

# (12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织  
国际局

(43) 国际公布日  
2022 年 8 月 11 日 (11.08.2022)



(10) 国际公布号  
**WO 2022/166300 A1**

(51) 国际专利分类号:

*A61K 31/785* (2006.01) *A61K 47/42* (2017.01)

*A61K 47/32* (2006.01) *A61P 19/08* (2006.01)

*A61K 47/02* (2006.01)

MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW。

(21) 国际申请号: PCT/CN2021/130974

(22) 国际申请日: 2021 年 11 月 16 日 (16.11.2021)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:

202110162718.0 2021年2月5日 (05.02.2021) CN

(71) 申请人: 华东理工大学(EAST CHINA UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY) [CN/CN]; 中国上海市徐汇区梅陇路 130 号, Shanghai 200237 (CN)。上海市第一人民医院(SHANGHAI FIRST PEOPLE'S HOSPITAL) [CN/CN]; 中国上海市虹口区武进路 85 号, Shanghai 200080 (CN)。

(72) 发明人: 刘润辉(LIU, Runhui); 中国上海市徐汇区梅陇路 130 号, Shanghai 200237 (CN)。林浩东(LIN, Haodong); 中国上海市虹口区海宁路 100 号, Shanghai 200008 (CN)。武月铭(WU, Yueming); 中国上海市徐汇区梅陇路 130 号, Shanghai 200237 (CN)。

(74) 代理人: 上海一平知识产权代理有限公司(XU&PARTNERS, LLC.); 中国上海市普陀区真北路 958 号天地科技广场 1 号楼 106 室, Shanghai 200333 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX,

(84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

— 包括国际检索报告(条约第 21 条(3))。

(54) Title: POLYPEPTIDE POLYMER-DOPED BONE MARROW CAVITY FILLER AND USE THEREOF IN TREATMENT OF OSTEOMYELITIS

(54) 发明名称: 掺杂多肽聚合物的骨髓腔填充物及在骨髓炎治疗中的用途

(57) Abstract: Disclosed are a polypeptide polymer-doped bone marrow cavity filler and the use thereof in the treatment of osteomyelitis, wherein the polypeptide polymer is used for being doped in a bone marrow cavity filler or preparing a bone marrow cavity filling antibacterial material for treating osteomyelitis, has efficient antibacterial activity on common staphylococcus aureus, etc., in osteomyelitis, is not easy to induce bacteria to generate drug resistance, has good biocompatibility in environments such as bone marrow and blood, has good stability, and still keeps activity after forming heat release and even the autoclaving of bone cement.

(57) 摘要: 一种掺杂多肽聚合物的骨髓腔填充物及其在骨髓炎治疗中的用途, 多肽聚合物用于掺杂骨髓腔填充物, 或用于制备治疗骨髓炎的骨髓腔填充抗菌材料, 对骨髓炎中常见的金黄色葡萄球菌等有高效的抗菌活性且不易诱导细菌产生耐药性, 在骨髓、血液等环境具有良好的生物相容性, 且多肽聚合物有较好的稳定性, 在骨水泥成型放热甚至高压灭菌后仍保持活性。



WO 2022/166300 A1

## 掺杂多肽聚合物的骨髓腔填充物及在骨髓炎治疗中的用途

### 技术领域

本发明涉及骨髓炎疾病预防及治疗领域，具体涉及多肽聚合物或多肽模拟物作为抗生素替代抗菌剂掺杂的骨水泥。

### 背景技术

骨髓炎是一种比较常见的骨骼疾病，涉及骨的感染和破坏，如果不采取及时的治疗对于人体的危害极大，很容易引发身体的其他部位出现相应的病变。慢性骨髓炎是急性化脓性骨髓炎的延续，一般症状限于局部，往往顽固难治，炎症反复发作，甚至数年或数十年仍不能痊愈。临床通常采用抗生素疗法，但是随着抗生素滥用现象严峻，耐药性细菌的出现给骨髓炎的治疗带来了更大的挑战。因此，本领域内亟需开发一类具有高效抗菌活性和良好的生物相容性、制备工艺简单、成本低的骨髓腔填充物用于骨髓炎抗感染治疗。

### 发明内容

本发明的目的是提供一种能够用于骨髓炎抗感染治疗的骨髓腔填充物。

本发明的第一方面，提供一种多肽聚合物的应用，用于掺杂骨髓腔填充物；或用于制备治疗骨髓炎的骨髓腔填充抗菌材料。

掺杂多肽聚合物的骨髓腔填充物，用于骨髓炎治疗，作为抗生素替代物杀死或抑制致病菌的生长。

在另一优选例中，多肽聚合物使用过程中耐高温。

在另一优选例中，多肽聚合物使用过程中耐蛋白酶。

在另一优选例中，多肽聚合物使用过程中不易诱导细菌产生耐药性。

在另一优选例中，所述骨髓炎为慢性骨髓炎或急性骨髓炎。

在另一优选例中，所述骨髓炎好发于长骨如胫骨或股骨的干骺端、糖尿病足、穿透性骨损伤等。

在另一优选例中，所述骨髓腔填充物为聚甲基丙烯酸（PMMA）骨水泥、磷酸钙（CPC）骨水泥、硫酸钙骨水泥、生物玻璃、羟基磷灰石、生物陶瓷、或明胶海绵。

另一优选例中，所述掺杂包括粉末掺杂或溶液掺杂。

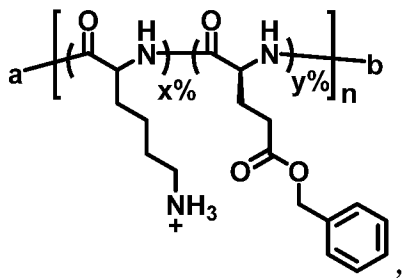
在另一优选例中，所述多肽聚合物的掺杂剂量为相对于填充物重量的 1wt%-20wt%或 1wt%-40wt%。

在另一优选例中，所述多肽聚合物的掺杂剂量为相对于填充物重量的 5wt%-15wt%。

在另一优选例中，所述骨髓炎的致病菌为需氧或厌氧菌，分枝杆菌和/或真菌，选自金黄色葡萄球菌、溶血性链球菌、白色葡萄球菌、肺炎球菌、大肠杆菌、铜

绿假单胞菌等中的一种或两种以上的组合。

另一优选例中，所述多肽聚合物为包含赖氨酸残基的均聚物或包含赖氨酸残基和谷氨酸苄酯残基的共聚物，



构型为 L、D 或 DL；

链长  $n$  为 1-1000， $x\%$  为 100%-30%， $y\%$  为 0-70%；

端基  $a$ ， $b$  基团各自独立地为 H、氨基、羟基、C1-C15 烷基、C1-C15 亚烷基氨基、C6-C15 芳基、C2-C15 烯基、C2-C15 炔基、C1-C15 亚烷基羟基、C1-C15 亚烷基醛基、C1-C15 亚烷基酯基、硫代 C1-C15 亚烷基酯基、5-15 元杂芳基、5-12 元杂环基。

在另一优选例中，端基  $a$ ， $b$  基团各自独立地为 H、氨基、羟基、C1-C10 烷基、C1-C10 亚烷基氨基、C6-C10 芳基、C2-C10 烯基、C2-C10 炔基、C1-C10 亚烷基羟基、C1-C10 亚烷基醛基、C1-C10 亚烷基酯基、硫代 C1-C10 亚烷基酯基、5-8 元杂芳基、5-8 元杂环基。

在另一优选例中，端基  $a$ ， $b$  基团各自独立地为 H、氨基、羟基、C1-C6 烷基、C1-C6 亚烷基氨基、C6-C6 芳基、C2-C6 烯基、C2-C6 炔基、C1-C6 亚烷基羟基、C1-C6 亚烷基醛基、C1-C6 亚烷基酯基、硫代 C1-C6 亚烷基酯基、5-7 元杂芳基、5-7 元杂环基。

在另一优选例中，端基  $a$ ， $b$  基团各自独立地为 H、氨基、羟基、C1-C4 烷基、C1-C4 亚烷基氨基、C4-C4 芳基、C2-C4 烯基、C2-C4 炔基、C1-C4 亚烷基羟基、C1-C4 亚烷基醛基、C1-C4 亚烷基酯基、硫代 C1-C4 亚烷基酯基、6 元杂芳基、6 元杂环基。

在另一优选例中，所述多肽聚合物为实施例中制备的聚合物。

在另一优选例中，所述多肽聚合物具有良好的生物相容性，对人类红细胞、鼠红细胞等没有明显的溶血活性；对哺乳动物细胞如小鼠胚胎成纤维细胞、非洲猴肾细胞、人脐静脉内皮细胞、犬肾细胞等没有明显细胞毒性。

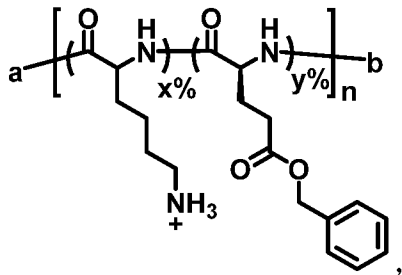
本发明的第二方面，提供一种骨髓腔填充抗菌材料，包含多肽聚合物和骨髓腔填充物。

在另一优选例中，所述骨髓腔填充抗菌材料为治疗骨髓炎的骨髓腔填充抗菌材料。

在另一优选例中，所述骨髓腔填充物为聚甲基丙烯酸（PMMA）骨水泥、

磷酸钙（CPC）骨水泥、硫酸钙骨水泥、生物玻璃、羟基磷灰石、生物陶瓷、或明胶海绵。

在另一优选例中，在另一优选例中，所述多肽聚合物为包含赖氨酸残基的均聚物或包含赖氨酸残基和谷氨酸苄酯残基的共聚物，



构型为 L、D 或 DL；

链长  $n$  为 1-1000， $x\%$  为 100%-30%， $y\%$  为 0-70%；

端基  $a$ ， $b$  基团各自独立地为 H、氨基、羟基、C1-C15 烷基、C1-C15 亚烷基氨基、C6-C15 芳基、C2-C15 烯基、C2-C15 炔基、C1-C15 亚烷基羟基、C1-C15 亚烷基醛基、C1-C15 亚烷基酯基、硫代 C1-C15 亚烷基酯基、5-15 元杂芳基、5-12 元杂环基。

在另一优选例中，所述多肽聚合物为实施例中制备的聚合物。

在另一优选例中，所述多肽聚合物和骨髓腔填充物的重量比为 1-40:99-60、1-20:99-80、5-15:95-85、或 8-12:92-88。

本发明掺杂多肽聚合物的骨髓腔填充物用于慢性骨髓炎及急性骨髓炎治疗，对骨髓炎中常见的金黄色葡萄球菌等有高效的抗菌活性且不易诱导细菌产生耐药性，在骨髓、血液等环境具有良好的生物相容性，且多肽聚合物有较好的稳定性，在骨水泥成型放热甚至高压灭菌后仍保持活性。

应理解，在本发明范围内中，本发明的上述各技术特征和在下文(如实施例)中具体描述的各技术特征之间都可以互相组合，从而构成新的或优选的技术方案。说明书中所揭示的各个特征，可以被任何提供相同、均等或相似目的的替代性特征取代。限于篇幅，在此不再一一累述。

## 附图说明

图1为多肽聚合物PMMA骨水泥红外、接触角以及XPS测试结果图。

图2为多肽聚合物PMMA骨水泥强度测试结果图。

图3为多肽聚合物的溶液抗菌活性测试结果图。

图4为抑菌效果图。

图5为多肽聚合物稳定性测试结果图。

图6为对血红细胞的溶血活性测试结果图。

图7为活/死细胞染色显微镜结果图。

图8为MTT定量测试结果图。

图9为血常规测试中白细胞计数统计结果图。

图10为X线检测结果图。

图11为胫骨上端照片。

图12为骨髓组织细菌称重匀浆涂板结果图。

图13为骨组织和骨髓组织细菌计数结果图。

图14为肝肾组织切片染色图。

图15为骨组织切片革兰氏染色图。

图16为切片免疫荧光图。

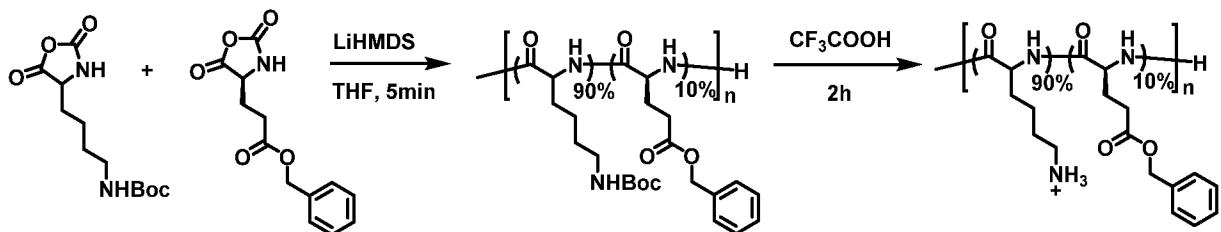
图17为多肽聚合物明胶海绵对骨髓炎的治疗结果图。

## 具体实施方式

下面结合具体实施例来说明本发明所制备的抗菌聚合物可用于骨髓炎抗感染治疗

### 实施例1

六甲基二硅基胺基锂盐 (LiHMDS) 引发N-ε-叔丁氧羰基-DL-赖氨酸-N-羧基环内酸酐和L-谷氨酸-5-苄酯-N-羧基环内酸酐制备多肽聚合物



称取N-ε-叔丁氧羰基-DL-赖氨酸-N-羧基环内酸酐和L-谷氨酸-5-苄酯-N-羧基环内酸酐，用四氢呋喃作为溶剂。取9个当量的 N-ε-叔丁氧羰基-DL-赖氨酸-N-羧基环内酸酐和1个当量的L-谷氨酸-5-苄酯-N-羧基环内酸酐混合后加磁子进行搅拌。称取五分之一总单体当量的引发剂六甲基二硅基胺基锂盐配置成溶液迅速加入引发剂后在室温反应5分钟。加入大量石油醚析出白色絮状沉淀，进行过滤收集，得到带保护的聚合物（6g，n为27）。在带保护的聚合物中加入三氟乙酸后震荡6小时脱去保护基团，加冰甲基叔丁基醚析出白色沉淀后过滤收集，用超纯水溶解样品，最后冻干获得脱保护后的多肽聚合物。

### 实施例2

#### 骨髓腔填充物的制备

##### 2.1 多肽聚合物PMMA骨水泥

PMMA骨水泥由聚甲基丙烯酸甲酯（粉剂）和单体丙烯酸甲酯（液剂）两部分制剂组成，粉剂包括PMMA、苯乙烯和引发剂等；液剂为甲基丙烯酸甲酯

(MMA)和促进剂等。将骨水泥粉剂和液剂按照比例2: 1(g:mL)准备待用, 实施例1制备的多肽聚合物(占骨水泥粉剂8 wt%)预先溶于少量DMSO中配置成0.4M的聚合物溶液, 将聚合物溶液加入预先准备的液剂中混匀, 将含有聚合物溶液的液剂加入预先准备的骨水泥粉剂并进行搅拌混合2 min, 转移至模具中, 并用钢板压实维持15 min后取出脱模, 制备成直径厚度约为3 mm的圆柱形骨水泥。

## 2.2 多肽聚合物明胶海绵

将明胶海绵裁剪成2\*1cm的长方形, 用超纯水反复洗涤清除多余的交联剂, 最后一遍清洗后加入0.5ml实施例1制备的多肽聚合物(15 mg)水溶液进行吸附, 将所得明胶海绵使用液氮冷冻后至于冻干机冷冻干燥处理, 即得到吸附多肽聚合物的明胶海绵。

## 实施例3

### 骨髓腔填充物表征

为了证明骨髓腔填充物的成功制备及多肽聚合物的成功掺入, 将实施例2制备的多肽聚合物PMMA骨水泥进行红外、接触角以及XPS测试, 结果如图1所示, 红外中多肽骨水泥显示了聚合物的特征峰。接触角表征聚合物掺入使得接触角明显变化。XPS中增加了N以及F的特征峰。因此所有测试都证明了多肽聚合物的成功掺入。

## 实施例4

### 多肽聚合物PMMA骨水泥压缩强度测试

使用万能材料拉力机测量多肽聚合物PMMA骨水泥(3mm 直径和3mm 厚度)的压缩强度, 将样品以 20 mm / min 的速率在径向压缩下加载。测试每组5个圆柱并计算平均值。代表性测试的应力应变曲线如图2, 以2%应变为横坐标作平行线得到交点, 作为样品的最大压缩强度。测试结果说明多肽聚合物PMMA骨水泥与空白PMMA骨水泥均超过国标要求的70Mpa最低要求。

## 实施例5

### 多肽聚合物的溶液抗菌活性测试

为了表征在骨髓炎血液环境下的实际抗菌活性, 最低抑菌浓度(MIC)测试采用加入不同比例胎牛血清(FBS)方法。首先用LB培养基在适宜菌株生长温度37°C的摇床中培养10小时, 待细菌长至成熟期, 转移至离心机上以4000 rpm的转速离心5分钟, 倒掉上清液, 底部的细菌用少量测试用培养基MH培养基分散, 在酶标仪上测定OD值, 根据OD值稀释菌液至 $2 \times 10^5$  CFU/mL待用。在96孔板第一行加入10  $\mu$ L待测的浓度为4 mg/mL的多肽聚合物, 再加90  $\mu$ L培养基混匀后, 取50  $\mu$ L从第二行到第八行逐级稀释, 然后每个孔中加入50  $\mu$ L菌液, 以培养基为阴性对照, 菌液为阳性对照。同时比较掺入5%, 10%, 20%FBS后的MIC, 方法为在

培养基中加不同浓度血清，用菌液进行稀释，使最终测试时血清浓度为5%，10%，20%。以上放入37℃的培养箱中培养9小时后，将96孔板放在酶标仪上用600 nm波长读数。最后按照公式细菌生长率% =  $(OD_{\text{聚合物}} - OD_{\text{空白}}) / (OD_{\text{对照}} - OD_{\text{空白}}) \times 100\%$  进行计算，抗菌活性测试中每个样品均有两个重复样。所得的MIC如图3，含血清条件下聚合物MIC值降低，活性提高，其中含10%血清情况抗菌活性提高4倍，证明多肽聚合物具有优异的抗菌活性，并且在血清存在时不失活且活性有所提高。

## 实施例6

### 多肽聚合物PMMA骨水泥的抗菌活性测试

抗菌活性以抑菌圈展示。首先用LB培养基在适宜菌株生长温度37℃的摇床中培养10小时，待细菌长至成熟期，转移至离心机上以4000 rpm的转速离心5分钟，倒掉上清液，底部的细菌用少量测试用培养基MH培养基分散，在酶标仪上测定OD值，根据OD值稀释菌液至 $1 \times 10^8$  CFU/mL待用。配置MH固体培养基，其中琼脂糖替换琼脂质量百分数为1.5%。将培养基进行高压灭菌，待其温度逐渐降至40~50℃后，向其中滴加配置好的菌液，菌液与培养基的比例为1:99，保证混合摇匀后菌液为 $1 \times 10^6$  CFU/mL。将滴加有菌液的培养基溶液20 mL倒入规格为90×15mm的培养皿中。待固体培养基凝固，使用经灭菌的6 mm直径的打孔器进行打孔，保持孔的高度为4~5 mm。向孔洞中滴加80 μL的PBS作为溶剂，随后加入多肽聚合物骨水泥和空白骨水泥，作为实验组和对照组。将培养皿放置于4℃冰箱中2小时，使药物得以预扩散。2小时后，将培养皿放置于37℃恒温培养箱中培养。在24小时之后观察抑菌圈，使用十字交叉法测量抑菌圈直径并记录。抑菌圈结果如图4所示，证明了多肽聚合物PMMA骨水泥具有显著的抑菌效果。

## 实施例7

### 多肽聚合物稳定性测试

选用实施例1中的多肽聚合物做热稳定性及酶稳定性测试。热稳定性测试方法如下，将多肽聚合物称量至玻璃瓶中，旋松瓶盖后至于高压灭菌锅中，升压力升温度至120℃保持30min，取出后与室温保存不做处理的多肽聚合物（polymer R.T.）进行对比，测试对于金黄色葡萄球菌的最低抑菌浓度（MIC），图5显示MIC值保持不变，证明多肽聚合物具有热稳定性。

酶稳定性测试方法如下，将多肽聚合物预先进行核磁测试后，加入重量比10:1的胰蛋白酶，溶于带有PBS的重水中进行核磁测试，图5的NMR谱图结果显示在缓冲体系中放置两周，聚合物未产生降解，证明多肽聚合物具有酶稳定性。

## 实施例8

### 多肽聚合物PMMA骨水泥对血红细胞的溶血活性测试

选用实施例2多肽聚合物PMMA骨水泥和空白PMMA骨水泥测试测试其对血

红细胞的溶血活性。聚合物骨水泥组和空白骨水泥组分别用0.5 mL Tris缓冲盐水（TBS）预先浸泡24h后进行溶血活性测试。由志愿者提供的新鲜人血放于4 °C保存待用。测试时取用足量人血，加入适量TBS稀释后，在离心机上以4000 rpm的转速离心3分钟，倒出上清液后，再加入TBS摇匀底部的血红细胞，继续离心，如此重复3次后，加入TBS将血红细胞稀释至5%待用。

将0.5 mL聚合物骨水泥组和空白骨水泥组的TBS浸泡液分别加入0.5 mL的5%血红细胞稀释液，并以0.1%的聚乙二醇辛基苯基醚（TX100）为阳性对照，纯TBS为阴性对照。放在37°C培养1小时后以3700 rpm转速离心5分钟，拍照后从每个管中吸取100  $\mu$ L至一块全新的96孔板，在酶标仪上用405 nm的波长进行读数。最后按照公式溶血率% =  $(OD_{\text{实验组}} - OD_{\text{TBS阴性对照}}) / (OD_{\text{TX100阳性对照}} - OD_{\text{TBS阴性对照}}) \times 100\%$  计算，溶血活性测试中每个样品均有两个重复样。实验结果如图6，显示多肽聚合物骨水泥和空白骨水泥对血红细胞没有明显的溶血活性，证明其对血红细胞具有良好的生物相容性。

### 实施例9

#### 多肽聚合物骨水泥哺乳动物细胞的细胞毒性测试

选用实施例2多肽聚合物骨水泥和空白骨水泥测试其对小鼠成纤维细胞NIH 3T3的细胞毒性。聚合物骨水泥组和空白骨水泥组分别用5 mL DMEM培养基预先浸泡24h，分别取浸出液进行细胞毒性测试。先用胰蛋白酶消化单层细胞，待细胞脱落后收集，在离心机中以1200 rpm的转速离心4分钟使细胞沉积，倒掉上清液后用培养基重悬计数。将细胞用24h浸出液稀释到 $8 \times 10^4$  cells/mL，以每个孔100  $\mu$ L转移到96孔板中，之后将96孔板放置于37°C，5% CO<sub>2</sub>浓度的培养箱中培养，一段时间进行活/死细胞（live/dead）染色及显微镜拍照观察。MTT定量测试采用方法如下，吸走孔板中的培养基，加入100  $\mu$ L 噻唑蓝（MTT）染料（0.5 mg/mL）后放入培养箱中培养4小时进行染色，之后吸走MTT染料，加入150  $\mu$ L的二甲基亚砜，将96孔板放在摇床上15分钟混合均匀后再放入酶标仪中在570 nm下读数。细胞毒性测试中每个样品均有三个重复样。1d，2d，3d的显微镜照片如图7所示，1d，2d，3d的MTT定量测试如图8所示，表明所测多肽聚合物骨水泥与空白骨水泥相比对哺乳动物细胞没有明显的细胞毒性。

### 实施例10

#### 多肽聚合物PMMA骨水泥对细菌感染的兔慢性骨髓炎的治疗效果

**骨髓炎模型的建立：**饲养新西兰大兔，雄性，体质量2.5kg-3.0kg。胫骨骨髓炎模型建立，10%水合氯醛(2.5 mL/kg)耳缘静脉注射麻醉后，仰卧位固定于手术实验台上，右胫骨备皮、常规消毒、铺单，在胫骨前内侧缘处为起点纵向切开皮肤，分离肌肉、筋膜，暴露胫骨后用5 mm克氏针在胫骨上端做1 cm<sup>3</sup>的缺损，打通骨髓腔，1 mL注射器抽取骨髓后向髓腔注射0.1 mL 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌

MRSA( $1 \times 10^9$  CFU/ml); 再次用骨蜡封闭注射器形成孔隙, 防止菌液外漏。最后逐层缝合软组织及皮肤, 切口以聚维酮碘消毒无菌纱布覆盖, 按照统一标准单笼饲养4周。

**骨髓炎模型的评价:** 在术后4周, 评价慢性骨髓炎模型。使用方法如下, 造模前后测重、测体温, 并记录。大体观察: 观察实验兔伤口愈合及软组织的情况, 有无窦道形成、软组织肿胀等, 解剖胫骨上端大体观察骨质破坏、增生情况及骨缺损的愈合情况。X线表现: 术后4周, 对存活的兔子进行X线检测, 观察骨髓炎影像学表现, 观察局部有无死骨形成、骨质破坏、骨质增生及软组织炎性包块影, 用Norden分组评分法半定量评价骨髓炎治疗情况。骨髓组织的细菌培养(金标准): 取窦道及脓性分泌物、骨髓组织、骨组织进行细菌培养。

**骨髓炎的手术治疗:** 将造模成功的大兔随机分为2组( $n \geq 6$ )。A组: 对照组(单纯清创+植入空白骨水泥)。B组: 多肽聚合物骨水泥组(清创+植入多肽聚合物骨水泥)。麻醉后右胫骨备皮, 常规消毒、铺单, 沿原切口进去, 切开肌肉、筋膜组织, 暴露胫骨, 观察胫骨干的骨质吸收和畸形情况。大量生理盐水冲洗骨髓腔, 彻底清除炎性、坏死组织, 有窦道者切除窦道, 冲洗至骨髓腔无炎性组织。A组单纯植入空白骨水泥颗粒10颗(250 mg PMMA), B组将多肽PMMA聚合物骨水泥产品10颗(200mg PMMA+6 wt%多肽聚合物)置入骨髓腔。均用骨蜡封闭, 逐层缝合软组织及皮肤, 切口以聚维酮碘消毒无菌纱布覆盖, 按照统一标准单笼饲养2周。

**骨髓炎的治疗结果:** 在第二次术后2周, 进行体重测量, 并记录。抽取耳缘血液进行血常规测试。大体观察: 观察实验兔伤口愈合及软组织的情况观察局部红肿、窦道及脓性分泌物, 是否较前好转, 如有脓性分泌物, 则取分泌物进行细菌培养。解剖胫骨上端大体观察骨质破坏、增生情况及骨缺损的愈合情况。X线表现: 第一次术后6周, 对存活的兔子进行X线检测, 观察骨髓炎影像学表现, 观察局部有无死骨形成、骨质破坏、骨质增生及软组织炎性包块影。骨髓组织细菌培养: 在术后2周, 处死兔子后取部分缺损处周围5-10 mm处的骨组织、左肝左肾等组织进行固定进行后续组织学染色, 取缺损处周围5-10 mm处的骨组织、骨髓组织, 左肝左肾等组织称重匀浆后涂板进行细菌培养, 具体操作如下。

具体称量步骤为: 在2 mL离心管内称取组织, 按照4.5  $\mu$ L/mg (100mg - 200mg之间) 加入匀浆液(匀浆液为体积分数0.1% TX100的PBS溶液)和一颗大钢珠(用于匀浆的2 mL离心管需要提前灭菌; 裁剪组织的器材需要灭菌, 每个组织裁剪后需要用75% 酒精擦干净并且风干后在使用; 根据加入的液体体积和大钢珠的体积估算需要的取材质量; 骨组织需要用咬骨钳咬碎成细小骨块)。

具体匀浆步骤为: 除骨组织为60 Hz 5 min, 其他均为60 Hz 120 秒。(匀浆尼龙离心管架要喷酒精风干再使用)

具体稀释步骤为: 匀浆好的离心管自然沉降1 min, 吸出靠近固体100~200  $\mu$ L

的原液，到新的1.5 mL无菌离心管中，混匀后再PBS10倍稀释到需要浓度。

具体涂板步骤为：涂20 $\mu$ L，涂板前离心管混匀后再涂，枪头不要碰到琼脂板，涂板要尽量靠边，板一直要倒扣。12 h后对细菌板计数并进行统计。

图9为血常规测试中白细胞计数统计，空白（A组）与聚合物骨水泥组（B组）有显著性差异，说明用多肽聚合物PMMA骨水泥给予积极的抗感染治疗以后，感染得到控制，白细胞计数正常。

第一次术后6周及第二次术后2周，对存活的兔子进行X线检测，如图10所示，A组空白骨水泥组骨髓炎严重，可见骨质增生，骨腔不规则，伴有死骨形成，可见病理性骨折；B组采用多肽聚合物PMMA骨水泥，聚合物骨水泥组骨质破坏少，骨质缺损逐渐愈合。

解剖胫骨上端大体观察，如图11所示，空白骨水泥组A组可见死骨及病理性骨折，聚合物骨水泥组B组无窦道及脓性分泌物，骨质正常。

骨髓组织细菌称重匀浆涂板，如图12所示，空白骨水泥组和聚合物骨水泥组有显著性差异，聚合物骨水泥组100倍稀释后痕量菌落长出，空白骨水泥组100倍稀释后大量菌落长出。

骨组织和骨髓组织细菌计数如图13所示，空白骨水泥组和聚合物骨水泥组有显著性差异，聚合物骨水泥组骨及骨髓组织细菌计数均下降，说明聚合物骨水泥组得到有效治疗。

肝肾组织切片如图14所示聚合物骨水泥组与空白骨水泥组对比无毒性、无明显组织损伤。

骨组织切片革兰氏染色如图15所示，空白骨水泥组大量细菌聚集，聚合物骨水泥组无大量细菌。

免疫荧光切片巨噬细胞标记物CD68的表达如图16所示，聚合物骨水泥组和空白骨水泥组均阳性表达，但聚合物骨水泥组能减弱组织的炎症反应。

## 实施例11

多肽聚合物明胶海绵对骨髓炎的治疗效果

采用实施例10的方法，骨髓炎造模成功后炎性组织产生，取炎性组织计算菌落数后，按照实施例10中骨髓炎的手术治疗方法治疗，不同点在于将聚合物骨水泥替换为多肽聚合物明胶海绵。

骨髓炎的治疗结果如图17所示，取骨组织称重匀浆涂板计算菌落数，聚合物海绵组与造模后相比菌落数明显下降。

在本发明提及的所有文献都在本申请中引用作为参考，就如同每一篇文献被单独引用作为参考那样。此外应理解，在阅读了本发明的上述讲授内容之后，本领域技术人员可以对本发明作各种改动或修改，这些等价形式同样落于本申请所附权利要求书所限定的范围。

## 权利要求书

1、一种多肽聚合物的应用，其特征在于，用于掺杂骨髓腔填充物；或用于制备治疗骨髓炎的骨髓腔填充抗菌材料。

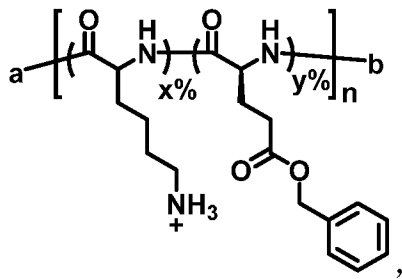
2、如权利要求 1 所述的应用，其特征在于，所述骨髓炎为慢性骨髓炎或急性骨髓炎。

3、如权利要求 1 所述的应用，其特征在于，所述骨髓腔填充物为聚甲基丙烯酸骨水泥、磷酸钙骨水泥、硫酸钙骨水泥、生物玻璃、羟基磷灰石、生物陶瓷、或明胶海绵。

4、如权利要求 1 所述的应用，其特征在于，所述掺杂包括粉末掺杂或溶液掺杂。

5、如权利要求 1 所述的应用，其特征在于，所述多肽聚合物的掺杂剂量为相对于填充物重量的 1wt%-40wt%。

6、如权利要求 1 所述的应用，其特征在于，所述多肽聚合物为包含赖氨酸残基的均聚物或包含赖氨酸残基和谷氨酸苄酯残基的共聚物，



构型为 L、D 或 DL；

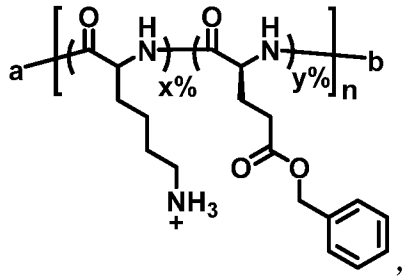
链长 n 为 1-1000，x% 为 100%-30%，y% 为 0-70%；

端基 a, b 基团各自独立地为 H、氨基、羟基、C1-C15 烷基、C1-C15 亚烷基氨基、C6-C15 芳基、C2-C15 烯基、C2-C15 炔基、C1-C15 亚烷基羟基、C1-C15 亚烷基醛基、C1-C15 亚烷基酯基、硫代 C1-C15 亚烷基酯基、5-15 元杂芳基、5-12 元杂环基。

7、一种骨髓腔填充抗菌材料，其特征在于，包含多肽聚合物和骨髓腔填充物。

8、如权利要求 7 所述的骨髓腔填充抗菌材料，其特征在于，所述骨髓腔填充物为聚甲基丙烯酸骨水泥、磷酸钙骨水泥、硫酸钙骨水泥、生物玻璃、羟基磷灰石、生物陶瓷、或明胶海绵。

9、如权利要求 7 所述的骨髓腔填充抗菌材料，其特征在于，所述多肽聚合物为包含赖氨酸残基的均聚物、或包含赖氨酸残基和谷氨酸苄酯残基的共聚物，



构型为 L、D 或 DL;

链长 n 为 1-1000, x% 为 100%-30%, y% 为 0-70%;

端基 a, b 基团各自独立地为 H、氨基、羟基、C1-C15 烷基、C1-C15 亚烷基氨基、C6-C15 芳基、C2-C15 烯基、C2-C15 炔基、C1-C15 亚烷基羟基、C1-C15 亚烷基醛基、C1-C15 亚烷基酯基、硫代 C1-C15 亚烷基酯基、5-15 元杂芳基、5-12 元杂环基。

10、如权利要求 7 所述的骨髓腔填充抗菌材料, 其特征在于, 所述多肽聚合物和骨髓腔填充物的重量比为 1-40:99-60。

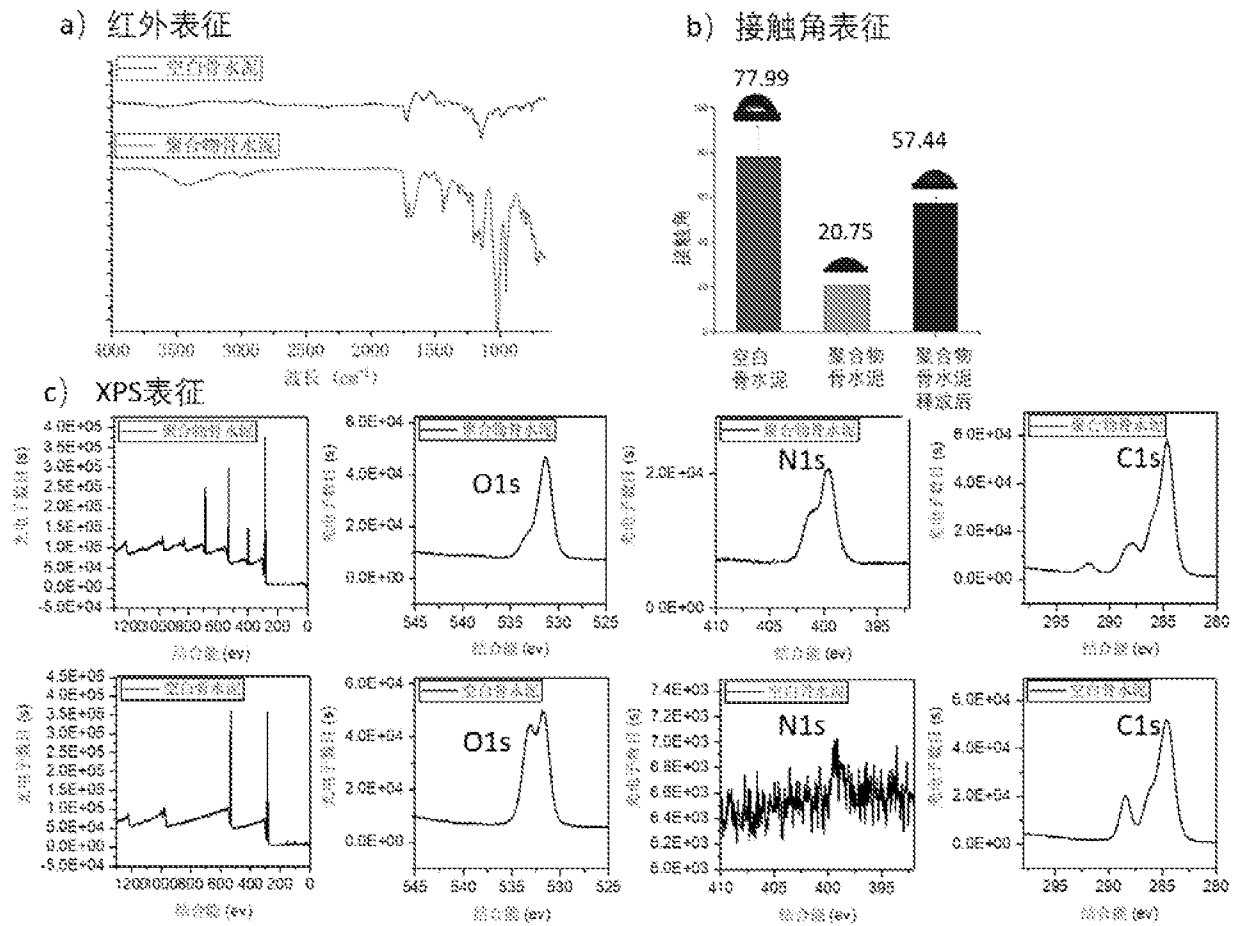


图 1

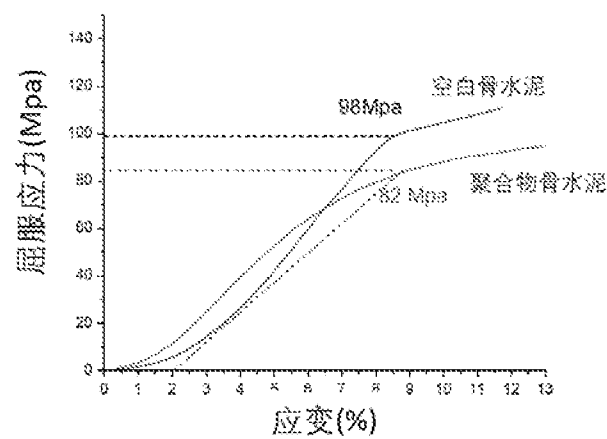


图 2

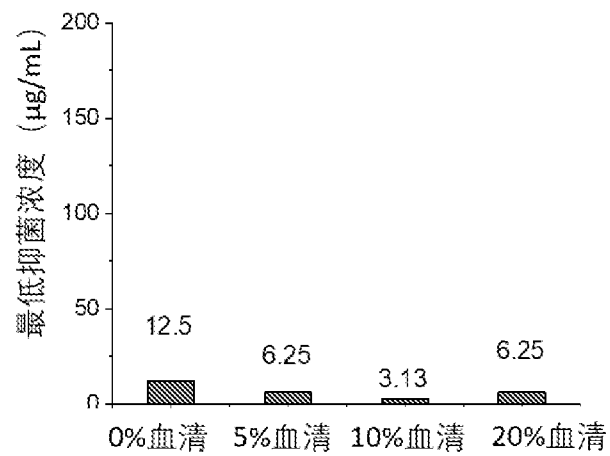


图 3

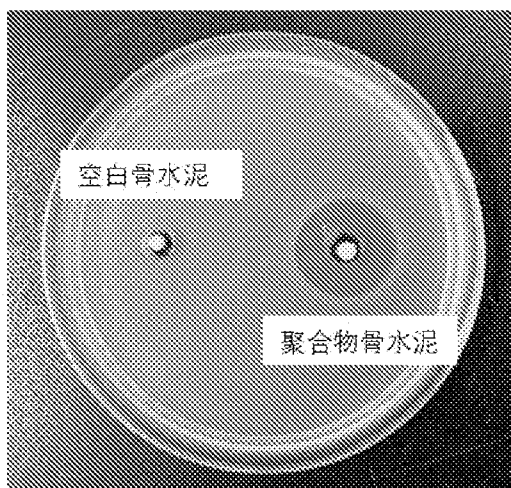


图 4

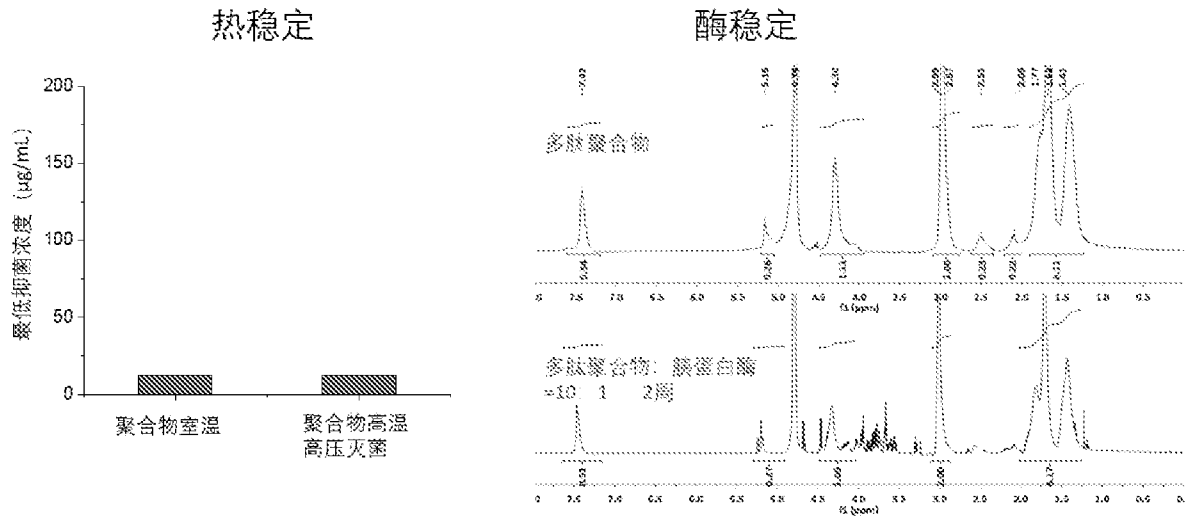


图 5

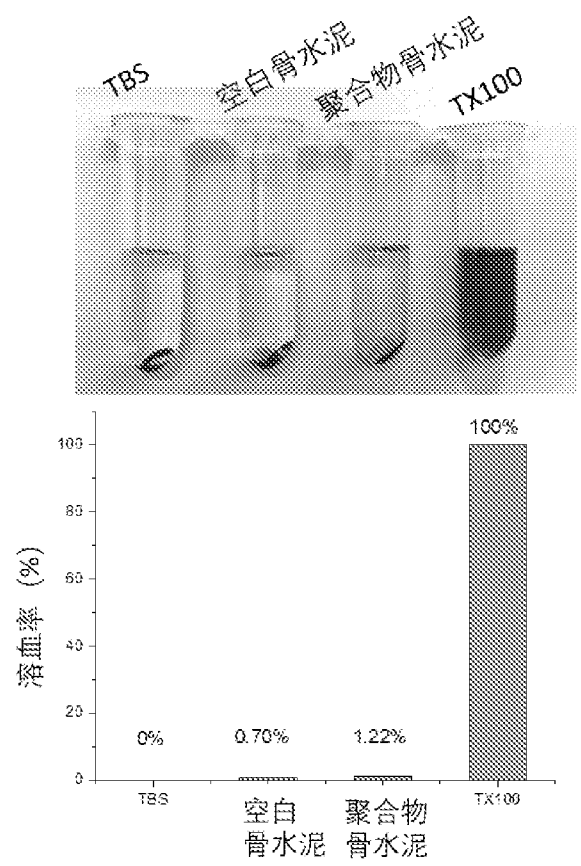


图 6

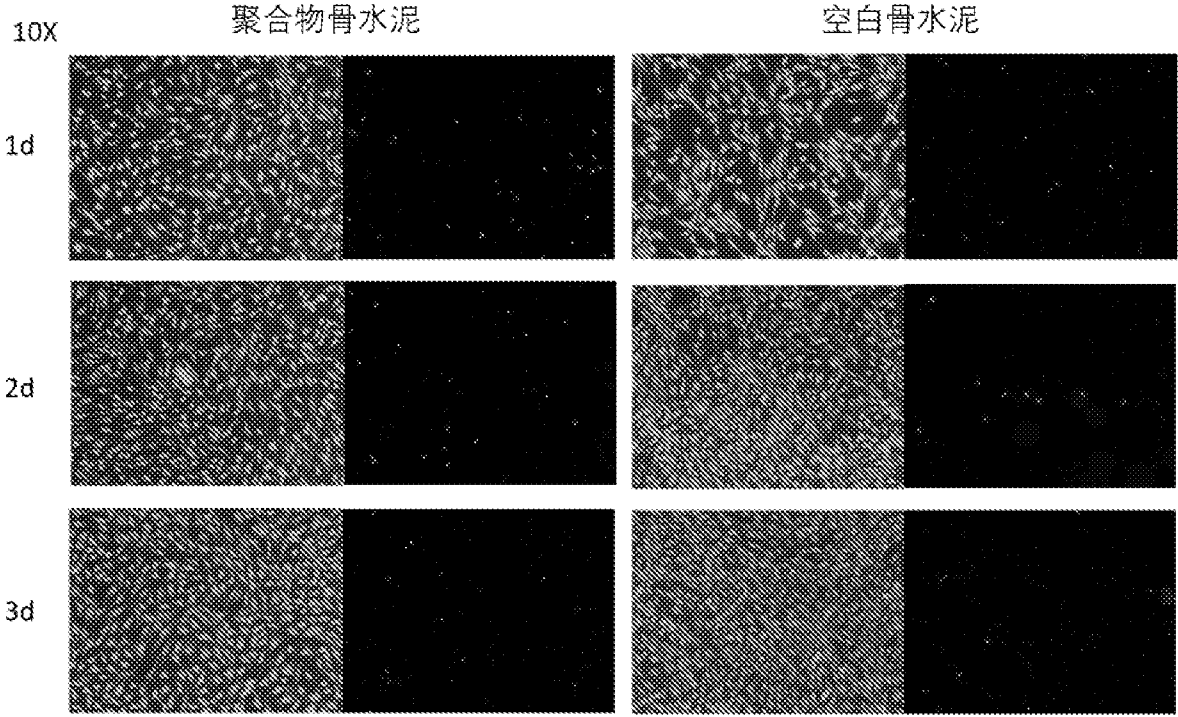


图 7

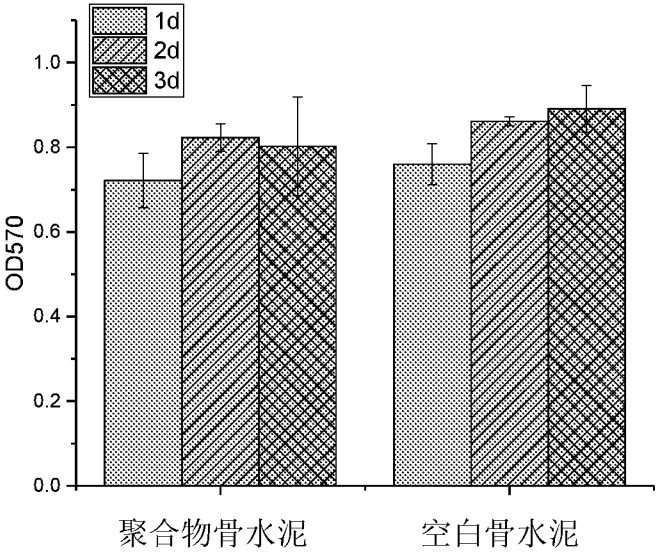


图 8

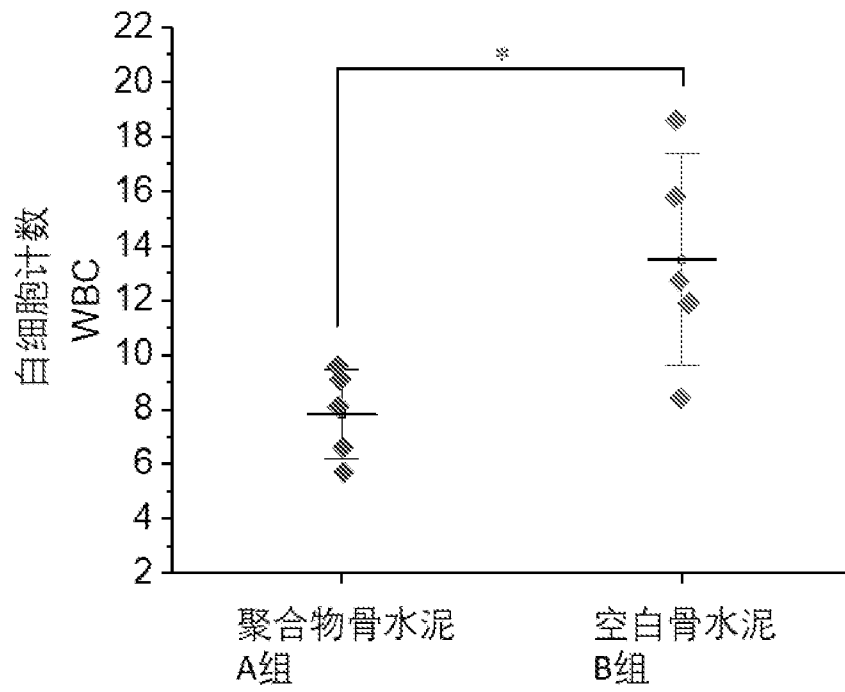


图 9

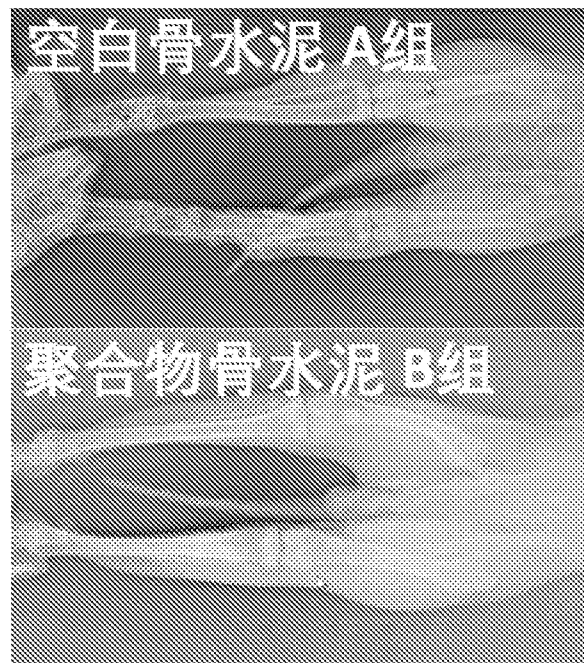


图 10

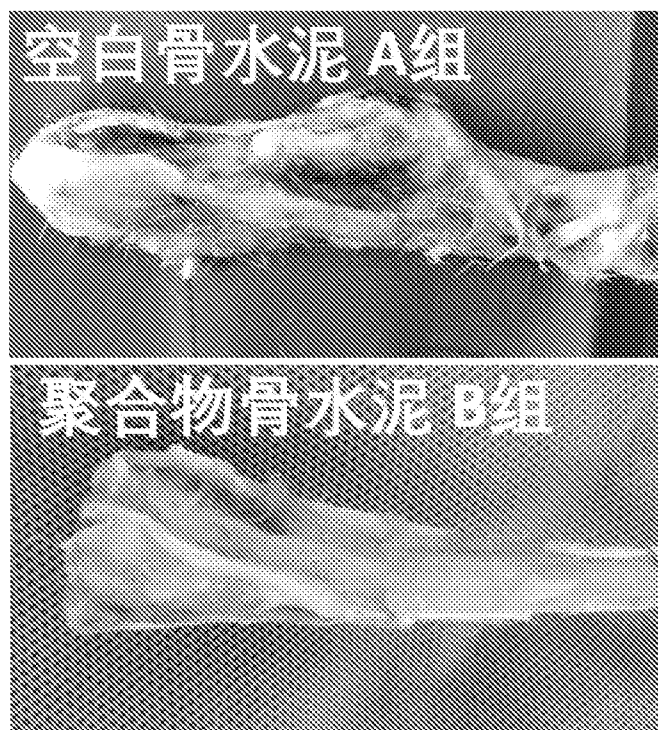


图 11

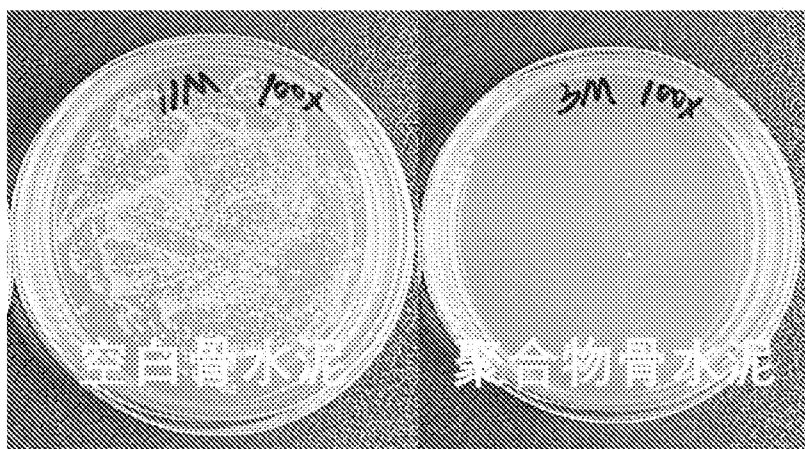


图 12

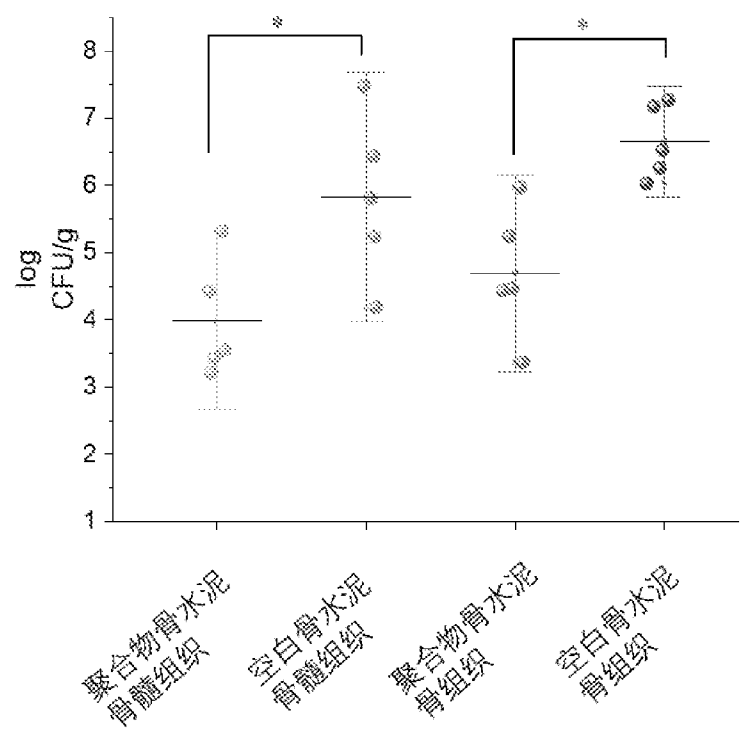
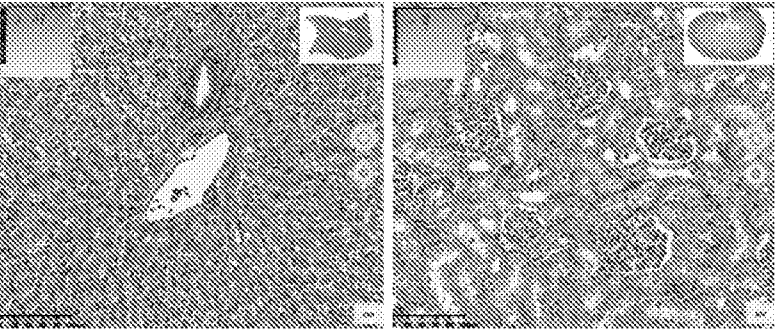


图 13

聚合物骨水泥组 肝切片 聚合物骨水泥组 肾切片



空白骨水泥组 肝切片 空白骨水泥组 肾切片

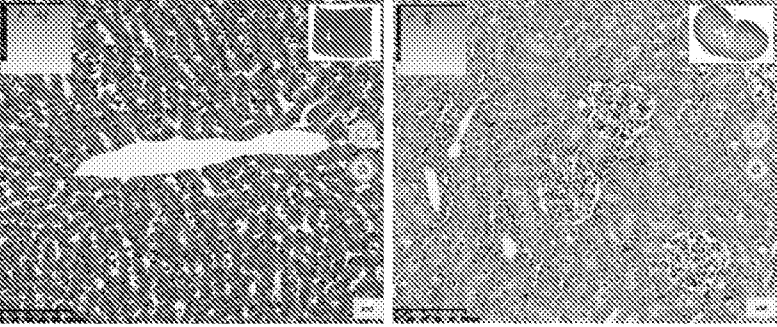


图 14

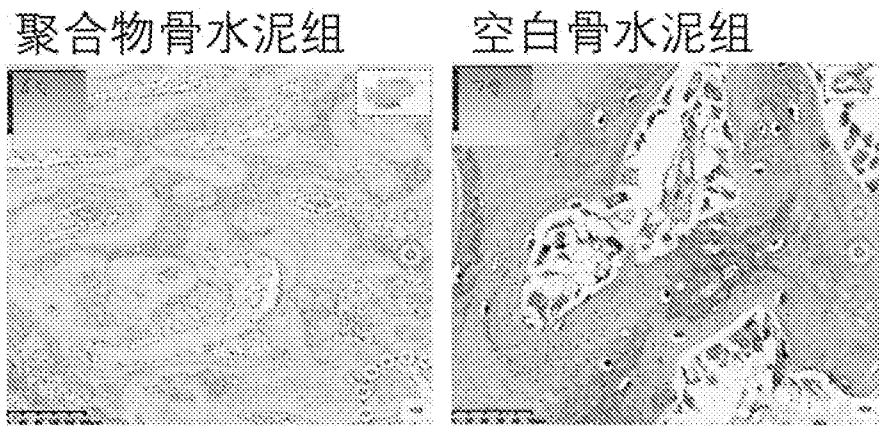


图 15

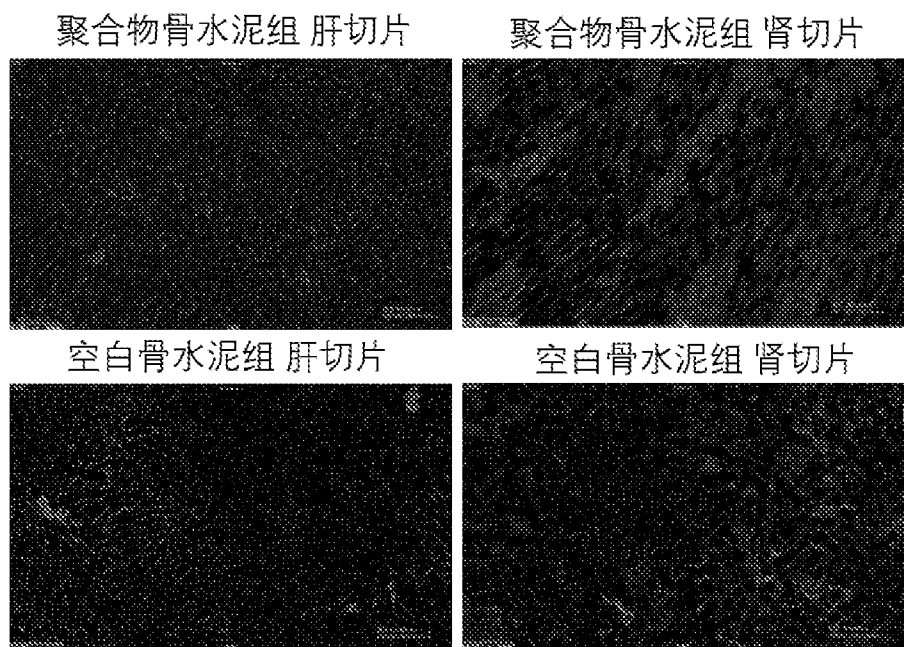


图 16

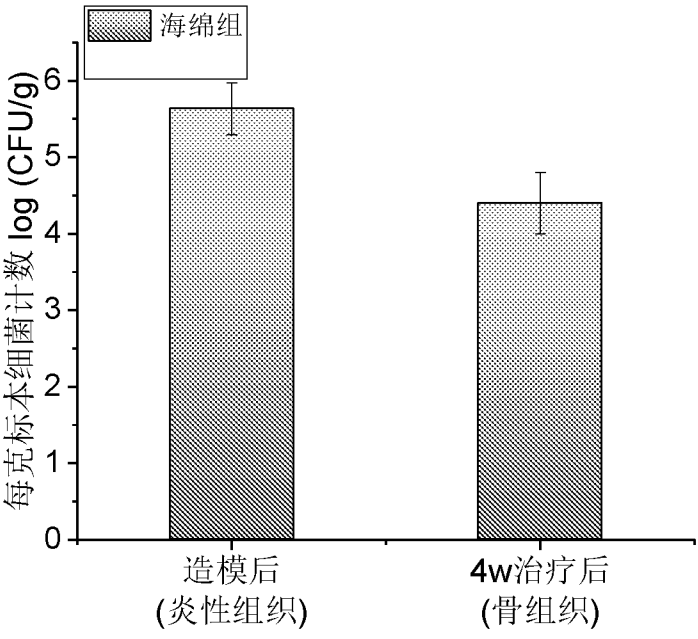


图 17

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2021/130974

**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**

A61K 31/785(2006.01)i; A61K 47/32(2006.01)i; A61K 47/02(2006.01)i; A61K 47/42(2017.01)i; A61P 19/08(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

**B. FIELDS SEARCHED**

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K; A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

DWPI; SIPOABS; CNKI; CNABS; STNext; Web of Science: 华东理工大学, 刘润辉, 多肽, 聚合物, 骨髓炎, 水泥, 抗菌, 抑菌, peptide, polypeptide, polymer, osteomyelitis, cement, antimicrobial, antibiotic

**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                                                                                                                                                      | Relevant to claim No. |
|-----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| PX        | CN 112933108 A (EAST CHINA UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY et al.)<br>11 June 2021 (2021-06-11)<br>description, abstract, and claims 1-10                                                                                                          | 1-10                  |
| Y         | JIANG, W. et al. "Peptide polymer displaying potent activity against clinically isolated multidrug resistant <i>Pseudomonas aeruginosa</i> in vitro and in vivo."<br><i>Biomaterial Science</i> , Vol. 8, 19 November 2019 (2019-11-19),<br>pp. 739-745 | 1-10                  |
| Y         | MELICHERCIK, P. et al. "Antimicrobial Peptides for Topical Treatment of Osteomyelitis and Implant-Related Infections: Study in the Spongy Bone."<br><i>Pharmaceuticals</i> , Vol. 11, No. 20, 16 February 2018 (2018-02-16),<br>pp. 1-13                | 1-10                  |
| Y         | RIOOL, M. et al. "Antimicrobial Peptides in Biomedical Device Manufacturing."<br><i>Frontiers in Chemistry</i> , Vol. 5, 24 August 2017 (2017-08-24),<br>article no. 63                                                                                 | 1-10                  |
| Y         | IN 201501979 I1 (COUNCIL OF SCIENTIFIC & INDUSTRIAL RESEARCH) 06 January<br>2017 (2017-01-06)<br>description, abstract, and claims 1-19                                                                                                                 | 1-10                  |



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

18 January 2022

Date of mailing of the international search report

11 February 2022

Name and mailing address of the ISA/CN

China National Intellectual Property Administration (ISA/  
CN)  
No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing  
100088, China

Facsimile No. (86-10)62019451

Authorized officer

Telephone No.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

**PCT/CN2021/130974****C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                                                                                                                                                        | Relevant to claim No. |
|-----------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| A         | CN 103260635 A (THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA et al.) 21 August 2013 (2013-08-21)<br>description abstract, claims 1-50                                                                                                                      | 1-10                  |
| A         | CN 111686312 A (EAST CHINA UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY) 22 September 2020 (2020-09-22)<br>description, abstract, and claims 1-10                                                                                                                 | 1-10                  |
| A         | CHEN, S. et al. "Host Defense Peptide Mimicking Peptide Polymer Exerting Fast Broad Spectrum, and Potent Activities toward Clinically Isolated Multidrug-Resistant Bacteria." <i>ACS Infect. Dis.</i> , Vol. 6, 10 January 2020 (2020-01-10), pp. 479-488 | 1-10                  |

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
**Information on patent family members**

International application No.

**PCT/CN2021/130974**

| Patent document cited in search report |           |    | Publication date (day/month/year) | Patent family member(s) |              |    | Publication date (day/month/year) |
|----------------------------------------|-----------|----|-----------------------------------|-------------------------|--------------|----|-----------------------------------|
| CN                                     | 112933108 | A  | 11 June 2021                      | None                    |              |    |                                   |
| IN                                     | 201501979 | I1 | 06 January 2017                   | None                    |              |    |                                   |
| CN                                     | 103260635 | A  | 21 August 2013                    | MX                      | 2013002122   | A  | 05 June 2013                      |
|                                        |           |    |                                   | MX                      | 342039       | B  | 09 September 2016                 |
|                                        |           |    |                                   | HU                      | E032899      | T2 | 28 November 2017                  |
|                                        |           |    |                                   | MX                      | 321840       | B  | 10 July 2014                      |
|                                        |           |    |                                   | SG                      | 188281       | A1 | 30 April 2013                     |
|                                        |           |    |                                   | ES                      | 2622498      | T3 | 06 July 2017                      |
|                                        |           |    |                                   | CA                      | 2912577      | A1 | 01 March 2012                     |
|                                        |           |    |                                   | CA                      | 2912577      | C  | 19 February 2019                  |
|                                        |           |    |                                   | EP                      | 2608800      | A2 | 03 July 2013                      |
|                                        |           |    |                                   | EP                      | 2608800      | A4 | 22 January 2014                   |
|                                        |           |    |                                   | EP                      | 2608800      | B1 | 18 January 2017                   |
|                                        |           |    |                                   | AU                      | 2016203767   | A1 | 23 June 2016                      |
|                                        |           |    |                                   | AU                      | 2016203767   | B2 | 26 April 2018                     |
|                                        |           |    |                                   | US                      | 2013267458   | A1 | 10 October 2013                   |
|                                        |           |    |                                   | US                      | 9017730      | B2 | 28 April 2015                     |
|                                        |           |    |                                   | CA                      | 2809093      | A1 | 01 March 2012                     |
|                                        |           |    |                                   | CA                      | 2809093      | C  | 24 November 2015                  |
|                                        |           |    |                                   | US                      | 2020288709   | A1 | 17 September 2020                 |
|                                        |           |    |                                   | AU                      | 2014213503   | A1 | 04 September 2014                 |
|                                        |           |    |                                   | AU                      | 2014213503   | B2 | 10 March 2016                     |
|                                        |           |    |                                   | BR                      | 112013004436 | A2 | 21 June 2016                      |
|                                        |           |    |                                   | WO                      | 2012027411   | A2 | 01 March 2012                     |
|                                        |           |    |                                   | WO                      | 2012027411   | A9 | 31 May 2012                       |
|                                        |           |    |                                   | WO                      | 2012027411   | A3 | 19 July 2012                      |
|                                        |           |    |                                   | AU                      | 2001293468   | A1 | 13 June 2002                      |
|                                        |           |    |                                   | PL                      | 2608800      | T3 | 31 August 2017                    |
|                                        |           |    |                                   | DK                      | 2608800      | T3 | 01 May 2017                       |
|                                        |           |    |                                   | AU                      | 2002213503   | A1 | 11 July 2002                      |
|                                        |           |    |                                   | AU                      | 2011293468   | A1 | 14 March 2013                     |
|                                        |           |    |                                   | AU                      | 2011293468   | B2 | 15 May 2014                       |
|                                        |           |    |                                   | US                      | 2015366193   | A1 | 24 December 2015                  |
|                                        |           |    |                                   | US                      | 10448634     | B2 | 22 October 2019                   |
|                                        |           |    |                                   | PT                      | 2608800      | T  | 03 May 2017                       |
|                                        |           |    |                                   | LT                      | 2608800      | T  | 10 May 2017                       |
|                                        |           |    |                                   | JP                      | 2013536242   | A  | 19 September 2013                 |
|                                        |           |    |                                   | JP                      | 5902171      | B2 | 13 April 2016                     |
| CN                                     | 111686312 | A  | 22 September 2020                 | None                    |              |    |                                   |

## 国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2021/130974

| <b>A. 主题的分类</b><br>A61K 31/785(2006.01)i; A61K 47/32(2006.01)i; A61K 47/02(2006.01)i; A61K 47/42(2017.01)i; A61P 19/08(2006.01)i<br>按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                                          |                                     |      |                   |         |    |                                                                         |      |   |                                                                                                                                                                                                                          |      |   |                                                                                                                                                                                                               |      |   |                                                                                                                                          |      |   |                                                                                                             |      |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|------|-------------------|---------|----|-------------------------------------------------------------------------|------|---|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|---|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|---|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|---|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| <b>B. 检索领域</b><br>检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)<br>A61K; A61P<br>包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献<br>在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))<br>DWPI; SIPOABS; CNKI; CNABS; STNext; Web of Science:华东理工大学, 刘润辉, 多肽, 聚合物, 骨髓炎, 水泥, 抗菌, 抑菌, peptide, polypeptide, polymer, osteomyelitis, cement, antimicrobial, antibiotic                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                                                                                                                                                                                                                          |                                     |      |                   |         |    |                                                                         |      |   |                                                                                                                                                                                                                          |      |   |                                                                                                                                                                                                               |      |   |                                                                                                                                          |      |   |                                                                                                             |      |
| <b>C. 相关文件</b> <table border="1"> <thead> <tr> <th>类 型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>PX</td> <td>CN 112933108 A (华东理工大学等) 2021年6月11日 (2021 - 06 - 11)<br/>说明书摘要, 权利要求1-10</td> <td>1-10</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>JIANG, W. 等. "Peptide polymer displaying potent activity against clinically isolated multidrug resistant Pseudomonas aeruginosa in vitro and in vivo." Biomaterial Science, 第8卷, 2019年11月19日 (2019 - 11 - 19), 第739-745页</td> <td>1-10</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>MELICHERCIK, P. 等. "Antimicrobial Peptides for Topical Treatment of Osteomyelitis and Implant-Related Infections: Study in the Spongy Bone." Pharmaceuticals, 第11卷, 第20期, 2018年2月16日 (2018 - 02 - 16), 第1-13页</td> <td>1-10</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>RI00L, M. 等. "Antimicrobial Peptides in Biomedical Device Manufacturing." Frontiers in Chemistry, 第5卷, 2017年8月24日 (2017 - 08 - 24), 第63篇</td> <td>1-10</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>IN 201501979 I1 (COUNCIL OF SCIENTIFIC &amp; INDUSTRIAL RESEARCH) 2017年1月6日 (2017 - 01 - 06)<br/>说明书摘要, 权利要求1-19</td> <td>1-10</td> </tr> </tbody> </table> |                                                                                                                                                                                                                          |                                     | 类 型* | 引用文件, 必要时, 指明相关段落 | 相关的权利要求 | PX | CN 112933108 A (华东理工大学等) 2021年6月11日 (2021 - 06 - 11)<br>说明书摘要, 权利要求1-10 | 1-10 | Y | JIANG, W. 等. "Peptide polymer displaying potent activity against clinically isolated multidrug resistant Pseudomonas aeruginosa in vitro and in vivo." Biomaterial Science, 第8卷, 2019年11月19日 (2019 - 11 - 19), 第739-745页 | 1-10 | Y | MELICHERCIK, P. 等. "Antimicrobial Peptides for Topical Treatment of Osteomyelitis and Implant-Related Infections: Study in the Spongy Bone." Pharmaceuticals, 第11卷, 第20期, 2018年2月16日 (2018 - 02 - 16), 第1-13页 | 1-10 | Y | RI00L, M. 等. "Antimicrobial Peptides in Biomedical Device Manufacturing." Frontiers in Chemistry, 第5卷, 2017年8月24日 (2017 - 08 - 24), 第63篇 | 1-10 | Y | IN 201501979 I1 (COUNCIL OF SCIENTIFIC & INDUSTRIAL RESEARCH) 2017年1月6日 (2017 - 01 - 06)<br>说明书摘要, 权利要求1-19 | 1-10 |
| 类 型*                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 引用文件, 必要时, 指明相关段落                                                                                                                                                                                                        | 相关的权利要求                             |      |                   |         |    |                                                                         |      |   |                                                                                                                                                                                                                          |      |   |                                                                                                                                                                                                               |      |   |                                                                                                                                          |      |   |                                                                                                             |      |
| PX                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | CN 112933108 A (华东理工大学等) 2021年6月11日 (2021 - 06 - 11)<br>说明书摘要, 权利要求1-10                                                                                                                                                  | 1-10                                |      |                   |         |    |                                                                         |      |   |                                                                                                                                                                                                                          |      |   |                                                                                                                                                                                                               |      |   |                                                                                                                                          |      |   |                                                                                                             |      |
| Y                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | JIANG, W. 等. "Peptide polymer displaying potent activity against clinically isolated multidrug resistant Pseudomonas aeruginosa in vitro and in vivo." Biomaterial Science, 第8卷, 2019年11月19日 (2019 - 11 - 19), 第739-745页 | 1-10                                |      |                   |         |    |                                                                         |      |   |                                                                                                                                                                                                                          |      |   |                                                                                                                                                                                                               |      |   |                                                                                                                                          |      |   |                                                                                                             |      |
| Y                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | MELICHERCIK, P. 等. "Antimicrobial Peptides for Topical Treatment of Osteomyelitis and Implant-Related Infections: Study in the Spongy Bone." Pharmaceuticals, 第11卷, 第20期, 2018年2月16日 (2018 - 02 - 16), 第1-13页            | 1-10                                |      |                   |         |    |                                                                         |      |   |                                                                                                                                                                                                                          |      |   |                                                                                                                                                                                                               |      |   |                                                                                                                                          |      |   |                                                                                                             |      |
| Y                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | RI00L, M. 等. "Antimicrobial Peptides in Biomedical Device Manufacturing." Frontiers in Chemistry, 第5卷, 2017年8月24日 (2017 - 08 - 24), 第63篇                                                                                 | 1-10                                |      |                   |         |    |                                                                         |      |   |                                                                                                                                                                                                                          |      |   |                                                                                                                                                                                                               |      |   |                                                                                                                                          |      |   |                                                                                                             |      |
| Y                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | IN 201501979 I1 (COUNCIL OF SCIENTIFIC & INDUSTRIAL RESEARCH) 2017年1月6日 (2017 - 01 - 06)<br>说明书摘要, 权利要求1-19                                                                                                              | 1-10                                |      |                   |         |    |                                                                         |      |   |                                                                                                                                                                                                                          |      |   |                                                                                                                                                                                                               |      |   |                                                                                                                                          |      |   |                                                                                                             |      |
| <input checked="" type="checkbox"/> 其余文件在C栏的续页中列出。 <input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |                                                                                                                                                                                                                          |                                     |      |                   |         |    |                                                                         |      |   |                                                                                                                                                                                                                          |      |   |                                                                                                                                                                                                               |      |   |                                                                                                                                          |      |   |                                                                                                             |      |
| * 引用文件的具体类型:<br>"A" 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件<br>"E" 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利<br>"L" 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的)<br>"O" 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件<br>"P" 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件<br>"T" 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件<br>"X" 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性<br>"Y" 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性<br>"&" 同族专利的文件                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                                                                                                                                                                                                                          |                                     |      |                   |         |    |                                                                         |      |   |                                                                                                                                                                                                                          |      |   |                                                                                                                                                                                                               |      |   |                                                                                                                                          |      |   |                                                                                                             |      |
| 国际检索实际完成的日期<br>2022年1月18日                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |                                                                                                                                                                                                                          | 国际检索报告邮寄日期<br>2022年2月11日            |      |                   |         |    |                                                                         |      |   |                                                                                                                                                                                                                          |      |   |                                                                                                                                                                                                               |      |   |                                                                                                                                          |      |   |                                                                                                             |      |
| ISA/CN的名称和邮寄地址<br>中国国家知识产权局(ISA/CN)<br>中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088<br>传真号 (86-10)62019451                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |                                                                                                                                                                                                                          | 授权官员<br>崔传明<br>电话号码 (86-10)53961869 |      |                   |         |    |                                                                         |      |   |                                                                                                                                                                                                                          |      |   |                                                                                                                                                                                                               |      |   |                                                                                                                                          |      |   |                                                                                                             |      |

## C. 相关文件

| 类 型* | 引用文件，必要时，指明相关段落                                                                                                                                                                                                                               | 相关的权利要求 |
|------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| A    | CN 103260635 A (加利福尼亚大学董事会等) 2013年8月21日 (2013 - 08 - 21)<br>说明书摘要，权利要求1-50                                                                                                                                                                    | 1-10    |
| A    | CN 111686312 A (华东理工大学) 2020年9月22日 (2020 - 09 - 22)<br>说明书摘要，权利要求1-10                                                                                                                                                                         | 1-10    |
| A    | CHEN, S. 等. "Host Defense Peptide Mimicking Peptide Polymer Exerting Fast Broad Spectrum, and Potent Activities toward Clinically Isolated Multidrug-Resistant Bacteria."<br>ACS Infect. Dis., 第6卷, 2020年1月10日 (2020 - 01 - 10),<br>第479-488页 | 1-10    |

国际检索报告  
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2021/130974

| 检索报告引用的专利文件 |           |    | 公布日<br>(年/月/日) | 同族专利 |              |    | 公布日<br>(年/月/日) |
|-------------|-----------|----|----------------|------|--------------|----|----------------|
| CN          | 112933108 | A  | 2021年6月11日     | 无    |              |    |                |
| IN          | 201501979 | I1 | 2017年1月6日      | 无    |              |    |                |
| CN          | 103260635 | A  | 2013年8月21日     | MX   | 2013002122   | A  | 2013年6月5日      |
|             |           |    |                | MX   | 342039       | B  | 2016年9月9日      |
|             |           |    |                | HU   | E032899      | T2 | 2017年11月28日    |
|             |           |    |                | MX   | 321840       | B  | 2014年7月10日     |
|             |           |    |                | SG   | 188281       | A1 | 2013年4月30日     |
|             |           |    |                | ES   | 2622498      | T3 | 2017年7月6日      |
|             |           |    |                | CA   | 2912577      | A1 | 2012年3月1日      |
|             |           |    |                | CA   | 2912577      | C  | 2019年2月19日     |
|             |           |    |                | EP   | 2608800      | A2 | 2013年7月3日      |
|             |           |    |                | EP   | 2608800      | A4 | 2014年1月22日     |
|             |           |    |                | EP   | 2608800      | B1 | 2017年1月18日     |
|             |           |    |                | AU   | 2016203767   | A1 | 2016年6月23日     |
|             |           |    |                | AU   | 2016203767   | B2 | 2018年4月26日     |
|             |           |    |                | US   | 2013267458   | A1 | 2013年10月10日    |
|             |           |    |                | US   | 9017730      | B2 | 2015年4月28日     |
|             |           |    |                | CA   | 2809093      | A1 | 2012年3月1日      |
|             |           |    |                | CA   | 2809093      | C  | 2015年11月24日    |
|             |           |    |                | US   | 2020288709   | A1 | 2020年9月17日     |
|             |           |    |                | AU   | 2014213503   | A1 | 2014年9月4日      |
|             |           |    |                | AU   | 2014213503   | B2 | 2016年3月10日     |
|             |           |    |                | BR   | 112013004436 | A2 | 2016年6月21日     |
|             |           |    |                | WO   | 2012027411   | A2 | 2012年3月1日      |
|             |           |    |                | WO   | 2012027411   | A9 | 2012年5月31日     |
|             |           |    |                | WO   | 2012027411   | A3 | 2012年7月19日     |
|             |           |    |                | AU   | 2001293468   | A1 | 2002年6月13日     |
|             |           |    |                | PL   | 2608800      | T3 | 2017年8月31日     |
|             |           |    |                | DK   | 2608800      | T3 | 2017年5月1日      |
|             |           |    |                | AU   | 2002213503   | A1 | 2002年7月11日     |
|             |           |    |                | AU   | 2011293468   | A1 | 2013年3月14日     |
|             |           |    |                | AU   | 2011293468   | B2 | 2014年5月15日     |
|             |           |    |                | US   | 2015366193   | A1 | 2015年12月24日    |
|             |           |    |                | US   | 10448634     | B2 | 2019年10月22日    |
|             |           |    |                | PT   | 2608800      | T  | 2017年5月3日      |
|             |           |    |                | LT   | 2608800      | T  | 2017年5月10日     |
|             |           |    |                | JP   | 2013536242   | A  | 2013年9月19日     |
|             |           |    |                | JP   | 5902171      | B2 | 2016年4月13日     |
| CN          | 111686312 | A  | 2020年9月22日     | 无    |              |    |                |