



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 603 10 611 T2** 2007.10.25

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 1 569 700 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **603 10 611.0**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/EP03/13598**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **03 795 870.9**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 2004/050132**

(86) PCT-Anmeldetag: **02.12.2003**

(87) Veröffentlichungstag
der PCT-Anmeldung: **17.06.2004**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **07.09.2005**

(97) Veröffentlichungstag
der Patenterteilung beim EPA: **20.12.2006**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **25.10.2007**

(51) Int Cl.⁸: **A61L 27/34** (2006.01)

A61L 31/10 (2006.01)

G02B 1/04 (2006.01)

A61L 27/54 (2006.01)

(30) Unionspriorität:

430635 P **03.12.2002** **US**

(73) Patentinhaber:

Novartis AG, Basel, CH

(74) Vertreter:

**PFENNING MEINIG & PARTNER GbR, 80339
München**

(84) Benannte Vertragsstaaten:

**AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB,
GR, HU, IE, IT, LI, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK,
TR**

(72) Erfinder:

**CARNEY, Patricia, Fiona, Atlanta, GA 30329, US;
GABRIEL, M., Manal, Marietta, GA 30062, US;
MORRIS, Ann, Carol, Duluth, GA 30097, US;
LALLY, Martin, John, Lilburn, GA 30047, US**

(54) Bezeichnung: **Verfahren zur Herstellung von Acylphosphinen und deren Derivate**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft im Allgemeinen eine ophthalmische Vorrichtung mit einer antimikrobiellen Beschichtung darauf. Insbesondere betrifft die Erfindung eine ophthalmische Vorrichtung mit einer antimikrobiellen LbL-Beschichtung, die nicht kovalent an die ophthalmische Vorrichtung gebunden ist, und umfasst ein oder mehrere antimikrobielle Peptide. Zusätzlich stellt diese Erfindung ein Verfahren zur Herstellung einer ophthalmischen Vorrichtung mit einer antimikrobiellen Beschichtung bereit.

HINTERGRUND

[0002] Kontaktlinsen werden häufig einem oder mehreren Mikroorganismen während des Tragens, der Lagerung und Handhabung ausgesetzt. Sie können Oberflächen bereitstellen, auf denen die Mikroorganismen anhaften und dann proliferieren können, um eine Kolonie zu bilden. Mikrobielles Anhaften an Kontaktlinsen und Kolonisierung darauf kann es Mikroorganismen ermöglichen, zu proliferieren und auf der Okularoberfläche für längere Zeiträume zu verbleiben und dadurch Infektion oder eine andere verschlechternde Wirkung auf die Okulargesundheit des Auges, in dem die Linse verwendet wird, verursachen. Deshalb ist es erwünscht, verschiedene Bemühungen zu unternehmen, um das Potenzial für Mikroorganismusanhaftung an Kontaktlinsen und Kolonisierung darauf zu minimieren und/oder zu entfernen.

[0003] Viele Versuche wurden unternommen, um antimikrobielle medizinische Vorrichtungen zu entwickeln. Zwei Ansätze wurden vorgeschlagen. Ein Ansatz besteht darin, antimikrobielle Verbindungen in eine polymere Zusammensetzung zum Formen einer Kontaktlinse einzuarbeiten. Beispielsweise offenbart Chalkley et al. in Am. J. Ophthalmology 1966, 61: 866-869, dass germizide Mittel in Kontaktlinsen eingearbeitet wurden. US-Patent Nr. 4 472 327 offenbart, dass antimikrobielle Mittel zu dem Monomer vor der Polymerisation gegeben und in die Polymerstruktur der Linse eingebunden werden können. US-Patent Nrn. 5 358 688 und 5 536 861 offenbaren, dass Kontaktlinsen mit antimikrobiellen Eigenschaften aus quaternäre Ammoniumgruppe enthaltende Organosilikonpolymeren hergestellt werden können. Die Europäische Patentanmeldung EP 0 604 369 offenbart, dass Abscheidungs-resistente Kontaktlinsen aus hydrophilen Copolymeren hergestellt werden können, die auf Methacrylsäure-2-hydroxyethylestern und Comonomeren basieren, die eine quaternäre Ammoniumeinheit enthalten. Ein weiteres Beispiel ist ein Okularlinsenmaterial, offenbart in der Europäischen Patentanmeldung EP 0 947 856 A2, das ein quaternäre Phosphoniumgruppe-enthaltendes Polymer umfasst. Ein weiteres Beispiel ist US-Patent Nr. 5 515 117, das Kontaktlinsen und Kontaktlinsengehäuse offenbart, die aus Materialien hergestellt wurden, die Polymermaterialien und wirksame antimikrobielle Komponenten umfassen. Ein noch weiteres Beispiel ist US-Patent Nr. 5 213 801, das Kontaktlinsen offenbart, die aus Materialien hergestellt wurden, die ein Hydrogel und eine antimikrobielle Keramik umfassen, die mindestens ein Metall, ausgewählt aus Ag, Cu und Zn, enthalten. Es gibt einige Nachteile, die mit diesem Ansatz zur Herstellung von antimikrobiellen Kontaktlinsen verbunden sind. Erstens können polymere Zusammensetzungen mit antimikrobiellen Eigenschaften nicht alle für Kontaktlinsen erwünschten Eigenschaften besitzen, insbesondere Kontaktlinsen zum längeren Tragen, was deren praktische Anwendung behindert. Zweitens können antimikrobielle Verbindungen stark verminderte Wirksamkeit zeigen, da sie nicht in Kontakt mit an der Oberfläche von Kontaktlinsen anhaftenden Mikroorganismen sind.

[0004] Ein weiterer Ansatz zur Herstellung von antimikrobiellen medizinischen Vorrichtungen besteht darin, antimikrobielle Beschichtungen zu bilden, die auslaugbare oder kovalent gebundene antimikrobielle Mittel auf medizinischen Vorrichtungen enthalten. Antimikrobielle Beschichtungen, die auslaugbare antimikrobielle Mittel enthalten, können keine antimikrobielle Wirksamkeit über den Anwendungszeitraum auf dem Gebiet des menschlichen Körpers bereitstellen. Im Gegensatz dazu können antimikrobielle Beschichtung enthaltende, kovalent gebundene, antimikrobielle Mittel antimikrobielle Wirksamkeit über einen relativ längeren Zeitraum bereitstellen. Jedoch können antimikrobielle Verbindungen in solchen Beschichtungen stark verminderte Wirksamkeit zeigen, wenn mit der Wirksamkeit von den ungebundenen, entsprechenden antimikrobiellen Verbindungen in Lösung verglichen wird, sofern nicht durch hydrolytischen Abbau von entweder den gebundenen antimikrobiellen Verbindungen oder der Beschichtung selbst unterstützt.

[0005] Gegenwärtig wird eine Vielzahl von antimikrobiellen Mitteln vorgeschlagen, die als Beschichtungen für Kontaktlinsen zu verwenden sind (siehe beispielsweise US-Patent Nr. 5 328 954). Bislang bekannte antimikrobielle Beschichtungen schließen Antibiotika, Lactoferrin, Metall-chelatisierende Mittel, substituierte und unsubstituierte mehrwertige Phenole, Aminophenole, Alkohole, Säure- und Aminderivate und quaternäre Ammoniumgruppe-enthaltende Verbindungen ein. WO 01/56627 A1 und WO 02/064183 A1 offenbaren medizinische Vorrichtungen, die mit antimikrobiellen Peptiden beschichtet wurden. Jedoch haben solche antimikrobiellen Beschichtungen Nachteile und sind unbefriedigend. Die Überverwendung von Antibiotika kann zum Wachsen

von antibiotisch resistenten Mikroorganismen führen. Andere Beschichtungen können kein breites Spektrum von antimikrobieller Wirksamkeit aufweisen, können Okulartoxizität oder allergische Reaktionen erzeugen oder können die Linseneigenschaften, die corneale Gesundheit gewährleisten und die Patienten mit guter Sicht und Komfort versehen sollen, negativ beeinträchtigen.

[0006] Deshalb gibt es einen Bedarf für antimikrobielle Beschichtungen, die hohe bakterizide Wirksamkeit und ein breites antimikrobielles Wirkungsspektrum, verbunden mit niedriger Zytotoxizität, bereitstellen kann. Es gibt auch einen Bedarf für neue Kontaktlinsen mit antimikrobiellen Beschichtungen, die hohe bakterizide Wirksamkeit, ein breites Spektrum von antimikrobiellen Wirksamkeiten und minimale Nebenwirkungen auf die Okulargesundheit des Trägers und den Komfort aufweisen. Solche Kontaktlinsen können erhöhte Sicherheit als Kontaktlinsen zum längeren Tragen aufweisen, die Komfort, Bequemlichkeit und Sicherheit bereitstellen könnten.

[0007] Darüber hinaus verbleibt durch Chirurgie und Gerätebedingte Infektion eine der hauptsächlichen klinischen und wirtschaftlichen Herausforderungen auf dem Gebiet von medizinischen Vorrichtungen und in der Gesundheitsindustrie im Allgemeinen. Jedes Jahr entwickeln mehr als 2 Millionen Krankenhauspatienten in den USA nosokomiale Infektionen und ungefähr 80 % von den 80 000 jährlichen Todesfällen aufgrund nosokomialer Infektionen sind Vorrichtungsbedingt. Eine starke und kostenwirksame antimikrobielle Beschichtung für medizinische Vorrichtungen würde wesentlich sein, um die infektionsbedingten klinischen Herausforderungen und wirtschaftlichen Lasten der Gesundheitsfürsorge zu mildern.

[0008] Eine Aufgabe der Erfindung ist es, eine antimikrobielle Beschichtung bereitzustellen, die eine hohe antimikrobielle Wirksamkeit, verbunden mit niedriger Zytotoxizität, aufweist.

[0009] Eine weitere Aufgabe der Erfindung ist es, eine medizinische Vorrichtung mit einer antimikrobiellen Beschichtung bereitzustellen, die eine hohe antimikrobielle Wirksamkeit, verbunden mit niedriger Zytotoxizität, aufweist.

[0010] Eine weitere Aufgabe der Erfindung ist es, ein kostenwirksames und effizientes Verfahren zum Bilden einer antimikrobiellen Beschichtung auf einer medizinischen Vorrichtung bereitzustellen.

KURZDARSTELLUNG DER ERFINDUNG

[0011] Diese und andere Aufgaben der Erfindung werden durch die verschiedenen Aspekte der hierin beschriebenen Erfindung gelöst.

[0012] Die Erfindung stellt in einem Aspekt eine ophthalmische Vorrichtung bereit, umfassend: eine LbL-Beschichtung, die nicht kovalent an die ophthalmische Vorrichtung gebunden ist, wobei die LbL-Beschichtung zusammengesetzt ist aus (i) mindestens einer Schicht von einem ersten polyionischen Material, oder (ii) mindestens einer Schicht von dem ersten polyionischen Material, das nicht kovalent an die Oberfläche der ophthalmischen Vorrichtung gebunden ist und mindestens einer Schicht von einem zweiten polyionischen Material mit Ladungen, entgegengesetzt zu den Ladungen des ersten polyionischen Materials, wobei die ersten und zweiten polyionischen Materialien, unabhängig voneinander, funktionelle Gruppen aufweisen, die reaktive Stellen bereitstellen; und wobei eine Peptidschicht von einem oder mehreren antimikrobiellen Peptiden kovalent an die LbL-Beschichtung durch die reaktiven Stellen gebunden ist.

[0013] Die Erfindung stellt in einem weiteren Aspekt eine ophthalmische Vorrichtung mit einer antimikrobiellen LbL-Beschichtung bereit, die nicht kovalent an die ophthalmische Vorrichtung gebunden ist, worin die antimikrobielle Beschichtung umfasst: (i) mindestens eine kationische Schicht von einem Gemisch, das ein positiv geladenes polyionisches Material und mindestens ein antimikrobielles Peptid einschließt; (ii) mindestens eine anionische Schicht von einem negativ geladenen polyionischen Material.

[0014] Die Erfindung stellt in einem weiteren Aspekt ein Verfahren zum Bilden einer antimikrobiellen LbL-Beschichtung auf einer ophthalmischen Vorrichtung bereit, umfassend die Schritte von: a) Auftragen einer LbL-Beschichtung auf die Oberfläche der ophthalmischen Vorrichtung, wobei die LbL-Beschichtung zusammengesetzt ist aus (i) mindestens einer Schicht aus einem ersten polyionischen Material, das nicht kovalent an die Oberfläche der ophthalmischen Vorrichtung gebunden ist, oder (ii) mindestens einer Schicht von dem ersten polyionischen Material, das nicht kovalent an die Oberfläche der ophthalmischen Vorrichtung gebunden ist, und mindestens einer Schicht aus einem zweiten polyionischen Material mit Ladungen, entgegengesetzt zu den Ladungen des ersten polyionischen Material, wobei die ersten und zweiten polyionischen Materialien

unabhängig voneinander funktionelle Gruppen aufweisen, die reaktive Stellen bereitstellen; und b) kovalentes Binden einer Schicht von einem oder mehreren antimikrobiellen Peptiden an die LbL-Beschichtung über die reaktiven Stellen.

[0015] Die Erfindung stellt in einem weiteren Aspekt ein Verfahren zum Bilden einer antimikrobiellen LbL-Beschichtung auf einer ophthalmischen Vorrichtung bereit. Das Verfahren umfasst abwechselnd Auftragen einer positiv geladenen Schicht von einem Gemisch, das ein polykationisches Material und mindestens einem antimikrobiellen Peptid einschließt, und einer negativ geladenen Schicht von einem polyanionischen Material auf eine ophthalmische Vorrichtung, um die antimikrobielle LbL-Beschichtung zu bilden.

[0016] Diese und andere Aspekte der Erfindung werden aus der nachstehenden Beschreibung der gegenwärtig bevorzugten Ausführungsformen deutlich. Die genauere Beschreibung ist für die Erfindung nur veranschaulichend und begrenzt den Umfang der Erfindung nicht, welcher durch die beigefügten Ansprüche und Äquivalente davon definiert ist. Wie für den Fachmann augenscheinlich, können viele Variationen und Modifizierungen der Erfindung, ohne vom Erfindungsgedanken und Umfang der neuen Konzepte der Offenbarung abzuweichen, erfolgen.

BESCHREIBUNG VON BEVORZUGTEN AUSFÜHRUNGSFORMEN IM EINZELNEN

[0017] Sofern nicht anders ausgewiesen, haben alle technischen und wissenschaftlichen Begriffe, die hierin verwendet werden, die gleiche Bedeutung, wie sie üblicherweise durch den Durchschnittsfachmann, für den diese Erfindung gedacht ist, verstanden wird. Im Allgemeinen sind die hierin verwendete Nomenklatur und Arbeitsverfahren gut bekannt und werden üblicherweise auf dem Fachgebiet angewendet. Übliche Methoden werden für diese Verfahren verwendet, wie jene, die auf dem Fachgebiet und in verschiedenen allgemeinen Literaturstellen bereitgestellt werden. Wenn ein Begriff in der Einzahl angegeben wird, erwägen die Erfinder auch den Plural von jenem Begriff. Die hierin verwendete Nomenklatur und die nachstehend beschriebenen Arbeitsverfahren sind dem Fachmann gut bekannt und werden üblicherweise auf dem Fachgebiet angewendet. Wie durch die Offenbarung angewendet, sollen die nachstehenden Begriffe, sofern nicht anders ausgewiesen, so verstanden werden, dass sie die nachstehenden Bedeutungen aufweisen.

[0018] Ein „Gegenstand“ bezieht sich auf eine ophthalmische Linse, eine Form zur Herstellung einer ophthalmischen Linse oder eine medizinische Vorrichtung, die sich von einer ophthalmischen Linse unterscheidet.

[0019] Eine wie hierin verwendete „medizinische Vorrichtung“ bezieht sich auf eine Vorrichtung oder einen Teil davon mit einer oder mehreren Oberflächen, die mit Gewebe, Blut oder anderen Körperflüssigkeiten von Patienten im Verlauf von deren Operation oder Versorgung in Kontakt stehen. Beispielhafte medizinische Vorrichtungen schließen ein: (1) extrakorporale Vorrichtungen zur Verwendung in der Chirurgie, wie Blutsauerstoffzuführer, Blutpumpen, Blutsensoren, Schläuche, die zum Bluttransport und dergleichen verwendet werden, die mit Blut in Kontakt stehen, welches dann zu dem Patienten zurückgeführt wird; (2) in einen menschlichen oder tierischen Körper implantierte Prothesen, wie Gefäßtransplantate, Stents, Schrittmacherkabel, Herzklappen und dergleichen, die in Blutgefäße oder in das Herz implantiert werden; (3) Vorrichtungen zur temporären intravaskulären Verwendung, wie Katheter, Führungsdrähte und dergleichen, die in Blutgefäße oder das Herz für Zwecke des Verfolgens oder Reparierens angeordnet sind; (4) künstliche Gewebe, wie künstliche Haut für Verbrennungspatienten; (5) Zahnpflegemittel, dentale Formlinge; (6) ophthalmische Vorrichtungen. In einer bevorzugten Ausführungsform sind medizinische Vorrichtungen ophthalmische Vorrichtungen und (7) Gefäße oder Behälter zum Lagern von ophthalmischen Vorrichtungen oder ophthalmischen Lösungen.

[0020] Wie hierin verwendet, bezieht sich eine „ophthalmische Vorrichtung“ auf eine Kontaktlinse (hart oder weich), eine Intraokularlinse, ein corneales Onlay, andere ophthalmische Vorrichtungen (beispielsweise Stents, Glaucom-Shunt oder dergleichen), die auf oder über dem Auge oder okularer Nachbarschaft verwendet werden.

[0021] „Biokompatibel“, wie hierin verwendet, bezieht sich auf ein Material oder eine Oberfläche von einem Material, das in innigem Kontakt mit Gewebe, Blut oder anderen Körperflüssigkeiten von einem Patienten für einen längeren Zeitraum, ohne wesentliches Schädigen der Okularumgebung und ohne wesentlichen Verbrauchernachteil, sein kann.

[0022] „Ophthalmisch kompatibel“, wie hierin verwendet, bezieht sich auf ein Material oder eine Oberfläche von einem Material, das in innigem Kontakt mit der okularen Umgebung für einen längeren Zeitraum, ohne we-

sentliches Schädigen der Okularumgebung und ohne wesentlichen Anwendernachteil, sein kann. Somit wird eine ophthalmisch kompatible Kontaktlinse kein signifikantes corneales Quellen erzeugen, wird sich hinreichend auf dem Auge mit dem Blinzeln bewegen, um hinreichenden Tränen austausch zu liefern, wird keine wesentlichen Mengen an Protein- oder Lipidadsorption aufweisen und wird keinen wesentlichen Trägernachteil während des vorgeschriebenen Tragezeitraums verursachen.

[0023] „Okularumgebung“, wie hierin verwendet, bezieht sich auf Okularfluids (beispielsweise Tränenfluid) und Okulargewebe (beispielsweise die Cornea), die in innigem Kontakt mit der für die Sichtkorrektur, Arzneistoffabgabe, Wundheilung, Augenfarbemodifizierung oder anderen ophthalmischen Anwendungen verwendeten Kontaktlinse kommen.

[0024] Ein „Monomer“ bedeutet eine Verbindung mit niederem Molekulargewicht, die polymerisiert werden kann. Typischerweise bedeutet niederes Molekulargewicht mittlere Molekulargewichte von weniger als 700 Dalton.

[0025] Ein „Makromer“ bezieht sich auf mittlere und hochmolekulargewichtige Verbindungen oder Polymere, die funktionelle Gruppen enthalten, die zur weiteren Polymerisation in der Lage sind. Mittleres und hohes Molekulargewicht bedeutet typischerweise mittlere Molekulargewichte größer als 700 Dalton.

[0026] „Polymer“ bedeutet ein Material, das durch Polymerisieren von einem oder mehreren Monomeren gebildet wird.

[0027] „Oberflächenmodifizierung“, wie hierin verwendet, bezieht sich auf das Behandeln eines Gegenstands, um seine Oberflächeneigenschaften zu verändern. Beispielsweise schließt die Oberflächenmodifizierung einer Kontaktlinse, ohne Begrenzung, das Pfropfen von Monomeren oder Makromeren auf die Polymere, um die Linse biokompatibel, Abscheidungs-resistent, hydrophiler, hydrophober, zu machen oder das Abscheiden von polyionischen Materialien (LbL-Beschichtung), um die hydrophilen Linseneigenschaften zu erhöhen oder um antimikrobielle oder antifungale Eigenschaften zu verleihen, ein.

[0028] „LbL-Beschichtung“, wie hierin verwendet, bezieht sich auf eine Beschichtung, die nicht kovalent an eine medizinische Vorrichtung gebunden ist und wird durch eine Schicht-um-Schicht- („LbL“-) Abscheidung von polyionischen Materialien auf einen Gegenstand erhalten. Beliebige geeignete Polyelektrolyt-Abscheidungstechniken können in der LbL-Beschichtung verwendet werden. Beispielsweise offenbart WO 99/35520 eine LbL-Polyelektrolyt-Abscheidungstechnik, die aufeinander folgendes Tauchen eines Substrats in entgegengesetzt geladene polyionische Materialien beinhaltet, bis eine Beschichtung von einer gewünschten Dicke gebildet wird.

[0029] Wie hierin verwendet, bezieht sich „asymmetrische Beschichtung“ auf einer ophthalmischen Linse auf die verschiedenen Beschichtungen auf der ersten Oberfläche und der entgegengesetzten zweiten Oberfläche der ophthalmischen Linse. Wie hierin verwendet, bezieht sich „verschiedene Beschichtungen“ auf zwei Beschichtungen, die verschiedene Oberflächeneigenschaften oder Funktionalitäten aufweisen.

[0030] Der Begriff „Doppelschicht“ wird hierin in einem breiten Sinn verwendet und ist vorgesehen, eine Beschichtungsstruktur, die durch Auftragen von einer Schicht von einem ersten polyionischen Material und anschließend einer Schicht von einem zweiten polyionischen Material mit Ladungen, entgegengesetzt zu den Ladungen des ersten polyionischen Materials, gebildet werden, zu umfassen. Es sollte selbstverständlich sein, dass die Schichten von dem ersten und zweiten polyionischen Material miteinander in der Doppelschicht verwickelt sein können.

[0031] Eine wie hierin verwendete „innerste Schicht“ bezieht sich auf die erste Schicht von einer LbL-Beschichtung, die auf die Oberfläche einer medizinischen Vorrichtung aufgetragen wird.

[0032] Eine wie hierin verwendete „Deckschicht“ bezieht sich auf die letzte Schicht eines Beschichtungsmaterials, die auf die Oberfläche einer medizinischen Vorrichtung aufgetragen wird.

[0033] Ein wie hierin verwendetes „Polyquat“ bezieht sich auf eine polymere, quaternäre Ammoniumgruppen enthaltende Verbindung.

[0034] Ein „geladenes Polymermaterial“ oder ein „polyionisches Material“ bezieht sich auf ein geladenes Polymer, das eine Vielzahl von geladenen Gruppen in einer Lösung aufweist, oder ein Gemisch von geladenen

Polymere, wobei jedes davon eine Vielzahl von geladenen Gruppen in einer Lösung aufweist. Beispielhafte geladene Polymere schließen Polyelektrolyte, p- und n-Typ dotierte, leitende Polymere ein. Geladene Polymermaterialien schließen sowohl polykationische (mit positiven Ladungen) als auch polyanionische (mit negativen Ladungen) Polymermaterialien ein.

[0035] Ein „antimikrobielles Mittel“, wie hierin verwendet, bezieht sich auf eine Chemikalie, die das Wachstum von Mikroorganismen senken oder entfernen oder hemmen kann, wie der Begriff auf dem Fachgebiet bekannt ist.

[0036] Ein „Mittelwert des Reibungskoeffizienten“ bezieht sich auf einen Wert, der durch Durchschnittsmessungen von mindestens 3 einzelnen medizinischen Vorrichtungen, wie in Beispiel 1 beschrieben, erhalten wird.

[0037] Ein „mittlerer Kontaktwinkel“ bezieht sich auf einen Kontaktwinkel (Sessile Drop), der durch Mitteln von Messwerten von mindestens 3 einzelnen medizinischen Vorrichtungen erhalten wird.

[0038] Wie hierin verwendet, bedeutet „erhöhte Oberflächenhydrophilizität“ oder „erhöhte Hydrophilizität“, in Bezug auf eine beschichtete ophthalmische Vorrichtung, dass die beschichtete ophthalmische Vorrichtung einen verminderten mittleren Kontaktwinkel, verglichen mit einer unbeschichteten medizinischen Vorrichtung, aufweist.

[0039] Die Begriffe „Polypeptid“, „Peptid“ oder „Protein“ werden hierin untereinander austauschbar verwendet, um eine lineare Reihe von Aminosäureresten, die durch Peptidbindungen zwischen den α -Amino- und Carboxygruppen von benachbarten Resten miteinander verbunden sind, zu bezeichnen. Sequenzen werden üblicherweise von dem Aminoterminus an dem Carboxylterminus angegeben. Aminosäurekomponenten können von der D- oder der L-Konfiguration sein. Sofern nicht anders ausgewiesen, sind die Aminosäuren L-Aminosäuren. Wenn alle Komponenten Aminosäuren von der L-Konfiguration sind, wird das Peptid als ein L-Enantiomer bezeichnet. Wenn alle Aminosäuren in einem Peptid in der D-Konfiguration vorliegen, wird das Peptid als ein D-Enantiomer bezeichnet.

[0040] „Aminosäure“ wird in ihrem breitesten Sinne verwendet, um natürlich vorkommende Aminosäuren sowie nicht natürlich vorkommende Aminosäuren, einschließlich Aminosäureanaloge, einzuschließen. Im Hinblick auf diese breite Definition würde ein Fachmann wissen, dass Bezug hierin auf eine Aminosäure, beispielsweise natürlich vorkommende proteogene (L)-Aminosäuren, (D)-Aminosäuren, chemisch modifizierte Aminosäuren, wie Aminosäureanaloge, natürlich vorkommende nicht proteogene Aminosäuren, wie Norleucin, und chemisch synthetisierte Verbindungen mit auf dem Fachgebiet bekannten Eigenschaften, die für eine Aminosäure charakteristisch sind, ergeht. Wie hierin verwendet, weist der Begriff „proteogen“ aus, dass die Aminosäure in ein Protein in einer Zelle durch einen metabolischen Pathway eingebaut werden kann.

[0041] Der Begriff „konservative Substitution“ wird in Bezug auf Proteine oder Peptide verwendet, um Aminosäuresubstitutionen widerzuspiegeln, die die Wirksamkeit (beispielsweise antimikrobielle Wirksamkeit) des Moleküls im Wesentlichen nicht verändern. Typischerweise beinhalten konservative Aminosäuresubstitutionen Substitution einer Aminosäure gegen eine weitere Aminosäure mit ähnlichen chemischen Eigenschaften (beispielsweise Ladung oder Hydrophobizität). Die nachstehenden sechs Gruppen enthalten jeweils Aminosäuren, die typische konservative Substitutionen füreinander aufweisen: 1) Alanin (A), Serin (S), Threonin (T); 2) Asparaginsäure (D), Glutaminsäure (E); 3) Asparagin (N), Glutamin (Q); 4) Arginin (R), Lysin (K); 5) Isoleucin (I), Leucin (L), Methionin (M), Valin (V); und 6) Phenylalanin (F), Tyrosin (Y), Tryptophan (W).

[0042] Die Bezeichnungen von Aminosäureresten, auf die hierin Bezug genommen wird, wie durch die IUPAC-IUB Biochemical Nomenclature Commission, sind in Tabelle 1 aufgelistet.

TABELLE 1

Aminosäure	Symbol	
	Drei Buchstaben	Ein Buchstabe
Alanin	Ala	A
Arginin	Arg	R
Asparagin	Asn	N
Asparaginsäure	Asp	D
Cystein	Cys	C
Glutamin	Gln	Q
Glutaminsäure	Glu	E
Glycin	Gly	G
Histidin	His	H
Isoleucin	Ile	I
Leucin	Leu	L
Lysin	Lys	K
Methionin	Met	M
Phenylalanin	Phe	F
Prolin	Pro	P
Serin	Ser	S
Threonin	Thr	T
Tryptophan	Trp	W
Tyrosin	Tyr	Y
Valin	Val	V

[0043] "MIC" (Minimale Inhibitor-Konzentration) ist die minimale Konzentration, die erforderlich ist, um das Wachstum von bakteriellen Zellen in flüssigem Medium zu verhindern.

[0044] Im Allgemeinen ist die vorliegende Erfindung auf eine medizinische Vorrichtung, vorzugsweise eine ophthalmische Vorrichtung, bevorzugter eine Kontaktlinse, mit einem Kernmaterial und einer antimikrobiellen LbL-Beschichtung, die darauf gebildet wird, sowie ein Verfahren zur Herstellung derselben gerichtet.

[0045] Gemäß der vorliegenden Erfindung kann das Kernmaterial einer medizinischen Vorrichtung von einer beliebigen breiten Vielzahl von Polymermaterialien sein. Beispielhafte Kernmaterialien schließen ein, sind jedoch nicht darauf begrenzt, Hydrogele, Silikon-enhaltende Hydrogele, Polymere und Copolymere von Styrol und substituierten Styrolen, Ethylen, Propylen, Acrylaten und Methacrylaten, N-Vinylactamen, Acrylamiden und Methacrylamiden, Acrylnitril, Acryl- und Methacrylsäuren.

[0046] Eine bevorzugte Gruppe von zu beschichtenden Kernmaterialien sind jene, die üblicherweise bei der Herstellung von biomedizinischen Vorrichtungen verwendet werden, beispielsweise Kontaktlinsen, insbesondere Kontaktlinsen zum längeren Tragen, die an sich nicht hydrophil sind. Solche Materialien sind dem Fachmann bekannt und können beispielsweise Polysiloxane, Perfluoralkylpolyether, fluorierte Poly(meth)acrylate oder äquivalente fluorierte Polymere, abgeleitet beispielsweise von anderen polymerisierbaren Carbonsäuren, Polyalkyl(meth)acrylaten oder äquivalenten Alkylesterpolymeren, abgeleitet von anderen polymerisierbaren Carbonsäuren, oder fluorierte Polyolefine, wie fluoriertes Ethylen oder Propylen, beispielsweise Tetrafluorethylen, vorzugsweise in Kombination mit speziellen Dioxolen, wie Perfluor-2,2-dimethyl-1,3-dioxol, umfassen. Beispiele für geeignete Massematerialien sind z.B. Lotafilcon A, Neofacon, Pasifacon, Telefacon, Silafacon, Fluorsilfocon, Paflufocon, Silafacon, Elastofilcon, Fluorofacon oder Teflon-AF-Materialien, wie Teflon AF 1600 oder Teflon AF 2400, die Copolymere von etwa 63 bis 73 Mol % von Perfluor-2,2-dimethyl-1,3-dioxol und etwa 37 bis 27 Mol % Tetrafluorethylen, oder von etwa 80 bis 90 Mol % Perfluor-2,2-dimethyl-1,3-dioxol und etwa 20 bis 10 Mol % Tetrafluorethylen, darstellen.

[0047] Eine weitere Gruppe von bevorzugten, zu beschichtenden Kernmaterialien sind amphiphil segmentierte Copolymere, die mindestens ein hydrophobes Segment und mindestens ein hydrophiles Segment, welche durch eine Bindung oder ein Brückenglied verbunden sind, umfassen. Beispiele sind Silikonhydrogele, beispielsweise jene, offenbart in den PCT-Anmeldungen WO 96/31792, von Nicolson et al., und WO 97/49740,

von Hirt et al.

[0048] Eine besonders bevorzugte Gruppe von zu beschichtenden Kernmaterialien umfasst organische Polymere, ausgewählt aus Polyacrylaten, Polymethacrylaten, Polyacrylamiden, Poly(N,N-dimethylacrylamiden), Polymethacrylamiden, Polyvinylacetaten, Polysiloxanen, Perfluoralkylpolyethern, fluorierten Polyacrylaten oder -methacrylaten, und amphiphilen segmentierten Copolymeren, die mindestens ein hydrophobes Segment umfassen, beispielsweise ein Polysiloxan- oder Perfluoralkylpolyethersegment oder ein gemischtes Polysiloxan/Perfluoralkylpolyethersegment, und mindestens ein hydrophiles Segment, beispielsweise ein Polyoxazolin, Poly(2-hydroxyethylmethacrylat), Polyacrylamid, Poly(N,N-dimethylacrylamid), Polyvinylpyrrolidon, Polyacryl- oder Polymethacrylsäuresegment oder ein copolymeres Gemisch von zwei oder mehreren der darunter liegenden Monomere.

[0049] Das zu beschichtende Kernmaterial kann auch jedes mit Blut in Kontakt stehende Material, das üblicherweise für die Herstellung von Nierendialysemembranen, Blutlagerungsbeuteln, Pacemaker-(Herzschrittmacher)leitungen oder vaskulären Pfropfungen verwendet wird, sein. Beispielsweise kann das auf seiner Oberfläche zu modifizierende Material ein Polyurethan-, Polydimethylsiloxan-, Polytetrafluorethylen-, Polyvinylchlorid-, DacronTM- oder SilasticTM-Typ-Polymer oder ein daraus hergestelltes Composit sein.

[0050] Darüber hinaus kann das zu beschichtende Kernmaterial auch ein anorganisches oder Metallgrundmaterial ohne geeignete reaktive Gruppen sein, z.B. Keramik, Quarz oder Metalle, wie Silizium oder Gold, oder andere polymere oder nicht-polymere Substrate, beispielsweise für implantierbare biomedizinische Anwendungen, sind Keramiken sehr verwendbar. Zusätzlich kann erwartet werden, dass beispielsweise für Biosensorzwecke hydrophil beschichtete Grundmaterialien nichtspezifische Bindungswirkungen vermindern, wenn die Struktur der Beschichtung gut gesteuert wird. Biosensoren können eine spezielle Kohlenhydratbeschichtung auf Gold, Quarz oder anderen nichtpolymeren Substraten erfordern.

[0051] Das zu beschichtende Kernmaterial kann unter Auftragen einer antimikrobiellen Beschichtung einer Oberflächenmodifizierung unterzogen werden.

[0052] Die Form des zu beschichtenden Kernmaterials kann innerhalb breiter Grenzen variieren. Beispiele sind Teilchen, Granulate, Kapseln, Fasern, Röhren, Filme oder Membranen, vorzugsweise Formlinge von allen Arten, wie ophthalmische Formlinge, beispielsweise Intraokularlinsen, künstliche Cornea oder insbesondere Kontaktlinsen.

[0053] Eine erfindungsgemäße antimikrobielle Beschichtung kann eine erhöhte Oberflächenhydrophilizität und eine relativ hohe antimikrobielle Wirksamkeit, verbunden mit niedriger Zytotoxizität, bereitstellen. Sie hat minimale negative Wirkungen auf die erwünschten Masseneigenschaften der Linse, wie Sauerstoffpermeabilität, Ionenpermeabilität und optische Eigenschaften. Eine erfindungsgemäße antimikrobielle Beschichtung kann insbesondere bei Kontaktlinsen zum längeren Tragen verwendet werden.

[0054] Gemäß einem Aspekt der Erfindung umfasst eine antimikrobielle Beschichtung der Erfindung: eine LbL-Beschichtung, die nicht kovalent an die medizinische Vorrichtung gebunden ist, wobei die LbL-Beschichtung nicht kovalent an die ophthalmische Vorrichtung gebunden ist und zusammengesetzt ist aus (i) mindestens einer Schicht aus einem ersten polyionischen Material, das nicht kovalent an die Oberfläche der ophthalmischen Vorrichtung gebunden ist, oder (ii) mindestens einer Schicht von dem ersten polyionischen Material, das nicht kovalent an die Oberfläche der ophthalmischen Vorrichtung gebunden ist, und mindestens einer Schicht aus einem zweiten polyionischen Material mit Ladungen, entgegengesetzt zu den Ladungen des ersten polyionischen Materials, wobei die ersten und zweiten polyionischen Materialien unabhängig voneinander funktionelle Gruppen aufweisen, die reaktive Stellen bereitstellen; und eine Peptidschicht von einem oder mehreren antimikrobiellen Peptiden, die kovalent an die LbL-Beschichtung über die reaktiven Stellen gebunden sind.

[0055] Gemäß einem weiteren Aspekt der Erfindung umfasst eine erfindungsgemäße antimikrobielle Beschichtung: (i) mindestens eine kationische Schicht aus einem Gemisch, das ein positiv geladenes polyionisches Material und mindestens ein antimikrobielles Peptid einschließt; (ii) mindestens eine anionische Schicht von einem negativ geladenen polyionischen Material.

[0056] Antimikrobielle Peptide haben gemeinsame Strukturmerkmale, einschließlich einer kationischen Nettoladung, aufgrund des Vorliegens von mehrfach geladenen Resten (Arg, Lys), das Vorliegen von mehrfachen Cysteinresten, und in den meisten Fällen die Fähigkeit, amphipathische Strukturen zu bilden. Die antimikrobi-

ellen Peptide können in eine Vielzahl von Gruppen, basierend auf ihrem Aminosäuregehalt, der Struktur und Quelle, unterteilt werden. Verschiedene Übersichtsartikel von verschiedenen Klassen von diesen Peptiden wurden kürzlich veröffentlicht (siehe beispielsweise Lehrer & Ganz (1966) *Annal. N.Y. Acad Sci.*, 797: 228-239; Maloy & Kari (1995) *Biopolymers*, 37: 105-122).

[0057] Gemäß der vorliegenden Erfindung können beliebige bekannte antimikrobielle Peptide, die relativ wirksame antimikrobielle Wirksamkeiten aufweisen, obwohl sie niedere Zytotoxizität haben, in der Erfindung verwendet werden. Ein antimikrobielles Peptid kann jenes sein, ausgewählt aus der Gruppe, bestehend aus Cecropin A Melittinhybrid, Indolicidin, Lactoferricin, Defensin 1, Bactenecin (Rind), Magainin 2, Mutacin 1140, funktionell äquivalenten oder überlegenen Analoge davon und Gemischen davon. Das antimikrobielle Peptid kann eine Gruppe -COOH oder NH₂ in dem C-Ende des Peptids aufweisen. Vorzugsweise ist ein antimikrobielles Peptid Cecropin A Melittinhybrid oder Indolicidin.

[0058] Cecropin A Melittinhybrid hat eine Aminosäuresequenz von Lys-Trp-Lys-Leu-Phe-Lys-Lys-Ile-Gly-Ala-Val-Leu-Lys-Val-Leu-COOH (oder -NH₂).

[0059] Cecropin A ist ein Peptid mit 37 Resten und hat eine Aminosäuresequenz von Lys-Trp-Lys-Leu-Phe-Lys-Lys-Ile-Glu-Lys-Val-Gly-Gln-Asn-Ile-Arg-Asp-Gly-Ile-Ile-Lys-Ala-Gly-Pro-Ala-Val-Ala-Val-Val-Gly-Gln-Ala-Thr-Gln-Ile-Ala-Lys-NH₂ (oder -COOH).

[0060] Cecropin P1 hat eine Aminosäuresequenz von Ser-Trp-Leu-Ser-Lys-Thr-Ala-Lys-Lys-Leu-Glu-Asn-Ser-Ala-Lys-Lys-Arg-Ile-Ser-Glu-Gly-Ile-Ala-Ile-Ala-Ile-Gln-Gly-Gly-Pro-Arg.

[0061] Lactoferricin (Rind) hat eine Aminosäuresequenz von Arg-Arg-Trp-Gln-Trp-Arg-Met-Lys-Lys-Leu-Gly.

[0062] Bactenecin (Rind) ist ein cyclisches kationisches Dodecapeptid, das aus neutrophilen Rindergranulaten isoliert wurde. Es hat eine Aminosäuresequenz von Arg-Leu-Cys-Arg-Ile-Val-Val-Ile-Arg-Val-Cys-Arg.

[0063] Defensin 1 ist ein endogenes antibiotisches Peptid (T. Ganz, et al., *J. Clin. Invest.*, 76, 1427 (1985), M. E. Selsted, et al., *J. Clin. Invest.*, 76, 1436 (1985). T. Ganz, M. E. Selsted, und R. I. Lehrer, *Eur. J. Haematol*, 44, 1 (1990)) und hat eine Aminosäuresequenz von Ala-Cys-Tyr-Cys-Arg-Ile-Pro-Ala-Cys-Ile-Ala-Gly-Glu-Arg-Arg-Tyr-Gly-Thr-Cys-Ile-Tyr-Gln-Gly-Arg-Leu-Trp-Ala-Phe-Cys-Cys.

[0064] Indolicidin ist ein Peptidamid mit 13 Resten und hat eine Aminosäuresequenz von Ile-Leu-Pro-Trp-Lys-Trp-Pro-Trp-Pro-Trp-Arg-Arg-NH₂ (oder -COOH).

[0065] Magainin 2 ist ein hämolytisches und antimikrobielles Peptid (A. Mor et al., *Biochemistry*, 30, 8824 (1991)) und hat eine Aminosäuresequenz von Gly-Ile-Gly-Lys-Phe-Leu-His-Ser-Ala-Lys-Lys-Phe-Gly-Lys-Ala-Phe-Val-Gly-Glu-Ile-Met-Asn-Ser.

[0066] "Funktionell äquivalente oder überlegene Analoge" von einem antimikrobiellen Peptid bezieht sich auf Derivate von einem natürlichen antimikrobiellen Peptid, worin einer oder mehrere Aminosäurereste durch eine andere Aminosäure (konservative Aminosäuresubstitution oder andere) ersetzt wurden, oder deletiert oder inseriert wurden, um gleiche oder bessere biologische Wirksamkeit (d.h. antimikrobielle Wirksamkeit) bereitzustellen. Ein funktionelles Äquivalent oder überlegenes Analoges kann ein Substitutionsanaloges, ein Deletionsanaloges oder ein Additionsanaloges sein.

[0067] Ein Substitutionsanaloges ist ein Peptid, worin ein oder mehrere Aminosäurereste durch eine andere Aminosäure (konservative Aminosäuresubstitution oder andere) ersetzt wurden, um gleiche oder bessere biologische Wirksamkeit (d.h. antimikrobielle Wirksamkeit) bereitzustellen. Ein Deletionsanaloges ist ein Peptid, worin einer oder mehrere Aminosäurereste deletiert wurden, um gleiche oder bessere antimikrobielle Wirksamkeit bereitzustellen. Ein Additionsanaloges ist Peptid, worin einer oder mehrere Aminosäurereste inseriert wurden, um gleiche oder bessere biologische Wirksamkeit (d.h. antimikrobielle Wirksamkeit) bereitzustellen. Ein Fachmann wird wissen, wie ein Substitutionsanaloges aufzubauen und herzustellen ist. Beispielsweise beschreiben US-Patent Nummern 5 792 831 und 5 912 231 Substitutions- und Deletionsanaloge von Magainin 2.

[0068] Antimikrobielle Peptide können von kommerziellen Herstellern erhalten werden oder können gemäß beliebigen bekannten, geeigneten Verfahren, beispielsweise unter Anwendung eines Peptidsynthetisators von

Applied Biosystems Modell 430A, synthetisiert werden. Es ist auf dem Fachgebiet selbstverständlich, dass es andere geeignete Peptidsynthesevorrichtungen gibt oder dass manuelle Peptidsynthese ausgeführt werden könnte, um die erfindungsgemäßen Peptide herzustellen. Automatisierte Festphasen-Peptidsynthese wird beispielsweise in Stewart et al. (1984) Solid Phase Peptide Synthesis, Pierce Chemical Company, Rockford, Illinois) beschrieben.

[0069] Es ist dem Fachmann bekannt, dass ein antimikrobielles Peptid durch Expression in einem geeigneten bakteriellen oder eukaryotischen Wirt hergestellt werden kann. Geeignete Verfahren zur Expression werden von Sambrook, et al., (In: Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 2. Ausgabe, Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989)), oder in ähnlichen Texten, die hierin in ihrer Gesamtheit durch diesen Hinweis einbezogen sind, beschrieben.

[0070] Die polyionischen Materialien, die in der vorliegenden Erfindung angewendet werden können, schließen polyanionische und polykationische Polymere ein. Beispiele für geeignete polyanionische Polymere schließen beispielsweise ein synthetisches Polymer, ein Biopolymer oder modifiziertes Biopolymer, umfassend Carboxy-, Sulfo-, Sulfato-, Phosphono- oder Phosphatgruppen oder ein Gemisch davon oder ein Salz davon, beispielsweise ein biomedizinisch verträgliches Salz und insbesondere ein ophthalmisch verträgliches Salz davon, wenn der zu beschichtende Gegenstand eine ophthalmische Vorrichtung ist, ein.

[0071] Beispiele für synthetische polyanionische Polymere sind: eine lineare Polyacrylsäure (PAA), eine verzweigte Polyacrylsäure, eine Polymethacrylsäure (PMA), ein Polyacrylsäure- oder ein Polymethacrylsäure-Copolymer, ein Maleinsäure- oder Fumarsäure-Copolymer, eine Poly(styrolsulfonsäure) (PSS), eine Polyamidosäure, ein Carboxy-beendetes Polymer von einem Diamin und eine Di- oder Polycarbonsäure (beispielsweise Carboxybeendetes Starburst™, PAMAM Dendrimere von Aldrich), eine Poly(2-acrylamido-2-methylpropansulfonsäure) (Poly-(AMPS)), ein Alkylpolyphosphat, ein Alkylpolyphosphonat, ein Kohlenhydratpolyphosphat oder Kohlenhydratpolyphosphonat (beispielsweise eine Teichoinsäure). Beispiele für eine verzweigte Polyacrylsäure schließen Carbophil®- oder Carbopol®-Typ von Goodrich Corp. ein. Beispiele für ein Copolymer von Acryl- oder Methacrylsäure schließen ein Copolymerisationsprodukt von einer Acryl- oder Methacrylsäure mit einem Vinylmonomer, einschließlich beispielsweise Acrylamid, N,N-Dimethylacrylamid oder N-Vinylpyrrolidon, ein.

[0072] Beispiele für polyanionische Biopolymere oder modifizierte Biopolymere sind: Hyaluronsäure, Glycosaminoglycane, wie Heparin oder Chondroitinsulfat, Fucoidan, Polyasparaginsäure, Polyglutaminsäure, Carboxymethylcellulose, Carboxymethyl-dextrane, Alginate, Pektine, Gellan, Carboxyalkylchitin, Carboxymethylchitosane, sulfatierte Polysaccharide.

[0073] Ein bevorzugtes polyanionisches Polymer ist eine lineare oder verzweigte Polyacrylsäure oder ein Acrylsäure-Copolymer. Ein bevorzugteres anionisches Polymer ist eine lineare oder verzweigte Polyacrylsäure. Eine verzweigte Polyacrylsäure in diesem Zusammenhang ist als in der Bedeutung einer Polyacrylsäure, erhältlich durch Polymerisieren von Acrylsäure in Gegenwart von geeigneten (geringen) Mengen von einer Di- oder Polyvinylverbindung, zu verstehen.

[0074] Ein geeignetes polykationisches Polymer, als Teil der Doppelschicht, ist beispielsweise ein synthetisches Polymer, Biopolymer oder modifiziertes Biopolymer, umfassend primäre, sekundäre oder tertiäre Aminogruppen oder ein geeignetes Salz davon, vorzugsweise ein ophthalmisch verträgliches Salz davon, beispielsweise ein Hydrohalogenid, wie ein Hydrochlorid davon, in dem Gerüst oder als Substituent. Polykationische Polymere, umfassend primäre oder sekundäre Aminogruppen oder ein Salz davon, sind bevorzugt.

[0075] Beispiele für synthetische polykationische Polymere sind:

- (i) ein Polyallylamin-(PAH)-Homo- oder -Copolymer, gegebenenfalls umfassend Modifizierungseinheiten;
- (ii) ein Polyethylenimin (PEI);
- (iii) ein Polyvinylamin-Homo- oder -Copolymer, gegebenenfalls umfassend Modifizierungseinheiten;
- (iv) ein Poly(vinylbenzyl-tri-C₁-C₄-alkylammoniumsalz), beispielsweise ein Poly(vinylbenzyl-tri-methylammoniumchlorid);
- (v) ein Polymer von einem aliphatischen oder araliphatischen Dihalogenid und einem aliphatischen N,N,N',N'-Tetra-C₁-C₄-alkyl-alkylendiamin, beispielsweise ein Polymer von (a) Propylen-1,3-dichlorid oder -dibromid, oder p-Xylylendichlorid oder -dibromid, und (b) N,N,N',N'-Tetramethyl-1,4-tetramethylendiamin;
- (vi) ein Poly(vinylpyridin)- oder Poly(vinylpyridiniumsalz)-Homo- oder -Copolymer;
- (vii) ein Poly(N,N-diallyl-N,N-di-C₁-C₄-alkyl-ammoniumhalogenid);
- (viii) ein Homo- oder Copolymer von einem quaternisierten Acrylsäure-di- oder Methacrylsäure-di-C₁-C₄-al-

kylaminoethylester, beispielsweise ein Poly(2-hydroxy-3-methacryloylpropyltri-C₁-C₂-alkylammoniumsalz)-Homopolymer, wie ein Poly(2-hydroxy-3-methacryloylpropyltri-methylammoniumchlorid), oder ein quaternisierter Poly(methacrylsäure-2-dimethylaminoethylester) oder ein quaternisierter Poly(vinylpyrrolidon-co-methacrylsäure-2-dimethylaminoethylester);

(ix) Polyquat®; oder

(x) ein Polyaminoamid (PAMAM), beispielsweise ein lineares PAMAM- oder PAMAM-Dendrimer, wie ein Aminobeeendetes Starburst™ PAMAM-Dendrimer (Aldrich).

[0076] Die vorstehend erwähnten Polymere umfassen in jedem Fall das freie Amin, ein geeignetes Salz davon, beispielsweise ein biomedizinisch verträgliches Salz oder insbesondere ein ophthalmisch verträgliches Salz davon, sowie eine beliebige quaternisierte Form, wenn nicht anders ausgewiesen.

[0077] Geeignete Comonomere, die gegebenenfalls in die Polymere gemäß (i), (iii), (vi) oder (viii) vorstehend eingearbeitet werden, sind beispielsweise hydrophile Monomere, wie Acrylamid, Methacrylamid, N,N-Dimethylacrylamid, N-Vinylpyrrolidon und dergleichen.

[0078] Beispiele für polykationische Biopolymere oder modifizierte Biopolymere, die in der Doppelschicht der vorliegenden Erfindung angewendet werden können, schließen ein: basische Peptide, Proteine oder Glucoproteine, beispielsweise ein Poly-ε-lysin, Albumin oder Collagen, aminoalkylierte Polysaccharide, wie ein Chitosan oder Aminodextrane.

[0079] Insbesondere schließen polykationische Polymere zum Bilden der erfindungsgemäßen Doppelschicht ein Polyallyl-Homopolymer; ein Polyallylamin, umfassend Modifizierungseinheiten der vorstehenden Formel (II); ein Polyvinylamin-Homo- oder -Copolymer oder ein Polyethylenimin-Homopolymer, insbesondere ein Polyallylamin- oder Polyethylenimin-Homopolymer, oder ein Poly(vinylamin-co-acrylamid)-Copolymer, ein.

[0080] Die vorangehenden Listen sind als beispielhaft beabsichtigt, sind jedoch zweifellos nicht abschließend. Ein Fachmann würde, bei gegebener Offenbarung und Lehren darin, in der Lage sein, eine Vielzahl von anderen verwendbaren polyionischen Materialien auszuwählen.

[0081] Es wurde in WO 99/35520 gefunden und offenbart, dass komplexe und zeitaufwändige Vorbehandlung eines Kernmaterials (medizinische Vorrichtung) vorher nicht erforderlich ist, um ein polyionisches Material an das Kernmaterial zu binden. Durch einfaches In-Kontakt-Bringen eines Kernmaterials von einer medizinischen Vorrichtung, beispielsweise einer Kontaktlinse mit einer oder mehreren Lösungen, die ein oder mehrere polyionische Materialien enthalten, kann eine LbL-Beschichtung auf einer medizinischen Vorrichtung gebildet werden, um die Oberflächeneigenschaften des Kernmaterials oder der medizinischen Vorrichtung zu modifizieren. Eine LbL-Beschichtung kann eine einzelne Beschichtung, eine Doppelschicht oder Mehrfachschichten sein.

[0082] Eine bevorzugte Anzahl an Doppelschichten in einer erfindungsgemäßen antimikrobiellen LbL-Beschichtung sind etwa 5 bis etwa 20 Doppelschichten. Obwohl mehr als 20 Doppelschichten möglich sind, wurde gefunden, dass Delaminierung in einigen LbL-Beschichtungen bei einer übermäßigen Anzahl an Doppelschichten auftreten kann.

[0083] Eine erfindungsgemäße antimikrobielle LbL-Beschichtung kann aus mindestens einem polyionischen Material, vorzugsweise zwei polyionische Materialien mit zueinander entgegengesetzten Ladungen, gebildet werden.

[0084] Eine erfindungsgemäße antimikrobielle LbL-Beschichtung umfasst vorzugsweise mindestens eine Schicht von einem gleitfähigen Beschichtungsmaterial, das ausgewählt ist aus der Gruppe, bestehend aus PAMAM-Dendrimeren, PAAm-co-PAA, PVP-co-PAA, Glycosaminoglycanen, Fucoidan, Polyasparaginsäure, Polyglutaminsäure, Carboxymethylcellulose, Carboxymethyl-dextranen, Alginaten, Pektinen, Gellan, Carboxyalchitinen, Carboxymethylchitosanen, sulfatierten Polysacchariden, Glucoproteinen und aminoalkylierten Polysacchariden.

[0085] Eine erfindungsgemäße antimikrobielle LbL-Beschichtung umfasst mindestens eine Schicht von einem Polyquat, das antimikrobielle Eigenschaften aufweist.

[0086] Die Auftragung einer LbL-Beschichtung kann auf eine Vielzahl von Wegen, wie in WO 99/35520 und US-Patentanmeldungen mit den Veröffentlichungs-Nummern 2001-0045676 und 2001-0048975 beschrieben, ausgeführt werden. Eine Ausführungsform des Beschichtungsverfahrens beinhaltet Nur-Tauchbeschichtungs-

und Tauch-Spül-Schritte. Eine weitere Ausführungsform des Beschichtungsverfahrens beinhaltet Nur-Sprühbeschichtungs- und Sprüh-Spül-Schritte.

[0087] Jedoch beinhaltet eine Vielzahl von Alternativen verschiedene Kombinationen von Sprüh- und Tauch-Beschichtungs- und Spülschritten, die durch den Fachmann entwickelt werden können.

[0088] Beispielsweise beinhaltet ein Nur-Tauchbeschichtungsverfahren die Schritte von: (a) Eintauchen einer medizinischen Vorrichtung in eine erste Beschichtungslösung von einem ersten polyionischen Material; (b) gegebenenfalls Spülen der medizinischen Vorrichtung durch Eintauchen der medizinischen Vorrichtung in eine erste Spüllösung; (c) Eintauchen der medizinischen Vorrichtung in eine zweite Beschichtungslösung aus einem zweiten polyionischen Material, um eine erste Polyelektrolytdoppelschicht von dem ersten und zweiten polyionischen Material zu bilden, worin das zweite polyionische Material Ladungen aufweist, die den Ladungen des ersten polyionischen Materials entgegengesetzt sind; (d) gegebenenfalls Spülen der medizinischen Vorrichtung durch Eintauchen der medizinischen Vorrichtung in die Spüllösung; (e) gegebenenfalls Wiederholen von Schritten (a) bis (d) für eine Vielzahl von Malen, um zusätzliche Polyelektrolytdoppelschichten zu bilden. Eine dickere LbL-Beschichtung kann durch Wiederholen von Schritten (a) bis (d), vorzugsweise für 2- bis 40-mal, erzeugt werden. Eine bevorzugte Anzahl an Doppelschichten ist etwa 5 bis etwa 20 Doppelschichten. Wenn mehr als 20 Doppelschichten möglich sind, wurde gefunden, dass Delaminierung in einigen LbL-Beschichtungen mit einer übermäßigen Anzahl an Doppelschichten stattfinden kann.

[0089] Die Eintauchzeit für jeden von den Beschichtungs- und Spülschritten kann in Abhängigkeit von einer Vielzahl an Faktoren variieren. Vorzugsweise findet das Eintauchen von dem Kernmaterial in die polyionische Lösung über einen Zeitraum von etwa 1 bis 30 Minuten, bevorzugter etwa 2 bis 20 Minuten und besonders bevorzugt etwa 1 bis 5 Minuten, statt. Das Spülen kann mit einer Vielzahl von Spülschritten ausgeführt werden, jedoch kann ein einzelner Spülschritt sehr effizient sein.

[0090] Eine weitere Ausführungsform des Beschichtungsverfahrens ist ein Einzeltauch-Beschichtungsverfahren, wie in der US-Anmeldung mit der Veröffentlichungs-Nr. 2001-0048975 beschrieben. Ein solches Einzeltauch-Beschichtungsverfahren beinhaltet das Tauchen eines Kernmaterials einer medizinischen Vorrichtung in eine Lösung, die ein negativ geladenes polyionisches Material und ein positiv geladenes polyionisches Material in einer derartigen Menge enthält, dass das molare Ladungsverhältnis der Lösung etwa 3:1 bis etwa 100:1 ist. Mehrfache Doppelschichten können auf einer medizinischen Vorrichtung durch Anwendung dieses Einzeltauch-Beschichtungsverfahrens gebildet werden.

[0091] Eine weitere Ausführungsform des Beschichtungsverfahrens beinhaltet eine Reihe von Sprühbeschichtungstechniken. Beispielsweise schließt das Nur-Sprühbeschichtungsverfahren im Allgemeinen die Schritte ein von: (a) Sprühen auf eine medizinische Vorrichtung einer ersten Beschichtungslösung von einem ersten polyionischen Material; (b) gegebenenfalls Spülen der medizinischen Vorrichtung, durch Sprühen auf die medizinische Vorrichtung einer ersten Spüllösung; (c) Sprühen auf die medizinische Vorrichtung einer zweiten Beschichtungslösung von einem zweiten polyionischen Material, um eine erste Polyelektrolytdoppelschicht von dem ersten und zweiten polyionischen Material zu bilden, wobei das zweite polyionische Material Ladungen, entgegengesetzt zu den Ladungen des ersten polyionischen Materials, aufweist; (d) gegebenenfalls Spülen der medizinischen Vorrichtung durch Besprühen derselben mit der Spüllösung; (e) gegebenenfalls mehrfaches Wiederholen von Schritten (a) bis (d). Eine dickere LbL-Beschichtung kann durch Wiederholen von Schritten (a) bis (d), vorzugsweise für 2- bis 40-mal, hergestellt werden.

[0092] Die Sprühbeschichtungsauftragung kann über ein Verfahren, ausgewählt aus der Gruppe, bestehend aus luftunterstütztem Sprühen und Dosierverfahren, einem Ultraschallunterstützten Sprühen und Dosierverfahren, einem piezoelektrisch unterstützten Zerstäubungs- und Dosierverfahren, einem elektromechanischen Strahldruckverfahren, einem piezoelektrischen Strahldruckverfahren, einem piezoelektrischen Strahldruckverfahren mit hydrostatischem Druck und einem thermischen Strahldruckverfahren, ausgeführt werden; und einem Computersystem, das das Positionieren des Dosierkopfes der Sprühvorrichtung auf die ophthalmische Linse steuern kann, und Dosieren der Beschichtungsflüssigkeit. Durch Anwenden solcher Sprühbeschichtungsverfahren kann eine asymmetrische Beschichtung auf eine medizinische Vorrichtung aufgetragen werden. Beispielsweise kann die Rückoberfläche einer Kontaktlinse mit einem hydrophilen und/oder gleitfähigen Beschichtungsmaterial beschichtet sein und die Vorderoberfläche der Kontaktlinse kann mit einem antimikrobiellen Material beschichtet sein. Es ist auch möglich, eine Beschichtung auf einer Kontaktlinse zu erzeugen, wobei die Beschichtung ein funktionelles Muster aufweist, um gleichzeitig mehrere Vorteile für einen Träger bereitzustellen.

[0093] Gemäß der vorliegenden Erfindung können polyionische Materiallösungen auf eine Vielzahl von Wegen hergestellt werden. Insbesondere kann eine polyionische Lösung der vorliegenden Erfindung durch Auflösen des/der polyionischen Materials/Materialien in Wasser oder jedem anderen Lösungsmittel, das die Materialien auflösen kann, gebildet werden. Wenn ein Lösungsmittel verwendet wird, ist jedes Lösungsmittel, das die Komponenten innerhalb der Lösung in Wasser stabil halten kann, geeignet. Beispielsweise kann ein auf Alkohol basierendes Lösungsmittel verwendet werden. Geeignete Alkohole können einschließen, sind jedoch nicht darauf begrenzt, Isopropylalkohol, Hexanol, Ethanol, usw. Es sollte selbstverständlich sein, dass andere, üblicherweise auf dem Fachgebiet verwendete Lösungsmittel auch in der vorliegenden Erfindung geeigneterweise verwendet werden können.

[0094] Ob in Wasser oder in einem Lösungsmittel gelöst, kann die Konzentration von einem polyionischen Material in einer erfindungsgemäßen Lösung im Allgemeinen in Abhängigkeit von den besonderen anzuwendenden Materialien, der gewünschten Beschichtungsstärke und einer Anzahl von anderen Faktoren variieren. Jedoch kann es typisch sein, um eine relativ verdünnte wässrige Lösung von polyionischem Material zu formulieren. Beispielsweise kann eine Konzentration an polyionischem Material zwischen etwa 0,001 % bis etwa 0,25 Gewichtsprozent, zwischen etwa 0,005 % bis etwa 0,10 Gewichtsprozent oder zwischen etwa 0,01 % bis etwa 0,05 Gewichtsprozent liegen.

[0095] Im Allgemeinen können die vorstehend erwähnten polyionischen Lösungen durch ein beliebiges Verfahren, das auf dem Fachgebiet zum Herstellen von Lösungen gut bekannt ist, hergestellt werden. Beispielsweise kann in einer Ausführungsform eine polyanionische Lösung durch Auflösen einer geeigneten Menge des polyanionischen Materials, wie Polyacrylsäure mit einem Molekulargewicht von etwa 90 000 in Wasser, sodass eine Lösung mit einer bestimmten Konzentration gebildet wird, hergestellt werden. In einer Ausführungsform ist die erhaltene Lösung eine 0,001M PAA-Lösung. Einmal gelöst, kann der pH-Wert von der polyanionischen Lösung auch durch Zugabe eines basischen oder sauren Materials eingestellt werden. In der vorstehenden Ausführungsform kann beispielsweise eine geeignete Menge an 1 N Salzsäure (HCl) zugegeben werden, um den pH-Wert auf 2,5 einzustellen.

[0096] Wenn jedoch eine Beschichtungslösung, die ein erstes polyionisches Material enthält, zur Bildung einer inneren Schicht von einer erfindungsgemäßen biokompatiblen LbL-Beschichtung auf der Oberfläche einer medizinischen Vorrichtung verwendet wird, ist es erwünscht, dass die Konzentration des ersten geladenen Materials in der Lösung ausreichend hoch ist, um die Hydrophilizität der LbL-Beschichtung zu erhöhen. Vorzugsweise ist die Konzentration des geladenen polymeren Materials in einer Lösung zur Bildung der innersten Schicht der LbL-Beschichtung mindestens das Dreifache höher als die Konzentration eines Beschichtungsmaterials in einer Beschichtungslösung zur Bildung anschließender Schichten der LbL-Beschichtung. Insbesondere ist die Konzentration des geladenen polymeren Materials in einer Lösung zur Bildung der innersten Schicht der LbL-Beschichtung mindestens das Zehnfache höher als die Konzentration eines Beschichtungsmaterials in einer Beschichtungslösung zur Bildung anschließender Schichten der LbL-Beschichtung.

[0097] Polykationische Lösungen können auch in einer wie vorstehend beschriebenen Weise gebildet werden. Beispielsweise kann in einer Ausführungsform Poly(allylaminhydrochlorid) mit einem Molekulargewicht von etwa 50 000 bis etwa 65 000 in Wasser gelöst werden, um eine 0,001 M PAH-Lösung zu bilden. Anschließend kann der pH-Wert auch durch Zugabe einer geeigneten Menge an Salzsäure auf 2,5 eingestellt werden.

[0098] In einigen Ausführungsformen der vorliegenden Erfindung ist es erwünscht, eine Lösung anzuwenden, die sowohl polyanionische als auch polykationische Materialien in einer einzigen Lösung enthält. Beispielsweise kann eine polyanionische Lösung, wie vorstehend beschrieben, gebildet werden und dann mit einer polykationischen Lösung vermischt werden, die auch wie vorstehend beschrieben gebildet wird. In einer Ausführungsform können die Lösungen dann langsam vermischt werden, um die Beschichtungslösung zu bilden. Die Menge an jeder auf das Gemisch aufgetragenen Lösung hängt von dem erwünschten molaren Ladungsverhältnis ab. Wenn beispielsweise eine 10:1 (Polyanion:Polykation)-Lösung erwünscht ist, kann 1 Teil (auf das Volumen) der PAH-Lösung in 10 Teile der PAA-Lösung vermischt werden. Nach Vermischen kann die Lösung auch filtriert werden, falls erwünscht.

[0099] Um verschiedene Eigenschaften der Beschichtung, wie Dicke, zu verändern, kann das Molekulargewicht der polyionischen Materialien, einschließlich Polyquats, variiert werden. Insbesondere, wenn sich das Molekulargewicht erhöht, erhöht sich im Allgemeinen die Beschichtungsstärke. Wenn die Erhöhung in der Molekulargewichtserhöhung jedoch zu hoch ist, kann die Schwierigkeit beim Handhaben auch erhöht sein. Als solches, werden polyionische Materialien, die in dem erfindungsgemäßen Verfahren verwendet werden, typischerweise ein Molekulargewicht M_n von etwa 2 000 bis etwa 150 000 aufweisen. In einigen Ausführungsfor-

men ist das Molekulargewicht etwa 5 000 bis etwa 100 000 und in anderen Ausführungsformen etwa 75 000 bis etwa 100 000.

[0100] Zusätzlich zu polyionischen und nichtgeladenen Polymermaterialien kann eine Beschichtungslösung zum Bilden der Doppelschicht oder eines Teils von ihr auch Additive enthalten. Wie hierin verwendet, kann ein Additiv im Allgemeinen eine beliebige Chemikalie oder ein beliebiges Material einschließen. Beispielsweise können Wirkstoffe, wie antimikrobielle oder antibakterielle, zu einer Lösung zur Bildung der Doppelschicht gegeben werden, insbesondere, wenn in biomedizinischen Anwendungen verwendet. Einige antimikrobielle polyionische Materialien schließen polyquaternäre Ammoniumverbindungen, wie jene, beschrieben in US-Patent Nr. 3 931 319, von Green et al. (beispielsweise POLYQUAD®), ein.

[0101] Darüber hinaus sind andere Beispiele von Materialien, die zu einer Beschichtungslösung gegeben werden können, polyionische Materialien, die für ophthalmische Linsen verwendbar sind, wie Materialien mit Strahlung absorbierenden Eigenschaften. Solche Materialien können beispielsweise sichtbar tönende Mittel, Irisfarbe-modifizierende Farbstoffe und Ultraviolett-(UV)-Licht tönende Farbstoffe einschließen.

[0102] Ein noch weiteres Beispiel für ein Material, das zu einer Beschichtungslösung gegeben werden kann, ist ein polyionisches Material, das das Zellwachstum inhibiert oder induziert. Zellwachstumsinhibitoren können in Vorrichtungen verwendbar sein, die menschlichem Gewebe für einen längeren Zeitraum mit einer letztendlichen Absicht zum Entfernen (beispielsweise Katheter oder Intra-Okular-Linsen (IOL's), bei denen Zellüberwachstum unerwünscht ist), ausgesetzt werden, während Zellwachstum induzierende polyionische Materialien in Permanentimplantatvorrichtungen (beispielsweise künstliche Cornea) verwendbar sein können.

[0103] Wenn Additive auf eine Beschichtungslösung aufgetragen werden, haben solche Additive vorzugsweise eine Ladung. Mit dem Aufweisen einer positiven oder negativen Ladung kann das Additiv für das polyionische Material in Lösung bei dem gleichen Molverhältnis substituiert werden. Beispielsweise haben polyquaternäre Ammoniumverbindungen typischerweise eine positive Ladung. Als solche können diese Verbindungen in einer erfindungsgemäßen Lösung für die polykationische Komponente substituiert sein, sodass das Additiv auf das Kernmaterial eines Gegenstands in einer Weise, ähnlich wie ein polykationisches, aufgetragen werden würde, aufgetragen wird.

[0104] Eine medizinische Vorrichtung, die eine LbL-Beschichtung umfasst, die nicht kovalent an die medizinische Vorrichtung gebunden ist, und eine Peptidschicht von mindestens einem der antimikrobiellen Peptide, die kovalent an die LbL-Beschichtung durch die reaktiven Stellen der LbL-Beschichtung gebunden sind, kann durch zuerst Auftragen einer LbL-Beschichtung auf eine vorgebildete medizinische Vorrichtung gemäß einem der vorstehend beschriebenen Beschichtungsverfahren unter Verwendung von mindestens einem polyionischen Material mit funktionellen Gruppen, die als reaktive Stellen dienen werden, und dann kovalentes Binden einer Peptidschicht von mindestens einem antimikrobiellen Peptid an einige von jenen reaktiven Stellen ausgeführt werden.

[0105] Antimikrobielle Peptide können kovalent an die LbL-Beschichtung gebunden sein. Dies kann entweder eine direkte Reaktion oder vorzugsweise eine Reaktion sein, in der ein Kupplungsmittel verwendet wird. Beispielsweise kann eine direkte Reaktion durch die Verwendung eines Reaktionsreagenz erfolgen, das eine Gruppe in der LbL-Beschichtung aktiviert, oder das antimikrobielle Peptid macht es mit einer funktionellen Gruppe an dem Peptid bzw. LbL-Beschichtung, ohne das Einarbeiten eines Kupplungsmittels, reaktiv. Beispielsweise können eine oder mehrere Amingruppen an dem Peptid direkt mit Isothiocyanat, Acylazid, N-Hydroxysuccinimidester, Sulfonylchlorid, einem Aldehyd, Glyoxalepoxid, 25 Carbonat, Arylhalogenid, Imidoester, oder einer Anhydridgruppe in der LbL-Beschichtung umgesetzt werden.

[0106] Alternativ können Kupplungsmittel verwendet werden. Zum Kuppeln von antimikrobiellem Peptid an die LbL-Beschichtung einer medizinischen Vorrichtung verwendbare Kupplungsmittel schließen ohne Begrenzung N,N'-Carbonyldiimidazol, Carbodiimide, wie 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid ("EDC"), Dicyclohexylcarbodiimid, 1-Cyclohexyl-3-(2-morpholinoethyl)-carbodiimid, Diisopropylcarbodiimid oder Gemische davon ein. Die Carbodiimide können auch mit N-Hydroxysuccinimid oder N-Hydroxysulfosuccinimid verwendet werden, um Ester zu bilden, die mit Aminen reagieren können, um Amide zu bilden.

[0107] Aminogruppen können auch an die LbL-Beschichtung durch die Bildung von Schiff'schen Basen gekuppelt werden, die mit Mitteln, wie Natriumcyanoborhydrid oder dergleichen, reduziert werden können, um hydrolytisch stabile Aminbindungen zu bilden. Für diesen Zweck verwendbare Kupplungsmittel schließen ohne Begrenzung N-Hydroxysuccinimidester, wie Dithiobis(succinimidylpropionat), 3,3'-Dithiobis(sulfosuccinimidyl-

propionat), Disuccinimidylsuberat, Bis(sulfosuccinimidyl)suberat, Disuccinimidyltartrat und dergleichen, Imidoester, einschließlich ohne Begrenzung Dimethyladipimat, Difluorbenzolderivate, einschließlich ohne Begrenzung 1,5-Difluor-2,4-dinitrobenzol, bromfunktionelle Aldehyde, einschließlich ohne Begrenzung Glutaraldehyd und seine Epoxide, einschließlich ohne Begrenzung 1,4-Butandiolglycidylether. Der Fachmann wird erkennen, dass eine beliebige Anzahl an Kupplungsmitteln, in Abhängigkeit von den funktionellen Gruppen, die in der LbL-Beschichtung vorliegen, verwendet werden kann.

[0108] Eine medizinische Vorrichtung mit antimikrobieller LbL-Beschichtung, die nicht kovalent an die medizinische Vorrichtung gebunden ist, und mindestens eine kationische Schicht von einem Gemisch, das ein positiv geladenes polyionisches Material und mindestens ein antimikrobielles Peptid einschließt und mindestens eine anionische Schicht von einem negativ geladenen polyionischen Material umfasst, kann durch abwechselndes Auftragen einer kationischen Schicht von einem Gemisch, das ein positiv geladenes polyionisches Material, und mindestens ein antimikrobielles Peptid einschließt, und einer anionischen Schicht von einem negativ geladenen polyionischen Material auf eine vorgebildete medizinische Vorrichtung gemäß einem der vorstehend beschriebenen Beschichtungsverfahren, hergestellt werden.

[0109] Alternativ kann eine solche medizinische Vorrichtung auch durch zuerst Auftragen einer antimikrobiellen Beschichtung hergestellt werden, die nicht kovalent an die medizinische Vorrichtung gebunden ist und mindestens eine kationische Schicht von einem Gemisch, das ein positiv geladenes polyionisches Material und mindestens ein antimikrobielles Peptid einschließt, und mindestens eine anionische Schicht von negativ geladenem polyionischen Material umfasst, auf eine Form, zur Herstellung einer medizinischen Vorrichtung und dann Transfer-Pfropfen der antimikrobiellen Beschichtung auf die medizinische Vorrichtung, die aus der Form hergestellt wurde, gemäß wesentlich den Lehren von der US-Patentanmeldung mit der Veröffentlichungs-Nr. 2001-0045676.

[0110] Eine erfindungsgemäße LbL-Beschichtung kann besondere Anwendung in Kontaktlinsen zum längeren Tragen finden. Die erfindungsgemäße LbL-Beschichtung kann minimale negative Wirkungen auf die gewünschten Masseigenschaften der Linse, wie Sauerstoffpermeabilität, Ionenpermeabilität und optische Eigenschaften, aufweisen.

[0111] Die Erfindung betrifft auch eine medizinische Vorrichtung mit einer Schicht von mindestens einem antimikrobiellen Peptid, das kovalent an die medizinische Vorrichtung gebunden ist, und Verfahren zur Herstellung derselben.

[0112] Solche medizinische Vorrichtung kann durch zuerst Funktionalisieren der Oberfläche einer vorgebildeten medizinischen Vorrichtung, um funktionelle Gruppen zu erhalten, und dann kovalentes Binden einer Schicht von antimikrobiellen Peptiden hergestellt werden. Oberflächenmodifizierung (oder Funktionalisierung) von einer medizinischen Vorrichtung ist dem Fachmann gut bekannt. Ein beliebiges bekanntes geeignetes Verfahren kann verwendet werden.

[0113] Beispielsweise schließt die Oberflächenmodifizierung einer Kontaktlinse ohne Begrenzung das Pfropfen von Monomeren oder Makromeren auf Polymere ein, um die Linse biokompatibel zu machen, worin Monomere oder Makromere funktionelle Gruppen enthalten, beispielsweise wie Hydroxylgruppe, Aminogruppe, Amidgruppe, Sulfhydrylgruppe, -COOR (R und R' sind Wasserstoff oder C₁-C₈-Alkylgruppen), Halogenid (Chlorid, Bromid, Jodid), Acylchlorid, Isothiocyanat, Isocyanat, Monochlortriazin, Dichlortriazin, Mono- oder Dihalogen-substituiertes Pyridin, Mono- oder Dihalogen-substituiertes Diazin, Phosphoramidit, Maleimid, Aziridin, Sulfonylhalogenid, Hydroxysuccinimidester, Hydroxysulfosuccinimidester, Imidoester, Hydrazin, Axidonitrophenylgruppe, Azid, 3-(2-Pyridyldithio)propionamid, Glyoxal, Aldehyd, Epoxy.

[0114] Es ist auf dem Fachgebiet gut bekannt, dass ein Paar von zusammenpassenden funktionellen Gruppen eine kovalente Bindung oder Bindung unter bekannten Reaktionsbedingungen, wie Oxidations-Reduktions-Bedingungen, Dehydratations-Kondensations-Bedingungen, Additionsbedingungen, Substitutions- (oder Austausch-) Bedingungen, 2+2 Cyclo-Additionsbedingungen, Diels-Alder-Reaktionsbedingungen, ROMP (Ring Öffnung Metathese Polymerisations)-Bedingungen, Vulkanisierungsbedingungen, kationischen Vernetzungsbedingungen und Epoxyhärtungsbedingungen, bilden kann. Beispielsweise ist eine Aminogruppe kovalent mit Aldehyd (Schiff'sche Base, die aus Aldehydgruppe gebildet wird und Aminogruppe kann weiter reduziert werden) bindungsfähig; eine Hydroxylgruppe und eine Aminogruppe sind kovalent bindungsfähig mit einer Carboxylgruppe; eine Carboxylgruppe und eine Sulfogruppe sind kovalent bindungsfähig mit einer Hydroxylgruppe; eine Mercaptogruppe ist kovalent bindungsfähig mit einer Aminogruppe; oder eine Kohlenstoff-Kohlenstoff-Doppelbindung ist kovalent bindungsfähig mit einer weiteren Kohlenstoff-Kohlenstoff-Doppelbindung.

[0115] Beispielhafte kovalente Bindungen oder Bindung, die zwischen Paaren von vernetzbaren Gruppen gebildet werden, schließen ohne Begrenzung Ester, Ether, Acetal, Ketal, Vinylether, Carbamat, Harnstoff, Amin, Amid, Enamin, Imin, Oxim, Amidin, Iminoester, Carbonat, Orthoester, Phosphonat, Phosphinat, Sulfonat, Sulfid, Sulfat, Disulfid, Sulfonamid, Sulfonamid, Thioester, Aryl, Silan, Siloxan, Heterocyclen, Thiocarbonat, Thiocarbamat und Phosphonamid ein.

[0116] Ein weiteres Beispiel ist Aminierung der Oberfläche einer medizinischen Vorrichtung. Wenn die Oberfläche eines Kernmaterials Hydroxygruppen aufweist, kann die medizinische Vorrichtung in ein Bad aus einem inerten Lösungsmittel, wie Tetrahydrofuran und Tresylchlorid, gesetzt werden. Die Hydroxygruppen auf der Oberfläche werden dann tresyliert. Einmal tresyliert, kann die Oberfläche in einer Wasserlösung von Ethylen-diamin aminiert werden, was das Binden der Gruppe $\text{-NH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}_2$ an das Kohlenstoffatom davon ergibt. Alternativ kann beispielsweise eine aus einem Hydrogel hergestellte Kontaktlinse getaucht werden in oder besprüht werden mit einer Lösung, die eine Diaziridinverbindung enthält, welche anschließend kovalent an die Oberfläche der Kontaktlinse über ein thermisches Verfahren gebunden wird, sodass die Kontaktlinse funktionalisiert wird. Solche funktionalisierten Linsen können beim kovalenten Binden einer Schicht von antimikrobiellen Peptiden verwendet werden.

[0117] Die vorangehende Offenbarung wird dem Fachmann ermöglichen, die Erfindung auszuführen. Damit der Leser die speziellen Ausführungsformen und deren Vorteile besser verstehen kann, wird Bezug auf die nachstehenden Beispiele angeregt.

Beispiel 1: Peptidscreening durch Inhibierungsassays

[0118] Acht kommerziell erhältliche Peptide (von American Peptides Company, Inc.) werden auf die antimikrobielle Wirksamkeit gegen vier virulente Okularbakterienstämme, wie nachstehend, abgesucht.

[0119] Eine bakterielle Suspension von 10^8 c.f.u. wird in Phosphat-gepufferter Salzlösung bei pH 7,4 hergestellt. Eine aliquote Menge von 1 ml jeder Suspension wird gleichmäßig über die Oberfläche von Mueller Hinton II Agar Platten (2,0 g Rinderextrakt, 17,5 g Säurehydrosylat von Casein, 1,5 g Stärke, 17,0 g Agar; Becton Dickinson, MD, USA) dispergiert. Löcher mit einem Durchmesser von etwa 5 mm werden in der Platte hergestellt und eine aliquote Menge von 100 μl von jedem Peptid (10 $\mu\text{g/ml}$ Lösung) wird auf eines der Löcher gegeben. Lösungen von sowohl positiven (Breitspektrumantibiotika und Solocare) und negativen Kontrollen (PBS) werden auch auf jede Platte gegeben, um zu sichern, dass die Bakterien lebensfähig sind. Die Platte wird dann bei 35°C über Nacht inkubiert, und die Inhibierungszone wird verfolgt. Ergebnisse (Tabelle 2) des Screenings von den Peptiden auf geeignete antibakterielle Wirksamkeit zeigen, dass Cecropinmelittin und Indolicidin bessere Kandidaten für antimikrobielle Mittel zu sein scheinen.

TABELLE 2

Antimikrobielles Mittel (10 µg/ml)	Antimikrobielle Wirksamkeiten			
	Staph. epi	Strep. rattus	Ps. aeruginosa 9027	Ps. aeruginosa GSU #3
Antibiotikum (+ Kontrolle)	++++	++++	+++	+++
Solocare (+ Kontrolle)	+++	++	-	-
PBS (- Kontrolle)	-	-	-	-
Defensin 1 (HNP-1)	+	-	-	-
Indolicidin	++	+	+	+
Lactoferricin	+	-	-	-
Cecropin A Melittinhybrid	++	++	++	++
Bactenecin (Rind)	+	+	-	-
Magainin 2	++	-	-	-
Nisin	-	-	-	-
Mutacin 1140	++	++	-	-

MIC Werte von Peptiden:

[0120] Zwei (2) Peptide, Cecropin P1 und Cecropin A Melittinhybrid, von American Peptides Company, Inc., werden gegen Stämme von *Pseudomonas aeruginosa* GSU # 3 (corneales Isolat) und # 9027 (ein gram-negativer Organismus), *Staphylococcus aureus* # 6538 und *Staphylococcus epidermidis* # 17917 getestet. Die ersten zwei Stämme sind gram-negative Organismen. Die letzten zwei Stämme sind gram-positive Organismen. Diese Organismen werden ausgewählt, weil sie die üblichsten ätiologischen Erreger, die Augeninfektion verursachen, darstellen. Die Peptide werden bei -70°C gehalten, bis sie gebrauchsfertig sind. Die getesteten Peptidkonzentrationen sind 20, 16, 8, 4, 2 und 1 µg/ml in Dulbecco's Phosphat-gepufferter Salzlösung (PBS).

[0121] Die Bakterien werden geerntet, zweimal gewaschen und auf eine O.D. von 10^8 Zellen/ml eingestellt. Die Zellen werden dann seriell verdünnt und auf etwa 5×10^5 cfu/ml eingestellt. Die Zellen werden in Mikrotiterplatten, die seriell sinkende Peptidkonzentrationen enthalten, inokuliert. Das Inokulum für die Bakterienstämme wird in Mueller Hinton Brühe suspendiert, und das Endvolumen in jeder Vertiefung ist 200 µl. Die Mikrotiterplatten werden 24 Stunden bei 37°C inkubiert. Das Wachstum wird als optische Dichte spektrophotometrisch in einem Mikrotiterplattenleser untersucht. Die O.D. wird mit einer Blindprobe verglichen und das Wachstum ist gut, um die MIC zu bestimmen.

[0122] Minimale Inhibitions-Konzentrationen der Peptide gegen die vorstehenden vier Stämme werden in Tabelle 3 mitgeteilt.

TABELLE 3

Peptid	P. aeruginosa GSU #3	P. aeruginosa #9027	S. epidermidis #17917	S. aureus #6538
Cecropin A Melittinhybrid	>20 µg/ml ¹	16 µg/ml	16 µg/ml	16 µg/ml
Cecropin P1	20 µg/ml	20 µg/ml	>20 µg/ml ¹	>20 µg/ml ¹

¹ höchste getestete Konzentration.

[0123] Höhere Konzentration wird auch getestet, etwa 40 µg/ml und 1000 µg/ml. Alle Organismen werden bei 1000 µg/ml abgetötet, jedoch bei 40 µg/ml werden noch die 2 Stämme von *Pseudomonas* nicht durch alle getesteten Lösungen abgetötet. Der gleiche Trend wird mit den 2 Stämmen von *Staph.* beobachtet.

[0124] Die 2 American Peptide, Cecropin P1 und Cecropin A Melittinhybridpeptid, werden weiterhin bei 20, 10, 5 und 1 µg/ml Konzentrationen getestet. MIC-Werte für jene Peptide werden in Tabelle 4 (24 Stunden) und Tabelle 5 (48 Stunden) gezeigt.

[0125] Cecropin A Melittinhybridpeptid hat die höchste Wirksamkeit gegen alle 4 getesteten Organismen.

TABELLE 4

	Konz. gegen <i>P. aeruginosa</i> GSU #3				Konz. gegen <i>P. aeruginosa</i> #9027				Konz. gegen <i>S. epidermidis</i> #17917				Konz. gegen <i>S. aureus</i> #6538			
	20	10	5	1	20	10	5	1	20	10	5	1	20	10	5	1
Cecropin P1	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-
Cecropin A Melittinhybrid	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-

TABELLE 5

	Konz. gegen <i>P. aeruginosa</i> GSU #3				Konz. gegen <i>P. aeruginosa</i> #9027				Konz. gegen <i>S. epidermidis</i> #17917				Konz. gegen <i>S. aureus</i> #6538			
	20	10	5	1	20	10	5	1	20	10	5	1	20	10	5	1
Cecropin P1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cecropin A Melittinhybrid	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-

[0126] Wir testeten weiterhin das beste Peptid Cecropin A Melittinhybrid und L-Indolicidin in einem MIC Assay. Das Assay wird in 10 mM Natriumphosphatpuffer durchgeführt, die getestete Konzentration ist 5, 10, 25 und 50 ppm und die Inokulumgröße ist bei 5×10^3 . Die zwei Peptide zeigen, dass sie eine MIC von etwa 5 ppm aufweisen.

Zytotoxizität:

[0127] Cecropin A Melittinhybrid wird auf Zytotoxizität bei 5, 0,5 und 0,05 µg/ml Konzentrationen getestet. Zytotoxizität von Cecropin A Melittinhybrid wird gemäß dem USP Elutions-Test ("Biological Reactivity Tests, In-Vitro: Elutions-Test", The United States Pharmacopeial Convention, Inc.) bewertet. Zellkulturen, L929 Säugerfibroblasten (ATCC Zelllinie CCL1, NCTC Klon 929), werden zu einer nahezu zusammenfließenden Monoschicht in 6 Vertiefungsplatten (einzelne Vertiefungen sind 35 mm Durchmesser) wachsen lassen. Eine Cecropin A Melittinhybridlösung wird mit Serum-ergänzttem Zellkulturmedium bei 25 Testlösungskonzentration verdünnt. Das Serum-ergänzte Zellkulturmedium wird durch Vermischen von 1000 ml Eagle's sterilem minimum essentiell Medium (MEM), 100 ml Serum, 10 ml L-Glutaminlösung und antibiotische-antimykotische Lösung hergestellt. Jede Kultur wird mikroskopisch nach 48 Stunden unter Anwendung von Trypanblau auf das Vorlie-

gen von morphologischen Veränderungen, Verminderung der Zelldichte oder Zellyse, induziert durch Cecropin A Melittinhybridlösung, geprüft. Alle 3 Konzentrationen bestanden die MEM Elution und Zellwachstumsinhibierung und werden als nicht-zytotoxisch betrachtet.

[0128] Indolicidin wird auf Zytotoxizität bei 5, 0,5 und 0,05 µg/ml Konzentrationen gemäß dem USP Elutions-Test ("Biological Reactivity Tests, In-Vitro: Elutions-Test", The United States Pharmacopeial Convention, Inc.), wie vorstehend beschrieben, getestet. Zellkulturen, L929 Säugerfibroblasten (ATCC Zelllinie CCL1, NCTC Klon 929), werden zu einer nahezu zusammenfließenden Monoschicht in 6 Vertiefungsplatten (einzelne Vertiefungen sind 35 mm Durchmesser) wachsen lassen. Eine Indolicidinlösung wird mit Serum-ergänzttem Zellkulturmedium bei 25 Testlösungskonzentration verdünnt. Das Serum-ergänzte Zellkulturmedium wird durch Vermischen von 1000 ml Eagle's sterilem minimum essentiellen Medium (MEM), 100 ml Serum, 10 ml L-Glutaminlösung und antibiotischer-antimykotischer Lösung hergestellt. Jede Kultur wird mikroskopisch nach 48 Stunden unter Anwendung von Trypanblau auf das Vorliegen von morphologischen Veränderungen, Verminderung der Zelldichte oder Zellyse, induziert durch die Indolicidinlösung, geprüft. Alle Testkonzentrationen bestanden den MEM Elutionstest und werden als nicht-zytotoxisch betrachtet.

Maus-Organ-Kultur-Modell:

[0129] Unter Anwendung des Maus-Organ-Kultur-Modells bewertet dieses Assay die Fähigkeit einer Verbindung, das Binden von *P. aeruginosa* an geopferten Augen zu inhibieren. Cecropin A Melittinhybrid wurde bei drei Konzentrationen getestet: 10, 2 und 0,5 µg/ml.

[0130] Die Lösungen werden auf ihre Fähigkeit, das Anhaften von *P. aeruginosa* (PA) (ATCC# 19660) an geopfelter Mauscornea zu verhindern, getestet. Für diese Studien wird 1×10^7 cfu PA mit jeder der Lösungen bei jeder Konzentration vereinigt und 1 h bei Raumtemperatur inkubiert. Zusätzlich werden 1×10^7 cfu von PA in PBS für 1 h bei Raumtemperatur als eine Kontrolle inkubiert. Nach dem Inkubationszeitraum werden die PA zweimal gewaschen, um die Peptidlösungen zu entfernen. Für jeden Waschschrift werden die Kulturen bei 6 000 U/min für 10 Minuten zentrifugiert und die Pellets werden in 1,0 ml PBS resuspendiert.

[0131] Mauscorneas werden unter einem stereoskopischen Mikroskop bei 40-facher Vergrößerung geopfert. Die corneale Oberfläche der Augen wird mit drei parallelen Ein-mm-Wunden eingeschnitten. Die Augen werden dann entkernt und in sterile Kulturvertiefungen, die 2 ml MEM enthalten, gegeben.

[0132] Eine aliquote Menge von 5,0 µl jeder bakteriellen Suspension wird auf die Oberfläche der Cornea abgegeben. Die Augen, werden routinemäßig in vitro für 1 h bei 37°C bei 95 % O₂ (5 % CO₂) nach bakterieller Applikation inkubiert. Rasterelektronenmikroskopie (SEM) wird verwendet, um anhaftende Bakterien zu quantifizieren.

[0133] Um die Wirksamkeit des Peptids zu bestimmen, wird die Zahl der Bakterien bei jeder Konzentration mit 2 getrennten, identischen Versuchen für die PBS Kontrolle, $p \leq 0,05$ als signifikant betrachtet, verglichen. Es gibt eine leichte Verminderung bei 0,5 µg, jedoch wesentlichen Unterschied in der Anhaftung bei 2 und 10 µg von der Kontrolle. Die Werte für die bei 0,5 µg anhaftenden Bakterien sind 42,4 und 32,6 für die PBS-Kontrolle bzw. die Peptidlösung. Bei 2 µg ist es 42,4 und 15,8 für die PBS-Kontrolle bzw. die Peptidlösung. Bei 10 µg ist es 42,4 und 5,8 für die PBS-Kontrolle bzw. die Peptidlösung.

Beispiel 2: Antimikrobielle Kontaktlinsen-Beschichtungen

[0134] Dieses Beispiel erläutert antimikrobielle Beschichtungen, umfassend Cecropin A Melittinhybrid oder Indolicidin als ein antimikrobielles Mittel, das auf weichen Kontaktlinsen, die aus einem Fluorsiloxanhydrogelmaterial, Lotrafilcon A, hergestellt wurden, gebildet werden.

Herstellung von Beschichtungslösungen

[0135] Polyacrylsäure-(PAA)-Lösung. Eine Lösung von Polyacrylsäure (PAA) mit einem mittleren Molekulargewicht von etwa 90 000 wird durch Auflösen einer geeigneten Menge an PAA in Wasser hergestellt, um [PAA] = 0,001 M aufzuweisen. PAA-Konzentration wird, basierend auf der wiederkehrenden Einheit in PAA, berechnet. Einmal gelöst, wird der pH-Wert der PAA-Lösung auf einen gewünschten Wert eingestellt.

[0136] Poly(allylaminhydrochlorid)-(PAH)-Lösung. Eine Lösung von Poly(allylaminhydrochlorid) (PAH) mit einem gemittelten Molekulargewicht von etwa 60 000 wird durch Auflösen einer geeigneten Menge des Materials

in Wasser hergestellt, um eine 0,001 M PAH-Lösung zu bilden. Die PAH-Konzentration wird, basierend auf der wiederkehrenden Einheit in PAH, berechnet. Einmal gelöst, wird der pH-Wert der PAH-Lösung eingestellt, um einen gewünschten Wert zu erreichen.

Herstellung von Kontaktlinsen mit antimikrobiellen LbL-Beschichtungen

[0137] Die Kontaktlinsen, hergestellt aus einem Fluorsiloxanhydrogelmateriale, Lotrafilcon A, werden in eine PAA-Lösung (0,001 M, pH 2,5) für 30 Minuten getaucht, mit ultrareinem Wasser gespült, dann in eine PAH-Lösung (0,001 M, pH 7,5) 5 Minuten getaucht, mit ultrareinem Wasser 1 Minute gespült. Drei weitere Doppelschichten werden durch abwechselndes Tauchen in die Lösungen von PAA (0,001 M, pH 3,5) und PAH (0,002 M, pH 7,5), mit einem Spülschritt dazwischen, versetzt. Die Kontaktlinsen mit vier Doppelschichten von Polyelektrolyten werden in die PAA-Lösung (0,001 M, pH 3,5) getaucht und mit ultrareinem Wasser für 1 Minute gespült. Eine Gesamtheit von 4 ½ Doppelschichten (PAA/PAH/PAA/PAH/PAA/PAH/PAA/PAH/PAA) wird auf jeder Kontaktlinse aufgebaut. Die Linsen werden dann in Salzlösung gepackt und sterilisiert.

[0138] Die Linsen mit der vorstehend beschriebenen LbL-Beschichtung werden in eine EDC/SNHS-Lösung (pH 9,0 und enthaltend: eine 100 µg/ml Lösung von entweder Cecropinmelittinhybrid oder Indolicidin; 10 mg/ml EDC und 22 mg/ml Sulfo-NHS), über Nacht unter mildem Schütteln gelegt. Die Linsen werden dann entfernt und in destilliertem Wasser gespült.

[0139] Das kovalente Kuppeln von Peptiden an die Linsenoberfläche wird qualitativ über Coomassieblue-Anfärben der Linse überprüft. Jede Linse wird in 1 ml von 0,2 % Gewicht/Volumen Coomassie brilliant blue R250 für 1 Stunde voll saugen lassen. Die Coomassie-Anfärbung wird in Entfärbungslösung (5:5:1; Methanol:Milli-Q Wasser:Essigsäure) fertig gemacht. Die Linsen werden dann in einzelnen Käfigen angeordnet und in 500 ml Entfärbungslösung angeordnet, bis die unbeschichteten Linsen (negative Kontrolle) klar sind. Coomassieblue-Anfärben hat eine Nachweisgrenze von 2 µg Protein/Linse. Die Ergebnisse zeigen, dass eine beträchtliche Menge an Cecropin A Melittinhybrid auf der Linsenoberfläche vorliegt. Indolicidin liegt auch in nachweisbaren Mengen, jedoch nicht so viel wie Cecropin, vor. Der beobachtete Unterschied kann durch den Unterschied an der Menge an Lysingruppen, die auf jedem Peptid zwischen Cecropin A Melittin und Indolicidin verfügbar sind, erläutert werden. Cecropin A Melittinhybrid ist ein 15-Rest-Peptid mit einer Aminosäuresequenz von Lys-Trp-Lys-Leu-Phe-Lys-Lys-Ile-Gly-Ala-Val-Leu-Lys-Val-Leu-COOH. Indolicidin ist ein 13-Rest-Peptid mit einer Aminosäuresequenz von Ile-Leu-Pro-Trp-Lys-Trp-Pro-Trp-Trp-Pro-Trp-Arg-Arg-COOH. Cecropin hat 5 Lysine; wohingegen Indolicidin nur ein Lysin hat.

Beispiel 3: Antimikrobielle Wirksamkeit von Peptid, voll gesogen oder adsorbiert und nicht kovalent gebundene Linsen

[0140] NewVues voll gesogene Linsen in Cecropin A Melittinhybrid bei 1 mg/ml Konzentration werden in 1×10^4 /ml *P. aeruginosa* # 3 in PBS gegen nicht vollgesogene NewVues über Nacht bei 37°C unter Schütteln exponiert. Nach Inkubation werden die Linsen fünfmal mit drei aufeinander folgenden Bechern von 150 ml-Volumen PBS gewaschen, um locker gebundene Bakterien zu entfernen. Die Linsen werden jeweils in 10 ml-Fläschchen Salzlösung gelegt, 6 Minuten ultrabeschallt und Vortex-behandelt. Aliquote Mengen von 100 µl werden seriell verdünnt, auf TS Agar plattiert. Die Platten werden 24-48 Stunden bei 37°C inkubiert und lebensfähige Bakterien werden gezählt.

[0141] Es gibt etwa 90 % Verminderung an bakterieller Anhaftung von NewVues, voll gesogen in Cecropin A Melittinhybrid, verglichen mit der Kontrolllinse NewVues, nicht voll gesogen.

Beispiel 4: Antimikrobielle Wirksamkeit von Kontaktlinsen mit antimikrobiellem Peptid, das kovalent an die Oberfläche davon gebunden ist

[0142] Linsen mit einer antimikrobiellen Beschichtung und kovalent beschichtet mit Indolicidin und mit Cecropin A Melittinhybrid (Beispiel 2) werden gegen Kontrolllinsen getestet. 200 cl von 10^4 cfu/ml *P. aeruginosa* #3 in PBS werden auf der Oberfläche der Linse angeordnet. Man inkubiert bei 25°C über Nacht. Man belüftet 100 µl von den Linsen, verdünnt seriell und plattiert.

[0143] Etwa 50 % Verminderung an Bakterien, die von den Linsen gewonnen wurden, wie mit der Kontrolllinse verglichen.

[0144] Dies zeigt antimikrobielle Wirksamkeit von Peptiden auf der Oberfläche der Linse.

Patentansprüche

1. Ophthalmische Vorrichtung, umfassend ein Kernmaterial und eine antimikrobielle LbL-Beschichtung, die nicht kovalent an das Kernmaterial gebunden ist, wobei die antimikrobielle LbL-Beschichtung einschließt:

(a) eine Polyelektrolyt-LbL-Beschichtung und eine Peptidschicht von einem oder mehreren antimikrobiellen Peptiden, wobei die Polyelektrolyt-LbL-Beschichtung zusammengesetzt ist aus

(i) mindestens einer Schicht von einem ersten polyionischen Material, oder

(ii) mindestens einer Schicht von dem ersten polyionischen Material und mindestens einer Schicht von einem zweiten polyionischen Material mit Ladungen, entgegengesetzt zu den Ladungen des ersten polyionischen Materials,

wobei die ersten und zweiten polyionischen Materialien, unabhängig voneinander, funktionelle Gruppen aufweisen, die reaktive Stellen bereitstellen, und worin die Peptidschicht von einem oder mehreren antimikrobiellen Peptiden kovalent an die LbL-Beschichtung durch die reaktiven Stellen gebunden ist; oder

(b) mindestens eine Doppelschicht, bestehend aus einer kationischen Schicht von einem Gemisch, das ein positiv geladenes polyionisches Material und ein oder mehrere antimikrobielle Peptide einschließt, und einer anionischen Schicht von einem negativ geladenen polyionischen Material,

wobei das eine oder mehrere antimikrobielle Peptid/e ausgewählt ist/sind aus der Gruppe, bestehend aus

Lys-Trp-Lys-Leu-Phe-Lys-Lys-Ile-Gly-Ala-Val-Leu-Lys-Val-Leu-COOH,

Lys-Trp-Lys-Leu-Phe-Lys-Lys-Ile-Gly-Ala-Val-Leu-Lys-Val-Leu-NH₂,

Ile-Leu-Pro-Trp-Lys-Trp-Pro-Trp-Trp-Pro-Trp-Arg-Rrg-COOH und

Ile-Leu-Pro-Trp-Lys-Trp-Pro-Trp-Trp-Pro-Trp-Rrg-Arg-NH₂.

2. Ophthalmische Vorrichtung nach Anspruch 1, worin die ophthalmische Vorrichtung eine Polyelektrolyt-LbL-Beschichtung und eine Peptidschicht von einem oder mehreren antimikrobiellen Peptid umfasst, wobei die Polyelektrolyt-LbL-Beschichtung zusammengesetzt ist aus (i) mindestens einer Schicht von einem ersten polyionischen Material oder (ii) mindestens einer Schicht von dem ersten polyionischen Material und mindestens einer Schicht von einem zweiten polyionischen Material mit Ladungen, entgegengesetzt zu den Ladungen des ersten polyionischen Materials, wobei die ersten und zweiten polyionischen Materialien unabhängig voneinander funktionelle Gruppen aufweisen, die reaktive Stellen bereitstellen, und wobei die Peptidschicht von einem oder mehreren antimikrobiellen Peptiden an die LbL-Beschichtung durch die reaktiven Stellen kovalent gebunden sind.

3. Ophthalmische Vorrichtung nach Anspruch 2, worin eines von den ersten und zweiten polyionischen Materialien ein polyanionisches Material darstellt und das andere ein polykationisches Material darstellt, wobei das polyanionische Material ausgewählt ist aus der Gruppe, bestehend aus Polyacrylsäure, Polymethacrylsäure, Poly(thiophen-3-essigsäure), Poly(4-styrolsulfonsäure), PAMAM-Dendrimeren, PAAm-co-PAA, PVP-co-PAA, Hyaluronsäure, Glycosaminoglycanen, Fucoidan, Poly-aspartamsäure, Poly-glutaminsäure, Carboxymethylcellulose, Carboxymethyl-dextranen, Alginaten, Pektinen, Gellan, Carboxyalkylchitinen, Carboxymethylchitosanen, sulfatierten Polysacchariden, Derivaten davon und Gemischen davon, wobei das polykationische Material ausgewählt ist aus der Gruppe, bestehend aus Poly(allylaminhydrochlorid), Poly(ethylenimin), Poly(vinylbenzyltrimethylamin), Polyanilin, Polypyrrol, Poly(pyridiniumacetylen), Polyquat, Polyaminoamid, Poly-ε-lysin, Albumin oder Collagen, aminoalkylierten Polysacchariden, Derivaten davon und Gemischen davon.

4. Ophthalmische Vorrichtung nach Anspruch 3, worin die ophthalmische Vorrichtung eine Kontaktlinse ist.

5. Kontaktlinse nach Anspruch 4, worin die Kontaktlinse eine Hydrogel-Kontaktlinse ist.

6. Ophthalmische Vorrichtung nach Anspruch 1, worin die ophthalmische Vorrichtung mindestens eine Doppelschicht umfasst, die aus einer kationischen Schicht von einem Gemisch, das ein positiv geladenes polyionisches Material und ein oder mehrere antimikrobielle Peptide einschließt, und einer anionischen Schicht von einem negativ geladenen polyionischen Material besteht.

7. Ophthalmische Vorrichtung nach Anspruch 6, worin das negativ geladene polyionische Material ausgewählt ist aus der Gruppe, bestehend aus Polyacrylsäure, Polymethacrylsäure, Poly(thiophen-3-essigsäure), Poly(4-styrolsulfonsäure), PAMAM-Dendrimeren, PAAm-co-PAA, PVP-co-PAA, Hyaluronsäure, Glycosaminoglycanen, Fucoidan, Poly-aspartamsäure, Poly-glutaminsäure, Carboxymethylcellulose, Carboxymethyl-dextranen, Alginaten, Pektinen, Gellan, Carboxyalkylchitinen, Carboxymethylchitosanen, sulfatierten Polysacchariden, Derivaten davon und Gemischen davon, wobei das positiv geladene polyionische Material ausgewählt ist aus der Gruppe, bestehend aus Poly(allylaminhydrochlorid), Poly(ethylenimin), Poly(vinylbenzyltrimethyl-

amin), Polyanilin, Polypyrrol, Poly(pyridiniumacetylen), Polyquat, Polyaminoamid, Poly-ε-lysin, Albumin oder Collagen, aminoalkylierten Polysacchariden, Derivaten davon und Gemischen davon.

8. Ophthalmische Vorrichtung nach Anspruch 7, worin die ophthalmische Vorrichtung eine Kontaktlinse ist.

9. Kontaktlinse nach Anspruch 8, worin die Kontaktlinse eine Hydrogel-Kontaktlinse ist.

10. Verfahren zur Herstellung einer ophthalmischen Vorrichtung mit einer antimikrobiellen LbL-Beschichtung, umfassend die Schritte von:

a) Auftragen einer LbL-Beschichtung auf die Oberfläche der ophthalmischen Vorrichtung, wobei die LbL-Beschichtung nicht kovalent an die ophthalmische Vorrichtung gebunden ist und zusammengesetzt ist aus

(i) mindestens einer Schicht aus einem ersten polyionischen Material, das nicht kovalent an die Oberfläche der ophthalmischen Vorrichtung gebunden ist, oder

(ii) mindestens einer Schicht von dem ersten polyionischen Material, das nicht kovalent an die Oberfläche der ophthalmischen Vorrichtung gebunden ist, und mindestens einer Schicht aus einem zweiten polyionischen Material mit Ladungen, entgegengesetzt zu den Ladungen des ersten polyionischen Materials, wobei die ersten und zweiten polyionischen Materialien unabhängig voneinander funktionelle Gruppen aufweisen, die reaktive Stellen bereitstellen; und

b) kovalentem Binden einer Schicht von einem oder mehreren antimikrobiellen Peptiden an die LbL-Beschichtung über die reaktiven Stellen,

wobei das eine oder mehrere antimikrobielle Peptid/e ausgewählt ist/sind aus der Gruppe, bestehend aus

Lys-Trp-Lys-Leu-Phe-Lys-Lys-Ile-Gly-Ala-Val-Leu-Lys-Val-Leu-COOH,

Lys-Trp-Lys-Leu-Phe-Lys-Lys-Ile-Gly-Ala-Val-Leu-Lys-Val-Leu-NH₂,

Ile-Leu-Pro-Trp-Lys-Trp-Pro-Trp-Trp-Pro-Trp-Arg-Arg-COOH und

Ile-Leu-Pro-Trp-Lys-Trp-Pro-Trp-Trp-Pro-Trp-Arg-Arg-NH₂.

11. Verfahren nach Anspruch 10, wobei der Schritt des Auftragens gemäß einem Nur-Tauchbeschichtungsverfahren, einem Nur-Sprühbeschichtungsverfahren oder Kombinationen davon erfolgt.

12. Verfahren zur Herstellung einer ophthalmischen Vorrichtung mit einer antimikrobiellen LbL-Beschichtung, umfassend die Schritte von: abwechselndem Auftragen einer positiv geladenen Schicht von einem Gemisch, das ein polykationisches Material und mindestens ein antimikrobielles Peptid, ausgewählt aus der Gruppe, bestehend aus

Lys-Trp-Lys-Leu-Phe-Lys-Lys-Ile-Gly-Ala-Val-Leu-Lys-Val-Leu-COOH,

Lys-Trp-Lys-Leu-Phe-Lys-Lys-Ile-Gly-Ala-Val-Leu-Lys-Val-Leu-NH₂,

Ile-Leu-Pro-Trp-Lys-Trp-Pro-Trp-Trp-Pro-Trp-Arg-Arg-COOH und

Ile-Leu-Pro-Trp-Lys-Trp-Pro-Trp-Trp-Pro-Trp-Arg-Rrg-NH₂,

einschließt und einer negativ geladenen Schicht aus einem polyanionischen Material auf eine ophthalmische Vorrichtung, um die antimikrobielle LbL-Beschichtung zu bilden.

13. Verfahren nach Anspruch 12, wobei der Schritt des Auftragens gemäß einem Nur-Tauchbeschichtungsverfahren, einem Nur-Sprühbeschichtungsverfahren oder Kombinationen davon erfolgt.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen