

(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
2007年2月8日 (08.02.2007)

PCT

(10) 国际公布号
WO 2007/014515 A1

- (51) 国际专利分类号:
A61K 31/215 (2006.01) A61K 9/12 (2006.01)
A61K 9/02 (2006.01) A61P 31/12 (2006.01)
A61K 9/06 (2006.01) A61P 31/22 (2006.01)
A61K 9/08 (2006.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2006/001792
- (22) 国际申请日: 2006年7月21日 (21.07.2006)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (30) 优先权:
200510012287.0
2005年8月2日 (02.08.2005) CN
- (71) 申请人 (对除美国外的所有指定国): 盛华(广州)医药科技有限公司(SHENGHUA (GUANGZHOU) PHARMACEUTICAL SCIENCE & TECHNOLOGY CO., LTD.) [CN/CN]; 中国广东省广州市先烈中路102号华盛大厦北塔22楼, Guangdong 510070 (CN)。
- (72) 发明人: 张庆民(ZHANG, Qingmin); 中国广东省广州市先烈中路102号华盛大厦北塔22楼, Guangdong 510070 (CN)。
- (72) 发明人; 及
- (75) 发明人/申请人 (仅对美国): 秦卫华(QIN, Weihua) [CN/CN]; 中国广东省广州市先烈中路102号华盛大厦北塔22楼, Guangdong 510070 (CN)。
- (74) 代理人: 北京路浩知识产权代理有限公司 (CN-KNOWHOW INTELLECTUAL PROPERTY AGENT LIMITED); 中国北京市海淀区知春路6号锦秋知春花园3座2402室, Beijing 100088 (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, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, 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, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧洲 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。
- 根据细则4.17的声明:
— 发明人资格(细则4.17(iv))
- 本国际公布:
— 包括国际检索报告。
- 所引用双字母代码及其它缩写符号, 请参考刊登在每期PCT公报期刊起始的“代码及缩写符号简要说明”。

(54) Title: USE OF HYDROXYBENZOIC ACID ESTER AND ANALOGUES FOR THE MANUFACTURE OF A MEDICAMENT FOR THE PREVENTION AND TREATMENT OF VIRUS INFECTION

(54) 发明名称: 羟基苯甲酸酯及其类似物在制备预防和治疗病毒性感染药物中的应用

(57) Abstract: The use of hydroxybenzoic acid ester and analogues for the manufacture of a medicament for the prevention and treatment of viruses infection, especially human and animal HBV, HPV and HSV infection is provided, wherein virus infection comprises HB, herpes simplex, condyloma acuminatum, vaginitis, cervicitis, and cervical erosion. Otherwise, the various kinds of medicament and personal nursing product which are prepared by hydroxybenzoic acid ester and analogues and pharmaceutic adjuvant are provided.

(57) 摘要:

本发明提供了羟基苯甲酸酯及其类似物在制备预防和治疗病毒性感染药物中的应用, 尤其是用于制备治疗人和动物 HBV、HPV、HSV 病毒感染的药物中的用途, 这类病毒感染包括乙型肝炎、单纯疱疹、尖锐湿疣、阴道炎和宫颈炎及宫颈糜烂。本发明还提供了将羟基苯甲酸酯及其类似物与药学上常用各种辅料配伍制备成不同药剂或个人护理产品。

WO 2007/014515 A1

羟基苯甲酸酯及其类似物 在制备预防和治疗病毒性感染药物中的应用

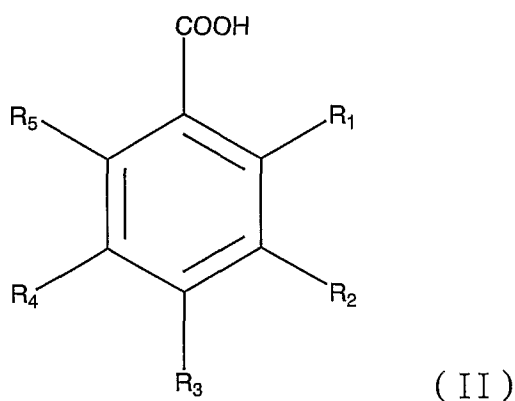
技术领域

本发明涉及羟基苯甲酸酯及其类似物在制备预防和治疗病毒性感染药物中的应用，更确切地说，涉及羟基苯甲酸酯及其类似物在制备治疗人和动物的HBV、HPV、HSV病毒性疾病（如乙型肝炎、尖锐湿疣、单纯疱疹、阴道炎、宫颈炎及宫颈糜烂）药物中的应用以及在制备辅助治疗子宫颈癌药物中的应用。

背景技术

在羟基苯甲酸酯及其类似物中，已知有对羟基苯甲酸酯用作食品、药品的防腐剂；没食子酸酯（3,4,5-三羟基苯甲酸酯）能够抑制血栓素 A₂ (TXA₂) 合成，具有比阿司匹林 (ASP) 更强、更快的抗血小板聚集作用，已被用于制备注射液；没食子酸已被证明对乙型肝炎 HBV 病毒有抑制作用（解放军广州医学高等专科学校学报，1998，26 (2): 5-7）。至今尚无有关羟基苯甲酸酯及其类似物包括 3,4,5-三羟基苯甲酸烷醇酯（即没食子酸烷醇酯）用于制备治疗人体用抗病毒药物，如乙型肝炎、皮肤黏膜病毒感染药物的文献记载。

中国专利 CN1411339A、美国专利 US6294186 的发明描述了抗微生物组合物，其包含安全有效量的苯甲酸类似物，包括具有下述结构 (II) 的那些：



其中 R₁、R₂、R₄ 和 R₅ 独立地选自 H、OH、F、I、Br、Cl、SH、NH₂、CN、烷基、烷氧基、NR₂、OR、NO₂、COR、CONR₂、CO₂R、SO₃R，其中 R 独立地选自 H、烷基和烷氧基。R₃ 独立地选自 H、OH、F、I、Br、Cl、SH、CN、烷基、烷氧基、OR、NO₂、COR、CONR₂、CO₂R、SO₃R，其中 R 独立

地选自 H、烷基和烷氧基。上述专利文献还提出最优选自水杨酸（即 2-羟基苯甲酸）、苯甲酸和它们的组合，同时还限定了该通式化合物使用的 pH 范围是 1-7。

5 病毒虽然是最小的病原微生物，但病毒的传播最广，目前世界上近 3/4 的传染病是由病毒引起。在临床上较多的疾病与病毒感染有关。

尖锐湿疣又称生殖器疣或性病疣，是由人乳头瘤病毒（HPV）引起的皮肤黏膜良性新生物，为目前最常见的性传播病之一，与生殖器的炎症和癌的发生有密切关系。目前，治疗尖锐湿疣的药物有鬼臼毒素，优点是疗程短，但存在刺激性、毒副作用大的问题。具体表现是疼痛、水肿、糜烂等。外用
10 药治疗尖锐湿疣的重组人干扰素 $\alpha - 2\beta$ 凝胶是目前公认有效果的药物。

近年研究结果表明，29.3%的宫颈糜烂患者呈现 HPV 阳性，而正常宫颈阳性率只为 11.1%（陈富强等，肿瘤防治杂志，2001，8（4）342-344；徐成康，中山医科大学学报，1998，19（3）：223-226）。据报道（Ahn ws et al, J Cell Biochem Suppl, 1997; 28-29: 133-139），慢性宫颈炎中高危 HPV（人乳头瘤病毒）16、18 型表达率为 69%，高危型 HPV16、18 检出率随宫颈糜烂程度的增加呈现递增趋势，颗粒型或乳突型糜烂 HPV16、18 检出率与正常宫颈比较差异显著。用 PCR 可测得宫颈癌中 HPV16、18 阳性率达 83.33%，高危型 HPV DNA 整合到宿主细胞染色体，可产生 E6、E7 肿瘤蛋白，它们分别抑制抑癌基因 p53 和 Rb，使细胞逃脱 p53 和 Rb 的控制，导致细胞周期控制
20 失常，使通常处于静止状态的细胞增生活跃、肿瘤生长。若 HPV16 持续存在，就可使宫颈病变发展成宫颈癌。与外阴感染不同，宫颈 HPV 感染以 HPV16/18 型为主，常不发生湿疣改变，而是以隐性感染长期存在，先引起不典型增生，当有其他因子参与时而导致癌变。

单纯疱疹病毒（HSV）是双股 DNA 病毒，其经口腔、呼吸道、生殖道粘
25 膜和破损皮肤等多种途径侵入机体。人感染非常普遍，感染率达 80~90%，常见的临床表现是粘膜或皮肤局部集聚的疱疹，偶而也可发生严重的全身性疾病，累及内脏。研究表明 HSV-1 和 HSV-2 可能分别与唇癌、外阴癌及子宫颈癌有关，曾受到人们重视（孙荷等，中国实用妇科与产科杂志，2001，17（7）：407-409）。目前治疗药物有疱疹净、阿糖胞苷、阿糖腺苷、溴乙烯

尿昔和无环鸟昔等，但治疗时间较长，需要 5 至 7 天。

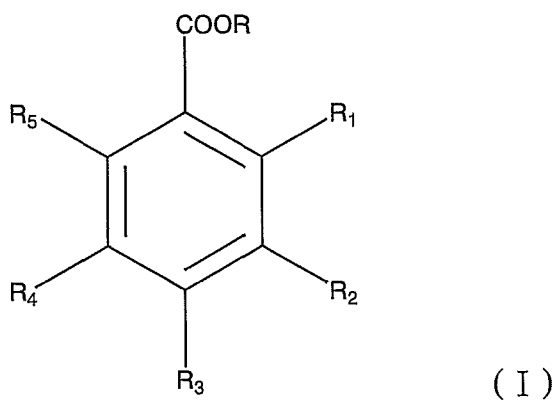
用于乙型肝炎病毒 (HBV) 的抗病毒药物，如 80 年代曾进行试验的阿糖腺苷、磷酸阿糖腺苷、阿昔洛韦、齐多夫定因疗效不佳，毒性反应大，在国外已不再用于治疗乙肝。近几年开发了多种核苷类药物，对 HBV 有明显的抑制作用，如拉米夫定、泛昔洛韦、洛布卡韦、阿地福韦、FTC、FMAU、FDDC、BMS 200475 等，但长期适用这些药物，病毒可能出现变异和耐受性，而且需长期用药，短期应用仅有暂时效果。

因此，人们一直在研究开发抗 HBV、HPV、HSV 感染的新药。

发明内容

10 本发明的主要目的在于提供羟基苯甲酸酯及其类似物在制备预防和治疗病毒性感染的药物中的应用，尤其是用于制备治疗人和动物 HBV、HPV、HSV 病毒性疾病药物的用途。

所述的羟基苯甲酸酯及其类似物为下述通式 (I) 所示的化合物。



15

其中 R 是 C_{1-11} 烷基， R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 独立地选自 OH 或 H 并至少含一个 OH，但不包括水杨酸酯。

20 优选地，R 是 C_{1-8} 烷基，即 CH_3 、 C_2H_5 、 C_3H_7 、 C_4H_9 、 C_5H_{11} 、 C_6H_{13} 、 C_7H_{15} 、 C_8H_{17} ，最优选碳原子数为 1-3，即 CH_3 、 C_2H_5 、 C_3H_7 。

R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 优选含两个以上的 OH；更优选是含三个以上的 OH。

所述羟基苯甲酸酯及其类似物 (通式化合物 (I)) 优选为下列化合物之一：4-羟基苯甲酸酯、2,4-二羟基苯甲酸酯、3,4-二羟基苯甲酸酯、2,3,4-三羟

基苯甲酸酯、3,4,5-三羟基苯甲酸酯或3,4,6-三羟基苯甲酸酯；更优选是2,3,4-三羟基苯甲酸酯、3,4,5-三羟基苯甲酸酯或3,4,6-三羟基苯甲酸酯；最优选是3,4,5-三羟基苯甲酸酯。

5 本发明所述化合物和/或含有所述化合物的组合物作为活性成分的有效剂量，可用于制备治疗人和动物病毒性疾病药物，特别是用于治疗人和动物人乳头瘤病毒（HPV）、乙型肝炎（HBV）、疱疹病毒（HSV）等病毒性疾病，包括乙型肝炎、尖锐湿疣、单纯疱疹、阴道炎、宫颈炎及宫颈糜烂和辅助治疗子宫颈癌。

10 本发明所述的化合物和/或含有其作为活性成分有效量的组合物，作为抗病毒产品，是抗人体内或皮肤黏膜病毒产品的主要成分，而不是仅作为通常使用的防腐剂或抗氧化剂等辅料成分，如果由于减少所述化合物和/或含有其作为活性成分有效量的组合物后将降低产品的抗病毒效果者，应属于抗皮肤黏膜病毒有效成分，其中所述有效量是指可有效地杀灭或抑制病毒的有效剂

15 量。本发明的化合物活性成分大多是已知化合物，一些已用于制备食品添加剂、一些是药用辅料，还有一些是药用中间体，可以在市面上买到，也可以从天然植物中提取或通过已知方法进行制备。

20 本发明所述的化合物和/或含有其作为活性成分有效量的组合物，与注射剂或口服制剂的各种辅料制备成粉针、水针、片剂、胶囊、颗粒剂、溶液剂或药学上可以接受的其他制剂。

本发明所述的化合物和/或含有其作为活性成分有效量的组合物，与皮肤黏膜用药的各种辅料配伍制备成各种制剂，如膏剂、凝胶剂、洗剂、片剂、栓剂、膜剂、喷剂或药学上可以接受的其他制剂。

25 本发明所述的化合物和/或含有其作为活性成分有效量的组合物，作为抗病毒个人护理产品，所述个人护理产品为消毒液、洗手皂、卫生洗手剂、洗浴剂、沐浴胶、洗浴液、个人护理擦拭物、擦面纸、鼻内喷雾剂或它们的组合。

在制备本发明的药物产品时，可以用单一化合物或其组合物。当用于制备药用制剂时，可以与不同的药物和药学上可接受的载体组合，以利于制剂

的形成，这些载体可以是：淀粉、糊精、吐温 80、卡波姆、纤维素、羧甲基纤维素钠、海藻酸钠、甘油、丙二醇、聚乙二醇、月桂氮唑酮、异丙醇、三乙醇胺或司盘 60，但不限于此。

另外，作为活性成分的单一化合物或是其组合物，还可以将活性成分加入 5 到消毒液、洗手皂、卫生洗手剂、洗浴剂、沐浴胶、洗浴液、个人护理擦拭物、擦面纸或鼻内喷雾剂中，用于杀灭皮肤黏膜表面的病毒。

本发明所述的各种制剂及抗病毒个人护理产品可采用本领域常用的方法制备而成。

所述化合物和/或含有所述化合物的组合物能有效地杀灭和抑制 10 HPV6/11、16/18 型，可用于制备治疗 HPV 的病毒感染的药物，治疗尖锐湿疣、阴道炎、宫颈炎及宫颈糜烂和辅助治疗子宫颈癌。本发明通过实时荧光定量 PCR 检测 HPV 病毒的量的改变来观察活性成分和产品效果，该方法已在数篇公开发表的文献中应用（蔡有龄等，中国性病艾滋病防治，2002，8：2，108；吴元胜、范瑞强等，实用中西医结合临床，2003，3：2，1）。

15 能在体外长期培养的肝源性肿瘤细胞株 2.2.15 是应用最广泛的乙型肝炎细胞模型。本发明技术人员利用其观察本发明化合物对其分泌 HbsAg 和 HbeAg 的影响，结果证明本发明化合物羟基苯甲酸酯及其类似物效果比已知的羟基苯甲酸及其类似物要好。

本发明中所述的一些化合物为食品添加剂，在有效剂量范围，对人体无 20 毒副作用，经部分尖锐湿疣和疱疹病毒感染患者临床试验证明本发明化合物羟基苯甲酸酯及其类似物效果比已知的羟基苯甲酸及其类似物要好。

羟基苯甲酸酯的稳定性要好于其酸，试验证明，没食子酸丙酯比没食子酸要稳定，尤其在人体中性偏碱（pH7.4）或肠道碱性（pH8.6）环境下，本 25 发明的化合物活性成分羟基苯甲酸酯比相应的羟基苯甲酸要稳定，在 pH6.8 ~ 8.6 条件下，从无色变成黄色，羟基苯甲酸变色速度明显要快于羟基苯甲酸酯，通过 30 天前后的可见光扫描图谱，可以证明这点。

同时，羟基苯甲酸酯的抗病毒活性也明显高于其相应的羟基苯甲酸，如没食子酸丙酯比没食子酸的抗病毒活性要高约一倍，本发明提供的实施例证明，羟基苯甲酸酯并不是作为羟基苯甲酸的前药发挥作用。所以，本发明的

化合物有利于制备质量可控、效果明显的抗病毒药物和护理用品。

具体实施方式

以下实施例用于说明本发明，但不用来限制本发明的范围。

本发明所采用的主要材料（含量均大于99%）及其来源：

5	材料	来源
	对羟基苯甲酸	国药集团化学试剂有限公司
	对羟基苯甲酸乙酯	广州气体厂
	2,3-二羟基苯甲酸	台州市中大化工有限公司
	2,3-二羟基苯甲酸甲酯	台州市中大化工有限公司
10	2,4-二羟基苯甲酸	台州市中大化工有限公司
	2,4-二羟基苯甲酸甲酯	台州市中大化工有限公司
	3,4-二羟基苯甲酸	台州市中大化工有限公司
	3,4-二羟基苯甲酸甲酯	台州市中大化工有限公司
	2,3,4-三羟基苯甲酸	南京龙源天然多酚合成厂
15	没食子酸	浙江省瓯海化工试剂厂
	没食子酸丙酯	江苏连云港市红旗化工厂
	没食子酸乙酯	南京龙源天然多酚合成厂
	没食子酸甲酯	南京龙源天然多酚合成厂
	没食子酸辛酯	南京龙源天然多酚合成厂
20	没食子酸十二烷基酯	南京龙源天然多酚合成厂
	重组人干扰素 α -2 β 凝胶	合肥兆峰科大药业有限公司
	聚肌胞	广东开平生化制药厂

实施例1 抗HPV病毒微乳液的制备

25 取1,2-丙二醇20ml、吐温80 15ml、氮酮5ml混合，加灭菌蒸馏水至总体积为100ml，得外用制剂溶液。取苯甲酸、水杨酸、苯甲酸+水杨酸、对羟基苯甲酸、2,3-二羟基苯甲酸、2,4-二羟基苯甲酸、3,4-二羟基苯甲酸、对羟基苯甲酸乙酯、3,4-二羟基苯甲酸甲酯、没食子酸、没食子酸十二烷基酯、没食子酸辛酯、没食子酸丙酯、没食子酸乙酯、没食子酸甲酯、2,4-二羟基苯甲

酸甲酯各 10g, 分别加外用制剂溶液 50 ml, 调节 pH 至 5.5, 然后加外用制剂溶液至 100 ml, 得 10%本发明的抗 HPV 病毒微乳液和对照组微乳液。

实施例 2 抗 HBV 病毒没食子酸丙酯注射液的制备

5 取没食子酸丙酯 10g、氯化钠 8.5g、1,2-丙二醇 10ml、吐温 80 10ml, 混合后加灭菌蒸馏水使其溶解, 并加灭菌蒸馏水至 100ml, 调节 pH 至 7.4, 滤过, 灌封, 在 100℃灭菌 30min。即得没食子酸丙酯注射液。

实施例 3 复方没食子酸乙酯泡腾片的制备

10 取没食子酸乙酯 0.25g、聚肌胞 0.01g、酒石酸 0.45g 分别过 80 目筛, 以 95%乙醇制成软材, 过 12 目筛制湿粒, 于 50℃干燥, 备用。另取碳酸氢钠 0.65g、糊精 0.02g 加无菌蒸馏水制软材, 过 12 目筛制湿粒, 于 50℃干燥, 然后与上述干粒混合, 整粒, 加适量灭菌蒸馏水, 烘片刻, 加 0.01g PEG6000。混匀, 压片, 即得。

实施例 4 荧光定量 PCR 检测 HPV 病毒筛选药物实验

供试样品:

15 取实施例 1 中所得的微乳液为供试样品, 生理盐水空白对照。

HPV 病毒来源: 来自多位病人临床标准的尖锐湿疣标本, 切取后, 用生理盐水洗去血液, 在无菌条件下, 将标本剪碎, 加入 3 倍体积生理盐水混匀、研磨成匀浆放置 -40℃备用。

试验方法:

20 取每种供试药品微乳液及生理盐水各 50 μ l, 分别加入尖锐湿疣组织匀浆 50 μ l, 37℃温育 24 小时, 然后按购自达安基因诊断中心达安基因诊断中心的 HPV6, 11 和 16, 18 型 FQ-PCR 诊断试剂盒提供的操作步骤进行检测, 采用常规碱裂解法提取 DNA 0.2ml 入薄壁反应管中, 同时加入一定浓度的引物、F-PROBE、DNTP、DNA 聚合酶及缓冲液等, 用 ABI PRISM™ 7700 荧光定量 PCR 扩增仪, 93℃2min 予变性后, 按 93℃45s, 55℃120s, 反复进行
25 40 个循环, 定量结果由电脑软件自动分析计算出初始拷贝数的定量结果。数据见表 1。

表 1 荧光定量 PCR 检测 HPV 病毒筛选药物实验

管号	病毒 HPV 6/11 (拷贝/ml)	HPV16/18 (拷贝/ml)	
	空白对照管	1.45×10^6	1.40×10^5
5	苯甲酸	3.60×10^5	2.90×10^4
	水杨酸	5.50×10^5	2.60×10^4
	苯甲酸+水杨酸	2.90×10^5	4.50×10^4
	对羟基苯甲酸	7.00×10^5	1.30×10^3
	对羟基苯甲酸乙酯	8.50×10^4	0
10	3,4-二羟基苯甲酸	1.90×10^4	8.50×10^4
	3,4-二羟基苯甲酸甲酯	8.50×10^4	6.00×10^2
	没食子酸	0	0
	没食子酸十二烷基酯	6.70×10^4	4.90×10^4
	没食子酸辛酯	0	0
15	没食子酸丙酯	0	0
	没食子酸乙酯	0	0
	没食子酸甲酯	0	0
	2,3-二羟基苯甲酸	2.30×10^4	3.20×10^3
	2,4-二羟基苯甲酸	1.60×10^4	4.60×10^3
20	2,4-二羟基苯甲酸甲酯	5.20×10^4	2.50×10^2

结果显示：尖锐湿疣的组织匀浆在加入受试化合物后 24 小时后，没食子酸辛酯、没食子酸丙酯、没食子酸乙酯、没食子酸甲酯、没食子酸组，FQ-POVR 不能再检出 HPV 6/11 和 HPV16/18 病毒；对羟基苯甲酸乙酯组不能检出 HPV16/18 病毒，而对羟基苯甲酸组能检出 HPV16/18 病毒；3,4-二羟基苯甲酸甲酯、2,4-二羟基苯甲酸甲酯组有较少的 HPV16/18 病毒量，而空白对照管及对照样品苯甲酸、水杨酸、苯甲酸 + 水杨酸组合物组、没食子酸十二烷基酯组和 3,4-二羟基苯甲酸组却具有很高浓度的 HPV6/11 和 HPV16/18 病毒量，说明本发明的化合物在体外具有能快速有效杀灭 HPV 病毒的能力。羟基苯甲酸酯中的醇烷基应小于十二碳。

30 实施例 5 临床外用治疗尖锐湿疣观察

诊断标准：参照中华人民共和国卫生部卫生防疫司编《性病防治手册》1994 年第 2 版中的有关内容：典型的外阴（或肛周）皮肤粘膜部位乳头样、

菜花状或其它形状的柔软增生物，5%醋酸白试验阳性。

纳入和排除标准：

符合上述诊断标准，单个皮损直径 $\leq 1\text{cm}$ ，就诊前 2 周没有进行过有关治疗的病人纳入临床观察。有外阴生殖器真菌、滴虫、细菌感染或其它合并症者，哺乳期、孕妇或有全身慢性消耗病、严重肝肾疾病者不纳入观察。女病人治疗时避开月经期。

实验方法：

门诊选择符合观察条件的尖锐湿疣患者 50 例，随机分组，分为对羟基苯甲酸、没食子酸、对羟基苯甲酸、没食子酸丙酯、重组人干扰素 $\alpha - 2\beta$ 凝胶共五组。没食子酸、没食子酸丙酯、对羟基苯甲酸和对羟基苯甲酸乙酯供试样品均为按实施例 1 进行制备所得的微乳液，病人用药物涂抹患处，每日 3 次，分早、中、晚局部施药，以能遮盖疣体为宜，上药后暴露患处并限制活动 20min。

疗效判定标准：

观察时间：8 天，未脱落者继续用，随访 12 周。

观察指标：治疗前仔细清点并描述疣体的部位、形态、大小和数目。

痊愈：所有皮损全部消失；显效：70%以上皮损消失；进步：30%以上皮损消失；无效：皮损消退不足 30%，原皮损无变化或增大。

临床结果见表 2。

表 2 临床外用治疗尖锐湿疣观察结果

	痊愈		显效		进步	无效
	1-4 天	5-8 天	1-4 天	5-8 天		
没食子酸	2		3	1	4	
没食子酸丙酯	7	1	2			
对羟基苯甲酸				5	2	3
对羟基苯甲酸乙酯	6	2	2			
重组人干扰素 $\alpha - 2\beta$ 凝胶	最短疗程需要 4 周					

结果显示：外用药治疗尖锐湿疣的重组人干扰素 $\alpha - 2\beta$ 凝胶是目前公认效果较好的药物，但最短疗程也要 4 周。经统计学处理，对羟基苯甲酸乙酯和没食子酸丙酯效果明显比对羟基苯甲酸和没食子酸要好，有显著差异。与

重组人干扰素 $\alpha - 2 \beta$ 凝胶比较, 有非常显著性差异。而且, 本发明化合物对皮肤黏膜无明显刺激性, 副作用仅有个别人感觉灼热感。

实施例 6 测羟基苯甲酸酯类似物抑制乙型肝炎 2.2.15 细胞株的 HbsAg 分泌

实验材料:

- 5 由克隆 HBV DNA 转染的乙型肝炎 2.2.15 细胞株 (购自上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所, 也可从国家新药筛选中心购买), 作为筛选抗 HBV 药物的细胞膜型 (参照中西医结合肝病杂志, 2004, 14 (3): 158); 细胞培养液 DMEM (GIBCO 公司); 胎牛血清 (杭州四季青生化厂); G418(GIBCO 公司); 四甲基偶氮唑蓝 (Sigma 公司); HbsAg、HBeAg 检测
- 10 (ELISA 法) 药盒 (上海科华实业生物技术公司)。

实验方法:

- 根据药物的毒性试验结果, 将表 3 中所示羟基苯甲酸酯类似物溶于 1,2-丙二醇 20ml、吐温 80 15ml, 用灭菌生理盐水稀释成浓度为 2 微摩尔/毫升的溶液, 加入到等体积细胞培养液中, 培养液中的最终浓度为 1 微摩尔/毫升,
- 15 细胞按 1×10^5 个/ml 接种于 24 孔板上, 每孔 1ml, 3 天后收集上清液待检, 对 HbsAg、HBeAg 的抑制率的结果见表 3。

结果显示:

- 没食子酸、没食子酸丙酯、3,4-二羟基苯甲酸、3,4-二羟基苯甲酸乙酯对 2.2.15 细胞分泌 HbsAg、HBeAg 有抑制, 但没食子酸丙酯和 3,4-二羟基苯甲酸乙酯效果比没食子酸和 3,4-二羟基苯甲酸要明显, 具有显著差异。
- 20

表 3 羟基苯甲酸及其酯对 2.2.15 细胞分泌 HbsAg、HbeAg 的影响

组别	HBsAg		HBeAg	
	抑制率	P 值	抑制率	P 值
空白	0		0	
25 没食子酸	-8.83%	<0.05	-9.40%	<0.05
没食子酸丙酯	-18.83%	<0.01	-12.04%	<0.05
3,4-二羟基苯甲酸	9.81%	<0.05	8.92%	<0.05
3,4-二羟基苯甲酸乙酯	14.20%	<0.01	6.04%	<0.05

备注: SPSS 软件统计, t 检验

实施例 7 临床外用治疗单纯疱疹病毒 (HSV) 感染

选经临床诊断单纯疱疹病毒 (HSV) 感染者 22 人, 随机平均分为 2 组,。取无环鸟苷软膏和实施例 1 所得没食子酸消毒液, 每日用药三次, 外用涂抹患处。

- 5 结果显示: 没食子酸丙酯消毒液组平均痊愈天数为 3 天, 而无环鸟苷软膏组平均痊愈天数为 5.5 天, 两者有显著差异。没食子酸丙酯消毒液组效果优于无环鸟苷软膏组。

实施例 8 液体洗手皂的制备

- 10 按照表 4 中所列各成分及其用量比例, 往混合罐中加入约 5% 的水和除对羟基苯甲酸、NaOH 或 HCl 以外的物料, 加热到 80°C 并搅拌直至溶解。冷却到室温, 加入对羟基苯甲酸乙酯, 搅拌直至物料溶解。用 NaOH 或 HCl 调整 pH 值至 5.0, 加入余量的水制成产品。

表 4 液体洗手皂的制备

成分 (wt.%)	6	7	8	9	10
肉豆蔻基硫酸钠	--	5.00	5.00	--	5.00
1, 2-丙二醇	20.00 (V/V)	20.00 (V/V)	20.00 (V/V)	20.00 (V/V)	20.00 (V/V)
对羟基苯甲酸乙酯	1.00	5.00	8.00	4.00	--
NaOH/HCl	至 pH5.0	至 pH4.5	至 pH4.0	至 pH6.5	至 pH6.0
对-氯-间-二甲苯酚	1.50	--	--	--	--
三氯生	--	0.25	1.00	--	1.00
香料	1.0	1.0	--	1.0	1.0
灭菌蒸馏水	至 100%	至 100%	至 100%	至 100%	至 100%

实施例 9 没食子酸丙酯与没食子酸的稳定性试验

- 15 取 1,2-丙二醇 20ml、吐温 80 15ml、氮酮 5ml 混合, 加灭菌蒸馏水至总体积为 100ml, 用少量 NaOH 或 HCl 调节 pH 至 6.8, 得微乳液。分别取 10g 没食子酸丙酯和 10g 没食子酸溶于上述微乳液, 混合均匀, 分别吸取 10 毫升置于具盖无色透明玻璃管, 均基本无色。以分光光度法测二者在 400 ~ 500nm 带的吸收度, 两者吸收度都在 0.15 以下。在常温下放置 30 天后, 没食子酸微乳液外观从到呈浅棕黄色; 而没食子酸丙酯保持基本无色, 再次扫描检测, 没食子酸吸收度为 1.2, 远远高于没食子酸丙酯的 0.4。说明没食子酸丙酯较没食子酸稳定。
- 20

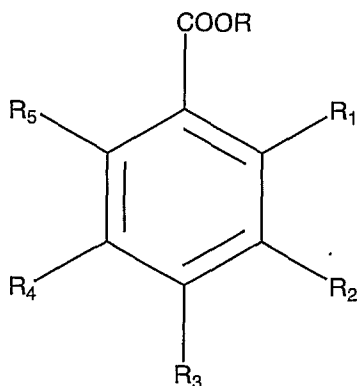
工业实用性

本发明羟基苯甲酸酯及其类似物可用于制备预防和治疗病毒性感染药物，尤其是用于制备治疗人和动物HBV、HPV、HSV病毒性疾病药物，如乙型肝炎、单纯疱疹、尖锐湿疣、阴道炎和宫颈炎及宫颈糜烂。本发明化合物
5 羟基苯甲酸酯及其类似物效果比已知的羟基苯甲酸及其类似物要好，且稳定性也好于其酸。羟基苯甲酸酯及其类似物与药学上常用各种辅料配伍制备成不同药剂或个人护理产品。

虽然，上文中已经用一般性说明及具体实施方案对本发明作了详尽的描
10 述，但在本发明基础上，可以对之作一些修改或改进，这对本领域技术人员而言是显而易见的。因此，在不偏离本发明精神的基础上所做的这些修改或改进，均属于本发明要求保护的范围。

权利要求书

1、通式 (I):



5 所示的羟基苯甲酸酯及其类似物在制备预防和治疗病毒性感染药物中的应用，其中 R 是 C₁₋₁₁ 烷基，R₁、R₂、R₃、R₄、R₅ 独立地选自 OH 或 H，并至少含一个 OH，但不包括水杨酸酯。

2、如权利要求 1 所述在制备预防和治疗病毒性感染药物中的应用，其特征在于，所述的病毒性感染是指人和动物人乳头瘤病毒、乙型肝炎病毒或疱疹病毒感染。

10 3、如权利要求 1 或 2 所述在制备预防和治疗病毒性感染药物中的应用，其特征在于，所述的病毒性感染是指乙型肝炎、尖锐湿疣、单纯疱疹、阴道炎、宫颈炎或宫颈糜烂。

4、如权利要求 1 或 2 所述在制备预防和治疗病毒性感染药物中的应用，其特征在于，所述病毒性感染药物为辅助治疗子宫颈癌的药物。

15 5、如权利要求 1~4 中任意一项所述在制备预防和治疗病毒性感染药物中的应用，其特征在于，R 是 C₁₋₈ 烷基。

6、如权利要求 1~5 中任意一项所述在制备预防和治疗病毒性感染药物中的应用，其特征在于，R 是 C₁₋₃ 烷基。

20 7、如权利要求 1~6 中任意一项所述在制备预防和治疗病毒性感染药物中的应用，其特征在于，R₁、R₂、R₃、R₄、R₅ 中包括两个以上的 OH。

8、如权利要求 1~7 中任意一项所述在制备预防和治疗病毒性感染药物中的应用，其特征在于，R₁、R₂、R₃、R₄、R₅ 中包括三个以上的 OH。

9、如权利要求 1~6 中任一项所述在制备预防和治疗病毒性感染药物中的应用，其特征在于，所述羟基苯甲酸酯及其类似物选自以下化合物之一：

4-羟基苯甲酸酯、2,4-二羟基苯甲酸酯、3,4-二羟基苯甲酸酯、2,3,4-三羟基苯甲酸酯、3,4,5-三羟基苯甲酸酯或3,4,6-三羟基苯甲酸酯。

10、如权利要求1~9中任一项所述在制备预防和治疗病毒性感染药物中的应用，其特征在于，所述羟基苯甲酸酯及其类似物为2,3,4-三羟基苯甲酸酯、
5 3,4,5-三羟基苯甲酸酯或3,4,6-三羟基苯甲酸酯中的一种。

11、如权利要求1~10中任一项所述在制备预防和治疗病毒性感染药物中的应用，其特征在于，所述羟基苯甲酸酯及其类似物为3,4,5-三羟基苯甲酸酯。

12、如权利要求1~11中任一项所述在制备预防和治疗病毒性感染药物
10 中的应用，其特征在于，所述化合物和/或含有其作为活性成分的组合物，与注射剂或口服制剂的各种辅料制备成粉针、水针、片剂、胶囊、颗粒剂或溶液剂；或者与皮肤黏膜用药的各种辅料配伍制备成膏剂、凝胶剂、洗剂、片剂、栓剂、膜剂或喷剂以及药学上可以接受的其他制剂。

13、如权利要求1~10中任一项所述在制备预防和治疗病毒性感染药物中
15 中的应用，其特征在于，所述化合物和/或含有其作为活性成分的组合物，作为抗病毒个人护理用品，所述抗病毒个人护理用品为洗手皂、卫生洗手剂、洗浴剂、沐浴胶、洗浴液、个人护理擦拭物、擦面纸、鼻内喷雾剂或它们的组合。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2006/001792

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

See 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)

A61K, A61P

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

CNKI, Chinese chemicals patent database, Medicine Abstract

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

WPI, EPODOC, PAJ, CPRS, CA, MEDLINE: hydroxybenzoic acid, hydroxybenzoate, gallate, virus, Human papilloma virus, hepatitis B virus, herper virus, HPV, HBV, HSV

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN1167567A(HISHIDA I), 12.17.1997, claim1, p2 lines13—14, p 3 lines 16—18, p5 lines 7—8and 15	1-3,5,6,9,12,13
X	Kane,-C-J et al, Biosci-Rep. 1988 Feb;8(1):95-102, "Methyl gallate,methyl-3,4,5-trihydroxybenzoate, is a potent and highly specific inhibitor of herpes simplex virus in vitro. II .Antiviral activity of methyl gallate and its derivatives", abstract	1-3,5-11
Y	-----	4
Y	ZHENG, Shumin et al., Chinese J Exp Clin Virol., June 2002, Vol 16, No.2, P179-183, "The relationship of cervial cancer with pathogen infections, cytokine and Se"	4

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

<p>* Special categories of cited documents:</p> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date</p> <p>"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)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p>	<p>"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</p> <p>"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</p> <p>"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</p> <p>"&"document member of the same patent family</p>
--	--

Date of the actual completion of the international search
19.09.2006

Date of mailing of the international search report
26 - OCT 2006 (26 - 10 - 2006)

Name and mailing address of the ISA/CN
The State Intellectual Property Office, the P.R.China
6 Xitucheng Rd., Jimen Bridge, Haidian District, Beijing, China
100088
Facsimile No. 86-10-62019451

Authorized officer
FAN, Chanjuan
Telephone No. 86-10-62085260



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2006/001792

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN1068782C(CHINA MEDICAL RES & DEV CENT), 25.07.2001, whole document	1-13

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2006/001792

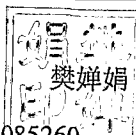
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC (IPC 8):

A61K31/215 (2006.01) i
A61K9/02 (2006.01) i
A61K9/06 (2006.01) i
A61K9/08 (2006.01) i
A61K9/12 (2006.01) i
A61P31/12 (2006.01) i
A61P31/22 (2006.01) i

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2006/001792

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN1167567A	17.12.1997	EP0819380 A1	21. 01.1998
		JP9328404 A	22. 12.1997
		CA2195036 A	07. 12.1997
CN1068782C	25.07.2001	CN1162461 A	22.10 .1997

A. 主题的分类		
参见附加页		
按照国际专利分类表(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)		
IPC8: 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		
中国期刊网 (CNKI), 中国药物专利数据库, 药学文摘库		
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))		
WPI, EPODOC, PAJ, CPRS, CA, MEDLINE: 羧基苯甲酸, 羧苯甲酸, 尼泊金, 原儿茶酸, 四季青素, 没食子酸, 榕酸, 五倍子酸, 病毒, 人乳头瘤, 乙肝, 疱疹, HPV, HBV, HSV		
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	CN1167567A(菱田岩), 17.12.1997, 权利要求 1, 说明书第 2 页 13—14 行, 第 3 页 16—18 行, 第 5 页 7—8, 15 行	1-3,5,6,9,12,13
X	Kane,-C-J et al, Biosci-Rep. 1988 Feb;8(1):95-102, "Methyl gallate,methyl-3,4,5-trihydroxybenzoate, is a potent and highly specific inhibitor of herpes simplex virus in vitro. II .Antiviral activity of methyl gallate and its derivatives", abstract	1-3,5-11
Y	----	4
Y	郑曙民等,《中华实验和临床病毒学杂志》2002 年 6 月第 16 卷第 2 期 179—183 页, "宫颈癌与多种病原微生物感染、细胞因子及硒元素含量相关性研究"	4
<input type="checkbox"/> 其余文件在 C 栏的续页中列出。 <input checked="" type="checkbox"/> 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 "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 19.09.2006	2	国际检索报告邮寄日期 10月 2006 (26 · 10 · 2006)
中华人民共和国国家知识产权局(ISA/CN) 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  电话号码: (86-10)62085260	

C(续). 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
A	CN1068782C(中国医药研究开发中心), 25.07.2001, 全文	1-13

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2006/001792

按照国际专利分类表(IPC)或者同时按照国家分类和 IPC 两种分类 IPC8) :

A61K31/215 (2006.01) i

A61K9/02 (2006.01) i

A61K9/06 (2006.01) i

A61K9/08 (2006.01) i

A61K9/12 (2006.01) i

A61P31/12 (2006.01) i

A61P31/22 (2006.01) i

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2006/001792

检索报告中引用的 专利文件	公布日期	同族专利	公布日期
CN1167567A	17.12.1997	EP0819380 A1	21. 01.1998
		JP9328404 A	22. 12.1997
		CA2195036 A	07. 12.1997
CN1068782C	25.07.2001	CN1162461 A	22.10 .1997