(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 112804878 A
(43)申请公布日 2021.05.14

(21)申请号 201980064742.1

(22)申请日 2019.07.31

(30)优先权数据
62/712,563 2018.07.31 US
62/800,925 2019.02.04 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2021.03.31

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2019/044489 2019.07.31

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2020/028558 EN 2020.02.06

(71)申请人 微生物公司
地址 美国蒙大拿州

(72)发明人 B·H·J·贝克 J·W·米拉德

(74)专利代理机构 北京市君合律师事务所 11517
代理人 何筝 顾云峰

(51)Int.Cl.
A01N 37/18(2006.01)
A01N 43/16(2006.01)
A01N 43/78(2006.01)

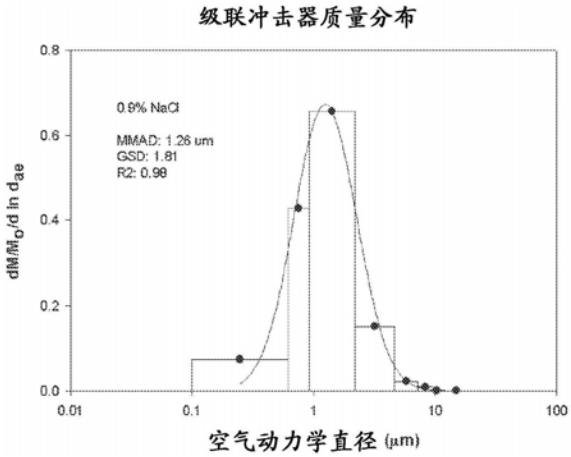
权利要求书15页 说明书150页 附图22页

(54)发明名称

铋-硫醇组合物和使用方法

(57)摘要

本发明涉及铋-硫醇化合物和其药物制剂。本发明还涉及治疗、管理受试者的肺部感染或减轻受试者的肺部感染的严重性的方法，所述方法包括向所述受试者施用包含至少一种BT化合物的铋-硫醇(BT)组合物。



CN 112804878 A

1.一种治疗、管理受试者的囊性纤维化(CF)症状和感染或减轻受试者的囊性纤维化(CF)症状和感染的严重性的方法,所述方法包括向所述受试者施用包含至少一种BT化合物的铋-硫醇(BT)组合物。

2.如权利要求1所述的方法,其中所述受试者患有至少一种肺部感染。

3.如权利要求2所述的方法,其中所述受试者患有至少两种肺部感染并且所述感染是并行的或依序的。

4.如权利要求2或3所述的方法,其中所述肺部感染是在一个肺中。

5.如权利要求2-4中任一项所述的方法,其中所述肺部感染是在两个肺中。

6.如权利要求2-5中任一项所述的方法,其中所述肺部感染是在右肺的三个肺叶中的一个或多个中。

7.如权利要求2-6中任一项所述的方法,其中所述肺部感染是在左肺的两个肺叶中的一个或两个中。

8.如权利要求2-7中任一项所述的方法,其中所述肺部感染是支气管扩张感染、肺炎、谷热、过敏性支气管肺曲霉病(ABPA)、呼吸机获得性肺炎、医院获得性肺炎、社区获得性肺炎、呼吸机相关的气管支气管炎、下呼吸道感染、非结核分枝杆菌、炭疽、军团病、百日咳、支气管炎、细支气管炎、COPD相关感染和肺移植后。

9.如权利要求2-8中任一项所述的方法,其中所述肺部感染含有一种或多种细菌和/或真菌病原体。

10.如权利要求2-9中任一项所述的方法,其中所述肺部感染是CF相关的肺部感染。

11.如权利要求10所述的方法,所述方法包括治疗所述CF相关的肺部感染。

12.如权利要求10所述的方法,所述方法包括管理所述CF相关的肺部感染。

13.如权利要求10所述的方法,所述方法包括减轻所述CF相关的肺部感染的严重性。

14.如权利要求2-13中任一项所述的方法,其中所述肺部感染位于肺粘膜、支气管、肺泡、巨噬细胞和/或细支气管之中或之上。

15.如权利要求2-13中任一项所述的方法,其中所述肺部感染位于细菌生物膜、聚集的细菌、真菌生物膜、包含细菌和真菌的组合多菌种或多门生物膜、或聚集的真菌的表面上或内部。

16.如权利要求2-13中任一项所述的方法,其中所述肺部感染位于痰中。

17.如权利要求9-16中任一项所述的方法,其中所述细菌病原体包含革兰氏阳性细菌和/或革兰氏阴性细菌中的一种或多种。

18.如权利要求9-17中任一项所述的方法,其中所述细菌病原体包含细菌生物膜和/或浮游细菌中的一种或多种。

19.如权利要求18所述的方法,其中所述方法包括以下至少一者:(i)减少所述细菌生物膜,(ii)削弱所述细菌生物膜的生长,(iii)防止所述细菌生物膜的初始形成,和/或(iv)防止所述细菌生物膜的再形成。

20.如权利要求9-16中任一项所述的方法,其中所述真菌病原体包含浮游真菌和/或生物膜真菌。

21.如权利要求9-20中任一项所述的方法,其中所述BT组合物通过以下一者或两者来治疗、管理所述肺部感染或减轻所述肺部感染的严重性:

-防止所述细菌或真菌病原体的感染;和

-减少所述细菌或真菌病原体;和/或

-降低所述痰的粘度。

22.如权利要求9-20中任一项所述的方法,其中所述BT组合物通过以下一者或多者来治疗、管理所述肺部感染或减轻所述肺部感染的严重性:

-防止由所述细菌或真菌病原体加工或分泌外毒素;

-抑制所述细菌或真菌病原体的浮游细胞的细胞活力或细胞生长;

-抑制所述细菌或真菌病原体形成生物膜;

-抑制生物膜对肺组织的侵袭;

-抑制生物膜对肺组织的致病性;和

-抑制所述细菌或真菌病原体的生物膜形成细胞的生物膜活力或生物膜生长。

23.如权利要求9-22中任一项所述的方法,其中所述一种或多种病原体选自流感嗜血杆菌、铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌、沃氏葡萄球菌路邓葡萄球菌、表皮葡萄球菌、米氏/咽峡炎链球菌、化脓性链球菌、非结核分枝杆菌、结核分枝杆菌、伯克霍尔德菌属、木糖氧化无色杆菌、痰潘多拉菌、嗜麦芽窄食单胞菌、木糖氧化产碱菌、皮氏嗜血杆菌、粘质沙雷氏菌、白色念珠菌、耐药性白色念珠菌、光滑念珠菌、克鲁斯念珠菌、季也蒙念珠菌、耳念珠菌、热带念珠菌、黑曲霉、土曲霉、烟曲霉、黄曲霉、摩氏摩根菌、粘泥异地菌、解甘露醇罗尔斯通氏菌、不可靠潘多拉菌、肺炎潘多拉菌、痰潘多拉菌、噬菌蛭弧菌、支气管败血性博德特菌、噬小球藻吸血弧菌、鲍曼不动杆菌、耐金属贪铜菌、偶发贪铜菌、呼吸系统贪铜菌、食酸代尔夫特菌、皮炎外瓶霉、弗里辛恩斯草螺菌、织片草螺菌、肺炎克雷白杆菌、纽伦堡潘多拉菌、居肺潘多拉菌、门多萨假单胞菌、类产碱假单胞菌、恶臭假单胞菌、施氏假单胞菌、危险罗尔斯通氏菌、皮氏罗尔斯通氏菌、淋病奈瑟菌、NDM-1阳性大肠杆菌、阴沟肠杆菌、万古霉素抗性屎肠球菌、万古霉素抗性粪肠球菌、屎肠球菌、粪肠球菌、克林霉素抗性无乳链球菌、无乳链球菌、脆弱拟杆菌、艰难梭菌、肺炎链球菌、卡他莫拉菌、溶血性嗜血杆菌、副流感嗜血杆菌、肺炎嗜衣原体、肺炎支原体、奇异菌属、鞘氨醇单胞菌属、螺旋体菌门、纤毛菌属、二氧化碳嗜纤维菌属、奥里杆菌属、水小杆菌属、毛绒厌氧杆菌属、弯曲杆菌属、不动杆菌属、农杆菌属、博德特菌属、短波单胞菌属、金黄杆菌属、代尔夫特菌属、肠杆菌属、克雷白杆菌属、潘多拉菌属、假单胞菌属、罗尔斯通氏菌属和普雷沃菌属。

24.如权利要求23所述的方法,其中所述非结核分枝杆菌选自脓肿分枝杆菌、鸟分枝杆菌、细胞内分枝杆菌、偶发分枝杆菌、戈氏分枝杆菌、堪萨斯分枝杆菌、鸟分枝杆菌复合群、海洋分枝杆菌、地分枝杆菌和龟分枝杆菌。

25.如权利要求23所述的方法,其中所述伯克霍尔德菌属选自洋葱伯克霍尔德菌、洋葱伯克霍尔德菌复合群、多噬伯克霍尔德菌、新洋葱伯克霍尔德菌、稳定伯克霍尔德菌、越南伯克霍尔德菌、多罗萨伯克霍尔德菌、阿姆毕伯克霍尔德菌、安替那伯克霍尔德菌、吡咯伯克霍尔德菌、唐菖蒲伯克霍尔德菌、优博伯克霍尔德菌、阿波利伯克霍尔德菌、拉特斯伯克霍尔德菌、拉塔伯克霍尔德菌、金属伯克霍尔德菌、精液伯克霍尔德菌、污染伯克霍尔德菌和弥漫性伯克霍尔德菌。

26.如权利要求23所述的方法,其中所述一种或多种病原体选自铜绿假单胞菌、单一耐药性铜绿假单胞菌、多重耐药性铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌、单一耐药性金黄色葡萄球

菌、多重耐药性金黄色葡萄球菌、甲氧西林抗性金黄色葡萄球菌、脓肿分枝杆菌、鸟分枝杆菌、流感嗜血杆菌、洋葱伯克霍尔德菌、多噬伯克霍尔德菌、新洋葱伯克霍尔德菌、多罗萨伯克霍尔德菌、木糖氧化无色杆菌、嗜麦芽窄食单胞菌、表皮葡萄球菌和越南伯克霍尔德菌。

27.如权利要求23所述的方法，其中所述一种或多种病原体选自流感嗜血杆菌、铜绿假单胞菌和金黄色葡萄球菌。

28.如权利要求18、19和22中任一项所述的方法，其中所述一种或多种病原体选自铜绿假单胞菌、新洋葱伯克霍尔德菌、洋葱伯克霍尔德菌复合群、脓肿分枝杆菌、鸟分枝杆菌、无色杆菌属、表皮葡萄球菌、嗜麦芽窄食单胞菌和金黄色葡萄球菌的生物膜。

29.如权利要求27所述的方法，其中所述铜绿假单胞菌和/或金黄色葡萄球菌是多重耐药性的。

30.如权利要求9-29中任一项所述的方法，其中所述一种或多种病原体展现对选自阿米卡星、氨曲南、甲氧西林、万古霉素、萘夫西林、庆大霉素、氨苄西林、氯霉素、强力霉素、粘菌素、德拉马尼、普托马尼、氯法齐明、贝达喹啉和妥布霉素的抗生素的抗性或难治性。

31.如权利要求30所述的方法，其中所述抗生素是阿米卡星或妥布霉素。

32.如权利要求30所述的方法，其中所述细菌病原体是甲氧西林抗性金黄色葡萄球菌。

33.如权利要求1-32中任一项所述的方法，所述方法还包括向所述受试者共同施用选自阿米卡星、妥布霉素、庆大霉素、哌拉西林、美洛西林、替卡西林、亚胺培南、环丙沙星、头孢他啶、氨曲南、替卡西林-克拉维酸、双氯西林、阿莫西林、甲氧苄啶-磺胺甲噁唑、头孢氨苄、哌拉西林-他佐巴坦、利奈唑胺、达托霉素、万古霉素、甲硝唑、克林霉素、粘菌素、四环素、左氧氟沙星、阿莫西林和克拉维酸(Augmentin®)、氯唑西林、双氯西林、头孢地尼、头孢丙烯、头孢克洛、头孢呋辛、红霉素/磺胺异噁唑、红霉素、克拉霉素、阿奇霉素、强力霉素、米诺环素、替加环素、亚胺培南、美罗培南、甲磺酸粘菌素/粘菌素®、甲氧西林、苯唑西林、萘夫西林、羧苄西林、阿洛西林、哌拉西林和他唑巴坦(Zosyn®)、头孢吡肟、乙胺丁醇、利福平和美罗培南的抗生素。

34.如权利要求33所述的方法，其中所述抗生素选自美罗培南、头孢他啶、妥布霉素、阿米卡星、氨曲南、环丙沙星、粘菌素和左氧氟沙星。

35.如权利要求9-22中任一项所述的方法，其中所述真菌病原体是白色念珠菌、耐药性白色念珠菌、光滑念珠菌、克鲁斯念珠菌、季也蒙念珠菌、耳念珠菌、热带念珠菌、黑曲霉、土曲霉、烟曲霉和/或黄曲霉。

36.如权利要求1-35中任一项所述的方法，所述方法包括通过使用气溶胶装置经口或经鼻吸入来施用所述BT组合物。

37.如权利要求36所述的方法，其中所述气溶胶装置是喷雾器。

38.如权利要求36或37所述的方法，其中所述BT组合物是呈水溶液、水性悬浮液或干粉形式。

39.如权利要求1-38中任一项所述的方法，其中所述BT组合物经局部施用于肺组织。

40.如权利要求1-39中任一项所述的方法，其中

所述BT组合物以约0.25mg/mL至约15mg/mL、约0.4mg/mL至约15mg/mL、约0.6mg/mL至约15mg/mL、约0.6mg/mL至约100mg/mL、约5mg/mL至约100mg/mL、约10mg/mL至约100mg/mL、约

25mg/mL至约100mg/mL、约50mg/mL至约100mg/mL、约0.8mg/mL至约15mg/mL、约1mg/mL至约10mg/mL、2.5mg/mL至约10mg/mL、约4mg/mL至约10mg/mL、约5mg/mL至约10mg/mL、约6mg/mL至约10mg/mL、0.6mg/mL至约6mg/mL、约4mg/mL至约15mg/mL、约6mg/mL至约15mg/mL、约50μg/mL至约750μg/mL、约75μg/mL至约500μg/mL、约100μg/mL至约250μg/mL、约100μg/mL至约150μg/mL或约75μg/mL至约150μg/mL的剂量施用;和/或

施用于所述肺的所述BT组合物的总量是约0.25mg至约15mg、约0.4mg至约15mg、约0.6mg至约15mg、约0.8mg至约15mg、约1mg至约10mg、2.5mg至约10mg、约4mg至约10mg、约5mg至约10mg、约6mg至约10mg、0.6mg至约6mg、约4mg至约15mg、约6mg至约15mg、约50μg至约750μg、约75μg至约500μg、约100μg至约250μg、约100μg至约150μg或约75μg至约150μg。

41.如权利要求1-40中任一项所述的方法,其中所述BT组合物以约0.6mg/mL至约6mg/mL的剂量施用。

42.如权利要求1-41中任一项所述的方法,其中每天三次、每天两次、每天一次、每隔一天、每三天一次、每周一次、每隔一周一次、每月一次或每隔一月一次施用所述BT组合物。

43.如权利要求42所述的方法,其中每周一次施用所述BT组合物。

44.如权利要求1-43中任一项所述的方法,其中所述受试者的以下囊性纤维化症状中的一者或多者的严重性有所减轻:咳嗽、喘息、呼吸困难、支气管扩张、鼻息肉、咯血、呼吸衰竭和肺恶化。

45.如权利要求1-44中任一项所述的方法,其中所述铋-硫醇组合物包含多个包含铋-硫醇(BT)化合物的微粒,大体上所有的所述微粒均具有约0.4μm至约5μm的体积平均直径,并且其中所述BT化合物包含铋或铋盐和含硫醇化合物。

46.如权利要求45所述的方法,其中至少60%、65%、70、75%、80%、90%或95%的所述微粒具有约0.4μm至约3μm、或约0.5μm至约2μm、或约0.7μm至约2μm、或约0.8μm至约1.8μm、或约0.8μm至约1.6μm、或约0.9μm至约1.4μm、或约1.0μm至约2.0μm、或约1.0μm至约1.8μm的体积平均直径。

47.如权利要求45-46所述的方法,其中所述铋盐是硝酸铋、次硝酸铋或氯化铋。

48.如权利要求45-46所述的方法,其中所述含硫醇化合物包含选自1,2-乙二硫醇、2,3-二巯基丙醇、羟基吡啶硫酮、二硫赤藓糖醇、3,4二巯基甲苯、2,3-丁二硫醇、1,3-丙二硫醇、2-羟基丙硫醇、1-巯基-2-丙醇、二硫赤藓糖醇、二硫苏糖醇、半胱胺和α-硫辛酸的一种或多种剂。

49.如权利要求45-48中任一项所述的方法,其中所述BT组合物包含选自BisBAL、BisEDT、Bis-二巯基丙醇、BisDTT、Bis-2-巯基乙醇、Bis-DTE、Bis-Pyr、Bis-Ery、Bis-Tol、Bis-BDT、Bis-PDT、Bis-Pyr/Bal、Bis-Pyr/BDT、BisPyr/EDT、Bis-Pyr/PDT、Bis-Pyr/Tol、Bis-Pyr/Ery、铋-1-巯基-2-丙醇、BisEDT/CSTMN(1:1)、BisPYR/CSTMN(1:1)、BisBAL/CSTMN(1:1)、BisTOL/CSTMN(1:1)和Bis-EDT/2-羟基-1-丙硫醇的一种或多种BT化合物。

50.如权利要求49所述的方法,其中所述BT化合物选自Bis-EDT、Bis-Bal、Bis-Pyr、Bis-Ery、Bis-Tol、Bis-BDT或Bis-EDT/2-羟基-1-丙硫醇中的一者或多者。

51.如权利要求50所述的方法,其中所述BT化合物是BisEDT。

52.如权利要求50所述的方法,其中所述BT化合物是BisBDT或BisBAL。

53.如权利要求1-52中任一项所述的方法,其中施用于所述深肺区的所述BT组合物的

总量是约0.25mg至约15mg、约0.4mg至约15mg、约0.6mg至约15mg、约0.8mg至约15mg、约1mg至约10mg、2.5mg至约10mg、约4mg至约10mg、约5mg至约10mg、约6mg至约10mg、0.6mg至约6mg、约4mg至约15mg、约6mg至约15mg、约50μg至约750μg、约75μg至约500μg、约100μg至约250μg、约100μg至约150μg或约75μg至约150μg。

54.如权利要求53所述的方法，其中所述深肺区是深肺肺泡。

55.一种气溶胶，其包含在气体中的多个分散的液体微滴，所述液体微滴包含BT组合物，所述BT组合物包含悬浮于其中的至少一种BT化合物，其中所述BT化合物包含铋和/或铋盐和含硫醇化合物；并且

其中至少60％、65％、70、75％、80％、90％或95％的所述液体微滴具有约约0.4μm至约5μm的质量中值空气动力学直径(MMAD)。

56.如权利要求55所述的气溶胶，其中所述液体微滴具有约0.4μm至约7μm、或约0.5μm至约5μm、或约0.7μm至约4μm、或约0.7μm至约3.5μm、或约0.8μm至约3.5μm、或约0.9μm至约3.5μm、或约0.9μm至约3μm、或约0.8μm至约1.8μm、或约0.8μm至约1.6μm、或约0.9μm至约1.4μm、或约1.0μm至约2.0μm、或约1.0μm至约1.8μm的MMAD。

57.如权利要求56所述的气溶胶，其中所述液体微滴具有约0.8μm至约1.6μm、或约0.9μm至约3.5μm、或约0.9μm至约3μm、或约0.9μm至约1.4μm、或约1.0μm至约2.0μm、或约1.0μm至约1.8μm的MMAD。

58.如权利要求55-57中任一项所述的气溶胶，其中所述多个液体微滴具有小于约5μm的D90。

59.如权利要求58所述的气溶胶，其中所述多个液体微滴具有小于约3μm的D90。

60.如权利要求55-59中任一项所述的气溶胶，其中所述多个液体微滴分散于连续的气相中。

61.如权利要求55-60中任一项所述的气溶胶，其中所述BT化合物包含与一种或多种含硫醇化合物共价缔合和/或呈配位络合物的铋和/或铋盐。

62.如权利要求55-61中任一项所述的气溶胶，其中所述铋盐是硝酸铋、次硝酸铋或氯化铋。

63.如权利要求55-62中任一项所述的气溶胶，其中所述含硫醇化合物包含选自1,2-乙二硫醇、2,3-二巯基丙醇、羟基吡啶硫酮、二硫赤藓糖醇、3,4二巯基甲苯、2,3-丁二硫醇、1,3-丙二硫醇、2-羟基丙硫醇、1-巯基-2-丙醇、二硫赤藓糖醇、二硫苏糖醇、半胱胺和α-硫辛酸的一种或多种剂。

64.如权利要求55-63中任一项所述的气溶胶，其中所述BT组合物包含选自BisBAL、BisEDT、Bis-二巯基丙醇、BisDTT、Bis-2-巯基乙醇、Bis-DTE、Bis-Pyr、Bis-Ery、Bis-Tol、Bis-BDT、Bis-PDT、Bis-Pyr/Bal、Bis-Pyr/BDT、BisPyr/EDT、Bis-Pyr/PDT、Bis-Pyr/Tol、Bis-Pyr/Ery、铋-1-巯基-2-丙醇、BisEDT/CSTMN(1:1)、BisPYR/CSTMN(1:1)、BisBAL/CSTMN(1:1)、BisTOL/CSTMN(1:1)和Bis-EDT/2-羟基-1-丙硫醇的一种或多种BT化合物。

65.如权利要求64所述的气溶胶，其中所述BT化合物选自Bis-EDT、Bis-Bal、Bis-Pyr、Bis-Ery、Bis-Tol、Bis-BDT或Bis-EDT/2-羟基-1-丙硫醇中的一者或多者。

66.如权利要求65所述的气溶胶，其中所述BT化合物是BisEDT。

67.如权利要求55所述的气溶胶，其中所述质量中值空气动力学直径(MMAD)通过激光

飞行时间和/或级联冲击器确定。

68.如权利要求55-67中任一项所述的气溶胶,其中所述BT化合物悬浮于所述液体微滴中。

69.如权利要求68所述的气溶胶,其中所述BT化合物是BisEDT。

70.如权利要求55-69中任一项所述的气溶胶,其中所述微滴还包含Tween 80(例如约0.05%至约1%)和任选地

pH约7.4的缓冲液(例如磷酸钠或柠檬酸钠);和/或

氯化钠。

71.如权利要求55-70中任一项所述的气溶胶,其中如果沉积至所述深肺区,那么所述BT化合物具有至少2天的平均半衰期。

72.如权利要求71中任一项所述的气溶胶,其中如果沉积至所述深肺区,那么所述BT化合物具有至少4天的平均半衰期。

73.一种治疗、管理受试者的囊性纤维化(CF)症状和感染或减轻受试者的囊性纤维化(CF)症状和感染的严重性的方法,所述方法包括向所述受试者施用包含至少一种BT化合物的铋-硫醇(BT)组合物,其中所述组合物是具有约0.4μm至约5μm的体积平均直径(VMD)和/或约0.4μm至约5μm的质量中值空气动力学直径(MMAD)的微粒的悬浮液。

74.如权利要求73所述的方法,其中所述BT化合物是BisEDT。

75.如权利要求74所述的方法,其中所述BT组合物包含浓度大于约0.1mg/mL的BisEDT、约0.05%至约1.0%Tween80®、约0.05至40mM氯化钠和任选地约2至20mM约pH.7.4的磷酸钠。

76.如权利要求75所述的方法,其中所述BT组合物包含浓度大于约0.25mg/mL的BisEDT、约0.5%Tween80®、约10mM氯化钠和约10mM约pH 7.4的磷酸钠。

77.如权利要求73-76中任一项所述的方法,其中当所述BT组合物被雾化时,其中所述雾化的液体微滴具有约约0.4μm至约5μm的MMAD。

78.如权利要求77所述的方法,其中至少60%、65%、70、75%、80%、90%或95%的所述液体微滴具有约0.4μm至约7μm、或约0.5μm至约5μm、或约0.7μm至约4μm、或约0.7μm至约3.5μm、或约0.8μm至约3.5μm、或约0.9μm至约3.5μm、或约0.9μm至约3μm、或约0.8μm至约1.8μm、或约0.8μm至约1.6μm、或约0.9μm至约1.4μm、或约1.0μm至约2.0μm、或约1.0μm至约1.8μm的MMAD。

79.如权利要求78所述的方法,其中所述液体微滴具有约0.8μm至约1.6μm、或约0.9μm至约3.5μm、或约0.9μm至约3μm、或约0.9μm至约1.4μm、或约1.0μm至约2.0μm、或约1.0μm至约1.8μm的MMAD。

80.如权利要求77-79中任一项所述的方法,其中所述多个液体微滴具有小于约3μm的D90。

81.如权利要求80所述的方法,其中所述多个液体微滴具有小于约2μm的D90。

82.如权利要求77-81中任一项所述的方法,其中所述多个液体微滴分散于连续的气相中。

83.如权利要求77-82中任一项所述的方法,其中所述BT化合物包含与一种或多种含硫醇化合物共价缔合和/或呈配位络合物的铋和/或铋盐。

84.如权利要求77-83中任一项所述的方法，其中所述铋盐是硝酸铋、次硝酸铋或氯化铋。

85.如权利要求77-84中任一项所述的方法，其中所述含硫醇化合物包含选自1,2-乙二硫醇、2,3-二巯基丙醇、羟基吡啶硫酮、二硫赤藓糖醇、3,4二巯基甲苯、2,3-丁二硫醇、1,3-丙二硫醇、2-羟基丙硫醇、1-巯基-2-丙醇、二硫赤藓糖醇、二硫苏糖醇、半胱胺和α-硫辛酸的一种或多种剂。

86.如权利要求77-85中任一项所述的方法，其中所述BT组合物包含选自BisBAL、BisEDT、Bis-二巯基丙醇、BisDTT、Bis-2-巯基乙醇、Bis-DTE、Bis-Pyr、Bis-Ery、Bis-Tol、Bis-BDT、Bis-PDT、Bis-Pyr/Bal、Bis-Pyr/BDT、BisPyr/EDT、Bis-Pyr/PDT、Bis-Pyr/Tol、Bis-Pyr/Ery、铋-1-巯基-2-丙醇、BisEDT/CSTMN(1:1)、BisPYR/CSTMN(1:1)、BisBAL/CSTMN(1:1)、BisTOL/CSTMN(1:1)和Bis-EDT/2-羟基-1-丙硫醇的一种或多种BT化合物。

87.如权利要求86所述的方法，其中所述BT化合物选自Bis-EDT、Bis-Bal、Bis-Pyr、Bis-Ery、Bis-Tol、Bis-BDT或Bis-EDT/2-羟基-1-丙硫醇中的一者或多者。

88.如权利要求87所述的方法，其中所述BT化合物是BisEDT。

89.如权利要求87所述的方法，其中所述BT化合物是BisBDT或BisBAL。

90.如权利要求77-89中任一项所述的方法，其中施用于所述深肺区的所述BT组合物的总量是约0.25mg至约15mg、约0.4mg至约15mg、约0.6mg至约15mg、约0.8mg至约15mg、约1mg至约10mg、2.5mg至约10mg、约4mg至约10mg、约5mg至约10mg、约6mg至约10mg、0.6mg至约6mg、约4mg至约15mg、约6mg至约15mg、约50μg至约750μg、约75μg至约500μg、约100μg至约250μg、约100μg至约150μg或约75μg至约150μg。

91.如权利要求90所述的方法，其中所述深肺区是深肺肺泡。

92.如权利要求77-91中任一项所述的方法，其中施用于所述深肺肺泡的所述包含BisEDT的BT组合物的总量是约0.6mg至约6mg。

93.如权利要求77-92中任一项所述的方法，其中所述组合物通过喷雾器雾化。

94.如权利要求93所述的方法，其中所述喷雾器是喷射喷雾器。

95.如权利要求94所述的方法，其中所述喷射喷雾器是Pari LC Plus喷射喷雾器或Pari LC SPRINT喷射喷雾器。

96.如权利要求93-95中任一项所述的方法，其中所述喷雾器具有约10至约40psig的入口压力。

97.如权利要求93-96中任一项所述的方法，其中入口流量为约3L/min至约8L/min。

98.如权利要求93-97中任一项所述的方法，其中排气气流为约3L/min至约8L/min。

99.一种治疗、管理与受试者的一种或多种肺部疾病或感染相关的症状和感染或减轻与受试者的一种或多种肺部疾病或感染相关的症状和感染的严重性的方法，所述方法包括向所述受试者施用包含至少一种BT化合物的铋-硫醇(BT)组合物。

100.如权利要求99所述的方法，其中所述一种或多种肺部疾病或感染不是囊性纤维化的结果，或者与囊性纤维化无关。

101.如权利要求99或100所述的方法，其中所述受试者患有至少一种肺部感染并且如果存在两种或更多种肺部感染，那么所述感染是并行的或依序的。

102.如权利要求100或101所述的方法，其中所述肺部感染是在一个肺中。

103.如权利要求100-102中任一项所述的方法，其中所述肺部感染是在两个肺中。

104.如权利要求100-103中任一项所述的方法，其中所述肺部感染是在右肺的三个肺叶中的一个或多个中。

105.如权利要求100-104中任一项所述的方法，其中所述肺部感染是在左肺的两个肺叶中的一个或两个中。

106.如权利要求100-105中任一项所述的方法，其中所述肺部感染是支气管扩张感染、肺炎、谷热、过敏性支气管肺曲霉病(ABPA)、呼吸机获得性肺炎、医院获得性肺炎、社区获得性肺炎、呼吸机相关的气管支气管炎、下呼吸道感染、非结核分枝杆菌、炭疽、军团病、百日咳、支气管炎、细支气管炎、COPD相关感染和肺移植后。

107.如权利要求100-106中任一项所述的方法，其中所述肺部感染含有一种或多种细菌或真菌病原体。

108.如权利要求101-107中任一项所述的方法，其中所述肺部感染是CF相关的肺部感染。

109.如权利要求108所述的方法，所述方法包括治疗所述CF相关的肺部感染。

110.如权利要求108所述的方法，所述方法包括管理所述CF相关的肺部感染。

111.如权利要求108所述的方法，所述方法包括减轻所述CF相关的肺部感染的严重性。

112.如权利要求100-111中任一项所述的方法，其中所述肺部感染位于肺粘膜、支气管和/或细支气管之中或之上。

113.如权利要求100-111中任一项所述的方法，其中所述肺部感染位于细菌生物膜、聚集的细菌、真菌生物膜或聚集的真菌的表面上或内部。

114.如权利要求100-111中任一项所述的方法，其中所述肺部感染位于痰中。

115.如权利要求107-114中任一项所述的方法，其中所述细菌病原体包含革兰氏阳性细菌和革兰氏阴性细菌中的一种或多种。

116.如权利要求107-115中任一项所述的方法，其中所述细菌病原体包含细菌生物膜和浮游细菌中的一种或多种。

117.如权利要求116所述的方法，其中所述方法包括以下至少一者：(i)减少所述细菌生物膜，(ii)削弱所述细菌生物膜的生长，和(iii)防止所述细菌生物膜的再形成。

118.如权利要求107-114中任一项所述的方法，其中所述真菌病原体包含浮游真菌和/或生物膜真菌。

119.如权利要求107-118中任一项所述的方法，其中所述BT组合物通过以下一者或两者来治疗、管理所述肺部感染或减轻所述肺部感染的严重性：

-防止所述细菌或真菌病原体的感染；和

-减少所述细菌或真菌病原体；和/或

-降低所述痰的粘度。

120.如权利要求107-118中任一项所述的方法，其中所述BT组合物通过以下一者或多者来治疗、管理所述肺部感染或减轻所述肺部感染的严重性：

-防止由所述细菌或真菌病原体加工或分泌外毒素；

-抑制所述细菌或真菌病原体的浮游细胞的细胞活力或细胞生长；

-抑制所述细菌或真菌病原体形成生物膜；和

-抑制所述细菌或真菌病原体的生物膜形成细胞的生物膜活力或生物膜生长。

121.如权利要求107-120中任一项所述的方法，其中所述一种或多种病原体选自流感嗜血杆菌、铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌、沃氏葡萄球菌路邓葡萄球菌、表皮葡萄球菌、米氏/咽峡炎链球菌、化脓性链球菌、非结核分枝杆菌、结核分枝杆菌、伯克霍尔德菌属、木糖氧化无色杆菌、痰潘多拉菌、嗜麦芽窄食单胞菌、木糖氧化产碱菌、皮氏嗜血杆菌、粘质沙雷氏菌、白色念珠菌、近平滑念珠菌、季也蒙念珠菌、摩氏摩根菌、粘泥异地菌、解甘露醇罗尔斯通氏菌、不可靠潘多拉菌、肺炎潘多拉菌、痰潘多拉菌、噬菌蛭弧菌、支气管败血性博德特菌、噬小球藻吸血弧菌、鲍曼不动杆菌、耐金属贪铜菌、偶发贪铜菌、呼吸系统贪铜菌、食酸代尔夫特菌、皮炎外瓶霉、弗里辛恩斯草螺菌、织片草螺菌、肺炎克雷白杆菌、纽伦堡潘多拉菌、居肺潘多拉菌、门多萨假单胞菌、类产碱假单胞菌、恶臭假单胞菌、施氏假单胞菌、危险罗尔斯通氏菌、皮氏罗尔斯通氏菌、淋病奈瑟菌、NDM-1阳性大肠杆菌、阴沟肠杆菌、万古霉素抗性屎肠球菌、万古霉素抗性粪肠球菌、屎肠球菌、粪肠球菌、克林霉素抗性无乳链球菌、无乳链球菌、脆弱拟杆菌、艰难梭菌、肺炎链球菌、卡他莫拉菌、溶血性嗜血杆菌、副流感嗜血杆菌、肺炎嗜衣原体、肺炎支原体、奇异菌属、鞘氨醇单胞菌属、螺旋体菌门、纤毛菌属、二氧化碳嗜纤维菌属、奥里杆菌属、水小杆菌属、毛绒厌氧杆菌属、弯曲杆菌属、不动杆菌属、农杆菌属、博德特菌属、短波单胞菌属、金黄杆菌属、代尔夫特菌属、肠杆菌属、克雷白杆菌属、潘多拉菌属、假单胞菌属、罗尔斯通氏菌属和普雷沃菌属。

122.如权利要求121所述的方法，其中所述非结核分枝杆菌选自脓肿分枝杆菌、鸟分枝杆菌、细胞内分枝杆菌、偶发分枝杆菌、戈氏分枝杆菌、堪萨斯分枝杆菌、鸟分枝杆菌复合群、海洋分枝杆菌、地分枝杆菌和龟分枝杆菌。

123.如权利要求121所述的方法，其中所述伯克霍尔德菌属选自洋葱伯克霍尔德菌、多噬伯克霍尔德菌、新洋葱伯克霍尔德菌、稳定伯克霍尔德菌、越南伯克霍尔德菌、多罗萨伯克霍尔德菌、阿姆毕伯克霍尔德菌、安替那伯克霍尔德菌、吡咯伯克霍尔德菌、唐菖蒲伯克霍尔德菌、优博伯克霍尔德菌、阿波利伯克霍尔德菌、拉特斯伯克霍尔德菌、拉塔伯克霍尔德菌、金属伯克霍尔德菌、精液伯克霍尔德菌、污染伯克霍尔德菌和弥漫性伯克霍尔德菌。

124.如权利要求121所述的方法，其中所述一种或多种病原体选自铜绿假单胞菌、单一耐药性铜绿假单胞菌、多重耐药性铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌、单一耐药性金黄色葡萄球菌、多重耐药性金黄色葡萄球菌、甲氧西林抗性金黄色葡萄球菌、脓肿分枝杆菌、鸟分枝杆菌、流感嗜血杆菌、洋葱伯克霍尔德菌、多噬伯克霍尔德菌、新洋葱伯克霍尔德菌、多罗萨伯克霍尔德菌、木糖氧化无色杆菌、嗜麦芽窄食单胞菌、表皮葡萄球菌和越南伯克霍尔德菌。

125.如权利要求121所述的方法，其中所述一种或多种病原体选自流感嗜血杆菌、铜绿假单胞菌和金黄色葡萄球菌。

126.如权利要求117、118或120中任一项所述的方法，其中所述一种或多种病原体选自铜绿假单胞菌、新洋葱伯克霍尔德菌、洋葱伯克霍尔德菌复合群、脓肿分枝杆菌、鸟分枝杆菌、无色杆菌属、表皮葡萄球菌、嗜麦芽窄食单胞菌和金黄色葡萄球菌的生物膜。

127.如权利要求125所述的方法，其中所述铜绿假单胞菌和/或金黄色葡萄球菌是多重耐药性的。

128.如权利要求107-127中任一项所述的方法，其中所述一种或多种病原体展现对选

自阿米卡星、氨曲南、甲氧西林、万古霉素、萘夫西林、庆大霉素、氨苄西林、氯霉素、强力霉素和妥布霉素的抗生素的抗性或难治性。

129.如权利要求128所述的方法，其中所述抗生素是阿米卡星或妥布霉素。

130.如权利要求128所述的方法，其中所述细菌病原体是甲氧西林抗性金黄色葡萄球菌。

131.如权利要求99-130中任一项所述的方法，所述方法还包括向所述受试者共同施用或联合施用选自阿米卡星、妥布霉素、庆大霉素、哌拉西林、美洛西林、替卡西林、亚胺培南、环丙沙星、头孢他啶、氨曲南、替卡西林-克拉维酸、双氯西林、阿莫西林、甲氧苄啶-磺胺甲噁唑、头孢氨苄、哌拉西林-他佐巴坦、利奈唑胺、达托霉素、万古霉素、甲硝唑、克林霉素、粘菌素、四环素、左氧氟沙星、阿莫西林和克拉维酸(Augmentin®)、氯唑西林、双氯西林、头孢地尼、头孢丙烯、头孢克洛、头孢呋辛、红霉素/磺胺异噁唑、红霉素、克拉霉素、阿奇霉素、强力霉素、米诺环素、替加环素、亚胺培南、美罗培南、甲磺酸粘菌素/粘菌素®、甲氧西林、苯唑西林、萘夫西林、羧苄西林、阿洛西林、哌拉西林和他唑巴坦(Zosyn®)、头孢吡肟、乙胺丁醇、利福平和美罗培南的抗生素。

132.如权利要求131所述的方法，其中所述抗生素选自美罗培南、头孢他啶、妥布霉素、阿米卡星、氨曲南、环丙沙星、粘菌素和左氧氟沙星。

133.如权利要求107-120中任一项所述的方法，其中所述真菌病原体是白色念珠菌、耐药性白色念珠菌、光滑念珠菌、克鲁斯念珠菌、季也蒙念珠菌、耳念珠菌、热带念珠菌、黑曲霉、土曲霉、烟曲霉和/或黄曲霉。

134.如权利要求99-133中任一项所述的方法，所述方法包括通过使用气溶胶装置经口或经鼻吸入来施用所述BT组合物。

135.如权利要求134所述的方法，其中所述气溶胶装置是喷雾器。

136.如权利要求134或135所述的方法，其中所述BT组合物是呈水溶液或悬浮液形式。

137.如权利要求99-136中任一项所述的方法，其中所述BT组合物经局部施用于肺组织。

138.如权利要求99-137中任一项所述的方法，其中

所述BT组合物以约0.25mg/mL至约15mg/mL、约0.4mg/mL至约15mg/mL、约0.6mg/mL至约15mg/mL、约0.6mg/mL至约100mg/mL、约5mg/mL至约100mg/mL、约10mg/mL至约100mg/mL、约25mg/mL至约100mg/mL、约50mg/mL至约100mg/mL、约0.8mg/mL至约15mg/mL、约1mg/mL至约10mg/mL、2.5mg/mL至约10mg/mL、约4mg/mL至约10mg/mL、约5mg/mL至约10mg/mL、约6mg/mL至约10mg/mL、0.6mg/mL至约6mg/mL、约4mg/mL至约15mg/mL、约6mg/mL至约15mg/mL、约50μg/mL至约750μg/mL、约75μg/mL至约500μg/mL、约100μg/mL至约250μg/mL、约100μg/mL至约150μg/mL或约75μg/mL至约150μg/mL的剂量施用；和/或

施用于所述肺的所述BT组合物的总量是约0.25mg至约15mg、约0.4mg至约15mg、约0.6mg至约15mg、约0.8mg至约15mg、约1mg至约10mg、2.5mg至约10mg、约4mg至约10mg、约5mg至约10mg、约6mg至约10mg、0.6mg至约6mg、约4mg至约15mg、约6mg至约15mg、约50μg至约750μg、约75μg至约500μg、约100μg至约250μg、约100μg至约150μg或约75μg至约150μg。

139.如权利要求99-138中任一项所述的方法，其中所述BT组合物以约0.6mg/mL至约

6mg/mL的剂量施用。

140.如权利要求99-139中任一项所述的方法，其中每天三次、每天两次、每天一次、每隔一天、每三天一次、每周一次、每隔一周一次、每月一次至每隔一月一次施用所述BT组合物。

141.如权利要求140所述的方法，其中每周一次施用所述BT组合物。

142.如权利要求99-141中任一项所述的方法，其中所述受试者的以下症状中的一者或多者的严重性有所减轻：咳嗽、喘息、呼吸困难、支气管扩张、鼻息肉、咯血、呼吸衰竭和肺恶化。

143.如权利要求99-142中任一项所述的方法，其中所述铋-硫醇组合物包含多个包含铋-硫醇(BT)化合物的微粒，大体上所有的所述微粒均具有约0.4μm至约5μm的体积平均直径，并且其中所述BT化合物包含铋或铋盐和含硫醇化合物。

144.如权利要求143所述的方法，其中至少60％、65％、70、75％、80％、90％或95％的所述微粒具有约0.4μm至约3μm、或约0.5μm至约2μm、或约0.7μm至约2μm、或约0.8μm至约1.8μm、或约0.8μm至约1.6μm、或约0.9μm至约1.4μm、或约1.0μm至约2.0μm、或约1.0μm至约1.8μm的体积平均直径。

145.如权利要求142-143所述的方法，其中所述铋盐是硝酸铋、次硝酸铋或氯化铋。

146.如权利要求142-143所述的方法，其中所述含硫醇化合物包含选自1,2-乙二硫醇、2,3-二巯基丙醇、羟基吡啶硫酮、二硫赤藓糖醇、3,4二巯基甲苯、2,3-丁二硫醇、1,3-丙二硫醇、2-羟基丙硫醇、1-巯基-2-丙醇、二硫赤藓糖醇、二硫苏糖醇、半胱胺和α-硫辛酸的一种或多种剂。

147.如权利要求143-146中任一项所述的方法，其中所述BT组合物包含选自BisBAL、BisEDT、Bis-二巯基丙醇、BisDTT、Bis-2-巯基乙醇、Bis-DTE、Bis-Pyr、Bis-Ery、Bis-Tol、Bis-BDT、Bis-PDT、Bis-Pyr/Bal、Bis-Pyr/BDT、BisPyr/EDT、Bis-Pyr/PDT、Bis-Pyr/Tol、Bis-Pyr/Ery、铋-1-巯基-2-丙醇、BisEDT/CSTMN(1:1)、BisPYR/CSTMN(1:1)、BisBAL/CSTMN(1:1)、BisTOL/CSTMN(1:1)和Bis-EDT/2-羟基-1-丙硫醇的一种或多种BT化合物。

148.如权利要求147所述的方法，其中所述BT化合物选自Bis-EDT、Bis-Bal、Bis-Pyr、Bis-Ery、Bis-Tol、Bis-BDT或Bis-EDT/2-羟基-1-丙硫醇中的一者或多者。

149.如权利要求148所述的方法，其中所述BT化合物是BisEDT。

150.如权利要求148所述的方法，其中所述BT化合物是BisBDT或BisBAL。

151.如权利要求99-150中任一项所述的方法，其中施用于所述深肺区的所述BT组合物的总量是约0.25mg至约15mg、约0.4mg至约15mg、约0.6mg至约15mg、约0.8mg至约15mg、约1mg至约10mg、2.5mg至约10mg、约4mg至约10mg、约5mg至约10mg、约6mg至约10mg、0.6mg至约6mg、约4mg至约15mg、约6mg至约15mg、约50μg至约750μg、约75μg至约500μg、约100μg至约250μg、约100μg至约150μg或约75μg至约150μg。

152.如权利要求151所述的方法，其中所述深肺区是深肺肺泡。

153.如权利要求55-72中任一项所述的气溶胶，其中至少60％、65％、70、75％、80％、90％或95％的所述微粒具有约0.6μm至约2.5μm的体积平均直径。

154.如权利要求153所述的气溶胶，其中大体上所有的所述微粒均具有约0.6μm至约2.5μm的VMD。

155.如权利要求55-72或153-154中任一项所述的气溶胶，其中至少70％的雾化颗粒具有约0.9μm至约3μm的MMAD。

156.如权利要求55-72或153-155中任一项所述的气溶胶，其中所述组合物是具有约0.6μm至约2.5μm的体积平均直径(VMD)和/或约0.9μm至约3μm的质量中值空气动力学直径(MMAD)的微粒的悬浮液。

157.如权利要求55-72或153-156中任一项所述的气溶胶，其中所述铋-硫醇组合物包含多个包含铋-硫醇(BT)化合物的微粒，大体上所有的所述微粒均具有约0.4μm至约5μm的体积平均直径，并且其中所述BT化合物包含铋或铋盐和含硫醇化合物。

158.如权利要求55-72或153-157中任一项所述的气溶胶，其中在将所述雾化组合物递送至受试者之后，至少60％、65％、70、75％、80％、90％或95％的所述BT化合物剂量沉积于所述肺上。

159.如权利要求158所述的气溶胶，其中至少80％的所述BT化合物剂量沉积于所述肺上。

160.如权利要求158所述的气溶胶，其中至少90％的所述BT化合物剂量沉积于所述肺上。

161.如权利要求1-54或73-152中任一项所述的方法，其中至少60％、65％、70、75％、80％、90％或95％的所述微粒具有约0.6μm至约2.5μm的体积平均直径。

162.如权利要求161所述的方法，其中大体上所有的所述微粒均具有约0.6μm至约2.5μm的VMD。

163.如权利要求1-54、73-152或161-162中任一项所述的方法，其中至少70％的雾化颗粒具有约0.9μm至约3μm的MMAD。

164.如权利要求1-54、73-152或161-163中任一项所述的方法，其中所述组合物是具有约0.6μm至约2.5μm的体积平均直径(VMD)和/或约0.9μm至约3μm的质量中值空气动力学直径(MMAD)的微粒的悬浮液。

165.如权利要求1-54、73-152或161-164中任一项所述的方法，其中所述铋-硫醇组合物包含多个包含铋-硫醇(BT)化合物的微粒，大体上所有的所述微粒均具有约0.4μm至约5μm的体积平均直径，并且其中所述BT化合物包含铋或铋盐和含硫醇化合物。

166.如权利要求1-54、73-152或161-165中任一项所述的方法，其中如果沉积至所述深肺区，那么所述BT化合物具有至少2天的平均半衰期。

167.如权利要求166中任一项所述的方法，其中如果沉积至所述深肺区，那么所述BT化合物具有至少4天的平均半衰期。

168.如权利要求1-54、73-152或161-167中任一项所述的方法，其中在将所述雾化组合物递送至受试者之后，至少60％、65％、70、75％、80％、90％或95％的所述BT化合物剂量沉积于所述肺上。

169.如权利要求168所述的气溶胶，其中至少80％的所述BT化合物剂量沉积于所述肺上。

170.如权利要求168所述的气溶胶，其中至少90％的所述BT化合物剂量沉积于所述肺上。

171.一种治疗、管理受试者的囊性纤维化(CF)症状和感染或减轻受试者的囊性纤维化

(CF)症状和感染的严重性的方法，所述方法包括向所述受试者施用包含悬浮于其中的BisEDT的铋-硫醇(BT)组合物，其中施用所述BT组合物是通过使用气溶胶装置经口或经鼻吸入。

172.如权利要求171所述的方法，其中所述BT组合物包含多个微粒，其中至少70％的所述微粒具有约0.6μm至约2.5μm的体积平均直径(VMD)。

173.如权利要求172所述的方法，其中至少80％的所述微粒具有约0.6μm至约2.5μm的VMD。

174.如权利要求172所述的方法，其中至少90％的所述微粒具有约0.6μm至约2.5μm的VMD。

175.如权利要求172所述的方法，其中当所述BT组合物被雾化时，至少70％的雾化液体微滴具有约约0.9μm至约3μm的质量中值空气动力学直径(MMAD)。

176.如权利要求173所述的方法，其中当所述BT组合物被雾化时，至少80％的雾化液体微滴具有约约0.9μm至约3μm的MMAD。

177.如权利要求174所述的方法，其中当所述BT组合物被雾化时，至少90％的雾化液体微滴具有约约0.9μm至约3μm的MMAD。

178.如权利要求171所述的方法，其中所述BT组合物包含浓度大于约0.1mg/mL的BisEDT、约0.05％至约1.0％Tween 80®、约0.05至40mM氯化钠和任选地约2至20mM约pH.7.4的磷酸钠。

179.如权利要求171所述的方法，其中如果沉积至所述深肺区，那么所述BisEDT化合物具有约4天的平均半衰期。

180.如权利要求171所述的方法，其中所述受试者患有含有一种或多种细菌病原体和/或真菌病原体的至少一种肺部感染。

181.如权利要求180所述的方法，其中所述方法包括以下至少一者：(i)减少细菌生物膜，(ii)削弱细菌生物膜的生长，(iii)防止所述细菌生物膜的初始形成，和/或(iv)防止所述细菌生物膜的再形成。

182.如权利要求180所述的方法，其中所述一种或多种病原体选自流感嗜血杆菌、铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌、沃氏葡萄球菌路邓葡萄球菌、表皮葡萄球菌、米氏/咽峡炎链球菌、化脓性链球菌、非结核分枝杆菌、结核分枝杆菌、伯克霍尔德菌属、木糖氧化无色杆菌、痰潘多拉菌、嗜麦芽窄食单胞菌、木糖氧化产碱菌、皮氏嗜血杆菌、粘质沙雷氏菌、白色念珠菌、耐药性白色念珠菌、光滑念珠菌、克鲁斯念珠菌、季也蒙念珠菌、耳念珠菌、热带念珠菌、黑曲霉、土曲霉、烟曲霉、黄曲霉、摩氏摩根菌、粘泥异地菌、解甘露醇罗尔斯通氏菌、不可靠潘多拉菌、肺炎潘多拉菌、痰潘多拉菌、噬菌蛭弧菌、支气管败血性博德特菌、噬小球藻吸血弧菌、鲍曼不动杆菌、耐金属贪铜菌、偶发贪铜菌、呼吸系统贪铜菌、食酸代尔夫特菌、皮炎外瓶霉、弗里辛恩斯草螺菌、织片草螺菌、肺炎克雷白杆菌、纽伦堡潘多拉菌、居肺潘多拉菌、门多萨假单胞菌、类产碱假单胞菌、恶臭假单胞菌、施氏假单胞菌、危险罗尔斯通氏菌、皮氏罗尔斯通氏菌、淋病奈瑟菌、NDM-1阳性大肠杆菌、阴沟肠杆菌、万古霉素抗性屎肠球菌、万古霉素抗性粪肠球菌、屎肠球菌、粪肠球菌、克林霉素抗性无乳链球菌、无乳链球菌、脆弱拟杆菌、艰难梭菌、肺炎链球菌、卡他莫拉菌、溶血性嗜血杆菌、副流感嗜血杆菌、肺炎嗜衣原体、肺炎支原体、奇异菌属、鞘氨醇单胞菌属、螺旋体菌门、纤毛菌属、二氧化碳嗜纤

维菌属、奥里杆菌属、水小杆菌属、毛绒厌氧杆菌属、弯曲杆菌属、不动杆菌属、农杆菌属、博德特菌属、短波单胞菌属、金黄杆菌属、代尔夫特菌属、肠杆菌属、克雷白杆菌属、潘多拉菌属、假单胞菌属、罗尔斯通氏菌属和普雷沃菌属。

183.一种气溶胶，其包含在气体中的多个分散的液体微滴，所述液体微滴包含BT组合物，所述BT组合物包含悬浮于其中的BisEDT化合物；并且

其中至少70％的所述液体微滴具有约约0.9μm至约3μm的MMAD。

184.如权利要求183所述的气溶胶，其中在雾化之前，所述BT组合物包含多个微粒，其中至少70％的所述微粒具有约0.6μm至约2.5μm的VMD。

185.如权利要求183所述的气溶胶，其中至少80％的所述液体微滴具有约约0.9μm至约3μm的MMAD。

186.如权利要求183所述的气溶胶，其中至少90％的所述液体微滴具有约约0.9μm至约3μm的MMAD。

187.如权利要求185所述的气溶胶，其中在雾化之前，所述BT组合物包含多个微粒，其中至少80％的所述微粒具有约0.6μm至约2.5μm的VMD。

188.如权利要求186所述的气溶胶，其中在雾化之前，所述BT组合物包含多个微粒，其中至少90％的所述微粒具有约0.6μm至约2.5μm的VMD。

189.如权利要求183所述的气溶胶，其中所述微滴还包含Tween80(例如约0.05％至约1％)和任选地pH约7.4的缓冲液(例如磷酸钠或柠檬酸钠)；和/或氯化钠。

190.如权利要求183所述的气溶胶，其中如果沉积至所述深肺区，那么所述BisEDT化合物具有超过2天的平均半衰期。

191.如权利要求183所述的气溶胶，其中如果沉积至所述深肺区，那么所述BisEDT化合物具有约4天的平均半衰期。

193.一种包含铋-硫醇(BT)组合物的药物组合物，所述铋-硫醇(BT)组合物包含悬浮于其中的BisEDT，其中所述BT组合物包含多个微粒，其中所述微粒的D90小于或等于1.9μm。

194.一种包含铋-硫醇(BT)组合物的药物组合物，所述铋-硫醇(BT)组合物包含悬浮于其中的BisEDT，其中所述BT组合物包含多个微粒，其中所述微粒的D90小于或等于约1.6μm。

195.如权利要求193所述的药物组合物，其中至少70％的所述微粒具有约0.6μm至约2.5μm的体积平均直径。

196.如权利要求193所述的药物组合物，其中至少90％的所述微粒具有约0.6μm至约2.5μm的体积平均直径。

197.一种治疗、管理与受试者的一种或多种肺部疾病或感染相关的症状和感染或减轻与受试者的一种或多种肺部疾病或感染相关的症状和感染的严重性的方法，所述方法包括向所述受试者施用包含BisEDT的铋-硫醇(BT)组合物，其中所述BT组合物包含多个微粒，其中至少70％的所述微粒具有约0.6μm至约2.5μm的体积平均直径，并且其中当所述BT组合物被雾化时，至少70％的雾化液体微滴具有约约0.9μm至约3μm的MMAD。

198.如权利要求197所述的方法，其中所述一种或多种肺部疾病或感染不是囊性纤维化的结果，或者与囊性纤维化无关。

199.如权利要求198所述的方法，其中所述肺部感染是支气管扩张感染、肺炎、谷热、过敏性支气管肺曲霉病(ABPA)、呼吸机获得性肺炎、医院获得性肺炎、社区获得性肺炎、呼吸

机相关的气管支气管炎、下呼吸道感染、非结核分枝杆菌、炭疽、军团病、百日咳、支气管炎、细支气管炎、COPD相关感染和肺移植后。

200.如权利要求193所述的药物组合物，其中所述微粒的D50小于或等于1.0μm。

201.如权利要求193所述的药物组合物，其中所述微粒的D10小于或等于0.39μm。

202.如权利要求193-196和200-201中任一项所述的药物组合物，其中浓度大于约0.1mg/mL的BisEDT、约0.05％至约1.0％Tween80®、约0.05至40mM氯化钠和任选地约2至20mM约pH.7.4的磷酸钠。

203.如权利要求193-196和200-202中任一项所述的药物组合物，其中所述药物组合物是气溶胶。

204.如权利要求203所述的药物组合物，其中所述气溶胶是由喷雾器产生。

205.一种治疗、管理受试者的囊性纤维化(CF)症状和感染和/或减轻受试者的囊性纤维化(CF)症状和感染的严重性的方法，所述方法包括向所述受试者施用权利要求193-196和200-204中任一项所述的铋-硫醇(BT)组合物。

206.一种治疗、管理与受试者的一种或多种肺部疾病或感染相关的症状和感染和/或减轻与受试者的一种或多种肺部疾病或感染相关的症状和感染的严重性的方法，所述方法包括向所述受试者施用权利要求193-196和200-204中任一项所述的铋-硫醇(BT)组合物。

铋-硫醇组合物和使用方法

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2018年7月31日提交的美国临时申请号62/712,563和2019年2月4日提交的美国临时申请号62/800,925的权益,所述申请的内容以引用的方式整体并入本文中。

背景技术

[0003] 囊性纤维化(CF)表现为一种临床综合征,其特征在于慢性肺部感染以及胃肠、营养和其他异常。CF的遗传基础是一种良好表征的严重单基因隐性病症,所述病症是由囊性纤维化跨膜传导调节因子(CFTR)基因的突变引起的。患者通常患有慢性肺部感染,如感染铜绿假单胞菌(Pseudomonas aeruginosa)。最终,80至95%的CF患者死于由慢性细菌感染和伴随的气道发炎引起的呼吸衰竭。

[0004] 在婴儿期和儿童早期,CF患者的肺部经常被如金黄色葡萄球菌(Staphylococcus aureus)和流感嗜血杆菌(Haemophilus influenzae)的生物定殖或感染,所述生物可以损伤上皮表面,从而导致铜绿假单胞菌的附着增加并最终被铜绿假单胞菌替代。铜绿假单胞菌的慢性感染是已证实促成CF患者的肺功能下降和最终死亡率的主要因素。慢性铜绿假单胞菌感染导致上皮表面损伤和气道堵塞,逐渐地损害气道传导性,从而导致肺功能下降。铜绿假单胞菌还对许多常见抗生素发展抗性,这使得根除感染非常困难。发展抗性的一个因素是铜绿假单胞菌和其他CF相关的肺部病原体形成生物膜的趋势,倾向于产生抗生素更难以渗透的生物膜。另外,一般说来,抗生素在治疗感染中的普遍使用已经导致多重耐药性(MDR)细菌菌株,如铜绿假单胞菌和金黄色葡萄球菌。

[0005] 长期吸入抗生素疗法现在是稳定患者的长期维持治疗的护理标准。通过雾化可以在气道中达到有效的抗生素浓度,从而避免静脉内抗生素的副作用。粘菌素甲磺酸钠、阿米卡星、氨曲南和妥布霉素已经通过吸入施用于患者。然而,对于广谱、持久并且甚至有效抵抗最具抵抗力的微生物(例如细菌或真菌)种类的CF患者的肺微生物(例如细菌或真菌)感染治疗的需求仍未得到满足。

发明内容

[0006] 本文公开治疗、管理受试者的囊性纤维化(CF)症状和感染或减轻受试者的囊性纤维化(CF)症状和感染的严重性的方法,所述方法包括向受试者施用包含至少一种BT化合物的铋-硫醇(BT)组合物。

[0007] 在某些实施方案中,本公开提供一种适合用于治疗、管理受试者的囊性纤维化(CF)症状和感染或减轻受试者的囊性纤维化(CF)症状和感染的严重性的药物组合物,其包含有效量的本文所述的任何化合物(例如本公开的化合物,如铋-硫醇化合物,或其药学上可接受的盐),和一种或多种药学上可接受的赋形剂。

[0008] 在某些实施方案中,本公开提供一种气溶胶,其包含在气体中的多个分散的液体微滴,所述液体微滴包含BT组合物,所述BT组合物包含悬浮于其中的至少一种BT化合物,其中所述BT化合物包含铋和/或铋盐和含硫醇化合物;并且其中至少60%、65%、70、75%、

80％、90％或95％的所述液体微滴具有约约0.4μm至约5μm的质量中值空气动力学直径(MMAD)。

[0009] 在某些实施方案中，本公开提供一种治疗、管理受试者的囊性纤维化(CF)症状和感染或减轻受试者的囊性纤维化(CF)症状和感染的严重性的方法，所述方法包括向受试者施用包含至少一种BT化合物的铋-硫醇(BT)组合物，其中所述组合物是具有约0.4μm至约5μm的体积平均直径(VMD)和/或约0.4μm至约5μm的质量中值空气动力学直径(MMAD)的微粒的悬浮液。

[0010] 在某些实施方案中，本公开提供一种治疗、管理与受试者的一种或多种肺部疾病或感染相关的症状和感染或减轻与受试者的一种或多种肺部疾病或感染相关的症状和感染的严重性的方法，所述方法包括向受试者施用包含至少一种BT化合物的铋-硫醇(BT)组合物。

附图说明

[0011] 图1示出了代表性吸入暴露示意图。

[0012] 图2示出了2.5mg/mL BisEDT溶液的气溶胶粒径分布。

[0013] 图3示出了25mg/mL BisEDT溶液的气溶胶粒径分布。

[0014] 图4示出了50mg/mL BisEDT溶液的气溶胶粒径分布。

[0015] 图5示出了75mg/mL BisEDT溶液的气溶胶粒径分布。

[0016] 图6示出了100mg/mL BisEDT溶液的气溶胶粒径分布。

[0017] 图7示出了100mg/mL BisEDT在300毫摩尔渗透压浓度磷酸盐缓冲溶液中的气溶胶粒径分布。

[0018] 图8示出了50mg/mL BisEDT在300毫摩尔渗透压浓度磷酸盐缓冲溶液中的气溶胶粒径分布。

[0019] 图9示出了10mg/mL BisEDT在300毫摩尔渗透压浓度磷酸盐缓冲溶液中的气溶胶粒径分布。

[0020] 图10示出了2.5mg/mL BisEDT在300毫摩尔渗透压浓度磷酸盐缓冲溶液中的气溶胶粒径分布。

[0021] 图11示出了抗生素的吸入性药物递送增加肺暴露(B)，同时减少相应副作用的全身暴露(A)。

[0022] 图12示出了针对多种临床上相关的CF分离株的BisEDT的MIC测试结果。

[0023] 图13是示出了通过LDH释放(来自培养基侧)和来自顶面/空气暴露侧的跨上皮电阻(TEER)两者来评估细胞毒性的图。

[0024] 图14示出了BT化合物针对从MR14生长的生物膜的活性，MR14是铜绿假单胞菌的多重耐药性CF分离株。

[0025] 图15示出了BT化合物针对从AG14生长的生物膜的活性，AG14是铜绿假单胞菌的氨基糖苷抗性CF分离株。

[0026] 图16示出了BT化合物针对从AU197生长的生物膜的活性，AU197是新洋葱伯克霍尔德菌(Burkholderia.cenocepacia)的CF分离株。

[0027] 图17示出了BT化合物针对从AMT0130-8生长的生物膜的活性，AMT0130-8代表临床

上相关的脓肿分枝杆菌(Mycobacterium abscessus)复合群(MABSC)的CF分离株,所述复合群经常使CF肺部感染的治疗复杂化

[0028] 图18示出了BT化合物针对从AMT0089-5生长的生物膜的活性,AMT0089-5是一种大环内酯抗性、阿米卡星抗性MABSC。

[0029] 图19示出了BT化合物针对从ATCC-19977生长的生物膜的活性,ATCC-19977是脓肿分枝杆菌(大环内酯抗性;可诱导的)。

[0030] 图20示出了BT化合物针对从MABSC CF分离株生长的生物膜的活性。

[0031] 图21示出了BT化合物针对从无色杆菌属(Achromobacter)生长的生物膜的活性。

[0032] 图22示出了BT化合物针对从嗜麦芽窄食单胞菌(Stenotrophomonas maltophilia)生长的生物膜的活性。

[0033] 图23示出了BT化合物针对从大肠杆菌(E.coli)生长的生物膜的活性。

[0034] 图24示出了MucilAir™的概况,它是人气道上皮的完全分化模型。

[0035] 图25示出了BisEDT溶液在1、8、24和48小时暴露时的细胞毒性百分率(LDH测量)。对于每种浓度,从左到右示出代表1、8、24和48小时的条。

[0036] 图26示出了BisEDT溶液在1、8、24和48小时暴露时对组织完整性的影响。对于每种浓度,从左到右示出代表1、8、24和48小时的条。

[0037] 图27示出了固体BisEDT在1、8、24和48小时暴露时的细胞毒性百分率(LDH测量)。对于每种浓度,从左到右示出代表1、8、24和48小时的条。

[0038] 图28示出了固体BisEDT在1、8、24和48小时暴露时对组织完整性的影响。对于每种浓度,从左到右示出代表1、8、24和48小时的条。

[0039] 图29示出了固体BisEDT在1、8、24和48小时暴露时的细胞毒性百分率(LDH测量)。对于每种浓度,从左到右示出代表1、8、24和48小时的条。

[0040] 图30示出了固体BisEDT在1、8、24和48小时暴露时对组织完整性的影响。对于每种浓度,从左到右示出代表1、8、24和48小时的条。

[0041] 图31示出了痰对妥布霉素的细菌杀死活性的影响。

[0042] 图32示出了BisEDT的杀菌活性似乎部分地受到CF患者的痰抑制。

[0043] 图33示出了BisBDT的杀菌活性似乎部分地受到CF患者的痰抑制。

[0044] 图34示出了在大鼠中的单次100μg/kg肺沉积剂量之后,肺组织BisEDT浓度对时间的图。

[0045] 图35示出了全血BisEDT浓度对时间(100μg/kg IV或100μg/kg吸入或250μg/kg口服剂量)。

[0046] 图36示出了在单次吸入剂量(μg/kg肺沉积)之后的大鼠血液BisEDT对时间。

[0047] 图37示出了在处死时(在单次吸入剂量之后24或30小时)的大鼠肺BisEDT浓度(ng/g)。

[0048] 图38示出了媒介物的粒径分布。

[0049] 图39示出了妥布霉素的粒径分布。

[0050] 图40示出了BisEDT的粒径分布。

[0051] 图41示出了狗暴露系统的示例示意图。

[0052] 图42示出了大鼠功效图,所述图示出在第3天和第5天的累积(总计)施用剂量(肺

沉积)。

[0053] 图43示出了一种代表性棋盘分析,其中每种化合物单独地(第12列和第H行)并且组合地以变化的药物浓度比率进行测试。

具体实施方式

[0054] 定义

[0055] 除非另外定义,否则本文所使用的所有技术和科学术语均具有本公开所属领域的技术人员通常所理解的含义。以下参考文献向技术人员提供本公开中使用的许多术语的一般定义:Singleton等人,Dictionary of Microbiology and Molecular Biology(第2版1994);The Cambridge Dictionary of Science and Technology(Walker编,1988);The Glossary of Genetics,第5版,R.Rieger等人(编),Springer Verlag(1991);和Hale和Marham,The Harper Collins Dictionary of Biology(1991)。除非另外规定,否则如本文所用,以下术语具有下文赋予其的含义。

[0056] 如本文所用,如本说明书和权利要求书中使用的动词“包含(comprise)”和其变形是以其非限制性含义使用以意指包括所述词之后的项目,但是不排除未具体提及的项目。本公开可以适当地“包含”权利要求书中所述的步骤、元件和/或试剂,“由所述步骤、元件和/或试剂组成”,或“基本上由所述步骤、元件和/或试剂组成”。

[0057] 除非特别声明或从上下文中显而易见,否则如本文所用,术语“或”应理解为包括性的。除非特别声明或从上下文中显而易见,否则如本文所用,术语“一(a)”、“一(an)”和“所述”应理解为单数或复数。

[0058] 在本说明书中,术语“约”和/或“大约”可以与数值和/或范围结合使用。术语“约”应理解为意指接近所叙述的值的那些值。此外,应鉴于本文所提供的术语“约”的定义来理解短语“小于约[一个值]”或“大于约[一个值]”。术语“约”和“大约”可互换使用。

[0059] “烷基”或“烷烃”是完全饱和的直链或分支链非芳族烃。通常,除非另有定义,否则直链或分支链烷基具有1至约20个碳原子,例如1至约10个。直链和分支链烷基的实例包括甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、叔丁基、戊基、己基、戊基和辛基。C1-C6直链或分支链烷基也称作“低级烷基”。

[0060] 此外,如本说明书、实施例和权利要求书中所用的术语“烷基”(或“低级烷基”)意图包括“未取代的烷基”和“取代的烷基”两者,其中后者是指具有置换烃主链的一个或多个碳上的氢的取代基的烷基部分。如果未另外规定,那么此类取代基可包括例如卤素、羟基、羰基(如羧基、烷氧羰基、甲酰基或酰基)、硫羰基(如硫酯、硫代乙酸酯或硫代甲酸酯)、烷氧基、磷酰基、磷酸酯、膦酸酯、次膦酸酯、氨基、酰胺基、胺、亚胺、氰基、硝基、叠氮基、巯基、烷硫基、硫酸酯、磺酸酯、氨磺酰基、磺酰胺基、磺酰基、杂环基、芳烷基或芳族或杂芳族部分。本领域技术人员应理解,在烃链上进行取代的部分本身可在适当时被取代。例如,取代的烷基的取代基可包括氨基、叠氮基、亚氨基、酰胺基、磷酰基(包括膦酸酯和次膦酸酯)、磺酰基(包括硫酸酯、磺酰胺基、氨磺酰基和磺酸酯)和甲硅烷基的取代和未取代形式,以及醚、烷硫基、羰基(包括酮、醛、羧酸酯和酯)、-CF3、-CN等。示例性的取代的烷基描述如下。环烷基可进一步用烷基、烯基、烷氧基、烷硫基、氨基烷基、羰基取代的烷基、-CF3、-CN等取代。

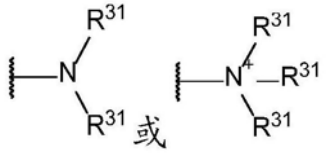
[0061] 当与化学部分(如酰基、酰氧基、烷基、烯基、炔基或烷氧基)结合使用时,术语“Cx-

y”打算包括链中含有x至y个碳的基团。例如，术语“Cx-y烷基”是指取代的或未取代的饱和烃基，包括链中含有x至y个碳的直链烷基和分支链烷基，包括卤烷基，如三氟甲基和2,2,2-三氟乙基等。C0烷基指示氢(其中所述基团处于末端位置中)、一键(如果是内部的)。术语“C2-y烯基”和“C2-y炔基”是指取代的或未取代的不饱和脂肪族基团，其长度和对上述烷基的可能取代类似，但是分别含有至少一个双键或三键。

[0062] 如本文所用，术语“烷基氨基”是指用至少一个烷基取代的氨基。

[0063] 如本文所用，术语“烷硫基”是指用烷基取代的硫醇基，并且可以由通式烷基S-表示。

[0064] 术语“胺”和“氨基”是本领域公认的并且是指未取代的和取代的胺和其盐，例如可如下表示的部分

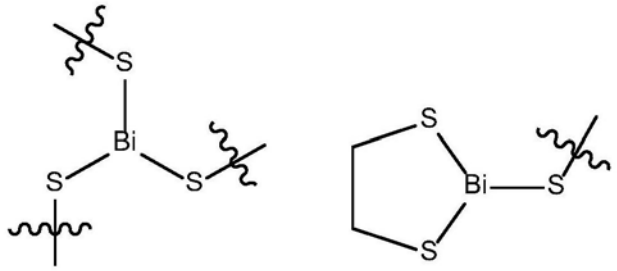
[0065] 

[0066] 其中每个R^{31}独立地表示氢或烃基，或两个R^{31}与其附接的N原子合起来完成在环结构中具有4至8个原子的杂环。如本文所用，术语“氨基烷基”是指用氨基取代的烷基。

[0067] 如本文所用，术语“芳基”包括取代的或未取代的单环芳族基团，其中所述环的每个原子均为碳。在一些实施方案中，所述环是5元至7元环，例如6元环。术语“芳基”还包括具有两个或更多个环的多环系统，其中两个或更多个碳是两个相邻环共用的，其中所述环中的至少一者是芳族的，例如，其他环可以是环烷基、环烯基、环炔基、芳基、杂芳基和/或杂环基。芳基包括苯、萘、菲、苯酚、苯胺等。

[0068] 术语“铋”是指周期表第83个元素，或其原子或离子。铋可以呈金属状态或呈离子化状态(如III或V氧化态)出现。铋离子可以与阴离子形成络合物，以生成铋盐或形成络合物阴离子，所述络合物阴离子接着进一步与一种或多种其他阳离子络合。铋也可以与其他原子(如硫)形成共价键。

[0069] 如本文所公开，“铋-硫醇化合物”或“BT化合物”是具有与存在于一种或多种硫醇化合物上的一个、两个或三个其他硫原子共价结合的铋原子的化合物。术语“硫醇”是指含有-SH基团的含碳化合物或其片段，并且可以由通式R-SH表示。这些硫醇化合物包括具有一个、两个、三个或更多个S原子的化合物。硫醇化合物可以具有其他官能团，如烷基、羟基、碳环基、杂环基、芳基、杂芳基、氨基和其他取代基。具有两个或更多个S原子的硫醇化合物可以螯合铋原子，使得来自同一分子的两个S原子与铋原子共价键结。示例性铋-硫醇化合物显示于下文：

[0070] 

[0071] 如本文所用，术语“碳环(carbocycle)”和“碳环(carbocyclic)”是指饱和或不饱

和环，其中所述环的每个原子均为碳。术语碳环包括芳族碳环和非芳族碳环。非芳族碳环包括环烷烃环，其中所有碳原子均是饱和的，和环烯烃环，其含有至少一个双键。

[0072] 术语“碳环”包括5-7元单环和8-12元双环。双环碳环的每个环可以选自饱和、不饱和和芳族环。碳环包括其中两个环之间共享一个、两个或三个或更多个原子的双环分子。术语“稠合碳环”是指双环碳环，其中每个环与另一环共享两个相邻原子。稠合碳环的每个环可以选自饱和、不饱和和芳族环。在一个示例性实施方案中，芳环(例如苯基)可以稠合至饱和或不饱和环，例如环己烷、环戊烷或环己烯。在价态允许的情况下，饱和、不饱和和芳族双环的任何组合均包括于碳环的定义中。示例性“碳环”包括环戊烷、环己烷、双环[2.2.1]庚烷、1,5-环辛二烯、1,2,3,4-四氢萘、双环[4.2.0]辛-3-烯、萘和金刚烷。示例性稠合碳环包括萘烷、萘、1,2,3,4-四氢萘、双环[4.2.0]辛烷、4,5,6,7-四氢-1H-茚和双环[4.1.0]庚-3-烯。“碳环”可以在能够携带氢原子的任何一个或多个位置上被取代。

[0073] “环烷基”是完全饱和的环状烃。“环烷基”包括单环和双环。除非另有定义，否则单环环烷基通常具有3至约10个碳原子，更通常3至8个碳原子。双环环烷基的第二个环可以选自饱和、不饱和和芳族环。环烷基包括其中两个环之间共享一个、两个或三个或更多个原子的双环分子。术语“稠合环烷基”是指其中每个环与另一环共享两个相邻原子的双环环烷基。稠合双环环烷基的第二个环可以选自饱和、不饱和和芳族环。“环烯基”是含有一个或多个双键的环状烃。

[0074] 如本文所用，术语“卤基”和“卤素”意指卤素并且包括氯、氟、溴和碘。

[0075] 如本文所用，术语“杂芳烷基(hetaralkyl)”和“杂芳烷基(heteroaralkyl)”是指用杂芳基取代的烷基。

[0076] 如本文所用，术语“杂烷基”是指碳原子和至少一个杂原子的饱和或不饱和链，其中没有两个杂原子相邻。

[0077] 术语“杂芳基(heteroaryl)”和“杂芳基(hetaryl)”包括取代的或未取代的芳族单环结构，例如5元至7元环，例如5元至6元环，其环结构包括至少一个杂原子，例如一至四个杂原子，例如一个或两个杂原子。术语“杂芳基(heteroaryl)”和“杂芳基(hetaryl)”还包括具有两个或更多个环的多环系统，其中两个或更多个碳是两个相邻环共用的，其中所述环中的至少一者是杂芳族的，例如，其他环可以是环烷基、环烯基、环炔基、芳基、杂芳基和/或杂环基。杂芳基包括例如吡咯、呋喃、噻吩、咪唑、噁唑、噻唑、吡唑、吡啶、吡嗪、哒嗪和嘧啶等。

[0078] 如本文所用，术语“杂原子”意指除碳或氢以外的任何元素的原子。优选的杂原子是氮、氧和硫。

[0079] 术语“杂环基”、“杂环(heterocycle)”和“杂环(heterocyclic)”是指取代的或未取代的非芳族环结构，例如3元至10元环，进一步举例来说3元至7元环，其环结构包括至少一个杂原子，例如一至四个杂原子，例如一个或两个杂原子。术语“杂环基”和“杂环”还包括具有两个或更多个环的多环系统，其中两个或更多个碳是两个相邻环共用的，其中所述环中的至少一者是杂环的，例如，其他环可以是环烷基、环烯基、环炔基、芳基、杂芳基和/或杂环基。杂环基包括例如哌啶、哌嗪、吡咯烷、吗啉、内酯、内酰胺等。

[0080] 如本文所用，术语“杂环基烷基”是指用杂环基团取代的烷基。

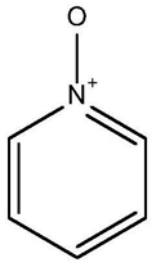
[0081] 如本文所用，术语“烃基”是指通过不具有＝O或＝S取代基的碳原子键结的基团，

并且通常具有至少一个碳-氢键和主要的碳主链，但是可以任选地包括杂原子。因此，就本申请而言，如甲基、乙氧基乙基、2-吡啶基和三氟甲基的基团被视为烃基，但是如乙酰基(其在连接碳上具有＝O取代基)和乙氧基(其通过氧而非碳进行连接)的取代基不是。烃基包括但不限于芳基、杂芳基、碳环、杂环基、烷基、烯基、炔基和其组合。

[0082] 当与化学部分(如酰基、酰氧基、烷基、烯基、炔基或烷氧基)结合使用时，术语“低级”打算包括其中取代基中存在十个或更少非氢原子，例如六个或更少的基团。例如，“低级烷基”是指含有十个或更少碳原子，例如六个或更少的烷基。在某些实施方案中，本文所定义的酰基、酰氧基、烷基、烯基、炔基或烷氧基取代基分别是低级酰基、低级酰氧基、低级烷基、低级烯基、低级炔基或低级烷氧基，无论它们是单独出现或是与其他取代基组合出现，如在叙述羟基烷基和芳烷基中(在这种情况下，例如，当计算烷基取代基中的碳原子时，不计算芳基内的原子)。

[0083] 术语“多环基”、“多环(polycycle)”和“多环(polycyclic)”是指两个或更多个环(例如，环烷基、环烯基、环炔基、芳基、杂芳基和/或杂环基)，其中两个或更多个原子是两个相邻环共用的，例如，所述环是“稠环”。所述多环的每个环均可以是取代的或未取代的。在某些实施方案中，所述多环的每个环在环中含有3至10个原子，例如5至7个。

[0084] 术语“N-氧化物”是指两性离子基团，其含有结合于呈-1氧化态的氧原子的呈+1氧化态的氮原子。N-氧化物的非限制性实例是下文所示的吡啶N-氧化物。如本文所用，术语“N-氧化物”涵盖具有这种官能团的其他基团的取代基。

[0085] 

[0086] 术语“取代的(substituted)”是指具有置换主链的一个或多个碳上的氢的取代基的部分。应理解，“取代(substitution)”或“用.....取代(substituted with)”包括隐含的限制条件，即所述取代符合取代的原子和取代基的允许价态，并且所述取代产生稳定化合物，例如，所述化合物不会自发地经历转化(如通过重排、环化、消除等)。如本文所用，术语“取代的”预期包括有机化合物的所有可允许的取代基。在一个广义方面，可允许的取代基包括有机化合物的无环和环状、分支链和直链、碳环和杂环、芳族和非芳族取代基。对于适当的有机化合物，可允许的取代基可以为一个或多个以及相同或不同的。就本公开而言，杂原子(如氮)可以具有氢取代基和/或满足杂原子的价态的本文所述的有机化合物的任何可允许的取代基。取代基可包括本文所述的任何取代基，例如卤素、羟基、羰基(如羧基、烷氧羰基、甲酰基或酰基)、硫羰基(如硫酯、硫代乙酸酯或硫代甲酸酯)、烷氧基、磷酰基、磷酸酯、膦酸酯、次膦酸酯、氨基、酰胺基、胺、亚胺、氰基、硝基、叠氮基、巯基、烷硫基、硫酸酯、磺酸酯、氨磺酰基、磺酰胺基、磺酰基、杂环基、芳烷基或芳族或杂芳族部分。本领域技术人员应理解，取代基本身可在适当时被取代。除非特别声明为“未取代的”，否则本文中对化学部分的提及应理解为包括取代的变体。例如，对“芳基”或部分的提及隐含地包括取代的和未取代的变体两者。

[0087] 如本文所用，术语“硫代烷基”是指用硫醇基团取代的烷基。如上文所论述的“硫醇化合物”可以在化合物结构上包括硫代烷基作为取代基。硫醇化合物可以具有例如一个、两个、三个或更多个硫代烷基。

[0088] 如本文所用，术语“硫醚”等同于醚，其中氧是用硫置换。

[0089] 术语施用的“受试者”预期包括但不限于人(即，任何年龄组的雄性或雌性，例如儿科受试者(例如婴儿、儿童、青少年)或成人受试者(例如年轻人、中年人或老年人))和/或其他灵长类动物(例如食蟹猴、恒河猴)；哺乳动物，包括与商业相关的哺乳动物，如牛、猪、马、绵羊、山羊、猫和/或狗；和/或鸟类，包括与商业相关的鸟类，如鸡、鸭、鹅、鹌鹑和/或火鸡。优选的受试者是人。

[0090] 如本文所用，短语“联合施用”是指两种或更多种不同的治疗化合物的任何形式的施用，使得在先前施用的治疗化合物在体内仍然有效的同时施用第二种化合物(例如，两种化合物同时对患者有效，其可包括所述两种化合物的协同效应)。例如，不同的治疗化合物可以在同一制剂中或在分开的制剂中同时或依序施用。在某些实施方案中，不同的治疗化合物可以在一小时、12小时、24小时、36小时、48小时、72小时或一周内施用。

[0091] “共同施用”是指以任何方式施用两种剂，其中两种剂的药理效应同时在患者中显现。因此，共同施用不需要使用单一药物组合物、相同剂型或甚至相同施用途径来施用两种剂或精确地同时施用所述两种剂。然而，在一些情况下，共同施用将最便利地在大体上同时通过相同剂型和相同施用途径来实现。

[0092] 如本文所用，“预防”病症或疾患的治疗剂是指如下化合物，其在统计样品中相对于未治疗的对照样品降低治疗样品中所述病症或疾患的发生，或相对于未治疗的对照样品延迟所述病症或疾患的发作或降低所述病症或疾患的一种或多种症状的严重性。

[0093] 术语“治疗”意指以下一者或多者：减轻、缓解、延迟、减弱、改进或管理受试者的疾患的至少一种症状。术语“治疗”还可意指以下一者或多者：遏制、延迟发作(即，在疾患的临床表现之前的时期)或降低疾患的发展或恶化风险。

[0094] 术语“管理”包括如上文所定义的治疗性治疗。管理包括达到如通过本领域已知的方法所确定的感染的稳态水平。稳态可以包括对以下一者或多者的评估：感染的严重性、感染的大小和位置、感染中存在的不同微生物病原体的数目、抗生素耐受性或抗性微生物病原体的水平、对治疗(如使用本文所公开的BT组合物)的反应程度、生物膜形成和减少的程度以及受试者所经历的副作用。在感染的管理期间，感染可在严重性、感染的量或程度、受试者所经历的副作用的量或其他受试者结果指标方面从增加至减轻波动。在一段时间(如数天、数月或数年)内，可以通过评估上述因素来确定感染的管理程度，以评价感染的临床过程是否已经改进、具抑菌性或已经恶化。在一些实施方案中，管理感染包括成功治疗在其他方面具药物耐受性或耐药性的微生物病原体。

[0095] 术语“减轻感染的严重性”是指在任何可测量的基础上改进感染的临床过程。所述基础可以包括可测量的指标，如降低感染的程度、感染是否被视为急性的、引起感染的微生物病原体的数目和身份、微生物(例如细菌或真菌)生物膜的程度以及受试者所经历的副作用。在一些实施方案中，通过如痰感染计数的降低(例如痰中CFU的降低)的测量来确定减轻感染的严重性。在一些实施方案中，减轻严重性涉及停止结果的稳定下降以实现稳定感染，从而导致受试者进入感染的成功管理。在其他实施方案中，减轻严重性可导致感染的大体

上至完全治疗。在一些实施方案中，减轻严重性是指减轻与疾病或感染相关的恶化(例如，恶化的1%-99%减弱)。在一些实施方案中，减轻严重性可以指肺功能的增加(例如肺功能的1%-99%增加)。

[0096] 如本文所用，术语“恶化”是指在疾病过程中症状严重性的增加，其主要与生活质量的恶化相关。在患有慢性肺病(如CF)的患者中，恶化非常频繁。根据定义，恶化只是症状的恶化和/或加重。

[0097] 在一些实施方案中，减轻感染和/或症状的严重性可以与患者报告的结果(“PROS”)相关。PRO仪器是定义为从患者得出的对受试者的健康状态的任何量度，并且确定患者“对于他或她的健康状况感觉如何或如何发挥作用”。PRO尤其可用于报告CF的结果以及症状的严重性是否已经降低或减轻。此类症状可以是可观察到的事件、行为或感觉(例如，快速行走的能力、食欲不振、愤怒的表情)，或者只有患者已知的不可观察到的结果(例如，疼痛感觉、抑郁感)。

[0098] 如本文所用，“有效量”是指足以实现期望的生物效应的量。如本文所用，“治疗有效量”是指足以实现期望的治疗效应的量。例如，治疗有效量可以指足以改进感染(例如呼吸道感染)的至少一种病征或症状的量。

[0099] 对治疗方法的“反应”可以包括阴性症状的减弱或改善、感染或其症状的进展的减弱、有益症状或临床结果的增加、副作用的减轻、感染的稳定化以及感染的部分或完全补救等。

[0100] “抗生素易感性或敏感性”是指细菌是否将由给定的抗生素成功地治疗。同样，“抗真菌剂易感性或敏感性”是指真菌是否将由给定的抗生素成功地治疗。易感性的测试可以通过本领域已知的方法，如Kirby-Bauer方法、Stokes方法和琼脂稀释方法执行。抗生素杀死细菌或防止细菌繁殖的有效性可以分别地在如晶片、琼脂或肉汤培养物的培养基上生长的细菌的量降低或稳定的区域中观察到。

[0101] “抗微生物剂耐受性”是指微生物(如细菌或真菌)天然地抵抗被抗生素杀死的能力。它不是由突变微生物引起的，而是由以瞬时、休眠、非分裂状态存在的微生物细胞引起的。抗生素或药物耐受性是由微生物细胞中被称作持留菌的一个小的亚群引起的。持留菌不是突变体，而是休眠细胞，它们可以在杀死大多数的其遗传上同一的同胞的抗微生物治疗中幸存下来。持留菌细胞已经进入非生长或极其缓慢生长的生理状态，这使其对抗微生物药物的作用不敏感(难治或耐受)。同样，“抗生素耐受性”是指细菌天然地抵抗被抗生素杀死的能力并且“抗真菌耐受性”是指真菌天然地抵抗被抗生素杀死的能力。

[0102] “抗微生物剂抗性”是指微生物抵抗曾经能够成功地治疗所述微生物的药剂的效应的能力。抵抗多种抗微生物剂的微生物被称作多重耐药性(MDR)。抗性是通过三种机制之一产生的：某些类型的细菌的天然抗性、遗传突变或一种物种从另一物种获得抗性。突变可导致药物失活、药物的结合位点的改变、代谢途径的改变和减弱的药物渗透性。

[0103] 如本文所用，关于本公开的BT组合物，术语“抗细菌活性”、“抗真菌活性”和“抗微生物活性”是指杀死和/或抑制特定微生物的生长或繁殖的能力。在某些实施方案中，通过根据标准技术(例如，在液体培养物中或在琼脂板上)培养细菌，例如革兰氏阳性细菌(例如金黄色葡萄球菌)、革兰氏阴性细菌(例如鲍曼不动杆菌、大肠杆菌和/或铜绿假单胞菌)或未被分类为革兰氏阳性或革兰氏阴性的细菌或真菌，使培养物与本公开的BT组合物接触并

在所述接触之后监测细胞生长来评价抗细菌或抗微生物活性。例如，在液体培养物中，细菌可以生长到代表培养物的指数生长的中点的光密度（“OD”）；使培养物暴露于一种或多种浓度的一种或多种本公开的BT化合物或其变体，并且相对于对照培养物监测OD。相对于对照培养物减少的OD代表抗细菌活性（例如，展现溶解杀死活性）。同样，可以允许细菌菌落形成于琼脂板上，使所述板暴露于本公开的BT组合物或其变体，并且与对照平板相关评估菌落的后续生长。减少的菌落大小或减少的菌落总数指示抗细菌活性。

[0104] “生物膜”是指微生物的任何互养联合体，其中细胞彼此粘着，并且通常也粘着于表面。这些粘附细胞被埋入由细胞外聚合物（EPS）构成的粘稠细胞外基质中。在生物膜形成后，微生物对抗生素的抗性与浮游细菌的抗性相比大高达1000倍。细菌聚集体是横向排列的细胞簇，可以启动生物膜发育，具有更复杂并且更密集的3-D结构。在一些实施方案中，生物膜可以包含一个或多个种的细菌（例如，铜绿假单胞菌和金黄色葡萄球菌）和/或一个或多个不同的门（例如，细菌、病毒和真菌）。

[0105] 如本文所用，对细菌或真菌病原体的论述也涵盖任何有助于肺部病理状态的微生物（细菌和/或真菌）。这包括已识别的微生物和未识别的微生物两者，并且还可以包括不是病原体的细菌或真菌，但它们仅促进病原体和其生物膜的活性和存在。举例来说，针对细菌或真菌病原体的浮游细胞的细胞活力或细胞生长的抑制的实施方案还扩展至细菌和/或真菌微生物的浮游细胞的细胞活力或细胞生长的抑制，所述细菌和/或真菌微生物仅促进病原体和其生物膜的活性和存在。

[0106] 如本文所用，“气道表面”和“肺表面”包括肺气道表面，如支气管和细支气管、肺泡表面以及鼻和窦表面。

[0107] 如本文所用，“生理盐水”是指包含水中的氯化钠、由水中的氯化钠组成或基本上由水中的氯化钠组成的溶液。生理盐水可以是高渗的、等渗的或低渗的。在一些实施方案中，生理盐水可以包含按重量计约0.1％至约40％或其中任何范围（如但不限于按重量计约0.1％至约10％、约0.5％至约15％、约1％至约20％、约5％至约25％、约10％至约40％或约15％至约35％（以mg/100mL计））的量的氯化钠。在某些实施方案中，溶液中包括的氯化钠的量为按重量计约0.1％、0.2％、0.3％、0.4％、0.5％、0.6％、0.7％、0.8％、0.9％、1％、2％、3％、4％、5％、6％、7％、8％、9％、10％、11％、12％、13％、14％、15％、16％、17％、18％、19％、20％、21％、22％、23％、24％、25％、26％、27％、28％、29％、30％、31％、32％、33％、34％、35％、36％、37％、38％、39％、40％（以mg/100mL计）或其中任何范围。

[0108] 如本文所用，“高渗生理盐水”是指包含水中的超过0.9wt％氯化钠、由水中的超过0.9wt％氯化钠组成或基本上由水中的超过0.9wt％氯化钠组成的溶液。通常，溶液中包括的氯化钠的量为按重量计约0.9％至约40％或其中任何范围，如但不限于按重量计1％至约15％、约5％至约20％、约5％至约25％、约10％至约40％或约15％至约35％。在某些实施方案中，溶液中包括的氯化钠的量为按重量计约0.9％、1％、2％、3％、4％、5％、6％、7％、8％、9％、10％、11％、12％、13％、14％、15％、16％、17％、18％、19％、20％、21％、22％、23％、24％、25％、26％、27％、28％、29％、30％、31％、32％、33％、34％、35％、36％、37％、38％、39％、40％或其中任何范围。

[0109] 如本文所用，“低渗生理盐水”是指包含水中的低于0.9wt％氯化钠、由水中的低于0.9wt％氯化钠组成或基本上由水中的低于0.9wt％氯化钠组成的溶液。在一些实施方案

中，溶液中包括的氯化钠的量为按重量计为约0.9％、0.8％、0.7％、0.6％、0.5％、0.4％、0.3％、0.2％、0.1％或其中任何范围。

[0110] 如本文所用，“等渗生理盐水”是指包含水中的0.9wt％氯化钠、由水中的0.9wt％氯化钠组成或基本上由水中的0.9wt％氯化钠组成的溶液。

[0111] 根据一些实施方案，生理盐水(例如高渗生理盐水)可以包括赋形剂。赋形剂可以是药学上可接受的赋形剂。如本文所用，“药学上可接受的”意指化合物或组合物适合施用于受试者以实现本文所述的治疗，鉴于疾病的严重性和治疗的必要性而无过度有害的副作用。示例性赋形剂包括但不限于缓冲液和/或缓冲剂(例如阴离子、阳离子、有机化合物、盐等)。示例性缓冲液包括但不限于基于碳酸/碳酸盐/碳酸氢盐的缓冲液、基于邻苯二甲酸氢二钠/正磷酸二氢钠的缓冲液、基于三(羟基甲基)氨基甲烷/盐酸的缓冲液、基于巴比妥钠/盐酸的缓冲液和其任何组合。示例性缓冲剂包括但不限于碳酸、碳酸盐、碳酸氢盐、邻苯二甲酸氢二钠、正磷酸二氢钠、三(羟基甲基)氨基甲烷、盐酸、巴比妥钠、溶解CO_2(例如，在大于6.6的pH下配制的CO_2)和其任何组合。在某些实施方案中，生理盐水包含碳酸氢盐缓冲剂赋形剂，如碳酸氢根阴离子(HCO_3)。在一些实施方案中，高渗生理盐水可以包括碳酸氢钠、碳酸钠、碳酸和/或在大于6.5的pH下配制的溶解CO_2。如下文进一步论述，视所治疗的特定疾患而定，可以根据需要包括额外成分。

[0112] 如本文所用，术语气溶胶的“体积中值直径”或“VMD”是经过鉴别的粒径直径，使得气溶胶颗粒的一半质量含于直径大于VMD的颗粒中，并且气溶胶颗粒的一半质量含于直径小于VMD的颗粒中。VMD通常通过激光衍射测量。

[0113] “质量中值空气动力学直径”或“MMAD”是对分散的气溶胶颗粒的空气动力学大小的量度。空气动力学直径是用于根据颗粒的沉降行为来描述雾化颗粒，并且是与所讨论的颗粒具有相同沉降速度(通常在空气中)的单位密度球体的直径。空气动力学直径涵盖颗粒的颗粒形状、密度和物理大小。如本文所用，MMAD是指通过级联冲击和/或激光飞行时间和/或级联冲击器确定的雾化颗粒的空气动力学粒径分布的中点或中值。

[0114] “质量中值直径”或“MMD”是平均粒径的量度。可以使用许多常用的技术来测量平均粒径。

[0115] 如本文所用，“D90”是指颗粒直径(微粒或雾化颗粒)的90％值。例如，如果D90＝1μm，那么90％的颗粒小于1μm。同样，“D80”是指颗粒直径(微粒或雾化颗粒)的80％值，“D70”是指颗粒直径(微粒或雾化颗粒)的70％值，“D60”是指颗粒直径(微粒或雾化颗粒)的60％值，“D50”是指颗粒直径(微粒或雾化颗粒)的50％值，“D40”是指颗粒直径(微粒或雾化颗粒)的40％值，“D30”是指颗粒直径(微粒或雾化颗粒)的30％值，“D20”是指颗粒直径(微粒或雾化颗粒)的20％值，“D10”是指颗粒直径(微粒或雾化颗粒)的10％值。

[0116] 如本文所用，“单分散”是指包含大体上均一MMD和/或MMAD和/或VMD的颗粒的颗粒集合(大块或气溶胶分散体)。

[0117] 如本文所用，术语“沉积效率”是指递送剂量中沉积于感兴趣区域中的百分率。因此，用于将雾化药剂递送至肺中的方法和/或系统的沉积效率是沉积于肺中的气溶胶以质量计的量除以由所述系统递送至鼻孔的气溶胶的总量。

[0118] 如本文所用，“大体上(substantially)”或“大体上的(substantial)”是指动作、特征、性质、状态、结构、项目或结果的完全或接近完全范围或程度。例如，“大体上”封闭的

对象将意味所述对象被完全封闭或接近完全封闭。在一些情况下，偏离绝对完全性的精确允许度可以取决于具体情形。然而，一般说来，接近完全将使得具有的总体结果就如同获得绝对和总体完全一般。当以否定含义使用时，“大体上”的使用同样适用于指动作、特征、性质、状态、结构、项目或结果的完全或几乎完全缺乏。例如，“大体上不含”其他活性剂的组合物将完全缺乏其他活性剂，或几乎完全缺乏其他活性剂，其效果将如同其完全缺乏其他活性剂一般。换句话说，“大体上不含”一种成分或元素或另一活性剂的组合物仍可含有此类项目，只要其没有可测量的效果。

[0119] 使用方法

[0120] 囊性纤维化(CF)是一种常染色体隐性病症，由cAMP激活的质膜氯离子通道，即囊性纤维化跨膜传导调节因子(CFTR)的功能缺陷引起，所述功能缺陷导致肺部和其他并发症。

[0121] 在囊性纤维化患者中，CFTR的缺乏或功能障碍导致外分泌腺功能障碍和多系统疾病，其特征在于胰腺功能不全和吸收不良，以及肺部粘膜纤毛清除异常、粘液滞积、慢性肺部感染和发炎、肺功能减弱和最终呼吸衰竭。

[0122] 质膜处功能性CFTR通道的损失会破坏离子稳态和气道表面水合作用，从而导致肺功能降低。降低的纤毛周围液体体积和增加的粘液粘度妨碍粘膜纤毛清除，从而导致慢性感染和发炎。

[0123] 在健康个体中，肺细菌的清除依赖于两个解剖特征的协同作用：(i)气道上皮的有纤毛顶端表面和(ii)衬着气道腔的粘液层。气道纤毛同步摆动，从而产生稳定电流，所述电流使粘液层不断地向上朝着鼻咽移动。所述粘液层是双相的，由用于捕集微粒和微生物的上部粘性层和

[0124] 其中有纤毛摆动的下部更具流动性层组成。当正常运行时，这一清除系统在粘液中捕集异物并且随后将其携带至鼻咽，

[0125] 在鼻咽中所述异物被咳出和吞咽。

[0126] 然而，由于突变CFTR蛋白引起的离子失衡而导致的CF气道细胞的异常分泌特征会改变气道流体的粘度，使得正常浆液性“纤毛周围”层变厚，从而抑制清除异物的自动扶梯作用。细菌在粘液中被捕集并导致肺部持续感染。

[0127] CF患者常规地通过咳嗽从肺部产生痰，其他设计成从肺部释放粘液的物理疗法进行辅助。从CF痰中分离出的许多生物是通常在上呼吸道(例如，不可分型流感嗜血杆菌)或鼻子(例如，金黄色葡萄球菌)中良性定殖的病原体，或者是仅在某些机会主义情况下充当病原体的常见环境生物(例如铜绿假单胞菌)。不同的细菌和肺部感染水平可以决定CF患者的症状和结果。例如，金黄色葡萄球菌的存在和铜绿假单胞菌的缺乏预示了18岁以后CF患者的长期存活。另外，由于抑制金黄色葡萄球菌感染而增加铜绿假单胞菌定殖的潜力可能与一些患者相关。

[0128] 在可以定殖于CF患者的肺中的所有细菌中，慢性铜绿假单胞菌气道感染和伴随的发炎反应是现今CF患者的主要临床问题。

[0129] 虽然抗生素化学疗法和化学预防已经降低CF患者因这种感染所致的发病率和早期死亡率，但铜绿假单胞菌对许多常用抗生素发展抗性的固有能力

[0130] 可能导致无法从CF患者的肺中根除铜绿假单胞菌，并且最终使这种微生物对这些

患者造成严重问题。

[0131] CF患者可以随时在其呼吸道中感染铜绿假单胞菌，大多数研究指示，70至80％CF患者在其少年时代受到感染。铜绿假单胞菌感染可能最初发生在生命的前3年内。在慢性感染发作后，患者经历偶尔发生的恶化，所述恶化可从抗生素化学疗法中受益。感染可能是社会交往引起的，或者可能是医院获得性的，但从CF患者分离的铜绿假单胞菌克隆的多样性表明，大多数临床分离株源自环境。长期受铜绿假单胞菌感染的CF患者显示与无铜绿假单胞菌的患者相比，较陡的肺功能下降(表述为第1秒用力呼气量(FEV1)随时间下降)、较多次肺恶化、较多次住院和较高死亡率。如果早期发展慢性感染，那么铜绿假单胞菌的影响更严重。

[0132] 铜绿假单胞菌感染可以随时间变化，从而发展类粘蛋白表型，所述表型可以启动囊性纤维化的慢性感染阶段。所述类粘蛋白表型是由于细菌产生被称作褐藻酸盐和类粘蛋白外多糖(MEP)两者的多糖而产生的并且在细菌逃避宿主免疫反应中发挥重要作用。面对宿主免疫效应子，所述MEP/褐藻酸盐本身能够促进细菌存活。铜绿假单胞菌过度产生褐藻酸盐导致肺功能显著恶化的发作。另外，铜绿假单胞菌可以作为生物膜生长，所述生物膜增加吞噬作用和抗生素功效的细菌抗性。

[0133] 细菌生物膜是彼此粘附的细胞的基质并且通常是表面，如肺粘膜。细菌细胞被埋入由细胞外聚合物质(如多糖、蛋白质、脂质和DNA)形成的细胞外基质内。生物膜细菌细胞在生理上不同于浮游细胞，在浮游细胞中大量基因受到差异性调节。鉴于由所述基质提供的遮蔽物，生物膜也可以对抗生素更具抵抗力。CF患者的肺中存在的铜绿假单胞菌和其他细菌的生物膜增加了成功感染管理和减少的难度。形成含有铜绿假单胞菌的多菌种生物膜的CF相关细菌的组合已经证实与相当的单菌种生物膜相比，较大的抗性、毒力和致病性。在CF患者的肺中存在此类复杂生物膜被视为引起这些肺部感染的慢性、持久性的主要原因，这些肺部感染不仅导致慢性、持续和进行性发病，而且还最终导致这一群体的死亡率。

[0134] 除了铜绿假单胞菌以外，在CF患者的肺中通常发现的其他病原体包括但不限于流感嗜血杆菌、金黄色葡萄球菌、沃氏葡萄球菌、路邓葡萄球菌、表皮葡萄球菌、米氏/咽峡炎链球菌、化脓性链球菌、非结核分枝杆菌、结核分枝杆菌、伯克霍尔德菌属、木糖氧化无色杆菌、痰潘多拉菌、嗜麦芽窄食单胞菌、木糖氧化产碱菌、皮氏嗜血杆菌、粘质沙雷氏菌、白色念珠菌、耐药性白色念珠菌、光滑念珠菌、克鲁斯念珠菌、季也蒙念珠菌、耳念珠菌、热带念珠菌、黑曲霉、土曲霉、烟曲霉、黄曲霉、摩氏摩根菌、粘泥异地菌(Inquilinus limosus)、解甘露醇罗尔斯通氏菌、不可靠潘多拉菌(Pandoraea apista)、肺炎潘多拉菌、痰潘多拉菌、噬菌蛭弧菌、支气管败血性博德特菌、噬小球藻吸血弧菌、鲍曼不动杆菌(Actinobacter baumanni)、耐金属贪铜菌(Cupriadidus metallidurans)、偶发贪铜菌(Cupriavidus pauculus)、呼吸系统贪铜菌(Cupriavidus respiraculi)、食酸代尔夫特菌(Delftia acidivordans)、皮炎外瓶霉(Exophilia dermatitidis)、弗里辛恩斯草螺菌(Herbaspirillum frisingense)、织片草螺菌、肺炎克雷白杆菌、纽伦堡潘多拉菌(Pandoraea norimbergensis)、居肺潘多拉菌(Pandoraea pulmonicola)、门多萨假单胞菌、类产碱假单胞菌(Pseudomonas pseudoalcaligenes)、恶臭假单胞菌、施氏假单胞菌、危险罗尔斯通氏菌、皮氏罗尔斯通氏菌、淋病奈瑟菌、NDM-1阳性大肠杆菌、阴沟肠杆菌(Enterobacter cloaca)、万古霉素抗性屎肠球菌、万古霉素抗性粪肠球菌、屎肠球菌、粪肠

球菌、克林霉素抗性无乳链球菌、无乳链球菌、脆弱拟杆菌、艰难梭菌、肺炎链球菌(Streptococcus pneumonia)、卡他莫拉菌、溶血性嗜血杆菌、副流感嗜血杆菌、肺炎嗜衣原体(Chlamydophilia pneumoniae)、肺炎支原体、奇异菌属、鞘氨醇单胞菌属、螺旋体菌门、纤毛菌属、二氧化碳嗜纤维菌属(Capnocytophaga)、奥里杆菌属(Oribacterium)、水小杆菌属(Aquabacterium)、毛绒厌氧杆菌属、弯曲杆菌属、不动杆菌属、农杆菌属、博德特菌属、短波单胞菌属、金黄杆菌属、代尔夫特菌属、肠杆菌属、克雷白杆菌属、潘多拉菌属、假单胞菌属、罗尔斯通氏菌属和普雷沃菌属。

[0135] 示例性非结核分枝杆菌包括但不限于脓肿分枝杆菌、鸟分枝杆菌、细胞内分枝杆菌、偶发分枝杆菌、戈氏分枝杆菌、堪萨斯分枝杆菌、鸟分枝杆菌复合群(MAC)、脓肿分枝杆菌复合群(MABSC)海洋分枝杆菌、地分枝杆菌和龟分枝杆菌(Mycobacterium cheloni)。

[0136] 伯克霍尔德菌的示例性菌种包括但不限于洋葱伯克霍尔德菌、多噬伯克霍尔德菌(Burkholderia multivorans)、新洋葱伯克霍尔德菌(Burkholderia cenocepacia)、稳定伯克霍尔德菌(Burkholderia stabilis)、越南伯克霍尔德菌(Burkholderia viemamiensis)、多罗萨伯克霍尔德菌(Burkholderia dolosa)、阿姆毕伯克霍尔德菌(Burkholderia ambifaria)、安替那伯克霍尔德菌(Burkholderia anthina)、吡咯伯克霍尔德菌(Burkholderia pyrrocinia)、唐菖蒲伯克霍尔德菌(Burkholderia gladioli)、优博伯克霍尔德菌(Burkholderia ubonensis)、阿波利伯克霍尔德菌(Burkholderia arboris)、拉特斯伯克霍尔德菌(Burkholderia latens)、拉塔伯克霍尔德菌(Burkholderia lata)、金属伯克霍尔德菌(Burkholderia metallica)、精液伯克霍尔德菌(Burkholderia seminalis)、污染伯克霍尔德菌(Burkholderia contaminans)和弥漫性伯克霍尔德菌(Burkholderia diffusa)。

[0137] 在一些实施方案中,细菌病原体选自铜绿假单胞菌、多重耐药性铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌、多重耐药性金黄色葡萄球菌、甲氧西林抗性金黄色葡萄球菌、脓肿分枝杆菌、鸟分枝杆菌、洋葱伯克霍尔德菌、多噬伯克霍尔德菌、新洋葱伯克霍尔德菌、多罗萨伯克霍尔德菌、木糖氧化无色杆菌、嗜麦芽窄食单胞菌表皮葡萄球菌和越南伯克霍尔德菌。在某些实施方案中,细菌病原体选自流感嗜血杆菌、铜绿假单胞菌和金黄色葡萄球菌。在某些实施方案中,细菌病原体选自铜绿假单胞菌、新洋葱伯克霍尔德菌、洋葱伯克霍尔德菌复合群、脓肿分枝杆菌、鸟分枝杆菌、无色杆菌属、表皮葡萄球菌、嗜麦芽窄食单胞菌和金黄色葡萄球菌的生物膜。

[0138] 在一些实施方案中,细菌病原体展现对一种或多种抗生素的抗性。甲氧西林抗性金黄色葡萄球菌(MRSA)是单一抗性菌株的一个实例,它难以在CF患者和整个人群中进行治疗,而甚至更具挑战性的多重耐药性(MDR)菌株可以在如铜绿假单胞菌和金黄色葡萄球菌的细菌中发生。例如,细菌病原体可以对已知的抗生素护理标准(包括但不限于阿米卡星、氨曲南、甲氧西林、万古霉素、萘夫西林、庆大霉素、氨苄西林、氯霉素、强力霉素和妥布霉素)具有抗性。在一些实施方案中,抗性抗生素是阿米卡星、氨曲南或妥布霉素。

[0139] 长期、重复用抗生素治疗CF相关感染的治疗通常导致发展抗生素抗性,其特征在于微生物生物膜的存在。最近的研究已经重复地证实了多重耐药性(MDR)细菌与更强、更多产的生物膜形成能力之间的相关性。肺中介入的生物膜被视为高度免疫原性的,加速了肺的结构损伤。此外,还保护生物膜内的细菌不受抗生素影响,这增加了此类抗生素的最低抑

制浓度。生物膜倾向于通过呼吸道粘膜的pH变化并且通过β-内酰胺酶的产生来降低氨基糖苷和β-内酰胺抗生素的抗微生物活性。生物膜形成细菌介入CF中导致肺功能减弱和生活质量降低、对抗生素疗法的反应减弱、恶化加重以及随时间降低的存活。

[0140] 在一些实施方案中，所述BT组合物通过使用气溶胶装置(如喷雾器)经口或经鼻吸入来施用。喷雾器可将BT组合物经局部施用于肺组织，所述肺组织可包括肺粘膜、肺泡(例如深肺肺泡)、支气管和/或细支气管。因此，在一些实施方案中，本公开允许将所述BT组合物施用于肺的深肺区(例如，深肺肺泡)。与全身抗生素疗法相比，所述BT组合物的局部局部施用提供数项关键优势。术语“全身”是指将药剂施用至受试者的循环系统中，使得可以暴露整个身体的大部分。药剂的全身施用可以肠内(通过胃肠道吸收，例如经口施用)或肠胃外(通过注射或输注吸收，例如静脉内)发生。

[0141] 全身性抗感染产品在治疗局部感染方面具有数项缺点，包括：(a)在局部感染位点难以达到治疗有效浓度，特别是在与表面位置相关的感染(如肺气道)的情况下，(b)经常对通过全身循环暴露的器官系统造成意想不到的毒性影响，和(c)由于身体的正常菌群广泛暴露于抗感染剂，抗生素抗性细菌的产生增加，(d)由于整个身体的正常菌群补充的长期持续/重复暴露，导致此类抗生素抗性细菌更有可能传播给其他人，和(e)由于广泛的全身暴露，健康的正常菌群在整个身体中的有益影响的保持降低。

[0142] 在图11中，描绘经口和肺部给药的药物的血浆浓度。经口给药(A)可以产生高血浆浓度，所述浓度可以引起毒性和不同的患者间暴露(可变的吸收和可变的首过、肝清除)或药物-药物相互作用。高血浆暴露是实现肺部治疗性暴露所必需的。相反，用于表面肺适应症的吸入给药需要较低的总剂量来实现有效MIC，从而显著减少全身暴露。吸入给药(B)在长期内实现较高的肺部局部浓度，所述浓度显著超过所述药物的MIC。由于高浓度的药物直接递送至肺部，在吸入后实现的肺浓度可以极大地超过通过经口给药实现的那些。根据使用吸入性抗生素的先前经验，吸入后的肺部药物浓度比相同剂量的全身/经口施用后高＞100倍。

[0143] 在一些实施方案中，受试者的以下症状(例如，囊性纤维化相关的症状)中的一者或多者的严重性有所减轻：咳嗽、喘息、呼吸困难、支气管扩张、鼻息肉、咯血、呼吸衰竭和肺恶化。其他非囊性纤维化相关的感染的严重性也可以减轻。图11证实吸入性抗生素对全身递送的抗生素的副作用严重性和功效的差异。因此，与全身施用的相应制剂相比，本文所公开的BT组合物的吸入制剂提供更有针对性并且更有效的抗生素治疗。

[0144] BT化合物是已知的广谱抗微生物(和抗生物膜)小分子药物产品，用于治疗继发于CF的慢性、最终威胁生命的肺部感染。其功效扩展至革兰氏阳性、抗生素抗性病原体，包括甲氧西林抗性金黄色葡萄球菌(MRSA，包括社区相关的[CA]-MRSA)、甲氧西林抗性表皮葡萄球菌(MRSE)和万古霉素抗性肠球菌(VRE)。BT化合物还有效抵抗多重耐药性(MDR)革兰氏阴性病原体，包括铜绿假单胞菌、大肠杆菌、肺炎克雷白杆菌(在所有上述细菌中，包括碳青霉烯抗性菌株)和鲍曼不动杆菌。

[0145] BT化合物具有克服以下两者的双重能力：a)多种多样的抗生素抗性谱(由于在整个肺气道中的许多不同解剖区中的持久性、时间和分离所驱动的进化/多样化)，和b)抗生素抗性和MDR生物膜。

[0146] 本文公开治疗、管理受试者的囊性纤维化(CF)症状和感染或减轻受试者的囊性纤

维化(CF)症状和感染的严重性的方法,所述方法包括向受试者施用包含至少一种BT化合物的铋-硫醇(BT)组合物。本文还公开治疗、管理与受试者的一种或多种肺部疾病或感染(包括非CF相关疾病)相关的症状和感染或减轻与受试者的一种或多种肺部疾病或感染(包括非CF相关疾病)相关的症状和感染的严重性的方法,所述方法包括向受试者施用包含至少一种BT化合物的铋-硫醇(BT)组合物。在一些实施方案中,受试者患有至少一种肺部感染,如CF相关的肺部感染。在其他实施方案中,受试者患有至少两种肺部感染并且所述感染是并行的或依序的。肺部感染可能是由同一微生物病原体引起的并且位于两个不同的肺或肺叶中。在其他实施方式中,肺部感染可能是由不同的微生物病原体引起的并且位于同一肺或肺叶中。在一些实施方案中,肺部感染是在一个肺中,而在其他实施方案中,它在两个肺中都存在。在某些实施方案中,肺部感染是在右肺的三个肺叶中的一个或多个中。在其他实施方案中,肺部感染是在左肺的两个肺叶中的一个或两个中。一种或多种微生物病原体、微生物病原体的量和肺部感染位置的任何组合均涵盖于术语“肺部感染”内。在一些实施方案中,肺部感染是支气管扩张感染、肺炎、谷热、过敏性支气管肺曲霉病(ABPA)、呼吸机获得性肺炎、医院获得性肺炎、社区获得性肺炎、呼吸机相关的气管支气管炎、下呼吸道感染、非结核分枝杆菌、炭疽、军团病、百日咳、支气管炎、细支气管炎、COPD相关感染和肺移植后。在一些实施方案中,肺部感染是支气管扩张感染。

[0147] 在一些实施方案中,肺部感染含有一种或多种细菌或真菌病原体。在一些实施方案中,所公开的方法包括治疗CF相关的肺部感染。在一些实施方案中,所公开的方法包括管理CF相关的肺部感染。在一些实施方案中,所公开的方法包括减轻CF相关的肺部感染的严重性。

[0148] 在一些实施方案中,本发明的方法可以包括通过向受试者施用包含至少一种BT化合物的铋-硫醇(BT)组合物来治疗、管理与受试者的一种或多种肺部疾病或感染相关的症状和感染或减轻与受试者的一种或多种肺部疾病或感染相关的症状和感染的严重性。在一个具体实施方案中,所述化合物是BisEDT。

[0149] 在某些实施方案中,肺部感染位于肺粘膜、支气管和/或细支气管之中或之上。在其他实施方案中,肺部感染位于细菌生物膜、聚集的细菌、真菌生物膜或聚集的真菌的表面上或内部。在一些实施方案中,肺部感染位于痰中,其中肺部感染介入并且至少部分地存在于与肺相关的粘液/痰层中。在某些实施方案中,所述细菌病原体包含革兰氏阳性细菌和革兰氏阴性细菌中的一种或多种。所述细菌病原体可以包含细菌生物膜和浮游细菌中的一种或多种。在一些实施方案中,所述真菌病原体包含真菌生物膜和浮游真菌中的一种或多种。在某些实施方案中,所述真菌病原体是白色念珠菌、耐药性白色念珠菌、光滑念珠菌、克鲁斯念珠菌、季也蒙念珠菌、耳念珠菌、热带念珠菌、黑曲霉、土曲霉、烟曲霉和/或黄曲霉。

[0150] 在一些实施方案中,所述方法包括以下至少一者:(i)减少微生物(例如细菌或真菌)生物膜,(ii)削弱微生物(例如细菌或真菌)生物膜的生长,和(iii)防止微生物(例如细菌或真菌)生物膜的再形成。在其他实施方案中,所述BT组合物通过以下一者或多者来治疗、管理肺部感染或减轻肺部感染的严重性:

[0151] -防止细菌或真菌病原体的感染;-防止由细菌或真菌病原体加工或分泌外毒素;

[0152] -减少细菌或真菌病原体(例如,如通过量或滴度所量度);

[0153] -抑制细菌或真菌病原体的浮游细胞(例如大体上所有细胞)的细胞活力或细胞生

长；

[0154] -抑制细菌或真菌病原体形成生物膜；

[0155] -抑制细菌或真菌病原体的生物膜形成细胞(例如大体上所有细胞)的生物膜活力或生物膜生长；和

[0156] -降低痰的粘度。

[0157] 在一些实施方案中，所述铋-硫醇组合物包含多个包含铋-硫醇(BT)化合物的微粒，大体上所有的所述微粒均具有约0.4μm至约5μm的体积平均直径，并且其中所述BT化合物包含铋或铋盐和含硫醇化合物。在一些实施方案中，所述铋盐是硝酸铋、次硝酸铋或氯化铋。在一些实施方案中，所述含硫醇化合物包含选自1,2-乙二硫醇、2,3-二巯基丙醇、羟基吡啶硫酮、二硫赤藓糖醇、3,4二巯基甲苯、2,3-丁二硫醇、1,3-丙二硫醇、2-羟基丙硫醇、1-巯基-2-丙醇、二硫赤藓糖醇、二硫苏糖醇、半胱胺和α-硫辛酸的一种或多种剂。在一些实施方案中，至少60％、65％、70、75％、80％、90％或95％的所述微粒具有约0.4μm至约3μm、或约0.5μm至约2μm、或约0.7μm至约2μm、或约0.8μm至约1.8μm、或约0.8μm至约1.6μm、或约0.9μm至约1.4μm、或约1.0μm至约2.0μm、或约1.0μm至约1.8μm或在上述具体范围之间的任何狭窄范围的体积平均直径。

[0158] 在目前所公开的方法的一些实施方案中，至少60％、65％、70、75％、80％、90％或95％的所述微粒具有约0.6μm至约2.5μm的体积平均直径。在一些实施方案中，大体上所有的所述微粒均具有约0.6μm至约2.5μm的VMD。在一些实施方案中，至少70％的雾化颗粒具有约0.9μm至约3μm的MMAD。在一些实施方案中，所述组合物是具有约0.6μm至约2.5μm的体积平均直径(VMD)和/或约0.9μm至约3μm的质量中值空气动力学直径(MMAD)的微粒的悬浮液。在一些实施方案中，所述铋-硫醇组合物包含多个包含铋-硫醇(BT)化合物的微粒，大体上所有的所述微粒均具有约0.4μm至约5μm的体积平均直径，并且其中所述BT化合物包含铋或铋盐和含硫醇化合物。

[0159] 在一些实施方案中，所述BT组合物包含选自以下的一种或多种BT化合物：

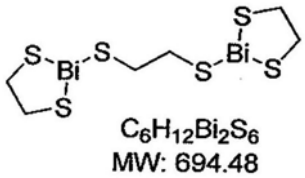
[0160]

铋-2,3-二巯基丙醇(2∶3摩尔比，BisBAL)
铋-二硫赤藓糖醇(2∶3摩尔比，BisERY)
铋-4-甲基-1,2-苯二硫醇(2∶3摩尔比，BisTOL)
铋-2,3-丁二硫醇(BisBDT)
铋-2,3-丁二硫醇，2-巯基吡啶N-氧化物(2∶1∶2摩尔比，BisBDT/PYR)
铋-2,3-二巯基丙醇，2-巯基吡啶N-氧化物(2∶1∶2摩尔比，BisBAL/PYR)
铋-1,2-乙二硫醇，2-巯基吡啶N-氧化物(2∶1∶2摩尔比，BisEDT/PYR)
铋-4-甲基-1,2-苯二硫醇，2-巯基吡啶N-氧化物(2∶1∶2摩尔比，BisTOL/PYR)
铋-1,3-丙二硫醇，2-巯基吡啶N-氧化物(2∶1∶2摩尔比，BisPDT/PYR)
铋-二硫赤藓糖醇，2-巯基吡啶N-氧化物(2∶1∶2摩尔比，BisERY/PYR)
铋-1-巯基-2-丙醇，1,2-乙二硫醇(1∶1∶1摩尔比，BisHPT/EDT)
铋与乙二硫醇和2-巯基苯并咪唑(BisEDT/2MBI(1∶1))
铋与乙二硫醇和2-巯基嘧啶(BisEDT/SPN(2MPMD)(1∶1))
铋与乙二硫醇和3-巯基-1,2,4-三唑(BisEDT/3MTZ(1∶1))
铋与乙二硫醇和1-丙硫醇(BisEDT/PT(1∶1))

铋与乙二硫醇和半胱胺(BisEDT/CSTMN(1∶1))
铋与乙二硫醇和3-巯基丙酸(BisEDT/3MPA(1∶1))
铋与硫辛酸(经还原)(BisALA(BisLipo)(1∶1.5))
铋与2-巯基吡啶N-氧化物和2-巯基苯并咪唑(BisPYR/2MBI(1∶1))
铋与2-巯基吡啶N-氧化物和半胱胺(BisPYR/CSTMN(1∶1))
铋与2,3-二巯基-1-丙醇和2-巯基苯并咪唑(BisBAL/2MBI(1∶1))
铋与2,3-二巯基-1-丙醇和半胱胺(BisBAL/CSTMN(1∶1))
铋与3,4二巯基甲苯和2-巯基苯并咪唑(BisTOL/2MBI(1∶1))
铋与3,4二巯基甲苯和半胱胺(BisTOL/CSTMN(1∶1))
铋与2-巯基吡啶(BisEDT/MPYR)

[0161] 在一些实施方案中,所述BT组合物包含选自Bis-BAL、Bis-EDT、Bis-二巯基丙醇、Bis-DTT、Bis-2-巯基乙醇、Bis-DTE、Bis-Pyr、Bis-Ery、Bis-Tol、Bis-BDT、Bis-PDT、Bis-Pyr/Bal、Bis-Pyr/BDT、Bi-sPyr/EDT、Bis-Pyr/PDT、Bis-Pyr/Tol、Bis-Pyr/Ery、铋-1-巯基-2-丙醇和Bis-EDT/2-羟基-1-丙硫醇的一种或多种BT化合物。在其他实施方案中,所述BT化合物选自Bis-EDT、Bis-Bal、Bis-Pyr、Bis-Ery、Bis-Tol、Bis-BDT或Bis-EDT/2-羟基-1-丙硫醇中的一者或多者。如本文所用,MB-1B3(或MB-1-B3)是指BisEDT;MB-6是指BisBDT;MB-8-2是指BisBDT/PYR;并且MB-11是指BisEDT/PYR。

[0162] 在一些实施方案中,所述铋硫醇化合物是BisEDT,其具有以下结构:

[0163] 

[0164] 组合治疗

[0165] 在某些实施方案中,本文所公开的化合物可以单独使用或与另一类型的治疗剂联合施用。如本文所用,短语“联合施用”是指两种或更多种不同的治疗化合物的任何形式的施用,使得在先前施用的治疗化合物在体内仍然有效的同时施用第二种化合物(例如,两种化合物同时对受试者有效)。例如,不同的治疗化合物可以在同一制剂中或在分开的制剂中同时或依序施用。在某些实施方案中,不同的治疗化合物可以在彼此间隔一小时、12小时、24小时、36小时、48小时、72小时或一周内施用。因此,接受此类治疗的受试者可以受益于不同的治疗化合物的组合效应。

[0166] 在某些实施方案中,相对于本公开化合物或一种或多种额外治疗剂的每次单独施用,本公开化合物与一种或多种额外治疗剂的联合施用提供改进的功效。在某些此类实施方案中,联合施用提供相加效应或协同效应,其中相加效应是指单独施用本公开化合物和一种或多种额外治疗剂的每一效应的总和。在一些实施方案中,受试者接受针对另一疾病、病症或疾患的疗法的联合施用。在一些实施方案中,所述另一疗法是CFTR调节剂或支气管扩张剂。

[0167] 在一些实施方案中,本公开方法包括向受试者共同施用或联合施用选自阿米卡星、妥布霉素、庆大霉素、哌拉西林、美洛西林、替卡西林、亚胺培南、环丙沙星、头孢他啶、氨曲南、替卡西林-克拉维酸、双氯西林、阿莫西林、替卡西林-克拉维酸、甲氧苄啶-磺胺甲噁

唑、头孢氨苄、哌拉西林-他佐巴坦、利奈唑胺、达托霉素、万古霉素、甲硝唑、克林霉素、粘菌素、四环素、左氧氟沙星、阿莫西林和克拉维酸(Augmentin®)、氯唑西林、双氯西林、头孢地尼、头孢丙烯、头孢克洛、头孢呋辛、红霉素/磺胺异噁唑、红霉素、克拉霉素、阿奇霉素、强力霉素、米诺环素、替加环素、亚胺培南、美罗培南、甲磺酸粘菌素/粘菌素®、甲氧西林、苯唑西林、萘夫西林、羧苄西林、阿洛西林、哌拉西林和他唑巴坦(Zosyn®)、头孢吡肟、乙胺丁醇、利福平和美罗培南的抗生素。在一些实施方案中，所述抗生素选自美罗培南、头孢他啶、妥布霉素、阿米卡星、氨曲南、环丙沙星、粘菌素和左氧氟沙星。

[0168] 在本公开的某些实施方案中，可以与本公开化合物(如铋-硫醇化合物)联合施用的治疗剂包括已知的抗生素。在一些实施方案中，所述抗生素选自甲氧西林、万古霉素、萘夫西林、庆大霉素、氨苄西林、氯霉素、强力霉素、粘菌素阿米卡星、氨曲南和妥布霉素。在一些实施方案中，所述抗生素选自妥布霉素、亚胺培南、四环素和米诺环素。在一些实施方案中，所述抗生素是在翻修手术之后全身施用。在一些实施方案中，所述抗生素是在翻修手术之前施用。联合施用的治疗剂(如抗生素)可以任何合适的频率并且以任何合适的剂量施用。此类剂量和频率可以由本领域普通技术人员确定。

[0169] 在某些实施方案中，本公开的BT化合物可以与一种或多种本公开的其他BT化合物联合施用。此外，此类组合可以与其他治疗剂联合施用。

[0170] 药物组合物

[0171] 本公开的组合物和方法可以用于治疗有需要的受试者。在某些实施方案中，所述受试者是哺乳动物，如人或非人哺乳动物。当施用于受试者(如人)时，所述组合物或所述化合物优选以药物组合物形式施用，所述药物组合物包含例如本公开化合物和药学上可接受的载体。药学上可接受的载体是本领域众所周知的，并且包括例如水溶液(如水、生理缓冲盐水、生理缓冲磷酸盐)或其他溶剂或媒介物，如二醇、甘油、油(如橄榄油)或可注射的有机酯。在一些实施方案中，当此类药物组合物是用于人施用时，所述水溶液是无热原的或大体上无热原的。可以选择赋形剂，例如以实现剂的延迟释放或选择性地靶向一种或多种细胞、组织或器官。所述药物组合物可以呈剂量单位形式，如用于重构的亲液物、粉剂、溶液、糖浆、注射剂等。所述组合物也可以存在于适合局部施用的溶液中。

[0172] 药学上可接受的载体可以含有生理学上可接受的剂，所述剂例如用于稳定、增加溶解度或增加化合物(如本公开化合物)的吸收。此类生理学上可接受的剂包括例如碳水化合物，如葡萄糖、蔗糖或右旋糖苷；抗氧化剂，如抗坏血酸或谷胱甘肽；螯合剂；低分子量蛋白质；盐；或其他稳定剂或赋形剂。包括生理学上可接受的剂在内的药学上可接受的载体的选择取决于例如所述组合物的施用途径。所述制剂或药物组合物可以是自乳化药物递送系统或自微乳化药物递送系统。所述药物组合物(制剂)也可以是脂质体或其他聚合物基质，其中可能已经并入例如本公开化合物。例如包含磷脂或其他脂质的脂质体是无毒的、生理学上可接受的并且可代谢的载体，其相对容易制造和施用。

[0173] 短语“药学上可接受的”在本文中用于指在合理医学判断的范围内适合与受试者的组织接触使用而无过量毒性、刺激性、过敏反应或其他问题或并发症，与合理的利益/风险比相称的那些化合物、材料、组合物和/或剂型。

[0174] 如本文所用，短语“药学上可接受的载体”意指药学上可接受的材料、组合物或媒

介物，如液体或固体填充剂、稀释剂、赋形剂、溶剂或封装材料。在与制剂的其他成分可相容并且对受试者无害的意义上，每种载体必须是“可接受的”。可以充当药学上可接受的载体的材料的一些实例包括：(1)糖，如乳糖、葡萄糖和蔗糖；(2)淀粉，如玉米淀粉和马铃薯淀粉；(3)纤维素和其衍生物，如羧甲基纤维素钠、甲基纤维素和乙酸纤维素；(4)粉末状黄蓍胶；(5)麦芽；(6)明胶；(7)滑石；(8)赋形剂，如可可油和栓剂蜡；(9)油，如花生油、棉籽油、红花油、芝麻油、橄榄油、玉米油和大豆油；(10)二醇，如丙二醇；(11)多元醇和糖醇，如甘油、山梨醇、甘糖醇、木糖醇、赤藓糖醇和聚乙二醇；(12)酯，如油酸乙酯和月桂酸乙酯；(13)琼脂；(14)缓冲剂，如氢氧化镁和氢氧化铝；(15)褐藻酸；(16)无热原水；(17)等渗生理盐水；(18)林格氏溶液；(19)乙醇；(20)磷酸盐缓冲溶液；和(21)用于药物制剂中的其他无毒可相容物质，包括盐，如氯化钠。

[0175] 所述制剂可以便利地以单位剂型呈递并且可以通过药学领域中众所周知的任何方法来制备。可以与载体材料组合以产生单一剂型的活性成分的量将根据所治疗的受试者、特定施用模式而变化。可以与载体材料组合以产生单一剂型的活性成分的量一般将是所述化合物产生治疗效果的那个量。

[0176] 在一些实施方案中，所述BT组合物是粉末、喷雾剂、软膏、糊剂、乳膏、洗剂、溶液、贴片、悬浮液或凝胶。在一些实施方案中，所述BT组合物是溶液。所述BT组合物可以包含任何合适浓度的铋-硫醇化合物。在一些实施方案中，所述BT组合物以约0.25mg/mL至约15mg/mL、约0.4mg/mL至约15mg/mL、约0.6mg/mL至约15mg/mL、约0.6mg/mL至约100mg/mL、约5mg/mL至约100mg/mL、约10mg/mL至约100mg/mL、约25mg/mL至约100mg/mL、约50mg/mL至约100mg/mL、约0.8mg/mL至约15mg/mL、约1mg/mL至约10mg/mL、2.5mg/mL至约10mg/mL、约4mg/mL至约10mg/mL、约5mg/mL至约10mg/mL、约6mg/mL至约10mg/mL、0.6mg/mL至约6mg/mL、约4mg/mL至约15mg/mL、约6mg/mL至约15mg/mL、约50μg/mL至约750μg/mL、约75μg/mL至约500μg/mL、约100μg/mL至约250μg/mL、约100μg/mL至约150μg/mL或约75μg/mL至约150μg/mL的剂量施用；和/或施用于肺的所述BT组合物的总量是约0.25mg至约15mg、约0.4mg至约15mg、约0.6mg至约15mg、约0.8mg至约15mg、约1mg至约10mg、2.5mg至约10mg、约4mg至约10mg、约5mg至约10mg、约6mg至约10mg、0.6mg至约6mg、约4mg至约15mg、约6mg至约15mg、约50μg至约750μg、约75μg至约500μg、约100μg至约250μg、约100μg至约150μg或约75μg至约150μg。在某些实施方案中，所述BT组合物以约0.6mg/mL至约6mg/mL的剂量施用。

[0177] 在一些实施方案中，每天三次、每天两次、每天一次、每隔一天、每三天一次、每周一次、每隔一周一次、每月一次至每隔一月一次施用所述BT组合物。在某些实施方案中，每天一次施用所述BT组合物。在某些实施方案中，每周一次施用所述BT组合物。在某些实施方案中，每隔一周一次施用所述BT组合物。在一些实施方案中，所述BT组合物以4周给药/4周停药的给药时间表长期施用。在一些实施方案中，所述BT组合物是长期施用，例如作为背景疗法的一部分。如本领域普通技术人员应理解，施用频率可以取决于许多因素，包括剂量和施用途径。例如，如果所述BT组合物是通过气溶胶施用来施用，那么如100-1000μg/mL的低剂量可以每天施用一次或两次；然而，如2.5-10mg/mL的高剂量可以例如每周施用一次或两次。

[0178] 在一些实施方案中，所述BT组合物还包含选自动物和植物脂肪、油、蜡、石蜡、淀粉、黄蓍胶、纤维素衍生物、聚乙二醇、硅酮、膨润土、硅酸、聚合物、滑石和氧化锌的一种或

多种载体。在一些实施方案中，所述载体是甲基纤维素。在一些实施方案中，所述载体是聚(甲基丙烯酸甲酯)。

[0179] 组合物也可以使用例如呈不同比例以提供所期望的释放概况的羟基丙基甲基纤维素、其他聚合物基质、脂质体和/或微球体进行配制以便提供其中活性成分的缓慢或控制释放。其可以通过例如通过细菌截留过滤器过滤、通过电离辐射(例如γ光子)、高压灭菌或通过并入呈无菌固体组合物形式的灭菌剂来进行灭菌，所述无菌固体组合物可以在临用之前即刻溶解于无菌水或一些其他无菌可注射介质中。

[0180] 可用于局部施用的液体剂型包括药学上可接受的乳液、用于重构的亲液物、微乳液、溶液、悬浮液、凝胶、糖浆和酏剂。除了活性成分以外，所述液体剂型还可以含有本领域常用的惰性稀释剂，例如水或其他溶剂、环糊精和其衍生物、增溶剂和乳化剂，如乙醇、异丙醇、碳酸乙酯、乙酸乙酯、苄醇、苯甲酸苄酯、丙二醇、1,3-丁二醇、油(如棉籽油、花生油、玉米油、胚芽油、橄榄油、蓖麻油和芝麻油)、甘油、四氢呋喃醇、聚乙二醇和脱水山梨醇的脂肪酸酯以及其混合物。除惰性稀释剂以外，所述表面组合物还可以包括佐剂，如润湿剂、乳化剂和悬浮剂以及防腐剂。

[0181] 除了活性化合物以外，悬浮液还可以含有悬浮剂，例如乙氧基化异十八烷醇、聚氧乙烯山梨醇和脱水山梨醇酯、微晶纤维素、偏氢氧化铝、膨润土、琼脂和黄蓍胶以及其混合物。

[0182] 用于表面或经皮施用的剂型包括粉末、喷雾剂、软膏、糊剂、乳膏、洗剂、凝胶、溶液、贴片和吸入剂。所述活性化合物可以在无菌条件下与药学上可接受的载体，并且与可能需要的任何防腐剂或缓冲液混合。

[0183] 除了活性化合物以外，所述软膏、糊剂、乳膏和凝胶还可以含有一种或多种赋形剂或载体，如动物和植物脂肪、油、蜡、石蜡、淀粉、黄蓍胶、纤维素衍生物、聚乙二醇、硅酮、膨润土、硅酸、滑石、聚合物、盐和氧化锌或其混合物。在一些实施方案中，所述BT组合物是呈水溶液形式。在一些实施方案中，所述赋形剂包含选自氯化钠或氯化钾的盐。在一些实施方案中，所述赋形剂包含氯化钠。

[0184] 在某些实施方案中，所述BT组合物是一种或多种BT化合物在Tween(例如Tween 80)中和/或在缓冲液(例如磷酸钠缓冲液)中的悬浮液。例如，在一些实施方案中，所述BT组合物是一种或多种BT化合物在约0.1％Tween 80至约1.0％Tween 80(包括其间所有范围)中的悬浮液。例如，所述BT组合物是一种或多种BT化合物在约0.1％Tween 80、约0.2％Tween 80、约0.3％Tween 80、约0.4％Tween 80、约0.5％Tween 80、约0.6％Tween 80、约0.7％Tween 80、约0.8％Tween 80、约0.9％Tween 80或约1％Tween 80中的悬浮液。在一些实施方案中，所述BT组合物是一种或多种BT化合物在约0.5％Tween 80中的悬浮液。

[0185] 在一个具体实施方案中，本发明可以是包含铋-硫醇(BT)组合物的药物组合物，所述药物组合物包含悬浮于其中的BisEDT，其中所述BT组合物包含多个微粒。在一个具体实施方案中，所述微粒的D90小于或等于4.5μm、或4.0μm、或3.5μm、或3.0μm、或2.5μm、或2.0μm、或1.9μm、或1.8um、或μm 1.7μm、或1.6μm、或1.5μm或其间任何范围。在一个具体实施方案中，所述微粒的D90小于或等于1.9μm。在另一具体实施方案中，所述微粒的D90小于或等于1.6μm。在另一具体实施方案中，所述微粒的D50小于或等于2.5μm、或2.0μm、或1.5μm、或1.3μm、或1.2μm、或1.1μm、或1.0μm、或0.9μm、或0.87μm、或0.72μm或其间任何范围。在另一具体

实施方案中，所述微粒的D10小于或等于0.9μm、或0.8μm、或0.7μm、或0.6μm、或0.50μm、或0.40μm、或0.39μm、或0.38μm、或0.37μm、或0.36μm、或0.35μm、或0.34μm、或0.33μm或其间任何范围。在一个具体实施方案中，包含铋-硫醇(BT)组合物的药物组合物包含悬浮于其中的BisEDT，其中所述BT组合物包含多个微粒，其中所述微粒的D90小于或等于约1.6μm。在一个具体实施方案中，所述BT组合物包含浓度大于约0.1mg/mL的BisEDT、约0.05％至约1.0％Tween 80®、约0.05至40mM氯化钠和任选地约2至20mM约pH.7.4的磷酸钠。在另一具体实施方案中，上述组合物可以施用于受试者以用于治疗、管理和/或减轻所述受试者的囊性纤维化(CF)症状和感染的严重性，或治疗、管理和/或减轻本文所述的囊性纤维化(CF)症状的严重性的任何具体方法。在另一具体实施方案中，上述组合物可以施用于受试者以用于治疗、管理和/或减轻与受试者的一种或多种肺部疾病或感染相关的症状和感染的严重性，或治疗、管理和/或减轻与本文所述的一种或多种肺部疾病相关的症状和感染的严重性的任何具体方法。

[0186] 多种缓冲液可以用于本公开的背景中并且对于本领域普通技术人员来说将是显而易见的。例如，在一些实施方案中，合适缓冲液包括柠檬酸钠或柠檬酸钾、柠檬酸、磷酸盐缓冲液，如磷酸钠、硼酸、碳酸氢钠和多种混合磷酸盐缓冲液，包括Na_2HPO_4、NaH_2PO_4和KH_2PO_4的组合。在一些实施方案中，使用磷酸钠缓冲液。在一些实施方案中，使用柠檬酸钠缓冲液。不受任何特定理论的束缚，气道表面液体pH的变化可能有助于在出生后不久囊性纤维化中的宿主防御缺陷。肺pH的变化可以影响气道表面液体环境，改进气道防御，并且改变病程。因此，制剂pH可以从约5至约10变化。在一些实施方案中，制剂pH为约5.0、5.1、5.2、5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6.0、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9、7.0、7.1、7.2、7.3、7.4、7.5、7.6、7.7、7.8、7.9、8.0、8.1、8.2、8.3、8.4、8.5、8.6、8.7、8.8、8.9、9.0、9.1、9.2、9.3、9.4、9.5、9.6、9.7、9.8、9.9或约10。在一些实施方案中，制剂pH为约7.4。

[0187] 在一些实施方案中，所述BT组合物是一种或多种BT化合物在含约0.5％Tween 80的磷酸钠缓冲液(在约7.4pH下)中的悬浮液。在一些实施方案中，所述一种或多种BT化合物以介于约100μg/mL至约1000mg/mL范围内(包括其间所有整数和范围)的浓度存在于所述组合物中。例如，在一些实施方案中，所述一种或多种BT化合物以介于约100μg/mL、200μg/mL、300μg/mL、400μg/mL、500μg/mL、600μg/mL、700μg/mL、800μg/mL、900μg/mL、1000μg/mL、10mg/mL、25mg/mL、50mg/mL、100mg/mL、125mg/mL、150mg/mL、175mg/mL、200mg/mL、225mg/mL、250mg/mL、275mg/mL、300mg/mL、325mg/mL、350mg/mL、375mg/mL、400mg/mL、425mg/mL、450mg/mL、475mg/mL、500mg/mL、525mg/mL、550mg/mL、575mg/mL、600mg/mL、625mg/mL、650mg/mL、675mg/mL、700mg/mL、725mg/mL、750mg/mL、775mg/mL、800mg/mL、825mg/mL、850mg/mL、875mg/mL、900mg/mL、925mg/mL、950mg/mL、975mg/mL至约1000mg/mL范围内的浓度存在于所述组合物中。在一些实施方案中，所述一种或多种BT化合物以介于约100μg/mL至约1000μg/mL范围内的浓度存在于所述组合物中。

[0188] 在一些实施方案中，组合物重量渗透浓度可能需要用如NaCl或TDAPS的添加剂进一步调节以实现所期望的重量渗透浓度。例如，在一些实施方案中，所述组合物的重量渗透浓度用氯化钠调节至介于约100mOsmol/kg至约500mOsmol/kg范围内(包括其间所有整数和范围)的重量渗透浓度。在一些实施方案中，所述组合物的重量渗透浓度为约290mOsmol/kg至约310mOsmol/kg。例如，在一些实施方案中，所述组合物的重量渗透浓度为约290mOsmol/

kg、291mOsmol/kg、292mOsmol/kg、293mOsmol/kg、294mOsmol/kg、295mOsmol/kg、296mOsmol/kg、297mOsmol/kg、298mOsmol/kg、299mOsmol/kg、300mOsmol/kg、301mOsmol/kg、302mOsmol/kg、303mOsmol/kg、304mOsmol/kg、305mOsmol/kg、306mOsmol/kg、307mOsmol/kg、308mOsmol/kg、309mOsmol/kg至约310mOsmol/kg。在一些实施方案中，重量渗透浓度为约300mOsmol/kg。

[0189] 在一些实施方案中，所述BT组合物是BisEDT在含Tween(例如Tween 80)的缓冲液(例如磷酸钠缓冲液)中的悬浮液。在一些实施方案中，所述BT组合物是BisEDT在含约0.5%Tween 80的磷酸钠缓冲液(在约7.4pH下)中的悬浮液。在一些实施方案中，所述BT组合物是BisEDT在含约0.5%Tween 80的磷酸钠缓冲液(在约7.4pH下)中的悬浮液，其中所述组合物具有约300mOsmol/kg(例如，用氯化钠调节至300mOsmol/kg)的重量渗透浓度。在一些实施方案中，BisEDT以约100μg/mL、250μg/mL、500μg/mL、750μg/mL、1000μg/mL、2.5mg/mL、10mg/mL、25mg/mL、50mg/mL、75mg/mL或约100mg/mL的浓度存在。

[0190] 在一些实施方案中，所述BT组合物是旨在用于肺部递送的悬浮液制剂。例如，所述BT组合物是悬浮液制剂，其最终通过经口和/或经鼻吸入来施用。因此，在一些实施方案中，所述BT组合物通过如喷雾器的装置雾化。

[0191] 除了活性化合物以外，粉末和喷雾剂还可以含有赋形剂，如甲基纤维素、氯化钠、PMMA、乳糖、滑石、硅酸、氢氧化铝、硅酸钙和聚酰胺粉末、二棕榈酰磷脂酰胆碱(DPPC)、亮氨酸、聚乙二醇或这些物质的混合物。喷雾剂可以另外含有惯用推进剂，如氯氟烃和挥发性未取代的烃(如丁烷和丙烷)。

[0192] 在一些实施方案中，所述BT组合物通过使用气溶胶装置(如喷雾器)经口或经鼻吸入来施用。已知的喷雾器(如PARI IC Plus)可以水溶液(任选地在缓冲生理盐水中)形式施用所公开的组合物。所述溶液可以用于喷雾器的安瓿形式提供给受试者。喷雾器可以是可重复使用的，并且包括在一段时间(如约10-15分钟或更长时间)内提供制剂的压缩机。已知的压缩机(如APRI Vios Air和DeVilbiss Pulmo-aide)适合施用。喷雾器将所述制剂经局部施用于肺组织，如粘膜、支气管和/或细支气管、肺泡、深肺肺泡。所述制剂可以穿透肺粘膜和生物膜以减少微生物(例如细菌或真菌)生物膜，削弱微生物(例如细菌或真菌)生物膜的生长，防止微生物(例如细菌或真菌)生物膜的再形成，减少浮游生物生长和/或抑制浮游生物生长。

[0193] 在其他实施方案中，仅鼻用气溶胶装置可以用于所述制剂的施用。

[0194] 示例性BT组合物制剂是具有非离子表面活性剂的BT化合物微粒的中性pH、等渗、缓冲水溶液。在某些实施方案中，所述缓冲液是添加有NaCl的磷酸盐缓冲液。在一些实施方案中，微粒大小是约1-5μm的D_{50}。所述制剂可以使用市面上有售的压缩空气喷射喷雾器来递送。在一些实施方案中，制剂浓度为约0.1μg/mL至约100mg/mL。

[0195] 在一些实施方案中，本公开提供一种气溶胶，其包含在气体中的多个分散的液体微滴，所述液体微滴包含BT组合物，所述BT组合物包含悬浮于其中的至少一种BT化合物，其中所述BT化合物包含铋和/或铋盐和含硫醇化合物；并且其中当通过激光飞行时间和/或级联冲击器测量时，至少60%、65%、70、75%、80%、90%或95%的所述液体微滴具有约0.4μm至约5μm的质量中值空气动力学直径(MMAD)。在一些实施方案中，至少60%、65%、70、75%、80%、90%或95%的所述液体微滴具有约0.4μm至约7μm、或约0.5μm至约5μm、或约0.7μm至

约4μm、或约0.7μm至约3.5μm、或约0.8μm至约3.5μm、或约0.9μm至约3.5μm、或约0.9μm至约3μm、或约0.8μm至约1.8μm、或约0.8μm至约1.6μm、或约0.9μm至约1.4μm、或约1.0μm至约2.0μm、或约1.0μm至约1.8μm(包括其间所有范围)的MMAD。在一些实施方案中,至少60%、65%、70、75%、80%、90%或95%的所述液体微滴具有约0.8μm至约1.6μm、或约0.9μm至约3.5μm、或约0.9μm至约3μm、或约0.9μm至约1.4μm、或约1.0μm至约2.0μm、或约1.0μm至约1.8μm和其间所有范围的MMAD。

[0196] 在一些实施方案中,所述多个液体微滴具有小于约10μm的D90。例如,在一些实施方案中,所述多个液体微滴具有小于约10μm、9μm、8μm、7μm、6μm、5μm、4μm、3μm、2μm或约1μm的D90。在一些实施方案中,所述多个液体微滴具有小于约3μm的D90。在一些实施方案中,所述多个液体微滴具有介于约1μm至约5μm、或约2μm至约6μm、或约2μm至约4μm、或约2μm至约3μm、或约1μm至约4μm、或约1μm至约3μm范围内的D90。

[0197] 在一些实施方案中,所述多个液体微滴分散于连续的气相中。

[0198] 在一些实施方案中,所述气溶胶的BT化合物包含与一种或多种含硫醇化合物共价缔合和/或呈配位络合物的铋和/或铋盐。例如,所述铋盐是硝酸铋、次硝酸铋或氯化铋。在一些实施方案中,所述含硫醇化合物包含选自1,2-乙二硫醇、2,3-二巯基丙醇、羟基吡啶硫酮、二硫赤藓糖醇、3,4二巯基甲苯、2,3-丁二硫醇、1,3-丙二硫醇、2-羟基丙硫醇、1-巯基-2-丙醇、二硫赤藓糖醇、二硫苏糖醇和α-硫辛酸的一种或多种剂。在一些实施方案中,所述BT组合物包含选自BisBAL、BisEDT、Bis-二巯基丙醇、BisDTT、Bis-2-巯基乙醇、Bis-DTE、Bis-Pyr、Bis-Ery、Bis-Tol、Bis-BDT、Bis-PDT、Bis-Pyr/Bal、Bis-Pyr/BDT、BisPyr/EDT、Bis-Pyr/PDT、Bis-Pyr/Tol、Bis-Pyr/Ery、铋-1-巯基-2-丙醇、BisEDT/CSTMN(1∶1)、BisPYR/CSTMN(1∶1)、BisBAL/CSTMN(1∶1)、BisTOL/CSTMN(1∶1)和Bis-EDT/2-羟基-1-丙硫醇的一种或多种BT化合物。在一些实施方案中,所述BT化合物选自Bis-EDT、Bis-Bal、Bis-Pyr、Bis-Ery、Bis-Tol、Bis-BDT或Bis-EDT/2-羟基-1-丙硫醇中的一者或多者。在一些实施方案中,所述气溶胶上的BT化合物是BisEDT。在一些实施方案中,所述气溶胶的BT化合物是BisBDT或BisBAL。

[0199] 在一些实施方案中,所述BT化合物(例如BisEDT)悬浮于液体微滴中。本公开的BT化合物在常规溶剂和气溶胶载体中几乎不具有溶解性,并且因此大体上以BT颗粒在气溶胶微滴中的悬浮液形式存在。例如,在一些实施方案中,所述BT化合物(如BisEDT)在气溶胶载体中的溶解度小于1%,并且因此主要以固体形式存在(>99%)。

[0200] 在一些实施方案中,所述微滴还包含Tween 80(例如约0.05%至约1%)和任选地pH约7.4的缓冲液(例如磷酸钠或柠檬酸钠);和/或氯化钠。

[0201] 本公开的气溶胶具有非常狭窄的MMAD分布,这是有益的,因为需要将颗粒质量集中于靶大小范围内,并且最小化或消除在可呼吸范围或'细粒'外部的产品(即,直径通常小于0.4μm的颗粒)的部分。在适当大小范围内产生狭窄的微滴大小分布的能力提供对初始蒸发速率的控制,并且允许高沉积效率。就颗粒气溶胶微滴大小的下限来说,限制因素是BT微粒大小(例如,BisEDT微粒大小)。雾化的微滴不能小于BisEDT微粒大小。因而,BT微粒大小分布以及BT微粒大小分布的均匀性和一贯的可重复性是重要的有益特征以支持出于吸入目的产生安全、有效并且高效的雾化BisEDT药物产品。因此,在一些实施方案中,本公开的气溶胶实现大于3%、大于5%、大于10%、大于15%、大于20%、大于25%、大于30%、大于

35%m大于40%、大于45%、大于50%、大于55%、大于60%、大于65%、大于70%、大于75%和大于80%的沉积效率。在一些实施方案中，沉积效率是指沉积至肺的深肺区，例如沉积至深肺肺泡。在一些实施方案中，本公开的气溶胶在通过喷雾器雾化后实现沉积效率。例如，所述喷雾器是喷射喷雾器。在一些实施方案中，所述喷射喷雾器是Pari LC Plus喷射喷雾器或Pari LC SPRINT喷射喷雾器。在一些实施方案中，所述喷雾器具有约10至约40psig(例如20-25psig)的入口压力。在一些实施方案中，入口流量为约3L/min至约8L/min(例如5.2L/min)。在一些实施方案中，排气气流为约3L/min至约8L/min(例如5L/min)。

[0202] 肺的肺泡区具有分离血流与内腔的最小厚度(0.5μm-2.5μm)，因此，沉积于肺泡上皮上的常规肺剂由于全身吸收具有极短的肺停留时间。相应地，常规肺治疗通常需要频繁给药，以便在组织层面上维持适当药物水平。然而，意外地发现相对于常规肺治疗，本公开的雾化颗粒在肺中具有异常长的停留时间(以半衰期量度)，并且具有降低的粘膜纤毛清除率和巨噬细胞摄取。此外，本发明的气溶胶的长停留时间使全身活性和相关的全身副作用最小化。不受任何特定理论的束缚，据信雾化的微粒缓慢地溶解于肺内腔上并且因此全身暴露受到溶解速率限制。此外，由于BT微粒的持续存在，增加的肺停留时间导致微生物菌落的显著减少。

[0203] 因此，在一些实施方案中，当气溶胶沉积至肺(例如，深肺肺泡)时，所述BT化合物具有至少2天的平均半衰期。例如，所述BT化合物具有约2、3、4或5天的平均半衰期。在一些实施方案中，所述BT化合物是BisEDT。在一个具体实施方案中，BisEDT的肺组织半衰期为30h或更长，40h或更长，50h或更长，60h或更长，70，h或更长，80h或更长，90h或更长，100h或更长，110h或更长，125h或更长，或150h或更长。在一个具体实施方案中，肺组织半衰期是在通过吸入进行的单一剂量之后。在另一具体实施方案中，肺组织是来自大鼠。在另一具体实施方案中，BisEDT的肺组织半衰期通过使用如本文中的实施例8中的方案来确定。

[0204] 在另一实施方案中，当使用Pari LC plus喷射喷雾器向大鼠施用本文所述的制剂以对大鼠给予100μg/kg肺的单一剂量时，BisEDT的肺组织半衰期为80h或更长。在另一实施方案中，BisEDT的肺组织半衰期为90h或更长。在另一实施方案中，BisEDT的肺组织半衰期为100h或更长。

[0205] 在另一实施方案中，如与口咽区和传导气道相反，在将雾化组合物递送至受试者之后，至少60%、65%、70、75%、80%、90%或95%的剂量沉积于肺上。在一个具体实施方案中，如与口咽区和传导气道相反，至少80%的剂量沉积于肺上。在另一具体实施方案中，如与口咽区和传导气道相反，至少90%的剂量沉积于肺上。

[0206] 对于雾化的肺治疗来说，先前闻所未闻的是具有分布狭窄的气溶胶颗粒，所述颗粒实现高沉积效率外加对于持续治疗来说异常长的肺停留时间，并且几乎不具有全身吸收。

[0207] 在一些实施方案中，本公开提供一种治疗、管理受试者的囊性纤维化(CF)症状和感染或减轻受试者的囊性纤维化(CF)症状和感染的严重性的方法，所述方法包括向受试者施用包含至少一种BT化合物的铋-硫醇(BT)组合物，其中所述组合物是具有约0.4μm至约5μm的体积平均直径(VMD)和/或约0.4μm至约5μm的质量中值空气动力学直径(MMAD)的微粒的悬浮液。在一些实施方案中，所述BT化合物是BisEDT。在一些实施方案中，所述BT组合物包含浓度大于约0.1mg/mL的BisEDT、约0.05%至约1.0%Tween80®、约0.05至40mM氯化钠和

任选地约2至20mM约pH.7.4的磷酸钠。例如，在一些实施方案中，所述BT组合物包含浓度大于约0.25mg/mL的BisEDT、约0.5％Tween 80®、约10mM氯化钠和约10mM约pH 7.4的磷酸钠。在本文中的方法的另一实施方案中，所述BT组合物通过雾化来施用。在一些实施方案中，当气溶胶沉积至肺(例如，深肺肺泡)时，所述BT化合物具有至少2天的平均半衰期。例如，所述BT化合物具有约2、3、4或5天的平均半衰期。在一些实施方案中，所述BT化合物是BisEDT。在一个具体实施方案中，BisEDT的肺组织半衰期为30h或更长，40h或更长，50h或更长，60h或更长，70，h或更长，80h或更长，90h或更长，100h或更长，110h或更长，125h或更长，或150h或更长。在一个具体实施方案中，肺组织半衰期是在通过吸入进行的单一剂量之后。在另一具体实施方案中，肺组织是来自大鼠。在另一具体实施方案中，BisEDT的肺组织半衰期通过使用如本文中的实施例8中的方案来确定。

[0208] 在另一实施方案中，如与口咽区和传导气道相反，在将雾化组合物递送至受试者之后，至少60％、65％、70％、75％、80％、90％或95％的剂量沉积于肺上。在一个具体实施方案中，如与口咽区和传导气道相反，至少80％的剂量沉积于肺上。在另一具体实施方案中，如与口咽区和传导气道相反，至少90％的剂量沉积于肺上。在一个具体实施方案中，所述受试者是大鼠。在另一具体实施方案中，使用Pari LC plus喷射喷雾器向大鼠施用本文所述的制剂来确定沉积百分比。

[0209] 在另一实施方案中，当使用Pari LC plus喷射喷雾器向大鼠施用本文所述的制剂以对大鼠给予100μg/kg肺的单一剂量时，BisEDT的肺组织半衰期为80h或更长。在另一实施方案中，BisEDT的肺组织半衰期为90h或更长。在另一实施方案中，BisEDT的肺组织半衰期为100h或更长。

[0210] 在另一实施方案中，本发明方法可以包括通过向受试者施用包含至少一种BT化合物的铋-硫醇(BT)组合物来治疗、管理受试者的囊性纤维化(CF)症状和感染或减轻受试者的囊性纤维化(CF)症状和感染的严重性，其中所述组合物是具有约0.4μm至约5μm的体积平均直径(VMD)和/或约0.4μm至约5μm的质量中值空气动力学直径(MMAD)的微粒的悬浮液。

[0211] 在一些实施方案中，所述组合物是具有约0.4μm至约5μm的体积平均直径(VMD)的微粒的悬浮液。在一些实施方案中，至少60％、65％、70％、75％、80％、90％或95％的所述微粒具有约0.4μm至约5μm、或约0.6μm至约2.5μm、或约0.7μm至约4μm、或约0.7μm至约3.5μm、或约0.7μm至约3.0μm、或约0.9μm至约3.5μm、或约0.9μm至约3μm、或约0.8μm至约1.8μm、或约0.8μm至约1.6μm、或约0.9μm至约1.4μm、或约1.0μm至约2.0μm、或约1.0μm至约1.8μm和其间所有范围的VMD。在一些实施方案中，至少60％、65％、70％、75％、80％、90％或95％的所述微粒具有约0.6μm至约2.5μm、或约0.8μm至约1.6μm、或约0.9μm至约3.5μm、或约0.9μm至约3μm、或约0.9μm至约1.4μm、或约1.0μm至约2.0μm、或约1.0μm至约1.8μm和其间所有范围的VMD。在一些实施方案中，所述微粒具有小于约10μm的D90。例如，在一些实施方案中，所述微粒具有小于约10μm、9μm、8μm、7μm、6μm、5μm、4μm、3μm、2μm或约1μm的D90。在一些实施方案中，所述微粒具有小于约3μm的D90。在一些实施方案中，所述微粒具有介于约1μm至约5μm、或约2μm至约6μm、或约2μm至约4μm、或约2μm至约3μm、或约1μm至约4μm、或约1μm至约3μm范围内的D90。

[0212] 在一些实施方案中，使所述BT组合物雾化，其中雾化的液体微滴具有约约0.4μm至约5μm的MMAD。在一些实施方案中，至少60％、65％、70％、75％、80％、90％或95％的所述液

体微滴具有约0.4μm至约7μm、或约0.5μm至约5μm、或约0.7μm至约4μm、或约0.7μm至约3.5μm、或约0.8μm至约3.5μm、或约0.9μm至约3.5μm、或约0.9μm至约3μm、或约0.8μm至约1.8μm、或约0.8μm至约1.6μm、或约0.9μm至约1.4μm、或约1.0μm至约2.0μm、或约1.0μm至约1.8μm和其间所有范围的MMAD。在一些实施方案中，至少60％、65％、70％、75％、80％、90％或95％的所述液体微滴具有约0.8μm至约1.6μm、或约0.9μm至约3.5μm、或约0.9μm至约3μm、或约0.9μm至约1.4μm、或约1.0μm至约2.0μm、或约1.0μm至约1.8μm和其间所有范围的MMAD。在一些实施方案中，所述多个液体微滴具有小于约10μm的D90。例如，在一些实施方案中，所述多个液体微滴具有小于约10μm、9μm、8μm、7μm、6μm、5μm、4μm、3μm、2μm或约1μm的D90。在一些实施方案中，所述多个液体微滴具有小于约3μm的D90。在一些实施方案中，所述多个液体微滴具有介于约1μm至约5μm、或约2μm至约6μm、或约2μm至约4μm、或约2μm至约3μm、或约1μm至约4μm、或约1μm至约3μm范围内的D90。

[0213] 在一些实施方案中，所述多个液体微滴分散于连续的气相中。

[0214] 在一些实施方案中，所述气溶胶的BT化合物包含与一种或多种含硫醇化合物共价缔合和/或呈配位络合物的铋和/或铋盐。例如，所述铋盐是硝酸铋、次硝酸铋或氯化铋。在一些实施方案中，所述含硫醇化合物包含选自1,2-乙二硫醇、2,3-二巯基丙醇、羟基吡啶硫酮、二硫赤藓糖醇、3,4二巯基甲苯、2,3-丁二硫醇、1,3-丙二硫醇、2-羟基丙硫醇、1-巯基-2-丙醇、二硫赤藓糖醇、二硫苏糖醇、半胱胺和α-硫辛酸的一种或多种剂。在一些实施方案中，所述BT组合物包含选自BisBAL、BisEDT、Bis--二巯基丙醇、BisDTT、Bis-2-巯基乙醇、Bis-DTE、Bis-Pyr、Bis-Ery、Bis-Tol、Bis-BDT、Bis-PDT、Bis-Pyr/Bal、Bis-Pyr/BDT、BisPyr/EDT、Bis-Pyr/PDT、Bis-Pyr/Tol、Bis-Pyr/Ery、BisEDT/CSTMN(1∶1)、BisPYR/CSTMN(1∶1)、BisBAL/CSTMN(1∶1)、BisTOL/CSTMN(1∶1)、铋-1-巯基-2-丙醇和Bis-EDT/2-羟基-1-丙硫醇的一种或多种BT化合物。在一些实施方案中，所述BT化合物选自Bis-EDT、Bis-Bal、Bis-Pyr、Bis-Ery、Bis-Tol、Bis-BDT或Bis-EDT/2-羟基-1-丙硫醇中的一者或多者。在一些实施方案中，所述气溶胶上的BT化合物是BisEDT。在一些实施方案中，所述气溶胶的BT化合物是BisBDT或BisBAL。

[0215] 在目前所公开的组合物的一些实施方案中，至少60％、65％、70％、75％、80％、90％或95％的所述微粒具有约0.6μm至约2.5μm的体积平均直径。在一些实施方案中，大体上所有的所述微粒均具有约0.6μm至约2.5μm的VMD。在一些实施方案中，至少70％的雾化颗粒具有约0.9μm至约3μm的MMAD。在一些实施方案中，所述组合物是具有约0.6μm至约2.5μm的体积平均直径(VMD)和/或约0.9μm至约3μm的质量中值空气动力学直径(MMAD)的微粒的悬浮液。在一些实施方案中，所述铋-硫醇组合物包含多个包含铋-硫醇(BT)化合物的微粒，大体上所有的所述微粒均具有约0.4μm至约5μm的体积平均直径，并且其中所述BT化合物包含铋或铋盐和含硫醇化合物。

[0216] 在一些实施方案中，所述组合物通过喷雾器雾化。例如，所述喷雾器是喷射喷雾器或振动筛喷雾器。在一些实施方案中，所述喷射喷雾器是PariLC Plus喷射喷雾器或PariLC SPRINT喷射喷雾器。在一些实施方案中，所述喷雾器具有约10至约40psig(例如20-25psig)的入口压力。在一些实施方案中，入口流量为约3L/min至约8L/min(例如5.2L/min)。在一些实施方案中，排气气流为约3L/min至约8L/min(例如5L/min)。

[0217] 本公开的药物组合物中可以采用的合适的水性和非水性载体的实例包括水、乙

醇、多元醇(如甘油、丙二醇、聚乙二醇等)和其合适混合物、植物油(如橄榄油)和可注射的有机酯(如油酸乙酯)。例如,可以通过使用包衣材料(如卵磷脂),在分散液的情况下通过维持所需的粒径,和通过使用表面活性剂来维持适当流动性。

[0218] 这些组合物还可以含有佐剂,如防腐剂、润湿剂、乳化剂和分散剂,也可能期望在所述组合物中包括等渗剂,如糖、氯化钠等。另外,可以通过包括延迟吸收的剂,如单硬脂酸铝和明胶来引起可注射的药物形式的延长吸收。

[0219] 在一些情况下,为了延长药物的效应,可期望减慢皮下或肌肉内注射的药物的吸收。这可通过使用具有不良水溶性的结晶或非晶材料的液体悬浮液来实现。药物的吸收速率则取决于其溶解速率,所述溶解速率又可取决于晶体大小和结晶形式。或者,通过将药物溶解或悬浮于油媒介物中来实现肠胃外施用的药物形式的延迟吸收。

[0220] 所述药物组合物中的活性成分的实际剂量水平可以变化以获得有效实现特定患者、组合物和施用模式所期望的治疗反应而对患者无毒的所述活性成分的量。

[0221] 所选剂量水平将取决于多种因素,包括所用的特定化合物或化合物的组合或其酯、盐或酰胺的活性、施用途径、施用时间、所用的特定化合物的排泄速率、治疗的持续时间、与所用的特定化合物组合使用的其他药物、化合物和/或材料、所治疗的受试者的年龄、性别、体重、状态、一般健康状况和先前病史以及医学领域中众所周知的类似因素。

[0222] 具有本领域普通技术的医师或兽医可以容易地确定所需的药物组合物的治疗有效量并且开处方。例如,所述医师或兽医可能以比实现所期望的治疗效果所需的水平低的水平开始所述药物组合物或化合物的剂量,并且逐步增加剂量直至实现所期望的效果。“治疗有效量”意指足以引起所期望的治疗效果的化合物的浓度。一般应理解,所述化合物的有效量将根据受试者的体重、性别、年龄和病史而变化。影响有效量的其他因素可以包括但不限于受试者的疾患的严重性、所治疗的病症、所述化合物的稳定性以及必要时正在与本公开化合物一起施用的另一类型的治疗剂。通过多次施用所述剂可以递送更大的总剂量。确定功效和剂量的方法是本领域技术人员已知的(Isselbacher等人(1996)Harrison's Principles ofInternal Medicine第13版,1814-1882,以引用的方式并入本文中)。

[0223] 一般说来,本公开的组合物和方法中使用的活性化合物的合适剂量将是作为有效产生治疗效果的最低剂量的所述化合物的量。此类有效剂量一般将取决于上述因素。

[0224] 本公开包括本公开化合物的药学上可接受的盐在本公开的组合物和方法中的用途。在某些实施方案中,预期的本公开的盐包括但不限于烷基、二烷基、三烷基或四烷基铵盐。在某些实施方案中,预期的本公开的盐包括但不限于L-精氨酸、苯乙苄胺、苄星、甜菜碱、氢氧化钙、胆碱、地阿诺、二乙醇胺、二乙胺、2-(二乙基氨基)乙醇、乙醇胺、乙二胺、N-甲基葡糖胺、海巴明、1H-咪唑、锂、L-赖氨酸、镁、4-(2-羟基乙基)吗啉、哌嗪、钾、1-(2-羟基乙基)吡咯烷、钠、三乙醇胺、缓血酸胺和锌盐。在某些实施方案中,预期的本公开的盐包括但不限于Na、Ca、K、Mg、Zn或其他金属盐。

[0225] 药学上可接受的酸加成盐也可以多种溶剂化物形式存在,如具有水、甲醇、乙醇、二甲基甲酰胺等。也可以制备此类溶剂化物的混合物。此类溶剂化物的来源可以来自结晶溶剂(制备或结晶溶剂中固有的,或不溶于此类溶剂)。

[0226] 所述组合物中也可以存在润湿剂、乳化剂和润滑剂,如月桂基硫酸钠和硬脂酸镁,以及着色剂、脱模剂、包衣剂、甜味剂、调味剂和芳香剂、防腐剂和抗氧化剂。

[0227] 药学上可接受的抗氧化剂的实例包括：(1)水溶性抗氧化剂，如抗坏血酸、盐酸半胱氨酸、硫酸氢钠、焦亚硫酸钠、亚硫酸钠等；(2)油溶性抗氧化剂，如棕榈酸抗坏血酸酯、丁基化羟基茴香醚(BHA)、丁基化羟基甲苯(BHT)、卵磷脂、没食子酸丙酯、α-生育酚等；和(3)金属螯合剂，如柠檬酸、乙二胺四乙酸(EDTA)、山梨醇、酒石酸、磷酸等。

[0228] 实施方案

[0229] 1.一种治疗、管理受试者的囊性纤维化(CF)症状和感染或减轻受试者的囊性纤维化(CF)症状和感染的严重性的方法，所述方法包括向所述受试者施用包含至少一种BT化合物的铋-硫醇(BT)组合物。

[0230] 2.实施方案1的方法，其中所述受试者患有至少一种肺部感染。

[0231] 3.实施方案2的方法，其中所述受试者患有至少两种肺部感染并且所述感染是并行的或依序的。

[0232] 4.实施方案2或3的方法，其中所述肺部感染是在一个肺中。

[0233] 5.实施方案2-4中任一者的方法，其中所述肺部感染是在两个肺中。

[0234] 6.实施方案2-5中任一者的方法，其中所述肺部感染是在右肺的三个肺叶中的一个或多个中。

[0235] 7.实施方案2-6中任一者的方法，其中所述肺部感染是在左肺的两个肺叶中的一个或两个中。

[0236] 8.实施方案2-7中任一者的方法，其中所述肺部感染是支气管扩张感染、肺炎、谷热、过敏性支气管肺曲霉病(ABPA)、呼吸机获得性肺炎、医院获得性肺炎、社区获得性肺炎、呼吸机相关的气管支气管炎、下呼吸道感染、非结核分枝杆菌、炭疽、军团病、百日咳、支气管炎、细支气管炎、COPD相关感染和肺移植后。

[0237] 9.实施方案2-8中任一者的方法，其中所述肺部感染含有一种或多种细菌和/或真菌病原体。

[0238] 10.实施方案2-9中任一者的方法，其中所述肺部感染是CF相关的肺部感染。

[0239] 11.实施方案10的方法，所述方法包括治疗所述CF相关的肺部感染。

[0240] 12.实施方案10的方法，所述方法包括管理所述CF相关的肺部感染。

[0241] 13.实施方案10的方法，所述方法包括减轻所述CF相关的肺部感染的严重性。

[0242] 14.实施方案2-13中任一者的方法，其中所述肺部感染位于肺粘膜、支气管、肺泡、巨噬细胞和/或细支气管之中或之上。

[0243] 15.实施方案2-13中任一者的方法，其中所述肺部感染位于细菌生物膜、聚集的细菌、真菌生物膜、包含细菌和真菌的组合多菌种或多门生物膜、或聚集的真菌的表面上或内部。

[0244] 16.实施方案2-13中任一者的方法，其中所述肺部感染位于痰中。

[0245] 17.实施方案9-16中任一者的方法，其中所述细菌病原体包含革兰氏阳性细菌和/或革兰氏阴性细菌中的一种或多种。

[0246] 18.实施方案9-17中任一者的方法，其中所述细菌病原体包含细菌生物膜和/或浮游细菌中的一种或多种。

[0247] 19.实施方案18的方法，其中所述方法包括以下至少一者：(i)减少细菌生物膜，(ii)削弱细菌生物膜的生长，(iii)防止细菌生物膜的初始形成，和/或(iv)防止细菌生物

膜的再形成。

[0248] 20.实施方案9-16中任一者的方法，其中所述真菌病原体包含浮游真菌和/或生物膜真菌。

[0249] 21.实施方案9-20中任一者的方法，其中所述BT组合物通过以下一者或两者来治疗、管理肺部感染或减轻肺部感染的严重性：

[0250] -防止细菌或真菌病原体的感染；和

[0251] -减少细菌或真菌病原体；和/或

[0252] -降低痰的粘度。

[0253] 22.实施方案9-20中任一者的方法，其中所述BT组合物通过以下一者或多者来治疗、管理肺部感染或减轻肺部感染的严重性：

[0254] -防止由细菌或真菌病原体加工或分泌外毒素；

[0255] -抑制细菌或真菌病原体的浮游细胞的细胞活力或细胞生长；

[0256] -抑制细菌或真菌病原体形成生物膜；

[0257] -抑制生物膜对肺组织的侵袭；

[0258] -抑制生物膜对肺组织的致病性；和

[0259] -抑制细菌或真菌病原体的生物膜形成细胞的生物膜活力或生物膜生长。

[0260] 23.实施方案9-22中任一者的方法，其中所述一种或多种病原体选自流感嗜血杆菌、铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌、沃氏葡萄球菌路邓葡萄球菌、表皮葡萄球菌、米氏/咽峡炎链球菌、化脓性链球菌、非结核分枝杆菌、结核分枝杆菌、伯克霍尔德菌属、木糖氧化无色杆菌、痰潘多拉菌、嗜麦芽窄食单胞菌、木糖氧化产碱菌、皮氏嗜血杆菌、粘质沙雷氏菌、白色念珠菌、耐药性白色念珠菌、光滑念珠菌、克鲁斯念珠菌、季也蒙念珠菌、耳念珠菌、热带念珠菌、黑曲霉、土曲霉、烟曲霉、黄曲霉、摩氏摩根菌、粘泥异地菌、解甘露醇罗尔斯通氏菌、不可靠潘多拉菌、肺炎潘多拉菌、痰潘多拉菌、噬菌蛭弧菌、支气管败血性博德特菌、噬小球藻吸血弧菌、鲍曼不动杆菌、耐金属贪铜菌、偶发贪铜菌、呼吸系统贪铜菌、食酸代尔夫特菌、皮炎外瓶霉、弗里辛恩斯草螺菌、织片草螺菌、肺炎克雷白杆菌、纽伦堡潘多拉菌、居肺潘多拉菌、门多萨假单胞菌、类产碱假单胞菌、恶臭假单胞菌、施氏假单胞菌、危险罗尔斯通氏菌、皮氏罗尔斯通氏菌、淋病奈瑟菌、NDM-1阳性大肠杆菌、阴沟肠杆菌、万古霉素抗性屎肠球菌、万古霉素抗性粪肠球菌、屎肠球菌、粪肠球菌、克林霉素抗性无乳链球菌、无乳链球菌、脆弱拟杆菌、艰难梭菌、肺炎链球菌、卡他莫拉菌、溶血性嗜血杆菌、副流感嗜血杆菌、肺炎嗜衣原体、肺炎支原体、奇异菌属、鞘氨醇单胞菌属、螺旋体菌门、纤毛菌属、二氧化碳嗜纤维菌属、奥里杆菌属、水小杆菌属、毛绒厌氧杆菌属、弯曲杆菌属、不动杆菌属、农杆菌属、博德特菌属、短波单胞菌属、金黄杆菌属、代尔夫特菌属、肠杆菌属、克雷白杆菌属、潘多拉菌属、假单胞菌属、罗尔斯通氏菌属和普雷沃菌属。

[0261] 24.实施方案23的方法，其中所述非结核分枝杆菌选自脓肿分枝杆菌、鸟分枝杆菌、细胞内分枝杆菌、偶发分枝杆菌、戈氏分枝杆菌、堪萨斯分枝杆菌、鸟分枝杆菌复合群、海洋分枝杆菌、地分枝杆菌和龟分枝杆菌。

[0262] 25.实施方案23的方法，其中所述伯克霍尔德菌属选自洋葱伯克霍尔德菌、洋葱伯克霍尔德菌复合群、多噬伯克霍尔德菌、新洋葱伯克霍尔德菌、稳定伯克霍尔德菌、越南伯克霍尔德菌、多罗萨伯克霍尔德菌、阿姆毕伯克霍尔德菌、安替那伯克霍尔德菌、吡咯伯克

霍尔德菌、唐菖蒲伯克霍尔德菌、优博伯克霍尔德菌、阿波利伯克霍尔德菌、拉特斯伯克霍尔德菌、拉塔伯克霍尔德菌、金属伯克霍尔德菌、精液伯克霍尔德菌、污染伯克霍尔德菌和弥漫性伯克霍尔德菌。

[0263] 26.实施方案23的方法，其中所述一种或多种病原体选自铜绿假单胞菌、单一耐药性铜绿假单胞菌、多重耐药性铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌、单一耐药性金黄色葡萄球菌、多重耐药性金黄色葡萄球菌、甲氧西林抗性金黄色葡萄球菌、脓肿分枝杆菌、鸟分枝杆菌、流感嗜血杆菌、洋葱伯克霍尔德菌、多噬伯克霍尔德菌、新洋葱伯克霍尔德菌、多罗萨伯克霍尔德菌、木糖氧化无色杆菌、嗜麦芽窄食单胞菌、表皮葡萄球菌和越南伯克霍尔德菌。

[0264] 27.实施方案23的方法，其中所述一种或多种病原体选自流感嗜血杆菌、铜绿假单胞菌和金黄色葡萄球菌。

[0265] 28.实施方案18、19和22中任一者的方法，其中所述一种或多种病原体选自铜绿假单胞菌、新洋葱伯克霍尔德菌、洋葱伯克霍尔德菌复合群、脓肿分枝杆菌、鸟分枝杆菌、无色杆菌属、表皮葡萄球菌、嗜麦芽窄食单胞菌和金黄色葡萄球菌的生物膜。

[0266] 29.实施方案27的方法，其中所述铜绿假单胞菌和/或金黄色葡萄球菌是多重耐药性的。

[0267] 30.实施方案9-29中任一者的方法，其中所述一种或多种病原体展现对选自阿米卡星、氨曲南、甲氧西林、万古霉素、萘夫西林、庆大霉素、氨苄西林、氯霉素、强力霉素、粘菌素、德拉马尼、普托马尼、氯法齐明、贝达喹啉和妥布霉素的抗生素的抗性或难治性。

[0268] 31.实施方案30的方法，其中所述抗生素是阿米卡星或妥布霉素。

[0269] 32.实施方案30的方法，其中所述细菌病原体是甲氧西林抗性金黄色葡萄球菌。

[0270] 33.实施方案1-32中任一者的方法，所述方法还包括向所述受试者共同施用选自阿米卡星、妥布霉素、庆大霉素、哌拉西林、美洛西林、替卡西林、亚胺培南、环丙沙星、头孢他啶、氨曲南、替卡西林-克拉维酸、双氯西林、阿莫西林、甲氧苄啶-磺胺甲噁唑、头孢氨苄、哌拉西林-他佐巴坦、利奈唑胺、达托霉素、万古霉素、甲硝唑、克林霉素、粘菌素、四环素、左氧氟沙星、阿莫西林和克拉维酸(Augmentin®)、氯唑西林、双氯西林、头孢地尼、头孢丙烯、头孢克洛、头孢呋辛、红霉素/磺胺异噁唑、红霉素、克拉霉素、阿奇霉素、强力霉素、米诺环素、替加环素、亚胺培南、美罗培南、甲磺酸粘菌素/粘菌素®、甲氧西林、苯唑西林、萘夫西林、羧苄西林、阿洛西林、哌拉西林和他唑巴坦(Zosyn®)、头孢吡肟、乙胺丁醇、利福平和美罗培南的抗生素。

[0271] 34.实施方案33的方法，其中所述抗生素选自美罗培南、头孢他啶、妥布霉素、阿米卡星、氨曲南、环丙沙星、粘菌素和左氧氟沙星。

[0272] 35.实施方案9-22中任一者的方法，其中所述真菌病原体是白色念珠菌、耐药性白色念珠菌、光滑念珠菌、克鲁斯念珠菌、季也蒙念珠菌、耳念珠菌、热带念珠菌、黑曲霉、土曲霉、烟曲霉和/或黄曲霉。

[0273] 36.实施方案1-35中任一者的方法，所述方法包括通过使用气溶胶装置经口或经鼻吸入来施用所述BT组合物。

[0274] 37.实施方案36的方法，其中所述气溶胶装置是喷雾器。

[0275] 38.实施方案36或37的方法，其中所述BT组合物是呈水溶液、水性悬浮液或干粉形

式。

[0276] 39.实施方案1-38中任一者的方法,其中所述BT组合物经局部施用于肺组织。

[0277] 40.实施方案1-39中任一者的方法,其中

[0278] 所述BT组合物以约0.25mg/mL至约15mg/mL、约0.4mg/mL至约15mg/mL、约0.6mg/mL至约15mg/mL、约0.6mg/mL至约100mg/mL、约5mg/mL至约100mg/mL、约10mg/mL至约100mg/mL、约25mg/mL至约100mg/mL、约50mg/mL至约100mg/mL、约0.8mg/mL至约15mg/mL、约1mg/mL至约10mg/mL、2.5mg/mL至约10mg/mL、约4mg/mL至约10mg/mL、约5mg/mL至约10mg/mL、约6mg/mL至约10mg/mL、0.6mg/mL至约6mg/mL、约4mg/mL至约15mg/mL、约6mg/mL至约15mg/mL、约50μg/mL至约750μg/mL、约75μg/mL至约500μg/mL、约100μg/mL至约250μg/mL、约100μg/mL至约150μg/mL或约75μg/mL至约150μg/mL的剂量施用;和/或

[0279] 施用于肺的所述BT组合物的总量是约0.25mg至约15mg、约0.4mg至约15mg、约0.6mg至约15mg、约0.8mg至约15mg、约1mg至约10mg、2.5mg至约10mg、约4mg至约10mg、约5mg至约10mg、约6mg至约10mg、0.6mg至约6mg、约4mg至约15mg、约6mg至约15mg、约50μg至约750μg、约75μg至约500μg、约100μg至约250μg、约100μg至约150μg或约75μg至约150μg。

[0280] 41.实施方案1-40中任一者的方法,其中所述BT组合物以约0.6mg/mL至约6mg/mL的剂量施用。

[0281] 42.实施方案1-41中任一者的方法,其中每天三次、每天两次、每天一次、每隔一天、每三天一次、每周一次、每隔一周一次、每月一次或每隔一月一次施用所述BT组合物。

[0282] 43.实施方案42的方法,其中每周一次施用所述BT组合物。

[0283] 44.实施方案1-43中任一者的方法,其中所述受试者的以下囊性纤维化症状中的一者或多者的严重性有所减轻:咳嗽、喘息、呼吸困难、支气管扩张、鼻息肉、咯血、呼吸衰竭和肺恶化。

[0284] 45.实施方案1-44中任一者的方法,其中所述铋-硫醇组合物包含多个包含铋-硫醇(BT)化合物的微粒,大体上所有的所述微粒均具有约0.4μm至约5μm的体积平均直径,并且其中所述BT化合物包含铋或铋盐和含硫醇化合物。

[0285] 46.实施方案45的方法,其中至少60%、65%、70、75%、80%、90%或95%的所述微粒具有约0.4μm至约3μm、或约0.5μm至约2μm、或约0.7μm至约2μm、或约0.8μm至约1.8μm、或约0.8μm至约1.6μm、或约0.9μm至约1.4μm、或约1.0μm至约2.0μm、或约1.0μm至约1.8μm的体积平均直径。

[0286] 47.实施方案45-46的方法,其中所述铋盐是硝酸铋、次硝酸铋或氯化铋。

[0287] 48.实施方案45-46的方法,其中所述含硫醇化合物包含选自1,2-乙二硫醇、2,3-二巯基丙醇、羟基吡啶硫酮、二硫赤藓糖醇、3,4二巯基甲苯、2,3-丁二硫醇、1,3-丙二硫醇、2-羟基丙硫醇、1-巯基-2-丙醇、二硫赤藓糖醇、二硫苏糖醇、半胱胺和α-硫辛酸的一种或多种剂。

[0288] 49.实施方案45-48中任一者的方法,其中所述BT组合物包含选自BisBAL、BisEDT、Bis-二巯基丙醇、BisDTT、Bis-2-巯基乙醇、Bis-DTE、Bis-Pyr、Bis-Ery、Bis-Tol、Bis-BDT、Bis-PDT、Bis-Pyr/Bal、Bis-Pyr/BDT、BisPyr/EDT、Bis-Pyr/PDT、Bis-Pyr/Tol、Bis-Pyr/Ery、铋-1-巯基-2-丙醇、BisEDT/CSTMN(1∶1)、BisPYR/CSTMN(1∶1)、BisBAL/CSTMN(1∶1)、BisTOL/CSTMN(1∶1)和Bis-EDT/2-羟基-1-丙硫醇的一种或多种BT化合物。

[0289] 50.实施方案49的方法,其中所述BT化合物选自Bis-EDT、Bis-Bal、Bis-Pyr、Bis-Ery、Bis-Tol、Bis-BDT或Bis-EDT/2-羟基-1-丙硫醇中的一者或多者。

[0290] 51.实施方案50的方法,其中所述BT化合物是BisEDT。

[0291] 52.实施方案50的方法,其中所述BT化合物是BisBDT或BisBAL。

[0292] 53.实施方案1-52中任一者的方法,其中施用于所述深肺区的所述BT组合物的总量是约0.25mg至约15mg、约0.4mg至约15mg、约0.6mg至约15mg、约0.8mg至约15mg、约1mg至约10mg、2.5mg至约10mg、约4mg至约10mg、约5mg至约10mg、约6mg至约10mg、0.6mg至约6mg、约4mg至约15mg、约6mg至约15mg、约50μg至约750μg、约75μg至约500μg、约100μg至约250μg、约100μg至约150μg或约75μg至约150μg。

[0293] 54.实施方案53的方法,其中所述深肺区是深肺肺泡。

[0294] 55.一种气溶胶,其包含在气体中的多个分散的液体微滴,所述液体微滴包含BT组合物,所述BT组合物包含悬浮于其中的至少一种BT化合物,其中所述BT化合物包含铋和/或铋盐和含硫醇化合物;并且

[0295] 其中至少60％、65％、70、75％、80％、90％或95％的所述液体微滴具有约约0.4μm至约5μm的质量中值空气动力学直径(MMAD)。

[0296] 56.实施方案55的气溶胶,其中所述液体微滴具有约0.4μm至约7μm、或约0.5μm至约5μm、或约0.7μm至约4μm、或约0.7μm至约3.5μm、或约0.8μm至约3.5μm、或约0.9μm至约3.5μm、或约0.9μm至约3μm、或约0.8μm至约1.8μm、或约0.8μm至约1.6μm、或约0.9μm至约1.4μm、或约1.0μm至约2.0μm、或约1.0μm至约1.8μm的MMAD。

[0297] 57.实施方案56的气溶胶,其中所述液体微滴具有约0.8μm至约1.6μm、或约0.9μm至约3.5μm、或约0.9μm至约3μm、或约0.9μm至约1.4μm、或约1.0μm至约2.0μm、或约1.0μm至约1.8μm的MMAD。

[0298] 58.实施方案55-57中任一者的气溶胶,其中所述多个液体微滴具有小于约5μm的D90。

[0299] 59.实施方案58的气溶胶,其中所述多个液体微滴具有小于约3μm的D90。

[0300] 60.实施方案55-59中任一者的气溶胶,其中所述多个液体微滴分散于连续的气相中。

[0301] 61.实施方案55-60中任一者的气溶胶,其中所述BT化合物包含与一种或多种含硫醇化合物共价缔合和/或呈配位络合物的铋和/或铋盐。

[0302] 62.实施方案55-61中任一者的气溶胶,其中所述铋盐是硝酸铋、次硝酸铋或氯化铋。

[0303] 63.实施方案55-62中任一者的气溶胶,其中所述含硫醇化合物包含选自1,2-乙二硫醇、2,3-二巯基丙醇、羟基吡啶硫酮、二硫赤藓糖醇、3,4二巯基甲苯、2,3-丁二硫醇、1,3-丙二硫醇、2-羟基丙硫醇、1-巯基-2-丙醇、二硫赤藓糖醇、二硫苏糖醇、半胱胺和α-硫辛酸的一种或多种剂。

[0304] 64.实施方案55-63中任一者的气溶胶,其中所述BT组合物包含选自BisBAL、BisEDT、Bis-二巯基丙醇、BisDTT、Bis-2-巯基乙醇、Bis-DTE、Bis-Pyr、Bis-Ery、Bis-Tol、Bis-BDT、Bis-PDT、Bis-Pyr/Bal、Bis-Pyr/BDT、BisPyr/EDT、Bis-Pyr/PDT、Bis-Pyr/Tol、Bis-Pyr/Ery、铋-1-巯基-2-丙醇、BisEDT/CSTMN(1∶1)、BisPYR/CSTMN(1∶1)、BisBAL/CSTMN

(1∶1)、BisTOL/CSTMN(1∶1)和Bis-EDT/2-羟基-1-丙硫醇的一种或多种BT化合物。

[0305] 65.实施方案64的气溶胶,其中所述BT化合物选自Bis-EDT、Bis-Bal、Bis-Pyr、Bis-Ery、Bis-Tol、Bis-BDT或Bis-EDT/2-羟基-1-丙硫醇中的一者或多者。

[0306] 66.实施方案65的气溶胶,其中所述BT化合物是BisEDT。

[0307] 67.实施方案55的气溶胶,其中所述质量中值空气动力学直径(MMAD)通过激光飞行时间和/或级联冲击器确定。

[0308] 68.实施方案55-67中任一者的气溶胶,其中所述BT化合物悬浮于所述液体微滴中。

[0309] 69.实施方案68的气溶胶,其中所述BT化合物是BisEDT。

[0310] 70.实施方案55-69中任一者的气溶胶,其中所述微滴还包含Tween 80(例如约0.05%至约1%)和任选地

[0311] pH约7.4的缓冲液(例如磷酸钠或柠檬酸钠);和/或

[0312] 氯化钠。

[0313] 71.实施方案55-70中任一者的气溶胶,其中如果沉积至所述深肺区,那么所述BT化合物具有至少2天的平均半衰期。

[0314] 72.实施方案71中任一者的气溶胶,其中如果沉积至所述深肺区,那么所述BT化合物具有至少4天的平均半衰期。

[0315] 73.一种治疗、管理受试者的囊性纤维化(CF)症状和感染或减轻受试者的囊性纤维化(CF)症状和感染的严重性的方法,所述方法包括向所述受试者施用包含至少一种BT化合物的铋-硫醇(BT)组合物,其中所述组合物是具有约0.4μm至约5μm的体积平均直径(VMD)和/或约0.4μm至约5μm的质量中值空气动力学直径(MMAD)的微粒的悬浮液。

[0316] 74.实施方案73的方法,其中所述BT化合物是BisEDT。

[0317] 75.实施方案74的方法,其中所述BT组合物包含浓度大于约0.1mg/mL的BisEDT、约0.05%至约1.0%Tween80®、约0.05至40mM氯化钠和任选地约2至20mM约pH.7.4的磷酸钠。

[0318] 76.实施方案75的方法,其中所述BT组合物包含浓度大于约0.25mg/mL的BisEDT、约0.5%Tween 80®、约10mM氯化钠和约10mM约pH 7.4的磷酸钠。

[0319] 77.实施方案73-76中任一者的方法,其中当所述BT组合物被雾化时,其中所述雾化的液体微滴具有约约0.4μm至约5μm的MMAD。

[0320] 78.实施方案77的方法,其中至少60%、65%、70、75%、80%、90%或95%的所述液体微滴具有约0.4μm至约7μm、或约0.5μm至约5μm、或约0.7μm至约4μm、或约0.7μm至约3.5μm、或约0.8μm至约3.5μm、或约0.9μm至约3.5μm、或约0.9μm至约3μm、或约0.8μm至约1.8μm、或约0.8μm至约1.6μm、或约0.9μm至约1.4μm、或约1.0μm至约2.0μm、或约1.0μm至约1.8μm的MMAD。

[0321] 79.实施方案78的方法,其中所述液体微滴具有约0.8μm至约1.6μm、或约0.9μm至约3.5μm、或约0.9μm至约3μm、或约0.9μm至约1.4μm、或约1.0μm至约2.0μm、或约1.0μm至约1.8μm的MMAD。

[0322] 80.实施方案77-79中任一者的方法,其中所述多个液体微滴具有小于约3μm的D90。

[0323] 81.实施方案80的方法,其中所述多个液体微滴具有小于约2μm的D90。

[0324] 82.实施方案77-81中任一者的方法,其中所述多个液体微滴分散于连续的气相中。

[0325] 83.实施方案77-82中任一者的方法,其中所述BT化合物包含与一种或多种含硫醇化合物共价缔合和/或呈配位络合物的铋和/或铋盐。

[0326] 84.实施方案77-83中任一者的方法,其中所述铋盐是硝酸铋、次硝酸铋或氯化铋。

[0327] 85.实施方案77-84中任一者的方法,其中所述含硫醇化合物包含选自1,2-乙二硫醇、2,3-二巯基丙醇、羟基吡啶硫酮、二硫赤藓糖醇、3,4二巯基甲苯、2,3-丁二硫醇、1,3-丙二硫醇、2-羟基丙硫醇、1-巯基-2-丙醇、二硫赤藓糖醇、二硫苏糖醇、半胱胺和α-硫辛酸的一种或多种剂。

[0328] 86.实施方案77-85中任一者的方法,其中所述BT组合物包含选自BisBAL、BisEDT、Bis--二巯基丙醇、BisDTT、Bis-2-巯基乙醇、Bis-DTE、Bis-Pyr、Bis-Ery、Bis-Tol、Bis-BDT、Bis-PDT、Bis-Pyr/Bal、Bis-Pyr/BDT、BisPyr/EDT、Bis-Pyr/PDT、Bis-Pyr/Tol、Bis-Pyr/Ery、铋-1-巯基-2-丙醇、BisEDT/CSTMN(1∶1)、BisPYR/CSTMN(1∶1)、BisBAL/CSTMN(1∶1)、BisTOL/CSTMN(1∶1)和Bis-EDT/2-羟基-1-丙硫醇的一种或多种BT化合物。

[0329] 87.实施方案86的方法,其中所述BT化合物选自Bis-EDT、Bis-Bal、Bis-Pyr、Bis-Ery、Bis-Tol、Bis-BDT或Bis-EDT/2-羟基-1-丙硫醇中的一者或多者。

[0330] 88.实施方案87的方法,其中所述BT化合物是BisEDT。

[0331] 89.实施方案87的方法,其中所述BT化合物是BisBDT或BisBAL。

[0332] 90.实施方案77-89中任一者的方法,其中施用于所述深肺区的所述BT组合物的总量是约0.25mg至约15mg、约0.4mg至约15mg、约0.6mg至约15mg、约0.8mg至约15mg、约1mg至约10mg、2.5mg至约10mg、约4mg至约10mg、约5mg至约10mg、约6mg至约10mg、0.6mg至约6mg、约4mg至约15mg、约6mg至约15mg、约50μg至约750μg、约75μg至约500μg、约100μg至约250μg、约100μg至约150μg或约75μg至约150μg。

[0333] 91.实施方案90的方法,其中所述深肺区是深肺肺泡。

[0334] 92.实施方案77-91中任一者的方法,其中施用于所述深肺肺泡的所述包含BisEDT的BT组合物的总量是约0.6mg至约6mg,

[0335] 93.实施方案77-92中任一者的方法,其中所述组合物通过喷雾器雾化。

[0336] 94.实施方案93的方法,其中所述喷雾器是喷射喷雾器。

[0337] 95.实施方案94的方法,其中所述喷射喷雾器是Pari LC Plus喷射喷雾器或Pari LC SPRINT喷射喷雾器。

[0338] 96.实施方案93-95中任一者的方法,其中所述喷雾器具有约10至约40psig的入口压力。

[0339] 97.实施方案93-96中任一者的方法,其中入口流量为约3L/min至约8L/min。

[0340] 98.实施方案93-97中任一者的方法,其中排气气流为约3L/min至约8L/min。

[0341] 99.一种治疗、管理与受试者的一种或多种肺部疾病或感染相关的症状和感染或减轻与受试者的一种或多种肺部疾病或感染相关的症状和感染的严重性的方法,所述方法包括向所述受试者施用包含至少一种BT化合物的铋-硫醇(BT)组合物。

[0342] 100.实施方案99的方法,其中所述一种或多种肺部疾病或感染不是囊性纤维化的结果,或者与囊性纤维化无关。

[0343] 101.实施方案99或100的方法，其中所述受试者患有至少一种肺部感染并且如果存在两种或更多种肺部感染，那么所述感染是并行的或依序的。

[0344] 102.实施方案100或101的方法，其中所述肺部感染是在一个肺中。

[0345] 103.实施方案100-102中任一者的方法，其中所述肺部感染是在两个肺中。

[0346] 104.实施方案100-103中任一者的方法，其中所述肺部感染是在所述右肺的三个肺叶中的一个或多个中。

[0347] 105.实施方案100-104中任一者的方法，其中所述肺部感染是在所述左肺的两个肺叶中的一个或两个中。

[0348] 106.实施方案100-105中任一者的方法，其中所述肺部感染是支气管扩张感染、肺炎、谷热、过敏性支气管肺曲霉病(ABPA)、呼吸机获得性肺炎、医院获得性肺炎、社区获得性肺炎、呼吸机相关的气管支气管炎、下呼吸道感染、非结核分枝杆菌、炭疽、军团病、百日咳、支气管炎、细支气管炎、COPD相关感染和肺移植后。

[0349] 107.实施方案100-106中任一者的方法，其中所述肺部感染含有一种或多种细菌或真菌病原体。

[0350] 108.实施方案101-107中任一者的方法，其中所述肺部感染是CF相关的肺部感染。

[0351] 109.实施方案108的方法，所述方法包括治疗所述CF相关的肺部感染。

[0352] 110.实施方案108的方法，所述方法包括管理所述CF相关的肺部感染。

[0353] 111.实施方案108的方法，所述方法包括减轻所述CF相关的肺部感染的严重性。

[0354] 112.实施方案100-111中任一者的方法，其中所述肺部感染位于肺粘膜、支气管和/或细支气管之中或之上。

[0355] 113.实施方案100-111中任一者的方法，其中所述肺部感染位于细菌生物膜、聚集的细菌、真菌生物膜或聚集的真菌的表面上或内部。

[0356] 114.实施方案100-111中任一者的方法，其中所述肺部感染位于痰中。

[0357] 115.实施方案107-114中任一者的方法，其中所述细菌病原体包含革兰氏阳性细菌和革兰氏阴性细菌中的一种或多种。

[0358] 116.实施方案107-115中任一者的方法，其中所述细菌病原体包含细菌生物膜和浮游细菌中的一种或多种。

[0359] 117.实施方案116的方法，其中所述方法包括以下至少一者：(i)减少细菌生物膜，(ii)削弱细菌生物膜的生长，和(iii)防止细菌生物膜的再形成。

[0360] 118.实施方案107-114中任一者的方法，其中所述真菌病原体包含浮游真菌和/或生物膜真菌。

[0361] 119.实施方案107-118中任一者的方法，其中所述BT组合物通过以下一者或两者来治疗、管理肺部感染或减轻肺部感染的严重性：

[0362] -防止细菌或真菌病原体的感染；和

[0363] -减少细菌或真菌病原体；和/或

[0364] -降低痰的粘度。

[0365] 120.实施方案107-118中任一者的方法，其中所述BT组合物通过以下一者或多者来治疗、管理肺部感染或减轻肺部感染的严重性：

[0366] -防止由细菌或真菌病原体加工或分泌外毒素；

[0367] -抑制细菌或真菌病原体的浮游细胞的细胞活力或细胞生长；

[0368] -抑制细菌或真菌病原体形成生物膜；和

[0369] -抑制细菌或真菌病原体的生物膜形成细胞的生物膜活力或生物膜生长。

[0370] 121.实施方案107-120中任一者的方法，其中所述一种或多种病原体选自流感嗜血杆菌、铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌、沃氏葡萄球菌路邓葡萄球菌、表皮葡萄球菌、米氏/咽峡炎链球菌、化脓性链球菌、非结核分枝杆菌、结核分枝杆菌、伯克霍尔德菌属、木糖氧化无色杆菌、痰潘多拉菌、嗜麦芽窄食单胞菌、木糖氧化产碱菌、皮氏嗜血杆菌、粘质沙雷氏菌、白色念珠菌、近平滑念珠菌、季也蒙念珠菌、摩氏摩根菌、粘泥异地菌、解甘露醇罗尔斯通氏菌、不可靠潘多拉菌、肺炎潘多拉菌、痰潘多拉菌、噬菌蛭弧菌、支气管败血性博德特菌、噬小球藻吸血弧菌、鲍曼不动杆菌、耐金属贪铜菌、偶发贪铜菌、呼吸系统贪铜菌、食酸代尔夫特菌、皮炎外瓶霉、弗里辛恩斯草螺菌、织片草螺菌、肺炎克雷白杆菌、纽伦堡潘多拉菌、居肺潘多拉菌、门多萨假单胞菌、类产碱假单胞菌、恶臭假单胞菌、施氏假单胞菌、危险罗尔斯通氏菌、皮氏罗尔斯通氏菌、淋病奈瑟菌、NDM-1阳性大肠杆菌、阴沟肠杆菌、万古霉素抗性屎肠球菌、万古霉素抗性粪肠球菌、屎肠球菌、粪肠球菌、克林霉素抗性无乳链球菌、无乳链球菌、脆弱拟杆菌、艰难梭菌、肺炎链球菌、卡他莫拉菌、溶血性嗜血杆菌、副流感嗜血杆菌、肺炎嗜衣原体、肺炎支原体、奇异菌属、鞘氨醇单胞菌属、螺旋体菌门、纤毛菌属、二氧化碳嗜纤维菌属、奥里杆菌属、水小杆菌属、毛绒厌氧杆菌属、弯曲杆菌属、不动杆菌属、农杆菌属、博德特菌属、短波单胞菌属、金黄杆菌属、代尔夫特菌属、肠杆菌属、克雷白杆菌属、潘多拉菌属、假单胞菌属、罗尔斯通氏菌属和普雷沃菌属。

[0371] 122.实施方案121的方法，其中所述非结核分枝杆菌选自脓肿分枝杆菌、鸟分枝杆菌、细胞内分枝杆菌、偶发分枝杆菌、戈氏分枝杆菌、堪萨斯分枝杆菌、鸟分枝杆菌复合群、海洋分枝杆菌、地分枝杆菌和龟分枝杆菌。

[0372] 123.实施方案121的方法，其中所述伯克霍尔德菌属选自洋葱伯克霍尔德菌、多噬伯克霍尔德菌、新洋葱伯克霍尔德菌、稳定伯克霍尔德菌、越南伯克霍尔德菌、多罗萨伯克霍尔德菌、阿姆毕伯克霍尔德菌、安替那伯克霍尔德菌、吡咯伯克霍尔德菌、唐菖蒲伯克霍尔德菌、优博伯克霍尔德菌、阿波利伯克霍尔德菌、拉特斯伯克霍尔德菌、拉塔伯克霍尔德菌、金属伯克霍尔德菌、精液伯克霍尔德菌、污染伯克霍尔德菌和弥漫性伯克霍尔德菌。

[0373] 124.实施方案121的方法，其中所述一种或多种病原体选自铜绿假单胞菌、单一耐药性铜绿假单胞菌、多重耐药性铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌、单一耐药性金黄色葡萄球菌、多重耐药性金黄色葡萄球菌、甲氧西林抗性金黄色葡萄球菌、脓肿分枝杆菌、鸟分枝杆菌、流感嗜血杆菌、洋葱伯克霍尔德菌、多噬伯克霍尔德菌、新洋葱伯克霍尔德菌、多罗萨伯克霍尔德菌、木糖氧化无色杆菌、嗜麦芽窄食单胞菌、表皮葡萄球菌和越南伯克霍尔德菌。

[0374] 125.实施方案121的方法，其中所述一种或多种病原体选自流感嗜血杆菌、铜绿假单胞菌和金黄色葡萄球菌。

[0375] 126.实施方案117、118或120中任一者的方法，其中所述一种或多种病原体选自铜绿假单胞菌、新洋葱伯克霍尔德菌、洋葱伯克霍尔德菌复合群、脓肿分枝杆菌、鸟分枝杆菌、无色杆菌属、表皮葡萄球菌、嗜麦芽窄食单胞菌和金黄色葡萄球菌的生物膜。

[0376] 127.实施方案125的方法，其中所述铜绿假单胞菌和/或金黄色葡萄球菌是多重耐药性的。

[0377] 128.实施方案107-127中任一者的方法，其中所述一种或多种病原体展现对选自阿米卡星、氨曲南、甲氧西林、万古霉素、萘夫西林、庆大霉素、氨苄西林、氯霉素、强力霉素和妥布霉素的抗生素的抗性或难治性。

[0378] 129.实施方案128的方法，其中所述抗生素是阿米卡星或妥布霉素。

[0379] 130.实施方案128的方法，其中所述细菌病原体是甲氧西林抗性金黄色葡萄球菌。

[0380] 131.实施方案99-130中任一者的方法，所述方法还包括向所述受试者共同施用或联合施用选自阿米卡星、妥布霉素、庆大霉素、哌拉西林、美洛西林、替卡西林、亚胺培南、环丙沙星、头孢他啶、氨曲南、替卡西林-克拉维酸、双氯西林、阿莫西林、甲氧苄啶-磺胺甲噁唑、头孢氨苄、哌拉西林-他佐巴坦、利奈唑胺、达托霉素、万古霉素、甲硝唑、克林霉素、粘菌素、四环素、左氧氟沙星、阿莫西林和克拉维酸(Augmentin®)、氯唑西林、双氯西林、头孢地尼、头孢丙烯、头孢克洛、头孢呋辛、红霉素/磺胺异噁唑、红霉素、克拉霉素、阿奇霉素、强力霉素、米诺环素、替加环素、亚胺培南、美罗培南、甲磺酸粘菌素/粘菌素®、甲氧西林、苯唑西林、萘夫西林、羧苄西林、阿洛西林、哌拉西林和他唑巴坦(Zosyn®)、头孢吡肟、乙胺丁醇、利福平和美罗培南的抗生素。

[0381] 132.实施方案131的方法，其中所述抗生素选自美罗培南、头孢他啶、妥布霉素、阿米卡星、氨曲南、环丙沙星、粘菌素和左氧氟沙星。

[0382] 133.实施方案107-120中任一者的方法，其中所述真菌病原体是白色念珠菌、耐药性白色念珠菌、光滑念珠菌、克鲁斯念珠菌、季也蒙念珠菌、耳念珠菌、热带念珠菌、黑曲霉、土曲霉、烟曲霉和/或黄曲霉。

[0383] 134.实施方案99-133中任一者的方法，所述方法包括通过使用气溶胶装置经口或经鼻吸入来施用所述BT组合物。

[0384] 135.实施方案134的方法，其中所述气溶胶装置是喷雾器。

[0385] 136.实施方案134或135的方法，其中所述BT组合物是呈水溶液或悬浮液形式。

[0386] 137.实施方案99-136中任一者的方法，其中所述BT组合物经局部施用于肺组织。

[0387] 138.实施方案99-137中任一者的方法，其中

[0388] 所述BT组合物以约0.25mg/mL至约15mg/mL、约0.4mg/mL至约15mg/mL、约0.6mg/mL至约15mg/mL、约0.6mg/mL至约100mg/mL、约5mg/mL至约100mg/mL、约10mg/mL至约100mg/mL、约25mg/mL至约100mg/mL、约50mg/mL至约100mg/mL、约0.8mg/mL至约15mg/mL、约1mg/mL至约10mg/mL、2.5mg/mL至约10mg/mL、约4mg/mL至约10mg/mL、约5mg/mL至约10mg/mL、约6mg/mL至约10mg/mL、0.6mg/mL至约6mg/mL、约4mg/mL至约15mg/mL、约6mg/mL至约15mg/mL、约50μg/mL至约750μg/mL、约75μg/mL至约500μg/mL、约100μg/mL至约250μg/mL、约100μg/mL至约150μg/mL或约75μg/mL至约150μg/mL的剂量施用；和/或

[0389] 施用于肺的所述BT组合物的总量是约0.25mg至约15mg、约0.4mg至约15mg、约0.6mg至约15mg、约0.8mg至约15mg、约1mg至约10mg、2.5mg至约10mg、约4mg至约10mg、约5mg至约10mg、约6mg至约10mg、0.6mg至约6mg、约4mg至约15mg、约6mg至约15mg、约50μg至约750μg、约75μg至约500μg、约100μg至约250μg、约100μg至约150μg或约75μg至约150μg。

[0390] 139.实施方案99-138中任一者的方法，其中所述BT组合物以约0.6mg/mL至约6mg/mL的剂量施用。

[0391] 140.实施方案99-139中任一者的方法，其中每天三次、每天两次、每天一次、每隔一天、每三天一次、每周一次、每隔一周一次、每月一次至每隔一月一次施用所述BT组合物。

[0392] 141.实施方案140的方法，其中每周一次施用所述BT组合物。

[0393] 142.实施方案99-141中任一者的方法，其中所述受试者的以下症状中的一者或多者的严重性有所减轻：咳嗽、喘息、呼吸困难、支气管扩张、鼻息肉、咯血、呼吸衰竭和肺恶化。

[0394] 143.实施方案99-142中任一者的方法，其中所述铋-硫醇组合物包含多个包含铋-硫醇(BT)化合物的微粒，大体上所有的所述微粒均具有约0.4μm至约5μm的体积平均直径，并且其中所述BT化合物包含铋或铋盐和含硫醇化合物。

[0395] 144.实施方案143的方法，其中至少60％、65％、70、75％、80％、90％或95％的所述微粒具有约0.4μm至约3μm、或约0.5μm至约2μm、或约0.7μm至约2μm、或约0.8μm至约1.8μm、或约0.8μm至约1.6μm、或约0.9μm至约1.4μm、或约1.0μm至约2.0μm、或约1.0μm至约1.8μm的体积平均直径。

[0396] 145.实施方案142-143的方法，其中所述铋盐是硝酸铋、次硝酸铋或氯化铋。

[0397] 146.实施方案142-143的方法，其中所述含硫醇化合物包含选自1,2-乙二硫醇、2,3-二巯基丙醇、羟基吡啶硫酮、二硫赤藓糖醇、3,4二巯基甲苯、2,3-丁二硫醇、1,3-丙二硫醇、2-羟基丙硫醇、1-巯基-2-丙醇、二硫赤藓糖醇、二硫苏糖醇、半胱胺和α-硫辛酸的一种或多种剂。

[0398] 147.实施方案143-146中任一者的方法，其中所述BT组合物包含选自BisBAL、BisEDT、Bis-二巯基丙醇、BisDTT、Bis-2-巯基乙醇、Bis-DTE、Bis-Pyr、Bis-Ery、Bis-Tol、Bis-BDT、Bis-PDT、Bis-Pyr/Bal、Bis-Pyr/BDT、BisPyr/EDT、Bis-Pyr/PDT、Bis-Pyr/Tol、Bis-Pyr/Ery、铋-1-巯基-2-丙醇、BisEDT/CSTMN(1∶1)、BisPYR/CSTMN(1∶1)、BisBAL/CSTMN(1∶1)、BisTOL/CSTMN(1∶1)和Bis-EDT/2-羟基-1-丙硫醇的一种或多种BT化合物。

[0399] 148.实施方案147的方法，其中所述BT化合物选自Bis-EDT、Bis-Bal、Bis-Pyr、Bis-Ery、Bis-Tol、Bis-BDT或Bis-EDT/2-羟基-1-丙硫醇中的一者或多者。

[0400] 149.实施方案148的方法，其中所述BT化合物是BisEDT。

[0401] 150.实施方案148的方法，其中所述BT化合物是BisBDT或BisBAL。

[0402] 151.实施方案99-150中任一者的方法，其中施用于所述深肺区的所述BT组合物的总量是约0.25mg至约15mg、约0.4mg至约15mg、约0.6mg至约15mg、约0.8mg至约15mg、约1mg至约10mg、2.5mg至约10mg、约4mg至约10mg、约5mg至约10mg、约6mg至约10mg、0.6mg至约6mg、约4mg至约15mg、约6mg至约15mg、约50μg至约750μg、约75μg至约500μg、约100μg至约250μg、约100μg至约150μg或约75μg至约150μg。

[0403] 152.实施方案151的方法，其中所述深肺区是深肺肺泡。

[0404] 153.实施方案55-72中任一者的气溶胶，其中至少60％、65％、70、75％、80％、90％或95％的所述微粒具有约0.6μm至约2.5μm的体积平均直径。

[0405] 154.实施方案153的气溶胶，其中大体上所有的所述微粒均具有约0.6μm至约2.5μm的VMD。

[0406] 155.实施方案55-72或153-154中任一者的气溶胶，其中至少70％的雾化颗粒具有约0.9μm至约3μm的MMAD。

[0407] 156.实施方案55-72或153-155中任一者的气溶胶,其中所述组合物是具有约0.6μm至约2.5μm的体积平均直径(VMD)和/或约0.9μm至约3μm的质量中值空气动力学直径(MMAD)的微粒的悬浮液。

[0408] 157.实施方案55-72或153-156中任一者的气溶胶,其中所述铋-硫醇组合物包含多个包含铋-硫醇(BT)化合物的微粒,大体上所有的所述微粒均具有约0.4μm至约5μm的体积平均直径,并且其中所述BT化合物包含铋或铋盐和含硫醇化合物。

[0409] 158.实施方案55-72或153-157中任一者的气溶胶,其中在将所述雾化组合物递送至受试者之后,至少60%、65%、70、75%、80%、90%或95%的所述BT化合物剂量沉积于所述肺上。

[0410] 159.实施方案158的气溶胶,其中至少80%的所述BT化合物剂量沉积于所述肺上。

[0411] 160.实施方案158的气溶胶,其中至少90%的所述BT化合物剂量沉积于所述肺上。

[0412] 161.实施方案1-54或73-152中任一者的方法,其中至少60%、65%、70、75%、80%、90%或95%的所述微粒具有约0.6μm至约2.5μm的体积平均直径。

[0413] 162.实施方案161的方法,其中大体上所有的所述微粒均具有约0.6μm至约2.5μm的VMD。

[0414] 163.实施方案1-54、73-152或161-162中任一者的方法,其中至少70%的雾化颗粒具有约0.9μm至约3μm的MMAD。

[0415] 164.实施方案1-54、73-152或161-163中任一者的方法,其中所述组合物是具有约0.6μm至约2.5μm的体积平均直径(VMD)和/或约0.9μm至约3μm的质量中值空气动力学直径(MMAD)的微粒的悬浮液。

[0416] 165.实施方案1-54、73-152或161-164中任一者的方法,其中所述铋-硫醇组合物包含多个包含铋-硫醇(BT)化合物的微粒,大体上所有的所述微粒均具有约0.4μm至约5μm的体积平均直径,并且其中所述BT化合物包含铋或铋盐和含硫醇化合物。

[0417] 166.实施方案1-54、73-152或161-165中任一者的方法,其中如果沉积至肺(例如所述深肺区),那么所述BT化合物具有至少2天的平均半衰期。

[0418] 167.实施方案166中任一者的方法,其中如果沉积至所述深肺区,那么所述BT化合物具有至少4天的平均半衰期。

[0419] 168.实施方案1-54、73-152或161-167中任一者的方法,其中在将所述雾化组合物递送至受试者之后,至少60%、65%、70、75%、80%、90%或95%的所述BT化合物剂量沉积于所述肺上。

[0420] 169.实施方案168的气溶胶,其中至少80%的所述BT化合物剂量沉积于所述肺上。

[0421] 170.实施方案168的气溶胶,其中至少90%的所述BT化合物剂量沉积于所述肺上。

[0422] 171.一种治疗、管理受试者的囊性纤维化(CF)症状和感染或减轻受试者的囊性纤维化(CF)症状和感染的严重性的方法,所述方法包括向所述受试者施用包含悬浮于其中的BisEDT的铋-硫醇(BT)组合物,其中施用所述BT组合物是通过使用气溶胶装置经口或经鼻吸入。

[0423] 172.实施方案171的方法,其中所述BT组合物包含多个微粒,其中至少70%的所述微粒具有约0.6μm至约2.5μm的体积平均直径(VMD)。

[0424] 173.实施方案172的方法,其中至少80%的所述微粒具有约0.6μm至约2.5μm的

VMD。

[0425] 174.实施方案172的方法，其中至少90％的所述微粒具有约0.6μm至约2.5μm的VMD。

[0426] 175.实施方案172的方法，其中当所述BT组合物被雾化时，至少70％的雾化液体微滴具有约约0.9μm至约3μm的质量中值空气动力学直径(MMAD)。

[0427] 176.实施方案173的方法，其中当所述BT组合物被雾化时，至少80％的雾化液体微滴具有约约0.9μm至约3μm的MMAD。

[0428] 177.实施方案174的方法，其中当所述BT组合物被雾化时，至少90％的雾化液体微滴具有约约0.9μm至约3μm的MMAD。

[0429] 178.实施方案171的方法，其中所述BT组合物包含浓度大于约0.1mg/mL的BisEDT、约0.05％至约1.0％Tween80®、约0.05至40mM氯化钠和任选地约2至20mM约pH.7.4的磷酸钠。

[0430] 179.实施方案171的方法，其中如果沉积至所述深肺区，那么所述BisEDT化合物具有约4天的平均半衰期。

[0431] 180.实施方案171的方法，其中所述受试者患有含有一种或多种细菌病原体和/或真菌病原体的至少一种肺部感染。

[0432] 181.实施方案180的方法，其中所述方法包括以下至少一者：(i)减少细菌生物膜，(ii)削弱细菌生物膜的生长，(iii)防止所述细菌生物膜的初始形成，和/或(iv)防止所述细菌生物膜的再形成。

[0433] 182.实施方案180的方法，其中所述一种或多种病原体选自流感嗜血杆菌、铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌、沃氏葡萄球菌路邓葡萄球菌、表皮葡萄球菌、米氏/咽峡炎链球菌、化脓性链球菌、非结核分枝杆菌、结核分枝杆菌、伯克霍尔德菌属、木糖氧化无色杆菌、痰潘多拉菌、嗜麦芽窄食单胞菌、木糖氧化产碱菌、皮氏嗜血杆菌、粘质沙雷氏菌、白色念珠菌、耐药性白色念珠菌、光滑念珠菌、克鲁斯念珠菌、季也蒙念珠菌、耳念珠菌、热带念珠菌、黑曲霉、土曲霉、烟曲霉、黄曲霉、摩氏摩根菌、粘泥异地菌、解甘露醇罗尔斯通氏菌、不可靠潘多拉菌、肺炎潘多拉菌、痰潘多拉菌、噬菌蛭弧菌、支气管败血性博德特菌、噬小球藻吸血弧菌、鲍曼不动杆菌、耐金属贪铜菌、偶发贪铜菌、呼吸系统贪铜菌、食酸代尔夫特菌、皮炎外瓶霉、弗里辛恩斯草螺菌、织片草螺菌、肺炎克雷白杆菌、纽伦堡潘多拉菌、居肺潘多拉菌、门多萨假单胞菌、类产碱假单胞菌、恶臭假单胞菌、施氏假单胞菌、危险罗尔斯通氏菌、皮氏罗尔斯通氏菌、淋病奈瑟菌、NDM-1阳性大肠杆菌、阴沟肠杆菌、万古霉素抗性屎肠球菌、万古霉素抗性粪肠球菌、屎肠球菌、粪肠球菌、克林霉素抗性无乳链球菌、无乳链球菌、脆弱拟杆菌、艰难梭菌、肺炎链球菌、卡他莫拉菌、溶血性嗜血杆菌、副流感嗜血杆菌、肺炎嗜衣原体、肺炎支原体、奇异菌属、鞘氨醇单胞菌属、螺旋体菌门、纤毛菌属、二氧化碳嗜纤维菌属、奥里杆菌属、水小杆菌属、毛绒厌氧杆菌属、弯曲杆菌属、不动杆菌属、农杆菌属、博德特菌属、短波单胞菌属、金黄杆菌属、代尔夫特菌属、肠杆菌属、克雷白杆菌属、潘多拉菌属、假单胞菌属、罗尔斯通氏菌属和普雷沃菌属。

[0434] 183.一种气溶胶，其包含在气体中的多个分散的液体微滴，所述液体微滴包含BT组合物，所述BT组合物包含悬浮于其中的BisEDT化合物；并且

[0435] 其中至少70％的所述液体微滴具有约约0.9μm至约3μm的MMAD。

[0436] 184.实施方案183的气溶胶,其中在雾化之前,所述BT组合物包含多个微粒,其中至少70%的所述微粒具有约0.6μm至约2.5μm的VMD。

[0437] 185.实施方案183的气溶胶,其中至少80%的所述液体微滴具有约约0.9μm至约3μm的MMAD。

[0438] 186.实施方案183的气溶胶,其中至少90%的所述液体微滴具有约约0.9μm至约3μm的MMAD。

[0439] 187.实施方案185的气溶胶,其中在雾化之前,所述BT组合物包含多个微粒,其中最少80%的所述微粒具有约0.6μm至约2.5μm的VMD。

[0440] 188.实施方案186的气溶胶,其中在雾化之前,所述BT组合物包含多个微粒,其中最少90%的所述微粒具有约0.6μm至约2.5μm的VMD。

[0441] 189.实施方案183的气溶胶,其中所述微滴还包含Tween 80(例如约0.05%至约1%)和任选地pH约7.4的缓冲液(例如磷酸钠或柠檬酸钠);和/或氯化钠。

[0442] 190.实施方案183的气溶胶,其中如果沉积至所述深肺区,那么所述BisEDT化合物具有超过2天的平均半衰期。

[0443] 191.实施方案183的气溶胶,其中如果沉积至所述深肺区,那么所述BisEDT化合物具有约4天的平均半衰期。

[0444] 193.一种包含铋-硫醇(BT)组合物的药物组合物,所述铋-硫醇(BT)组合物包含悬浮于其中的BisEDT,其中所述BT组合物包含多个微粒,其中所述微粒的D90小于或等于1.9μm。

[0445] 194.一种包含铋-硫醇(BT)组合物的药物组合物,所述铋-硫醇(BT)组合物包含悬浮于其中的BisEDT,其中所述BT组合物包含多个微粒,其中所述微粒的D90小于或等于约1.6μm。

[0446] 195.实施方案193的药物组合物,其中至少70%的所述微粒具有约0.6μm至约2.5μm的体积平均直径。

[0447] 196.实施方案193的药物组合物,其中至少90%的所述微粒具有约0.6μm至约2.5μm的体积平均直径。

[0448] 197.一种治疗、管理与受试者的一种或多种肺部疾病或感染相关的症状和感染或减轻与受试者的一种或多种肺部疾病或感染相关的症状和感染的严重性的方法,所述方法包括向所述受试者施用包含BisEDT的铋-硫醇(BT)组合物,其中所述BT组合物包含多个微粒,其中至少70%的所述微粒具有约0.6μm至约2.5μm的体积平均直径,并且其中当所述BT组合物被雾化时,至少70%的雾化液体微滴具有约约0.9μm至约3μm的MMAD。

[0449] 198.实施方案197的方法,其中所述一种或多种肺部疾病或感染不是囊性纤维化的结果,或者与囊性纤维化无关。

[0450] 199.实施方案198的方法,其中所述肺部感染是支气管扩张感染、肺炎、谷热、过敏性支气管肺曲霉病(ABPA)、呼吸机获得性肺炎、医院获得性肺炎、社区获得性肺炎、呼吸机相关的气管支气管炎、下呼吸道感染、非结核分枝杆菌、炭疽、军团病、百日咳、支气管炎、细支气管炎、COPD相关感染和肺移植后。

[0451] 实施例

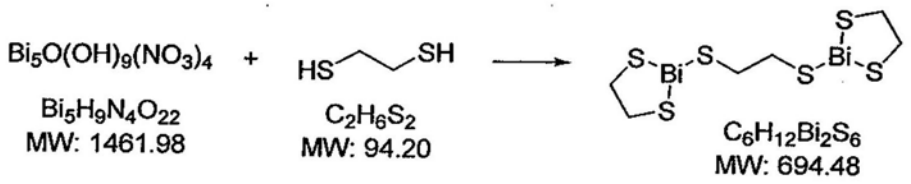
[0452] 提供以下实施例以说明本公开,并且不应将其解释为对本公开的限制。额外实验

程序和细节可以发现于国际专利申请号PCT/US2010/023108、PCT/US2011/023549和PCT/US2011/047490中，所述国际专利申请出于所有目的由此以引用的方式整体并入。

[0453] 实施例1:Bis-EDT的一般合成

[0454] 用于制备这些化合物的起始材料和试剂可以从商业供应商如Aldrich Chemical Co.,Bachem等获得，或者可以通过本领域中众所周知的方法制备。必要时，所述反应的起始材料和中间体和最终产物可以使用包括但不限于过滤、蒸馏、结晶、色谱等的常规技术进行分离和纯化，并且可以使用包括物理常数和光谱数据在内的常规方式进行表征。除非另有规定，否则本文所述的反应在大气压下在约-78℃至约150℃的温度范围内发生。

[0455]



[0456] 如下制备微粒铋-1,2-乙二硫醇(Bis-EDT,可溶性铋制剂)：在搅拌下通过逐滴添加向室温下在15L聚丙烯carboy中的过量(11.4L)5%HNO_3水溶液中缓慢地添加0.331L(约0.575摩尔)Bi$(NO_3)_3$水溶液(43%Bi$(NO_3)_3$(w/w)、5%硝酸(w/w)、52%水(w/w)，Shepherd Chemical Co.,Cincinnati,OH,产品号2362;δ～1.6g/mL)，随后缓慢添加无水乙醇(4L)。形成一些白色沉淀物，但通过继续搅拌使其溶解。通过使用60mL注射器向1.5L无水乙醇中添加72.19mL(0.863摩尔)1,2-乙二硫醇并且接着搅拌持续五分钟单独地制备1,2-乙二硫醇(CAS 540-63-6)的乙醇溶液(约1.56L,约0.55M)。接着在五个小时的过程中通过逐滴添加将所述1,2-乙二硫醇/EtOH试剂缓慢地添加至Bi$(NO_3)_3$/HNO_3水溶液中，同时继续搅拌过夜。使形成的产物以沉淀物形式沉降持续大约15分钟，接着使用蠕动泵以300mL/min去除滤液。所述产物接着通过在15-cm直径布氏漏斗中的细滤纸上过滤加以收集，并且依序用三种各500-mL体积的乙醇、USP水和丙酮洗涤以获得呈黄色非晶粉末状固体的BisEDT(694.51g/摩尔)。所述产物放置于500mL琥珀色玻璃瓶中，并在高真空下在$CaCl_2$上干燥持续48小时。回收的材料(产量约200g)发出硫醇特有的气味。将粗产物再溶解于750mL无水乙醇中，搅拌持续30min，接着过滤并且依序用3x50mL乙醇、2x50mL丙酮洗涤，并且再次用500mL丙酮洗涤。再洗涤的粉末在1M NaOH(500mL)中湿磨，过滤并且用3x220mL水、2x50mL乙醇和1x400mL丙酮洗涤以获得156.74g纯化的BisEDT。以基本上相同的方式制备的后续批料产生约78-91%的产率。

[0457] 通过分析来自^{1}H和^{13}C核磁共振(NMR)、红外光谱法(IR)、紫外光谱法(UV)、质谱法(MS)和元素分析的数据，将所述产物表征为具有上文所示的结构。开发HPLC方法以确定BisEDT的化学纯度，从而在DMSO(0.5mg/mL)中制备样品。通过在190与600nm之间扫描BisEDT于DMSO中的溶液来确定λ_{max}。在环境温度下，在Waters(Millipore Corp.,Milford,MA)2695型号色谱仪上，在0.1%甲酸/乙腈:水(9:1)流动相中以1mL/min执行等度HPLC洗脱，所述色谱仪具有在265nm(λ_{max})下监测的UV检测器，2μL注射体积，装备有YMCPack PVC Sil NP,5μm,250X4.6mm内径分析柱(Waters)，并且检测到一个单峰，反映了100±0.1%的化学纯度。元素分析与如上文所示的BisEDT的结构一致。

[0458] 对干燥的微粒物质进行表征以评估粒径特性。简单地说，使微粒再悬浮于2%

Pluronic®F-68(BASF,Mt.Olive,NJ)中,并且所述悬浮液在水浴声波仪中以标准设置进行声波处理持续10分钟,接着使用Nanosizer/Zetasizer Nano-S颗粒分析仪(ZEN1600型号(无ζ电位测量能力),Malvern Instruments,Worcestershire,UK)根据制造商的建议进行分析。根据两次测量的汇总数据,微粒展现单峰分布,其中所有可检测事件的体积平均直径(VMD)均在约0.6微米与4微米之间,并且在约1.3微米下具有峰值VMD。

[0459] 实施例2:制备微粒铋-1-2-乙二硫醇(Bis-EDT)

[0460] 如下制备微粒铋-1,2-乙二硫醇(Bis-EDT):水(25.5L)和70%硝酸(1800mL)在Nalgene反应器中混合在一起。接着,水(2300mL)添加至锥形烧瓶中,随后添加次硝酸铋(532g),并且搅拌所述混合物。向所述混合物中添加70%硝酸(750mL)以获得澄清溶液。将这一溶液转移至所述Nalgene反应器中,并且所得混合物搅拌持续20min。接着,9.5L 95% EtOH分成三份添加至所述反应器中。

[0461] 单独地,将98%1,2-乙二硫醇(229mL)添加至一个瓶中,接着在搅拌下添加两份250mL EtOH。在搅拌下将另外5L EtOH添加至所述瓶中。接着在搅拌下经约4小时将所述1,2-乙二硫醇溶液添加至所述反应器中。在搅拌持续18小时之后,使固体沉降持续2小时。添加EtOH(20L),并且所述混合物搅拌持续24小时。使固体沉降持续1.5小时,接着通过过滤所述混合物加以分离,随后用EtOH冲洗。

[0462] 向空的反应器中添加9L EtOH和过滤的固体,搅拌持续18小时。使固体沉降持续1小时,接着通过过滤所述混合物加以分离,随后用EtOH冲洗。接着,向空的反应器中装入9L 99.5%丙酮和过滤的固体,搅拌持续15小时。使固体沉降持续1.5小时,接着通过过滤所述混合物加以分离,随后用丙酮冲洗。再次向空的反应器中装入9L99.5%丙酮和过滤的固体,搅拌持续1.4小时。固体过滤并且风干持续69小时,接着真空干燥持续4小时。在混合固体之后,所述固体通过10目(2mm)筛并且接着通过18目(1mm)筛进行筛分以生成BisEDT。

[0463] 实施例3:合成额外铋硫醇化合物

[0464] 还可以根据实施例1和2的方法制备以下铋硫醇化合物:

[0465]

铋-2,3-二巯基丙醇(2:3摩尔比,BisBAL)
铋-4-甲基-1,2-苯二硫醇(2:3摩尔比,BisTOL)
铋-2,3-丁二硫醇(BisBDT)

[0466] 实施例4:CF吸入剂的制剂

[0467] 目的:本研究的目的是针对啮齿动物开发用于BisEDT的仅鼻用吸入暴露的方法。由BisEDT在水性介质(含0.5%Tween 80的磷酸钠缓冲液,pH 7.4)中的悬浮液制剂产生气溶胶。产生气溶胶,用商业的压缩空气喷射喷雾器进入啮齿动物仅鼻用吸入暴露系统中。悬浮液制剂通过用纯API和含0.5%Tween 80的磷酸钠缓冲液(pH 7.4)进行声波处理而产生。通过将媒介物调节至300mOsmol/kg的重量渗透浓度,对这一制剂进行进一步精制。对气溶胶的粒径分布和气溶胶浓度进行表征。气溶胶浓度通过气溶胶过滤器样品的质量差和化学分析来确定。

[0468] 对于一种BisEDT制剂,评估的悬浮液浓度在2.5与100mg/mL之间,并且分别介于18.5至719μg/L范围内。用新的BisEDT制剂执行进一步测试,并且2.5mg/mL、10mg/mL、50mg/mL和100mg/mL的悬浮液浓度分别产生18.4、97.7、159和1300μg/L的气溶胶浓度。随着悬浮液浓度从约1μm增加至3.5μm MMAD,粒径增加,这对于啮齿动物吸入暴露来说是可呼吸的。

[0469] 为了支持大鼠的潜在剂量范围发现研究，通常建议仅鼻用吸入暴露在30与180分钟之间。因此，这些悬浮液制剂的肺部沉积剂量范围是在42μg/kg与17.5mg/kg之间。适当地，可以调节悬浮液浓度和/或暴露时间以调节肺部沉积剂量。

[0470] 材料和方法：BisEDT-原样使用铋乙二硫醇BisEDT的两个单独批料。方法开发的初始阶段用批号ED268-1-11-01执行，并且最后阶段用批号XL-47-125执行，所述批号已经发货准备用于暴露。两种材料的表现略有不同，需要暴露时间的最终确定的变化。

[0471] 气溶胶方法：制剂-在含0.5％Tween 80的磷酸钠缓冲液(pH 7.4)中制备BisEDT的悬浮液制剂。通过用Covaris声波仪进行声波处理来制备2.5、10、25、50、75和100mg/mL的悬浮液。在以后的测试中，用氯化钠调节媒介物以实现300mOsmol/kg的重量渗透浓度。制备2.5、50和100mg/mL的悬浮液。

[0472] 气溶胶递送系统：图1示出在这些测试中使用的气溶胶产生和暴露系统的示意图。气溶胶是通过使用Pari LC Plus压缩空气喷射喷雾器(Pari Respiratory Equipment Inc.,Midlothian,VA)在20psi的入口压力下产生的。所述气溶胶转换至用约8.5L/min的入口气流和约7.1L/min的排气气流操作的啮齿动物仅鼻用吸入暴露系统中。由所述喷雾器产生的气溶胶被递送至一层仅鼻用绕流吸入暴露系统。

[0473] 通过将所述气溶胶收集至47-mm过滤器(Whatman GF/A膜过滤器)上，在所述暴露系统的呼吸区测量气溶胶浓度。以0.3L/min的标称流动速率收集过滤器样品。通过所述过滤器样品的差重分析来确定气溶胶质量浓度。接着将过滤器转移至分析化学实验室，以使用HPLC进行分析。分析化学方法的细节包括于分析方法ACM-1046-0(通过HPLC-UV确定制剂和过滤器提取物中的BisEDT)中。

[0474] 粒径分布测量：通过使用In-Tox Mercer 2.0L/min级联冲击器(In-Tox,LLC,Moriarty,NM)来测量针对暴露的粒径分布。

[0475] 沉积剂量的计算：前两个方程分别用于计算所呈递的气溶胶剂量和理论沉积剂量。在这些计算中，使用大鼠的平均气溶胶浓度(化学)以及预计的体重。

[0476] $$D_P\,[mg\,kg^{-1}] = \frac{AC[mg\,L^{-1}]RMV\,[L\,min^{-1}]T\,[min]}{BW\,[kg]}$$

[0477] $$D_D\,[mg\,kg^{-1}] = \frac{AC[mg\,L^{-1}]RMV\,[L\,min^{-1}]T\,[min]\,DF}{BW\,[kg]}$$

[0478] $RMV = 0.608BW^{0.852}$

[0479] 其中：D_P：所呈递的剂量；D_D：沉积剂量；AC：气溶胶暴露浓度；RMV：每分钟呼吸量(Alexander.DJ等人，2008.Inhal Toxicol.；20(13)：1179-89)；T：暴露时间；BW：体重；DF：肺沉积分数(假设10％，Tepper等人，2016Int J Toxicol；35(4)：376-392)；时间在30与180分钟之间变化。

[0480] 结果

[0481] 气溶胶浓度和粒径：表1中示出第一种BisEDT制剂(批号ED268-1-11-01)的平均总气溶胶浓度、BisEDT气溶胶浓度和针对制剂的粒径。表2中示出第二种BisEDT制剂(批号XL-47-125)的类似表。图2中示出通过级联冲击器取得的针对2.5mg/mL浓度的粒径分布的示例

直方图。通过APS取得的针对25、50、75和100mg/mL浓度的粒径分布的示例直方图分别在图3、图4、图5和图6中示出。对第二种BisEDT制剂的大小分布的重复测试分别针对100mg/mL、50mg/mL、10mg/mL和2.5mg/mL描绘于图7、图8、图9和图10中。

[0482] 表1.针对BisEDT(批号ED268-1-11-01)的悬浮液气溶胶测试的概述

[0483]

制剂(mg/mL)	总气溶胶浓度(mg/L)	BisEDT 气溶胶浓度(μg/L)	粒径(GSD)*
1		9.9	1.65 (1.6) μm
2.5	0.116	18.5	0.97 (3.0) μm
10	0.184	80.7	N/A
25	0.441	87.9 (64.4)+	2.98 (1.8) μm
50	0.599	156	2.83 (1.9) μm
75	0.618	530	3.16 (1.70) μm
100	0.816	719	3.53 (1.71) μm
100*	0.731	568	3.60 (1.71) μm

[0484] *除2.5mg/mL制剂外，用APS收集所有粒径数据

[0485] +:对于25mg/mL溶液中的一种过滤器，化学提取产生小于预期浓度的BisEDT。64.4μg/L是所有提取浓度的平均值，而87.9μg/L是排除这一异常值的平均值。

[0486] 表2.针对使用300mOsmol/kg媒介物的BisEDT(批号XL-47-125)的悬浮液气溶胶测试的概述

[0487]

制剂(mg/mL)	总气溶胶浓度(mg/L)	BisEDT 气溶胶浓度(μg/L)	粒径(GSD)
100	1.535	1300	2.90 (1.67) μm
100	1.404	N/A	2.60 (1.65) μm
50	0.711	159	2.79 (1.69) μm
10	0.332	97.7	1.61 (1.65) μm
2.5	0.175	18.4	1.44 (1.71) μm

[0488] 表1和表2中的气溶胶是用Pari LCPlus®Performance喷雾器产生的。所述喷雾器用1.2巴压缩机测试；用Malvern MasterSizer X在50％相对湿度、0.9NaCl溶液、20L/min吸气流量、23℃下连续喷雾和2.5mL填充体积下测量。

[0489] 肺部沉积剂量:肺部沉积剂量可以通过气溶胶浓度和/或暴露时间加以调节。对于啮齿动物仅鼻用吸入暴露，通常针对在30与180分钟之间的暴露时间。使用所述气溶胶的性能和上述肺剂量方程，第一种BisEDT制剂的肺部沉积剂量范围将在42μg/kg与9.6mg/kg之间。第二种制剂在沉积BisEDT方面更有效，并且能够提供高达17.5mg/kg的剂量。

[0490] 开发了用于BisEDT的配制和气溶胶产生的方法。所述方法支持在42μg/kg与17.5mg/kg之间的肺部沉积剂量。这些暴露条件适合于啮齿动物吸入暴露。

[0491] 实施例5:体外研究

[0492] 这一实施例描述一系列实验，从而评估了开发铋-硫醇、尤其BisEDT作为用于治疗CF相关的肺部感染的吸入药物产品的适宜性和可行性。测试了CF相关范围的传染性细菌病原体(包括此类病原体的高度抗性菌株和生物膜形成菌株)对铋-硫醇的易感性。另外，进行

了针对肺气道上皮细胞的毒性的体外评估。

[0493] 针对多种最具临床挑战性、高度抗性CF分离株，用两种铋-硫醇化合物进行标准化的微生物易感性测试。使用大肠杆菌(25922)和金黄色葡萄球菌(29213)的ATCC菌株标准化MIC测试。

[0494] 这一测试的结果证实，BisEDT对包括氨基糖苷抗性和MDR铜绿假单胞菌、新洋葱伯克霍尔德菌、无色杆菌属和嗜麦芽窄食单胞菌在内的所测试的所有CF分离株均始终有效，其中所有受试生物均证实小于1μg/mL的MIC(参见图12)。

[0495] 为了扩展这一范围，将所测试的细菌扩展至包括更多的伯克霍尔德菌属，以及测试更宽范围的CF分离株和抗生素抗性菌株。

[0496] 包括鸟分枝杆菌和脓肿分枝杆菌的多种CF分离菌株；这有助于了解针对非结核分枝杆菌(NTM)的活性。这项研究的结果如下所示。评估了两种不同的铋-硫醇化合物，包括BisEDT和BisBDT。发现鸟分枝杆菌分离株具有最高的MIC，不过BisEDT证实针对这些NTM细菌的MIC低于BisBDT。发现具有较大临床相关性的CF分离株(包括脓肿分枝杆菌属和伯克霍尔德菌属)对BisEDT和BisBDT的易感性均始终高得多。这项研究证实，针对NTM和伯克霍尔德菌属的CF分离株的MIC数据非常引人注目，因为很少有商业抗生素具有这种水平和活性谱。

[0497]

表 3A：针对细菌菌株的 BisEDT 和 BisBDT MIC

菌株名称	*菌种*	菌株特征	BisEDT MIC (μg/mL)	BisBDT MIC (μg/mL)
MAC101	*鸟分枝杆菌*	MAC 参考菌株，来自 HIV 患者的血液分离株	2	1
AMT 0193-13	*鸟分枝杆菌*	MAC CF 分离株，大环内酯-S	8	>16
AMT 0119-8	*鸟分枝杆菌*	MAC CF 分离株，大环内酯-S	8	>16
BC 5	*多噬伯克霍尔德菌*(洋葱复合群)	CF 分离株，β 内酰胺-S，TMP/SMX-S，FQ-I	1	2
PC 213	*洋葱伯克霍尔德菌复合群*(未进一步种特异化)	CF 分离株，β 内酰胺-S，TMP/SMX-S，FQ-S	0.25	1
BC 9	*洋葱伯克霍尔德菌复合群*(未进一步种特异化)	CF 分离株，β 内酰胺-S，TMP/SMX-S，FQ-R	0.5	0.5
BC 17	*洋葱伯克霍尔德菌*(洋葱复合群)	CF 分离株，β 内酰胺-R，TMP/SMX-R，FQ-R	8	4
BC 11	*多罗萨伯克霍尔德菌*(洋葱复合群)	CF 分离株，β 内酰胺-R，TMP/SMX-S，FQ-R	0.125	0.5
ATCC 19977	*脓肿脓肿分枝杆菌*	ATCC 模式菌株	0.5	0.25
AMT 0136-10	*脓肿伯克霍尔德菌复合群*	MABSC CF 分离株，大环内酯-R，阿米卡星-R	0.125	0.0625
AMT 0089-5	*脓肿伯克霍尔德菌复合群*	MABSC CF 分离株，大环内酯-R，阿米卡星-R	0.25	0.125
AMT 0166-29	*脓肿伯克霍尔德菌复合群*	MABSC CF 分离株，大环内酯-R，阿米卡星-R	0.125	0.125
AMT 0157-14	*脓肿伯克霍尔德菌复合群*	MABSC CF 分离株，大环内酯-R，阿米卡星-I	0.125	0.125
AMT 0130-8	*脓肿伯克霍尔德菌复合群*	MABSC CF 分离株，大环内酯-S，阿米卡星-I	0.125	0.0625
AMT 0153-9	*脓肿伯克霍尔德菌复合群*	MABSC CF 分离株，大环内酯-S，阿米卡星-I	0.25	0.125
AMT 0068-40	*脓肿伯克霍尔德菌复合群*	MABSC CF 分离株，大环内酯-S，阿米卡星-I	0.25	0.125
AMT 0119-7	*脓肿伯克霍尔德菌复合群*	MABSC CF 分离株，大环内酯-S，阿米卡星-I	0.125	0.125
AMT 0493-2	*脓肿伯克霍尔德菌复合群*	MABSC CF 分离株，大环内酯-S，阿米卡星-R	0.5	0.5

[0498]

表 3B：针对对照细菌菌株的 BisEDT 和 BisBDT MIC

用于控制药物活性的 ATCC 菌株	预期结果：目标(可接受范围) mcg/mL		
(参见在每一种分析设置下所测量的 MIC 的详细数据)		**BisEDT MIC**	**BisBDT MIC**
ATCC 27853	*铜绿假单胞菌*	1-2 (0.5-4)	NA
(ATCC 25922)	*大肠杆菌*	1 (0.5-2)	NA
ATCC 29213	*金黄色葡萄球菌*	0.25-0.5 (0.125-1)	0.25 (0.125-0.5)

[0499] 关于对完全分化的人气道上皮的潜在细胞毒性，对BisEDT进行对照体外评估。由Epithelix评估BisEDT的溶解形式和固体(粉末/微粒)形式的细胞毒性，Epithelix是一家合同研究组织(CRO)，专门研究利用专有的体外完全分化的人气道上皮测试系统(MucilAir™)进行的这种形式的细胞毒性评估。所述MucilAir系统有助于通过LDH释放(来自培养基侧)和来自顶面/空气暴露侧的跨上皮电阻(TEER)两者以及形态变化的暴露前和暴露后显微镜检查来评估细胞毒性(图13)。

[0500] 关于六种浓度的溶解的BisEDT的评估，在四个不同的时间点(长达48小时)未注意到细胞形态的变化，也未注意到LDH释放和TEER的变化，这指示在所有时间点均未观察到毒性效应，甚至在30uM(20.83ug/mL，比新近得到的MIC高大约20-347倍，针对包括脓肿分枝杆

菌(包括阿米卡星抗性和克拉霉素/大环内酯抗性菌株)、伯克霍尔德菌属(包括β-内酰胺、氟喹诺酮和磺胺甲噁唑抗性菌株)、铜绿假单胞菌(包括多重耐药性(MDR)菌株)、无色杆菌属、嗜麦芽窄食单孢菌和金黄色葡萄球菌(包括MRSA))在内的大多数测试的CF细菌分离株的最高测试浓度下。20.83μg/mL的最高测试浓度也比鸟分枝杆菌的MIC高大约2.5-10倍,在任何测试的CF分离株中相对于BisEDT,其相对地具有最高MIC。另外,由于即使使用最高浓度的溶解的BisEDT也未证实毒性的迹象,有可能还可以证实更高的浓度是无毒的/安全的/耐受性良好的。

[0501] 关于稀释于作为载体的右旋糖苷中的五种浓度的微粒BisEDT的评估(重量/面积),较低的两种浓度在四个不同的时间点(长达48小时)并未产生细胞形态的变化,也未注意到LDH释放和TEER的变化,这指示在四个时间点中的任一点均未观察到毒性效应。

[0502] 关于形态,较高的三种浓度证实了在较高的两种浓度中更加明显的变化。关于较高的三种浓度,在这些浓度中的任一浓度下在1小时时间点关于TEER均未注意到显著影响,但在8、24和48小时之时注意到TEER的显著影响,关于所有三种最高浓度均发生组织完整性的丧失。同样,使用较低的两种浓度在任何时间点均未注意到对LDH释放的影响,关于较高的三种浓度在1小时之时也未注意到对LDH释放的影响;但超过1小时时间点后,存在LDH释放的时间和剂量依赖性增加和TEER的减少,指示在这些条件下具有细胞毒性。值得注意的是在1期人临床研究中,高达2500μg/cm^2(比333μg/cm^2高约8倍,这一体外研究中测试的最高浓度)的浓度当经局部施用于人时耐受性良好持续6小时,并且高达75μg/cm^2(在33.3μg/cm^2与333μg/cm^2之间的中间值)的浓度当经局部施用于人,超过21天持续暴露于正常和破损皮肤时是被耐受的。这指示体外模型条件可能比体内生理条件对所述微粒形式敏感得多,因此过度代表了所述微粒形式的细胞毒性的真实风险。然而,在这种体外细胞毒性模型中测试的两种形式的BisEDT(微粒抑或溶解的)的最高无毒浓度均提供有效抵抗广谱抗生素抗性、难以治疗的CF细菌病原体所需的MIC的25-345倍。

[0503] 这项研究的数据证实,BisEDT的溶解形式在预期临床剂量的足够倍数下是安全的。

[0504] BT化合物针对CF分离株生物膜的活性

[0505] 测试了BT化合物针对由CF分离株生长的生物膜的活性。MR14是铜绿假单胞菌的多重耐药性(MDR)CF分离株。在25ng/mL下发生从2log(MB-6)至4log(MB-1-B3)的生物膜细胞活力降低(图14)。先前已有文献报告所述铋-硫醇化合物在亚抑制浓度下用0.25μg/mL进行24小时治疗时具有抗生物膜效应。科学文献中没有可比的化合物。

[0506] AG14是铜绿假单胞菌的氨基糖苷抗性CF-分离株。在0.25μg/mL下发生从2log(MB-6)至大约3.5log(MB-1-B3)的生物膜细胞活力降低。再次用0.25μg/mL进行24小时治疗时,抗生物膜活性达到非常高的水平(6log降低);这种有效的活性水平很可能是所述铋-硫醇化合物所独有的(图15)。

[0507] 结合起来,针对假单胞菌生物膜(MR14和AG14)的测试结果证实,针对抗生素抗性和多重耐药性(MDR)铜绿假单胞菌的抗生物膜活性达到了很高、可能独特的水平;这可以代表治疗与囊性纤维化相关的肺部感染的重要的新治疗活性和临床策略。

[0508] AU197是新洋葱伯克霍尔德菌的CF分离株。虽然在这种情况下,在亚抑制水平下未发生抗生物膜活性(如同铜绿假单胞菌的先前实施例),但这一水平的抗生物膜活性(在2.5

μg/mL的BisEDT浓度下6log降低)还是非常有效的,并且很可能在治疗上可以实现(图16)。

[0509] AMT0130-8代表临床上相关的MABSC的CF分离株,经常使CF肺部感染的治疗复杂化。在这种情况下,虽然BisBDT证实了生物膜细胞活力的仅非常适度的降低,但BisEDT再次证实了在2.5μg/mL下的6log降低,以及从2.5ng/mL至2.5μg/mL的剂量反应。有趣的是,对于BisBDT(0.0625μg/mL)来说,针对这种菌株的MIC证实了低于BisEDT(0.125μg/mL),而BisEDT的抗生物膜活性明显证实有效得多-虽然不出意外地在不同的铋-硫醇化合物之间看到此类活性差异,但这种特定的MABSC菌株明显在技术上难以操作(参见图下方的要点注释),这也可能已经解释了此类(表观)活性差异(图17)。

[0510] AMT0089-5是一种大环内酯抗性、阿米卡星抗性MABSC。MABSC的此类抗生素抗性菌株介入CF患者的肺部感染是极成问题的。此处,虽然BisEDT在2.5μg/mL浓度下显示活的生物膜细胞的2.5log降低,但BisBDT证实在2.5μg/mL浓度下使活的生物膜细胞降低6log(图18)。

[0511] ATCC-19977是脓肿分枝杆菌(大环内酯抗性;可诱导)。证实了在2.5μg/mL下显示活的生物膜细胞的3log降低的剂量反应ATCC-19977是脓肿分枝杆菌(大环内酯抗性;可诱导)。下文证实剂量反应,在2.5μg/mL下具有活的生物膜细胞的3log降低(图19)。

[0512] 未观察到所述铋-硫醇对由MABSC CF分离株形成的生物膜具活性,不过这种菌株生长非常缓慢,可能必需较长时间暴露于所述铋-硫醇化合物才能证实活性(图20)。

[0513] 无色杆菌属在高达250μg/mL的BisEDT和BisBDT浓度下进行测试,所述浓度导致活的生物膜细胞的5log降低。两种化合物显然也引起剂量反应(图21)。

[0514] 不幸的是,铋-硫醇化合物针对嗜麦芽窄食单胞菌均无明显活性(图22)。

[0515] 最后,当针对大肠杆菌进行测试时,在两种化合物的最高浓度下也证实了抗生物膜活性(5log降低)(图23)。

[0516] 已证实BisEDT和BisBDT均针对脓肿分枝杆菌、MDR铜绿假单胞菌、无色杆菌属和伯克霍尔德菌属具有极低的MIC值。如前,使用ATCC对照菌株来标准化数据。然而,在这种评估中,所述铋-硫醇与阿米卡星和克拉霉素(临床上重要的大环内酯抗生素)进行头对头比较。从下文表4中的这一数据可以看出,与阿米卡星和克拉霉素两者相比,所述铋-硫醇明显且始终更有效(最显著是考虑MABSC菌株ATCC 19977时,所述菌株被诱导为大环内酯抗性)。

[0517]

表 4A：常规抗生素对 BisEDT 和 BisBDT 针对细菌菌株的活性的比较

MIC结果的概述 菌株名称	菌种	特殊菌株特性(如果有)	MIC (mcg/mL) 阿米卡星	MIC (mcg/mL) 克拉霉素	MIC (mcg/mL) Bis-EDT	MIC (mcg/mL) Bis-BDT
ATCC 19977	脓肿分枝杆菌/马赛分枝杆菌复合群	大环内酯抗性(可诱导)	8 [2]	>32 [2]	0.06 [2]	<0.03 [2]
AMT0130-8	脓肿分枝杆菌/马赛分枝杆菌复合群		16 [2]	1	0.06 [2]	<0.03 [2]
AMT153-9	脓肿分枝杆菌/马赛分枝杆菌复合群		32 [2]	2	0.13 [2]	<0.03 [2]
AMT0068-40	脓肿分枝杆菌/马赛分枝杆菌复合群		32 [2]	1	0.25 [2]	0.06 [2]
AMT0119-7	脓肿分枝杆菌/马赛分枝杆菌复合群		32 [2]	1	0.06 [2]	<0.03 [2]
AMT0493-2	脓肿分枝杆菌/马赛分枝杆菌复合群	阿米卡星抗性	>64 [2]	2	0.5 [2]	0.125 [2]
AGR1	铜绿假单胞菌		16	na	1	1
AGR14	铜绿假单胞菌	多重耐药性	>64	na	0.5	1
MR14	铜绿假单胞菌	多重耐药性	>64	na	1	1
SM21	嗜麦芽窄食单胞菌		64	na	0.25	0.12
AX1	无色杆菌属		64	na	1	1
AX4	木糖氧化产碱菌		>64	na	0.25	0.5
BC5b	多噬伯克霍尔德菌(洋葱伯克霍尔德菌复合群)		>64	na	0.25	1
BC15	新洋葱伯克霍尔德菌(洋葱伯克霍尔德菌复合群)		>64	na	2	4
BC17	洋葱伯克霍尔德菌(洋葱伯克霍尔德菌复合群)		>64	na	8	8
AU197	新洋葱伯克霍尔德菌(洋葱伯克霍尔德菌复合群)		>64	na	0.5	4

表 4B：针对对照细菌菌株的 BisEDT 和 BisBDT MIC

ATCC 或用于控制药物活性的其他菌株 (参见在每一种分析设置下所测量的 MIC 的详细数据)		**预期结果(可接受范围) mcg/mL (根据 CLSI M100-S24 或由 Microbion 提供)**			
		阿米卡星	**克拉霉素**	**BisEDT**	**BisBDT**
菌株	**菌种**				
ATCC 29213	*金黄色葡萄球菌*	2 (1-4)	0.25 (0.12-0.5)	0.25-0.5 (0.13-1)	0.25 (0.12-0.5)
ATCC 25922	*大肠杆菌*	1-2 (0.5-4)	na	1 (0.5-2)	na

[0518] BT化合物对完全分化的人气道上皮(MucilAir™)的细胞毒性的影响的评估

[0519] 这项研究的目的是评估BisEDT对气道上皮的潜在局部毒性效应。所述项目分为2

个阶段:研究1:呈溶解状态的BisEDT的急性毒性测试;研究2:呈固体形式的BisEDT的急性毒性测试。

[0520] 本研究中使用的分析系统是Epithelix的专有技术MucilAir™。MucilAir™是人气道上皮的完全分化并且即用型3D模型,由从鼻、气管或支气管活组织检查新鲜分离的原代人上皮细胞构成。MucilAir™(图24)不仅在形态上和功能上分化,而且可以长期维持稳态(Huang等人,2009)。

[0521] MucilAir™由基底细胞、纤毛细胞和粘液细胞构成。与体内观察到的细胞类型相比,这些不同细胞类型的比例得以保留(Huang等人,2011)。此外,上皮从去分化的细胞开始。所述细胞随时间经历渐进分化。在培养45天之后,上皮完全纤毛化,分泌粘液并且被电气密封(TEER＞200Ω.cm^2)。主上皮离子通道(如CFTR、EnaC、Na/KATP酶)的活性是保留的,并且示出上皮以调节的和矢量方式回应于促发炎刺激物TNF-α(Huang等人,2011)。在MucilAir™中已经检测到一大组的细胞因子、趋化因子和金属蛋白酶(例如IL-8、IL-6、GM-CSF、MMP-9、GRO-α)。

[0522] 呈溶解状态的BisEDT的急性毒性测试

[0523] 这一阶段的目的是评估呈溶解状态的BisEDT一旦涂覆于完全分化的人气道上皮的3D模型(MucilAir™)中的顶端表面处在1、8、24和48小时后的潜在急性毒性。

[0524] 表5:患者信息

[0525]

批号	患者年龄	患者性别	培养年龄	特殊评论
MD014101	38岁	ND	105天	正常供体

[0526] 表6:测试材料

[0527]

识别名	浓度	媒介物	溶解度
BisEDT (MB-1-B3)	0.001、0.01、0.1、1、10、30 μM	含 0.5% DMSO 的缓冲生理盐水	很好

[0528] 在1、8、24和48小时内,将BisEDT(MB-1-B3)涂覆于MucilAir™的顶端表面上(图13)。研究了6种浓度的影响:0.001、0.01、0.1、1、10和30μM。所述化合物稀释于具有0.5%DMSO的缓冲生理盐水溶液(NaCl 0.9%-1.25mM $CaCl_2$-10mM HEPES)中。将30μl所选浓度的溶液涂覆于MucilAir™的顶端表面上。阴性对照对应于媒介物溶液(0μM)和未处理的培养物。阳性对照对应于在缓冲生理盐水溶液中稀释的50μl至10%Triton X-100。所述研究一式三份进行。

[0529] 在研究期间,插入物维持于CO_2孵育器(37℃,5%CO_2,100%湿度)中。确定以下端点:

[0530] ■组织完整性监测:在D0、D1和D2的跨上皮电阻(TEER)测量(定量)。

[0531] ■细胞毒性监测:在D0、D1和D2的LDH测试(定量)。

[0532] ■形态:在D0、D1和D2在对比显微镜下检查的细胞和组织完整性。

[0533] 在所述实验之前三天,对每个上皮执行以下质量控制:

[0534] ●洗涤:插入物用200μlMucilAir™培养基洗涤。洗涤会去除组织表面上积聚的粘液,所述粘液可能干扰测试。

[0535] ●跨上皮电阻(TEER):测量TEER以验证所有选择的插入物均具有紧密的上皮屏

障，并且在施加测试材料之前，组织本身未受到破坏。

[0536] ●组织形态：在常规倒置显微镜下检查每个插入物，以确保上皮的质量并且定性确定纤毛运动是可见的。通过所述顶端表面的折射示象检测粘液的存在。

[0537] 结果

[0538] 下图中的误差棒是指平均值的标准误差(SEM)。所有比较均是与阴性对照(媒介物溶液，0μM)相对比。

[0539] 在暴露之前：在常规倒置显微镜下检查每个插入物，以确保上皮的质量。对于所有选择的插入物，纤毛的移动是清晰可见的。通过所述顶端表面的折射示象检测粘液的存在。

[0540] 在暴露之后：关于媒介物对照以及所有测试浓度和时间点均未观察到形态变化。

[0541] 细胞毒性评估：图25示出在1、8、24和48小时暴露时的细胞毒性百分率(LDH测量)。对照(0μM，媒介物溶液)对应于LDH的生理释放(<5%)。在所有测试浓度下并且在所有时间点暴露于BisEDT之后，LDH释放未发生改变。因此，未观察到毒性效应。

[0542] 组织完整性评估：图26示出在D1对TEER的监测。应该注意的是，TEER是一个动态参数，可能受到多种因素影响。离子通道活性的减少可以导致TEER的增加，并且离子通道的激活可以减少TEER值。当上皮受损时，TEER的减少将与LDH释放的增加相关。在所有测试浓度和时间点，BisEDT均未显示对TEER的显著影响。

[0543] 呈固体形式的BisEDT的急性毒性测试：第1组实验

[0544] 这项研究的目的是评估呈固体形式的BisEDT(0.033、0.33、3.33、33.3、333μg/cm^2)一旦涂覆于完全分化的人气道上皮的3D模型(MucilAir™)的顶端表面处在1、8、24和48小时暴露后的潜在急性毒性。

[0545] 表7：组织(患者信息)

[0546]

批号	患者年龄	患者性别	培养年龄	特殊评论
MD014101	38岁	ND	119天	正常供体

[0547] 表8：测试材料

[0548]

识别名	浓度	媒介物
MB-1-B3	0.033、0.33、3.33、33.3、333 μg/cm^2	右旋糖苷粉末(C60)参考：Pharmacosmos 5510 0060 1007

[0549] 化合物BisEDT涂覆于MucilAir™的顶端表面上。研究在1、8、24和48小时暴露之后5种浓度的影响：0.033、0.33、3.33、33.3、333μg/cm^2。所述化合物以目标浓度稀释于右旋糖苷粉末中并且进行压制以便获得片剂。所述研究一式三份进行。在研究期间，插入物维持于CO_2孵育器(37℃，5%CO2，100%湿度)中。在1小时和24小时暴露之后执行粘膜纤毛清除分析。

[0550] 质量控制和顶端表面的洗涤：在所述实验之前三天，对每个上皮执行以下质量控制：

[0551] ●洗涤：插入物用200μl MucilAir™培养基洗涤。洗涤会去除组织表面上积聚的粘液，所述粘液可能干扰测试。

[0552] ●跨上皮电阻(TEER)：测量TEER以验证所有选择的插入物均具有紧密的上皮屏障，并且在施加测试材料之前，组织本身未受到破坏。

[0553] ●组织形态:在常规倒置显微镜下检查每个插入物,以确保上皮的质量并且定性确定纤毛运动是可见的。通过所述顶端表面的折射示象检测粘液的存在。

[0554] 结果

[0555] 下图中的误差棒是指平均值的标准误差(SEM)。所有比较均是与阴性对照(载体,右旋糖苷)相对比。

[0556] 在暴露之前:在常规倒置显微镜下检查每个插入物,以确保上皮的质量。对于所有选择的插入物,纤毛的移动是清晰可见的。通过所述顶端表面的折射示象检测粘液的存在。

[0557] 在暴露之后:关于未处理和媒介物对照均未观察到形态变化。

[0558] ●0.033和0.33μg/cm^2:未观察到形态改变。

[0559] ●3.33μg/cm^2:在暴露之后24和48h,顶端涂覆的片剂在上皮上的溶解很差。细胞在插入物的周围变圆并且不透明。逐渐地,细胞彼此脱离。观察到来自基底侧的培养基出现于顶端表面上。

[0560] ●33.3和333μg/cm^2:在暴露之后8、24和48h,顶端涂覆的片剂在上皮上的溶解很差。细胞在插入物上变圆并且不透明。逐渐地,细胞彼此脱离。培养基泄漏至顶面。

[0561] 细胞毒性评估:图27示出在D1的细胞毒性百分率(LDH测量)。对照(右旋糖苷)对应于LDH的生理释放(<5%)。在0.033和0.33μg/cm^{2}下,在所有测试时间点,LDH释放均未受到显著影响。在3.3;33.3和333μg/cm^{2}下观察到时间和剂量相关性细胞毒性。

[0562] 组织完整性评估:图28示出在D1对TEER的监测。应该注意的是,TEER是一个动态参数,可能受到多种因素影响。离子通道活性的减少可以导致TEER的增加,并且离子通道的激活可以减少TEER值。当上皮受损时,TEER的减少将与LDH释放的增加相关。在0.033和0.33μg/cm^{2}下,在所有测试时间点,均未观察到对TEER的显著影响。在1小时暴露之后,在所有测试剂量下均未观察到对TEER的显著影响。在8、24和48H暴露之后,在3.33、33.3和333μg/cm^{2}下观察到组织完整性丧失。

[0563] 呈固体形式的BisEDT的急性毒性测试:第2组实验

[0564] 这一阶段的目的是评估呈固体形式的BisEDT(在1μg/cm^{2}下)一旦涂覆于完全分化的人气道上皮的3D模型(MucilAir™)中的顶端表面处在1、8、24和48小时后的潜在急性毒性。

[0565] 表9:患者信息

[0566]

批号	患者年龄	患者性别	培养年龄	特殊评论
MD014101	38岁	ND	125天	正常供体

[0567] 表10:化合物信息

[0568]

识别名	浓度	媒介物
MB-1-B3	1 μg/cm^2	右旋糖苷粉末(C60) 参考: Pharmacosmos 5510 0060 1007

[0569] 测试策略和方案:化合物BisEDT涂覆于MucilAir™的顶端表面上。研究在1、8、24和48小时暴露之后1μg/cm^{2}浓度的影响。所述化合物以目标浓度稀释于右旋糖苷粉末中并且进行压制以便获得片剂。所述研究一式三份进行。在研究期间,插入物维持于CO^{2}孵育器(37℃,5%CO2,100%湿度)中。在1小时和24小时暴露之后执行粘膜纤毛清除分析。

[0570] 质量控制和顶端表面的洗涤:在所述实验之前三天,对每个上皮执行以下质量控制:

[0571] ●洗涤:插入物用200μl MucilAir™培养基洗涤。洗涤会去除组织表面上积聚的粘液,所述粘液可能干扰测试。

[0572] ●跨上皮电阻(TEER):测量TEER以验证所有选择的插入物均具有紧密的上皮屏障,并且在施加测试材料之前,组织本身未受到破坏。

[0573] ●组织形态:在常规倒置显微镜下检查每个插入物,以确保上皮的质量并且定性确定纤毛运动是可见的。通过所述顶端表面的折射示象检测粘液的存在。

[0574] 结果

[0575] 下图中的误差棒是指平均值的标准误差(SEM)。所有比较均是与阴性对照(载体右旋糖苷)相对比。

[0576] 形态

[0577] 形态,在暴露之前:在常规倒置显微镜下检查每个插入物,以确保上皮的质量。对于所有选择的插入物,纤毛的移动是清晰可见的。通过所述顶端表面的折射示象检测粘液的存在。

[0578] 形态,在暴露之后:关于未处理和媒介物对照均未观察到形态变化。1μg/cm^2:在1小时和8小时暴露之后,未观察到重要的形态变化。在24h暴露之后,3个插入物中的2者上的上皮细胞死亡。48h之后,所有3个插入物上的上皮细胞均死亡。

[0579] 细胞毒性评估:图29表示在D1的细胞毒性百分率(LDH测量)。对照(右旋糖苷)对应于LDH的生理释放(<5%)。在1小时暴露之后,在1μg/cm^{2}下对LDH释放无显著影响。在暴露之后8、24和48h观察到时间依赖性和剂量依赖性细胞毒性。

[0580] 组织完整性评估:图30表示在D1对TEER的监测。应该注意的是,TEER是一个动态参数,可能受到多种因素影响。离子通道活性的减少可以导致TEER的增加,并且离子通道的激活可以减少TEER值。当上皮受损时,TEER的减少将与LDH释放的增加相关。

[0581] 在1小时暴露之后,在1μg/cm^{2}下未观察到对TEER的显著影响。在8、24和48H暴露之后,在1μg/cm^{2}下观察到组织完整性丧失。在48H暴露之后,上皮不再紧致。

[0582] 结论

[0583] 这项研究的目的是评估BisEDT在液体或固体溶液总对气道上皮的潜在局部毒性效应。为了评估BisEDT暴露对在气液界面处培养的完全分化的人鼻上皮的潜在影响,进行两组实验,即在液体溶液中的BisEDT或呈固体形式的BisEDT。

[0584] 一般说来,在本研究中,在不同的测试浓度(0.001、0.01、0.1、1、10、30μM)和时间暴露(1、8、24和48小时)下,在液体溶液中的BisEDT化合物均未显示在气道上皮上的局部毒性。未观察到对上皮的形态、对TEER和LDH释放的影响。

[0585] 当所述化合物在低剂量(针对1、8、24和48小时暴露为0.033和0.33μg/cm^2)下以固体形式涂覆时,获得相似结果。然而,在1和3.33μg/cm^{2}下,BisEDT在24h和48h暴露时诱导细胞毒性,这通过LDH释放的增加和TEER值的降低来证实。对于较高的浓度(33.3、333μg/cm^2),观察到强烈毒性以及大量LDH释放、非常低的TEER值和重要的形态变化。

[0586] 参考文献

[0587] Huang,S;Caul-Futy,M;“A novel in vitro cell model of the human airway

epithelium"3R-Info-Bulletin No.41,October 2009.

[0588] Huang,S.,Wiszniewski,L.,&Constant,S.(2011).The use of in vitro 3D cell models in drug development for respiratory diseases.Drug Discovery and Development-Present and Future

[0589] 实施例6:痰研究

[0590] 在三口囊性纤维化患者痰存在下,用BisEDT和BisBDT执行细菌杀死曲线,以便确定测试化合物是否可能被痰灭活。所述分析描述于King P、Lomovskaya O、Griffith DC、Bums JL、Dudley MN.In vitro pharmacodynamics of levofloxacin and other aerosolized antibiotics under multiple conditions relevant to chronic pulmonary infection in cystic fibrosis.Antimicrob Agents Chemother,54:143-8,2010中。

[0591] 在适当IRB批准后,从近期无抗生素暴露的囊性纤维化(CF)患者志愿者收集痰。通过UV照射对痰进行灭菌,并且通过培养来确认灭菌。使用铜绿假单胞菌菌株PA01的过夜培养物在阳离子调节的Mueller-Hinton肉汤或阳离子调节的Mueller-Hinton肉汤加上10%CF患者痰中接种新鲜培养物。药物添加至具有及不具有的痰的个别培养管中,其最终浓度如下:

[0592] BisEDT:0.1μg/mL、2μg/mL和20μg/mL

[0593] BisBDT:0.1μg/mL、4μg/mL和20μg/mL

[0594] 1μg/mL妥布霉素用作比较药物对照,已知其被患者的痰部分地灭活。在37℃下在振荡下孵育培养物并且每小时取出等分试样,以通过连续稀释并且接种于胰蛋白酶大豆琼脂上持续总计6小时来定量菌落形成单位/mL(CFU/mL)。板在37℃下孵育过夜之后,对CFU计数。

[0595] 如预期执行这一分析的对照。在额外药物不存在下向细菌培养物中添加无菌患者痰,PA01的生长未由此明显受到抑制或增强(图31,闭合圆和开口圆)。如所示,痰部分地抑制妥布霉素的细菌杀死活性,与不含痰的培养物相比,在含痰培养物中,在大多数时间点高大约0.5-1log CFU/mL。

[0596] 基于这一分析,CF患者的痰似乎部分地抑制BisEDT的杀细菌活性(图32)。BisEDT在0.1μg/mL下针对PA01不具有杀细菌性。使用2μg/mL BisEDT时,痰的添加会在3至6小时内使杀死降低大约1-2log CFU/mL。当BisEDT的浓度进一步增加至20μg/mL时,痰对细菌杀死的抑制不太明显,其中在早期时间点(1-3小时),在痰存在下的杀死仅比不含痰的培养物落后0.5-1log CFU/mL。最终,以这一最高剂量进行测试时,含痰培养物中的细菌比不含痰的样品早1小时降低至检测极限以下,表明在较高的药物浓度下,极大地克服了痰对BisEDT的抑制。

[0597] 同样,CF患者的痰似乎部分地抑制BisBDT的杀细菌活性(图33)。BisBDT在0.1μg/mL下针对PA01不具有杀细菌性。在痰不存在下,4μg/mL BisBDT证实针对PA01的杀细菌活性非常慢,其中在6小时分析中仅杀死约1log;含痰培养物证实在3-6小时的存活率提高大约0.5-0.8log CFU/mL。在所测试的最高BisBDT浓度20μg/mL下,在添加痰后1-2小时,PA01的杀死存在初始滞后性,但截至5小时之时,含及不含痰的样品均被灭菌至检测极限以下。

[0598] 在这一分析中,化合物BisEDT和BisBDT均针对铜绿假单胞菌菌株PA01具有杀细菌

性，并且在CF患者痰存在下，这种杀菌活性部分地受到抑制。通过增加测试化合物的浓度可以克服对杀细菌活性的这种部分抑制。因此，与不含痰的身体隔室相比，在其中存在痰的区域中可能需要较高浓度的铋-硫醇化合物。

[0599] 实施例7：铋硫醇和比较物针对流感嗜血杆菌临床分离株的体外活性

[0600] 在这一实施例中，评估了三种铋硫醇化合物针对流感嗜血杆菌的活性，流感嗜血杆菌是包括肺炎、中耳炎、结膜炎和脑膜炎在内的呼吸系统疾病的流行病原体。

[0601] 测试和对照剂：测试化合物(BisEDT，和类似物BisBDT/PYR和BisEDT/PYR)从Micromyx发货并且存储于-20℃下直至进行分析。所有测试化合物的溶剂均为100％DMSO，储备液浓度为2560μg/mL，并且测试范围为64-0.06μg/mL。在用于自动灭菌之前，使所有储备溶液静置至少一小时。

[0602] 比较药物由Micromyx提供。供应商、批号、稀释剂、储备液浓度和测试范围如下：

[0603]

测试/对照剂	供应商	批号	稀释剂	储备溶液的浓度(μg/mL)	测试范围(μg/mL)
阿奇霉素	USP	JOI240	DMSO	2560	64-0.06
氨苄西林	Sigma	BCBF0407V	Sorenson 缓冲液 pH 7.5	1280	32-0.03
呋肟头孢菌素	Sigma	031M0823V	dH_2O	2560	64-0.06

[0604]

左氧氟沙星	Sigma	BCBC2112V	DMSO	2560	64-0.06 1-0.001

[0605] 测试生物

[0606] 测试生物维持在-80℃下冷冻。所述生物最初是从美国菌种保存中心(American Type Culture Collection)或从临床实验室获得。分离株在巧克力琼脂板(Remel；Lenexa，KS)上继代培养，并且在35℃和5％CO_2下孵育过夜。出于比较化合物的质量控制的目的，测试流感嗜血杆菌ATCC 49247。

[0607] 最小抑菌浓度(MIC)分析培养基：如临床实验室标准研究所(Clinical Laboratory Standards Institute)(CLSI；1)所推荐，用于肉汤微量稀释MIC分析的培养基是嗜血杆菌测试培养基(HTM；Remel；Lenexa，KS；目录号R112380；批号056737)。

[0608] 肉汤稀释最低抑制浓度(MIC)分析程序：使用如CLSI(1，2)所推荐的肉汤微量稀释方法确定MIC值。使用自动液体处理机(Multidrop 384，Labsystems，Helsinki，Finland；Biomek 2000和Biomek F/X，Beckman Coulter，Fullerton CA)进行连续稀释并且进行液体转移。

[0609] 在Multidrop 384上的第2-12列中，用150μL适当溶剂填充标准96孔微量稀释板(Costar 3795；Coming Inc.；Coming，NY)的孔。这个板用于制备药物“母板”，所述“母板”为重复的“子板”提供连续药物稀释液。使用Biomek2000从母板的第1列的孔中转移150μl每种储备溶液，以进行10次后续的2倍连续稀释。第12列的孔不含药物并且是生物生长对照孔。每个母板具有创建总计15个子板的能力。

[0610] 子板使用Multidrop 384装载185μL HTM。子板的孔最终含有185μL HTM、5μL药物溶液和10μL接种物。所述子板是在BiomekF/X仪器上制备的，所述仪器在单一步骤中将来自

所述母板的每个孔的5μL药物溶液转移至每个子板的每个相应的孔中。

[0611] 根据CLSI方法(1)制备每种生物的标准化接种物。将每种生物的接种物分配至按长度划分的无菌贮器(Beckman Coulter)中,并且使用Biomek2000接种所述板。将子板反向放置于Biomek2000工作面上,以便从低药物浓度至高药物浓度进行接种。所述Biomek 2000将10μL标准化接种物递送至每个孔中。这些稀释液在子板中产生大约5.0x105个菌落形成单位/mL的最终细胞浓度。

[0612] 将板堆叠成三层高,在顶板上盖上盖子,放置于塑料袋中,并在35℃下孵育持续大约24h。在孵育后,从孵育器中取出所述微板并使用板观察器从底部进行观察。观察未接种的溶解度对照板来寻找药物沉淀的证据。读取MIC并且将其记录为抑制生物的显著可见生长的最低药物浓度。

[0613] 结果

[0614] 对未接种的药物溶解度板的检查揭露了在测试浓度范围内所评估的剂中的任一者均未沉淀。针对流感嗜血杆菌ATCC 49247,经过评估的比较物在适用时具有在通过CLSI(2)确立的针对质量控制的可接受范围内的MIC。

[0615] 所有铋硫醇测试化合物均对所有评估的流感嗜血杆菌菌株具有活性,无论所述菌株对其他剂的抗性如何,包括呈β-内酰胺酶阴性、氨苄西林抗性(BLNAR)的分离株。BisEDT和类似物BisEDT/PYR和BisBDT/PYR的MIC均在研究中所评估的最低浓度(<0.06μg/mL)处或低于研究中所评估的最低浓度(<0.06μg/mL)。这一活性大于阿奇霉素(2μg/mL的MIC_{50}和MIC_{90})、氨苄西林(2μg/mL的MIC_{50}和4μg/mL的MIC_{90})和头孢呋辛(4μg/mL的MIC_{50}和16μg/mL的MIC_{90})。出于质量控制的目的降至0.001μg/mL加以测试的左氧氟沙星具有0.015μg/mL的MIC_{50}和MIC_{90}。由于所述铋硫醇化合物在这项研究中从0.06-64μg/mL加以测试,并且其MIC<0.06μg/mL,尚未知晓其活性是否超过一般具有0.015μg/mL的MIC的左氧氟沙星的活性。

[0616] 这项研究证实了所测试的铋硫醇化合物针对流感嗜血杆菌的高度效力,其水平超过氨苄西林、阿奇霉素和头孢呋辛的水平。这一活性说明流感嗜血杆菌包括在内,作为体外针对这类新颖治疗剂显示的广谱活性的一部分。

[0617] 参考文献

[0618] 1.)Clinical and Laboratory Standards Institute.Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically;Approved Standard-Ninth Edition.Clinical and Laboratory Standards Institute document M07-A9[ISBN 1-56238-784-7].Clinical and Laboratory Standards Institute,940 West Valley Road,Suite 1400,Wayne,Pennsylvania 19087-1898 USA,2012.

[0619] 2.)Clinical and Laboratory Standards Institute.Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing;Twenty-Second Informational Supplement.CLSI document M100-S22 [ISBN 1-56238-786-3].Clinical and Laboratory Standards Institute,940 West Valley Road,Suite 1400,Wayne,Pennsylvania 19087 USA,2012.

[0620] 实施例8:体内研究

[0621] 目的:本研究的主要目的是评估F344大鼠在仅鼻用吸入暴露后对BisEDT(Dalton

Pharma Services;批号ED268-1-11-01,存储于室温下)的耐受性。动物将暴露于不同浓度(低、中等、高)下持续长达180分钟。将在预定的时间点收集血液以分析BisEDT的全身存在。在研究结束时(暴露后24h),动物将被安乐死并且经历尸检,在尸检时肺将被灌洗并收集以备潜在的未来分析。还将收集额外的呼吸道相关组织,如鼻腔、喉、咽、鼻咽、气管、支气管和隆突。灌洗液将针对临床化学和血液学参数(包括细胞计数和差异)进行分析。还将收集肝、肾、食道、胃、小肠和大肠以备潜在的未来分析。

[0622] 动物:由Charles River Labs,Wilmington,MA提供的雄性和雌性F344大鼠用于这项研究中。所述大鼠在到达时大约7-9周龄并且在研究启动时大约8-10周龄。个别动物的体重是组平均值的±20%。动物将通过针对体重、随机化和治疗施用的数字尾标(用难擦掉的墨水,如Sharpie®制成)独特地加以识别。彩色编码的笼卡也将放置于笼中。订购了总计四十(40)只雄性和雌性F344大鼠(20M/20F)(包括备用大鼠)用于所述研究。三十六(36)只动物被随机分成3个研究组,每个研究组由每组12只动物(6M/6F)组成。剩余4只动物(2M 12F)是备用大鼠。从隔离区中取出后,三十六(36)只大鼠将根据体重分层被随机分成3个研究组,每个研究组由每组12只动物(6M/6F)组成。未使用的备用大鼠将被安乐死或转让至另一获得批准的研究方案。在开始暴露之前,动物将用仅鼻用暴露管进行训练。

[0623] 畜牧业:动物将被圈养于具有Alpha Dri或硬木屑垫料的聚碳酸酯鞋盒笼中持续最少7天,每个笼子多达2只。笼框和垫料经高压灭菌。在注射之前,动物至少一次被引入至将用于尾静脉给药的约束管。动物饲料是2016C Harlan Global Certified Rodent Chow(Harlan Tekland,Madison,WI),除了研究程序期间无限制取用。每批饲料都由制造商进行污染物分析,并将在制造商指定的保质期内加以使用。向动物提供市政用水(在5、1和0.2p.m进行过滤),除了研究程序期间无限制取用。本研究仅使用健康的动物。实验室动物兽医或操作者对动物进行视觉检查,接着解除隔离。

[0624] 环境条件:动物室环境和光周期的目标条件将如下:温度:18-26℃;湿度:30-70%;光周期:12-h。光、湿度和温度漂移是定义为持续读数离开规定范围持续超过3个小时。

[0625] 实验设计:这一研究的实验设计是:第一组:低剂量;吸入;6只雄性和6只雌性;暴露后0.5、2h和8h以及24h(终末)进行血液收集;和吸入后24小时进行尸检。第2组:中等剂量;吸入;6只雄性和6只雌性;暴露后0.5、2h和8h以及24h(终末)进行血液收集;和吸入后24小时进行尸检。第3组:高剂量;吸入;6只雄性和6只雌性;暴露后0.5、2h和8h以及24h(终末)进行血液收集;和吸入后24小时进行尸检。在隔离期之后,将动物称重并随机分成研究组。动物被分成3组,每组由每组6M和6F组成。各组暴露于三种不同剂量水平的BisEDT。初始暴露是100mg/mL的制剂浓度持续60分钟的暴露时间;基于方法发展,预计这将产生3mg/kg的剂量。暴露的最大持续时间为180分钟,并且最大制剂浓度为100mg/mL。

[0626] 暴露后,在暴露后0.5、2和8小时对每种性别2只动物执行非终末血液收集。在研究结束时(暴露后24h),动物被安乐死并经历尸检。右肺被灌洗,速冻,并收集以备潜在的未来分析。左肺被速冻以备潜在的未来分析。收集额外的呼吸道相关组织,如鼻腔、喉、咽、鼻咽、气管、支气管和隆突。灌洗液针对临床化学和血液学参数(包括细胞计数和差异)进行分析。收集肝、肾、食道、胃、小肠和大肠以备潜在的未来分析。这些器官组织样品被速冻并存储直至研究完成。灌洗液针对临床病理学和血液学(包括细胞计数和差异)进行分析。尸检时也

收集了最大全血收集量。血样针对临床化学和血液学进行分析，以及对等分试样进行速冻以用于BisEDT的潜在分析。

[0627] 吸入暴露：BisEDT(铋-1,2-乙二硫醇)的初始暴露是配制为以100mg/mL悬浮于含0.5%Tween 80、pH 7.4的10mM磷酸钠的NaCI中的溶液(调节至大约300mOsm)。用以20psi的入口压力操作的商业压缩空气喷射喷雾器Pad LC Plus产生气溶胶。示意图在图1中示出。所述气溶胶转换至啮齿动物仅鼻用吸入暴露系统中。所述暴露系统用-5.2L/min的入口气流和-5L/min的排气气流操作。这导致0.31L/min进入每个端口，略大于大鼠的每分钟呼吸量的1.5倍。

[0628] 暴露浓度和粒径监测：通过收集至GF/a过滤器上，监测呼吸区的气溶胶浓度。通过质量差和和本领域中已知的其他方法分析所述过滤器。使用TSI Aerodynamic Particle Sizer(型号3321,TSI,Inc.,Shoreview,MN)或In-Tox Mercer 2.0L/min级联冲击器测量气溶胶粒径。

[0629] 观察结果和测量值：观察结果记录于Provantis数据库或Animal Management System(AMS,LRRI,Albuquerque)中。

[0630] 临床观察结果和死亡率/发病率：从给药日开始记录详细的临床观察结果，其中在暴露前、在暴露期间、在暴露后当所述动物返回其居住笼时以及在暴露后的下午记录观察结果。将根据标准词典(SOPTXP-1532-实验动物的药理学和毒理学观察结果)记录观察结果。一般观察结果包括但不限于呼吸暂停、呼吸困难、不适、流鼻涕等。特别注意与呼吸道相关的临床病征。研究负责人在与兽医人员协商后决定立即对显示严重痛苦迹象的动物实施安乐死。检查还针对(1)识别死亡、虚弱或垂死的动物，以及(2)记录任何异常临床病征的发作和进展。在发现垂死或死亡的动物后，尽快对其进行尸检，但绝不迟于发现后16小时。

[0631] 体重：所有动物均在解除隔离后称重并且所述重量将是用于将动物随机分成剂量组的研究前体重。在暴露前的早晨收集体重并且在尸检时再次收集体重。

[0632] 用于临床化学和血液学的血液收集：在尸检期间收集用于血液学和临床化学的血液样品。关于具有绝对差的全血计数(CBC)，收集全血(目标0.5mL)并且放置于含有乙二胺四乙酸三钾(K_3EDTA)作为抗凝血剂的管中。血液样品通过自动(ADVIA™ 120 Hematology System,Siemens Medical Solutions Diagnostics,Tarrytown,NY)分析加以分析。血液学参数是：红细胞计数(RBC)10^6/μL；血红蛋白(HGB)g/dL；血细胞比容(HCT)%；平均红细胞体积(MCV)fL；浓度(MCHC)g/dL；平均红细胞血红蛋白(MCH)pg；血小板计数(PLT)(10^3/μL)；网状细胞百分比(RETIC)%RBC；白细胞计数(WBC)10^3/μL；嗜中性粒细胞(PMN)10^3/μL；淋巴细胞(LYM)10^3/μL；单核细胞(MONO)10^3/μL；嗜酸性粒细胞(EOS)10^3/μL；嗜碱性粒细胞(BASO)10^3/μL；大型未染色细胞(LUC)10^3/μL。

[0633] 对于临床化学分析，将全血(≥0.5mL)放置于血清分离器或凝块管中以离心并且分离为细胞和血清部分。在Hitachi Modular Analytics Clinical Chemistry System(Roche Diagnostics,Indianapolis,IN)上分析血清样品。测量或计算的临床化学参数是：丙氨酸氨基转移酶(丙氨酸转氨酶)-血清(ALT)IU/L；白蛋白(ALB)g/dL；天冬氨酸氨基转移酶(天冬氨酸转氨酶)-血清(AST)IU/L；胆红素(总)(BILI-T)mg/dL；血尿素氮(BUN)mg/dL；钙(CA)mg/dL；氯化物(血清)(CL-S)mmol/L；胆固醇(总)(CHOL)mg/dL；肌酐(血清)(CRE-S)mg/dL；葡萄糖(GLU)mg/dL；γ谷氨酰基转移酶(GGT)IU/L；碱性磷酸酶(ALP)IU/L；磷酸盐

(PHOS)mg/dL;钾(血清)(K-S)mmol/L;蛋白质(总)(TP)g/dL;钠(血清)(NA-S)mmol/L;甘油三酸酯(TRIG)mg/dL;白蛋白/球蛋白(A/G)无单位;血尿素氮/肌酐(BUN/CRE)无单位;球蛋白(GLOBN)g/dL。

[0634] 对获得足够样品体积并且未遇到分析问题的所有研究动物执行血液学和临床化学评估。如果未获得目标收集体积或如果未执行评估,那么将在原始数据中包括原因和注释。分析后将丢弃剩余的血液样品或血清。

[0635] 用于生物分析的血液收集:暴露后,在暴露后0.5、2和8小时对每种性别2只动物执行非终末血液收集。通过颈静脉将大约1mL全身性全血收集至含有K_3EDTA作为抗凝血剂的管中。所述管用液氮速冻,无需加工即存储于-70至-90℃下,直至发货以供使用ICP-MS分析进行分析,从而定量作为BisEDT的替代品的铋。

[0636] 安乐死和尸检:使动物禁食过夜,接着进行预定的尸检(暴露后24h)。在预定的尸检时或在发病时,通过腹膜内注射过量的以巴比妥酸盐为主的镇静剂对动物实施安乐死。对所有动物(发现死亡、垂死,或预定的尸检)执行详细的整体尸检,并且由完整的外部和内部检查(包括体孔以及颅、胸部和腹部器官和组织)组成。所有整体发现将以描述性方式记录。在尸检时收集全血用于生物分析、血液学和临床化学。收集肺并称重。绑扎左肺叶并速冻以备潜在的未来分析。使用4mL磷酸盐缓冲生理盐水(PBS)/灌洗将右肺叶灌洗3次。在灌洗完成后,右肺叶在液氮中速冻以备潜在的未来分析。

[0637] 本实施例描述了BisEDT单剂量大鼠PK研究的结果,比较了吸入、IV和经口给药。主要的收获是(1)BisEDT在吸入给药后保留于肺组织中,其半衰期约为4天(图34);(2)在经口给药后血液浓度非常低,但持续并且可测量;(3)IV给药似乎遵循双相模式,初始分布于组织中持续18小时,随后是缓慢的全身消除阶段;(4)BisEDT在IV或经口给药后未明显地分配至肺组织中-在经口给药后无肺水平,并且在IV给药后检测到低肺水平(<5%对吸入组),并且在约24小时半衰期后水平迅速地下降。这指示全身性BisEDT不会分配至肺组织中并且在吸入给药后测量出的肺水平是由于药物颗粒沉积于顶端表面上引起的;(5)在吸入给药后,存在持续的中等血液暴露,其中浓度随时间变化相对稳定,指示肺中的药物充当仓库;(6)BisEDT在100μg/kg吸入和IV和250μg/kg经口给药下被耐受。基于这些数据,每天或隔天一次给予的低剂量可能在组织和血液中提供非常稳定的药物水平(最小和最大之间的差异很小)。如果在GLP毒理学和/或临床研究期间证实安全裕度足够大,那么有可能延长给药间隔并相应地增加剂量。增加剂量和间隔会导致组织和血液水平在峰值(在给药后)和谷水平(在给药前)之间的波动更大。

[0638] 基于现有的体内和体外毒理学数据以及大鼠PK和体外MIC数据,供吸入用的BisEDT悬浮液可以可靠地以被耐受的提供有效肺水平的剂量施用,并且因此它是可行的临床开发候选物。如上所述,BisEDT在吸入给药后长时间保留于肺组织中,其半衰期约为4天(图35)。在单次吸入剂量后24小时,在肺组织中测量出4,093ng/g(其相当于肺液中的123μg/mL)并且在单一剂量后4天(96h),在肺组织中测量出2,600ng/g(其相当于肺液中的78μg/mL)。不受任何特定理论的束缚,据信BisEDT的低溶解度提供肺表面液上的缓慢溶解和长时间暴露,其中通过肺上皮的扩散提供限制性全身暴露。肺似乎充当用于缓慢全身性暴露的仓库,其中全身水平比肺中可见低约10倍。IV数据的终末阶段似乎显示在初始组织分布后的缓慢消除(图36)。

[0639] 下表11和表12分别示出全血BisEDT对时间的数据以及在处死时间数据处的肺BisEDT浓度。这些结果也以图形形式在图37和图38中示出。

[0640] 表11:全血BisEDT对时间的数据

[0641]

剂量 (μg/kg)	标称时间(h)	平均 BisEDT 浓度 (ng/mL)	STDEV
3000	1	485	244
3000	2	2504	547
3000	8	6570	1729
3000	24	20525	4907
47	8	114	64
47	12	98	35
47	24	282	84
47	30	373	201
400	8	1701	542
400	12	1252	368
400	24	2700	607
400	30	2738	1028
124	8	247	3
124	12	187	78
124	24	571	93
124	30	668	239
0	30	0	N/A
0	30	0	N/A
0	30	0	N/A

[0642] 表12:在处死时的肺BisEDT浓度

[0643]

剂量 (μg/kg)	处死时间 (h)	平均 BisEDT 浓度(ng/g)	STDEV
3000	24	82.3	8.7
400	30	12.1	4
124	30	5.9	0.9
47	30	4.8	1.1
0	30	0	N/A

[0644] 评估了BisEDT降低肺部铜绿假单胞菌感染的大鼠模型中与肺部感染相关的肺部细菌负担的功效。结果如下。

[0645] 气溶胶浓度:气溶胶浓度(重量分析和化学性质)的结果呈递于表13中。如预期,通过媒介物的化学分析未检测到BisEDT。列出了重量分析。通过重量分析法确定阳性对照(妥布霉素)浓度,并且在两个群组和所有暴露日中,所有暴露气氛的变化均小于10%。通过化学分析确定的测试物品浓度在所有暴露群组和暴露日中的变化均小于5.1%并且是11.5μg/L。

[0646] 表13.暴露气氛的平均浓度

[0647]

组	分析方法	浓度平均值	RSD
媒介物	重量分析	0.11±0.02mg/L	14.8%
妥布霉素	重量分析	1.26±0.10mg/L	8.3%
BisEDT	化学	11.5±0.6μg/L	5.1%

[0648] 递送的剂量:表14和表15描述了计算得出的在这项研究中递送至动物的呈递剂量和理论沉积剂量。呈递的剂量是定义为材料的总吸入量,包含沉积于窦、咽喉、口咽区、肺中的材料以及呼出的材料。理论沉积剂量或实际沉积于肺表面上的材料量被视为大鼠的呈递剂量的10%(Inhal Toxicol.2008年10月;20(13):1179-89.doi:10.1080/08958370802207318,其由此以引用的方式整体并入)。将每只动物的当前体重和暴露条件计入上述方程中,以进行剂量确定。第3组和第4组的暴露分别为13分钟和30分钟持续时间。以化学方式分析媒介物过滤器中的BisEDT,并且所有过滤器均低于检测极限。通过重量分析来分析阳性对照(妥布霉素)过滤器,并且所有群组和天的平均呈递剂量为29.0mg/kg,高于研究方案中规定的20mg/kg值。低浓度和高浓度BisEDT组的平均呈递剂量分别为0.114mg/kg和0.264mg/kg。所述研究方案要求那些组的剂量为0.1mg/kg和0.25mg/kg。暴露组按天和群组接受的剂量的细节列于下表14和表15中。

[0649] 表14.呈递剂量概述

[0650]

组	天	群组 1 剂量(mg/kg)	群组 2 剂量(mg/kg)
媒介物	0	BDL	BDL
媒介物	2	BDL	BDL
媒介物	4	BDL	BDL
妥布霉素	1	31.0 ± 3.4	28.9 ± 1.8
妥布霉素	2	29.0 ± 1.9	27.9 ± 0.8
妥布霉素	3	27.9 ± 0.7	29.3 ± 1.8
妥布霉素	4	29.3 ± 1.7	28.5 ± 2.3
BisEDT (0.1mg/kg)	0	0.121 ± 0.002	0.110 ± 0.002
BisEDT (0.1mg/kg)	2	0.120 ± 0.002	0.120 ± 0.002 错误! 书签未定义.
BisEDT (0.1 mg/kg)	4	0.101 ± 0.002	0.114 ± 0.002
BisEDT 0.25 mg/kg	-1	0.263 ± 0.005	0.264 ± 0.003

[0651]

[0652] 表15.理论沉积剂量概述

[0653]

组	天	群组 1 剂量	群组 2 剂量
媒介物	0	BDL	BDL
媒介物	2	BDL	BDL 错误！书签未定义.
媒介物	4	BDL	BDL
妥布霉素	1	3.1 mg/kg	2.9 mg/kg
妥布霉素	2	2.9 mg/kg	2.8 mg/kg
妥布霉素	3	2.8 mg/kg	2.9 mg/kg
妥布霉素	4	2.9 mg/kg	2.9 mg/kg
BisEDT (0.1 mg/kg)	0	12.1 μg/kg	11.0 μg/kg
BisEDT (0.1 mg/kg)	2	12.0 μg/kg	12.0 μg/kg 错误！书签未定义.
BisEDT (0.1 mg/kg)	4	10.1 μg/kg	11.4 μg/kg
BisEDT 0.25 mg/kg	-1	26.5 μg/kg	26.4 μg/kg

[0654] 粒径分布：使用In-Tox Mercer冲击器确定每种暴露条件下的粒径分布(图38-40)。图39示出在研究期间测量出的BisEDT的气溶胶大小分布。表16提供每种暴露类型的粒径分布(PSD)和几何标准偏差(GSD)的概述。

[0655] 表16.不同暴露条件下的大小分布的概述

[0656]

暴露条件	MMAD(μm)	GSD(μm)
媒介物	1.26	1.81
妥布霉素	2.81	1.87
BisEDT	1.54	1.83

[0657] 图42示出大鼠功效图，所述图示出在第3天和第5天的累积(总)施用剂量(肺沉积)。从这个图可以看出，与Tobi相比，递送药物的质量比是惊人的。

[0658] 结论：动物分成四个实验吸入治疗组：1)第1组，在第0、2和4天用生理盐水治疗的阴性对照组；2)第2组，用妥布霉素治疗的阳性对照组(目标20mg/kg，BID，第1-4天)；3)第3组，BisEDT(目标0.1mg/kg，QD，第0、2、4天)；和第4组，BisEDT(目标0.25mg/kg，一次，第-1天)。动物再分成两个群组，相隔一天，以适应动物数目的挑战和治疗。除了第1组和第3组组群2外，所有动物均根据方案进行暴露。这些动物在第0、1和4天而非在第0、2、4天进行暴露。

[0659] 在接受生理盐水的动物(阴性对照)中未检测到BisEDT。用妥布霉素每天两次(8个剂量)治疗的动物接受29.0mg/kg的平均剂量。这一剂量表示目标剂量的145%。由于妥布霉素是用作确保模型功能的阳性对照，而非用作针对测试物品的活性的直接比较或竞争者，增加的剂量不会影响所述研究。用0.1mg/kg BisEDT的三种目标剂量治疗的动物接受0.114mg/kg平均值，其表示目标剂量的114%。对于第3组(目标剂量为0.1mg/kg)，群组1和群组2每天的平均剂量分别为0.114和0.115。非配对t检验(GraphPad Prism 5.0)比较了三个治疗日中的平均剂量，证实群组之间的差异不显著(p-值＝0.93)。接受单一预防性目标剂量0.25mg/kg的动物接受几乎相同的BisEDT剂量，0.263mg/kg(群组1)和0.264mg/kg(群

组2),或分别为目标剂量的105%和106%。

[0660] 暴露产生的颗粒被视为可呼吸的。阳性对照(妥布霉素)的平均MMAD为2.81μm,其GSD为1.87μm。阴性对照(生理盐水)治疗和测试物品(BisEDT)治疗的气溶胶颗粒MMAD分别为1.26μm和1.54μm,其GSD为1.81和1.83。

[0661] 实施例9:比格犬在面罩吸入后的BisEDT的研究

[0662] 所述研究的目的是确定在雄性和雌性比格犬的面罩吸入暴露后(长达60min暴露),吸入的铋乙二硫醇(BisEDT)的最大耐受剂量(MTD)或最大可行剂量(MFD)。在第一天暴露之后,将对动物进行监测持续长达14天,并将在预定的时间点收集血液以分析BisEDT的药物动力学。另外,在尸检前将进行凝血调查。在研究结束时,动物将被安乐死并经历尸检,在此期间将收集呼吸道用于生物分析和组织病理学分析。获得的结果将告知后续重复剂量GLP研究。这一测试物品目前正在开发为一种广谱抗微生物/抗生物膜剂的新颖制剂,适用于治疗患有囊性纤维化的患者的肺部感染。

[0663] 材料:BisEDT由Dalton Pharma Services供应;批号ED268-I-II-OI并且存储于室温下。这项研究中使用的媒介物是含0.5%Tween 80、pH 7.4的10mM磷酸钠的NaCl(调节至大约300mOsm)/水,存储于室温下。

[0664] 犬科动物:雄性和雌性犬科动物,5-7月龄比格犬用于这项研究中。雄性称重6-10kg并且雌性称重5-9kg。使用6只雄性和6只雌性。

[0665] 圈养:动物被圈养于室内或室外狗窝中。

[0666] 训练:动物针对约束和面罩进行训练。

[0667] 饲料:2025C Harlan Global 25%Protein Diet(Harlan Teklad,Madison,WI),每天一次(除了训练和吸入暴露期间外)。在收集所有血液样品用于血液学、临床化学和凝血分析之前的晚上,所有狗都禁食。每批饲料都由制造商进行污染物分析,并在制造商指定的保质期内加以使用。不期望将干扰研究结果的水平的污染物存在。使用市政用水,允许无限制取用,除了训练和吸入暴露期间外。

[0668] 环境条件:狗窝温度和光周期的目标条件将如下:温度:18-29℃;光周期:12-h(在暴露的每一天,光周期可能延长以适应血液样品收集)。

[0669] 发病率和死亡率:每天两次观察动物的发病率和死亡率。如果发现垂死,那么动物将通过过量的获批准的安乐死溶液被安乐死。仅研究健康的动物。

[0670] 一旦针对约束装置和面罩适当地进行训练,就使所述动物单独地暴露于测试物品气溶胶。试验设计在表17中示出。在坡道研究设计中,动物接受单次面罩吸入暴露于测试物品气溶胶持续长达60min。暴露期间和暴露后的动物观察结果确定了吸入的BisEDT气溶胶的耐受性。

[0671] 第一组(媒介物)暴露于媒介物气氛持续30分钟。第2组(50μg/kg)暴露于BisEDT持续30分钟。第3-5组的目标浓度和暴露持续时间是基于通过临床观察结果或整体尸检发现确定的任何毒性的存在。在第3-5组中的每一组中,如果未观察到毒性的不良临床病征,那么下一组的暴露将在更高的目标剂量下进行。如果观察到毒性的不良临床病征,那么下一组的暴露将在较低的目标剂量下进行。所有BisEDT剂量均重复这种方法。最终记录的暴露持续时间是最大耐受剂量或最大可行剂量。

[0672] 收集血液用于药物动力学(PK)分析、血液学、临床化学和凝血分析。

[0673] 在每个预计的时间点(或在发病时),动物将被安乐死。

[0674] 表17.实验设计

[0675]

组	暴露[a]	目标剂量	性别/动物 ID	血液收集[d,e]
1	第 0 天和第 7 天: TA 媒介物	n/a	雄性: 1001 雌性: 1002	NA
2	第 0 天和第 7 天: BisEDT	低 50 μg/kg	雄性: 2001 雌性: 2002	4 h (±5 min)、第 1 天、第 2 天、第 7 天(暴露前)、第 7 天(暴露后)、第 8 天、第 9 天、第 10 天、第 11 天、第 12 天、第 13 天、第 14 天
3	第 0 天和第 7 天: BisEDT	低-中等: TBD[c]	雄性: 3001 雌性: 3002	
4	第 0 天和第 7 天: BisEDT	中等-高: TBD[c]	雄性: 4001、4003 雌性: 4002、4004	
5[b]	第 0 天和第 7 天: BisEDT	高: TBD[c]	雄性: 5001 雌性: 5002	

[0676]

[a] 所有组均由在第 0 天和第 7 天暴露的 1 只雄性和 1 只雌性动物组成。所有组均在第 14 天终止。第 4 组包括 2 只额外的动物(1 只雌性和 1 只雄性),并在第 21 天执行尸检。
[b] 如果第 4 组未显示毒性迹象,那么将包括第 5 组。
[c] TBD: 浓度将通过备忘录加以记录,并且包括于最终研究报告中,并将基于前一暴露组的结果。
[d] 第 4 组中的额外动物(4003 和 4004)的血液收集是: 第 15 天、第 16 天、第 17 天、第 18 天、第 19 天、第 20 天、第 21 天。
[e] 血液收集用于 PK 分析。

[0677] BisEDT制剂:在含0.5%Tween 80、pH 7.4的10mM磷酸钠的NaCl(调节至大约300mOsm)中制备初始5.0mg/ml BisEDT制剂。在每个暴露日,对所述制剂进行分析。

[0678] 测试物品施用:代表性示意图呈递于图41中。气溶胶产生系统将市面上有售的压缩空气喷射喷雾器连接至允许将气溶胶转换至动物的室。根据上述研究设计,通过面罩吸入进行暴露。暴露持续时间不超过60min。必要时,调节制剂浓度和暴露持续时间以实现目标剂量。

[0679] 动物将被运送至暴露室并用约束带放置于暴露台上。连接至所述室的面罩将在暴露阶段开始之前立即放置于动物上。在整个暴露中将监测温度和暴露室氧气(%)。

[0680] 浓度监测:气溶胶浓度监测是通过将气溶胶收集至预先称重的GF/A 47-mm过滤器上进行的。在整个暴露中,从暴露室中对过滤器取样。通过GF/A过滤器的气溶胶取样流动速率维持于0.5±0.1L/min下。在样品收集之后,对过滤器称重以确定暴露系统中的总气溶胶浓度。对过滤器进行提取和分析。基于BisEDT平均暴露气溶胶浓度,计算沉积剂量。

[0681] 粒径确定:通过Mercer式样七级级联冲击器(Intox Products,Inc.,Albuquerque,NM),从暴露室的呼吸区测量气溶胶的粒径分布。根据质量中值空气动力学直径(MMAD)和几何标准偏差(GSD)确定粒径分布。级联冲击器样品以2.0±0.1L/min的流动速率加以收集。

[0682] 肺部剂量的确定：使用以下方程计算沉积剂量。在这一计算中，将使用在每个特定暴露日从暴露测量出的平均气溶胶浓度以及个别动物的体重。以这种方式，将使用测量出的BisEDT气溶胶浓度来计算肺中沉积的BisEDT的估计量。

[0683] $$DD(\mu g/kg)=\frac{AC(\mu g/L)\times RMV(L/min.)\times DF\times T(min.)}{BW(kg)}$$

[0684] 其中：

[0685] 沉积剂量＝(DD)μg/kg

[0686] 每分钟呼吸量(RMV)＝0.608 x $BW^{0.852}$(Alexander DJ等人，2008)

[0687] 气溶胶暴露浓度(AC)＝BisEDT气溶胶浓度(μg/L)

[0688] 沉积分数(DF)＝假设的沉积分数25％

[0689] BW＝所研究的个别动物的体重(kg)

[0690] 观察结果和测量值

[0691] 临床观察结果和死亡率/发病率：从给药日开始记录详细的临床观察结果，其中从到达至暴露当天每天两次(早晨和下午)记录观察结果。一般观察结果包括但不限于呼吸暂停、呼吸困难、不适、流鼻涕等。特别注意与呼吸道相关的临床病征。研究负责人在与兽医人员协商后决定对显示严重痛苦迹象的动物实施安乐死。检查是针对(1)识别死亡、虚弱或垂死的动物，以及(2)记录任何异常临床病征的发作和进展。在发现垂死或死亡的动物后，尽快对其进行尸检，但绝不迟于发现后16h。

[0692] 体重：所有动物均在解除隔离后称重并且所述重量将是用于将动物随机分成剂量组的研究前体重。在暴露前的早晨并且在尸检时收集体重。

[0693] 血液收集和生物分析：在暴露前，接着在暴露后4h(±5min)，并且又在第1天、第2天、第7天(暴露前和暴露后4h(±5min))、第8天、第9天、第10天、第11天、第12天、第13天和第14天收集血液用于药物动力学(PK)分析。在每个时间点收集总计0.25mL。未从媒介物对照(第1组)动物收集PK血液；只有暴露于BisEDT的动物才收集血液用于PK分析。所收集的样品进行速冻，无需加工即发货至Medpace用于生物分析。在基线处、第7天(暴露前)并且又在安乐死时，从所有组中的所有动物中收集额外血液用于血液学(1mL)和临床化学(1mL)。在尸检时从所有动物收集血液(2-2mL)，用于凝血分析(d-二聚体、纤维蛋白原、PT和PTT)。

[0694] 从颈静脉或另一外周静脉(头或隐静脉)收集血液样品。

[0695] 将用于药物动力学分析的血液(0.25mL)收集至含有K_3EDTA作为抗凝血剂的管中。所述管用液氮速冻并且无需加工即存储于-70至-90℃下，直至发货以供使用ICP-MS分析进行分析，从而定量作为BisEDT的替代品的铋。

[0696] 关于血液学分析，将用含有K_3EDTA作为抗凝血剂的真空抽血管收集全血(1ml)。

[0697] 关于临床化学分析，将全血(1mL)放置于血清分离器或凝块管中，并通过在2至8℃下在最小1300g下离心持续10(±1)min加工成血浆。血浆样品存储于-70至-90℃下直至分析。

[0698] 关于凝血分析，将血液(2-2mL样品)收集至含有柠檬酸钠抗凝血剂的管中，加工，并冷冻柠檬酸化血浆并且保留以供分析。对每只动物分析凝血酶原时间(PT)、激活部分凝血活酶时间(aPTT)、d-二聚体和纤维蛋白原。将对样品进行离心(1500rpm，15分钟)，将血浆

等分至低温小瓶中，并且冷冻存储(-70至-90℃)直至分析。

[0699] 血液学和临床化学：在收集所有血液样品用于血液学、临床化学和凝血分析之前的晚上，所有狗都禁食。

[0700] 血液样品通过自动(ADVIA™ 120 Hematology System，Siemens Medical Solutions Diagnostics，Tarrytown，NY)分析加以分析。部署将记录于样品加工单上。血液学参数在表18中示出。

[0701] 在Hitachi Modular Analytics Clinical Chemistry System(Roche Diagnostics，Indianapolis，IN)上分析临床化学样品。临床化学参数在表19中示出。

[0702] 如果未获得血液学或临床化学分析所需的目标收集体积，那么将不会对那只动物执行分析。另外，如果无法执行评估，那么原因和注释将包括于研究文件中。

[0703] 表18.血液学参数

[0704]

参数	缩写[a]	单位
红细胞计数	RBC	$10^6/\mu L$
血红蛋白	HGB	g/dL
血细胞比容	HCT	%
平均红细胞体积	MCV	fL
平均红细胞血红蛋白浓度	MCHC	g/dL
平均红细胞血红蛋白	MCH	pg
血小板计数	PLT	$10^3/\mu L$

[0705]

网状细胞百分比	RETIC	% RBC
白细胞计数和绝对差		
白细胞计数 嗜中性粒细胞	WBC PMN	$10^3/\mu L$ $10^3/\mu L$
淋巴细胞	LYM	$10^3/\mu L$
单核细胞	MONO	$10^3/\mu L$
嗜酸性粒细胞	EOS	$10^3/\mu L$
嗜碱性粒细胞	BASO	$10^3/\mu L$
大型未染色细胞	LUC	$10^3/\mu L$
[a] 血液学系统的缩写与上文列出的那些不同，然而最终结果将如上文所述加以报告		

[0706] 表19.临床化学参数

[0707]

分析物	缩写[a]	单位
丙氨酸氨基转移酶(丙氨酸转氨酶)-血清	ALT	IU/L
白蛋白	ALB	g/dL
天冬氨酸氨基转移酶(天冬氨酸转氨酶)-血清	AST	IU/L
胆红素(总计)	BILI-T	mg/dL
血尿素氮	BUN	mg/dl
钙	CA	mg/dL
氯化物(血清)	CL-S	mmol/L
胆固醇(总计)	CHOL	mg/dL
肌酐(血清)	CRE-S	mg/dL
葡萄糖	GLU	mg/dL
γ谷氨酰基转移酶	GGT	IU/L
碱性磷酸酶	ALP	IU/L
磷酸酯	PHOS	mg/dL
钾(血清)	K-S	mmol/L
蛋白质(总计)	TP	g/dL
钠(血清)	NA-S	mmol/L
甘油三酸酯	TRIG	mg/dL
计算的参数和比率		
白蛋白/球蛋白	A/G	无
血尿素氮/肌酐	BUN/CRE	无
球蛋白	GLOBN	g/dL
[a]化学系统的缩写与上文列出的那些不同，然而最终结果将如上文所述加以报告		

[0708] 安乐死、尸检和组织学

[0709] 安乐死：在预定的尸检(分别为第14天或第21天)时或在垂死时，兽医或他们使动物安静并实施安乐死。通过施用乙酰丙嗪(0.02-0.2mg/kg，IM)和布托啡诺(≥0.33mg/kg，IM)使动物安静。在镇静后，放置静脉内导管以适应氯胺酮/地西泮混合液的施用，并用生理盐水溶液冲洗。所述混合液是1mL氯胺酮(100mg/mL)和1mL地西泮(5mg/mL)的比例混合物。所述混合液接着以≥1mL/9kg体重的剂量施用。注意：如果狗在使用乙酰丙嗪和布托啡诺之后得到充分镇静，那么可能不需要或不施用氯胺酮/地西泮混合液的施用，并将对此进行记录。所述动物接着通过过量的以巴比妥酸盐为主的镇静剂(Euthasol®，≥1mL/4.5kg，IV)安乐死并且用生理盐水溶液冲洗。如果需要，可以执行放血。

[0710] 尸检：对所有动物执行详细的整体尸检，并且将由完整的外部和内部检查(包括体孔(耳、鼻孔、嘴、肛门等)以及颅、胸部和腹部器官和组织)组成。所有整体发现均以描述性术语记录，通常包括位置、大小(mm)、形状、颜色、稠度和数目。发现死亡的动物将被冷藏直至可以执行尸检。如果可能，确定死亡原因。

[0711] 肺的左肺叶用于组织病理学，并将固定于10％NBF中。右肺中叶已收集三个大约1克的切片并用液氮速冻用于生物分析；样品将存储于-70至-90℃下直至发货以供使用ICP-MS分析进行分析，从而定量作为BisEDT的替代品的铋。收集并固定肝、脾、肾、脑、心脏和呼

吸道,以供潜在的未来分析。

[0712] 组织学和病理学:准备肺,并包埋,切割并且安装于载玻片上,用苏木精和曙红染色,并由病理学家进行评估。另外,可以评估在尸检期间观察并且收集的代表性病变。对第1组和第4组进行组织学;可以根据已批准研究方案的修正(Amendment to the Approved Study Protocol)进行额外分析。

[0713] 结果

[0714] 表20示出BisEDT在所测试的狗的肺中的实际沉积剂量。表21示出血液学结果并且表22示出所测试的狗的临床化学结果。

[0715] 表20:每组实际肺沉积剂量/动物#:

[0716]

动物#	组	肺沉积剂量,ug/kg
1001	1	0
1002	1	0
2001	2	55
2002	2	56
3001	3	112
3002	3	111
4001	4	176
4002	4	180
4003	4	195
4004	4	197

[0717]

表 21：血液学概述

受试者/QC 批次	性别/QC 识别符	WBC ^3/uL	RBC ^6/uL	HGB g/dL	HCT %	MCV fL	MCH pg	MCHC g/dL	PLT ^3/uL	NEUT ^3/uL	LYMP ^3/uL	MONO ^3/uL	EOS ^3/uL	BASO ^3/uL	LUC ^3/uL	RET% %
1001	雄性	13.48	6.75	15.9	46.6	69.1	23.5	34.0	250	8.56	3.73	0.82	0.15	0.20	0.03	0.72
1001	雄性	7.98	5.89	13.8	39.8	67.7	23.4	34.7	241	5.00	2.26	0.54	0.08	0.07	0.02	0.34
1001	雄性	9.32	6.15	14.3	42.8	69.6	23.2	33.4	106	6.37	2.22	0.57	0.05	0.08	0.01	0.39
1002	雌性	9.18	7.54	17.0	51.2	67.9	22.6	33.2	297	3.97	3.89	0.39	0.73	0.17	0.02	0.51
1002	雌性	8.67	6.75	16.0	44.6	66.1	23.6	35.8	168	5.92	1.83	0.68	0.10	0.13	0.01	0.23
1002	雌性	7.98	6.47	15.0	45.2	69.9	23.3	33.3	193	5.38	1.75	0.72	0.07	0.06	0.02	0.44
第 1 组	平均	11.33	7.15	16.5	48.9	68.5	23.1	33.6	273.5	6.27	3.81	0.61	0.44	0.19	0.03	0.62
第 1 组	平均	8.33	6.32	14.9	42.2	66.9	23.5	35.3	204.5	5.46	2.05	0.61	0.09	0.10	0.02	0.29
第 1 组	平均	8.65	6.31	14.7	44.0	69.8	23.3	33.4	149.5	5.88	1.99	0.65	0.06	0.07	0.02	0.42
2001	雄性	9.18	6.83	15.6	45.8	67.0	22.8	34.1	197	5.31	2.81	0.63	0.30	0.12	0.01	0.34
2001	雄性	9.13	6.49	15.0	43.1	66.4	23.2	34.9	166	5.11	2.73	0.67	0.45	0.15	0.01	0.55
2001	雄性	5.99	6.28	14.2	41.8	66.5	22.7	34.1	161	2.88	2.09	0.53	0.39	0.08	0.02	0.60
2002	雌性	6.99	7.05	16.4	49.0	69.5	23.2	33.4	206	3.96	2.27	0.50	0.14	0.11	0.02	0.65
2002	雌性	7.77	6.74	15.0	43.7	64.8	22.3	34.4	294	4.26	2.82	0.51	0.09	0.10	0.01	0.25
2002	雌性	8.10	6.50	14.3	42.9	66.0	21.9	33.2	304	4.83	2.61	0.51	0.06	0.07	0.01	0.31
第 2 组	平均	8.09	6.94	16.0	47.4	68.3	23.0	33.8	201.5	4.64	2.54	0.57	0.22	0.12	0.02	0.50
第 2 组	平均	8.45	6.62	15.0	43.4	65.6	22.8	34.7	230.0	4.69	2.78	0.59	0.27	0.13	0.01	0.40
第 2 组	平均	7.05	6.39	14.3	42.4	66.3	22.3	33.7	232.5	3.86	2.35	0.52	0.23	0.08	0.02	0.46
3001	雄性	8.74	6.11	13.6	40.2	65.8	22.3	33.9	310	4.36	3.29	0.44	0.57	0.07	0.02	0.61

[0718]

受试者/QC 批次	性别/QC 识别符	WBC ^3/uL	RBC ^6/uL	HGB g/dL	HCT %	MCV fL	MCH pg	MCHC g/dL	PLT ^3/uL	NEUT ^3/uL	LYMP ^3/uL	MONO ^3/uL	EOS ^3/uL	BASO ^3/uL	LUC ^3/uL	RET% %
3001	雄性	7.25	6.35	14.2	41.0	64.6	22.3	34.5	321	3.52	2.93	0.45	0.27	0.07	0.02	0.79
3001	雄性	12.97	6.98	15.8	48.2	69.1	22.7	32.8	255	7.28	4.35	0.83	0.38	0.11	0.02	1.02
3002	雌性	11.50	7.17	16.2	47.3	65.9	22.6	34.3	325	6.77	3.67	0.67	0.17	0.20	0.03	0.91
3002	雌性	9.18	6.12	14.6	43.1	70.4	23.9	34.0	247	5.29	2.86	0.79	0.12	0.10	0.02	0.94
3002	雌性	14.08	7.36	16.7	49.8	67.6	22.7	33.5	319	9.25	3.80	0.76	0.15	0.10	0.02	0.72
第 3 组	平均	10.12	6.64	14.9	43.8	65.9	22.5	34.1	317.5	5.57	3.48	0.56	0.37	0.14	0.03	0.76
第 3 组	平均	8.22	6.24	14.4	42.1	67.5	23.1	34.3	284.0	4.41	2.90	0.62	0.20	0.09	0.02	0.87
第 3 组	平均	13.53	7.17	16.3	49.0	68.4	22.7	33.2	287.0	8.27	4.08	0.80	0.27	0.11	0.02	0.87
4001	雄性	8.23	6.44	14.8	42.7	66.3	23.0	34.7	208	4.61	2.68	0.39	0.48	0.07	0.01	0.41
4001	雄性	10.09	6.81	16.0	47.5	69.7	23.4	33.6	214	5.96	3.18	0.37	0.50	0.07	0.02	0.33
4001	雄性	9.86	6.37	14.6	45.4	71.3	22.9	32.2	213	6.30	2.78	0.37	0.35	0.04	0.01	0.58
4004	雌性	10.41	6.46	14.7	41.9	64.8	22.8	35.2	246	5.98	2.88	0.49	0.95	0.09	0.02	0.27
4004	雌性	10.37	7.19	16.6	50.6	70.4	23.1	32.8	238	5.95	3.04	0.50	0.77	0.09	0.01	0.62
4004	雌性	10.50	6.71	15.4	47.6	70.9	22.9	32.4	251	6.74	2.82	0.39	0.47	0.06	0.01	0.43
第 4 组	平均	9.32	6.45	14.75	42.30	65.55	22.90	34.95	227.00	5.30	2.78	0.44	0.72	0.08	0.02	0.34
第 4 组	平均	10.23	7.00	16.30	49.05	70.05	23.25	33.20	226.00	5.96	3.11	0.44	0.64	0.08	0.02	0.48
第 4 组	平均	10.18	6.54	15.00	46.50	71.10	22.90	32.30	232.00	6.52	2.80	0.38	0.41	0.05	0.01	0.51
4002	雌性	10.21	5.68	13.7	39.8	70.1	24.1	34.4	257	6.73	2.46	0.73	0.18	0.09	0.01	1.07
4002	雌性	7.45	6.61	13.8	40.7	61.6	20.9	34.0	308	4.11	2.59	0.50	0.13	0.10	0.02	0.88
4003	雄性	6.63	6.11	12.8	37.1	60.8	21.0	34.6	313	3.60	2.32	0.45	0.19	0.04	0.02	0.51
4003	雄性	11.18	5.92	14.3	44.2	74.7	24.2	32.4	248	7.39	2.87	0.61	0.21	0.10	0.01	0.83

[0719]

受试者/QC 批次	性别/QC 识别符	WBC ^3/uL	RBC ^6/uL	HGB g/dL	HCT %	MCV fL	MCH pg	MCHC g/dL	PLT ^3/uL	NEUT ^3/uL	LYMP ^3/uL	MONO ^3/uL	EOS ^3/uL	BASO ^3/uL	LUC ^3/uL	RET% %
第 4 组	平均	8.42	5.90	13.25	38.45	65.45	22.55	34.50	285.00	5.17	2.39	0.59	0.19	0.07	0.02	0.79
第 4 组	平均	9.32	6.27	14.05	42.45	68.15	22.55	33.20	278.00	5.75	2.73	0.56	0.17	0.10	0.02	0.86

表 22：临床概述

受试者/QC 批次	性别/QC 识别符	Na mmo/L	K mmo/L	Cl mmo/L	GLUC mg/dL	BUN mg/dL	CREA mg/dL	P mg/dL	TBIL mg/dL	ALP K IU/L	ALT IU/L	AST IU/L	GGT IU/L	TP g/dL	ALB g/dL	CA2 mg/dL	TRIG mg/dL	CHOL mg/dL	GLOB g/dL	AGR
1001	雄性	149	4.7	109	90	14	0.7	7.6	0.15	248	25	29	3	5.0	3.3	11.0	53	132	1.7	1.9
1001	雄性	146	4.7	111	78	15	0.5	6.4	0.15	243	29	29	3	5.0	3.3	10.6	39	133	1.7	1.9
1001	雄性	150	4.2	113	92	17	0.5	6.6	0.15	235	21	33	3	5.5	3.7	10.9	38	130	1.8	2.1
1002	雌性	148	5.1	109	92	13	0.7	6.4	0.15	91	24	27	3	4.9	3.3	10.3	37	107	1.6	2.1
1002	雌性	147	4.9	113	88	15	0.7	6.4	0.15	125	26	33	3	5.0	3.6	10.7	32	129	1.4	2.6
1002	雌性	148	4.5	113	89	13	0.7	6.2	0.15	120	27	34	3	5.0	3.5	10.4	29	116	1.5	2.3
第 1 组	平均	149	4.9	109	91	14	0.7	7.0	0.15	170	25	28	3	5.0	3.3	10.7	45	120	1.7	2.0
第 1 组	平均	147	4.8	112	83	15	0.6	6.4	0.15	184	28	31	3	5.0	3.5	10.7	36	131	1.6	2.3
第 1 组	平均	149	4.4	113	91	15	0.6	6.4	0.15	178	24	34	3	5.3	3.6	10.7	34	123	1.7	2.2
2001	雄性	149	4.5	109	91	12	0.7	6.8	0.15	130	22	48	3	5.0	3.3	10.9	66	168	1.7	1.9
2001	雄性	147	4.9	113	97	16	0.6	5.9	0.15	140	22	36	3	5.1	3.4	10.8	80	167	1.7	2.0
2001	雄性	147	4.7	108	102	15	0.6	5.5	0.15	128	22	36	3	5.5	3.5	11.0	63	152	2.0	1.8

[0720]

2002	雌性	149	5.0	110	95	13	0.6	7.4	0.15	241	18	35	3	5.2	3.3	10.9	38	138	1.9	1.7
2002	雌性	147	5.2	114	98	14	0.6	6.4	0.15	111	29	41	3	5.2	3.6	10.8	39	123	1.6	2.3
2002	雌性	148	4.6	113	89	14	0.6	5.7	0.15	103	27	38	3	5.3	3.7	10.6	31	114	1.6	2.3
第 2 组	平均	149	4.8	110	93	13	0.7	7.1	0.15	186	20	42	3	5.1	3.3	10.9	52	153	1.8	1.8
第 2 组	平均	147	5.1	114	98	15	0.6	6.2	0.15	126	26	39	3	5.2	3.5	10.8	60	145	1.7	2.2
第 2 组	平均	148	4.7	111	96	15	0.6	5.6	0.15	116	25	37	3	5.4	3.6	10.8	47	133	1.8	2.1
3001	雄性	146	4.7	111	100	13	0.6	6.5	0.15	142	26	30	3	4.8	3.2	10.7	26	100	1.6	2.0
3001	雄性	146	5.1	110	88	17	0.7	6.8	0.15	135	24	32	3	5.1	3.4	10.5	34	111	1.7	2.0
3001	雄性	148	5.8	109	51	33	1.0	7.2	0.15	121	22	33	3	5.0	3.4	10.0	52	111	1.6	2.1
3002	雌性	149	5.5	112	112	11	0.6	6.6	0.15	164	28	30	3	5.0	3.5	11.2	34	126	1.5	2.3
3002	雌性	145	5.3	109	90	12	0.5	6.5	0.15	90	20	28	3	5.5	3.5	10.8	43	175	2.0	1.8
3002	雌性	149	5.9	110	65	25	0.9	7.5	0.15	176	20	30	3	5.1	3.7	10.4	58	141	1.4	2.6
第 3 组	平均	148	5.1	112	106	12	0.6	6.6	0.15	153	27	30	3	4.9	3.4	11.0	30	113	1.6	2.2
第 3 组	平均	146	5.2	110	89	15	0.6	6.7	0.15	113	22	30	3	5.3	3.5	10.7	39	143	1.9	1.9
第 3 组	平均	149	5.9	110	58	29	1.0	7.4	0.15	149	21	32	3	5.1	3.6	10.2	55	126	1.5	2.4
4001	雄性	152	4.7	120	102	11	0.7	6.5	0.15	103	27	32	3	5.2	3.6	10.8	49	153	1.6	2.3
4001	雄性	147	4.8	116	82	12	0.7	6.6	0.15	114	27	39	3	5.3	3.4	10.6	46	147	1.9	1.8
4001	雄性	145	4.7	113	86	11	0.6	6.0	0.15	119	28	34	3	4.9	3.2	10.4	40	111	1.7	1.9
4004	雌性	153	4.6	119	102	13	0.6	5.9	0.15	103	28	33	3	5.1	3.4	10.8	53	125	1.7	2.0
4004	雌性	148	5.1	115	70	13	0.6	6.3	0.15	93	25	38	3	5.2	3.3	10.8	49	124	1.9	1.7
4004	雌性	146	4.3	114	96	13	0.6	5.6	0.15	95	24	31	3	5.0	3.3	10.6	44	112	1.7	1.9

[0721]

第4组	平均	153	4.7	120	102	12	0.7	6.2	0.15	103	28	33	3	5.2	3.5	10.8	51	139	1.7	2.2
第4组	平均	148	5.0	116	76	13	0.7	6.5	0.15	104	26	39	3	5.3	3.4	10.7	48	136	1.9	1.8
第4组	平均	146	4.5	114	91	12	0.6	5.8	0.15	107	26	33	3	5.0	3.3	10.5	42	112	1.7	1.9
4002	雌性	153	5.3	116	106	13	0.6	6.4	0.15	147	20	32	3	5.6	3.5	11.1	34	182	2.1	1.7
4002	雌性	149	5.3	112	79	12	0.5	6.9	0.15	103	21	35	3	5.5	3.5	11.2	41	169	2.0	1.8
4003	雄性	149	4.9	117	109	16	0.6	7.2	0.15	146	40	30	3	5.4	3.5	11.2	55	152	1.9	1.8
4003	雄性	147	4.9	112	81	15	0.7	7.1	0.15	129	23	33	3	5.4	3.3	11.0	53	176	2.1	1.6

[0722] 参考文献

[0723] Alexander DJ,Collins CJ,Coombs DW,Gilkison,IS,Hardy,CJ,Healey,G,

Karantabias,G,Johnson,N,Karlsson,A,Kilgour,JD,and McDonald,P.Association of Inhalation Toxicologists(AIT)working party recommendation for standard delivered dose calculation and expression in non-clinical aerosol inhalation toxicology studies with pharmaceuticals.Inhalation Toxicology;20(13):1179-89,2008.

[0724] National Research Council,2011.Guide for the Care and Use of Laboratory Animals.National Academy Press,Washington,DC.

[0725] Tepper,JS,Kuehl,PK,Cracknell,S,Nikula,KJ,Pei,L,and Blanchard,JD.2016.Symposium Summary:"Breath In,Breath Out,Its Easy:What You Need to Know About Developing Inhaled Drugs"Int.J.Toxicol.35(4)376-392.

[0726] 实施例10:BisEDT与用于治疗由铜绿假单胞菌和洋葱伯克霍尔德菌复合群引起的囊性纤维化感染的剂的抗微生物相互作用

[0727] 引言:针对铜绿假单胞菌和伯克霍尔德菌属,评估BisEDT与用于治疗患有囊性纤维化(CF)的患者的多种剂之间的相互作用。所述抗微生物相互作用是通过在棋盘分析中测量部分抑制浓度(FIC)来确定。

[0728] 材料和方法

[0729] 测试物品:BisEDT以干粉形式提供,并在测试前在室温下存储于暗处。根据美国临床和实验室标准协会(CLSI;1、2)的指南处理比较化合物。关于所测试的个别药物批次和浓度范围的具体信息在下表23中示出:

[0730] 表23:所测试的药物批次和浓度范围

[0731]

测试物品	供应商	批号	溶剂	所测试的浓度范围(μg/ml)(MIC)	所测试的浓度范围(μg/ml)(FIC)
BisEDT	Microbion	ED268-1-11-01	DMSO	64-0.06	16-0.25; 4-0.06
妥布霉素	Sigma	109K1184	无菌 dH_2O	256-0.25; 2-0.002	256-0.25
阿米卡星	Sigma	058K0803	无菌 dH_2O	256-0.25; 2-0.002	256-0.25
氨曲南	USP	R041F0	饱和 $NaHCO_3$	256-0.25; 2-0.002	256-0.25
美罗培南	USP	J0K434	无菌 dH_2O	256-0.25; 2-0.002	64-0.06
环丙沙星	USP	R05170	无菌 dH_2O	256-0.25; 2-0.002	256-0.25
粘菌素	Sigma	SLBV1747	无菌 dH_2O	256-0.25; 2-0.002	256-0.25

[0732]

[0733] 适当溶剂添加至以最高测试浓度的40倍制备的药物中。使储备溶液在室温下在暗处静置大约1h以自动灭菌,接着用于测试。冷冻比较物的药物储备并存储于-80℃下。

[0734] 生物:测试生物是先前通过Micromyx或从美国菌种保存中心(ATCC)获得的临床分离株。在Micromyx接收后,所述分离株在合适条件下在适合每种生物的琼脂培养基上划线培养。所述生物在35℃下孵育持续18-24h。从这些生长板收获的菌落再悬浮于含有冷冻保护剂的适当培养基中。接着在-80℃下冷冻每种悬浮液的等分试样。在分析之前,所述生物在胰蛋白酶解酪蛋白大豆琼脂加5%羊血(BD;Sparks,MD;批号8179506)上划线培养,并如上文所述加以孵育。

[0735] 测试培养基:用于所述分析的培养基是阳离子调节的Mueller Hinton肉汤(MHB II;Becton-Dickinson,Sparks,MD;批号8096574)。所述培养基是根据CLSI指南(2)制备的。

[0736] MIC分析方法学:使用CLSI肉汤微量稀释程序(1、2)制备MIC分析板。使用自动液体处理机(Multidrop 384、Biomek2000和Biomek FX)进行连续稀释和液体转移。用150μL适当稀释剂填充标准96孔微量稀释板(Costar 3795)的第2列至第12列中的所有孔。将300μL的每种测试药物(40X)添加至所述板的第1列的每个孔中。这个板用于制备药物“母板”,所述“母板”为重复的“子板”提供连续药物稀释液。使用Biomek 2000来完成通过所述母板中的第11列的连续转移。第12列的孔不含药物并且是生物生长对照孔。

[0737] 子板使用Multidrop 384装载每孔185μL所述的CAMHB。所述子板是在Biomek FX仪器上完成的,所述仪器在单一步骤中将来自母板的每个孔的5μL药物溶液转移至每个子板的每个相应的孔中。

[0738] 根据CLSI方法(2)制备每种生物的标准化接种物。制备等于0.5McFarland标准的悬浮液,接着1:20稀释于测试培养基中。将接种物分配至按长度划分的无菌贮器(Beckman Coulter)中,并且使用Biomek 2000接种所述板。将子板以相反方向放置于Biomek 2000工作面上,以便从低药物浓度至高药物浓度进行接种。Biomek 2000将10μL稀释的悬浮液递送至每个孔中,产生大约$5x10^5$CFU/mL的最终浓度。将板堆叠成3-4层高,在顶板上盖上无菌盖子,放置于塑料袋中,并在35℃下孵育持续大约18h。

[0739] 使用板观察器从底部观察所述微板,并读取MIC。MIC记录为抑制生物的可见生长的最低药物浓度。还观察未接种的溶解度对照板来寻找药物沉淀的证据。

[0740] FIC分析程序:基于肉汤微量稀释MIC测试数据设置FIC测试范围。使用CLSI肉汤微量稀释程序(1,2)和自动液体处理机(Multidrop 384、Biomek 2000和Biomek FX)制备FIC分析板以进行连续稀释和液体转移。

[0741] 用150μL适当稀释剂填充标准96孔微量稀释板(Costar)的第2列至第12列中的孔。将待测试的最高最终浓度的40倍的300μL等分试样添加至所述板的第1列中的每个孔中。使用Biomek 2000在“组合剂母”板中从第2列至第11列进行11次2倍连续稀释。

[0742] 用150μL稀释剂填充“测试剂母”板的第B-H行中的孔。用待测试的最高最终浓度的40倍的300μL测试剂储备溶液填充这个板的第A行。接着使用多通道移液管从B-G行手动制备连续2倍稀释液。

[0743] “子板”使用Multidrop 384装载180μL CAMHB。使用Biomek FX在单一步骤中将来自组合剂母板的每个孔的5μL药物溶液转移至所有子板中的相应的孔中。接着用Biomek FX将来自测试剂母板的每个孔的5μL等分试样转移至子板的相应的孔中。第H行和第12列各自分别含有组合剂和单独测试剂的连续稀释液,用于确定MIC。对所评估的测试剂和组合剂重复这一程序。

[0744] 根据CLSI方法(2)制备每种生物的标准化接种物。从原板中挑选菌落，并制备等于0.5McFarland浊度标准的悬浮液。所述悬浮液另外1:20进行稀释。使用Biomek 2000从低浓度至高浓度将10μL标准化接种物递送至每个孔中。这些接种在子板的每个孔中产生大约$5x10^5$CFU/mL的最终细胞浓度。

[0745] 所述测试形式导致创建一个8x12棋盘，其中每种化合物单独地(第12列和第H行)并且组合地以变化的药物浓度比率进行测试(参见图43)。

[0746] 将板堆叠成3-4层高，在顶板上盖上无菌盖子，放置于塑料袋中，并在35℃下孵育持续大约18h(例外是孵育持续42h的铜绿假单胞菌分离株8798，由于在18h时的不良生长)。使用板观察器从底部观察板。在准备的阅读纸上标出组合剂(第H行)的MIC、测试剂(第12列)的MIC，并针对含有不同比率的测试剂和组合剂的孔标出具有生长/无生长界面的孔。读取FIC并将其记录为使其中剂以组合形式进行测试的行(第B行至第G行)展现无生物生长的最低药物浓度。精确定位拖尾未被解释为生长。

[0747] FIC/FICI计算:FIC在适用时基本上如Eliopoulos等人(3)所述进行计算。

[0748] 对于面板的每个相关行，FIC指数(FICI)计算如下：

[0749] $FIC_{药物A}/MIC_{药物A}+FIC_{药物B}/MIC_{药物B}$＝FIC指数(FICI)

[0750] 确定所述组合的平均FICI。

[0751] 如果一种测试剂的MIC超出标度(大于所评估的最高测试浓度，例如＞32pg/mL)，那么将所述MIC设置为第二高的2倍浓度以确定FIC(例如，如果MIC＞32μg/mL，那么基于64μg/mL的MIC计算FIC)。

[0752] 使用Odds(4)所述的准则，所述组合的平均FICI解释如下:≤0.5＝协同作用，＞0.5-4＝相加/中性，并且＞4＝拮抗作用。

[0753] 对“协同作用”的解释与浓度显著低于(＞4倍)单独任一化合物的MIC的组合对生物生长的抑制作用一致，导致低FICI值(≤0.50)。对“差异”的解释与浓度在单独个别化合物的MIC值处或略低于/高于单独个别化合物的MIC值时的生长抑制作用一致，导致FICI值＞0.50，但小于或等于4.0。当抑制生物生长所需的呈组合形式的化合物的浓度大体上大于(＞4倍)单独所述化合物的那些浓度时，导致FICI值＞4.0，对“拮抗作用”的解释奏效。

[0754] 结果与讨论

[0755] 表24概述了所评估的剂针对测试生物的肉汤微量稀释MIC值，如初始MIC测试期间所观察。BisEDT和其他测试剂针对铜绿假单胞菌ATCC 27853的MIC值是在CLSI QC范围(1)内。BisEDT在所评估的分离株中维持活性，不过所述分离株对其他剂具有高度抗性。基于产生的表型，选择用灰色阴影表示的分离株，以便在棋盘分析中用与其他测试剂组合的BisEDT进行后续评估。

[0756] 表25概述了FIC测试期间观察到的MIC值。如预期，这些结果与初始MIC测试期间观察到的那些结果一致(通常相同或在2倍以内)(表24)。MIC值与初始MIC测试期间观察到的那些值相差4倍的罕见情况用灰色阴影表示。如同在初始MIC测试期间，BisEDT和其他测试剂针对铜绿假单胞菌ATCC 27853具有在QC范围内的MIC值。表25报告了如6个棋盘面板上所观察到的BisEDT的中值MIC值，以及MIC范围。如预期，在FIC测试期间，用BisEDT观察到的MIC值在棋盘面板上是一致的。

[0757] 表28-87按生物示出来自FIC面板的所有测试数据。表26概述了BisEDT与所有评估

的剂组合时在所选分离株中观察到的平均FICI值。还注意到其中棋盘面板上的个别FICI值展现协同作用/拮抗作用的情况。

[0758] 除粘菌素和环丙沙星外,通过FICI在BisEDT与其他剂之间观察到的大多数相互作用是相加/中性,其中在棋盘面板上的平均FICI值和个别FICI值一般在0.5与4之间。关于分离株的子集,基于平均FICI值≤0.50;关于独立的粘菌素-R铜绿假单胞菌(分离株8798),关于洋葱伯克霍尔德菌的两种分离株,并且关于新洋葱伯克霍尔德菌的一种分离株(分离株0548),观察到在BisEDT与粘菌素之间的协同作用。关于一种铜绿假单胞菌(分离株9108),基于平均FICI值＞4观察到在BisEDT与环丙沙星之间的拮抗作用。关于与环丙沙星组合的BisEDT,存在于FIC面板上的至少一行中的3种额外分离株具有指示拮抗作用的FICI值。关于与美罗培南组合的BisEDT,存在于一行中的洋葱伯克霍尔德菌的一种分离株(分离株1793)也具有指示拮抗作用的FICI值。

[0759] 总之,BisEDT与用于治疗CF的其他剂之间的总体相互作用针对CF病原体铜绿假单胞菌和洋葱伯克霍尔德菌复合群是相加/中性的,例外是其中BisEDT与粘菌素组合时具有明显的协同作用的选择情况和其中BisEDT与环丙沙星组合时具有明显的拮抗作用的选择情况。这些情况是否指示这些组合的真实协同作用或拮抗作用需要通过时间-杀死动力学分析进行进一步研究。

[0760]

表 24：如初始 MIC 测试期间观察到的活性的概述

生物	分离株 ID	表型 [1]	MIC (μg/mL)						
			BisEDT	MEM	TOB	AMK	CIP	AZT	COL
铜绿假单胞菌	103 (ATCC 25922)	-	1 (0.5-4)[2]	1 (0.12-1)	1 (0.25-1)	2 (1-4)	0.5 (0.12-1)	8 (2-8)	0.5 (0.5-4)
	1497	TOB-R、AMK-R、CIP-I、AZT-R、COL-R	0.5	0.06	16	64	2	32	4
	1530	TOB-R、AMK-R、CIP-R	1	0.5	32	64	8	4	0.5
	1553	TOB-R、AMK-R、CIP-R	2	0.5	>256	64	4	8	0.5
	6322	MEM-R、TOB-R、AMK-R、CIP-R、AZT-R	2	16	128	64	64	64	0.5
	6977	MEM-I、TOB-R、CIP-R、AZT-I	1	4	128	16	128	16	1
	7745	MEM-R、CIP-R、AZT-R	2	16	0.5	4	4	32	0.5
	7754	MEM-R、TOB-R、CIP-R、AZT-I	1	32	32	8	8	16	0.5
	7762	MEM-I、CIP-I	2	4	1	8	2	8	1
	7871	MEM-R、AZT-I	1	8	0.5	2	0.25	16	0.5
	7886	MEM-R、CIP-R、AZT-R	2	32	1	8	8	64	0.5
	7874	-	1	1	0.5	2	0.12	4	1
	8797	MEM-R、TOB-R、AMK-R、CIP-R、AZT-R、COL-R	0.25	32	>256	>256	8	>256	>256
	8798	MEM-R、TOB-R、AMK-R、CIP-R、AZT-R、COL-R	2	64	32	128	4	256	>256
	9108	CIP-R、AZT-I	2	0.5	0.5	4	32	16	0.5

[0761]

表 25：如初始 MIC 测试期间观察到的活性的概述

生物	分离株 ID	表型 [1]	MIC (μg/mL)						
			BisEDT	MEM	TOB	AMK	CIP	AZT	COL
洋葱伯克霍尔德菌	0546	-	2	4	64	64	2	16	>256
	0547	-	1	2	128	128	1	16	>256
	9040	-	1	4	8	8	1	32	>256
	1793	-	0.5	4	64	64	0.5	128	>256
	1794	-	2	4	64	128	1	32	>256
新洋葱伯克霍尔德菌	0548	CIP-R	8	4	64	256	8	64	>256
	0813	CPI-I	2	2	256	>256	4	8	>256
	1631	-	2	4	128	256	2	32	>256
	1783	-	2	4	128	256	2	32	>256
	8555	-	2	4	128	256	2	256	>256
多噬伯克霍尔德菌	1580	CIP-R	2	2	128	128	8	64	>256
	1791	-	1	4	64	128	1	4	>256
	1795	MEM-I、CIP-R	2	8	>256	>256	32	4	>256
	5665	CIP-I	1	2	64	256	4	4	>256
	8952	CIP-I	4	2	16	64	4	8	>256

MEM =美罗培南，TOB =妥布霉素，AMK =阿米卡星，CIP =环丙沙星，AZT =氨曲南，COL =粘菌素，-R =抗性，-I =中介

[1] 表型是基于根据 CLSI 断点(1)或在粘菌素和铜绿假单胞菌 EUCAST 断点(v.8.1)的情况下的 MIC 解释

[0762]

注意，洋葱伯克霍尔德菌复合群固有地抵抗氨基糖苷、氨曲南和粘菌素(1)

[2] CLSI QC 范围在适用时在括号中示出

选择以灰色阴影显示的细胞用于 FIC 测试

表 26. 如 FIC 测试期间观察到的活性的概述

生物	分离株 ID	表型 [1]	MIC (μg/mL)						
			BisEDT[3]	MEM	TOB	AMK	CIP	AZT	COL
铜绿假单胞菌	103 (ATCC 25922)[2]	-	1 (0.5-4)	1 (0.12-1)	1 (0.25-1)	4 (1-4)	1 (0.12-1)	8 (2-8)	0.5 (0.5-4)
	6322	MEM-R、TOB-R、AMK-R、CIP-R、AZT-R	1-2 (2)	16	128	64	128	32	0.5
	6977	MEM-I、TOB-R、CIP-R、AZT-I	1 (1)	8	128	16	128	64	1
	7745	MEM-R、CIP-R、AZT-R	1-2 (2)	16	0.5	4	2	16	0.5
	8798	MEM-R、TOB-R、AMK-R、CIP-R、AZT-R、COL-R	2 (2)	32	16	128	8	>256	>256
	9108	CIP-R、AZT-I	2-4 (2)	1	0.5	4	16	16	0.5
洋葱伯克霍尔德菌	0546	-	2-4 (2, 4)	4	32	64	2	32	>256
	1793	-	1-2 (1)	4	16	32	0.5	128	>256
新洋葱伯克霍尔德菌	0548	CIP-R	4 (4)	4	32	128	2	64	>256
	0813	CIP-I	2-4 (2, 4)	2	256	>256	2	32	>256
多噬伯克霍尔德菌	1795	MEM-I、CIP-R	2 (2)	4	>256	>256	32	16	>256

[0763]

MEM =美罗培南，TOB =妥布霉素，AMK =阿米卡星，CIP =环丙沙星，AZT =氨曲南，COL =粘菌素，-R =抗性，-I =中介

[1] 基于如表 1 所示的初始 MIC 测试确定的表型

注意，洋葱伯克霍尔德菌复合群固有地抵抗氨基糖苷、氨曲南和粘菌素(1)

[2] 针对 ATCC 25922 在括号中示出的 CLSI QC 范围；ATCC 25922 未在棋盘面板上与剂组合进行测试，每种剂仅出于 QC 的目的单独进行测试

[3] 例外是 ATCC 25922，其中出于质量控制的目的仅测试一种重复样品(QC 范围在括号中示出)，BisEDT 的 MIC 结果表示如在六个不同的 FIC 面板上观察到的 MIC 范围和模式。

表 27. 与所评估的剂组合的 BisEDT 的平均 FICI 数据的概述

分离株 ID	**表型 [1]**	**平均 FICI**					
		MEM	**TOB**	**AMK**	**CIP**	**AZT**	**COL**
6322	MEM-R、TOB-R、AMK-R、CIP-R、AZT-R	1.19	1.19	2.23	1.19	1.19	1.23
6977	MEM-I、TOB-R、CIP-R、AZT-1	1.73	2.23	2.23	2.23	1.23	1.23
7745	MEM-R、CIP-R、AZT-R	0.64	1.19	1.23	**2.59***	0.99	1.19
8798	MEM-R、TOB-R、AMK-R、CIP-R、AZT-R、COL-R	1.19	0.91	1.09	0.99	0.89	0.22
9108	CIP-R、AZT-I	1.19	1.19	1.29	4.50	0.79	1.08

[0764]

0546	-	1.99	0.69	0.64	1.35	1.16	0.25
1793	-	**2.59***	1.11	1.29	1.98	1.23	0.33
0548	CIP-R	1.11	0.67	0.67	**3.23***	1.23	0.41
0813	CIP-I	1.08	0.91	0.99	**2.85***	1.19	0.72
1795	MEM-I、CIP-R	1.33	1.33	1.33	1.19	1.39	1.33

MEM =美罗培南，TOB =妥布霉素，AMK =阿米卡星，CIP =环丙沙星，AZT =氨曲南，COL =粘菌素，-R =抗性，-I =中介

[1] 基于如表 1 所示的初始 MIC 测试确定的表型

** 指示测试面板上的至少一行具有≤ 0.5 的个别 FICI 值(指示协同作用)

* 指示测试面板上的至少一行具有> 4 的个别 FICI 值(指示拮抗作用)

[0765] 表28.与美罗培南组合的BisEDT的MIC(μg/mL)、FIC、FICI

[0766]

生物：铜绿假单胞菌	6322			FICI (N):		5
药物 A：BisEDT	药物 A MIC:		2	总 FICI:		5.97
药物 B：美罗培南	药物 B MIC:		16	平均 FICI:		1.19
行	MIC_A	FIC_A	MIC_B	FIC_B	FICI	
A						
B						
C	1	0.5	16	1	1.5	
D	0.5	0.25	16	1	1.25	
E	0.25	0.125	16	1	1.125	
F	0.12	0.06	16	1	1.06	
G	0.06	0.03	16	1	1.03	
H						

[0767] 表29.与妥布霉素组合的BisEDT的MIC(μg/mL)、FIC、FICI

[0768]

生物：铜绿假单胞菌	6322			FICI (N):		5
药物 A：BisEDT	药物 A MIC:		2	总 FICI:		5.97
药物 B：妥布霉素	药物 B MIC:		128	平均 FICI:		1.19
行	MIC_A	FIC_A	MIC_B	FIC_B	FICI	
A						
B						
C	1	0.5	128	1	1.5	
D	0.5	0.25	128	1	1.25	
E	0.25	0.125	128	1	1.125	
F	0.12	0.06	128	1	1.06	
G	0.06	0.03	128	1	1.03	
H						

[0769] 表30.与阿米卡星组合的BisEDT的MIC(μg/mL)、FIC、FICI

[0770]

生物：铜绿假单胞菌	6322			FICI (N):		4
药物 A：BisEDT	药物 A MIC:		1	总 FICI:		8.93
药物 B：阿米卡星	药物 B MIC:		64	平均 FICI:		2.23
行	MIC_A	FIC_A	MIC_B	FIC_B	FICI	
A						
B						
C						
D	0.5	0.5	128	2	2.5	
E	0.25	0.25	128	2	2.25	
F	0.12	0.12	128	2	2.12	

[0771]

G	0.06	0.06	128	2	2.06	
H						

[0772] 表31.与环丙沙星组合的BisEDT的MIC(μg/mL)、FIC、FICI

[0773]

生物：铜绿假单胞菌	6322			FICI (N):		5
药物 A：BisEDT	药物 A MIC:		2	总 FICI:		5.97
药物 B：环丙沙星	药物 B MIC:		128	平均 FICI:		1.19
行	MIC_A	FIC_A	MIC_B	FIC_B	FICI	
A						
B						
C	1	0.5	128	1	1.5	
D	0.5	0.25	128	1	1.25	
E	0.25	0.125	128	1	1.125	
F	0.12	0.06	128	1	1.06	
G	0.06	0.03	128	1	1.03	
H						

[0774] 表32.与氨曲南组合的BisEDT的MIC(μg/mL)、FIC、FICI

[0775]

生物：铜绿假单胞菌	6322			FICI (N):		5
药物 A：BisEDT	药物 A MIC:		2	总 FICI:		5.97
药物 B：氨曲南	药物 B MIC:		32	平均 FICI:		1.19
行	MIC_A	FIC_A	MIC_B	FIC_B	FICI	
A						
B						
C	1	0.5	16	0.5	1	
D	0.5	0.25	16	0.5	0.75	
E	0.25	0.125	32	1	1.125	
F	0.12	0.06	32	1	1.06	
G	0.06	0.03	64	2	2.03	
H						

[0776] 表33.与粘菌素组合的BisEDT的MIC(μg/mL)、FIC、FICI

[0777]

生物：铜绿假单胞菌	6322			FICI (N):		4
药物 A：BisEDT	药物 A MIC:		1	总 FICI:		4.93
药物 B：粘菌素	药物 B MIC:		0.5	平均 FICI:		1.23
行	MIC_A	FIC_A	MIC_B	FIC_B	FICI	
A						
B						
C						
D	0.5	0.5	0.5	1	1.5	

[0778]

E	0.25	0.25	0.5	1	1.25	
F	0.12	0.12	0.5	1	1.12	
G	0.06	0.06	0.5	1	1.06	
H						

[0779] 表34.与美罗培南组合的BisEDT的MIC(μg/mL)、FIC、FICI

[0780]

生物：铜绿假单胞菌	6977			FICI (N):		4
药物 A：BisEDT	药物 A MIC:		1	总 FICI:		6.93
药物 B：美罗培南	药物 B MIC:		8	平均 FICI:		1.73
行	MIC_A	FIC_A	MIC_B	FIC_B	FICI	
A						
B						
C						
D	0.5	0.5	16	2	2.5	
E	0.25	0.25	16	2	2.25	
F	0.12	0.12	8	1	1.12	
G	0.06	0.06	8	1	1.06	
H						

[0781] 表35.与妥布霉素组合的BisEDT的MIC(μg/mL)、FIC、FICI

[0782]

生物：铜绿假单胞菌	6977			FICI (N):		4
药物 A：BisEDT	药物 A MIC:		1	总 FICI:		8.93
药物 B：妥布霉素	药物 B MIC:		128	平均 FICI:		2.23
行	MIC_A	FIC_A	MIC_B	FIC_B	FICI	
A						
B						
C						
D	0.5	0.5	256	2	2.5	
E	0.25	0.25	256	2	2.25	
F	0.12	0.12	256	2	2.12	
G	0.06	0.06	256	2	2.06	
H						

[0783] 表36.与阿米卡星组合的BisEDT的MIC(μg/mL)、FIC、FICI

[0784]

生物：铜绿假单胞菌	6977			FICI (N):		4
药物 A：BisEDT	药物 A MIC:		1	总 FICI:		8.93
药物 B：阿米卡星	药物 B MIC:		16	平均 FICI:		2.23
行	MIC_A	FIC_A	MIC_B	FIC_B	FICI	
A						
B						

[0785]

C						
D	0.5	0.5	32	2	2.5	
E	0.25	0.25	32	2	2.25	
F	0.12	0.12	32	2	2.12	
G	0.06	0.06	32	2	2.06	
H						

[0786] 表37.与环丙沙星组合的BisEDT的MIC(μg/mL)、FIC、FICI

[0787]

生物：铜绿假单胞菌	6977			FICI (N):		4
药物 A：BisEDT	药物 A MIC:		1	总 FICI:		8.93
药物 B：环丙沙星	药物 B MIC:		128	平均 FICI:		2.23
行	MIC_A	FIC_A	MIC_B	FIC_B	FICI	
A						
B						
C						
D	0.5	0.5	256	2	2.5	
E	0.25	0.25	256	2	2.25	
F	0.12	0.12	256	2	2.12	
G	0.06	0.06	256	2	2.06	
H						

[0788] 表38.与氨曲南组合的BisEDT的MIC(μg/mL)、FIC、FICI

[0789]

生物：铜绿假单胞菌	6977			FICI (N):		4
药物 A：BisEDT	药物 A MIC:		1	总 FICI:		4.93
药物 B：氨曲南	药物 B MIC:		64	平均 FICI:		1.23
行	MIC_A	FIC_A	MIC_B	FIC_B	FICI	
A						
B						
C						
D	0.5	0.5	64	1	1.5	
E	0.25	0.25	64	1	1.25	
F	0.12	0.12	64	1	1.12	
G	0.06	0.06	64	1	1.06	
H						

[0790] 表39.与粘菌素组合的BisEDT的MIC(μg/mL)、FIC、FICI

[0791]

生物：铜绿假单胞菌	6977			FICI (N):		4
药物 A：BisEDT	药物 A MIC:		1	总 FICI:		4.93
药物 B：粘菌素	药物 B MIC:		1	平均 FICI:		1.23
行	MIC_A	FIC_A	MIC_B	FIC_B	FICI	

[0792]

A						
B						
C						
D	0.5	0.5	1	1	1.5	
E	0.25	0.25	1	1	1.25	
F	0.12	0.12	1	1	1.12	
G	0.06	0.06	1	1	1.06	
H						

[0793] 表40.与美罗培南组合的BisEDT的MIC(μg/mL)、FIC、FICI

[0794]

生物：铜绿假单胞菌	7745			FICI (N):		5
药物 A：BisEDT	药物 A MIC:		2	总 FICI:		3.22
药物 B：美罗培南	药物 B MIC:		16	平均 FICI:		0.64
行	MIC_A	FIC_A	MIC_B	FIC_B	FICI	
A						
B						
C	1	0.5	4	0.25	0.75	
D	0.5	0.25	8	0.5	0.75	
E	0.25	0.125	8	0.5	0.625	
F	0.12	0.06	8	0.5	0.56	
G	0.06	0.03	8	0.5	0.53	
H						

[0795] 表41.与妥布霉素组合的BisEDT的MIC(μg/mL)、FIC、FICI

[0796]

生物：铜绿假单胞菌	7745			FICI (N):		5
药物 A：BisEDT	药物 A MIC:		2	总 FICI:		5.97
药物 B：妥布霉素	药物 B MIC:		0.5	平均 FICI:		1.19
行	MIC_A	FIC_A	MIC_B	FIC_B	FICI	
A						
B						
C	1	0.5	0.5	1	1.5	
D	0.5	0.25	0.5	1	1.25	
E	0.25	0.125	0.5	1	1.125	
F	0.12	0.06	0.5	1	1.06	
G	0.06	0.03	0.5	1	1.03	
H						

[0797] 表42.与阿米卡星组合的BisEDT的MIC(μg/mL)、FIC、FICI

[0798]

生物：铜绿假单胞菌	7745			FICI (N):		4
药物 A：BisEDT	药物 A MIC:		1	总 FICI:		4.93

[0799]

药物 B：阿米卡星	药物 B MIC:		4	平均 FICI:		1.23
行	MIC_A	FIC_A	MIC_B	FIC_B	FICI	
A						
B						
C						
D	0.5	0.5	4	1	1.5	
E	0.25	0.25	4	1	1.25	
F	0.12	0.12	4	1	1.12	
G	0.06	0.06	4	1	1.06	
H						

[0800] 表43.与环丙沙星组合的BisEDT的MIC(μg/mL)、FIC、FICI

[0801]

生物：铜绿假单胞菌	7745			FICI (N):		5
药物 A：BisEDT	药物 A MIC:		2	总 FICI:		12.97
药物 B：环丙沙星	药物 B MIC:		2	平均 FICI:		2.59
行	MIC_A	FIC_A	MIC_B	FIC_B	FICI	
A						
B						
C	1	0.5	4	2	2.5	
D	0.5	0.25	8	4	4.25	
E	0.25	0.125	4	2	2.125	
F	0.12	0.06	4	2	2.06	
G	0.06	0.03	4	2	2.03	
H						

[0802] 表44.与氨曲南组合的BisEDT的MIC(μg/mL)、FIC、FICI

[0803]

生物：铜绿假单胞菌	7745			FICI (N):		5
药物 A：BisEDT	药物 A MIC:		2	总 FICI:		4.97
药物 B：氨曲南	药物 B MIC:		16	平均 FICI:		0.99
行	MIC_A	FIC_A	MIC_B	FIC_B	FICI	
A						
B						
C	1	0.5	8	0.5	1	
D	0.5	0.25	8	0.5	0.75	
E	0.25	0.125	16	1	1.125	
F	0.12	0.06	16	1	1.06	
G	0.06	0.03	16	1	1.03	
H						

[0804] 表45.与粘菌素组合的BisEDT的MIC(μg/mL)、FIC、FICI

[0805]

生物：铜绿假单胞菌	7745			FICI (N):		5
药物 A：BisEDT	药物 A MIC:		2	总 FICI:		5.97
药物 B：粘菌素	药物 B MIC:		0.5	平均 FICI:		1.19
行	MIC_A	FIC_A	MIC_B	FIC_B	FICI	
A						
B						
C	1	0.5	0.5	1	1.5	
D	0.5	0.25	0.5	1	1.25	
E	0.25	0.125	0.5	1	1.125	
F	0.12	0.06	0.5	1	1.06	
G	0.06	0.03	0.5	1	1.03	
H						

[0806] 表46.与美罗培南组合的BisEDT的MIC(μg/mL)、FIC、FICI

[0807]

生物：铜绿假单胞菌	8798			FICI (N):		5
药物 A：BisEDT	药物 A MIC:		2	总 FICI:		5.97
药物 B：美罗培南	药物 B MIC:		32	平均 FICI:		1.19
行	MIC_A	FIC_A	MIC_B	FIC_B	FICI	
A						
B						
C	1	0.5	32	1	1.5	
D	0.5	0.25	32	1	1.25	
E	0.25	0.125	32	1	1.125	
F	0.12	0.06	32	1	1.06	
G	0.06	0.03	32	1	1.03	
H						

[0808] 表47.与妥布霉素组合的BisEDT的MIC(μg/L)、FIC、FICI

[0809]

生物：铜绿假单胞菌	8798			FICI (N):		6
药物 A：BisEDT	药物 A MIC:		2	总 FICI:		5.47
药物 B：妥布霉素	药物 B MIC:		16	平均 FICI:		0.91
行	MIC_A	FIC_A	MIC_B	FIC_B	FICI	
A						
B						
C	1	0.5	8	0.5	1	
D	0.5	0.25	16	1	1.25	
E	0.25	0.125	16	1	1.125	
F	0.12	0.06	16	1	1.06	
G	0.06	0.03	16	1	1.03	
H						

[0810] 表48.与阿米卡星组合的BisEDT的MIC(μg/mL)、FIC、FICI

[0811]

生物：铜绿假单胞菌	8798			FICI (N):		5
药物 A：BisEDT	药物 A MIC:		2	总 FICI:		5.47
药物 B：阿米卡星	药物 B MIC:		128	平均 FICI:		1.09
行	MIC_A	FIC_A	MIC_B	FIC_B	FICI	
A						
B						
C	1	0.5	64	0.5	1	
D	0.5	0.25	128	1	1.25	
E	0.25	0.125	128	1	1.125	
F	0.12	0.06	128	1	1.06	
G	0.06	0.03	128	1	1.03	
H						

[0812] 表49.与环丙沙星组合的BisEDT的MIC(μg/mL)、FIC、FICI

[0813]

生物：铜绿假单胞菌	8798			FICI (N):		5
药物 A：BisEDT	药物 A MIC:		2	总 FICI:		4.97
药物 B：环丙沙星	药物 B MIC:		8	平均 FICI:		0.99
行	MIC_A	FIC_A	MIC_B	FIC_B	FICI	
A						
B						
C	1	0.5	4	0.5	1	
D	0.5	0.25	4	0.5	0.75	
E	0.25	0.125	8	1	1.125	
F	0.12	0.06	8	1	1.06	
G	0.06	0.03	8	1	1.03	
H						

[0814] 表50.与氨曲南组合的BisEDT的MIC(μg/mL)、FIC、FICI

[0815]

生物：铜绿假单胞菌	8798			FICI (N):		5
药物 A：BisEDT	药物 A MIC:		2	总 FICI:		4.47
药物 B：氨曲南	药物 B MIC:		>256	平均 FICI:		0.89
行	MIC_A	FIC_A	MIC_B	FIC_B	FICI	
A						
B						
C	1	0.5	256	0.5	1	
D	0.5	0.25	256	0.5	0.75	
E	0.25	0.125	256	0.5	1.625	
F	0.12	0.06	>256	1	1.06	

[0816]

G	0.06	0.03	>256	1	1.03	
H						

[0817] 表51.与粘菌素组合的BisEDT的MIC(μg/mL)、FIC、FICI

[0818]

生物：铜绿假单胞菌	8798			FICI (N):		5
药物 A：BisEDT	药物 A MIC:		2	总 FICI:		1.12
药物 B：粘菌素	药物 B MIC:		>256	平均 FICI:		0.22
行	MIC_A	FIC_A	MIC_B	FIC_B	FICI	
A						
B						
C	1	0.5	8	0.016	0.516	
D	0.5	0.25	8	0.016	0.266	
E	0.25	0.125	16	0.031	0.156	
F	0.12	0.06	16	0.031	0.091	
G	0.06	0.03	32	0.063	0.093	
H						

[0819] 表52.与美罗培南组合的BisEDT的MIC(μg/mL)、FIC、FICI

[0820]

生物:	铜绿假单胞菌9108				FICI (N):	5
药物 A:	BisEDT	药物 A MIC:	1		总 FICI:	5.97
药物 B:	美罗培南	药物 B MIC:	1		平均 FICI:	1.19
行	MIC_A	FIC_A	MIC_B	FIC_B	FICI	
A						
B						
C	1	0.5	1	1	1.5	
D	0.5	0.25	1	1	1.25	
E	0.25	0.125	1	1	1.125	
F	0.12	0.06	1	1	1.06	
G	0.06	0.03	1	1	1.03	
H						

[0821] 表53.与妥布霉素组合的BisEDT的MIC(μg/mL)、FIC、FICI

[0822]

生物:	铜绿假单胞菌9108				FICI (N):	5
药物 A:	BisEDT	药物 A MIC:	2		总 FICI:	5.97
药物 B:	妥布霉素	药物 B MIC:	0.5		平均 FICI:	1.19
行	MIC_A	FIC_A	MIC_B	FIC_B	FICI	
A						
B						

[0823]

C	1	0.5	0.5	1	1.5	
D	0.5	0.25	0.5	1	1.25	
E	0.25	0.125	0.5	1	1.125	
F	0.12	0.06	0.5	1	1.06	
G	0.06	0.03	0.5	1	1.03	
H						

[0824] 表54.与阿米卡星组合的BisEDT的MIC(μg/mL)、FIC、FICI

[0825]

生物:	铜绿假单胞菌9108				FICI (N):	5
药物 A:	BisEDT	药物 A MIC:	2		总 FICI:	4.47
药物 B:	阿米卡星	药物 B MIC:	4		平均 FICI:	1.29
行	MIC_A	FIC_A	MIC_B	FIC_B	FICI	
A						
B						
C	1	0.5	2	0.5	1	
D	0.5	0.25	8	2	2.25	
E	0.25	0.125	4	1	1.125	
F	0.12	0.06	4	1	1.06	
G	0.06	0.03	4	1	1.03	
H						

[0826] 表55.与环丙沙星组合的BisEDT的MIC(μg/mL)、FIC、FICI

[0827]

生物:	铜绿假单胞菌9108				FICI (N):	6
药物 A:	BisEDT	药物 A MIC:	4		总 FICI:	27.00
药物 B:	环丙沙星	药物 B MIC:	16		平均 FICI:	4.50
行	MIC_A	FIC_A	MIC_B	FIC_B	FICI	
A						
B	2	0.5	0.25	0.01563	0.51563	
C	1	0.25	128	8	8.25	
D	0.5	0.125	128	8	8.125	
E	0.25	0.063	64	4	4.063	
F	0.12	0.03	64	4	4.03	
G	0.06	0.015	32	2	2.015	
H						

[0828] 表56.与氨曲南组合的BisEDT的MIC(μg/mL)、FIC、FICI

[0829]

生物:	铜绿假单胞菌9108				FICI (N):	5
药物 A:	BisEDT	药物 A MIC:	2		总 FICI:	3.97
药物 B:	氨曲南	药物 B MIC:	16		平均 FICI:	0.79
行	MIC_A	FIC_A	MIC_B	FIC_B	FICI	
A						
B						
C	1	0.5	8	0.5	1	
D	0.5	0.25	8	0.5	0.75	
E	0.25	0.125	8	0.5	0.625	
F	0.12	0.06	8	0.5	0.56	
G	0.06	0.03	16	1	1.03	
H						

[0830]

[0831] 表57.与粘菌素组合的BisEDT的MIC(μg/mL)、FIC、FICI

[0832]

生物:	铜绿假单胞菌9108				FICI (N):	6
药物 A:	BisEDT	药物 A MIC:	4		总 FICI:	6.48
药物 B:	粘菌素	药物 B MIC:	0.5		平均 FICI:	1.08
行	MIC_A	FIC_A	MIC_B	FIC_B	FICI	
A						
B	2	0.5	0.25	0.5	1	
C	1	0.25	0.5	1	1.25	
D	0.5	0.125	0.5	1	1.125	
E	0.25	0.0625	0.5	1	1.0625	
F	0.12	0.03	0.5	1	1.03	
G	0.06	0.015	0.5	1	1.015	
H						

[0833] 表58.与美罗培南组合的BisEDT的MIC(μg/mL)、FIC、FICI

[0834]

生物:	洋葱伯克霍尔德菌546			FICI (N):		5
药物 A:	BisEDT	药物 A MIC:	2	总 FICI:		9.97
药物 B:	美罗培南	药物 B MIC:	4	平均 FICI:		1.99
行	MIC_A	FIC_A	MIC_B	FIC_B	FICI	
A						
B						
C	1	0.5	4	1	1.5	
D	0.5	0.25	8	2	2.25	
E	0.25	0.125	8	2	2.125	
F	0.12	0.06	8	2	2.06	
G	0.06	0.03	8	2	2.03	
H						

[0835] 表59.与妥布霉素组合的BisEDT的MIC(μg/mL)、FIC、FICI

[0836]

生物:	洋葱伯克霍尔德菌546			FICI (N):		5
药物 A:	BisEDT	药物 A MIC:	2	总 FICI:		3.47
药物 B:	妥布霉素	药物 B MIC:	32	平均 FICI:		0.69
行	MIC_A	FIC_A	MIC_B	FIC_B	FICI	
A						
B						
C	1	0.5	16	0.5	1	
D	0.5	0.25	16	0.5	0.75	
E	0.25	0.125	16	0.5	0.625	
F	0.12	0.06	16	0.5	0.56	
G	0.06	0.03	16	0.5	0.53	
H						

[0837] 表60.与阿米卡星组合的BisEDT的MIC(μg/mL)、FIC、FICI

[0838]

生物:	洋葱伯克霍尔德菌546			FICI (N):		5
药物 A:	BisEDT	药物 A MIC:	2	总 FICI:		3.22
药物 B:	阿米卡星	药物 B MIC:	64	平均 FICI:		0.64
行	MIC_A	FIC_A	MIC_B	FIC_B	FICI	
A						
B						
C	1	0.5	16	0.25	0.75	
D	0.5	0.25	32	0.5	0.75	
E	0.25	0.125	32	0.5	0.625	
F	0.12	0.06	32	0.5	0.56	
G	0.06	0.03	32	0.5	0.53	
H						

[0839] 表61.与环丙沙星组合的BisEDT的MIC(μg/mL)、FIC、FICI

[0840]

生物:	洋葱伯克霍尔德菌546				FICI (N):	6
药物 A:	BisEDT	药物 A MIC:	4		总 FICI:	8.11
药物 B:	环丙沙星	药物 B MIC:	2		平均 FICI:	1.35
行	MIC_A	FIC_A	MIC_B	FIC_B	FICI	
A						
B	2	0.5	0.25	0.125	0.625	
C	1	0.25	4	2	2.25	
D	0.5	0.125	4	2	2.125	
E	0.25	0.063	2	1	1.063	

[0841]

F	0.12	0.03	2	1	1.03	
G	0.06	0.015	2	1	1.015	
H						

[0842] 表62.与氨曲南组合的BisEDT的MIC(μg/mL)、FIC、FICI

[0843]

生物:	洋葱伯克霍尔德菌546				FICI (N):	6
药物 A:	BisEDT	药物 A MIC:	4		总 FICI:	6.98
药物 B:	氨曲南	药物 B MIC:	32		平均 FICI:	1.16
行	MIC_A	FIC_A	MIC_B	FIC_B	FICI	
A						
B	2	0.5	32	1	1.5	
C	1	0.25	32	1	1.25	
D	0.5	0.125	32	1	1.125	
E	0.25	0.063	32	1	1.063	
F	0.12	0.03	32	1	1.03	
G	0.06	0.015	32	1	1.015	
H						

[0844] 表63.与粘菌素组合的BisEDT的MIC(μg/mL)、FIC、FICI

[0845]

生物:	洋葱伯克霍尔德菌546				FICI (N):	6
药物 A:	BisEDT	药物 A MIC:	4		总 FICI:	1.44
药物 B:	粘菌素	药物 B MIC:	>256		平均 FICI:	0.24
行	MIC_A	FIC_A	MIC_B	FIC_B	FICI	
A						
B	2	0.5	0.25	0.0005	0.500	
C	1	0.25	8	0.016	0.266	
D	0.5	0.125	32	0.063	0.188	
E	0.25	0.063	64	0.125	0.188	
F	0.12	0.03	64	0.125	0.155	
G	0.06	0.015	64	0.125	0.14	
H						

[0846] 表64.与美罗培南组合的BisEDT的MIC(μg/mL)、FIC、FICI

[0847]

生物:	*洋葱伯克霍尔德菌* 1793			**FICI (N):**		5
药物 A:	BisEDT	**药物 A MIC:**	2	**总 FICI:**		12.97
药物 B:	美罗培南	**药物 B MIC:**	4	**平均 FICI:**		2.59
行	MIC_A	FIC_A	MIC_B	FIC_B	FICI	

[0848]

A						
B						
C	1	0.5	8	2	2.5	
D	0.5	0.25	8	2	2.25	
E	0.25	0.125	16	4	4.125	
F	0.12	0.06	8	2	2.06	
G	0.06	0.03	8	2	2.03	
H						

[0849] 表65.与妥布霉素组合的BisEDT的MIC(μg/mL)、FIC、FICI

[0850]

生物:	*洋葱伯克霍尔德菌* 1793			**FICI (N):**		4
药物 A:	BisEDT	**药物 A MIC:**	1	**总 FICI:**		4.43
药物 B:	妥布霉素	**药物 B MIC:**	16	**平均 FICI:**		1.11
行	MIC_A	FIC_A	MIC_B	FIC_B	FICI	
A						
B						
C						
D	0.5	0.5	8	0.5	1	
E	0.25	0.25	16	1	1.25	
F	0.12	0.12	16	1	1.12	
G	0.06	0.06	16	1	1.06	
H						

[0851] 表66.与阿米卡星组合的BisEDT的MIC(μg/mL)、FIC、FICI

[0852]

生物:	洋葱伯克霍尔德菌1793			FICI (N):		5
药物 A:	BisEDT	药物 A MIC:	1	总 FICI:		6.43
药物 B:	阿米卡星	药物 B MIC:	32	平均 FICI:		1.29
行	MIC_A	FIC_A	MIC_B	FIC_B	FICI	
A						
B						
C	1	1	16	0.5	1.5	
D	0.5	0.5	32	1	1.5	
E	0.25	0.25	32	1	1.25	
F	0.12	0.12	32	1	1.12	
G	0.06	0.06	32	1	1.06	
H						

[0853] 表67.与环丙沙星组合的BisEDT的MIC(μg/mL)、FIC、FICI

[0854]

生物:	洋葱伯克霍尔德菌1793			FICI (N):		4
药物 A:	BisEDT	药物 A MIC:	1	总 FICI:		7.93
药物 B:	环丙沙星	药物 B MIC:	0.5	平均 FICI:		1.98
行	MIC_A	FIC_A	MIC_B	FIC_B	FICI	
A						
B						
C						
D	0.5	0.5	1	2	2.5	
E	0.25	0.25	1	2	2.25	
F	0.12	0.12	1	2	2.12	
G	0.06	0.06	0.5	1	1.06	
H						

[0855] 表68.与氨曲南组合的BisEDT的MIC(μg/mL)、FIC、FICI

[0856]

生物:	洋葱伯克霍尔德菌1793			FICI (N):		4
药物 A:	BisEDT	药物 A MIC:	1	总 FICI:		4.93
药物 B:	氨曲南	药物 B MIC:	128	平均 FICI:		1.23
行	MIC_A	FIC_A	MIC_B	FIC_B	FICI	
A						
B						
C						
D	0.5	0.5	128	1	1.5	
E	0.25	0.25	128	1	1.25	
F	0.12	0.12	128	1	1.12	
G	0.06	0.06	128	1	1.06	
H						

[0857] 表69.与粘菌素组合的BisEDT的MIC(μg/mL)、FIC、FICI

生物:	*洋葱伯克霍尔德菌* 1793			**FICI (N):**		4
药物 A:	BisEDT	**药物 A MIC:**	1	**总 FICI:**		1.32
药物 B:	粘菌素	**药物 B MIC:**	>256	**平均 FICI:**		0.33
行	MIC_A	FIC_A	MIC_B	FIC_B	FICI	
A						
B						
C						
D	0.5	0.5	8	0.016	0.516	
E	0.25	0.25	64	0.125	0.375	
F	0.12	0.12	64	0.125	0.245	
G	0.06	0.06	128	0.125	0.185	
H						

[0858]

[0859]

[0860] 表70.与美罗培南组合的BisEDT的MIC(μg/mL)、FIC、FICI

生物:	*新洋葱伯克霍尔德菌* 548			**FICI (N):**		4
药物 A:	BisEDT	**药物 A MIC:**	4	**总 FICI:**		4.44
药物 B:	美罗培南	**药物 B MIC:**	4	**平均 FICI:**		1.11
行	MIC_A	FIC_A	MIC_B	FIC_B	FICI	
A						
B						
C						
D	2	0.5	2	0.5	1	
E	1	0.25	4	1	1.25	
F	0.5	0.125	4	1	1.125	
G	0.25	0.063	4	1	1.063	
H						

[0861]

[0862] 表71.与妥布霉素组合的BisEDT的MIC(μg/mL)、FIC、FICI

[0863]

生物:	新洋葱伯克霍尔德菌548			FICI (N):		4
药物 A:	BisEDT	药物 A MIC:	4	总 FICI:		2.69
药物 B:	妥布霉素	药物 B MIC:	32	平均 FICI:		0.67
行	MIC_A	FIC_A	MIC_B	FIC_B	FICI	
A						
B						
C						
D	2	0.5	8	0.25	0.75	
E	1	0.25	16	0.5	0.75	
F	0.5	0.125	16	0.5	0.625	
G	0.25	0.063	16	0.5	0.563	
H						

[0864] 表72.与阿米卡星组合的BisEDT的MIC(μg/mL)、FIC、FICI

[0865]

生物:	新洋葱伯克霍尔德菌548			FICI (N):		4
药物 A:	BisEDT	药物 A MIC:	4	总 FICI:		2.69
药物 B:	阿米卡星	药物 B MIC:	128	平均 FICI:		0.67
行	MIC_A	FIC_A	MIC_B	FIC_B	FICI	
A						
B						

[0866]

C						
D	2	0.5	32	0.25	0.75	
E	1	0.25	64	0.5	0.75	
F	0.5	0.125	64	0.5	0.625	
G	0.25	0.063	64	0.5	0.563	
H						

[0867] 表73.与环丙沙星组合的BisEDT的MIC(μg/mL)、FIC、FICI

[0868]

生物:	新洋葱伯克霍尔德菌548			FICI (N):		4
药物 A:	BisEDT	药物 A MIC:	4	总 FICI:		12.94
药物 B:	环丙沙星	药物 B MIC:	2	平均 FICI:		3.23
行	MIC_A	FIC_A	MIC_B	FIC_B	FICI	
A						
B						
C						
D	2	0.5	8	4	4.5	
E	1	0.25	8	4	4.25	
F	0.5	0.125	4	2	2.125	
G	0.25	0.063	4	2	2.063	
H						

[0869] 表74.与氨曲南组合的BisEDT的MIC(μg/mL)、FIC、FICI

[0870]

生物:	新洋葱伯克霍尔德菌548				FICI (N):	4
药物 A:	BisEDT	药物 A MIC:	4		总 FICI:	4.94
药物 B:	氨曲南	药物 B MIC:	64		平均 FICI:	1.23
行	MIC_A	FIC_A	MIC_B	FIC_B	FICI	
A						
B						
C						
D	2	0.5	64	1	1.5	
E	1	0.25	64	1	1.25	
F	0.5	0.125	64	1	1.125	
G	0.25	0.063	64	1	1.063	
H						

[0871] 表75.与粘菌素组合的BisEDT的MIC(μg/mL)、FIC、FICI

[0872]

生物:	新洋葱伯克霍尔德菌548			FICI (N):	4
药物 A:	BisEDT	药物 A MIC:	4	总 FICI:	1.63

[0873]

药物 B:	粘菌素	药物 B MIC:	>256	平均 FICI:	0.41
行	MIC_A	FIC_A	MIC_B	FIC_B	FICI
A					
B					
C					
D	2	0.5	32	0.063	0.563
E	1	0.25	64	0.125	0.375
F	0.5	0.125	128	0.25	0.375
G	0.25	0.063	128	0.25	0.313
H					

[0874] 表76.与美罗培南组合的BisEDT的MIC(μg/mL)、FIC、FICI

[0875]

生物:	新洋葱伯克霍尔德菌813				FICI (N):	6
药物 A:	BisEDT	药物 A MIC:	4		总 FICI:	6.48
药物 B:	美罗培南	药物 B MIC:	2		平均 FICI:	1.08
行	MIC_A	FIC_A	MIC_B	FIC_B	FICI	
A						
B	2	0.5	1	0.5	1	
C	1	0.25	2	1	1.25	
D	0.5	0.125	2	1	1.125	
E	0.25	0.063	2	1	1.063	
F	0.12	0.03	2	1	1.03	
G	0.06	0.015	2	1	1.015	
H						

[0876] 表77.与妥布霉素组合的BisEDT的MIC(μg/mL)、FIC、FICI

[0877]

生物:	新洋葱伯克霍尔德菌813				FICI (N):	6
药物 A:	BisEDT	药物 A MIC:	4		总 FICI:	5.48
药物 B:	妥布霉素	药物 B MIC:	256		平均 FICI:	0.91
行	MIC_A	FIC_A	MIC_B	FIC_B	FICI	
A						
B	2	0.5	128	0.5	1	
C	1	0.25	128	0.5	0.75	
D	0.5	0.125	128	0.5	0.625	
E	0.25	0.063	256	1	1.063	
F	0.12	0.03	256	1	1.03	
G	0.06	0.015	256	1	1.015	
H						

[0878] 表78.与阿米卡星组合的BisEDT的MIC(μg/mL)、FIC、FICI

[0879]

生物:	新洋葱伯克霍尔德菌813				FICI (N):	5
药物 A:	BisEDT	药物 A MIC:	2		总 FICI:	4.97
药物 B:	阿米卡星	药物 B MIC:	>256		平均 FICI:	0.99
行	MIC_A	FIC_A	MIC_B	FIC_B	FICI	
A						
B						
C	1	0.5	256	0.5	1	
D	0.5	0.25	256	0.5	0.75	
E	0.25	0.125	>256	1	1.125	
F	0.12	0.06	>256	1	1.06	
G	0.06	0.03	>256	1	1.03	
H						

[0880] 表79.与环丙沙星组合的BisEDT的MIC(μg/mL)、FIC、FICI

[0881]

生物:	新洋葱伯克霍尔德菌813				FICI (N):	6
药物 A:	BisEDT	药物 A MIC:	4		总 FICI:	17.11
药物 B:	环丙沙星	药物 B MIC:	2		平均 FICI:	2.85
行	MIC_A	FIC_A	MIC_B	FIC_B	FICI	
A						
B	2	0.5	0.25	0.125	0.625	
C	1	0.25	8	4	4.25	
D	0.5	0.125	8	4	4.125	
E	0.25	0.063	8	4	4.063	
F	0.12	0.03	4	2	2.03	
G	0.06	0.015	4	2	2.015	
H						

[0882] 表80.与氨曲南组合的BisEDT的MIC(μg/mL)、FIC、FICI

[0883]

生物:	新洋葱伯克霍尔德菌813			FICI (N):	5
药物 A:	BisEDT	药物 A MIC:	2	总 FICI:	5.97
药物 B:	氨曲南	药物 B MIC:	32	平均 FICI:	1.19
行	MIC_A	FIC_A	MIC_B	FIC_B	FICI
A					
B					
C	1	0.5	32	1	1.5
D	0.5	0.25	32	1	1.25
E	0.25	0.125	32	1	1.125

[0884]

F	0.12	0.06	32	1	1.06
G	0.06	0.03	32	1	1.03
H					

[0885] 表81.与粘菌素组合的BisEDT的MIC(μg/mL)、FIC、FICI

[0886]

生物:	新洋葱伯克霍尔德菌813			FICI (N):	5
药物 A:	BisEDT	药物 A MIC:	2	总 FICI:	3.59
药物 B:	粘菌素	药物 B MIC:	>256	平均 FICI:	0.72
行	MIC_A	FIC_A	MIC_B	FIC_B	FICI
A					
B					
C	1	0.5	64	0.125	0.625
D	0.5	0.25	256	0.5	0.75
E	0.25	0.125	256	0.5	0.625
F	0.12	0.06	256	0.5	0.56
G	0.06	0.03	>256	1	1.03
H					

[0887] 表82.与美罗培南组合的BisEDT的MIC(μg/mL)、FIC、FICI

[0888]

生物:	多噬伯克霍尔德菌1795			FICI (N):	6
药物 A:	BisEDT	药物 A MIC:	2	总 FICI:	7.97
药物 B:	美罗培南	药物 B MIC:	4	平均 FICI:	1.33
行	MIC_A	FIC_A	MIC_B	FIC_B	FICI
A					
B	2	1	4	1	2
C	1	0.5	4	1	1.5
D	0.5	0.25	4	1	1.25
E	0.25	0.125	4	1	1.125
F	0.12	0.06	4	1	1.06
G	0.06	0.03	4	1	1.03
H					

[0889] 表83.与妥布霉素组合的BisEDT的MIC(μg/mL)、FIC、FICI

[0890]

生物:	多噬伯克霍尔德菌1795			FICI (N):	6
药物 A:	BisEDT	药物 A MIC:	2	总 FICI:	7.97
药物 B:	妥布霉素	药物 B MIC:	>256	平均 FICI:	1.33
行	MIC_A	FIC_A	MIC_B	FIC_B	FICI
A					

[0891]

B	2	1	>256	1	2
C	1	0.5	>256	1	1.5
D	0.5	0.25	>256	1	1.25
E	0.25	0.125	>256	1	1.125
F	0.12	0.06	>256	1	1.06
G	0.06	0.03	>256	1	1.03
H					

[0892] 表84.与阿米卡星组合的BisEDT的MIC(μg/mL)、FIC、FICI

[0893]

生物:	多噬伯克霍尔德菌1795			FICI (N):	6
药物 A:	BisEDT	药物 A MIC:	2	总 FICI:	7.97
药物 B:	阿米卡星	药物 B MIC:	>256	平均 FICI:	1.33
行	MIC_A	FIC_A	MIC_B	FIC_B	FICI
A					
B	2	1	>256	1	2
C	1	0.5	>256	1	1.5
D	0.5	0.25	>256	1	1.25
E	0.25	0.125	>256	1	1.125
F	0.12	0.06	>256	1	1.06
G	0.06	0.03	>256	1	1.03
H					

[0894] 表85.与环丙沙星组合的BisEDT的MIC(μg/mL)、FIC、FICI

[0895]

生物:	多噬伯克霍尔德菌1795			FICI (N):	5
药物 A:	BisEDT	药物 A MIC:	2	总 FICI:	5.97
药物 B:	环丙沙星	药物 B MIC:	32	平均 FICI:	1.19
行	MIC_A	FIC_A	MIC_B	FIC_B	FICI
A					
B					
C	1	0.5	32	1	1.5
D	0.5	0.25	32	1	1.25
E	0.25	0.125	32	1	1.125
F	0.12	0.06	32	1	1.06
G	0.06	0.03	32	1	1.03
H					

[0896] 表86.与氨曲南组合的BisEDT的MIC(μg/mL)、FIC、FICI

[0897]

生物:	多噬伯克霍尔德菌1795			FICI (N):	5
药物 A:	BisEDT	药物 A MIC:	2	总 FICI:	6.97
药物 B:	氨曲南	药物 B MIC:	16	平均 FICI:	1.39
行	MIC_A	FIC_A	MIC_B	FIC_B	FICI
A					
B					
C	1	0.5	16	1	1.5
D	0.5	0.25	16	1	1.25
E	0.25	0.125	16	1	1.125
F	0.12	0.06	16	1	1.06
G	0.06	0.03	32	2	2.03
H					

[0898] 表87.与粘菌素组合的BisEDT的MIC(μg/mL)、FIC、FICI

[0899]

生物:	多噬伯克霍尔德菌1795			FICI (N):	6
药物 A:	BisEDT	药物 A MIC:	2	总 FICI:	7.97
药物 B:	粘菌素	药物 B MIC:	>256	平均 FICI:	1.33
行	MIC_A	FIC_A	MIC_B	FIC_B	FICI
A					
B	2		>256	1	2
C	1	0.5	>256	1	1.5
D	0.5	0.25	>256	1	1.25
E	0.25	0.125	>256	1	1.125
F	0.12	0.06	>256	1	1.06
G	0.06	0.03	>256	1	1.03
H					

[0900] 参考文献

[0901] 1.)Clinical and Laboratory Standards Institute(CLSI).Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing.28th ed.CLSI supplement M100.CLSI,950 West Valley Road,Suite 2500,Wayne,Pennsylvania 19087 USA,2018.

[0902] 2.)CLSI.Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically;Approved Standard-11th Edition.CLSI standard M07.CLSI,950 West Valley Road,Suite 2500,Wayne,Pennsylvania 19087 USA,2018.

[0903] 3.)Eliopoulos G and R Moellering.1991.Antimicrobial combinations.In Antibiotics in Laboratory Medicine,Third Edition,edited by V Lorian.Williams and Wilkins,Baltimore,MD,pp.432-492.

[0904] 4.)Odds FC.2003.Synergy,antagonism,and what the chequerboard puts between them.J Antimicrob Chemother 52(1):1.

[0905] 实施例11:铋硫醇和比较物针对耐药性革兰氏阳性和革兰氏阴性细菌和酵母的体外活性

[0906] 引言:针对目前由美国疾病控制中心(CDC;1)识别为美国的头号耐药性威胁的生物(包括ESKAPE病原体(2,3)、艰难梭菌、抗性淋球菌和唑抗性念珠菌属),评估三种铋硫醇化合物的体外活性。根据美国临床和实验室标准协会(CLSI;4-8)的指南评估测试分离株对铋硫醇化合物MB-1-B3、MB-2B和MB-6以及相关比较物的易感性。

[0907] 材料和方法

[0908] 测试剂和比较剂:测试剂存储于室温下直至进行分析。所有测试剂均悬浮并稀释于100%二甲基亚砜(DMSO)中,并最终以0.06-64μg/mL的最终浓度进行测试。在用于自动灭菌之前,使储备溶液静置至少1h。

[0909] 在跨越确立的质量控制范围和断点的浓度范围内测试比较药物。下表88描述了关于测试期间使用的比较化合物的信息:

[0910] 表88:比较化合物

[0911]

药物	制造商	批号	溶剂	稀释剂
左氧氟沙星	Sigma	BCBC2112V	0.1 M NaOH	水
美罗培南	USP	I0J244	水	水
头孢他啶	USP	L1K237	水	水
庆大霉素	Sigma	SLBM9736V	水	水
万古霉素			水	水
青霉素	Sigma	071M0740V	水	水
苯唑西林	Sigma	BCBF5635V	水	水
克林霉素	Sigma	021M1533V	水	水
红霉素	Sigma	011M1510V	95%乙醇	水
环丙沙星	USP	1134335	水	水
甲硝唑	Sigma	095K0693	DMSO	水
非达霉素	Merck	SE-B13-01-001885	DMSO	水
氟康唑	USP	H1L308	DMSO	DMSO

[0912]

两性霉素 B	Sigma	063M4043V	DMSO	DMSO
甲氧苄啶	Sigma	080M4044	水	水
磺胺甲噁唑	Fluka	BCBC7096V	水和 2.5 M NaOH，逐滴	水
头孢曲松	USP	J1L040	水	水

[0913] 测试生物:测试生物由来自美国菌种保存中心(ATCC;Manassas,VA)的参考菌株或来自MMX贮藏室的临床分离株组成。表89-95示出所评估的生物的光谱和其相应的表型信息。如CLSI(4-8)所规定,在每天的测试中都包括相关的质量控制生物。在测试之前,所述分离株在适当的琼脂培养基上继代培养。

[0914] 测试培养基:根据CLSI(4,6,7)的指南制备并存储测试培养基。使用阳离子调节的Mueller-Hinton肉汤(CAMHB;Becton Dickinson[BD],Sparks,MD;批号6117994)执行好氧细菌的肉汤微量稀释易感性测试,例外是链球菌,其中CAMHB补充有5%(v/v)溶解的马血(Cleveland Scientific,Bath,OH;批号322799)。使用由补充有1%IsoVitaleX(BD;批号5246843)的GC培养基基础(BD;批号4274618)组成的琼脂,通过琼脂稀释来评估淋病奈瑟菌。

[0915] 使用补充有5μg/mL氯化血红素(Sigma,St.Louis,MO;批号108K1088)、1μg/mL维生素K1和5%(v/v)已溶羊血(Cleveland Scientific,Bath,OH;批号322799)的布氏琼脂(BD/BBL;批号5237692),通过琼脂稀释来确定厌氧细菌的易感性。

[0916] 通过在用0.165M MOPS(Calbiochem,Billerica,MA;批号2694962)缓冲的RPMI培养基(HyClone Laboratories,Logan,UT;批号AZC184041B)中进行肉汤微量稀释来确定酵母分离株的易感性。用1N NaOH将培养基的pH调节至7.0,使用0.2μm PES过滤器进行无菌过滤,并存储于4℃下直至使用。

[0917] 肉汤微量稀释MIC测试(好氧细菌和酵母):肉汤微量稀释分析方法用于好氧细菌(不包括通过琼脂稀释评估的淋病奈瑟菌)和酵母的易感性测试,基本上遵循由CLSI(3,4,7,8)描述的程序并使用自动液体处理机来进行连续稀释和液体转移。自动液体处理机包括Multidrop 384(Labsystems,Helsinki,Finland)和Biomek 2000(Beckman Coulter,Fullerton CA)。用150μl恰当稀释剂填充标准96孔微量稀释板(Costar 3795)的第2-12列中的孔。这些板将成为‘母板’,‘子’板或测试版将由所述‘母板’制备。将药物(300μL,测试板中的期望最高浓度的40倍)分配至所述母板的第1列中的适当孔中。使用Biomek 2000来进行通过所述“母板”中的第11列的连续两倍稀释。第12列的孔不含药物并且最终充当生物生长对照孔。

[0918] 子板使用Multidrop 384装载每孔185μL的适当测试培养基。子板是使用Biomek FX制备的,所述Biomek FX在单一步骤中将来自母板的每个孔的5μL药物溶液转移至恰当子板的相应的孔中。

[0919] 根据CLSI方法(3,7)制备每种生物的标准化接种物。从原板中挑选每种测试分离株的分离的菌落,并制备等于0.5McFarland浊度标准的悬浮液。标准化悬浮液接着1∶100稀释于测试培养基中(关于酵母为1∶100,关于细菌为1∶20)。在稀释之后,接着将接种物悬浮液转移至按长度划分的无菌贮器(Beckman Coulter)的隔室中,并且使用Biomek 2000接种

所有板。将子板以相反方向放置于Biomek 2000上，以便从低药物浓度至高药物浓度接种板。

[0920] 所述Biomek 2000将10μL标准化接种物递送至适当子板的每个孔中，以进行额外的1:20稀释。所述子板的孔最终含有185μL适当培养基、5μL药物溶液和10μL接种物，其对应于每个测试孔0.5-2.5x103CFU/mL的酵母和大约$5x10^5$CFU/mL的细菌的最终接种物浓度。测试孔中的DMSO(如果用作溶剂)的最终浓度为2.5%。

[0921] 将板堆叠成4层高，在顶板上盖上盖子，放置于塑料袋中，并在35℃下针对所有酵母分离株孵育持续大约24-48h并且针对好氧细菌孵育持续大约16-24h。使用板观察器从底部观察板。观察未接种的溶解度对照板来寻找药物沉淀的证据。根据CLSI准则(3,7)读取测试剂和对照化合物的MIC终点。

[0922] 琼脂稀释MIC测试(厌氧细菌和淋球菌)：如由CLSI(6)所述，使用参考琼脂稀释方法来确定厌氧细菌的MIC值。在所述分析之前，生物在Bactron II厌氧室(Shel Lab，Cornelius，OR)中在35℃下生长持续大约48h。根据CLSI(6)手动地制备药物稀释液和药物补充的琼脂板。使所述板在室温下静置持续1h以使琼脂表面干燥，并在接种前在厌氧菌室中预还原持续大约1h。使用浊度计(Dade Behring MicroScan，West Sacramento，CA)使每种分离株悬浮于布氏肉汤中的0.5McFarland标准的相等物中。每种细菌细胞悬浮液接着1:10稀释于布氏肉汤中，并转移至用于接种测试板的不锈钢复制器块中的孔中。所述复制器上的叉将大约1-2μl接种物递送至琼脂表面。所得接种物斑点含有大约$1x10^5$CFU/斑点。在所述接种物干燥后，经过接种的药物补充的琼脂板和无药物生长对照板在厌氧菌室中在35℃下孵育持续42-48h。根据CLSI指南(6)读取MIC。

[0923] 如由CLSI(4)所述，使用所述参考琼脂稀释方法来确定淋病奈瑟菌的MIC值。这种方法遵循上文针对厌氧菌描述的相同的琼脂稀释方法，例外是琼脂板含有补充有1%IsoVitaleX的GC培养基基础并且在接种之后，板在35℃下在5%CO2中有氧孵育持续20-24h。

[0924] 结果与讨论

[0925] 下文示出铋硫醇测试剂MB-1-B3、MB-2B和MB-6以及比较物针对肠杆菌(表89)、铜绿假单胞菌和鲍曼不动杆菌(表90)、金黄色葡萄球菌和肠球菌属(表91)、链球菌(表92)、淋病奈瑟菌(表93)、厌氧菌(表94)和念珠菌属(表95)的活性。在所有评估的生物中，比较剂的MIC结果均在相关ATCC QC分离株的确立的CLSI QC范围内(5,8)。

[0926] 所评估的肠杆菌(表1)由大肠杆菌ATCC QC分离株、ESBL阳性大肠杆菌和肺炎克雷白杆菌、KPC阳性肺炎克雷白杆菌和NDM-1阳性大肠杆菌、肺炎克雷白杆菌和阴沟肠杆菌组成。不包括易感性的大肠杆菌ATCC QC分离株，所述比较物的活性说明了这些分离株的耐药性性质。不考虑高度耐药性，所评估的铋硫醇测试剂在所有分离株中具有一致的活性。MB-1-B3(0.5-4μg/mL的MIC值)和MB-6(0.5-2μg/mL的MIC值)具有相似的活性并且这一活性通常比用MB-2B(2-32μg/mL的MIC值)观察到的活性低2倍至16倍。

[0927] 所评估的铜绿假单胞菌和鲍曼不动杆菌(表90)由易感性的铜绿假单胞菌ATCC QC分离株以及具有金属-β-内酰胺酶或多重耐药性的多种分离株组成。不包括所述QC分离株，比较物的活性说明了这些分离株的耐药性性质。不考虑高度耐药性，所评估的铋硫醇测试剂在所有分离株中具有一致的活性。MB-1-B3和MB-6(0.5-2μg/mL的MIC值)具有相似的活性

并且这一活性通常比用MB-2B(2-16μg/mL的MIC值)观察到的活性低2倍至32倍。

[0928] 针对金黄色葡萄球菌和肠球菌属(表91),所有3种铋硫醇测试化合物均具有有效活性,不考虑抗性表型(针对金黄色葡萄球菌的MRSA以及针对粪肠球菌和屎肠球菌的VRE)。所评估的MRSA在很大程度上对万古霉素和庆大霉素具易感性,但抵抗剩余比较物。不考虑抗性,MB-1-B3和MB-6针对MRSA具有＜0.06μg/mL的MIC值,并且MB-2B也具有＜0.06μg/mL的MIC值,例外是QC分离株和MRSA MMX 9203(MIC值分别为0.5和0.25μg/mL)。针对肠球菌,用所评估的比较物观察到很少活性。所述铋硫醇测试剂对万古霉素抗性屎肠球菌具活性,不过相对于万古霉素抗性粪肠球菌,MIC值略高。如同革兰氏阴性好氧分离株,对于肠球菌,MB-1-B3(0.25-2μg/mL的MIC值)和MB-6(0.25-1μg/mL的MIC值)具有相似的活性并且这一活性通常比用MB-2B(2-4μg/mL的MIC值)观察到的活性低4倍至8倍。

[0929] 所评估的链球菌(表92)由易感性的肺炎链球菌QC分离株、多重耐药性肺炎球菌、大环内酯抗性化脓性链球菌和克林霉素抗性无乳链球菌组成。不考虑耐药性表型,所述铋-硫醇测试剂维持针对链球菌的活性。在3种铋硫醇测试剂中,关于MB-1-B3和MB-6,一种趋势是针对肺炎球菌的MIC值相对于β-溶血性链球菌略高。针对肺炎球菌,MB-1-B3(0.5-1μg/mL的MIC值)和MB-6(0.5-8μtg/mL的MIC值)具有相似的活性并且这一活性通常比用MB-2B(1-8μg/mL的MIC值)观察到的活性低8倍至16倍。针对β-溶血性链球菌,MB-1-B3(0.03-1μg/mL的MIC值)和MB-6(0.03-2μg/mL的MIC值)具有相似的活性并且这一活性通常比用MB-2B(0.25-8μg/mL的MIC值)观察到的活性低4倍至16倍。

[0930] 如表93所示,所述铋硫醇测试剂针对淋病奈瑟菌的易感性QC分离株、3种环丙沙星抗性分离株和单一的头孢曲松非易感性分离株具有有效活性。用MB-1-B3(0.06-0.12μg/mL的MIC值)和MB-6(0.06-0.25μg/mL的MIC值)观察到相似的活性并且这一活性略大于针对MB-2B(0.12-0.5μg/mL的MIC值)观察到的活性。

[0931] 针对由易感性脆弱拟杆菌和艰难梭菌QC分离株以及具有包括027(超毒力菌株)在内的多种临床上重要的核糖体型的艰难梭菌组成的所评估的厌氧菌(表94),MB-1-B3(0.25-2μg/mL的MIC值)和MB-6(1-4μg/mL的MIC值)具有相似的活性并且这一活性通常略大于用MB-2B(2-16μg/mL的MIC值)观察到的活性。对比较物克林霉素、甲硝唑和非达霉素的抗性似乎对所述铋硫醇测试剂的活性无影响。

[0932] 最后,针对包括近平滑念珠菌、白色念珠菌、光滑念珠菌和热带念珠菌在内的临床上流行的念珠菌属的唑抗性分离株(表95),所述铋硫醇测试剂具活性。相对于近平滑念珠菌和光滑念珠菌,用白色念珠菌和热带念珠菌观察到针对所述测试剂的MIC值较高的趋势。所有3种铋硫醇测试剂针对酵母具有相似的活性,其中在24h时针对近平滑念珠菌和光滑念珠菌的MIC值为0.25-0.5μg/mL,针对白色念珠菌的MIC值为1-4μg/mL,并且针对热带念珠菌的MIC值为1-16μg/mL。

[0933] 总之,这项研究中所评估的铋硫醇测试剂的广谱活性是明确的,并且针对耐药性分离株维持针对易感性QC分离株观察到的活性,无论所评估的生物或抗性表型如何。基于MIC值,所述铋硫醇测试剂针对MRSA、淋病奈瑟菌和β-溶血性链球菌的活性最高,但针对革兰氏阴性需氧菌、肺炎链球菌、艰难梭菌和酵母也具有高度活性。一般说来,测试剂MB-1-B3和MB-6根据MIC具有相似的活性,并且都比MB-2B有效,例外是酵母以及在较小程度上是淋病奈瑟菌(其中所有三种化合物具有相似的活性谱)。

[0934]

表 89：微生物铋硫醇测试剂和比较物针对肠杆菌的最低抑制浓度(MIC)值

分离株	类型	MIC (μg/mL)							
		MB-1-B3	MB-2B	MB-6	左氧氟沙星	环丙沙星	美罗培南	头孢他啶	庆大霉素
大肠杆菌 MMX 102 (ATCC 25922)	QC	0.5	2	0.5	0.015 (0.008-0.06)[1]	0.008 (0.004-0.015)	0.03 (0.008-0.06)	0.12 (0.06-0.5)	1 (0.25-1)
大肠杆菌 MMX 8423	ESBL Lev^R CAZ^R Gm^R	1	2	1	16	32	0.03	32	64
大肠杆菌 MMX 8424	ESBL CAZ^R	0.5	4	0.5	0.06	0.015	0.03	16	0.25
大肠杆菌 MMX 8425	ESBL Lev^R CAZ^R Gm^R	1	2	1	16	>64	0.015	16	>64
大肠杆菌 MMX 5980 (ATCC BAA-2469)	NDM-1 Lev^R MEM^R CAZ^R Gm^R	1	2	1	16	>64	32	32	>64
肺炎克雷白杆菌 MMX 4683	KPC-2 Lev^R MEM^R CAZ^R	1	8	1	>64	>64	32	>32	1
肺炎克雷白杆菌	KPC-2 MEM^R CAZ^R	2	16	1	1	0.03	>64	>32	0.25

[0935]

分离株	类型	MIC (μg/mL)							
		MB-1-B3	MB-2B	MB-6	左氧氟沙星	环丙沙星	美罗培南	头孢他啶	庆大霉素
MMX 4622									
肺炎克雷白杆菌 MMX 4623	KPC-2 MEM^R CAZ^R Gm^R	2	32	0.5	1	2	>64	>32	64
肺炎克雷白杆菌 MMX 4694	KPC-3 Lev^R MEM^R CAZ^R	2	8	1	64	>64	32	>32	8
肺炎克雷白杆菌 MMX 4653	KPC-3 Lev^R MEM^R CAZ^R	4	16	2	64	>64	>64	>32	1
肺炎克雷白杆菌 MMX 4684	ESBL MEM^R	4	32	2	0.03	0.5	8	8	0.25
肺炎克雷白杆菌 MMX 4685	ESBL Lev^R MEM^R CAZ^R	2	8	1	32	64	4	>32	1
肺炎克雷白杆菌 MMX 5979	NDM-1 Lev^R MEM^R CAZ^R Gm^R	2	16	1	>64	>64	>64	>32	>64
阴沟肠杆菌 MMX 5981 (ATCC BAA-2468)	NDM-1 Lev^R MEM^R CAZ^R Gm^R	4	32	2	64	>64	>64	>32	>64

QC =质量控制；ESBL =超广谱β-内酰胺酶；KPC =肺炎克雷白杆菌碳青霉烯酶；NDM =新德里金属-β-内酰胺

[0936]

酶;

Lev^R =左氧氟沙星抗性; MEM^R =美罗培南抗性; CAZ^R =头孢他啶抗性; Gm^R =庆大霉素抗性

[1] CLSI QC 范围在适用时在括号中示出

表 90. 微生物铋硫醇测试剂和比较物针对铜绿假单胞菌和鲍曼不动杆菌的最低抑制浓度(MIC)值

分离株	类型	MI							
		MB-1-B3	MB-2B	MB-6	左氧氟沙星	环丙沙星	美罗培南	头孢他啶	庆大霉素
铜绿假单胞菌 MMX 103 (ATCC 27853)	QC	1	8	1	1 (0.5-4)	0.5 (0.25-1)	0.5 (0.25-1)	2 (1-4)	1 (0.5-2)
铜绿假单胞菌 MMX 4697	VIM-2 Lev^R Cip^R MEM^R CAZ^R	1	16	2	32	32	8	32	4
铜绿假单胞菌 MMX 4654	IMP-7 Lev^R Cip^R MEM^R CAZ^R	2	8	2	64	32	>64	>32	>64
铜绿假单胞菌 MMX 2562	MDR Lev^R Cip^R MEM^R CAZ^R	1	4	2	64	64	32	>32	8
铜绿假单胞菌 MMX 1381	MDR Lev^R Cip^R MEM^R CAZ^R	1	2	1	64	32	16	32	8

[0937]

分离株	类型	MI							
		MB-1-B3	MB-2B	MB-6	左氧氟沙星	环丙沙星	美罗培南	头孢他啶	庆大霉素
铜绿假单胞菌 MMX 3991	MDR Lev^R Cip^R MEM^R CAZ^R	1	8	2	64	32	16	16	4
鲍曼不动杆菌 MMX 4651 (NCTC 13304)	MDR；OXA-27 Lev^R Cip^R MEM^R CAZ^R Gm^I	0.5	16	0.5	8	32	64	>32	8
鲍曼不动杆菌 MMX 2592	MDR Lev^R Cip^R MEM^R CAZ^R Gm^R	0.5	16	0.5	64	>64	64	32	>64
鲍曼不动杆菌 MMX 2593	MDR Lev^R Cip^R MEM^R CAZ^R Gm^R	1	16	0.5	32	>64	64	32	>64
鲍曼不动杆菌 MMX 3372	MDR Cip^R MEM^I CAZ^I	1	16	1	1	4	4	16	0.5
鲍曼不动杆菌 MMX 3373	敏感性	1	16	0.5	0.12	0.5	0.5	4	0.12

QC =质量控制；VIM/IMP =金属-β 内酰胺酶类型；OXA = D 型超广谱 β-内酰胺酶；MDR =多重耐药性(基于对至少 3 种不同类别的抗生素的抗性)；Lev^R =左氧氟沙星抗性；CIP^R =环丙沙星抗性；MEM^I =美罗培南中介抗性；MEM^R =美罗培南抗性；CAZ^R =头孢他啶抗性；CAZ^I =头孢他啶中介抗性；Gm^R =庆大霉素抗性；Gm^I =庆大霉素中

[0938]

介抗性。

[1] CLSI QC 范围在适用时在括号中示出

表 91. 微生物铋硫醇测试剂和比较物针对金黄色葡萄球菌和肠球菌属的最低抑制浓度(MIC)值。

分离株	类型	MIC (μg/mL)											
		MB-1-B3	MB-2B	MB-6	左氧氟沙星	环丙沙星	庆大霉素	万古霉素	美罗培南	头孢他啶	克林霉素	红霉素	
金黄色葡萄球菌 MMX 101 (ATCC 29213)	QC; MSSA	≤0.06	0.5	≤0.06	0.12 (0.06-0.5)[1]	0.5 (0.12-0.5)	0.12 (0.12-1)	1 (0.5-2)	0.06 (0.03-0.12)	8 (4-16)	0.12 (0.06-0.25)	0.5 (0.25-1)	0 (0 0.

[0939]

分离株	类型	MIC (ug/mL)											
		MB-1-B3	MB-2B	MB-6	左氧氟沙星	环丙沙星	庆大霉素	万古霉素	美罗培南	头孢他啶	克林霉素	红霉素	苯唑西林
金黄色葡萄球菌 MMX 9203	MRSA[2] Lev^R Cip^R Ery^R Ox^R	≤0.06	0.25	≤0.06	4	16	0.12	2	4	>32	0.12	>64	64
金黄色葡萄球菌 MMX 9204	MRSA Lev^R Cip^R Ery^R Ox^R	≤0.06	≤0.06	≤0.06	4	16	0.25	1	4	>32	0.12	>64	
金黄色葡萄球菌 MMX 9205	MRSA Lev^R Cip^R CC^R Ery^R Ox^R	≤0.06	≤0.06	≤0.06	>64	>64	0.25	2	64	>32	>32	>64	
金黄色葡萄球菌 MMX 5373	MRSA Lev^R Cip^R CC^R Ery^R Ox^R	≤0.06	≤0.06	≤0.06	32	>64	0.25	2	32	>32	>32	>64	
金黄色葡萄球菌 MMX 6311	MRSA Lev^R Cip^R CC^R Ery^R Ox^R	≤0.06	≤0.06	≤0.06	32	>64	0.25	0.25	8	>32	>32	>64	

[0940]

分离株	类型	MIC (ug/mL)											
		MB-1-B3	MB-2B	MB-6	左氧氟沙星	环丙沙星	庆大霉素	万古霉素	美罗培南	头孢他啶	克林霉素	红霉素	苯唑西林
粪肠球菌 MMX 8960	VRE Lev^R Cip^R Ery^R	0.5	2	0.5	32	64	>64	>64	8	>32	>32	>64	>64
粪肠球菌 MMX 8961	VRE Lev^R Cip^R Ery^R	0.25	2	0.25	64	64	8	>64	8	>32	>32	>64	64
粪肠球菌 MMX 8962	VRE Lev^R Cip^R Ery^R	0.5	2	0.25	64	64	>64	>64	2	>32	>32	>64	
屎肠球菌 MMX 752	VRE vanA Lev^R Cip^R Ery^R	2	4	1	>64	>64	>64	>64	>64	>32	>32	>64	
屎肠球菌 MMX 485	VRE vanA Lev^R Cip^R Ery^R	1	2	0.5	>64	>64	>64	>64	>64	>32	>32	>64	

QC=质量控制；MSSA=甲氧西林易感性金黄色葡萄球菌；MRSA=甲氧西林抗性金黄色葡萄球菌；VRE=万古

[0941]

霉素抗性肠球菌；vanA＝vanA 型 VRE(基于万古霉素抗性和替考拉宁抗性表型)；Lev^R＝左氧氟沙星抗性；CIP^R＝环丙沙星抗性；CC^R＝克林霉素抗性；Ery^R＝红霉素抗性；Ox^R＝苯唑西林抗性

[1] CLSI QC 范围在适用时在括号中示出

[2] MRSA 针对头孢他啶和美洛培南不具有断点-推测有抗性。

表 92. 微生物铋硫醇测试剂和比较物针对链球菌属的最低抑制浓度(MIC)值。

分离株	类型	MIC (μg/mL)										
		MB-1-B3	MB-2B	MB-6	左氧氟沙星	环丙沙星	美罗培南	万古霉素	Trimeth/Sulfa	克林霉素	红霉素	青霉素
肺炎链球菌 MMX 6837 (ATCC 49619)	QC	0.5	8	0.5	0.5 (0.5-2)[1]	0.5	0.06 (0.06-0.25)	0.25 (0.12-0.5)	0.25/4.8 (0.12/2.4-1/19)	0.06 (0.03-0.12)	0.03 (0.03-0.12)	0.25 (0.25-1)
肺炎链球菌 MMX 880	Lev^R SXT^R CC^R Ery^R Pen^R	1	8	0.5	8	32	0.5	0.5	4/76	>8	>8	2
肺炎链球菌 MMX 937	Mem^R SXT^R CC^R	1	1	8	1	1	1	0.5	16/304	>8	>8	4

[0942]

分离株	类型	MIC (μg/mL)										
		MB-1-B3	MB-2B	MB-6	左氧氟沙星	环丙沙星	美罗培南	万古霉素	Trimeth/Sulfa	克林霉素	红霉素	青霉素
	Ery^R Pen^R											
肺炎链球菌 MMX 3959	CC^R Ery^R	1	8	1	1	4	0.03	0.5	2/38	>8	>8	0.12
肺炎链球菌 MMX 5440	Mem^R SXT^R CC^R Ery^R Pen^R	1	8	0.5	1	2	1	0.25	16/304	>8	>8	4
肺炎链球菌 MMX 5445	Mem^R SXT^R CC^R Ery^R Pen^R	0.5	8	0.5	1	2	1	0.25	8/152	>8	>8	4
肺炎链球菌 MMX 8133	Mem^R SXT^R CC^R Ery^R Pen^R	0.25	8	0.5	1	1	1	0.25	8/152	>8	>8	4
化脓性链球菌 MMX 3068	Ery^R	0.12	2	0.12	0.5	0.5	≤0.008	0.5	0.12/2.4	0.06	>8	≤0.008
化脓性链球菌 MMX 3820	ERY^R CLI^R	0.25	1	0.5	0.25	0.12	≤0.008	0.5	0.12/2.4	1	>8	≤0.008
化脓性链球菌 MMX 3919	ERY^R	0.03	0.25	0.03	0.12	0.25	≤0.008	0.5	0.06/1.2	0.12	>8	≤0.008
化脓性链球菌	ERY^R CC^R	0.25	1	0.5	0.5	0.5	≤0.008	0.5	0.25/4.8	>8	>8	≤0.008

[0943]

分离株	类型	MIC (μg/mL)										
		MB-1-B3	MB-2B	MB-6	左氧氟沙星	环丙沙星	美罗培南	万古霉素	Trimeth/Sulfa	克林霉素	红霉素	青霉素
MMX 3929												
化脓性链球菌 MMX 5091	ERY^R CC^R	0.5	1	1	0.25	0.25	≤0.008	0.5	0.06/1.2	>8	>8	≤0.008
无乳链球菌 MMX 3741	ERY^R CC^R	0.5	4	0.25	0.5	0.5	0.03	0.5	0.12/2.4	>8	8	0.03
无乳链球菌 MMX 3743	ERY^R CC^R	0.25	4	0.25	1	1	0.06	0.5	0.12/2.4	>8	>8	0.06
无乳链球菌 MMX 4077	ERY^R CC^R	0.5	4	0.25	0.5	1	0.06	0.5	0.12/2.4	>8	>8	0.06
无乳链球菌 MMX 4079	ERY^R CC^R Pen^R MEM^R	1	8	0.5	1	1	8	2	0.12/2.4	>8	>8	2
无乳链球菌 MMX 4086	ERY^R CC^R	0.25	2	0.25	0.5	0.5	0.06	1	0.12/2.4	>8	>8	0.06

QC =质量控制；Trimeth =甲氧苄啶；Sulfa =磺胺甲噁唑；MDR =多重耐药性(基于对至少 3 种不同类别的抗生素的抗性)；

[0944]

Ery^R =红霉素抗性；CC^R =克林霉素抗性；SXT^R =甲氧苄啶/磺胺甲噁唑抗性；MEM^R =美罗培南抗性；Pen^R =青霉素抗性

[1] CLSI QC 范围在适用时在括号中示出

表 93. 微生物铋硫醇测试剂和比较物针对淋病奈瑟菌的最小抑菌浓度(MIC)值

分离株	类型	MIC (μg/mL)				
		MB-1-B3	MB-2B	MB-6	环丙沙星	头孢曲松
淋病奈瑟菌 MMX 683 (ATCC 49226)	QC	0.06	0.12	0.06	0.008 (0.001-0.008)[1]	0.015 (0.004-0.015)
淋病奈瑟菌 MMX 6791	CIP^R	0.12	0.12	0.12	>8	0.06
淋病奈瑟菌 MMX 6792	CIP^R	0.12	0.12	0.12	>8	0.06
淋病奈瑟菌 MMX 6793	CIP^R	0.12	0.5	0.25	>8	0.03

[0945]

淋病奈瑟菌 MMX 6757	CTX NS	0.06	0.5	0.06	0.03	1

QC =质量控制；Cip^R =环丙沙星抗性；CTX NS =头孢曲松非易感性

[1] CLSI QC 范围在适用时在括号中示出

表 94. 微生物铋硫醇测试剂和比较物针对厌氧菌的最低抑制浓度(MIC)值

分离株	类型	MIC (μg/mL)					
		MB-1-B3	MB-2B	MB-6	克林霉素	甲硝唑	非达霉素
脆弱拟杆菌 MMX 123 (ATCC 25285)	QC	2	8	1	1 (0.5-2)[1]	0.5 (0.25-1)	>64
艰难梭菌 MMX 4381 (ATCC 700057)	QC CC^I	4	8	4	4 (2-8)	0.5 (0.12-0.5)	0.25 (0.06-0.25)
艰难梭菌 MMX 5681 (NCTC 13307)	核糖体型 012 CC^R	4	8	2	>64	0.5	0.5
艰难梭菌 MMX 5680	核糖体型 027 CC^I MET^R	1	2	2	4	>64	4

[0946]

(NCTC 13336)							
艰难梭菌 MMX 8272	核糖体型 255 CC^{I}	4	8	2	4	0.5	0.5
艰难梭菌 MMX 8279	核糖体型 005 CC^{R}	4	16	2	>64	0.5	0.5
艰难梭菌 MMX 8281	核糖体型 010 CC^{R}	2	8	2	>64	8	0.5

QC =质量控制；CC^{I} =克林霉素中介抗性；CC^{R} =克林霉素抗性；MET^{R} =甲硝唑抗性

[1] CLSI QC 范围在适用时在括号中示出

[0947] 表95.微生物铋硫醇测试剂和比较物针对念珠菌属的最低抑制浓度(MIC)值

[0948]

分离株	类型	MIC[1] (μg/mL)				
		MB-1-B3	MB-2B	MB-6	氟康唑	两性霉素 B
近平滑念珠菌 MMX 2323 (ATCC 22019)	QC	0.5, 1	0.5, 1	0.5, 1	2, 2 (0.5-4, 1-4)[2]	0.5, 1 (0.25-2, 0.5-4)
近平滑念珠菌 MMX 7370	FLU^R	0.5, 0.5	0.5, 0.5	0.25, 0.5	32, 32	0.5, 1
近平滑念珠菌 MMX 7555	FLU^R	0.5, 1	0.25, 1	0.25, 0.5	32, 64	0.5, 0.5
白色念珠菌 MMX 7039	敏感性	4, 16	2, 2	2, 2	0.5, 0.5	0.5, 0.5
白色念珠菌 MMX 7055	敏感性	2, 16	1, 4	2, 2	0.25, 0.5	0.25, 0.5
光滑念珠菌 MMX 7086	FLU^R	0.5, 1	0.5, 1	0.5, 1	32, 64	0.5, 1
光滑念珠菌 MMX 7318	FLU^R	0.5, 1	0.25, 1	0.25, 0.5	>64, >64	0.5, 1
热带念珠菌 MMX 7247	FLU^R	4, 16	2, 4	4, 4	64, >64	0.5, 1
热带念珠菌 MMX 7248	FLU^R	16, 32	4, 4	4, 8	32, >64	0.5, 1
热带念珠菌 MMX 7360	FLU^R	2, 16	1, 2	2, 2	64, >64	0.5, 0.5

[0949] QC＝质量控制;FLU^R＝氟康唑抗性

[0950] [1]在24和48h孵育之后报告的MIC

[0951] [2]CLSI QC范围在适用时在括号中示出

[0952] 参考文献

[0953] 1.)Centers for Disease Control and Prevention.Antibiotic resistance threats in the United States,2013.Available from http://www.cdc.gov/drugresistance/pdf/ar-threats-2013-508.pdf.Accessed on 6/13/2016.

[0954] 2.)Boucher HW,Talbot GH,Bradley JS,Edwards JE,Gilbert D,Rice LB,Scheld M,Spellberg B,Bartlett J.Bad bugs,no drugs:no ESKAPE!An update From the Infectious Diseases Society of America.Clin Infect Dis 2009;48:1-12.

[0955] 3.)Rice LB.Federal funding for the study of antimicrobial resistance in nosocomial pathogens:no ESKAPE.J Infect Dis 2008;197:1079-1081.

[0956] 4.)Clinical and Laboratory Standards Institute(CLSI).Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow

Aerobically;Approved Standard-Tenth Edition.Clinical and Laboratory Standards Institute document M07-A10.CLSI,940West Valley Road,Suite 1400,Wayne,Pennsylvania 19087-1898 USA,2015.

[0957] 5.)CLSI.Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing;Twenty-Sixth Informational Supplement.CLSI document M100-S26.CLSI,940 West Valley Road,Suite 1400,Wayne,Pennsylvania 19087 USA,2016.

[0958] 6.)CLSI.Methods for Antimicrobial Susceptibility Testing of Anaerobic Bacteria;Approved Standard-Eighth Edition.CLSI document M11-A8.CLSI,940West Valley Road,Suite 1400,Wayne,Pennsylvania 19087-1898 USA,2012.

[0959] 7.)CLSI.Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts;Approved Standard-Third Edition.CLSI document M27-A3.CLSI,940 West Valley Road,Suite 1400,Wayne,Pennsylvania 19087-1898 USA,2008.

[0960] 8.)CLSI.Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts;Fourth Informational Supplement.CLSI document M27-S4.CLSI,940 West Valley Road,Suite 1400,Wayne,Pennsylvania 19087-1898 USA,2012.

[0961] 实施例12:三种铋硫醇针对万古霉素中介金黄色葡萄球菌和产生β-内酰胺酶的革兰氏阴性细菌的易感性测试

[0962] 引言

[0963] 针对特征是超光谱β-内酰胺酶(ESBL)和/或碳青霉烯抗性的大肠杆菌、肺炎克雷白杆菌、铜绿假单胞菌和鲍曼不动杆菌的分离株来确定BisEDT和两种额外的铋-硫醇研究剂(MB-2B和MB-6)的体外活性。此外,对万古霉素中介金黄色葡萄球菌(VISA)进行评估。目前研究中所测试的大多数分离株是多重耐药性的(MDR),如对至少三种不同的抗生素类别的抗性所定义。通过根据美国临床和实验室标准协会(CLSI;2,3)的指南进行的肉汤微量稀释来确定研究化合物和相关比较物的易感性。

[0964] 材料和方法

[0965] 测试化合物:测试剂BisEDT(MB-1-B3;批号ED268-1-11-01)、MB-2B和MB-6在室温下存储于暗处直至进行分析。所述测试剂的溶剂和稀释剂是DMSO(Sigma;St.Louis,MO;批号SHBB9319V)并且制备的储备液浓度为6,464μg/mL(最终测试浓度的101倍)。

[0966] 供应比较药物,并在下表96中示出:

[0967] 表96:比较药物

[0968]

测试剂	供应商	目录编号	批号	溶剂/稀释剂
BisEDT	Microbion	-	ED268-1-11-01	DMSO/DMSO
MB-2B	Microbion	-	TA-8-167-01	DMSO/DMSO
MB-6	Microbion	-	5-21-14	DMSO/DMSO
阿米卡星	Sigma	A2324-5G	058K0803	H2O/H2O
头孢他啶	Sigma	C3809-1G	076M4770V	H2O/H2O
克拉维酸	Sigma	33454-100MG	STBH5214	磷酸盐缓冲液，pH 6.0
克林霉素	Sigma	C5269-100MG	021M1533	H2O/H2O
达托霉素	Cubist	-	MCB2009	H2O/H2O
左氧氟沙星	Sigma	28266-1G-F	BCBF7004V	H2O+NaOH/H2O
利奈唑胺	Selleck Chemicals	S1408	S140802	H2O/H2O
美罗培南	USP	1392454	J0K434	H2O/H2O
万古霉素	Sigma	V2002-1G	080M1341V	H2O/H2O

[0969] 测试化合物在0.06-64μg/mL的浓度范围下进行评估。关于革兰氏阴性测试分离株，阿米卡星和头孢他啶(单独和与在4μg/mL的固定浓度下的克拉维酸一起)在0.06-64μg/mL的浓度范围内进行评估；美罗培南和左氧氟沙星在0.008-8μg/mL的浓度范围内进行评估。为了测试金黄色葡萄球菌，克林霉素、达托霉素、左氧氟沙星和万古霉素在0.008-8μg/mL的浓度范围下进行评估；利奈唑胺从0.03-32μg/mL进行测试。

[0970] 生物：如表97-101中所示的测试生物由来自Micromyx(MMX)贮藏室的临床分离株和来自美国菌种保存中心(ATCC;Manassas,VA)、英国国家菌种保存中心(NCTC;Public Health England,Salisbury,UK)、关于金黄色葡萄球菌的抗微生物抗性的网络(NARSA;BEI Resources,Manassas,VA)和美国疾病预防控制中心(CDC;Atlanta,GA)的参考菌株组恒。测试生物维持在-80℃下冷冻。在测试之前，所述分离株在35℃下在具有5％绵羊血(BAP;Becton Dickson[BD]/BBL;Sparks,MD;批号9080650和9108563)的胰蛋白酶大豆琼脂上培养。根据CLSI指南(3)在测试期间包括相关的ATCC质量控制(QC)生物(表102)。关于可获得的分离株的基因特征的其他细节可以发现于表103中。

[0971] 培养基：阳离子调节的Mueller Hinton肉汤(CAMHB;BD;批号8190586)用作测试培养基(2,3)。为了测试达托霉素，对钙补充25mg/mL Ca^{2+}，产生50mg/mL Ca^{2+}的最终浓度(2,3)。

[0972] MIC分析程序：使用由CLSI(2,3)描述的肉汤微量稀释程序来确定MIC值。使用自动液体处理机(Multidrop 384,Labsystems,Helsinki,Finland;Biomek 2000和Biomek FX,Beckman Coulter,Fullerton CA)进行连续稀释和液体转移。

[0973] 为了制备将为重复的子板提供连续药物稀释液的药物母板，用每行药物150μl适当稀释剂填充标准96孔微量稀释板(Costar 3795)的第2列至第12列的孔。将测试物品和比较化合物(300μl，待测试的最高浓度的101倍)分配至第1列中的适当孔中。接着使用Biomek2000在所述母板中从第1列至第11列制备2倍连续稀释液。第12列的孔不含药物并且充当所述分析的生物生长对照孔。

[0974] 子板使用Multidrop 384装载每孔190μL RPMI。测试面板是在Biomek FX仪器上制备的，所述仪器在单一步骤中将来自母板的每个孔的2μL药物溶液转移至每个子板的相应的孔中。

[0975] 根据CLSI方法制备每种测试生物的标准化接种物，等于0.5McFarland标准，接着进行1:20稀释。所述板接着使用Biomek 2000从低药物浓度至高药物浓度接种10μL稀释的接种物，产生大约$5x10^5$CFU/mL的最终浓度。

[0976] 将板堆叠成3-4层高，在顶板上盖上盖子，放置于塑料袋中，并在35℃下孵育持续16至20h(在24h孵育时间后针对金黄色葡萄球菌读取万古霉素)。MIC记录为抑制生物的可见生长的最低药物浓度。

[0977] 结果与讨论

[0978] 如表102所示，BisEDT和比较物的结果是在CLSI针对相关ATCC QC分离株确立的QC范围内，从而验证了研究期间进行的易感性测试。

[0979] 表97-100按菌种示出BisEDT、MB-2B和MB-6针对抗性革兰氏阴性杆菌的活性。BisEDT在各分离株中维持有效活性，其MIC值为0.5-2μg/mL，例外是铜绿假单胞菌的一种分离株(CDC241)，其具有4μg/mL的MIC(表99)，和肺炎克雷白杆菌的数种分离株，其MIC值为4-8μg/mL(表98)。BisEDT的活性不受β-内酰胺酶产生或对氨基糖苷(阿米卡星MIC≥64μg/mL)、氟喹诺酮(关于肠杆菌、铜绿假单胞菌和鲍曼不动杆菌，左氧氟沙星MIC分别地≥2、4和8≥64)的抗性影响。

[0980] 总之，MB-6具有与用BisEDT观察到的那些MIC值相同或在其两倍内的MIC值；例外包括选择肺炎克雷白杆菌，其中MB-6 MIC值低于BisEDT的那些MIC值。BisEDT和MB-6的活性大于MB-2B的活性，特别是对于铜绿假单胞菌和鲍曼不动杆菌。用BisEDT、MB-2B和MB-6针对革兰氏阴性杆菌观察到的MIC值与先前研究中观察到的MIC值(1,4)相当。

[0981] 表101示出BisEDT、MB-2B和MB-6针对VISA的活性。BisEDT针对这些分离株具有≤0.06-0.25μg/mL的有效MIC值。如同革兰氏阴性杆菌，BisEDT的活性与用MB-6观察到的活性相当并且大于用MB-2B观察到的活性。值得注意的是，来自NARSA的两种VISA分离株(NRS 13和27)具有2μg/mL的万古霉素MIC值，这指示在这项研究中的测试期间，所述分离株被测试为万古霉素易感性。万古霉素MIC值在易感范围内的其他两种分离株(NRS 2和24)是异源VISA(hVISA)，已知其万古霉素MIC值发生变化。除NRS 13外，用所有分离株均观察到对左氧氟沙星和克林霉素的抗性(MIC值≥4μg/mL)，并且所述抗性不影响BisEDT活性。所述分离株中的两种对达托霉素也不具易感性(NRS 13和22)；均对利奈唑胺具易感性(MIC值≤4μg/mL)。在这项研究中，用BisEDT观察到的活性与先前观察到的活性相当(1,4)。

[0982] 总之，BisEDT针对具有基因特征的β-内酰胺抗性革兰氏阴性杆菌(其中大多数是MDR)和VISA的参考分离株显示有效活性。BisEDT的活性不受对β-内酰胺的抗性或这项研究中评估的任何其他类别影响。最终，BisEDT和MB-6针对所评估的细菌的活性相当并且超过用MB-2B观察到的活性。

[0983]

表 97. BisEDT、MB-2B、MB-6 和比较物针对大肠杆菌的活性

分离株	β-内酰胺酶类型	MIC (μg/mL)							
		BisEDT	MB-2B	MB-6	CAZ	CAZ/CLAV	MEM	LVX	AMK
ATCC 35218	ESBL	1	2	1	0.12	≤0.06/4	≤0.008	≤0.008	1
MMX 5755	ESBL	1	4	2	>64	1/4	0.015	8	16
MMX 5756	ESBL	1	2	1	>64	0.5/4	≤0.008	4	64
MMX 5758	ESBL	1	4	1	16	0.25/4	≤0.008	8	1
CDC 451	KPC	1	2	1	64	16/4	1	>8	4
MMX 5745	KPC	1	4	2	32	16/4	2	8	0.5
CDC 114	ESBL/KPC	2	2	2	>64	64/4	2	4	1
ATCC BAA-2471	NDM	1	2	2	>64	>64/4	>8	>8	64
CDC 435	NDM	1	2	1	>64	>64/4	>8	>8	>64
CDC 503	ESBL/NDM	1	2	2	>64	>64/4	8	>8	>64
CDC 118	ESBL/NDM	1	4	1	>64	>64/4	0.06	8	>64

ATCC =美国菌种保存中心，MMX = Micromyx，CDC =美国疾病预防控制中心，

ESBL =超广谱 β-内酰胺酶，KPC =肺炎克雷白杆菌碳青霉烯酶，NDM =新德里金属-β-内酰胺酶，

CAZ =头孢他啶，CLAV =克拉维酸，MEM =美罗培南，LVX =左氧氟沙星，AMK =阿米卡星

表 98. BisEDT、MB-2B、MB-6 和比较物针对肺炎克雷白杆菌的活性

[0984]

分离株	β-内酰胺酶类型	MIC (μg/mL)							
		BisEDT	MB-2B	MB-6	CAZ	CAZ/CLAV	MEM	LVX	AMK
MMX 9029	ESBL	4	2	2	4	0.12/4	0.015	0.12	0.5
CDC 112	KPC	2	4	2	>64	>64/4	>8	4	16
ATCC BAA-1705	ESBL/KPC	2	4	1	>64	>64/4	8	>8	16
CDC 113	ESBL/KPC	8	32	1	>64	>64/4	>8	4	16
CDC 115	ESBL/KPC	8	16	2	>64	>64/4	>8	>8	0.5
CDC 120	ESBL/KPC	2	4	2	>64	64/4	>8	>8	16
CDC 126	ESBL/KPC	8	32	2	4	8	4	0.015	2
CDC 129	ESBL/KPC	2	4	4	>64	>64/4	8	>8	32
CDC 135	ESBL/VIM	4	8	4	>64	>64/4	1	>8	16
CDC 138	ESBL/NDM	4	16	2	>64	>64/4	>8	>8	>64
CDC 158	ESBL/NDM/OXA	2	4	2	>64	>64/4	>8	4	2

ATCC =美国菌种保存中心，MMX = Micromyx，CDC =美国疾病预防控制中心，

ESBL =超广谱β-内酰胺酶，KPC =肺炎克雷白杆菌碳青霉烯酶，NDM =新德里金属-β-内酰胺酶，

VIM =金属-β-内酰胺酶，OXA = D 类碳青霉烯酶，CAZ =头孢他啶，CLAV =克拉维酸，MEM =美罗培南，

LVX =左氧氟沙星，AMK =阿米卡星

表 99. BisEDT、MB-2B、MB-6 和比较物针对铜绿假单胞菌的活性

[0985]

分离株	β-内酰胺酶类型	MIC (μg/mL)							
		BisEDT	MB-2B	MB-6	CAZ	CAZ/CLAV	MEM	LVX	AMK
CDC 356	KPC	1	4	1	64	64/4	>8	0.12	2
CDC 439	IMP	2	4	1	>64	>64/4	>8	8	>64
CDC 444	VIM	1	4	1	32	32/4	>8	8	>64
CDC 457	VIM	1	32	2	>64	64/4	>8	>8	2
CDC 231	KPC/OXA	2	16	2	>64	>64/4	>8	>8	8
CDC 230	VIM/OXA	0.5	4	2	64	32/4	>8	8	>64
CDC 241	IMP/OXA	4	32	8	>64	>64/4	>8	8	32
CDC 246	NDM/OXA	2	8	2	>64	>64/4	>8	>8	>64
CDC 250	NDM/OXA	2	8	2	>64	>64/4	>8	>8	>64
CDC 516	KPC/AmpC	1	4	1	64	64/4	>8	0.25	2
CDC 518	KPC/AmpC	1	4	1	32	32/4	>8	>8	16

CDC =美国疾病预防控制中心，KPC =肺炎克雷白杆菌碳青霉烯酶，NDM =新德里金属-β-内酰胺酶，IMP =金属-β-内酰胺酶，VIM =金属-β-内酰胺酶，OXA = D 类碳青霉烯酶，AmpC = C 类头孢菌素酶，CAZ =头孢他啶，CLAV =克拉维酸，MEM =美罗培南，LVX =左氧氟沙星，AMK =阿米卡星

表 100. BisEDT、MB-2B、MB-6 和比较物针对鲍曼不动杆菌的活性

分离株	β-内酰胺酶类型	MIC (μg/mL)							
		BisEDT	MB-2B	MB-6	CAZ	CAZ/CLAV	MEM	LVX	AMK

[0986]

NCTC 13304	OXA	0.5	>16	0.5	>64	>64/4	>8	1	0.5
CDC 307	OXA	1	32	0.5	64	64/4	8	8	>64
CDC 311	OXA	1	32	0.5	>64	>64/4	>8	2	>64
CDC 312	OXA	1	32	0.5	>64	>64/4	4	2	1
CDC 273	ESBL/OXA	1	32	0.5	64	64/4	>8	>8	>64
CDC 274	ESBL/OXA	1	32	0.5	>64	>64/4	>8	8	16
CDC 275	ESBL/OXA	0.5	32	0.5	>64	>64/4	>8	4	>64
CDC 277	ESBL/OXA	1	>16	1	>64	>64/4	>8	8	16
CDC 284	ESBL/OXA	1	>16	1	64	16/4	>8	8	32
CDC 308	ESBL/OXA	1	32	0.5	64	64/4	8	4	>64
CDC 313	ESBL/OXA	1	32	0.5	>64	>64/4	>8	2	4

NCTC =英国国家菌种保存中心，CDC =美国疾病预防控制中心，ESBL =超广谱 β-内酰胺酶，

OXA = D 类碳青霉烯酶，CAZ =头孢他啶，CLAV =克拉维酸，MEM =美罗培南，LVX =左氧氟沙星，AMK = 阿米卡星

表 101. BisEDT、MB-2B、MB-6 和比较物针对万古霉素中介金黄色葡萄球菌的活性

分离株	**MIC (μg/mL)**							
	BisEDT	**MB-2B**	**MB-6**	**VAN**	**DAP**	**CLI**	**LVX**	**LZD**
NRS 1 (hVISA)	0.12	1	0.12	4	1	>8	4	1
NRS 2	≤0.06	0.5	≤0.06	0.5	0.25	>8	4	4
NRS 3	0.25	2	0.25	8	1	>8	>8	1

[0987]

NRS 22	0.25	2	0.25	4	2	>8	8	1
NRS 4	0.25	1	0.25	4	0.5	>8	4	1
NRS 13	0.12	1	0.12	2	2	0.06	0.12	2
NRS 18	0.25	1	0.25	4	0.5	>8	4	1
NRS 24 (hVISA)	0.25	1	1	2	0.5	>8	>8	2
NRS 27	0.25	1	0.25	2	0.25	>8	8	2

NRS =关于金黄色葡萄球菌的抗微生物抗性的网络，MMX = Micromyx，

VISA =万古霉素中介金黄色葡萄球菌，hVISA =异源万古霉素中介金黄色葡萄球菌，VAN =万古霉素，DAP =达托霉素，CLI =克林霉素，LVX =左氧氟沙星，LZD =利奈唑胺

表 102. Bis-EDT、MB-2B、MB-6 和比较物针对相关 ATCC QC 生物的活性

生物	**分离株**	**MIC (μg/mL)**							
		BisEDT	**MB-2B**	**MB-6**	**CAZ**	**CAZ + CLAV**	**MEM**	**LVX**	**AMK**
大肠杆菌	ATCC 25922	0.5 (0.5-4)[1]	2	1	0.25 (0.06 - 0.5)	0.25/4	≤0.008 (0.008 - 0.06)	≤0.008 (0.008 - 0.06)	1
	ATCC 35218	1	2	1	0.12	≤0.06/4	≤0.008 (0.008 - 0.06)	≤0.008	1
肺炎克雷白杆菌	ATCC BAA-1705	2	4	1	>64	>64/4	8 (8-64)	>8	16
铜绿假单胞菌	ATCC 27853	1 (0.5-4)	2	1	2 (1 - 4)	2/4	0.25 (0.12 - 1)	0.5 (0.5 - 4)	2 (1 - 4)

[0988]

生物	分离株	MIC (μg/mL)							
		BisEDT	MB-2B	MB-6	VAN	DAP	CLI	LVX	LZD
金黄色葡萄球菌	ATCC 29213	0.12 (0.12-1)	1	0.12	0.5 (0.5 - 2)	0.5 (0.12 - 1)	0.25 (0.06 - 0.25)	0.06 (0.06 - 0.5)	4 (1 - 4)

ATCC=美国菌种保存中心，CAZ=头孢他啶，CLAV=克拉维酸，MEM=美罗培南，LVX=左氧氟沙星，AMK=阿米卡星，VAN=万古霉素，DAP=达托霉素，CLI=克林霉素，LVX=左氧氟沙星，LZD=利奈唑胺 QC 范围在括号中

[0989] 表103.关于测试分离株可获得的基因特征数据

[0990]

生物	分离株	基因特征信息
大肠杆菌	ATCC 35218	TEM-1
	BAA-2471	NDM-1
	CDC 435	NDM
	CDC 451	KPC
	MMX 5745	KPC、TEM、DFR
	MMX 5755	SHV、TEM、OXA-1、AAD、ANT、SUL1、SUL2、GYR
	MMX 5756	SHV、TEM、OXA-9、AAD、SUL2、GYR
	MMX 5758	SHV、TEM、CTX-M-1、GYR
	CDC 503	CTX-M-15、NDM-1、OXA-181
	CDC 114	aadB、cmlA1、dfrA5、KPC-3、strA、strB、sul1、sul2、TEM-1B
	CDC 118	aac(3)-IIa、catA1、CMY-6、dfrA29、NDM-1、OmpF、OXA-2、rmtC、strA、strB、sul1、TEM-1A
肺炎克雷白杆菌	BAA-1705	KPC-2、TEM、SHV
	MMX 9029	CTX-M1、SHV、TEM、AAC、SUL2
	CDC 112	aac(6')、aph(3')、aph(4)、catA1、cmlA1、dfrA12、KPC-3、mph(A)、oqxA、oqxA、oqxB、sul1、sul3
	CDC 113	aac(6')-Ib、aph(3')-Ia、aph(4)-Ia、catA1、cmlA1、dfrA12、KPC-3、mph(A)、OmpK35、OmpK36、oqxA、oqxA、oqxB、SHV-11、sul1、sul3
	CDC 115	aph(3')-Ia、aph(4)-Ia、catA1、cmlA1、dfrA12、KPC-3、mph(A)、OmpK35、oqxA、oqxA、oqxB、sul1、sul3、TEM-1A
	CDC 120	aac(6')-33、aac(6')-Ib、aadA2、aadB、aph(3')-Ia、dfrA12、KPC-2、mph(A)、OmpK35、oqxA、oqxA、oqxB、sul1、sul2、TEM-1D
	CDC 126	aac(6')Ib-cr、catB3、dfrA1、fosA、KPC-2、OmpK36、oqxA、oqxA、OXA-1、sul1、TEM-1B
	CDC 129	aac(6')-Ib、aadA2、aph(3')-Ia、catA1、dfrA12、KPC-3、mph(A)、OmpK35、oqxA、oqxA、oqxB、sul1、TEM-1A
	CDC 135	aac(3)-IIa、aac(6')-Ib、aph(3')-XV、catB2、dfrA14、OmpK35、oqxA、oqxA、OXA-9、

[0991]

		SHV-12、sul1、TEM-1A、tet(D)、VIM-1
	CDC 138	aadA2、ARR-3、CTX-M-15、dfrA12、dfrA14、mph(A)、NDM-7、oqxA、oqxA、SHV-11、strA、strB、sul1、sul2、TEM-1B
	CDC 158	aac(3)-IId、aac(6')Ib-cr、CTX-M-15、dfrA14、dfrA30、fosA、NDM-1、oqxA、oqxA、oqxB、OXA-1、strA、strB、sul2、TEM-1B、tet(B)
铜绿假单胞菌	CDC 439	IMP
	CDC 444	VIM
	CDC 457	VIM
	CDC 356	KPC
	CDC 230	aac(3)-Id、aadA2、cmlA1、dfrB5、OXA-4、OXA-50、PAO、tet(G)、VIM-2
	CDC 231	aac(6')-IIc、KPC-5、OXA-2、OXA-50、PAO
	CDC 241	aac(6')-IIc、aadA7、catB7、IMP-1、OXA-101、OXA-50、OXA-9、PAO、sul1
	CDC 246	aadB、NDM-1、OXA-10、OXA-50、PAO、rmtD2、tet(G)、VEB-1
	CDC 250	aadB、NDM-1、OXA-10、OXA-50、PAO、rmtD2、tet(G)、VEB-1
	CDC 516	PDC-101; KPC-2
	CDC 518	PDC-103; KPC-2
鲍曼不动杆菌	NCTC 13304	OXA-27
	CDC 273	aac(3)-IIa、ADC-25、aph(3')-Ic、aph(3')-VIa、OXA-23、OXA-66、strA、strB、sul2
	CDC 274	aac(3)-Ia、ADC-25、aph(3')-Ic、OXA-66、OXA-72、strA、strB、sul1、sul2、TEM-1D
	CDC 275	ADC-25、aph(3')-Ic、armA、mph(E)、msr(E)、OXA-23、OXA-66、strA、strB、sul2、TEM-1D
	CDC 277	aac(3)-IIa、OXA-24、OXA-65、strA、strB、sul2、TEM-1B
	CDC 284	aac(3)-IIa、OXA-24、OXA-65、strA、strB、sul2、TEM-1B
	CDC 307	ADC-25、aph(3')-Ic、armA、catB8、mph(E)、msr(E)、OXA-23、OXA-66、strA、strB、sul1、sul2
	CDC 308	ADC-25、armA、catB8、mph(E)、msr(E)、

[0992]

		OXA-71、strA、strB、sul1、TEM-1D
	CDC 311	ADC-25、aph(3')-Ic、armA、catB8、mph(E)、msr(E)、OXA-23、OXA-82、strA、strB、sul1
	CDC 312	aph(3')-Ic、catA1、OXA-69、sul2、tet(B)
	CDC 313	aac(3)-Ia、aph(3')-Ic、catA1、OXA-23、OXA-69、TEM-1D、tet(A)

[0993] 参考文献

[0994] 1.)Beckman E,Wolfe C,Pillar C.In vitro Activity of Bismuth Thiols and Comparators Against Drug Resistant Gram-positive and-negative Bacteria and Yeast.Final Report 08-24-2016-Microbion 22.Micromyx,Kalamazoo,MI.2016.

[0995] 2.)Clinical and Laboratory Standards Institute(CLSI).Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibillity Tests for Bacteria That Grow Aerobically;11th ed.CLSI standard M07.CLSI,950 West Valley Road,Suite 2500,Wayne,Pennsylvania 19087 USA,2018.

[0996] 3.)CLSI.Performance Siandards for Antimicrobial Susceptibility Testing;29th ed.CLSI supplement M100.CLSI,950 West Valley Road,Suite 2500,Wayne,Pennsylvania 19087 USA,2019.

[0997] 4.)Schaadt RD,Peterson M,Sweeney D.In vitro Activity of Bismuth-1,2-ethanedithiol(BisEDT)Against Multiple Clinical Isolates of Gram-positive and-negative Bacteria.Final Report 08-08-2008-Microbion 2.Micromyx,Kalamazoo,MI.2008.

[0998] 实施例13:三种测试化合物针对酵母(念珠菌属)和霉菌(曲霉属)的易感性测试

[0999] 引言

[1000] 针对念珠菌属(白色念珠菌、光滑念珠菌、克鲁斯念珠菌和耳念珠菌)和曲霉属(黑曲霉、土曲霉、烟曲霉和黄曲霉)确定BisEDT和两种额外的铋-硫醇研究剂(MB-2B和MB-6)的体外活性。比较物包括两性霉素B、氟康唑、伏立康唑、卡泊芬净和米卡芬净。通过根据美国临床和实验室标准协会(CLSI;2,3)的指南进行的肉汤微量稀释来确定易感性。

[1001] 材料和方法

[1002] 测试化合物:测试剂BisEDT(MB-1-B3;批号ED268-1-11-01)、MB-2B和MB-6发货并且在室温下存储于暗处直至进行分析。所述测试剂的溶剂和稀释剂是DMSO(Sigma;St.Louis,MO;批号SHBB9319V)并且制备的储备液浓度为6,464μg/mL(针对酵母和真菌的最终测试浓度的101倍)。下表104示出比较药物:

[1003] 表104:比较药物

[1004]

比较药物	供应商	批号	溶剂/稀释剂	工作储备液浓度 (μg/mL)
两性霉素 B	Sigma	086M4012V	DMSO	6464
氟康唑	USP	H1l308	DMSO	6464
卡泊芬净	Sigma	086M4750V	DMSO	808
米卡芬净	Astellas	023070	DMSO	808
伏立康唑	USP	R032E0	DMSO	808

[1005] 关于酵母和霉菌,在0.06-64μg/mL的浓度范围内评估Microbion测试化合物两性霉素B和氟康唑。卡泊芬净、米卡芬净和伏立康唑从0.008-8μg/mL进行测试。

[1006] 生物:测试生物由来自Micromyx(MMX)贮藏室的临床分离株和来自美国菌种保存中心(ATCC,Manassas,VA)的参考菌株组成。测试生物维持在-80℃下冷冻。在测试之前,酵母在35℃下在Sabouraud葡萄糖琼脂(Becton,Dickson and Company;Sparks,MD;批号9032625、9074672)上继代培养。所述霉菌是从所列举的先前在Micromyx制备的真菌储备液获得,并在4℃下存储于0.1%Tween生理盐水溶液中直至使用。出于质量控制的目的,包括克鲁斯念珠菌ATCC 6258、近平滑念珠菌ATCC 22019、烟曲霉ATCC MYA-3626和黄曲霉ATCC 204304(4,5)。

[1007] 培养基:用于测试酵母和霉菌分离株的培养基是来自Hyclone Laboratories的RPMI 1640(Logan,UT;批号AC10257966A),用来自EMD Millipore的MOPS(Burlington,MA;批号3173588)缓冲(2,3)。

[1008] MIC分析程序:使用由CLSI(2,3)描述的肉汤微量稀释程序来确定MIC值。使用自动液体处理机(Multidrop 384,Labsystems,Helsinki,Finland;Biomek 2000和Biomek FX,Beckman Coulter,Fullerton CA)进行连续稀释和液体转移。

[1009] 为了制备将为重复的子板提供连续药物稀释液的药物母板,用每行药物150μl DMSO填充标准96孔微量稀释板(Costar 3795)的第2列至第12列的孔。将测试物品和比较化合物(300μl,待测试的最高浓度的101倍)分配至第1列中的适当孔中。接着使用Biomek 2000在所述母板中从第1列至第11列制备2倍连续稀释液。第12列的孔不含药物并且充当所述分析的生物生长对照孔。

[1010] 子板使用Multidrop 384装载每孔190μL RPMI。所述子板是在Biomek FX仪器上制备的,所述仪器在单一步骤中将来自母板的每个孔的2μL药物溶液转移至每个子板的相应的孔中。

[1011] 根据CLSI方法(2,3)制备每种生物的标准化接种物。关于酵母,从划线板中挑选菌落,并在生理盐水中制备等于0.5McFarland标准的悬浮液。这一悬浮液1∶100稀释于RPMI中,在所述分析中产生大约0.5-2.5x10^3CFU/mL的最终浓度。关于霉菌,基于先前从每种曲霉属分离株的孢子悬浮液确定的的孢子计数(CFU/mL),将所述悬浮液稀释于RPMI中,以便在所述分析中实现大约0.2-2.5x10^4CFU/mL的最终浓度。将每种生物的接种物分配至按长度划分的无菌贮器(Beckman Coulter)中,并且使用Biomek 2000接种所述板。将子板反向放置于Biomek 2000工作面上,以便从低药物浓度至高药物浓度进行接种。所述Biomek 2000将10μL标准化接种物递送至每个孔中。DMSO以1%的最终浓度存在于测试孔中。

[1012] 将板堆叠成四层高,在顶板上盖上盖子,放置于塑料袋中,并在35℃下孵育。在24h

孵育后并且又在48h时读取念珠菌属和曲霉分离株。

[1013] 使用板观察器从底部观察所述微板。关于每个母板，观察未接种的溶解度对照板来寻找药物沉淀的证据。关于酵母，MIC_0针对Microbion测试物品两性霉素B和伏立康唑是报告为完全抑制生物的可见生长的最低药物浓度；相对于生长对照显示50％抑制的最低浓度针对所有Microbion测试产品米卡芬净、卡泊芬净和氟康唑是报告为MIC_2。关于霉菌，MIC值是报告为抑制可见生长的最低浓度，并且针对卡泊芬净、米卡芬净和Microbion测试剂的最低有效浓度(MEC)是报告为如与生长对照孔中的培养基中可见的菌丝生长相比，生长移向在孔的底部的小、圆形、致密菌丝形式的最低浓度。仅在观察到的地方报告MEC。

[1014] 结果与讨论

[1015] 如表110所示，BisEDT和比较物的结果是在CLSI针对相关ATCC QC分离株确立的QC范围内，例外是在48h时针对克鲁斯念珠菌ATCC 6258的两性霉素B。在这种情况下，对于同一分离株，两性霉素B在24h时是在所述QC范围内并且在48h时是在针对近平滑念珠菌ATCC 22019、黄曲霉ATCC 204304和烟曲霉MYA-3626的QC范围内。这些结果验证了研究期间进行的易感性测试。

[1016] 表105-108按菌种示出BisEDT、MB-2B和MB-6针对酵母的活性。BisEDT跨菌种维持有效活性，其中从0.25-1μg/mL观察到50％抑制(MIC_2值)并且对于除白色念珠菌以外的所有菌种从0.5-2μg/mL观察到100％抑制(MIC_0值)，其中MIC_0值为1-8μg/mL。BisEDT的活性不受对棘球白素或唑抗真菌剂的抗性影响，并且特别是针对耳念珠菌维持活性，耳念珠菌的多重耐药性和唑抗性尤其是一个问题(6)。MB-2B和MB-6的活性与BisEDT的活性相似，其MIC值相同或在BisEDT的MIC值的2倍内。用BisEDT、MB-2B和MB-6针对酵母观察到的MIC值与先前研究中观察到的MIC值(1)相当。

[1017] 表109示出BisEDT、MB-2B和MB-6针对曲霉属的活性。总之，BisEDT在24h时产生完全抑制，其中大多数分离株的MIC_0值为2-8μg/mL。然而，用黄曲霉MMX 7935(MIC_0＞64μg/mL)未观察到完全抑制，并且针对土曲霉MMX 8229观察到0.5μg/mL的MIC_0。在48h孵育后，在所测试的菌株中很少观察到BisEDT的完全抑制，但在其中MIC_0值不明显的情况下，MEC值是明显的并且这些值通常与24h时报告的MIC_0值一致。如同酵母，BisEDT的活性与用MB-2B和MB-6观察到的活性相当。在比较物中针对曲霉属观察到的活性通常比BisEDT、MB-2B和MB-6有效，例外是氟康唑如预期是无活性的。

[1018] 总之，BisEDT针对念珠菌属(包括众所周知难以治疗的耳念珠菌)和曲霉菌两者显示有效活性。BisEDT针对酵母的活性不受唑或棘球白素抗性影响。最后，BisEDT、MB-2B和MB-6的活性与所评估的酵母和霉菌相当。

[1019]

表 105. BisEDT、MB-2B、MB-6 和比较物针对白色念珠菌的活性

分离株编号	类型	测试剂和 24 h 时的活性(μg/mL)										
		BisEDT		MB-2B		MB-6		AMP B	FLU	VORI	CASP	MICA
		MIC_2	MIC_0	MIC_2	MIC_0	MIC_2	MIC_0	MIC_0	MIC_2	MIC_2	MIC_2	MIC_2
ATCC 90028	易感的	0.5	4	0.5	2	0.5	2	0.25	0.25	≤0.008	0.06	0.03
ATCC 204276	MICA-R	0.5	1	0.5	1	1[a]	1	0.25	0.25	≤0.008	0.25	4
ATCC MYA-2732	FLU-R、VORI-I	1	2	1	2	1	2	0.25	16	0.5	0.06	0.03
MMX 7067	FLU-R、VORI-R	1	2	0.5	1	0.5	1	0.25	>64	>8	0.06	0.03
MMX 7424	CASP-R、MICA-R	1	4	1	2	1	2	0.25	0.5	≤0.008	8	4
MMX 7053	易感的	0.5	1	0.5	1	0.5	1	0.12	0.12	≤0.008	0.06	0.06
MMX 7445	FLU-R、VORI-R	1	8	1	2	1	2	0.12	>64	>8	0.06[a]	0.03
MMX 7430	易感的	1	8	0.5	1	0.25	0.5	0.25	0.5	≤0.008	0.06	0.03
MMX 7437	FLU-I	1	8	1	2	1	2	0.25	4	0.12	0.06	0.03
MMX 7403	易感的	0.5	2	0.5	2	0.25	2	0.25	1	≤0.008	0.06	0.03

MIC_2=50%抑制，MIC_0=完全抑制，AMP B=两性霉素 B，FLU=氟康唑，VORI=伏立康唑，CASP=卡泊芬净，MICA= 米卡芬净，I=中介，R=抗性

[a] 在 24 h 时的生长不足以确定 50%抑制终点，结果在 48 h 孵育后报告

*关于酵母不存在 AMP B CLSI 断点(4)

[1020]

表 106. BisEDT、MB-2B、MB-6 和比较物针对光滑念珠菌的活性

分离株编号	类型	测试剂和活性(μg/mL)										
		BisEDT		MB-2B		MB-6		AMP B	FLU	VORI	CASP	MICA
		MIC_2	MIC_0	MIC_2	MIC_0	MIC_2	MIC_0	MIC_0	MIC_2	MIC_2	MIC_2	MIC_2
ATCC 90030	易感的	0.5	1	0.5	1	0.5	1	0.25	8	0.12	0.12	0.06
ATCC MYA-2950	易感的	0.5	1	0.5	1	0.5	1	0.12	8	0.12	0.12	0.03
MMX 7103	CASP-R、MICA-R	0.5	1	0.5	1	0.5	1	0.25	4	0.12	>8	8
MMX 7307	CASP-R、MICA-R、FLU-R	0.5	1	0.5	1	0.5	1	0.25	>64	4	>8	8
MMX 7285	CASP-R、MICA-R	0.25	0.5	0.25	0.5	0.25	0.5	0.25	32	1	0.5	0.5
MMX 7093	FLU-R	0.5	1	0.5	1	1	2	0.25	64	2	0.12	0.06
MMX 7101	FLU-R	0.5	1	0.5	1	0.5	1	0.25	64	2	0.12	0.06
MMX 7087	易感的	0.5	1	0.5	1	0.5	1	0.12	1	0.03	0.12	0.03
MMX 7549	易感的	0.5[a]	0.5	0.5	1	0.5	1	0.25	4	0.06	0.06	0.06
MMX 7111	易感的	0.5	1	0.5	1	0.5	1	0.25	2	0.06	0.12	0.06

MIC_2=50%抑制，MIC_0=完全抑制，AMP B=两性霉素 B，FLU=氟康唑，VORI=伏立康唑，CASP=卡泊芬净，MICA=米卡芬净，I=中介，R=抗性

*关于酵母不存在 AMP B CLSI 断点并且关于光滑念珠菌不存在 VORI 断点(4)

[1021]

表 107. BisEDT、MB-2B、MB-6 和比较物针对克鲁斯念珠菌的活性

分离株编号	类型	测试剂和活性(μg/mL)										
		BisEDT		MB-2B		MB-6		AMP B	FLU	VORI	CASP	MICA
		MIC_2	MIC_0	MIC_2	MIC_0	MIC_2	MIC_0	MIC_0	MIC_2	MIC_2	MIC_2	MIC_2
ATCC 14243	易感的	0.5	1	1	2	0.5	1	0.25	16	0.06	0.012	0.25
ATCC 6258	MICA-I	0.5	1	1	2	0.5	1	0.5	16	0.12	0.25	0.5
MMX 7125	易感的	0.5	1	1	2	0.5	1	0.5	32	0.25	0.25	0.25
MMX 7128	易感的	0.5	1	1	2	1	2	0.5	16	0.12	0.25	0.25
MMX 7141	易感的	0.5	1	1	2	1	2	0.25	16	0.12	0.25	0.25
MMX 7153	MICA-R	0.5	1	1	2	0.5	1	0.5	32	0.25	0.25	1
MMX 7155	易感的	0.5	1	1	2	0.5	1	0.25	32	0.25	0.25	0.25
MMX 7563	易感的	0.5	1	1	2	0.5	1	0.5	32	0.25	0.12	0.25
ATCC 96685	易感的	0.25	0.5	0.25	0.5	0.25	0.5	0.5	32	0.5	0.12	0.25
MMX 9878	MICA-I、VORI-I	0.5	1	0.5	1	0.5	1	0.5	64	1	0.25	0.5

MIC_2 =50%抑制，MIC_0 =完全抑制，AMP B =两性霉素 B，FLU =氟康唑，VORI =伏立康唑，CASP =卡泊芬净，MICA =米卡芬净，I =中介，R =抗性

*关于酵母不存在 AMP B CLSI 断点并且关于克鲁斯念珠菌不存在 FLU 断点(4)

表 108. BisEDT、MB-2B、MB-6 和比较物针对耳念珠菌的活性

[1022]

分离株编号	类型	测试剂和活性(μg/mL)										
		BisEDT		MB-2B		MB-6		AMP B	FLU	VORI	CASP	MICA
		MIC_2	MIC_0	MIC_2	MIC_0	MIC_2	MIC_0	MIC_0	MIC_2	MIC_2	MIC_2	MIC_2
MMX 9862	易感的	0.5	2	0.5	1	0.5	1	0.25	2	0.03	0.12	0.12
MMX 9863	FLU-R、VORI-R[c]	1[a]	1	1[a]	1	1	2	0.12	>64	>8	0.12[b]	0.5
MMX 9864	FLU-R、VORI-R	0.5	1	1[a]	1	1[a]	1	0.25	>64	2	0.25[b]	0.5
MMX 9865	FLU-R、VORI-R	1[a]	1	1[a]	1	1	2	0.25	>64	8	0.25[b]	0.25
MMX 9866	FLU-R、VORI-R	1	2	1[a]	1	1	2	0.5	>64	8	0.12[b]	0.5
MMX 9867	FLU-R、VORI-R	1	2	1	2	1	2	0.5	>64	8	0.12	0.5
MMX 9868	FLU-R、VORI-R	1[b]	1[a]	ND	1	1	4	0.25	>64	>8	0.25	0.25
MMX 9869	FLU-R、VORI-R	1[b]	2	1	2	1	4	1	>64	2	0.25	0.25
MMX 9870	FLU-R、VORI-R	1	2	1	2	1	2	1	>64	4	0.25	0.5
MMX 9871	易感的	1[a]	1	1[a]	1	1	2	1	>64	1	0.25[b]	0.5

MIC_2 =50%抑制，MIC_0 =完全抑制，AMP B =两性霉素 B，FLU =氟康唑，VORI =伏立康唑，CASP =卡泊芬净，MICA =米卡芬净，Azole-R =唑抗性，ND =未确定(未发现 MIC_2)

[a] 在 24 h 时的生长不足以确定 50%抑制终点，结果在 48 h 孵育后报告

[b] 观察到老鹰效应(清楚的 MIC_2 终点，但在较高测试浓度下可能由于可诱导抗性或体外化合物沉淀而再生长)

[c] 基于由 Lockhart 等人, 2017 (6)公布的断点；尚未针对耳念珠菌确立 CLSI 断点

[1023]

表 109. BisEDT、MB-2B、MB-6 和比较物针对曲霉属的活性。

生物	分离株编号	测试剂和活性(μg/mL)							
		BisEDT	MB-2B	MB-6	AMP B	FLU	VORI	CASP	MICA
		MIC_0 24/48 h	MIC_0 24/48 h	MIC_0 24/48 h	MIC_0	MIC_2	MIC_0	MEC	MEC
烟曲霉	ATCC MYA-3626	4/8	4/8	2/4	1	>64	0.5	0.06	0.03
	ATCC 204305	8/8[a]	4/8[a]	8/4[a]	1	>64	0.5	0.25	0.25
	MMX 5934	4/8[a]	8/8[a]	2/4[a]	1	>64	0.25	0.12	0.06
	MMX 5938	-/2[b]	-/2[b]	-/1[b]	1	>64	0.25	0.12[b]	≤0.008[b]
	MMX 5939	4/8[a]	4/8[a]	2/4[a]	1	>64	2	0.12	0.06
黄曲霉	ATCC 204304	4/8[a]	4/4[a]	4/4[a]	1	>64	2	0.06	0.12
	ATCC 22546	2/4	1/2	1/2	1	>64	1	0.06	≤0.008
	MMX 7935	>64/8[a]	32/4[a]	8/8	1	>64	0.5	0.03	≤0.008
黑曲霉	ATCC 29508	-/2[b]	-/2[b]	-/2[b]	0.25	>64	0.5	0.06[b]	≤0.008[b]
土曲霉	MMX 8229	0.5/1	0.5/1	0.25/1	0.25	>64	0.25	0.12[b]	≤0.008[b]

MIC_0 =完全抑制，MEC =最低有效浓度，AMP B =两性霉素 B，FLU =氟康唑，VORI =伏立康唑，CASP =卡泊芬净，MICA =米卡芬净

[a] 在 48 h 时示出的结果是 MEC，在这一时间点未观察到完全抑制(MIC_0)

[b] 仅报告 48 h 的结果，24 h 的生长不足以读取

[1024] *关于曲霉属，不存在 CLSI 断点(5)

[1025] 表110.Bis-EDT、MB-2B、MB-6和比较物针对相关ATCC QC生物的活性

[1026]

生物	测试剂	QC 范围 24 h	QC 范围 48 h	MIC 24 h	MIC 48 h
大肠杆菌 ATCC 25922	BisEDT	0.5-4	-	0.5[a]	-
	MB-2B	-	-	2[a]	-
	MB-6	-	-	0.5[a]	-
	两性霉素 B	-	-	>64	-
	氟康唑	-	-	>64	-
	伏立康唑	-	-	>64	-
	卡泊芬净	-	-	>64	-
	米卡芬净	-	-	>64	-
金黄色葡萄球菌 ATCC 29213	BisEDT	0.12-1	-	0.5[a]	-
	MB-2B	-	-	1[a]	-
	MB-6	-	-	1[a]	-
	两性霉素 B	-	-	>64	-
	氟康唑	-	-	>64	-
	伏立康唑	-	-	>64	-
	卡泊芬净	-	-	>64	-
	米卡芬净	-	-	>64	-
近平滑念珠菌 ATCC 22019	BisEDT	-	-	0.5/1[b]	1/2[b]
	MB-2B	-	-	1/2[b]	1/2[b]
	MB-6	-	-	1/2[b]	1/4[b]
	两性霉素 B	0.25-2	0.5-4	0.5	0.5
	氟康唑	0.5-4	1-4	1	2
	伏立康唑	0.015-0.12	0.03-0.25	0.12	0.12
	卡泊芬净	0.25-1	0.5-4	0.25	0.5
	米卡芬净	0.5-2	0.5-4	0.5	2
克鲁斯念珠菌 ATCC 6258	BisEDT	-	-	0.5/1[b]	1/2[b]
	MB-2B	-	-	1/2[b]	1/4[b]
	MB-6	-	-	0.5/1[b]	1/4[b]
	两性霉素 B	0.5-2	1-4	0.5	0.5
	氟康唑	8-64	16-128	16	32
	伏立康唑	0.06-0.5	0.12-1	0.12	0.5
	卡泊芬净	0.12-1	0.25-2	0.25	0.25
	米卡芬净	0.12-0.5	0.12-0.5	0.5	0.5
黄曲霉 ATCC 204304	BisEDT	-	-	4	8[c]
	MB-2B	-	-	4	8[c]

[1027]

	MB-6	-	-	4	4[c]
	两性霉素 B	-	0.5-4	0.5	1
	氟康唑	-	-	>64	>64
	伏立康唑	-	0.5-4	0.12	2
	卡泊芬净	-	-	0.12 (MEC)	0.06 (MEC)
	米卡芬净	-	-	0.06 (MEC)	0.008 (MEC)
烟曲霉 ATCC MYA-3626	BisEDT	-	-	4	8
	MB-2B	-	-	4	8
	MB-6	-	-	2	4
	两性霉素 B	-	0.5-4	0.5	1
	氟康唑	-	-	>64	>64
	伏立康唑	-	0.25-1	0.25	0.5
	卡泊芬净	-	-	0.06 (MEC)	0.06 (MEC)
	米卡芬净	-	-	0.03 (MEC)	0.008 (MEC)

[1028] 参考文献：

[1029] 1.)Beckman E,Wolfe C,Pillar C.In vitro Activity of Bismuth Thiols and Comparators Against Drug Resistant Gram-positive and-negative Bacteria and Yeast.Final Report 08-24-2016-Microbion 22.Micromyx,Kalamazoo,MI.2016.

[1030] 2.)Clinical and Laboratory Standards Institute(CLSI).Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts.4th ed.CLSI standard M27.CLSI,940 West Valley Road,Suite 1400,Wayne,Pennsylvania 19087-1898 USA,2017.

[1031] 3.)CLSI.Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi,;Approved Standard.3rd ed.CLSI standard M38.CLSI,940 West Valley Road,Suite 1400,Wayne,Pennsylvania 19087-1898 USA,2017.

[1032] 4.)CISI.Performance Standards for Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts.1st ed.CLSI supplement M60.CLSI,940 West Valley Road,Suite 1400,Wayne,Pennsylvania 19087-1898 USA,2017.

[1033] 5.)CLSI.Performance Standards for Antifungal Susceptibility Testingo of Filamentous Fungi;Approved Standard.1st ed.CLSI supplement M61.CLSI,940 West Valley Road,Suite 1400,Wayne.Pennsylvania 19087-1898 USA,2017.

[1034] 6.)Lockhart SR,Etienne KA,Vallabhaneni S,Farooqi J,Chowdhary A,Govender N,et al.Simultaneous Emergence of Multidrug-Resistant Candida auris on 3 Continents Confirmed by Whole-Genome Sequencing and Epidemiological Analyses.Clin Infect Dis 2017;64:134-140.

[1035] 实施例14:关于BisEDT粒径分布的加工条件的研究

[1036] 观察到，小心控制反应温度和1，2乙二硫醇添加速率已经对BisEDT粒径分布具有显著影响。下文显示代表性合成，针对在20℃下通过注射泵持续1.25小时添加1，2-乙烷合成的BisEDT和在15℃下通过注射泵持续1小时添加1，2-乙烷合成的BisEDt。下表111示出温度条件在粒径分布中起关键作用，其中在20-30℃范围内的加工温度提供粒径小并且均一(如D90小于2微米)的BisEDT粒径分布。

[1037] BisEDT的代表性合成，在20℃下通过注射泵持续1.25小时添加硫醇，并且用聚丙烯布进行过滤以10-g规模执行BisEDT合成。向1-L夹套反应器中装入USP水(480mL，48体积)，接着装入70％HNO3(34mL，3.4体积)。在20℃下添加次硝酸铋(10g，6.84mmol)于水(43mL，4.3体积)和70％HNO3(14mL，1.4体积)中的溶液。所述反应混合物冷却至15℃以添加95％乙醇。接着缓慢地添加95％乙醇(180mL，18体积)。(乙醇添加是放热的，温度达到22℃)。接着将温度调节回20℃。随后经1.25小时时期向其中逐滴添加1，2乙二硫醇(4.3mL，7.5mmol，在95％乙醇94mL，9.4体积中)，其中批料温度为20℃，在这段时间内所述溶液变成黄色悬浮液。所述反应在20℃下搅拌过夜。反应混合物通过聚丙烯布过滤并且用95％乙醇(45mL，4.5体积)洗涤。将湿滤饼装回所述反应器中，并在20℃下在95％乙醇(380mL，38体积)中成浆持续两小时。所述悬浮液接着过滤(同一块布)并且用95％乙醇(30mL，3体积)洗涤。湿滤饼再次在20℃下在95％EtOH(170mL，17体积)中成浆，过滤(同一块布)，并且用95％乙醇(30mL，3体积)洗涤。湿滤饼接着在20℃下在丙酮(170mL，17体积)中成浆过夜，随后过滤(同一块布)并且用丙酮洗涤(20mL，2体积)。对固体重复丙酮(170ml，17体积)处理并搅拌持续2小时。所述悬浮液过滤(同一块布)并且用丙酮(30mL，3体积)洗涤，并在45℃下干燥，并在45℃下干燥(18小时)以提供淡黄色固体(10.81g 91.0％)。

[1038] BisEDT的代表性合成，在15℃下通过注射泵持续1小时添加硫醇，并且用聚丙烯布进行过滤：以10-g规模执行BisEDT合成，用数据记录器研究温度概况。在15℃下通过注射泵经1小时添加乙二硫醇，并使用PP滤布执行过滤。向1-L夹套反应器中装入USP水(480mL，48体积)并且冷却至15℃，接着装入70％HNO3(34mL，3.4体积)。在相同温度下添加次硝酸铋(10g，6.84mmol)于水(43mL，4.3体积)和70％HNO3(14mL，1.4体积)中的溶液。接着缓慢地添加95％乙醇(180mL，18体积)。(乙醇添加是放热的，温度达到22.5℃)。接着使其冷却至15℃。随后经1小时向其中逐滴添加1，2乙二硫醇(4.3mL，7.5mmol，在95％乙醇94mL，9.4体积中)，其中批料温度为15℃。使所述反应在15℃下搅拌过夜。反应混合物通过聚丙烯布过滤并且用95％乙醇(45mL，4.5体积)洗涤。将湿滤饼装回所述反应器中，并在20℃下在95％乙醇(380mL，38体积)中成浆持续两小时。所述悬浮液接着过滤(同一块布)并且用95％乙醇(30mL，3体积)洗涤。湿滤饼再次在20℃下在95％EtOH(170mL，17体积)中成浆，过滤(同一块布)，并且用95％乙醇(30mL，3体积)洗涤。湿滤饼接着在20℃下在丙酮(170mL，17体积)中成浆过夜，随后过滤(同一块布)并且用丙酮洗涤(20mL，2体积)。对固体重复丙酮(170ml，17体积)处理并搅拌持续2小时。所述悬浮液过滤(同一块布)并且用丙酮(30mL，3体积)洗涤，并在45℃下干燥，并在45℃下干燥(18小时)以提供淡黄色固体(10.43g 87.8％)。

[1039]

表 111：BisEDT 样品的粒径分布

样品	D(10) μm	D(50) μm	D(90) μm	D[4,3] μm	条件
1	0.80	2.4	5.9	2.9	道尔顿合成条件
2	0.58	1.7	3.9	2.0	道尔顿合成条件
3	0.59	1.9	4.5	2.3	30°C，通过加料漏斗持续 5 h 添加 1,2-乙二硫醇
4	0.44	1.48	3.1	1.7	30°C，通过注射泵持续 4 小时添加 1,2-乙二硫醇
5	0.33	0.72	1.6	0.86	20°C，通过加料漏斗持续 1 h 添加 1,2-乙二硫醇
6	0.34	0.87	1.8	0.98	20°C，通过加料漏斗持续 4 h 添加 1,2-乙二硫醇
7	0.39	1.3	1.6	1.4	20°C，通过注射泵持续 1 小时添加 1,2-乙二硫醇样品在 EtOH 中成浆。布过滤
8	0.36	1.0	1.8	1.0	20°C，通过注射泵持续 1 小时添加 1,2-乙二硫醇样品在 MeOH 中成浆。布过滤
9	0.67	1.0	1.9	1.1	20°C，通过注射泵持续 1 小时添加 1,2-乙二硫醇样品在 Abs. MeOH 中成浆。布过滤
10	0.36	0.88	1.7	0.97	20°C，通过注射泵持续 1 小时添加 1,2-乙二硫醇样品在 IPA 中成浆。布过滤
11	0.38	1.2	2.4	1.4	15°C，通过注射泵持续 1.5 小时添加 1,2-乙二硫醇布过滤
12	0.37	1.2	2.4	1.3	20°C，通过注射泵持续 1.25 小时添加 1,2-乙烷
13	0.36	0.98	2.1	1.2	10°C，通过注射泵持续 1 h 添加 1,2-乙二硫醇
14	0.36	1.0	2.1	1.2	10°C，通过注射泵持续 1 小时添加 1,2-乙二硫醇布过滤

[1040]

样品	D(10) μm	D(50) μm	D(90) μm	D[4,3] μm	条件
15	0.32	0.72	1.6	0.86	10°C，通过注射泵持续 4 小时添加 1,2-乙二硫醇布过滤。

[1041] 以引用的方式并入

[1042] 本文所提及的所有出版物和专利由此以引用的方式整体并入,其并入程度就如同

各单独出版物或专利特定地并且个别地被指示以引用的方式并入一般。在冲突的情况下，将以本申请(包括本文中的任何定义)为准。

[1043] 等同方案

[1044] 尽管已经讨论了本公开的具体实施方案，以上说明书是说明性的而非限制性的。在阅读本说明书和以上权利要求书之后，本公开的许多变化对于本领域技术人员将变得显而易见。本公开的完整范围应通过参考权利要求书，以及其等同方案的完整范围，和本说明书，以及此类变化来确定。

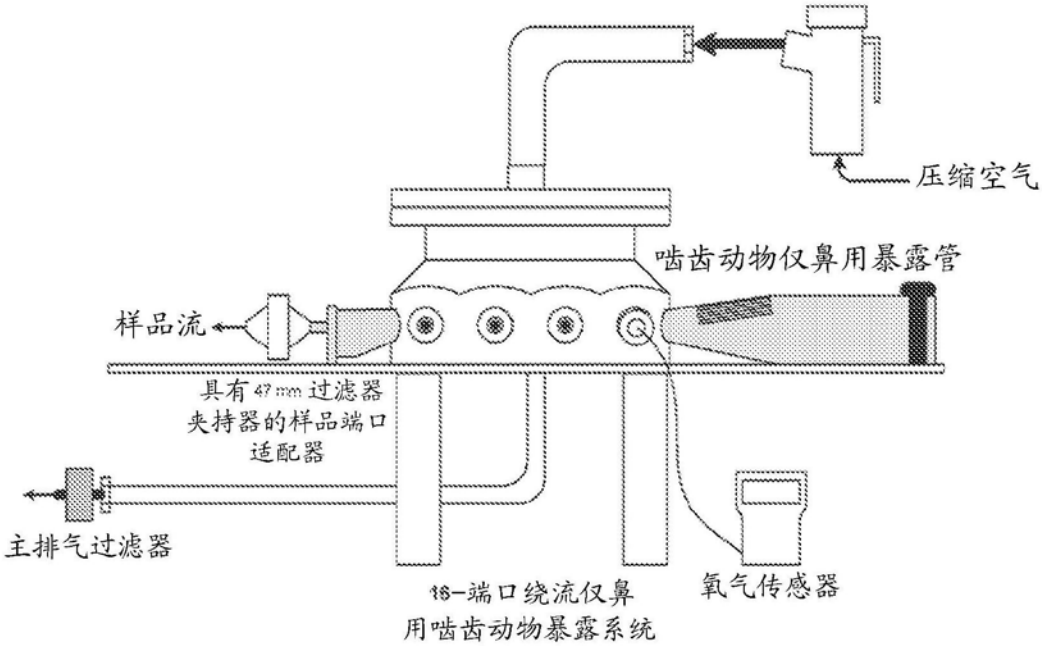

压缩空气
啮齿动物仅鼻用暴露管
样品流
具有47 mm过滤器
夹持器的样品端口
适配器
主排气过滤器
氧气传感器
16-端口绕流仅鼻
用啮齿动物暴露系统

图1

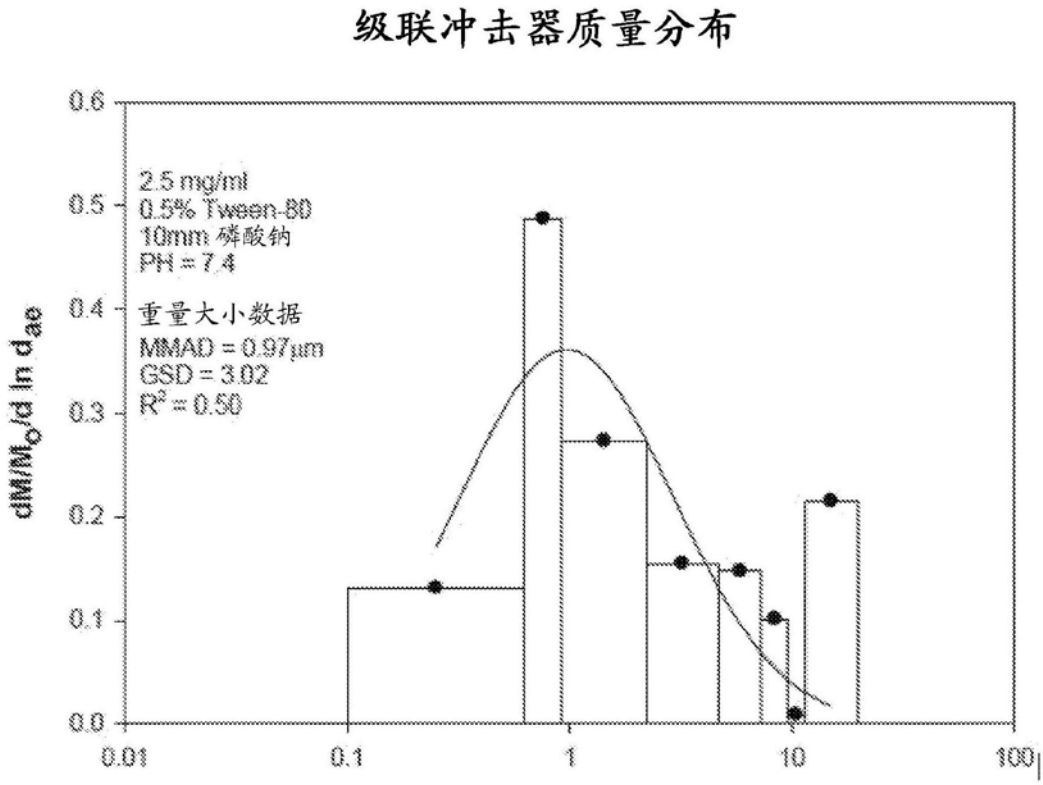

级联冲击器质量分布
2.5 mg/ml
0.5% Tween-80
10mm 磷酸钠
PH = 7.4
重量大小数据
MMAD = 0.97μm
GSD = 3.02
R² = 0.50
dM/M₀/d ln d_ae
0.0
0.1
0.2
0.3
0.4
0.5
0.6
0.01
0.1
1
10
100

图2

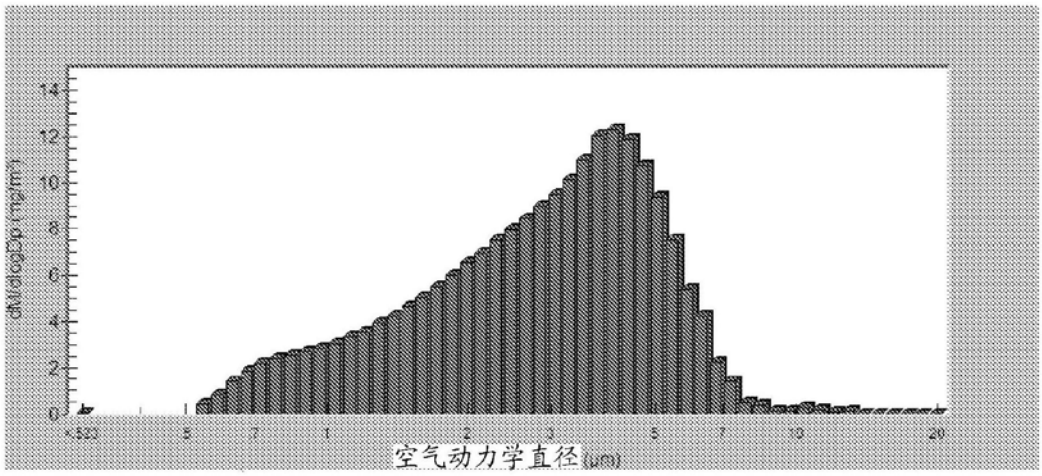


图3

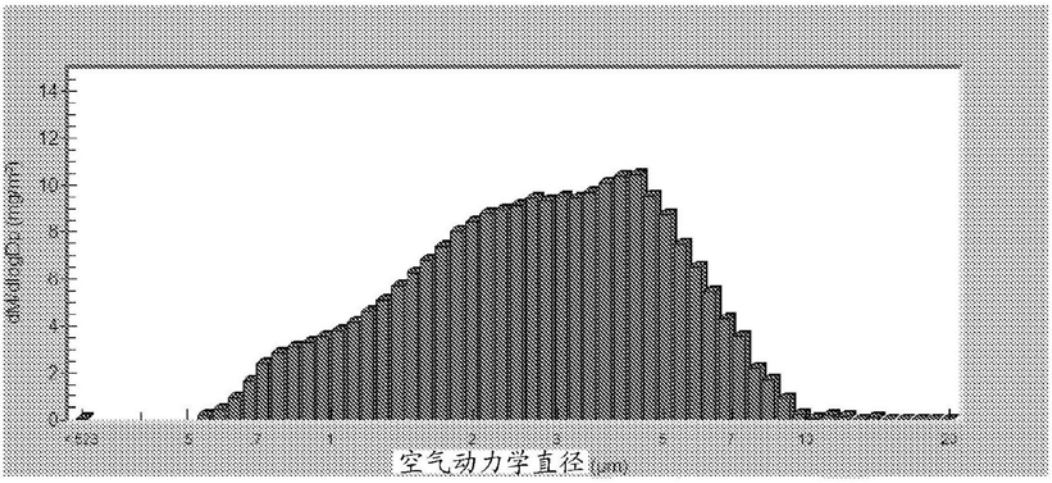


图4

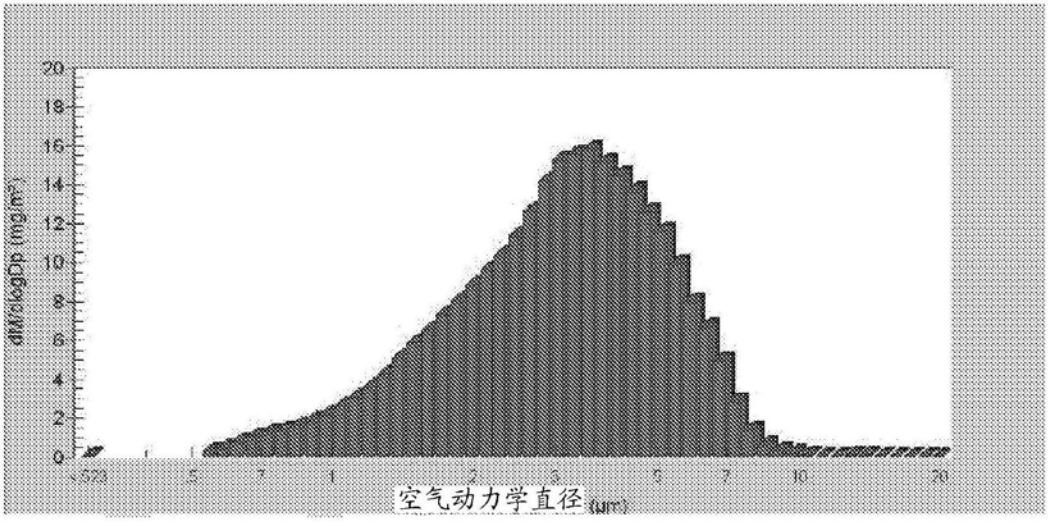


图5

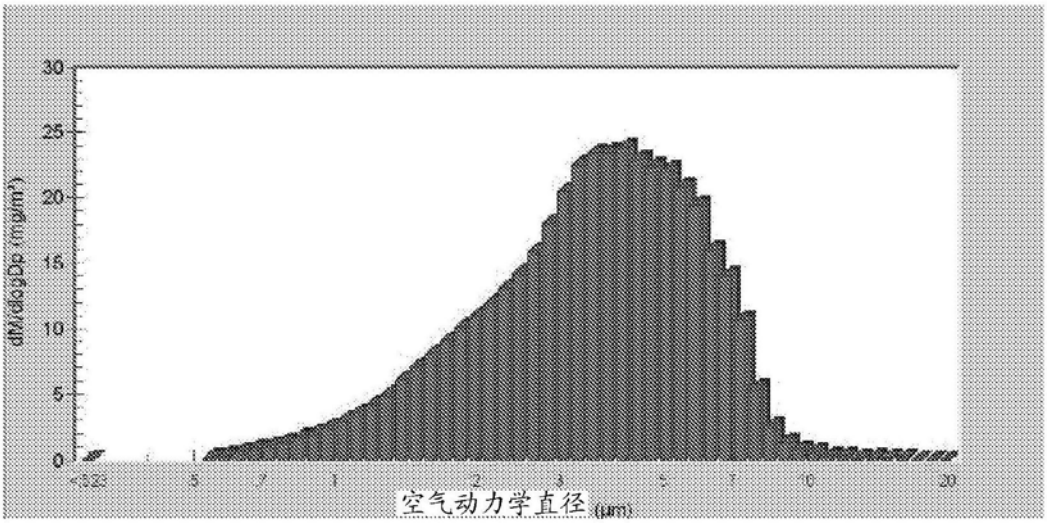


图6

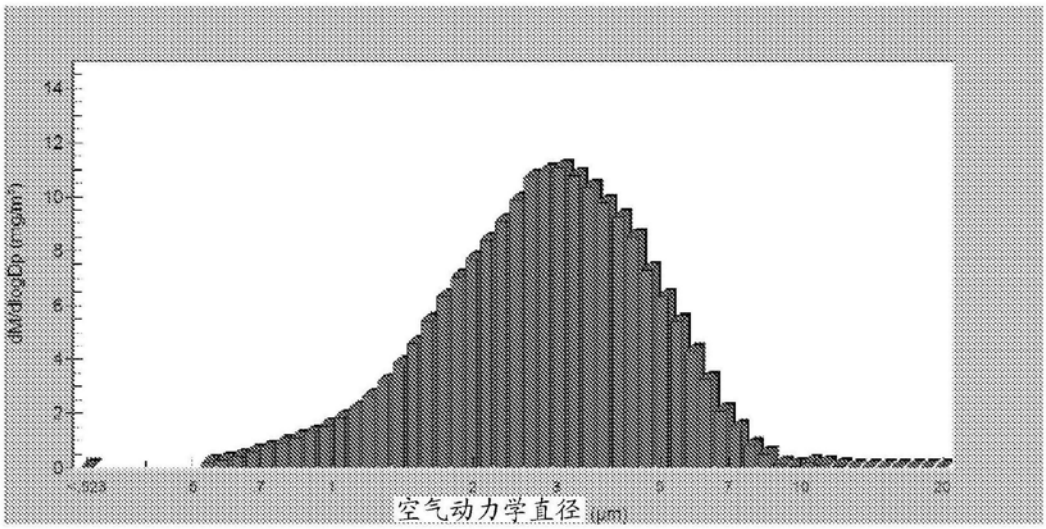


图7

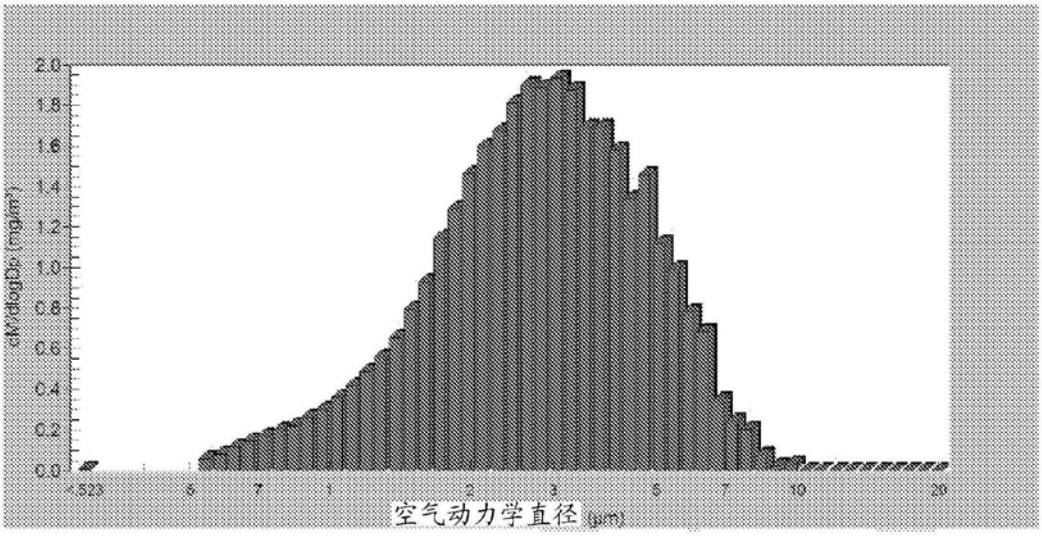


图8

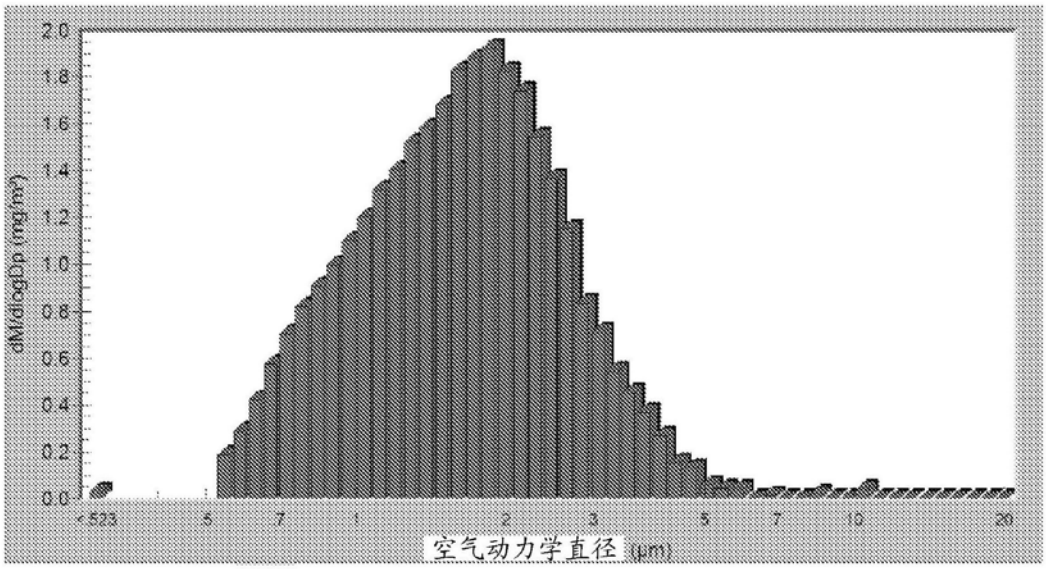

dN/dlogDp (mg/m³)
2.0
1.8
1.6
1.4
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
<.523
.5
.7
1
2
3
5
7
10
20
空气动力学直径 (μm)

图9

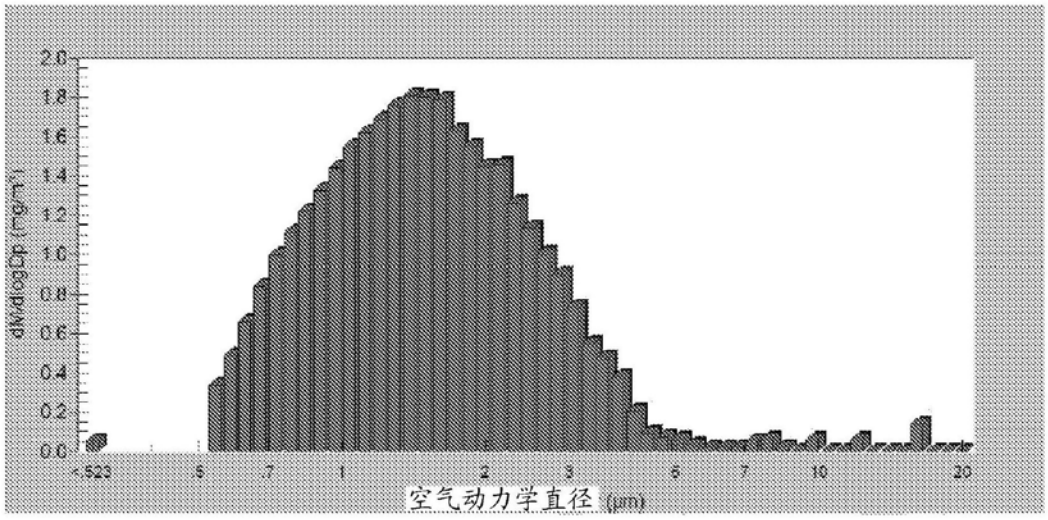

dN/dlogDp (mg/m³)
2.0
1.8
1.6
1.4
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
<.523
.5
.7
1
2
3
5
7
10
20
空气动力学直径 (μm)

图10

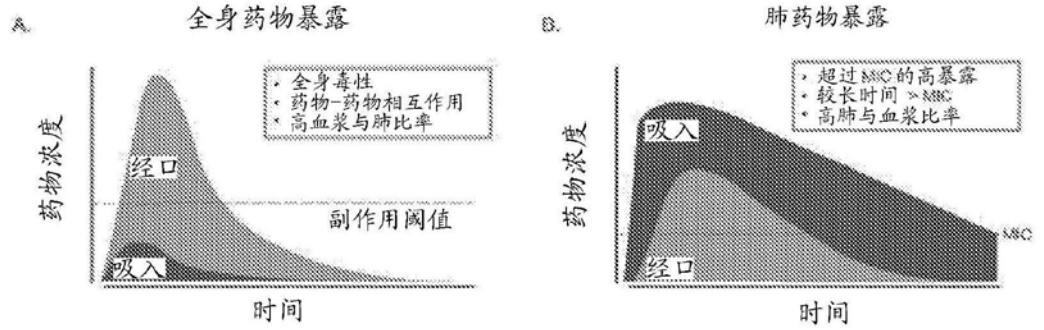


图11

钛-硫醇: MB-183 —目前临床阶段药物候选物

菌株	2.50	1.25	0.63	0.31	0.16	0.08	0.04	0.02	0.01	0.00	+对照	-对照	MIC (mcg/mL)
AG1(氨基糖苷抗性PA)	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	0.63
AG14(氨基糖苷抗性PA)	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	0.31
AU197(新洋葱伯克霍尔德菌)	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	0.16
AX7(无色杆菌属)	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	0.08
MR14(多重耐药性PA)	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	0.63
SM21(嗜麦芽窄食单胞菌)	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	0.31
25922(对照菌株大肠杆菌)	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	1.25
29213(对照菌株金黄色葡萄球菌)	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	0.02

钛-硫醇: MB-6 —目前临床前阶段药物候选物

菌株	2.50	1.25	0.63	0.31	0.16	0.08	0.04	0.02	0.01	0.00	+对照	-对照	MIC (mcg/mL)
AG1(氨基糖苷抗性PA)	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	0.63
AG14(氨基糖苷抗性PA)	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	0.63
AU197(新洋葱伯克霍尔德菌)	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	0.31
AX7(无色杆菌属)	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	0.16
MR14(多重耐药性PA)	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	0.31
SM21(嗜麦芽窄食单胞菌)	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	0.08
25922(对照菌株大肠杆菌)	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	0.31
29213(对照菌株金黄色葡萄球菌)	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	0.04

图12

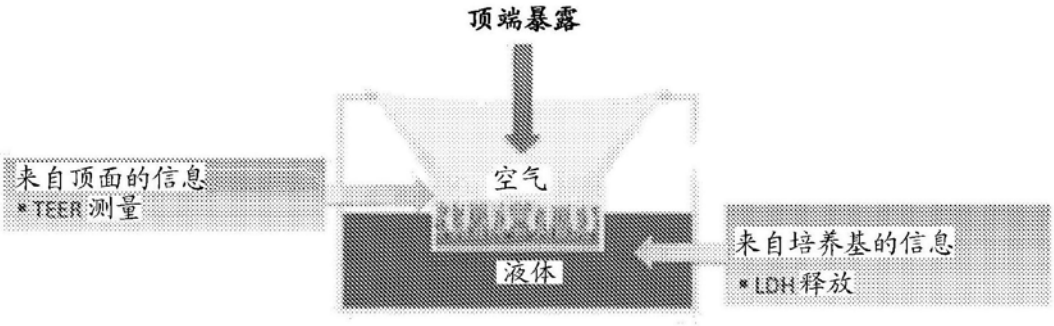


图13

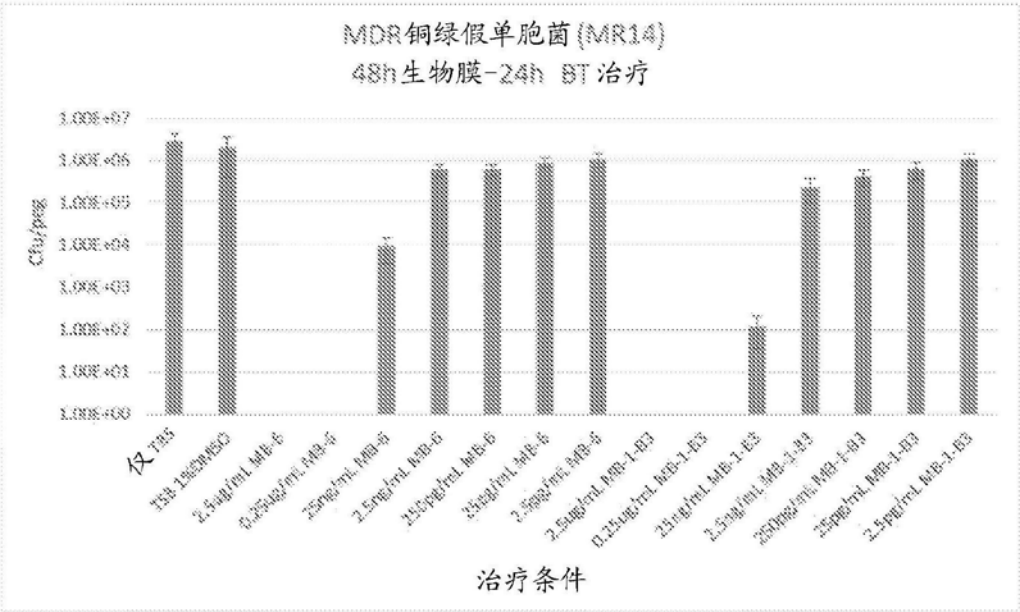

MDR铜绿假单胞菌(MR14)
48h生物膜-24h BT治疗
1.00E+07
1.00E+06
1.00E+05
1.00E+04
1.00E+03
1.00E+02
1.00E+01
1.00E+00
Cfu/peg
仅TBS
TSB 1%DMSO
2.5ug/mL MB-6
0.25ug/mL MB-6
25ng/mL MB-6
2.5ng/mL MB-6
250pg/mL MB-6
25pg/mL MB-6
2.5pg/mL MB-6
2.5ug/mL MB-1-B3
0.25ug/mL MB-1-B3
25ng/mL MB-1-B3
2.5ng/mL MB-1-B3
250pg/mL MB-1-B3
25pg/mL MB-1-B3
2.5pg/mL MB-1-B3
治疗条件

图14

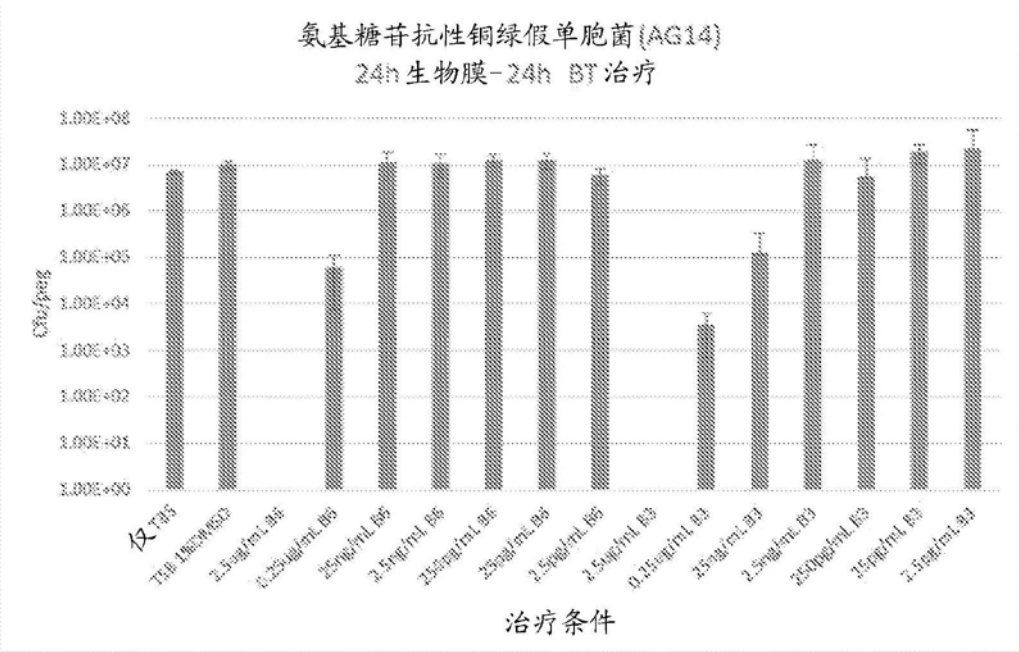

氨基糖苷抗性铜绿假单胞菌(AG14)
24h生物膜-24h BT治疗
1.00E+08
1.00E+07
1.00E+06
1.00E+05
1.00E+04
1.00E+03
1.00E+02
1.00E+01
1.00E+00
Cfu/peg
仅TBS
TSB 1%DMSO
2.5ug/mL B6
0.25ug/mL B6
25ng/mL B6
2.5ng/mL B6
250pg/mL B6
25pg/mL B6
2.5pg/mL B6
2.5ug/mL B3
0.25ug/mL B3
25ng/mL B3
2.5ng/mL B3
250pg/mL B3
25pg/mL B3
2.5pg/mL B3
治疗条件

图15

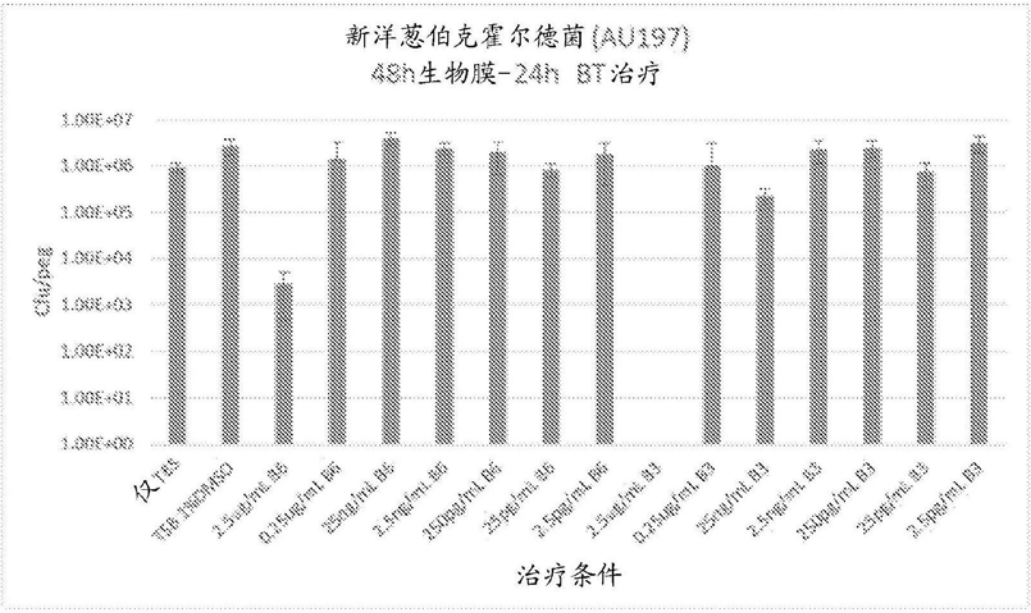

新洋葱伯克霍尔德菌(AU197)
48h生物膜-24h BT治疗
1.00E+07
1.00E+06
1.00E+05
1.00E+04
1.00E+03
1.00E+02
1.00E+01
1.00E+00
Cfu/peg
仅TBS
TSB 150DMSO
2.5μg/mL B6
0.25μg/mL B6
25μg/mL B6
2.5μg/mL B6
250μg/mL B6
25μg/mL B6
2.5μg/mL B6
2.5μg/mL B3
0.25μg/mL B3
25μg/mL B3
2.5μg/mL B3
250μg/mL B3
25μg/mL B3
2.5μg/mL B3
治疗条件

图16

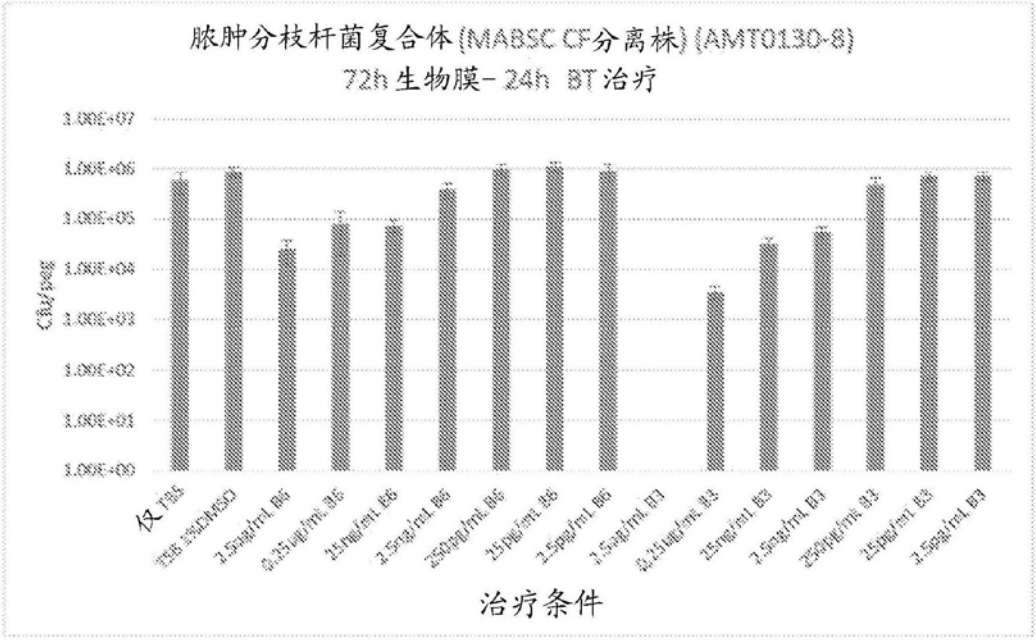

脓肿分枝杆菌复合体(MABSC CF分离株)(AMT0130-8)
72h 生物膜- 24h BT治疗
1.00E+07
1.00E+06
1.00E+05
1.00E+04
1.00E+03
1.00E+02
1.00E+01
1.00E+00
Cfu/peg
仅TBS
TSB 150DMSO
2.5μg/mL B6
0.25μg/mL B6
25μg/mL B6
2.5μg/mL B6
250μg/mL B6
25μg/mL B6
2.5μg/mL B6
2.5μg/mL B3
0.25μg/mL B3
25μg/mL B3
2.5μg/mL B3
250μg/mL B3
25μg/mL B3
2.5μg/mL B3
治疗条件

图17

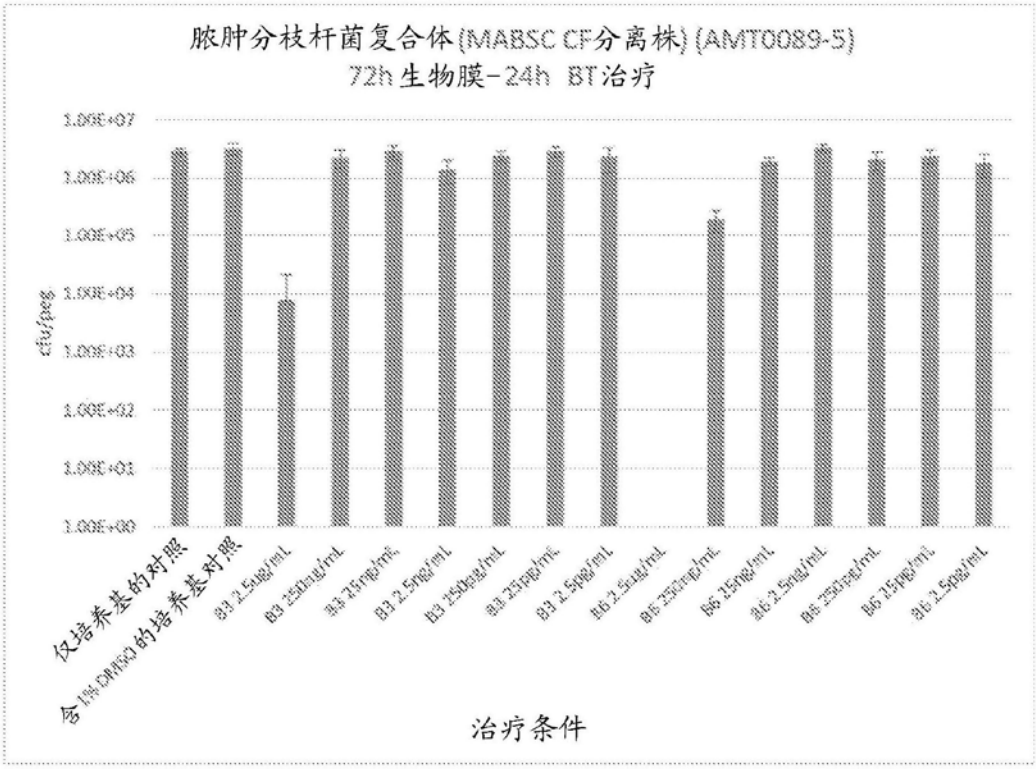

脓肿分枝杆菌复合体(MABSC CF分离株) (AMT0089-5)
72h 生物膜-24h BT治疗
1.00E+07
1.00E+06
1.00E+05
1.00E+04
1.00E+03
1.00E+02
1.00E+01
1.00E+00
cfu/peg
仅培养基的对照
含1体DMSO的培养基对照
B3 2.5μg/mL
B3 250ng/mL
B3 25ng/mL
B3 2.5ng/mL
B3 250pg/mL
B3 25pg/mL
B3 2.5pg/mL
B6 2.5μg/mL
B6 250ng/mL
B6 25ng/mL
B6 2.5ng/mL
B6 250pg/mL
B6 25pg/mL
B6 2.5pg/mL
治疗条件

图18

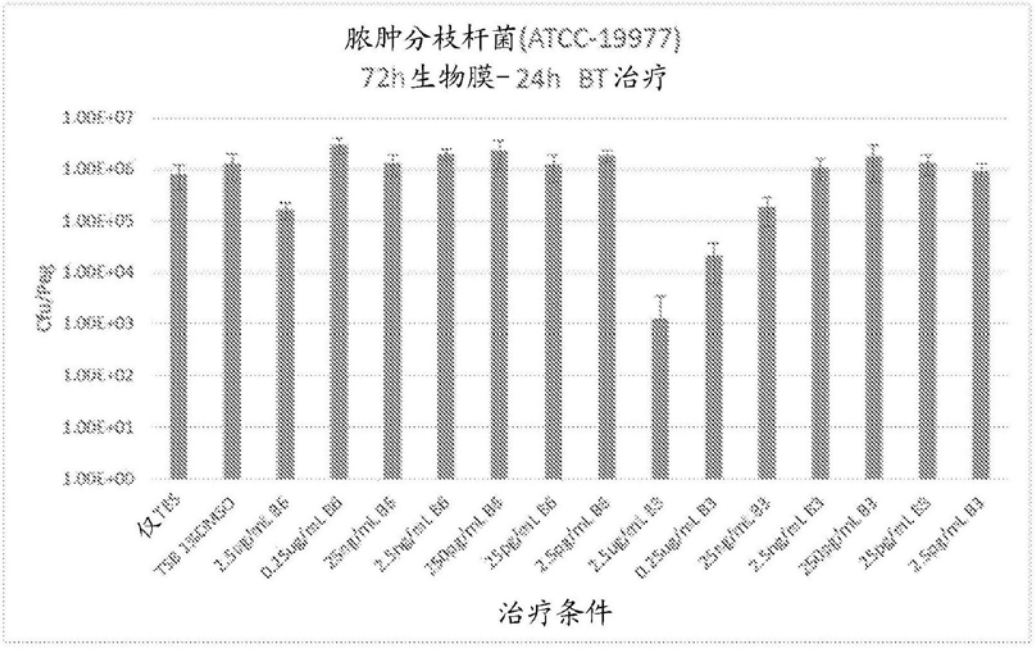

脓肿分枝杆菌(ATCC-19977)
72h 生物膜-24h BT治疗
1.00E+07
1.00E+06
1.00E+05
1.00E+04
1.00E+03
1.00E+02
1.00E+01
1.00E+00
Cfu/Peg
仅TBS
TSB 1%DMSO
2.5μg/mL B6
0.25μg/mL B6
25ng/mL B6
2.5ng/mL B6
250pg/mL B6
25pg/mL B6
2.5pg/mL B6
2.5μg/mL B3
0.25μg/mL B3
25ng/mL B3
2.5ng/mL B3
250pg/mL B3
25pg/mL B3
2.5pg/mL B3
治疗条件

图19

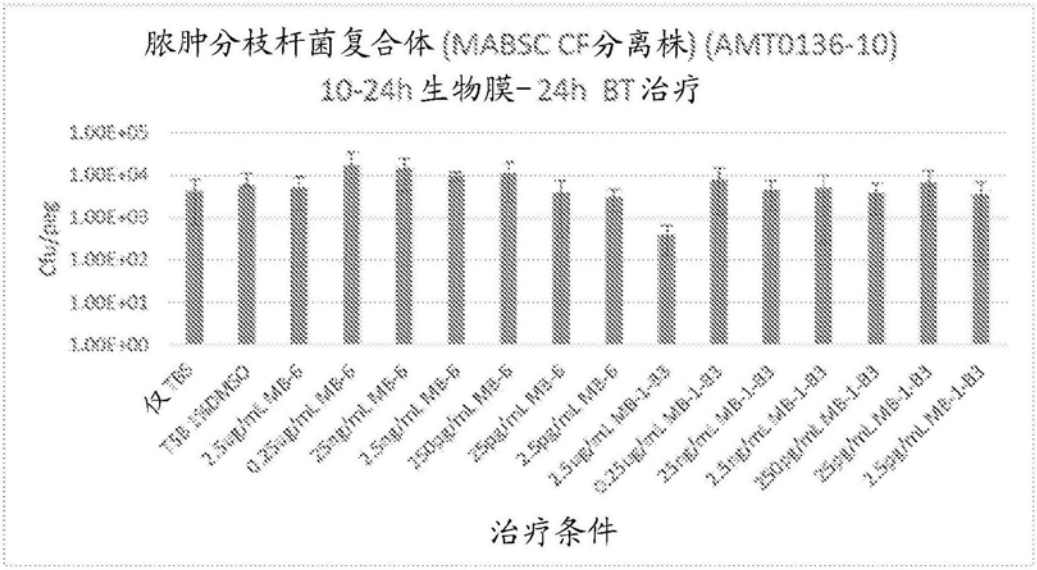

脓肿分枝杆菌复合体(MABSC CF分离株)(AMT0136-10)
10-24h 生物膜-24h BT治疗
1.00E+05
1.00E+04
1.00E+03
1.00E+02
1.00E+01
1.00E+00
Cfu/pellet
仅TBS
TSB 1%DMSO
2.5ug/mL MB-6
0.25ug/mL MB-6
25ng/mL MB-6
2.5ng/mL MB-6
250pg/mL MB-6
25pg/mL MB-6
2.5pg/mL MB-6
2.5ug/mL MB-1-B3
0.25ug/mL MB-1-B3
25ng/mL MB-1-B3
2.5ng/mL MB-1-B3
250pg/mL MB-1-B3
25pg/mL MB-1-B3
2.5pg/mL MB-1-B3
治疗条件

图20

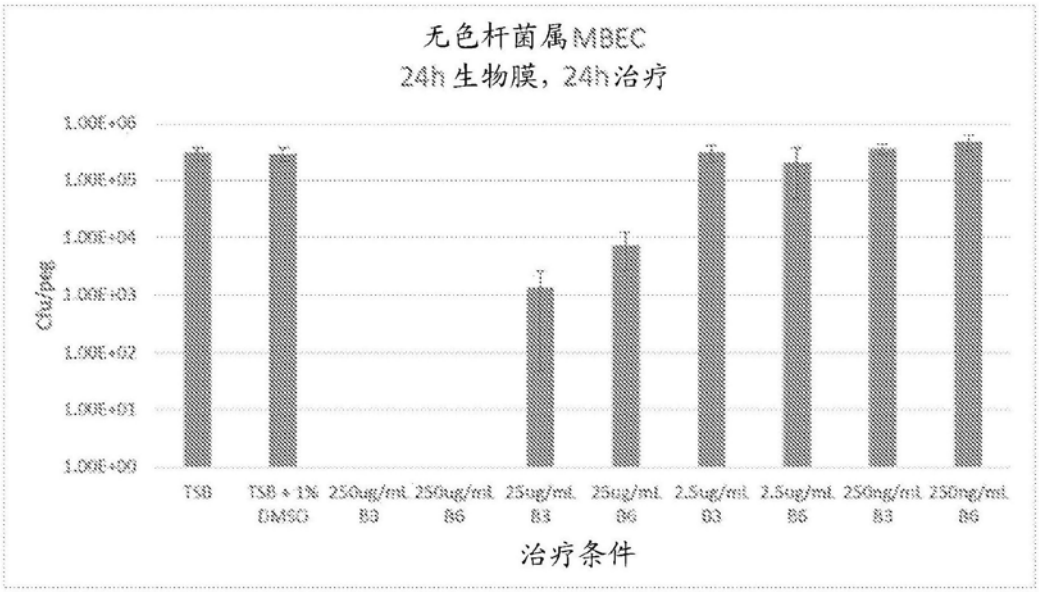

无色杆菌属MBEC
24h 生物膜，24h治疗
1.00E+06
1.00E+05
1.00E+04
1.00E+03
1.00E+02
1.00E+01
1.00E+00
Cfu/peg
TSB
TSB + 1% DMSO
250ug/mL B3
250ug/mL B6
25ug/mL B3
25ug/mL B6
2.5ug/mL B3
2.5ug/mL B6
250ng/mL B3
250ng/mL B6
治疗条件

图21

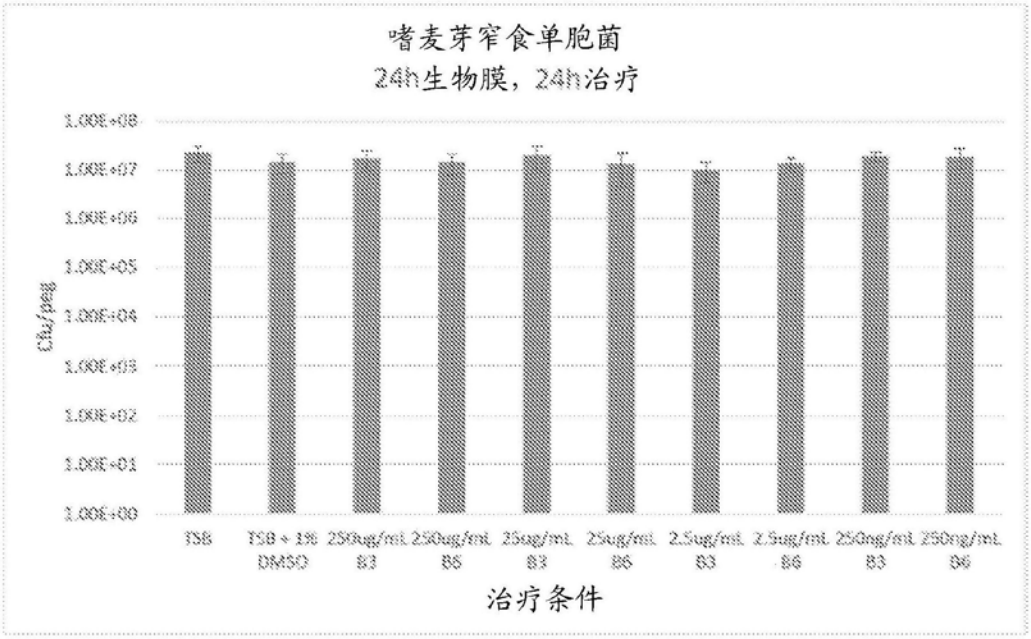

嗜麦芽窄食单胞菌
24h生物膜，24h治疗
1.00E+08
1.00E+07
1.00E+06
1.00E+05
1.00E+04
1.00E+03
1.00E+02
1.00E+01
1.00E+00
Cfu/peg
TSB
TSB + 1% DMSO
250ug/mL B3
250ug/mL B6
25ug/mL B3
25ug/mL B6
2.5ug/mL B3
2.5ug/mL B6
250ng/mL B3
250ng/mL B6
治疗条件

图22

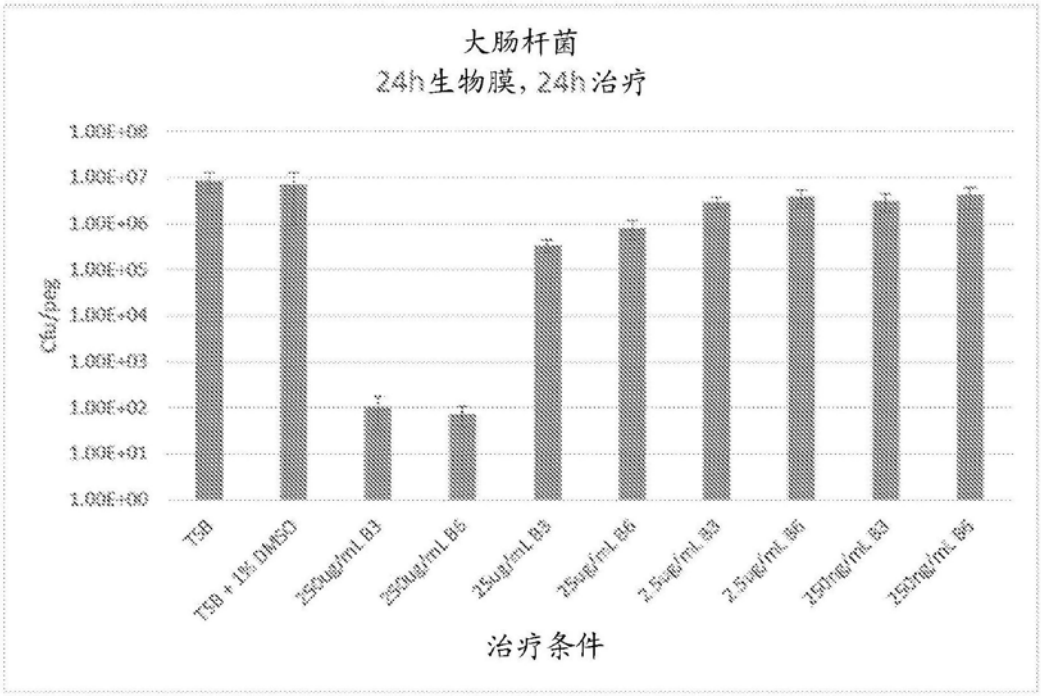

大肠杆菌
24h生物膜，24h治疗
1.00E+08
1.00E+07
1.00E+06
1.00E+05
1.00E+04
1.00E+03
1.00E+02
1.00E+01
1.00E+00
Cfu/peg
TSB
TSB + 1% DMSO
250ug/mL B3
250ug/mL B6
25ug/mL B3
25ug/mL B6
2.5ug/mL B3
2.5ug/mL B6
250ng/mL B3
250ng/mL B6
治疗条件

图23

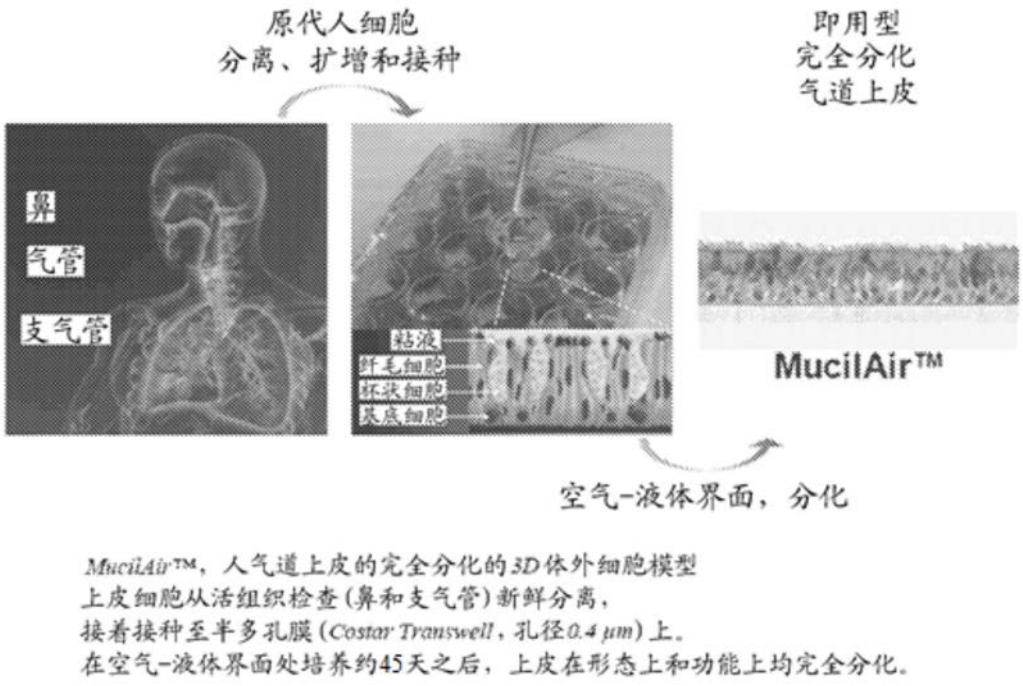

原代人细胞
分离、扩增和接种
即用型
完全分化
气道上皮
鼻
气管
支气管
粘液
纤毛细胞
杯状细胞
基底细胞
MucilAir™
空气-液体界面，分化
MucilAir™，人气道上皮的完全分化的3D体外细胞模型
上皮细胞从活组织检查(鼻和支气管)新鲜分离，
接着接种至半多孔膜(Costar Transwell，孔径0.4 μm)上。
在空气-液体界面处培养约45天之后，上皮在形态上和功能上均完全分化。

图24

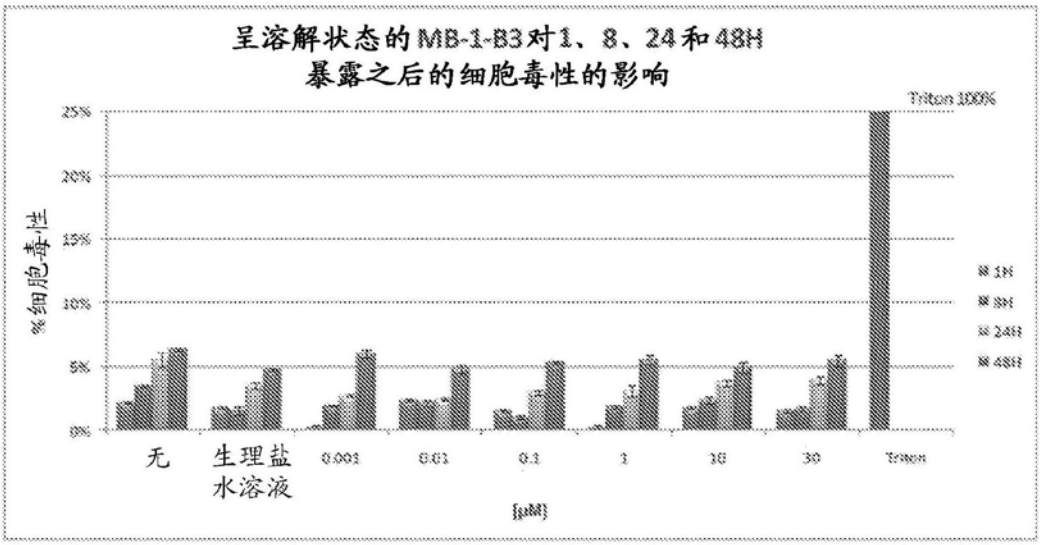

呈溶解状态的MB-1-B3对1、8、24和48H
暴露之后的细胞毒性的影响
Triton 100%
25%
20%
15%
10%
5%
0%
%细胞毒性
1H
8H
24H
48H
无
生理盐
水溶液
0.001
0.01
0.1
1
10
30
Triton
[μM]

图25

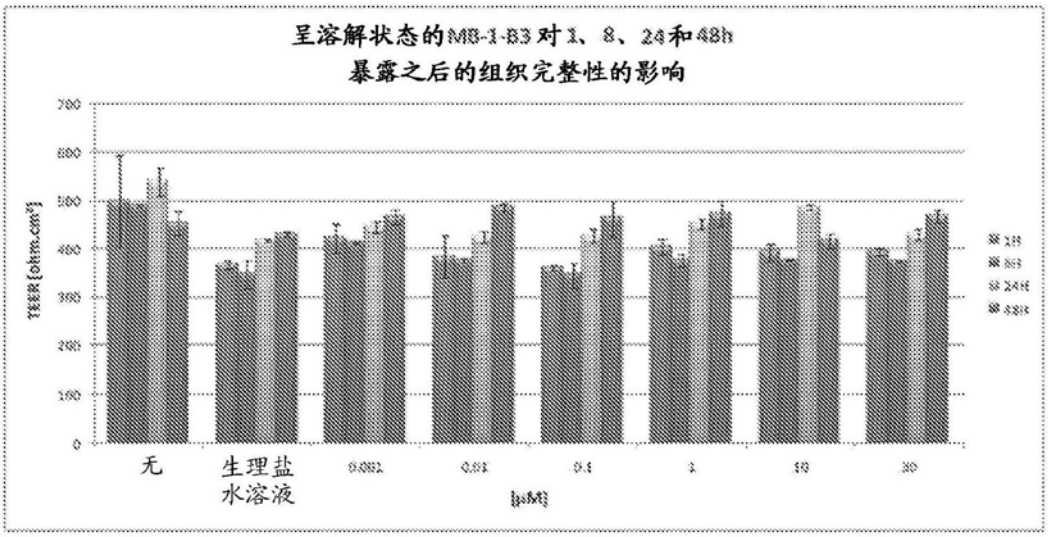

呈溶解状态的MB-1-83对1、8、24和48h
暴露之后的组织完整性的影响
无
生理盐
水溶液
[μM]

图26

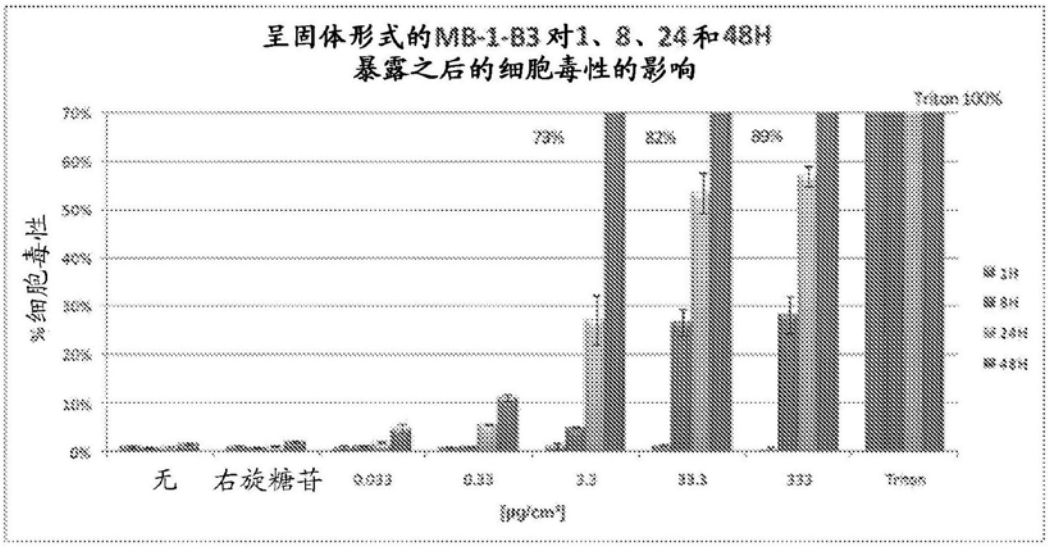

呈固体形式的MB-1-83对1、8、24和48H
暴露之后的细胞毒性的影响
Triton 100%
73%
82%
89%
% 细胞毒性
无
右旋糖苷
[pg/cm²]

图27

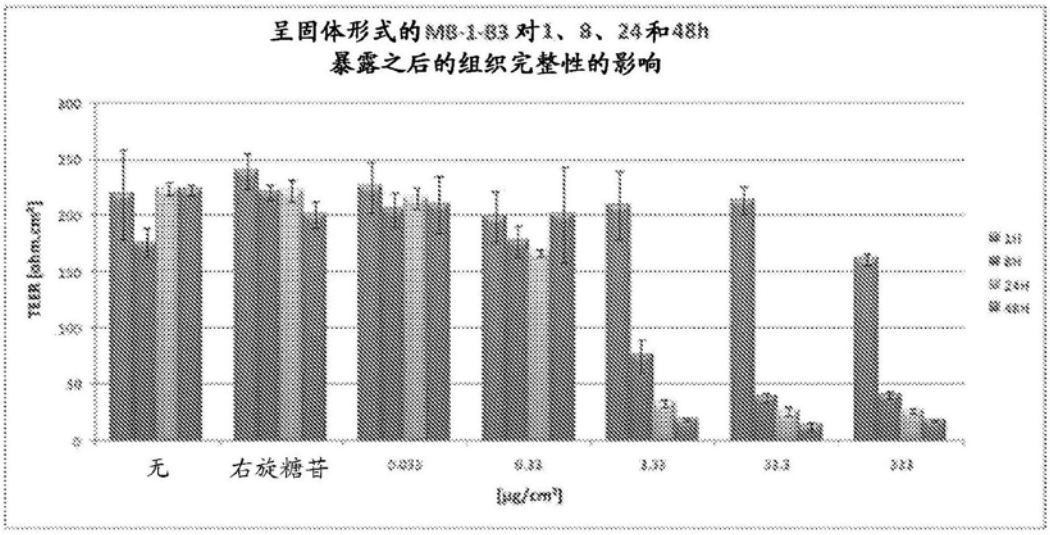

呈固体形式的MB-1-B3对1、8、24和48h
暴露之后的组织完整性的影响
TEER [ohm.cm²]
无
右旋糖苷
[µg/cm²]

图28

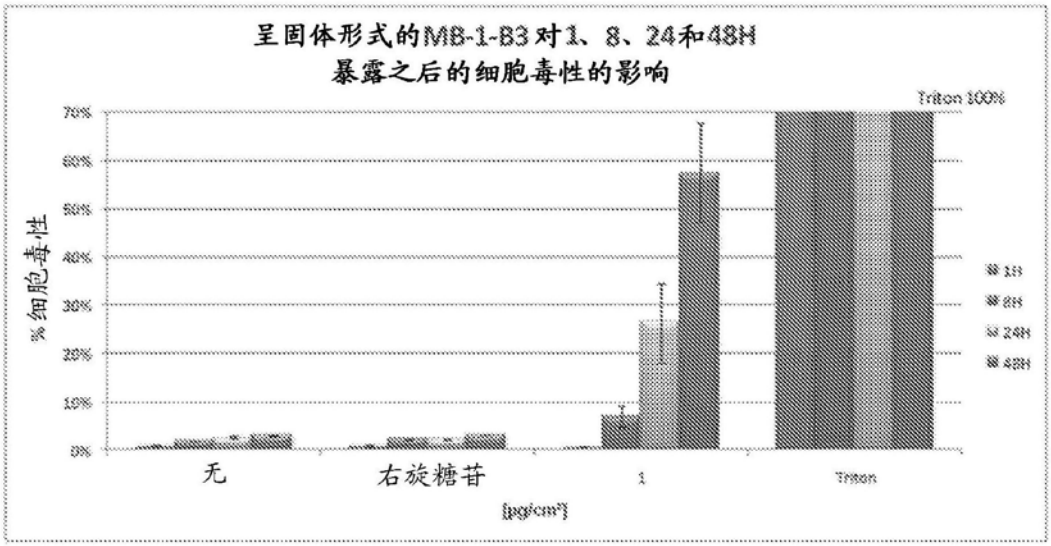

呈固体形式的MB-1-B3对1、8、24和48H
暴露之后的细胞毒性的影响
Triton 100%
% 细胞毒性
70%
60%
50%
40%
30%
20%
10%
0%
无
右旋糖苷
1
Triton
[µg/cm²]

图29

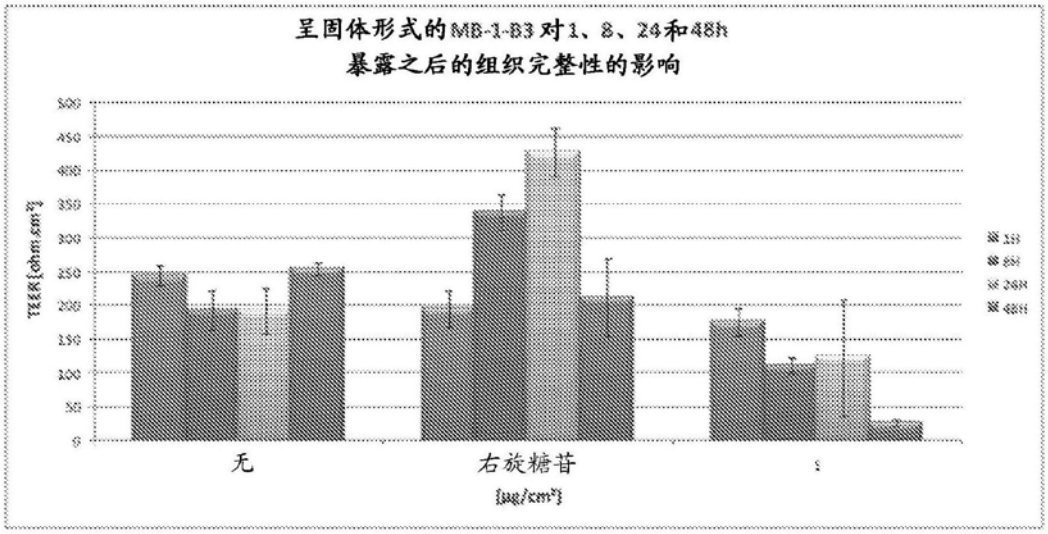

呈固体形式的MB-1-B3对1、8、24和48h
暴露之后的组织完整性的影响
TEER [ohm.cm²]
无
右旋糖苷
[μg/cm²]

图30

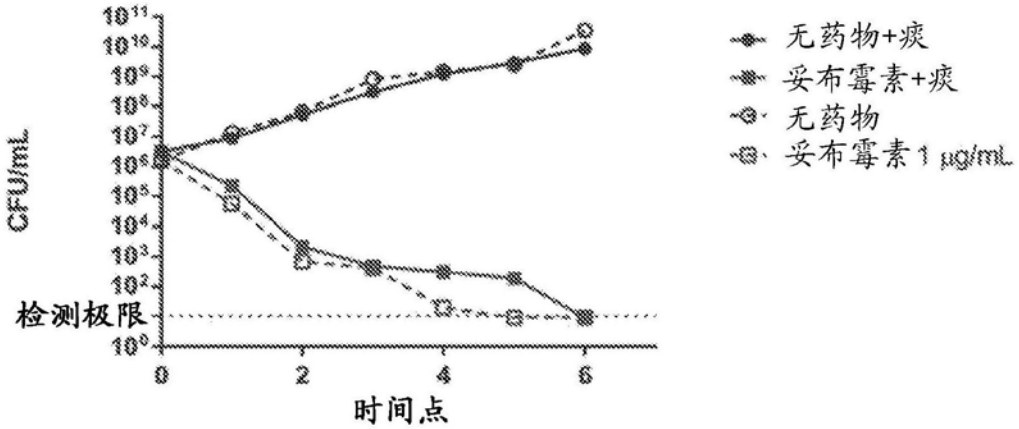

CFU/mL
检测极限
时间点
无药物+痰
妥布霉素+痰
无药物
妥布霉素 1 μg/mL

图31

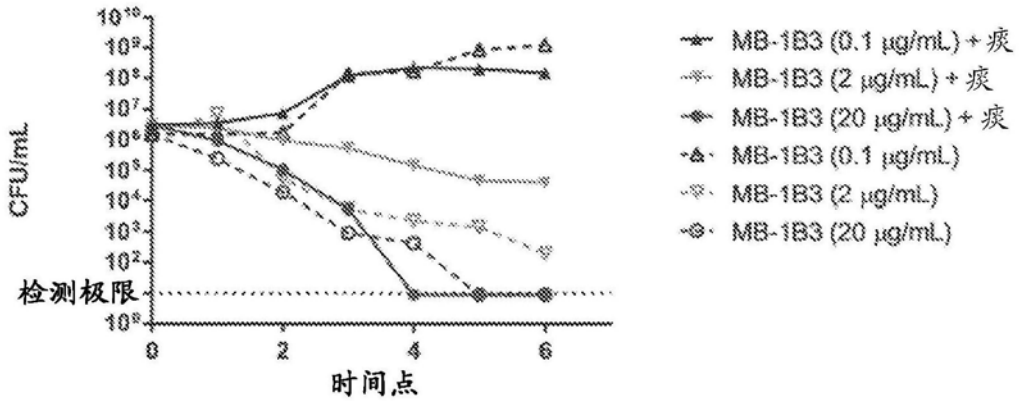

CFU/mL
检测极限
时间点
MB-1B3 (0.1 μg/mL) + 痰
MB-1B3 (2 μg/mL) + 痰
MB-1B3 (20 μg/mL) + 痰
MB-1B3 (0.1 μg/mL)
MB-1B3 (2 μg/mL)
MB-1B3 (20 μg/mL)

图32

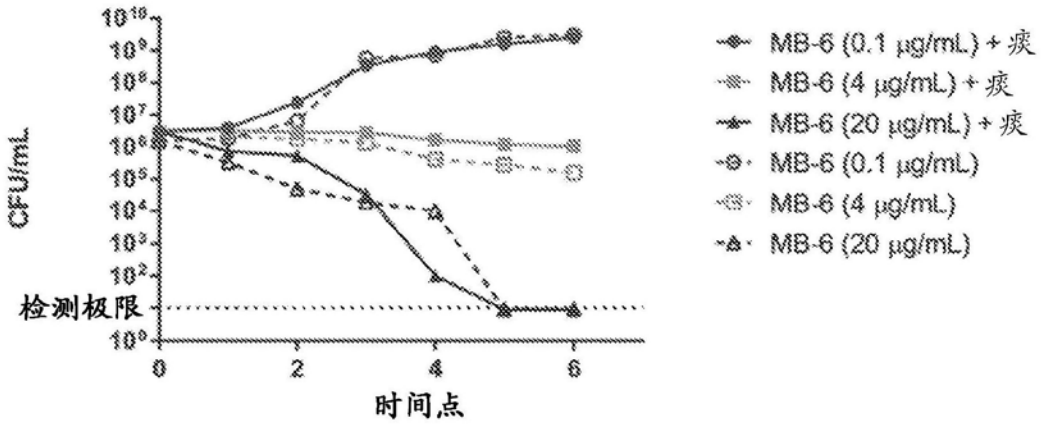

CFU/mL
检测极限
时间点
MB-6 (0.1 μg/mL) + 痰
MB-6 (4 μg/mL) + 痰
MB-6 (20 μg/mL) + 痰
MB-6 (0.1 μg/mL)
MB-6 (4 μg/mL)
MB-6 (20 μg/mL)

图33

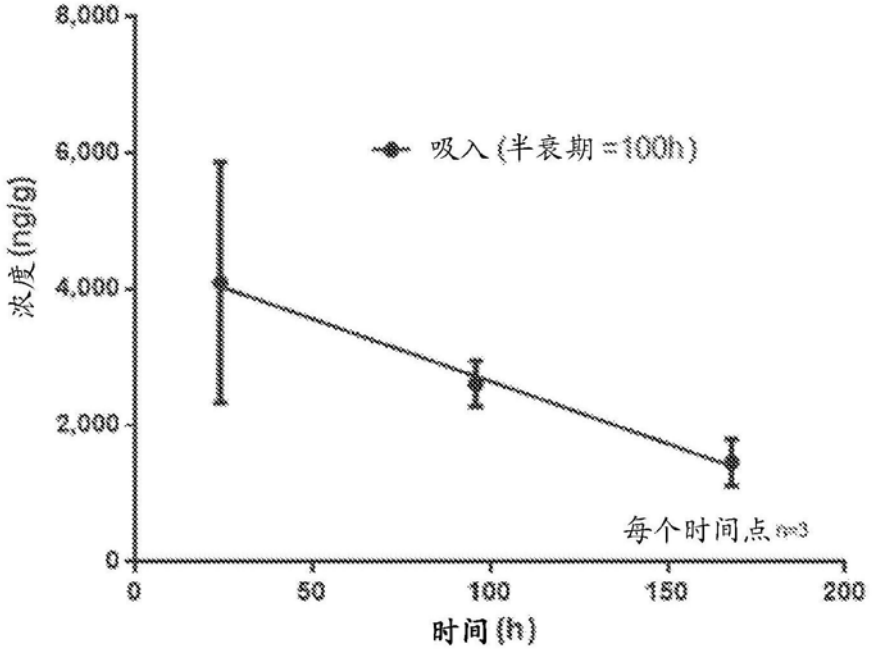

浓度 (ng/g)
吸入 (半衰期 = 100h)
每个时间点 n=3
时间 (h)

图34

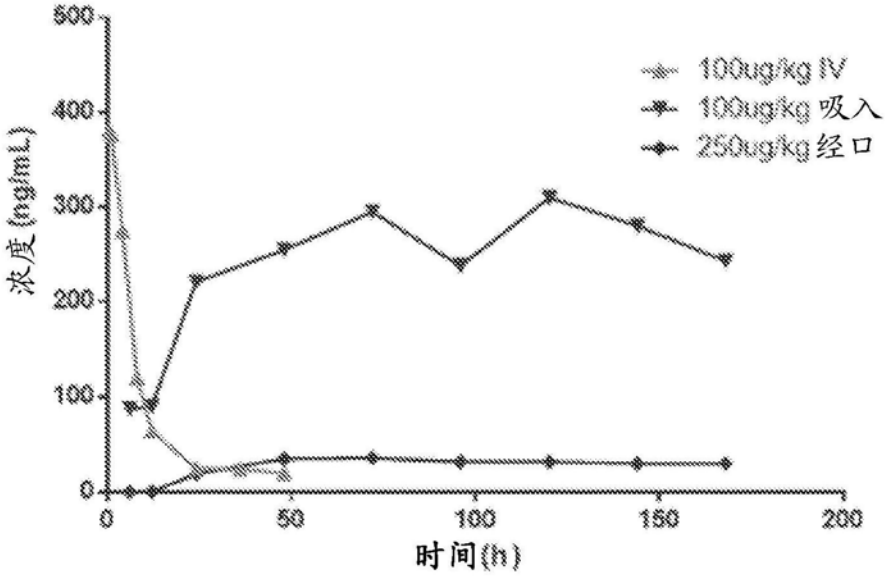

500
400
300
200
100
0
浓度(ng/mL)
0
50
100
150
200
时间(h)
100ug/kg IV
100ug/kg 吸入
250ug/kg 经口

图35

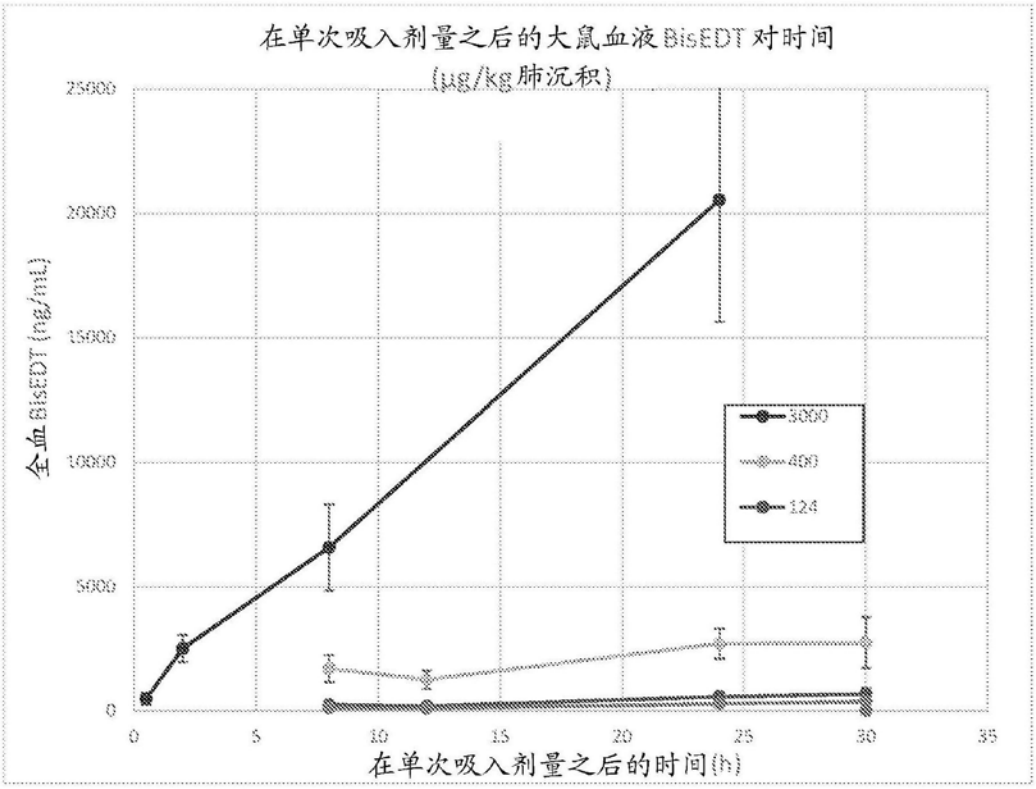

在单次吸入剂量之后的大鼠血液BisEDT对时间
(μg/kg肺沉积)
25000
20000
15000
10000
5000
0
全血BisEDT(ng/mL)
0
5
10
15
20
25
30
35
在单次吸入剂量之后的时间(h)
3000
400
124

图36

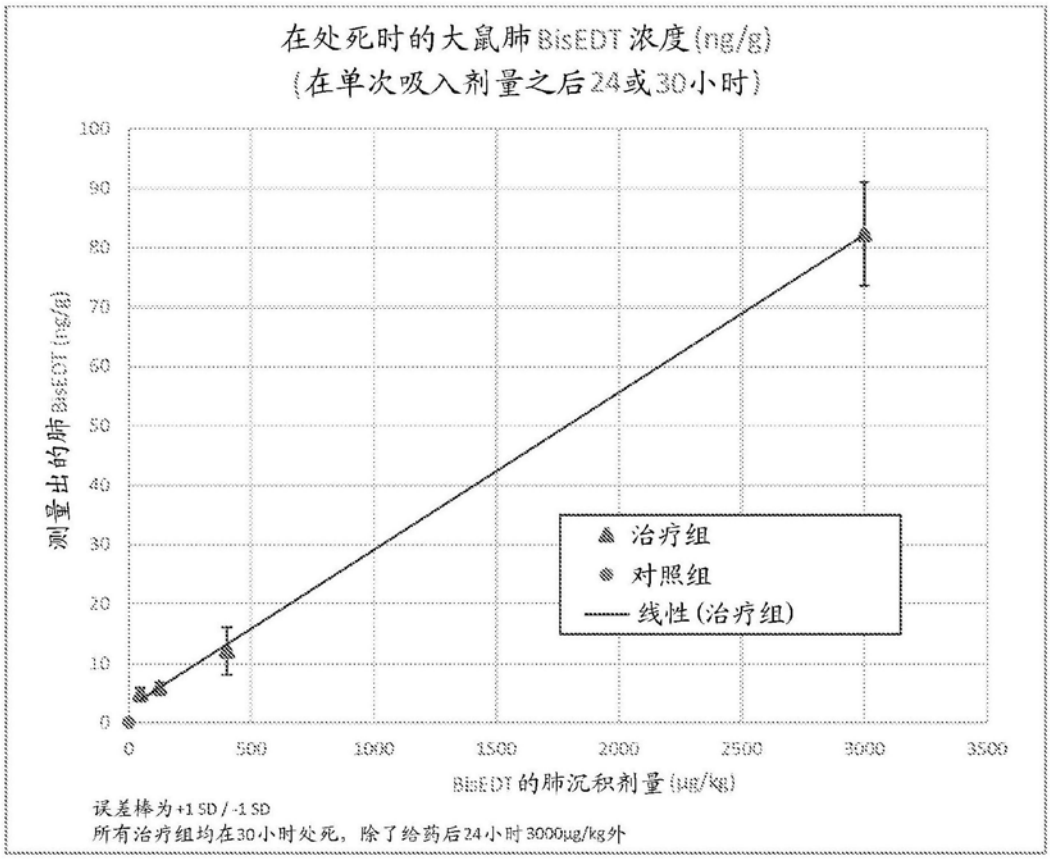

在处死时的大鼠肺BisEDT浓度(ng/g)
(在单次吸入剂量之后24或30小时)
测量出的肺BisEDT (ng/g)
BisEDT的肺沉积剂量(μg/kg)
治疗组
对照组
线性(治疗组)
误差棒为+1 SD / -1 SD
所有治疗组均在30小时处死，除了给药后24小时3000μg/kg外

图37

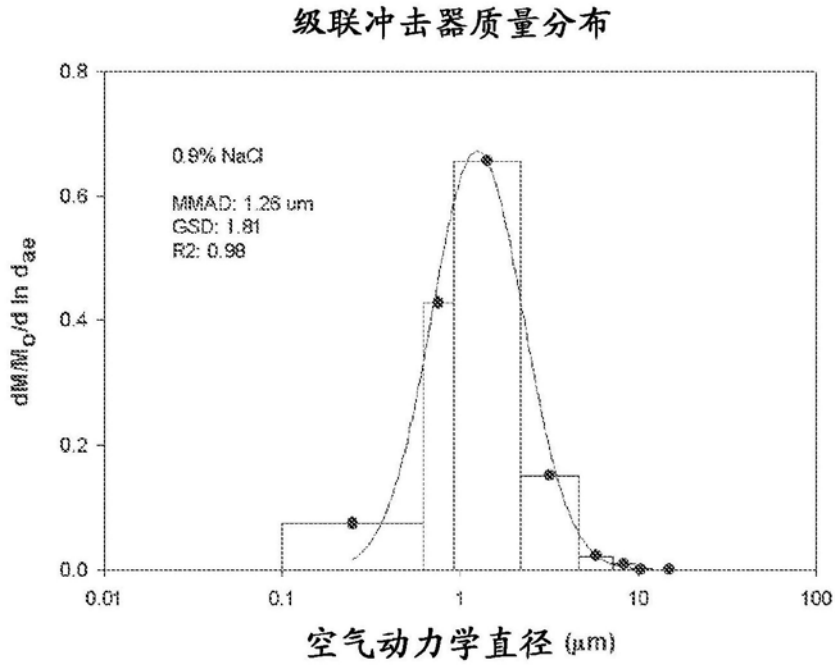

级联冲击器质量分布
0.9% NaCl
MMAD: 1.26 um
GSD: 1.81
R2: 0.98
dM/M0/d ln dae
空气动力学直径 (μm)

图38

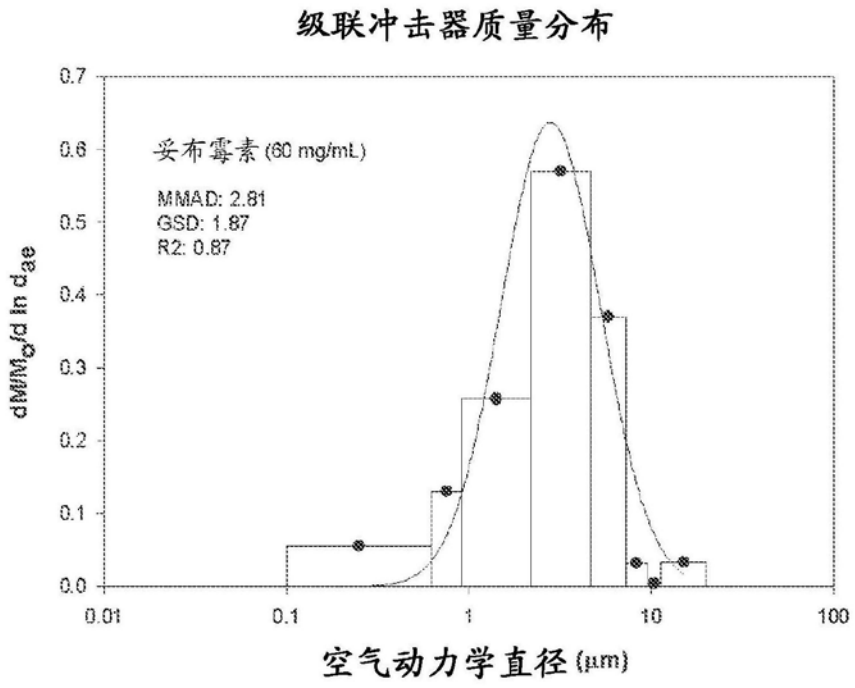

级联冲击器质量分布
妥布霉素 (60 mg/mL)
MMAD: 2.81
GSD: 1.87
R2: 0.87
dMMM$_O$/d ln d$_{ae}$
0.0
0.1
0.2
0.3
0.4
0.5
0.6
0.7
0.01
0.1
1
10
100
空气动力学直径 (μm)

图39

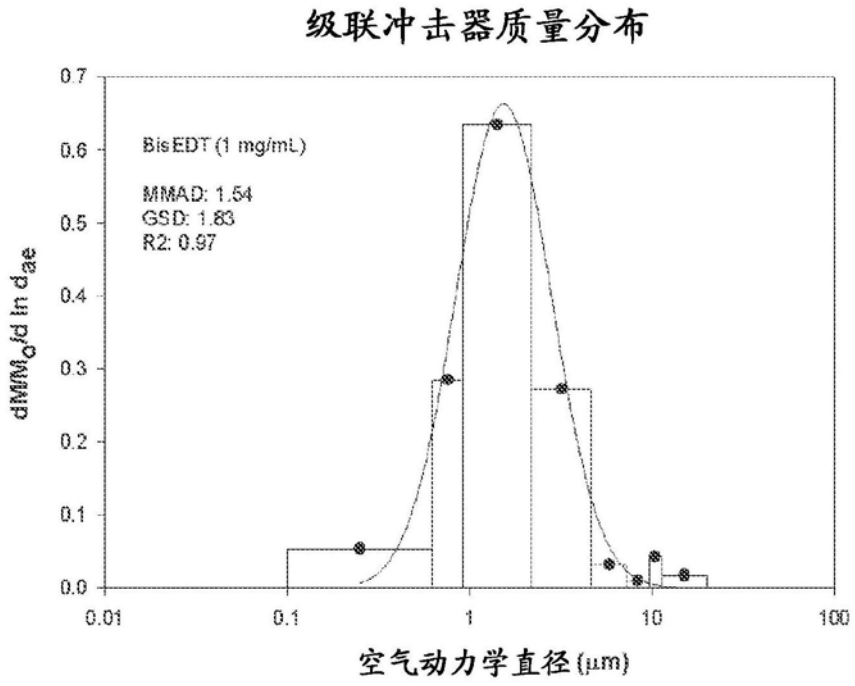

级联冲击器质量分布
BisEDT (1 mg/mL)
MMAD: 1.54
GSD: 1.83
R2: 0.97
dMMM$_O$/d ln d$_{ae}$
0.0
0.1
0.2
0.3
0.4
0.5
0.6
0.7
0.01
0.1
1
10
100
空气动力学直径 (μm)

图40

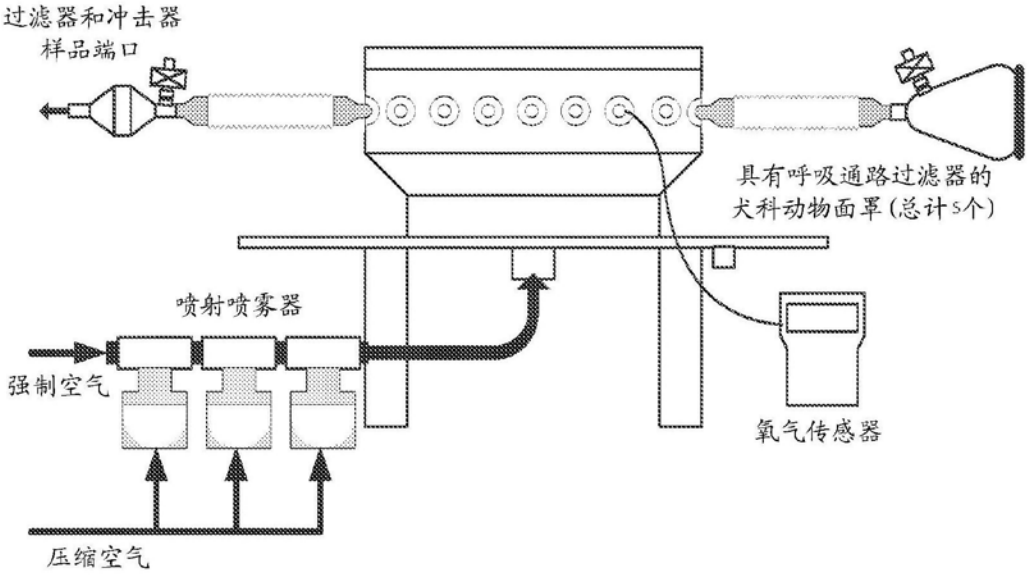


图41

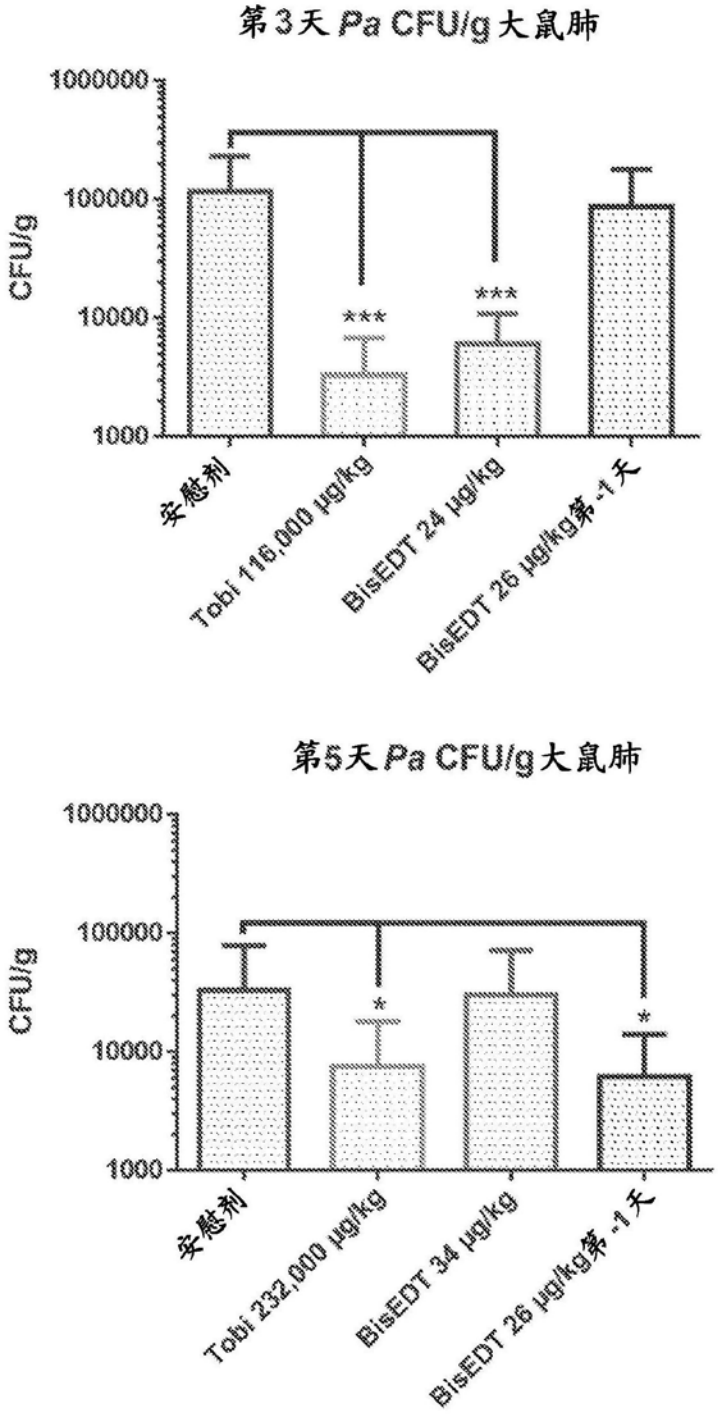

第3天 Pa CFU/g 大鼠肺
1000000
100000
10000
1000
CFU/g
***
***
安慰剂
Tobi 116,000 μg/kg
BisEDT 24 μg/kg
BisEDT 26 μg/kg第-1天
第5天 Pa CFU/g 大鼠肺
1000000
100000
10000
1000
CFU/g
*
*
安慰剂
Tobi 232,000 μg/kg
BisEDT 34 μg/kg
BisEDT 26 μg/kg第-1天

图42

构成:		组合剂											
测试剂		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	A	64/.5	32/.5	16/.5	8/.5	4/.5	2/.5	1/.5	.5/.5	.25/.5	.12/.5	.06/.5	0/.5
	B	64/.25	32/.25	16/.25	8/.25	4/.25	2/.25	1/.25	.5/.25	.25/25	.12/.25	.06/.25	0/.25
	C	64/.12	32/.12	16/.12	8/.12	4/.12	2/.12	1/.12	.5/.12	.25/.12	.12/.12	.06/.12	0/.12
	D	64/.06	32/.06	16/.06	8/.06	4/.06	2/.06	1/.06	.5/.06	.25/.06	.12/.06	.06/.06	0/.06
	E	64/.03	32/.03	16/.03	8/.03	4/.03	2/.03	1/.03	.5/.03	.25/.03	.12/.03	.06/.03	0/.03
	F	64/.015	32/.015	16/.015	8/.015	4/.015	2/.015	1/.015	.5/.015	.25/.015	.12/.015	.06/.015	0/.015
	G	64/.008	32/.008	16/.008	8/.008	4/.008	2/.008	1/.008	.5/.008	.25/.008	.12/.008	.06/.008	0/.008
	H	64/0	32/0	16/0	8/0	4/0	2/0	1/0	.5/0	.25/0	.12/0	.06/0	0/0

图43