



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106102730 A

(43)申请公布日 2016.11.09

(21)申请号 201480063535.1

(22)申请日 2014.11.05

(30)优先权数据

61/900,037 2013.11.05 US

62/039,265 2014.08.19 US

62/059,216 2014.10.03 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2016.05.23

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2014/064122 2014.11.05

(87)PCT国际申请的公布数据

W02015/069764 EN 2015.05.14

(71)申请人 天普大学高等教育联合体

地址 美国宾夕法尼亚州

申请人 维拉诺瓦大学

(72)发明人 威廉·维斯特

帕特里克·凯文·明比奥尔

(74)专利代理机构 北京高文律师事务所 11359

代理人 程义贵

(51)Int.Cl.

A61K 31/13(2006.01)

A61P 31/04(2006.01)

A61P 31/00(2006.01)

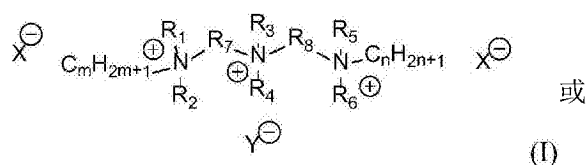
权利要求书3页 说明书21页 附图2页

(54)发明名称

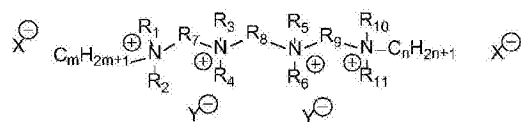
作为抗微生物剂的聚阳离子两亲物

(57)摘要

本发明提供一种包含聚阳离子两亲物化合物的抗微生物组合物及制造和使用所述化合物或组合物的方法。所述化合物具有下式



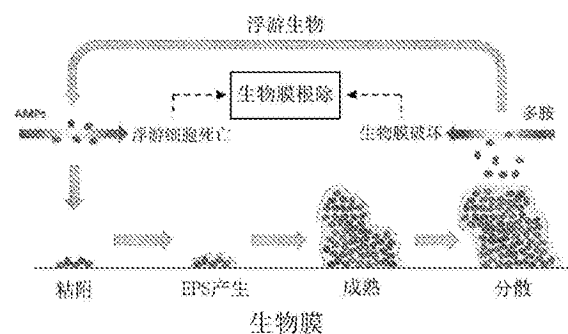
(I)



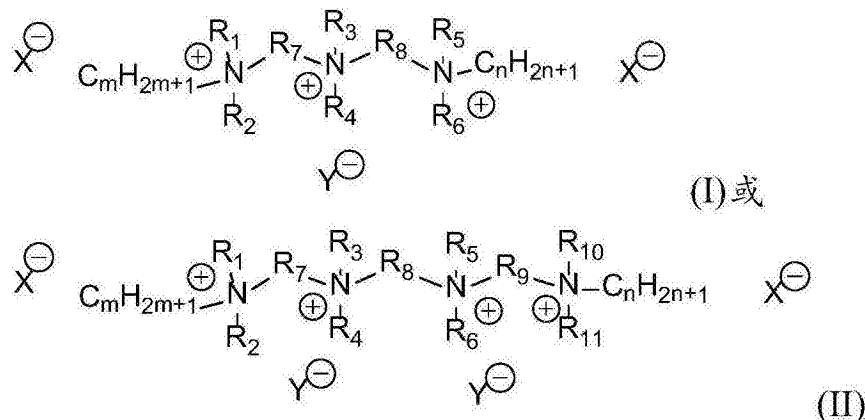
(II)

R₁、R₂、R₃、R₄、R₅、R₆、R₁₀或R₁₁是H或未被取代或可选被如下官能团取代的C₁₋₁₂烷基：-OH、-OR'、-NH₂、-NHR'、-NR'₂、-N-C(O)R'、-N-C(O)CR'=CR'、-SH、-SR'、-O-C(O)R'、-C(O)R'、-CF₃、-OCF₃、卤素、苄基、邻乙烯基苄基、间乙烯基苄基、对乙烯基苄基、苯基、烯丙基及取代的烯丙基。R₇、R₈或R₉是未被取代或可选被如以下的官能团

取代的C₁₋₁₂烷基：-OH、-OR'、-NH₂、-NHR'、-NR'₂、-SH、-SR'、-O-C(O)R'、-C(O)R'、-CF₃及-OCF₃。R'是H或C₁₋₄烷基。X或Y是卤素。m和n是在1至25范围内的整数。



1. 一种抗微生物组合物,其包含具有下式的化合物



其中:

R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_{10} 或 R_{11} 是H或未被取代或可选被选自由以下组成的组的官能团取代的 C_{1-12} 烷基: $-\text{OH}$ 、 $-\text{OR}'$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{NHR}'$ 、 $-\text{NR}'_2$ 、 $-\text{N}-\text{C}(\text{O})\text{R}'$ 、 $-\text{N}-\text{C}(\text{O})\text{CR}'=\text{CR}'$ 、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{SR}'$ 、 $-\text{O}-\text{C}(\text{O})\text{R}'$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{R}'$ 、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{OCF}_3$ 、卤素、苄基、邻乙烯基苄基、间乙烯基苄基、对乙烯基苄基、苯基、烯丙基及取代的烯丙基;

R_7 、 R_8 或 R_9 是未被取代或可选被选自由以下组成的组的官能团取代的 C_{1-12} 烷基: $-\text{OH}$ 、 $-\text{OR}'$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{NHR}'$ 、 $-\text{NR}'_2$ 、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{SR}'$ 、 $-\text{O}-\text{C}(\text{O})\text{R}'$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{R}'$ 、 $-\text{CF}_3$ 及 $-\text{OCF}_3$;

R' 是H或 C_{1-4} 烷基;

X 或 Y 是卤素;并且

m 和 n 是在1至25范围内的整数。

2. 如权利要求1所述的抗微生物组合物,其中 R_7 、 R_8 或 R_9 是未被取代或可选被取代的 C_{2-5} 烷基。

3. 如权利要求1所述的抗微生物组合物,其中 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_{10} 或 R_{11} 是H或 C_{1-4} 烷基。

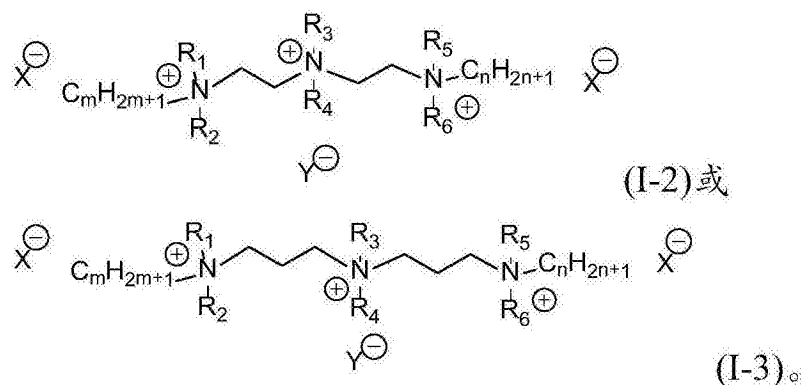
4. 如权利要求1所述的抗微生物组合物,其中 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_{10} 或 R_{11} 中的至少一个是被选自由以下组成的组的官能团取代的 C_{1-12} 烷基: $-\text{SH}$ 、烯丙基及取代的烯丙基。

5. 如权利要求1所述的抗微生物组合物,其中 X 或 Y 是氯或溴。

6. 如权利要求1所述的抗微生物组合物,其中 m 和 n 是在10至16范围内的整数。

7. 如权利要求1所述的抗微生物组合物,其中 m 和 n 中的至少一个是12。

8. 如权利要求1所述的抗微生物组合物,其中所述化合物具有下式

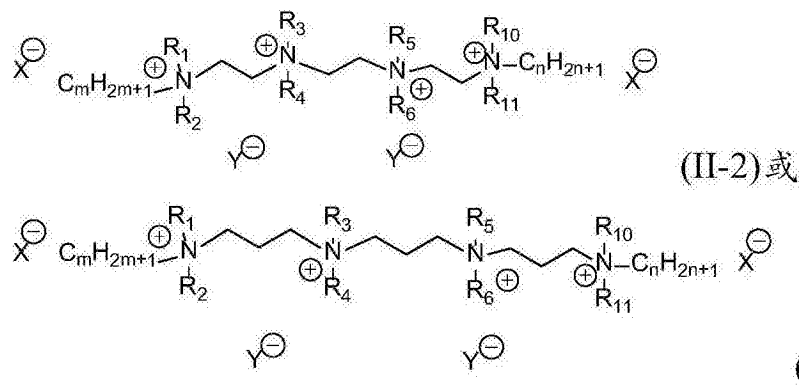


9. 如权利要求8所述的抗微生物组合物,其中在具有式(I-2)或(I-3)的化合物中, R_1 和

R₂中的至少一个及R₃和R₄中的至少一个及R₅和R₆中的至少一个是甲基。

10. 如权利要求8所述的抗微生物组合物, 其中在具有式(I-3)的化合物中, m和n是12, R₃和R₄中的一个选自由乙基、丙基及烯丙基组成的组, 并且在R₁、R₂、R₃、R₄、R₅及R₆中的其他基团是甲基。

11. 如权利要求1所述的抗微生物组合物, 其中所述化合物具有下式



12. 如权利要求11所述的抗微生物组合物, 其中在具有式(II-2)或(II-3)的化合物中, R₁和R₂中的至少一个及R₃和R₄中的至少一个、R₅和R₆中的至少一个及R₁₀和R₁₁中的至少一个是甲基。

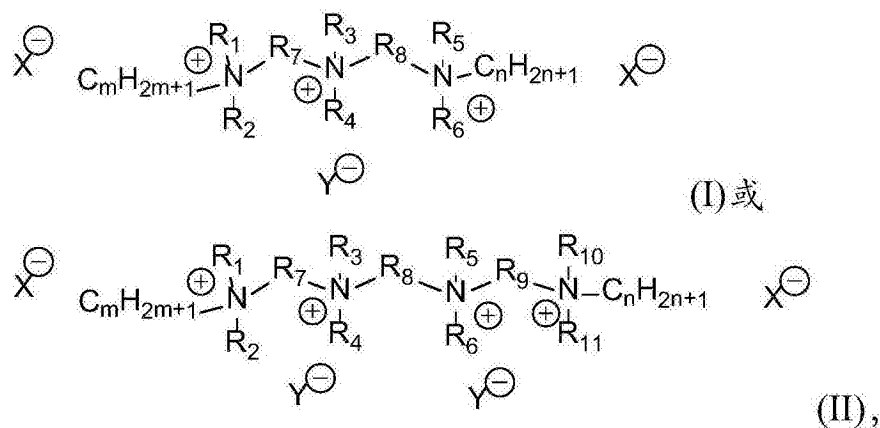
13. 如权利要求11所述的抗微生物组合物, 其中在具有式(II-2)的化合物中, m和n是12, R₃和R₄中的一个选自由乙基、丙基及烯丙基组成的组, 并且在R₁、R₂、R₃、R₄、R₅、R₆、R₁₀及R₁₁中的其他基团是甲基。

14. 一种制造如权利要求1所述的抗微生物组合物的方法, 所述方法包括将有效量的具有式(I)或(II)的化合物和载体混合。

15. 一种杀灭微生物或抑制微生物生长的方法, 所述方法包括施用包含具有式(I)或(II)的化合物的如权利要求1所述的抗微生物组合物。

16. 如权利要求15所述的方法, 其中所述抗微生物组合物是用于杀灭选自由以下组成的组的至少一组微生物或抑制其生长: 细菌、病毒、酵母、真菌及原生动物; 或抑制生物膜的形成或根除预建立的生物膜。

17. 一种薄膜或包衣, 其包含接枝到固体表面上的以下化合物



其中:

R₁、R₂、R₃、R₄、R₅、R₆、R₁₀或R₁₁是H或未被取代或可选被选自由以下组成的组的官能团取代

的 C_{1-12} 烷基： $-\text{OH}$ 、 $-\text{OR}'$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{NHR}'$ 、 $-\text{NR}'_2$ 、 $-\text{N}-\text{C}(\text{O})\text{R}'$ 、 $-\text{N}-\text{C}(\text{O})\text{CR}'=\text{CR}'$ 、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{SR}'$ 、 $-\text{O}-\text{C}(\text{O})\text{R}'$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{R}'$ 、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{OCF}_3$ 、卤素、苄基、邻乙烯基苄基、间乙烯基苄基、对乙烯基苄基、苯基、烯丙基及取代的烯丙基；

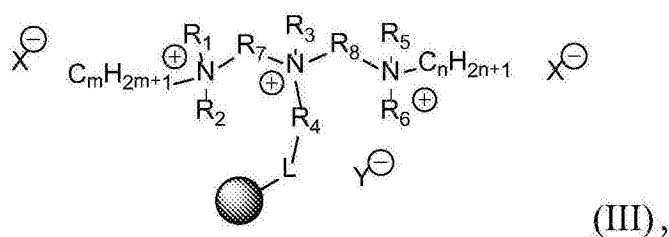
R_7 、 R_8 或 R_9 是未被取代或可选被选自由以下组成的组的官能团取代的 C_{1-12} 烷基： $-\text{OH}$ 、 $-\text{OR}'$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{NHR}'$ 、 $-\text{NR}'_2$ 、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{SR}'$ 、 $-\text{O}-\text{C}(\text{O})\text{R}'$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{R}'$ 、 $-\text{CF}_3$ 及 $-\text{OCF}_3$ ；

R' 是H或 C_{1-4} 烷基；

X 或 Y 是卤素；并且

m 和 n 是在1至25范围内的整数。

18. 如权利要求17所述的薄膜或包衣，其中接枝到固体表面上的所述化合物具有以下结构：



其中L是包含官能团的接头。

19. 如权利要求18所述的薄膜或包衣，其中 R_4 是可选被选自由以下组成的组的官能团取代的亚甲基： $-\text{OH}$ 、 $-\text{OR}'$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{NHR}'$ 、 $-\text{NR}'_2$ 、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{SR}'$ 、 $-\text{O}-\text{C}(\text{O})\text{R}'$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{R}'$ 、 $-\text{CF}_3$ 及 $-\text{OCF}_3$ 。

20. 如权利要求17所述的薄膜或包衣，其中 R_7 、 R_8 或 R_9 是未被取代或可选被取代的 C_{2-5} 烷基。

21. 如权利要求17所述的薄膜或包衣，其中 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_{10} 或 R_{11} 是H或 C_{1-4} 烷基。

22. 如权利要求17所述的薄膜或包衣，其中 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_{10} 或 R_{11} 中的至少一个是被选自由以下组成的组的官能团取代的 C_{1-12} 烷基： $-\text{SH}$ 、烯丙基及取代的烯丙基。

23. 如权利要求17所述的薄膜或包衣，其中 X 或 Y 是氯或溴。

24. 如权利要求17所述的薄膜或包衣，其中 m 和 n 是在10至16范围内的整数。

25. 如权利要求17所述的薄膜或包衣，其中 m 和 n 中的至少一个是12。

作为抗微生物剂的聚阳离子两亲物

[0001] 本申请主张2013年11月5日提交的美国临时申请号61/900,037;2014年8月19日提交的美国临时申请号62/039,265;及2014年10月3日提交的美国临时申请号62/059,216的权益,这些申请以引用的方式整体清楚地并入本文。

技术领域

[0002] 本发明涉及抗微生物组合物及相关方法。更具体地说,所公开的主题涉及一种包含聚阳离子两亲物的组合物、制造和使用所述两亲物供抗微生物之用的方法。

背景技术

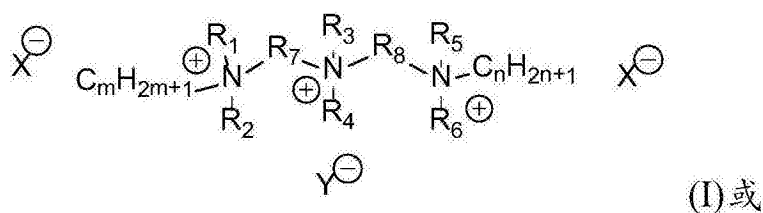
[0003] 用来对抗人类病原体传播的化学试剂的制备早在术语药物化学被创造以前就成为一项挑战。从饮料的发酵到漂白剂的制备,使微生物的致病作用最小化的化合物的便利生产始终是令人关注的。细菌对甚至是最有效的抗生素的耐药性的发展确保了对于抗微生物化合物的继续研究将一直是至关重要的。

发明内容

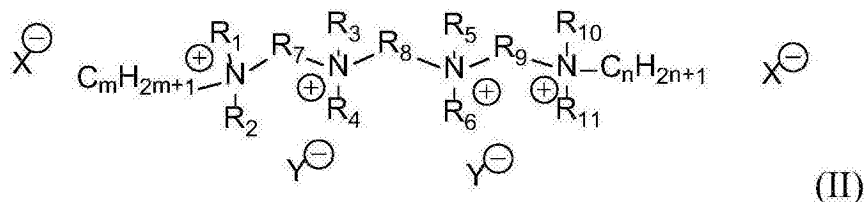
[0004] 提供此概述来展示发明内容,以便简要地表现本发明的性质和物质。应当理解,它的提交并不是用于解释或限制权利要求的范围或含义。

[0005] 本发明提供一种包含作为聚阳离子两亲物如三阳离子或四阳离子两亲物的化合物的抗微生物组合物、和制造所述抗微生物组合物的方法、以及使用所述化合物或组合物供抗微生物之用的方法。本发明中提供的化合物或组合物具有杀灭微生物或抑制微生物生长或抑制生物膜形成或根除预建立的生物膜(即抗生物膜用途)的能力,包括但不限于细菌、病毒、酵母、真菌及原生动物。

[0006] 本发明的一些实施方案提供一种抗微生物组合物,其包含具有下式的化合物



[0007]



[0008] 其中：

[0009] R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_{10} 或 R_{11} 是H或未被取代或可选被选自以下组成的组的官能团取代的 C_{1-12} 烷基： $-OH$ 、 $-OR'$ 、 $-NH_2$ 、 $-NHR'$ 、 $-NR'_2$ 、 $-N-C(O)R'$ 、 $-N-C(O)CR'=CR'$ 、 $-SH$ 、 $-SR'$ 、 $-O-C(O)R'$ 、 $-C(O)R'$ 、 $-CF_3$ 、 $-OCF_3$ 、卤素、苄基、邻乙烯基苄基、间乙烯基苄基、对乙烯基

苄基、苯基、烯丙基及取代的烯丙基；

[0010] R_7 、 R_8 或 R_9 是未被取代或可选被选自由以下组成的组的官能团取代的 C_{1-12} 烷基： $-OH$ 、 $-OR'$ 、 $-NH_2$ 、 $-NHR'$ 、 $-NR'_2$ 、 $-SH$ 、 $-SR'$ 、 $-O-C(O)R'$ 、 $-C(O)R'$ 、 $-CF_3$ 及 $-OCF_3$ ；

[0011] R' 是H或 C_{1-4} 烷基；

[0012] X 或 Y 是卤素(以阴离子形式)；并且

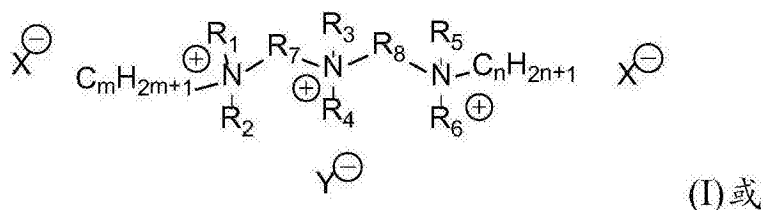
[0013] m 和 n 是在1至25范围内的整数(例如,在10至16范围内)。

[0014] X 或 Y 可以是任何卤素,包括但不限于氟、氯、溴、碘及其任何组合。在一些实施方案中,作为两个氮原子之间的接头的 R_7 、 R_8 或 R_9 可以是未被取代或可选被取代的 C_{2-5} 烷基。例如,接头 R_7 、 R_8 或 R_9 可以是 $-CH_2CH_2-$ 、 $-CH_2CH_2CH_2-$ 、 $-CH_2CH_2CH_2CH_2-$ 或 $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$ 。在一些实施方案中, R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_{10} 或 R_{11} 可以是未被取代或可选被取代的 C_{1-4} 烷基。在一些化合物中, R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_{10} 或 R_{11} 中的至少一个是被选自由 $-SH$ 、烯丙基及取代的烯丙基组成的组的官能团取代的 C_{1-12} 烷基。

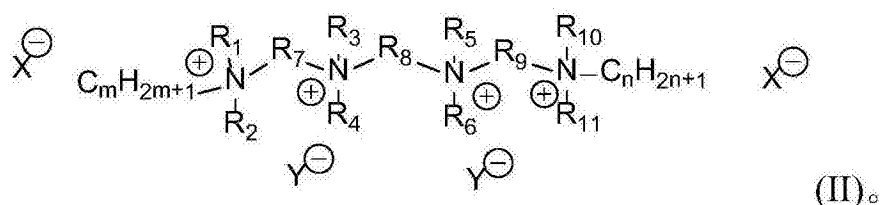
[0015] 另一方面,本发明提供一种制造包含如所述具有式(I)或(II)的化合物的抗微生物组合物的方法。所述方法包括将有效量的具有式(I)或(II)的化合物和载体混合。

[0016] 本发明还提供一种杀灭微生物或抑制微生物生长的方法,所述方法包括施用包含如所述具有式(I)或(II)的化合物的抗微生物组合物。所述抗微生物组合物或化合物被用于杀灭选自由以下组成的组的至少一组微生物或抑制其生长:细菌、病毒、酵母、真菌及原生动物;或抑制生物膜的形成或分散或根除预建立的生物膜。

[0017] 另一方面,本发明进一步提供一种包含以下化合物的薄膜或包衣

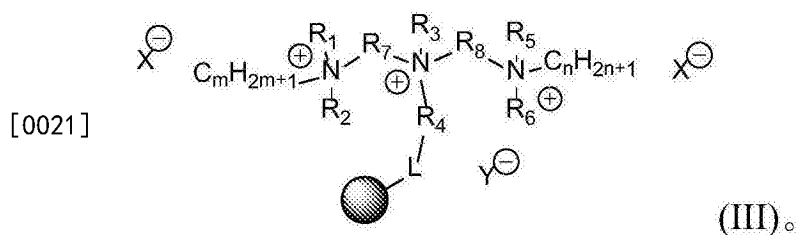


[0018]



[0019] 将具有式(I)或(II)的化合物接枝到固体表面上。如所述, R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_{10} 或 R_{11} 可以是H或未被取代或可选被选自由以下组成的组的官能团取代的 C_{1-12} 烷基(例如 C_{2-5} 烷基): $-OH$ 、 $-OR'$ 、 $-NH_2$ 、 $-NHR'$ 、 $-NR'_2$ 、 $-N-C(O)R'$ 、 $-N-C(O)CR'=CR'$ 、 $-SH$ 、 $-SR'$ 、 $-O-C(O)R'$ 、 $-C(O)R'$ 、 $-CF_3$ 、 $-OCF_3$ 、卤素、苄基、邻乙烯基苄基、间乙烯基苄基、对乙烯基苄基、苯基、烯丙基及取代的烯丙基。 R_7 、 R_8 或 R_9 可以是未被取代或可选被选自由以下组成的组的官能团取代的 C_{1-12} 烷基(例如 C_{2-5} 烷基): $-OH$ 、 $-OR'$ 、 $-NH_2$ 、 $-NHR'$ 、 $-NR'_2$ 、 $-SH$ 、 $-SR'$ 、 $-O-C(O)R'$ 、 $-C(O)R'$ 、 $-CF_3$ 及 $-OCF_3$ 。 R' 是H或 C_{1-4} 烷基。 X 或 Y 是卤素,包括氟、氯、溴、碘及其任何组合。 m 和 n 是在1至25范围内的整数(例如,在10至16范围内)。

[0020] 例如,接枝到固体表面上的化合物可具有如下式所示的结构



[0022] L是包含官能团的接头。在一些实施方案中,R4是可选被选自由以下组成的组的官能团取代的亚甲基: -OH、-OR'、-NH₂、-NHR'、-NR'₂、-SH、-SR'、-O-C(O)R'、-C(O)R'、-CF₃及-OCF₃。在一些实施方案中,在包含具有式(I)或(II)的化合物的所述薄膜或包衣中,R₁、R₂、R₃、R₄、R₅、R₆、R₁₀或R₁₁中的至少一个是被官能团(例如,-SH、烯丙基及取代的烯丙基)取代的C₁₋₁₂烷基。

[0023] 所述薄膜或包衣被配置来杀灭至少一组选自由以下组成的组的微生物或抑制其生长:细菌、病毒、酵母、真菌及原生动物,或抑制生物膜的形成或根除预建立的生物膜。

附图说明

[0024] 当结合附图阅读时,根据以下详细描述将最好地理解本发明的方面。注意到,根据工业的标准实践,各种特征不是按比例绘制的。

[0025] 图1示出了根据一些实施方案的生物膜的寿命周期和用于开发抑制或根除生物膜的聚阳离子两亲物的启示。

[0026] 图2示出了使用示例性结构(最低能量构象的致嵌合体空间填充模型)模拟抗微生物肽的方法,所述结构显示阳离子区(明区)和疏水区(暗区)。

[0027] 图3示出了结晶紫染色和共焦显微术的图像。左侧:用所示最终孔浓度的化合物治疗后16h,浸没的金黄色葡萄球菌生物膜。中间:用1%结晶紫染色的生物膜。右侧:治疗后16h,生物膜的共焦显微图像。

具体实施方式

[0028] 下面参考图示实施例应用对本发明的几个方面进行说明。应理解,阐述了多个细节、关系和方法,以提供本发明的全面理解。然而,相关领域的技术人员将容易认识到,本发明可在没有多个细节的情况下或者利用其他方法被实践。本发明并不受到动作或事件的解说顺序的限制,某些动作可以不同的顺序发生,和/或与其他动作或事件同时发生。此外,并非所有示出的动作或时间都是实施根据本发明的方法所必要的。

[0029] 定义

[0030] 本文所用的术语仅仅是用于描述具体的实施方案,而不意图限制本发明。除非上下文另外清楚地指出,如本文所用的单数形式“一(a)”、“一(an)”及“所述”也意图包括复数形式。此外,至于在详细说明和/或权利要求书任一者中所用的术语“包括(including/includes)”、“具有(having/has/with)”或其变型,此术语意指与术语“包含”相类似,为开放的方式。

[0031] 术语“约”或“大约”是指如由本领域的普通技术人员所确定的,在特定值的可接受误差范围内,这部分地取决于如何测量或确定该值,即,测量体系的限制。例如,根据本领域中的实践,“约”可以是指处于1或超过1的标准偏差之内。或者,“约”可以是指给定值的至多

20%，优选至多10%，更优选至多5%，且再更优选至多1%的范围。或者，特别是对于生物系统或过程，该术语可以是指在一定数量级内，优选地在某一数值的5倍、更优选地2倍以内。当在申请和权利要求书中描述具体值时，除非另有说明，应采用意指在具体值的可接受误差范围内的术语“约”。

[0032] 术语“抗微生物”是指杀灭包括但不限于以下的微生物或抑制其生长或削弱微生物感染的严重性的能力：细菌、病毒、酵母、真菌及原生动物。本发明的抗微生物化合物或组合物是可用于清洁或消毒或可用于治疗疾病和感染的化合物或组合物。施用可包括体外和体内抗微生物使用两种。“施用”抗微生物组合物可包括向人或动物受试者施用组合物。

[0033] 如本文所用的术语“生物膜”是指通过将一组微生物粘附在一起形成的薄膜。如本文所用的术语“抗生物膜”是指杀灭、分散和/或根除预建立的生物膜的能力。

[0034] 如本文所用的术语“烷基”是指含有1-25个碳原子的直链、环状、支链或非支链饱和或不饱和烃链，如甲基、乙基、丙基、叔丁基、正己基等等。如本文所用的“C₁₋₁₂烷基”是指具有选自1至12的多个碳原子的烷基。

[0035] 术语“可选被取代的”意指可未被取代或可被取代一次或多次（如1至3次或1至5次）的所述基团。例如，被1至5个氯原子“可选取代的”烷基可未被取代或其可含有1、2、3、4或5个氯原子。被取代的化学部分包含替代氢的一个或多个取代基。

[0036] 术语“最小抑制浓度(MIC)”是指在过夜培养之后抑制微生物的可见生长的抗微生物剂的最低浓度。针对细菌例如革兰氏阳性金黄色葡萄球菌和粪肠球菌及革兰氏阴性大肠杆菌和绿脓假单胞菌的MIC值是通过标准方法测定的。还参见P.A.Wayne, Methods for Dilution Antimicrobial Tests for Bacteria that Grow Aerobically; Approved Standard, 第9版, 2012, CLSI Document M07-A9, 第32卷第2期。

[0037] 术语化合物的“最小生物膜根除浓度(MBEC)”被定义为针对先前建立的细菌生物膜给予的化合物的最低浓度，当所处理的生物膜在新鲜的培养基中再生长时，该浓度得到清洁的孔（光密度小于0.1），表示>95%的细菌清除率。再生长测定被用于建立化合物的MBEC以评估抗生物膜活性。还参见H.Ceri, M.Olson, D.Morck, D.Storey, R.Read, A.Buret, B.Olson, Methods Enzymol. 2001, 337, 377。

[0038] 本发明提供一种包含作为聚阳离子（例如三阳离子、四阳离子等）两亲物的化合物的抗微生物组合物、和制造所述抗微生物化合物或组合物的方法、以及使用所述化合物或组合物供抗微生物之用的方法。本发明中提供的化合物或组合物具有杀灭包括但不限于以下微生物或抑制微生物生长或削弱微生物感染的严重性的能力：细菌、病毒、酵母、真菌及原生动物。本发明中提供的化合物或组合物具有抑制或根除由微生物形成的预建立的生物膜（即抗生物膜用途）的能力。

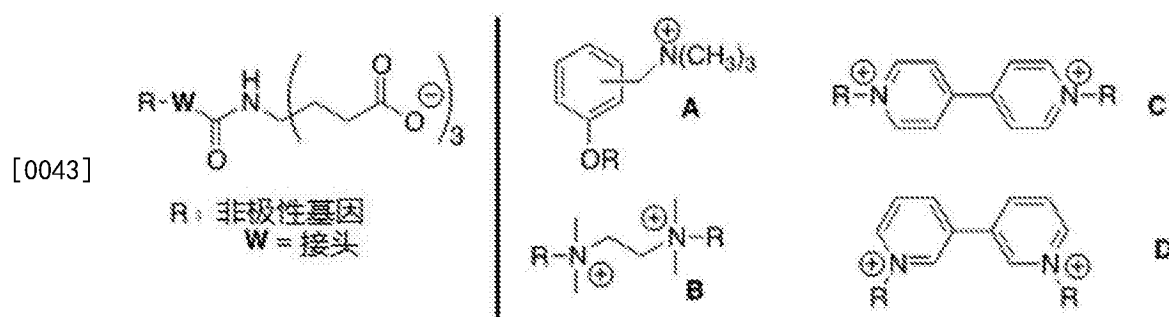
[0039] 生物膜是存在于多糖、蛋白质及细胞外DNA的自产基质中的细菌的复合共同体。根据美国疾病控制和预防中心，生物膜感染已占超过65%的医院及外部装置感染。展现生物膜表型的细菌细胞对标准抗生素的耐药性是100-1000倍，因为传统的分子靶标在生物膜状态下可以是潜伏的并且外聚物质(EPS)的存在干扰抗生素定位。如图1所示，生物膜寿命周期是由四个阶段组成：(1)粘附-浮游细胞经历表型变化并聚集在表面上；(2)EPS产生-多糖、细胞外DNA及蛋白质的分泌；(3)成熟-生物膜结构的发展；以及(4)分散-表型逆转至浮游细胞。细菌利用许多化学信号来协调此复杂的生活方式，并且已做出巨大努力来模拟这

些化学类别以抑制生物膜形成;然而,极少报道根除预建立的生物膜的合成化合物。

[0040] 两亲物(即具有极性和非极性区的分子)曾是抗微生物化合物的中流砥柱。肥皂(其容易获得并且具有简单的阴离子两亲结构)的使用已发展成人类健康中的最大进步之一。具有同样简单的阳离子两亲结构的苯扎氯铵的使用将此革命推进到20世纪,当时许多两亲组合物如LYSOL®牌产品在家庭中随处可见。

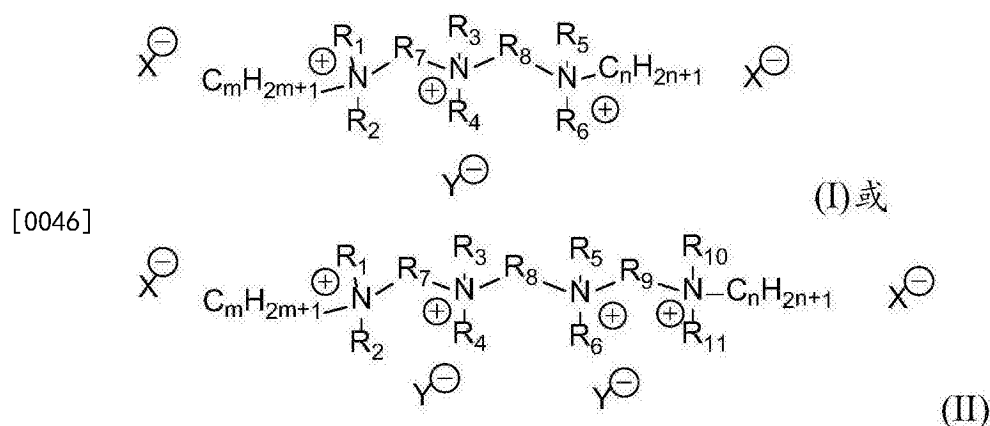
[0041] 因为多种两亲物具有共同的作用方式,即膜破坏,所以阴离子和阳离子形式两者已成为近十年来抗微生物发展运动的焦点。阳离子两亲物被认为是膜破坏剂,利用了与主要是阴离子的细菌细胞膜的静电相互作用,接着插入非极性链,这导致了膜破坏和最终细菌细胞溶解。已开发具有聚阳离子结构的多电荷两亲物质,或许是从天然的抗微生物肽中获取了灵感。例如,具有三个羧酸酯基团的一系列树突状两亲物允许附着至表面(流程1,左侧)。

[0042] 流程1



[0044] 本发明者已开发了阳离子两亲结构并将所述结构与抗菌活性相关联。本发明者已基于全碳芳族核心(A)便宜的TMEDA(N,N,N',N'-四甲基乙二胺)核心(B)以及4,4'(C)与其他几何结构(D)两者的双吡啶结构开发了季铵两亲物,如流程1中所示。本发明者进一步开发了一系列新颖的聚阳离子(例如三阳离子、四阳离子等)两亲化合物以供在本发明中的抗微生物之用。这些化合物可用于抗微生物组合物中,或在接枝到固体表面上之后用作薄膜或包衣。

[0045] 一方面,本发明提供一种抗微生物组合物,其包含具有下式的化合物



[0047] 其中:

[0048] $R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_{10}$ 或 R_{11} 是H或未被取代或可选被如下官能团取代的 C_{1-12} 烷基: $-OH, -OR', -NH_2, -NHR', -NR'_2, -N-C(O)R', -N-C(O)CR'=CR', -SH, -SR', -O-C(O)R', -C(O)R', -CF_3, -OCF_3$, 卤素、苄基、邻乙烯基苄基、间乙烯基苄基、对乙烯基苄基、苯基、烯丙基

及取代的烯丙基；

[0049] R_7 、 R_8 或 R_9 是未被取代或可选被选自由以下组成的组的官能团取代的 C_{1-12} 烷基： $-OH$ 、 $-OR'$ 、 $-NH_2$ 、 $-NHR'$ 、 $-NR'_2$ 、 $-SH$ 、 $-SR'$ 、 $-O-C(O)R'$ 、 $-C(O)R'$ 、 $-CF_3$ 及 $-OCF_3$ ；

[0050] R' 是H或可选被取代的 C_{1-4} 烷基；

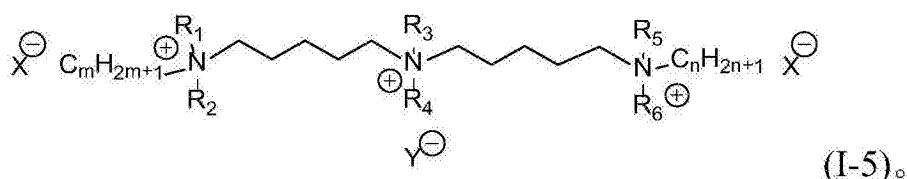
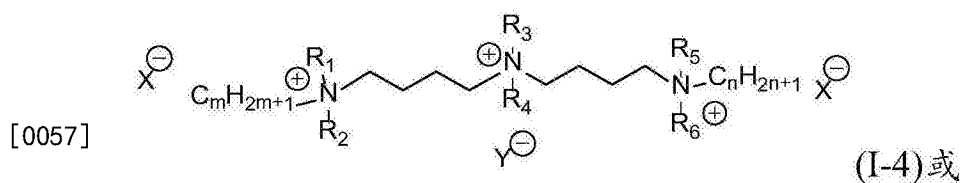
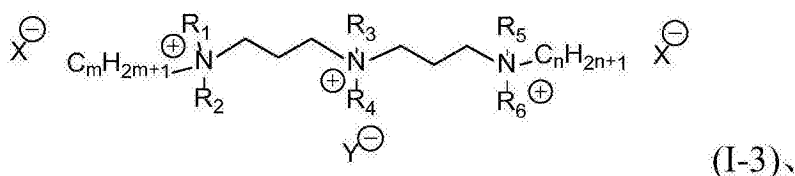
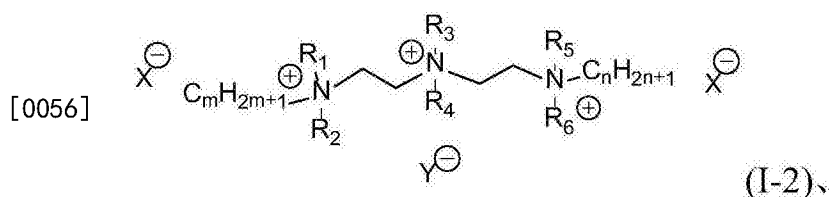
[0051] X 或 Y 是卤素(以阴离子形式)；并且

[0052] m 和 n 是在1至25范围内的整数。

[0053] 例如，在一些实施方案中， R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_{10} 或 R_{11} 可以是H或未被取代或可选被选自由以下组成的组的官能团取代的 C_{1-4} 烷基： $-OH$ 、 $-OR'$ 、 $-NH_2$ 、 $-NHR'$ 、 $-NR'_2$ 、 $-SH$ 、 $-SR'$ 、 $-O-C(O)R'$ 、 $-C(O)R'$ 、 $-CF_3$ 及 $-OCF_3$ 。在一些实施方案中， R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_{10} 或 R_{11} 中的至少一个是被如 $-SH$ 、烯丙基及取代的烯丙基等官能团取代的 C_{1-12} 烷基。 X 或 Y 可以是以离子形式的任何卤素，包括但不限于氟、氯、溴、碘及其任何组合。 X 或 Y 还可以是甲苯磺酸盐、柠檬酸盐、任何合适的阴离子或其组合。在一些实施方案中， X 或 Y 是氯或溴(即氯化物或溴化物)。 m 和 n 可以是在5至25范围内的整数(例如，在10至16范围内)。 m 可等于或不等于 n 。例如，在一些实施方案中， m 和 n 中的至少一个是12。

[0054] 作为两个氮原子之间的接头的 R_7 、 R_8 或 R_9 可以是未被取代或可选被取代的 C_{2-5} 烷基。 R_7 、 R_8 或 R_9 可以是以 $-(CH_2)_s$ -形式的未被取代的或可选被选自由以下组成的组的官能团取代的重复的亚甲基： $-OH$ 、 $-OR'$ 、 $-NH_2$ 、 $-NHR'$ 、 $-NR'_2$ 、 $-SH$ 、 $-SR'$ 、 $-O-C(O)R'$ 、 $-C(O)R'$ 、 $-CF_3$ 及 $-OCF_3$ ， s 是例如在1至12范围内的整数。 R_7 、 R_8 或 R_9 中的 s 值可彼此不同。

[0055] 在一些实施方案中，接头 R_7 、 R_8 或 R_9 是 $-CH_2CH_2-$ 、 $-CH_2CH_2CH_2-$ 、 $-CH_2CH_2CH_2CH_2-$ 或 $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$ 。例如，具有式(I)的化合物可具有下式

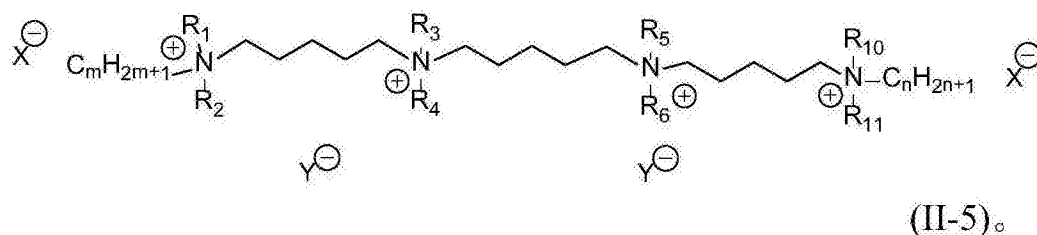
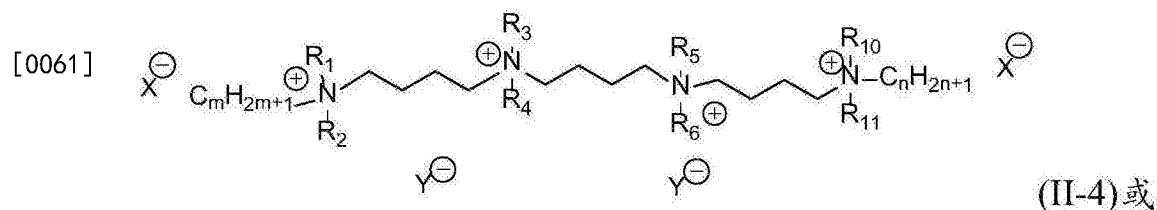
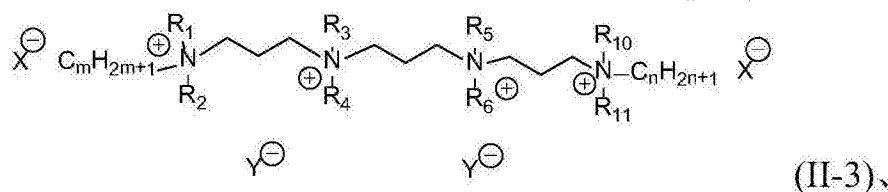
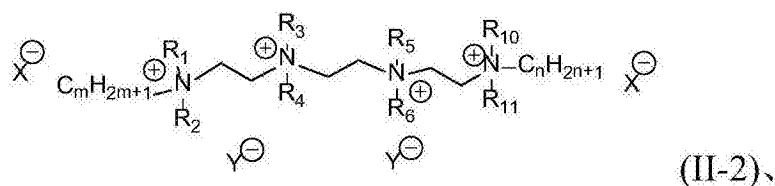


[0058] 在一些实施方案中，在具有式(I-2)、(I-3)、(I-4)或(I-5)(例如I-3)的化合物中，

R₁和R₂中的至少一个及R₃和R₄中的至少一个及R₅和R₆中的至少一个可以是甲基。在这些化合物中的一些中,m和n是12,R₃和R₄中的一个选自由乙基、丙基及烯丙基组成的组,并且在R₁、R₂、R₃、R₄、R₅及R₆中的其他基团是甲基。

[0059] 使用数字组合表示在本发明中所述的一些示例性化合物。例如,在具有式(I-2)、(I-3)、(I-4)或(I-5)的一些化合物中,R₁和R₂、R₅和R₆都是甲基。R₃和R₄中的至少一个是甲基。假定R₃是甲基,R₄便是H或具有x个碳的烷基,其是被取代或可选被取代的。所述化合物表示为化合物[m,s,x,s,n]、化合物(m,s,x,s,n)、或化合物m,s,x,s,n。x是R₄中的碳原子数目。当R₄是H时,x是零。例如,具有式(I-3)的所述化合物表示为化合物[12,3,2,3,12],其中R₃是甲基,R₄是乙基并且m和n都是12。当R₄是烯丙基时,x表示为“3A”。例如,具有式(I-3)的所述化合物表示为化合物[12,3,3A,3,12],其中R₃是甲基,R₄是烯丙基并且m和n都是12。

[0060] 类似地,具有式(II)的化合物可具有下式



[0062] 在一些实施方案中,在具有式(II-2)、(II-3)、(II-4)或(II-5)的化合物中,R₁和R₂中的至少一个及R₃和R₄中的至少一个、R₅和R₆中的至少一个及R₁₀和R₁₁中的至少一个可以是甲基。举例来说,在具有式(II-2)的一些化合物中,m和n是12,R₃和R₄中的一个选自由乙基、丙基及烯丙基组成的组,并且在R₁、R₂、R₃、R₄、R₅、R₆、R₁₀及R₁₁中的其他基团是甲基。

[0063] 使用数字组合表示在本发明中所述的一些示例性化合物。例如,在具有式(II-2)的一些化合物中,R₁和R₂、及R₁₀和R₁₁都是甲基。R₃和R₄中的至少一个是甲基。R₅和R₆中的至少

一个是甲基。假定 R_3 和 R_5 是甲基, R_4 和 R_6 便分别是H或具有 x_4 和 x_6 个碳的烷基,其是被取代或可选被取代的。所述化合物表示为化合物 $[N4-m, x_4, x_6, n]$ 、化合物 $(N4-m, x_4, x_6, n)$ 、或化合物 $N4-m, x_4, x_6, n$ 。当 R_4 或 R_6 是H时, x_4 或 x_6 是零。举例来说,具有式(II-2)的所述化合物表示为化合物 $[N4-12, 1, 1, 12]$,其中 R_3 和 R_5 是甲基, R_4 和 R_6 是甲基并且 m 和 n 都是12。当 R_4 和 R_6 是烯丙基时, x_4 或 x_6 表示为“3A”。举例来说,具有式(II-2)的所述化合物表示为化合物 $[N4-12, 3A, 3A, 12]$,其中 R_3 和 R_5 是甲基, R_4 和 R_6 是烯丙基并且 m 和 n 都是12。

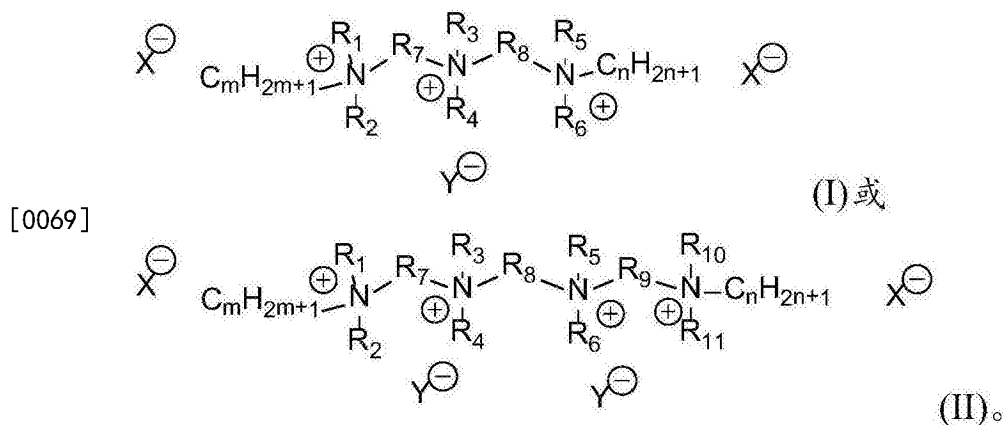
[0064] 本发明还提供一种制造如所述具有式(I)或(II)的化合物的方法。具有式(I)或(II)的化合物的合成可使用相应的多胺,尤其是具有所需成本的多胺来实现。所述多胺可在两端或中间处与取代基团接枝以形成所得的聚阳离子化合物。

[0065] 另一方面,本发明提供一种制造包含如所述具有式(I)或(II)的化合物的抗微生物组合物的方法。所述方法包括将有效量的具有式(I)或(II)的化合物与载体如溶剂、载体、添加剂、任何其他合适的成分或其组合混合。

[0066] 在一些实施方案中,本发明还提供一种包含如所述具有式(I)或(II)的化合物和如溶剂的载体的抗微生物组合物。所述抗微生物组合物还可包含其他成分和添加剂。具有式(I)或(II)的化合物的含量可以是任何合适的浓度。例如,在一些实施方案中,所述浓度可以是在 $0.01\mu\text{M}$ 至 $100\mu\text{M}$ 的范围内,例如从 $0.1\mu\text{M}$ 至 $10\mu\text{M}$ 。在一些实施方案中,具有式(I)或(II)的化合物的含量可以是在 $0.1\text{wt.}\%$ 至 $5\text{wt.}\%$ 的浓度下,例如在 $0.2\text{wt.}\%$ 至 $2.5\text{wt.}\%$ 的范围内。载体的实例包括(或排除)但不限于溶剂。其他添加剂的实例包括(或排除)但不限于表面活性剂、消泡剂、防冻剂、胶凝剂及其组合。所述抗微生物组合物还可包含药学上可接受的载体或赋形剂。适用于如片剂或胶囊的固体制剂的药学上可接受的载体或赋形剂可以是例如,粘合剂(例如、阿拉伯胶、明胶、糊精、羟丙基纤维素、甲基纤维素、聚乙烯吡咯烷酮)、溶剂、分散介质、稀释剂(例如乳糖、蔗糖、甘露醇、玉米淀粉、马铃薯淀粉、磷酸钙、柠檬酸钙、结晶纤维素)、润滑剂(例如硬脂酸镁、硬脂酸钙、硬脂酸、滑石、无水硅酸)、崩解剂(例如玉米淀粉、马铃薯淀粉、羧甲基纤维素、羧甲基纤维素钙、海藻酸)以及润湿剂(例如十二烷基硫酸钠)。适用于如溶液或混悬液的液体制剂的药学上可接受的载体或赋形剂可以是例如,水溶液媒介物(例如水)、悬浮剂(例如阿拉伯胶、明胶、甲基纤维素、羧甲基纤维素钠、羟甲基纤维素、硬脂酸铝凝胶)、表面活性剂(例如卵磷脂、去水山梨糖醇单油酸酯、单硬脂酸甘油酯)以及非水性媒介物(例如甘油、丙二醇、植物油)。此外,液体制剂可含有防腐剂(例如对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸丙酯)、调味剂和/或着色剂。在本发明中的抗微生物组合物可被配制成任何合适的形式,包括但不限于液体、凝胶及糊剂。

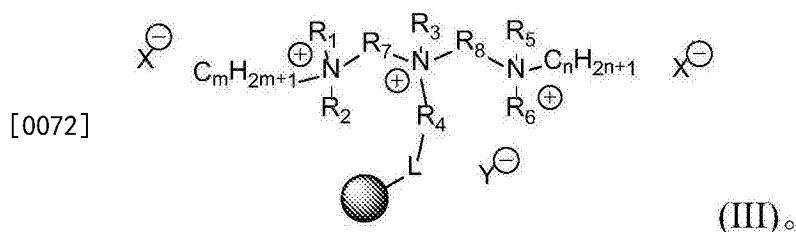
[0067] 本发明还提供一种杀灭微生物或抑制微生物生长的方法,所述方法包括施用包含如所述具有式(I)或(II)的化合物的抗微生物组合物。所述抗微生物组合物或化合物被用于杀灭至少一组选自由以下组成的组的微生物或抑制其生长:细菌、病毒、酵母、真菌及原生动物;或抑制生物膜的形成或根除预建立的生物膜。合适的方法的实例包括但不限于倾倒、喷雾、任何其他合适的方法及其任何组合。

[0068] 另一方面,本发明进一步提供一种包含如所述化合物的薄膜或包衣



[0070] 将具有式(I)或(II)的化合物接枝到固体表面上。如所述, R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_{10} 或 R_{11} 可以是H或未被取代或可选被选自以下组成的组的官能团取代的 C_{1-12} 烷基(例如 C_{2-5} 烷基): $-\text{OH}$ 、 $-\text{OR}'$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{NHR}'$ 、 $-\text{NR}'_2$ 、 $-\text{N}-\text{C}(\text{O})\text{R}'$ 、 $-\text{N}-\text{C}(\text{O})\text{CR}'=\text{CR}'$ 、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{SR}'$ 、 $-\text{O}-\text{C}(\text{O})\text{R}'$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{R}'$ 、 $-\text{CF}_3$ 、 $-\text{OCF}_3$ 、卤素、苄基、邻乙烯基苄基、间乙烯基苄基、对乙烯基苄基、苯基、烯丙基及取代的烯丙基。 R_7 、 R_8 或 R_9 可以是未被取代或可选被选自以下组成的组的官能团取代的 C_{1-12} 烷基(例如 C_{2-5} 烷基): $-\text{OH}$ 、 $-\text{OR}'$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{NHR}'$ 、 $-\text{NR}'_2$ 、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{SR}'$ 、 $-\text{O}-\text{C}(\text{O})\text{R}'$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{R}'$ 、 $-\text{CF}_3$ 及 $-\text{OCF}_3$ 。 R' 是H或 C_{1-4} 烷基。 X 或 Y 是卤素,包括氟、氯、溴、碘及其任何组合。 m 和 n 是在1至25范围内的整数(例如,在10至16范围内)。

[0071] 例如,接枝到固体表面上的化合物可具有如下式所示的结构



[0073] L 是包含官能团的接头。在一些实施方案中, R_4 是可选被选自以下组成的组的官能团取代的亚甲基: $-\text{OH}$ 、 $-\text{OR}'$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{NHR}'$ 、 $-\text{NR}'_2$ 、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{SR}'$ 、 $-\text{O}-\text{C}(\text{O})\text{R}'$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{R}'$ 、 $-\text{CF}_3$ 及 $-\text{OCF}_3$ 。在一些实施方案中,在包含具有式(I)或(II)的化合物的所述薄膜或包衣中, R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_{10} 或 R_{11} 中的至少一个是被选自 $-\text{SH}$ 、烯丙基及取代的烯丙基组成的组的官能团取代的 C_{1-12} 烷基。 X 可以是氯或溴。 m 和 n 中的至少一个可以是12。

[0074] 所述薄膜或包衣被配置来杀灭至少一组选自以下组成的组的微生物或抑制其生长:细菌、病毒、酵母、真菌及原生动物,或抑制生物膜的形成或根除预建立的生物膜。

[0075] 实施例

[0076] 已制备一系列聚阳离子两亲物。这类聚阳离子两亲物具有强大的抗微生物活性。如下所述的实施例仅出于说明的目的。

[0077] 1. 用于根除建立的生物膜的两种三阳离子两亲物

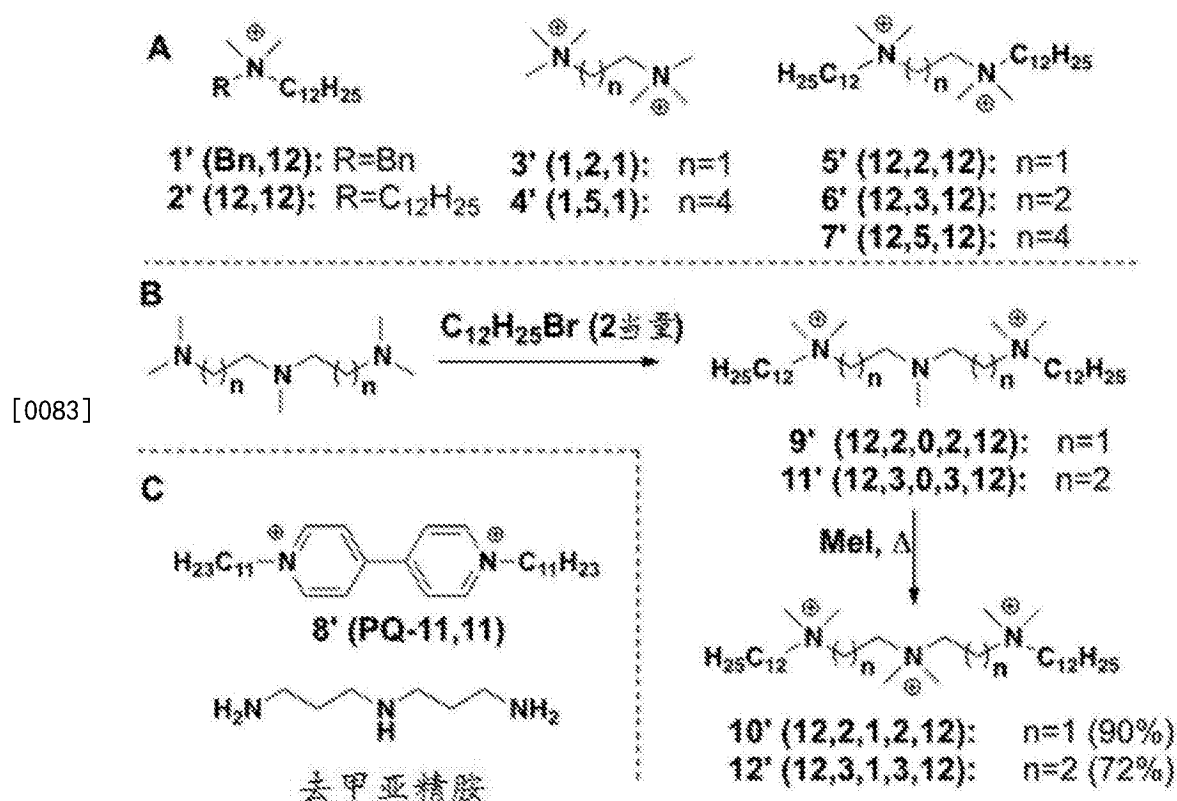
[0078] 阳离子两亲物已在生物学和商业上实施以对抗细菌感染。在生物学领域中,真核生物和原核生物都利用了抗微生物肽(AMP)来防止和消除原核细胞定殖。AMP策略性地将多种特征并入肽骨架内以根除感染,包括阳离子、两亲及疏水残基。具有拥有不同物理特性(带电或疏水的)的各种二级结构(例如线性、 α 螺旋)的代表性AMP在图2A中以不同的阴影描绘。在图2中,浅色区是带正电的且黑色区是疏水的。

[0079] 与防止生物膜形成的抑制剂和促进迁移到浮游细胞的分散剂形成对比,极少报道在实际浓度(<500 μ M)下完全根除建立的生物膜的化合物。基于此关键的缺乏和受到先前对于抗微生物肽(AMP)衍生物的工作的启示,本发明者猜测季铵阳离子(QAC)可充当简化的AMP并根除预存在的生物膜。就本发明者所知,目前尚无有关其对于生物膜的作用的记载的研究。

[0080] 流程1示出了单-和双-QAC(在此部分中是结构1-7', 9', 11')、百草枯(PQ)-11, 11(结构8')、以及三-QAC(10', 12')的合成和结构。三-QAC(化合物10', 12')已根据本发明中的一些实施方案进行合成。流程1中所示的QAC结构使人想起多胺类(例如去甲亚精胺), 且因此本发明者猜测QAC, 尤其是本发明中提供的聚阳离子两亲物, 将具有所寻求的有效的抗生物膜活性。表1示出了流程1中所示的化合物的最小抑制浓度。表2示出了这些化合物的最小生物膜根除浓度(MBEC)。

[0081] 本发明者所关注的QAC文库利用变化的接头长度来探测电荷及三维结构两者在化合物生物效应中发挥的作用,类似于由AMP(如图2B所示)所呈现的结构多样性。本发明者近期在实验室中的成果得到了四甲基乙二胺(TMEDA)衍生的QAC的廉价制备,所述QAC对革兰氏阳性和革兰氏阴性浮游细菌都具有低的微摩尔抑制活性(例如化合物12,2,12)。在此TMEDA平台的扩展中,化合物文库被设计成包括单、双及三阳离子以及单、二及三胺,具有两个、三个及五个碳的接头长度。除化合物1'(苯扎氯铵,许多家用防腐剂的成分)外,所有合成的化合物都可以一至两步从可商购获得的起始材料开始经由简单的烷基化化学过程得到(流程2)。带有十二烷基侧链的化合物显示在低微摩尔范围内的MIC值(表1)。

[0082] 流程2.



[0084] 表1. 去甲亚精胺、QAC及PQ-11, 11的MIC

[0085]

化合物(No.)	MIC (μM)			
	金黄色葡萄球菌	粪肠球菌	大肠杆菌	铜绿假单胞菌
去甲亚精胺	>500	>500	>500	>500
Bn,12 (1')	8	8	32	63
12,12 (2')	1	1	8	32
1,2,1 (3')	>500	>500	>500	>500
1,5,1 (4')	>500	>500	>500	>500
12,2,12 (5')	1	1	2	4
12,3,12 (6')	2	1	1	4

[0086]

12,5,12 (7')	1	1	1	4
PQ-11,11 (8')	1	1	1	4
12,2,0,2,12 (9')	1	2	1	4
12,2,1,2,12 (10')	≤ 0.25	≤ 0.25	0.5	1
12,3,0,3,12 (11')	1	≤ 0.25	≤ 0.25	4
12,3,1,3,12 (12')	0.5	1	1	2

[0087] 受到QAC对浮游细菌细胞的效力的鼓舞,本发明者随后评估化合物(12,2,12)针对金黄色葡萄球菌和粪肠球菌生物膜的功效。化合物(12,2,12)显示在低的微摩尔浓度下对预建立的生物膜的显著作用(表2)。为了准确地评估抗生物膜活性,利用再生长测定来建立每种化合物的最小生物膜根除浓度(MBEC)。化合物(12,2,12)对两种细菌具有75 μM 的MBEC值,大约是单阳离子衍生物(12,12)和商业上可利用的化合物1'(Bn,12)的两倍(表2)。还发现化合物(1,2,1)和(1,5,1)在所测试的浓度下不能根除生物膜,表明阳离子特性和烷基侧链都是保持功效所必需的。

表 2. 去甲亚精胺、QAC 及 PQ-11,11 的 MBEC

	化合物(No.)	MBEC (μM)	
		金黄色葡萄球菌	粪肠球菌
[0088]	去甲亚精胺	>200	>200
	Bn,12 (1')	200	200
	12,12 (2')	>200	200
	1,2,1 (3')	>200	>200
	1,5,1 (4')	>200	>200
[0089]	12,2,12 (5')	75 ± 25^a	75 ± 25^a
	12,3,12 (6')	100	75 ± 25^a
	12,5,12 (7')	75 ± 25^a	75 ± 25^a
	PQ-11,11 (8')	50	50
	12,2,0,2,12 (9')	75 ± 25^a	100
	12,2,1,2,12 (10')	50	25
	12,3,0,3,12 (11')	100	50
	12,3,1,3,12 (12')	100	50
[a] MBEC 值在六个试验中在 50 与 100 μM 之间变化。			

[0090] 表2中示出了其他化合物的最小生物膜根除浓度(MBEC)。本发明者已确定阳离子特性和烷基侧链对于生物膜根除来说都是重要的。三阳离子化合物(12,2,1,2,12)和(12,3,1,3,12)也显示薄膜根除的良好能力。化合物(12,3,1,3,12)和双阳离子化合物(12,3,0,3,12)显示类似的结果。在双阳离子(12,2,0,2,12)和三阳离子(12,3,0,3,12)之间的功效有适度提高,它们提供在这些化合物中报道的最具活性的生物膜根除化合物。为了显示这些化合物的活性,利用结晶紫染色和共焦图像(图3)。结晶紫染色示出了QAC(12,3,12)、(12,3,0,3,12)及(12,3,1,3,12)当与水性对照或去甲亚精胺相比时针对预建立的生物膜所呈现的显著效果。此外,共焦显微术展现在低至12 μM 的浓度下显著的生物膜扰动,显著低于所报道的MBEC值。

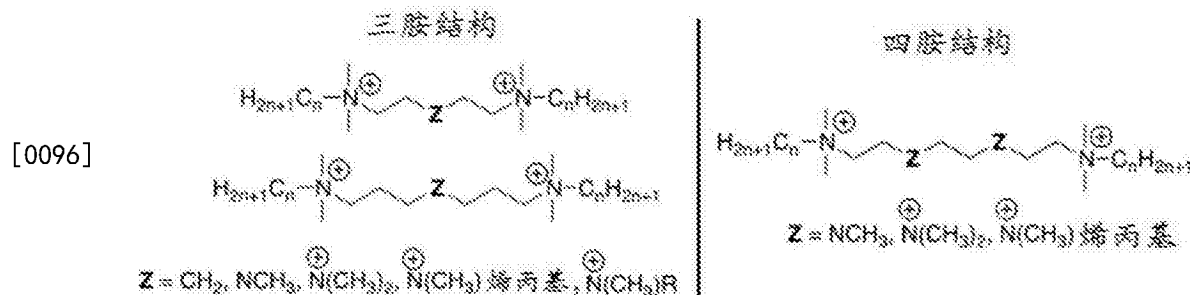
[0091] 总之,本发明者首次证明了QAC是预建立的细菌生物膜的有效根除剂。此发展还提供了对于根除金黄色葡萄球菌和粪肠球菌生物膜所需的最小构造细部的认识;仅具有烷基侧链的两个永久的阳离子电荷可赋予生物膜破坏能力。化合物以一步或两步从可商购获得的材料来合成,使其成为用于生物膜根除的现有方法的有吸引力的替代选择。包括(12,2,1,2,12)和(12,3,1,3,12)的三阳离子两亲物显示显著的抗生物膜活性。

[0092] 2. 另外的三阳离子和四阳离子两亲物及其抗微生物活性

[0093] 尽管有关于双阳离子两亲物的抗微生物活性的大量报导,但就本发明者所知没有关于具有三个或四个季铵基团的两亲物的抗微生物活性的研究。这完全不同于广泛多种生物活性天然产物(及其衍生物),所述天然产物合并有多个伯胺、仲胺及叔胺;常见的实例包括精胺、亚精胺、角鲨胺等。虽然这些一般被绘制成中性化合物,但其在生理pH下将具有多个阳离子;相关化合物已被探查为可能的生物膜破坏剂。

[0094] 在适度的商业成本下具有三个或四个叔胺的化合物的易获得性的情况下,本发明者继续将生物活性与两亲结构相关联,具体来说,存在的阳离子数目以及非极性侧链的数目和长度。化合物的目标组概述于流程3中。对于三甲醇氨基甲烷启示的结构,化合物被设计成在两个季铵物质之间有五个或七个原子接头(流程3,左侧)。这允许将另外的季铵部分并入结构中心中,其可被连接到短链或长链烷基残基。本发明者还旨在制备基于四胺平台的结构,其带有多达四个铵残基(流程3,右侧)。本发明者旨在为提出的两亲物开发统一的合成方法。

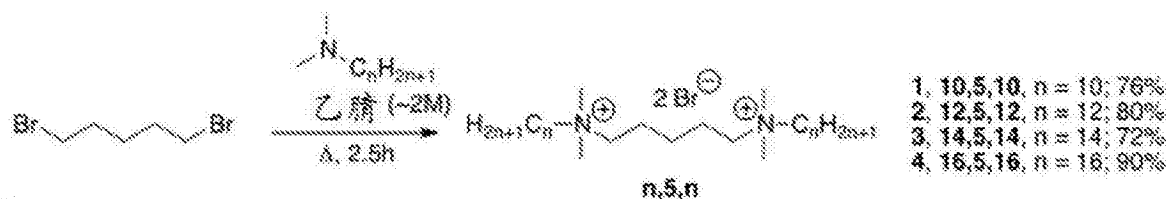
[0095] 流程3.



[0097] 本发明者首先使用简单的n,5,n结构开始装配严格呈双阳离子性的一组结构($Z = \text{CH}_2$, 流程3),其中n是烷基链的长度,且5是氮原子之间的接头长度。流程4示出了n,5,n系列的双阳离子两亲物的制备。如流程4中所示,合成是通过将1,5-二溴戊烷暴露于一定范围的二甲基烷基胺来实现,提供化合物1-4(如在本部分下文中所述)。产率在72至90%的范围内。根据需要将双烷基化产物再结晶以除去任何残余的起始材料或烷基溴并且以高纯度提供化合物。

[0098] 流程4.

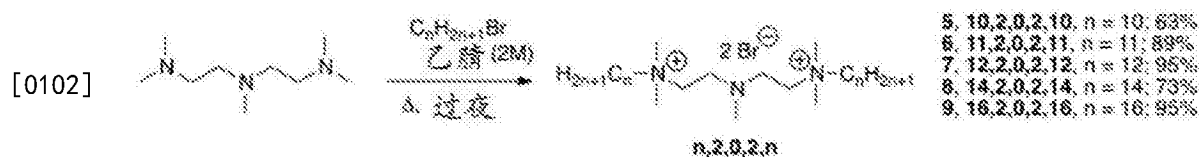
[0099]



[0100] 流程5示出了(n,2,0,2,n)系列的两亲物的制备。在带有两种或三种阳离子物质的

一系列化合物的制备中,如流程5所示,本发明者从廉价的五甲基双(乙二胺)开始。发现其烷基化是选择性的和高产的,提供(n,2,0,2,n)系列的五个结构,其中n是烷基链的长度,2是氮之间的接头长度,并且0表示在中心氮上缺乏另外的取代。

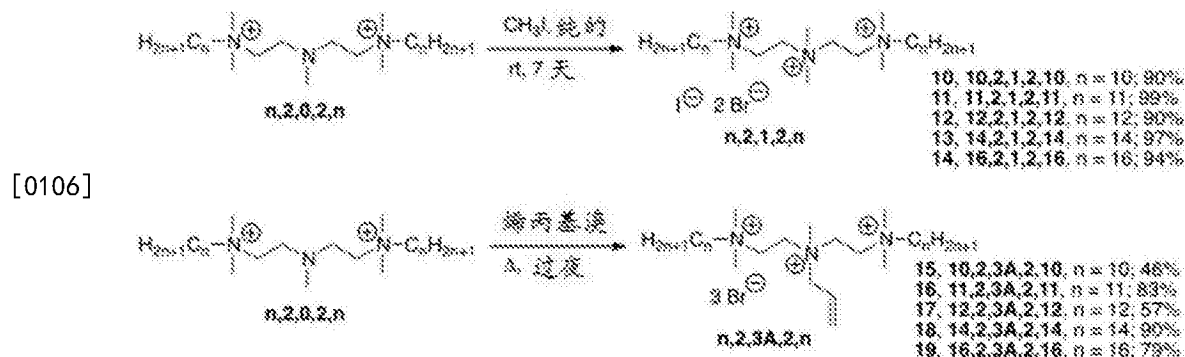
[0101] 流程5.



[0103] 示例性化合物(14,2,0,2,14)的合成在本文中描述为制备化合物(m,2,0,2,n)的代表性工序。向1-溴十四烷(2.25mL,8.26mmol)于CH₃CN(2mL)中的溶液中添加N,N,N',N'',N''-五甲基二亚乙基三胺(0.87mL,4.2mmol)。将所得的澄清溶液在室温下搅拌20h,在此期间观察到白色固体。向反应混合物中添加冷丙酮(~9mL),产生白色沉淀。经由布氏漏斗过滤,得到白色固体,将其用冷丙酮(~4mL)然后是己烷(~4mL)洗涤,得到呈白色固体状的(14,2,0,2,14)(2.188g,73%)。

[0104] n,2,0,2,n系列的化合物的进一步官能化不像本发明者所希望的那样简单,因为用长链亲电试剂(例如,十二烷基溴)进行的烷基化被证明是缓慢的。然而,本发明者能够在更强的条件下实现烷基化(流程6),在室温下在纯的碘代甲烷中(7d,提供n,2,1,2,n)抑或在回流下在烯丙基溴中(过夜,提供n,2,3A,2,n)。甲基化产率是高的(≥90%),并且烯丙基化产率是良好的(46-83%)。流程6示出了类型(n,2,1,2,n)和(n,2,3A,2,n)的两亲物的制备。

[0105] 流程6.



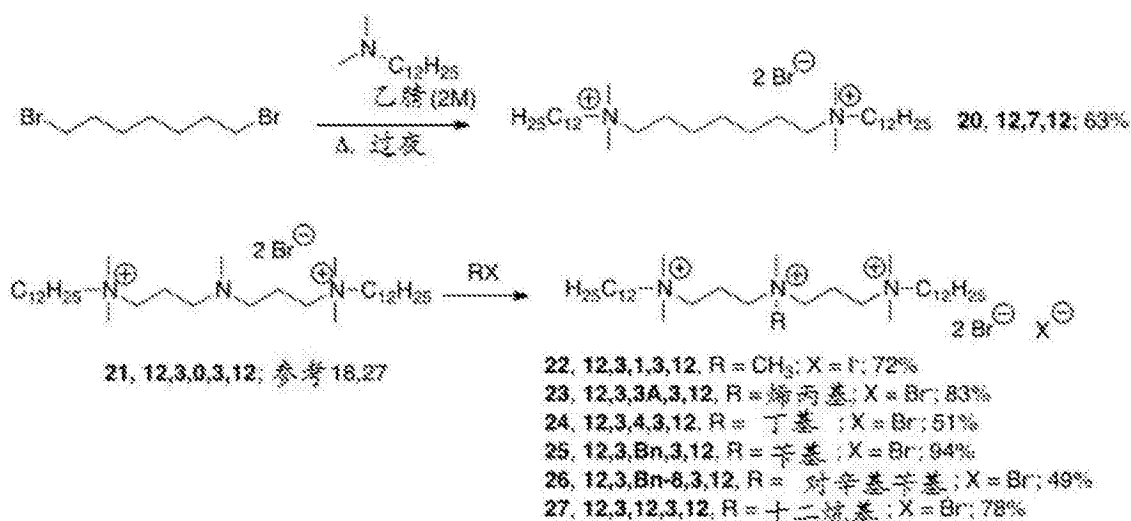
[0107] 示例性化合物(12,2,1,2,12)的合成在本文中描述为制备化合物(m,2,1,2,n)的代表性工序。向CH₃I(~1.0mL,16mmol)的溶液中添加(12,2,0,2,12)(201mg,0.299mmol)。将所得的澄清黄色溶液在室温下搅拌,并且经72小时添加额外的CH₃I,在此期间观察到固体,粗¹H NMR显示(12,2,1,2,12)是主要产物。

[0108] 流程7示出了类型(12,7,12)和(12,3,x,3,12)的具有7-原子接头的两亲物的制备。怀疑三个阳离子氮的靠近是此最终烷基化的障碍,本发明者制备了在“书挡(bookend)”季铵物质之间具有七个原子接头的类似的化合物组,同时维持十二烷基侧链。根据上述方法,这是从(12,7,12)的制备开始(流程7)。然后,从已知的两亲物(12,3,0,3,12)(来源于可商购获得的2,6,10-三甲基-2,6,10-三氮杂十一烷)开始,能够制备在中心碳处具有改变的取代的一组结构。本发明者首先分别制备甲基和烯丙基(12,3,1,3,12)和(12,3,3A,3,12)的取代,以便与以上化合物(12,2,1,2,12)和(12,2,3A,2,12)平行。简单的烷基化是分别用

丁基和十二烷基链从与相应的烷基溴的回流以良好的产率实现。另外,同样制备苄基和对辛基苄基。

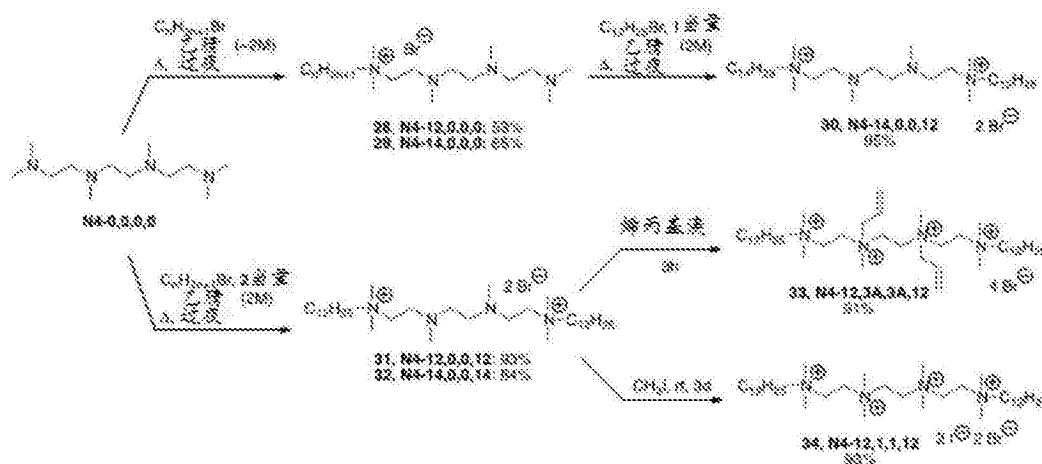
[0109] 流程7.

[0110]



[0111] 流程8示出了类型(N4-n,n,n,n)的两亲物的制备。为了进一步扩展研究范围,本发明者从可商购获得的1,1,4,7,10,10-六甲基三亚乙基四胺(缩写为N4-0,0,0,0)开始如流程8所示制备一系列带有四个胺的化合物。这打开了评估具有多达四个阳离子的两亲物的可能性。本发明者发现(N4-0,0,0,0)的单烷基化在标准条件(1当量RBr,,乙腈,Δ)下稍微有选择性,在研制之后以53-65%产率提供(N4-12,0,0,0)和(N4-14,0,0,0)。随后用1当量十二烷基溴对29进行的烷基化造成假对称(N4-14,0,0,12)的清洁制备,其中仅外周氮被烷基化,如由展示高水平对称性的NMR谱所证明。或者,起始四胺的双烷基化得到(N4-12,0,0,12)或(N4-14,0,0,14)(分别是93和84%)。同样在强制条件(纯的烯丙基溴,回流,2.5h)下将双铵化合物N4-12,0,0,12双烷基化以得到四阳离子衍生物(N4-12,3A,3A,12)(91%)。

[0112] 流程8.



[0114] 在所合成的结构和阳离子性质上变化的几乎三打两亲物下,通过标准方法测定针对革兰氏阳性金黄色葡萄球菌和粪肠球菌及革兰氏阴性大肠杆菌和绿脓假单胞菌的最小抑制浓度(MIC)值。表3示出了以μM报告的所制备的两亲化合物的MIC值。测试可商购获得的抗菌剂苯扎氯铵(苄基二甲基十二烷基氯化铵,Bn,12)用于比较。如先前所报道进行用于

测定MIC值的肉汤微量稀释。

[0115] 发现为所测试的32种两亲物获得的MIC数据显著地一致,其中超过一半测试化合物(20/32)对所有四种测试细菌展现一位数MIC。MIC变化主要视烷基链的长度而定,其中十二烷基链一般被认为是最佳的。在n,5,n系列(1-4)以及(12,7,12)(20)中的X=CH₂化合物与在化合物中心处带有N-CH₃基团(5、7-9、21)或季铵基团(10、12-13、22等)的相应结构的比较中对此进行举例说明;几乎全面没有变化。实际上,(12,5,12)和(12,7,12)是所制备的最有效的化合物中的两种,其中在8个测试病例中有7个的MIC值≤2μM。发现化合物(12,2,1,2,12)难溶于水中,且因此在提供可再现的MIC值中引起困难。鉴于较长接头提供相当活性的结果,本发明者评估在(12,3,x,3,12)系列中可获得的更大的结构多样性。最终,四胺骨架允许具有1、2或4个铵基团(例如,N4-12,0,0,0、N4-12,0,0,12及N4-12,3A,3A,12)的化合物的比较。虽然(N4-12,3A,3A,12)实际上显示强活性(对于三种细菌,MIC值=1μM,且对于铜绿假单胞菌是2μM),但N4-12,0,0,12的活性是相等的,例外的是对于铜绿假单胞菌4μM的值。这两种比仅带有一个季铵基团的(N4-12,0,0,0)的生物活性高约8倍。

[0116] 总之,在本发明中提供的聚阳离子两亲物提供强有力的破坏持久生物膜的能力并且在原核生物的多阴离子膜处展示一定水平的优先活性。

[0117] 表3.

[0118]

No.	化合物	电荷 (#氮)	金黄色 葡萄球 菌	粪肠球菌	大肠 杆菌	铜绿假单 胞菌
1	10,5,10	2+ (2N)	2	4	8	63
2	12,5,12	2+ (2N)	2	1	1	2
3	14,5,14	2+ (2N)	1	1	4	16
4	16,5,16	2+ (2N)	2	2	16	32
5	10,2,0,2,10	2+ (3N)	2	8	8	63
6	11,2,0,2,11	2+ (3N)	2	2	2	8
7	12,2,0,2,12	2+ (3N)	1	1	2	4
8	14,2,0,2,14	2+ (3N)	2	1	4	16
9	16,2,0,2,16	2+ (3N)	4	2	16	32
10	10,2,1,2,10	3+ (3N)	2	8	8	63
11	11,2,1,2,11	3+ (3N)	2	2	4	8
12	12,2,1,2,12	3+ (3N)	$\leq 0.25 \cdot 4^a$	$\leq 0.25 \cdot 4^a$	$0.5 \cdot 4^a$	$1 \cdot 8^a$
13	14,2,1,2,14	3+ (3N)	1	1	2	8
14	16,2,1,2,16	3+ (3N)	NT	NT	NT	NT
15	10,2,3A,2,10	3+ (3N)	2	4	2	63

[0119]

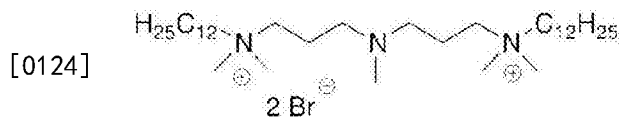
16	11,2,3A,2,11	3+ (3N)	1	2	2	16
17	12,2,3A,2,12	3+ (3N)	2	2	2	4
18	14,2,3A,2,14	3+ (3N)	2	2	2	8
19	16,2,3A,2,16	3+ (3N)	4	4	8	16
20	12,7,12	2+ (2N)	1	1	2	8
21	12,3,0,3,12	2+ (3N)	1	2	1	4
22	12,3,1,3,12	3+ (3N)	1	2	2	8
23	12,3,3A,3,12	3+ (3N)	1	2	2	4
24	12,3,4,3,12	3+ (3N)	1	1	1	2
25	12,3,Bn,3,12	3+ (3N)	1	1	1	2
26	12,3,Bn-8,3,12	3+ (3N)	1	1	1	4
27	12,3,12,3,12	3+ (3N)	0.5	1	1	4
28	N4-12,0,0,0	1+ (4N)	8	8	8	32
29	N4-14,0,0,0	1+ (4N)	16	16	32	125
30	N4-14,0,0,12	2+ (4N)	1	1	2	8
31	N4-12,0,0,12	2+ (4N)	1	1	1	4
32	N4-14,0,0,14	2+ (4N)	2	1	2	16
33	N4-12,3A,3A,12	4+ (4N)	1	1	1	2
34	N4-12,1,1,12	4+ (4N)	NT	NT	NT	NT
-	Bn,12	1+ (1N)	8	8	32	63

[0120] ^a化合物(12,2,1,2,12)显示适度的水溶性,并因此提供变化的MIC值。

[0121] 3. 示例性化合物(12,3,2,3,12)

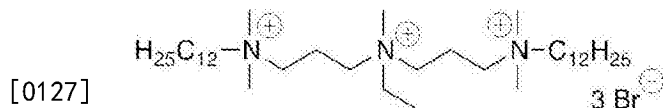
[0122] 示例性化合物(12,3,2,3,12)是经由两步法来制备。

[0123] 步骤1: 化合物(12,3,0,3,12)的制备



[0125] 向2,6,10-三甲基-2,6,10-三氮杂十一烷(2.77mL, 2.30g, 11.4mmol)于乙腈(2.0mL)中的溶液中添加1-溴十二烷(5.45mL, 5.66g, 22.7mmol)。将所得的无色溶液加热至回流持续48h,在此期间观察到金色糊状物。冷却之后,将己烷(~15mL)添加到反应混合物中。经由布氏漏斗过滤,得到金黄色凝胶,将其用冷己烷(~5mL)洗涤,得到呈金黄色凝胶状的化合物(12,3,0,3,12)(7.95g, ~100%)。

[0126] 步骤2: 化合物(12,3,2,3,12)的制备



12,3,2,3,12

[0128] 向半固体三甲醇氨基甲烷(12,3,0,3,12)(572.3mg, 0.818mmol)中添加溴乙烷(2mL, 26mmol)。将所得的浅黄色-橙色溶液在搅拌下温至回流持续22h,在此期间观察到白色沉淀。在添加冷丙酮(10mL)至仍温热的反应烧瓶中之后,经由布氏漏斗过滤沉淀,将其用冷丙酮(3mL)冲洗,之后在真空中干燥,得到呈白色粉末状的12,3,2,3,12(0.5438g, 82%),呈白色固体状; mp=217-219°C; ^1H NMR(300MHz, CDCl_3) δ 3.91(s, 4H), 3.79(s, 8H), 3.47-3.36(m, 17H), 2.58(s, 4H), 1.77(s, 4H), 1.50(t, 3H), 1.33-1.16(m, 36H), 0.86(t, 6H); ^{13}C NMR(75MHz, CDCl_3) δ 66.39, 61.18, 57.53, 51.04, 49.27, 31.86, 29.59, 29.51, 29.47, 29.28, 26.37, 22.96, 22.62, 18.32, 14.04, 9.02。

[0129] 化合物(12,3,2,3,12)已显示极佳的抗微生物活性。例如,所评估的每种细菌的MIC(以 μM 为单位)和MBEC的值如下:

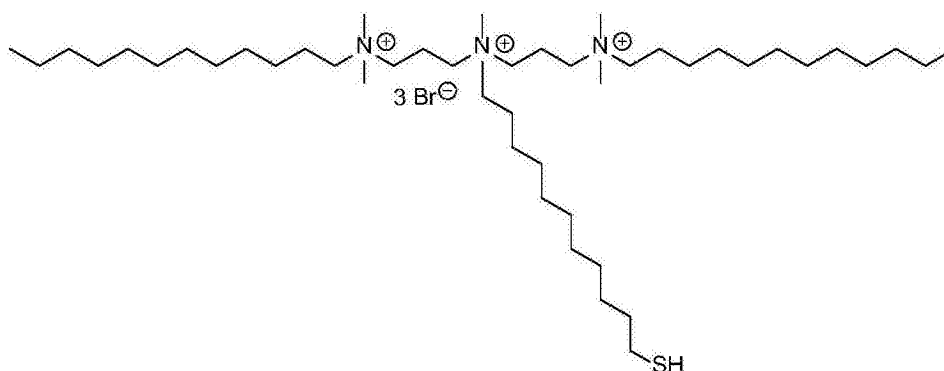
细菌	MIC (μM):
金黄色葡萄球菌 (SH1000)	0.5
粪肠球菌 (OG1RF)	0.5
大肠杆菌 (MC4100)	1
铜绿假单胞菌 (PA01)	2
CA-MRSA (USA300-0114)	0.5
[0130] HA-MRSA (ATCC33591)	1

细菌	MBEC (μM):
金黄色葡萄球菌	100
粪肠球菌	100
USA300-0114	100
Lysis20:	8

[0131] 在至少14天期间,在用化合物(12,3,2,3,12)连续传代的SH1000或USA300-0114的液体培养物中没有观察到耐药性。

[0132] 4. 示例性化合物(12,3,11-SH,3,12)

[0133] 具有下式的示例性化合物(12,3,11-SH,3,12)制备如下。



[0134]

[0135] 向11-溴-1-十一烷硫醇(0.1250g,0.4677mmol)于乙腈($\sim 1\text{mL}$)中的溶液中添加12,3,0,3,12(0.3273g,0.4538mmol)。将所得的无色溶液在氩气下在回流下加热1周。在2天和3天之后将乙腈(1mL)添加到反应烧瓶中以便于溶解。向温的反应混合物中添加冷己烷($\sim 6\text{mL}$),在此期间观察到微黄色沉淀。经由布氏漏斗过滤,得到微黄色非晶固体,将其用冷己烷($\sim 10\text{mL}$)洗涤,得到呈黄色非晶固体状的12,3,11-SH,3,12(0.170g,80%); ^1H NMR (300MHz, CDCl_3) δ 3.73(s, 8H), 3.42(s, 6H), 3.33-3.27(m, 15H), 3.09(s, 1H), 2.45-2.40(m, 6H), 1.72(s, 6H), 1.56-1.48(m, 6H), 1.29-1.19(m, 46H), 0.81(t, $J=6.5\text{Hz}$, 6H); ^{13}C NMR

(75MHz, CDCl₃) δ66.19, 66.02, 64.21, 61.55, 60.92, 58.07, 51.73, 51.18, 50.95, 50.02, 41.56, 33.94, 32.15, 31.83, 29.66, 29.57, 29.27, 28.96, 28.85, 28.27, 26.32, 24.55, 22.88, 22.59, 18.67, 18.29, 14.01; 高分辨率质谱(ESI)m/z 242.2514([M]³⁺; [C₄₆H₁₀₀N₃S]³⁺的计算值: 242.2541)。

[0136] 此化合物(12,3,11-SH,3,12)已显示极佳的抗微生物活性。例如,所评估的每种细菌的MIC(以μM为单位)和MBEC的值如下:

	细菌	MIC (μM):
[0137]	金黄色葡萄球菌	2
	粪肠球菌	2
	大肠杆菌	2
	铜绿假单胞菌	8
	USA300-0114	2
	ATCC 33591	2
	细菌	MBEC (μM):
	金黄色葡萄球菌	200
	粪肠球菌	>200
	USA300-0114	>200

[0138] 尽管已经根据示例性实施方案对主题进行了描述,但本发明并不局限于此。更确切地说,所附的权利要求将会更广泛地包括本领域技术人员可能做出的其他变型和实施方案。

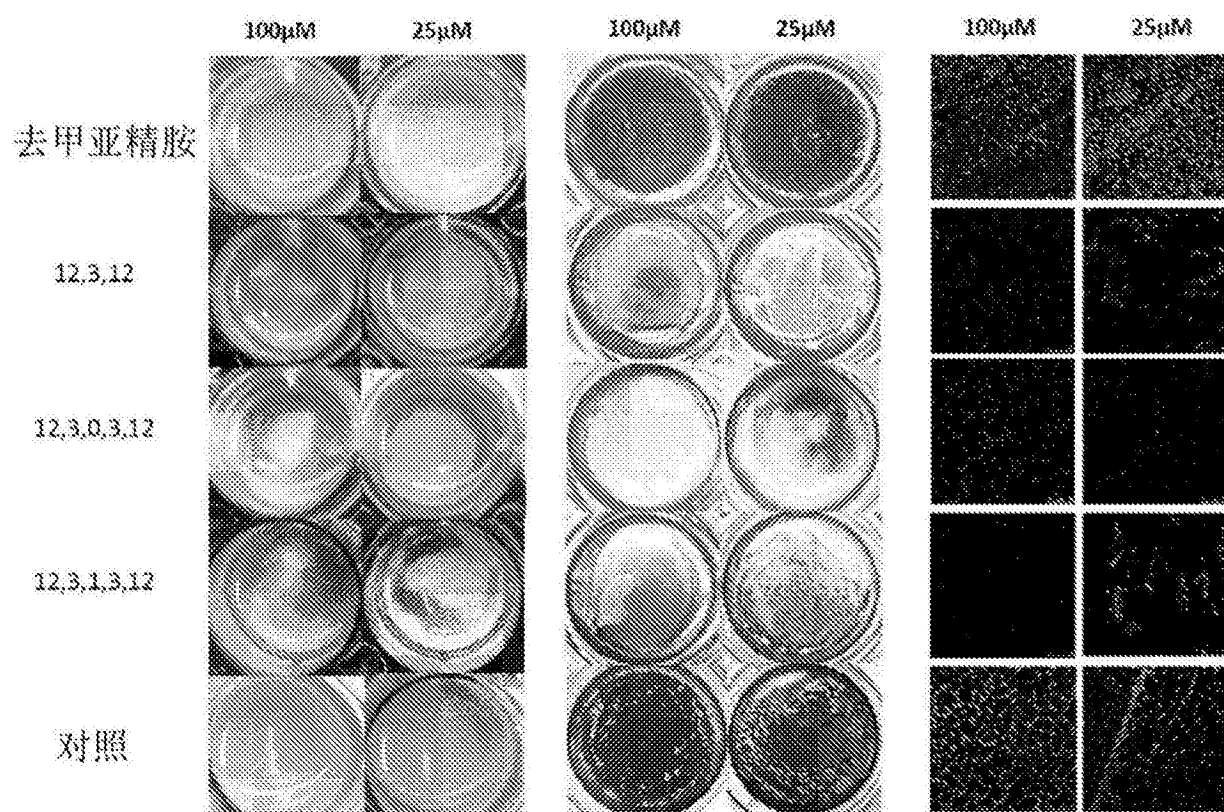


图3