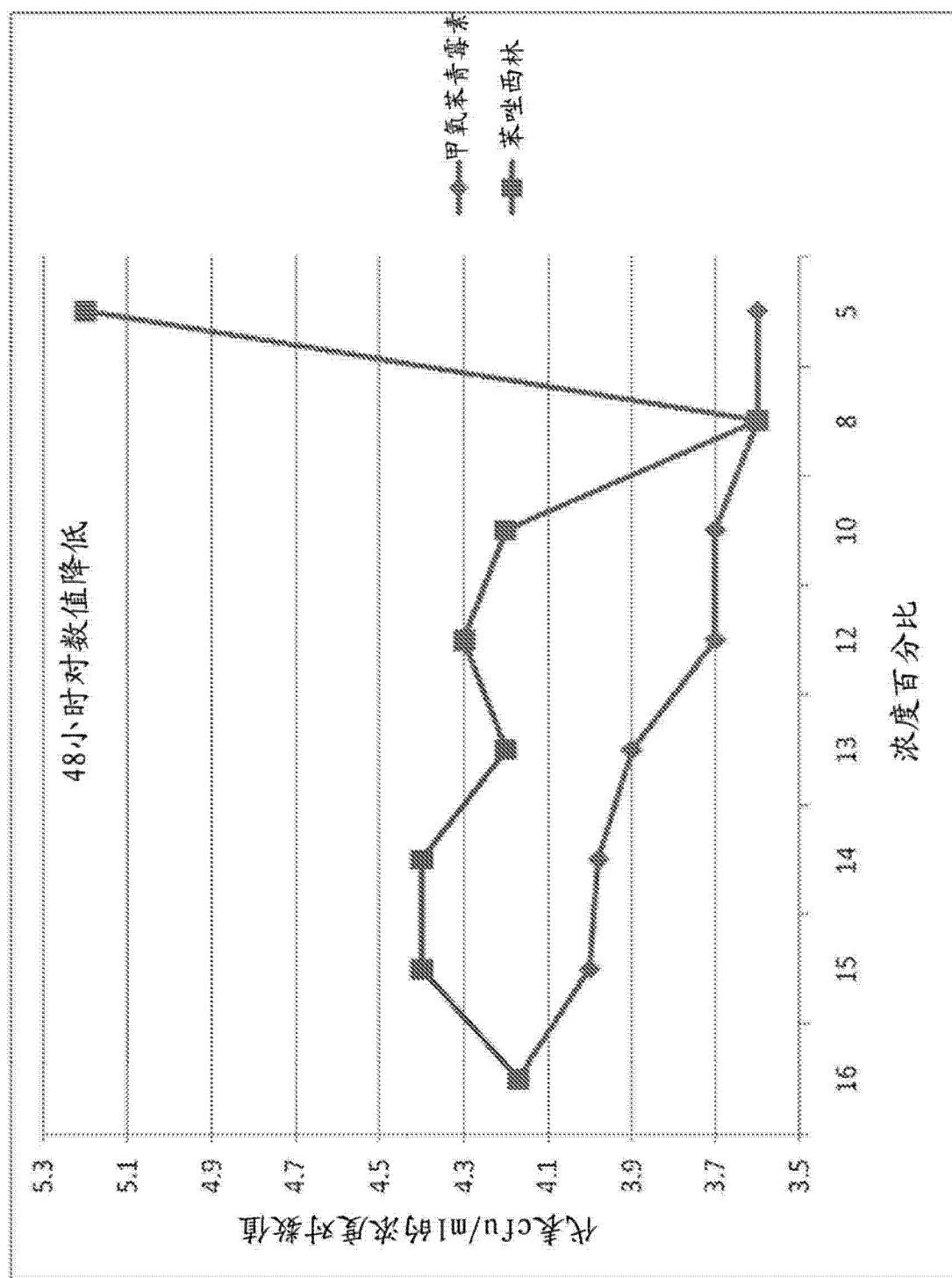


图 3B

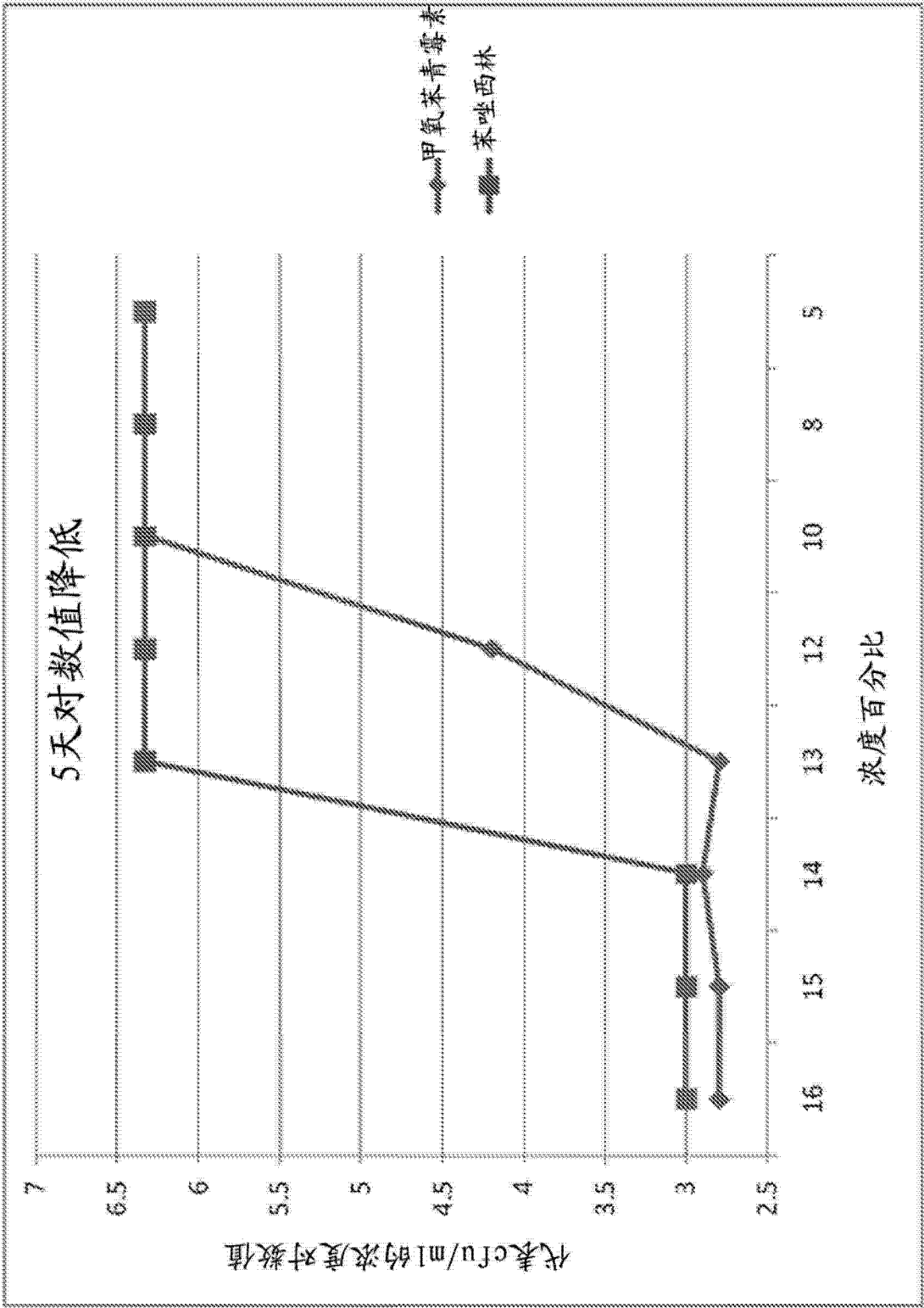


图 3C

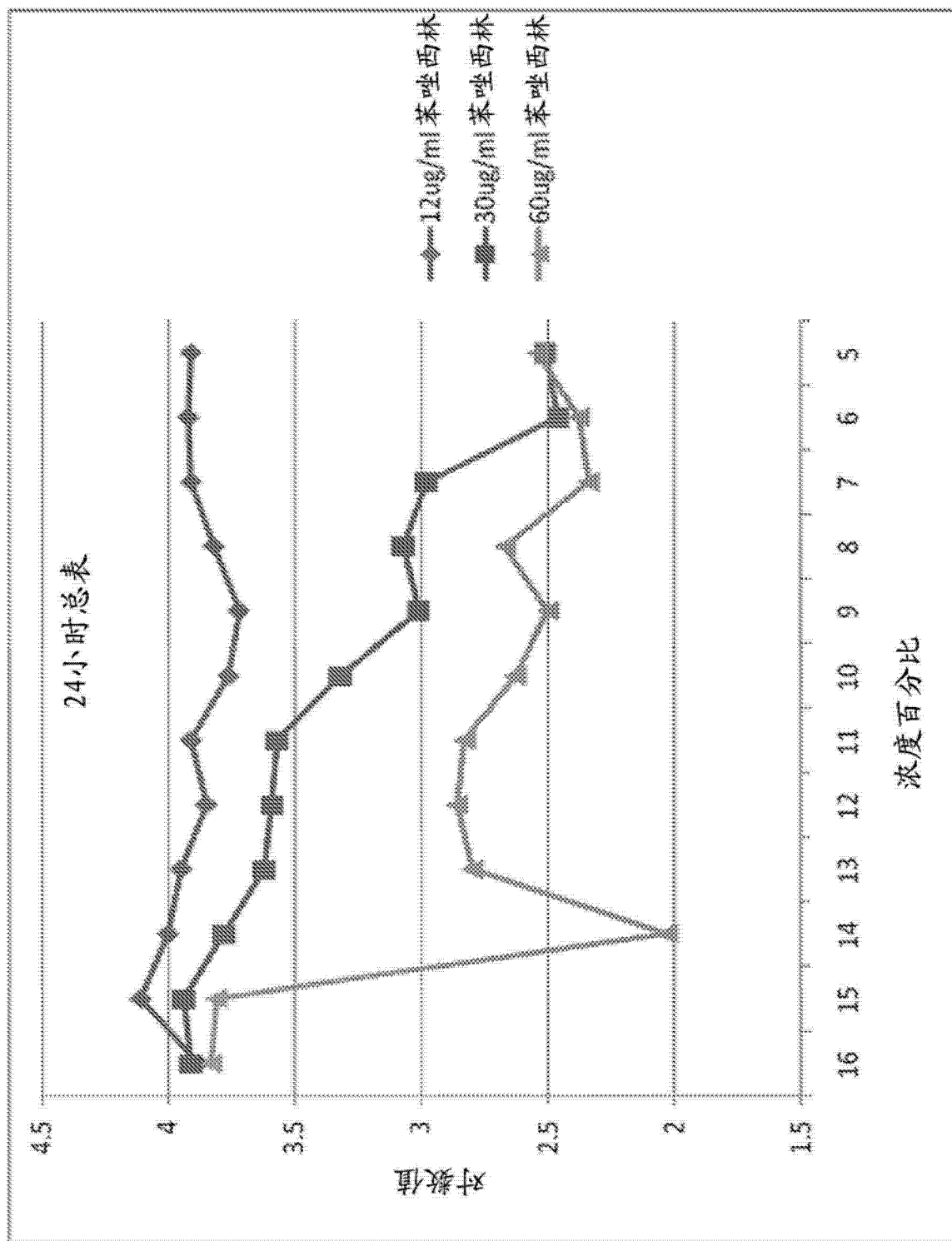


图 4

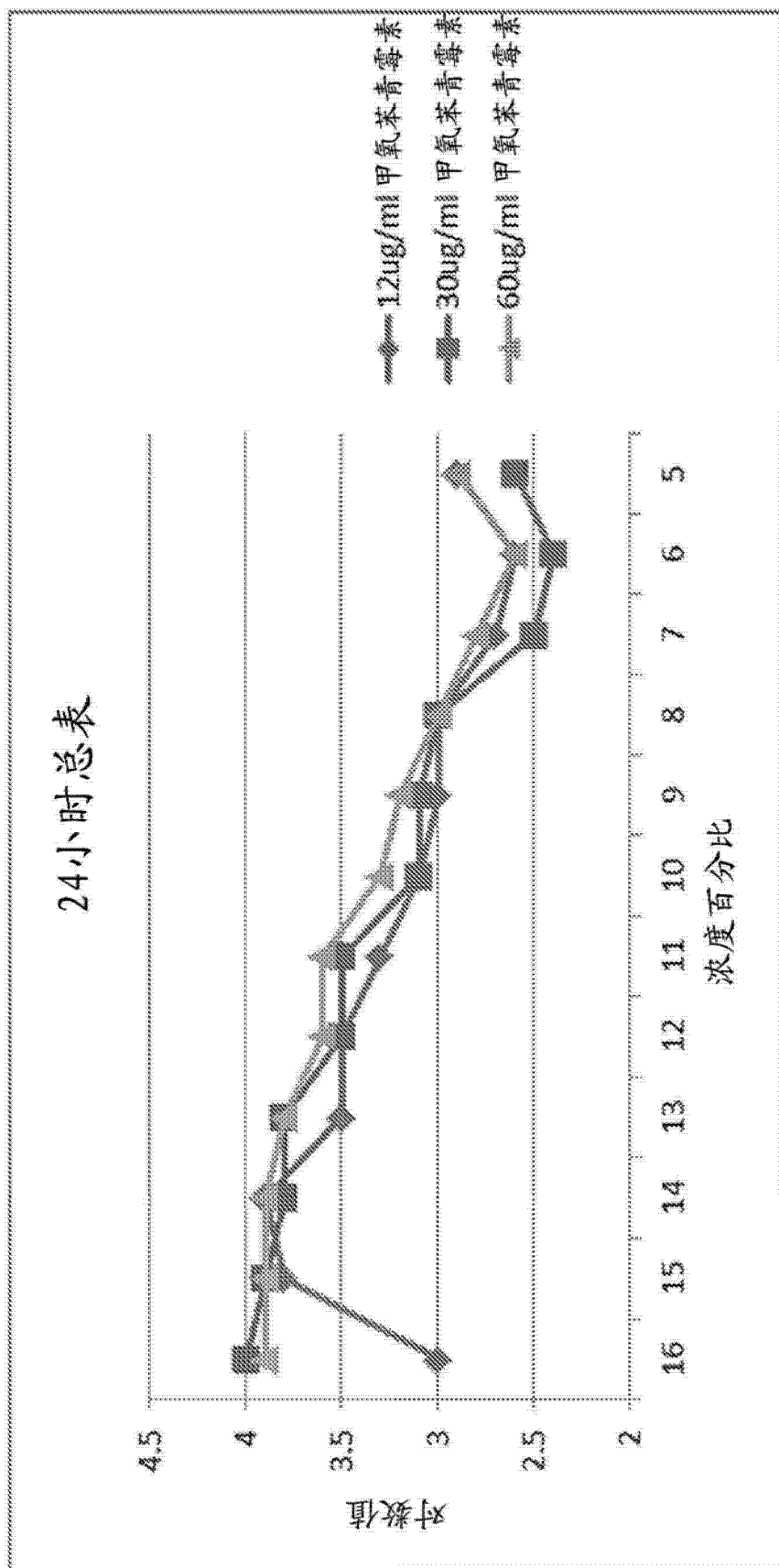


图 5