

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
23. August 2001 (23.08.2001)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 01/60378 A2

- (51) Internationale Patentklassifikation⁷: **A61K 31/70** (81) Bestimmungsstaaten (*national*): AE, AG, AL, AM, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CN, CR, CU, CZ, DM, DZ, EE, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, RO, RU, SD, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.
- (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP01/01753 (84) Bestimmungsstaaten (*regional*): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- (22) Internationales Anmeldedatum:
16. Februar 2001 (16.02.2001)
- (25) Einreichungssprache: Deutsch (26) Veröffentlichungssprache: Deutsch
- (30) Angaben zur Priorität:
100 06 989.4 16. Februar 2000 (16.02.2000) DE
- (71) Anmelder (*für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US*): N.V. NUTRICIA [NL/NL]; Eerste Stationsstraat 186, NL-2712 HM Zoetermeer (NL).
- (72) Erfinder; und
- (75) Erfinder/Anmelder (*nur für US*): STAHL, Bernd [DE/DE]; Pfingstweidstrasse 39, 61381 Friedrichsdorf (DE). BOEHM, Günther [DE/DE]; Haselheckstrasse 1, 61209 Echzell (DE).
- (74) Anwalt: KÖSTER, Hajo; Propindus Patentanwälte, Jaeger und Köster, Pippinplatz 4a, 82131 Gauting b. München (DE).

Veröffentlicht:

- ohne internationales Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts

Zur Erklärung der Zwei-Buchstaben-Codes, und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: ANTIADHESIVE CARBOHYDRATES

(54) Bezeichnung: ANTIADHÄSIVE KOHLENHYDRATE

WO 01/60378 A2

(57) Abstract: The invention relates to a pharmaceutical or dietetic preparation which serves for reducing and/or blocking the adhesion of pathogenic substances and organisms to eucaryontic cells, especially mammal cells. Said preparation contains at least one carbohydrate having an uronic acid unit on one of the ends thereof. 10 to 100 % of the present, terminal uronic acid units pertaining to the carbohydrates are provided with a double bond that is especially situated between the C₄ and the C₅ atom.

(57) Zusammenfassung: Es wird ein pharmazeutisches oder diätetisches Präparat bereitgestellt, das zur Verringerung und/oder Blockierung der Adhäsion von pathogenen Substanzen und Organismen an eukaryontische Zellen, insbesondere Säugerzellen dient. Dieses Präparat enthält mindestens ein Kohlenhydrat mit einer Uronsäureeinheit an einem seiner Enden. 10 bis 100 % der vorhandenen, endständigen Uronsäureeinheiten der Kohlenhydrate besitzen dabei eine Doppelbindung, die insbesondere zwischen dem C₄- und C₅-Atom liegt.

Antiadhäsive Kohlenhydrate

BESCHREIBUNG

- Die Erfindung betrifft ein pharmazeutisches oder diätetisches Präparat zur Verringerung und/oder Blockierung der Adhäsion von pathogenen
- 5 Substanzen und Organismen an eukaryontische Zellen, insbesondere Säugerzellen, das mindestens ein antiadhäsives Kohlenhydrat mit einer Uronsäureeinheit an einem seiner Enden enthält, und die Verwendung dieses Präparates und der darin enthaltenen Kohlenhydrate zu den genannten Zwecken.
- 10 Die Adhäsion sowohl pathogener Organismen als auch zellschädigender Substanzen an die Oberfläche der Säugerzellen ist der erste Schritt und eine unabdingbare Voraussetzung für eine Infektion bzw. Schädigung der Zelle. Die Interaktion zwischen den Pathogenen und den Zellen kommt durch eine Ligand-Rezeptor-Beziehung zustande, die damit ein
- 15 wichtiger Virulenz- bzw. Toxizitätsfaktor der Pathogene ist. Unter Pathogene sind dabei zumindest Bakterien, Viren, Pilze, einzellige und mehrzellige Parasiten, Toxine und Schwermetallkationen zu verstehen. Bei dieser Ligand-Rezeptor-Beziehung spielen Glycostrukturen eine wichtige Rolle.
- 20 Eine Möglichkeit, diese Ligand-Rezeptor-Beziehung zumindest zu vermindern oder vollständig zu verhindern, besteht in der Blockierung der jeweiligen Rezeptoren auf der Zelloberfläche oder am Liganden.
- Anhand spezifischer Testsysteme konnte gezeigt werden, daß verschiedene Kohlenhydratmischungen die Adhäsion von beispielsweise Mikro-
- 25 organismen an die Zelloberfläche vermindern oder sogar vollständig verhindern, man vergleiche: Kunz, C.; Rudloff, S. *Acta Paediatr.* 1993, 82, 903-912. Es wird dabei angenommen, daß die wirksamen Kohlenhydrate eine weitgehende Analogie zu den Rezeptor- oder Ligand-strukturen besitzen. Bei den beschriebenen Untersuchungen wurden

zahlreiche Kohlenhydrate sowohl tierischer als auch pflanzlicher Herkunft und auch Hydrolyseprodukte pflanzlicher Polysaccharide eingesetzt.

Die Zusammensetzung und Struktur der in der Natur vorkommenden Kohlenhydrate und beispielsweise der Kohlenhydrate der Humanmilch sind sehr komplex. Gleichermaßen gilt aber auch für die Kohlenhydrate pflanzlicher Herkunft bzw. Hydrolyseprodukte von pflanzlichen Kohlenhydraten. Daraus ergibt sich, daß die festgestellte antiadhäsive Wirkung von Kohlenhydraten für Pathogene an Säugerzellen meist mit Kohlenhydratgemischen und nicht mit gereinigten Einzelstrukturen durchgeführt wurden.

So ist beispielsweise bekannt, daß wässrige Auszüge sowie Säfte aus verschiedenen Pflanzenprodukten gegen durch pathogene Keime hervorgerufene Erkrankungen im Intestinal- und Urogenitaltrakt wirksam sind. In der PCT/EP 94/03006 (WO 95/07084) wird nun beschrieben, daß durch eine auf bestimmte Weise zubereitete Karottensuppe, Blasentee, Kokosmilch usw. die Adhärenz pathogener Keime an Epitelzellen des Gastrointestinal- und Urogenitaltraktes wesentlich reduziert wird. Für diese Wirkung sollen angeblich die in den Pflanzenprodukten vorhandenen Pektine verantwortlich sein, bei denen es sich im wesentlichen aus Ketten von 1,4- α -glycosidisch verbundenen Galakturoniden handelt. Die eigentlich wirksamen Galakturonide sollen dabei verschiedene Kriterien erfüllen, nämlich einen bestimmten Polymerisations- und Methylierungsgrad.

Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es, einen Weg aufzuzeigen, wie mit Hilfe von Kohlenhydraten die Adhäsion von Pathogenen durch Interaktion mit Liganden und/oder Oberflächenstrukturen von eukaryontischen Zellen und insbesondere Säugerzellen wirksamer verringert oder verhindert wird.

Gelöst wird diese Aufgabe durch die Lehre der Ansprüche.

Gegenstand der Erfindung ist somit unter anderem ein pharmazeutisches oder diätetisches Präparat, das mindestens ein antiadhäatives Kohlenhydrat mit einer Uronsäureeinheit an einem seiner Enden aufweist. Bekanntlich besitzen Kohlenhydrate zumindest zwei Enden 5 und können auch drei oder mehr Enden besitzen, wenn sie verzweigt sind. Erfindungsgemäß können somit geradkettige Kohlenhydrate und auch verzweigtkettige Kohlenhydrate zum Einsatz gelangen. An einem dieser Enden befindet sich die genannte Uronsäureeinheit, die über eine endständige COOH-Gruppe verfügt, die verestert sein kann. Bevorzugte 10 Uronsäuren bzw. Uronsäureeinheiten sind dabei folgende freie oder veresterte Säuren: Galacturonsäure, Glucuronsäure, Guluronsäure, Iduronsäure, Mannuronsäure, Riburonsäure und Altruronsäure, von denen die Galacturonsäure und die Glucuronsäure besonders bevorzugt sind.

15 Das erfindungsgemäße Präparat enthält mindestens ein antiadhäatives Kohlenhydrat und somit eine bestimmte Spezies mit einer Uronsäureeinheit an einem seiner Enden. Das erfindungsgemäße Präparat kann jedoch auch mehrere antiadhäutive Kohlenhydrate mit einer endständigen Uronsäureeinheit aufweisen. Zweckmäßigerweise 20 enthält das erfindungsgemäße Präparat eine Mischung aus mehreren derartigen antiadhäsviven Kohlenhydraten.

Unter einem antiadhäsviven Kohlenhydrat wird im Rahmen der vorliegenden Unterlagen ein solches Kohlenhydrat verstanden, das über eine endständige Uronsäureeinheit verfügt, und zwar unabhängig davon, 25 ob diese Uronsäureeinheit eine Doppelbindung aufweist oder nicht. Mit anderen Worten, der Begriff antiadhäsvive Kohlenhydrate bezeichnet die Summe aus den Kohlenhydraten mit einer Uronsäureeinheit, die eine Doppelbindung aufweisen, und denjenigen Kohlenhydraten, die zwar über eine Uronsäureeinheit verfügen, die jedoch keine Doppelbindung 30 besitzt. Ein wesentlicher Gedanke der Erfindung besteht nun darin, dass solche antiadhäsviven Kohlenhydrate eingesetzt werden, die einen

Mindesgehalt an Uronsäureeinheiten mit einer Doppelbindung aufweisen.

Die antiadhäsiven Kohlenhydrate können einen bestimmten Polymerisationsgrad besitzen, der allgemein und somit auch hier als DP abgekürzt wird. Üblicherweise sind jedoch antiadhäsive Kohlenhydrate mit unterschiedlichen DP's vorhanden, wobei auch die antiadhäsiven Kohlenhydrate mit einem bestimmten Polymerisationsgrad bzw. DP unterschiedlich zusammengesetzt sein können. Mit anderen Worten, das erfindungsgemäße Präparat enthält mindestens eine bestimmte 10 antiadhäsive Kohlenhydratspezies mit einer Uronsäureeinheit an einem seiner Enden. Diese Kohlenhydratspezies besitzt natürlich einen bestimmten DP. Ferner können mehrere unterschiedlich zusammengesetzte antiadhäsive Kohlenhydratspezies mit demselben DP vorhanden sein. Zudem können antiadhäsive Kohlenhydrate mit 15 unterschiedlichem DP zugegen sein, wobei für jeden Polymerisationsgrad ein oder mehrere antiadhäsive Kohlenhydratspezies vorhanden sein können.

Mit der Definition der oben näher spezifizierten antiadhäsiven Kohlenhydrate, die an einem Ende eine Uronsäureeinheit aufweisen, ist 20 über die Art der weiteren Saccharideinheiten oder Monomereinheiten, aus denen diese antiadhäsiven Kohlenhydrate zusammengesetzt sind, keine Aussage getroffen, es sei denn, daß das antiadhäsive Kohlenhydrat lediglich aus einer einzigen Einheit (Polymerisationsgrad = DP1), nämlich einer Uronsäureeinheit besteht. Sofern das antiadhäsive 25 Kohlenhydrat einen DP1 besitzt, besteht es ausschließlich aus einer derartigen Uronsäureeinheit. Besitzt das antiadhäsive Kohlenhydrat einen DP2 oder höher, dann können die mit der Uronsäureeinheit verbundenen, weiteren Saccharideinheiten beliebiger Art sein.

Von den vorhandenen Uronsäureeinheiten der antiadhäsiven 30 Kohlenhydrate müssen nun 10 bis 100 % eine Doppelbindung besitzen.

Die %-Angabe gibt dabei die Anzahl der insgesamt vorhandenen Uronsäureeinheiten mit einer Doppelbindung an einem der Enden der antiadhäsiven Kohlenhydrate mit einer derartigen Uronsäureeinheit an, bezogen auf die Summe aus diesen Uronsäureeinheiten mit einer 5 Doppelbindung und den ggf. vorhandenen Uronsäureeinheiten ohne eine derartige Doppelbindung an einem Ende des antiadhäsiven Kohlenhydrates bzw. der antiadhäsiven Kohlenhydrate.

Eine Uronsäureeinheit an einem Ende eines antiadhäsiven Kohlenhydrates wird im übrigen hier auch als endständige 10 Uronsäureeinheit bezeichnet.

Die erfindungsgemäß zum Einsatz gebrachten antiadhäsiven Kohlenhydrate, die an einem Ende eine derartige Uronsäureeinheit aufweisen, können nun an dem anderen Ende (im Falle einer nicht verzweigten Kette), eine nicht-reduzierende Saccharideinheit oder auch 15 eine reduzierende Saccharideinheit aufweisen. Vorzugsweise weisen 10 bis 100 % der eine endständige Uronsäureeinheit aufweisenden, antiadhäsiven Kohlenhydrate am anderen Ende (bei einer geraden Kette) oder an einem der anderen Enden (im Falle einer verzweigten Kette) eine derartige reduzierende Saccharideinheit auf. Mit anderen 20 Worten, 10 bis 100 % der endständigen Uronsäureeinheiten befinden sich an einem nicht-reduzierenden Ende. Somit können sogar alle vorhandenen endständigen Uronsäureeinheiten am nicht-reduzierenden Ende vorhanden sein.

Vorzugsweise liegen 50 bis 100 % der Doppelbindungen zwischen dem 25 C₄- und C₅-Atom der endständigen Uronsäureeinheiten. Auch in diesem Falle bezieht sich die %-Angabe auf die Anzahl der Doppelbindungen, unabhängig von dem DP der antiadhäsiven Kohlenhydrate und der diese antiadhäsiven Kohlenhydrate ausmachenden Saccharideinheiten. Die 30 Detektion der Doppelbindung und somit der endständigen Uronsäureeinheiten mit einer derartigen Doppelbindung kann dabei

spektroskopisch bei 235 nm unter Verwendung des molaren Extinktionskoeffizienten von 5500 l/mol cm erfolgen, man vergleiche TP Kravtchenko, I. Arnould, AGJ Voragen & W. Polnik Carbohydr. Polymer 1992, 19, 237-242.

- 5 Die Bestimmung der Kohlenhydrate mit einem reduzierenden Ende erfolgt mittels der Iodometrie entsprechend den Angaben in: Analytical Chemistry of Carbohydrates H. Scherz, G. Bonn, Herausgeber Thieme Organic Chemistry Monograph Series, Stuttgart, New York, Thieme Verlag 1998, Seite 32. Kohlenhydrate mit ausschließlich nicht-10 reduzierenden Enden können mit üblichen Analyseverfahren, wie Osmometrie Massenspektrometrie (z. B. MALDI-MS, ESI-MS) Chromatographie (z. B. GPC, HPAEC, HPLC) und Kapillarelektrophorese, oder durch eine Kombination dieser Verfahren bestimmt werden.
- 15 Die erfindungsgemäß zum Einsatz gebrachten, antiadhäsiven Kohlenhydrate können neben einer endständigen Uronsäureeinheit auch ein nicht-reduzierendes Ende aufweisen, indem beispielsweise ein reduzierendes Ende nachträglich in ein nicht-reduzierendes Ende überführt wurde. Dies kann beispielsweise durch eine Oxydation,20 Reduktion oder auch durch eine Verknüpfung des reduzierenden Endes mit anderen Molekülen erreicht werden. Zu diesen anderen Molekülen gehören beispielsweise Proteine, Lipide und technische Polymere, wobei (Neo)glycokonjugate erhalten werden. Diese nachträgliche Änderung des reduzierenden Endes hat keinen Einfluss auf die25 antiadhäsive Wirkung der erfindungsgemäßen zum Einsatz gebrachten, antiadhäsiven Kohlenhydrate. Diese antiadhäsiven Kohlenhydrate können somit auch an bekannten Trägern über ein „ehemals“ reduzierendes Ende immobilisiert sein, beispielsweise an einem üblichen Träger.

Wenn somit 10 bis 100 % der vorhandenen endständigen Uronsäureeinheiten eine Doppelbindung besitzen, dann bedeutet dies natürlich auch, dass 0 bis 90 % der vorhandenen, endständigen Uronsäureeinheiten keine derartige Doppelbindung besitzen.

- 5 Vorzugsweise besitzen 10 bis 50 % der vorhandenen, endständigen Uronsäureeinheiten des antiadhäsiven Kohlenhydrates oder der antiadhäsiven Kohlenhydrate eine Doppelbindung.

Es wurde nämlich überraschend gefunden, dass im Gegensatz zu der Lehre der eingangs genannten WO 95/07084 weder der Polymerisationsgrad noch der Methylierungsgrad für eine ausgeprägte antiadhäsive Funktion verantwortlich sind, auch wenn gegebenenfalls einige der dort beschriebenen Kohlenhydrate über eine derartige Funktion verfügen können. Eine ausgeprägte antiadhäsive Funktion üben vielmehr Kohlenhydrate mit einer einer Doppelbindung 15 aufweisenden, endständigen Uronsäureeinheit auf. Derartige antiadhäsiven Kohlenhydrate und insbesondere solche, deren Uronsäureeinheit die Doppelbindung zwischen dem C₄- und C₅ werden jedoch nach der Lehre der genannten WO 95/07084 nicht erhalten, worauf nachstehend noch näher eingegangen wird.

- 20 Wenn erfindungsgemäß von einem antiadhäsiven Kohlenhydrat mit einem gegebenen Polymerisationsgrad die Rede ist, dann kann es sich dabei um nur ein einziges antiadhäsives Kohlenhydrat handeln. Es kann sich aber auch um mehrere unterschiedlich aufgebaute antiadhäsive Kohlenhydrate handeln, deren gemeinsame Merkmale einerseits der 25 gegebene Polymerisationsgrad und andererseits die endständige Uronsäureeinheit sind.

Vorzugsweise weist das erfindungsgemäße Präparat nicht nur ein oder mehrere antiadhäsive Kohlenhydrate mit einem gegebenen DP sondern mehrere antiadhäsive Kohlenhydrate unterschiedlichen 30 Polymerisationsgrades auf. Die zur Anwendung gebrachten

- antiadhäsiven Kohlenhydrate besitzen dabei vorzugsweise einen Polymerisationsgrad von DP2 bis DP 40 und insbesondere von DP 2 bis DP 10 und von maximal DP100. Vorzugsweise kommen somit Gemische von antiadhäsiven Kohlenhydraten mit unterschiedlicher Kettenlänge
- 5 zum Einsatz. Auch in diesem Fall kann es sich bei einem antiadhäsiven Kohlenhydrat mit einer bestimmten Kettenlänge bzw. einem gegebenen Polymerisationsgrad um nur eine einziges Kohlenhydratspezies oder um mehrere oder eine beliebig große Vielzahl von antiadhäsiven Kohlenhydratspezies handeln.
- 10 Die antiadhäsiven Kohlenhydrate mit einer endständigen, insbesondere am nicht-reduzierenden Ende befindlichen, eine Doppelbindung aufweisenden Uronsäureeinheit verfügen somit über eine verstärkte antiadhäsive Wirkung. Diese antiadhäsiven Kohlenhydrate werden im Rahmen der vorliegenden Unterlagen auch als ungesättigte
- 15 Kohlenhydrate bezeichnet.
- Die erfindungsgemäß eingesetzten antiadhäsiven Kohlenhydrate und somit auch die ungesättigten antiadhäsiven Kohlenhydrate sind beispielsweise dadurch erhältlich, dass saure Kohlenhydrate und bevorzugt uronsäurehaltige Kohlenhydrate mittels Enzymen oder
- 20 chemischer Spaltung derart gespalten werden, dass die angegebenen Gehalte an Uronsäureeinheiten mit einer Doppelbindung erhalten werden. Als bevorzugte Ausgangs-Kohlenhydrate können dabei folgende eingesetzt werden: Pektine, Pektate, Alginat, Chondroitine, Hyaluronsäuren, Heparine, Heparane, bakterielle Kohlenhydrate und
- 25 andere uronsäurehaltige Kohlenhydrate. Bevorzugte Rohstoffe sind dabei Pflanzen und/oder Pflanzenteile (wie Karotten, Zitrusfrüchte, Rüben und Äpfel, man vergleiche C. Rolin, BU Nielsen, & PE Glahn in Polysaccarides (ed. S. Dimitriu), Marcel Dekker New York 1998. Auch können Algen, tierische Gewebe und bakterielle Produkte Anwendung
- 30 finden.

Werden die ungesättigten antiadhäsiven Kohlenhydrate durch chemische Spaltung hergestellt, dann ist diese derart durchzuführen, dass eine Doppelbindung über eine β -Elimination eingeführt wird, indem beispielsweise Pektine unter neutralen oder schwach basischen

- 5 Bedingungen gespalten werden, man vergleiche MJH Keijbets & W. Pilnik Carbohydr. Res. 1974, 33, 359-362.

Die enzymatische Spaltung wird insbesondere mit Hilfe von Lyasen (wie Pektinlyasen oder Pektatlyasen) oder Lyase-haltigen Enzympräparationen durchgeführt.

- 10 Im Falle der chemischen Spaltung arbeitet man bei neutralen bis alkalischen Bedingungen, um dadurch den gewünschten Gehalt an Doppelbindungen zu erhalten. Durch die geeignete Wahl der weiteren Parameter wie Temperatur, pH und Pufferkonzentration kann auch der Veresterungsgrad der Carboxylgruppe und/oder Hydroxylgruppe 15 beeinflusst werden. Bei höheren Veresterungsgraden der eingesetzten Ausgangsverbindungen (z. B. Pektine) können die erfindungsgemäß eingesetzten antiadhäsiven Kohlenhydrate und somit auch die ungesättigten antiadhäsiven Kohlenhydrate ebenfalls bei einer im schwach sauren Bereich durchgeföhrten Spaltung erhalten werden.
- 20 Die antiadhäsive Wirkung der ungesättigten antiadhäsiven Kohlenhydrate wird auch durch das Vorhandensein von Methylestern der Carboxylgruppe als auch von Acetylestern z.B. am C-2 und/oder C-3 Atom der Uronsäuren beeinflusst. Dies gilt insbesondere bei den Galacturonsäuren der Pektine. Der Grad der Methylierung bzw. 25 Acetylierung beträgt vorzugsweise 20 bis 75 % und insbesondere 20 bis 50 %.

- Wie bereits dargelegt, kommt es bei dem erfindungsgemäß vorzugsweise zum Einsatz gebrachten Gemisch aus antiadhäsiven Kohlenhydraten insbesondere auf die Doppelbindung der insbesondere 30 am nicht-reduzierenden Ende befindlichen Uronsäureeinheiten an. Bei

den weiteren, mit dieser eine Doppelbindung oder auch keine derartige Doppelbindung aufweisenden Uronsäureeinheit verbundenen Saccharideinheiten kann es sich um ausschließlich saure Kohlenhydrateinheiten, um ausschließlich neutrale

5 Kohlenhydrateinheiten und um eine Mischung aus sauren und neutralen Kohlenhydrateinheiten handeln. So beeinflussen nämlich auch die neutralen Kohlenhydrateinheiten die antiadhäsive Wirkung der ungesättigten antiadhäsiven Kohlenhydrate. Es handelt sich dabei im wesentlichen um Rhamnose, Arabinose, Galactose, Xylose, Glucose,

10 Fucose und Apiose, die ihrerseits wieder mit Feroylresten und phenolischen Substanzen verknüpft sein können. Dies gilt insbesondere für Pektine. Der Anteil neutraler Kohlenhydrateinheiten beträgt dabei vorzugsweise maximal 50 % und insbesondere 0 bis 30 %.

Die antiadhäsive Wirkung des zum Einsatz gebrachten antiadhäsiven

15 Kohlenhydrates oder des Gemisches von antiadhäsiven Kohlenhydraten ist nicht von der Konzentration in einem Endprodukt, sondern von der Zufuhrmenge abhängig. Somit kann das erfindungsgemäße Präparat ausschließlich aus einem antiadhäsiven Kohlenhydrat oder aus einem Gemisch von antiadhäsiven Kohlenhydraten bestehen. Dazu wird das

20 Präparat beispielsweise als Tablette oder als Nahrungsmittelsupplement formuliert. Selbstverständlich können im Falle eines pharmazeutischen Präparates übliche, pharmakologisch verträgliche Träger, Verdünnungsmittel und/oder Hilfsstoffe vorhanden sein. Auch können diese antiadhäsiven Kohlenhydrate einem beliebigen Nahrungsmittel

25 oder pharmazeutischem Präparat einverleibt werden, die weitere Ingredienzien enthalten. Im Falle von Nahrungsmitteln kann es sich dabei um Fette, Proteine, Mineralien, Spurenelemente, Vitamine und andere zur Herstellung von Nahrungen geeignete Materialien handeln. Zudem ist es möglich, die erfindungsgemäß zum Einsatz gebrachten

30 antiadhäsiven Kohlenhydrate mit anderen Kohlenhydraten beliebiger Art zusammen zum Einsatz zu bringen.

Nach einer bevorzugten Ausführungsform handelt es sich bei den anderen Kohlenhydraten um eine präbiotische Kohlenhydratmischung gemäß der Lehre der WO 00/08948 mit dem internationalen Aktenzeichen PCT/EP99/05878 und somit um eine präbiotische

5 Kohlenhydratmischung aus zwei unterschiedlichen, im wesentlichen löslichen Kohlenhydratkomponeiten A und B, die im Magen-Darm-Trakt unverdaut bleiben und nicht resorbiert bis zum Dickdarm gelangen, enthält, wobei die Kohlenhydratkomponeite A aus mindestens einem Monosaccharid oder aus mindestens einem Oligosaccharid (Disaccharid

10 bis zu Hexasaccharid) oder aus einer Mischung aus zweien oder mehreren dieser Saccharide aufgebaut ist, wobei die Kohlenhydratkomponeite B aus einem Polysaccharid (ab Heptasaccharid) oder aus einer Mischung aus zwei oder mehreren Polysacchariden aufgebaut ist, wobei die Kohlenhydratkomponeite A =

15 5 bis 95 Gew.-% und die Kohlenhydratkomponeite B = 5 bis 95 Gew.-% der Summe der Kohlenhydratkomponeiten A + B (= 100 Gew.-%) ausmachen, und wobei mindestens 80 Gew.-% der Kohlenhydrate/Saccharide der Kohlenhydratkomponeite A und B präbiotisch wirken. Für die Zwecke der vorliegenden Erfindung können

20 allerdings nur solche Kohlenhydrate, die keine antiadhäsiven uronsäurehaltigen Kohlenhydrate darstellen, die Kohlenhydratkomponeite A und die Kohlenhydratkomponeite B ausmachen. Somit werden den Komponenten A und B keine antiadhäsiven Kohlenhydrate zugerechnet. Diese Kohlenhydrate, welche

25 die Kohlenhydratkomponeite A und die Kohlenhydratkomponeite B ausmachen, werden nachstehend aus Gründen der einfacheren Darstellbarkeit als präbiotische Kohlenhydrate bezeichnet, obwohl nur ein Teil dieser Kohlenhydrate wirklich präbiotisch wirkt.

Mindestens 80 Gew.-% der als präbiotisch bezeichneten Kohlenhydrate

30 bzw. Saccharide der Summe der Kohlenhydratkomponeite A und B wirken somit präbiotisch. Vorzugsweise wirken mindestens 80 Gew.-%

der zur Kohlenhydratkompone A gehörigen, präbiotisch bezeichneten Kohlenhydrate und auch mindestens 80 Gew.-% der zur Kohlenhydratkompone B gehörenden päbiotisch. Anders ausgedrückt, vorzugsweise mindestens jeweils 80 Gew.-% der 5 präbiotisch bezeichneten Kohlenhydrate bzw. der Saccharide der Kohlenhydratkompone A und B müssen unverdaut (und daher nicht im Dünndarm resorbierbar) in den Dickdarm gelangen. Mit anderen Worten, diese Kohlenhydrate bzw. Saccharide der Kohlenhydratkompone A und B werden im Magen-Darm-Trakt weder 10 im Magen noch im Dünndarm resorbiert und verdaut, sondern gelangen als solche in den Dickdarm.

Als lösliche Kohlenhydrate der Kohlenhydratkompone A und B sind solche zu verstehen, die in Wasser in einer Konzentration von mindestens 1g/l bei Raumtemperatur eine homogene Lösung im 15 physikalischen Sinne (z.B. gemäß Römpps Chemie Lexikon) bilden.

Der Anteil der nicht präbiotisch wirkenden Kohlenhydrate bzw. Saccharide bei den Kohlenhydratkompone A und B beträgt somit maximal 20 Gew.-%. Bei diesen Kohlenhydraten bzw. Sacchariden handelt es sich um solche, die zwar löslich sind, jedoch unverdaut 20 ausgeschieden werden können. Diese Kohlenhydrate können einen physikalischen Effekt bewirken, indem Sie beispielsweise das Stuhlvolumen erhöhen oder aber eine Wasserbindung ausüben.

Vorzugsweise besitzen die präbiotischen Kohlenhydrate/Saccharide, welche die Kohlenhydratkompone A ausmachen, eine andere Struktur 25 als die präbiotischen Kohlenhydrate/Saccharide, welche die Kohlenhydratkompone B ausmachen. Weiterhin bevorzugt sind mindestens 80 Gew.-% der präbiotischen Kohlenhydrate/ Saccharide der Kohlenhydratkompone A und B solche, welche Milchsäurebakterien fördern und/oder bifidogen sind. Der Gewichtsanteil der 30 Kohlenhydratkompone A ist dabei vorzugsweise größer ist als der

Gewichtsanteil der Kohlenhydratkompone B. Die Kohlenhydratkompone A macht vorzugsweise 95 bis 60 Gew.-% und insbesondere ca. 90 Gew.-% aus während die Kohlenhydratkompone B vorzugsweise 5 bis 40 Gew.-% und insbesondere ca. 10 Gew.-% ausmacht, wobei A + B = 100 Gew.-%. Die präbiotischen Kohlenhydrate/Saccharide der Kohlenhydratkompone A und B weisen insbesondere keine Glucoseeinheiten in α 1-4 und/oder in α 1-6-Bindung auf. Die präbiotischen Kohlenhydrate/Saccharide der Kohlenhydratkompone B sind dabei vorzugsweise aus maximal bis zu 100 Monosaccharideinheiten aufgebaut.

Weiterhin bevorzugt gehören mindestens 60 Gew.-% und insbesondere 80 bis 100 Gew.-% der präbiotischen Kohlenhydrate/Saccharide der Kohlenhydratkompone A zur Gruppe der Galactooligosaccharide und mindestens 60 Gew.-% und insbesondere 80 bis 100 Gew.-% der präbiotischen Kohlenhydrate/Saccharide der Kohlenhydratkompone B zur Gruppe der Fructopolysaccharide.

Ist eine derartige präbiotische Kohlenhydratmischung in den erfindungsgemäßen Präparaten vorhanden, dann beträgt das Gewichtsverhältnis von dem oder den antiadhäsiven Kohlenhydrat(en) zu der präbiotischen Kohlenhydratmischung vorzugsweise 1 : 99 bis 99 : 1 und insbesondere 1 : 10 bis 10 : 1 und weiterhin insbesondere ca. 1 : 1.

Ferner können in den erfindungsgemäßen Präparaten neben den antiadhäsiven Kohlenhydraten und neben der gegebenenfalls vorhandenen präbiotischen Kohlenhydratmischung auch noch weitere übliche Kohlenhydrate beliebiger Art zugegen sein. Es kann sich dabei um unlösliche Kohlenhydrate, um lösliche sowie verdaubare Kohlenhydrate, um übliche primär einem nutritiven Zweck dienende Kohlenhydrate (z. B. Stärke, Maltodextrine, Lactose und Saccharose) oder um eine Mischung aus einem oder mehreren dieser Kohlenhydrate

handeln. Die antiadhäsiven Kohlenhydrate machen in diesen Fällen vorzugsweise 0,1 bis 30 und insbesondere 1 bis 10 Gew.-% aus.

Mit den antiadhäsiven Oligosacchariden wird erreicht, dass pathogene Substanzen nicht an Säugerzellen binden oder bereits gebundene

- 5 Pathogene abgelöst werden. Durch den Zusatz von präbiotischen Oligosacchariden wird erreicht, dass die häufig im Zusammenhang mit Pathogenen auftretende Störung der Darmflora behoben wird. Darüberhinaus werden Pathogene an anderen Stellen außerhalb des gastointestinalen Traktes wie beispielsweise dem Urogenitaltrakt, dem 10 respiratorischen Trakt, dem Blutsystem und der Haut durch die systemische Wirkung einer balancierten Darmflora bekämpft.

Da die Adhäsion von Pathogenen eine Voraussetzung für deren Infektiosität bzw. Toxizität an alle Zellen des Säugetierorganismus ist, können die erfindungsgemäß eingesetzten antiadhäsiven Kohlenhydrate nicht 15 nur für die Verhinderung oder Verringerung von Infektionen bzw. Schädigungen im Magen-Darm-Trakt sondern bei allen Zellen eingesetzt werden.

Gegenstand der Erfindung ist somit auch die Verwendung der erfindungsgemäßen Präparate und der darin zum Einsatz gebrachten 20 antiadhäsiven Kohlenhydrate zur Verhinderung oder Verringerung der Adhäsion von Pathogenen an eukaryontische Zellen und insbesondere Säugerzellen. Vorzugsweise werden diese Kohlenhydrate zur Behandlung von Infektionen des Gastrointestinaltraktes, des Blutsystems, der Atemwege, des Urogenitaltraktes, des Nasen- 25 Rachenraumes und zur Behandlung von Schädigungen durch Toxine oder Schwermetallkationen der Zellen des Gastrointestinaltraktes, des Blutsystems, der Atemwege, des Urogenitaltraktes sowie des Nasen-Rachenraumes verwendet. Gegenstand der Erfindung ist somit auch die Verwendung der eingesetzten antiadhäsiven Kohlenhydrate zur

Herstellung eines diätetischen oder pharmazeutischen Präparates für die genannten Behandlungszwecke.

- Die Verwendung ist im übrigen nicht auf enteral applizierbare Nahrungsmittel oder pharmazeutische Präparate begrenzt. Vielmehr
- 5 können die erfindungsgemäß eingesetzten antiadhäsiven Kohlenhydrate auch als Wirkstoff in nicht enteral applizierbaren pharmazeutischen Präparaten eingesetzt werden. Bei den erfindungsgemäßen Präparaten kann es sich somit auch um derartige nicht enteral applizierbare pharmazeutische Präparate handeln.
- 10 Die Zufuhrmenge der erfindungsgemäß eingesetzten antiadhäsiven Kohlenhydrate und somit aus der Summe aus Kohlenhydraten, die eine endständige Uronsäureeinheit ohne eine Doppelbindung aufweisen, und aus Kohlenhydraten, die ebenfalls eine endständige Uronsäureeinheit jedoch mit einer Doppelbindung aufweisen (ungesättigte Kohlenhydrate),
- 15 wobei 10 bis 100 % der vorhandenen endständigen Uronsäureeinheiten eine derartige Doppelbindung aufweisen, beträgt mindesten 8 mg/kg Körpergewicht und Tag, vorzugsweise 8 bis 20 mg/kg Körpergewicht und Tag und insbesondere etwa 10 mg/kg und Tag. Diese Angabe bezieht sich insbesondere bevorzugt auf die ungesättigten antiadhäsiven
- 20 Kohlenhydrate alleine.

Wenn im Rahmen der vorliegenden Unterlagen von Bereichen die Rede ist, seien es nun beispielsweise %-Bereiche oder mg-Bereiche, dann sind mit diesen Bereichsangabe alle Zwischenwerte und somit alle zwischen den Endwerten liegenden Werte und auch alle von den

25 Bereichen umfassten engeren Bereiche offenbart und beansprucht. Die Angabe 8 bis 20 mg/kg umfasst somit alle dazischen liegende Werte und insbesondere ganzzahligen Wert, z.B. 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 mg/kg. Die Bereichsangabe 10 bis 100 % stellt somit lediglich ein verkürzte Angabe für alle denkbaren Zwischenwerte und insbesondere

30 für die ganzzahligen Werte 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, 41,
42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60,
61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79,
80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98
- 5 und 99 % dar. Dies gilt zum Beispiel für die %-Angaben für den Anteil an Uronsäureeinheiten mit einer Doppelbindung. Auch sämtliche denkbaren engeren Bereiche sind durch diese Angabe mit umfaßt und offenbart. sind. Analoges gilt für die Bereichsangaben, die sich auf Gew.-%, DP oder andere Einheiten beziehen.
- 10 In den nachstehenden Beispielen sind bevorzugte erfindungsgemäße Präparate beschrieben. Die Beispiele 1 bis 7 befassen sich mit der Herstellung von antiadhäsiven Kohlenhydraten, wobei mindestens 10 % der vorhanden Uronsäureeinheiten eine Doppelbindung aufweisen: Die dabei erhaltenen Produkte stellen Präparate dar, die ausschließlich aus 15 antiadhäsiven Kohlenhydraten aufgebaut sind. Die Beispiele 8 und 13 beschreiben Mischungen aus antiadhäsiven Kohlenhydraten und einer präbiotischen Kohlenhydratmischung in verschiedenen Gewichtsverhältnissen

Beispiel 1 (enzymatische Spaltung)

- 20 10 g GENU Pektin USP/100 (Fa. Hercules, Kopenhagen, DK) werden in 1 l 50 mM NaOAc Puffer (pH 5,0) gelöst. Zu dieser Lösung werden 10 ml Pectin-Lyase-Lösung (Sigma, Deisenhofen) gegeben. Die Umsetzung erfolgt bei 40 °C für 24 h. Die Reaktion wird durch Erhitzen auf 100 °C für 10 min gestoppt. Das Enzym und nicht umgesetztes Pektin werden 25 über Filtration mit einer 50 kDa Membran entfernt. Das Filtrat wird anschließend gefriergetrocknet.

Beispiel 2 (chemische Spaltung)

10 g GENU Pektin USP/100 (Fa. Hercules, Kopenhagen, DK) werden in 1 l 0,2 M NH₃-Carbonat Puffer (pH 6,8) gelöst und für 8 h bei 80 °C

erhitzt. Die entstandenen Oligogalacturonide werden als Metallsalz (z. B. Bariumsalze) gefällt, filtriert, gewaschen, getrocknet, mittels Dowex-50 H⁺-Ionenaustauscher in die freie Säure überführt und gefriergetrocknet.

5 Beispiel 3 (enzymatische Spaltung)

10 g Laboron Pektin X-77 A (C.C.A. Klimmeck, Bad Zwischenahn) werden in 1 l 50 mM Natriumacetat-Puffer (pH 4,5) gelöst. Der Verdau wird mit 1 ml Pectin-Lyase-Lösung (Fa. Gist-Brocades, Seclin, Frankreich) bei 45 °C für 24 h durchgeführt. Die Reaktion wird durch 10 Erhitzen auf 95 °C für 5 min abgestoppt. Das Enzym und nicht umgesetztes Pektin werden über Gelfiltration mit BioGel P2 oder TosoHaas HW 40 S entfernt. Die Fraktion der Oligosaccharide wird anschließend gefriergetrocknet.

Beispiel 4 (enzymatische Spaltung)

15 10 g Grünband-Pektin (Obipektin, Bischofszell, Schweiz) werden in 1 l 50 mM Natriumacetat-Puffer (pH = 4,5) gelöst. Dazu werden 2 ml Pectinex 3 XL (Fa. Novo Nordisk, Dittingen, Schweiz) gegeben. Die Lösung wird 24 h auf 50 °C erhitzt. Das Abstoppen der Reaktion erfolgt durch Erhitzen auf 95 °C für 5 min. Die entstandenen Oligogalacturonide 20 werden mit Ethanol gefällt, gewaschen und getrocknet.

Beispiel 5 (chemische Spaltung)

10 g Grünband-Pektin (Obipektin, Bischofszell, Schweiz) werden in 1 l 0,1 M Natriumphosphat-Puffer (pH 6,8) gelöst und 1 h auf 90 °C erhitzt. Die freigesetzten Oligogalacturonide werden mit Ethanol gefällt, 25 gewaschen und getrocknet.

Beispiel 6 (chemische Spaltung)

10 g GENU Pektin USP/100 (Fa. Hercules, Kopenhagen, Dänemark) werden in 1 l 0,1 M Natriumphosphat-Puffer (pH 6,8) gelöst und 1 h auf

95 °C erhitzt. Langkettige Polymere werden mit Salzsäure bei pH 2 gefällt und abzentrifugiert. Der Überstand mit den Oligogalacturoniden wird lyophilisiert.

Beispiel 7 (enzymatische Spaltung)

- 5 10 g Alginat werden 1 l 50 mM NaAc Puffer (pH 4,6) gelöst. Zu dieser Lösung werden 10 ml Alginat-Lyase-Lösung gegeben. Die Spaltung erfolgt bei 40 °C für 24 h. Die Reaktion wird durch Erhitzen auf 100 °C für 10 min gestoppt. Das Enzym und nicht umgesetztes Alginat werden über Filtration mit einer 50 kDa Membran entfernt. Das Filtrat wird
- 10 anschließend gefriergetrocknet.

Beispiele 8 bis 13

Zur Herstellung eines Präparates, das neben antiadhäsiven Kohlenhydraten auch präbiotische Kohlenhydrate enthält, wird wie folgt vorgegangen.

- 15 10 g Oligogalacturonide, die entweder hergestellt wurden durch enzymatische Spaltung gemäß einem der Beispiele 1, 3, 4 und/oder 7, oder die hergestellt wurden durch chemische Spaltung gemäß einem der Beispiele 2, 5 und/oder 6, werden vor dem Trocknen mit 10 g einer präbiotischen Kohlenhydrat-Mischung aus 9 Teilen Galacto-
- 20 20 Oligosacchariden (z.B. Elixor Fa. Borculo und Oligomate Fa. Yakult) und 1 Teil hochmolekularem Inulin (z.B. Raftiline HP Fa. Orafti oder Frutafit TEX oder EXL Fa. Sensus oder Fibruline LC HAT Fa. Cosucra) gemäß den in der folgenden Tabelle aufgeführten Mengenanteilen vermengt und vermischt.

Beispiel	8	9	10	11	12	13
Oligogalacturonid						
enzymat. Spaltung	10 g		10 g		90 g	
chemische Spaltung		10 g		10 g		90 g
präb. Mischung	10 g	10 g	90 g	90 g	10 g	10 g

- Statt der oben erwähnten präbiotischen Kohlenhydrat-Mischung aus Galacto-Oligosacchariden und Inulin können auch Kohlenhydrat-
 5 Mischungen eingesetzt werden, die aus folgenden Bestandteilen bestehen:
 α-Galacto-Oligosacchariden und Inulin, β-Galacto-Oligosacchariden und Galactomannanen, Fructo-Oligosacchariden und Galactomannanen, Fructo-Oligosacchariden und Arabinogalactanen, β-Galactooligo-
 10 sacchariden und Arabinogalactanen sowie Xylo-Oligosacchariden und Galactomannanen.

PATENTANSPRÜCHE

1. Pharmazeutisches oder diätetisches Präparat zur Verringerung und/oder Blockierung der Adhäsion von pathogenen Substanzen und Organismen an eukaryontische Zellen, insbesondere Säugерzellen, das ein antiadhäsives Kohlenhydrat oder mehrere antiadhäsive Kohlenhydrate mit einer Uronsäureeinheit an einem seiner bzw. ihrer Enden (endständige Uronsäureeinheit) enthält, dadurch gekennzeichnet,
dass 10 bis 100 % der vorhandenen, endständigen Uronsäureeinheiten der antiadhäsiven Kohlenhydrate eine Doppelbindung besitzen.
2. Pharmazeutisches oder diätetisches Präparat nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet,
dass 10 bis 100 % der eine endständige Uronsäureeinheit aufweisenden; antiadhäsiven Kohlenhydrate ein reduzierendes Ende und an einem anderen Ende die endständige Uronsäureeinheit aufweisen
3. Pharmazeutisches oder diätetisches Präparat nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet,
dass 50 bis 100 % der Doppelbindungen zwischen dem C₄- und C₅-Atom der endständigen Uronsäureeinheiten liegen.
4. Pharmazeutisches oder diätetisches Präparat nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet,
dass 10 bis 50 % der vorhandenen, endständigen Uronsäureeinheiten der antiadhäsiven Kohlenhydrate eine Doppelbindung besitzen.

5. Pharmazeutisches oder diätetisches Präparat nach einem der vorhergehenden Ansprüche,
dadurch gekennzeichnet,
dass es mehrere antiadhäsive Kohlenhydrate mit einer 5 endständigen Uronsäureeinheit enthält, die einen unterschiedlichen Polymerisationsgrad besitzen.
10. Pharmazeutisches oder diätetisches Präparat nach einem der vorhergehenden Ansprüche,
dadurch gekennzeichnet,
dass die antiadhäsiven Kohlenhydrate einen maximalen 10 Polymerisationsgrad von DP 100 und insbesondere von DP 2 bis DP 40 und weiterhin insbesondere DP 2 bis DP 10 besitzen.
15. Pharmazeutisches oder diätetisches Präparat nach einem der vorhergehenden Ansprüche,
dadurch gekennzeichnet,
dass die antiadhäsiven Kohlenhydrate mit einer endständigen 15 Uronsäureeinheit ausgehend von uronsäurehaltigen Kohlenhydraten erhältlich sind, die derart chemisch oder enzymatisch gespalten werden, dass die angegebenen Gehalte an 20 endständigen Uronsäureeinheiten mit einer Doppelbindung erhalten werden.
25. Pharmazeutisches oder diätetisches Präparat nach einem der vorhergehenden Ansprüche,
dadurch gekennzeichnet,
dass der Gehalt der in den vorhergehenden Ansprüchen 25 beschriebenen antiadhäsiven Kohlenhydraten an neutralen Zuckereinheiten maximal 50 % und insbesondere 0 bis 30 % beträgt.
30. Pharmazeutisches oder diätetisches Präparat nach einem der vorhergehenden Ansprüche,

dadurch gekennzeichnet,
dass der Veresterungsgrad der in den vorhergehenden Ansprüchen
beschriebenen antiadhäsiven Kohlenhydrate mit Methanol bis zu 75
% und insbesondere 20 bis 50 % beträgt.

- 5 10. Pharmazeutisches oder diätetisches Präparat nach einem der
vorhergehenden Ansprüche,
dadurch gekennzeichnet,
dass daß es neben dem oder den antiadhäsiven Kohlenhydrat(en)
eine präbiotische Kohlenhydratmischung aus zwei
10 unterschiedlichen, im wesentlichen löslichen
Kohlenhydratkörpern A und B, die im Magen-Darm-Trakt
unverdaut bleiben und nicht resorbiert bis zum Dickdarm gelangen,
enthält,
dass die Kohlenhydratkörper A aus mindestens einem
15 Monosaccharid oder aus mindestens einem Oligosaccharid
(Disaccharid bis zu Hexasaccharid) oder aus einer Mischung aus
zwei oder mehreren dieser Saccharide aufgebaut ist,
die Kohlenhydratkörper B aus einem Polysaccharid (ab
Heptasaccharid) oder aus einer Mischung aus zwei oder mehreren
20 Polysacchariden aufgebaut ist,
dass die Kohlenhydratkörper A = 5 bis 95 Gew.-% und die
Kohlenhydratkörper B = 5 bis 95 Gew.-% der Summe der
Kohlenhydratkörper A + B (= 100 Gew.-%) ausmachen, und
dass mindestens 80 Gew.-% der Kohlenhydrate/Saccharide der
25 Kohlenhydratkörper A und B präbiotisch wirken und
dass die Kohlenhydrate, welche die Kohlenhydratkörper A
und die Kohlenhydratkörper B ausmachen, keine
antiadhäsiven Kohlenhydrate gemäß Anspruch 1 darstellen.
11. Pharmazeutisches oder diätetisches Präparat nach Anspruch 10,
30 dadurch gekennzeichnet,
dass das Gewichtsverhältnis von dem oder den antiadhäsiven

Kohlenhydrat(en) zu der präbiotischen Kohlenhydratmischung 1 : 99 bis 99 : 1 und insbesondere 1 : 10 bis 10 : 1 und weiterhin insbesondere ca. 1 : 1 beträgt.

12. Pharmazeutisches Präparat nach einem der vorhergehenden 5 Ansprüche,
dadurch gekennzeichnet,
dass es übliche, pharmakologisch verträgliche Träger, Verdünnungsmittel und/oder Hilfsstoffe enthält.
13. Diätetisches Präparat nach einem der Ansprüche 1 bis 11, 10 dadurch gekennzeichnet,
dass es übliche Nahrungsmittelinhaltstoffe und Nahrungsmittelbestandteile einschließlich Vitaminen und Spurenelementen enthält.
14. Verwendung der in einem der Ansprüche 1 bis 9 beschriebenen 15 antiadhäsiven Kohlenhydrate mit einer endständigen Uronsäureeinheit zur Verringerung oder Verhinderung der Adhäsion von Pathogenen an eukaryontische Zellen.
15. Verwendung der antiadhäsiven Kohlenhydrate nach Anspruch 14 in einer Menge von mindestens 8 mg/kg und Tag und insbesondere 8 20 bis 20 mg/kg und Tag.
16. Verwendung nach Anspruch 14 oder 15 zur Behandlung von Infektionen des Gastrointestinaltraktes, des Blutsystems, der Atemwege, des Urogenitaltraktes und des Nasen-Rachenraumes und zur Behandlung von durch Toxine oder Schwermetallkationen 25 hervorgerufenen Schädigungen der Zellen des Gastrointestinaltraktes, des Blutsystems, der Atemwege, des Urogenitaltraktes und des Nasen-Rachenraumes.



[12] 发明专利申请公开说明书

A61K 31/715 A61P 39/00

[21] 申请号 01805223.1

[43] 公开日 2003 年 3 月 19 日

[11] 公开号 CN 1404395A

[22] 申请日 2001.2.16 [21] 申请号 01805223.1

[74] 专利代理机构 中原信达知识产权代理有限责任公司

[30] 优先权

代理人 丁业平 王维玉

[32] 2000. 2. 16 [33] DE [31] 10006989.4

[86] 国际申请 PCT/EP01/01753 2001.2.16

[87] 国际公布 WO01/60378 德 2001.8.23

[85] 进入国家阶段日期 2002.8.16

[71] 申请人 N. V. 努特里西阿

地址 荷兰祖特梅尔

[72] 发明人 贝恩德·施塔尔 京特·伯姆

权利要求书 3 页 说明书 13 页

[54] 发明名称 抗粘附碳水化合物

[57] 摘要

本发明提供了用于减少和/或阻断病原物质和生物粘附到真核细胞、特别是哺乳动物细胞上的药物或食物制品。所述制品含有至少一种在其一端具有糖醛酸单元的抗粘附碳水化合物。所述碳水化合物上的末端糖醛酸单元中 10 - 100% 带有双键，该双键主要位于 C₄ 和 C₅ 原子间。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

1. 一种用于减少和/或阻断病原物质和生物粘附到真核细胞、特别是哺乳动物细胞上的药物或食物制品，其含有一种或几种在其一个末端上具有糖醛酸单元（末端糖醛酸单元）的抗粘附碳水化合物，所述制品的特征在于所述抗粘附碳水化合物上存在的末端糖醛酸单元中有 10-100% 带有双键。

10 2. 权利要求 1 的药物或食物制品，其特征在于具有末端糖醛酸单元的抗粘附碳水化合物中有 10-100% 包含还原端，并在另一端包含末端糖醛酸单元。

15 3. 权利要求 1 或 2 的药物或食物制品，其特征在于 50-100% 的双键位于末端糖醛酸单元的 C₄ 和 C₅ 原子之间。

4. 前述任一权利要求的药物或食物制品，其特征在于抗粘附碳水化合物的末端糖醛酸单元中有 10-50% 具有双键。

20 5. 前述任一权利要求的药物或食物制品，其特征在于其含有几种具有末端糖醛酸单元的抗粘附碳水化合物，所述抗粘附碳水化合物具有不同的聚合度。

25 6. 前述任一权利要求的药物或食物制品，其特征在于所述抗粘附碳水化合物的聚合度最大为 DP 100，特别为 DP 2 至 DP 40，更特别为 DP 2 至 DP 10。

30 7. 前述任一权利要求的药物或食物制品，其特征在于具有末端糖醛酸单元的抗粘附碳水化合物可由起始的含糖醛酸碳水化合物得到，所述含糖醛酸碳水化合物用酶切或化学切割以便得到指示含量的带双键的末端糖醛酸单元。

8. 前述任一权利要求的药物或食物制品，其特征在于前述权利要求中描述的抗粘附碳水化合物的含量以中性糖单元计最大为 50%，特别为 0-30%。

5

9. 前述任一权利要求的药物或食物制品，其特征在于前述权利要求中描述的抗粘附碳水化合物用乙醇酯化的程度至多为 75%，特别为 20-50%。

10

10. 前述任一权利要求的药物或食物制品，其特征在于除抗粘附碳水化合物之外，所述药物或食物制品含有由两种不同的基本可溶的碳水化合物组分 A 和 B 组成的益生素碳水化合物混合物，这两种碳水化合物组分在胃肠道中保持不被消化，在到达大肠时是未被吸收的，所述碳水化合物组分 A 由至少一种单糖、或至少一种寡糖（二糖至六糖）、或者两种或几种这样的糖的混合物组成，所述碳水化合物组分 B 由一种多糖（七糖以上）或者两种或几种多糖的混合物组成，基于碳水化合物组分总和 A+B (= 100 重量%)，所述碳水化合物组分 A 为 5-95 重量%，所述碳水化合物组分 B 为 5-95 重量%，并且碳水化合物组分 A 和 B 的碳水化合物/糖类中至少 80 重量% 具有益生素活性，且构成碳水化合物组分 A 和碳水化合物组分 B 的碳水化合物不是权利要求 1 所述的抗粘附碳水化合物。

15

20

25

11. 权利要求 10 的药物或食物制品，其特征在于抗粘附碳水化合物与益生素碳水化合物混合物的重量比为 1:99 至 99:1，特别为 1:10 至 10:1，更特别为约 1:1。

12. 前述任一权利要求的药物制品，其特征在于其含有常规可药用载体、稀释剂和/或其他辅药。

30

13. 权利要求 1-11 中任一项的食物制品，其特征在于其含有常规

食物成分，包括维生素和微量元素。

14. 权利要求 1-9 中任一项所述的具有末端糖醛酸单元的抗粘附碳水化合物在减少或防止病原体粘附到真核细胞中的应用。

5

15. 权利要求 14 所述的抗粘附碳水化合物的应用，其每天用量为至少 8 mg/kg，特别为 8-20 mg/kg。

10 16. 权利要求 14 或 15 所述的应用，其中所述抗粘附碳水化合物用于治疗胃肠道、血液系统、呼吸道、尿生殖道和鼻咽管感染，并用于治疗由毒素或重金属阳离子引起的胃肠道、血液系统、呼吸道、尿生殖道和鼻咽管细胞损伤。

抗粘附碳水化合物

5 本发明涉及用于减少和/或阻断病原物质和生物粘附到真核细胞、特别是哺乳动物细胞上的药物或食物制品，其含有至少一种在一端具有糖醛酸的抗粘附碳水化合物，本发明还涉及所述制品和其中所含碳水化合物针对所述目的的应用。

10 病原生物和损伤细胞的物质粘附到哺乳动物细胞表面是感染或损伤细胞的第一步，也是必不可少的前提条件。病原体与细胞间的相互作用是通过配体-受体作用形成的，因此是病原体具有毒力或毒性的主要因素。至少应该理解细菌、病毒、真菌、单细胞寄生物或多细胞寄生物是病原体。在所述配体-受体作用中，糖结构具有重要的作用。

15 完全阻止或至少降低所述配体-受体作用的一种可能在于阻断细胞表面或配体上的各自受体。

20 使用特定的试验系统，可显示不同碳水化合物混合物减少或甚至完全阻止如微生物粘附到细胞表面，参见：Kunz, C; Rudloff, S. *Acta Paediatr.* 1993, 82, 903-912。由此推断活性碳水化合物与受体或配体结构有相当大的相似性。在已描述的研究中，使用了多种来自动物和植物的碳水化合物以及植物多糖水解产物。

25 自然界中存在的碳水化合物以及如人奶碳水化合物的组成和结构非常复杂。而植物来源的碳水化合物以及植物多糖水解产物也同样复杂。这表明在大多数情况下碳水化合物对抗病原体粘附到哺乳动物细胞的作用是由碳水化合物混合物产生的，而非由纯化单一结构产生。

30 由此知道，例如来自多种植物产物的水性提取物和浆汁对于由致

5

病微生物引起的肠道和尿生殖道疾病具有抗病活性。PCT/EP 94/03006 (WO 95/07084) 描述了利用根据确定方法制备的胡萝卜汤、狸藻茶汤 (bladder tea)、椰奶等，大大减少致病微生物粘附于胃肠道和尿生殖道上皮细胞。推想是植物产物中存在的果胶产生上述作用，它们基本上是 1,4- α -糖苷键合的半乳糖醛酸酐链。因此推想实际有活性的半乳糖醛酸酐符合多个标准，即确定的聚合度和甲基化程度。

10

本发明的目的在于显示利用碳水化合物，通过其与配体和/或真核细胞、特别是哺乳动物细胞表面结构相互作用，如何能有效减少或阻止病原体粘附。

15

20

本发明的主题特别是一种用于药物或食物制品，其含有至少一种在一端具有糖醛酸单元的抗粘附碳水化合物。众所周知，碳水化合物至少具有两个末端，当具有支链时，甚至可具有三个或更多末端。根据本发明，直链碳水化合物和支链碳水化合物都可使用。在这些末端中的一个上面，存在具有可酯化末端 COOH 基团的所述糖醛酸。优选的糖醛酸或糖醛酸单元是如下游离或酯化的酸：半乳糖醛酸、葡萄糖醛酸、古洛糖醛酸、艾杜糖醛酸、甘露糖醛酸、核糖醛酸和阿卓糖醛酸，特别优选半乳糖醛酸和葡萄糖醛酸。

25

本发明制品含有至少一种抗粘附碳水化合物，即一种在一端具有糖醛酸单元的确定物质。但本发明制品也可含有数种具有末端糖醛酸单元的抗粘附碳水化合物。本发明制品可适当地含有由若干该抗粘附碳水化合物组成的混合物。

30

应理解在本文件中，抗粘附碳水化合物具有末端糖醛酸单元，且明确地说，不依赖于该糖醛酸单元是否具有双键。换言之，术语“抗粘附碳水化合物”指具有以双键为特征的糖醛酸的碳水化合物以及具

有糖醛酸单元但不带双键的碳水化合物的总和。本发明的基本思想在于使用这样的抗粘附碳水化合物，其具有最小量的带双键糖醛酸。

抗粘附碳水化合物可具有确定的聚合度，一般缩写为 DP，在本文中也如此。但通常存在不同聚合度的抗粘附碳水化合物，确定聚合度的抗粘附碳水化合物可能以多种方式组成。换言之，本发明制品含至少一种在一端具有糖醛酸单元的确定抗粘附碳水化合物。这种碳水化合物当然具有确定的聚合度。此外，可存在若干具有相同聚合度的组成不同的抗粘附碳水化合物。另外，可存在具有不同聚合度的抗粘附碳水化合物，因此对于各聚合度，可存在一种或若干种抗粘附碳水化合物。

对在一端具有糖醛酸单元的上述抗粘附碳水化合物的具体定义中，不对构成这些抗粘附碳水化合物的其他糖类单元或单体单元的性质进行任何描述，除抗粘附碳水化合物只由一个单一单元（聚合度即 DP 为 1）即一个糖醛酸单元构成之外。当抗粘附碳水化合物 DP 为 1 时它仅由该类一个糖醛酸单元构成。如果抗粘附碳水化合物 DP 为 2 或更高，则与糖醛酸单元连接的其他糖类单元可为任何合乎需要的单元。

20

所述碳水化合物上的糖醛酸单元中 10-100% 必须带有双键。因此，% 数值表示存在于所述碳水化合物一端上的所有带双键糖醛酸单元的数目，其中所述糖醛酸单元指在抗粘附碳水化合物一端上的带双键糖醛酸单元和可能存在的不带双键糖醛酸单元的总和。

25

顺便提及，在抗粘附碳水化合物一端上的糖醛酸单元在此也称作末端糖醛酸单元。

根据本发明使用的抗粘附碳水化合物在一端具有糖醛酸单元，它们在另一端（不带支链的情况下）可能具有非还原性糖单元，也可能

具有还原糖单元。带末端糖醛酸单元的抗粘附碳水化合物中优选 10-100%在另一端（直链）或其他末端之一（带支链情况）具有还原糖单元。换言之，10-100%末端糖醛酸单元位于非还原端。因此，所有末端糖醛酸单元都可能存在于非还原端。

5

50-100%的双键优选位于末端糖醛酸单元的 C₄-C₅ 原子之间。在这种情况下，% 数值表示双键数目，与抗粘附碳水化合物的聚合度及形成这些抗粘附碳水化合物的糖单元无关。可在 235nm 下使用 5500 l/mol cm 摩尔消光系数经分光光度法测定双键并由此测定带双键末端糖醛酸单元，参见 TP Kravtchenko, I. Arnould, AGJ Voragen & W. Polnik Carbohydr. Polymer 1992, 19, 237-242。

10

带还原端碳水化合物的测定根据如下文献的描述用碘量法进行：Analytical Chemistry of Carbohydrates, H. Scherz, G. Bonn, Editor Thieme Organic Chemistry Monograph Series, Stuttgart, New York, Thieme Publishers 1998, 第 32 页。仅带非还原端的碳水化合物的测定可使用常规分析方法如渗透压测定法、质谱分析法（例如 MALDI-MS, ESI-MS）、色谱法（例如 GPC、HPAEC, HPLC）和毛细管电泳或者这些方法的组合。

15

除末端糖醛酸单元外，根据本发明使用的抗粘附碳水化合物还可具有非还原端，即，例如还原端随后转化成非还原端。这可通过例如氧化、还原或将还原端连到其他分子上来实现。所述其他分子包括例如蛋白、脂质和工业聚合物，通过它们得到(新)葡萄糖偶联物。随后对还原端的修饰不影响本发明使用的抗粘附碳水化合物的抗粘附作用。这些抗粘附碳水化合物由此也可通过“前”还原端固定到已知载体如常规载体上。

20

当 10-100%的末端糖醛酸单元具有双键时，当然还意味着 0-90% 的末端糖醛酸单元不具有双键。抗粘附碳水化合物的末端糖醛酸单元

25

中优选有 10-50% 具有这样的双键。

与先前提及的 WO 95/07084 的教导不同，惊奇地发现即便是对于该文献中描述的可能具有抗粘附作用的碳水化合物，聚合度和甲基化程度均不产生显著抗粘附作用。而具有带双键末端糖醛酸单元的碳水化合物具有显著抗粘附作用。但是，这些抗粘附碳水化合物，尤其是那些糖醛酸单元在 C₄ 和 C₅ 原子间存在双键的抗粘附碳水化合物，不能根据 WO 95/07084 的教导获得，这将在下文中具体讨论。

根据本发明考虑指定聚合度的抗粘附碳水化合物时，可能只涉及一种单一的抗粘附碳水化合物。但也可考虑若干不同结构的抗粘附碳水化合物，它们的共同特点其一是指定聚合度，其二是末端糖醛酸单元。

优选本发明制品不但包括一种或若干具有指定 DP 的抗粘附碳水化合物，也包括若干不同聚合度的抗粘附碳水化合物。所使用的抗粘附碳水化合物的聚合度优选为 DP 2 至 DP 40，特别优选 DP 2 至 DP 10，最高为 DP 100。优选使用具有不同链长的抗粘附碳水化合物的混合物。在这种情况下，可考虑仅一种单一碳水化合物或若干碳水化合物，或者任何需要的抗粘附碳水化合物组合，其中所述抗粘附碳水化合物具有确定的链长或指定的聚合度。

特别是在非还原端具有末端糖醛酸单元并具有双键的抗粘附碳水化合物具有增强的抗粘附作用。在本文件中，这些抗粘附碳水化合物也可指定为不饱和碳水化合物。

通过用酶切或化学切割酸性碳水化合物和优选含糖醛酸碳水化合物可获得本发明使用的抗粘附碳水化合物和不饱和抗粘附碳水化合物，并以此方式得到指示含量的含有双键的糖醛酸单元。如下物质可用作优选的起始碳水化合物：果胶、果胶酸盐、藻酸盐、软骨素、透

明质酸、肝素、类肝素、细菌碳水化合物和其他含糖醛酸碳水化合物。在这种情况下优选的原料是植物和/或植物的部分，例如胡萝卜、柑橘类水果、甜菜和苹果，参见 C. Rolin, BU Nielsen & PE Glahn, 《Polysaccharides》, S. Dimitriu, Marcel Dekker 编辑, New York, 1998。5 也可使用海藻、动物组织和细菌产物。

当经化学切割制备不饱和抗粘附碳水化合物时，上述情况也同样适用，以便经 β -消除来引入双键，例如在中性或弱碱性条件下裂解果胶，参见 MJH Keijbets & W. Pilnik, Carbohydr. Res. 1974, 33, 359-362。

10 酶切特别可通过裂解酶（例如果胶溶酶或果胶酸盐裂解酶）或含裂解酶的酶制剂进行。

15 对于化学切割，在中性至碱性条件下进行，以便得到所需含量的双键。通过适当选择其他参数如温度、pH 和缓冲液浓度，还可影响羧基和/或羟基的酯化程度。所用起始化合物（如果胶）的酯化程度较高时，在弱酸性范围内进行切割，可类似地获得本发明使用的抗粘附碳水化合物，由此也可得到不饱和抗粘附碳水化合物。

20 当羧基成甲酯以及形成乙酰酯时，例如在糖醛酸 C-2 和/或 C-3 原子上形成时，也可影响不饱和抗粘附碳水化合物的抗粘附作用。这特别适用于果胶的半乳糖醛酸。甲基化或乙酰化程度优选为 20-75%，特别优选 20-50%。

25 如前所述，特别位于非还原端的糖醛酸单元的双键对于本发明优选使用的抗粘附碳水化合物混合物特别重要。与带双键或甚至无双键的所述糖醛酸单元相连的其他糖单元可仅为酸性碳水化合物单元，仅为中性碳水化合物单元，或者酸性和中性碳水化合物单元的混合物。30 也即中性碳水化合物单元影响不饱和抗粘附碳水化合物的抗粘附作用。因此，主要考虑鼠李糖、阿拉伯糖、半乳糖、木糖、葡萄糖、果

糖和芹菜糖，它们可与 feroyl 残基及酚类物质相连。这特别使用于果胶。中性碳水化合物单元部分优选达到最高 50%，特别优选为 0-30%。

5 所用抗粘附碳水化合物或抗粘附碳水化合物混合物的抗粘附作用不依赖于终产物浓度，而依赖于所加的量。因此，本发明制品可仅由抗粘附碳水化合物或抗粘附碳水化合物混合物组成。为此，所述制品例如被制成片或食物增补剂。当然，对于药物制品，可使用常规可药用载体、稀释剂和/或辅药。这些抗粘附碳水化合物也可掺入任何含其他成分的目的食物或药物制品中。对于食物，可考虑脂肪、蛋白、矿物、微量元素、维生素和其他适合食品生产的材料。此外，可将本发明抗粘附碳水化合物与具有任何所需特性的其他碳水化合物一同使用。

10

15 根据优选的实施方式，所涉及的其他碳水化合物是如 WO 00/08948 和国际申请 PCT/EP99/05878 所述的益生素 (präbiotische) 碳水化合物混合物，因此涉及由两种不同的基本可溶的碳水化合物组分 A 和 B 组成的益生素碳水化合物混合物，这两种碳水化合物组分在胃肠道中保持不被消化，在到达大肠时是未被吸收的，其中所述碳水化合物组分 A 由至少一种单糖，或至少一种寡糖（二糖至六糖），或者两种或几种这样的糖的混合物组成，所述碳水化合物组分 B 由一种多糖（七糖以上），或者两种或几种多糖的混合物组成，基于碳水化合物组分总和 A+B (= 100 重量%)，所述碳水化合物组分 A 为 5-95 重量%，所述碳水化合物组分 B 为 5-95 重量%，并且碳水化合物/碳水化合物组分 A 和 B 的糖类中至少 80 重量% 具有益生素活性。但为本发明的目的，只有不为含糖醛酸抗粘附碳水化合物的碳水化合物才可构成碳水化合物组分 A 和碳水化合物组分 B。因此，组分 A 和 B 不属于任何抗粘附碳水化合物。在下文中为简化，将这些构成碳水化合物组分 A 和碳水化合物组分 B 的碳水化合物称为益生素碳水化合物，尽管这些碳水化合物中实际上只有一部分是具有益生素活性的。

20

25

5

碳水化合物组分 A 和 B 总计的称为益生素的碳水化合物或糖类中至少 80 重量% 具有益生素活性。优选在碳水化合物组分 A 中至少 80 重量% 称为益生素的碳水化合物和在碳水化合物组分 B 中至少 80 重量% 称为益生素的碳水化合物具有益生素活性。换言之，在各种情况下，优选在碳水化合物组分 A 和 B 中至少 80 重量% 称为益生素的碳水化合物或糖类在到达大肠时一定未被消化（因此在小肠中不可吸收）。换言之，在碳水化合物组分 A 和 B 中的碳水化合物或糖类在胃肠道中没有被吸收和消化，在胃中没有，在小肠中也没有，并以此状态到达大肠。

10

应理解，室温下浓度至少 1 g/l 时，碳水化合物组分 A 和 B 中的可溶碳水化合物（例如根据 Roempps Chemie Lexikon）从物理意义上可在水中形成均相溶液。

15

碳水化合物组分 A 和 B 中不具有益生素活性的碳水化合物或糖类部分最高占 20 重量%。这些碳水化合物或糖类确实是可溶的，但可以以未消化形式排泄。因其增加排泄物体积或因其具有水结合作用，这些碳水化合物可产生生理作用。

20

构成碳水化合物组分 A 的益生素碳水化合物/糖类与构成碳水化合物组分 B 的益生素碳水化合物/糖类优选具有不同的结构。更优选碳水化合物组分 A 和 B 的益生素碳水化合物/糖类中至少有 80 重量% 易受乳酸菌和/或双歧杆菌的作用。在这种情况下，碳水化合物组分 A 的重量百分率优选大于碳水化合物组分 B 的重量百分率。基于 A+B=100 重量%，碳水化合物组分 A 构成优选为 95-60 重量%，特别优选为约 90 重量%，而碳水化合物组分 B 构成优选为 5-40 重量%，特别优选为约 10 重量%。碳水化合物组分 A 和 B 的益生素碳水化合物/糖类尤其不具有任何以 α 1-4 和/或 α 1-6 键合的葡萄糖单元。在这种情况下，碳水化合物组分 B 的益生素碳水化合物/糖类优选由最多为 100 单糖单元构成。

30

5 碳水化合物组分 A 的益生元碳水化合物/糖类还优选有至少 60 重量%，特别优选有 80-100 重量% 属于半乳寡糖，碳水化合物组分 B 的益生元碳水化合物/糖类优选有至少 60 重量%，特别优选有 80-100 重量% 属于果聚糖。

10 当这类益生元碳水化合物混合物存在于本发明制品中时，抗粘附碳水化合物与益生元碳水化合物混合物的重量比优选为 1:99 至 99:1，特别优选为 1:10 至 10:1，更优选为约 1:1。

15 此外，除了抗粘附碳水化合物和可能存在的益生元碳水化合物混合物，在本发明制品中还可存在任何所需种类的其他常规碳水化合物。在这种情况下可考虑不溶性碳水化合物、可溶并可消化的碳水化合物、主要用作营养目的的常规碳水化合物（例如淀粉、麦芽糖糊精、乳糖和蔗糖）或者一种或几种所述这些碳水化合物的混合物。这些情况下使用的抗粘附碳水化合物构成优选为 0.1-30 重量%，特别优选 1-10 重量%。

20 使用抗粘附寡糖，导致病原物质不与哺乳动物细胞结合，或者使已结合的病原体脱附。加入益生元寡糖，可消除通常由病原体引起的肠道菌群功能障碍。此外，已均衡的肠道菌群经全身性作用可抵抗在胃肠道以外其他地方的病原体，例如在尿生殖道、呼吸道、血液系统和皮肤中的病原体。

25 由于病原体粘附是其感染或毒害哺乳类生物所有细胞的必要前提，因此本发明使用的抗粘附碳水化合物不仅可用于预防或减轻胃肠道中的感染或损害，更可用于所有细胞中。

30 因此，本发明的主题也是将本发明制品和其中所含抗粘附碳水化合物用于防止或减少病原体粘附到真核细胞、特别是哺乳动物细胞。

这些碳水化合物优先用于治疗胃肠道、血液系统、呼吸道、尿生殖道、鼻咽管感染，并用于治疗毒素或重金属阳离子对胃肠道、血液系统、呼吸道、尿生殖道、鼻咽管细胞的损害。因此，本发明的主旨也是将抗粘附碳水化合物用于制备上述治疗用途的食物或药物制品。

5

顺便提及，所述应用并不限于经肠道给药的食物或药物制品。相反，本发明使用的抗粘附碳水化合物还可作为活性成分用在经非肠道给药的药物制品中。因此，对于本发明制品，可考虑使用这样的经非肠道给药的药物产品。

10

本发明使用的抗粘附碳水化合物量，包括具有不带双键末端糖醛酸单元的碳水化合物及具有带双键末端糖醛酸单元的碳水化合物（不饱和碳水化合物）总计用量是至少 8 mg/kg 体重·天，优选 8-20 mg/kg 体重·天，特别优选约 10 mg/kg 体重·天，其中所述具有带双键末端糖醛酸单元的碳水化合物中 10-100%末端糖醛酸单元具有双键。这一数据特别是针对仅优选不饱和抗粘附碳水化合物的情况。

15

对于本文件中使用的范围，例如%范围或 mg 范围，所有中间值即位于端点值之间的所有值，以及由这些范围所覆盖的所有较窄范围也都已被公开并要求保护这些数值范围。因此，所表示的 8-20 mg/kg 覆盖了所有的中间值，特别是整数值，例如 9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19 mg/kg。因此，所表示的范围 10-100%只是缩写，表示所有可想象的中间值，特别是整数值 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、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98 和 99%。此用于例如带双键糖醛酸单元百分率的%表示法。该表示法还类似地覆盖并公开了所有可想象的较

20

25

30

窄范围。所有涉及重量%、DP 或其他单位的范围表示法同样适用。

在如下实施例中，描述了优选的本发明制品。实施例 1-7 涉及含有至少 10% 带双键糖醛酸单元的抗粘附碳水化合物的制备。在这种情况下得到的产物是仅由抗粘附碳水化合物组成的制品。实施例 8-13 描述了不同重量比的抗粘附碳水化合物和益生素碳水化合物混合物的混合物。

实施例 1 (酶切)

10g GENU 果胶 USP/100 (Hercules Co., Copenhagen, DK) 溶于 1 升 50mM NaOAc 缓冲液 (pH 5.0) 中。向该溶液中加入 10ml 果胶溶酶液 (Sigma, Deisenhofen)。在 40°C 转化 24 小时。加热至 100°C 保持 10 分钟，使反应终止。用 50kDa 滤膜滤除酶和未转化的果胶。然后将滤液冻干。

实施例 2 (化学切割)

10g GENU 果胶 USP/100 (Hercules Co., Copenhagen, DK) 溶于 1 升 0.2M 的碳酸铵缓冲液 (pH 6.8) 中 80°C 加热 8 小时。得到的寡半乳糖醛酸酐以金属盐形式 (例如钡盐) 沉淀，过滤，洗涤，干燥，利用 DOWEX-50 H⁺ 离子交换剂转化为游离酸，并冻干。

实施例 3 (酶切)

10g Laboron 果胶 X-77 A (C.C.A. Klimmeck, Bad Zwischenahn) 溶于 1 升 50mM NaOAc 缓冲液 (pH 4.5) 中。用 1ml 果胶溶酶液 (Gist-Brocades Co., Seclin, France) 在 45°C 消化 24 小时。加热至 95 °C 保持 5 分钟，使反应终止。用 BioGel P2 或 TosoHaas HW 40 S 凝胶过滤去除酶和未转化的果胶。然后将寡糖级分冻干。

实施例 4 (酶切)

30 10g Gruenband 果胶 (Obipektin, Bischofszell, Switzerland) 溶于 1

升 50mM NaOAc 缓冲液 (pH 4.5) 中。加入 2ml Pentinex 3 XL (Novo Nordisk Co., Dittingen, Switzerland)。反应液加热至 50℃ 保持 24 小时。随后加热至 95℃ 保持 5 分钟，使反应终止。生成的寡半乳糖醛酸酐用乙醇沉淀，洗涤并干燥。

5

实施例 5 (化学切割)

10g Gruenband 果胶 (Obipektin, Bischofszell, Switzerland) 溶于 1 升 0.1M 的磷酸钠缓冲液 (pH 6.8) 中加热至 90℃ 保持 1 小时。生成的寡半乳糖醛酸酐用乙醇沉淀，洗涤并干燥。

10

实施例 6 (化学切割)

10g GENU 果胶 USP/100 (Hercules Co., Copenhagen, DK) 溶于 1 升 0.1M 的磷酸钠缓冲液 (pH 6.8) 中加热至 95℃ 保持 1 小时。长链聚合物用 pH 2 的盐酸沉淀，离心后取出。含寡半乳糖醛酸酐的上清液冻干。

15

实施例 7 (酶切)

10g 藻酸盐溶于 1 升 50mM NaOAc 缓冲液 (pH 4.6) 中。向该溶液中加入 10ml 藻酸盐裂解酶液。在 40℃ 切割 24 小时。加热至 100℃ 保持 10 分钟，使反应终止。用 50kDa 滤膜滤除酶和未转化的果胶。然后将滤液冻干。

20

实施例 8-13

为制备除抗粘附碳水化合物外还含有益生素碳水化合物的制品，
25 进行如下步骤：

根据实施例 1、3、4 和/或 7 中任一例酶切割得或者根据实施例 2、
5 和/或 6 中任一例化学切割制得的 10g 寡半乳糖醛酸酐，在进行干燥
前，按照下表中列出的重量比掺和到 10g 益生素碳水化合物混合物中
并与之混合，所述混合物的组成为 9 份半乳寡糖 (例如，Elixor, Borculo
30 Co., 和 Oligomate, Yakult Co.) 和 1 份高分子菊粉 (例如，Raftiline HP,

Orafti Co.或 Frutafit TEX 或 EXL., Sensus Co.或 Fibruline LC HAT, Cosucra Co.)。

实施例	8	9	10	11	12	13
寡半乳糖醛酸酐						
酶切	10 g		10 g		90 g	
化学切割		10 g		10 g		90 g
益生素混合物	10 g	10 g	90 g	90 g	10 g	10 g

5 除上述半乳寡糖和菊粉的益生素碳水化合物混合物外，还可使用由如下组分组成的碳水化合物混合物：

α -半乳寡糖和菊粉， β -半乳寡糖和半乳甘露聚糖，果寡糖和半乳甘露聚糖，果寡糖和阿拉伯半乳聚糖， β -半乳寡糖和阿拉伯半乳聚糖，以及木寡糖和半乳甘露聚糖。