



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 1615141 B

(45) 授权公告日 2013.08.14

(21) 申请号 03802107.2 *A61K 31/717*(2006.01)
(22) 申请日 2003.01.10 *A61K 31/718*(2006.01)
(30) 优先权数据 *A61K 31/719*(2006.01)
10200717.9 2002.01.10 DE *A61K 31/721*(2006.01)
(85) PCT申请进入国家阶段日 *A61P 31/04*(2006.01)
2004.07.09 *A61P 31/12*(2006.01)
(86) PCT申请的申请数据 (56) 对比文件
PCT/DE2003/000095 2003.01.10 US 6306835 A, 2001.10.23, 全文.
(87) PCT申请的公布数据 审查员 樊婵娟
W003/057227 DE 2003.07.17
(73) 专利权人 陶氏环球技术公司
地址 美国密歇根洲
(72) 发明人 V·哈克 T·海因策 M·施米特克
U·默尔曼 H·-M·达斯
A·哈特利
(74) 专利代理机构 上海专利商标事务所有限公
司 31100
代理人 朱黎明
(51) Int. Cl.
A61K 31/715(2006.01)
A61K 31/716(2006.01)

权利要求书1页 说明书11页

(54) 发明名称

多糖衍生物在制备抗感染物质中的用途

(57) 摘要

本发明涉及多糖如多葡聚糖和化学或酶部分水解淀粉,所述多糖由季铵基团取代,且通过接头连接,所述多糖的取代度为0.4-3.0。这些多糖可用作抗感染剂或治疗由病毒和细菌引起的传染性疾病。

1. 由季铵基团取代的多糖在制备抑制疱疹病毒复制的药物中的用途,其中所述季铵基团对所述多糖的取代度为 0.4 — 1.8,所述季铵基团通过接头连接于所述多糖。
2. 如权利要求 1 所述的多糖的用途,其特征在于所述取代度为 0.6 — 1.8。
3. 如权利要求 1 所述的多糖的用途,其特征在于所述多糖是多葡聚糖。
4. 如权利要求 3 所述的多糖的用途,其特征在于多葡聚糖选自纤维、地衣多糖、支链淀粉、右旋糖苷和淀粉。
5. 如权利要求 3 所述的多糖的用途,其特征在于所述多糖是淀粉。
6. 如权利要求 5 所述的多糖的用途,其特征在于所述淀粉选自土豆淀粉、小麦淀粉、玉米淀粉和水稻淀粉。
7. 如权利要求 1 所述的多糖的用途,其特征在于把所述季铵基团连接于所述多糖的接头是任选由羟基取代的 $C_2 - C_4$ - 亚烷基。

多糖衍生物在制备抗感染物质中的用途

[0001] 本发明涉及基于寡糖和多糖物质作为抗感染剂（如抗菌剂和抗病毒剂）的用途。这些抗感染剂例如可在化妆品和药物制剂中用作防腐剂，在药物制备过程中用作生物活性化合物，以最后杀灭用于例如医学、生物学和药学中的食品或产品的纺织品和包装材料表面上的生物，以及用在化妆品和医药工业的伤口保护，以及用在农业、食品和饲料中。

[0002] 已知细菌性病原体的感染在全球范围内激增，与此相关的是，抗菌抗性 (antibacterial resistance) 是一个普遍存在的健康问题。肺结核感染在世界范围的增加使得必须设计新的活性物质，这是因为随着时间的推移，分支杆菌菌株能抵抗常用的治疗剂 (B. R. Bloom, J. L. Murray, Science 257, 1992, 1055)，以及需要治疗由抗多种抗菌素的葡萄球菌引起的感染 (M. Kresken, Bundesgesundheitsblatt (Federal Health Newspaper) 38, 1996, 170)。当现有的活性化合物不起作用时，迫切需要替代的活性化合物，它具有新的作用机理，尤其是能对抗抗生素抗性以及控制细菌感染。

[0003] 随着高选择性核苷和核苷酸抗病毒剂 (virustatic agent) (如无环鸟苷、笔环鸟苷 (penciclovir)、灭癌鸟苷 (ganciclovir)、用于疱疹病毒的汤剂 (sorivudine) 和 cidofovir 的发展，在控制危及生命的感染方面取得了显著的进步，这些治疗剂都具有相同的作用原理。它们抑制了病毒的 DNA 聚合酶。这些化合物的另一个不足在于它们也干扰被感染细胞的 DNA 代谢作用，从而隐含引起了诱变、畸形和致癌作用的风险 (Wutzler, P. Thust, R. Antiv. Res. 49, 2001, 55)。而且，当长期使用核苷和核苷酸抗病毒剂时，在被感染细胞培养物以及免疫抑制病人中形成了对于这些药物的抗性 (Andrei, G. 等人, Antimicrob. Agents Chemother, 1995, 39, 1632; Pavic, I. 等人, Antimicrob. Agents Chemother, 1997, 39, 2686)。因此，还必须开发新的高活性抗病毒预防和治疗药物，它们具有另一种作用机理。

[0004] 生物活性物质的大类包括季铵盐化合物。它们能破坏微生物如病毒和真菌。低分子量季铵盐可用作消毒剂或杀菌涂料 (J. Controlled Release 50, 1998, 145)。与低分子量化合物有关的典型问题是生物利用率不足，这是由例如各种输送和断裂 (breakdown) 过程引起的。季铵官能化的聚合材料可由市售四价交换树脂 (quaternary exchange resin) 合成，所使用的方法是使聚氨酯与聚丁二烯羟基遥爪物 (hydroxytelechele) 接枝聚合，或者所述聚合材料可由在侧链上具有伯醇官能团的聚硅氧烷合成。但这些杀菌聚合物通常生产成本很高，且通常是有毒的，因为它们包含残留的有毒单体 (Trends in Polymer 4, 1996, 364)。另外，所述聚合物可能会以不需要的且危险的方式在体内累积，因为它们并不是生物可降解的。此外，包含阳离子官能团的合成聚合物可在木材保存中用作分散剂 (US5049383)。但包含阳离子官能团的合成聚合物的缺点是高的生产成本、毒性（被剩余的单体污染）以及对于生物降解的稳定性。

[0005] 现在已知具有季铵官能团的多糖衍生物，它们具体适合在造纸和纺织工业中用作表面改善添加剂，以及在化妆品中用作稠度调节剂，这是因为它们仅具有 < 0.2 的低代替度 (DS)。目前，对于它们的生物作用一无所知。另一方面，已经报导含长链烷基 (C_8-C_{22})（所述长链烷基通过甲硅烷基醚基团连接到淀粉上）的淀粉醚具有抗感染作用，特别是抗

菌作用 (JP05295002)。多糖的烷基甲硅烷基醚的低稳定性会导致不可控地释放出官能团,这仅仅是因为大气湿度的作用,从而可降低或失去生物活性 (D. Klemm 等人, *Comprehensive Cellulose Chemistry*, Wiley-VCH, 1998)。除了这些,低分子甲硅烷基化合物是有毒的。另外,公开出版物提到了具有抗菌活性的纤维素纤维和壳聚糖衍生物 (W. H. Daly, M. MGuerrini, *Polym. Mat. Sci. Eng.* 79, 1998, 220)。作为天然的阳离子多糖,壳聚糖是最经常提到的一种,可在化妆品中用作抗真菌剂 (T. Tashiro, *Macromol. Mater. Eng.* 286, 2001, 63, K. C. Gupta, M. N. V. R. Kumar, J. M. S. -Rev. *Macromol. Chem. Phys.* C40, 2000, 273)。这些多糖的缺点是它们通常会被其他生物物质污染,以及由于需要进行分离和纯化的精加工方法和其内在结构 (即所述铵基都位于聚合物骨架上),它们是很昂贵的。另外,也不可能控制铵基分布,而且其含量被限制到了取代度为 1。目前已经公开了由阳离子化改性和交联的多糖如纤维素组成的超吸收剂 (EP0582624B1)。

[0006] 已经有文献报导了这样的效果,即生物活性取决于季铵官能团的存在,另一方面,也已经报导了具有阳离子四烷基氮基团的典型化合物如多季铵盐 (polyquaternium) 10 并不具有任何生物活性 (W. A. Daly, M. M. Guerrini, D. Culberson, J. Macossay, 发表在《*Science and Technology of Polymers and Advanced Materials*》上, Plenum Press 1998, 493)。从文献得到的结果看,无论如何也不能得出这些结构是否确实有生物活性 (如果确实有的话) 的结论。

[0007] 本发明的目标是提供具有抗感染活性的新聚合物,这些物质应该具有有效广谱抗感染效果,应该能有效地抵消细菌感染的抗生素抗性,应该能对于治疗病毒感染提供新的可能性,以及应该有良好的耐受性、生物可降解性、无毒性、且容易制备。

[0008] 本发明的目标是通过提供这样的多糖衍生物得到的,其中使用醚化反应将阳离子官能团通过定位基团引入到多糖中,所述阳离子基团的取代度 (DS) 为 0.4-3.0,优选是烷基铵基的取代度为 0.6-1.8。由于其是生物可降解的和无毒性的,多糖是特别适合的。

[0009] 因此,本发明涉及多糖作为抗感染剂和 / 或用于治疗感染性疾病的用途,所述多糖通过接头 (linker) 键结的季铵基团取代,取代度为 0.4-3.0。

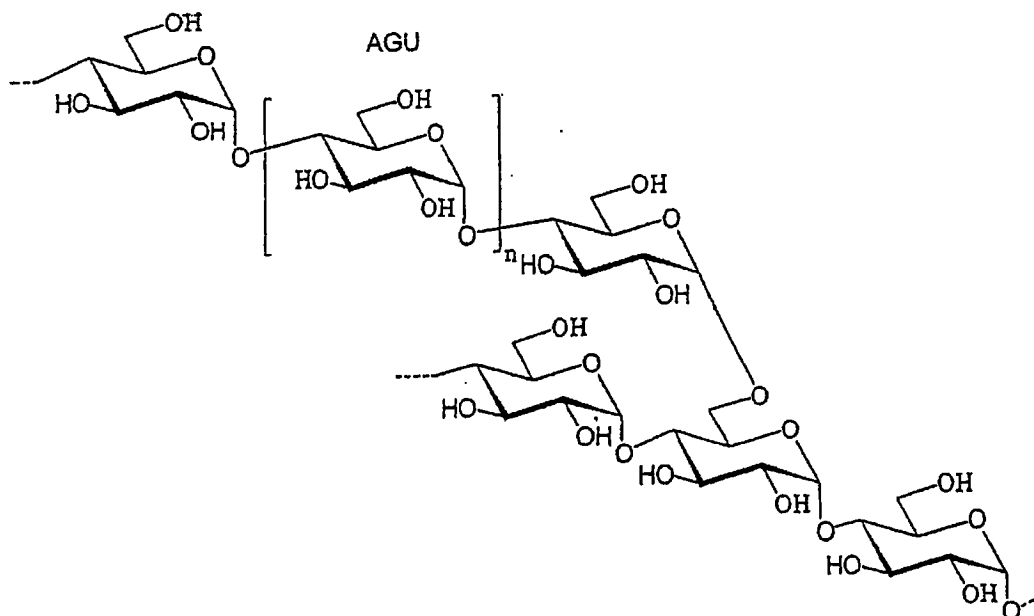
[0010] 本发明所用的化合物表现出了高的生物活性,并能在其最小的抑制浓度 (5-60 毫克 / 升) 抑制病原菌 (如葡萄球菌和分枝杆菌) 的生长,而且也能在 3-50 毫克 / 升抑制疱疹病毒和流感病毒的复制。由于这些特性,所述化合物可用来制备预防和控制细菌和病毒感染的药物。它们可单独使用以及结合已知的治疗剂或生理耐久助剂和载体物质一起使用。

[0011] 所述抗感染化合物可制成药学上可接受介质中的溶液或悬浮液以局部给药、静脉、皮下或肌肉注射给药、或者鼻内给药,以及可制成片剂、胶囊或栓剂。所述化合物的剂量为 0.1-1000 毫克 / 千克体重。

[0012] 多糖可用来制备本发明的活性化合物,所述多糖优选是多葡聚糖 (polyglucan),如纤维素、地衣多糖、支链淀粉和右旋糖苷,特别优选是淀粉,如不同原料的天然淀粉 (例如土豆淀粉、小麦淀粉、玉米淀粉和水稻淀粉)、部分化学或酶水解的淀粉 (如溶胶淀粉 (solamyl)、直链淀粉、支链淀粉和蜡状玉米淀粉)、以及例如阳性核淀粉 (hylon type starch) (它们由基因改性植物制得)。在淀粉中,与支链淀粉一样,直链淀粉的含量都为 0-100%,优选为 30-70%。适用多糖的分子量为 10^3 - 10^7 克 / 摩尔 (参见表 1)。脱水葡萄

糖单体重复单元 (AGU) 相互之间可通过 α (1-4)、 α (1-6)、 α (1-3)、 β (1-4) 和 β (1-3) 键或其组合 (如图 1 所示的 α (1-4) 和 α (1-6), 或者 α (1-6)、 α (1-3) 和 α (1-4)) 连接在一起, 所述重复单元包含具有不同长度且以不同方式连接的侧链。另外, 例如以天然土豆淀粉为例, 也可存在其他官能团如磷酸酯官能团。

[0013]



[0014] 图 1 描述了所用多糖的结构例子。

[0015] 表 1

[0016]

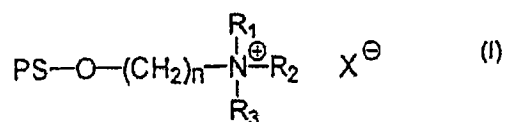
淀粉材料	直链淀粉 (%)	分子量 (GPC ¹) (克·摩尔 ⁻¹)
阳性核 (hylon) VII (H)	70	9×10^6
土豆淀粉 (P, Emsland)	28	40×10^6
玉米淀粉 (C)	28	76×10^6
小麦淀粉 (W)	26	65×10^6
蜡状玉米淀粉 (WC)	1	51×10^6
溶胶淀粉 (S)	28	9700

[0017] ¹: 在二甲亚砜 (DMSO) 中测定

[0018] 羟基的转化程度通过平均取代度 (DS) 来描述。该平均值无偏差地表示官能化羟基的数目, 因此就上述多糖而言, 它限定在 0-3 的范围内。在本发明具有抗感染效果的多糖衍生物中, 阳离子基团的 DS 为 0.4-3.0, 优选是 0.6-1.8。在衍生化过程中, 如果由于多糖与环氧化物的醚化反应而引入的官能团本身包含反应性基团如羟基, 那么后者的基团同样会反应, 从而形成更长的侧链。

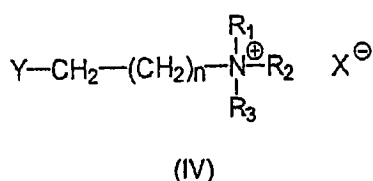
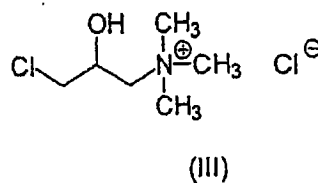
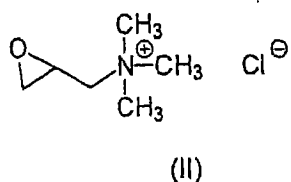
[0019] 本发明所用的多糖衍生物是已知的, 或者可由已知的方法得到, 具体是通过使多糖与反应性化合物进行醚化反应, 从而直接形成式 (I) 的季铵化合物 (PS: 多糖残基, 只显示了一个取代基), 或者在醚化反应之后进行季铵化反应。在式 (I) 中, R_1 、 R_2 和 R_3 优选各自是具有 1-4 个碳原子的烷基或苄基或取代的苄基 (取代基的例子是具有 1-3 个碳原子的烷基、卤原子、烷氧基、氨基甲酰基、烷氧基羰基、氰基和二烷基氨基), R_1 也可以是氢原子, X 是阴离子 (如卤化物、氢氧根、硫酸盐、硫酸氢盐和其他无机和羧酸阴离子), n 可以是 2-4。

[0020]



[0021] 优选使用的季铵阳离子化试剂是 2,3-环氧丙基-三甲基铵氯化物 (QUAB® 151, Degussa AG, 式 II) 或 3-氯-2-羟基丙基三甲基铵氯化物 (QUAB® 188, Degussa AG, 式 III)。通式 IV 的试剂 (其中 Y = Cl 或 Br, n = 1-3) 也可用来醚化所述多糖。

[0022]



[0023] 因此,将季铵基团连接于多糖的接头是任选由羟基取代的 C₂-C₄-亚烷基。

[0024] 用来制备生物活性多糖衍生物的醚化反应可以不同的方式进行,且可以已知的方式进行,其中可得到高含量的阳离子基团。聚合物在醇和氢氧化钠溶液和水 (不同种类的方法) 中的悬浮液以及聚合物在双极性非质子溶剂 (如二甲基亚砷、或二甲基乙酰胺) 中的均匀溶液都是适用的,其中醇如甲醇、异丙醇和 (优选乙醇) 或水性碱金属氢氧化物溶液 (优选是氢氧化钠溶液 / 水) 有一个从多相体系到均匀体系的转变,在所述均匀溶液中,存在有氯化锂或其他溶剂作为反应介质。与阳离子化试剂反应所需的时间为 1-48 小时,优选为 3-24 小时,而温度为 30-130°C,优选为 40-80°C。另外,通过所用醚化试剂的摩尔当量 (其变化范围很大),测定产物的取代度。得到所述多糖衍生物也适合使用多步反应,其中已经阳离子化或氨基官能化的产物在上述条件下可再次进行反应。可使用聚合物化学中的常规方法来形成所述反应产物,通过透析或清洗步骤或从水中再次沉淀在有机溶剂中,分离低分子量副产物和残留试剂。

[0025] 根据下述方程,使用通过元素分析测得的氮值计算取代度:

$$[0026] \quad DS_N = \frac{162.15 \cdot \%N}{1401 - 151.64 \cdot \%N}$$

[0027] 另外,存在于所述化合物中的平衡离子 (如氯化物) 和 NMR 谱图可用来测定 DS 值。

[0028] 下述实例可用来详细解释本发明,但并没有限制其范围。

[0029] 实施例

[0030] 1. 通过在乙醇 / 氢氧化钠 / 水中进行多相反应来制备化合物

[0031] 将 20 克多糖 (天然多糖,参见下表 2) 悬浮在 80 毫升乙醇中。在该悬浮液中逐滴加入在 28 毫升水中的 10.85 克 NaOH 溶液和 80 毫升乙醇,以及 0.246 摩尔的 QUAB® 188 (69% 水性溶液) 溶液。反应混合物在 60°C 搅拌 6 小时。所述产物用 0.1N HCl 中和,透

析并冻干。产率为 95% (以得到 DS 计)。

[0032] 平均取代度 (DSN) = 0.66

[0033] 表 2:多相阳离子化反应

[0034]

试剂				取代度
多糖	类型	摩尔比 AGU: 试剂	产物	
阳性核	QUAB®188	1: 3	H1 (466)	0.50
阳性核	QUAB®188	1: 2	H2 (KS005)	0.66
Amioca	QUAB®188	1: 3	WC1 (505)	0.14
土豆淀粉	QUAB®188	1: 3	P11 (491)	0.34
土豆淀粉	QUAB®188	1: 3	P21 (469)	0.58
小麦淀粉	QUAB®188	1: 3.25	W1 (527)	0.99
小麦淀粉	QUAB®188	1: 2	W3 (571)	0.61
小麦淀粉	2	1: 5	W4	0.72
小麦淀粉	2	1: 10	W5	0.81

[0035] 1:不同的 NaOH 浓度

[0036] 2:试剂 C1-CH₂-CH₂-N(C₂H₅)H₂C1

[0037] 2. 多糖在水性氢氧化钠溶液中的转化

[0038] 20 克多糖 (天然多糖, 参见下表 3) 悬浮在氢氧化钠溶液中 (溶解在 100 毫升水中的 0.5 克 NaOH)。所述混合物在 60°C 搅拌 1 小时, 在该温度逐滴加入 0.123 摩尔 QUAB® 151 或者 QUAB® 188 (就降解的溶胶淀粉 (starch solamyl) 而言)。反应混合物在 60°C 搅拌 6 小时。冷却到室温后, 用 0.1N HCl 中和混合物; 然后透析并冻干产物。

[0039] 产率为 98% (以得到的 DS 计)。

[0040] 元素分析: N 3.34%

[0041] 平均取代度 (DS_N) = 0.60

[0042] 表 3:多相 / 均匀阳离子化

[0043]

试剂				取代度
多糖	类型	摩尔比 AGU: 试剂	产物	
阳性核	QUAB®151	1: 1	H3 (477)	0.40
阳性核	QUAB®151	1: 2	H4 (KS006)	0.92
Amioca	QUAB®151	1: 0.5	WC2 (503)	0.38
Amioca	QUAB®151	1: 1	WC3 (501)	0.60
Amioca	QUAB®151	1: 2	WC4 (502)	0.92
玉米淀粉	QUAB®151	1: 0.5	C1 (517)	0.35
玉米淀粉	QUAB®151	1: 1	C2 ¹ (516)	0.55
玉米淀粉	QUAB®151	1: 1	C3 ¹ (519)	0.72
玉米淀粉	QUAB®151	1: 2	C4 (515)	1.03
土豆	QUAB®151	1: 3	P3 (KS016)	0.69
土豆	QUAB®151	1: 2	P4 (KS013)	1.05
小麦淀粉	QUAB®151	1: 0.5	W4 (520)	0.39
溶胶淀粉	QUAB®188	1: 2	S1 ¹ (554)	0.68
溶胶淀粉	QUAB®188	1: 3	S2 (555)	0.76
溶胶淀粉	QUAB®188	1: 2	S3 ¹ (568)	0.80

[0044] 1:不同的 NaOH 浓度

[0045] 3. 在二甲基亚砷 (DMSO) 中进行均匀反应

[0046] 15 克多糖 (天然多糖, 参见表 4) 在室温悬浮在二甲基亚砷 (DMSO) 中, 将所述悬浮液加热到 80℃, 使所述多糖溶解。将溶液冷却到室温, 并加入溶解在 20 毫升水中的 0.5 克 NaOH。然后逐滴加入 0.0925 摩尔 QUAB® 151, 同时搅拌。所述反应混合物在 60℃ 搅拌 24 小时。冷却到室温后, 用 0.1N HCl 中和所述混合物, 然后透析并冻干。

[0047] 产率为 99% (以得到的 DS 计)。

[0048] 元素分析: N 3.22%

[0049] 平均取代度 (DS_N) = 0.57

[0050] 表 4: 均匀阳离子化

[0051]

试剂				取代度
多糖	类型	摩尔比 AGU: 试剂	产物	
阳性核	QUAB®151	1: 3	H5 (436)	0.55
土豆淀粉	QUAB®151	1: 1	P5 (KS9)	0.42
Amioca	QUAB®151	1: 1	WC5 (504)	0.57
小麦淀粉	QUAB®151	1: 1	W5 (531)	0.41
玉米淀粉	QUAB®151	1: 1	C5 (532)	0.40
溶胶淀粉	QUAB®151	1: 1	S4 (588)	0.60

[0052] 4. 多步步骤阳离子化

[0053] 将5克阳离子化多糖(天然多糖,参见下表5)悬浮在氢氧化钠溶液中(溶解在100毫升水中的0.5克NaOH)。混合物在60℃搅拌1小时。在该温度逐滴加入0.2摩尔QUAB®151。所述反应混合物在60℃搅拌6小时。冷却到室温后,用0.1N HCl中和混合物,然后透析并冻干。

[0054] 产率为95%(以得到的DS计)。

[0055] 元素分析:N 5.11%

[0056] 平均取代度(DS_N) = 1.32

[0057] 表5:多步步骤阳离子化

[0058]

阳离子淀粉		试剂			取代度
多糖	初始 DS	类型	AGU: 试剂 摩尔比	产物	DS _N
阳性核	0.40	QUAB®151	1: 2	H6 (479)	0.90
阳性核	0.80	QUAB®151	1: 1.5	H7 (498)	1.10
土豆	0.77	QUAB®151	1: 2	P6 (506)	1.18
土豆	0.42	QUAB®151	1: 10	P7 (597)	1.32
Amioca	0.60	QUAB®151	1: 10	WC6 (598)	1.25
小麦	0.41	QUAB®151	1: 10	W6 (603)	1.16
小麦	0.88	QUAB®151	1: 10	W7 (602)	1.41
玉米	0.55	QUAB®151	1: 10	C6 (600)	1.13
土豆	1.32	QUAB®151	1: 15	P8	1.80
玉米	1.13	QUAB®151	1: 10	C7	1.65
溶胶淀粉	0.80	QUAB®151	1: 2	S5 (610)	0.91

[0059] 5. 测定所述化合物相对于革兰氏阳性细菌和革兰氏阴性细菌以及对于酵母的抗菌 / 抗微生物活性

[0060] 根据 NCCLS 指南 (临床实验室标准国家委员会: 有氧生长细菌的稀释杀菌灵敏度的测试方法, 第 4 版, Villanova 编; 已核准的标准文献 M7-A4, NCCLS, 1997), 通过测定在 Müller-Hinton 汤 (broth) 中的微汤 (microbroth) 稀释测试中的最小抑制浓度, 测得化合物的抗菌活性, 如对于金黄色葡萄球菌 SG511、金黄色葡萄球菌 134/93 (抗多种抗菌素) 和母牛分枝杆菌 IMET10670 的抗菌活性。结果列在表 6 中。

[0061] 表 6: 抗菌活性

[0062]

样品	取代度 DS _N	MHC (毫克/升)		
		金黄色葡萄球菌		母牛分枝杆菌
		SG511	134/93	IMET10670
H4KS006	0.92	15.6	15.6	7.8
H7498	1.10	15.6	15.6	7.8
WC4502	0.92	31.25	62.5	15.6
C3519	0.72	15.6	62.5	7.8
C4515	1.03	31.25	62.5	15.6
P3016	0.69	31.25	62.5	7.8
P4013	1.05	15.6	125	3.9
W2567	0.57	62.5	62.5	15.6
W3571	0.61	31.25	31.25	7.8
W1527	0.99	31.25	31.25	15.6
S1554	0.68	31.25	62.6	15.6
S2555	0.76	15.6	31.25	7.8
S3568	0.80	15.6	15.6	7.8

[0063] 6. 测定对于单纯性疱疹病毒 1 型的抗病毒效果

[0064] 在进行抗病毒研究前,测定青猴肾 (Green monkey kidney,GMK) 细胞中的 50%细胞毒素浓度 (CC₅₀),以排除非特异性物质作用。为此,在微滴板 (microtiter) 中用合适的物质稀释物系列培养 (inoculate) 连续的 GMK 细胞菌苔 (lawn) (因子 2) (Schmidtke 等人 ; J. Virol. Meth. 95,2001,133)。培养 72 小时后,用晶体紫罗兰 / 甲醇给细胞着色。滤去染料后,在 Dynatech 板式光度计中测量 (550/630 纳米) 各孔 (individula well) 的光学密度,与 6 个未处理的对照细胞的平均值 (其值设定为 100%) 进行对比。CC₅₀ 是某个物质浓度,在这个浓度点上,稀释物系列的消光曲线与对照细胞的平均值的 50% 直线相交。对于 HSV-1,通过对 GMK 细胞进行细胞病变抑制效应测试 (CPE- 抑制测试),研究该化合物的抗病毒效应,确定 50% 抑制剂量 (IC₅₀) (Schmidtke 等人 ;J. Virol. Meth. 95,2001,133)。通过 CC₅₀ 与 IC₅₀ 的比来计算选择系数。

[0065] 初始化合物 (QUAB 试剂和未改性多糖) 并没有显示出抗病毒效应 (结果没有显示)。

[0066] 表 7 :抗病毒活性

[0067]

样品	取代数 DS _N	GMK 细胞中的 CC ₅₀ (微克 / 毫升)	抗 HSV-1 的 IC ₅₀ (微克 / 毫升)	选择系数 (CC ₅₀ /IC ₅₀)
H3477	0.40	> 200	8.54	> 23.42
H1466	0.50	> 200	5.11	> 39.14
H2005	0.66	> 200	7.07	> 28.29
WC2503	0.38	> 200	7.05	> 28.37
C1517	0.35	> 200	7.84	> 25.51
P1491	0.34	> 200	10.15	> 19.70
W4520	0.39	> 200	10.55	> 18.96
SI554	0.68	141.54	3.59	39.43

- [0068] 7. 测定在改性 PRT 中的作用模式
- [0069] 使用无环鸟苷敏感性和膦酰基甲酸 (phosphonoformic acid) 敏感性 HSV1 菌株

Kupka 并且使用化合物 M1 作为例子,在改性 PRT 中研究该物质的作用机理 (Schmidtke 等人 ;J. Virol. Meth. 95, 2001, 133)。在该测试中,以各种浓度加入物质 :

[0070] 1. 仅对于无细胞病毒 (10^6 pfu/ 毫升),然后用化合物在 37℃ 培养 6 小时,所述物质被稀释后,加入 PRT 中 :在 6.25-25 微克 / 毫升的剂量范围内并没有出现空斑减少 (结果没有显示),

[0071] 2. 仅对于琼脂 :在 6.25-25 微克 / 毫升的剂量范围内没有出现空斑减少 (结果没有显示),

[0072] 3. 仅在 1 小时吸附中,在 4℃ 进行 2 小时 (3.12-12.5 微克 / 毫升),以及

[0073] 4. 在加入病毒 (3.12-12.5 微克 / 毫升) 前进行 1、2 和 4 小时。

[0074] 对于作用机理的研究结果显示,本发明的化合物并没有杀毒效应,因为并不能观察到无细胞病毒的任何灭活。相反地,抑制疱疹病毒复制的先决条件是在病毒吸附到测试细胞之前或之时加入物质。