



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110461338 A

(43)申请公布日 2019.11.15

(21)申请号 201880020987.X

(22)申请日 2018.03.28

(30)优先权数据

62/477,564 2017.03.28 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2019.09.25

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/IB2018/052144 2018.03.28

(87)PCT国际申请的公布数据

W02018/178902 EN 2018.10.04

(71)申请人 北卡罗来纳大学查佩尔希尔分校

地址 美国北卡罗来纳州

(72)发明人 杨磊 M·H·舍恩菲施

(74)专利代理机构 北京世峰知识产权代理有限公司 11713

代理人 康健 王思琪

(51)Int.Cl.

A61K 31/7036(2006.01)

C12N 15/76(2006.01)

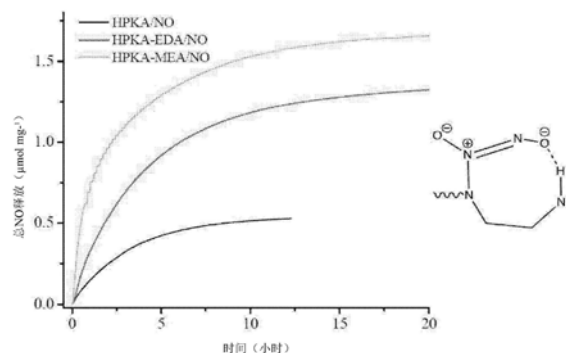
权利要求书14页 说明书42页 附图9页

(54)发明名称

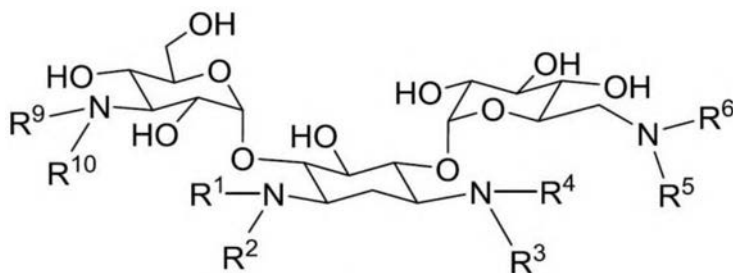
作为可生物降解抗菌支架的释放一氧化氮的聚氨基糖苷类和其制备方法

(57)摘要

本文提供了超支化聚氨基糖苷类,其中在一些实施例中,对所述超支化聚氨基糖苷类进行共价修饰以储存和释放一氧化氮。一些实施例涉及制备超支化聚氨基糖苷类的方法和超支化聚氨基糖苷类的用途。在一些实施例中,经过共价修饰的超支化聚氨基糖苷类可以进行调整以便以受控方式释放一氧化氮,并且可用于根除革兰氏阳性细菌和革兰氏阴性细菌以及其它微生物。



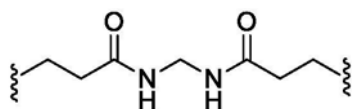
1. 一种超支化聚氨基糖苷类, 其包括第一氨基糖苷类单元, 所述第一氨基糖苷类单元包括式II:



式II

其中 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^9 和 R^{10} 中的每一个独立地选自-H或表示与一个或多个连接单元的共价键;

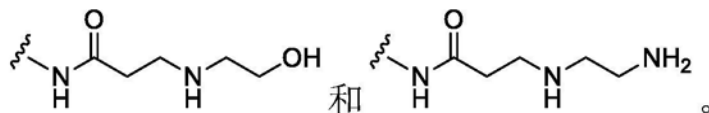
其中所述一个或多个连接单元中的连接单元由以下结构表示:



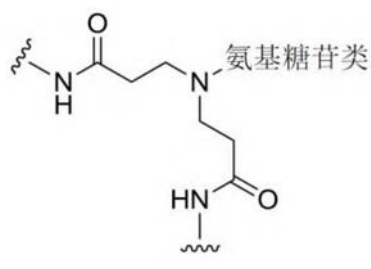
其中至少一个连接单元在所述第一氨基糖苷类单元与第二氨基糖苷类单元之间形成共价键; 并且

其中所述超支化聚氨基糖苷类的至少一个氨基糖苷类单元源自卡那霉素(kanamycin)。

2. 根据权利要求1所述的超支化聚氨基糖苷类, 其另外包括选自以下的一个或多个末端单元:

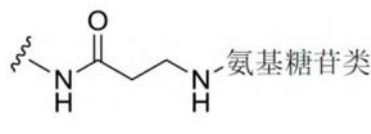


3. 根据权利要求1所述的超支化聚氨基糖苷类, 其另外包括选自以下的一个或多个树突状单元:



其中“-N-氨基糖苷类”表示式II的结构。

4. 根据权利要求1所述的超支化聚氨基糖苷类, 其另外包括选自以下的一个或多个线性单元:



其中“-N-氨基糖苷类”表示式II的结构。

5. 根据权利要求1所述的超支化聚氨基糖苷类, 其中所述超支化聚氨基糖苷类的至少一个仲胺包括NO供体。

6. 根据权利要求1所述的超支化聚氨基糖苷类, 其中所述超支化聚氨基糖苷类的至少仲胺包括N-二醇二氮烯鎓NO供体。

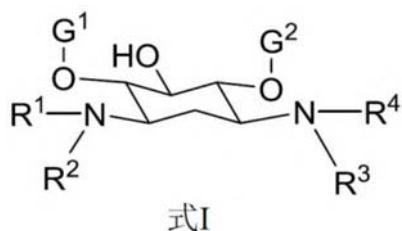
7. 根据权利要求1所述的超支化聚氨基糖苷类, 其中所述超支化聚氨基糖苷类的数均分子量小于或等于约4kDa。

8. 根据权利要求1所述的超支化聚氨基糖苷类, 其中所述超支化聚氨基糖苷类的重均分子量小于或等于约7kDa。

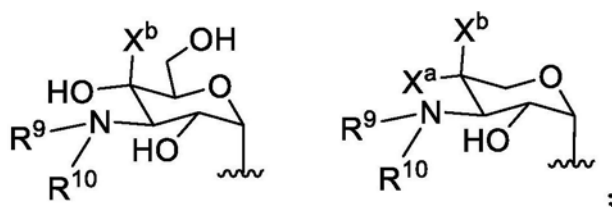
9. 根据权利要求1所述的超支化聚氨基糖苷类, 其中所述超支化聚氨基糖苷类的NO储存容量大于或等于约0.4 μ mol NO/mg超支化聚氨基糖苷类。

10. 根据权利要求1到9中任一项所述的超支化聚氨基糖苷类, 其中在小于或等于约2mg/mL的浓度下, 在针对铜绿假单胞菌 (*P.aeruginosa*)、金黄色葡萄球菌 (*S.aureus*)、牙龈卟啉单胞菌 (*P.gingivalis*)、伴放线放线杆菌 (*A.actinomycetemcomitans*)、粘性放线菌 (*A.viscosus*) 和/或变形链球菌 (*S.mutans*) 中的一个或多个在2小时内静态条件下进行的细菌活力测定中, 所述超支化聚氨基糖苷类提供了大于或等于约99%的细菌减少。

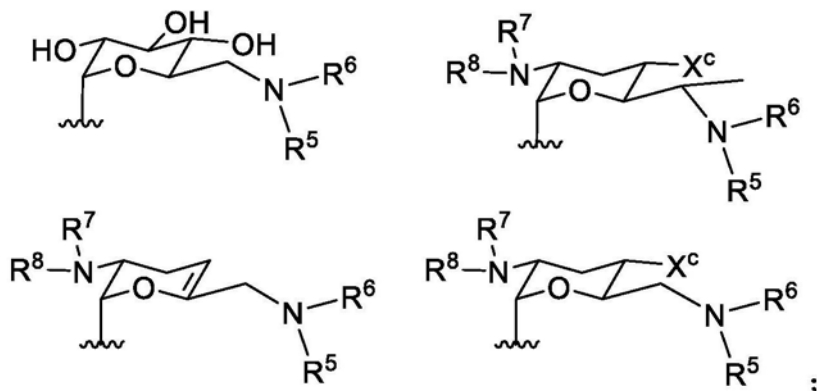
11. 一种超支化聚氨基糖苷类, 其包括第一氨基糖苷类, 所述第一氨基糖苷类包括式I的结构:



其中G¹选自由以下组成的组:



其中G²选自由以下组成的组:

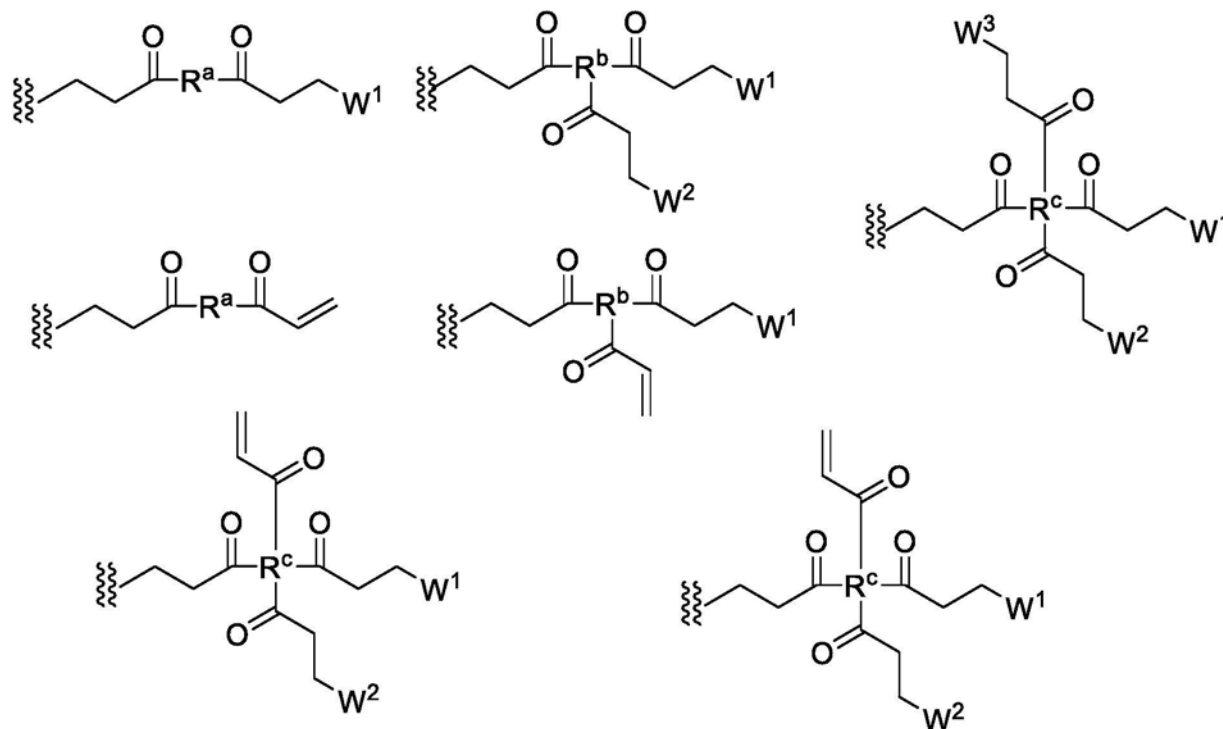


R¹、R²、R³、R⁴、R⁵、R⁶、R⁷、R⁸、R⁹和R¹⁰独立地选自由以下组成的组: -H、任选地被取代的C₁-C₆

烷基、任选地被取代的具有插入有C₁-C₆烷基的1到6个重复单元的聚氨基、任选地被取代的具有插入有C₁-C₆烷基的1到6个重复单元的聚醚、以及与连接单元的共价键；

X^a、X^b和X^c独立地选自-H、-OH和C₁-C₆烷基；

其中R¹、R²、R³、R⁴、R⁵、R⁶、R⁷、R⁸、R⁹和R¹⁰中的至少一个是与选自以下的一个或多个连接单元的共价键：



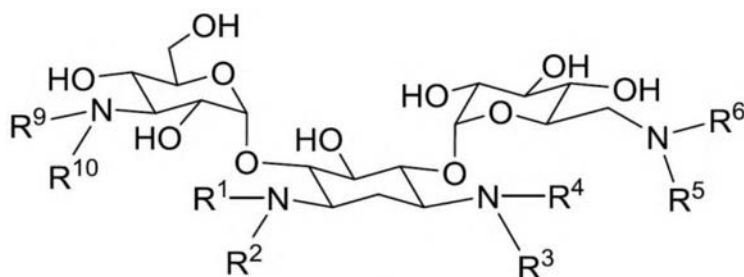
其中“ $\{\}$ ”指示与所述第一氨基糖苷类附接；

W¹、W²或W³在存在的情况下独立地选自一个或多个另外的氨基糖苷类或者一个或多个封端取代基，并且至少一个连接单元提供从所述第一氨基糖苷类到第二氨基糖苷类的共价桥；

R^a、R^b和R^c独立地选自由以下组成的组：任选地被取代的C₁-C₆烷基、任选地被取代的具有1到6个重复单元(具有一个或多个C₁-C₆烷基)的聚氨基、或任选地被取代的具有1到6个重复单元(具有一个或多个C₁-C₆烷基)的聚醚；并且

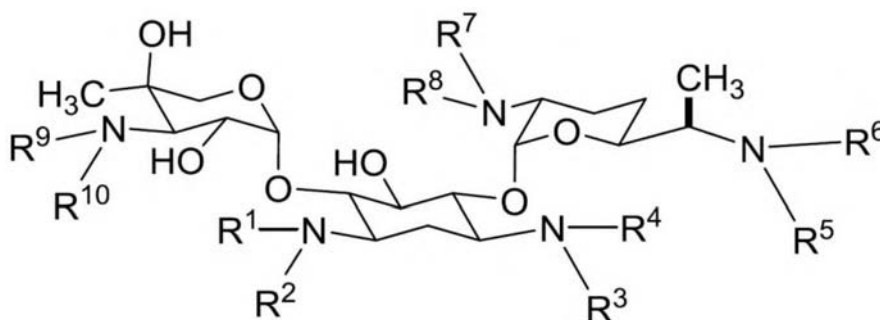
其中所述一个或多个封端取代基在存在的情况下独立地具有式-NH-((CH₂)_aX¹)_b-(CH₂)_cH，其中X¹为O或NH并且a、b和c独立地为从0到10的整数。

12. 根据权利要求11所述的超支化聚氨基糖苷类，其中所述第一氨基糖苷类包括式II的结构：



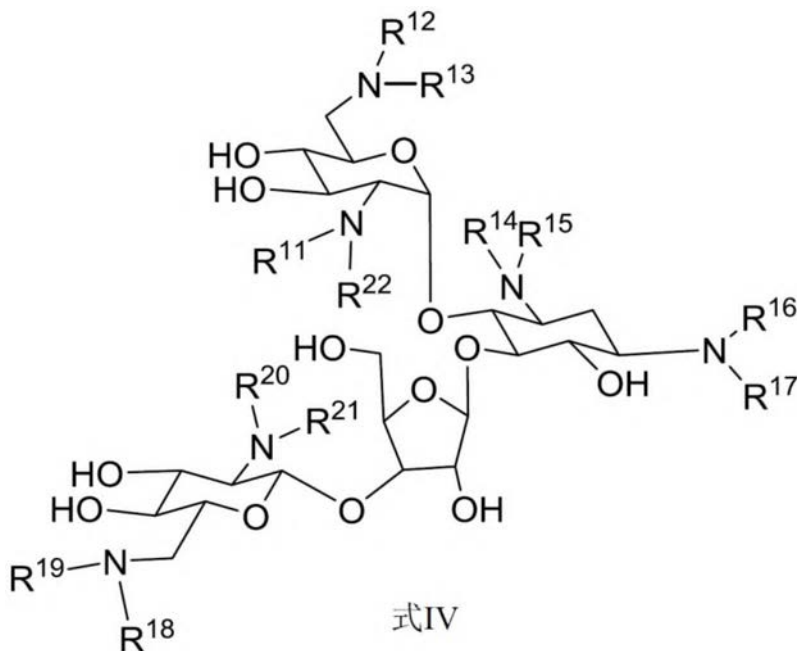
式II

13. 根据权利要求11所述的超支化聚氨基糖苷类, 其中所述第一氨基糖苷类包括式III的结构:



式III

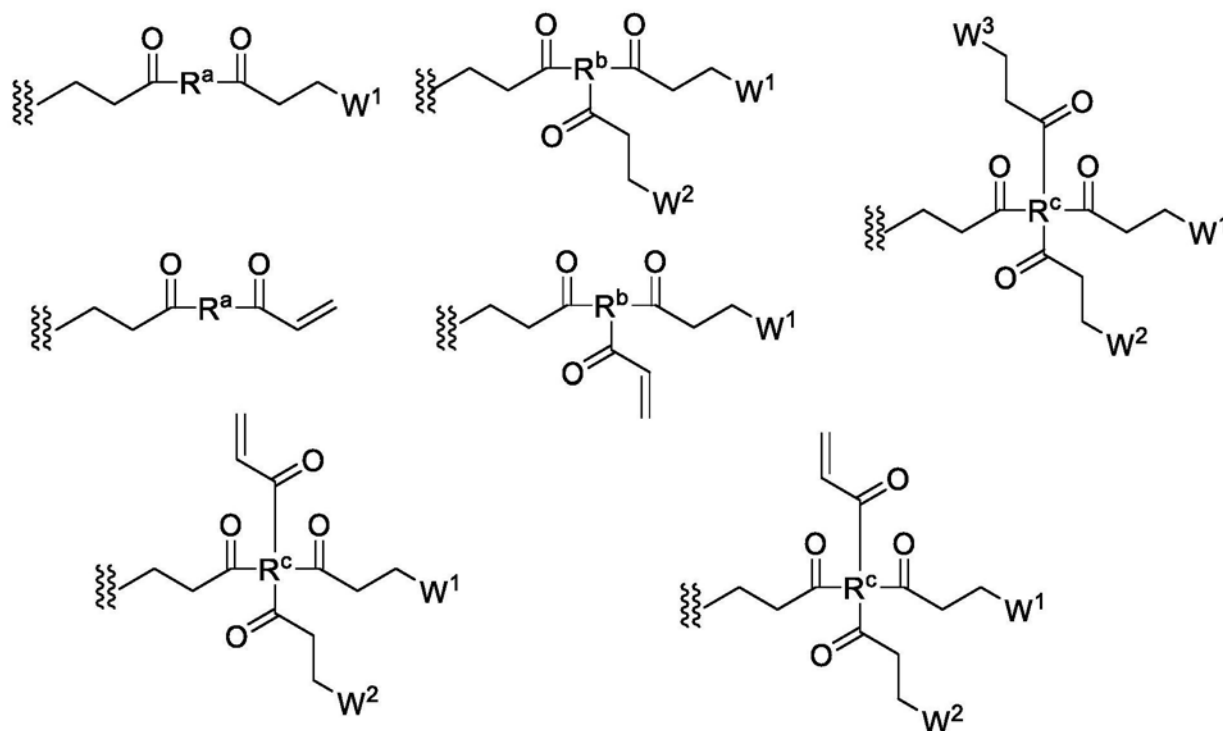
14. 一种超支化聚氨基糖苷类, 其中第一氨基糖苷类包括式IV的结构:



式IV

其中 R^{11} 、 R^{12} 、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 、 R^{16} 、 R^{17} 、 R^{18} 、 R^{19} 、 R^{20} 、 R^{21} 和 R^{22} 独立地选自由以下组成的组: -H、任选地被取代的 C_1 - C_6 烷基、任选地被取代的具有插入有 C_1 - C_6 烷基的1到6个重复单元的聚氨基、任选地被取代的具有插入有 C_1 - C_6 烷基的1到6个重复单元的聚醚、以及与连接单元的共价键;

其中 R^{11} 、 R^{12} 、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 、 R^{16} 、 R^{17} 、 R^{18} 、 R^{19} 、 R^{20} 、 R^{21} 和 R^{22} 中的至少一个是与选自以下的一个或多个连接单元的共价键:



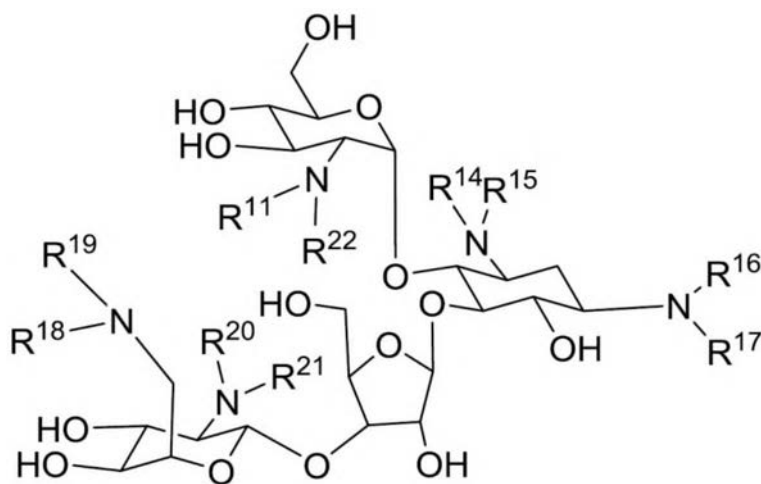
其中“ $\{\}$ ”指示与所述第一氨基糖苷类附接；

其中 W^1 、 W^2 或 W^3 在存在的情况下独立地选自一个或多个另外的氨基糖苷类或者一个或多个封端取代基，并且至少一个连接单元提供从所述第一氨基糖苷类到第二氨基糖苷类的共价桥；

其中 R^a 、 R^b 和 R^c 独立地选自由以下组成的组：任选地被取代的 C_1 - C_6 烷基、任选地被取代的具有1到6个重复单元（具有一个或多个 C_1 - C_6 烷基）的聚氨基、或任选地被取代的具有1到6个重复单元（具有一个或多个 C_1 - C_6 烷基）的聚醚；并且

其中所述一个或多个封端取代基在存在的情况下独立地具有式 $-NH-((CH_2)_aX^1)_b-(CH_2)_cH$ ，其中 X^1 为O或NH并且 a 、 b 和 c 独立地为从0到10的整数。

15. 一种超支化聚氨基糖苷类，其中第一氨基糖苷类包括式V的结构：

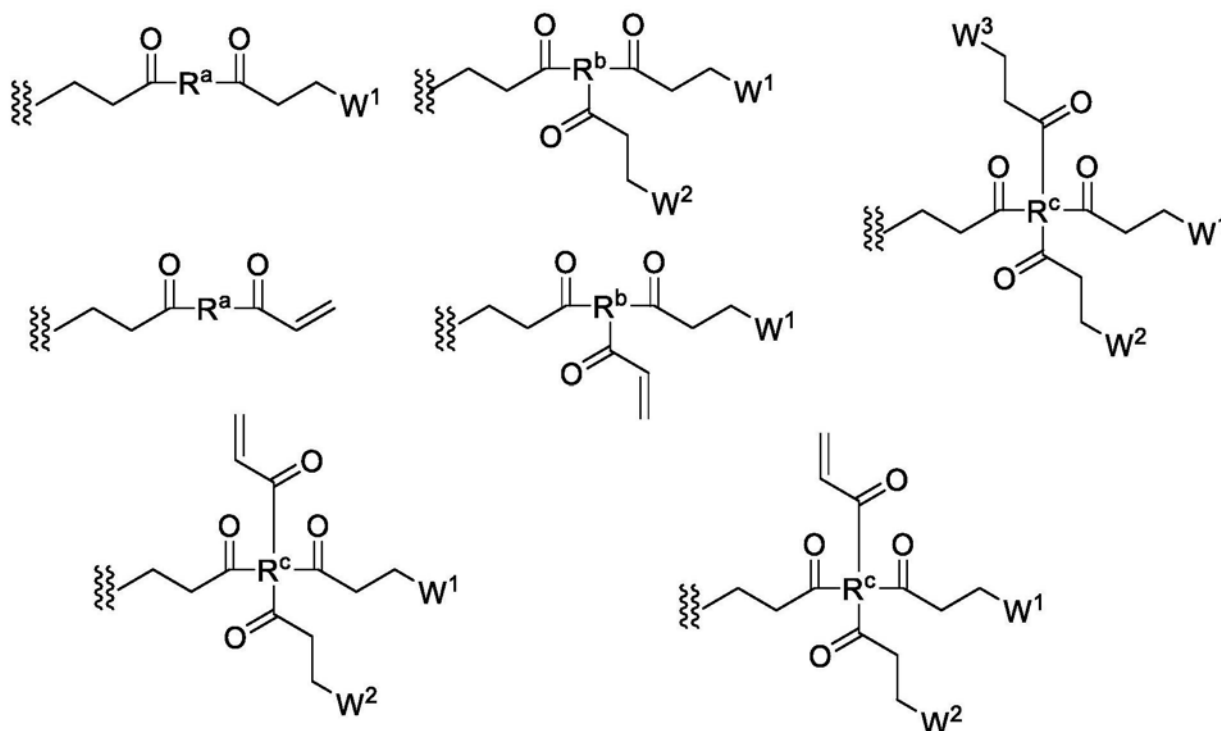


式V

其中 R^{11} 、 R^{14} 、 R^{15} 、 R^{16} 、 R^{17} 、 R^{18} 、 R^{19} 、 R^{20} 、 R^{21} 和 R^{22} 独立地选自由以下组成的组： $-H$ 、任选地被

取代的C₁-C₆烷基、任选地被取代的具有插入有C₁-C₆烷基的1到6个重复单元的聚氨基、任选地被取代的具有插入有C₁-C₆烷基的1到6个重复单元的聚醚、以及与连接单元的共价键；

其中R¹¹、R¹⁴、R¹⁵、R¹⁶、R¹⁷、R¹⁸、R¹⁹、R²⁰、R²¹和R²²中的至少一个是与选自以下的一个或多个连接单元的共价键：



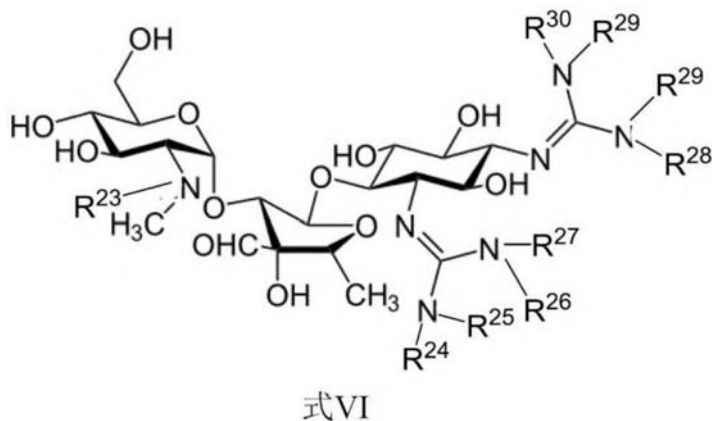
其中“ $\{\}$ ”指示与所述第一氨基糖苷类附接；

其中W¹、W²或W³在存在的情况下独立地选自一个或多个另外的氨基糖苷类或者一个或多个封端取代基，并且至少一个连接单元提供从所述第一氨基糖苷类到第二氨基糖苷类的共价桥；

其中R^a、R^b和R^c独立地选自由以下组成的组：任选地被取代的C₁-C₆烷基、任选地被取代的具有1到6个重复单元(具有一个或多个C₁-C₆烷基)的聚氨基、或任选地被取代的具有1到6个重复单元(具有一个或多个C₁-C₆烷基)的聚醚；并且

其中所述一个或多个封端取代基在存在的情况下独立地具有式-NH-((CH₂)_aX¹)_b-(CH₂)_cH，其中X¹为O或NH并且a、b和c独立地为从0到10的整数。

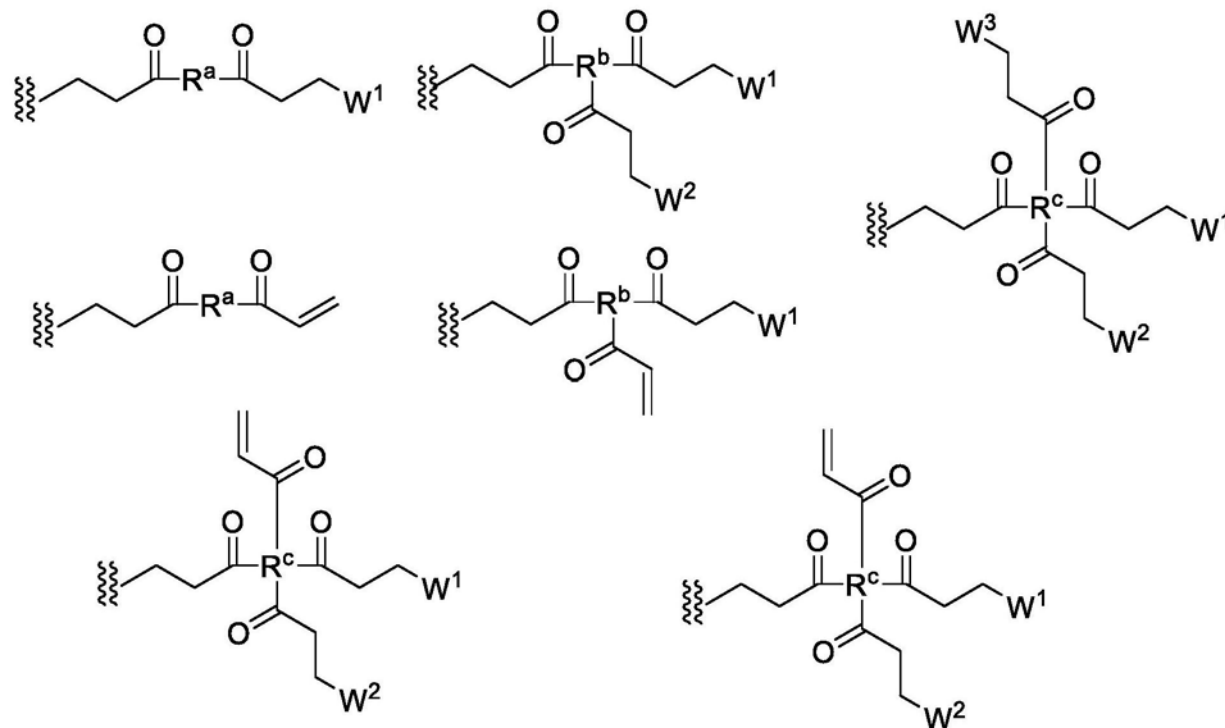
16. 一种超支化聚氨基糖苷类，其中第一氨基糖苷类包括式VI的结构：



式VI

其中 R^{23} 、 R^{24} 、 R^{25} 、 R^{26} 、 R^{27} 、 R^{28} 、 R^{29} 和 R^{30} 独立地选自由以下组成的组：-H、任选地被取代的 C_1 - C_6 烷基、任选地被取代的具有插入有 C_1 - C_6 烷基的1到6个重复单元的聚氨基、任选地被取代的具有插入有 C_1 - C_6 烷基的1到6个重复单元的聚醚、以及与连接单元的共价键；

其中 R^{23} 、 R^{24} 、 R^{25} 、 R^{26} 、 R^{27} 、 R^{28} 、 R^{29} 和 R^{30} 中的至少一个是与选自以下的一个或多个连接单元的共价键：



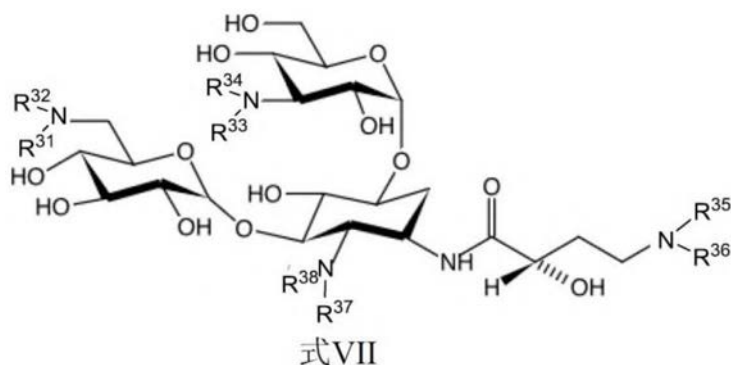
其中“ $\{\}$ ”指示与所述第一氨基糖苷类附接；

其中 W^1 、 W^2 或 W^3 在存在的情况下独立地选自一个或多个另外的氨基糖苷类或者一个或多个封端取代基，并且至少一个连接单元提供从所述第一氨基糖苷类到第二氨基糖苷类的共价桥；

其中 R^a 、 R^b 和 R^c 独立地选自由以下组成的组：任选地被取代的 C_1 - C_6 烷基、任选地被取代的具有1到6个重复单元（具有一个或多个 C_1 - C_6 烷基）的聚氨基、或任选地被取代的具有1到6个重复单元（具有一个或多个 C_1 - C_6 烷基）的聚醚；并且

其中所述一个或多个封端取代基在存在的情况下独立地具有式 $-NH-((CH_2)_a X^1)_b-(CH_2)_c H$ ，其中 X^1 为O或NH并且a、b和c独立地为从0到10的整数。

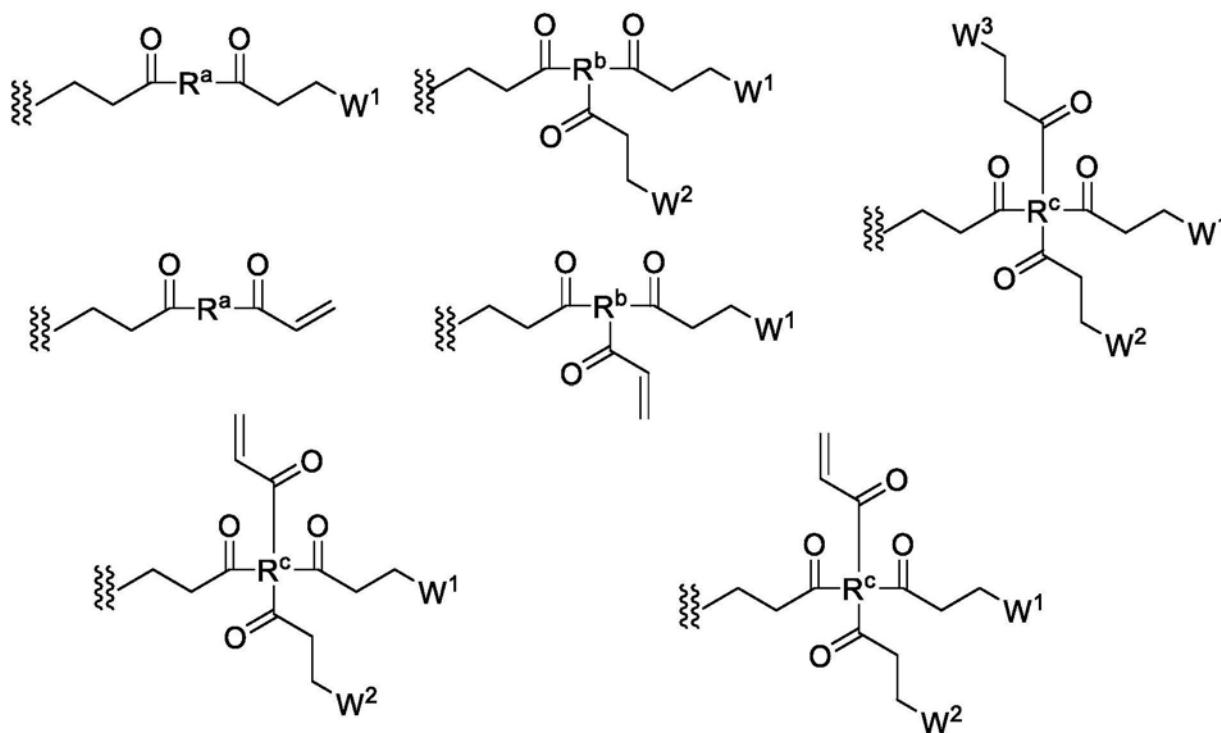
17. 一种超支化聚氨基糖苷类，其包括具有式VII的结构氨基糖苷类：



;

其中 R^{31} 、 R^{32} 、 R^{33} 、 R^{34} 、 R^{35} 、 R^{36} 、 R^{37} 和 R^{38} 独立地选自由以下组成的组：-H、任选地被取代的 C_1 - C_6 烷基、任选地被取代的具有插入有 C_1 - C_6 烷基的1到6个重复单元的聚氨基、任选地被取代的具有插入有 C_1 - C_6 烷基的1到6个重复单元的聚醚、以及连接单元的共价键；

其中 R^{31} 、 R^{32} 、 R^{33} 、 R^{34} 、 R^{35} 、 R^{36} 、 R^{37} 和 R^{38} 中的至少一个是与选自以下的一个或多个连接单元的共价键：



其中“ \sim ”指示与所述第一氨基糖苷类附接；

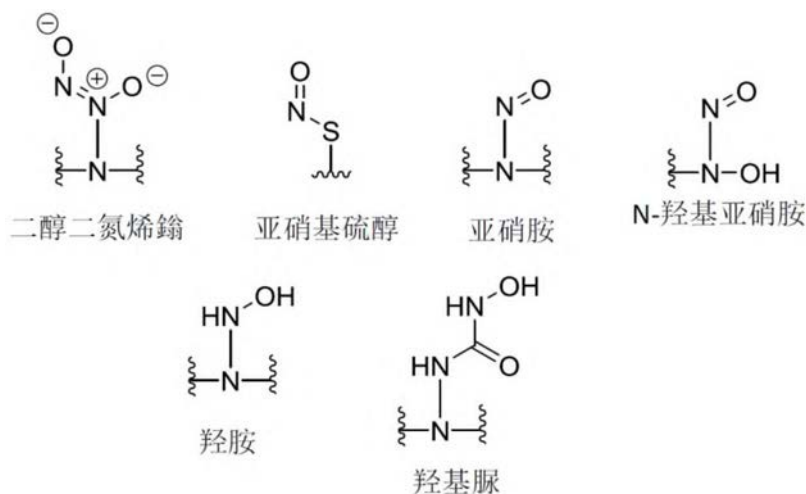
其中 W^1 、 W^2 或 W^3 在存在的情况下独立地选自一个或多个另外的氨基糖苷类或者一个或多个封端取代基，并且至少一个连接单元提供从所述第一氨基糖苷类到第二氨基糖苷类的共价桥；

其中 R^a 、 R^b 和 R^c 独立地选自由以下组成的组：任选地被取代的 C_1 - C_6 烷基、任选地被取代的具有1到6个重复单元（具有一个或多个 C_1 - C_6 烷基）的聚氨基、或任选地被取代的具有1到6个重复单元（具有一个或多个 C_1 - C_6 烷基）的聚醚；并且

其中所述一个或多个封端取代基在存在的情况下独立地具有式 $-NH-((CH_2)_aX^1)_b-(CH_2)_cH$ ，其中 X^1 为O或NH并且 a 、 b 和 c 独立地为从0到10的整数。

18. 根据权利要求11到17中任一项所述的超支化聚氨基糖苷类, 其进一步包括供给NO的基团。

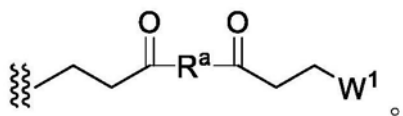
19. 根据权利要求18所述的超支化聚氨基糖苷类, 其中所述供给NO的基团选自由以下组成的组:



其中“ \sim ”指示与所述超支化氨基糖苷类中的其它原子附接。

20. 根据权利要求19所述的超支化聚氨基糖苷类, 其中所述供给NO的基团是二醇二氮烯鎓。

21. 根据权利要求11到20中任一项所述的超支化聚氨基糖苷类, 其中所述连接单元是:



22. 根据权利要求11到21中任一项所述的超支化聚氨基糖苷类, 其中 R^a 是 $-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{NH}-$ 。

23. 根据权利要求11到22中任一项所述的超支化聚氨基糖苷类, 其中 W^1 是所述第二氨基糖苷类。

24. 根据权利要求11到23中任一项所述的超支化聚氨基糖苷类, 其中 R^1 到 R^{38} 独立地选自由 $-\text{H}$ 和与连接单元的共价键组成的组。

25. 根据权利要求11到24中任一项所述的超支化聚氨基糖苷类, 其中所述封端取代基在存在的情况下是 $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ 或 $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ 。

26. 一种用于制备根据权利要求11到25中任一项所述的超支化聚氨基糖苷类的方法, 其包括:

使所述第一氨基糖苷类与多官能聚合剂和一个或多个另外的氨基糖苷类相接触以形成超支化聚氨基糖苷类。

27. 根据权利要求26所述的方法, 其进一步包括向所述超支化聚氨基糖苷类加入封端剂以对所述聚合剂上的任何未反应的官能团进行共价封端。

28. 根据权利要求26或27所述的方法, 其进一步包括: 将所述超支化聚氨基糖苷类暴露于NO以提供供给NO的超支化聚氨基糖苷类。

29. 根据权利要求28所述的方法, 其中在碱性条件下实施NO暴露步骤。

30. 根据权利要求26到29中任一项所述的方法, 其中所述聚合剂包括双官能分子、三官

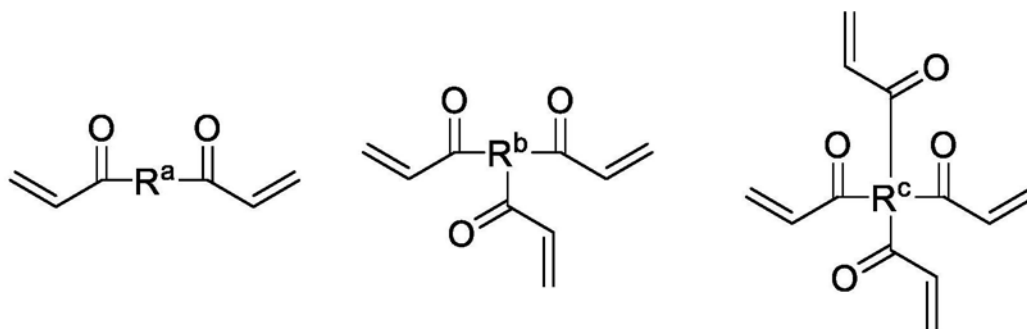
能分子或四官能分子。

31. 根据权利要求26到30中任一项所述的方法, 其中所述聚合剂包括迈克尔受体 (Michael acceptor)。

32. 根据权利要求26到31中任一项所述的方法, 其中所述聚合剂包括二丙烯酸酯、三丙烯酸酯或四丙烯酸酯。

33. 根据权利要求26到32中任一项所述的方法, 其中所述聚合剂包括以下中的一种或多种: N,N'-亚甲基双(丙烯酰胺)、乙二醇二丙烯酸酯、丙二醇二丙烯酸酯、丁二醇二丙烯酸酯、三羟甲基丙烷三丙烯酸酯、季戊四醇三丙烯酸酯、季戊四醇三丙烯酸酯、甘油丙氧基化物(1PO/OH)三丙烯酸酯、或三羟甲基丙烷丙氧基化物三丙烯酸酯。

34. 根据权利要求26到33中任一项所述的方法, 其中所述聚合剂包括以下结构中的一个或多个结构:



其中 R^a 、 R^b 和 R^c 独立地选自由以下组成的组: 任选地被取代的 C_1 - C_6 烷基、任选地被取代的具有1到6个重复单元(具有一个或多个 C_1 - C_6 烷基)的聚氨基、或任选地被取代的具有1到6个重复单元(具有一个或多个 C_1 - C_6 烷基)的聚醚。

35. 根据权利要求34所述的方法, 其中所述聚合剂是N,N'-亚甲基双(丙烯酰胺)。

36. 根据权利要求27到35中任一项所述的方法, 其中所述封端剂包括以下中的一个或多个: $H_2N-(CH_2)_aNH-b-H$ 、 $H_2N-(CH_2)_aNH-b-(CH_2)_cH$ 、 $H_2N-(CH_2)_aX^1-b-(CH_2)_cH$ 或 $HX^1-(CH_2)_aX^2-b-(CH_2)_cX^3-d-(CH_2)_eH$,

其中a、b、c、d或e的每个例子独立地选自从0到10的整数; 并且

其中 X^1 、 X^2 和 X^3 的每个例子独立地选自O、S或NH。

37. 根据权利要求27到36中任一项所述的方法, 其中所述封端剂包括 $H_2NCH_2CH_2NH_2$ 和/或 $H_2NCH_2CH_2OH$ 。

38. 一种减少微生物污染的方法, 其包括:

使被多种微生物污染的表面与包括以下的化合物相接触:

释放一氧化氮的超支化聚氨基糖苷类, 所述超支化聚氨基糖苷类包括与一氧化氮供体共价结合的含胺基团;

其中所述一氧化氮供体生成一氧化氮并且诱发对所述微生物的膜和/或DNA的损伤, 从而减少活微生物的数量。

39. 根据权利要求38所述的方法, 其中所述多种微生物包括病毒、革兰氏阳性细菌、革兰氏阴性细菌、耐药细菌、霉菌、酵母、真菌和其组合中的一种或多种。

40. 根据权利要求38或39所述的方法, 其中所述表面是有机表面。

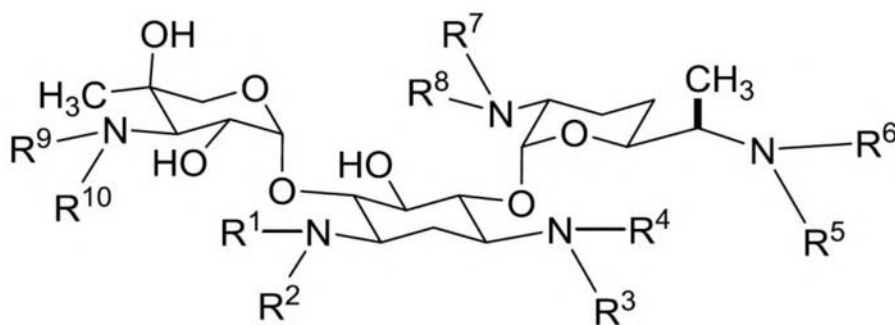
41. 根据权利要求38到40中任一项所述的方法, 其中所述表面是人类皮肤或动物皮肤。

42. 根据权利要求38到41中任一项所述的方法,其中所述表面处于口腔中。
43. 根据权利要求38到42中任一项所述的方法,其中所述施加未诱发皮肤刺激。
44. 根据权利要求38或39所述的方法,其中所述表面是无机表面。
45. 根据权利要求44所述的方法,其中所述无机表面是医疗装置的外表面或内表面。
46. 根据权利要求45所述的方法,其中所述装置的应用是牙科装置。
47. 根据权利要求38到46中任一项所述的方法,其中微生物负载包括耐药细菌。
48. 根据权利要求38到47中任一项所述的方法,其中所述微生物负载包括一种或多种牙科病原体。
49. 根据权利要求38到48中任一项所述的方法,其中所述微生物负载包括铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌、牙龈卟啉单胞菌、伴放线放线杆菌、粘性放线菌或变形链球菌中的一个或多个。
50. 根据权利要求38到49中任一项所述的方法,其中所述超支化聚氨基糖苷类是如权利要求1到25中任一项所述的超支化聚氨基糖苷类。
51. 一种治疗和/或预防龋齿的方法,所述方法包括:
- 使被一种或多种牙科病原体污染的患者口腔表面与包括以下的化合物相接触:
- 释放一氧化氮的超支化聚氨基糖苷类,所述超支化聚氨基糖苷类包括与一氧化氮供体共价结合的含胺基团;
- 其中所述一氧化氮供体生成一氧化氮并且诱发对所述病原体的膜和/或DNA的损伤,从而减少活病原体的数量。
52. 根据权利要求51所述的方法,其中所述微生物负载包括铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌、牙龈卟啉单胞菌、伴放线放线杆菌、粘性放线菌和/或变形链球菌中的一个或多个。
53. 根据权利要求51或52所述的方法,其中所述超支化聚氨基糖苷类是如权利要求1到25中任一项所述的超支化聚氨基糖苷类。
54. 一种化合物在制备用于减少微生物污染的药物中的用途,所述化合物包括,
- 释放一氧化氮的超支化聚氨基糖苷类,所述超支化聚氨基糖苷类包括与一氧化氮供体共价结合的含胺基团;
- 其中所述一氧化氮供体生成一氧化氮并且诱发对所述微生物的膜和/或DNA的损伤,从而减少活微生物的数量。
55. 根据权利要求54所述的用途,其中调配所述化合物以治疗包括病毒、革兰氏阳性细菌、革兰氏阴性细菌、耐药细菌、霉菌、酵母、真菌和其组合中的一种或多种的多种微生物。
56. 根据权利要求54或55所述的用途,其中调配所述化合物以递送到有机表面。
57. 根据权利要求54到56中任一项所述的用途,其中调配所述化合物以递送到人类皮肤或动物皮肤。
58. 根据权利要求57所述的用途,其中所述表面处于口腔中。
59. 根据权利要求54到56中任一项所述的用途,其中调配所述化合物以递送到无机表面。
60. 根据权利要求59所述的用途,其中所述表面是医疗装置的外表面或内表面。
61. 根据权利要求60所述的用途,其中所述装置是牙科装置。
62. 根据权利要求54到61中任一项所述的用途,其中所述超支化聚氨基糖苷类是如权

利要求1到25中任一项所述的超支化聚氨基糖苷类。

63. 一种化合物, 其包括释放一氧化氮的超支化聚氨基糖苷类, 所述超支化聚氨基糖苷类包括与一氧化氮供体共价结合的含胺基团; 其中所述一氧化氮供体生成一氧化氮并且诱发对所述微生物的膜和/或DNA的损伤, 从而减少活微生物的数量。

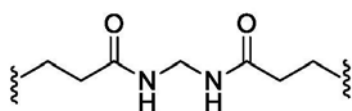
64. 一种超支化聚氨基糖苷类, 其包括第一氨基糖苷类单元, 所述第一氨基糖苷类单元包括式III的结构:



式III

其中 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 和 R^{10} 中的每一个独立地为-H或与一个或多个连接单元的共价键;

其中所述一个或多个连接单元中的连接单元由以下结构表示:

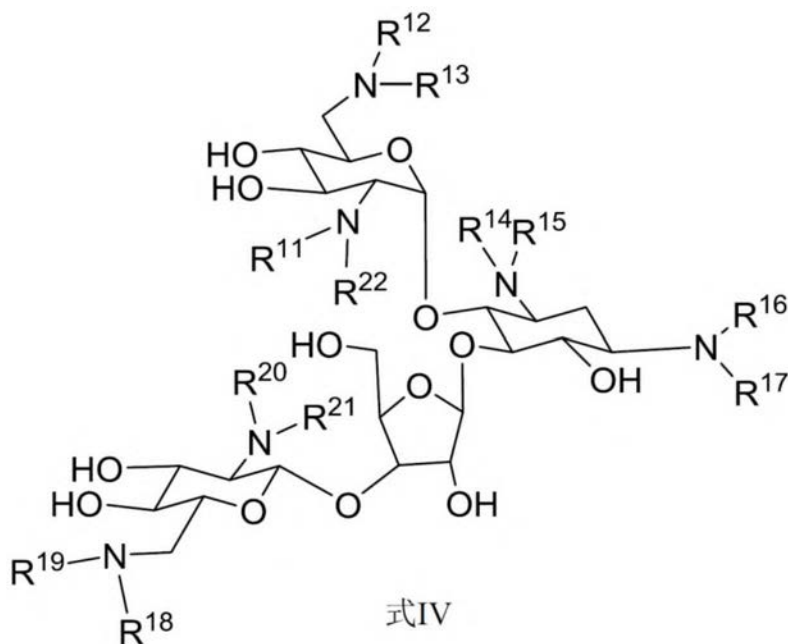


其中至少一个连接单元在所述第一氨基糖苷类单元与第二氨基糖苷类单元之间形成共价桥; 并且

其中所述超支化聚氨基糖苷类的所述氨基糖苷类单元源自庆大霉素 (gentamicin)。

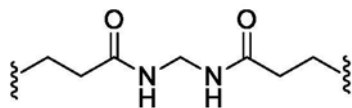
65. 根据权利要求64所述的超支化聚氨基糖苷类, 其中所述超支化聚氨基糖苷类的至少一个仲胺包括N-二醇二氮烯鎓NO供体。

66. 一种超支化聚氨基糖苷类, 其包括第一氨基糖苷类单元, 所述第一氨基糖苷类单元包括式IV的结构:



其中 R^{11} 、 R^{12} 、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 、 R^{16} 、 R^{17} 、 R^{18} 、 R^{19} 、 R^{20} 、 R^{21} 和 R^{22} 中的每一个独立地为-H或与一个或多个连接单元的共价键；

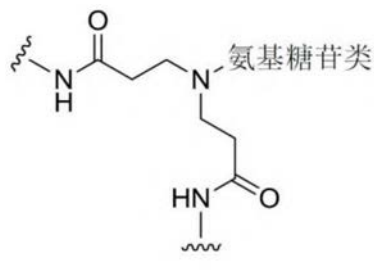
其中所述一个或多个连接单元中的连接单元由以下结构表示：



其中至少一个连接单元在所述第一氨基糖苷类单元与第二氨基糖苷类单元之间形成共价桥；并且

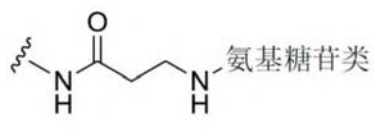
其中所述超支化聚氨基糖苷类的所述氨基糖苷类单元源自新霉素(neomycin)。

67. 根据权利要求66所述的超支化聚氨基糖苷类, 其另外包括选自以下的一个或多个树突状单元：



其中“-N-氨基糖苷类”表示式IV的结构。

68. 根据权利要求66或67所述的超支化聚氨基糖苷类, 其另外包括选自以下的一个或多个线性单元：



其中“-N-氨基糖苷类”表示式III的结构。

69. 根据权利要求66到68中任一项所述的超支化聚氨基糖苷类, 其中所述超支化聚氨

基糖苷类的至少一个仲胺包括N-二醇二氮烯鎓NO供体。

70. 根据权利要求1到25和63到69中任一项所述的超支化聚氨基糖苷类,其中所述超支化聚氨基糖苷类的一氧化氮释放半衰期的范围在约10分钟到约240分钟之间。

71. 根据权利要求70所述的超支化聚氨基糖苷类,其中所述超支化聚氨基糖苷类的一氧化氮释放半衰期的范围在约70分钟到约190分钟之间。

72. 根据权利要求1到25和63到69中任一项所述的超支化聚氨基糖苷类,其中所述超支化聚氨基糖苷类在2小时后的总NO释放的范围在每毫克所述超支化聚氨基糖苷类约0.2 μ mol到约0.8 μ mol NO之间。

73. 根据权利要求1到25和63到69中任一项所述的超支化聚氨基糖苷类,其中所述超支化聚氨基糖苷类的支化度(DB)为至少约0.3。

74. 根据权利要求73所述的超支化聚氨基糖苷类,其中所述超支化聚氨基糖苷类的支化度(DB)为至少约0.4。

75. 根据权利要求1到25和63到69中任一项所述的超支化聚氨基糖苷类,其中所述超支化聚氨基糖苷类的支化度(DB)的范围在约0.3到约0.6之间。

76. 根据权利要求75所述的超支化聚氨基糖苷类,其中所述超支化聚氨基糖苷类的支化度(DB)的范围在约0.4到约0.5之间。

77. 一种药物调配物,其包括:

根据权利要求1到25和63到69中任一项所述的超支化聚氨基糖苷类;以及
药学上可接受的载剂。

78. 一种将一氧化氮递送到受试者的方法,其包括:

向受试者施用有效量的根据权利要求1到25和63中任一项所述的超支化聚氨基糖苷类。

作为可生物降解抗菌支架的释放一氧化氮的聚氨基糖苷类及其制备方法

[0001] 通过引用的方式并入任何优先权申请

[0002] 本专利申请要求于2018年3月28日提交的美国临时专利申请第62/447,564号的优先权权益,所述美国临时专利申请出于所有目的通过全文引用的方式并入本文中。

[0003] 政府利益

[0004] 本发明是在美国国立卫生研究院(The National Institutes of Health)授予的批准号DE025207下由政府支持进行的。政府享有本发明的一定权利。

技术领域

[0005] 本公开的主题总体上涉及用储存和/或以受控方式释放一氧化氮的单元修饰(例如,共价地)的释放一氧化氮的超支化氨基糖苷类。另外公开了合成超支化氨基糖苷类和使用超支化氨基糖苷类作为抗菌剂的方法。

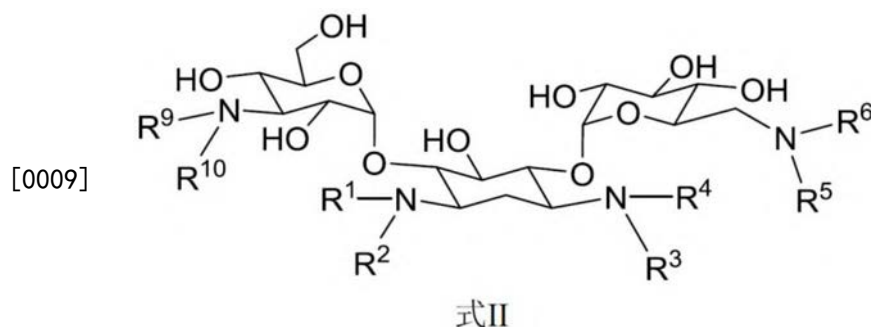
背景技术

[0006] 细菌感染对社区和医院环境下的人类健康构成了巨大挑战。生物膜是由胞外多糖(EPS)基质包裹的细菌的合作群落,所述基质保护所述细菌免受宿主免疫应答和抗生素的影响。

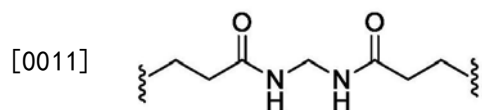
发明内容

[0007] 一氧化氮(NO)作为信号传导分子发挥着各种生理作用并且如本文所公开的,还可以在在治疗或减轻病理生理学方面发挥重要作用,例如作为治疗剂。至少部分地基于治疗组合物的有限NO负载、比期望速率更快的NO释放速率以及靶向NO递送的缺乏,迄今为止尚未充分利用用作治疗剂的NO。本文提供了释放NO的构建体、产生这种构建体的方法和使用这种构建体治疗各种病理生理学的方法,所述构建体运用了增强的NO释放特性并且利用了释放NO的药理学化合物的丰富潜力。具体地,本文提供了作为抗微生物剂非常有效的化合物。

[0008] 例如,在若干个实施例中,提供了释放NO并且表现出强效的抗微生物特性的聚氨基糖苷类。在若干个实施例中,所述聚氨基糖苷类是官能化超支化聚氨基糖苷类。在若干个实施例中,这种官能化超支化聚氨基糖苷类包括第一氨基糖苷类单元,所述第一氨基糖苷类单元包括式II的结构:

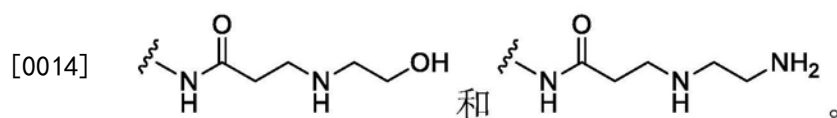


[0010] 在若干个实施例中, R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^9 和 R^{10} 中的每一个独立地选自-H或表示与一个或多个连接单元的共价键。在若干个实施例中, 所述一个或多个连接单元中的连接单元由以下结构表示:

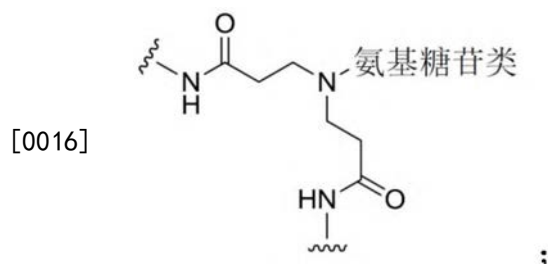


[0012] 并且所述一个或多个连接单元中的所述连接单元在所述第一氨基糖苷类单元与第二氨基糖苷类单元之间形成共价桥。在若干个实施例中, 所述超支化聚氨基糖苷类的所述氨基糖苷类单元源自卡那霉素(kanamycin)。在若干个实施例中, 链霉素(streptomycin)、妥布霉素(tobramycin)、庆大霉素(gentamicin)和/或新霉素(neomycin)也可以用作氨基糖苷类单元中的一个或两个单元。

[0013] 在若干个实施例中, 提供了进一步包含一个或多个末端单元的超支化聚氨基糖苷类。根据所述实施例, 所述一个或多个末端单元选自:

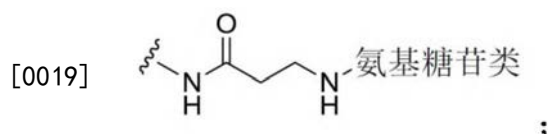


[0015] 在若干个实施例中, 提供了进一步包含一个或多个树突状单元的超支化聚氨基糖苷类。根据所述实施例, 所述一个或多个树突状单元选自:



[0017] 其中“-N-氨基糖苷类”表示式II的结构。

[0018] 在若干个实施例中, 提供了进一步包含选自以下的一个或多个线性单元的超支化聚氨基糖苷类:

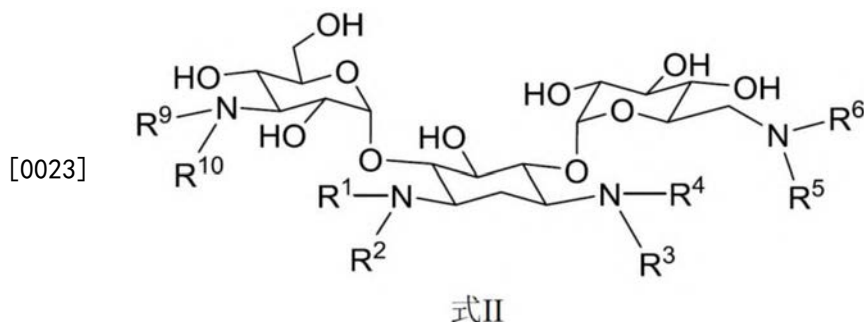


[0020] 其中“-N-氨基糖苷类”表示式II的结构。

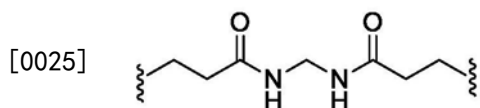
[0021] 在若干个实施例中, 提供了超支化聚氨基糖苷类, 其中所述超支化聚氨基糖苷类的至少一个仲胺包括NO供体。在若干个实施例中, 所述超支化聚氨基糖苷类的至少一个仲胺包括N-二醇二氮烯鎓NO供体。在另外的实施例中, 所述超支化聚氨基糖苷类的重均分子量小于或等于约7kDa。在若干个实施例中, 所述超支化聚氨基糖苷类的数均分子量小于或等于约4kDa。在若干个实施例中, 所述超支化聚氨基糖苷类的NO储存容量大于或等于0.4μmol NO/mg超支化聚氨基糖苷类。在若干个实施例中, 所述超支化聚氨基糖苷类针对铜绿假单胞菌(*P.aeruginosa*)、金黄色葡萄球菌(*S.aureus*)、牙龈卟啉单胞菌(*P.gingivalis*)、伴放线放线杆菌(*A.actinomycetemcomitans*)、粘性放线菌(*A.viscosus*)和/或变形链球菌

(*S.mutans*) 中的一个或多个提供了在细菌活力方面大于或等于90% (例如, 90%、95%、97%、98%、99%或100%) 的细菌减少。在若干个实施例中, 这种降低是在所述超支化聚氨基糖苷类的浓度小于或等于2mg/mL的情况下实现的。

[0022] 一些实施例涉及官能化超支化聚氨基糖苷类。在一些实施例中, 所述官能化超支化聚氨基糖苷类包括第一氨基糖苷类单元, 所述第一氨基糖苷类单元包括式II的结构:

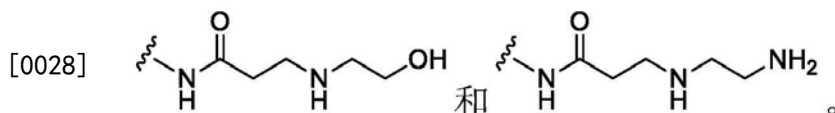


[0024] 其中 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^9 和 R^{10} 中的每一个独立地选自-H或表示与一个或多个连接单元的共价键; 其中所述一个或多个连接单元中的连接单元由以下结构表示:

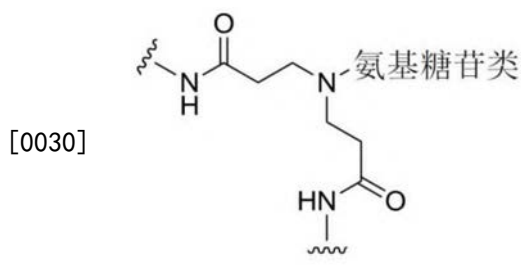


[0026] 其中至少一个连接单元在所述第一氨基糖苷类单元与第二氨基糖苷类单元之间形成共价桥; 并且其中所述超支化聚氨基糖苷类的至少一个氨基糖苷类单元源自卡那霉素。

[0027] 在一些实施例中, 另外包括一个或多个末端单元的基于卡那霉素的官能化超支化聚氨基糖苷类选自:

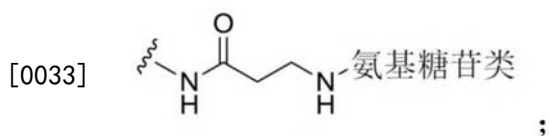


[0029] 在一些实施例中, 所述基于卡那霉素的官能化超支化聚氨基糖苷类另外包括选自以下的一个或多个树突状单元:



[0031] 其中“-N-氨基糖苷类”表示式II的结构。

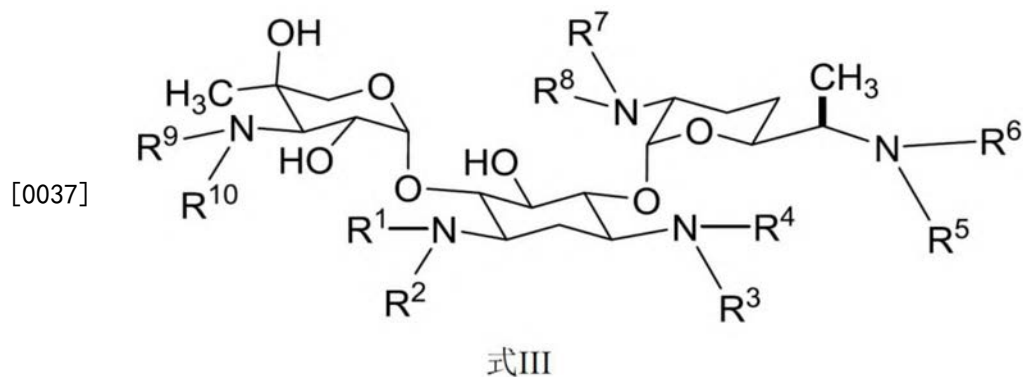
[0032] 在一些实施例中, 所述基于卡那霉素的官能化超支化聚氨基糖苷类另外包括选自以下的一个或多个线性单元:



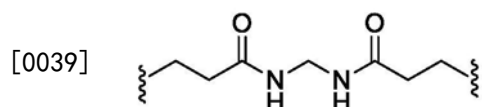
[0034] 其中“-N-氨基糖苷类”表示式II的结构。

[0035] 在所述基于卡那霉素的官能化超支化聚氨基糖苷类的一些实施例中,所述超支化聚氨基糖苷类的至少一个仲胺包括N-二醇二氮烯鎓NO供体。

[0036] 一些实施例涉及官能化超支化聚氨基糖苷类,其包括第一氨基糖苷类单元,所述第一氨基糖苷类单元包括式III的结构:

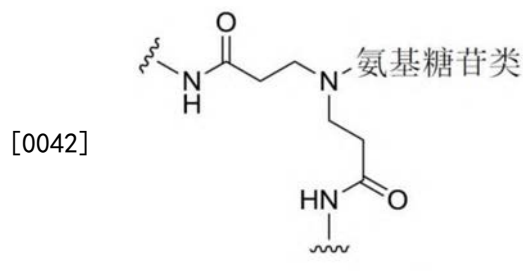


[0038] 其中 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 和 R^{10} 中的每一个独立地选自-H或表示与一个或多个连接单元的共价键;其中所述一个或多个连接单元中的连接单元由以下结构表示:



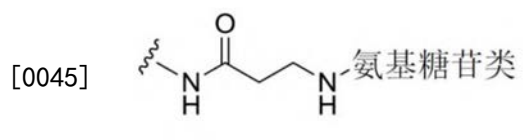
[0040] 其中至少一个连接单元在所述第一氨基糖苷类单元与第二氨基糖苷类单元之间形成共价桥;并且其中所述超支化聚氨基糖苷类的至少一个氨基糖苷类单元源自庆大霉素。

[0041] 在一些实施例中,基于庆大霉素的官能化超支化聚氨基糖苷类另外包括选自以下的一个或多个树突状单元:



[0043] 其中“-N-氨基糖苷类”表示式III的结构。

[0044] 在一些实施例中,所述基于庆大霉素的官能化超支化聚氨基糖苷类另外包括选自以下的一个或多个线性单元:

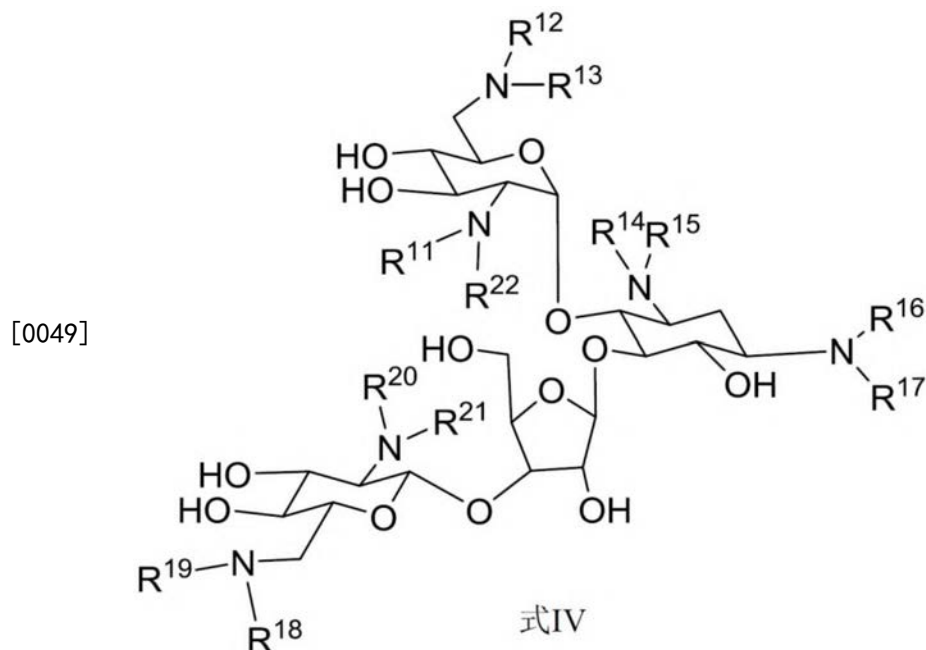


[0046] 其中“-N-氨基糖苷类”表示式III的结构。

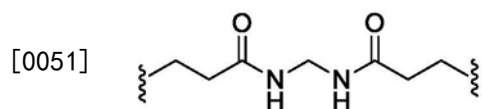
[0047] 在一些实施例中,所述基于庆大霉素的超支化聚氨基糖苷类的至少一个仲胺包括N-二醇二氮烯鎓NO供体。

[0048] 一些实施例涉及官能化超支化聚氨基糖苷类,其包括第一氨基糖苷类单元,所述

第一氨基糖苷类单元包括式IV的结构：

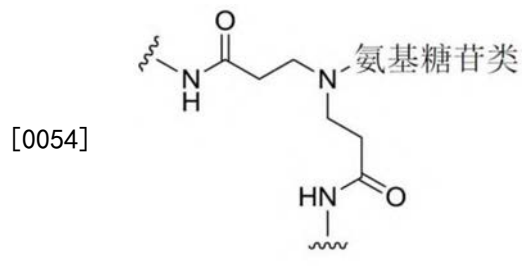


[0050] 其中 R^{11} 、 R^{12} 、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 、 R^{16} 、 R^{17} 、 R^{18} 、 R^{19} 、 R^{20} 、 R^{21} 和 R^{22} 中的每一个独立地选自-H或表示与一个或多个连接单元的共价键；其中所述一个或多个连接单元中的连接单元由以下结构表示：



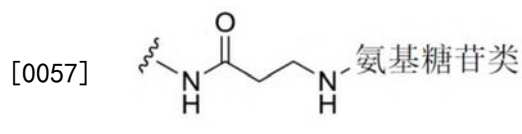
[0052] 其中至少一个连接单元在所述第一氨基糖苷类单元与第二氨基糖苷类单元之间形成共价桥；并且其中所述超支化聚氨基糖苷类的至少一个氨基糖苷类单元源自新霉素。

[0053] 在一些实施例中，基于新霉素的官能化超支化聚氨基糖苷类另外包括选自以下的一个或多个树突状单元：



[0055] 其中“-N-氨基糖苷类”表示式IV的结构。

[0056] 在一些实施例中，所述基于新霉素的官能化超支化聚氨基糖苷类另外包括选自以下的一个或多个线性单元：



[0058] 其中“-N-氨基糖苷类”表示式IV的结构。

[0059] 在所述基于新霉素的官能化超支化聚氨基糖苷类的一些实施例中，所述超支化聚

氨基糖苷类的至少一个仲胺包括N-二醇二氮烯鎓NO供体。

[0060] 在一些实施例中,所述基于卡那霉素的超支化聚氨基糖苷类、所述基于新霉素的超支化聚氨基糖苷类或所述基于庆大霉素的超支化聚氨基糖苷类具有包括N-二醇二氮烯鎓NO供体的至少一个仲胺。

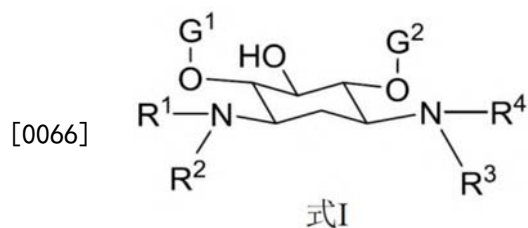
[0061] 在一些实施例中,所述基于卡那霉素的超支化聚氨基糖苷类、所述基于新霉素的超支化聚氨基糖苷类或所述基于庆大霉素的超支化聚氨基糖苷类的数均分子量小于或等于约4kDa。在一些实施例中,所述超支化聚氨基糖苷类的数均分子量的范围在约1.6kDa到约4.3kDa之间。

[0062] 在一些实施例中,所述基于卡那霉素的超支化聚氨基糖苷类、所述基于新霉素的超支化聚氨基糖苷类或所述基于庆大霉素的超支化聚氨基糖苷类的重均分子量小于或等于约7kDa。在一些实施例中,所述超支化聚氨基糖苷类的重均分子量的范围在约2kDa到约7kDa之间。

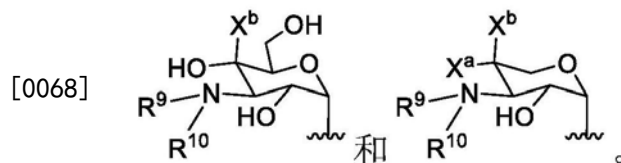
[0063] 在一些实施例中,所述基于卡那霉素的超支化聚氨基糖苷类、所述基于新霉素的超支化聚氨基糖苷类或所述基于庆大霉素的超支化聚氨基糖苷类的NO储存容量大于或等于0.4 μmol NO/mg超支化聚氨基糖苷类。在一些实施例中,所述超支化聚氨基糖苷类的NO储存容量的范围在约0.4 μmol NO/mg超支化聚氨基糖苷类到约1.3 μmol NO/mg超支化聚氨基糖苷类之间,包含在约0.4 μmol NO/mg超支化聚氨基糖苷类到约0.6 μmol NO/mg超支化聚氨基糖苷类之间和约1.2 μmol NO/mg超支化聚氨基糖苷类到约1.3 μmol NO/mg超支化聚氨基糖苷类之间的范围。

[0064] 在一些实施例中,在小于或等于约2mg/mL的浓度下,在针对铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌、牙龈卟啉单胞菌、伴放线放线杆菌、粘性放线菌和/或变形链球菌中的一个或多个在2小时内在静态条件下进行的细菌活力测定中,所述基于卡那霉素的超支化聚氨基糖苷类、所述基于新霉素的超支化聚氨基糖苷类或所述基于庆大霉素的超支化聚氨基糖苷类提供了大于或等于99%的细菌减少。

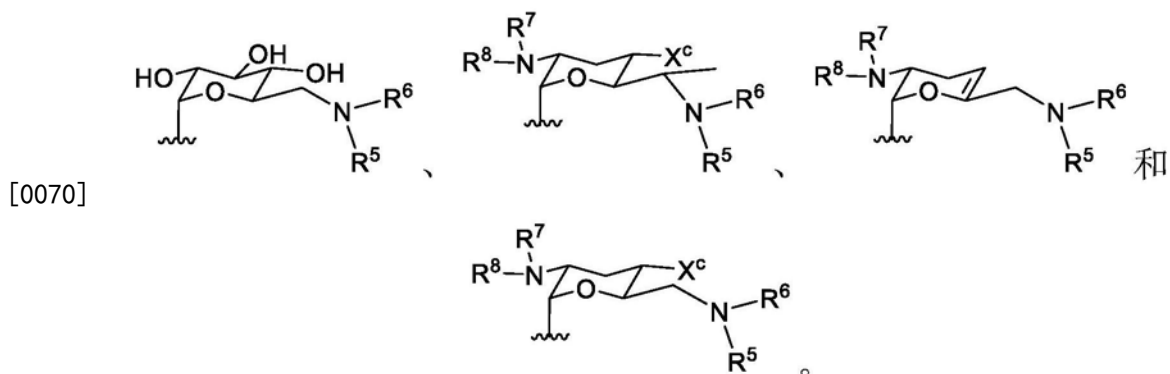
[0065] 在一些实施例中,所述官能化超支化聚氨基糖苷类包括第一氨基糖苷类,所述第一氨基糖苷类包括式I:



[0067] 在一些实施例中, G^1 选自由以下组成的组:

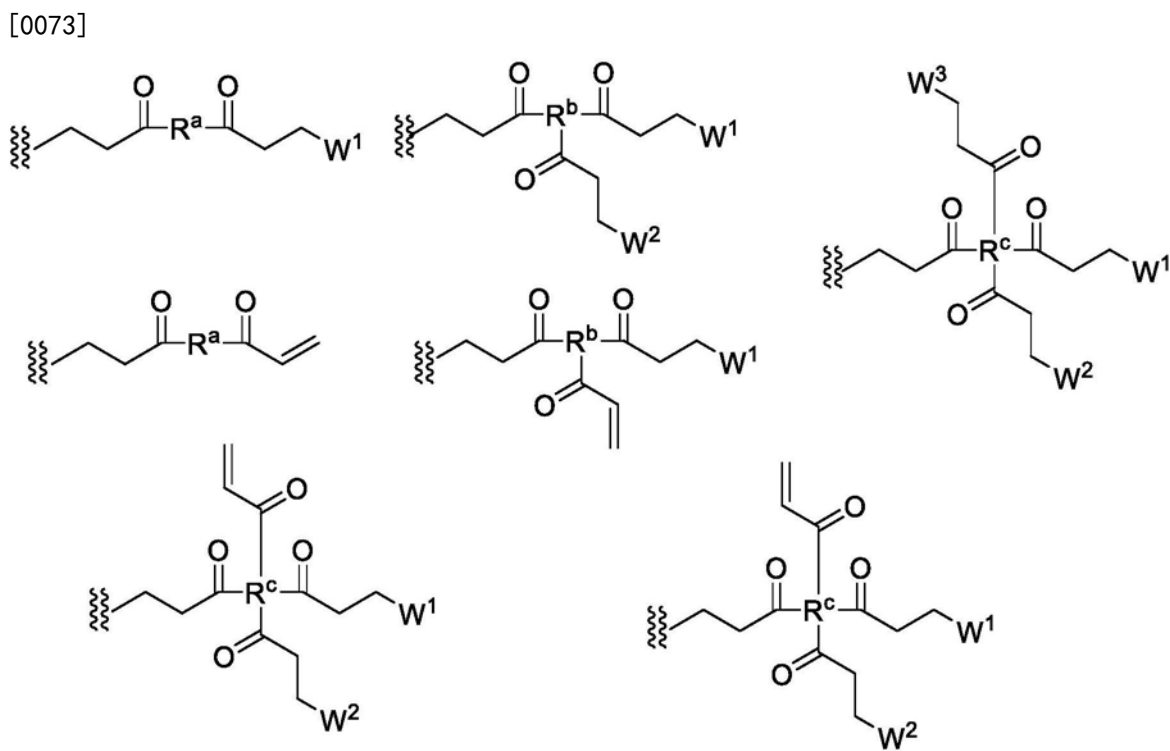


[0069] 在一些实施例中, G^2 选自由以下组成的组:



[0071] 在一些实施例中, R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 和 R^{10} 独立地选自-H、任选地被取代的 C_1 - C_6 烷基、任选地被取代的具有插入有 C_1 - C_6 烷基的1到6个重复单元的聚氨基、任选地被取代的具有插入有 C_1 - C_6 烷基的1到6个重复单元的聚醚、或与连接单元的共价键。

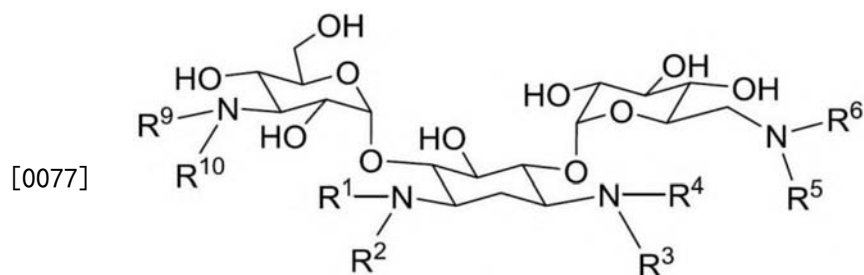
[0072] 在一些实施例中, R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 和 R^{10} 中的至少一个是与选自以下的一个或多个连接单元的共价键:



[0074] 在一些实施例中, “ $\{\}$ ”指示与所述第一氨基糖苷类衔接。在一些实施例中, W^1 、 W^2 或 W^3 在存在的情况下独立地选自一个或多个另外的氨基糖苷类、一个或多个封端取代基以及提供从所述第一氨基糖苷类到第二氨基糖苷类的共价桥的至少一个连接单元。在一些实施例中, R^a 、 R^b 和 R^c 独立地选自任选地被取代的 C_1 - C_6 烷基、任选地被取代的具有1到6个重复单元(具有一个或多个 C_1 - C_6 烷基)的聚氨基和/或任选地被取代的具有1到6个重复单元(具有一个或多个 C_1 - C_6 烷基)的聚醚。

[0075] 在一些实施例中, 所述一个或多个封端取代基在存在的情况下独立地具有式 $-NH-((CH_2)_a X^1)_b-(CH_2)_c H$, 其中 X^1 为O或NH并且a、b和c独立地为从0到10的整数。

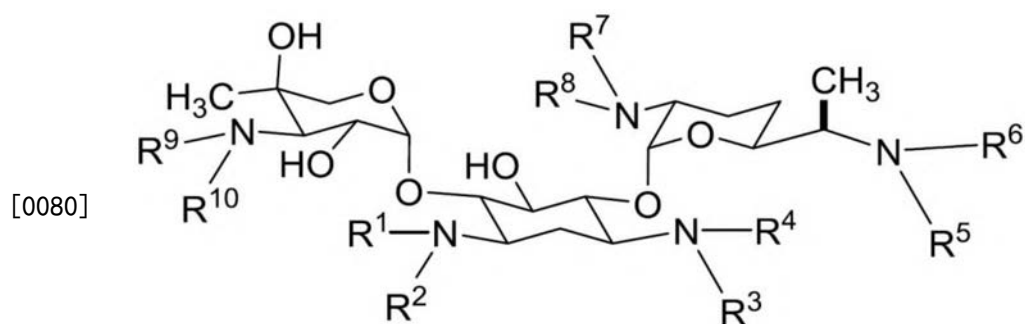
[0076] 在一些实施例中, 所述超支化聚氨基糖苷类包括式II的结构:



式II

[0078] 其中变量如本文其它地方所描述的那样。

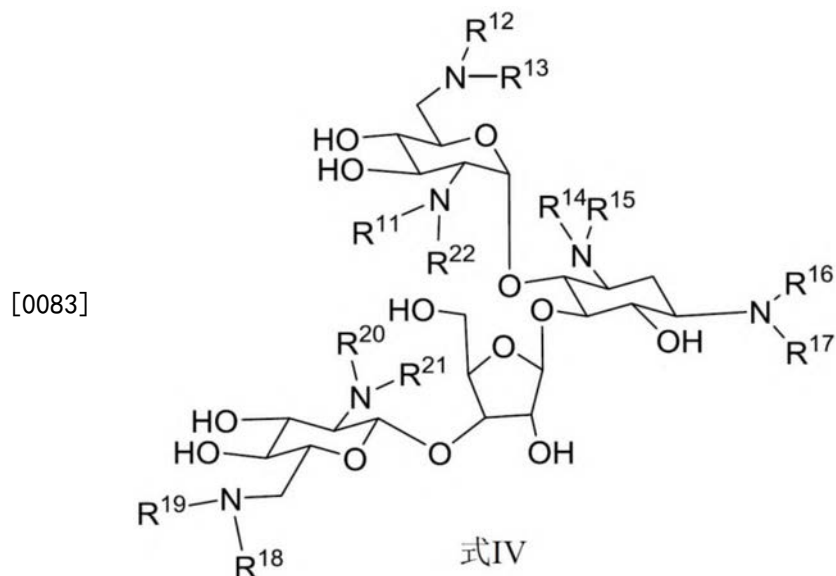
[0079] 在一些实施例中,所述超支化聚氨基糖苷类包括式III的结构:



式III

[0081] 其中变量如本文其它地方所描述的那样。

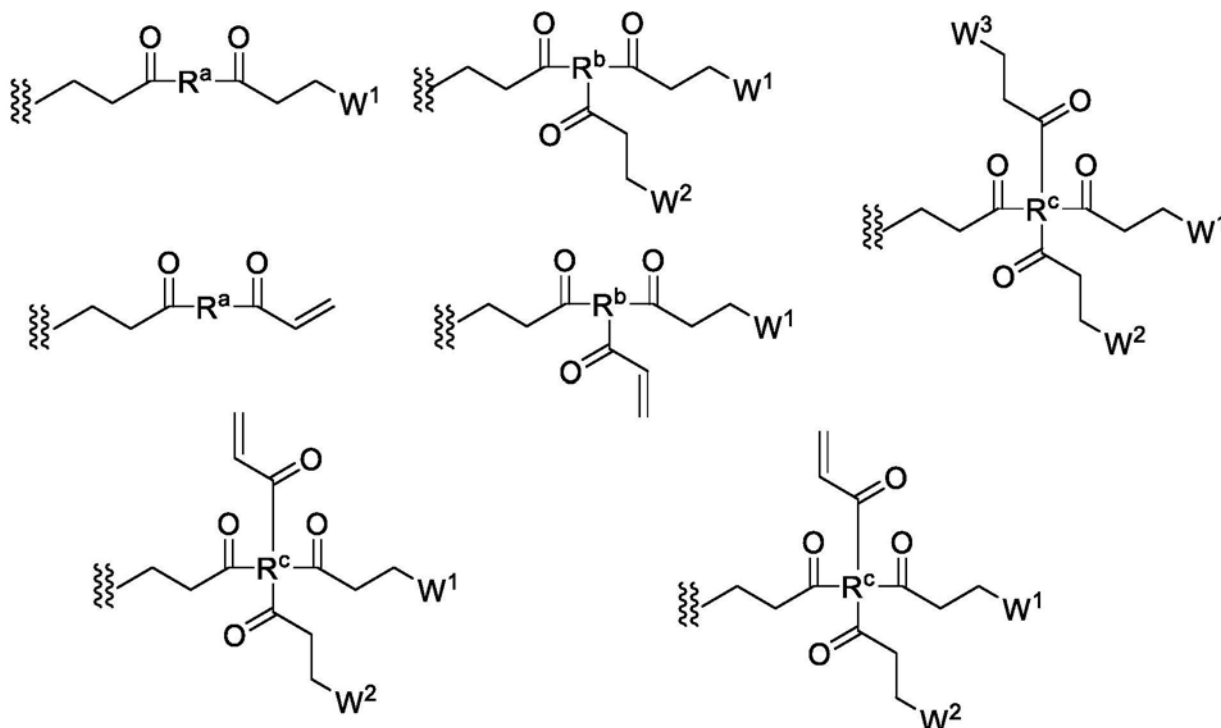
[0082] 一些实施例涉及一种超支化聚氨基糖苷类,其包括具有式IV的结构的第一氨基糖苷类:



式IV

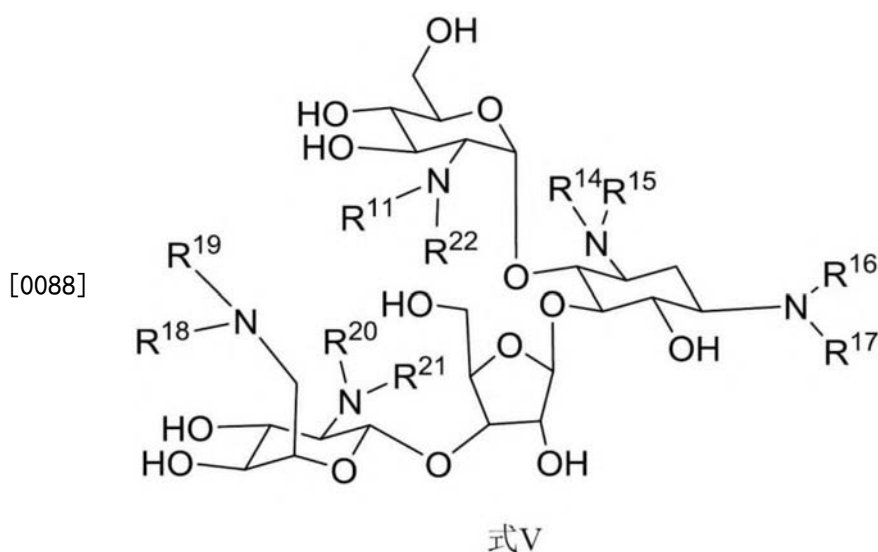
[0084] 在一些实施例中, R^{11} 、 R^{12} 、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 、 R^{16} 、 R^{17} 、 R^{18} 、 R^{19} 、 R^{20} 、 R^{21} 和 R^{22} 独立地选自-H、任选地被取代的 C_1 - C_6 烷基、任选地被取代的具有插入有 C_1 - C_6 烷基的1到6个重复单元的聚氨基、任选地被取代的具有插入有 C_1 - C_6 烷基的1到6个重复单元的聚醚、以及与连接单元的共价键。在一些实施例中, R^{11} 、 R^{12} 、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 、 R^{16} 、 R^{17} 、 R^{18} 、 R^{19} 、 R^{20} 、 R^{21} 和 R^{22} 中的至少一个是与选自以下的一个或多个连接单元的共价键:

[0085]



[0086] 其中“ $\{\}$ ”指示与所述第一氨基糖苷类附接。在一些实施例中, W^1 、 W^2 或 W^3 在存在的情况下独立地选自一个或多个另外的氨基糖苷类、一个或多个封端取代基以及提供从所述第一氨基糖苷类到第二氨基糖苷类的共价桥的至少一个连接单元。在一些实施例中, R^a 、 R^b 和 R^c 独立地选自任选地被取代的 C_1 - C_6 烷基、任选地被取代的具有1到6个重复单元(具有一个或多个 C_1 - C_6 烷基)的聚氨基和/或任选地被取代的具有1到6个重复单元(具有一个或多个 C_1 - C_6 烷基)的聚醚。在一些实施例中, 所述一个或多个封端取代基在存在的情况下独立地具有式 $-NH-(CH_2)_aX^1-(CH_2)_cH$, 其中 X^1 为O或NH并且a、b和c独立地为从0到10的整数。

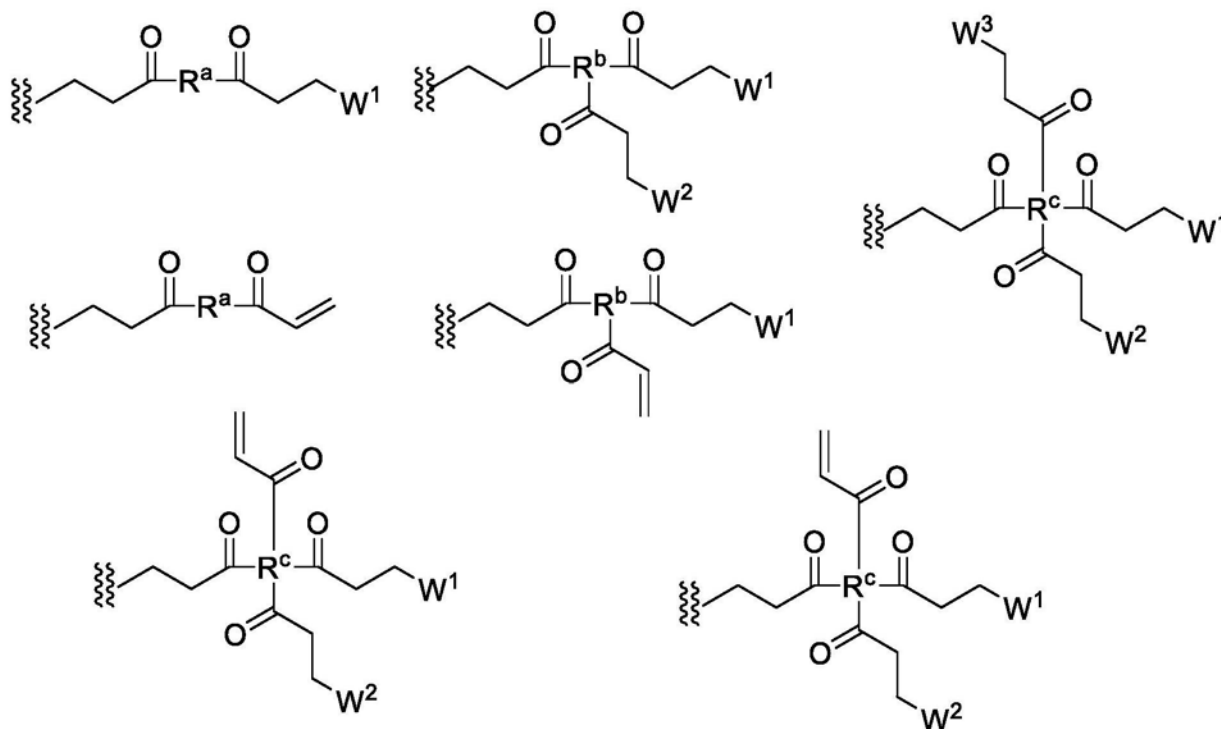
[0087] 一些实施例涉及一种超支化聚氨基糖苷类, 其包括具有式V的结构的第一氨基糖苷类:



[0089] 在一些实施例中, R^{11} 、 R^{14} 、 R^{15} 、 R^{16} 、 R^{17} 、 R^{18} 、 R^{19} 、 R^{20} 、 R^{21} 和 R^{22} 独立地选自-H、任选地被

取代的C₁-C₆烷基、任选地被取代具有插入有C₁-C₆烷基的1到6个重复单元的聚氨基、任选地被取代的具有插入有C₁-C₆烷基的1到6个重复单元的聚醚、或与连接单元的共价键。在一些实施例中，R¹¹、R¹⁴、R¹⁵、R¹⁶、R¹⁷、R¹⁸、R¹⁹、R²⁰、R²¹和R²²中的至少一个是与选自以下的一个或多个连接单元的共价键：

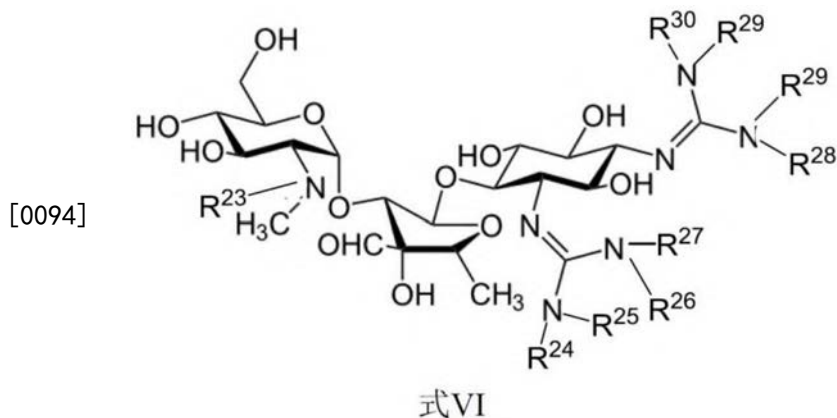
[0090]



[0091] 在一些实施例中，“ $\{\}$ ”指示与所述第一氨基糖苷类附接。在一些实施例中，W¹、W²或W³在存在的情况下独立地选自一个或多个另外的氨基糖苷类、一个或多个封端取代基以及提供从所述第一氨基糖苷类到第二氨基糖苷类的共价桥的至少一个连接单元。在一些实施例中，R^a、R^b和R^c独立地选自任选地被取代的C₁-C₆烷基、任选地被取代的具有1到6个重复单元(具有一个或多个C₁-C₆烷基)的聚氨基和/或任选地被取代的具有1到6个重复单元(具有一个或多个C₁-C₆烷基)的聚醚。

[0092] 在一些实施例中，所述一个或多个封端取代基在存在的情况下独立地具有式-NH-((CH₂)_aX¹)_b-(CH₂)_cH，其中X¹为O或NH并且a、b和c独立地为从0到10的整数。

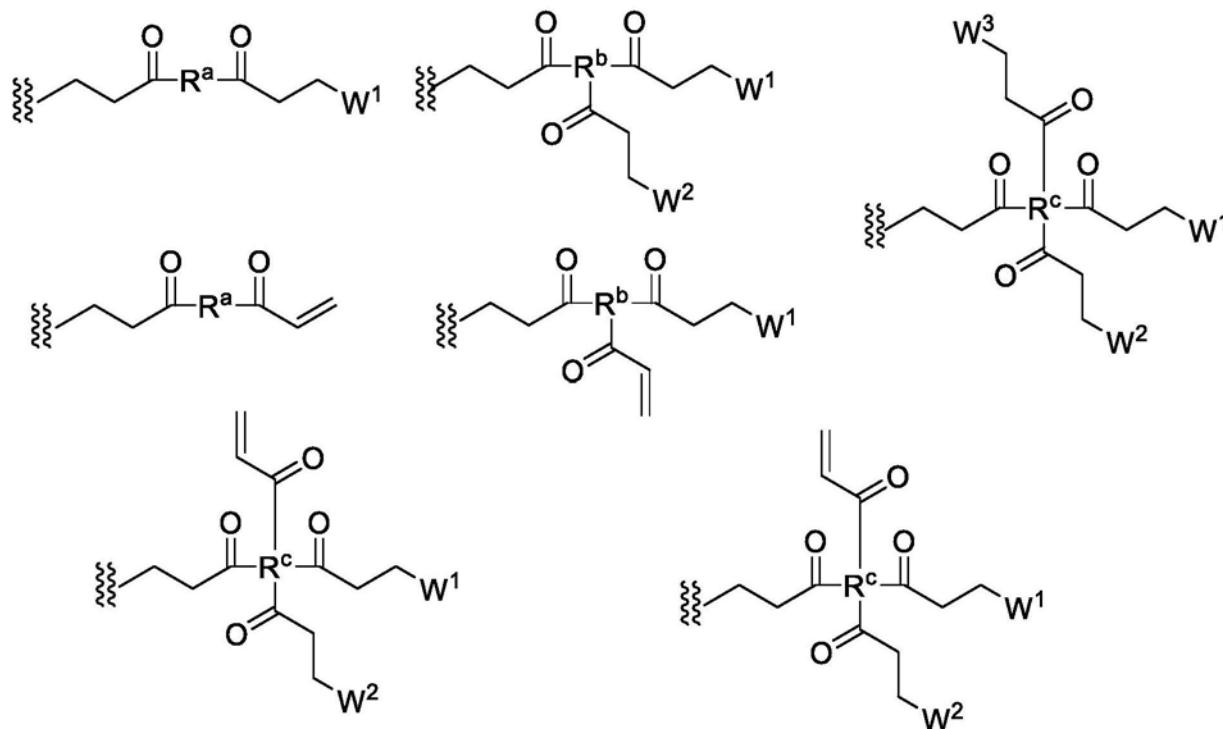
[0093] 一些实施例涉及一种超支化聚氨基糖苷类，其包括式VI的第一氨基糖苷类：



[0095] 在一些实施例中, R^{23} 、 R^{24} 、 R^{25} 、 R^{26} 、 R^{27} 、 R^{28} 、 R^{29} 和 R^{30} 独立地选自-H、任选地被取代的 C_1 - C_6 烷基、任选地被取代的具有插入有 C_1 - C_6 烷基的1到6个重复单元的聚氨基、任选地被取代的具有插入有 C_1 - C_6 烷基的1到6个重复单元的聚醚、或与连接单元的共价键。

[0096] 在一些实施例中, R^{23} 、 R^{24} 、 R^{25} 、 R^{26} 、 R^{27} 、 R^{28} 、 R^{29} 和 R^{30} 中的至少一个是与选自以下的一个或多个连接单元的共价键:

[0097]

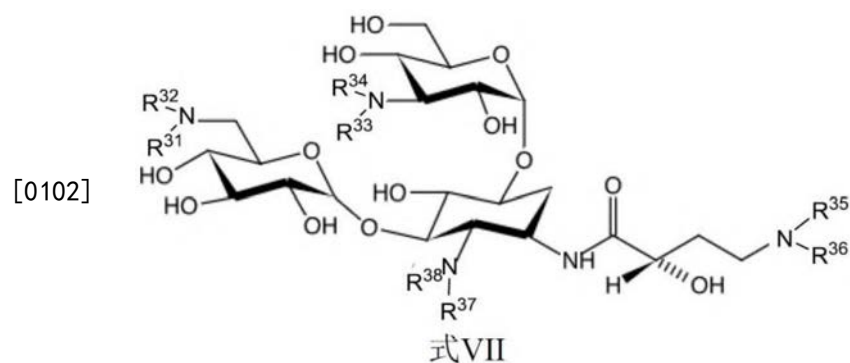


[0098] 在一些实施例中, “ $\{\}$ ”指示与所述第一氨基糖苷类附接。在一些实施例中, W^1 、 W^2 或 W^3 在存在的情况下独立地选自一个或多个另外的氨基糖苷类、一个或多个封端取代基, 并且至少一个连接单元提供从所述第一氨基糖苷类到第二氨基糖苷类的共价桥。

[0099] 在一些实施例中, R^a 、 R^b 和 R^c 独立地选自任选地被取代的 C_1 - C_6 烷基、任选地被取代的具有1到6个重复单元(具有一个或多个 C_1 - C_6 烷基)的聚氨基和/或任选地被取代的具有1到6个重复单元(具有一个或多个 C_1 - C_6 烷基)的聚醚。

[0100] 在一些实施例中, 所述一个或多个封端取代基在存在的情况下独立地具有式-NH- $((CH_2)_a X^1)_b - (CH_2)_c H$, 其中 X^1 为O或NH并且a、b和c独立地为从0到10的整数。

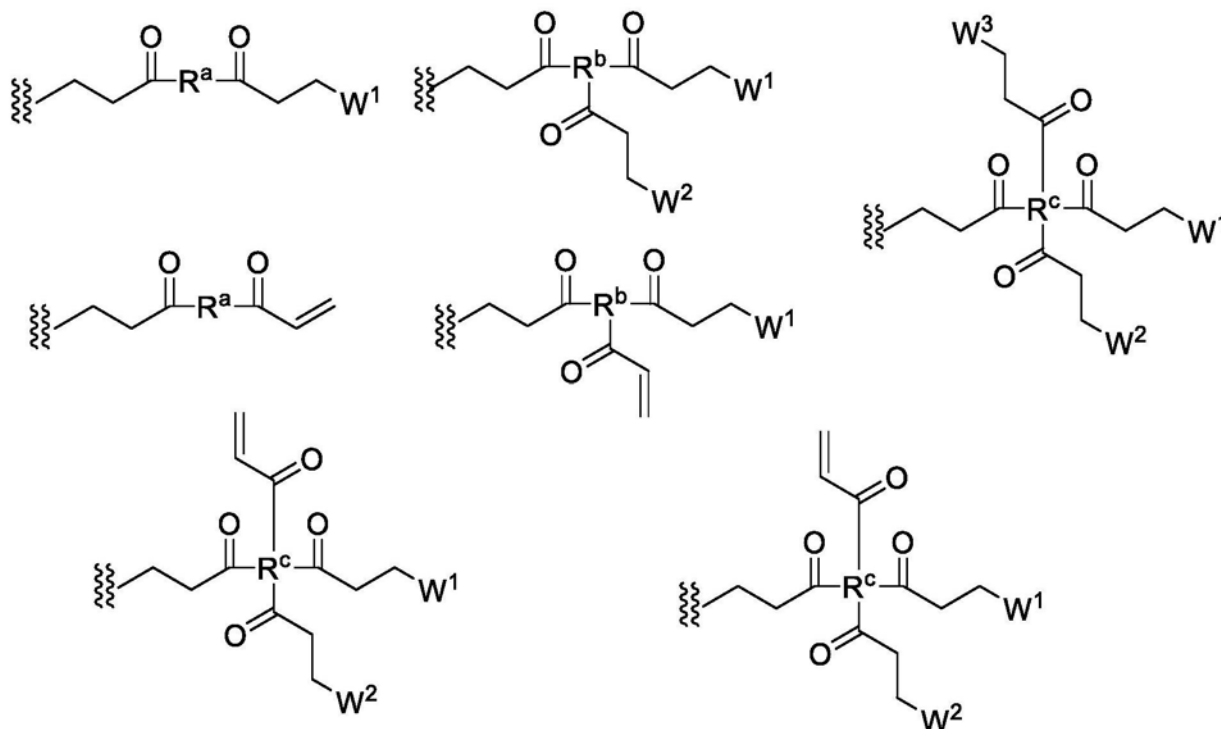
[0101] 一些实施例涉及一种超支化聚氨基糖苷类, 其包括式VII的氨基糖苷类:



[0103] 在一些实施例中, R^{31} 、 R^{32} 、 R^{33} 、 R^{34} 、 R^{35} 、 R^{36} 、 R^{37} 和 R^{38} 独立地选自由以下组成的组: -H、任选地被取代的 C_1 - C_6 烷基、任选地被取代的具有插入有 C_1 - C_6 烷基的1到6个重复单元的聚氨基、任选地被取代的具有插入有 C_1 - C_6 烷基的1到6个重复单元的聚醚、以及与连接单元的共价键。

[0104] 在一些实施例中, R^{31} 、 R^{32} 、 R^{33} 、 R^{34} 、 R^{35} 、 R^{36} 、 R^{37} 和 R^{38} 中的至少一个是与选自以下的一个或多个连接单元的共价键:

[0105]



[0106] 在一些实施例中, “ $\{\}$ ”指示与所述第一氨基糖苷类附接。在一些实施例中, W^1 、 W^2 或 W^3 在存在的情况下独立地选自一个或多个另外的氨基糖苷类、一个或多个封端取代基以及提供从所述第一氨基糖苷类到第二氨基糖苷类的共价桥的至少一个连接单元。

[0107] 在一些实施例中, R^a 、 R^b 和 R^c 独立地选自任选地被取代的 C_1 - C_6 烷基、任选地被取代的具有1到6个重复单元(具有一个或多个 C_1 - C_6 烷基)的聚氨基和/或任选地被取代的具有1到6个重复单元(具有一个或多个 C_1 - C_6 烷基)的聚醚。

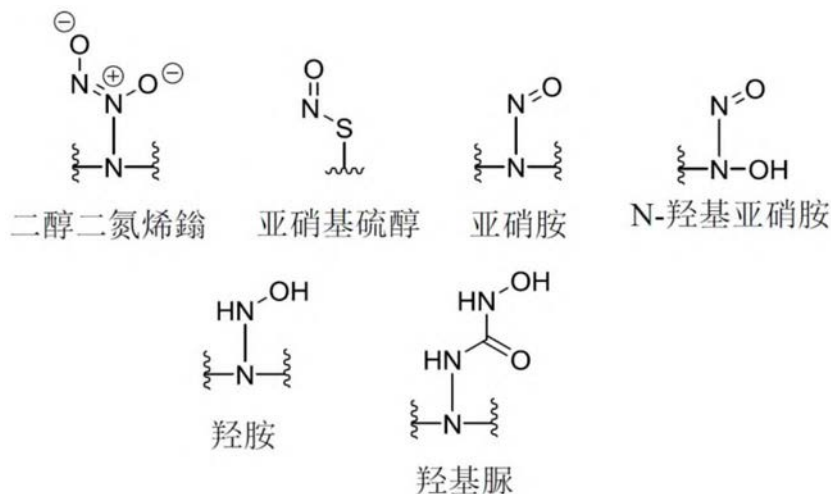
[0108] 在一些实施例中, 所述一个或多个封端取代基在存在的情况下独立地具有式 $-NH-(CH_2)_aX^1-(CH_2)_b-(CH_2)_cH$, 其中 X^1 为O或NH并且a、b和c独立地为从0到10的整数。

[0109] 在一些实施例中, 所述超支化聚氨基糖苷类包括多个不同的氨基糖苷类, 例如, 式I的单元、式II的单元、式III的单元、式IV的单元、式V的单元、式VI的单元、式VII的单元和其组合。在一些实施例中, 所述超支化聚氨基糖苷类包括基于卡那霉素的单元、基于阿米卡星(amikacin)的单元、基于妥布霉素(tobramycin)的单元、基于地贝卡星(dibekacin)的单元、基于庆大霉素的单元、基于西索米星(sisomicin)的单元、基于奈替米星(netilmicin)的单元、基于新霉素的单元(新霉素B和/或新霉素C)、基于巴龙霉素(paramomycin)的单元(新霉素E)、基于链霉素的单元以及其组合。

[0110] 上文所描述的或本文其它地方所描述的实施例中的任何实施例可以包含以下特

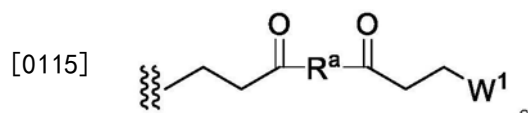
征中的一个或多个特征。

[0111] 在一些实施例中,所述超支化聚氨基糖苷类进一步包括供给NO的基团。在一些实施例中,所述供给NO的基团选自由以下组成的组:



[0113] 其中“ $\{ \}$ ”指示与所述超支化氨基糖苷类中的其它原子衔接。在一些实施例中,所述供给NO的基团是二醇二氮烯鎓。

[0114] 在一些实施例中,所述连接单元是:



[0116] 在一些实施例中, R^a 是 $-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{NH}-$ 。在一些实施例中, W^1 是所述第二氨基糖苷类。

[0117] 在一些实施例中, R^1 到 R^{38} 中的任何一个独立地选自由-H或与连接单元的共价键组成的组。

[0118] 在一些实施例中,所述封端取代基在存在的情况下是 $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ 或 $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ 。

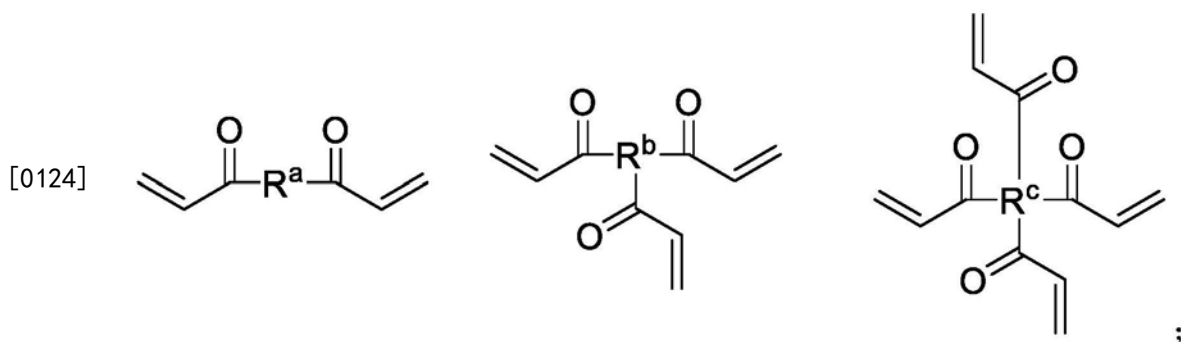
[0119] 一些实施例涉及一种用于制备上文或本文其它地方所描述的超支化聚氨基糖苷类的方法。在一些实施例中,所述方法包括使所述第一氨基糖苷类与多官能聚合剂和一个或多个另外的氨基糖苷类相接触以形成超支化聚氨基糖苷类。

[0120] 在一些实施例中,所述方法包括向所述超支化聚氨基糖苷类加入封端剂以对所述聚合剂上的任何未反应的官能团进行共价封端。

[0121] 在一些实施例中,所述方法包括将所述超支化聚氨基糖苷类暴露于NO以提供供给NO的超支化聚氨基糖苷类。在一些实施例中,在碱性条件下实施NO暴露步骤。

[0122] 在所述方法的一些实施例中,所述聚合剂包括双官能分子、三官能分子或四官能分子。在所述方法的一些实施例中,所述聚合剂包括迈克尔受体(Michael acceptor)。在所述方法的一些实施例中,所述聚合剂包括二丙烯酸酯、三丙烯酸酯或四丙烯酸酯。在所述方法的一些实施例中,聚合剂包括以下中的一种或多种: N,N' -亚甲基双(丙烯酰胺)、乙二醇二丙烯酸酯、丙二醇二丙烯酸酯、丁二醇二丙烯酸酯、三羟甲基丙烷三丙烯酸酯、季戊四醇三丙烯酸酯、季戊四醇三丙烯酸酯、甘油丙氧基化物(1PO/OH)三丙烯酸酯、或三羟甲基丙烷丙氧基化物三丙烯酸酯。

[0123] 在所述方法的一些实施例中,聚合剂包括以下结构中的一个或多个结构:



[0125] 其中 R^a 、 R^b 和 R^c 独立地选自任选地被取代的 C_1 - C_6 烷基、任选地被取代的具有1到6个重复单元(具有一个或多个 C_1 - C_6 烷基)的聚氨基和/或任选地被取代的具有1到6个重复单元(具有一个或多个 C_1 - C_6 烷基)的聚醚。

[0126] 在所述方法的一些实施例中,所述聚合剂是N,N'-亚甲基双(丙烯酰胺)。

[0127] 在所述方法的一些实施例中,所述封端剂包括以下中的一个或多个: $H_2N-((CH_2)_aNH)_b-H$ 、 $H_2N-((CH_2)_aNH)_b-(CH_2)_cH$ 、 $H_2N-((CH_2)_aX^1)_b-(CH_2)_cH$ 和 $HX^1-((CH_2)_aX^2)_b((CH_2)_cX^3)_d-(CH_2)_eH$ 。在所述方法的一些实施例中, a 、 b 、 c 、 d 或 e 的每个例子独立地选自从0到10的整数。在所述方法的一些实施例中, X^1 、 X^2 和 X^3 的每个例子独立地选自O、S或NH。在所述方法的一些实施例中,所述封端剂包括 $H_2NCH_2CH_2NH_2$ 和/或 $H_2NCH_2CH_2OH$ 。

[0128] 一些实施例涉及一种减少微生物污染的方法。在所述方法的一些实施例中,所述方法包括使被多种微生物污染的表面与包括以下的化合物相接触:释放一氧化氮的超支化聚氨基糖苷类,所述超支化聚氨基糖苷类包括与一氧化氮供体共价结合的含胺基团。在所述方法的一些实施例中,实施一氧化氮供体生成一氧化氮并且诱发对微生物的膜和/或DNA的损伤,从而减少活微生物的数量。

[0129] 在一些实施例中,所述多种微生物包括病毒、革兰氏阳性细菌、革兰氏阴性细菌、耐药细菌、霉菌、酵母、真菌和其组合中的一种或多种。

[0130] 在若干个实施例中,所述表面包括有机表面。在所述方法的一些实施例中,所述表面是人类皮肤或动物皮肤。在所述方法的一些实施例中,所述表面处于口腔或周围组织(例如,嘴唇、鼻孔、牙齿、牙龈等)中。在若干个实施例中,所述表面包括口腔黏膜。有利的是,在所述方法的一些实施例中,施加步骤未诱发皮肤或组织刺激。

[0131] 在一些实施例中,所述表面包括无机表面。在所述方法的一些实施例中,所述无机表面是医疗装置的外表面或内表面。在一些实施例中,所述装置是牙科装置,包括但不限于牙科工具、牙科植入物、牙科固定装置等。

[0132] 在一些实施例中,微生物负载包括耐药细菌。在所述方法的一些实施例中,所述微生物负载包括一种或多种牙科病原体。在一些实施例中,所述微生物负载包括铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌、牙龈卟啉单胞菌、伴放线放线杆菌、粘性放线菌和/或变形链球菌中的一个或多个。

[0133] 在所述方法的若干个实施例中,所述超支化聚氨基糖苷类是如上文或本文其它地方所描述的那样。

[0134] 一些实施例涉及一种治疗和/或预防龋齿的方法。在若干个实施例中,所述方法包括使被一种或多种牙科病原体污染的患者口腔表面与包括以下的化合物相接触:释放一氧化氮的超支化聚氨基糖苷类,所述超支化聚氨基糖苷类包括与一氧化氮供体共价结合的含

胺基团。在所述方法的一些实施例中,所述一氧化氮供体生成一氧化氮并且诱发对所述病原体的膜和/或DNA的损伤,从而减少活病原体的数量,并且因此减少了龋齿的形成或发展。在所述方法的一些实施例中,所述微生物负载包括铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌、牙龈卟啉单胞菌、伴放线放线杆菌、粘性放线菌和/或变形链球菌中的一个或多个。在所述方法的一些实施例中,所述超支化聚氨基糖苷类是如上文或本文其它地方所描述的那样。

[0135] 一些实施例涉及一种化合物在制备用于减少微生物污染的药物中的用途。在一些实施例中,所述化合物包括释放一氧化氮的超支化聚氨基糖苷类。在一些实施例中,所述超支化聚氨基糖苷类包括与一氧化氮供体共价结合的含胺基团。在一些实施例中,所述一氧化氮供体生成一氧化氮并且诱发对微生物的膜和/或DNA的损伤,从而减少活微生物的数量。在一些实施例中,调配所述化合物以治疗包括病毒、革兰氏阳性细菌、革兰氏阴性细菌、耐药细菌、霉菌、酵母、真菌和其组合中的一种或多种的多种微生物。在一些实施例中,调配所述化合物以递送到有机表面。在一些实施例中,调配所述化合物以递送到人类皮肤或动物皮肤。在一些实施例中,所述表面处于口腔中。在一些实施例中,调配所述化合物以递送到无机表面。在一些实施例中,所述表面是医疗装置的外表面或内表面。在一些实施例中,所述装置是牙科装置。在一些实施例中,所述超支化聚氨基糖苷类是如上文或本文其它地方所公开的那样。

[0136] 一些实施例涉及一种化合物,其包括释放一氧化氮的超支化聚氨基糖苷类,所述超支化聚氨基糖苷类包括与一氧化氮供体共价结合的含胺基团;其中所述一氧化氮供体生成一氧化氮并且诱发对所述微生物的膜和/或DNA的损伤,从而减少活微生物的数量。

附图说明

[0137] 图1是超支化聚氨基糖苷类结构的实施例的表示。

[0138] 图2示出了若干个氨基糖苷类的结构表示:卡那霉素、阿卡米星、妥布霉素、地贝卡星、庆大霉素、西索米星、奈替米星、新霉素(B和C)、巴龙霉素(新霉素E)和链霉素。

[0139] 图3A-3E示出了超支化聚氨基糖苷类的¹H NMR光谱:A) HPKA;B) HPNE;C) HPGE;D) HPKA-EDA;以及E) HPKA-MEA。

[0140] 图4A-4E示出了超支化聚氨基糖苷类的FTIR光谱:A) HPKA;B) HPNE;C) HPGE;D) HPKA-EDA;以及E) HPKA-MEA。

[0141] 图5A-5E示出了超支化聚氨基糖苷类的定量¹³C NMR光谱:A) HPKA;B) HPNE;C) HPGE;D) HPKA-EDA;以及E) HPKA-MEA。

[0142] 图6是以下的代表性紫外可见(UV-vis)光谱:HPKA(黑色);以及HPKA/NO(红色在248nm处示出了肩部)。

[0143] 图7示出了来自以下的累积一氧化氮释放:HPKA/NO(黑色);HPKA-EDA/NO(红色);HPKA-MEA/NO(绿色),以及分子内氢键合形成的方案。

[0144] 图8A和8B示出了用于可视化以下的针对变形链球菌的实时抗微生物行为的共焦荧光图像:A) HPKA/NO(0.1mg mL⁻¹);B) HPKA-MEA/NO(0.1mg mL⁻¹)。绿色荧光表示DAF-2DA,并且红色荧光表示PI。比例尺=20μm。

[0145] 图9A和9B示出了暴露于以下2小时后人牙龈成纤维细胞的活力百分比:A) 对照物;以及B) 释放NO的超支化聚氨基糖苷类。

具体实施方式

[0146] 总述

[0147] 氨基糖苷类是可以用作抗微生物剂的多胺。本文所描述的一些实施例涉及用作抗微生物剂的聚氨基糖苷类。在一些实施例中，本文所公开的聚氨基糖苷类用一氧化氮(NO)结合部分进行官能化并且可以用作NO产生/释放平台。在一些实施例中，聚氨基糖苷类超支化。本文所公开的某些实施例涉及具有杀菌和/或抗微生物活性的超支化聚氨基糖苷类。在一些实施例中，超支化聚氨基糖苷类包括NO结合部分。在一些实施例中，超支化聚氨基糖苷类可以与一氧化氮(NO)气体或其它某种NO供体反应以产生供给NO的超支化聚氨基糖苷类。在一些实施例中，超支化聚氨基糖苷类是可生物降解的和/或生物相容的。虽然超支化聚氨基糖苷类用作本文的示例性结构，但是应当了解，根据若干个实施例，还使用了线性聚氨基糖苷类(例如，非超支化的)。

[0148] 除非另有定义，否则本文所使用的所有技术术语和科学术语具有与本主题所属领域的普通技术人员通常所理解的含义相同的含义。描述本文主题时使用的术语仅是出于描述特定实施例的目的，并且不旨在对主题进行限制。

[0149] 如本文所使用的，“和/或”是指并且涵盖关联的所列项中的一个或多个所列项的任何和所有可能组合以及在以替代性方案(“或”)解释时组合的缺少。

[0150] 如本文所使用的，当提及如当前主题的化合物或药剂的量、剂量、时间、温度、杀菌功效等可测量值时，术语“约”意指涵盖指定量的 $\pm 20\%$ 、 $\pm 10\%$ 、 $\pm 5\%$ 、 $\pm 1\%$ 、 $\pm 0.5\%$ 或甚至 $\pm 0.1\%$ 的变化。

[0151] 如本文所使用的，术语“有效量”是指给予经受病症、疾病或疾患折磨的受试者调制效果的所述叙述化合物的量，所述调制效果例如可以是有益效果，包含改善受试者的病状(例如一种或多种症状)、延迟或减少病状进展、预防或延迟病症发作和/或改变如本领域众所周知的临床参数、疾病或疾患等。例如，有效量可以指使受试者的病状改善至少5%的组合物、化合物或药剂的量，例如至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少35%、至少40%、至少45%、至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或至少100%。在一些实施例中，病状的改善可以感染减少。在一些实施例中，改善可以是表面上或受试者体内的细菌负载(例如，生物负载)的减少。可以改变本公开主题的活性组合物中的活性成分的实际剂量水平，以便施用对实现特定受试者和/或施加的期望响应有效的量的一种或多种活性化合物。所选剂量水平将取决于多种因素，包括但不限于组合物的活性、调配物、施用途、与其它药物或治疗的组合、正在治疗的病状的严重程度以及正在治疗的受试者的身体状况和既往病史。在一些实施例中，施用最小剂量，并且在没有剂量限制性毒性的情况下将剂量升级到最低有效量。本文设想了对有效剂量的确定和调整以及对何时和如何进行这种调整的评估。

[0152] “治疗(treat/treating/treatment)”是指给予经受病症、疾病或疾患折磨的受试者调制效果的任何类型的作用，所述调制效果例如可以是有益效果，包含改善受试者的病状(例如一种或多种症状)、延迟或减少病状进展和/或改变临床参数、疾病或疾患、治愈疾患等。

[0153] 术语“一氧化氮供体”或“NO供体”是指这样的物质和/或分子：供给、释放和/或直接或间接地转移一氧化氮物质和/或刺激体内一氧化氮的内源性产生和/或提高体内一氧

化氮的内源性水平,使得一氧化氮物质的生物活性表达在预期的作用位点处。

[0154] 术语“一氧化氮释放”是指供给、释放和/或直接或间接地转移一氧化氮的三种氧化还原形式(NO^+ 、 NO^- 、 NO)中的任何一种(或两种或更多种)的物种和/或供给、释放和/或直接或间接地转移一氧化氮的三种氧化还原形式(NO^+ 、 NO^- 、 NO)中的任何一种(或两种或更多种)的方法。在一些实施例中,完成一氧化氮释放,使得一氧化氮物质的生物活性表达在预期的作用位点处。

[0155] 如本文所使用的,术语“微生物感染”是指细菌感染、真菌感染、病毒感染、酵母感染,还有其它微生物感染以及其组合。

[0156] 在一些实施例中,如本文所公开的治疗的“患者”或“受试者”是人类患者,但是应当理解,本公开的主题的原理表明本公开的主题对所有脊椎动物物种均有效,包含哺乳动物,所述所有脊椎动物物种旨在包含在术语“受试者”和“患者”中。适合的受试者通常是哺乳动物受试者。本文所描述的主题可用于研究以及兽医应用和医学应用。如本文所使用的,术语“哺乳动物”包含但不限于人、非人灵长类动物、牛、绵羊、山羊、猪、马、猫、狗、兔、啮齿动物(例如,大鼠或小鼠)、猴等。人类受试者包含新生儿、婴儿、青少年、成人和老年受试者。


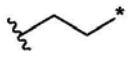
[0157] 如本文所使用的,术语“官能化超支化聚氨基糖苷类”是指含有一个或多个经过修饰的单元(例如,用非氨基糖苷类部分共价封端)的超支化聚氨基糖苷类材料。这种“官能化超支化聚氨基糖苷类”可以具有或不具有附接的一氧化氮供体部分。


[0158] 术语“氨基”和“胺”是指如 NR_3 、 NH_3 、 NHR_2 和 NH_2R 等含氮基团,其中R可以如本文其它地方所描述的那样。因此,如本文所使用的,“氨基”可以指伯胺、仲胺或叔胺。在一些实施例中,氨基基团中的一个R可以是二醇二氮烯鎓(即, NONO)。

[0159] 无论何时将基团描述为“任选地被取代”,所述基团可以未被取代或被指示的取代基中的一个或多个取代基取代。同样地,当将基团描述为“未被取代或被取代(如果被取代的话)”时,一个或多个取代基可以选自一个或多个指示的取代基。如果未指示取代基,则意味着指示的“任选地被取代的”或“被取代的”基团可以被单独且独立地选自以下的一个或多个基团取代:烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、芳基、杂芳基、杂环基、芳基(烷基)、环烷基(烷基)、杂芳基(烷基)、杂环基(烷基)、羟基、烷氧基、酰基、氰基、卤素、硫代羰基、O-氨甲酰基、N-氨甲酰基、C-酰胺基、N-酰胺基、S-磺酰氨基、N-磺酰氨基、C-羧基、O-羧基、卤代烷基、卤代烷氧基、氨基、单-取代氨基、二-取代氨基、单-取代胺(烷基)、二-取代胺(烷基)、二氨基-基团、二醚-、聚氨基-和聚醚-。

[0160] 如本文所使用的,术语“烷基”是指完全饱和的脂肪族烃基。烷基部分可以是支链或直链。支链烷基的实例包含但不限于异丙基、仲丁基、叔丁基等。直链烷基的实例包含但不限于甲基、乙基、正丙基、正丁基、正戊基、正己基、正庚基等。烷基可以具有1到30个碳原子(无论何时在本文中出现,如“1到30”等数值范围是指在给定范围内的每个整数;例如,“1到30个碳原子”意味着烷基可以由1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个等、直到且包含30个碳原子组成,但是在未指定数值范围的情况下,本定义还涵盖存在术语“烷基”)。烷基还可以是具有1到12个碳原子的中等大小烷基。烷基还可以是具有1到6个碳原子的低级烷基。烷基可以是取代的或未被取代的。仅通过举例的方式,“ $\text{C}_1\text{-C}_5$ 烷基”表明烷基链中有一到五个碳原子,即烷基链选自甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、叔丁基、戊基(支链的和直链的)等。典型的烷基包含但不限于甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异

丁基、叔丁基、戊基和己基。

[0161] 如本文所使用的,术语“亚烷基”是指二价的完全饱和的直链脂肪族烃基。亚烷基的实例包含但不限于亚甲基、亚乙基、亚丙基、亚丁基、亚戊基、亚己基、亚庚基和亚辛基。亚烷基可以用  来表示,然后是碳原子数,接着是“*”。例如,  用于表示乙烯。亚烷基可以具有1到30个碳原子(无论何时在本文中出现,如“1到30”等数值范围是指在给定范围内的每个整数;例如,“1到30个碳原子”意味着烷基可以由1个、2个、3个等、直到且包含30个碳原子组成,但是在未指定数值范围的情况下,本定义还涵盖存在术语“亚烷基”)。亚烷基还可以是具有1到12个碳原子的中等大小烷基。亚烷基还可以是具有1到4个碳原子的低级烷基。亚烷基可以是被取代的或未被取代的。例如,可以通过置换低级亚烷基的一个或多个

氢和/或通过用C₃₋₆单环环烷基(例如, ) 取代相同碳上的两个氢来取代低级亚烷基。

[0162] 本文所使用的术语“烯基”是指含有一个或多个碳双键的具有二到二十个碳原子的单价直链或支链自由基,包含但不限于1-丙烯基、2-丙烯基、2-甲基-1-丙烯基、1-丁烯基、2-丁烯基等。烯基可以是未被取代的或被取代的。

[0163] 本文所使用的术语“炔基”是指含有一个或多个碳三键的具有二到二十个碳原子的单价直链或支链自由基,包含但不限于1-丙炔基、1-丁炔基、2-丁炔基等。炔基可以是未被取代的或被取代的。

[0164] 如本文所使用的,“环烷基”是指完全饱和(无双键或三键)的单环或多环(如双环)烃环系统。当由两个或更多个环构成时,所述环可以以稠合、桥接或螺接的方式连接在一起。如本文所使用的,术语“稠合”是指具有共有的两个原子和一个键的两个环。如本文所使用的,术语“桥接环烷基”是指环烷基含有连接非相邻原子的一个或多个原子的键的化合物。如本文所使用的,术语“螺接”是指具有共有的一个原子的两个环并且这两个环不通过桥进行连接。环烷基可以在一个或多个环中含有3到30个原子、在所述一个或多个环中含有3到20个原子、在所述一个或多个环中含有3到10个原子、在所述一个或多个环中含有3到8个原子、或在所述一个或多个环含有3到6个原子。环烷基可以是未被取代的或被取代的。单环烷基的实例包含但不局限于环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基和环辛基。稠合环烷基的实例是十氢萘基、十二氢-1H-非那烯基(dodecahydro-1H-phenalenyl)和十四氢蒽基;桥接环烷基的实例是双环[1.1.1]戊基、金刚烷基和原菠烷基(norbornanyl);螺环烷基的实例包含螺[3.3]庚烷和螺[4.5]癸烷。

[0165] 如本文所使用的,“环烯基”是指在至少一个环中含有一个或多个双键的单环或多环(如双环)烃环系统;但是,如果双键多于一个,则双键无法在所有环中形成完全离域 π 电子系统(否则如本文所定义的,所述基团将会是“芳基”)。环烯基可以在一个或多个环中含有3到10个原子、在所述一个或多个环中含有3到8个原子或在所述一个或多个环含有3到6个原子。当由两个或更多个环构成时,所述环可以以稠合、桥接或螺接的方式连接在一起。环烯基可以是未被取代的或被取代的。

[0166] 如本文所使用的,“芳基”是指在所有环中具有完全离域 π 电子系统的碳环(全碳)单环或多环(如双环)芳香族环系统(包含两个碳环共享化学键的稠合环系统)。芳基中的碳

原子数可以变化。例如,芳基可以是C₆-C₁₄芳基、C₆-C₁₀芳基或C₆芳基。芳基的实例包含但不限于苯、萘和蒽。芳基可以是被取代的或未被取代的。

[0167] 如本文所使用的,“杂芳基”是指含有一个或多个杂原子(例如,1个、2个或3个杂原子)的单环或多环(如双环)芳香族环系统(具有完全离域 π 电子系统的环系统),即,除碳以外的元素,包含但不限于氮、氧和硫。杂芳基的一个或多个环中的原子数可以变化。例如,杂芳基可以在所述一个或多个环中含有4到14个原子、在所述一个或多个环中含有5到10个原子或在所述一个或多个环中含有5到6个原子,如九个碳原子和一个杂原子;八个碳原子和两个杂原子;七个碳原子和三个杂原子;八个碳原子和一个杂原子;七个碳原子和两个杂原子;六个碳原子和三个杂原子;五个碳原子和四个杂原子;五个碳原子和一个杂原子;四个碳原子和两个杂原子;三个碳原子和三个杂原子;四个碳原子和一个杂原子;三个碳原子和两个杂原子;或者两个碳原子和三个杂原子。此外,术语“杂芳基”包含稠合环系统,在所述稠合环系统中,如至少一个芳环和至少一个杂芳基环或至少两个杂芳基环等两个环共享至少一个化学键。杂芳基环的实例包含但不限于呋喃、咪唑、噻吩、苯并噻吩、酞嗪、吡咯、噁唑、苯并噁唑、1,2,3-恶二唑、1,2,4-恶二唑、噻唑、1,2,3-噻二唑、1,2,4-噻二唑、苯并噻唑、咪唑、苯并咪唑、吡啶、吡啶、吡啶、苯并吡啶、异噻唑、苯并异噻唑、异噻唑、三唑、苯并三唑、噻二唑、四唑、吡啶、哒嗪、嘧啶、吡嗪、嘌呤、蝶啶、喹啉、异喹啉、喹啉、喹啉、喹啉、喹啉和三嗪。杂芳基可以是被取代或未被取代的。

[0168] 如本文所使用的,“杂环基”或“杂脂环基”是指三元、四元、五元、六元、七元、八元、九元、十元、多达18元的单环、双环和三环环系统,其中碳原子与1到5个杂原子一起构成所述环系统。然而,杂环可以任选地含有以这样的方式定位使得在所有环中不存在完全离域 π 电子系统的一个或多个不饱和键。一个或多个杂原子是除碳之外的元素,包含但不限于氧、硫和氮。杂环可以进一步含有一个或多个羰基官能团或硫代羰基官能团,以使定义包含氧代系统和硫代系统,如内酰胺、内酯、环状酰亚胺、环状硫代酰亚胺和环状氨基甲酸酯。当由两个或更多个环构成时,所述环可以以耦合、桥接或螺接的方式连接在一起。如本文所使用的,术语“耦合”是指具有共有的两个原子和一个键的两个环。如本文所使用的,术语“桥接杂环基”或“桥接杂脂环基”是指杂环基或杂脂环基含有连接非相邻原子的一个或多个原子的键的化合物。如本文所使用的,术语“螺接”是指具有共有的一个原子的两个环并且这两个环不通过桥进行连接。杂环基和杂脂环基可以在一个或多个环中含有3到30个原子、在所述一个或多个环中含有3到20个原子、在所述一个或多个环中含有3到10个原子、在所述一个或多个环中含有3到8个原子、或在所述一个或多个环中含有3到6个原子。例如,五个碳原子和一个杂原子;四个碳原子和两个杂原子;三个碳原子和三个杂原子;四个碳原子和一个杂原子;三个碳原子和两个杂原子;两个碳原子和三个杂原子;一个碳原子和四个杂原子;三个碳原子和一个杂原子;或者两个碳原子和一个杂原子。另外,杂脂环中的任何氮可以季铵化。杂环基和杂脂环基可以是未被取代的或被取代的。这种“杂环基”或“杂脂环基”的实例包含但不限于1,3-二噁英、1,3-二噁烷、1,4-二噁烷、1,2-二氧戊环、1,3-二氧戊环、1,4-二氧戊环、1,3-氧硫杂环己烷、1,4-氧硫杂环己二烯、1,3-氧硫杂环戊烷、1,3-二硫杂环戊二烯、1,3-二硫戊环、1,4-氧硫杂环己烷、四氢-1,4-噻嗪、2H-1,2-噻嗪、马来酰亚胺、琥珀酰亚胺、巴比妥酸、硫代巴比妥酸、二氧化哌嗪、乙内酰脲、二氢尿嘧啶、三恶烷、六氢-1,3,5-三嗪、咪唑啉、咪唑啉、异噻唑啉、异噻唑啉、噻唑啉、恶唑啉、恶唑啉酮、噻唑啉、噻唑啉、吗

啉、环氧乙烷、哌啶N-氧化物、哌啶、哌嗪、吡咯烷、氮杂环庚烷、吡咯烷酮、吡咯酮(pyrrolidione)、4-哌啶酮、吡唑啉、吡唑烷、2-氧代吡咯烷、四氢吡喃、4H-吡喃、四氢噻喃、硫代吗啉、硫代吗啉亚砷、硫代吗啉砷以及其苯并稠合类似物(例如,苯并咪唑烷酮、四氢喹啉和/或3,4-亚甲二氧基苯基)。螺杂环基的实例包含2-氮杂螺[3.3]庚烷、2-氧杂螺[3.3]庚烷、2-氧杂-6-氮杂螺[3.3]庚烷、2,6-二氮杂螺[3.3]庚烷、2-氧杂螺[3.4]辛烷和2-氮杂螺[3.4]辛烷。

[0169] 如本文所使用的,“芳烷基”和“芳基(烷基)”是指作为取代基经由低级亚烷基连接的芳基。芳烷基的低级亚烷基和芳基可以是被取代的或未被取代的。实例包含但不限于苄基、2-苯基烷基、3-苯基烷基和萘基烷基。

[0170] 如本文所使用的,“杂芳烷基”和“杂芳基(烷基)”是指作为取代基经由低级亚烷基连接的杂芳基。杂芳烷基的低级亚烷基和杂芳基可以是被取代的或未被取代的。实例包含但不限于2-噻吩基烷基、3-噻吩基烷基、呋喃基烷基、噻吩基烷基、吡咯基烷基、吡啶基烷基,异噻唑基烷基和咪唑基烷基以及其苯并稠合的类似物。

[0171] “杂脂环基(烷基)”和“杂环基(烷基)”是指作为取代基经由低级亚烷基连接的杂环基或杂脂环基。(杂脂环基)烷基的低级亚烷基和杂环基可以是被取代的或未被取代的。实例包含但不限于四氢-2H-吡喃-4-基(甲基)、哌啶-4-基(乙基)、哌啶-4-基(丙基)、四氢-2H-噻喃-4-基(甲基)和1,3-噻嗪烷-4-基(甲基)。

[0172] 如本文所使用,术语“羟基”是指-OH基团。

[0173] 如本文所使用的,“烷氧基”是指式-OR,其中R是如本文所定义的烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、芳基、杂芳基、杂环基、环烷基(烷基)、芳基(烷基)、杂芳基(烷基)或杂环基(烷基)。烷氧基的非限制性列表为甲氧基、乙氧基、正丙氧基、1-甲基乙氧基(异丙氧基)、正丁氧基、异丁氧基、仲丁氧基、叔丁氧基、苯氧基和苯甲酰氧基。烷氧基可以是被取代的或未被取代的。

[0174] 如本文所使用的,“酰基”是指作为取代基经由羰基连接的氢、烷基、烯基、炔基、芳基、杂芳基、杂环基、芳基(烷基)、杂芳基(烷基)和杂环基(烷基)。实例包含甲酰基、乙酰基、丙酰基、苯甲酰基和丙烯酰基。酰基可以是被取代的或未被取代的。

[0175] 如本文所使用的,术语“卤素原子”或“卤素”意指元素周期表第7列的放射稳定原子中的任何一个原子,如氟、氯、溴和碘。

[0176] 如本文所使用的,术语“二氨基-”表示“-NR_A(R_B)N(R_C)-”基团,其中R_B和R_C可以独立地为如本文所定义的氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、芳基、杂芳基、杂环基、环烷基(烷基)、芳基(烷基)、杂芳基(烷基)或杂环基(烷基),并且其中R_A连接这两个氨基并且可以是(独立于R_B和R_C)烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、芳基、杂芳基、杂环基、环烷基(烷基)、芳基(烷基)、杂芳基(烷基)或杂环基(烷基)。R_A、R_B和R_C可以独立地是被取代的或未被取代的。

[0177] 如本文所使用的,术语“二醚-”表示“-OR_DO-”基团,其中R_D可以独立地为如本文所定义的烷基、烯基、炔基、环烷基、环烯基、芳基、杂芳基、杂环基、环烷基(烷基)、芳基(烷基)、杂芳基(烷基)或杂环基(烷基),并且其中R_D连接这两个O基团。R_D可以是任选地被取代的或未被取代的。

[0178] 如本文所使用的,术语“聚氨基”表示重复-N(R_B)烷基-基团。为了说明,术语聚氨

基可以包括-N(R_B) 烷基-N(R_B) 烷基-N(R_B) 烷基-N(R_B) 烷基-。在一些实施例中,聚氨基的烷基是如本文其它地方所公开的那样。虽然这个实例仅具有4个重复单元,但是术语“聚氨基”可以由1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个重复单元组成,其中R_B和烷基是如本文其它地方所定义的那样。如本文所指出的,聚氨基包括具有插入烷基的胺基(其中烷基是如本文其它地方所定义的那样)。聚氨基可以以胺基终止或终止为烷基(其中聚氨基是末端基团)或者以-N(R_C)-终止(其中聚氨基桥接两个原子)。例如,亚甲二胺基(-NHCH₂NH-)、乙撑二氨基(-NH(CH₂)₂NH-)等中的任何一种被视为聚氨基。

[0179] 如本文所使用的,术语“聚醚”表示重复-O烷基-基团。为了说明,术语聚醚可以包括-O-烷基-O-烷基-O-烷基-O-烷基。聚醚可以具有多达10个重复单元,包括具有插入烷基的-O-(醚)(其中烷基是如本文其它地方所定义的那样)。聚醚可以以羟基终止或终止为烷基(其中聚醚是末端基团)或者以-O-终止(其中聚醚桥接两个原子)。

[0180] 当给定整数的范围时,范围包含落入范围内的任何数字和定义范围的末端的数字。例如,当使用术语“1到20的整数”时,范围中包含的整数为1、2、3、4、5、6、7、8、9、10等、直到且包含20。

[0181] 一氧化氮

[0182] 一氧化氮(NO)是能够根除细菌和生物膜两者的广谱抗菌剂,主要是通过形成对微生物DNA和/或膜结构造成氧化性和亚硝化损伤的反应性NO副产物(例如,过氧化亚硝酸盐和三氧化二氮)。有利的是,NO发挥其抗菌作用的广泛范围的机制降低了细菌将产生抗性的风险。因此,释放NO的材料可以是对抗细菌感染的良好靶标。释放NO的材料的抗菌功效可以取决于NO有效负载和关联释放动力学两者。

[0183] 内源性产生的双原子自由基一氧化氮与许多生物过程相关联,包含血小板聚集和粘附、血管舒张、伤口修复、免疫应答和癌发生。NO的缺乏可能导致NO相关生理系统产生某种程度的故障。外源性NO递送可以是解决范围为从心血管疾病到抗细菌疗法和抗癌疗法的生物医学疗法的有效策略。然而,在调节用于疗法的气态NO方面的困难保证了使用各种合成的NO供体(例如,N-二醇二氮烯鎓、S-亚硝基硫醇、金属亚硝酰基、有机硝酸盐),以对NO递送进行控制。N-二醇二氮烯鎓(NONOate)由于其具有良好的稳定性并且能够在生理条件下进行质子触发的NO递送而可以用作NO供体。在一些例子中,高NO总量是有效评估良好支架的储存能力的重要参数。另外,高密度的仲胺基团使某些供体具有较高的NO储存容量。然而,快速NO释放和高NO储存可能对哺乳动物细胞产生不期望的毒性。因此,在制备具有高NO储存和低细胞毒性的生物相容性NO释放材料方面存在挑战,并且这种挑战和其它挑战根据本文所公开的若干个实施例得到了解决。当前描述主题的若干个实施例具有以下优点中的一个或多个优点:聚氨基糖苷类的高效且独特的合成路线以及所得化学组成。另外的优点可以包含可控量的仲胺,并且可以提供不同的外部末端基团(即,羟基、甲基、羟甲基和伯胺)。所生成的释放一氧化氮的支架的NO储存和NO释放动力学可以针对特定应用进行调整。在若干个实施例中,通过改变本文所公开的式的官能化单体的类型和/或数量来实现这一调整。在若干个实施例中,生成的释放一氧化氮的支架中的胺的例如通过具有不同组成的化合物进行的另外的官能化进一步实现了对NO释放动力学的控制。在一些实施例中,仲胺基直接影响N-二醇二氮烯鎓(或其它NO载剂基团)的稳定性,从而允许对NO储存和释放动力学两者进行控制。

[0184] 龋齿(例如,蛀牙)影响了大多数工业化国家60%-70%的学龄儿童和大多数成年人。在世界范围内,总人口中有11%的人患有严重的牙周炎,这会导致牙齿脱落和如冠状动脉疾病、心血管疾病、中风和不良妊娠结局等系统性疾病。在口腔中的>700种微生物中,致龋菌(例如,变形链球菌(*Streptococcus mutans*)、粘性放线菌(*Actinomyces viscosus*))和牙周病原体(例如,牙龈卟啉单胞菌(*Porphyromonas gingivalis*)、伴放线放线杆菌(*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*))在口腔疾病的引发和进展方面起到重要作用。

[0185] 开发能够杀死这些致病细菌的口服治疗剂对于维持口腔健康而言很重要。高分子NO递送媒剂(例如,二氧化硅纳米颗粒)会杀死革兰氏阴性牙周病原体。然而,尚未证明这些材料以安全浓度(例如,杀菌但对哺乳动物细胞无毒的浓度)杀死革兰氏阳性致龋菌。类似于那些纳米材料,二氧化硅纳米颗粒缺乏生物降解性并且具有潜在的细胞毒性也阻碍了其在生物医学应用方面的前景。目前的研究还集中在利用包含银、金、锌和铜的纳米材料作为培养细菌耐药性的传统抗生素的替代品。这些纳米材料可以表现出有希望的抗菌能力,具有较低毒性。然而,生物降解性的缺乏可能引起累积性毒性,从而限制了纳米材料在某些应用方面的前景。超支化聚合物(例如聚氨基、聚酯、聚醚和多糖)可以解决这些问题中的一个或多个问题或者其它问题。有利的是,树突状聚合物的亚类、如本文所公开的超支化聚合物结构易于合成、提供独特的三维树突状形状并且可以具有低细胞毒性。

[0186] 本文所公开的一些实施例涉及供给NO的超支化聚合物结构。本文所公开的一些实施例涉及供给NO的超支化聚氨基糖苷类。本文所公开的一些实施例涉及制备和使用供给NO的超支化聚氨基糖苷类的方法。在一些实施例中,如本文其它地方所公开的,通过一个或多个氨基糖苷类的聚合来合成超支化聚氨基糖苷类。在一些实施例中,用吸收NO的部分来官能化超支化聚氨基糖苷类。在一些实施例中,NO可以吸收到这些超支化聚氨基糖苷类,以提供供给NO的超支化聚氨基糖苷类。

[0187] 在一些实施例中,根据天然产生的氨基糖苷类来合成超支化结构。在一些实施例中,本文所公开的超支化聚氨基糖苷类是可生物降解的和/或生物相容的支架。在一些实施例中,本文所公开的超支化聚氨基糖苷类可以用于生物医学应用。在一些实施例中,在不受特定机制或理论束缚的情况下,据信,由于结构内存在丰富的糖苷键和羟基基团,因此聚氨基糖苷类表现出良好的生物降解性和低毒性。在一些实施例中,在不受特定机制或理论束缚的情况下,据信,这些结构相对于其它NO递送支架显示出增强的抗菌功效,部分原因在于其高度支化的结构。

[0188] 在一些实施例中,在治疗患者的方法和/或杀死细菌的方法(例如,作为抗微生物剂)中采用了本文所公开的超支化聚氨基糖苷类。本文还提供了用于向受试者递送一氧化氮的方法,所述方法包括向受试者施用有效量的本文所公开的官能化超支化聚氨基糖苷类中的任何官能化超支化聚氨基糖苷类。本文还提供了治疗疾病状态的方法,在若干个实施例中,所述方法包括向有治疗需要的受试者施用有效量的本文所公开的官能化超支化聚氨基糖苷类中的任何官能化超支化聚氨基糖苷类,其中所述疾病状态选自以下组成的组:癌症、心血管疾病、微生物感染;由血液暴露于医疗装置而引起的血小板聚集和血小板粘附;由细胞增殖异常造成的病理病状;移植排斥、自身免疫性疾病、炎症、血管疾病;瘢痕组织;伤口收缩、再狭窄、疼痛、发热、胃肠道病症、呼吸系统病症、性功能障碍和性传播疾病。

在若干个实施例中,疾病状态是微生物感染。在若干个实施例中,疾病状态是龋齿或另一种口腔疾病(牙龈炎、牙周炎等)。

[0189] 在若干个实施例中,本文提供了减少表面上的微生物负载的方法,所述方法包括将化合物施加到被多种微生物污染的表面,其中所述化合物包括释放一氧化氮(NO)的水溶性官能化超支化聚氨基糖苷类,所述官能化超支化聚氨基糖苷类包括NO供体,其中所述NO供体生成NO并且诱发对微生物DNA和膜结构的氧化性和/或亚硝化损伤,从而减少了微生物负载,并且其中所述多种微生物包括以下中的两种或更多种:革兰氏阳性细菌、革兰氏阴性细菌、真菌、酵母和病毒。在若干个实施例中,表面是有机表面。在若干个实施例中,表面是人类皮肤或黏膜表面。在若干个实施例中,施加化合物未诱发皮肤刺激或黏膜刺激。在若干个实施例中,表面是动物皮肤。在若干个实施例中,表面处于人或动物的口腔或周围组织中。在若干个实施例中,施加化合物未诱发皮肤刺激或者口腔或周围组织刺激。在若干个实施例中,表面是人气道组织。在若干个实施例中,施加化合物(例如,吸入)未诱发病道上皮细胞刺激。在若干个实施例中,表面是无机表面。在若干个实施例中,无机表面是医疗装置的外表面或内表面。在若干个实施例中,医疗装置是牙科工具。在若干个实施例中,施加化合物在医疗装置的外表面或内表面上生成抗微生物包衣。在若干个实施例中,医疗装置包括内窥镜、牙钻或其它牙科装置、牙科植入物或牙科固定装置。

[0190] 在若干个实施例中,待减少和/或消除的微生物负载包括耐药细菌。在若干个实施例中,耐药细菌包括耐碳青霉烯(carbapenem)的肠杆菌科(Enterobacteriaceae)。在若干个实施例中,耐药细菌包括耐甲氧西林(Methicillin)的金黄色葡萄球菌。在若干个实施例中,微生物包括人免疫缺陷病毒、单纯疱疹病毒、乳头状瘤病毒、副流感病毒、流感、肝炎、柯萨奇病毒(Coxsackie Virus)、带状疱疹、麻疹、腮腺炎、风疹、狂犬病、肺炎、出血性病毒性发热、H1N1等、朊病毒、寄生虫、真菌、霉菌、酵母和细菌(革兰氏阳性细菌和革兰氏阴性细菌两者),除其它之外,所述细菌包含白色念珠菌(*Candida albicans*)、黑曲霉(*Aspergillus niger*)、大肠杆菌(*Escherichia coli*) (*E.coli*)、铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*) (*P.aeruginosa*)以及金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*) (*S.aureus*)、A组链球菌(Group A streptococci)、肺炎链球菌(*S.pneumoniae*)、结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*)、空肠弯曲杆菌(*Campylobacter jejuni*)、沙门氏菌(*Salmonella*)、志贺氏杆菌(*Shigella*)、牙龈卟啉单胞菌、伴放线放线杆菌、粘性放线菌和/或变形链球菌以及各种耐药细菌。术语微生物(microorganism)和微生物(microbe)应当可互换地使用。微生物可以包含野生型生物、基因工程化生物或经过修饰的生物。在若干个实施例中,本文所公开的调配物和方法用于局部使用或治疗如口腔黏膜等表面。

[0191] 在若干个实施例中,提供了治疗和/或预防微生物感染和/或增殖的方法,所述方法包括使表面(所述表面受多种微生物感染或易受感染,例如口腔)与包括释放一氧化氮(NO)的超支化聚氨基糖苷类的化合物相接触,官能化超支化聚氨基糖苷类包括NO供体,其中所述NO供体生成NO并且诱发对微生物的膜和/或DNA的损伤,从而减少活微生物的数量并且治疗和/或预防感染或入侵,并且其中所述多种微生物包括病毒、革兰氏阳性细菌、革兰氏阴性细菌、耐药细菌、霉菌、酵母、真菌和其组合中的一种或多种。

[0192] 根据实施例,所述方法和用途采用了本文所公开的化合物,所述化合物被调配用于经由局部途径、口服施用、口服局部(例如,口腔灌洗剂、漱口水、液体、固体、凝胶、糊剂

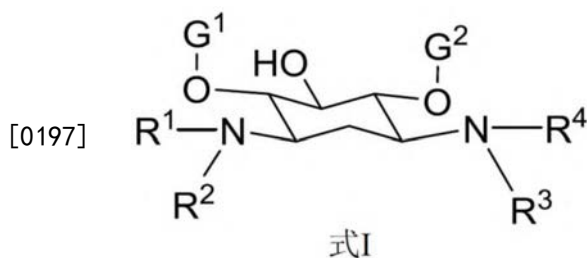
等)、经由冲洗(如牙科冲洗)、经由注射、经由喷雾、经由固体贮库、经由摄取或经由吸入进行施用。在一个实施例中,使用条带或其它底物来施加调配物。在一些实施例中,条带由聚合物制成,包含但不限于聚乙烯。在若干个实施例中,途径是局部的,并且释放NO的超支化聚氨基糖苷类的方法和用途是用于治疗牙科病原体(例如,牙龈卟啉单胞菌、伴放线放线杆菌、变形链球菌和粘性放线菌中的一种或多种)。在若干个实施例中,释放NO的超支化聚氨基糖苷类基本上不损害人细胞,包含牙龈成纤维细胞、口腔黏膜上皮细胞或者口腔内或周围的其它细胞。

[0193] 在一些实施例中,本文所公开的超支化聚氨基糖苷类由沿超支化结构的链长或臂的和/或超支化结构的链长或臂内的树突状单元、线性单元和末端单元构成(如图1所示)。在一些实施例中,沿超支化结构的线性单元和/或链提供仲胺作为添加NO供体部分的潜在反应性位点。

[0194] 在一些实施例中,例如如图1所示的沿超支化结构内的链长或臂,供给NO的超支化聚氨基糖苷类包括装饰超支化结构的供给NO的取代基。在一些实施例中,通过一种或多种天然氨基糖苷类的聚合来合成超支化聚氨基糖苷类。在一些实施例中,用于制备本文所公开的超支化氨基糖苷类的天然氨基糖苷类可以包括卡那霉素、庆大霉素和新霉素中的一种或多种(如图2所示)。在一些实施例中,使用卡那霉素、庆大霉素、新霉素和/或其它天然或非天然氨基糖苷类中的一种或多种(例如,卡那霉素、阿卡米星、妥布霉素、地贝卡星、庆大霉素、西索米星、奈替米星、新霉素(B和C)、巴龙霉素(新霉素E)以及链霉素、双氢链霉素等)。

[0195] 在一些实施例中,本文所公开的官能化超支化聚氨基糖苷类包括具有式I、式II、式III、式IV、式V、式VI或式VII以及其组合的结构的一个或多个氨基糖苷类单元。

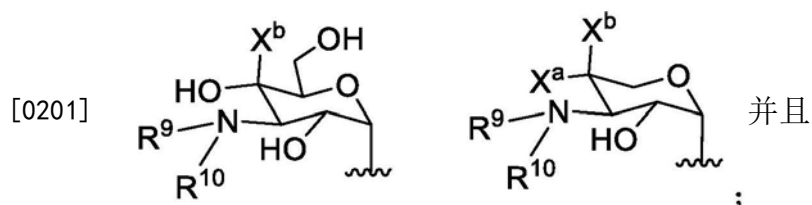
[0196] 在一些实施例中,官能化超支化聚氨基糖苷类包括具有式I的结构的一个或多个单元:



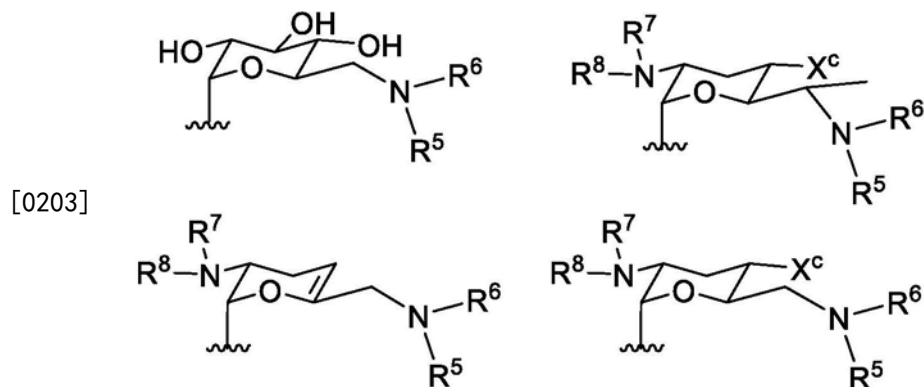
[0198] 其中 R^1 、 R^2 、 R^3 和 R^4 独立地选自由以下组成的组: -H、任选地被取代的 C_1 - C_6 烷基、任选地被取代的具有1到6个重复单元(具有一个或多个 C_1 - C_6 烷基)的聚氨基、任选地被取代的具有1到6个重复单元(具有一个或多个 C_1 - C_6 烷基)的聚醚或者是经由连接单元与超支化聚氨基糖苷类的另一个原子的共价键;并且

[0199] 其中 G^1 和 G^2 独立地是被取代或未被取代的己糖或戊糖。在一些实施例中,例如,式I结构是卡那霉素A、妥布霉素、地贝卡星、庆大霉素、西索米星和/或奈替米星中的一种或多种的中心己糖,并且 G^1 和 G^2 是那些氨基糖苷类的被取代的或未被取代的相邻六元糖环。

[0200] 在一些实施例中, G^1 选自由以下组成的组:



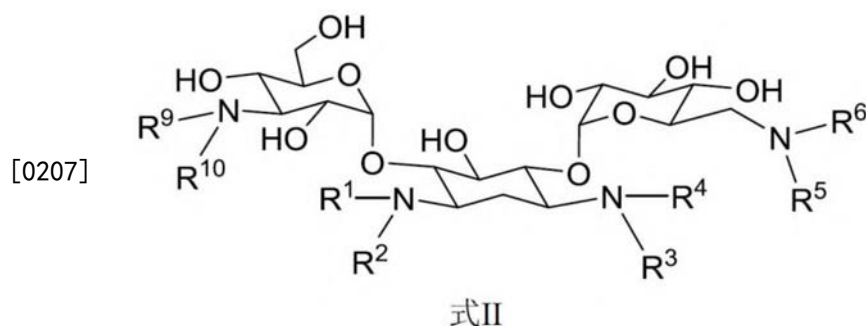
[0202] G^2 选自由以下组成的组：



[0204] 其中 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 和 R^{10} 独立地选自由以下组成的组：-H、任选地被取代的 C_1 - C_6 烷基、任选地被取代的具有1到6个重复单元(具有一个或多个 C_1 - C_6 烷基)的聚氨基、任选地被取代的具有1到6个重复单元(具有一个或多个 C_1 - C_6 烷基)的聚醚或者是经由连接单元与超支化聚氨基糖苷类的另一个原子的共价键；并且

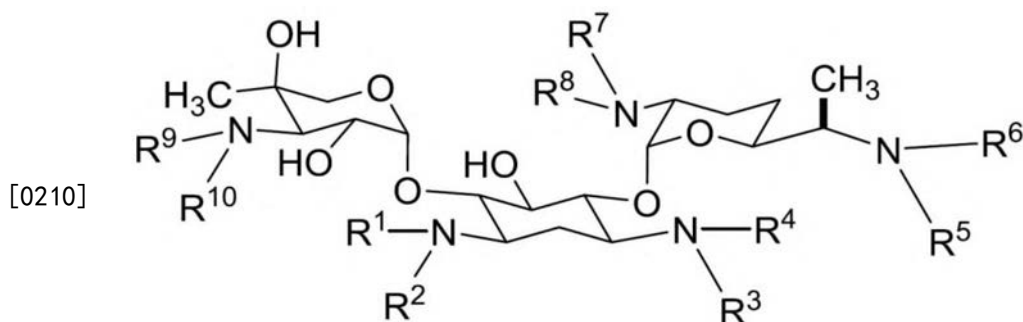
[0205] 其中 X^a 、 X^b 和 X^c 独立地选自-H、-OH和 C_1 - C_6 烷基。

[0206] 在一些实施例中，官能化超支化聚氨基糖苷类包括具有式II的结构的一个或多个单元：



[0208] 其中 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^9 和 R^{10} 是如本文其它地方所定义的那样。在一些实施例中，式II可以使用卡那霉素作为起始材料来制备和/或式II体现了包括卡那霉素的超支化聚氨基糖苷类。

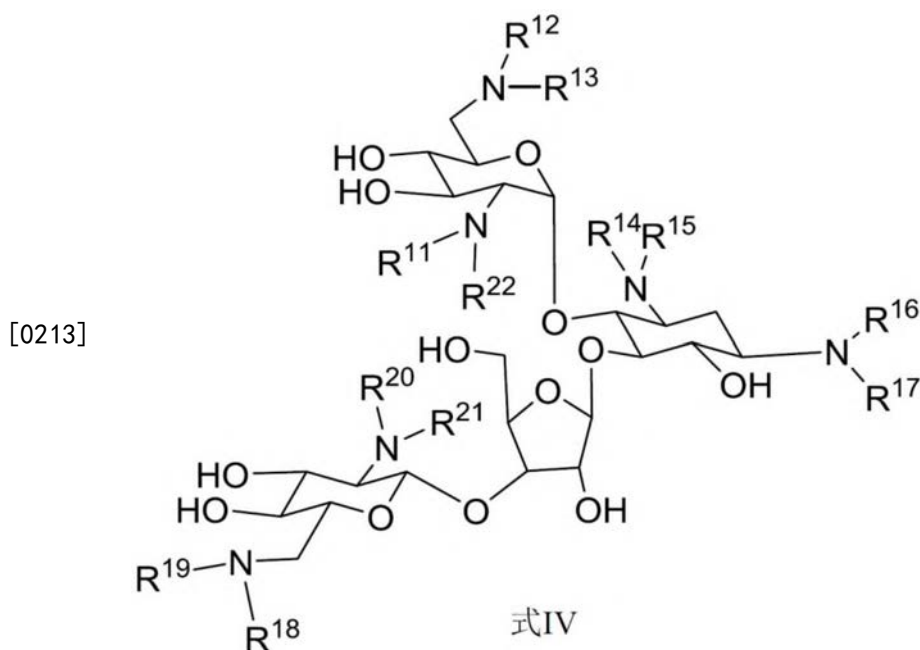
[0209] 在一些实施例中，本文所公开的官能化超支化聚氨基糖苷类包括具有式III的结构的一个或多个单元：



式III

[0211] 其中 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 和 R^{10} 是如本文其它地方所定义的那样。在一些实施例中,式III可以使用庆大霉素作为起始材料来制备和/或式III体现了包括庆大霉素的超支化聚氨基糖苷类。

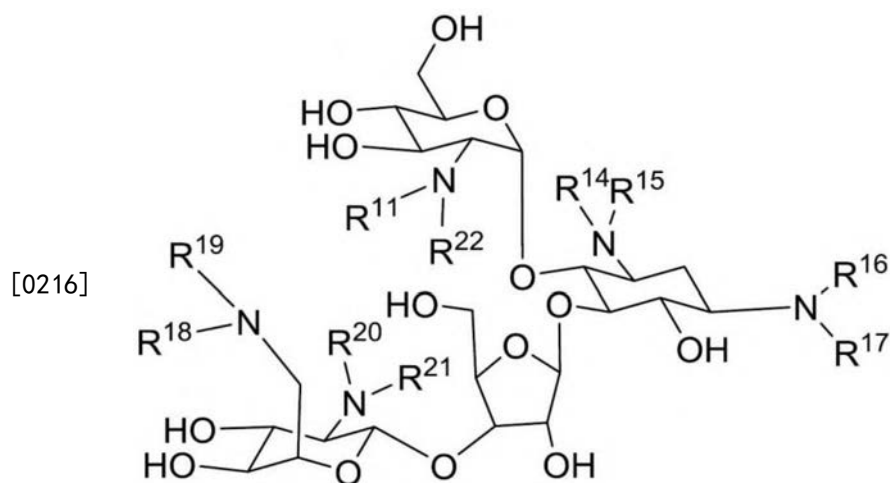
[0212] 在一些实施例中,本文所公开的官能化超支化聚氨基糖苷类包括具有式IV结构的一个或多个单元:



式IV

[0214] 其中 R^{11} 、 R^{12} 、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^{15} 、 R^{16} 、 R^{17} 、 R^{18} 、 R^{19} 、 R^{20} 、 R^{21} 和 R^{22} 独立地选自由以下组成的组: -H、任选地被取代的 C_1 - C_6 烷基、任选地被取代的具有1到6个重复单元(具有一个或多个 C_1 - C_6 烷基)的聚氨基、任选地被取代的具有1到6个重复单元(具有一个或多个 C_1 - C_6 烷基)的聚醚或者是经由连接单元与超支化聚氨基糖苷类的另一个原子的共价键。在一些实施例中,式IV可以使用新霉素作为起始材料来制备和/或式IV体现了包括新霉素的超支化聚氨基糖苷类。在一些实施例中,与本文所示的其它结构一样,式IV旨在涵盖天然立体化学布置(如新霉素B或新霉素C),但是仅示出了C形式。

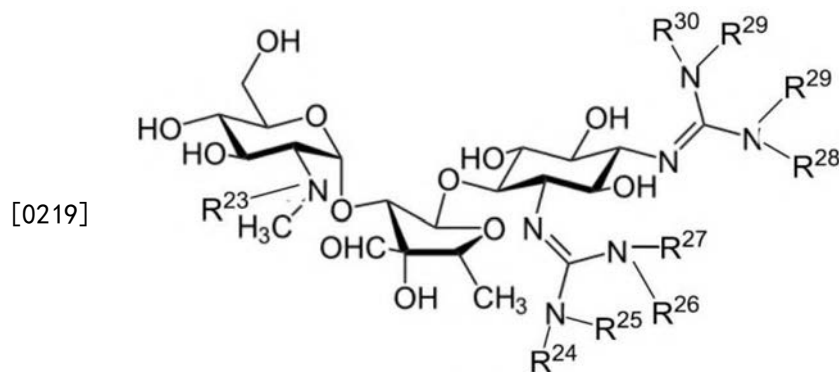
[0215] 在一些实施例中,本文所公开的官能化超支化聚氨基糖苷类包括具有式V的结构的一个或多个单元:



式V

[0217] 其中 R^{11} 、 R^{14} 、 R^{15} 、 R^{16} 、 R^{17} 、 R^{18} 、 R^{19} 、 R^{20} 、 R^{21} 和 R^{22} 是如本文其它地方所定义的那样。在一些实施例中,式V可以使用巴龙霉素作为起始材料来制备和/或式V体现了包括巴龙霉素的超支化聚氨基糖苷类。

[0218] 在一些实施例中,本文所公开的官能化超支化聚氨基糖苷类包括具有式VI的结构的一个或多个单元:

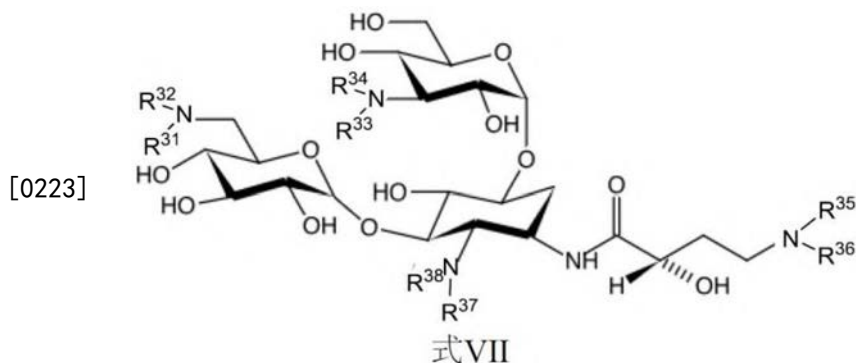


式VI

[0220] 其中 R^{23} 、 R^{24} 、 R^{25} 、 R^{26} 、 R^{27} 、 R^{28} 、 R^{29} 和 R^{30} 独立地选自由以下组成的组:-H、任选地被取代的 C_1 - C_6 烷基、任选地被取代的具有1到6个重复单元(具有一个或多个 C_1 - C_6 烷基)的聚氨基、任选地被取代的具有1到6个重复单元(具有一个或多个 C_1 - C_6 烷基)的聚醚或者是经由连接单元与超支化聚氨基糖苷类的另一个原子的共价键。在一些实施例中,式VI可以使用链霉素作为起始材料来制备和/或式VI体现了包括链霉素的超支化聚氨基糖苷类。

[0221] 在一些实施例中,式I-VI的 R^1 到 R^{30} 独立地选自由以下组成的组:-H、任选地被取代的烷基、任选地被取代的具有(各个氨基之间具有烷基间隔)的聚氨基、任选地被取代的具有(各个醚基之间具有烷基间隔)的聚醚、以及经由连接单元与超支化聚氨基糖苷类的另一个原子的共价键。

[0222] 在一些实施例中,本文所公开的官能化超支化聚氨基糖苷类包括具有式VI的结构的一个或多个单元:



[0224] 其中 R^{31} 、 R^{32} 、 R^{33} 、 R^{34} 、 R^{35} 、 R^{36} 、 R^{37} 和 R^{38} 独立地选自由以下组成的组： $-H$ 、任选地被取代的 C_1 - C_6 烷基、任选地被取代的具有1到6个重复单元(具有一个或多个 C_1 - C_6 烷基)的聚氨基、任选地被取代的具有1到6个重复单元(具有一个或多个 C_1 - C_6 烷基)的聚醚或者是经由连接单元与超支化聚氨基糖苷类的另一个原子的共价键。在一些实施例中,式VII可以使用阿卡米星作为起始材料来制备和/或式VII体现了包括阿卡米星的超支化聚氨基糖苷类。

[0225] 在一些实施例中,式I-VII中的任何一个式可以呈天然的或非天然的(例如,合成改变的)立体化学构型。

[0226] 在一些实施例中,除本文其它地方所公开的变量中的任何一个变量之外, R^{1-38} 中的任何一个(作为连接子或末端封端基团)还可以或可替代地选自由以下组成的组： $-C_1$ - C_6 烷基)、 $-(CH_2)_aNH)_bH$ 、 $-(CH_2)_aNH)_b-(CH_2)_cH$ 、 $-(CH_2)_aX^1)_b-(CH_2)_cH$ 、 $-(CH_2)_aX^2)_b((CH_2)_cX^3)_d-(CH_2)_eH$ 、 $-(CH_2)_aNH)_b-$ 、 $-(CH_2)_aNH)_b-(CH_2)_cX^1$ 、 $-(CH_2)_aX^1)_b-(CH_2)_cX^2$ 以及 $-(CH_2)_aX^1)_b((CH_2)_cX^2)_d-(CH_2)_e-X^3$,其中 a 、 b 、 c 、 d 或 e 的每个例子独立地选自从0到10的整数(例如,0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10)。在若干个实施例中, X^1 、 X^2 和 X^3 中的每个例子独立地选自O、S或NH。

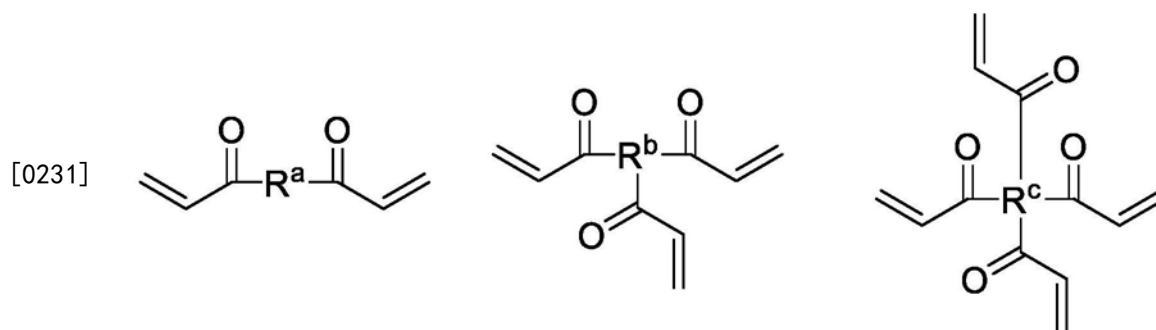
[0227] 在一些实施例中,可以将式I-VII中的任何一个式上存在的任一羟基中的任何 $-H$ 交换为被取代的或未被取代的 C_1 - C_6 烷基或者被取代的或未被取代的具有1到6个重复单元(具有一个或多个 C_1 - C_6 烷基)的聚醚,其中羟基的氧提供了聚醚的氧。在一些实施例中,可以将式I-VII中的任何一个式上存在的任一羟基中的氢交换为如本文其它地方所描述的连接单元。

[0228] 在一些实施例中,式I-VII中的任何一个式的氨基糖苷类使用一种或多种聚合剂和/或交联剂进行聚合和/或交联。在一些实施例中,聚合之后,氨基糖苷类是超支化结构。在一些实施例中,聚合剂是具有与氨基糖苷类的一个或多个取代基反应的部分的多官能(双官能、三官能、四官能等)分子。在一些实施例中,多官能聚合剂包括具有与例如氨基糖苷类上的胺或其它亲核体(例如,羟基)反应的一个或多个亲电子部分的分子。例如,源自选自丙烯酸的盐、酯和共轭碱以及其衍生物的单体的丙烯酸酯可以用于聚合剂和或交联。在一个实施例中,丙烯酸酯源自单体甲基丙烯酸酯。在另一个实施例中,丙烯酸酯源自选自以下组成的组的单体:丙烯酸甲酯、丙烯酸乙酯、甲基丙烯酸甲酯、丙烯酰胺、甲基丙烯酸乙酯、2-氯乙基乙烯基醚、丙烯酸2-乙基己酯、甲基丙烯酸羟乙酯、丙烯酸羟乙酯、丙烯酸丁酯、甲基丙烯酸丁酯、N-(2-羟丙基)甲基丙烯酰胺、N-(3-氨丙基)甲基丙烯酰胺盐酸盐、N-(3-BOC-氨丙基)甲基丙烯酰胺、甲基丙烯酸2-氨乙酯盐酸盐、甲基丙烯酸2-(叔丁基氨基)乙酯、n-异丙基丙烯酰胺、丙烯酸2-甲氧基乙酯、n-乙基甲基丙烯酰胺、n-乙基乙酰胺、丙烯酸2-(N-吗啉基)乙酯、甲基丙烯酰基-L-赖氨酸、丙烯酸2-(甲氨基)乙酯和甲基丙烯酸2-

(甲氨基)乙酯。在另一个实施例中,丙烯酸脂源自二丙烯酸酯。例如,二丙烯酸酯可以是乙二醇二丙烯酸酯、三甘醇二丙烯酸酯、四甘醇二丙烯酸酯、聚乙二醇二丙烯酸酯、三环癸烷二甲醇二丙烯酸酯、N-丙烯酰氧基琥珀亚胺、N-(2-羟丙基)甲基丙烯酰胺、双[2-(甲基丙烯酰氧基)乙基]磷酸酯、二丙烯酰胺和N,N'-亚甲基双丙烯酰胺。

[0229] 在一些实施例中,聚合剂包括一个或多个迈克尔受体。如本文所使用的,术语“迈克尔受体”是指充当亲电体的化学部分,如但不限于 α,β 不饱和羰基化合物、烯醇化物等。在一些实施例中,聚合剂包括一个或多个丙烯酸酯官能团。在一些实施例中,迈克尔受体是丙烯酸酯。在一些实施例中,聚合剂是二丙烯酸酯(例如,N,N'-亚甲基双(丙烯酰胺)、乙二醇二丙烯酸酯、丙二醇二丙烯酸酯、丁二醇二丙烯酸酯等)、三丙烯酸酯(例如,三羟甲基丙烷三丙烯酸酯、季戊四醇三丙烯酸酯、季戊四醇三丙烯酸酯、甘油丙氧基化物(1PO/0H)三丙烯酸酯、三羟甲基丙烷丙氧基化物三丙烯酸酯等)、四丙烯酸酯、或具有多个丙烯酸酯基团(例如,5个、6个、7个或更多个)的另一种丙烯酸酯。

[0230] 在一些实施例中,聚合剂由以下结构中的一个或多个结构表示:

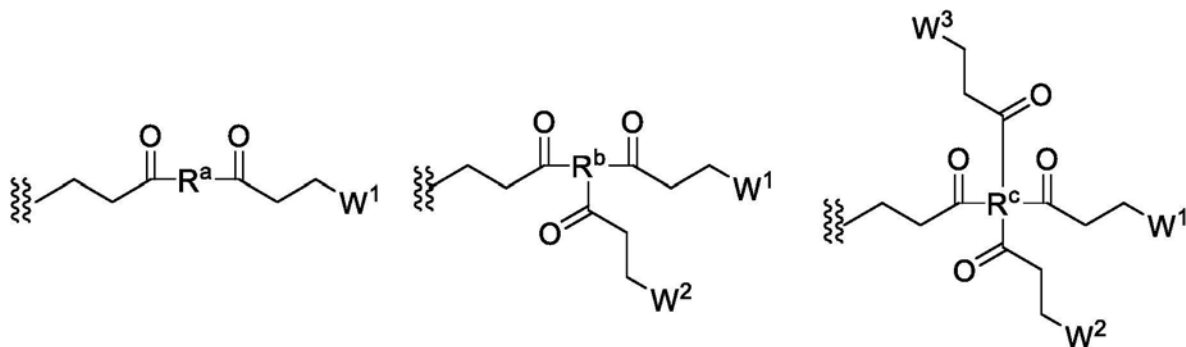


[0232] 其中 R^a 、 R^b 和 R^c 独立地选自由以下组成的组:任选地被取代的 C_1 - C_6 烷基、任选地被取代的具有1到6个重复单元(具有一个或多个 C_1 - C_6 烷基)的聚氨基、或任选地被取代的具有1到6个重复单元(具有一个或多个 C_1 - C_6 烷基)的聚醚。 R^a 、 R^b 和 R^c 独立地选自由 $-NH-((CH_2)_fNH)_g-$ 、 $-X^4-((CH_2)_fX^5)_g-$ 组成的组,其中 f 和 g 独立地选自从0到10的整数(例如,0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10)。在若干个实施例中, X^4 和 X^5 中的每个例子独立地选自O、S或NH。在一些实施例中, R^a 是 $-NH-CH_2-NH-$ (如来自N,N'-亚甲基双(丙烯酰胺))。

[0233] 在一些实施例中,如本文其它地方所描述的,在聚合之后,式I-VII中的任何一个式的官能化超支化聚氨基糖苷类进一步包括连接单元(例如,与一种或多种氨基糖苷类反应后聚合剂的剩余部分)。在一些实施例中,连接单元通过例如氨基糖苷类的氨基跨越两个或更多个氨基糖苷类。在一些实施例中,连接单元包括选自由以下组成的组的结构: $-(C=O)$ 烷基 $-(C=O)-$ 、 $-(C=O)$ 聚氨基 $-(C=O)-$ 、 $-(C=O)$ 聚醚 $-(C=O)-$ 和 $-(C=O)$ 烷基 $-(C=O)-$ 聚醚 $-(C=O)-$ 烷基 $-(C=O)-$ 。

[0234] 在一些实施例中,超支化聚氨基糖苷类的连接单元包括选自由以下组成的组的结构:

[0235]



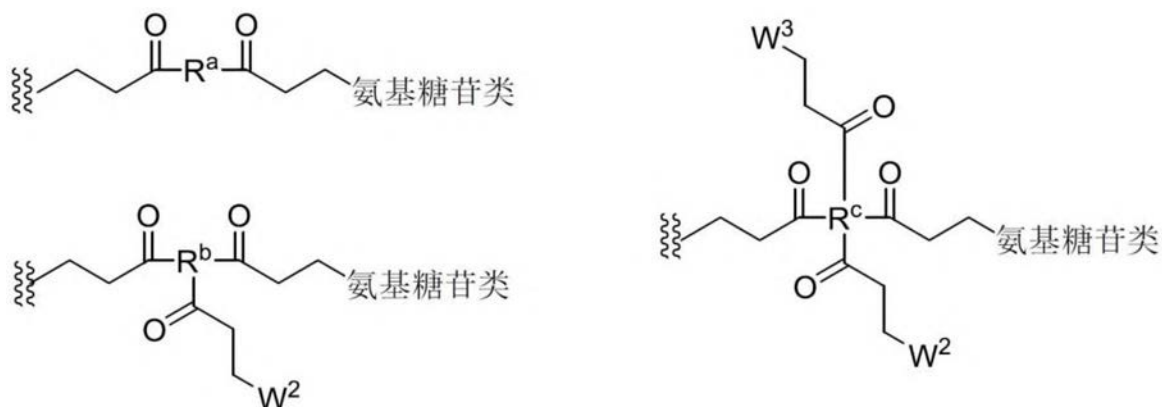
[0236] 其中 R^a 、 R^b 和 R^c 选自由以下组成的组：任选地被取代的 C_1 - C_6 烷基、任选地被取代的具有1到6个重复单元(具有一个或多个 C_1 - C_6 烷基)的聚氨基、或任选地被取代的具有1到6个重复单元(具有一个或多个 C_1 - C_6 烷基)的聚醚；

[0237] 其中“ $\{ \}$ ”指示与叙述的氨基糖苷类联接；并且

[0238] 其中 W^1 、 W^2 或 W^3 如本文其它地方所公开的独立地选自氨基糖苷类或封端基团。

[0239] 在一些实施例中，超支化聚氨基糖苷类的连接单元包括由以下中的一个表示的结构：

[0240]



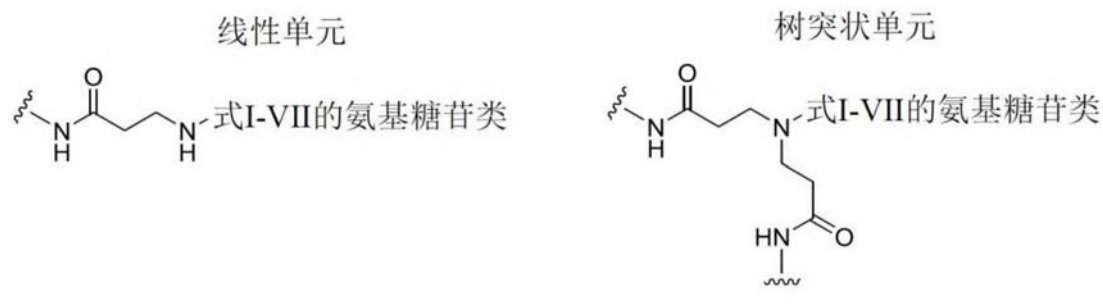
[0241] 其中“氨基糖苷类”表示第二氨基糖苷类(任选地，第一氨基糖苷类的另一种拷贝)，式I-VII的结构与所述第二氨基糖苷类共价连接并且在所述第二氨基糖苷类中， W^2 和 W^3 是如本文其它地方所定义的那样。

[0242] 在一些实施例中，在用连接单元聚合之后，聚合剂中的一种或多种聚合剂可以包括未反应的末端基团。在一些实施例中，可以通过使超支化聚氨基糖苷类与封端剂进一步反应来对那些末端基团进行封端。在一些实施例中，封端剂包括以下中的一个或多个： $H_2N-(CH_2)_aNH-(CH_2)_bH$ 、 $H_2N-(CH_2)_aNH-(CH_2)_b-(CH_2)_cH$ 、 $H_2N-(CH_2)_aX^1-(CH_2)_b-(CH_2)_cH$ 、 $HX^1-(CH_2)_aX^2-(CH_2)_b-(CH_2)_cX^3$ 、 $H-(CH_2)_aNH-(CH_2)_b-$ 、 $-(CH_2)_aNH-(CH_2)_b-(CH_2)_cX^1$ 、 $-(CH_2)_aX^1-(CH_2)_b-(CH_2)_cX^2$ 和 $-(CH_2)_aX^1-(CH_2)_b-(CH_2)_cX^2-(CH_2)_d-(CH_2)_e-X^3$ ，其中 a 、 b 、 c 、 d 或 e 中的每个例子独立地选自从0到10的整数(例如，0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10)。在若干个实施例中， X^1 、 X^2 和 X^3 中的每个例子独立地选自O、S或NH。在一些实施例中，封端剂包括 $H_2NCH_2CH_2NH_2$ 和 $H_2NCH_2CH_2OH$ 中的一个或多个。在一些实施例中，封端剂产生了选自以下中的一个或多个的取代基： $-NH-(CH_2)_aNH-(CH_2)_bH$ 、 $-NH-(CH_2)_aNH-(CH_2)_b-(CH_2)_cH$ 、 $-NH-(CH_2)_aX^1-(CH_2)_b-(CH_2)_cH$ 、 $-(CH_2)_aX^2-(CH_2)_b-(CH_2)_cX^3$ 、 $-(CH_2)_aNH-(CH_2)_b-$ 、 $-(CH_2)_aNH-(CH_2)_b-(CH_2)_cX^1$ 、 $-(CH_2)_aX^1-(CH_2)_b-(CH_2)_cX^2$ 和 $-(CH_2)_aX^1-(CH_2)_b-(CH_2)_cX^2-(CH_2)_d-(CH_2)_e-X^3$ 。

$a\text{NH})_b-(\text{CH}_2)_c\text{X}^1$ 、 $-(\text{CH}_2)_a\text{X}^1)_b-(\text{CH}_2)_c\text{X}^2$ 和 $-(\text{CH}_2)_a\text{X}^1)_b((\text{CH}_2)_c\text{X}^2)_d-(\text{CH}_2)_e\text{X}^3$ 。在一些实施例中,封端剂产生了选自 $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ 和 $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ 中的一个或多个的取代基。

[0243] 在一些实施例中,在来自氨基糖苷类的胺与一个或多个连接单元反应之后,以下结构可以产生:

[0244]

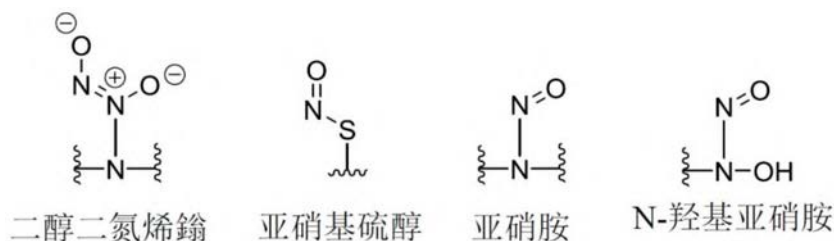


[0245] 如上文所展示的,树突状单元由氨基糖苷类胺与连接单元的两个分子的反应产生,并且线性单元由氨基糖苷类胺与连接单元的一个分子的反应产生。

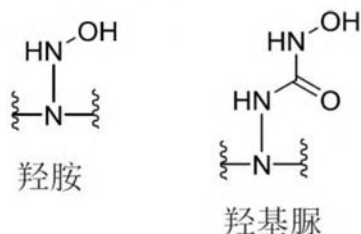
[0246] 在一些实施例中,通过一锅合成法来制备超支化氨基糖苷类。在一些实施例中,将聚合剂(例如,N,N'-亚甲基双(丙烯酰胺))加入到氨基糖苷类中。

[0247] 在一些实施例中,本文所公开的超支化氨基糖苷类结构本身具有且具有属于自己的杀菌活性(例如,借助聚阳离子电荷等)。在一些实施例中,氨基糖苷类可以用另外的取代基进一步官能化以提供另外的释放NO的官能团(例如,在线性单元中,其中多胺用于封端并且其中多胺存在于连接单元中)。在一些实施例中,例如,如图1所示,这些超支化聚合物的线性单元提供了多个仲胺。在一些实施例中,仲胺是NO受体并且可以与NO反应产生NO供体(例如,供给NO的超支化聚氨基糖苷类)。

[0248] 在一些实施例中,NO供体包括以下释放一氧化氮的部分中的任何一个释放一氧化氮的部分:

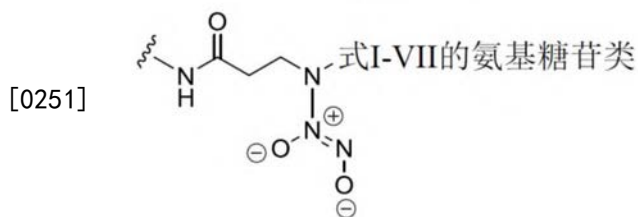


[0249]

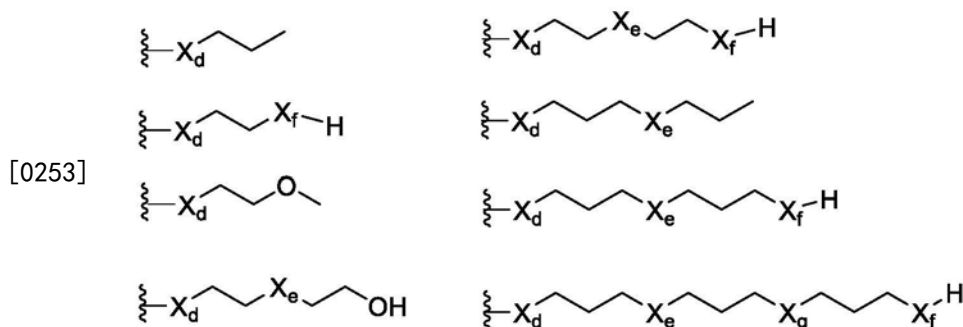


[0250] 其中“ $\{$ ”指示与超支化氨基糖苷类结构内的其它原子附接(例如, $-\text{H}$ 、 $-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}-$ 等中的任何例子)。在一些实施例中,NO供体是N-二醇二氮烯鎓NO供体。在一些实施例中,NO供体沿线性单元进行附接,如下文所示:

线性单元



[0252] 在一些实施例中,如本文其它地方所公开的,可以将封端分子添加到超支化聚氨基糖苷类中以提供另外的和/或替代性NO受体。在一些实施例中,可以使用以下封端基团:



[0254] 其中Xd、Xe、Xf和Xg如本文其它地方所公开的选自O、S、NH或释放一氧化氮的部分。如本文其它地方所公开的,这些结构的仲胺可以用于提供如二醇二氮烯鎓等NO供体。

[0255] 在一些实施例中,一氧化氮供体选自由以下组成的组:二醇二氮烯鎓、亚硝基硫醇、亚硝胺、羟基亚硝胺、羟胺、羟基脲和其组合。

[0256] 在一些实施例中,超支化氨基糖苷类与NO的反应在碱性(basic)条件或碱性(alkaline)条件下进行。在一些实施例中,超支化聚氨基糖苷类用NO官能化在碱性条件下进行。在一些实施例中,碱性条件包含pH值等于或为至少约7.5、8.0、9.0、10.0、12.0或其范围包含和/或跨越上述值的那些。

[0257] 在一些实施例中,本文所公开的方法提供了释放NO的超支化聚氨基糖苷类,所述释放NO的超支化聚氨基糖苷类的NO储存容量(以 $\mu\text{mol NO/mg}$ 超支化聚氨基糖苷类为单位)大于或等于约0.25、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、2.0、3.0或其范围包含和/或跨越上述值。例如,在一些实施例中,范围在约0.4 $\mu\text{mol NO/mg}$ 超支化聚氨基糖苷类与约1.3 $\mu\text{mol NO/mg}$ 超支化聚氨基糖苷类之间。在其它实施例中,范围在约0.4 $\mu\text{mol NO/mg}$ 超支化聚氨基糖苷类到约0.6 $\mu\text{mol NO/mg}$ 超支化聚氨基糖苷类或者约1.2 $\mu\text{mol NO/mg}$ 超支化聚氨基糖苷类到约1.3 $\mu\text{mol NO/mg}$ 超支化聚氨基糖苷类之间。

[0258] 在一些实施例中,如实例所描述的,在加入到PBS缓冲溶液中的2小时内,释放NO的超支化聚氨基糖苷类释放的其结合的NO的总wt%大于或等于约25%、50%、75%、85%、90%、95%、100%或其范围包含和/或跨越上述值。在若干个实施例中,用于减少或消除生物膜的NO释放以类似的量发生,例如结合的NO的总wt%的约20-25%、约30-50%、约60-75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%以及包含和/或跨越上述值的范围。

[0259] 在一些实施例中,NO释放可以在以下时间段内发生:约0.01小时、0.1小时、0.25小时、0.5小时、1小时、2小时、3小时、4小时、5小时、10小时、15小时、20小时、24小时、36小时、48小时或60小时。在一些实施例中,NO释放发生的时间段小于或等于约0.01小时、0.1小时、

0.25小时、0.5小时、1小时、2小时、3小时、4小时、5小时、10小时、15小时、20小时、24小时、36小时、48小时、60小时或其范围包含和/或跨越上述值。在一些实施例中，NO释放期间不存在亚硝酸。

[0260] 如本文所公开的，可以测量超支化聚氨基糖苷类在2小时的时间段内的NO释放。在一些实施例中，超支化聚氨基糖苷类在2小时后的总NO释放为至少约0.1、0.2、0.25、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0或者其范围包含和/或跨越上述值。例如，在一些实施例中，超支化聚氨基糖苷类在2小时后的总NO释放在约0.2 μmol NO/mg超支化聚氨基糖苷类与约1.0 μmol NO/mg超支化聚氨基糖苷类之间。在其它实施例中，范围在每毫克超支化聚氨基糖苷类约0.25 μmol 到约0.8 μmol NO。

[0261] 在一些实施例中，NO释放可以通过其半衰期来测量。在一些实施例中，NO释放的半衰期以分钟为单位来测量并且可以是至少约10分钟、20分钟、30分钟、40分钟、50分钟、60分钟、70分钟、80分钟、90分钟、100分钟、110分钟、120分钟、130分钟、140分钟、150分钟、160分钟、170分钟、180分钟、190分钟、200分钟、210分钟、220分钟、230分钟或240分钟或者更长。在一些实施例中，NO释放的半衰期包含的范围包含和/或跨越上述值。例如，在一些实施例中，NO释放的半衰期的范围为约10分钟到约240分钟、约70分钟到约190分钟或约80分钟到约150分钟。如本文所使用的，短语“亚硝酸不存在”是指如通过紫外可见光谱(或通过本领域其它接受的方法)确定的无法检测到的亚硝酸水平。

[0262] 在一些实施例中，超支化聚氨基糖苷类的分子量(Mn或Mw)小于或等于约25kDa、15kDa、10kDa、9.5kDa、9kDa、8.5kDa、8kDa、7.5kDa、7kDa、6.5kDa、6kDa、5.5kDa、5kDa、4.5kDa、4kDa、3.5kDa、3kDa、2.5kDa、2kDa、1.5kDa、1kDa或0.5kDa或者其范围包含和/或跨越上述值。例如，在一些实施例中，分子量(Mn或Mw)的范围在约1.5到约7、约1.5到约4.5或约2到约7之间。

[0263] 在一些实施例中，超支化聚氨基糖苷类的多分散性(PDI)小于或等于约2、1.5、1.4、1.3、1.2、1.1或其范围包含和/或跨越上述值。例如，在一些实施例中，多分散性的范围可以在约1.3到约2之间。在一些实施例中，超支化聚氨基糖苷类的氮wt%大于或等于约5%、10%、12.5%、15%、20%或者其范围包含和/或跨越上述值。

[0264] 在一些实施例中，超支化聚氨基糖苷类中的支化度为至少约0.2、0.25、0.3、0.35、0.4、0.45、0.5、0.55、0.6、0.65、0.7、0.75或者其范围包含和/或跨越上述值。例如，在一些实施例中，超支化聚氨基糖苷类的支化度(DB)的范围在约0.2到约0.75、约0.3到约0.6或约0.4到约0.5之间。

[0265] 在一些实施例中，所公开的官能化的释放NO的超支化聚氨基糖苷类具有抗微生物活性。在一些实施例中，在聚合物浓度等于或小于约8mg/mL、6mg/mL、4mg/mL、2mg/mL、1mg/mL、0.5mg/mL或者其范围包含和/或跨越上述值的情况下，在针对铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌、牙龈卟啉单胞菌、伴放线放线杆菌、粘性放线菌和/或变形链球菌中的一个或多个在2小时内在静态条件下进行的细菌活力测定中，所公开的官能化的释放NO的超支化聚氨基糖苷类提供了大于或等于90%的细菌减少。在一些实施例中，在聚合物浓度等于或小于约8mg/mL、6mg/mL、4mg/mL、2mg/mL、1mg/mL、0.5mg/mL或者其范围包含和/或跨越上述值的情况下，在针对革兰氏阳性细菌在2小时内在静态条件下进行的细菌活力测定中，所公开的官能化的释放NO的超支化聚氨基糖苷类提供了大于或等于99%的细菌减少。在一些实施例

中,在聚合物浓度等于或小于约8mg/mL、6mg/mL、4mg/mL、2mg/mL、1mg/mL、0.5mg/mL或者其范围包含和/或跨越上述值的情况下,在针对革兰氏阴性细菌在2小时内静态条件下进行的细菌活力测定中,所公开的官能化的释放NO的超支化聚氨基糖苷类提供了大于或等于99%的细菌减少。在若干个实施例中,细菌减少大于95%、大于98%或大于99%。

[0266] 一些实施例涉及包括如本文所公开的超支化聚氨基糖苷类以及药学上可接受的载剂的药物调配物。

[0267] 一些实施例涉及向受试者递送一氧化氮的方法,所述方法包括向受试者施用有效量的如本文所公开的超支化聚氨基糖苷类。

[0268] 一些实施例涉及通过向细菌和/或微生物施加供给NO的超支化聚氨基糖苷类来杀死细菌和/或微生物的方法。在一些实施例中,细菌为牙齿细菌。在一些实施例中,所公开的化合物可以用于预防蛀牙的方法中。

[0269] 实例

[0270] 超支化聚氨基糖苷类表示可以容易地用NO供体来修饰以用于NO释放应用的新颖可生物降解平台。进一步地,超支化聚氨基糖苷类可以用供给NO的部分来官能化,以提供具有改进的抗菌活性的双重作用抗微生物剂。本文其它地方公开了从两亲性嵌段共聚物系统共同递送氨基糖苷类和NO针对引起感染的病原体、铜绿假单胞菌、浮游生物和生物膜培养物的协同作用。在一个实例中,公开了由各种天然产生的示例性氨基糖苷类(例如,卡那霉素、庆大霉素和新霉素)构建的释放NO的以氨基糖苷类终止的超支化聚氨基糖苷类的合成。改变超支化聚卡那霉素的外部官能团以评估对其NO释放性质的潜在影响。针对广泛范围的常见牙科病原体(即,牙龈卟啉单胞菌、伴放线放线杆菌、变形链球菌和粘性放线菌)来检测这些释放NO的超支化聚氨基糖苷类的抗菌功效。还研究了这些构建体对人牙龈成纤维细胞的细胞毒性。

[0271] 实例1:某些实施例的合成

[0272] 1.1材料与方法

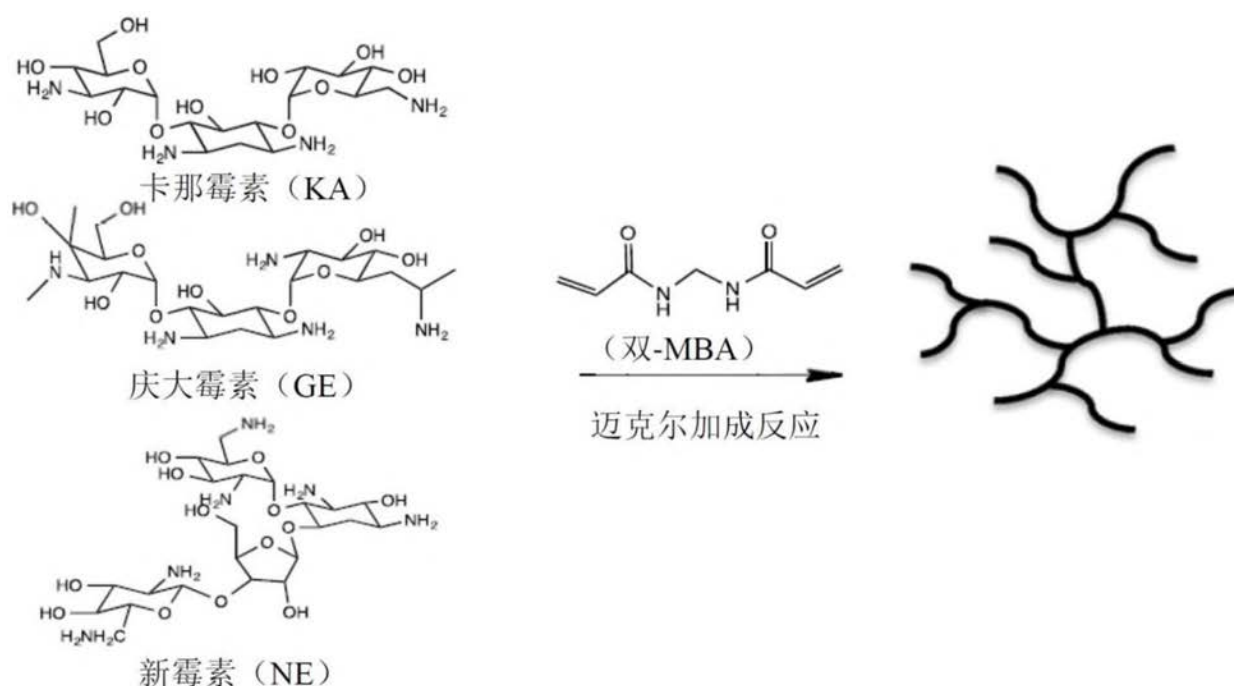
[0273] 从西格玛奥德里奇公司(Sigma-Aldrich)(密苏里州圣路易斯)购买硫酸卡那霉素(KA)、新霉素三硫酸盐水合物(NE)、庆大霉素硫酸盐(GE)、N,N'-亚甲基双(丙烯酰胺)(双-MBA)、乙二胺(EDA)、单乙醇胺(MEA)、碘化丙啶、3-(4,5-二甲基噻唑-2-基)-5-(3-羧基甲氧基苯基)-2-(4-磺苯基)-2H-四唑鎓内盐(MTS)和磷酸盐缓冲盐水(PBS)以供细胞培养。从Calbiochem公司(加利福尼亚州圣地亚哥)购买4,5-二氨基荧光素二乙酸酯(DAF-2DA)。从贝迪医疗公司(Becton, Dickinson, and Company)(新泽西州富兰克林湖)购买CDC厌氧菌5%绵羊血琼脂、脑心浸液(BHI)肉汤和琼脂以及GasPakTMEZ微需氧产气袋(GasPakTMEZ campy container system sachet)。从Acumedia Neogen公司(密歇根州兰辛)购买Wilkins-Chalgren(WC)肉汤。从生命线细胞技术有限责任公司(Lifeline Cell Technology LLC)(马里兰州弗雷德里克)购买人牙龈成纤维细胞系和FibroLife成纤维细胞无血清培养基。从Airgas公司(北卡罗来纳州达勒姆)购买纯一氧化氮气体、氩气、氮气和一氧化氮校准物(氮气为25.87ppm)。从赛默飞世尔科技公司(Fisher Scientific)(宾夕法尼亚州匹兹堡)购买常用的实验室盐和溶剂。使用Millipore Milli-Q UV梯度A10系统(宾夕法尼亚州伯利恒)将水纯化到最终电阻率为18.2MΩ cm并且总有机物含量≤10ppb。在400MHz Bruker仪器上记录质子核磁共振(¹H NMR)光谱。在600MHz Bruker仪器上进行碳核

磁共振 (^{13}C NMR)。在反向门控1H中,将具有10秒保留时间的去耦方法用于定量 ^{13}C NMR。使尺寸排阻色谱与光散射一致 (SEC-LS),以确定分子量和多分散性。使洗脱液 (PBS, 0.01% 叠氮化物, pH值为7.4) 穿过耦合到Waters 2414折光率检测器 (马萨诸塞州米尔福德沃特世公司 (Waters Chromatography, Milford, MA)) 的miniDawn TREOS多角度光散射检测器 (加利福尼亚州圣巴巴拉怀雅特技术公司 (Wyatt Technology, Santa Barbara, CA))。

[0274] 1.2超支化聚氨基糖苷类的合成。

[0275] 通过N,N'-亚甲基双丙烯酰胺 (MBA) 与各种天然氨基糖苷类 (即, 卡那霉素、新霉素和庆大霉素) 之间的迈克尔加成反应来合成超支化聚氨基糖苷类 (HPA)。如方案1所示, 将MBA与氨基糖苷类的摩尔比最初控制在3:2, 以生成氨基糖苷类终止的HPA (即, 分别为HPKA、HPNE和HPGE)。先前已经报道了支架的外部官能团对释放一氧化氮 (NO) 的性质和杀菌活性具有很大影响, 因为末端基团可以改变NO供体分解和细菌-支架缔合行为的动力学。

[0276]



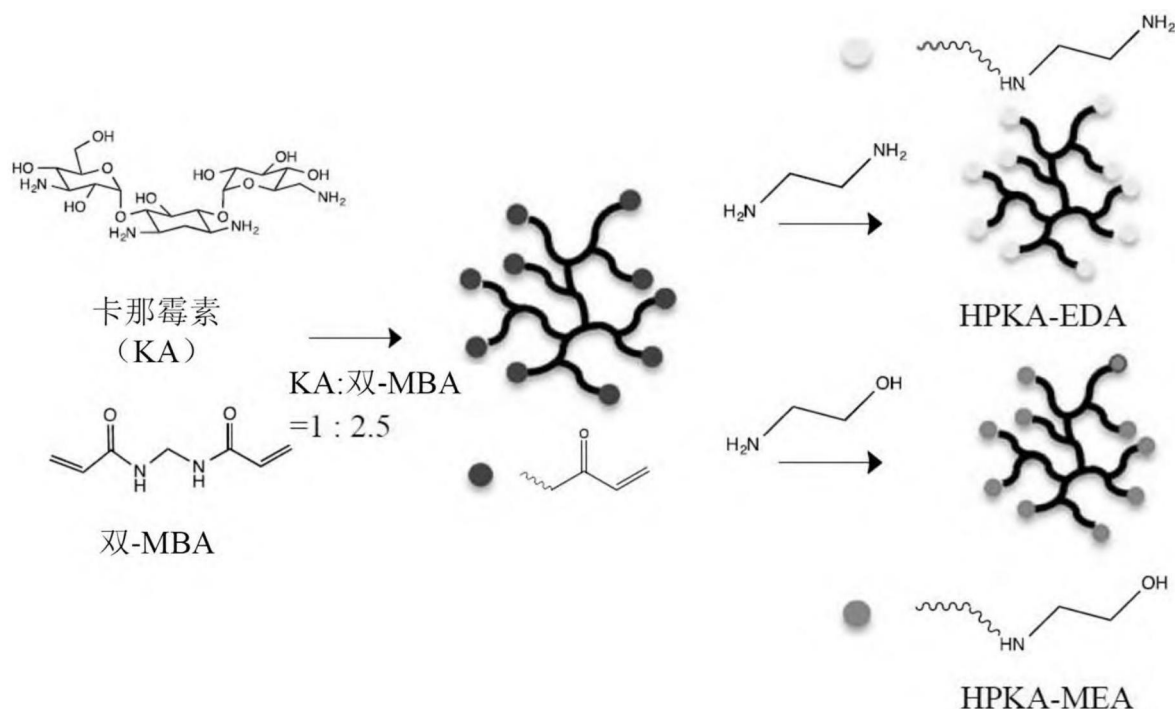
[0277] 方案1. 氨基糖苷类终止的超支化聚氨基糖苷类的合成。

[0278] 超支化聚氨基糖苷类的合成如下。简而言之, 将2.5mmol氨基糖苷类 (KA、NE或GE) 硫酸盐与3.75mmol双-MBA在补充有中和氨基糖苷类上的硫酸酯的碳酸氢钠的50mL去离子 (D.I.) 水中混合, 以生成超支化聚氨基糖苷类 (即, 超支化聚氨基糖苷基卡那霉素 (HPKA)、超支化聚氨基糖苷基新霉素 (HPNE) 或超支化聚氨基糖苷基庆大霉素 (HPGE))。将每个反应混合物在60°C下在氮气流下搅拌3天。通过旋转蒸发来浓缩每种所得溶液, 随后用Milli Q水透析3天。通过冻干法回收经过纯化的产物作为蓬松粉末。

[0279] 1.3超支化聚氨基糖苷类的封端。

[0280] 为了评估对氨基糖苷类进行封端的潜在作用, 使用超支化聚卡那霉素作为实例来制备未以氨基糖苷类终止的超支化聚氨基糖苷类 (方案2)。将MBA与卡那霉素的进料摩尔比增加到5:2, 从而生成乙烯基终止的HPKA*中间体。然后使用乙二胺 (EDA) 或单乙醇胺 (MEA) 作为封端试剂以与HPKA*反应, 从而产生以EDA (HPKA-EDA) 或MEA (HPKA-MEA) 终止的HPKA。

[0281]



[0282] 方案2. 乙二胺或单乙醇胺终止的超支化聚氨基糖苷类的合成.

[0283] 为了获得具有各种外部官能团的HPKA, 首先将2.5mmol KA与6.25mmol MBA在补充有中和氨基糖苷类中存在的硫酸酯的碳酸氢钠的50mL去离子水中混合, 并且在50℃下在氮气流下反应3天. 然后将0.5mL EDA或MEA作为封端剂加入到反应混合物中, 随后在40℃下反应1天以获得HPKA-EDA或HPKA-MEA. 通过旋转蒸发再次浓缩所得溶液, 随后用Milli Q水透析3天. 同样通过冻干法回收经过纯化的产物作为蓬松粉末. 通过核磁共振 (NMR) 光谱法表征超支化聚氨基糖苷类. HPKA、HPNE和HPGE的¹H NMR数据由以下峰值组成 (400MHz, D₂O, δ): 1.0-1.5 (CHCH₂CH)、2.2-3.3 (O=CCH₂CH₂、O=CCH₂CH₂、NCH、CHNH、CHNH₂、CHCH₂NH₂、CHCH₂NH、CHCH₂N)、3.3-3.8 (CH₂OH)、4.4 (NHCH₂NH)、5.0-6.0 (CH (OCH)₂CH). HPKA-MEA和HPKA-EDA由以下峰值组成: 1.0-1.5 (CHCH₂CH)、2.2-3.3 (O=CCH₂CH₂、O=CCH₂CH₂、NCH、CHNH、CHNH₂、CHCH₂NH₂、CHCH₂NH₂、CHCH₂N、CH₂CH₂OH)、3.3-3.8 (CH₂OH)、4.4 (NHCH₂NH)、5.0-6.0 (CH (OCH)₂CH)。

[0284] 1.4超支化聚氨基糖苷类的分子量和多分散性.

[0285] 通过尺寸排阻色谱-光散射 (SEC-LS) 表征来确定HPA的分子量和多分散性指数 (PDI), 并且数据总结在表1中。

[0286] 表1. 超支化聚氨基糖苷类的表征.

[0287]

多糖	Mn ^a (g mol ⁻¹)	Mw ^a (g mol ⁻¹)	PDI ^a	DB ^b	氮 ^c (wt%)
HPKA	4.30x10 ³	6.70x10 ³	1.56	0.49	10.71
HPNE	1.63x10 ⁴	2.07x10 ⁴	1.27	0.58	12.23
HPGE	2.35x10 ⁴	3.92x10 ⁴	1.67	0.32	14.21
HPKA-EDA	3.73x10 ³	5.74x10 ³	1.54	0.45	15.18
HPKA-MEA	3.63x10 ³	7.07x10 ³	1.95	0.46	12.70

^a 通过 SEC-LS 表征来确定分子量。 ^b 基于定量 ¹³C NMR 来估计支化度 (DB)。

^c 通过 CHN 元素分析来确定氮 (wt%)。

[0288] 发现HPA的分子量取决于氨基糖苷类的一致性,这最可能是由于氨基糖苷类的不同反应性。发现HPKA-EDA和HPKA-MEA的分子量和PDI与HPKA类似。通过¹H NMR、FTIR和¹³C NMR (支持信息) 来进一步表征这些HPA。通常,在峰值5.6-6.6ppm处二丙烯酸酯的双键的消耗以及在2.2-3.0ppm处新形成的饱和双键的出现证实了氨基糖苷类与双-MBA之间的聚合(图3A-3E)。FTIR光谱示出了位于~2930cm⁻¹和~2840cm⁻¹处的谱带,所述谱带被分配给CH₂伸缩振动。同时,将~1650cm⁻¹和~1530cm⁻¹处的谱带分别分配给双-MBA的羰基伸缩和氨基糖苷类的氨基弯曲振动,从而进一步证实了聚合的成功(图4A-4E)。定量¹³C NMR提供了超支化结构形成的证据。作为典型的超支化聚合物,HPA由树突状单元、线性单元和末端单元构成。25-60ppm之间的各个峰值的出现是由于乙烯基团(即,-CH₂-CH₂-)在不同化学环境(即,树突状单元和线性单元)下形成。根据先前的报道确定这些乙烯基团的详细分配,并且结果在图5A-5E中给出。基于以下等式来估计支化度(DB): $DB = 2D / (2D + L) \cdot 15, 25$ 。HPKA、HPNE和HPGE的DB范围为0.32到0.58(表1)。DB的差异再次归因于氨基糖苷类的不同反应性。HPKA-MEA和HPKAEDA的DB与HPKA相当(即,HPKA-EDA为0.45并且HPKA-MEA为0.46)。

[0289] 实例2:某些实施例的NO释放特性

[0290] 经过N-二醇二氮烯鎓NO供体修饰的多糖的合成。

[0291] 用于NO释放应用的大分子支架(例如,二氧化硅、聚酰胺型胺树突状化合物、壳聚糖)常常需要另外的修饰步骤来产生反应性位点以供NO供体加入。超支化聚氨基糖苷类受益于线性单元的存在,所述线性单元提供可以用N-二醇二氮烯鎓NO供体(或其它NO供体)直接官能化的仲胺。

[0292] 为了赋予NO释放容量,使HPA与高压(10atm)NO在碱性溶液中反应,从而产生N-二醇二氮烯鎓NO供体官能化的HPA(即,HPKA/NO、HPNE/NO、HPGE/NO、HPKA-EDA/NO和HPKA-MEA/NO)。简言之,将超支化聚氨基糖苷类(20mg)与20μL甲醇钠(5.4M)在1mL去离子水中混合。将反应器用氩气冲洗三次,随后再用更长的时间(每次10分钟)另外冲洗三次以除去氧气。然后用通过KOH团粒预纯化的10atm NO来填充反应器。保持压力以允许在聚合物的仲胺上形成N-二醇二氮烯鎓NO供体。3天之后,使用与上述程序相同的程序再次用氩气冲洗反应器以除去未反应的NO。用丙酮来沉淀产物(即,HPKA/NO、HPNE/NO、HPGE/NO、HPKA-EDA/NO和HPKA-MEA/NO),随后用甲醇进行洗涤并且在真空箱中进行干燥。

[0293] NO结合的HPA的表征

[0294] 通过紫外可见光谱分析证实成功形成了N-二醇二氮烯鎓NO供体,如在~250nm处出现的峰所示,此时不存在不释放NO的支架(图6)。¹H NMR和SEC-LS表征(未示出)证实了在

与NO反应之后支架的完整性。

[0295] 一氧化氮释放的表征。

[0296] 使用化学发光一氧化氮分析仪来评估支架在PBS (pH 7.4, 37°C) 中的NO释放性质。在37°C下, 将具有准确称重质量(~1mg)的释放NO的超支化聚氨基糖苷类加入到脱氧的10mM磷酸盐缓冲盐水(PBS, 30mL, pH 7.4)中。以70mL min⁻¹的流速使氮气鼓泡穿过此溶液, 以将放出的NO携带到Sievers化学发光一氧化氮分析仪(科罗拉多州博尔德)。向烧瓶中提供另外的氮气流以匹配仪器在200mL min⁻¹下的收集速率。记录实时NO释放曲线, 直到观察到的NO水平降低到低于10ppb mg⁻¹支架。将总NO储存量归一化到加入的支架的质量作为μmol NO mg⁻¹支架。

[0297] 对于氨基糖苷类终止的HPA, 观察到总NO储存量(~0.41μmol mg⁻¹到~0.60μmol mg⁻¹)和NO释放动力学($t_{1/2}$ ~81分钟到~147分钟)的差异(参见表2)。如氮含量所示(表1), 这归因于这些构建体的胺浓度差异。与HPKA/NO和HPNE/NO相比, 含有最高胺浓度的HPGE/NO表现出最大的NO总量和最大延伸的NO释放动力学。在不受理论束缚的情况下, 较长的半衰期可能是由于通过稳定N-二醇二氮烯鎓阴离子的邻近阳离子胺形成了分子内氢键合。也可能是周围的胺的存在增加了局部pH值, 从而减缓了质子引发的N-二醇二氮烯鎓分解。

[0298] 表2. 多糖的一氧化氮释放表征。^a

[0299]

多糖	$t[\text{NO}]$ (μmol mg ⁻¹) ^b	$t[\text{NO}]2\text{h}$ (μmol mg ⁻¹) ^c	$t_{1/2}$ (min) ^d
HPKA/NO	0.41 ± 0.08	0.23 ± 0.07	81 ± 30
HPNE/NO	0.54 ± 0.14	0.29 ± 0.08	103 ± 33
HPGE/NO	0.60 ± 0.14	0.25 ± 0.07	147 ± 23
HPKA-EDA/NO	1.20 ± 0.21	0.46 ± 0.07	185 ± 25
HPKA-MEA/NO	1.28 ± 0.28	0.77 ± 0.17	74 ± 21

^a n ≥ 3 次单独合成; ^b 每毫克聚酯的总 NO 储存量; ^c 最初 2 小时的 NO 释放量; ^d NO 释放的半衰期。

[0300] 将HPKA的末端基团从KA交换为EDA或MEA导致NO释放总量意外增加(图7)。如氮含量(wt%)所示, 即使胺含量没有显著变化, 但是与HPKA/NO(~0.41μmol mg⁻¹)相比, HPKA-EDA/NO和HPKA-MEA/NO还是表现出更高的NO总量(~1.20μmol mg⁻¹)。在不受理论束缚的情况下, 据信, 观察到的HPKA-EDA的较高氮含量是由于引入了更多伯胺, 伯胺不对形成稳定的N-二醇二氮烯鎓NO供体有帮助。因此, 在不受特定理论束缚的情况下, 据推理, NO总量的差异是由于影响仲胺与NO的反应性的仲胺位置。对于HPKA, 由线性单元提供的仲胺将会沿聚合物主链随机分布(方案1)。内部仲胺可以具有有限的反应性以形成NO供体。

[0301] 相比之下, HPKA-EDA和HPKA-MEA的合成将会导致仲胺在支架外部浓缩, 从而产生增强的NO供体形成功效(方案2)。外部官能团的一致性也大大地影响了NO释放动力学。在不受特定理论束缚的情况下, 据信, 这一增强可归因于化学结构的差异。与HPKA-MEA/NO($t_{1/2}$ ~74分钟)相比, HPKA-EDA/NO($t_{1/2}$ ~185分钟)的NO释放动力学延伸更多。据信, 氢键合的形成以及局部pH值(例如, 局部pH值差异)对所得的NO释放动力学起作用。据信, 来自EDA的末端伯胺稳定了NO供体并且增加了局部pH值, 从而产生了较慢的NO释放曲线(图7)。

[0302] 实例3: 某些实施例的抗微生物特性

[0303] 以下描述了使用HPA的实例实施例执行的测试。针对各种引起牙齿疾病的细菌物种(即,牙龈卟啉单胞菌、伴放线放线杆菌、粘性放线菌和变形链球菌)来评估对照物和释放NO的HPA的抗菌活性。具体地,牙龈卟啉单胞菌和伴放线放线杆菌属于革兰氏阴性类并且通常与牙周病有关。变形链球菌和粘性放线菌是革兰氏阳性物种并且被认为是龋齿的关键病原。本公开所选择的广泛范围的牙齿细菌物种确保了在口服治疗剂方面所得结论的潜在普遍性。

[0304] 浮游杀菌测定。

[0305] 最初将浮游细菌物种(即,牙龈卟啉单胞菌、伴放线放线杆菌、变形链球菌和粘性放线菌)在-80℃下储存在15%甘油PBS中。为了进行杀菌测定,使冻存物在37℃下在BHI肉汤(用于牙龈卟啉单胞菌的W-C厌氧肉汤)中生长过夜,并且允许生长到形成通过光密度(OD 600nm)确定的每毫升单位(CFU mL⁻¹)的10⁸个菌落。对牙龈卟啉单胞菌进行厌氧培养。在微需氧环境中培养伴放线放线杆菌和粘性放线菌。对变形链球菌进行有氧培养。然后将细菌在1%BHI(用于牙龈卟啉单胞菌的W-C厌氧肉汤)补充的PBS中稀释到10⁶CFU/mL并且在37℃下暴露于各种释放NO的材料和各自的对照材料2小时。

[0306] 针对浮游牙科病原体的杀菌研究。

[0307] 在营养补充条件下(即,1%肉汤补充的PBS,pH 7.4,37℃)执行杀菌测定。使用最小杀菌浓度(MBC,mg mL⁻¹)(细菌活力降低3-log)来量化支架抗菌功效。为了量化材料对浮游细菌的抗菌能力,确定最小杀菌浓度(例如,2小时后实现活力降低3-log所需的材料的最小浓度)。

[0308] 通过将在2小时的暴露时间内递送的NO的量(即,t[NO]_{2h})与对应的MBC值相乘来得到NO剂量。表3和表4中提供了MBC和NO剂量的值。释放NO的HPA的与对照(即,不释放NO的)HPA相比低得多的MBC值证明NO是杀菌剂。实际上,据信,NO可以通过引入细胞外亚硝化应激和细胞内氧化应激来发挥抗菌能力,从而经由多种机制导致细胞死亡。对MBC值和NO剂量的进一步检查显示,与革兰氏阳性细菌物种(即,变形链球菌和粘性放线菌)相比,革兰氏阴性菌(即,伴放线放线杆菌和牙龈卟啉单胞菌)对NO处理更敏感。在不受特定理论束缚的情况下,这归因于革兰氏阳性细菌较厚的肽聚糖细胞膜,所述较厚的肽聚糖细胞膜对NO扩散更具抗性,这与先前的观察结果一致。

[0309] 表3. 聚氨基糖苷类针对革兰氏阴性牙科病原体的最低杀菌浓度(MBC,mg mL⁻¹)和NO剂量(μmol mL⁻¹)。 ^a

[0310]

多糖	牙龈卟啉单胞菌		伴放线放线杆菌	
	MBC (mg mL ⁻¹)	NO 剂量 (μmol mL ⁻¹)	MBC (mg mL ⁻¹)	NO 剂量 (μmol mL ⁻¹)
HPKA	16		16	
HPKA/NO	2	0.46	1	0.23
HPNE	16		8	
HPNE/NO	0.5	0.15	0.5	0.15
HPGE	>16		16	
HPGE/NO	4	1.00	2	0.50
HPKA-EDA	>16		16	
HPKA-EDA/NO	4	1.84	2	0.92
HPKA-MEA	>16		16	
HPKA-MEA/NO	2	1.54	1	0.77

[0311] ^a n≥3次重复

[0312] 表4. 多糖针对革兰氏阳性牙科病原体的最低杀菌浓度 (MBC, mg mL⁻¹) 和NO剂量 (μmol mL⁻¹). ^a

[0313]

多糖	变形链球菌		粘性放线菌	
	MBC (mg mL ⁻¹)	NO 剂量 (μmol mL ⁻¹)	MBC (mg mL ⁻¹)	NO 剂量 (μmol mL ⁻¹)
HPKA	>16		>16	
HPKA/NO	4	0.92	2	0.46
HPNE	>16		8	
HPNE/NO	4	1.16	1	0.29
HPGE	>16		>16	
HPGE/NO	>16	>4.00	4	1.00
HPKA-EDA	>16		16	
HPKA-EDA/NO	16	7.36	2	0.92
HPKA-MEA	>16		>16	
HPKA-MEA/NO	8	6.16	4	3.08

[0314] ^an≥3次重复

[0315] 对于具有不同氨基糖苷类一致性的HPA, 具有较高DB (分支度) 的HPKA/NO和HPNE/NO与具有较低DB的HPGE/NO相比, 表现出优越的杀菌活性。据信, 随着超支化聚合物的DB的增大, 空间结构会随着流体动力学尺寸的减小而变得更紧凑。因此, HPKA/NO和HPNE/NO增强的杀菌能力可以是比HPGE/NO更小的尺寸的结果, HPGE/NO实现了更高效的细菌-支架缔合和渗透, 从而最终改进了细胞内NO递送功效。值得注意的是, 观察到的HPKA/NO和HPNE/NO的MBC值和NO剂量显著低于 (即, $MBC \leq 4 \text{ mg mL}^{-1}$) 先前报道的释放NO的支架 (即, $MBC \leq 48 \text{ mg mL}^{-1}$) 的MBC值和NO剂量, 从而表面了使用释放NO的超支化聚氨基糖苷类来对抗牙科病原体的优越性。

[0316] 如针对测试的牙科病原体实现相同的杀死所需的增加的NO剂量所证实的, 将HPKA的外部官能团从KA交换到EDA或MEA导致其杀菌功效减小。另外, 观察到HPKA-EDA/NO和HPKA-MEA/NO的NO剂量在根除牙科病原体方面是相当的, 但是具有不同的NO释放动力学。这

些数据表明,氨基糖苷类末端基团的存在是促进HPKA/NO的杀菌能力与HPKA-EDA/NO和HPKA-MEA/NO相比增强的因素。

[0317] 用于可视化细胞内NO累积和细菌细胞膜破坏的共焦荧光显微镜法。

[0318] 为了阐明在杀菌作用方面观察到的这一差异的机制,使用共聚焦荧光显微镜法分别利用DAF-2DA和PI荧光探针来可视化细胞内NO和细胞膜损伤(图8A和8B)。在将变形链球菌暴露于HPKA/NO之后,观察到初始细胞内NO累积(在30分钟时),随后出现细胞膜损伤和累积的NO的耗竭(从60分钟开始)。然而,在将变形链球菌暴露于相同浓度下的HPKA-MEA/NO之后,仅观察到出现具有很少细胞膜损伤的细胞内NO。共焦荧光数据表明,HPKA/NO的改进的杀菌作用是通过卡那霉素末端基团与NO之间的协同作用产生更高效的细胞膜损伤的结果。

[0319] 如上文所描述的,将示例性细菌(即,变形链球菌)培养到 108CFU mL^{-1} 并且用培养基(即,PBS)稀释到 106CFU mL^{-1} ,所述培养基补充有用于检测细胞内NO累积的 $10\mu\text{M}$ DAF-2DA和用于检测细胞膜损伤的 $30\mu\text{M}$ PI。将细菌溶液(3mL)在玻璃底共焦皿中在 37°C 下预培育45分钟。使用具有带BP 505-530nm滤片的488nm Ar激发激光器(20.0mW,2.0%强度)的Zeiss 510Meta倒置激光扫描共焦显微镜(纽约州索恩伍德卡尔蔡司公司(Carl Zeiss, Thornwood, NY))来获得DAF-2DA信号(绿色)。使用具有带BP 560-615nm滤片的543nm HeNe激发激光器(1.0mW,20.0%强度)来获得PI信号(红色)。使用具有带 $40\times$ 物镜的N.A.1.2C-复消色差浸水透镜来收集明视场图像和荧光图像两者。以 $100\mu\text{g mL}^{-1}$ 的最终浓度将细菌培养物暴露于HPKA/NO或HPKA-MEA/NO。每15分钟收集一次图像。

[0320] 体外细胞毒性。

[0321] 针对哺乳动物细胞的毒性是评估新开发的抗菌剂的重要因素。为了评估这些超支化聚氨基糖苷类用作口服治疗剂的潜力,在各个浓度下测试针对用于评估牙科材料的常见细胞系人牙龈成纤维细胞(HGF-1)的细胞毒性。在暴露2小时之后,通过MTS测定来监测HGF-1的活力。

[0322] 使人牙龈成纤维细胞(HGF-1)在FibroLife成纤维细胞无血清培养基中生长,并且在 37°C 下在湿润条件下在5col%CO₂中培育。在达到80%的汇合之后对细胞进行胰蛋白酶消化,随后以 $\sim 2\times 10^4$ 个细胞/毫升的密度接种到经过组织培养处理的聚苯乙烯96孔板上。将板进一步在 37°C 下培育24小时。然后吸出上清液并且用100 μL 具有不同浓度的超支化聚氨基糖苷类支架的新鲜生长培养基来替换。在 37°C 下培育2小时之后,吸出上清液并且用DPBS洗涤。然后将DMEM/MTS/PMS(105/20/1,v/v/v)溶液(100 μL)的混合物加入到每个孔中,并且在 37°C 下培育3小时。使用Thermoscientific Multiskan EX读板仪(马萨诸塞州沃尔瑟姆)在490nm处量化有色溶液的吸光度。分别使用DMEM/MTS/PMS的混合物以及未经处理的细胞作为空白和对照物。将结果表达为相对细胞活力的百分比,如下:

[0323] 细胞活力% = $[(\text{Abs}_{490} - \text{Abs}_{\text{blank}}) / (\text{Abs}_{\text{control}} - \text{Abs}_{\text{blank}})] \times 100\%$ (等式1)

[0324] 通过绘制细胞活力%与浓度(mg mL^{-1})的关系来构建不释放NO的超支化聚氨基糖苷类和释放NO的超支化聚氨基糖苷类的杀伤曲线。

[0325] 对于以氨基糖苷类终止的对照超支化聚合物,HPNE表现出最高毒性,而HPGE表现出最低毒性,这与其杀菌能力一致。在高浓度(即 $\geq 8\text{mg mL}^{-1}$)下将HPKA的外部官能团从KA交换为EDA或MEA减小了支架的毒性,从而表明在这些浓度下,氨基糖苷类末端基团可能对哺乳动物细胞产生一定程度的副作用(图9A和9B)。与对照超支化聚氨基糖苷类相比,NO释放

能力的加成抑制了HGF-1的活力(图4A-4E)。然而,发现HPKA/NO是无毒的(即,细胞活力 $\geq 80\%$),并且发现HPNE/NO在其有效杀菌浓度(即, 4mg mL^{-1})下对HGF-1表现出最小毒性(即,细胞活力 $\geq 50\%$)。

[0326] 结论

[0327] 本文提供了用于制备能够在广泛范围内进行NO储存和释放动力学的超支化聚氨基糖苷类的合成方案。总NO储存量和关联的NO释放动力学显著依赖于氨基糖苷类单体和特定外部官能团的一致性。针对常见牙科病原体检查了释放NO的超支化聚氨基糖苷类的抗菌作用。产生更高效的细胞损伤的、氨基糖苷类末端基团和NO释放能力的组合有助于改进支架的杀菌能力。在一些实施例,发现氨基糖苷类末端基团和NO的组合会产生更大的细菌膜损伤和杀菌作用。

[0328] 实际上,释放NO的超支化聚卡那霉素和聚新霉素表现出广谱杀菌作用。有利的NO有效负载、释放动力学、杀菌作用和细胞毒性表明这些生物聚合物支架对除口腔健康之外的许多治疗应用展现出很好的前景。例如,在一些实施例,HPKA/NO和HPNE/NO对革兰氏阳性致龋病原体和革兰氏阴性牙周病原体两者表现出广谱抗菌活性。由于还发现这些超支化聚氨基糖苷类并未对哺乳动物细胞引发显著毒性,因此可以期望这些超支化聚氨基糖苷类可用于口服治疗剂。

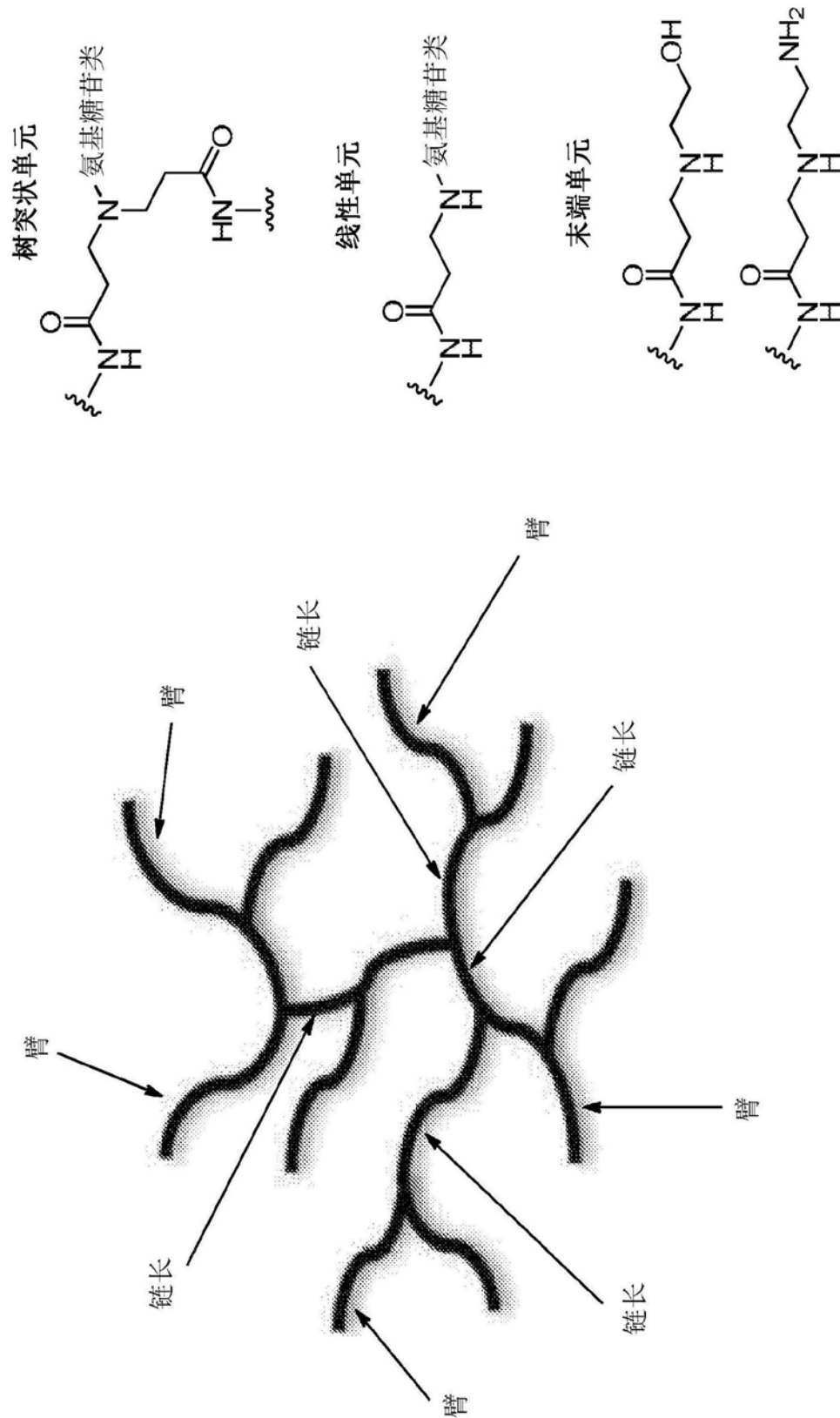


图1

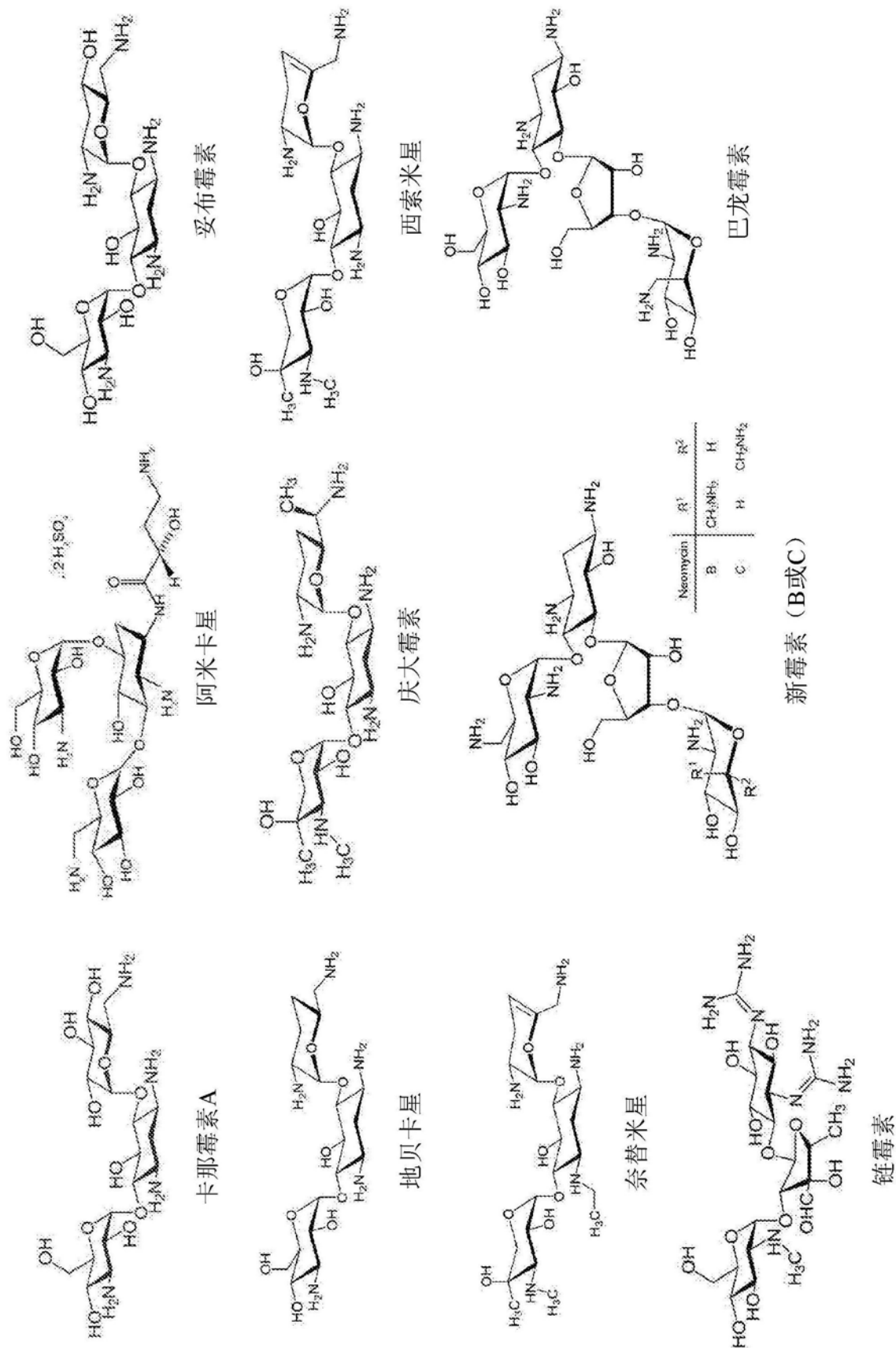


图2

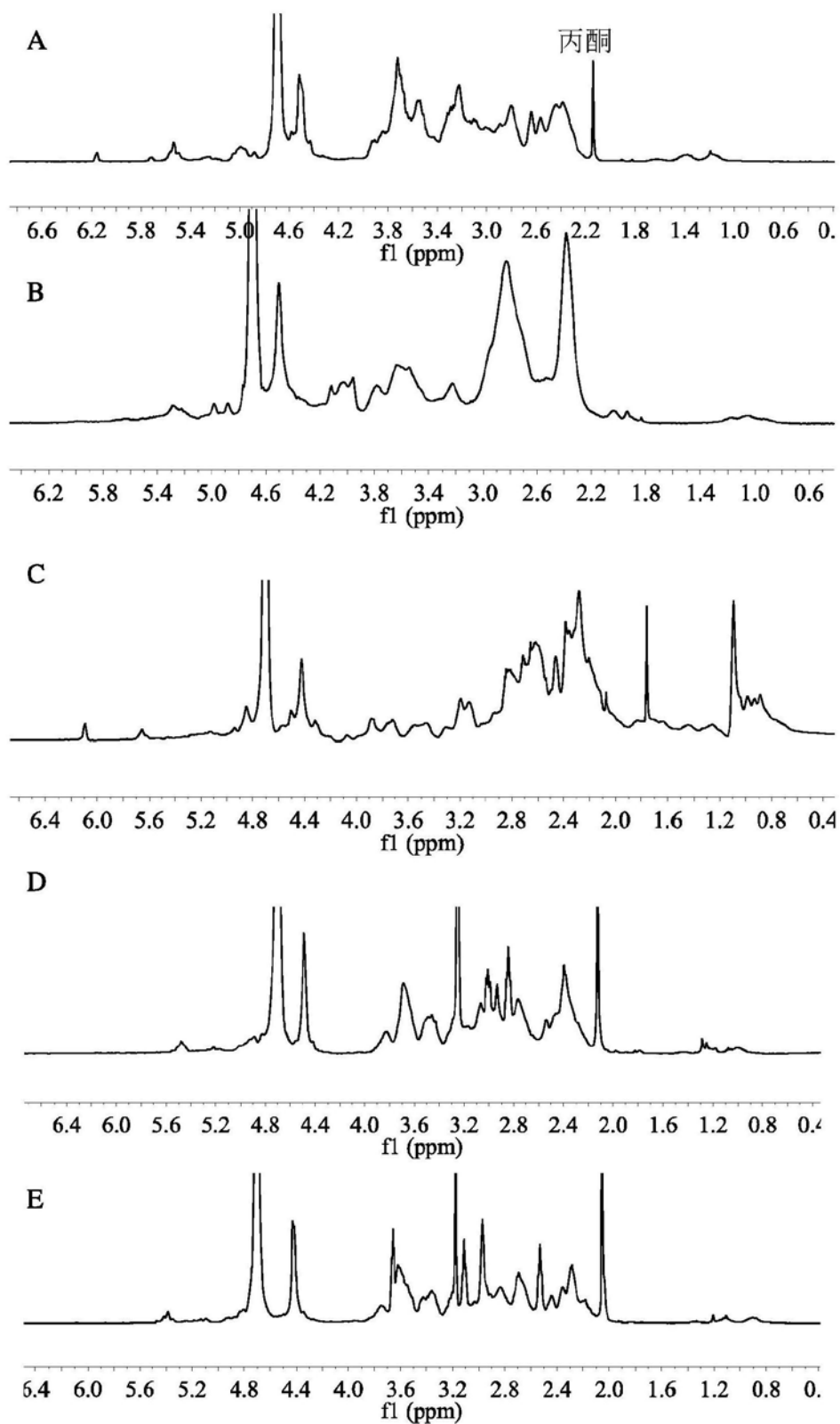


图3A-3E

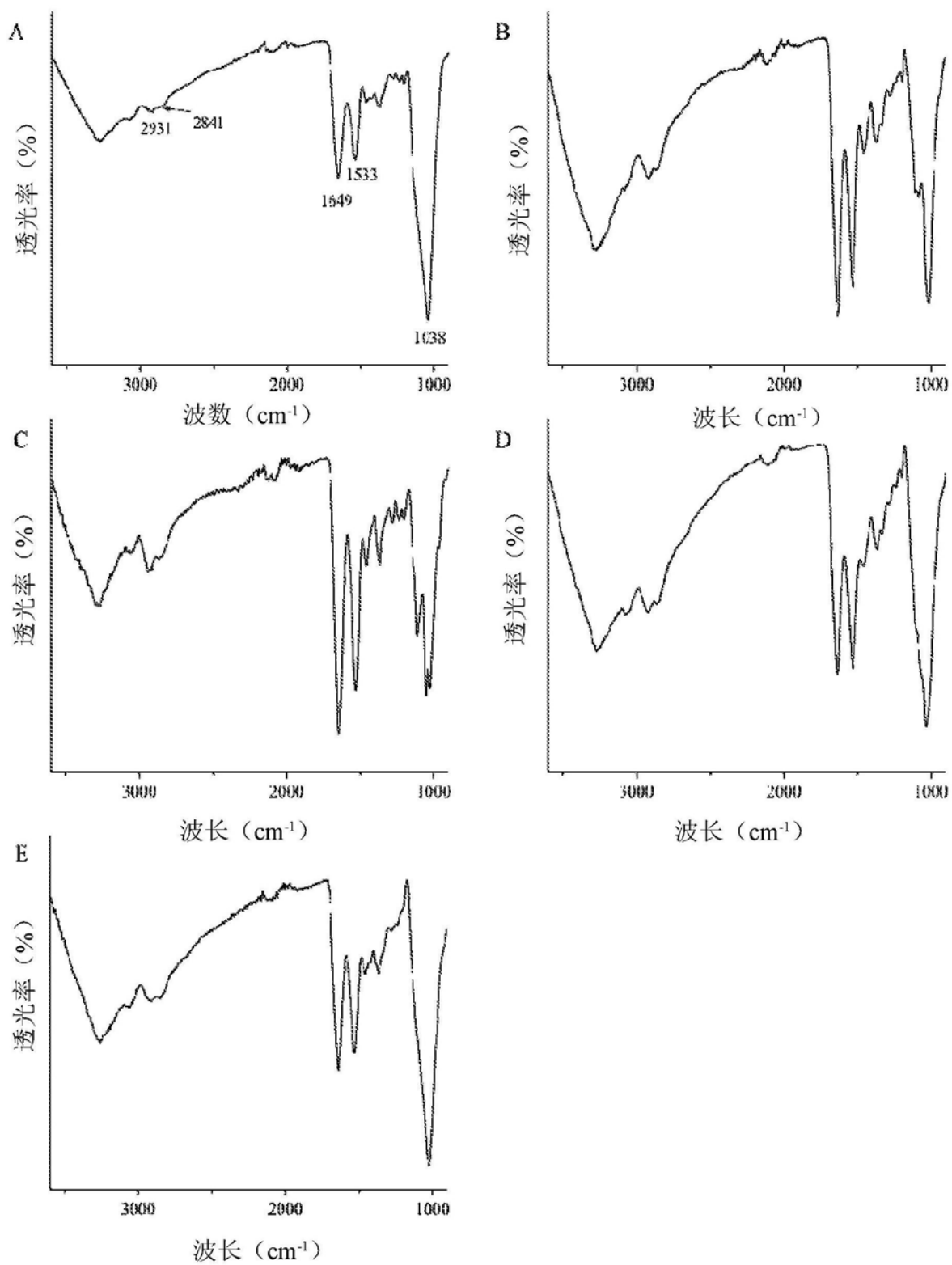
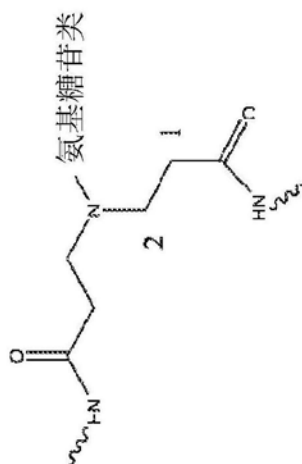
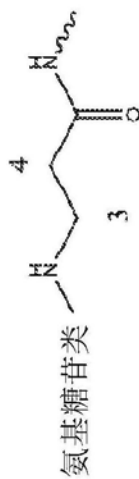


图4A-4E

树突状单元



线性单元



末端单元

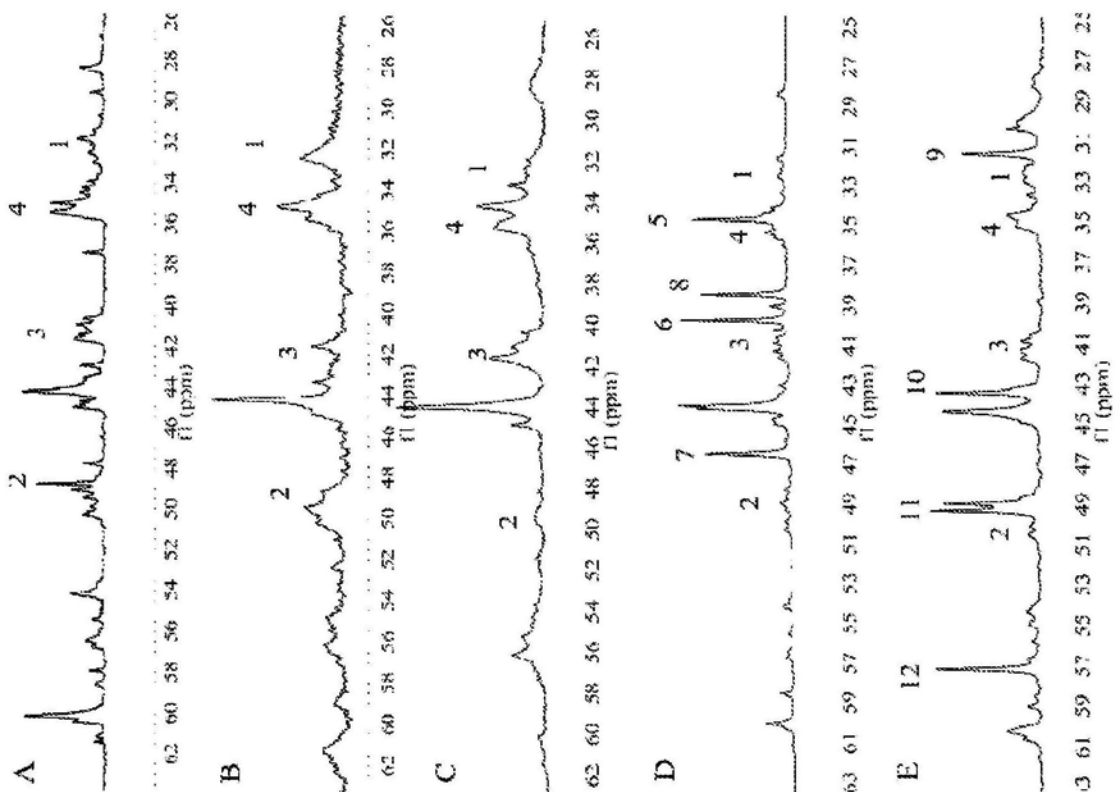
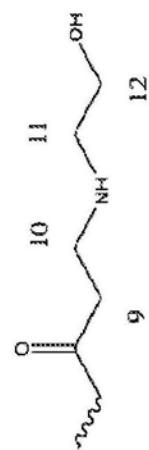
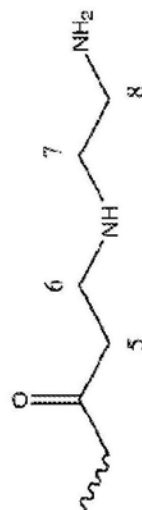


图5A-5E

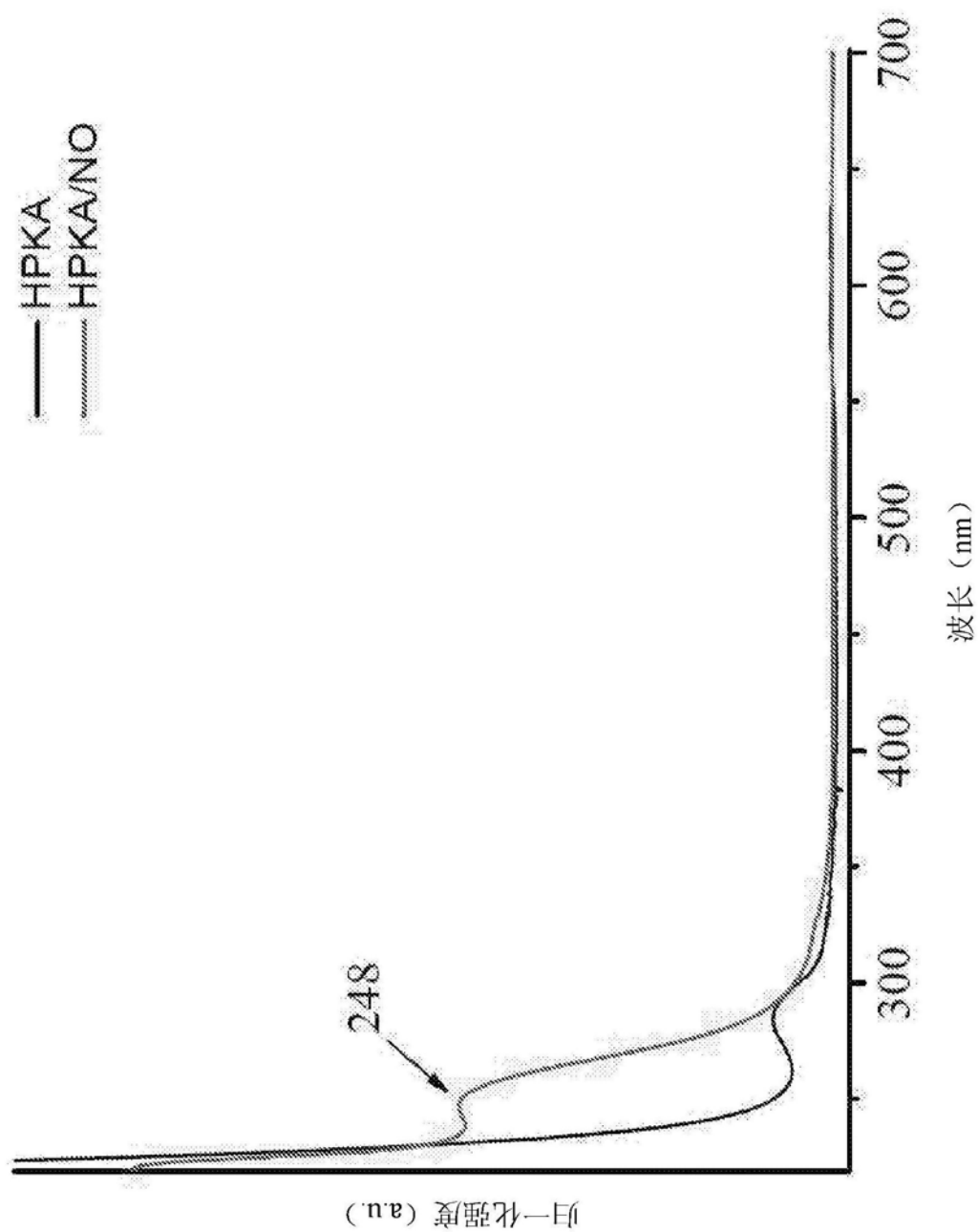


图6

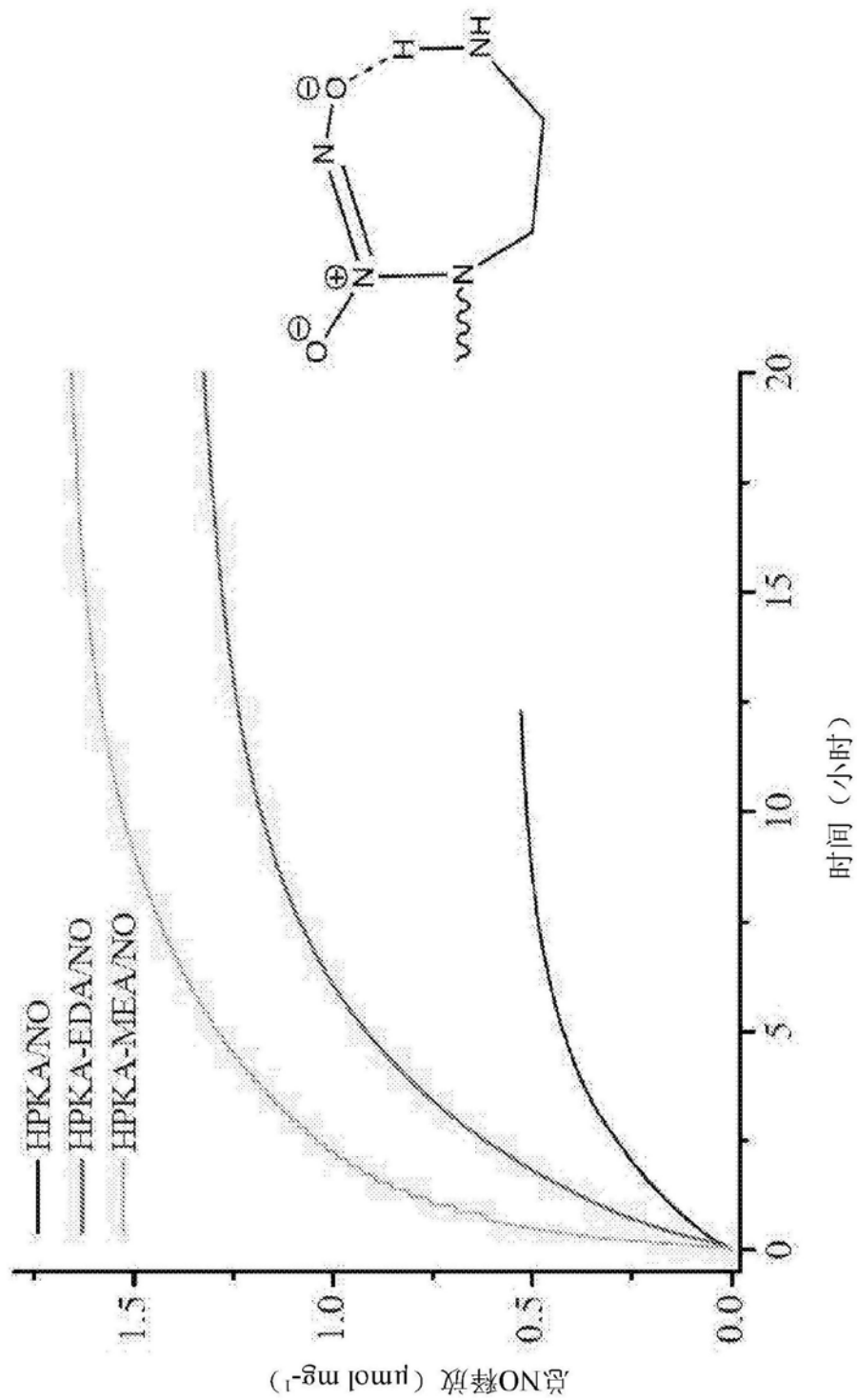


图7

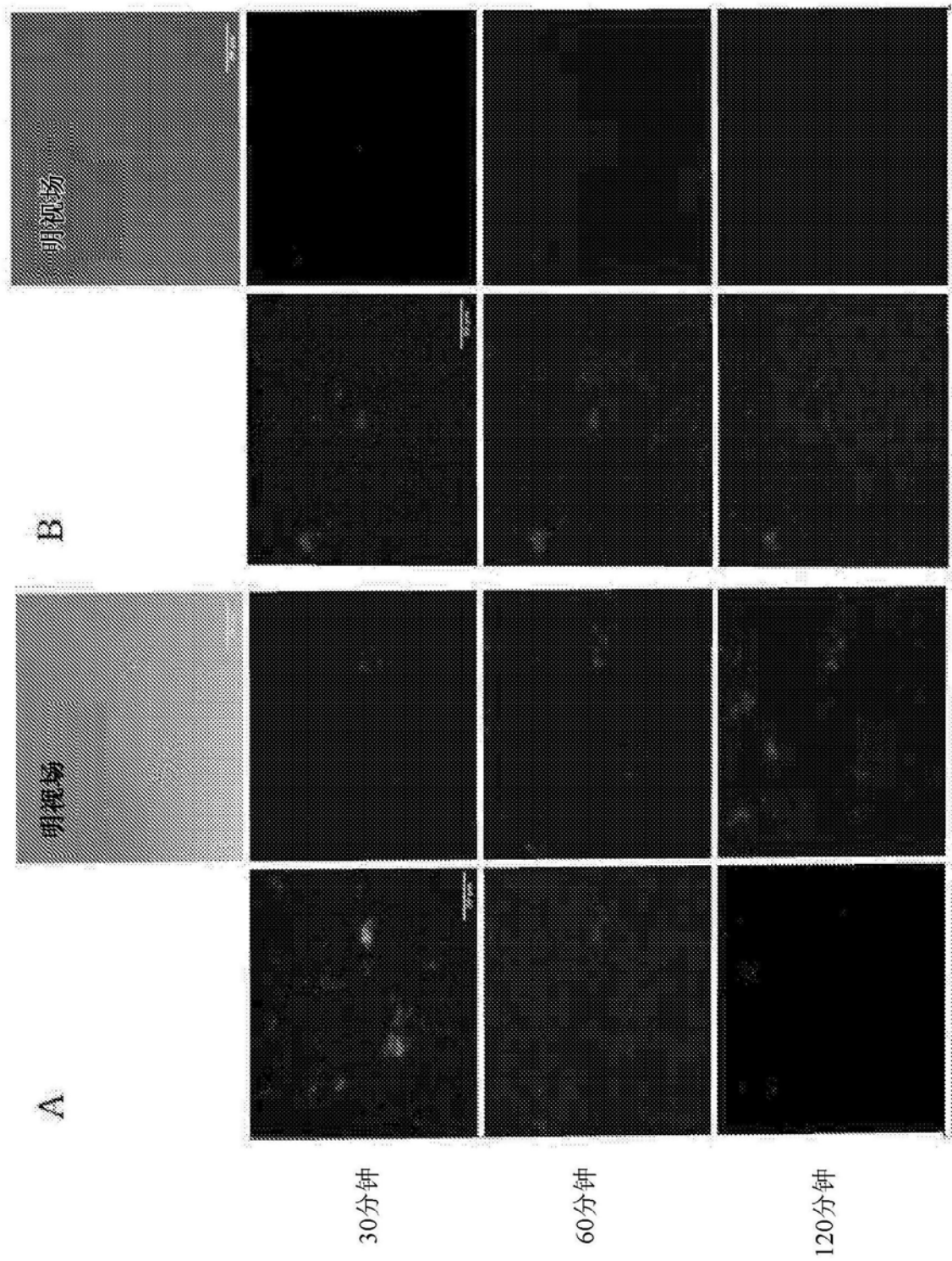


图8A和8B

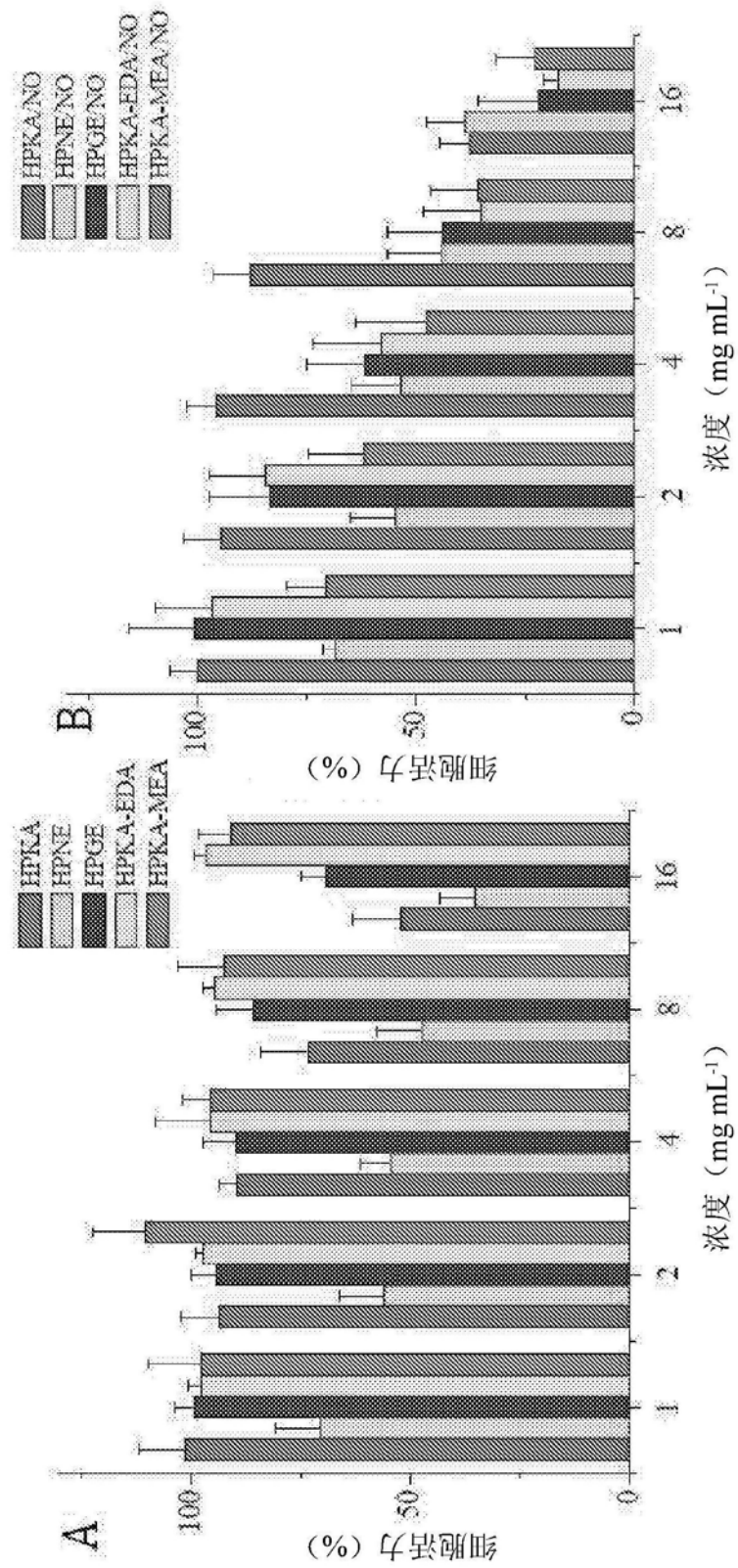


图9A和9B