

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.

A61K 31/54 (2006.01)

A61L 33/04 (2006.01)



# [12] 发明专利说明书

专利号 ZL 02108774.1

[45] 授权公告日 2007 年 2 月 21 日

[11] 授权公告号 CN 1301110C

[22] 申请日 2002.4.1 [21] 申请号 02108774.1

[73] 专利权人 ND 合伙人股份有限公司

地址 美国马萨诸塞州

[72] 发明人 克劳斯·索德曼

[56] 参考文献

US6166007A 2000.12.26

GB1124285A 1968.8.21

审查员 李新芝

[74] 专利代理机构 永新专利商标代理有限公司

代理人 林晓红

权利要求书 1 页 说明书 21 页

[54] 发明名称

包含牛磺酰胺衍生物及羧酸和/或其盐的抗微生物闭锁

[57] 摘要

本发明涉及在医疗修复装置中或其附近，在所述装置植入患者内之后，抑制或预防感染和血凝固的方法，所述方法包括给予该装置药物有效量的包含下列成分的组合物：(A)至少一种牛磺酰胺衍生物，和(B)至少一种选自生物学可接受的酸及其生物学可接受的盐的化合物。

- 
1. 增加水溶液中牛磺罗定溶解度的方法，所述方法包括加入柠檬酸。
  2. 权利要求 1 的方法，其另外包括加入氢氧化钠调节溶液的 pH 并产生柠檬酸和柠檬酸钠缓冲体系的步骤。

## 包含牛磺酰胺衍生物及羧酸和/或其盐的抗微生物闭锁

### 技术领域

本发明涉及用于预防感染和血凝固的冲洗和涂布导管的组合物和方法。

### 背景技术

进入人或动物患者的血管系统的，用于在血管系统和外部操作装置之间血液交换的血液透析通路系统(hemodialysis access system)在本领域是公知的。一种方法包括在患者中放置一端延伸到中心静脉系统的导管。如任何侵入过程一样，预防感染已成为问题，特别是在使用必需长时间保持在原位的装置的情况中。在导管内和导管周围的血凝固也是麻烦的，因此需要预防血凝固的方法，特别是考虑抑制可能降低或破坏导管有效性的导管堵塞时。已进行了大量研究以缓解这些问题。

用抗凝剂如肝素冲洗导管是标准步骤。然而，肝素不是抗微生物的，另外，若不仔细控制，其可能使抗凝过程进行的程度太高，从而存在出血危险。

美国专利 4,096,241 公开了用于治疗 and 预防牙和牙龈感染，特别是牙周炎的药物组合物，其包含作为活性成分的噻二嗪衍生物。

美国专利 4,107,305 公开了通过给予有效量的甲双二嗪组合物抵抗内毒素血症的方法。

美国专利 4,337,251 公开了甲双二嗪在人或动物中消除或降低术后粘连的用途。

美国专利 4,587,268 公开了用于治疗伤口的组合物，其含有

可再吸收的含水凝胶，该含水凝胶中溶解或分散了一种或多种水溶性药物，优选是抗生素或羟甲基转移抗微生物剂。

美国专利 4,587,284 公开了制备吸水性增强的亲水聚合物材料的方法，所述材料适用于伤口敷裹，在该方法中，用碱渗透含水有机水凝胶，所述水凝胶包含散布有亲水丙烯酸或甲基丙烯酸衍生物聚合物的可胶凝化的多糖和/或蛋白质或多肽，在用所述碱处理期间，将所述水凝胶的 pH 升高到至少为 9。

美国专利 4,604,391 公开了预防性地将双甲二噻化合物给予人或温血动物以抵抗骨炎或骨髓炎，特别是在患有源于创伤的骨损伤的患者中。

美国专利 4,626,536 公开了甲双二噻化合物在人或温血动物中抵抗有毒蛋白质或肽类，例如毒液、真菌毒素和细菌内毒素中的用途。

美国专利 4,772,468 公开了用于填充入骨腔的药物组合物，其包含由粉末磷酸钙和抗菌物质，视需要与一种或多种粘合剂一起形成的含水糊剂。抗菌物质优选为牛磺罗定，且磷酸钙优选为 $\beta$ -磷酸三钙。

美国专利 4,797,282 公开了可植入体内的、用于控制、延迟释放细胞抑制剂的药物储存剂 (pharmaceutical depot)，其包含基于聚丙烯酸酯和/或聚甲基丙烯酸酯的含有细胞抑制剂和至少一种氨基酸的合成材料。

美国专利 4,853,225 公开了用于抵抗感染的可植入的药物储存剂，其包含生理学可接受的赋形剂和至少一种延迟释放的活性化合物，所述化合物是一种促旋酶抑制剂类型的化学治疗剂。

美国专利 4,882,149 公开了用于植入碱性组织 (base tissue) 的药物储存剂制剂，其包含除去了天然连接的脂肪和骨蛋白的天然骨盐，因此所述骨是无菌和非变应原的，在所述骨材料上

和/或在所述骨材料中吸收了一种或多种生理活性物质。该生理活性物质有利地是辅助骨再生的抗生素或牛磺罗定或氧氢噻二嗪或蛋白质或多肽。

美国专利 4,905,700 公开了用于传输超声的声耦合介质。在人体的超声造影中有用的该介质包含水凝胶层,所述水凝胶含有超过 90%的水,优选含有超过 95%的水。该水凝胶优选包含琼脂,其链与聚丙烯酰胺链交替。

美国专利 4,960,415 公开了用于植入伤口中和伤口腔中的装置,该装置由含有药物活性物质的容器组成,该容器的壁至少部分由膜,优选由半渗透膜组成,所述膜允许活性物质进入伤口区。更优选地,该容器是透析管。为了排出伤口分泌物,含药物活性物质,特别是牛磺罗定的容器方便地与引流管相连。优选地,使用导入伤口的一端分裂成细丝的引流管。

美国专利 5,077,281 公开了甲双二嗪化合物作为血凝固抑制剂和作为无菌炎症抑制剂的用途。根据该专利,甲双二嗪具有突出的凝固抑制作用,它特别适用于要求透析的医疗症状,以及血管修复术。该专利还公开了这些化合物可以与其它抗凝剂如香豆素或肝素一起使用。

美国专利 5,167,961 和 5,417,975 公开了制备高纯度骨盐的方法,其中通过与氨或伯胺一起加热而降解有机物质,其特征在于在低于 60°C 的温度下,通过用流水洗涤而萃取溶解的降解产物,任选地重复这种与伯胺一起加热和洗涤步骤,从而除去基本上所有的通过这些步骤可以除去的有机物质,在温度达 700°C 下在空气中加热如此处理的骨盐。

美国专利 5,210,083 公开了含有细菌有效浓度的牛磺罗定和/或氧氢噻二嗪以及可以非胃肠给予的 (parenterally acceptable) 多元醇的水溶液。据说该水溶液特别适于非胃肠给

予。

美国专利 5,362,754 公开了二甲胺四环素和 EDTA (M-EDTA) 混合物的药物组合物, 以及使用该组合物保持导管通道 (catheter port) 开放的方法。还提供了使用 M-EDTA 溶液抑制富含多糖的糖萼 (如葡萄球菌的糖萼) 形成的方法。M-EDTA 溶液还可以用于预处理医疗装置以防止感染性菌如表皮葡萄球菌 (*S. epidermis*) 和金黄色葡萄球菌 (*S. aureous*) 的粘附。该组合物破坏并防止富含多糖的糖萼形成。

美国专利 5,573,771 公开了用于医疗的纯化粒状骨盐产品, 所述盐粒子基本上没有任何内源性有机物且至少在其表面上具有可再吸收的、生理学相容的、天然或合成大分子材料。特别地, 提供骨盐, 其用形成凝胶的蛋白质或多糖如明胶浸渍, 从而增强强度并提供包含骨盐的产品, 所述骨盐处在胶原纤维和形成凝胶的蛋白质的基质中。这种产品用作重塑植入物或修复骨替代品。

美国专利 5,593,665 公开了含有肿瘤坏死因子和牛磺罗定和/或氧氢噻二嗪的产品, 它们作为复合制剂, 同时、分别、顺序使用以治疗患有由肿瘤坏死因子介导的医疗症状的患者。

美国专利 5,603,921 公开了用于控制与龈炎相关的细菌活性的含药牙线。牙线中掺入抗微生物剂, 作为牙线清除 (flossing) 动作的结果, 所述抗微生物剂沉积在牙的牙间区。抗微生物剂的缓慢溶解确保了长期达到有效水平的药物治疗, 从而降低细菌活性。

美国专利 5,688,516 公开了组合物以及在冲洗和涂布医疗装置中使用组合物的方法。该组合物包含螯合剂、抗凝剂或抗血栓形成剂与非糖肽抗微生物剂如四环素抗生素的选择组合。还公开了使用这些组合物涂布医疗装置和抑制导管感染的方法。特定的组合包括在药学可接受的稀释剂中的二甲胺四环素或其它非糖肽抗微生物剂与 EDTA、EGTA、DTPA、TTH、肝素和/或蛭素。

Myers 等, *J. Appl. Bacteriol* 48:89-96 (1980) 报道了甲双二嗪—双(1,1-二氧化-全氢化-1,2,4-噻二嗪基)甲烷是抗微生物化合物,它是通过两分子的牛磺酸与三分子的甲醛缩合而形成的。以前已提出甲双二嗪在与细菌接触时释放甲醛。作者提出证据表明甲双二嗪在水溶液中大部分水解,释放出一分子的甲醛和两单体分子 1,1-二氧化-全氢化-1,2,4-噻二嗪及其甲醇胺衍生物。根据该文章的叙述,稳定的平衡建立。作者得出结论,抗菌活性不完全归因于游离甲醛的吸收,还归因于与掩蔽的(或潜在的)甲醛的反应,因为发现甲双二嗪的活性大于甲醛。相比之下,发现单体仅仅是轻微活性的。

Gorman 等, *J. Clin. Pharm. Ther.* 12:393-399 (1987) 报道了三种抗微生物剂,牛磺罗定、氯己定和聚乙烯吡咯烷酮碘对微生物的抗粘连活性。研究了两种粘连体系:人口上皮细胞的白色念珠菌口分离菌(isolate)和人尿上皮细胞(uroepithelial cell)的大肠杆菌尿分离菌。三种试剂各自显示出显著的抗粘连活性,其是浓度依赖性的。

Root 等, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 32(11):1627-1631 (1998) 报道了带有血管内导管的粒细胞减少患者有增加的表皮葡萄球菌(*S.epidermis*)感染危险。在导管没有用于输液时的间隔期间,通常用含有肝素的溶液保持导管腔的开放。作者证明肝素并不抑制从感染患者的导管中分离的表皮葡萄球菌(*S.epidermis*)的生长。20 mg/ml 的 EDTA 二钠溶液被证明在 24 小时后对  $10^3$  CFU/ml 葡萄球菌首次接种物具有杀菌作用,EDTA 二钠是一种在此浓度下有效抗凝血的螯合剂。还发现通常用于治疗葡萄球菌属感染的抗生素万古霉素对在  $6.7 \mu\text{g/ml}$  的剂量下对  $10^3$  CFU/ml 首次接种物具有杀菌作用, $6.7 \mu\text{g/ml}$  是在治疗范围内的浓度。从其低成本、作为抗凝剂的有效性和杀菌活性的角度

考虑，作者推荐将 EDTA 作为肝素溶液的替代品进行研究，用于粒细胞减少患者的静脉内导管的维护。

Jones 等, *J. Appl. Bacteriol.* 71:218-227 (1991) 检验了三种非抗生素，抗微生物剂—牛磺罗定、醋酸氯己定和聚乙烯吡咯烷酮碘对临床菌株大肠杆菌、腐生葡萄球菌 (*S.saprophyticus*)、表皮葡萄球菌 (*S.epidermidis*) 和 *C.albicans* 的表面亲水性的影响。在所报道的干扰微生物-上皮细胞粘附的浓度下，发现这三种试剂均改变细胞表面亲水性。然而，这些影响未显示均一的关系。通常，牛磺罗定和聚乙烯吡咯烷酮碘治疗降低所检验的菌株的亲水性，而醋酸氯己定依赖于所治疗的微生物菌落而作用。

Traub 等, *Chemotherapy* 39:322-330 (1993) 检验了牛磺罗定对代表性数目的在肉汤中以及在牛和人血清以及新鲜的去纤维蛋白人血的存在下的多抗生素耐药性细菌分离菌的杀菌活性。作者提出这种抗微生物物质可以用于被 *E.faecium*、金黄色葡萄球菌 (*S.aureus*) 的糖肽耐药性菌株 (GRMRSA) 或产生广谱 $\beta$ -内酰胺酶的肠杆菌移植在体内并生长或表面感染的患者的局部治疗。

Willatts 等, *Crit. Care Med.* 23 (6):1033-1039 (1995) 报道了使用临床、细菌学结果、内毒素血症的发展、器官衰竭的消除和 28 天死亡率作为终点，对接受大学教学医院的强化治疗单元的有脓毒症综合证的患者，牛磺罗定没有有效的治疗效果。

Darouiche 等, *Nutrition* 13 (4) (suppl):26S-29S (1997) 报道了与血管导管相关的感染的预防主要集中在抑制来源于皮肤或导管接头 (catheter hub) 的微生物对导管的粘附。他们描述了两种可以非排他地使用的，用于成功地预防与血管导管相关的感染的两种常用方法。第一种方法不用抗微生物剂且包括以下手段，如由熟练注入治疗组来放置和维护血管导管，以及使用最大无菌屏

障。第二种方法使用抗微生物剂且包括应用局部消毒剂如氯己定，使用银浸渍的皮下套囊(用作短期中心静脉导管)，用抗微生物剂和抗凝剂的组合冲洗导管，以及用防腐剂(氯己定和磺胺嘧啶银)或抗微生物剂(二甲胺四环素和利福平)涂布导管。

在得克萨斯州的 San Antonio, 在 1997 年 11 月 2 至 5 日进行的美国肾病学会(American Society of Nephrology)的第 30 次年会上, Sodemann 等的演讲报道了有关庆大霉素/柠檬酸钠混合物作为抗生素闭锁(lock)技术用于补救和预防与导管相关的感染的四年试验。他们得出结论, 可以通过浓庆大霉素/柠檬酸盐混合物的常规应用避免感染, 而且甚至内腔污染的导管和补救也是可能的。

尽管有上述对现有技术的贡献, 但仍需要有安全和有效的, 在其疾病要求植入房前导管的患者中预防感染和血凝固的方法。

## 发明内容

根据本发明, 提供了在冲洗和涂布医疗修复装置, 特别是导管和通道(port)中使用的抗微生物/抗凝组合物。

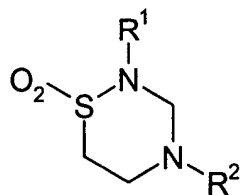
具体地, 本发明涉及在医疗修复装置中或其附近, 在所述装置植入患者内后, 抑制或预防感染和血凝固的方法, 所述方法包括给予该装置药物有效量的包含下列成分的组合:

(A) 至少一种牛磺酰胺衍生物, 和

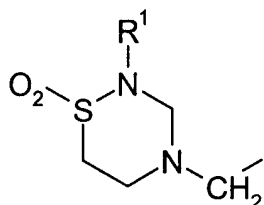
(B) 至少一种选自生物学可接受的酸及其生物学可接受的盐的化合物。

更具体地说, 本发明涉及在医疗修复装置中或其附近, 在所述装置植入患者内后, 抑制或预防感染和血凝固的方法, 所述方法包括给予该装置药物有效量的包含下列成分的组合:

(A) 至少一种分子式如下的抗微生物化合物



其中 R<sup>1</sup> 是氢或烷基，且 R<sup>2</sup> 是氢、烷基或分子式如下的基团

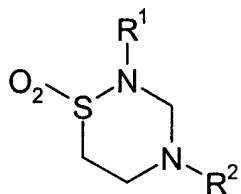


以及

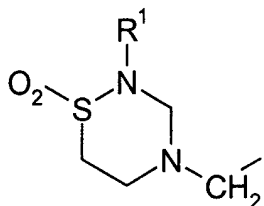
(B) 至少一种选自生物学可接受的酸及其生物学可接受的盐的化合物。

在另一实施方案中，本发明涉及用包含下列成分的组合涂布的医疗修复装置：

(A) 至少一种分子式如下的抗微生物化合物



其中 R<sup>1</sup> 是氢或烷基，且 R<sup>2</sup> 是氢、烷基或分子式如下的基团



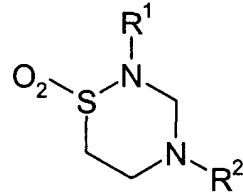
以及

(B) 至少一种选自生物学可接受的酸及其生物学可接受的盐的化合物，

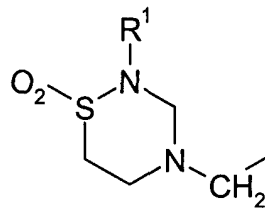
其中所包含的该组合物的量为用于预防或抑制感染和血凝固的药物有效量。

在另一实施方案中，本发明涉及通过包括将医疗修复装置暴露于包含下列成分的组合物的方法而制备的医疗修复装置：

(A) 至少一种分子式如下的抗微生物化合物



其中 R<sup>1</sup> 是氢或烷基，且 R<sup>2</sup> 是氢、烷基或分子式如下的基团



以及

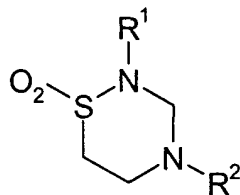
(B) 至少一种选自生物学可接受的酸及其生物学可接受的盐的化合物，

其中所包含的该组合物的量为用于预防或抑制感染和血凝固的药物有效量。

#### 具体实施方式

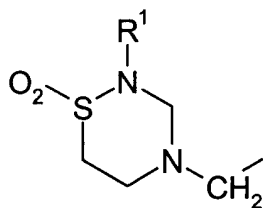
如上所述，本发明涉及在医疗修复装置中或其附近，在所述装置植入患者内后，抑制或预防感染和血凝固的方法，所述方法包括给予该装置药物有效量的包含下列成分的组合物：

(A) 至少一种分子式如下的抗微生物化合物



I

其中 R<sup>1</sup> 是氢或烷基，且 R<sup>2</sup> 是氢、烷基或分子式如下的基团



II

以及

(B) 至少一种选自生物学可接受的酸及其生物学可接受的盐的化合物。

在英国专利 1,124,285 中描述了分子式 I 的化合物的代表性实例的制备。基本上, 这些化合物是牛磺酰胺和甲醛的缩合产物, 因此这些化合物在本文中被称为“牛磺酰胺衍生物”。它们不仅对格兰氏阳性菌和格兰氏阴性菌呈现活性, 而且对这些微生物产生的外毒素和内毒素呈现活性。

若  $R^1$  和/或  $R^2$  是烷基, 则它们可以是直链或支链烷基, 且优选独立地选自具有 1 至 8 个碳原子的那些烷基, 即, 甲基、乙基、丙基、丁基、戊基、己基、庚基、辛基及其异构体; 更优选地, 若  $R^1$  和/或  $R^2$  是烷基, 则它们独立地选自具有 1 至 6 个碳原子的那些烷基, 即, 甲基、乙基、丙基、丁基、戊基、己基及其异构体; 最优选地, 是具有 1 至 4 个碳原子的烷基, 即, 甲基、乙基、丙基、丁基及其异构体。然而, 最优选  $R^1$  是氢, 且  $R^2$  是氢或分子式 II 的基团。

在本发明中, 在分子式 I 的化合物中, 特别优选的是牛磺罗定 ( $R^1=H$ ;  $R^2$ =分子式 II) 和氧氢噻二嗪 ( $R^1=R^2=H$ )。牛磺罗定是双-(1,1-二氧化-全氢化-1,2,4-噻二嗪-4-基) 甲烷。

在本发明的实践中采用的抗微生物化合物是甲醛载体, 即, 含有甲醛的无毒衍生物。

已证明牛磺罗定的作用方式包括将羟甲基转移到在以上毒素上或细菌细胞壁的胞壁质上存在的羟基或氨基上。在溶液中, 牛磺罗

定与氧氢噻二嗪和 N-羟甲基氧氢噻二嗪平衡存在，牛磺罗定占大多数。氧氢噻二嗪本身与羟甲基牛磺酰胺平衡存在，平衡大大地有利于氧氢噻二嗪。当以上羟甲基衍生物，羟甲基氧氢噻二嗪和羟甲基牛磺酰胺与毒素或细菌接触时，羟甲基发生转移。从而使羟甲基氧氢噻二嗪转化为氧氢噻二嗪，而羟甲基牛磺酰胺转化为牛磺酸，牛磺酸是一种在人体中极具耐受性的天然存在的氨基磺酸。因此应当理解，牛磺罗定和氧氢噻二嗪基本上以相同方式作用且产生相同的终产物。

格兰氏阴性菌引起的细菌感染通常伴有内毒素血症，也就是说，伴有患者对该生物释放的内毒素的反应。

内毒素是 O-菌体抗原的复合脂多糖成分，它松散地连接于格兰氏阴性菌的细胞壁。与细菌源无关，所有内毒素均显示类似的毒性—与发挥各式各样的单独作用的格兰氏阳性菌相对照。在人中，当溶解有大量格兰氏阴性菌时，它可能产生内毒素性休克综合征。这种综合征在约 30%的有格兰氏阴性败血症的患者中出现。已知内毒素可以被牛磺酰胺衍生物灭活。

毒性蛋白质如外毒素可以类似地被灭活，且可以给予羟甲基转移抗菌素，在不存在脂多糖毒素时抵抗毒性蛋白质。可能涉及的毒素包括这种格兰氏阴性菌如大肠杆菌和脆弱拟杆菌的外毒素。已知静脉内给予小鼠 0.2 ml 溶于无菌的 5%聚乙烯吡咯烷酮中的 20%牛磺罗定溶液可以非常显著地降低腹膜内给予大肠杆菌和 *B. fragilis* 两种致病菌株的死亡率。

其它毒性蛋白包括毒液如蜂毒液 (mellitin) 和真菌毒素如鹅膏毒环肽和 $\alpha$ -银环蛇毒素，已证明它们被牛磺罗定基本上去毒。

牛磺罗定的特殊优势是其极低的毒性；已证明其在小鼠中是非致畸的，其腹膜内 LD<sub>50</sub> 在 1.5 g/kg 的数量级。如上所述，这些化合物显示羟甲基转移活性，该活性导致在人体中天然发现且特别地

无毒的牛磺酸的产生。牛磺罗定的另一优势是其在水溶液中的稳定性，这使得该溶液可以被预包装并相对长期地储存。

在本发明的实践中采用的牛磺酰胺衍生物通常以水溶液的形式通过注射到医疗修复装置中而给予。这种溶液除了含有给定的牛磺酰胺衍生物，还可以含有硫酸庆大霉素或硫酸软骨素，还可以常规地含有增溶剂如聚乙烯吡咯烷酮(PVP)，以帮助使牛磺酰胺衍生物保持在溶液中，且对溶液的等渗性起作用。在这种溶液中的牛磺酰胺衍生物的浓度可以为大于0，至约2%(重量)；约0.01至约1.5%(重量)浓度是优选的；最优为选约1%(重量)浓度。比这些浓度更高的浓度是有用的，但在此情况下，溶解性成为问题。

若在溶液中掺入PVP，则为了达到水溶性低的牛磺酰胺衍生物，特别是牛磺罗定的相对高的浓度，通常采用4-7%(重量)的浓度。PVP的分子量不应大于约30000且优选小于10000，例如约200至约3500。BASF销售的Kollidone® 17是特别适宜的。这种PVP相当快地被吸收且通过肾脏排泄。

注射到医疗修复装置中的牛磺酰胺衍生物溶液的量应足以填充该医疗修复装置。当这种装置是血液透析导管时，其内部容积通常在约0.1 ml至约10 ml的范围内；当然该数值将随装置的管的长度和直径而变化，其特别地可以是各患者大小(size)的函数。

在这种溶液中的牛磺酰胺衍生物的浓度优选在约0.4至约5%(重量)的范围内，最大取决于化合物的溶解度。特别优选的是约0.4至约2.0%(重量)的牛磺罗定溶液，即，约4至约20 g/l的牛磺罗定溶液。

在数个专利，例如美国专利4,337,251中出现了描述牛磺罗定贮备溶液的制备的实施例。

向25升装有搅拌器和强力回流装置的玻璃容器中填充入15升无热原的双蒸水，并在搅拌下加热到50°C。加入牛磺罗定(400 g)

后，接着加入 PVP (Kollidone 17; 1000 g)。溶解后，冷却溶液并用几滴 0.1 N 盐酸将 pH 调到 6.0。接着将溶液流经吸附滤器，以除去微生物和致热原，并在填充入 100 ml 小瓶之前流经灭菌 Millipore 滤器，小瓶最后经高压灭菌。

视所需，可以用可非胃肠给予的多元醇代替一些或全部 PVP。多元醇的这种用途已经在美国专利 5,210,083 中公开，该文献引入本文作参考。需指出的是，在更高的牛磺罗定浓度下，可能发生结晶，而结晶可能导致溶液不可用。

在细菌及其内毒素和外毒素的情况下，已经发现如上所述，在羟甲基转移之后，存在包括脱水的其它不可逆步骤。因此，在内毒素是脂多糖的细菌内毒素的情况下，发现发生不可逆交联反应，该反应防止内毒素发挥其致死作用。类似地，在外毒素是蛋白或多肽且不含在内毒素中发现的脂多糖物质种类的细菌外毒素的情况下，已发现去毒反应不可逆。然而，在美国专利 5,210,083 中公开了在多种羟基或氨基化合物的情况下，通过上述机理进行的羟甲基转移是可逆的，因此可以建立平衡，该平衡并不显著地干扰牛磺罗定的有效性。因此也可以将多元醇如糖和糖醇用以保持水溶液中相对高的牛磺罗定和/或氧氢噻二嗪浓度，而不显著影响它们的抗菌和抗毒素活性。优选的多元醇包括碳水化合物，例如己糖，如葡萄糖、果糖及它们的混合物；戊糖，如木糖；多糖，如葡聚糖或水解淀粉；甘油；以及糖醇，如山梨糖醇、甘露糖醇和木糖醇。最优选是葡萄糖。

多元醇的浓度通常在约 3 至约 40% (重量) 的范围内。在葡萄糖的情况下，该浓度优选在约 10 至约 30% (重量) 的范围内，更优选为约 20% (重量)。

若使用这种多元醇，溶液中牛磺罗定的浓度优选在约 0.5 至约 5% (重量) 的范围内，更优选在约 2 至约 3% (重量) 的范围内。氧氢

噻二嗪的浓度优选在约 1 至约 7.5% (重量) 的范围内, 更优选在约 3 至约 5% (重量) 的范围内。

然而, 最近的试验表明, 对于增加牛磺罗定在水溶液中的溶解度来说, PVP 或多元醇均不是必需的。实际上, 这些试验已证明, 加入柠檬酸充分地增加牛磺罗定在水中的溶解度, 且 PVP 在增加溶解度方面不是真正有效的。在这些试验中, 研究者用约 2.6% (重量) 的柠檬酸辅助溶解制备了一系列溶液, 得到 1.5、2.0、3.0、4.0% (重量) 的牛磺罗定溶液, 而没有使用 PVP 或多元醇。研究者认为加入的柠檬酸容易地将牛磺罗定的溶解度升高到 5%, 而没有使用 PVP 或多元醇。实际上, 这些研究者发现加入 PVP 基本上对溶解度没有影响。通过用氢氧化钠将 pH 调节到 5.2 至 5.3, 将前述试验溶液的 pH 调节到生物应用可接受的 pH 范围。该方法产生了柠檬酸/柠檬酸钠缓冲体系。

另外, 已知柠檬酸是抗氧化剂。通过用氢氧化钠调节 pH 所形成的缓冲体系还对抗由于甲醛氧化成甲酸而引起的 pH 变化。因此柠檬酸和柠檬酸钠的这种组合使用增加了牛磺罗定在溶液中的稳定性, 并防止或显著减慢沉淀出固体牛磺罗定以及在用 PVP 制备的牛磺罗定溶液中经常看到的反应产物。长期稳定性试验证实了这一结果。

由于格兰氏阴性菌经常存在, 以及由于牛磺酰胺衍生物的抑菌活性低于许多常规抗生素的抑菌活性, 所以可以有利地将在本发明的实践中采用的组合物与广谱抗生素物质一起给予, 更具体地说, 所述广谱抗生素物质是对格兰氏阳性和格兰氏阴性病原体均有强的活性的物质, 其优选地不导致或仅导致延迟的耐药性, 例如,  $\beta$ -内酰胺抗生素, 如青霉素、氨苄西林或头孢菌素; 四环素抗生素; 大环内酯抗生素, 如红霉素; 多肽抗生素, 如杆菌肽或新生霉素; 或更优选地, 为氨基糖苷抗生素, 如阿米卡星、布替罗星、阿司米星、

链霉素、新霉素、林可霉素类(linkomycins), 如克林霉素、林可霉素、卡那霉素、双去氧卡那霉素 B(DKP)、利维霉素、奈替米星、核糖霉素、小诺米星、昔尔杜霉素及它们的差向异构体、西索米星、山梨菌素、妥布霉素、万古霉素、庆大霉素和利福霉素类如利福平和利福霉素; 等等。在这些抗生素中, 庆大霉素是优选的。

然而, 由于抗生素产生耐药菌株的倾向, 除非在非常情况下, 抗生素常被禁忌用于外科治疗, 优选仅依赖于牛磺酰胺衍生物的抗菌作用, 因为这种衍生物不产生耐药菌株。

本发明的实践中采用的组合物优选还含有药理学可接受的载体溶液, 如水、林格溶液或盐水。另外, 本发明的组合物还可以含有可以有利地影响其物理和生化性质的其它溶解的添加剂, 例如氨基酸、糖、食盐、脂肪和脂质等。

本发明的实践中采用的抗微生物牛磺酰胺衍生物与生物学可接受的酸或其生物学可接受的盐组合使用。优选该酸是羧酸, 更优选是抗凝剂。美国专利 5,077,281 教导甲双二嗪化合物本身显示显著的抑制凝固作用, 其特别适宜单独或与其它抗凝剂, 如香豆素或肝素组合用于要求透析的医疗症状和血管修复。如该专利中所指出的, 这与由 W. L. Bruckner 和 R. W. Pfirrmann, Verlag Urban und Schwarzenberg, Munich, 1985 出版的“Taurolin”的教导相反, 其明确表述甲双二嗪不影响血凝固且不显示消炎作用。本发明的发明者相信, 本发明的实践中采用的牛磺酰胺衍生物确实显示某种程度的抗凝活性, 尽管与更著名的抗凝剂如肝素相比, 其抗凝程度较低。因此, 将牛磺酰胺衍生物与抗凝剂, 优选为生物学可接受的酸或其盐组合使用是有益的。

根据本发明, 当抗微生物牛磺酰胺衍生物与生物学可接受的酸或其生物学可接受的盐组合以便为最终组合物产生不高于 7, 优选在约 3.5 至约 6.5 的范围内, 更优选在约 4.5 至约 6.5 的范围内

的 pH 时, 实现有利的结果。这种酸的实例是乙酸、二氢乙酸、苯甲酸、柠檬酸、山梨酸、丙酸、草酸、富马酸、马来酸、盐酸、苹果酸、磷酸、硫酸、香草酸、酒石酸、抗坏血酸、硼酸、乳酸、乙二胺四乙酸 (EDTA)、乙二醇—双- $\{\beta\}$ -氨基乙醚}-N,N,N',N'-四乙酸和二亚乙基三胺五乙酸和对羟基苯甲酸的酯 (对羟基苯甲酸酯) 等, 以及前述的生物学可接受的盐, 如磷酸铵、柠檬酸钾、偏磷酸钾、乙酸钠、柠檬酸钠、乳酸钠和磷酸钠等。抗凝血量的选自柠檬酸、磷酸、乙二胺四乙酸 (EDTA)、乙二醇—双- $\{\beta\}$ -氨基乙醚}-N,N,N',N'-四乙酸和二亚乙基三胺五乙酸的酸及其生物学可接受的盐是优选的。优选本发明的实践中采用的酸是有机酸, 特别是具有至少一个羧基的有机酸, 尤其是柠檬酸或 EDTA。更优选该酸是柠檬酸, 且最优选是其与柠檬酸盐例如柠檬酸钠组合使用, 这是因为除了其降低 pH 和抗凝能力之外, 还已知它在 3% 含量下是防腐剂。

Mermel, L. A. 等在 1998 年的抗微生物剂和化学治疗的交叉学科会议 (Interscience Conference on Antimicrobial Agent and Chemotherapy) 上作的题为 “牛磺罗定对万古霉素中间体敏感性金黄色葡萄球菌 (VISA) 和耐二甲氧基苯青霉素金黄色葡萄球菌 (MRSA) 的活性 (*Taurolidine Activity Against Vancomycin-Intermediate Susceptibility Staphylococcus Aureus (VISA) and Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus (MRSA)*) ” 的演讲中, 公开了随 pH 在 pH 7.0 至 pH 5.0 的范围内降低, 牛磺罗定活性增加。

EDTA 是在血液采集管中使用的已知抗凝剂。还已知它具有与钙形成螯合物的能力。由于已知钙在血液凝固中是起作用的一种因子, 因此相信有可能在抗凝活性中至少部分 EDTA 功效是通过该种方式产生的。根据柠檬酸钠产生不溶的柠檬酸钙的能力, 相信柠檬

酸钠也具有抗凝性质。

乙二醇一双- $\{\beta$ -氨基乙醚 $\}$ -N,N,N',N'-四乙酸(EGTA)和二亚乙基三胺五乙酸(DTPA)及它们的盐是其它已知的螯合剂,它们可用来替代 EDTA 或柠檬酸/柠檬酸盐,或与 EDTA 或柠檬酸/柠檬酸盐一起使用。

前述抗凝剂可以以游离酸的状态单独使用,但通常以用适宜的碱中和它们的一些或全部羧基的状态使用或与类似的盐组合使用。通常,使用形成在水溶液中可溶的盐的阳离子,如碱金属离子,例如钠、钾或锂是合乎期望的。也可以使用柠檬酸锌。通常优选为钠盐或钾盐,特别是钠盐,且最优选是 EDTA 的钠盐和二钠盐以及柠檬酸钠。

所用的酸和/或盐的浓度是带来期望抗凝作用,同时带来或辅助带来生物学应用的适宜 pH 的有效浓度。通常,本发明的组合的抗微生物和抗凝组合物的 pH 在约 3.0 至约 7 的范围内,优选为约 3.5 至约 6.5,且最优选为约 4.5 至约 6.5。组合物通常在生理 pH 下。如果需要,可以通过加入酸或碱,如无机酸,例如盐酸,或优选加入不引起酸中毒的酸,例如乙酸、苹果酸或乳酸而调节 pH。也可以采用本领域技术人员熟悉的其它调节 pH 的方法。若优选地在本发明的实践中采用柠檬酸三钠和柠檬酸,则所用柠檬酸三钠的浓度范围通常在约 5 至约 50 g/l 的范围内。接着加入足量的柠檬酸,使 pH 达到期望的水平。

尽管本发明的方法主要涉及将抗微生物/抗凝组合物引入到已固定的导管内,但本领域技术人员应当理解,将体外人工表面与这些组合物接触可以防止其植入后在这种表面上血块的沉积并辅助消除细菌生长的位点。因此,可以用本发明的实践中采用的组合物预处理医疗装置,如血液透析导管的表面以防止由于血块上存在对细菌生长有利的位点而引起的堵塞,从而防止可能随之发生的感染。

首先可以用组合物处理该装置，接着在植入后，重复如上所述的周期性冲洗。

尽管本发明的方法主要和优选地涉及保持植入的血液透析导管的开放和无菌，但将该方法用于其它类似的装置，如中心静脉导管、外周静脉间导管(peripheral intervenous catheter)、动脉导管、Swan-Ganz 导管、脐导管、经皮非隧道式(nontunneled)硅酮导管、套囊(cuffed)隧道式中心静脉导管以及皮下中心静脉通道，也可以获得有益效果。

以下实施例进一步阐述本发明的各种特征和方面。尽管列出这些实施例向本领域的技术人员表明在本发明范围内如何操作，但是它们不起限制本发明范围的作用。

#### 实施例 1

将林格-乳酸盐(Ringer's-lactate)溶液(Thomae, Biberach, 德国)中的0.5%牛磺罗定溶液引入四个30 ml 体积的聚乙烯瓶中。填充体积为5、10和15 ml。一个瓶子用5 ml 牛磺罗定和2 ml ACD-A (Fresenius, Bad Homburg, 德国)溶液填充。ACD-A 溶液用于全血保存，其每升含有：22.0 g 二水合柠檬酸钠、7.3 g 柠檬酸和34.5 g 一水合葡萄糖。

在屠宰场中从雌猪收集血液，直接从屠宰伤口收集入容器中，然后将该容器填充至30 ml 水平。盖上容器并轻轻移动使血液与溶液混合。30 分钟后检验容器。仅含牛磺罗定的容器中的血液凝块，但含牛磺罗定和 ACD-A 混合物的容器中的血液没有凝块。因此，得出结论，柠檬酸钠和柠檬酸抗凝剂与牛磺罗定的组合使用提供了在全血中相当大地增强的抗凝性质。

## 实施例 2

将美国专利申请 08/485,498 中描述的类型可皮下植入钛通道体系用于该实施例中。它与末端引入右心房的两根 12 French 硅化橡胶导管相连。通道的阀门由两个特殊的针打开，使得血流为约 300 ml/min。

经患者同意后，由有经验的肾病学家将通道植入平均年龄为  $68 \pm 9$  的 10 名女性患者和 6 名男性患者。十六例患者中的九例是糖尿病患者。被研究的患者准入标准是导致臂上没有可以进行血液透析的位点的血管衰竭 (vessel exhaustion)。十六例中的八例患有严重的充血性心力衰竭，且所有患者具有高的共同发病率 (comorbidity)。九例患者在植入后马上开始血液透析，其它患者进行长期血液透析并从导管转换为通道系统 (四例患者通过导丝钩 (guidewire) 交换)。没有发生周边手术性并发症。

优选的血管是右颈内静脉，但也用颈外静脉和锁骨下静脉。迄今，该装置总共已使用了 11.0 个患病年 (patient years)。通道用在所有计划的 IID 期 (IID sessions) ( $n=1200$ )。

为了避免装置的管腔内污染，在治疗期之间给予抗微生物闭锁，并在下次治疗之前除去。抗微生物闭锁水溶液包括 13.3 g/l 牛磺罗定、6.7 g/l 柠檬酸三钠和约 3.3 g/l 柠檬酸。加入柠檬酸以将 pH 调节在 4.75 至 5.25 之间。依靠柠檬酸和柠檬酸钠，防止了导管凝块且不必应用肝素。

在研究期间，观察到两种细菌血症 (bacteraemia) (金黄色葡萄球菌 (*S. aureus*)) 的发作，且在没有任何损失装置的情况下成功地治疗 (0.5 感染/1000 天)。该研究的结果见表 1。

### 实施例 3

#### 对比例

在四个独立的装置，A、B、C、D 中，其中两个在美国，两个在欧洲，除了所使用的闭锁是浓度在 2000 至 10000 国际单位/ml 范围内的肝素或肝素化的盐水外，进行类似于以上所述实施例 2 的研究。在美国的研究，A 和 B 中，还存在苯甲醇作为标准防腐剂。这些对比研究的结果见表 1。

实施例	患者数目	时间患病年	有原因移出 (Explant for Cause) (#s)	感染			血纤蛋白/血栓形成	
				数目	感染患者 (%)	平均间隔 <sup>1</sup> (周)	数目	平均间隔 <sup>2</sup> (周)
2	31	11.0	0	2	7	286	0	>500
3A	8	8.0	1	6	50	70	2	208
3B	4	4.2	2	1 0	75	22	4	54
3C	7	6.1	2	6	43	53	4	79
3D	4	3.4	0	0	0	>176	0	>176
总数 (实施例 3)	23	21.7	4	2 2	44	51	10	113

<sup>1</sup> 没有感染的平均间隔；

<sup>2</sup> 没有凝块的平均间隔。

### 实施例 4

在更详细地描述实施例 2 的试验的本实施例中，使用实施例 2 所描述的可皮下植入的肽通道体系。

在 1998 年 6 月开始的预期多中心中试中，将 31 个通道植入 19 例女性患者和 12 例男性患者 (平均年龄 66，最小 30，最大 81) 中。除了接受新装置外，研究的目的是避免由完全无毒的混合物 (含作为抗感染物质的牛磺罗定和抑制凝固用的柠檬酸/柠檬酸钠的无肝素闭锁溶液) 所支持的感染，该混合物具有抵抗任何微生物，甚至多药耐药的微生物的极佳功效。

在 10 个参与中心中，自从研究开始就没有通道损失 (3847 天

的植入)。尽管有高的共同发病率，但仅两例患者经历与血流相关的感染(金黄色葡萄球菌(*S.aureus*))。总的观察到的感染为0.5/1000天。全身抗生素治疗是成功的。事先存在的与导管相关的脓毒症在5/31例患者中发生；在使用可皮下植入的肽通道系统的患者中没有发生复发。

住院短且恰好在植入后使用通道(access)，甚至在由导管转换为通道的患者(12/31)中的接受也是高的。在6/31例患者中，通过导丝钩的变换是可能的。通常的放置技术是由三个肾病学家使用的塞尔丁格技术(Seldinger)。优选血管是右颈内静脉(18/31)，但可以使用所有其它的中心静脉。

与导管的不利相比，通道体系容允浸浴(bathing)且非常安全。与本发明的闭锁溶液组合，感染的危险低且使得穿刺技术类似于移植。该装置的寿命尚待确定。

## 实施例 5

进行试验以确定当与人血接触时，作用良好的最小牛磺罗定/柠檬酸盐闭锁溶液酸度。将各种闭锁溶液酸浓度按50/50之比(重量)与新鲜人全血混合试验地将pH在pH 3.0至pH 7.0间改变。在闭锁溶液酸度水平为4.0和更低时，在与闭锁溶液接触一小时后所得的血液混合物变硬并凝固。这种硬化显然是由于闭锁溶液的酸度和正常的血液凝块，因为凝块看起来颜色很暗并且其状态是干的，颜色或物理性质不正常。当闭锁溶液的酸度保持高于pH 5.0时，不发生血液凝块且血液颜色保持健康的红色。因此，牛磺罗定闭锁溶液的酸度的下限最优选为约5.0。

考虑到在不背离本发明的实质的前提下可以作出许多改变和修饰，因此应参考所附权利要求来理解本发明的保护范围。