



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 115300518 A

(43) 申请公布日 2022. 11. 08

(21) 申请号 202210943409.1

A61P 39/06 (2006.01)

(22) 申请日 2022.08.08

A61K 31/12 (2006.01)

(71) 申请人 上海交通大学医学院附属仁济医院
地址 200001 上海市黄浦区山东中路145号

(72) 发明人 刘庄 杨宇 刘学良

(74) 专利代理机构 上海衡方知识产权代理有限公司 31234

专利代理师 朱穆峰

(51) Int. Cl.

A61K 31/7024 (2006.01)

A61K 49/10 (2006.01)

A61K 49/18 (2006.01)

A61K 47/52 (2017.01)

A61K 9/14 (2006.01)

A61P 9/10 (2006.01)

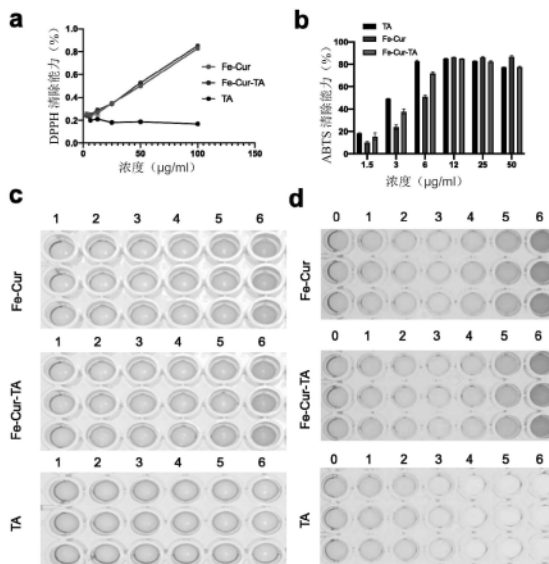
权利要求书1页 说明书6页 附图4页

(54) 发明名称

一种包含Fe-Cur-TA的金属多酚框架结构的纳米药物及其制备方法和用途

(57) 摘要

本发明公开了一种包含Fe-Cur-TA的金属多酚框架结构的纳米药物,该纳米药物包括由铁离子和两种多酚,两种所述多酚为姜黄素和单宁酸。该纳米药物应用于心梗的治疗。本申请首次使用两步组装制备法,制备了由Fe³⁺、姜黄素和单宁酸组成的具有金属多酚框架结构的纳米材料,该新型材料不仅可以通过自级联作用增强抗氧化活性,而且可以通过单宁酸(TA)有效靶向心脏,进而可提高对心梗的治疗效果。



1. 一种包含Fe-Cur-TA的金属多酚框架结构的纳米药物,其特征在于:该纳米药物包括由铁离子和两种多酚,两种所述多酚为姜黄素和单宁酸。

2. 一种如权利要求1所述的包含Fe-Cur-TA的金属多酚框架结构的纳米药物的制备方法,其特征在于,该制备方法包括以下步骤:

第一步、将PVP溶解在甲醇中制备得到PVP甲醇溶液,在甲醇中滴加FeCl₃制备得到FeCl₃甲醇溶液,将FeCl₃甲醇溶液逐滴加入PVP甲醇溶液中,然后保持搅拌30分钟;

第二步、在甲醇中滴加姜黄素得到姜黄素甲醇溶液,将第一步中得到溶液逐滴加入到所述姜黄素甲醇溶液中,并保持搅拌3小时;

第三步、将第二步得到的溶液用水透析48小时,并收集起来得到Fe-Cur NPs供将来使用;

第四步、制备TA原液,用第三步得到的Fe-Cur NPs制备Fe-Cur NPs溶液;

第五步、在剧烈的搅拌下,将第四步得到的TA原液加入到第四步得到的Fe-Cur NPs溶液中并保持搅拌30分钟;

第六步、对第五步所得溶液进行三次以上的洗涤,完全去除游离TA,得到包含Fe-Cur-TA的金属多酚框架结构的纳米药物。

3. 根据权利要求2所述的一种包含Fe-Cur-TA的金属多酚框架结构的纳米药物的制备方法,其特征在于,第一步的具体步骤为:将66mg PVP溶解在5mL甲醇中制备得到PVP甲醇溶液,在1mL甲醇中滴加20mg FeCl₃制备得到FeCl₃甲醇溶液,将FeCl₃甲醇溶液逐滴加入PVP甲醇溶液中,然后保持搅拌30分钟。

4. 根据权利要求2所述的一种包含Fe-Cur-TA的金属多酚框架结构的纳米药物的制备方法,其特征在于,所述第二步的具体步骤为:在1mL甲醇中滴加10mg姜黄素得到姜黄素甲醇溶液,将第一步中得到溶液逐滴加入到所述姜黄素甲醇溶液中,并保持搅拌3小时。

5. 根据权利要求4所述的一种包含Fe-Cur-TA的金属多酚框架结构的纳米药物的制备方法,其特征在于:在第二步中,滴加的所述第一步中得到溶液与姜黄素甲醇溶液的体积比为6:1。

6. 根据权利要求2所述的一种包含Fe-Cur-TA的金属多酚框架结构的纳米药物的制备方法,其特征在于:在第四步中,所述TA原液是浓度为10mM的单宁酸溶液,所述Fe-Cur NPs溶液的浓度为0.3mg/ml, pH值为7.4。

7. 根据权利要求6所述的一种包含Fe-Cur-TA的金属多酚框架结构的纳米药物的制备方法,其特征在于:所述Fe-Cur NPs溶液的缓冲溶液为1×PBS。

8. 根据权利要求2所述的一种包含Fe-Cur-TA的金属多酚框架结构的纳米药物的制备方法,其特征在于,所述第五步的具体步骤为:将5μL TA原液加入到1mL Fe-Cur NPs溶液中并保持搅拌30分钟。

9. 根据权利要求2所述的一种包含Fe-Cur-TA的金属多酚框架结构的纳米药物的制备方法,其特征在于,所述第六步的具体步骤为:用超滤离心管对第五步所得溶液进行三次以上的洗涤,完全去除游离TA,得到包含Fe-Cur-TA的金属多酚框架结构的纳米药物,所述超滤离心管的规格为3kDa,容量为0.5ml。

10. 一种如权利要求1-9中任一权利要求所述包含Fe-Cur-TA的金属多酚框架结构的纳米药物的应用,其特征在于:该纳米药物应用于心梗的治疗。

一种包含Fe-Cur-TA的金属多酚框架结构的纳米药物及其制备方法 and 用途

技术领域

[0001] 本发明涉及心肌梗死技术领域,尤其是一种包含Fe-Cur-TA的金属多酚框架结构的纳米药物及其制备方法和用途及其应用。

背景技术

[0002] 心肌梗死(MI)与病理性炎症和自身免疫反应相关,可导致心室重构和心力衰竭。心肌梗死后,心肌细胞凋亡引起活性氧(ROS)和损伤相关分子模式(DAMP)的急剧增加,从而诱导造血系统产生过多的炎症细胞,如中性粒细胞和巨噬细胞,加速斑块生长和系统性斑块炎症,增加病死率。预防心肌梗死(MI)的相关研究表明,针对炎症反应和免疫平衡的药物干预是有效的。在这方面,广泛的抗炎干预,如糖皮质激素和非甾体抗炎药物(包括阿司匹林和非阿司匹林),免疫调节剂,如环磷酰胺、甲氨蝶呤和环孢素,已被广泛研究。虽然这些临床前研究证实了其对心肌梗死的保护作用,但临床试验也显示出了微弱的积极作用。在很大程度上,这是由于循环时间极短、分布非特异性和药物在梗死斑块内滞留不足所致。此外,现有的大多数药物对ROS的消除能力较弱,破坏了梗死后重构的病理生理异质性,从而限制了其对心肌梗死的疗效。

[0003] 多酚是最丰富的膳食抗氧化剂,如姜黄素(本申请中简称为“Cur”)和单宁酸(本申请中简称为“TA”),具有一定的抗氧化活性和清除活性氧和自由基的能力,可以用于预防心肌梗塞。此外,多酚类化合物基于其通用的粘合剂、官能团和生物相容性,还适用于制备多功能纳米药物,以满足心肌梗死复杂的病理生理过程。多酚与金属离子配位作用形成的金属-多酚网络(MPNs)不仅提高了多酚的稳定性和抗氧化能力,还具有金属离子(FeIII/II、MnII、CuII)的其他显著特性,如作为多种纳米酶活性和MRI成像,这有利于扩展多酚在心肌梗死治疗中的应用。然而,据我们所知,没有研究报告使用基于治疗的MPN治疗心肌梗塞。此外,由心脏的恒定动态收缩舒张循环引起的快速、大规模的血液交换不允许给予的MPN长时间驻留在心脏中。因此,实现心脏靶向是扩大MPNs治疗心肌梗死的重要前提。

[0004] 和本发明最近似的方案是通过将铁离子(本申请中简称为“Fe”)和姜黄素配位形成Fe-Cur的金属多酚框架结构,虽然也有抗氧化能力,但是抗氧化能力较弱,且没有心脏的靶向性。传统实验方案如下:首先,将1mL FeCl₃·6H₂O甲醇溶液(20mg/mL)滴加到5mL PVP甲醇溶液(13.2mg/mL)中。连续搅拌5分钟后,逐滴加入10毫克Cur的1毫升甲醇溶液,并在搅拌下将混合物在室温下孵育3小时。将得到的甲醇溶液用水透析过夜,收集得到的Fe-Cur NCP。

[0005] 现有的方案是通过将Fe和姜黄素配位形成Fe-Cur的金属多酚框架结构,虽然也有抗氧化能力,但是抗氧化能力较弱,且没有心脏的靶向性。因此,需要设计一种包含Fe-Cur-TA的金属多酚框架结构的纳米药物及其制备方法和用途。

发明内容

[0006] 为了克服现有技术中的缺陷,提供一种包含Fe-Cur-TA的金属多酚框架结构的纳米药物及其制备方法和用途。

[0007] 本发明通过下述方案实现:

[0008] 一种包含Fe-Cur-TA的金属多酚框架结构的纳米药物,该纳米药物包括由铁离子和两种多酚,两种所述多酚为姜黄素和单宁酸。

[0009] 一种包含Fe-Cur-TA的金属多酚框架结构的纳米药物的制备方法,该制备方法包括以下步骤:

[0010] 第一步、将PVP溶解在甲醇中制备得到PVP甲醇溶液,在甲醇中滴加FeCl₃制备得到FeCl₃甲醇溶液,将FeCl₃甲醇溶液逐滴加入PVP甲醇溶液中,然后保持搅拌30分钟;

[0011] 第二步、在甲醇中滴加姜黄素得到姜黄素甲醇溶液,将第一步中得到溶液逐滴加入到所述姜黄素甲醇溶液中,并保持搅拌3小时;

[0012] 第三步、将第二步得到的溶液用水透析48小时,并收集起来得到Fe-Cur NPs供将来使用;

[0013] 第四步、制备TA原液,用第三步得到的Fe-Cur NPs制备Fe-Cur NPs溶液;

[0014] 第五步、在剧烈的搅拌下,将第四步得到的TA原液加入到第四步得到的Fe-Cur NPs溶液中并保持搅拌30分钟;

[0015] 第六步、对第五步所得溶液进行三次以上的洗涤,完全去除游离TA,得到包含Fe-Cur-TA的金属多酚框架结构的纳米药物。

[0016] 第一步的具体步骤为:将66mg PVP溶解在5mL甲醇中制备得到PVP甲醇溶液,在1mL甲醇中滴加20mg FeCl₃制备得到FeCl₃甲醇溶液,将FeCl₃甲醇溶液逐滴加入PVP甲醇溶液中,然后保持搅拌30分钟。

[0017] 所述第二步的具体步骤为:在1mL甲醇中滴加10mg姜黄素得到姜黄素甲醇溶液,将第一步中得到溶液逐滴加入到所述姜黄素甲醇溶液中,并保持搅拌3小时。

[0018] 在第二步中,滴加的所述第一步中得到溶液与姜黄素甲醇溶液的体积比为6:1。

[0019] 在第四步中,所述TA原液是浓度为10mM的单宁酸溶液,所述Fe-Cur NPs溶液的浓度为0.3mg/ml,pH值为7.4。

[0020] 所述Fe-Cur NPs溶液的缓冲溶液为1×PBS。

[0021] 所述第五步的具体步骤为:将5μL TA原液加入到1mL Fe-Cur NPs溶液中并保持搅拌30分钟。

[0022] 所述第六步的具体步骤为:用超滤离心管对第五步所得溶液进行三次以上的洗涤,完全去除游离TA,得到包含Fe-Cur-TA的金属多酚框架结构的纳米药物,所述超滤离心管的规格为3kDa,容量为0.5ml。

[0023] 一种包含Fe-Cur-TA的金属多酚框架结构的纳米药物的应用,该纳米药物应用于心梗的治疗。

[0024] 本发明的有益效果为:

[0025] 1. 本发明开发了由铁离子(Fe)和双多酚,包括姜黄素(Cur)和单宁酸(TA)配位的新型MPN(Fe-Cur-TA)来治疗心肌梗塞。

[0026] 2. 由于TA与心脏丰富的弹性蛋白和胶原蛋白的高亲和力,本申请的一种包含Fe-

Cur-TA的金属多酚框架结构的纳米药物对心脏问题表现出强烈的酚类保留,从而增加心肌细胞对结合的Fe-Cur-TA的吸收。

[0027] 3.本发明首先将姜黄素与三价铁离子配位,很好地优化配料比例,得到超小量的Fe-Cur。进一步利用单宁酸(TA)在Fe-Cur表面配位合成本申请的一种包含Fe-Cur-TA的金属多酚框架结构的纳米药物。由于采用两步组装策略,本申请的一种包含Fe-Cur-TA的金属多酚框架结构的纳米药物具有多种酶样活性(SOD样、CAT样和GPx样),可全面消除梗塞心脏中的ROS环境和促进心肌细胞的增殖。

[0028] 4.本发明MPN中的FeIII离子可用于T2加权MRI造影剂,用于心肌梗塞的生物成像。

[0029] 5.本申请的一种包含Fe-Cur-TA的金属多酚框架结构的纳米药物可以减少中性粒细胞和单核细胞向梗死病灶的浸润,促进巨噬细胞极化成M2样表型,从而抑制炎症细胞因子的分泌。经Fe-Cur-TA处理后,循环Treg细胞数量的免疫抑制表型也显著增加。

[0030] 6.在已建立的小鼠和临床相关的小猎犬心肌梗死模型中,本申请的一种包含Fe-Cur-TA的金属多酚框架结构的纳米药物提供了有效的心脏保护、改善心脏功能和减弱不良重塑,从而确定了MI治疗的实质性临床可行性和改善。

附图说明

[0031] 图1.Fe-Cur-TA可有效清除ROS。(a) DPPH结果显示,Fe-Cur-TA可有效清除ROS。(b) ABTS结果显示,Fe-Cur-TA可有效清除ROS。(c, d) DPPH和ABTS检测Fe-Cur-TA消耗ROS结果直观拍照结果。

[0032] 图2.Fe-Cur-TA可有效清除细胞内ROS并缓解细胞损伤。(a) JC-1检测结果显示,Fe-Cur-TA可有效缓解ROS对心肌细胞线粒体膜电位的损伤。(b) AnnexinV/PI细胞凋亡检测结果显示,Fe-Cur-TA可有效缓解ROS对心肌细胞活力的影响。(c) DCFH-DA检测结果显示Fe-Cur-TA可有效清除心肌细胞内活性氧。

[0033] 图3.Fe-Cur-TA可有效靶向心肌细胞和心脏。(a) 共聚焦结果显示,Fe-Cur-TA相较于Fe-Cur可增加对心肌细胞的靶向,进而增加细胞对Fe-Cur-TA的摄取。(b) 离体心脏的活体成像结果显示,Fe-Cur-TA相较于Fe-Cur可增加在心肌位置的聚集。(c) 心脏免疫荧光切片结果显示,Fe-Cur-TA相较于Fe-Cur可增加对心肌的靶向性。

[0034] 图4.Fe-Cur-TA对小鼠心梗模型的治疗。(a, b) 马松染色结果显示,Fe-Cur-TA可有效减少心梗面积。(c, d) Fe-Cur-TA处理后可增减心脏表达vWF。(e, f) 经Fe-Cur-TA治疗后,梗死边缘区CD31和 α -SMA染色的代表性荧光图像。

具体实施方式

[0035] 下面对本发明优选的实施例进一步说明:

[0036] 在本申请中,PVP是聚乙烯吡咯烷酮的简称,NPs是纳米微粒的简称。

[0037] 一种包含Fe-Cur-TA的金属多酚框架结构的纳米药物,该纳米药物包括由铁离子和两种多酚,两种所述多酚为姜黄素和单宁酸。

[0038] 一种包含Fe-Cur-TA的金属多酚框架结构的纳米药物的制备方法,该制备方法包括以下步骤:

[0039] 第一步、将PVP溶解在甲醇中制备得到PVP甲醇溶液,在甲醇中滴加 FeCl_3 制备得到

FeCl₃甲醇溶液,将FeCl₃甲醇溶液逐滴加入PVP甲醇溶液中,然后保持搅拌30分钟;

[0040] 第二步、在甲醇中滴加姜黄素得到姜黄素甲醇溶液,将第一步中得到溶液逐滴加入到所述姜黄素甲醇溶液中,并保持搅拌3小时;

[0041] 第三步、将第二步得到的溶液用水透析48小时,并收集起来得到Fe-Cur NPs供将来使用;

[0042] 第四步、制备TA原液,用第三步得到的Fe-Cur NPs制备Fe-Cur NPs溶液;

[0043] 第五步、在剧烈的搅拌下,将第四步得到的TA原液加入到第四步得到的Fe-Cur NPs溶液中并保持搅拌30分钟;

[0044] 第六步、对第五步所得溶液进行三次以上的洗涤,完全去除游离TA,得到包含Fe-Cur-TA的金属多酚框架结构的纳米药物。

[0045] 第一步的具体步骤为:将66mg PVP溶解在5mL甲醇中制备得到PVP甲醇溶液,在1mL甲醇中滴加20mg FeCl₃制备得到FeCl₃甲醇溶液,将FeCl₃甲醇溶液逐滴加入PVP甲醇溶液中,然后保持搅拌30分钟。

[0046] 所述第二步的具体步骤为:在1mL甲醇中滴加10mg姜黄素得到姜黄素甲醇溶液,将第一步中得到溶液逐滴加入到所述姜黄素甲醇溶液中,并保持搅拌3小时。

[0047] 在第二步中,滴加的所述第一步中得到溶液与姜黄素甲醇溶液的体积比为6:1。

[0048] 在第四步中,所述TA原液是浓度为10mM的单宁酸溶液,所述Fe-Cur NPs溶液的浓度为0.3mg/ml,pH值为7.4。

[0049] 所述Fe-Cur NPs溶液的缓冲溶液为1×PBS。

[0050] 所述第五步的具体步骤为:将5μL TA原液加入到1mL Fe-Cur NPs溶液中并保持搅拌30分钟。

[0051] 所述第六步的具体步骤为:用超滤离心管对第五步所得溶液进行三次以上的洗涤,完全去除游离TA,得到包含Fe-Cur-TA的金属多酚框架结构的纳米药物,所述超滤离心管的规格为3kDa,容量为0.5ml。

[0052] 一种包含Fe-Cur-TA的金属多酚框架结构的纳米药物的应用,该纳米药物应用于心梗的治疗。

[0053] 现有的方案是通过将Fe和姜黄素配位形成Fe-Cur的金属多酚框架结构,虽然也有抗氧化能力,但是抗氧化能力较弱,且没有心脏的靶向性。本申请首次使用两步组装制备法,制备了由Fe³⁺、姜黄素和单宁酸组成的具有金属多酚框架结构的纳米材料,该新型材料不仅可以通过自级联作用增强抗氧化活性,而且可以通过单宁酸(TA)有效靶向心脏,进而可提高对心梗的治疗效果。

[0054] 本发明首次使用两步自组装的方式制备了由Fe离子和两个多酚(姜黄素Cur和单宁酸TA)组成的新型金属多酚纳米药物,该纳米药物可以有效治疗心梗。本发明首次使用TA修饰Fe-Cur从而赋予其心脏靶向的功能。本发明首次使用Fe-Cur-TA通过抗炎治疗心梗。首次使用TA修饰Fe-Cur,制备了Fe-Cur-TA,这种新的组装方式不仅可以有效增强Fe-TA对心脏的靶向性,而且可以通过加强的自级联方式增强Fe-Cur的抗氧化能力,从而更好的用于治疗心梗。

[0055] 下面结合实验过程对本申请的技术方案做进一步阐述:

[0056] 一、ROS清除测定

[0057] 为了探索本申请的一种包含Fe-Cur-TA的金属多酚框架结构的纳米药物的ROS清除能力,进行DPPH、ABTS和MB测定。对于DPPH测定,将乙醇中的DPPH添加到不同浓度(0、1.5625、3.125、6.25、12.5、25 $\mu\text{g}/\text{mL}$)的Fe-Cur-TA溶液(在本实施例中为本申请的一种包含Fe-Cur-TA的金属多酚框架结构的纳米药物)中,DPPH的最终浓度为62.5M。溶液完全混合并在室温下孵育30分钟。在510nm处测量吸收,根据下式计算DPPH的清除能力: DPPH清除能力(%) = (ADPPH-Asample) / ADPPH * 100%,其中ADPPH和ASample代表在没有额外处理和添加Fe-Cur-TA后的DPPH吸光度。

[0058] 在ABTS测定之前,将7mM ABTS溶液与2.45mM过硫酸钾一起孵育过夜以激活ABTS自由基。将不同浓度的Fe-Cur-TA(0、1.5625、3.125、6.25、12.5和25 $\mu\text{g}/\text{mL}$)与ABTS自由基溶液混合并孵育10分钟。在510nm处测定DPPH的吸光度,清除能力计算如下: ABTS清除能力(%) = (AABTS-Asample) / AABTS * 100%,其中AABTS和ASample代表ABTS吸光度在没有额外处理和添加Fe-Cur-TA后。经过检测DPPH和ABTS检测,图1结果显示,Fe-Cur-TA可以有效清除ROS,并显示出较高的清除效率。

[0059] 二、细胞毒性和细胞因子分泌测定

[0060] 将心肌细胞HCM接种到96孔板上(每孔 1.0×10^5 个细胞)并孵育24小时。接下来,用不同浓度的Fe-Cur-TA(Cur浓度为5、10、20、40和80 μM)处理细胞,然后再孵育24小时。随后,分别使用CCK-8和ELISA试剂盒检测细胞毒性和细胞因子水平。我们利用ICG标记的Fe-Cur-TA来可视化细胞介导的NCPs内吞作用。

[0061] 将心肌细胞HCM添加到12孔板中并孵育过夜(1×10^5 细胞/孔)。随后,将它们用PBS洗涤三次,并在37 $^{\circ}\text{C}$ 下与补充有Fe-Cur-TA-ICG的无血清培养基一起孵育,最终ICG浓度为10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。在适当的孵育期后,收集细胞,使用冷PBS洗涤,并用4%多聚甲醛(PFA)固定。使用共聚焦激光扫描显微镜(CLSM; TCS SPE II, Leica, Germany)对细胞进行观察和成像。

[0062] 将心肌细胞HCM(每孔 2×10^4)接种到12孔板上并孵育过夜。然后,将培养基改为无血清DMDM。将不同浓度的Fe-Cur-TA(Cur浓度为5、10、20、40和80 μM)在无血清DMDM中制备,并添加到每个孔中4小时。然后,将H2O2(200mM)添加到每个孔中,再持续2小时。根据以下试剂盒中包含的手册收集细胞并标记用于流式细胞术分析:细胞ROS检测试剂盒(ab113851, ABCAM)和JC-1(Thermo Fisher Scientific)。

[0063] 心肌细胞内过量的ROS会对细胞的线粒体膜电位以及细胞活力造成损伤,JC-1通过检测心肌细胞内线粒体膜电位,结果显示Fe-Cur-TA处理可有效缓解ROS对线粒体膜电位的损伤(图2a)。另外,AnnexinV/PI检测结果显示,Fe-Cur-TA相较于其它对照组,如Fe-Cur, Cur,可以更好维持细胞活力,使ROS对细胞的损伤的状态恢复到之前的状态(图2b)。DCFH-DA方法可以直接检测到细胞内ROS含量的变化。结果显示,Fe-Cur-TA相较于其它对照组可以有效清除细胞内的ROS。

[0064] 三、TA介导的Fe-Cur-TA心脏靶向能力

[0065] 心肌是富含细胞外基质的心脏组织,主要由弹性蛋白和胶原蛋白组成。有报道证明TA修饰的复合物对心脏问题中的弹性蛋白和胶原蛋白具有高亲和力,但对血管内皮糖萼层的主要成分硫酸乙酰肝素和透明质酸没有高亲和力,导致酚类物质在心脏中滞留能力,从而提供靶向性。为了研究TA介导的Fe-Cur-TA是否可以增强心脏问题的保留,我们首先在

体外测试了Fe-Cur-TA对心肌细胞的靶向性,共聚焦结果显示,Fe-Cur-TA相较于Fe-Cur可增加对心肌细胞的靶向,进而增加细胞对Fe-Cur-TA的摄取(图3a)。

[0066] 我们通过使用小鼠静脉注射模型的体内实验进一步研究了ICG标记的Fe-Cur-TA和Fe-Cur在心脏中的靶向和保留。心脏组织的离体荧光成像显示,与Fe-Cur组相比,Fe-Cur-TA组具有更高的红色荧光,表明TA修饰有助于增强积累和保留(图3b)。特别是全心切片显示,在Fe-Cur-TA的整个心室心肌中观察到红色荧光信号,表明Fe-Cur-TA与丰富的弹性蛋白和胶原蛋白紧密结合后在心肌中积累(图3c)。

[0067] 四、治疗小鼠心梗模型

[0068] 构建小鼠心梗模型,然后通过为静脉注射的方式给药。通过组织学分析研究Fe-Cur-TA对缺血性损伤后心脏重塑的长期影响。然后通过针对功能性小动脉标志物 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)的免疫染色进一步评估28天时的新生血管形成。马松染色免疫组化以及统计结果显示(图4a,b),Fe-Cur-TA相较于其它组可以有效缓解心肌损伤,并明显减少心梗的面积。同时免疫荧光结果显示(图4c,d),Fe-Cur-TA处理后心肌细胞内的vWF水平明显提升,几乎恢复到之前健康状态的水平。通过标记CD31和 α -SMA检测心脏中血管的损伤变化。共聚焦免疫荧光结果显示(图4e,f),Fe-Cur-TA处理后可有效增加心脏中血管含量,可恢复心脏血管功能。

[0069] 尽管已经对本发明的技术方案做了较为详细的阐述和列举,应当理解,对于本领域技术人员来说,对上述实施例做出修改或者采用等同的替代方案,这对本领域的技术人员而言是显而易见,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。

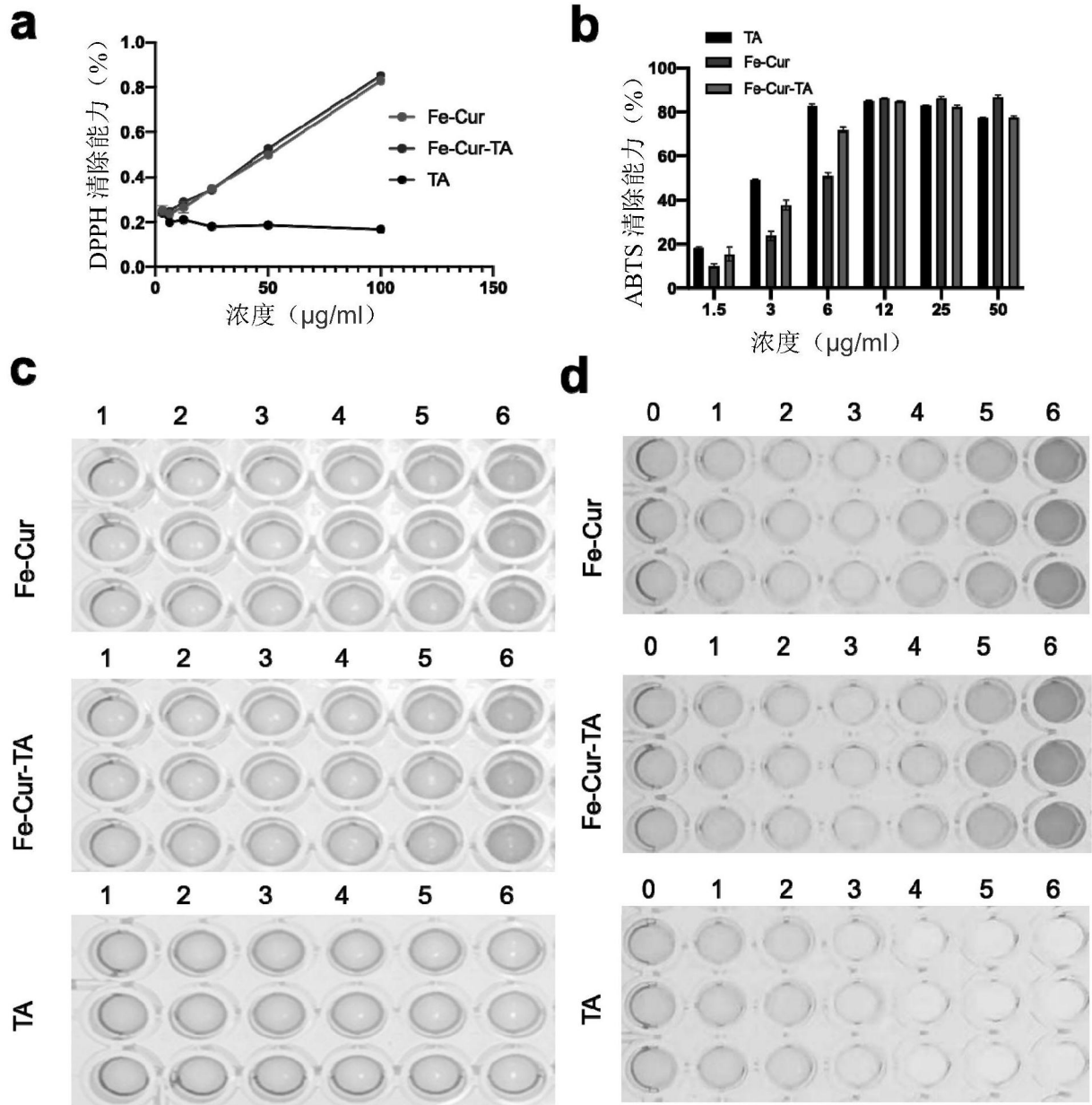


图1

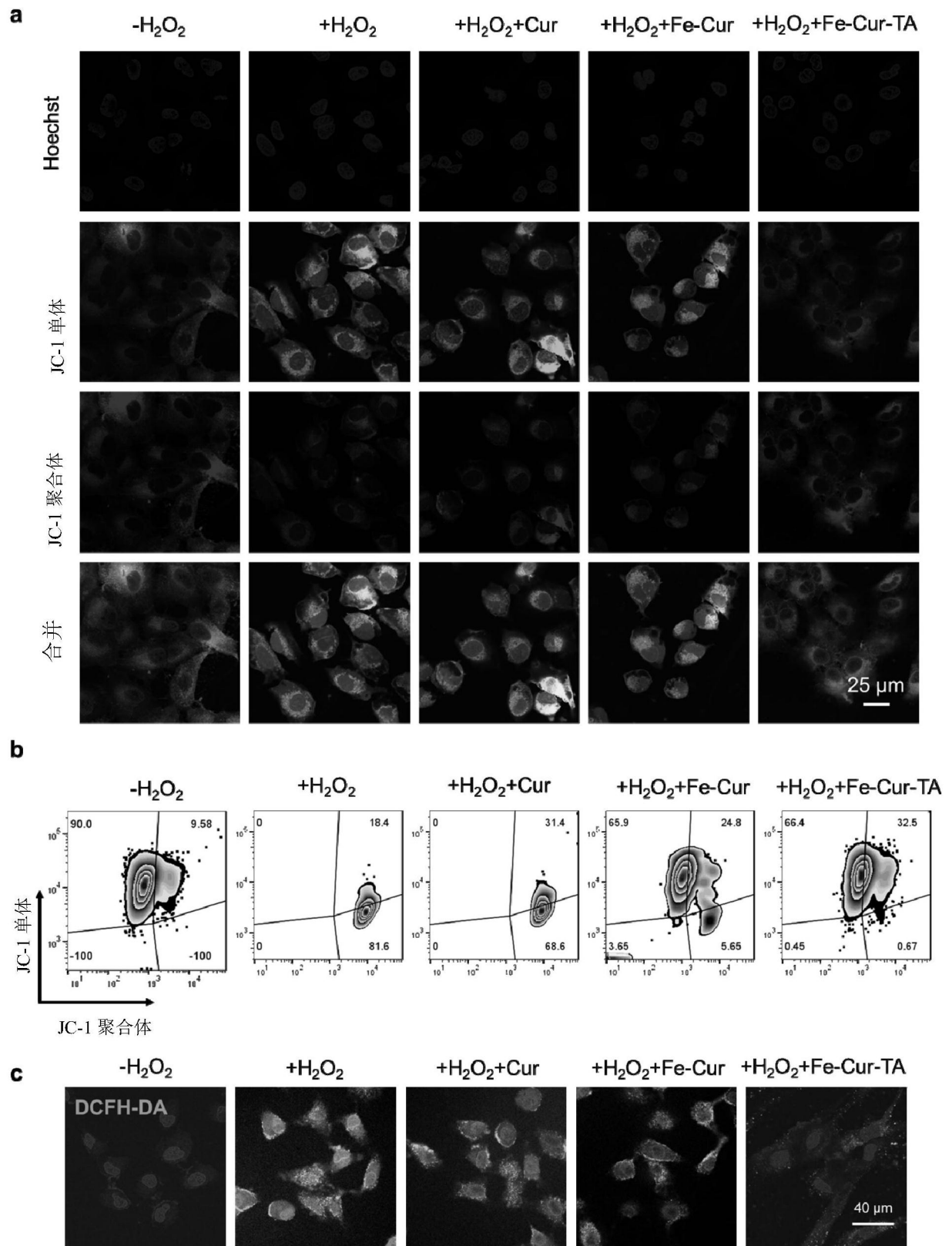


图2

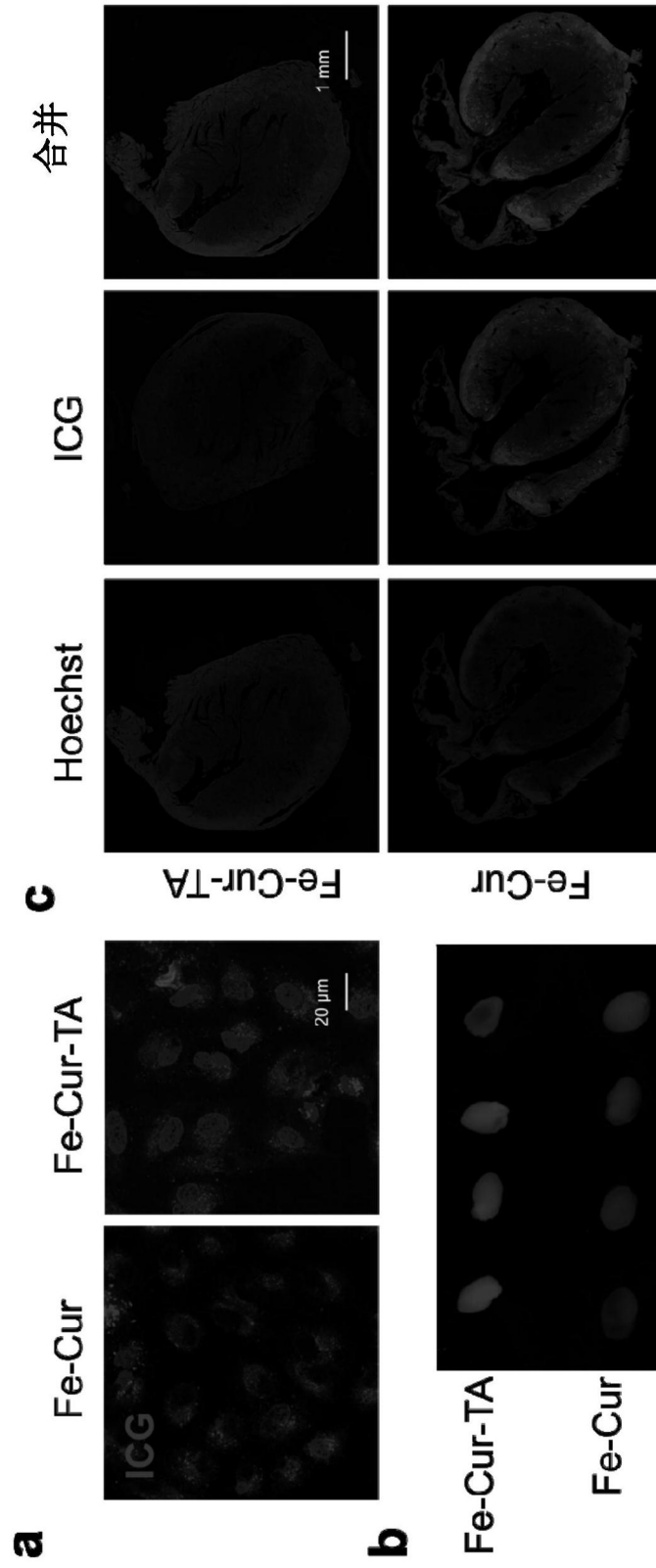


图3

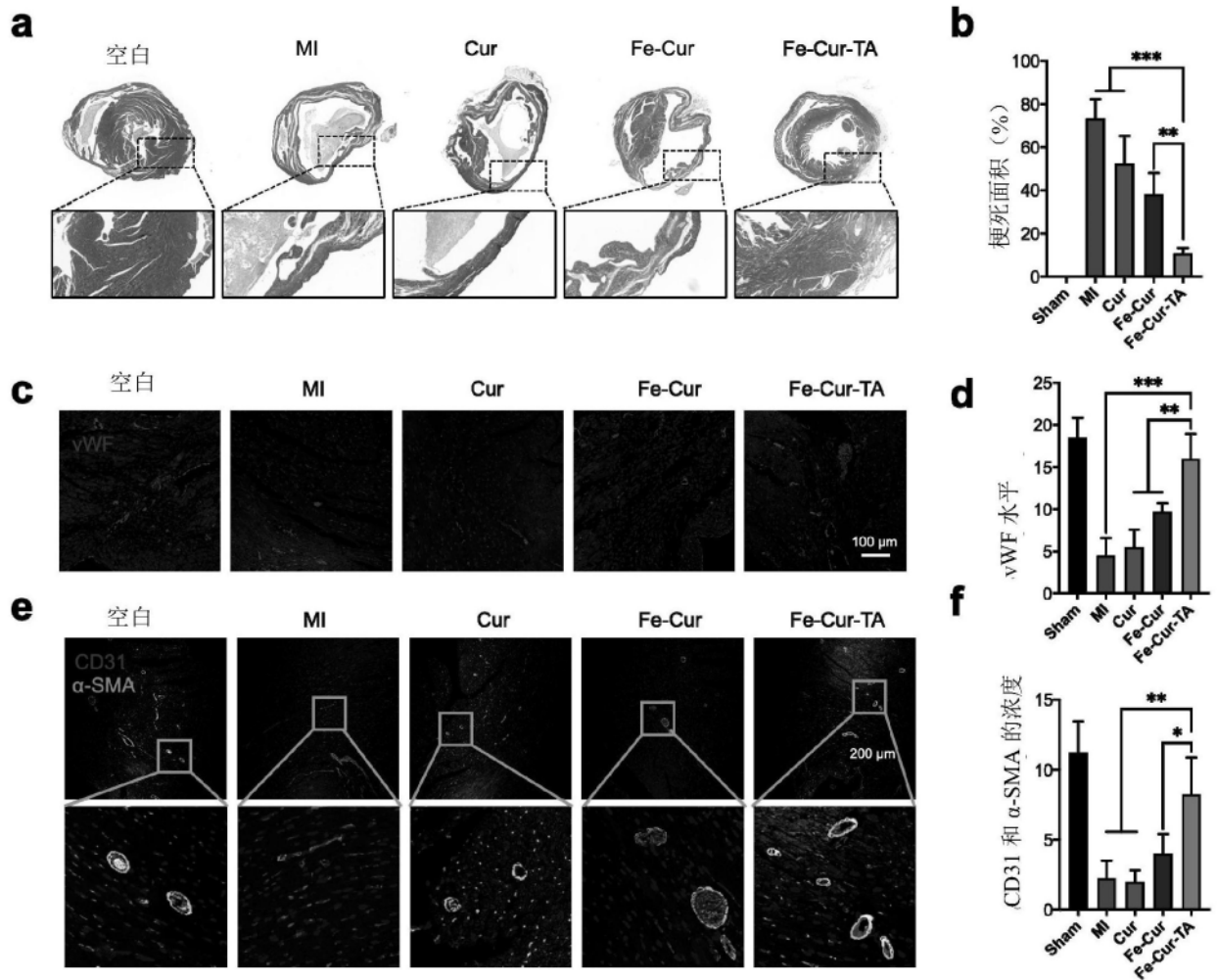


图4