

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

C08G 69/48

A61K 31/74



[12] 发明专利说明书

[21] ZL 专利号 95194145.3

[45] 授权公告日 2004 年 1 月 14 日

[11] 授权公告号 CN 1134486C

[22] 申请日 1995.6.15 [21] 申请号 95194145.3

[30] 优先权

[32] 1994.6.15 [33] AU [31] PM6239

[86] 国际申请 PCT/AU95/00350 1995.6.15

[87] 国际公布 WO95/34595 英 1995.12.21

[85] 进入国家阶段日期 1997.1.15

[71] 专利权人 生物分子研究所

地址 澳大利亚维多利亚

[72] 发明人 B·R·马修斯 G·霍兰

审查员 唐少华

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利
商标事务所

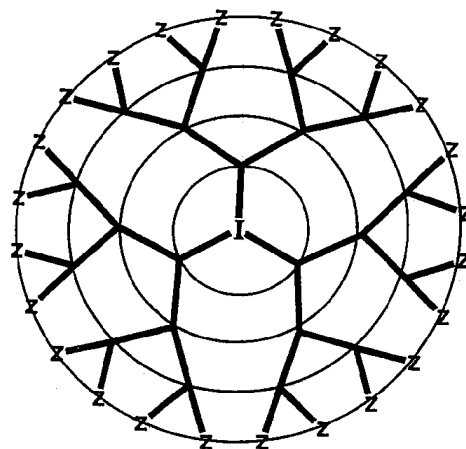
代理人 张 闽

权利要求书 5 页 说明书 33 页 附图 1 页

[54] 发明名称 抗病毒树枝状体

[57] 摘要

一种抗病毒化合物，包括一种诸如聚酰氨基胺或聚赖氨酸树枝状体的树枝状体，具有多个端基，其中，至少一个端基上结合有含阴离子或阳离子的基团，特别是含磺酸、含羧酸、或含三甲铵之类的基团。



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

1. 一种抗病毒化合物，它包括一种具有多个端基的树枝状体，其中，至少所述端基之一上结合有除 2- 硫代唾液酸基之外的含阴离子或阳离子的基团。

2. 如权利要求 1 的化合物，其中所述树枝状体包括一个至少与两个树枝状分枝共价结合的多价核心并延伸至少两代。

3. 如权利要求 1 或 2 的化合物，其中所述树枝状体是一种以氨为核心的聚酰氨基胺树枝状体。

4. 如权利要求 1 或 2 的化合物，其中所述树枝状体是以乙二胺为核心的聚酰氨基胺树枝状体。

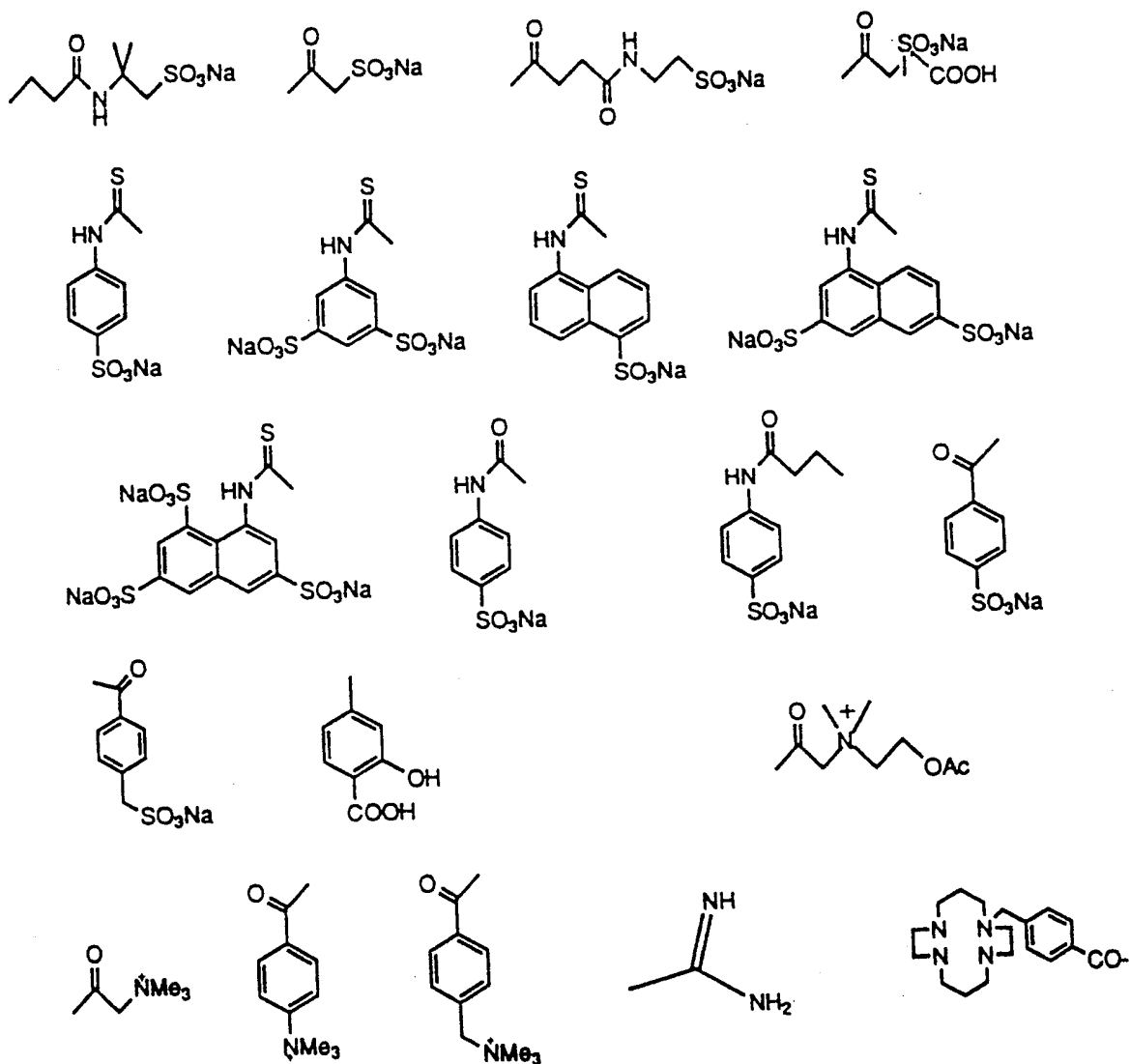
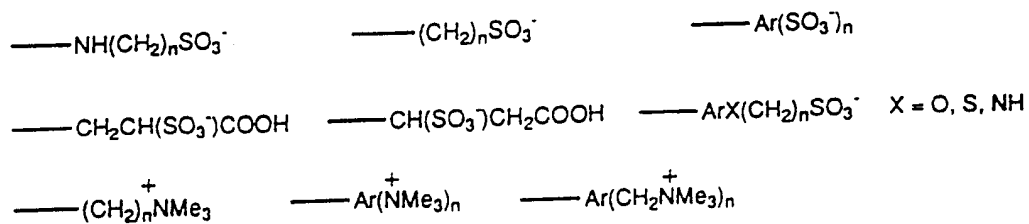
5. 如权利要求 1 或 2 所述的化合物，其中所述树枝状体是以二苯甲基胺或其它合适核心为基础的聚赖氨酸树枝状体。

6. 如权利要求 1 或 2 所述的化合物，其中所述含阴离子或阳离子的基团是通过酰胺或硫脲键与所述树枝状体的末端胺基、巯基、羟基或其它反应活性官能端基结合。

7. 如权利要求 1 或 2 所述的化合物，其中所述含阴离子的基团是除 2- 硫代唾液酸基之外的含磺酸的基团或含羧酸的基团。

8. 如权利要求 1 或 2 所述的化合物，其中所述含阳离子的基团是含三甲铵的基团或含聚氨基大环的基团。

9. 如权利要求 1 或 2 所述的化合物，其中所述与树枝状体的氨基或其它反应活性官能端基结合的基团选自以下基团：



其中, n 是 0 或正整数。

10. 如权利要求 1 或 2 所述的化合物, 它是以烷基磺酸为末端的树枝状体。

11. 如权利要求 1 或 2 所述的化合物, 它是以磺基乙酰胺为末端的树枝状体。

12. 如权利要求 1 或 2 所述的化合物, 它是以磺基琥珀酰胺酸为末端的树枝状体。

13. 如权利要求 1 或 2 所述的化合物, 它是以 N-(2-磺乙基)琥珀酰胺为末端的树枝状体。

14. 如权利要求 1 或 2 所述的化合物, 其中所述与树枝状体的端基结合的基团是被一个或多个磺酸基取代的芳基或杂芳基硫脲。

15. 如权利要求 14 的化合物, 它是以 4-磺苯基硫脲为末端的树枝状体。

16. 如权利要求 14 的化合物, 它是以 3, 6-二磺萘基硫脲为末端的树枝状体。

17. 如权利要求 14 的化合物, 它是以 4-磺萘基硫脲为末端的树枝状体。

18. 如权利要求 14 的化合物, 它是以 3, 5-二磺苯基硫脲为末端的树枝状体。

19. 如权利要求 14 的化合物, 它是以 3, 6, 8-三磺萘基硫脲为末端的树枝状体。

20. 如权利要求 1 或 2 的化合物, 其中所述与树枝状体的端基结合的基团是被一个或多个磺酸、磺烷基、磺烷氧基、磺烷基氨基或磺烷基硫基取代的芳基或杂芳基酰胺。

21. 如权利要求 20 的化合物, 它是以 4-(磺甲基)苯甲酰胺为末端的树枝状体。

22. 如权利要求 20 的化合物, 它是以 4-磺基苯甲酰胺为末端的树枝状体。

23. 如权利要求 1 或 2 所述的化合物, 其中所述与树枝状体的端基结

合的基团是被一个或多个磺酸基取代的芳基或杂芳基链烷酰胺。

24. 如权利要求 23 的化合物, 它是以 N-(4-磺苯基)丙酰胺为末端的树枝状体。

25. 如权利要求 1 或 2 所述的化合物, 其中所述与树枝状体的端基结合的基团是被一个或多个磺酸基取代的芳基或杂芳基脲。

26. 如权利要求 25 的化合物, 它是以 4-磺苯基脲为末端的树枝状体。

27. 如权利要求 1 或 2 所述的化合物, 其中所述与树枝状体的端基结合的基团是一种氨基酸的 N, N, N-三甲基衍生物。

28. 如权利要求 27 的化合物, 它是以 N, N, N-三甲基甘氨酸为末端的树枝状体。

29. 如权利要求 1 或 2 所述的化合物, 其中所述与树枝状体的端基结合的基团是被一个或多个三烷基氨基、三烷基氨基烷基、三烷基氨基烷氧基、三烷基氨基烷基氨基或三烷基氨基烷基硫基取代的芳基或杂芳基酰胺。

30. 如权利要求 29 的化合物, 它是以 4-三甲铵苯甲酰胺为末端的树枝状体。

31. 如权利要求 29 的化合物, 它是以 4-(三甲铵甲基)苯甲酰胺为末端的树枝状体。

32. 如权利要求 1 或 2 所述的化合物, 它是以 N-(2-乙酰基乙基)-N, N-(二甲铵)甲基甲酰胺为末端的树枝状体。

33. 如权利要求 1 或 2 所述的化合物, 它是以胍基为末端的树枝状体。

34. 如权利要求 1 或 2 所述的化合物, 其中所述树枝状体是一种大环聚氨基, 它带有一个或多个通过烷基或芳基间隔基团与该树枝状体的端基连接的大环。

35. 如权利要求 34 的化合物, 它是以 4-([1, 4, 8, 11-四氮杂环十四碳烷]甲基)苯甲酰胺为末端的树枝状体。

36. 一种如权利要求 1 或 2 所述的化合物, 它是以 4-羧基-3-羟基-苄胺为末端的树枝状体。

37. 一种用于人或人以外的动物的预防性或治疗性抗病毒治疗的药用或兽用组合物，它包括权利要求 1-36 中任一项所述的化合物，以及至少一种可以药用或兽用的载体或稀释剂。

38. 权利要求 1-36 中任一项所述的化合物在生产用于人或人以外的动物的预防性或治疗性抗病毒治疗的药物中的用途。

39. 如权利要求 38 的用途，其中所述抗病毒治疗是指治疗由 HIV1 或 HIV2、乙肝病毒或丙肝病毒、牛病毒性腹泻病毒、甲型或乙型人流感病毒、鼻病毒、人副流感病毒、呼吸道合胞病毒 (RSV)、水痘-带状疱疹病毒 (VZV)、人巨细胞病毒 (CMV)、EB 病毒 (EBV)、人乳头瘤病毒 (HPV)、腺病毒-8、1 型和 2 型单纯疱疹病毒 (HSV)、麻疹病毒或水泡性口炎病毒 (VSV) 引起的感染。

抗病毒树枝状体

本发明涉及抗病毒剂，具体地讲，涉及已证实具有针对人免疫缺损病毒（HIV）和其它有包膜病毒的显著抗病毒活性的树枝状体。

业已证实，某些磺化多糖化合物具有针对 HIV 的抗病毒活性，然而，这些化合物稳定性较差，因此，需要大量此类化合物方能获得有效的抗病毒效果。另外，这类化合物中的许多（例如肝素和葡聚糖硫酸酯）是很强的抗凝剂，由于有这种活性，它们不是特别适合于作为抗病毒剂在临床上应用。

本发明提供了一种以一种在本文中被称作“树枝状体”的特殊类型的聚合物为基础的新型的抗病毒剂，它具有针对 HIV1 和 HIV2、CMV 和 HSV 的显著抗病毒活性，而且基本上没有抗凝剂活性。因此，这类化合物很适合于作为人体的抗病毒剂用于预防和治疗目的。

因此，本发明提供了一种抗病毒化合物，它包括一种具有多个端基的树枝状体，其中，至少所述端基之一上结合着一个除 2 - 硫代唾液酸基之外的带有阴离子或阳离子的基团。

这种树枝状体在本文中被称作“阴离子或阳离子树枝状体”，而且，在本申请说明书及权利要求书中所使用的这一术语不仅包括树枝状体本身，而且还包括其可以药用或兽用的盐，例如，碱金属或碱土金属盐，如钠盐、钾盐或钙盐。

树枝状体是高度分枝的大分子化合物，该化合物是这样生成的：由一种原始的核心分子开始，通过重复的反应顺序以连续的“代”一层层或一步步加上去，形成一种三维、高度有序的聚合物。一种通用的树枝状结构如图 1 所示。树枝状体具有如下特征：（i）一个起始核心（I），它可以有一个或多个反应活性部位，而且为点状或其大小能有效影响树枝状体的最终拓外结构；（ii）接合在所述起始核心上的数层分枝重复单元：（iii）接合在该树枝状体表面的功能性端基（Z）。本发

明将树枝状结构用作离子基团接合的构架；本发明并不局限于在本文中详细介绍的球形树枝状体，而可以基于任何树枝状结构。无论是树枝状体的形状还是组成的类型都是本领域技术人员所熟知的。

树枝状体的制备方法广为人知，举例来说，在以下美国专利中有所披露：在 US4,289,872 和 US4,410,688 中披露了以赖氨酸单元层为基础的树枝状体，而在 US4,507,466、4,558,120、4,568,737 和 4,587,329 中披露了以其它单元（包括聚酰氨基胺）为单元的树枝状体或 PAMAM 树枝状体。在上述美国专利中所披露的树枝状体，被介绍运用于以下目的：如可用作表面改性剂，金属螯合剂，破乳剂或油/水乳状液，用作造纸的湿强剂，用作含水配方，如涂料的粘度改性剂。美国专利 US 4,289,872 和 4,410,688 还建议以赖氨酸单元为基础的树枝状体，可以用作制备药剂的基质。

国际专利公开号 WO88/01178、WO88/01179 和 WO88/01180 披露了缀合物，其中，一种树枝状体与另一种材料，如所带的药用或农用材料缀合或结合。这些国际专利以及上述美国专利广泛地披露了各种树枝状体及其制备方法，上述专利的内容被收作本申请的参考资料。

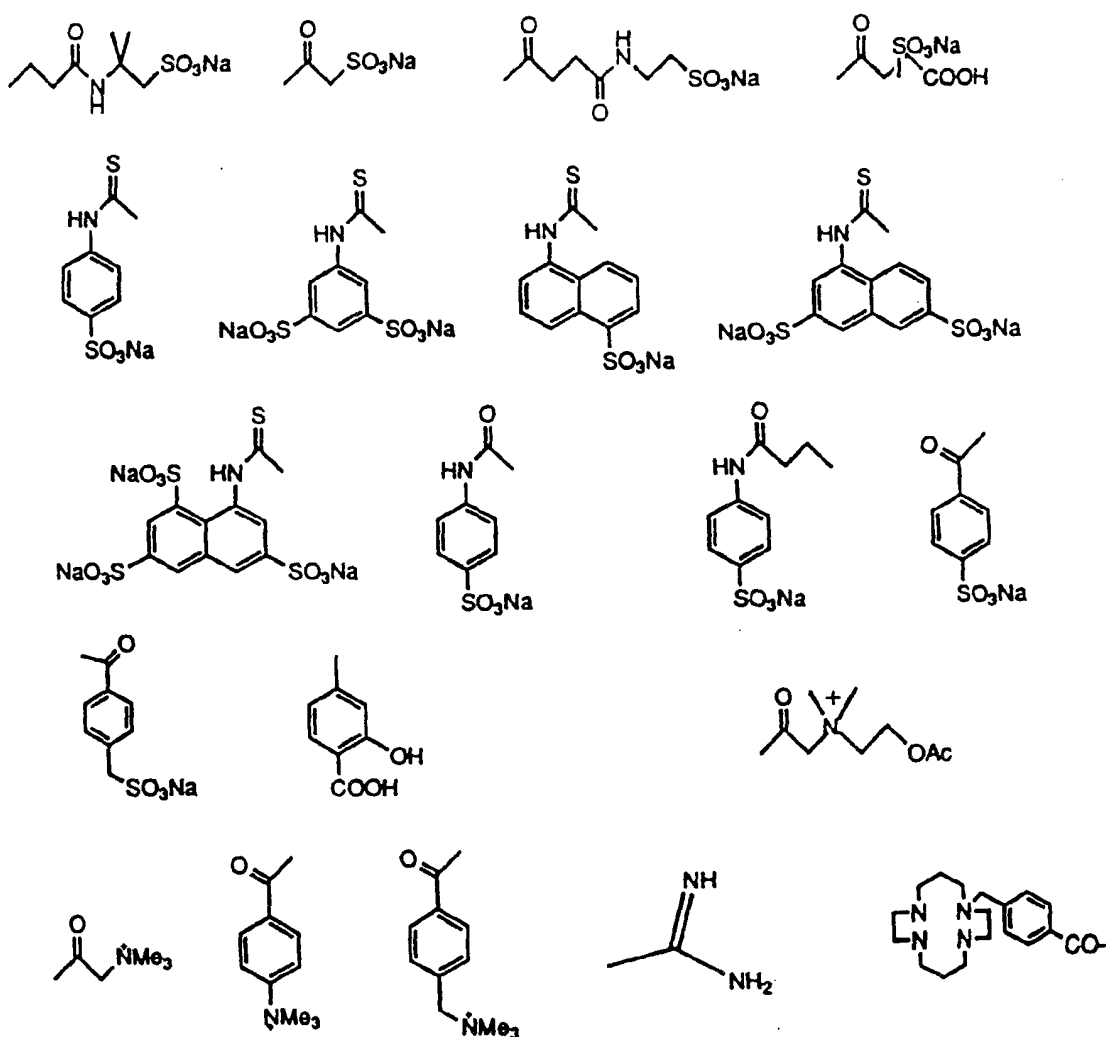
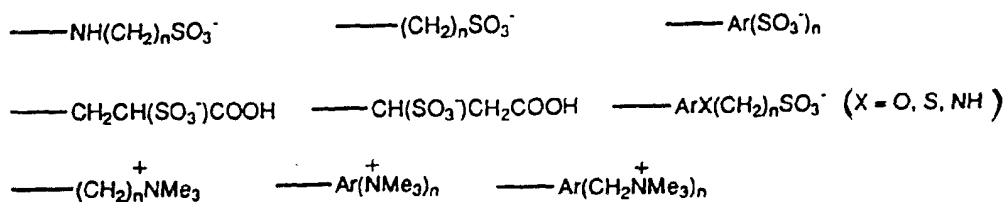
本文中所说的“树枝状体”，是按照其最广泛的意义理解，披露于国际专利公开号 WO88/01178、WO88/01179 和 WO88/01180 中的所有形式和组成的树枝状体都包括在范畴之内。这一术语还包括在上述专利公开号中所披露的连接或桥连的树枝状体。

本发明的优选树枝状体包括一个至少同两个树枝状分枝共价连接的多价核心，而且，最好至少延伸两代。特别优选的树枝状体是聚酰氨基胺（PAMAM）树枝状体、PAMAM（EDA）树枝状体和聚赖氨酸树枝状体。

根据本发明，树枝状体表面的至少一个，最好是多个端基具有一个与其共价结合的带有阴离子或阳离子的基团。树枝状体的分枝可以以氨基或其它官能反应基，如 OH、SH 等为末端，这些末端基团随后能够与阳离子和阴离子基团反应形成树枝状体的外层。当所述树枝状体的端基为胺基时，含阴离子或阳离子的基团可通过多种包括酰胺和硫脲键在内的官能团与树枝状体结合。能够与所述树枝状体的端基结合的优选含阴

离子或阳离子的基团包括除 2 - 硫代唾液酸基之外的含磺酸的基团、含羧酸的基团、含三甲铵的基团和含聚氨基大环的基团。

举例来说, 适于与树枝状体的氨基或其它端基结合的含阴离子或阳离子的基团包括如下基团 (其中, n 为 0 或正整数, 更具体地说, n 为 0 或 1 ~ 20 的整数) :



根据本发明, 能够与树枝状体的端基结合的具体基团包括烷基磺酸基团; 磺基乙酰胺基团; 磺基琥珀酰胺酸基团; N-磺烷基琥珀酰胺基团, 如N-(2-磺乙基)琥珀酰胺基团; 由一个或多个磺酸基团取代过的芳基或杂芳基, 如4-磺苯基硫脲基团, 3, 6-二磺萘基硫脲基团, 4-磺萘基硫脲基, 3, 5-二磺苯基硫脲基团和3, 6, 8-三磺萘基硫脲基团; 用一个或多个磺酸、磺烷基、磺烷氧基、磺烷基氨基或磺烷基硫基基团取代过的芳基酰胺或杂芳基酰胺, 如4-(磺甲基)苯甲酰胺基团或4-磺基苯甲酰胺基团; 用一个或多个磺酸基团取代过的芳基或杂芳基链烷酰胺, 如N-(4-磺苯基)丙酰胺基团; 用一个或多个磺酸基团取代过的芳基或杂芳基脲, 如4-磺苯基脲基团; 氨基酸的N, N, N-三甲基衍生物, 如N, N, N-三甲基甘氨酸酰胺基团; 用一个或多个三烷基氨基、三烷基氨基烷基、三烷基氨基烷氧基、三烷基氨基烷基氨基或三烷基氨基烷基硫基取代过的芳基或杂芳基酰胺, 如4-三甲铵苯甲酰胺或4-(三甲铵甲基)苯甲酰胺基团; N-(2-乙酰基乙基)-N, N-(二甲铵)甲基甲酰胺基团; 胍基; 4-羧基-3-羟基苄胺基团; 或大环聚氨基基团, 它具有一个或多个通过一个烷基或芳基间隔基团与所述树枝状体连接的大环, 如4-([1, 4, 8, 11-四氮杂环十四碳烷]甲基)苯甲酰胺基团。

本发明的阴离子或阳离子树枝状体可通过本领域技术人员所熟知的化学方法制备。通过举例的方式在下面的实施例1~20中披露了一些适用的方法。

如上文所述, 业已发现本发明的阴离子或阳离子树枝状体具有显著的抗病毒活性, 特别是抗HIV的活性。因此, 可将这种阴离子或阳离子树枝状体用于病毒感染的预防和治疗, 例如, 用于HIV1和HIV2及其它有包膜病毒所引起的感染的预防和治疗。所述病毒包括诸如乙型肝炎病毒和丙型肝炎病毒之类的黄病毒、牛病毒性腹泻病毒、甲型和乙型人流感病毒、鼻病毒、人副流感病毒、呼吸道合胞病毒(RSV), 水痘-带状疱疹病毒(VZV)、人巨细胞病毒(CMV)、EB病毒(EBV)、人乳头瘤病毒(HPV)、腺病毒-8、1型和2型单纯疱疹病毒、麻疹病毒和水泡性口炎病毒(VSV)。

因此，从另一方面来说，本发明提供了一种用于人或人以外的动物的预防性或治疗性抗病毒处理的药用或兽用组合物，该组合物含有一种上文中广义的阴离子或阳离子树枝状体，所述树枝状体至少与一种可以药用或兽用的载体或稀释剂结合。

上述组合物的配方为本领域技术人员所熟知。合适的可以药用的载体和/或稀释剂包括任何、全部常规的溶剂、分散介质、填充剂、固体载体、水溶液、包衣剂、抗菌剂和抗真菌剂、等渗和吸附缓释剂等。将上述介质和试剂用作药用活性物质在本领域中是广为人知的，例如，可参考 **Remington's Pharmaceutical Science** (18th 版, **Mack Publishing Company, Pennsylvania, USA**)。除非其与所述活性成分不相容，任何常规介质或试剂均可用于本发明的药用组合物。还可将辅助活性成分掺入本发明组合物中。

为了便于服用和剂量的统一，将组合物配制成剂量单元形式特别有利。这里所说的剂量单元形式是指适于用作接受治疗的人体使用的单元剂量的物理分立单位；每一单位含有预定数量的活性成分，预计它能与所需的药用载体和/或稀释剂一起产生希望的治疗效果。本发明的新型剂量单元形式的技术要求服从并直接取决于 (a) 所用活性成分的特有特性及有待取得的具体治疗效果，以及 (b) 在合成这样一种用于特殊治疗的活性成分的领域中所固有的局限性。

另一方面，本发明提供了一种对人或人以外的动物的 HIV 或其它病毒感染进行预防性或治疗性治疗的方法，该方法包括给所述人体或动物使用一种预防或治疗性抗病毒有效量的，在上文中所泛指阴离子或阳离子树枝状体。

再一方面，本发明提供了将预防或治疗性抗病毒有效量的上文所泛指的阴离子或阳离子树枝状体用于人或人以外的动物的 HIV 或其它病毒感染的预防性或治疗性治疗的用途，或将其用于生产用于上述目的的药物用途。

可使用各种各样的服用方法。当然，所选用的具体方法取决于所治疗的具体病症和治疗效果所需的用量。一般而言，本发明的方法可用任何服用方法来实施，只要该方法在医学上是可以接受的，也就是说任何

能使本发明的活性成分产生治疗效果而又不会引起临床上所不希望的副作用的方法。上述使用方法包括口服，经直肠、局部、经鼻、经皮或肠胃外（例如，皮下、肌肉和静脉）服用。用于口服的配方包括分立的单元，如胶囊、片剂和锭剂等。其它使用途径包括直接注入脊髓液的鞘内使用，直接导入方法可使用本领域普通技术人员所熟知的各种导管和气囊血管成形装置，以及通过实质内（intraparenchymal）注射注入目标基团。

所述组合物便于制成单元剂量形式，可通过药学领域任何已知方法进行制备。所述方法包括将上述活性成分与一种载体结合在一起的步骤，所述载体构成一种或几种辅助成分。一般，该组合物是这样制备的：将所述活性成分与一种液体载体、一种细碎的固体载体或同时与这两种载体均匀而又紧密地结合在一起，然后，如果必要的话，还要使产品成形。

适于口服的本发明组合物可被制成分立的单位，如含有脂质体中各自含有预定剂量的活性成分的胶囊、扁囊剂、片剂或锭剂，或水溶液或非水溶液中的悬浮液，如糖浆、酏剂或乳剂。

适于肠胃外使用的组合物通常包括所述活性成分的无菌水制剂，该制剂最好与受体的血等渗。这种制剂可按照已知方法，用适当的分散或湿润剂和悬浮剂配制而成。所述无菌可注射制剂也可以是用无毒的可肠胃外使用的稀释剂或溶剂配制的无菌注射液或悬浮液。例如，溶于聚乙二醇中的溶液。可以采用的、可接受媒介物和溶剂有水、林格溶液和等渗氯化钠溶液。另外，通常还把无菌的固定油用作溶剂或悬浮介质。为此，可采用任何缓和的固定油，包括合成的甘油单脂或甘油二酯。此外，诸如油酸之类的脂肪酸也可用于这种注射用制剂。

其它输送系统包括缓释输送系统。优选的缓释输送系统包括以缓释药丸或胶囊形式释放本发明的活性成分的系统。有很多类型的缓释输送系统可以采用。其中，包括但不限于：（a）侵蚀系统，其中，所述活性成分包含在一种基质里，和（b）扩散系统，其中，所述活性成分以受控的速度通过一种聚合物渗透。另外，还可以采用泵基硬物输送系统，其中的一些适用于植入。

所述活性成分是以预防或治疗的有效用量给药。预防或治疗的有效用量是指至少基团取得期望的效果、或延缓被治疗的具体病症的发作、抑制其发展、或同时抑制其发作或发展所需的用量。当然，所述用量取决于被治疗的具体病症、病症的严重程度和每个患者的参数，包括患者的年龄、身体情况、体形、体重和同时采取的治疗措施。这些因素为本领域普通技术人员所熟知，而且只需进行一些常规实验即可确定。通常，以使用最大剂量为宜，就是说使用符合健康医学标准的最高安全剂量。不过，本领域技术人员可以理解，由于医学原因、心理原因或任何其它原因可以使用较低的剂量或耐受剂量。

一般，活性成分的口服日剂量为每日每公斤约 0.01 ~ 1000mg。开始可使用小剂量（0.01 ~ 1mg），随后把剂量加大到每日每公斤约 1000mg。当受治对象对上述剂量的反应不明显时，可采用患者所能耐受的更高剂量（或通过一种不同的、更定位的给药方式获得较高的有效剂量）。期望每日多次剂量可取得化合物的合适系统水平。

在本说明书以及随后的权利要求书中，除非本文另有需要，“包括”（“comprise”或其变形“comprises”或“comprising”）一词应被理解成包括所述的整数或整数群，但不排除任何其它的整数或整数群。

从以下实施例中可以看见本发明的其它特征，这些实施例在本文中是为了解释本发明，而不是要限定本发明的范围。在下列实施例中，PAMAM 树枝状体是指以一个氨核心为基础的聚酰氨基胺树枝状体，如在美国专利 US4,507,466、4,558,120、4,568,737 和 4,587,329 中所披露的；PAMAM（EDA）树枝状体是指以乙二胺核心为基础的聚酰氨基胺树枝状体；而 BHAlys_xlys_ylys_z 树枝状体是指以二苯甲基胺核心和赖氨酸分枝单元为基础的聚赖氨酸不对称树枝状体，如在 US4,289,872 和 4,410,688 中所披露的。聚酰氨基胺树枝状体 PAMAM1.0、PAMAM2.0、PAMAM3.0、PAMAM4.0、PAMAM5.0、或更高代，PAMAM4.0（EDA），和聚赖氨酸树枝状体 BHAlyslys₂、BHAlyslys₂lys₄、BHAlyslys₂lys₄lys₈ 和 BHAlyslys₂lys₄lys₈lys₁₆、BHAlyslys₂lys₄lys₈lys₁₆lys₃₂、BHAlyslys₂lys₄lys₈lys₁₆lys₃₂lys₆₄ 或更高代是按照在上文中提及的美国专利 US4,289,872、4,410,688、

4,507,466、4,558,120、4,568,737 和 4,587,329 和国际专利申请 WO88/01178、WO88/01179 和 WO88/01180 中所披露的方法制备的。

实施例 1 聚合物与 2 - 丙烯酰胺基 - 2 - 甲基丙烷磺

酸反应, 得到以磺酸为末端的树枝状体。

A.PAMAM 1.0

将固体碳酸钠 (0.13g; 1.0mmol) 缓慢加入被搅动的溶于水 (3ml) 中的 2 - 丙烯酰胺基 - 2 - 甲基丙烷磺酸 (0.41g ; 2.0mmol) 溶液中。在停止放气以后, 该溶液的 pH 为 8.0。然后将 PAMAM1.0 (0.12g; 0.33mmol) 水 (1ml) 溶液加进上述溶液中, 接着加入 4 滴 40 % 苺基三甲胺氢氧化物水溶液。在氮气中以 60 °C 的温度将所得溶液加热 3 天, 然后浓缩。通过凝胶过滤 (Sephadex G10 ; 水) 纯化残余物, 再冷冻干燥, 得到磺化 PAMAM1.0 树枝状体, 为灰白色固体 (0.51g)。 ^1H 和 ^{13}C nmr 光谱证实其为一种二烷基化和一烷基化 PAMAM1.0 树枝状体的混合物 (大约 70 : 30)。 ^{13}C nmr (D_2O) : δ 31.0, 31.1, 37.1, 37.7, 41.3, 48.6, 51.5, 53.1, 53.4, 55.6, 56.2, 61.2, 61.5, 178.3, 179.0, 179.8。

B.PAMAM2.0 (化合物 20)

按上述方法让 PAMAM2.0 与 2 - 丙烯酰胺基 - 2 - 甲基丙烷磺酸反应。通过凝胶过滤 (Sephadex G10 ; 水) 纯化所得粗制品, 然后冷冻干燥得到一种灰白色固体物质。 ^1H 和 ^{13}C nmr 光谱证实, 其为一种二烷基化和一烷基化 PAMAM 2.0 树枝状体的混合物 (大约 65 : 35)。 ^{13}C nmr (D_2O) : δ 31.0, 31.1, 37.1, 37.7, 41.3, 48.7, 51.5, 53.4, 55.6, 56.2, 61.2, 61.5, 178.4, 179.0, 179.1, 179.6。当省去所述苺基三甲胺氢氧化物重复上述反应时, 得到类似结果。

C. PAMAM 3.0

按上述方法让 PAMAM3.0 与 2 - 丙烯酰胺基 - 2 - 甲基丙烷磺酸反应, 不同的是, 使用稍微过量的碳酸钠, 而且不用苺基三甲胺氢氧化物。 ^1H 和 ^{13}C nmr 光谱证实, 其为一种二烷基化和一烷基

化 PAMAM3.0 树枝状体的混合物 (大约 50 : 50) 。 $^{13}\text{Cnmr}$ (D_2O) : δ 31.0, 31.1, 36.9, 37.4, 41.1, 48.6, 51.5, 53.4, 55.7, 56.2, 61.1, 61.5, 178.2, 178.9, 179.0, 179.8。

D. PAMAM 4.0

以与 PAMAM 3.0 相同的方法让 PAMAM4.0 与 2 - 丙烯酰胺基 - 2 - 甲基丙烷磺酸反应。 ^1H 和 $^{13}\text{Cnmr}$ 光谱证实, 其作为一种二烷基化和一烷基化 PAMAM 4.0 树枝状体的混合物 (约为 35 : 65) 。 $^{13}\text{Cnmr}$ (D_2O) : δ 31.0, 31.1, 36.9, 37.3, 41.1, 48.5, 51.5, 53.5, 55.7, 56.2, 61.1, 61.5, 178.1, 178.9, 179.0, 179.8。

实施例 2 以磺基乙酰胺钠为末端的树枝状体的制备

A. PAMAM 1.0

将溶解在无水 DMF (1ml) 中的溴乙酸 4 - 硝基苯酯 (0.40g; 1.5mmol) 溶液加入被搅动的溶解在 DMF (3ml) 中的 PAMAM 1.0 (0.18g; 0.5mmol) 溶液中。将所得到的黄色溶液在室温下搅拌 20 小时, 同时, 所进行的水合茚三酮试验呈阴性。浓缩该溶液 ($30^\circ / 0.1\text{mmHg}$), 得到一种黄色油状物。将这种油状物分配在水和氯仿之间, 分离水层, 用氯仿洗涤 (2X), 最后用乙酸乙酯洗涤。浓缩 ($35^\circ / 25\text{mmHg}$) 所得水溶液, 得到溴乙酰化 PAMAM 1.0 树枝状体, 呈黄色油状 (0.36g; 100 %) 。 $^{13}\text{Cnmr}$ (D_2O) : δ 32.8, 33.3, 43.0, 43.5, 54.4, 174.5, 176.4。

将溶解在水 (1ml) 中的亚硫酸钠 (0.2g; 1.6mmol) 溶液加入溶于水 (5ml) 中的上述乙酰化 PAMAM 1.0 树枝状体 (0.36g; 0.5mmol) 溶液中, 并将所得到的溶液在室温下放置 11 天。浓缩所得到的黄色溶液, 得到一种黄色固体 (0.60g) 。 $^{13}\text{Cnmr}$ (D_2O) : δ 34.4, 43.1, 43.4, 54.0, 61.7, 171.3, 177.2。

无须分离溴乙酰化树枝状体即可进行上述反应顺序, 只要简单地将亚硫酸钠溶液加入从第一个反应中所得到的粗制含水提取物

就行。

B. PAMAM 2.0

方法 1:

将溶解在无水 DMF (1ml) 中的溴乙酸 4 - 硝基苯酯 (0.18g; 0.7mmol) 溶液加进被搅动的溶解在 DMF (3ml) 中的 PAMAM2.0 (0.10g; 0.1mmol) 溶液中。将所得到的黄色溶液在室温下搅动 20 小时, 同时, 所进行的水合茚三酮试验呈阴性。将该溶液涡旋加入水 (150ml) 中, 用氯仿 (3X) 和乙酸乙酯萃取所得到的混合物。将溶解在水 (1ml) 中的亚硫酸钠 (0.1g; 0.8mmol) 溶液加入粗制的溴乙酰化树枝状体溶液中, 将该混合物在室温下放置 3 天。然后浓缩所得到的黄色溶液, 得到一种黄色固体残余物, 通过凝胶过滤 (Sephadex LH20; 水) 得到以磺基乙酰胺钠为末端的 PAMAM2.0 树枝状体 (103mg)。 ^{13}C nmr (D_2O): δ 33.0, 35.7, 36.0, 37.7, 40.3, 43.0, 43.2, 53.4, 53.7, 56.0, 61.6, 171.2, 174.6, 178.5。

方法 2:

将固体乙酰硫代乙酸琥珀酰亚胺基酯 (67mg; 0.33mmol) 加入溶解在无水 DMF (2ml) 中的 PAMAM2.0 (52mg; 0.05mmol) 溶液中, 并把所得到的溶液在室温下搅拌 2 天。然后浓缩 ($30^\circ / 10^{-3}\text{mmHg}$) 该混合物, 得到一种油状残余物。将该残余物分配在水与氯仿之间, 分离水层, 并将其浓缩成一种粘性油 (117mg)。 ^1H 和 ^{13}C nmr 光谱证实, 其为酰化树枝状体和 N - 羟基琥珀酰亚胺的混合物。凝胶过滤 (Sephadex G10; 水) 得到一种纯的以乙酰硫代乙酰胺为末端的 PAMAM 2.0 树枝状体 (29mg) 的样品。 ^{13}C nmr (D_2O): δ 34.0, 34.2, 37.3, 43.0, 43.1, 43.3, 53.5, 54.0, 56.3, 175.4, 177.2, 177.5。

将溶解在 40 % 甲酸水溶液 (7ml) 中的上述官能化树枝状体的溶液加进冰镇的新制备的溶解在甲酸 (2ml) 里的过甲酸 (1.6mmol) 溶液中。在 0°C 温度下搅拌该混合物 1 小时, 然后再在室温下搅拌 20 小时。随后加进少量活性炭, 以分解剩余的过酸,

将所得混合物搅拌 30 分钟，然后过滤并浓缩，得到一种粘性油。将所得到的粗制品溶于水中，用碳酸氢钠水溶液把 pH 调至 9.0，并以从 Sephadex G10 柱中通过的方式将所得材料脱盐。低压升华干燥后得到一种白色固体 (20mg)，其光谱学特征大致与用方法 1 获得的材料相同。 ^{13}C nmr (D_2): δ 33.0, 38.7, 42.9, 43.0, 43.1, 53.9, 54.3, 56.5, 61.6, 171.2, 176.4, 177.0.

实施例 3 以磺基琥珀酰胺酸钠为末端的树枝状体的制备。

A. PAMAM 1.0

将固体马来酐 (0.11g; 1.1mmol) 加入被搅动的溶解在无水 DMF (3ml) 里的 PAMAM1.0 (0.12g; 0.33mmol) 中。当马来酐溶解时该混合物略微变热并呈棕色，将所得到的溶液在室温下搅拌过夜。然后浓缩 ($30^\circ / 10^{-4}\text{mmHg}$) 该溶液，得到一种粘性油。 ^1H 和 ^{13}C nmr (D_2O) 证实，PAMAM 已完全转化成三酰胺及一些马来酸。 ^{13}C nmr (D_2O): δ 33.1, 42.8, 43.1, 54.3, 135.0, 137.1, 169.1, 171.9, 173.3.

然后把粗制三酰胺溶解在水 (4ml) 中，并加入固体亚硫酸钠 (0.20g; 1.6mmol)。将所得到的溶液在室温下放置 4 天，然后浓缩。 ^1H 和 ^{13}C nmr (D_2O) 证实，其为一种以区域异构的磺基琥珀酰胺酸钠为末端的 PAMAM1.0 树枝状体与磺基琥珀酸的 1:1 混合物。通过凝胶过滤 (Sephadex G10; 水) 纯化所得粗制品，得到一种以磺基琥珀酰胺酸钠为末端的 PAMAM 树枝状体 (107mg)。 ^{13}C nmr (D_2O): δ 33.3, 39.6, 40.0, 42.9, 43.1, 54.0, 67.9, 69.4, 173.8, 176.3, 177.6, 181.8.

B. PAMAM 2.0

按照上述方法制备一种以区域异构的磺基琥珀酰胺酸钠为末端的 PAMAM2.0 树枝状体混合物。 ^{13}C nmr PAMAM2.0 马来酰胺酸衍生物 (D_2O): δ 32.8, 33.0, 38.7, 42.9, 53.8, 54.3, 56.5, 135.2, 136.8, 169.2, 171.9, 173.5, 174.6. ^{13}C nmr PAMAM2.0 磺基琥珀酰胺酸钠衍生物 (D_2O): δ 37.0, 40.1, 41.1, 43.0, 43.2, 43.9, 53.0, 53.3, 55.5, 68.0, 69.4,

173.8, 177.6, 179.1, 179.5, 179.8, 182.3.

C. PAMAM4.0 (化合物 14)

将固体马来酐 (60mg; 0.6mmol) 加入被搅动的溶解在无水 DMF (2ml) 里的 PAMAM4.0 溶液中。该混合物开始时变浊, 但不久就变成一种透明的溶液, 在室温下搅拌该溶液过夜。浓缩 ($35^{\circ}/10^{-4}\text{mmHg}$) 该溶液, 得到一种粘性油。 ^1H 和 ^{13}C nmr (D_2O) 证实, 所述 PAMAM4.0 已完全转化成聚酰胺与某些马来酸。然后把这种粗制聚酰胺溶于水 (2ml) 中, 并加入溶解在水 (2ml) 中的亚硫酸钠 (126mg; 1.0mmol) 溶液。将所得溶液在室温下放置 2 天, 然后浓缩。 ^1H 和 ^{13}C nmr (D_2O) 证实其为一种以区域异构的磺基琥珀酰胺酸钠为末端的 PAMAM 4.0 树枝状体与某些磺基琥珀酸的混合物。通过凝胶过滤 (Sephadex LH20; 水) 纯化该粗制品, 得到一种以 24 个区域异构的磺基琥珀酰胺酸基为末端的 PAMAM4.0 样品 (90mg)。 ^1H nmr (D_2O): δ 2.4-2.6; 2.7-3.1; 3.2-3.4; 3.9-4.0。 ^{13}C nmr (D_2O): δ 36.2; 39.8; 40.5; 43.0; 43.2; 53.5; 55.8; 68.1; 69.5; 173.8; 177.4; 177.6; 178.7; 182.3.

实施例 4 以 N - (2 - 磺乙基) 琥珀酰胺钠为末端的树枝状体的制备

a. N - (2 - 磺乙基) 琥珀酰胺酸四丁铵的制备

将固体琥珀酐 (0.5g; 5.0mmol) 加入被搅动的溶解在无水二氯甲烷 (30ml) 里的 2 - 氨基乙基磺酸四丁铵 (1.83g; 5.0mmol) 溶液中。琥珀酐缓慢地溶解, 将所得到的混浊液在室温下搅拌过夜。过滤该混合物, 浓缩滤液, 得到一种粘性油 (2.41g)。 ^{13}C nmr 证实其已完全转化成所需的单酰胺与少量的琥珀酸。通过向大量过剩的乙醚中滴加二氯甲烷溶液反复沉淀所得产物, 得到 N - (2 - 磺乙基) 琥珀酰胺基四丁铵白色固体 (1.762g; 76%),

mp 125-127°C. ^1H nmr (CDCl_3): δ 0.86 (t, 12h, $4\times\text{CH}_3$), 1.28 (m, 8H, $4\times\text{CH}_2$), 1.50 (m, 8H, $4\times\text{CH}_2$), 2.33 (m, 2H, CH_2COOH), 2.44 (m, 2H, CH_2CONH), 2.76 (m, 2H, CH_2NHCO), 3.12 (m, 8H, $4\times\text{CH}_2\text{N}$), 3.50 (m, 2H,

CH_2SO_3^-), 7.53 (br t, 1H, NH). ^{13}C nmr (CDCl_3): δ 13.5, 19.5, 23.8, 30.1, 30.9, 35.6, 50.0, 58.5, 172.0, 174.1.

b. 4 - 硝基苯基 N - (2 - 磺乙基) - 琥珀酰胺酸四丁铵的制备
将溶解在无水二氯甲烷 (1ml) 里的二环己基碳化二亚胺 (45mg; 0.22mmol) 溶液加入被搅动的溶解在二氯甲烷 (2ml) 里的 N - (2 - 磺乙基) 琥珀酰胺酸四丁铵 (94mg; 0.20mmol) 和 4 - 硝基苯酚 (28mg; 0.20mmol) 溶液中, 并在室温下搅拌该混合物过夜。过滤所得到的悬浮液, 并浓缩滤液, 得到粗制活性酯, 无须进一步提纯即可使用。

A. 以 N - (2 - 磺乙基) 琥珀酰胺钠为末端的 PAMAM 树枝状体的制备

PAMAM 4.0

将溶解在无水 DMF (1ml) 里的粗制 4 - 硝基苯基 N - (2 - 磺乙基) 琥珀酰胺酸四丁铵 (0.30mmol) 溶液加入被搅动的溶解在 50 % DMF 水溶液 (3ml) 里的 PAMAM4.0 (51.5mg; 0.01mmol) 溶液中, 并将所得到的黄色溶液在室温下搅拌过液。浓缩 ($35^\circ / 10^{-5}\text{mmHg}$) 所得混合物, 并把黄色残余物分配在水和氯仿之间。分离水层, 用氯仿 (2X) 和乙酸乙酯洗涤, 并浓缩, 得到一种黄色油状物 (134mg). 让上述粗制产品从一个 Amberlite IR-120(N_a)柱中通过将其转化成钠盐, 得到 85mg 材料。通过凝胶过滤 (Sephadex LH20; 水) 进一步提纯该材料, 得到以 N - (2 - 磺乙基) 琥珀酰胺钠为末端的 PAMAM4.0 树枝状体 (45mg)。
 ^{13}C nmr (D_2O) : δ 33.2, 33.6, 35.5, 39.0, 39.5, 42.8, 43.2, 53.8, 54.1, 54.4, 56.6, 176.5, 176.9, 177.2, 178.9, 179.4.

以类似方法制备以 N - (2 - 磺乙基) 琥珀酰胺钠为端基的相应 PAMAM1.0 和 PAMAM 树枝状体。 ^{13}C nmr PAMAM3.0 衍生物 (D_2O) : δ 33.4, 35.5, 39.0, 39.5, 42.9, 43.2, 53.8, 54.1, 54.3, 56.5, 176.4, 176.9, 177.4, 178.9, 179.4.

$^{13}\text{Cnmr}$ PAMAM1.0 衍生物 (D_2O): 834.9, 35.5, 39.5, 42.9, 43.1, 53.7, 54.1, 179.0, 179.1, 179.3.

B. 以 N - (2 - 磺乙基) 琥珀酰胺钠为末端的聚赖氨酸树枝状体的制备

BHAllyslys₂lys₄lys₈lys₁₆

将三氟乙酸 (1ml) 加入悬浮在无水二氯甲烷 (1ml) 里的 BHAllyslys₂lys₄lys₈DBL₁₆ (36.5mg; 5.0 μmol) 悬浮液中, 在室温下; 于氦气中将所得到的溶液搅拌 2 小时, 然后浓缩。将残余物溶于无水 DMSO (2ml) 中, 并用三乙胺把 pH 调至 8.5。然后把溶解在 DMSO (1ml) 里的粗制 4 - 硝基苯基 N - (2 - 磺乙基) 琥珀酰胺酸四丁铵 (约 0.2mmol) 溶液滴加进去, 并在室温下搅拌该混合物过液。浓缩 (50 ° /10⁻⁵mmHg) 所得黄色溶液, 并将该黄色残余物分配在水和氯仿之间。分离水层, 并用氯仿 (3X) 和乙酸乙酯洗涤, 然后浓缩得到一种油状物 (99mg)。让该粗制品从一个 Amberlite IR120(Na)柱中通过, 以便将其转化成钠盐, 得到 81mg 材料。通过凝胶过滤 (Sephadex LH20; 水) 进一步提纯该材料, 得到以 N - (2 - 磺乙基) 琥珀酰胺钠为末端的 BHAllyslys₂lys₄lys₈lys₁₆ 树枝状体 (39mg)。 $^{13}\text{Cnmr}$ (D_2O): 827.0, 32.3, 35.2, 35.3, 35.6, 35.7, 39.5, 43.5, 54.1, 58.5, 131.5, 132.0, 133.3, 145.1, 177.8, 178.0, 178.4, 178.8, 178.9, 179.2, 179.7, 179.8。

以类似方法制备相应的以 N - (2 - 磺乙基) 琥珀酰胺钠为端基的 BHAllyslys₂、BHAllyslys₂lys₄ 和 BHAllyslys₂lys₄lys₈。

$^{13}\text{C nmr}$ BHAllyslys₂lys₄lys₈ 衍生物 (D_2O): δ 26.9, 32.3, 35.1, 35.3, 35.6, 35.7, 39.5, 43.5, 54.1, 58.5, 131.6, 131.9, 132.2, 132.3, 133.2, 133.3, 145.0, 145.2, 177.2, 177.8, 177.9, 178.0, 178.2, 178.3, 178.6, 178.7, 178.8, 178.9, 179.2, 179.3, 179.7, 179.8.

$^{13}\text{C nmr}$ BHAllyslys₂lys₄ 衍生物 (D_2O): δ 26.9, 32.3, 35.1, 35.4, 35.7, 35.8, 39.5, 43.5, 54.1, 58.5, 61.8, 131.7, 132.0, 132.2, 132.3, 133.2, 133.3, 145.0, 145.1, 177.3, 178.0, 178.3, 178.4, 178.7, 178.9, 179.0, 179.3, 179.7, 179.8.

^{13}C nmr BHAlysls₂ 衍生物 (D_2O): δ 26.9, 27.1, 32.2, 32.3, 34.7, 34.8, 35.1, 35.3, 35.6, 35.7, 39.5, 43.4, 54.1, 58.6, 61.8, 131.7, 131.9, 132.2, 132.3, 133.3, 144.9, 145.0, 177.7, 178.4, 178.8, 179.0, 179.3, 180.0.

实施例 5 以 4 - 磺苯基硫脲钠为末端的树枝状体的制备

A. DAMAM 4.0 (化合物 1)

将固体一水合 4 - 磺苯基异硫氰酸钠 (500mg; 1.96mmol) 加入溶解在水 (10ml) 里的 PAMAM4.0 (300mg; 0.0582mmol) 溶液中, 将所得溶液在氮气中于 53° 下加热 2 小时, 然后冷却。浓缩所得溶液, 并通过凝胶过滤 (Sephadex LH20; 水) 纯化所得黄色固体残余物。合并纯化级分并冷冻干燥, 得到以 4 - 磺苯基硫脲钠为末为末端的 PAMAM4.0 树枝状体, 为一种飞扬性白色固体 (370mg)。 ^1H nmr (D_2O): δ 2.28; 2.52; 2.69; 3.15; 3.27; 3.60; 7.32 (d, $J=9\text{Hz}$); 7.72 (d, $J=9\text{Hz}$)。 ^{13}C nmr (D_2O): δ 36.9; 41.1; 43.1; 48.3; 53.6; 55.8; 129.0; 131.1; 144.4; 178.5; 179.1; 184.4.

以类似方法制备分别以 3、6、12 和 48 个 4 - 磺苯基硫脲钠为端基的 PAMAM1.0、PAMAM2.0、PAMAM3.0 和 PAMAM5.0 (化合物 2) 树枝状体。

B. PAMAM 4.0 (EDA) (化合物 3)

将固体一水合 4 - 磺苯基异硫氰酸钠 (130mg; 0.5mmol) 加入溶解在水 (4ml) 里的 PAMAM 4.0 (EDA) (69mg; 0.01mmol) 溶液中, 并在氮气中于 53° 下加热 2 小时, 然后冷却。浓缩该溶液, 并通过凝胶过滤 (Sephadex LH20; 水) 纯化所得固体残余物。合并纯化级分, 并冷冻干燥, 得到以 32 个 4 - 磺苯基硫脲钠为端基的 PAMAM4.0, 为一种飞扬性白色固体

(136mg). $^1\text{Hnmr}$ (D_2O) : δ 2.30 ; 2.50 ; 2.70 ; 3.18 ; 3.62 ; 7.35 (d, $J=9\text{Hz}$); 7.72 (d, $J=9\text{Hz}$). $^{13}\text{Cnmr}$ (D_2O) : δ 36.8 ; 41.0 ; 43.1 ; 48.4 ; 53.6 ; 55.7 ; 128.9 ; 131.0 ; 144.3 ; 178.5 ; 179.0 ; 184.5 .

C. BHAlyslys₂lys₄lys₈lys₁₆ (化合物 4)

将三氟乙酸 (4ml) 在氮气下加入溶解在无水二氯甲烷 (4ml) 里的 BHAlyslys₂lys₄lys₈DBL₁₆(0.73g; 0.1mmol)悬浮液中。观察到短时间剧烈放气现象,将所得溶液在室温下搅拌 2 小时,然后浓缩。将残余浆状物溶于水 (5ml) 中,让该溶液通过 Amberlite IRA-401(OH) 柱,并浓缩滤液,得到 BHAlyslys₂lys₄lys₈lys₁₆ 粘性油 (0.49g)。将所得的油再溶解在水 (5ml) 中,并加入 N, N - 二甲基 - N - 烯丙胺缓冲液 (pH9.5, 3ml)。然后加入固体一水合 4 - 磺苯基异硫氰酸钠 (1.30g; 5.1mmol), 并在氮气中于 53 ° 加热 2 小时,然后冷却。浓缩所得溶液,并通过凝胶过滤 (Sephadex LH20 ; 水) 纯化棕色固体残余物。合并纯化的级分,让其通过一个 Amberlite IR120(N_a)柱,冷冻干燥得到以 4 - 磺苯基硫脲钠为末端的 BHAlyslys₂lys₄lys₈lys₁₆ 树枝状体,为一种飞扬性白色固体 (374mg)。 $^1\text{Hnmr}(\text{D}_2\text{O})$: δ 1.40 ; 1.72 ; 3.08 ; 3.42 ; 4.24 ; 4.60 ; 7.30 ; 7.40(d, $J=9\text{Hz}$); 7.78(d, $J=9\text{Hz}$)。 $^{13}\text{Cnmr}(\text{D}_2\text{O})$: δ 27.3 ; 32.5 ; 35.9 ; 43.7 ; 48.9 ; 58.6 ; 63.3 ; 128.8 ; 131.0 ; 143.7 ; 144.7 ; 145.1 ; 177.7 ; 178.1 ; 183.8 ; 185.2 .

以类似方法制备分别以 16、64 和 128 个 4 - 磺苯基硫脲钠为端基的 BHAlyslys₂lys₄lys₈、BHAlyslys₂lys₄lys₈lys₁₆lys₃₂ (化合物 5) 和 BHAlyslys₂lys₄lys₈lys₁₆lys₃₂lys₆₄ (化合物 6) 树枝状体。实施例 6 以 3, 6 - 二磺苯基硫脲钠为末端的树枝状体的制备

A. PAMAM 4.0 (化合物 9)

将固体 3, 6 - 二磺苯基异硫氰酸钠 (160mg; 0.41mmol) 加入溶解在水 (3ml) 里的 PAMAM 4.0 (51mg; 0.01mmol) 溶

液中，并在氮气中于 53 ° 加热所得溶液 2 小时，然后冷却。浓缩该溶液，并通过凝胶过滤（Sephadex LH20;水）纯化棕色固体残余物。合并纯化级分，并浓缩得到以 3, 6 - 二磺萘基硫脲钠为末端的 PAMAM 4.0 树枝状体，为一种棕色固体（73mg）。
 $^1\text{Hnmr}(\text{D}_2\text{O})$: δ 2.30; 2.60; 2.74; 3.20; 3.57; 7.75; 7.86; 8.28. $^{13}\text{Cnmr}(\text{D}_2\text{O})$: δ 35.0; 39.9; 43.1; 48.1; 53.8; 56.1; 128.4, 128.6; 129.3; 131.0; 131.3; 136.0; 136.8; 138.2; 145.5; 146.0; 177.2; 177.8; 185.5.

以类似方法制备以 3, 6 - 二磺萘基硫脲钠为端基的 PAMAM 2.0 树枝状体。

B. PAMAM 4.0 (EDA) (化合物 11)

将固体 3, 6 - 二磺萘基异硫氰酸钠（220mg; 0.57mmol）加入溶解在水（4ml）里的 PAMAM4.0（EDA）（74mg; 0.01mmol）溶液中，并在氮气中于 53 ° 加热该溶液 2 小时，然后冷却。浓缩所得溶液，并通过凝胶过滤（Sephadex LH20；水）纯化棕色固体残余物。合并纯化级分并浓缩得到以 32 个 3, 6 - 二磺萘基硫脲钠为端基的 PAMAM4.0，为一种鞣料固体（148mg）。
 $^1\text{Hnmr}(\text{D}_2\text{O})$: δ 2.30; 2.80; 3.20; 3.54; 7.74; 7.85; 8.25. $^{13}\text{Cnmr}(\text{D}_2\text{O})$: δ 36.0; 40.8; 43.1; 48.3; 53.6; 55.9; 128.5; 129.4; 131.0; 131.3; 136.0; 136.8; 138.3; 145.5; 146.0; 178.2; 185.6.

C. BHAlyslys₂lys₄lys₈lys₁₆ (化合物 12)

将三氟乙酸（2ml）在氮气下加入悬浮在无水二氯甲烷（2ml）里的 BHAlyslys₂lys₄lys₈DBL₁₆(73mg; 0.01mmol)悬浮液中。观察到短时间的剧烈放气现象，将所得溶液在室温下搅拌 2 小时，然后浓缩。将残余浆体溶于水（5ml）中，让所得溶液从一个 Amberlite IRA-401(OH) 柱中通过，浓缩滤液得到 BHAlyslys₂lys₄lys₈lys₁₆，为一种粘性油。将这种油再溶解在水（5ml）里，并加入 N, N - 二甲基 - N - 烯丙胺缓冲液（pH9.5; 3ml）。然后加入固体 3, 6 - 二磺萘基异硫氰酸钠（234mg;

0.60mmol)，并在氮气中于 53 ° 加热该溶液 2 小时，然后冷却。浓缩该溶液，并通过凝胶过滤（Sephadex LH20；水）纯化所得棕色固体残余物。合并纯化级分，让其通过一个 Amberlite IR120(N_a)柱，并冷冻干燥得到以 32 个 3，6 - 二磺萘基硫脲钠为端基的 BHAlyslys₂lys₄lys₈lys₁₆，为一种飞扬灰白色固体（119mg）。¹Hnmr(D₂O): δ1.0-2.0; 3.18; 3.43; 4.31; 7.22; 7.80; 7.89; 8.25. ¹³Cnmr(D₂O): δ27.2; 32.4; 35.3; 43.7; 49.0; 58.5; 63.6; 128.4; 129.1; 131.4; 136.1; 136.6; 138.6; 139.0; 145.1; 145.6; 178.4; 184.8; 186.7。

实施例 7 以 4 - 磺萘基硫脲钠为末端的树枝状体的制备

PAMAM 4.0（化合物 8）

将 4 - 磺萘基异硫氰酸钠固体（180mg; 0.5mmol）加入溶解在水（5ml）里的 PAMAM4.0（51mg; 0.01mmol）溶液里，并在氮气中于 53 ° 加热该混合物 2 小时，然后冷却。在减压条件下将水从所得到的悬浮液中蒸馏掉，并通过凝胶过滤（Sephadex LH20；水）纯化所得到的灰白色固体残余物。合并纯化级分，并冷冻干燥得到以 4 - 磺萘基硫脲钠为末端的 PAMAM4.0 树枝状体，为一种飞扬白色固体（60mg）。¹Hnmr(D₂O): δ2.20; 2.60; 3.14; 3.48; 7.23; 7.47; 7.56; 7.77; 7.93(d, J=6Hz); 8.56(d, J=6Hz). ¹³Cnmr(D₂O): δ35.8; 40.5; 43.1; 48.4; 53.6; 55.9; 127.6; 128.6; 130.3; 131.9; 132.5; 133.5; 134.7; 140.5; 142.7; 177.8; 178.0; 185.4。

实施例 8 以 3，5 - 二磺苯基硫脲钠为末端的树枝状体的制备

PAMAM4.0（化合物 7）

将 3，5 - 二磺苯基异硫氰酸钠固体（110mg; 0.32mmol）加入溶解在水（3ml）里的 PAMAM4.0（63mg; 0.012mmol）溶液里，并在氮气下于 53 ° 加热该溶液 2 小时，然后冷却。浓缩所得溶液，并通过凝胶过滤（Sephadex G25；水）纯化所得到的棕色固体残余物。合并纯化级分，并浓缩得到以 24 个 3，5 - 二磺苯基硫脲钠为端基的 PAMAM4.0，为一种灰白色固体（110mg）。

$^1\text{Hnmr}$ (D_2O) : δ 2.53 ; 3.08 ; 3.36 ; 3.66 ; 7.90 ; 7.95 .

$^{13}\text{Cnmr}$ (D_2O): δ 34.8 ; 41.0 ; 43.1 ; 48.0 ; 53.7 ; 56.2 ; 124.1 ; 128.6 ; 143.5 ; 148.8 ; 177.6 ; 185.0 .

实施例 9 以 3 , 6 , 8 - 三磺基硫脲钠为末端的树枝状体的制备

PAMAM4.0 (化合物 10)

将固体 3 , 6 , 8 - 三磺基异硫氰酸钠 (250mg ; 0.5mmol) 加入溶解在水 (2ml) 里的 PAMAM4.0 (51mg ; 0.01mmol) 和 N , N - 二甲基 - N - 烯丙胺缓冲液 (pH9.5 ; 1ml) 溶液中, 并在氮气下以 53° 加热该混合物 2 小时, 然后冷却。在减压条件下浓缩该混合物, 得到一种橙色固体。将残余固体溶于水 (2ml) 中, 并通过一个短 Amberlite IR-120(N_a) 柱。浓缩滤液, 并通过凝胶过渡 (Sephadex LH20 ; 水) 纯化所得残余物。合并纯化级分, 冷冻干燥, 得到以 3 , 6 , 8 - 三磺基硫脲钠为末端的 PAMAM4.0 树枝状体, 为一种灰白色固体 (102mg) 。 $^1\text{Hnmr}$ (D_2O): δ 2.65 ; 3.02 ; 3.30 ; 3.66 ; 8.05 ; 8.42 ; 8.59 ; 8.67 。 $^{13}\text{Cnmr}$ (D_2O): δ 33.2 ; 38.7 ; 43.2 ; 43.7 ; 47.8 ; 54.0 ; 54.3 ; 56.7 ; 131.0 ; 131.3 ; 131.9 ; 135.9 ; 138.0 ; 139.6 ; 143.8 ; 144.1 ; 145.6 ; 176.2 ; 176.5 ; 186.0 .

实施例 10 以 4 - (磺甲基) 苯甲酰胺钠为末端的树枝状体的制备 PAMAM 4.0 (化合物 13)

将固体 4 - (氯甲基) 苯甲酸 4 - 硝基苯基酯 (200mg ; 0.68mmol) 加入被搅动的溶解在无水的 DMSO (4ml) 里的 PAMAM 4.0 (70mg ; 0.014mmol) 溶液中, 在室温下搅动所得到的黄色溶液 2 小时。浓缩 (40° ; 10^{-4}mmHg) 该溶液, 并用水与二氯甲烷的混合物 (1 : 1) 萃取所得残余物。将所残余的固体材料溶解在 DMSO (5ml) 中, 并加入溶解在水 (3ml) 里的亚硫酸钠 (130mg ; 1mmol) 溶液。将所得到的略显混浊的混合物放置 4 天, 此后加更多的水 (2ml) , 产生透明的均匀黄色溶液。然后浓缩该溶液: 首先在 25mmHg 和 40° 条件下, 接着在 10^{-4}mmHg 和 50

° 条件下, 得到粗制品。通过凝胶过滤 (Sephadex G25; 水) 纯化该粗制品, 得到以 24 个 4 - (磺甲基) 苯甲酰胺钠为端基的 PAMAM4.0 (24mg)。¹Hnmr(D₂O): δ2.25; 2.66; 3.08; 3.20; 3.33; 3.38; 4.01; 7.40(br d); 7.62(br d)。¹³Cnmr(D₂O): δ36.7; 40.9; 43.0; 43.6; 53.5; 55.5; 61.0; 131.6; 135.0; 137.2; 140.4; 174.5; 178.6; 179.2。

实施例 11 以 4 - 磺基苯甲酰胺为末端的树枝状体的制备 PAMAM 4.0 (EDA)

将固体 N - 羟基琥珀酰亚胺基 4 - 磺基苯甲酸钾 (100mg; 0.3mmol) 加入溶解在 0.1M pH8.5 的硼酸缓冲液 (5ml) 里的 PAMAM 4.0 (EDA) (3.5mg; 0.005mmol) 溶液中, 在室温下搅拌该溶液 2 小时。此时所得到的乳状液其 pH 为 4.5。然后加入 1M 的碳酸钠溶液 (1ml), 得到一种透明的溶液, 浓缩得到白色固体状粗制品。通过凝胶过滤 (Sephadex G25; 水) 该粗制品得到以 32 个 4 - 磺基苯甲酰胺钠为端基的 PAMAM 4.0 (EDA) (47mg)。¹Hnmr(D₂O): δ2.25; 2.42; 2.63; 3.05; 3.18; 3.31; 3.38; 7.72(d, J=8Hz); 7.78(d, J=8Hz)。¹³Cnmr(D₂O): δ36.0; 40.4; 43.0; 43.7; 53.7; 55.8; 130.2; 132.2; 140.4; 150.1; 173.6; 178.0; 178.5。

实施例 12 以 N - (4 - 磺苯基) 丙酰胺钠为末端的树枝状体的制备

PAMAM 4.0 (EDA)

将固体 N - (4 - 磺苯基) 丙烯酰胺钠 (250mg; 1mmol) 和固体碳酸钠 (106mg; 1mmol) 依次加入被搅动的溶解在水 (4ml) 里的 PAMAM 4.0 (EDA) (78mg; 0.011mmol) 溶液中。所得到的溶液在氮气下搅拌 4 天, 再冷冻干燥, 得到一种飞扬白色固体。通过凝胶过滤 (Sephadex LH20; 水) 所得到的粗制品, 得到以 64 个 N - (4 - 磺苯基) 丙酰胺钠为端基的 PAMAM 4.0 (EDA) (206mg)。¹³Cnmr证实有少量的一烷基化末端氨基。¹Hnmr(D₂O): δ2.10; 2.48; 2.58; 2.79; 3.20; 7.42(d,

$J=7\text{Hz}$); 7.65(d, $J=7\text{Hz}$). $^{13}\text{Cnmr}(\text{D}_2\text{O})$: 836.5; 37.9; 41.1; 53.4; 55.6; 124.8; 130.9; 143.0; 144.2; 177.4; 178.5.

实施例 13 以 4 - 磺苯基脲钠为末端的树枝状体的制备

PAMAM 4.0 (EDA)

将溶解在无水 DMSO (3ml) 里的磺胺酸钠 (195mg; 1mmol) 溶液滴加到溶解在无水 DMSO (4ml) 里的 N, N' - 二琥珀酰亚胺基碳酸酯 (530mg; 2mmol) 溶液里, 并将所得到的棕色溶液在室温下搅拌 20 小时。将溶解在无水 DMSO (1ml) 里的 PAMAM4.0 (EDA) (75mg; 0.011mmol) 溶液加进去, 并且再搅拌该溶液 18 小时。然后在高真空 (10^{-5}mmHg ; 35°) 条件下浓缩该溶液, 得到一种黄色半固体。将该粗制品溶解在 DMSO (4ml) 中, 并把该溶液加入 200ml 搅匀的乙酸乙酯中。过滤收集沉淀的白色固体, 并用乙酸乙酯 (2X) 和乙醚 (2X) 洗涤, 然后干燥, 得到一种白色粉末 (275mg)。通过凝胶过滤 (Sephadex LH20; 水) 进一步纯化所得到的材料, 得到以 32 个 4 - 磺苯基脲钠为端基的 PAMAM4.0 (EDA) (106mg)。 $^1\text{Hnmr}(\text{D}_2\text{O})$: δ 2.31; 2.55; 2.75; 3.19; 7.32(d, $J=9\text{Hz}$); 7.63(d, $J=9\text{Hz}$). $^{13}\text{Cnmr}(\text{D}_2\text{O})$: 836.3; 40.7; 43.3; 43.8; 53.7; 55.7; 123.3; 130.9; 140.9; 146.0; 161.4; 178.2; 178.6.

实施例 14 以 N, N, N - 三甲基甘氨酸胺氯为末端的树枝状体的制备

BHAllyslys₂lys₄lys₈lys₁₆ (化合物 15)

将三氯乙酸 (4ml) 加入悬浮于无水二氯甲烷 (2ml) 里的 BHAllyslys₂lys₄lys₈DBL₁₆(220mg; $30\ \mu\text{mol}$) 悬浮液中, 并在氮气下, 于室温下搅拌 2 小时, 然后浓缩。将残余物溶解在无水 DMSO (5ml) 中, 并用三乙胺把 pH 调至 8.5。然后加入固体 N,N,N - 三甲基甘氨酸 4 - 硝基苯基氯 (0.50g; 1.8mmol), 并在室温下搅拌该混合物过夜。浓缩所得到的混浊液 ($50^\circ/10^{-5}\text{mmHg}$), 并把残余物分配在水和二氯甲烷之间。分离水层, 用二氯甲烷 (3X)

和乙酸乙酯洗涤，然后浓缩得到一种油状物（1.128g）。通过凝胶过滤（Sephadex LH20；水）纯化该粗制品，得到以 N,N,N - 三甲基甘氨酸为末端的 BHAl₁lys₂lys₄lys₈lys₁₆ 树枝状体（116mg）。¹³Cnmr(D₂O): δ 25.5, 30.5, 30.8, 33.4, 42.1, 56.5, 57.1, 67.5, 68.1, 166.7, 167.0, 167.1, 176.0, 176.2。

实施例 15 以 4 - 三甲铵苯甲酰胺为末端的树枝状体的制备
PAMAM 4.0（化合物 16）

将 1, 1' - 羧基二咪唑（85mg; 0.52mmol）加入溶解在无水 DMF（4ml）里的 4 - 三甲铵苯甲酸碘化物（154mg; 0.5mmol）溶液，并在氩气下，于室温下搅拌所得混合物 2 小时。在此期间，从该溶液中分离得到一种白色固体。然后将溶解在无水 DMF（2ml）里的 PAMAM 4.0（58mg; 0.011mmol）溶液加进去，并在室温下搅拌该混合物过夜。此后，大基团沉淀已溶解，所进行的水合茚三酮试验呈阴性。浓缩该混合物（10⁻⁴mmHg; 30°），得到一种白色固体残余物。通过凝胶过滤（Sephadex LH20; 10% AcOH）纯化该粗制品，得到以 24 个 4 - 三甲铵苯甲酰胺为端基的 PAMAM 4.0 的乙酸盐（89mg）。¹Hnmr(D₂O): δ 1.96; 2.65-2.85; 3.25-3.55; 3.64; 7.92。¹³Cnmr(D₂O): δ 25.8; 33.1; 33.5; 38.7; 43.1; 43.5; 53.5; 54.1; 56.4; 61.2; 124.8; 133.6; 139.9; 153.2; 173.2; 176.3; 176.8; 182.6。

以类似方法制备出以 6 个 4 - 三甲铵苯甲酰胺为端基的 PAMAM 2.0 树枝状体。

实施例 16 以 4 - (三甲铵甲基)苯甲酰胺为末端的树枝状体的制备

PAMAM 4.0（化合物 17）

将固体 4 - (氯甲基)苯甲酸 4 - 硝基苯基酯（150mg; 0.5mmol）加入被搅动的溶解在无水 DMSO（3ml）里的 PAMAM 4.0（52mg; 0.01mmol）溶液中。在室温下搅拌所得到的黄色溶液 20 小时，同时进行的水合茚三酮试验呈阴性（pH 约为 8.5）。

浓缩 (10^{-5} mmHg ; 40°) 该溶液, 并将所得残余物与水和二氯甲烷的混合物 (1 : 1) 一起摇动。过滤收集不可溶的凝胶状材料, 用水 (2X) 和二氯甲烷 (2X) 洗涤, 然后风干。将粗制的以 4 - (氯甲基) 苯甲酰胺为末端的树枝状体溶解在 25 % 三甲胺水溶液 (20ml) 中, 并将该溶液放置过夜。然后浓缩该溶液, 把残余物溶解在水 (5ml) 中, 让其通过一个 Amberlite IRA - 401 (OH) 柱, 浓缩无色的滤液, 得到一种粘性油, 通过凝胶过滤 (Sephadex G10; 10 % AcOH) 进行纯化, 得到以 24 个 4 - (三甲胺甲基) 苯甲酰胺为末端的 PAMAM4.0 (90mg)。 $^1\text{Hnmr}(\text{D}_2\text{O})$: δ 1.88 ; 2.56-2.80 ; 2.98 ; 3.10-3.60 ; 7.52(br d, $J=9\text{Hz}$); 7.72(br d, $J=9\text{Hz}$)。 $^{13}\text{Cnmr}(\text{D}_2\text{O})$: δ 26.6 ; 33.4 ; 38.8 ; 43.2 ; 43.5 ; 53.6 ; 53.6 ; 54.1 ; 56.8 ; 62.8 ; 73.0 ; 132.1 ; 135.3 ; 137.5 ; 140.0 ; 176.4 ; 176.9 ; 183.6。

实施例 17 以 N - (2 - 乙酸基乙基) - N, N - (二甲胺) 甲基甲酰胺为末端的树枝状体的制备

PAMAM 4.0

将固体 1, 1' - 羧基二咪唑 (85mg; 0.52mmol) 加入溶解在无水 DMF (3ml) 里的 N - (2 - 乙酸基乙基) - N - (羧甲基) - N, N - 二甲胺溴化物 (135mg; 0.5mmol) 溶液里, 在氮气下搅拌所得溶液 2 小时。然后加入溶解在 DMF (2ml) 里的 PAMAM 4.0 (60mg; 0.012mmol) 溶液中, 这会导致马上形成一种絮凝状沉淀, 这些沉淀又缓慢地再溶解。将该混合物搅拌 2 天, 然后浓缩 (10^{-4} mmHg ; 40°), 得到一种粘性油。通过凝胶过滤 (Sephadex G10; 10 % AcOH) 纯化该粗制品, 得到以 24 个 N - (2 - 乙酸基乙基) - N, N - (二甲胺) 甲基甲酰胺为端基的 PAMAM 4.0 (64mg)。 $^1\text{Hnmr}(\text{D}_2\text{O})$: δ 1.93 ; 2.05 ; 2.70 ; 3.10-3.60 ; 3.28 ; 3.93(m) ; 4.14 ; 4.48(m)。 $^{13}\text{Cnmr}(\text{D}_2\text{O})$: δ 24.6 ; 26.2 ; 33.2 ; 38.7 ; 42.8 ; 42.9 ; 53.9 ; 57.4 ; 62.6 ; 67.3 ; 67.5 ; 168.9 ; 176.4 ; 176.8 ; 177.3 ; 183.2。

实施例 18 以胍基为端基的树枝状体的制备 PAMAM 4.0 (化合物 18)

将溶解在水 (5ml) 里的 PAMAM 4.0 (63mg; 0.012mmol) 和硫酸甲硫基假脲 (170mg; 0.61mmol) 溶液在氮气下以 80 ° 加热 2 小时。浓缩所得溶液, 并通过凝胶过滤 (Sephadex G10; 10 % AcOH) 纯化残余物, 得到以 24 个胍基为端基的 PAMAM 4.0 的乙酸盐 (107mg)。¹Hnmr(D₂O): δ2.00; 2.80(br t); 3.09(br t); 3.32; 3.45(br t); 3.60(br t)。¹³Cnmr(D₂O): δ25.2; 33.2; 33.4; 38.7; 41.2; 42.6; 43.4; 44.7; 53.5; 54.0; 56.3; 176.5; 176.7; 176.9; 181.6。

以类似方法制备以 6 个胍基为端基的 PAMAM 2.0 树枝状体。

实施例 19 以 4 - ([1, 4, 8, 11 - 四氮杂环十四碳烷]甲基) 苯甲酰胺为末端的树枝状体的制备 PAMAM 4.0 (化合物 19)

将溶解在 pH7 的磷酸缓冲液 (10ml) 里的 1 - (4 - 羧苯基) 甲基 - 1, 4, 8, 11 - 四氮杂环十四碳烷四氢氯化物 (120mg; 0.25mmol)、N - 羟基琥珀酰亚胺 (60mg; 0.52mmol) 和 1 - (3 - 二甲基氨基丙基) - 3 - 乙基碳化二亚胺氢氯化物 (250mg; 1.3mmol) 溶液在室温下放置 1 小时, 然后将溶解在 pH7 的磷酸缓冲液 (10ml) 里的 PAMAM 4.0 (32mg; 0.006mmol) 溶液加进去。将该混合物放置两天, 然后浓缩。通过凝胶过滤 (Sephadex LH20; 10 % AcOH) 纯化残余物, 得到以大约 12 个 4 - ([1, 4, 8, 11 - 四氮杂环十四碳烷]甲基) 苯甲酰胺为端基的 PAMAM 4.0 (80mg), 这一结果是 ¹H 和 ¹³Cnmr 测得的。将所得产物溶解在水中, 并通过一个 Amberlite IRA-401(Cl) 树脂柱, 然后浓缩。将残余物溶解在水 (1ml) 中, 加入浓 HCl (1ml), 并用乙醇 (30ml) 稀释该溶液, 沉淀出一种白色固体。过滤收集沉淀的固体 (68mg)。¹H 和 ¹³Cnmr 再次证实有大约 50 % 的官能化末端氨基。

$^1\text{Hnmr}(\text{D}_2\text{O})$: δ 2.17; 2.36; 2.50; 2.78; 2.85;3.25; 3.40; 3.50; 3.60; 3.62; 4.49; 7.63 (br d); 7.78 (br d). $^{13}\text{C nmr}(\text{D}_2\text{O})$: δ

22.7; 23.1; 33.2; 38.8; 39.9; 40.2; 40.3; 41.0; 41.2; 42.0; 42.9; 43.2; 43.6; 45.5;

46.1; 49.1; 52.2; 53.9; 54.3; 56.6; 62.7; 132.5; 135.7; 137.1; 139.7; 174.3; 176.2;

176.3; 176.7; 177.0; 178.2; 178.5.

实施例 20 以 4 - 羧基 - 3 - 羟基苄胺为末端的树枝状体的制备 PAMAM 4.0 (EDA)

将氰基硼氢钠 (32mg; 0.5mmol) 加入溶解在水 (4ml) 里的 PAMAM 4.0 (EDA) (69mg; 0.01mmol)、4 - 甲酰 - 2 - 羟基苯甲酸 (83mg; 0.5mmol) 和碳酸氢钠 (42mg; 0.5mmol) 混合物中。在室温下搅拌所得到的不均匀的橙色混合物 4 小时, 在这段时间内, 它变均匀。然后浓缩该橙色溶液, 并通过凝胶过滤 (Sephadex LH20; 水) 纯化残余物, 得到以大约 32 个 4 - 羧基 - 3 - 羟基苄胺为端基的 PAMAM 4.0 (EDA) (91mg)。 ^1H 和 $^{13}\text{Cnmr}(\text{D}_2\text{O})$ 表明氨基端基大基团为单烷基化, 但也有二烷基化的迹象, 两种光谱都有宽峰。 $^{13}\text{Cnmr}(\text{D}_2\text{O})$: δ 37.0; 41.1; 50.9; 53.4; 55.5; 55.8; 61.5; 120.9; 122.2; 122.4; 132.3; 132.7; 135.0; 135.8; 163.5; 163.7; 169.0; 178.6; 179.3。 $^1\text{Hnmr}(\text{D}_2\text{O})$: δ 2.20; 2.35; 2.60; 3.15; 3.30; 3.55; 4.25; 6.68; 7.12; 7.55。

实施例 21 试验抗凝活性

从屠宰场收集牛血, 把血放进桶里, 每升新鲜血液中含有 3.5g 柠檬酸钠。把这样的血送回实验室, 并保持在 37℃ 的水浴中。

然后以 3000rpm 的速度将上述全血的试样离心 5 分钟以分离血浆。收集血浆并放回到水浴里。制备出余量血浆并保存在液氮中, 以备后面的试验使用。

以 37℃ 下试验上述柠檬酸化血液的再钙化时间。在再洗涤和干燥之前, 对所有的玻璃器皿进行洗涤、干燥和用 'Coatasil' 硅化。每支 12 × 75mm 的培养管中含有 0.1ml 血浆, 先向其中加入

0.1ml 盐溶液 (0.9 % NaCl) , 接着再加入 0.1ml 0.025M CaCl₂ , 并在此时开启秒表。每隔 15 秒将上述试管倾向一侧, 以估价块凝度。当硬的块凝形成时, 停下秒表, 并记录时间。在试验抗凝剂时用 0.1ml 试验品代替盐水。一定范围内的试验化合物的浓度和时间记录在表 1 中。将肝素、柠檬酸钠和试验化合物在水中配成浓度为 10mg/ml 的溶液。稀释上述溶液, 得到在一定范围内的各种浓度。试管里的最终浓度列于表 1 中。表 1 中的数字为 10 次重复的平均时间。

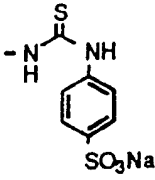
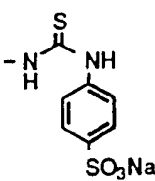
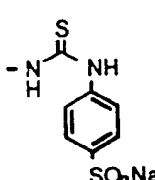
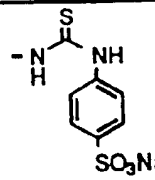
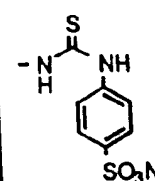
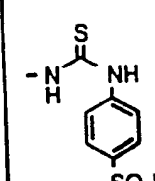
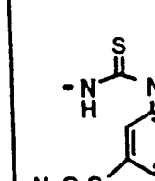
表 1

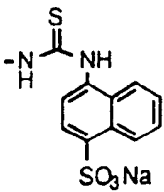
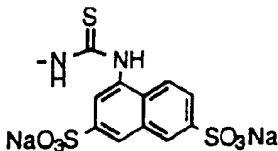
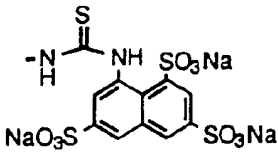
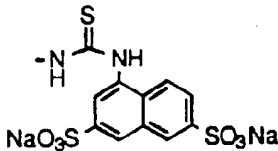
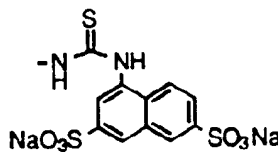
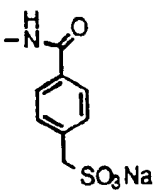
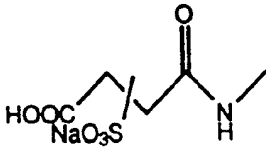
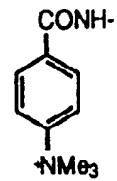
在有下列浓度的抗凝剂时, 在 37 ℃ 下血浆的凝固时间						
化合物	对照 s	0.0003 mg/ml	0.003 mg/ml	0.03 mg/ml	0.33 mg/ml	3.33 mg/ml
肝素	2.29分钟	2.30分钟	>30分钟	>30分钟	>30分钟	-
柠檬酸钠	2.29分钟	-	-	2.30分钟	2.30分钟	>30分钟
化合物 1	2.11分钟	-	-	2.29分钟	4.00分钟	>30分钟
化合物 4	2.08分钟	-	-	1.72分钟	10.00分钟*	>30分钟
化合物 15	2.20分钟	-	2.34分钟	7分钟*	8分钟*	-
化合物 9	2.27分钟	-	2.19分钟	4分钟	5.40分钟*	-

例 23 试验抗病毒活性

将抗 HIV1、HIV2、CMV 和各种单纯疱疹病毒 (HSV) 的活性的试验结果分别记录在表 2 - 5 中。

表 2

HIV 1 活性结果				
树枝状体	端基	EC ₅₀ μ M	CC ₅₀ μ M	抗病毒指数
(1) PAMAM 4.0 24 个端基		0.0492	>125	>2543
(2) PAMAM 5.0 48 个端基		0.0096	>11	>1180
(3) PAMAM 4.0 (EDA) 32 个端基		0.0142	>17.2	>1212
(4) BHAlys15lys16 32 个端基		0.0126	100.91	7991
(5) BHAlys31lys32 64 个端基		0.0332	>10	>320
(6) BHAlys63lys64 128 个端基		0.0530	>5	>100
(7) PAMAM 4.0 24 个端基		0.003	>18.8	>9091

(8)	PAMAM 4.0 24 个端基		0.0694	>20	>300
(9)	PAMAM 4.0 24 个端基		0.0032	>125	>39000
(10)	PAMAM 4.0 24 个端基		0.0041	>14	>3500
(11)	PAMAM 4.0 (EDA) 32 个端基		0.0051	>12.9	>2537
(12)	BHAllys15lys16 32 个端基		0.0088	>15	>1700
(13)	PAMAM 4.0 24 个端基		0.0088	>24	>2737
(14)	PAMAM 4.0 24 个端基		0.2849	>25	>88
(15)	BHAllys15lys16 32 个端基	$\text{Me}_3\text{NCH}_2\text{CONH}-$	0.0725	>125	>1720
(16)	PAMAM 4.0 24 个端基		1.2559	>25	>20

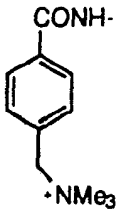
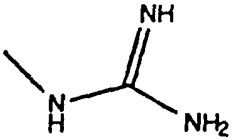
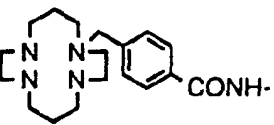
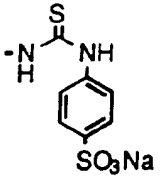
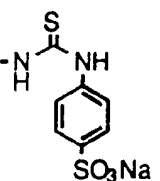
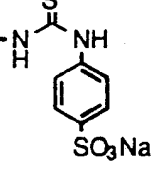
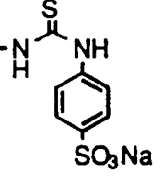
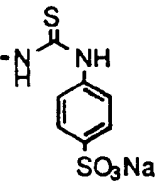
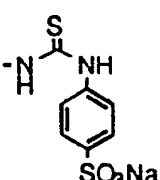
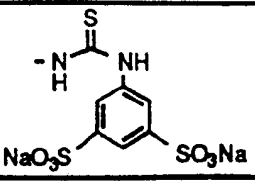
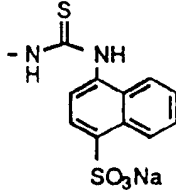
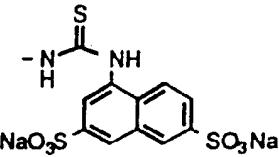
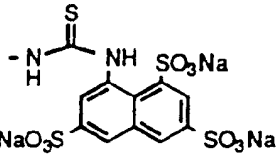
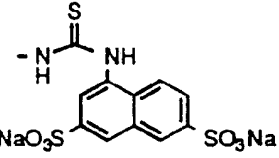
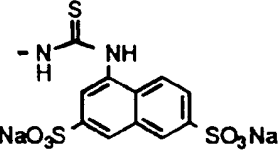
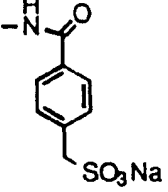
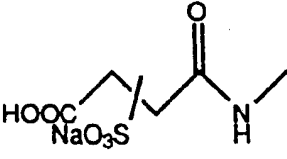
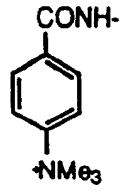
(17)	PAMAM 4.0 24 个端基	 <chem>C[N+](C)(C)Cc1ccc(cc1)C(=O)[O-]</chem>	0.2973	2.3406	8
(18)	PAMAM 4.0 24 个端基	 <chem>CC(N)C(=N)N</chem>	0.2739	3.4983	13
(19)	PAMAM 4.0 大约 12 个端基	 <chem>C1CCN(C1)Cc2ccc(cc2)C(=O)[O-]</chem>	0.0538	3.2183	60

表 3

HIV 2 活性 结果				
树枝状体	端基	EC ₅₀ μ M	CC ₅₀ μ M	抗病毒指数
(1) PAMAM 4.0 24 个端基		0.2237	>125	>560
(2) PAMAM 5.0 48 个端基		0.1490	>11	>76
(3) PAMAM 4.0 (EDA) 32 个端基		0.2368	>17.2	>73
(4) BHAlys15lys16 32 个端基		0.1130	108.0417	956
(5) BHAlys31lys32 64 个端基		0.2063	>10	>52
(6) BHAlys63lys64 128 个端基		0.2227	>5	>24
(7) PAMAM 4.0 24 个端基		0.24	>18.8	>77

(8)	PAMAM 4.0 24 个端基		0.4913	>20	>42
(9)	PAMAM 4.0 24 个端基		0.0674	>125	>1854
(10)	PAMAM 4.0 24 个端基		0.0299	>14	>493
(11)	PAMAM 4.0 (EDA) 32 个端基		0.0234	>12.9	>551
(12)	BHAllys15lys16 32 个端基		0.1778	>15	>85
(13)	PAMAM 4.0 24 个端基		0.1080	>24	>222
(14)	PAMAM 4.0 24 个端基		6.002	>25	>4
(15)	BHAllys15lys16 32 个端基	$\text{Me}_3\text{NCH}_2\text{CONH—}$	>125	>125	
(16)	PAMAM 4.0 24 个端基		>25	>25	

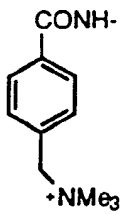
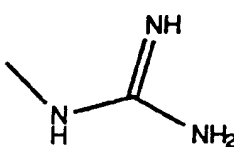
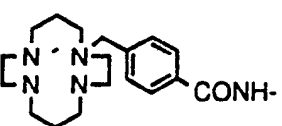
(17)	PAMAM 4.0 24 个端基		>7.175	7.175	<1
(18)	PAMAM 4.0 24 个端基		>10.817	10.817	<1
(19)	PAMAM 4.0 大约12 个端基		0.2175	2.4245	11

表 4

抗人巨细胞病毒细胞培养物 (Davis 菌株) 活性

化合物	EC ₅₀ (μg/ml)	CC ₅₀ (μg/ml)
化合物 15	1.0	≥250
化合物 9	0.2-<0.4	≥250

用人胚胎肺细胞 (HEL) 试验。

IC50= 减少 50 % 病毒噬斑的抑制浓度

CC50= 减少 HEL 细胞生长的 50 % 所需的胞毒浓度

表 5

BRI 化合物抗各种病毒的活性

最低抑制浓度 ^b (μg/ml)					
化合物	最低胞 毒浓度 ^a (μg/ml)	单纯疱疹 病毒-1 (KOS)	单纯疱疹 病毒-2 (G)	单纯疱疹 病毒-1 TK-B2006	单纯疱疹 病毒-1 TK-VMW1837
化合物 4	≥400	70	7	150	70
化合物 20	≥400	7	20	20	20

^a 使正常形态产生显微镜可检测的变化所需的浓度。^b 减少病毒引起的细胞病变性的 50 % 所需的浓度。

