



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102114246 A

(43) 申请公布日 2011.07.06

(21) 申请号 201110048057.5

(22) 申请日 2011.03.01

(71) 申请人 中国药科大学

地址 211198 江苏省南京市江宁区龙眠大道
639 号

(72) 发明人 周建平 霍美蓉 李静 王竞

(51) Int. Cl.

A61K 47/36 (2006.01)

A61K 47/48 (2006.01)

A61K 9/00 (2006.01)

权利要求书 2 页 说明书 16 页

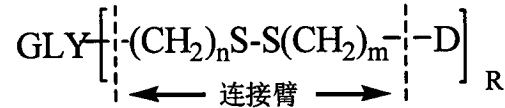
(54) 发明名称

生物体病灶部位特异性释药的两亲性多糖衍生物载体及其药学组合物的制备和应用

(57) 摘要

本发明涉及一种生物体病灶部位特异性释药的两亲性多糖衍生物载体。这类衍生物是在多糖骨架通过含二硫键的可特异性降解连接臂引入疏水基团,使多糖具有两亲性质,在水介质中可自组装为纳米胶束,并可通过疏水基团与药物的作用将药物包裹。纳米胶束负载药物到达病灶部位后,其二硫键连接臂可被病灶细胞内高浓度的还原性物质谷胱甘肽特异性降解,疏水基团的脱落导致药物快速的由胶束内核释放,作用于药效部位,可显著提高病灶部位游离药物浓度、疗效和生物利用度。该辅料可作为有机药物、水不溶性或难溶性药物和两亲性药物的载体,用于血管内或肌肉注射和口服途径给药。本发明制备方法简单,工艺成熟,适于大规模连续生产。

1. 一种生物体病灶部位特异性释药的两亲性多糖衍生物载体,其特征在于该载体是在多糖骨架通过含二硫键的可特异性降解连接臂引入疏水基团,使多糖具有两亲性质,在水介质中可自组装为纳米胶束,该纳米胶束负载药物到达病灶部位后,其二硫键连接臂可被病灶细胞内高浓度的还原性物质谷胱甘肽特异性降解,疏水基团的脱落导致药物快速的由胶束内核释放,作用于病灶部位,可显著提高病灶部位游离药物浓度、疗效和生物利用度,该载体结构如下列化学式所示:



其中 GLY 为多糖分子链, $n+m$ 为连接臂所含亚烷基个数, D 为疏水基团, R 为多糖分子上疏水基团取代的个数。

2. 如权利要求 1 所述的生物体病灶部位特异性释药的两亲性多糖衍生物载体,其特征在于所述多糖包括透明质酸、未分级肝素、低分子量肝素、脱硫酸化肝素、软骨素、多硫酸化软骨素、海藻酸、葡聚糖、真菌多糖、壳聚糖及其含有羧基、氨基或羟基的衍生物。

3. 如权利要求 1 所述的生物体病灶部位特异性释药的两亲性多糖衍生物载体,其特征在于连接臂含有病灶部位特异性降解的二硫键,且两端的反应基团为氨基或羧基或一端反应基团为氨基另一端反应基团为羧基,连接臂亚烷基个数为 2 ~ 16。

4. 如权利要求 1 所述的生物体病灶部位特异性释药的两亲性多糖衍生物载体,其特征在于所述疏水基 D 包括 C_{2-18} 脂肪酸、脱氧胆酸和胆酸、 C_{2-18} 烷基胺、 C_{2-18} 烷基醇。

5. 如权利要求 1 所述的生物体病灶部位特异性释药的两亲性多糖衍生物载体,多糖分子上疏水基团取代的个数 P 为 2 ~ 600 的整数。

6. 如权利要求 1 所述的生物体病灶部位特异性释药的两亲性多糖衍生物载体,其特征在于多糖分子与连接臂通过酰胺键或酯键相连,连接臂与疏水基团通过酰胺键或酯键相连。

7. 权利要求 1 所述的生物体病灶部位特异性释药的两亲性多糖衍生物载体的制备方法,其特征在于包括下列步骤:

(1) 将含羧基的多糖或含有羧基的多糖衍生物溶于反应溶剂中,采用含有二硫键且两端为氨基的连接臂,以 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺 (EDC) 和羟基琥珀酰亚胺 (NHS) 或 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺 (EDC) 和 1-羟基苯并三唑 (HOBt) 为活化剂进行缩合反应,多糖与连接臂的一端氨基反应得到中间体;将疏水基团脂肪酸、脱氧胆酸、胆酸溶于反应溶剂中,以二环己基碳化二亚胺 (DCC) 和羟基琥珀酰亚胺 (NHS) 或 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺 (EDC) 为活化剂,疏水基团的羧基进一步和中间体连接臂上另一端氨基缩合反应,即得具有生物体病灶部位特异性释药功能的两亲性多糖衍生物载体。

(2) 将含氨基(羟基)的多糖或含有氨基(羟基)的多糖衍生物溶于反应溶剂中,采用含有二硫键且两端为羧基的连接臂,以 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺 (EDC) 和羟基琥珀酰亚胺 (NHS) 或 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺 (EDC) 和 1-羟基苯并三唑 (HOBt) 为活化剂进行缩合反应,多糖与连接臂的一端羧基反应得到中间体;将疏水基团烷基胺或烷基醇溶于反应溶剂中,以二环己基碳化二亚胺 (DCC) 和羟基琥珀酰亚胺 (NHS)

或 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺 (EDC) 为活化剂,疏水基团的氨基或羟基进一步和中间体连接臂上另一端羧基缩合反应,即得具有生物体病灶部位特异性释药功能的两亲性多糖衍生物载体。

(3) 将含羧基的多糖或含羧基的多糖衍生物溶于反应溶剂中,采用含有二硫键且一端为羧基另一端为氨基的连接臂,以 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺 (EDC) 和羟基琥珀酰亚胺 (NHS) 或 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺 (EDC) 和 1-羟基苯并三唑 (HOBT) 为活化剂进行缩合反应,多糖与连接臂的一端氨基反应得到中间体;将疏水基团烷基胺、烷基醇溶于反应溶剂中,以二环己基碳化二亚胺 (DCC) 和羟基琥珀酰亚胺 (NHS) 或 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺 (EDC) 为活化剂,疏水基团的氨基、羟基进一步与中间体连接臂上另一端羧基缩合反应,即得具有生物体病灶部位特异性释药功能的两亲性多糖衍生物载体。

(4) 将含氨基(羟基)的多糖或含氨基(羟基)的多糖衍生物溶于反应溶剂中,采用含有二硫键且一端为羧基另一端为氨基的连接臂,以 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺 (EDC) 和羟基琥珀酰亚胺 (NHS) 或 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺 (EDC) 和 1-羟基苯并三唑 (HOBT) 为活化剂进行缩合反应,多糖与连接臂的一端羧基反应得到中间体;将疏水基团脂肪酸、脱氧胆酸或胆酸溶于反应溶剂中,以二环己基碳化二亚胺 (DCC) 和羟基琥珀酰亚胺 (NHS) 或 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺 (EDC) 为活化剂,疏水基团的羧基进一步和中间体连接臂上另一端氨基缩合反应,即得具有生物体病灶部位特异性释药功能的两亲性多糖衍生物载体。

8. 权力要求 6 所述的生物体病灶部位特异性释药的两亲性多糖衍生物载体的制备方法,其特征在于所述反应溶剂为水、甲醇、N,N-二甲基甲酰胺、四氢呋喃、二甲基亚砜、甲酰胺、水与甲醇的混合溶剂、水与 N,N-二甲基甲酰胺的混合溶剂、水与甲酰胺的混合溶剂或 N,N-二甲基甲酰胺与甲酰胺的混合溶剂。

9. 权利要求 1 所述的生物体病灶部位特异性释药的两亲性多糖衍生物载体的应用,其特征在于可以用于血管内或肌肉注射或口服、外用的药学活性或药理活性分子的载体。

10. 根据权利要求 8 所述的应用,其特征在于所述的药学活性或药理活性分子选自:紫杉烷类、环孢素类、喜树碱类、黄酮类、二氢吡啶类、小蘖碱类、长春碱类、葱醌类、鬼臼毒素类抗肿瘤药、甾体类或非甾体抗炎药物、心血管药物、抗生素、抗真菌药物、抗病毒药物、免疫调节剂中的任一物质或其衍生物。

11. 根据权利要求 8 所述的应用,其特征在于该药物增溶载体的制备方法包括以下步骤:两亲性多糖衍生物与水按重量比为 1~50:1000 的比例溶解,得到多糖衍生物的纳米胶束;将治疗有效量的难溶或微溶于水的有机药物用药学上可接受溶剂溶解后,与上述两亲性多糖衍生物纳米胶束混合后,经超声或高压均质处理,溶液用透析法或超滤法或柱分离法除去有机溶剂和小分子,冻干制得粒径为 10~1000nm 的纳米载药胶束。

生物体病灶部位特异性释药的两亲性多糖衍生物载体及其药学组合物的制备和应用

技术领域

[0001] 本发明属于药物制剂领域,涉及一种生物体病灶部位特异性释药的两亲性多糖衍生物作为药物载体,本发明还涉及该载体的制备方法及其应用。

背景技术

[0002] 水难溶性药物具有口服吸收较差,生物利用度较低,难于制备适宜制剂的缺点,因此改善药物的溶解性,提高药物的生物利用度是医药学面临的急待解决的问题。目前多使用表面活性剂或制备成脂质体及包合物来增加药物的溶解度。但是由于一些低分子表面活性剂临界胶束浓度(CMC)较高(10^{-2} g/L),注入体内后,被血液稀释,稳定性较差,同时大量的表面活性剂注入体内后,会产生一定的毒副作用,而脂质体及包合物存在载药量较低、靶向分布不理想、贮存中稳定性欠佳等缺点。

[0003] 两亲性高分子材料是近年来发展起来的药物载体材料,在同一分子中具有亲水链段和疏水链段,能够在水中自组装形成内核疏水、外壳亲水的核壳型纳米胶束和自组装纳米粒。其突出优势在于:①两亲性高分子材料的疏水链段在水中的聚集力较强,疏水内核较稳定,载药制剂稳定性高;②为疏水性药物提供了疏水微环境,其能够通过物理包埋、化学结合和静电作用等方式将药物分子吸附到其疏水内核中,显著增加疏水药物的可溶性;③纳米制剂具有倾向性沉积作用(EPR效应),能使药物在病变部位富集,实现对病变组织的“被动靶向性”目前;④通过特定的酶或pH条件可在病灶部位快速释放药物,降低对正常组织的毒副作用,提高生物利用度。两亲性高分子材料以其独特的优点成为人们研究的热点。

[0004] 两亲性高分子材料必须满足具有良好的生物相容性和生物可降解性、且无毒性 and 免疫原性的条件。大多数合成高分子均存在着或多或少的溶血、热源反应及渗透性等方面缺陷;生物大分子中各种水溶性蛋白质则易被蛋白酶水解,在体内降解速度较快。因此,天然存在的多糖,就显现出其独特的优势。

[0005] 天然多糖来源广泛,作为药用高分子材料具有很多优点:①具有优良的生物相容性和可降解性,在体内可以生物降解为成为小分子,最终的代谢产物为 CO_2 、 H_2O 和尿素等;②一些多糖材料具有广谱肿瘤靶向性,例如低分子量透明质酸可以诱导受体介导的细胞内化。作为抗肿瘤药物载体,通过与众多肿瘤细胞表面高度表达的透明质酸受体CD44结合,从而将抗肿瘤药物转移到肿瘤细胞间质中;③多糖结构中含有大量的活性基团,如羧基、氨基、羟基、醛基等,为对多糖进行化学修饰提供了足够的反应位点。现已有部分两亲性多糖衍生物处于研究阶段,但这些衍生物仍存在着明显的缺点:连接多糖和疏水链段的化学键多为酰胺键或酯键,这两种化学键的体内稳定性较高,使得疏水链段的脱落非常缓慢,由此导致了药物到达药效部位后不能及时释放即被消除或代谢,不利于疗效的发挥。

[0006] 针对以上问题,本专利以天然多糖为骨架,在多糖的羧基、经衍生化形成的羧基、氨基或经衍生化形成的氨基、羟基或经衍生化形成的羟基上,通过的生物体病灶部位特异性释药的二硫键连接臂链接(衍生化)多糖和疏水基团,使其具有两亲性质,在水介质中可

自组装为纳米胶束,增溶药物。新型生物体病灶部位特异性释药的两亲性多糖衍生物作为药物载体具有以下特征:①多糖衍生物具有两亲性性质,在水溶液中自组装形成纳米胶束,避免了有机溶剂、表面活性剂、交联剂或加热条件的使用;②在疏水键作用力下物理包裹难溶性药物,显著提高载药量,稳定时间也非常显著的延长;③多糖与疏水基团间的连接臂含有二硫键,此二硫键在体循环和细胞外的内环境较稳定性,但可被病灶细胞内高浓度的还原性物质谷胱甘肽降解,在病灶部位特异性的快速释放药物,避免了包裹在载体中的药物未能释放、未作用于药效部位即被清除的缺点,可显著提高生物利用度和药效。通过含二硫键的连接臂引入疏水基团所形成的生物体病灶部位特异性释药两亲性多糖衍生物尚未见任何文献和专利报道。

发明内容

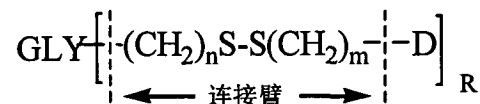
[0007] 本发明的目的是提供一种生物体病灶部位特异性释药的疏水改性的多糖两亲性衍生物载体。该载体在水介质中可自组装形成纳米粒,可避免化学交联剂、大量有机溶剂、加热条件的使用,制备工艺简单;并可利用疏水链段形成的疏水性内核物理增溶难溶性药物,显著提高药物的溶解性。此外,该两亲性多糖衍生物可对病灶细胞内强还原性环境产生响应,其疏水链段可在病灶细胞内与亲水链段快速分离,迅速释放药物,提高显著病灶细胞内游离药物浓度、疗效和生物利用度。该载体具有载药量高、稳定性好、药效提高、毒副作用降低的特征。

[0008] 本发明的另一个目的是提供上述载体的制备方法。

[0009] 本发明还有一个目的是提供上述载体在制药中的应用。

[0010] 为达到上述目的,本发明提供一种生物体病灶部位特异性释药的两亲性多糖衍生物载体,其结构如下列化学式所示:

[0011]



[0012] 其中 GLY 为多糖分子链, $n+m$ 为连接臂所含亚烷基个数, D 为疏水基团, R 为多糖分子上疏水基团取代的个数。

[0013] 所述的生物体病灶部位特异性释药的两亲性多糖衍生物载体,其中选用的多糖包括透明质酸、未分级肝素、低分子量肝素、脱硫酸化肝素、软骨素、多硫酸化软骨素、海藻酸、葡聚糖、真菌多糖、壳聚糖及其含有羧基、氨基或羟基的衍生物。

[0014] 所述的生物体病灶部位特异性释药的两亲性多糖衍生物载体,其中连接臂含有病灶部位特异性降解的二硫键,且两端反应基团为氨基或羧基或一端反应基团为氨基另一端反应基团为羧基,连接臂亚烷基个数为 2 ~ 16。

[0015] 所述的生物体病灶部位特异性释药两亲性多糖衍生物载体,其中疏水基包括 C_{2-18} 脂肪酸、脱氧胆酸、胆酸、 C_{2-18} 烷基胺和 C_{2-18} 烷基醇。

[0016] 所述的生物体病灶部位特异性释药两亲性多糖衍生物载体,其中多糖分子链上疏水基团取代的个数为 2 ~ 600 的整数。

[0017] 所述的生物体病灶部位特异性释药两亲性多糖衍生物载体,其中多糖分子与连接臂一端通过酰胺键或酯键相连,连接臂另一端与疏水基团通过酰胺键或酯键相连。

[0018] 所述的生物体病灶部位特异性释药的两亲性多糖衍生物载体的制备方法包括下列步骤：

[0019] (1) 将含羧基的多糖或含有羧基的多糖衍生物溶于反应溶剂中,采用含有二硫键且两端为氨基的连接臂,以 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺(EDC)和羟基琥珀酰亚胺(NHS)或 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺(EDC)和 1-羟基苯并三唑(HOBT)为活化剂进行缩合反应,多糖与连接臂的一端氨基反应得到中间体;将疏水基团脂肪酸、脱氧胆酸、胆酸溶于反应溶剂中,以二环己基碳化二亚胺(DCC)和羟基琥珀酰亚胺(NHS)或 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺(EDC)为活化剂,疏水基团的羧基进一步和中间体连接臂上另一端氨基缩合反应,即得具有生物体病灶部位特异性释药功能的两亲性多糖衍生物载体。所得多糖衍生物即具有良好两亲性,在水介质中可自发形成纳米胶束。

[0020] (2) 将含氨基(羟基)的多糖或含有氨基(羟基)的多糖衍生物溶于反应溶剂中,采用含有二硫键且两端为羧基的连接臂,以 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺(EDC)和羟基琥珀酰亚胺(NHS)或 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺(EDC)和 1-羟基苯并三唑(HOBT)为活化剂进行缩合反应,多糖与连接臂的一端羧基反应得到中间体;将疏水基团烷基胺或烷基醇溶于反应溶剂中,以二环己基碳化二亚胺(DCC)和羟基琥珀酰亚胺(NHS)或 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺(EDC)为活化剂,疏水基团的氨基或羟基进一步和中间体连接臂上另一端羧基缩合反应,即得具有生物体病灶部位特异性释药功能的两亲性多糖衍生物载体。所得多糖衍生物即具有良好两亲性,在水介质中可自发形成纳米胶束。

[0021] (3) 将含羧基的多糖或含羧基的多糖衍生物溶于反应溶剂中,采用含有二硫键且一端为羧基另一端为氨基的连接臂,以 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺(EDC)和羟基琥珀酰亚胺(NHS)或 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺(EDC)和 1-羟基苯并三唑(HOBT)为活化剂进行缩合反应,多糖与连接臂的一端氨基反应得到中间体;将疏水基团烷基胺、烷基醇溶于反应溶剂中,以二环己基碳化二亚胺(DCC)和羟基琥珀酰亚胺(NHS)或 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺(EDC)为活化剂,疏水基团的氨基、羟基进一步与中间体连接臂上另一端羧基缩合反应,即得具有生物体病灶部位特异性释药功能的两亲性多糖衍生物载体。所得多糖衍生物即具有良好两亲性,在水介质中可自发形成纳米胶束。

[0022] (4) 将含氨基(羟基)的多糖或含氨基(羟基)的多糖衍生物溶于反应溶剂中,采用含有二硫键且一端为羧基另一端为氨基的连接臂,以 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺(EDC)和羟基琥珀酰亚胺(NHS)或 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺(EDC)和 1-羟基苯并三唑(HOBT)为活化剂进行缩合反应,多糖与连接臂的一端羧基反应得到中间体;将疏水基团脂肪酸、脱氧胆酸或胆酸溶于反应溶剂中,以二环己基碳化二亚胺(DCC)和羟基琥珀酰亚胺(NHS)或 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺(EDC)为活化剂,疏水基团的羧基进一步和中间体连接臂上另一端氨基缩合反应,即得具有生物体病灶部位特异性释药功能的两亲性多糖衍生物载体。所得多糖衍生物即具有良好两亲性,在水介质中可自发形成纳米胶束。

[0023] 所述的制备方法,其中反应溶剂为水、甲醇、N,N-二甲基甲酰胺、四氢呋喃、二甲基亚砷或甲酰胺、水与甲醇的混合溶剂、水与 N,N-二甲基甲酰胺的混合溶剂、水与甲酰胺的混合溶剂或 N,N-二甲基甲酰胺与甲酰胺的混合溶剂。

[0024] 所述的生物体病灶部位特异性释药的两亲性多糖衍生物作为药学活性或药理活性分子载体的应用。其中该药学活性或药理活性分子主要包括：紫杉烷类、环孢素类、喜树碱类、黄酮类、二氢吡啶类、小蘖碱类、长春碱类、葱醌类、鬼臼毒素类抗肿瘤药、甾体类或非甾体抗炎药物、心血管药物、抗生素、抗真菌药物、抗病毒药物、免疫调节剂中的任一物质或其衍生物，可以用于血管内或肌肉注射或口服、外用。

[0025] 该药物增溶载体的制备方法操作步骤如下：两亲性多糖衍生物与水按重量比为 1 ~ 50 : 1000 的比例溶解，得到多糖衍生物的纳米胶束；将治疗有效量的难溶或微溶于水的有机药物用药学上可接受溶剂溶解后，与上述两亲性多糖衍生物纳米胶束混合后，经超声或高压均质处理，溶液用透析法或超滤法或柱分离法除去有机溶剂和小分子，冻干制得粒径为 10 ~ 1000nm 的纳米载药胶束。

[0026] 具体方案如下：该载体是在多糖骨架通过含二硫键的可特异性降解连接臂引入疏水基团，使多糖具有两亲性质，在水介质中可自组装为纳米胶束，该纳米胶束负载药物到达病灶部位后，其二硫键连接臂可被病灶部位还原性物质谷胱甘肽特异性降解，疏水基团的脱落导致药物快速的由胶束内核释放，作用于病灶部位，可显著提高病灶部位游离药物浓度、疗效和生物利用度

[0027] 在多糖的氨基或羧基或羟基通过含二硫键的可特异性降解连接臂引入疏水烷酯基或脂肪酰基或（脱氧）胆酸，使其具有两亲性，在水介质中可组装成胶束，相对疏水的烷酯基或脂肪酰基或（脱氧）胆酸聚集成内核，多糖形成亲水性的外壳，具有稳定胶束、有效躲避生物体网状内皮系统的捕捉的作用。因此这类高分子材料是一类优良的药物载体，尤其对于难溶性抗肿瘤药物及其它难溶于水的非抗肿瘤药物。该两亲性多糖载体负载药物到达病灶部位后，其二硫键连接臂可被病灶细胞内高浓度还原性物质谷胱甘肽特异性降解，疏水基团快速与亲水集团的分离导致药物快速的由胶束内核释放，作用于病灶部位，可显著提高病灶部位游离药物浓度、疗效和生物利用度。该衍生物作为药物载体，粒径在 10 ~ 1000nm 可控，表面光滑，均匀度好，颗粒规则无粘连，再分散性好，载药量和包封率高。该药物载体可用于血管内或肌肉注射、口服、腔道和外用。

[0028] 生物体病灶部位特异性释药两亲性多糖衍生物的合成及药学或生理活性组合物制备方法详细说明如下：

[0029] 一、生物体病灶部位特异性释药两亲性多糖衍生物的合成

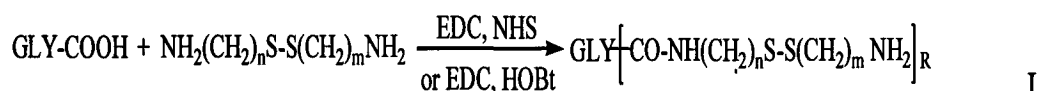
[0030] 1、多糖中间体的合成

[0031] (1) 与两端为氨基的连接臂反应

[0032] 将一定量的含羧基的多糖或含羧基的多糖衍生物溶于反应溶剂中，加入过量的两端为氨基的连接臂，以 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺 (EDC) 和羟基琥珀酰亚胺 (NHS) 或 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺 (EDC) 和 1-羟基苯并三唑 (HOBt) 为活化剂反应，反应 12h ~ 24h 后使用过量的丙酮将多糖沉淀出来，抽滤并分离纯化沉淀物，得到多糖中间体 I。

[0033] 合成路线图解如下：

[0034]

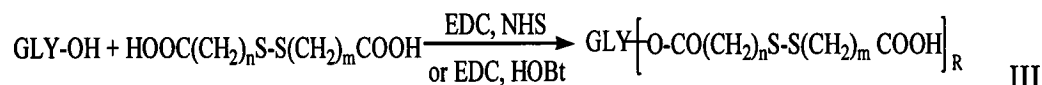


[0035] (2) 与两端为羧基的连接臂反应

[0036] 将一定量的含氨基(羟基)的多糖或含氨基(羟基)的多糖衍生物溶于反应溶剂中,加入过量的两端为羧基的连接臂,以 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺(EDC)和羟基琥珀酰亚胺(NHS)或 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺(EDC)和 1-羟基苯并三唑(HOBt)为活化剂反应,反应 12h ~ 24h 后使用过量的丙酮将多糖沉淀出来,抽滤并分离纯化沉淀物,得到多糖中间体 II、III。

[0037] 合成路线图解如下:

[0038]

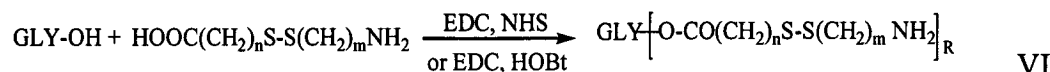
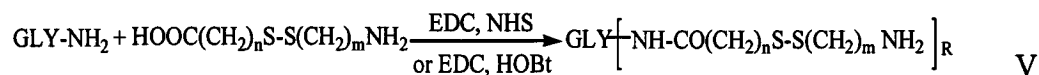
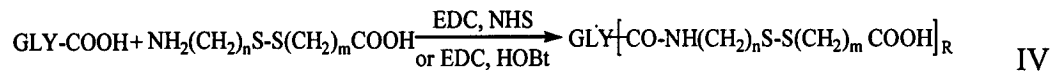


[0039] (3) 与一端为羧基另一端为氨基的连接臂反应

[0040] 将一定量的含羧基(氨基、羟基)的多糖或含其含羧基(氨基、羟基)的多糖衍生物溶于反应溶剂中,加入过量的一端为羧基另一端为氨基的连接臂,以 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺(EDC)和羟基琥珀酰亚胺(NHS)或 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺(EDC)和 1-羟基苯并三唑(HOBt)为活化剂进行反应,反应 12h ~ 24h 后使用过量的丙酮将多糖沉淀出来,抽滤并分离纯化沉淀物,得到多糖中间体 IV、V、VI。

[0041] 合成路线图解如下:

[0042]



[0043] 2、两亲性多糖衍生物的合成

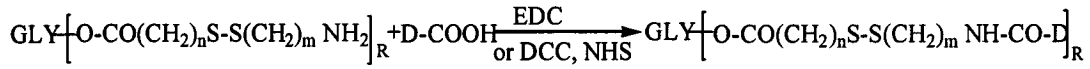
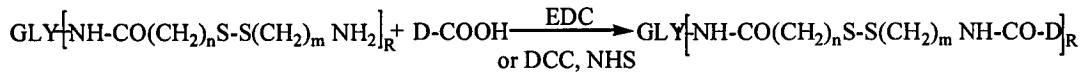
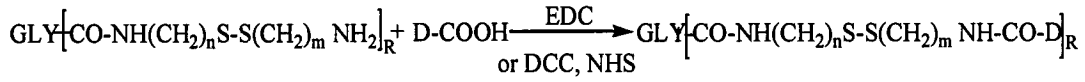
[0044] (1) 与脂肪酸的反应

[0045] 方法 1:将脂肪酸与中间体 I 或 V 或 VI 溶于反应溶剂中,以 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺(EDC)为活化剂,反应 12h ~ 24h。反应结束后使用过量的丙酮沉淀多糖,过滤并纯化沉淀物即得烷酰胺基修饰的多糖衍生物载体。

[0046] 方法 2:在二环己基碳化二亚胺(DCC)催化下制备脂肪酸 N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)活性酯,加入中间体 I 或 V 或 VI 的反应液,反应 1h ~ 24h,反应结束后使用过量的丙酮沉淀多糖,过滤并纯化沉淀物即得烷酰胺基修饰的多糖衍生物载体。

[0047] 合成路线图解如下:

[0048]



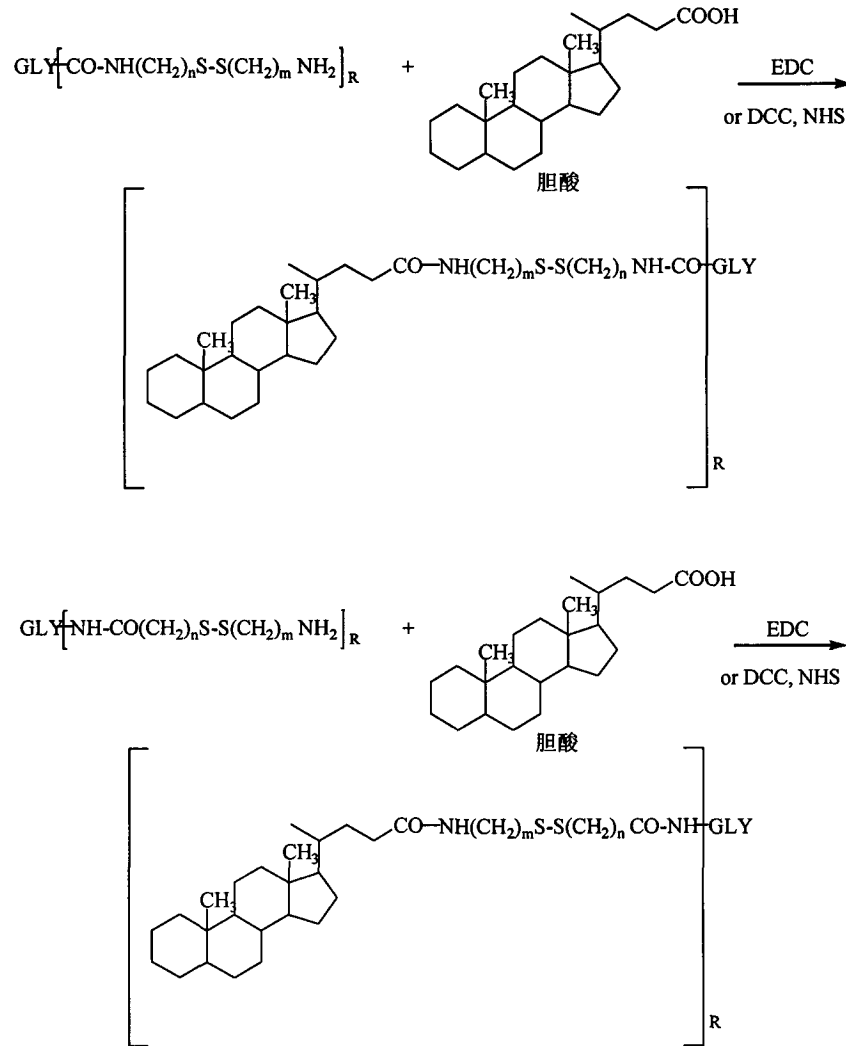
[0049] (2) 与 (脱氧) 胆酸的反应

[0050] 方法 1 : 将 (脱氧) 胆酸与中间体 I 或 V 或 VI 溶于反应溶剂中, 以 1-乙基-(3-二甲氨基丙基) 碳二亚胺 (EDC) 为活化剂, 反应 12h ~ 24h。反应结束后使用过量的丙酮沉淀多糖, 过滤并纯化沉淀物即得 (脱氧) 胆酸修饰的多糖衍生物载体。

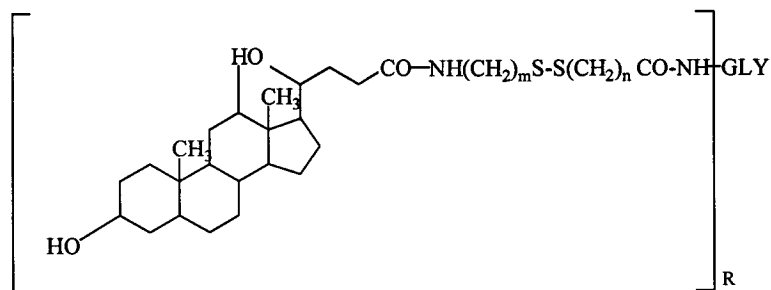
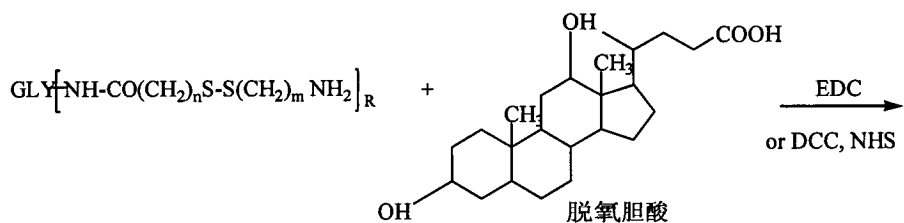
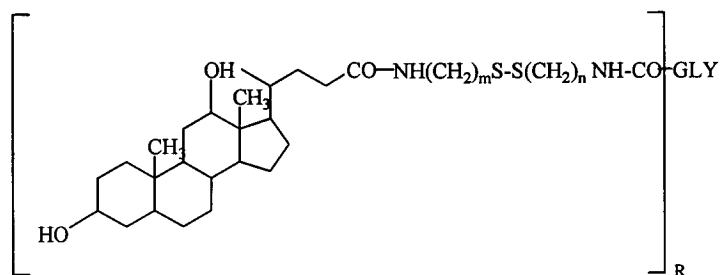
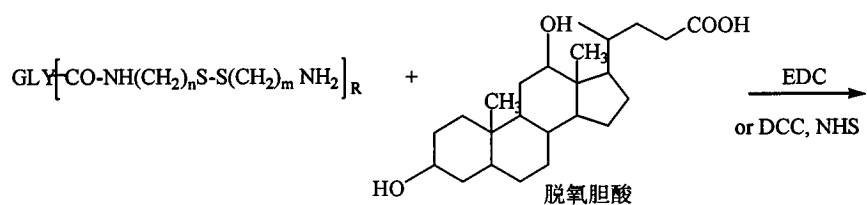
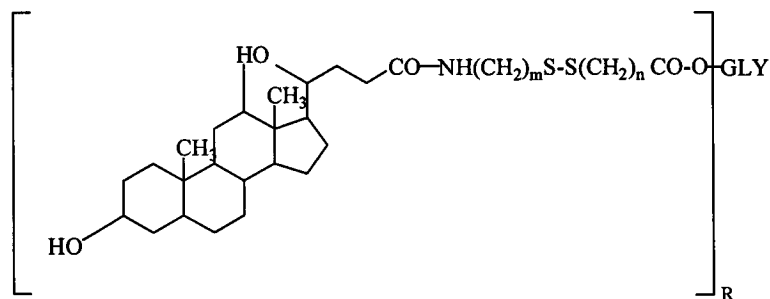
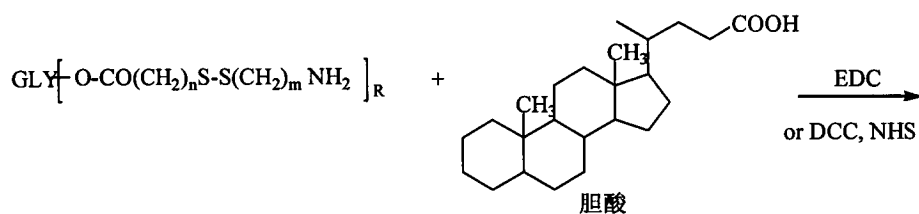
[0051] 方法 2 : 在二环己基碳化二亚胺 (DCC) 催化下制备 (脱氧) 胆酸 N-羟基琥珀酰亚胺 (NHS) 活性酯, 加入含中间体 I 或 V 或 VI 的反应液, 反应 1h ~ 24h, 反应结束后使用过量的丙酮沉淀多糖, 过滤并纯化沉淀物即得 (脱氧) 胆酸修饰的多糖衍生物载体。

[0052] 合成路线图解如下 :

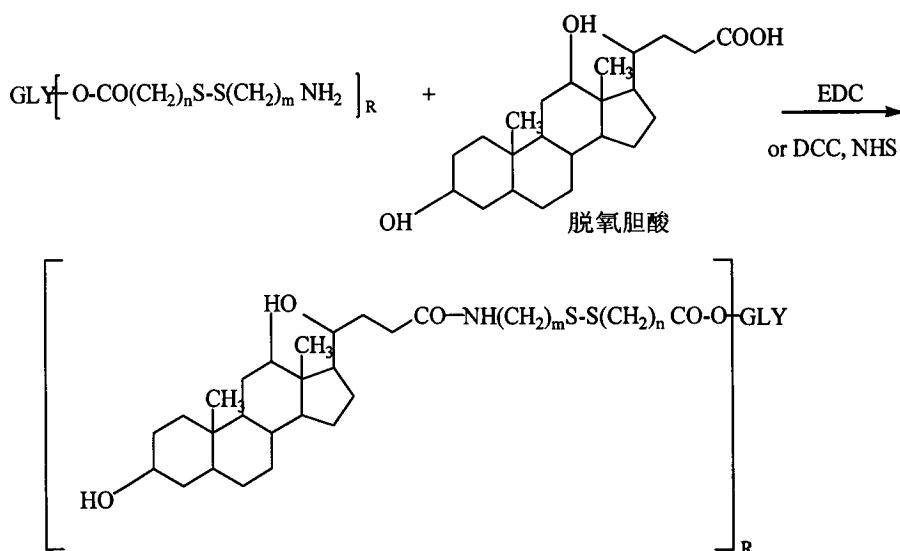
[0053]



[0054]



[0055]

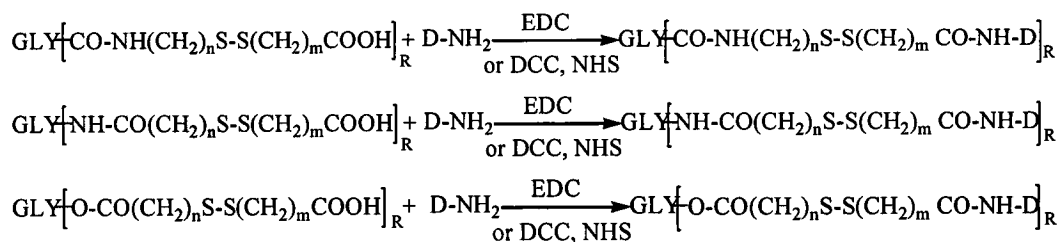


[0056] (3) 与烷基胺的反应

[0057] 方法 1: 将烷基胺与中间体 II 或 III 或 IV 溶于反应溶剂中, 以 1-乙基-(3-二甲氨基丙基) 碳二亚胺 (EDC) 为活化剂, 反应 12h ~ 24h。反应结束后使用过量的丙酮沉淀多糖, 过滤并纯化沉淀物即得烷酰胺基修饰的多糖衍生物载体。

[0058] 方法 2: 在二环己基碳化二亚胺 (DCC) 催化下制备中间体 II 或 III 或 IV 的 N-羧基琥珀酰亚胺 (NHS) 活性酯, 加入含烷基胺的反应液, 反应 1h ~ 24h, 反应结束后使用过量的丙酮沉淀多糖, 过滤并纯化沉淀物即得烷酰胺基修饰的多糖衍生物载体。

[0059]

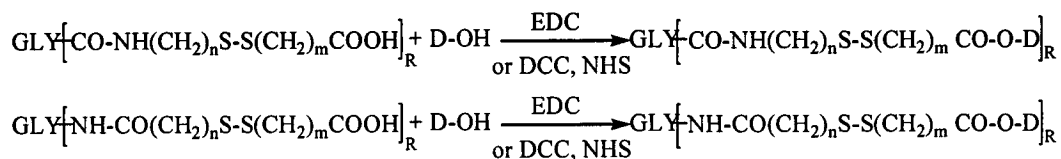


[0060] (4) 与烷基醇的反应

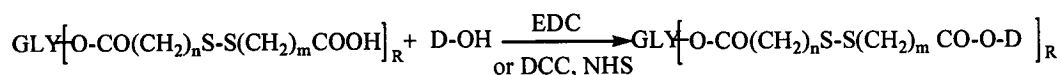
[0061] 方法 1: 将烷基醇与中间体 II 或 III 或 IV 溶于反应溶剂中, 以 1-乙基-(3-二甲氨基丙基) 碳二亚胺 (EDC) 为活化剂, 反应 12h ~ 24h。反应结束后使用过量的丙酮沉淀多糖, 过滤并纯化沉淀物即得烷酰胺基修饰的多糖衍生物载体。

[0062] 方法 2: 在二环己基碳化二亚胺 (DCC) 催化下制备中间体 II 或 III 或 IV 的 N-羧基琥珀酰亚胺 (NHS) 活性酯, 加入含烷基醇的反应液, 反应 1h ~ 24h, 反应结束后使用过量的丙酮沉淀多糖, 过滤并纯化沉淀物即得烷酰胺基修饰的多糖衍生物载体。

[0063]



[0064]



[0065] 二、两亲性多糖衍生物纳米胶束的制备方法

[0066] 按每 1ml 水中溶解 2 ~ 30mg 的两亲性多糖衍生物的比例,将制得的两亲性多糖衍生物溶于水中,经超声或高压均质处理,制备成粒径为 10 ~ 1000nm 的多糖衍生物胶束。

[0067] 三、以两亲性多糖衍生物作为载体,制备含难溶药物的药物组合物

[0068] 多糖衍生物溶于水,浓度 0.1% ~ 5% (w/w),将难溶性药物如紫杉醇用适当溶剂溶解,经超声或高压均质处理,通过透析或减压蒸馏的方法除去有机溶剂,制得粒径为 10 ~ 1000nm 的纳米胶束。所谓适当溶剂,指药学上使用的能溶解该药物的溶剂。

[0069] 四、采用多糖衍生物作为载体制备药物组合物,可对药物有效负载。

[0070] 可使用该两亲性多糖衍生物作为载体的药物有:紫杉醇、环孢素、替尼泊甙、羟基喜树碱、喜树碱、长春酰胺、依托泊甙、尼莫地平、阿霉素、多西紫杉醇,灯盏花素、银杏内酯、水飞蓟素、柔红霉素、丝裂霉素、氨甲喋呤、吡喹酮、布洛芬、酮洛芬、萘普生、硝异梨酯、二氢吡啶、尼莫地平、非诺贝特、伊曲康唑、两性霉素 B、联苯双酯、孕酮、二氢睾酮、氟哌啶醇、利哌利酮等,但并不局限于这些所列药物。

[0071] 本发明的有益效果:

[0072] 一、本发明以含二硫键的连接臂在多糖的氨基或羧基或羟基引入疏水基团,此二硫键在体循环和细胞外的内环境中稳定性较高,但易被病灶细胞内高浓度的还原性物质谷胱甘肽降解,载药胶束可在病灶细胞内特异性的快速释放药物,避免了包裹在载体中的药物未能释放、未能发挥药效即被清除的缺点,可显著提高生物利用度和药效。

[0073] 二、本发明提供的两亲性多糖衍生物具有良好的生物相容性和生物体病灶部位特异性释药性,还具有临界胶束浓度低、稳定性好、可主动靶向肿瘤的优势。

[0074] 三、本发明提供的两亲性多糖衍生物,可以在水中自发形成纳米胶束,对有机药物、水不溶性或难溶性药物和两亲性药物具有较好的负载,例如,对紫杉醇的负载高达 32.4% (w/w),对环孢素 A 的负载高达 27.5% (w/w),对伊曲康唑的负载高达 28.2% (w/w),对吡喹酮的负载高达 22.3% (w/w),对尼莫地平的负载高达 20.3% (w/w),对氟哌啶醇的负载高达 22.5% (w/w),对阿奇霉素的负载高达 18.5% (w/w)。

[0075] 四、本发明提供的两亲性多糖偶联物可用于注射、口服、外用或粘膜给药。本衍生物具有高度安全性,粒径可控制在 10 ~ 1000nm。

具体实施方式

[0076] 下面通过实施例对本发明加以进一步的说明,但下述实施例并不限制本专利的权利范围。

[0077] 实施例 1:辛酰基胱胺透明质酸的制备

[0078] 0.1mmol 透明质酸、1mmol 胱胺、0.2mmolEDC 和 0.2mmolNHS 溶于甲酰胺中,反应 24h 后使用丙酮将透明质酸中间体沉淀出来,抽滤并用蒸馏水透析 3d(MWCO = 3500),得到游离一端氨基的透明质酸中间体。

[0079] 将 0.4mmol 辛酸和 0.1mmol 中间体溶于甲酰胺,0.4mmolEDC 为活化剂,反应 24h。反应结束后使用过量的丙酮沉淀,过滤并真空干燥即得辛酰基修饰的透明质酸衍生物载体。

[0080] 实施例 2:十二酰基-3,3'-二硫代二丙酸壳聚糖的制备

[0081] 0.1mmol 壳聚糖溶于水和甲醇 (v/v = 1 : 1) 的混合溶剂、加入 1mmol 3,3'-二硫代二丙酸、0.1mmol EDC 和 0.1mmol HOBt, 反应 8h, 旋转蒸发除去甲醇, 蒸馏水透析 3d (MWCO = 3500), 得到游离一端羧基的壳聚糖中间体。

[0082] 将 0.2mmol 十二胺和 0.1mmol 壳聚糖中间体溶于水和甲醇 (v/v = 1 : 1) 的混合溶剂, 0.2mmol EDC 为活化剂, 反应 24h。旋转蒸发除去甲醇, 蒸馏水透析 3d (MWCO = 3500), 冻干即得十二酰胺基修饰的壳聚糖衍生物载体。

[0083] 实施例 3 : 脱氧胆酸 - 胱胺硫酸软骨素的制备

[0084] 0.1mmol 硫酸软骨素、2mmol 胱胺、0.4mmol EDC 和 0.4mmol NHS 溶于甲酰胺中, 反应 12h 后使用丙酮将硫酸软骨素中间体沉淀出来, 抽滤并用蒸馏水透析 3d (MWCO = 3500), 得到游离一端氨基的硫酸软骨素中间体。

[0085] 0.5mmol 脱氧胆酸、0.65mmol 二环己基碳化二亚胺 (DCC)、0.65mmol 羟基琥珀酰亚胺 (NHS) 溶解在 N,N'-二甲基甲酰胺中, 冰浴反应 30min, 然后升至室温反应 24h。反应结束后, 滤去沉淀, 用过量四氢呋喃沉淀, 过滤即得到脱氧胆酸 N-羟基琥珀酰亚胺 (NHS) 活性酯。

[0086] 将 0.4mmol 脱氧胆酸 N-羟基琥珀酰亚胺 (NHS) 活性酯和 0.1mmol 硫酸软骨素中间体溶于甲酰胺, 反应 12h。反应结束后使用过量的丙酮沉淀, 过滤并真空干燥即得脱氧胆酸硫酸软骨素衍生物载体。

[0087] 实施例 4 : 胆酸 - 氨基 -3,4-二硫代丙酸壳聚糖的制备

[0088] 0.1mmol 壳聚糖溶于水和二甲亚砜 (v/v = 1 : 1) 的混合溶剂、加入 2mmol S-氨基 -3,4-二硫代丙酸、0.4mmol EDC 和 0.4mmol NHS, 反应 24h, 蒸馏水透析 3d (MWCO = 3500), 得到游离一端氨基的壳聚糖中间体。

[0089] 将 0.4mmol 胆酸和 0.1mmol 壳聚糖中间体溶于水和甲醇 (v/v = 1 : 1) 的混合溶剂, 0.4mmol EDC 为活化剂, 反应 24h。旋转蒸发除去甲醇, 蒸馏水透析 3d (MWCO = 3500), 冻干即得胆酸修饰的壳聚糖衍生物载体。

[0090] 实施例 5 : 十六酯基 -3,3'-二硫代二丙酸透明质酸的制备

[0091] 0.1mmol 透明质酸、1mmol 3,3'-二硫代二丙酸、0.3mmol EDC 和 0.3mmol NHS 溶于甲酰胺中, 反应 24h 后使用丙酮将透明质酸中间体沉淀出来, 抽滤并用蒸馏水透析 3d (MWCO = 3500), 得到游离一端羧基的透明质酸中间体。

[0092] 将 0.3mmol 十六醇和 0.1mmol 中间体溶于甲酰胺, 0.3mmol EDC 为活化剂, 反应 24h。反应结束后使用过量的丙酮沉淀, 过滤并真空干燥即得十六酯基修饰的透明质酸衍生物载体。实施例 6 : 多糖衍生物纳米胶束的制备和表征

[0093] 1、两亲性多糖衍生物纳米粒的制备 : 多糖衍生物 30mg 溶解在 6ml 水中于室温搅拌 1h, 然后冰浴下超声或高压均质后, 0.45 μ m 滤膜过滤, 即得。

[0094] 2、粒径 : Zetasizer 3000HS instrument (Malvern Instruments, Malvern, UK) 在 633nm、25 $^{\circ}$ C、He-Ne 激光测定样品粒径, 结果见表 1。

[0095] 3、临界胶束浓度 (CMC) : 采用最为灵敏的荧光探针法测定 CMC。以芘为荧光探针, 芘是一种疏水性芳香化合物, 对环境极性极敏感。当两亲性分子的浓度低于 CMC 时, 溶液中不会形成胶束, 芘溶解在极性的水中 ; 随着两亲性分子的浓度高于 CMC, 胶束形成。芘相向胶束内核的疏水部分分配, 从而进入非极性环境, 继而在其荧光广谱中可以观察到一系列

变化,如荧光强度将增加,放射光谱中振动精细结构(the vibrational fine structure of the emission spectra)发生变化,激光光谱中(0,0)波段红移。因此,通过以芘的发射光谱中的 I_1/I_3 比(在固定的激发波长下扫描, I_1 、 I_3 分别代表发射光谱中第一和第三强峰的荧光强度比)或激发光谱中 I_{338}/I_{333} 比(激发光谱中波长分别为 338nm 和 333nm 的荧光强度比)对两亲分子的浓度作图即可获得两亲性分子的表现 CMC,结果见表 1。

[0096] 表 1 两亲性多糖衍生物纳米胶束的表征

	两亲性多糖衍生物	制备工艺	粒径 (nm)	CMC (mg/L)
	实施例 1	冰浴超声	125	28
[0097]	实施例 1	高压均质	132	31
	实施例 2	冰浴超声	138	40
	实施例 3	冰浴超声	134	35
	实施例 4	冰浴超声	147	43
[0098]	实施例 5	冰浴超声	132	38

[0099] 实施例 7:包含紫杉醇两亲性多糖衍生物自组装纳米粒组合物的制备和表征

[0100] 1、制备工艺

[0101] (1) 探头超声法:

[0102] 两亲性多糖衍生物 34mg 溶解在 6ml 水中于室温搅拌 1h。紫杉醇 20mg 溶解在乙醇(甲醇、二氯甲烷)中。然后二者溶液混合,冰浴超声 30min 后,用透析袋(MWCO 3500)在蒸馏水中室温透析 12h 或减压蒸除有机溶剂,离心 3000rpm 510min,用 0.45 μ m 滤膜过滤,冷冻干燥。

[0103] (2) 高压均质法:

[0104] 两亲性多糖衍生物 34mg 溶解在 6ml 水中于室温搅拌 1h。紫杉醇 30mg 溶解在乙醇(甲醇、二氯甲烷)中。然后二者溶液混合,高压均质,用透析袋(MWCO 3500)在蒸馏水中室温透析 12h 或减压蒸除有机溶剂,离心 3000rpm 10min,用 0.45 μ m 滤膜过滤,冷冻干燥。

[0105] (3) 溶剂挥发法:

[0106] 两亲性多糖衍生物 34mg 溶解在 6ml 水中于室温搅拌 1h。紫杉醇 30mg 溶解在氯仿中,然后两者溶液混合,继续搅拌过夜,使氯仿挥发,离心 3000rpm 10min,用 0.22 μ m 滤膜过滤,冷冻干燥。

[0107] 2、两亲性多糖衍生物自组装纳米粒中紫杉醇含量的测定

[0108] 用 HPLC(LC-2010C, Shimadzu, Japan) 方法进行含量测定。流动相为甲醇:水=75:25(v/v),色谱柱为 Lichrospher C_{18} (150 \times 4.6mm),柱子粒径为 5 μ m。流速为 1.0mL/min,检测波长为 227nm(SPD-10A, UV detector, Shimadzu, Japan),柱温为 30 $^{\circ}$ C,注射样品体积为 20 μ l。以公式(1)计算样品的载药量。

[0109]

$$\text{载药量}(\%) = \frac{\text{胶束中的药物量}}{\text{载药胶束总量}} \times 100 \quad (1)$$

[0110] 3、用 Zetasizer 3000HS instrument (Malvern Instruments, Malvern, UK) 在 633nm、25℃、He-Ne 激光测定样品粒径。

[0111] 实施例 1 ~ 5 载有紫杉醇的两亲性多糖衍生物自组装纳米粒理化性质见表 2。

[0112] 表 2 载有紫杉醇的两亲性多糖衍生物自组装纳米粒的表征

	两亲性多糖衍生物	制备工艺	载药量 (%)	粒径 (nm)
[0113]	实施例 1	冰浴超声	32.4	123
	实施例 1	高压均质	30.8	139
	实施例 1	溶剂挥发法	17.5	160
	实施例 2	冰浴超声	26.2	132
[0114]	实施例 3	冰浴超声	31.6	138
	实施例 4	冰浴超声	23.5	143
	实施例 5	冰浴超声	29.5	140

[0115] 实施例 8 :包含环孢素 A 两亲性多糖衍生物自组装纳米粒组合物的制备和表征

[0116] 1、制备工艺

[0117] 两亲性多糖衍生物 34mg 溶解在 6ml 水中于室温搅拌 1h。环孢素 A20mg 溶解在乙醇（甲醇、乙腈、氯仿）中。然后二者溶液混合，冰浴超声 30min 后，用透析袋（MWCO 3500）在蒸馏水中室温透析 12h 或减压蒸除有机溶剂，离心 3000rpm 10min，用 0.45 μm 滤膜过滤，冷冻干燥。

[0118] 2、两亲性多糖衍生物自组装纳米粒中环孢素 A 含量的测定

[0119] 用 HPLC (LC-2010C, Shimadzu, Japan) 方法进行含量测定。流动相为乙腈：甲醇：水：异丙醇 = 900 : 450 : 50 : 0.5 (v/v)，色谱柱为 Lichrospher C₁₈ (150×4.6mm)，柱子粒径为 5 μm。流速为 1.0mL/min，检测波长为 225nm (SPD-10A, UV detector, Shimadzu, Japan)，柱温为 60℃，注射样品体积为 20 μl。以公式 (1) 计算样品的载药量。

[0120] 3、用 Zetasizer 3000HS instrument (Malvern Instruments, Malvern, UK) 在 633nm、25℃、He-Ne 激光测定样品粒径。

[0121] 实施例 1 ~ 5 载有环孢素 A 的两亲性多糖衍生物自组装纳米粒的理化性质见表 3。

[0122] 表 3 载有环孢素 A 的两亲性多糖衍生物自组装纳米粒的表征

	两亲性多糖衍生物	制备工艺	载药量 (%)	粒径 (nm)
	实施例 1	冰浴超声	27.5	138
[0123]	实施例 2	冰浴超声	20.9	142
	实施例 3	冰浴超声	16.7	124
	实施例 4	冰浴超声	14.2	161
	实施例 5	冰浴超声	17.4	136

[0124] 实施例 9 :包含伊曲康唑两亲性多糖衍生物自组装纳米粒组合物的制备和表征

[0125] 1、制备工艺

[0126] 两亲性多糖衍生物 34mg 溶解在 6ml 水中于室温搅拌 1h。伊曲康唑 20mg 溶解在乙醇（甲醇、乙腈）中。然后二者溶液混合，冰浴超声 30min 后，用透析袋（MWCO 3500）在蒸馏水中室温透析 12h 或减压蒸除有机溶剂，离心 3000rpm 10min，用 0.45 μm 滤膜过滤，冷冻干燥。

[0127] 2、两亲性多糖衍生物自组装纳米粒中伊曲康唑含量的测定

[0128] 用 HPLC(LC-2010C, Shimadzu, Japan) 方法进行含量测定。流动相为甲醇：水 = 75 : 25(v/v)，色谱柱为 Lichrospher C₁₈(150×4.6mm)，柱子粒径为 5 μm。流速为 1.0mL/min，检测波长为 263nm(SPD-10A, UV detector, Shimadzu, Japan)，柱温为 25℃，注射样品体积为 20 μl。以公式 (1) 计算样品的载药量。

[0129] 3、用 Zetasizer 3000HS instrument(Malvern Instruments, Malvern, UK) 在 633nm、25℃、He-Ne 激光测定样品粒径。

[0130] 实施例 1 ~ 5 载有伊曲康唑的两亲性多糖衍生物自组装纳米粒的理化性质见表 4。

[0131] 表 4 载有伊曲康唑的两亲性多糖衍生物自组装纳米粒的表征

	两亲性多糖衍生物	制备工艺	载药量 (%)	粒径 (nm)
	实施例 1	冰浴超声	28.2	152
[0132]	实施例 2	冰浴超声	23.4	167
	实施例 3	冰浴超声	18.5	141
	实施例 4	冰浴超声	15.9	154
	实施例 5	冰浴超声	15.7	146

[0133] 实施例 10 :包含吲哚美辛两亲性多糖衍生物自组装纳米粒组合物的制备和表征

[0134] 1、制备工艺

[0135] 两亲性多糖衍生物 34mg 溶解在 6ml 水中于室温搅拌 1h。吲哚美辛 20mg 溶解在乙醇（甲醇、乙腈）中。然后二者溶液混合，冰浴超声 30min 后，用透析袋（MWCO 3500）在蒸馏水中室温透析 12h 或减压蒸除有机溶剂，离心 3000rpm 10min，用 0.45 μm 滤膜过滤，冷冻

干燥。

[0136] 2、两亲性多糖衍生物自组装纳米粒中吲哚美辛含量的测定

[0137] 用 HPLC(LC-2010C, Shimadzu, Japan) 方法进行含量测定。流动相为甲醇：水：乙酸=75：25：0.1(v/v), 色谱柱为 Lichrospher C₁₈(150×4.6mm), 柱子粒径为 5 μm。流速为 1.0mL/min, 检测波长为 260nm(SPD-10A, UV detector, Shimadzu, Japan), 柱温为 25℃, 注射样品体积为 20 μl。以公式 (1) 计算样品的载药量。

[0138] 3、用 Zetasizer 3000HS instrument(Malvern Instruments, Malvern, UK) 在 633nm、25℃、He-Ne 激光测定样品粒径。

[0139] 实施例 1~5 载有吲哚美辛的两亲性多糖衍生物自组装纳米粒的理化性质见表 5。

[0140] 表 5 载有吲哚美辛的两亲性多糖衍生物自组装纳米粒的表征

	两亲性多糖衍生物	制备工艺	载药量 (%)	粒径 (nm)
	实施例 1	冰浴超声	22.3	131
[0141]	实施例 2	冰浴超声	18.9	147
	实施例 3	冰浴超声	16.5	133
	实施例 4	冰浴超声	14.2	148
	实施例 5	冰浴超声	17.9	139

[0142] 实施例 11 :包含尼莫地平两亲性多糖衍生物自组装纳米粒组合物的制备和表征

[0143] 1、制备工艺

[0144] 两亲性多糖衍生物 34mg 溶解在 6ml 水中于室温搅拌 1h。尼莫地平 20mg 溶解在乙醇(甲醇、乙腈)中。然后二者溶液混合,冰浴超声 30min 后,用透析袋(MWCO 3500)在蒸馏水中室温透析 12h 或减压蒸除有机溶剂,离心 3000rpm 10min,用 0.45 μm 滤膜过滤,冷冻干燥。

[0145] 2、两亲性多糖衍生物自组装纳米粒中尼莫地平含量的测定

[0146] 用 HPLC(LC-2010C, Shimadzu, Japan) 方法进行含量测定。流动相为甲醇：水=65：35(v/v), 色谱柱为 Lichrospher C₁₈(150×4.6mm), 柱子粒径为 5 μm。流速为 1.0mL/min, 检测波长为 237nm(SPD-10A, UV detector, Shimadzu, Japan), 柱温为 25℃, 注射样品体积为 20 μl。以公式 (1) 计算样品的载药量。

[0147] 3、用 Zetasizer 3000HS instrument(Malvern Instruments, Malvern, UK) 在 633nm、25℃、He-Ne 激光测定样品粒径。

[0148] 实施例 1~5 载有尼莫地平的两亲性多糖衍生物自组装纳米粒的理化性质见表 6。

[0149] 表 6 载有尼莫地平的两亲性多糖衍生物自组装纳米粒的表征

	两亲性多糖衍生物	制备工艺	载药量	粒径
--	----------	------	-----	----

[0150]

		(%)	(nm)	
	实施例 1	冰浴超声	20.3	146
	实施例 2	冰浴超声	18.6	159
[0151]	实施例 3	冰浴超声	16.2	151
	实施例 4	冰浴超声	14.7	162
	实施例 5	冰浴超声	17.4	154

[0152] 实施例 12 :包含氟哌啶醇两亲性多糖衍生物自组装纳米粒组合物的制备和表征

[0153] 1、制备工艺

[0154] 两亲性多糖衍生物 34mg 溶解在 6ml 水中于室温搅拌 1h。氟哌啶醇 20mg 溶解在氯仿中。然后二者溶液混合,冰浴超声 30min 后,用透析袋 (MWCO 3500) 在蒸馏水中室温透析 12h 或减压蒸除有机溶剂,离心 3000rpm 10min,用 0.45 μ m 滤膜过滤,冷冻干燥。

[0155] 2、两亲性多糖衍生物自组装纳米粒中氟哌啶醇含量的测定

[0156] 用 HPLC(LC-2010C, Shimadzu, Japan) 方法进行含量测定。流动相为乙腈 : 甲醇 : 0.025mol/L 磷酸二氢钾 = 45 : 5 : 50(v/v), 色谱柱为 Lichrospher C₁₈(150×4.6mm), 柱子粒径为 5 μ m。流速为 1.0mL/min, 检测波长为 248nm (SPD-10A, UV detector, Shimadzu, Japan), 柱温为 25℃, 注射样品体积为 20 μ l。以公式 (1) 计算样品的载药量。

[0157] 3、用 Zetasizer 3000HS instrument (Malvern Instruments, Malvern, UK) 在 633nm、25℃、He-Ne 激光测定样品粒径。

[0158] 实施例 1 ~ 5 载氟哌啶醇的两亲性多糖衍生物自组装纳米粒的理化性质见表 7。

[0159] 表 7 载有氟哌啶醇的两亲性多糖衍生物自组装纳米粒的表征

	两亲性多糖衍生物	制备工艺	载药量 (%)	粒径 (nm)
	实施例 1	冰浴超声	22.5	138
[0160]	实施例 2	冰浴超声	20.8	151
	实施例 3	冰浴超声	18.8	132
	实施例 4	冰浴超声	16.2	146
	实施例 5	冰浴超声	17.5	139

[0161] 实施例 13 :包含阿奇霉素两亲性多糖衍生物自组装纳米粒组合物的制备和表征

[0162] 1、制备工艺

[0163] 两亲性多糖衍生物 34mg 溶解在 6ml 水中于室温搅拌 1h。阿奇霉素 20mg 溶解在氯仿中。然后二者溶液混合,冰浴超声 30min 后,用透析袋 (MWCO 3500) 在蒸馏水中室温透析 12h 或减压蒸除有机溶剂,离心 3000rpm 10min,用 0.45 μ m 滤膜过滤,冷冻干燥。

[0164] 2、两亲性多糖衍生物自组装纳米粒中阿奇霉素含量的测定

[0165] 用 HPLC(LC-2010C, Shimadzu, Japan) 方法进行含量测定。流动相为乙腈：0.1%三乙胺水溶液 = 30 : 70(v/v), 用磷酸调节 pH 至 4.0, 色谱柱为 Lichrospher C₁₈(150×4.6mm), 柱子粒径为 5 μ m, 流速为 1.2mL/min, 检测波长为 205nm(SPD-10A, UV detector, Shimadzu, Japan), 柱温为 40℃, 注射样品体积为 20 μ l。以公式 (1) 计算样品的载药量。

[0166] 3、用 Zetasizer 3000HS instrument(Malvern Instruments, Malvern, UK) 在 633nm、25℃、He-Ne 激光测定样品粒径。

[0167] 实施例 1 ~ 5 载阿奇霉素的两亲性多糖衍生物自组装纳米粒的理化性质见表 8。

[0168] 表 8 载有阿奇霉素的两亲性多糖自组装纳米粒的表征

	两亲性多糖衍生物	制备工艺	载药量 (%)	粒径 (nm)
	实施例 1	冰浴超声	18.5	143
[0169]	实施例 2	冰浴超声	15.9	157
	实施例 3	冰浴超声	13.2	135
	实施例 4	冰浴超声	12.8	151
	实施例 5	冰浴超声	14.6	130