

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2012 年 9 月 27 日 (27.09.2012)



(10) 国际公布号
WO 2012/126231 A1

- (51) 国际专利分类号:
A61K 31/795 (2006.01) *A61P 31/18* (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2011/078371
- (22) 国际申请日: 2011 年 8 月 12 日 (12.08.2011)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权:
201110065559.9 2011 年 3 月 18 日 (18.03.2011) CN
- (71) 申请人 (对除美国外的所有指定国): **苏州维赛生物医药有限公司 (SUZHOU VIROSEC CO., LTD.)** [CN/CN]; 中国江苏省苏州市工业园区星湖街 218 号纳米科技园 A3 楼 403 单元, Jiangsu 215125 (CN)。
南京大学 (NANJING UNIVERSITY) [CN/CN]; 中国江苏省南京市汉口路 22 号, Jiangsu 210093 (CN)。
- (72) 发明人: 及
- (75) 发明人/申请人 (仅对美国): **吴稚伟 (WU, Zhiwei)** [US/CN]; 中国江苏省苏州市工业园区星湖街 218 号纳米科技园 A3 楼 403 单元, Jiangsu 215125 (CN)。
邱敏 (QIU, Min) [CN/CN]; 中国江苏省苏州市工业园区星湖街 218 号纳米科技园 A3 楼 403 单元, Jiangsu 215125 (CN)。
孙亦彬 (SUN, Yibin) [CN/CN]; 中国江苏省苏州市工业园区星湖街 218 号纳米科技园 A3 楼 403 单元, Jiangsu 215125 (CN)。
蒋海燕 (JIANG, Haiyan) [CN/CN]; 中国江苏省苏州市工业

园区星湖街 218 号纳米科技园 A3 楼 403 单元, Jiangsu 215125 (CN)。

- (74) 代理人: **南京经纬专利商标代理有限公司 (NANJING JINGWEI PATENT & TRADEMARK AGENCY CO.,)**; 中国江苏省南京市鼓楼区中山路 179 号 12 楼 B 座, Jiangsu 210005 (CN)。
- (81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。
- (84) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

- 包括国际检索报告(条约第 21 条(3))。

(54) Title: USE OF POLY(4-STYRENE SULFONIC ACID-COPOLY-MALEIC ACID) SODIUM SALT AND PHARMACEUTICAL COMPOSITION THEREOF

(54) 发明名称: 聚(4-苯乙烯磺酸-共聚-马来酸)钠盐的用途及其药物组合物

(57) Abstract: Use of poly(4-styrene sulfonic acid-copoly-maleic acid) sodium salt in the preparation of pharmaceutical inhibiting infection of HIV-1 and pharmaceutical composition thereof. Said pharmaceutical composition comprises poly(4-styrene sulfonic acid-copoly-maleic acid) sodium salt as active ingredient and conventional pharmaceutical carrier.

(57) 摘要:

聚(4-苯乙烯磺酸-共聚-马来酸)钠盐在制备抑制 HIV-1 感染的药物中的应用及其药物组合物。所述的药物组合物含有作为有效成分的聚(4-苯乙烯磺酸-共聚-马来酸)钠盐和常规药用载体。



WO 2012/126231 A1

聚（4-苯乙烯磺酸-共聚-马来酸）钠盐的用途及其药物组合物

技术领域

本发明涉及聚（4-苯乙烯磺酸-共聚-马来酸）钠盐的用途，还涉及含有聚（4-苯乙烯磺酸-共聚-马来酸）钠盐作为有效成分的药物组合物。

背景技术

艾滋病是感染人免疫缺陷病毒（HIV）引起的。HIV-1 侵入靶细胞是一个特异性的生物学过程，其需要病毒表面的包膜蛋白 gp120 与细胞受体 CD4 结合，诱导 gp120 构象发生改变，继而与细胞表面的辅助受体 CCR5 或 CXCR4 结合，使得原先被 gp120 遮蔽的融合蛋白 gp41 发生构象变化，曝露出其疏水的 N-末端融合肽序列并插入宿主细胞膜，从而启动病毒毒膜与细胞膜的融合，最终导致病毒核心结构进入细胞，建立感染。针对这一生物学过程，已有多种抑制剂被开发出来，例如针对辅助受体的抑制剂 Maraviroc 与 PSC-RANTES，另外针对融合过程的抑制剂 T20（已被美国 FDA 批准上市，商品名恩夫韦定）与 C52L 多肽也是很有希望的杀微生物剂候选药物。

发现新的具有抑制 HIV 感染作用的化合物或天然产物，对于开发有效预防 HIV 传播的杀微生物剂具有重要意义。寻找创新性的先导化合物，继而开发出有效阻止 HIV 感染的新型杀微生物剂或药物，是本发明的目的。

聚（4-苯乙烯磺酸-共聚-马来酸）（Poly(4-styrenesulfonic acid-co-maleic acid)）钠盐是一种人工合成的高分子化合物，溶于水，水溶液呈无色至淡黄色，耐热性好。由于该化合物携带有苯乙烯磺酸基团以及马来酸酐基团，因此其具有很高的阴离子分布密度，并具有很强的分散性，是一种表面活性物质。工业上苯乙烯磺酸-马来酸酐共聚物的合成技术非常成熟，通常分为先磺化后聚合方法和先聚合后磺化方法：前者先将苯乙烯单体磺化，然后在惰性溶液中进行马

来酸酐共聚，反应温度通常为 80-120℃；后者则是先将苯乙烯和马来酸酐共聚，然后利用氯磺酸、浓硫酸、三氧化硫等对共聚物进行磺化。聚（4-苯乙烯磺酸-共聚-马来酸）钠盐在工农业中具有广泛的应用，可用于去垢剂和分散剂等，但鲜有其在医药卫生领域的应用的报道，尤其是作为抗病毒药物。

发明内容

本发明的第一个目的是提供聚（4-苯乙烯磺酸-共聚-马来酸）钠盐的应用，用于制备抑制 HIV-1 感染的药物；

本发明的第二个目的是提供含有聚（4-苯乙烯磺酸-共聚-马来酸）钠盐作为有效成分的抑制 HIV-1 的药物组合物，该药物组合物还含有常规药用载体。

本发明与现有技术相比具有下列优点：聚（4-苯乙烯磺酸-共聚-马来酸）钠盐具有较高的负电荷性，可以与 HIV-1 的胞膜蛋白 gp120 的 V3 片段（正电荷）发生相互作用，从而可以阻断 V3 片段与受体 CD4 的相互作用，以达到阻断 HIV-1 病毒进入细胞的作用，或者抑制 CHO-WT 与 MT-2 细胞的融合。体外抗病毒实验证明，聚（4-苯乙烯磺酸-共聚-马来酸）钠盐具有很强的抗 CD4 依赖性 HIV-1 感染的能力，并且对一些临床分离株也表现为很好的活性，这其中包括 B'、B' C 和 CRF01-AE 重组亚型，这说明聚（4-苯乙烯磺酸-共聚-马来酸）钠盐具有抗 HIV-1 的广谱性。另外，聚（4-苯乙烯磺酸-共聚-马来酸）钠盐对 CD4 非依赖性的 HIV-1 感染也具有很好的抗感染能力。对聚（4-苯乙烯磺酸-共聚-马来酸）钠盐的体外毒性实验发现，该化合物具有很低的毒性。最后，细胞融合实验结果表明聚（4-苯乙烯磺酸-共聚-马来酸）钠盐具有抑制 HIV-1 病毒包膜蛋白 gp120 介导的融合过程的作用。聚（4-苯乙烯磺酸-共聚-马来酸）钠盐来源丰富，生产成本低廉，具有作为一种新型抗 HIV-1 药物及杀微生物剂的潜在应用价值。

附图说明

附图 1 为聚（4-苯乙烯磺酸-共聚-马来酸）钠盐抑制 HIV-1 B 亚型标准毒株 JR-FL(R5 嗜性)和 HXB2(X4 嗜性)对 CD4⁺ CCR5⁺ CXCR4⁺ Ghost (3) X4-Hi5 细胞感染的曲线图；

附图 2 为聚（4-苯乙烯磺酸-共聚-马来酸）钠盐抑制 HIV-1 临床分离毒株对 CD4⁺ CCR5⁺ CXCR4⁺ Ghost (3) X4-Hi5 细胞感染的曲线图；

附图 3 为聚（4-苯乙烯磺酸-共聚-马来酸）钠盐抑制 HIV-1 B 亚型标准毒株 JR-FL (R5 嗜性) 和 HXB2 (X4 嗜性) 对 CD4⁺ Caco-2 细胞感染的曲线图；

附图 4 为聚（4-苯乙烯磺酸-共聚-马来酸）钠盐抑制 HIV-1 B 亚型标准毒株 JR-FL (R5 嗜性) 和 HXB2 (X4 嗜性) 对 CD4⁺ HEC-1-A 细胞感染的曲线图；

附图 5 为聚（4-苯乙烯磺酸-共聚-马来酸）钠盐对 CD4⁺ Caco-2 细胞产生毒性的曲线图；

附图 6 聚（4-苯乙烯磺酸-共聚-马来酸）钠盐对 CD4⁺ HEC-1-A 细胞产生毒性的曲线图；

附图 7 为聚（4-苯乙烯磺酸-共聚-马来酸）钠盐（PSM）、硫酸葡聚糖(Dextran sulfate)、齐多夫定(AZT)、奈韦拉平(nevirapine)抑制 HIV-1 感染 CD4⁺ CCR5⁺ CXCR4⁺ Ghost (3) X4-Hi5 细胞的时间抑制曲线图；

附图 8 为聚（4-苯乙烯磺酸-共聚-马来酸）钠盐在不同浓度下抑制 HIV-1 病毒包膜蛋白 gp120 介导的细胞融合的柱状统计图。

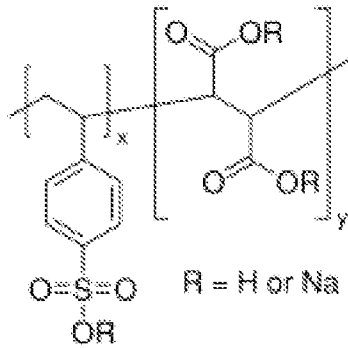
具体实施方式

下面结合显示实验结果的附图来进一步阐述本发明。

1. 实验材料

1.1 聚（4-苯乙烯磺酸-共聚-马来酸）钠盐（PSM）；

其分子式如下：



1.2 阳性对照样品：硫酸葡聚糖 (Dextran sulfate), 齐多夫定 (AZT), 奈韦拉平 (Nevirapine) 均购自 SIGMA 公司;

1.3 CCK-8, Dojindo Laboratories;

1.4 PEI (linear, 25kD), 购自 Polyscience 公司, 使用时配制成 5 mg/ml 的溶液;

1.5 HIV-1 假病毒系统 (HIV-1 pseudotype virus)

1.6.1 假病毒骨架质粒: pNL4-3, 构建有萤光素酶报告基因 (luciferase reporter gene), 引自美国 Rockefeller university;

1.6.2 源自不同 HIV-1 亚型基因序列的假病毒包膜质粒, 引自清华大学艾滋病研究中心;

HIV-1 B 亚型标准毒株: JR-FL, HXB2;

HIV-1 临床分离毒株: CNE6 (B' 亚型)、CNE30 (B' C 亚型)、CNE50 (B' C 亚型) 和 CNE55 (CRF01-AE 亚型), 均分离自中国艾滋病感染者, 包括了中国主要的 HIV-1 流行亚型;

1.6 Luciferase assay system kit 购自 Promega 公司;

1.7 细胞

1.7.1 人骨肉瘤细胞系 Ghost (3) X4-Hi5, 表达 CD4 受体, CCR5 与 CXCR4 辅助受体;

1.7.2 人结肠癌上皮细胞 Caco-2, 不表达 CD4 受体;

1.7.3 人宫颈癌上皮细胞 HEC-1-A, 不表达 CD4 受体;

1.7.4 人 T 细胞系白血病细胞 MT-2, 表达 T 细胞表面受体 CD4,

用于检测 HIV-1 诱导的细胞融合作用；

1.7.5 仓鼠卵巢细胞 CHO-WT，表达 HIV-1 包膜蛋白 gp120，用于检测 HIV-1 诱导的细胞融合作用；

1.7.6 人胚胎肾细胞 293T，用于包装生成 HIV-1 假病毒颗粒；

1.8 细胞培养液：DMEM high glucose +10%胎牛血清；

1.9 96 孔细胞培养板：Corning；

1.10 24 孔细胞培养板：Corning；

1.11 96 孔荧光检测板：Costar；

1.12 GloMax 96 孔化学发光酶标仪；

1.13 TECAN 酶标仪；

1.14 Thermo CO2 培养箱。

2. 实验方法

2.1 HIV-1 假病毒颗粒在人胚胎肾细胞 293T 细胞内的包装

使用 PEI 转染试剂，将 HIV-1 假病毒骨架质粒 pNL4-3 和不同的假病毒包膜质粒共转染至 293T 细胞，培养 48 小时后收集上清，分装冻存于 -75℃，即获得假病毒液用于后续实验。

2.2 萤光素酶法测定假病毒的感染性滴度 (TCID₅₀)

测定假病毒感染性滴度时，先梯度稀释病毒收获液，取 100 ul 加入 96 孔板，每个梯度 4 个复孔，再加入 100ul Ghost (3) X4-Hi5 细胞悬液，细胞密度 10⁵ cells/ml。培养 48 小时后，利用 Promega GloMax Lysis Buffer 和 Luciferase assay system kit 在 GloMax-96 Microplate Luminometer 上测定每孔的相对荧光值 (RLU)，RLU 大于 2.5 倍的背景值，判定为阳性，采用 Reed-Muench 方法计算假病毒的感染性滴度 (TCID₅₀)。

2.3 PSM 抗病毒活性检测

将 PSM 溶解于双蒸水中，过滤除菌。用 DMEM 完全培养基稀释到

一定浓度，分别在 96 孔板中进行 3 倍梯度稀释，最高浓度分别为 $60 \mu\text{g/ml}$ ($3 \mu\text{M}$)。然后将 $50 \mu\text{l}$ $4000\text{TCID}_{50}/\text{ml}$ 的病毒稀释液加入到每个待测孔中，混匀， 37°C 抚育 30min。最后在待测孔中加入 10^4 Ghost (3) X4-Hi5 细胞 (或 2×10^4 Caco-2 和 HEC-1-A 细胞)， 37°C 、 $5\%\text{CO}_2$ 培养 48h，利用 Promega GloMax Lysis Buffer 和 Luciferase assay system kit 在 GloMax-96 Microplate Luminometer 上检测荧光强度 (荧光强度的大小代表病毒感染的程度)。

2.4 体外细胞毒性实验

以 2×10^4 Caco-2 和 HEC-1-A 细胞每孔接入 96 孔板中， 37°C 、 $5\%\text{CO}_2$ 培养 24h。将 PSM 进行梯度稀释，最高浓度为 10mg/ml ，稀释倍数为 3 倍。再将 96 孔板中的培养液弃去，换成含有梯度浓度 PSM 的 DMEM 完全培养基。 37°C 、 $5\%\text{CO}_2$ 培养至检测时间点 (6h, 12h, 24h, 48h)，加入 $10 \mu\text{l}/\text{well}$ 的 CCK-8 试剂 (Dojindo Laboratories)，继续培养 3h。最后用 TECAN 酶标仪在 450nm 处检测光吸收值，从而计算细胞的存活率。

2.5 药物抑制作用阶段实验

本实验采用 Time-of-drug addition 方法进行。首先在 96 孔板中接种 10^4 Ghost (3) X4-Hi5 细胞， 37°C 、 $5\%\text{CO}_2$ 培养 12h。在待测孔中加入 $50 \mu\text{l}$ $4000\text{TCID}_{50}/\text{ml}$ 的病毒稀释液。然后在各时间点加入 PSM 和阳性对照药物，混匀，PSM 浓度为 $60 \mu\text{g/ml}$ ，AZT 为 $0.5 \mu\text{g/ml}$ ，Nevirapine 为 $2 \mu\text{g/ml}$ ，dextran sulfate 为 $300 \mu\text{g/ml}$ 。待培养 48h 后，利用 Promega GloMax Lysis Buffer 和 Luciferase assay system kit 在 GloMax-96 Microplate Luminometer 上检测荧光强度 (荧光强度的大小代表病毒感染的程度)。本实验以各时间点加入完全培养基孔为对照。

2.6 细胞-细胞融合抑制实验

用含有 400 μ M methionine sulfoximine 的 GMEM-S 培养基对 CHO-WT 进行培养，等覆盖率达到 70% 左右时，加入丁酸钠至终浓度为 6mM，刺激 gp160 三聚体（包膜蛋白 gp120+融合蛋白 gp41）的表达。在刺激 16h 后，用 0.5mM 的（EDTA+EGTA）消化细胞，计数后，在 24 孔板中以每孔 5×10^5 的 CHO-WT 进行接种。同时将同样数目的 MT-2 接种于 24 孔板的各孔中。加入不同浓度的 PSM（60, 20, 6.67, 2.22, 0.74, 0 μ g/ml），37℃、5%CO₂ 培养 24h 后，用倒置显微镜观察并计数合胞体数目。

3. 实验结果

3.1 在图 1，利用携带萤光素酶基因的假病毒系统检测聚（4-苯乙烯磺酸-共聚-马来酸）钠盐抑制 HIV-1 B 亚型标准毒株 JR-FL（R5 嗜性）和 HXB2（X4 嗜性）对 CD4⁺CCR5⁺CXCR4⁺细胞（Ghost (3) X4-Hi5）的感染，发现其具有明显的抑制效果，抑制 EC₅₀ 分别为 4.988 μ g/ml 和 5.260 μ g/ml。聚（4-苯乙烯磺酸-共聚-马来酸）钠盐对具有包膜蛋白 VSV 的 HIV-1 毒株 VSV-G 基本无抑制作用。

3.2 在图 2 中，利用携带萤光素酶基因的假病毒系统检测聚（4-苯乙烯磺酸-共聚-马来酸）钠盐抑制 HIV-1 临床分离毒株对 CD4⁺CCR5⁺CXCR4⁺细胞的感染，HIV-1 临床分离毒株包括 CNE6（B' 亚型，R5 嗜性）、CNE30（B' C 亚型，R5 嗜性）、CNE50（B' C 亚型，R5 嗜性）和 CNE55（CRF01-AE 亚型，R5 嗜性）；发现该化合物 PSM 对这些临床毒株具有明显的抑制效果，抑制 EC₅₀ 分别为 1.8757 μ g/ml、3.1361 μ g/ml、1.7050 μ g/ml 和 1.7064 μ g/ml。

3.3 用携带萤光素酶基因的假病毒系统检测聚（4-苯乙烯磺酸-共聚-马来酸）钠盐抑制 HIV-1 B 亚型标准毒株 JR-FL 和 HXB2 对 CD4⁺细胞（人结肠癌上皮细胞 Caco-2 和人宫颈癌腺上皮细胞 HEC-1-A）的感染，发现其具有很强的抑制效果，如图 3 和图 4 所示：在 Caco-2 细

胞上抑制 JR-FL 和 HXB2 的 EC₅₀ 分别为 7.307 μ g/ml 和 9.542 μ g/ml；在 HEC-1-A 上抑制 JR-FL 和 HXB2 的 EC₅₀ 分别为 2.050 μ g/ml 和 3.951 μ g/ml。

3.4 在图 5 和图 6 中，利用 CCK-8 法检测聚（4-苯乙烯磺酸-共聚-马来酸）钠盐对相关人细胞株的毒性，发现高浓度的该化合物 PSM 对人结肠癌上皮细胞（Caco-2）和人宫颈癌腺上皮细胞（HEC-1-A）毒性很小。

3.5 在图 7 中，利用携带萤光素酶基因的假病毒系统确定聚（4-苯乙烯磺酸-共聚-马来酸）钠盐抑制 HIV-1 感染 CD4⁺CCR5⁺CXCR4⁺细胞（Ghost (3) X4-Hi5）的作用方式和原理，结果显示聚（4-苯乙烯磺酸-共聚-马来酸）钠盐（PSM）与硫酸葡聚糖（Dextran sulfate）的曲线走向相似，可以推测聚（4-苯乙烯磺酸-共聚-马来酸）钠盐的作用方式与硫酸葡聚糖相似，是通过抑制病毒入胞来实现抗病毒作用的。

3.6 利用 CHO-WT—MT-2 共培养融合检测聚（4-苯乙烯磺酸-共聚-马来酸）钠盐抑制 gp120 和 CD4 介导的细胞融合效果，在图 7 中，发现聚（4-苯乙烯磺酸-共聚-马来酸）钠盐能有效抑制 CHO-WT 与 MT-2 细胞的融合。从聚（4-苯乙烯磺酸-共聚-马来酸）钠盐抑制 HIV-1 病毒包膜蛋白介导的融合过程，进一步说明聚（4-苯乙烯磺酸-共聚-马来酸）钠盐是阻止 HIV-1 病毒进入细胞来实现抑制病毒的。

我们的研究表明，聚（4-苯乙烯磺酸-共聚-马来酸）钠盐具有较高的负电荷性，可以与 HIV-1 的胞膜蛋白 gp120 的 V3 片段（正电荷）发生相互作用，从而可以阻断 V3 片段与受体 CD4 的相互作用，以达到阻断 HIV-1 病毒进入细胞的作用，或者抑制 CHO-WT 与 MT-2 细胞的融合。体外抗病毒实验证明，聚（4-苯乙烯磺酸-共聚-马来酸）钠盐具有很强的抗 CD4 依赖性 HIV-1 感染的能力，并且对一些临床分离株

也表现为很好的活性，这其中包括 B'、B' C 和 CRF01-AE 重组亚型。这说明聚(4-苯乙烯磺酸-共聚-马来酸)钠盐具有抗 HIV-1 的广谱性。另外，聚(4-苯乙烯磺酸-共聚-马来酸)钠盐对 CD4 非依赖性的 HIV-1 感染也具有很好的抗感染能力。对聚(4-苯乙烯磺酸-共聚-马来酸)钠盐的体外毒性实验发现，该化合物具有很低的毒性。最后，细胞融合实验结果表明聚(4-苯乙烯磺酸-共聚-马来酸)钠盐具有抑制 HIV-1 病毒包膜蛋白 gp120 介导的融合过程的作用。聚(4-苯乙烯磺酸-共聚-马来酸)钠盐来源丰富，生产成本低廉，具有作为一种新型抗 HIV-1 药物及杀微生物剂的潜在应用价值。

在制备抑制 HIV-1 感染的药物组合物时，将聚(4-苯乙烯磺酸-共聚-马来酸)钠盐作为有效成分，并加上常规的药用载体。该药物组合物可制成注射剂、片剂、胶囊剂、气雾剂、栓剂、膜剂、滴丸剂、外用搽剂，或控释或缓释剂型或纳米制剂。

权 利 要 求 书

1、聚（4-苯乙烯磺酸-共聚-马来酸）钠盐在制备抑制 HIV-1 感染的药物中的应用。

2、抑制 HIV-1 感染的药物组合物，其中含有聚（4-苯乙烯磺酸-共聚-马来酸）钠盐作为有效成分，并含有常规药用载体。

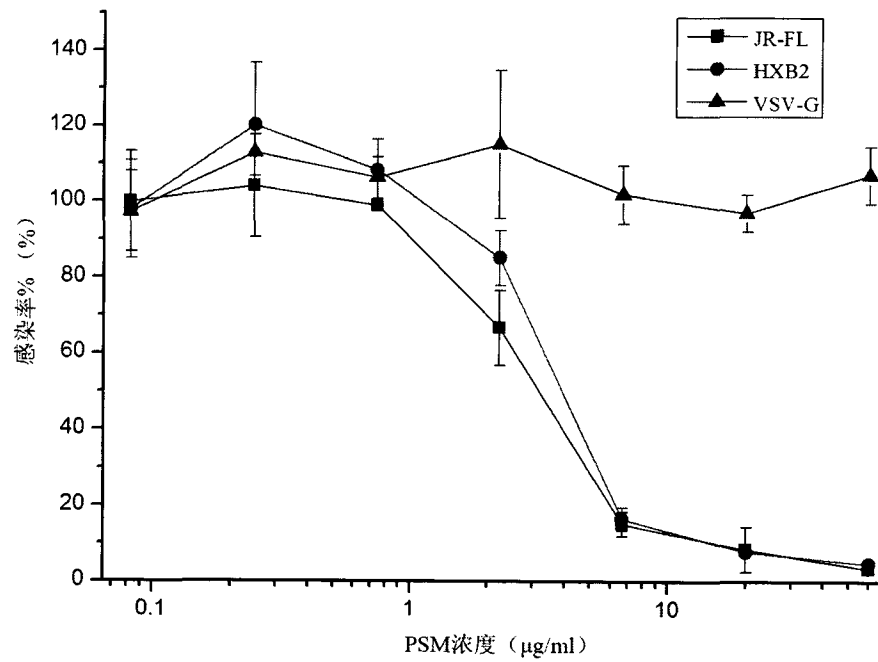


图 1

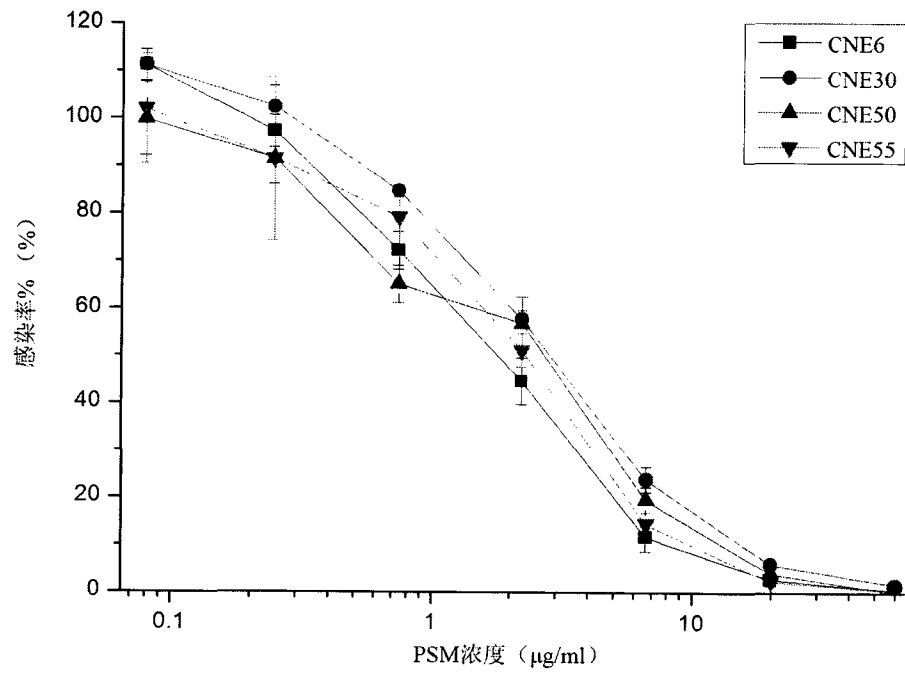


图 2

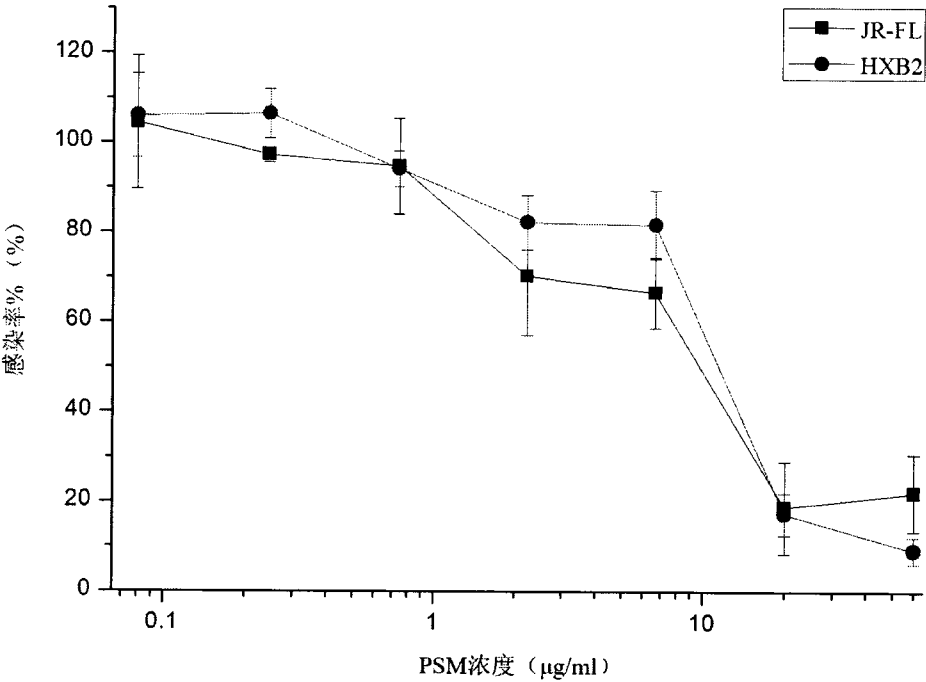


图 3

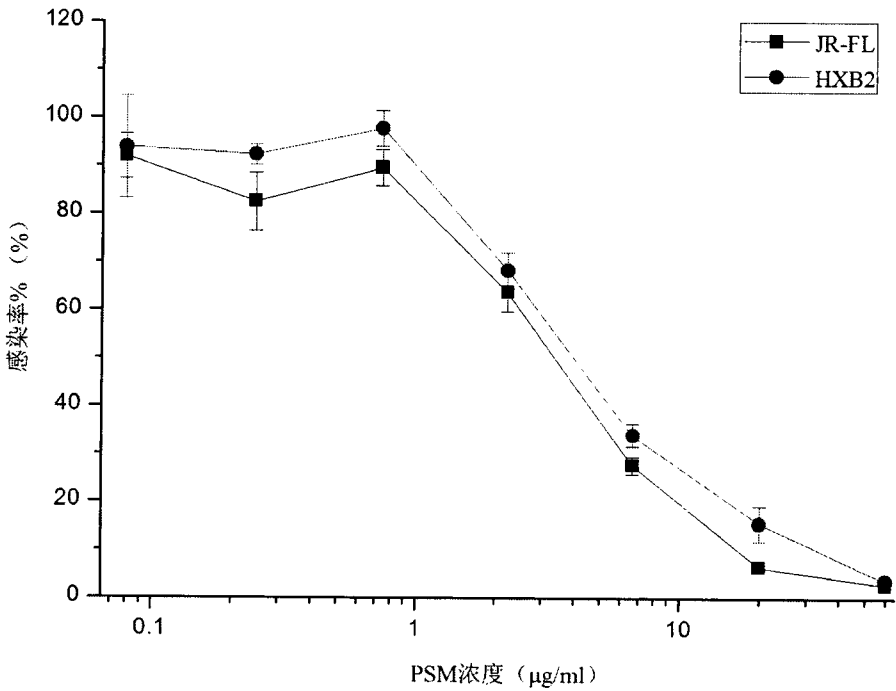


图 4

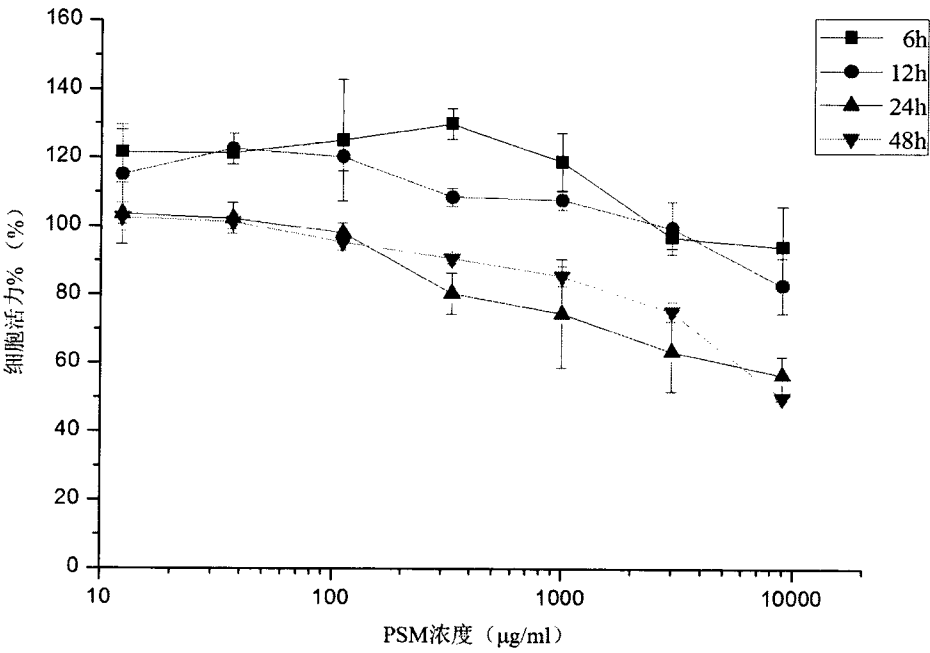


图 5

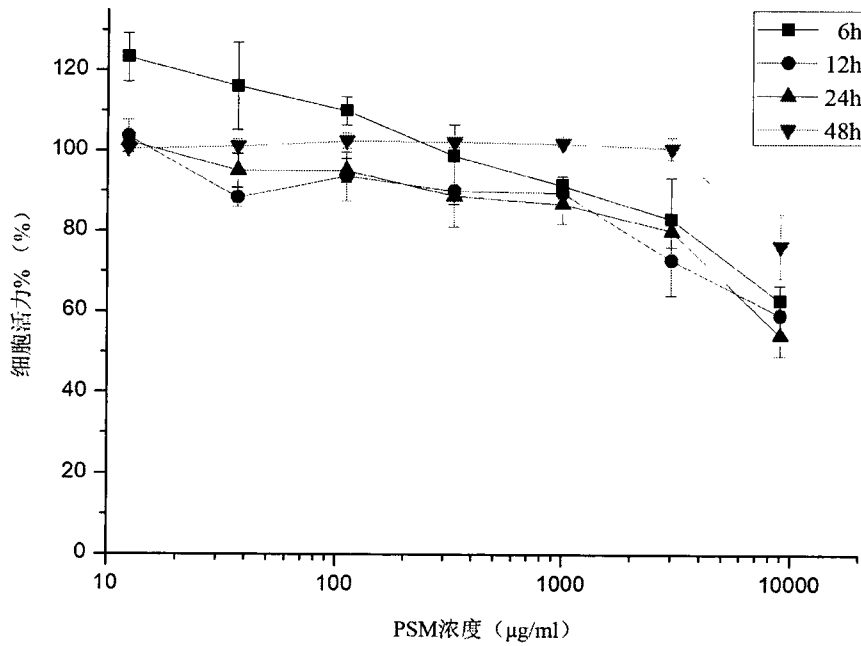


图 6

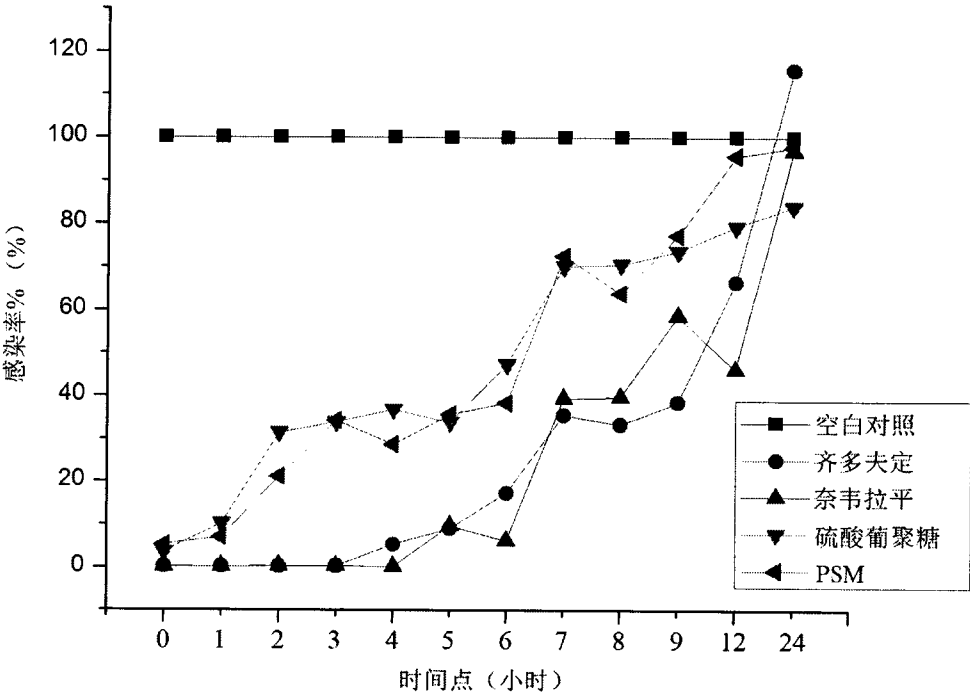


图 7

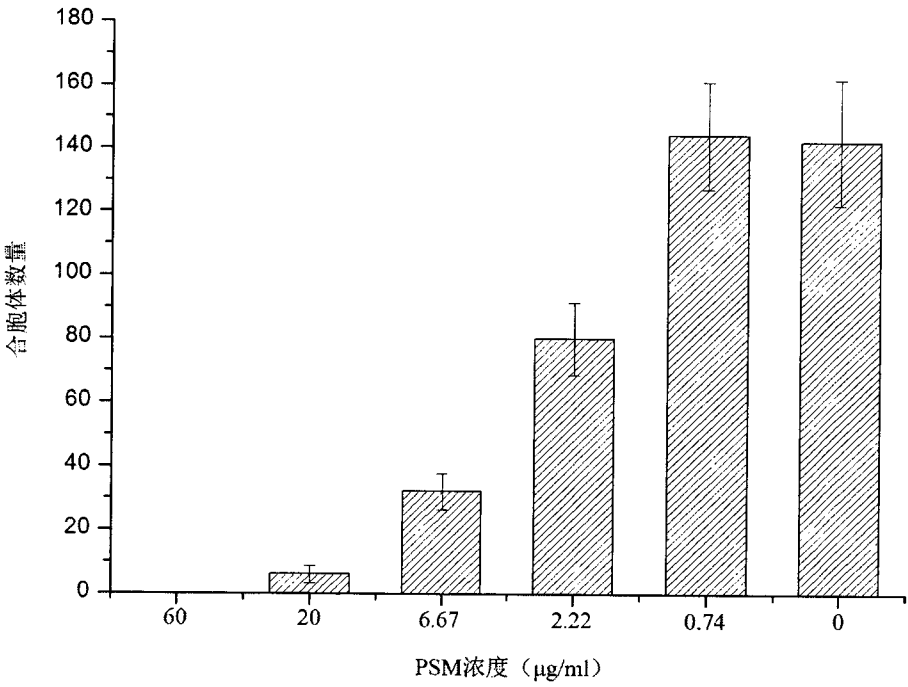


图 8

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2011/078371

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

See the extra sheet

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC: A61K, A61P

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

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

Data base: DWPI, EPODOC, CPRS, CNTXT, CNKI, CA, EMBASE.

Search terms: Poly(4-styrenesulfonic acid-co-maleic acid), styrenesulfonic w acid, maleic w acid, copolymer, HIV, AIDS, human w immunodeficiency w virus, 68037-40-1.

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 0245706 A2 (QUEST MEDICINE INC), 13 Jun. 2002 (13.06.2002), see claim 9, embodiment	1-2
A	WO 2007146197 A1(LI X, et al.), 21 Dec. 2007 (21.12.2007), see claim 11	1-2
A	CN 1358097 A1(GENZ YME CORP, et al.), 10 Jul. 2002 (10.07.2002), see claim 17	1-2

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date	“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	“&” document member of the same patent family
“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search 13 Dec. 2011 (13.12.2011)	Date of mailing of the international search report 22 Dec. 2011 (22.12.2011)
Name and mailing address of the ISA State Intellectual Property Office of the P. R. China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing 100088, China Facsimile No. (86-10) 62019451	Authorized officer ZHANG, Lingling Telephone No. (86-10) 62411987

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2011/078371

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
WO 0245706 A2	13-06-2002	AU 2720202 A	18-06-2002
		US 2002102230 A1	01-08-2002
		AU 2002227202 A8	13-10-2005
WO 2007146197 A1	21-12-2007	US 2010297604 A1	25-11-2010
CN 1358097 A1	10-07-2002	WO0069428A2	23-11-2000
		AU4840900A	05-12-2000
		US6270755B1	07-08-2001
		US6290946B1	18-09-2001
		US2001041171A1	15-11-2001
		NO20015524A	11-01-2002
		EP1189622A2	27-03-2002
		US6419914B2	16-07-2002
		KR20020005032A	16-01-2002
		HU0201114A2	30-09-2002
		JP2002544226U	24-12-2002
		US6517826B1	11-02-2003
		US6517827B1	11-02-2003
		ZA200109290A	29-01-2003
		BR0011520A	24-06-2003
		US2003138397A1	24-07-2003
		MXPA01011387A	01-03-2002
		NZ515226A	26-09-2003
		AU768592B	18-12-2003
		TW592704A	21-06-2004
		RU2246938C2	27-02-2005
		US6890523B2	10-05-2005
		US2006029568A1	09-02-2006
		MX230784B	21-09-2005
		IL146211A	03-06-2007
		EP1800686A2	27-06-2007
		EP1800687A2	27-06-2007
		EP1189622B1	25-07-2007
		DE60035689E	06-09-2007
		INCENP200700961E	07-09-2007
		ES2288855T3	01-02-2008
		DE60035689T2	30-04-2008

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2011/078371

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
		KR100742433B1	24-07-2007
		CN100435806C	26-11-2008
		EP1800686A3	30-12-2009
		EP1800687A3	30-12-2009
		US7678369B2	16-03-2010
		INCHENP200101532E	19-03-2010
		US2010172861A1	08-07-2010
		NO329497B1	01-11-2010

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2011/078371

CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 31/795(2006.01)i

A61K 9/00(2006.01)i

A61P 31/18(2006.01)i

A. 主题的分类

参见附加页

按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和 IPC 两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

IPC:A61K,A61P

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))

数据库: DWPI, EPODOC, CPRS, CNTXT, CNKI, CA, EMBASE。

检索词: 聚(4-苯乙烯磺酸-共聚-马来酸), 苯乙烯磺酸, 马来酸, 共聚物, HIV, AIDS, 人免疫缺陷病毒, 爱滋, 艾滋; Poly(4-styrenesulfonic acid-co-maleic acid), styrenesulfonic w acid, maleic w acid, copolymer, HIV, AIDS, human w immunodeficiency w virus, 68037-40-1。

C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
X	WO 0245706 A2(QUEST MEDICINE INC), 13. 6 月 2002 (13.06.2002); 参见权利要求 9, 实施例	1-2
A	WO 2007146197 A1(LI X 等), 21. 12 月 2007(21.12.2007); 参见权利要求 11	1-2
A	CN 1358097 A1(吉尔特药品公司), 10. 7 月 2002 (10.07.2002); 参见权利要求 17	1-2

☐ 其余文件在 C 栏的续页中列出。☒ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型:

“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的)

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件

“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性

“&” 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期

13.12 月 2011 (13.12.2011)

国际检索报告邮寄日期

22.12 月 2011 (22.12.2011)

ISA/CN 的名称和邮寄地址:

中华人民共和国国家知识产权局

中国北京市海淀区蓟门桥西土城路 6 号 100088

传真号: (86-10)62019451

受权官员

张玲玲

电话号码: (86-10) 62411987

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2011/078371

检索报告中引用的 专利文件	公布日期	同族专利	公布日期
WO 0245706 A2	13-06-2002	AU 2720202 A	18-06-2002
		US 2002102230 A1	01-08-2002
		AU 2002227202 A8	13-10-2005
WO 2007146197 A1	21-12-2007	US 2010297604 A1	25-11-2010
CN 1358097 A1	10-07-2002	WO0069428A2	23-11-2000
		AU4840900A	05-12-2000
		US6270755B1	07-08-2001
		US6290946B1	18-09-2001
		US2001041171A1	15-11-2001
		NO20015524A	11-01-2002
		EP1189622A2	27-03-2002
		US6419914B2	16-07-2002
		KR20020005032A	16-01-2002
		HU0201114A2	30-09-2002
		JP2002544226U	24-12-2002
		US6517826B1	11-02-2003
		US6517827B1	11-02-2003
		ZA200109290A	29-01-2003
		BR0011520A	24-06-2003
		US2003138397A1	24-07-2003
		MXPA01011387A	01-03-2002
		NZ515226A	26-09-2003
		AU768592B	18-12-2003
		TW592704A	21-06-2004
		RU2246938C2	27-02-2005
		US6890523B2	10-05-2005
		US2006029568A1	09-02-2006
		MX230784B	21-09-2005
		IL146211A	03-06-2007
		EP1800686A2	27-06-2007
		EP1800687A2	27-06-2007
		EP1189622B1	25-07-2007
		DE60035689E	06-09-2007
		INCHENP200700961E	07-09-2007
		ES2288855T3	01-02-2008
		DE60035689T2	30-04-2008
		KR100742433B1	24-07-2007

国际检索报告

关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2011/078371

检索报告中引用的 专利文件	公布日期	同族专利	公布日期
		CN100435806C	26-11-2008
		EP1800686A3	30-12-2009
		EP1800687A3	30-12-2009
		US7678369B2	16-03-2010
		INCHENP200101532E	19-03-2010
		US2010172861A1	08-07-2010
		NO329497B1	01-11-2010

主题的分类

A61K 31/795(2006.01)i

A61K 9/00(2006.01)i

A61P 31/18(2006.01)i