



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 116284747 A

(43) 申请公布日 2023.06.23

(21) 申请号 202310195768.8

A61P 35/00 (2006.01)

(22) 申请日 2023.02.20

(71) 申请人 宁波大学

地址 315211 浙江省宁波市江北区毓秀路
505号宁波大学北校区

(72) 发明人 徐龙 郑芬 刘凯歌 张善铭

(51) Int. Cl.

C08G 65/334 (2006.01)

A61K 47/34 (2017.01)

A61K 47/59 (2017.01)

A61K 31/4745 (2006.01)

A61K 31/704 (2006.01)

A61K 31/65 (2006.01)

A61K 31/05 (2006.01)

A61K 31/11 (2006.01)

A61K 31/519 (2006.01)

权利要求书3页 说明书7页 附图2页

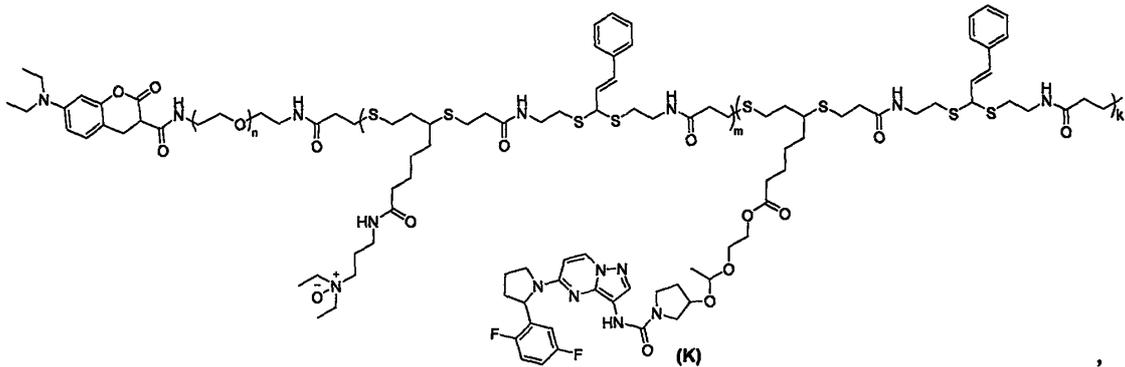
(54) 发明名称

深层递送阻断肿瘤神经支配和靶向破坏癌细胞线粒体的纳米药物

(57) 摘要

本发明涉及一种深层递送阻断肿瘤神经支配和靶向癌细胞破坏线粒体的纳米药物及其制备方法,以及该纳米药物的聚合物载体及其制备方法。该纳米药物上的叔胺氧化物可以与红细胞膜结合,搭红细胞便车进行血液传输;达到肿瘤后纳米药物从红细胞上脱附下来,再与癌细胞膜结合启动转胞吞作用进入肿瘤;肿瘤间质的酸性微环境诱使pH响应地释放拉罗替尼阻断肿瘤神经支配介导癌细胞饥饿;部分纳米药物在转胞吞过程中靶向进入线粒体,在线粒体内ROS响应地释放出喜树碱和肉桂醛,以喜树碱抑制呼吸作用和破坏线粒体DNA,与肉桂醛诱导的放大线粒体氧化应激高效地破坏线粒体;以阻断神经支配介导的饥饿治疗促进破坏线粒体的抗肿瘤效果,高效地杀死癌细胞。

1. 一种深层递送阻断肿瘤神经支配和靶向破坏癌细胞线粒体的纳米药物聚合物载体(K), 该聚合物载体(K)的结构式如下:



结构式中的n为5-2272的整数,m和k为5-1000的整数;该聚合物载体(K)的特征在于端基键合靶向线粒体的中性配体7-(二乙氨基)香豆素-3-甲酸,以7-(二乙氨基)香豆素-3-甲酸共轭的聚乙二醇为亲水性链段,疏水性链段为活性氧(ROS)响应的片段,疏水性链段的侧链上键合叔胺氧化物和pH响应的拉罗替尼共轭物。

2. 一种权利要求1所述聚合物载体的制备方法,其特征在于包括如下步骤:

(1)、①将双端氨基化的聚乙二醇进行除水干燥;往7-(二乙氨基)香豆素-3-甲酸中加入缩合剂活化羧基,将活化的溶液加入到干燥的双端氨基化的聚乙二醇中反应,处理反应液得聚合物(A),所述7-(二乙氨基)香豆素-3-甲酸与缩合剂的物质的量之比为1:1~4,所述双端氨基化的聚乙二醇与7-(二乙氨基)香豆素-3-甲酸的物质的量之比为1:1~1.5;②往(A)溶液中加入三乙胺,冰浴搅拌下加入丙烯酰氯反应,处理反应液得聚合物(B),所述(A)与三乙胺与丙烯酰氯的物质的量之比为1:1~2:1~2;

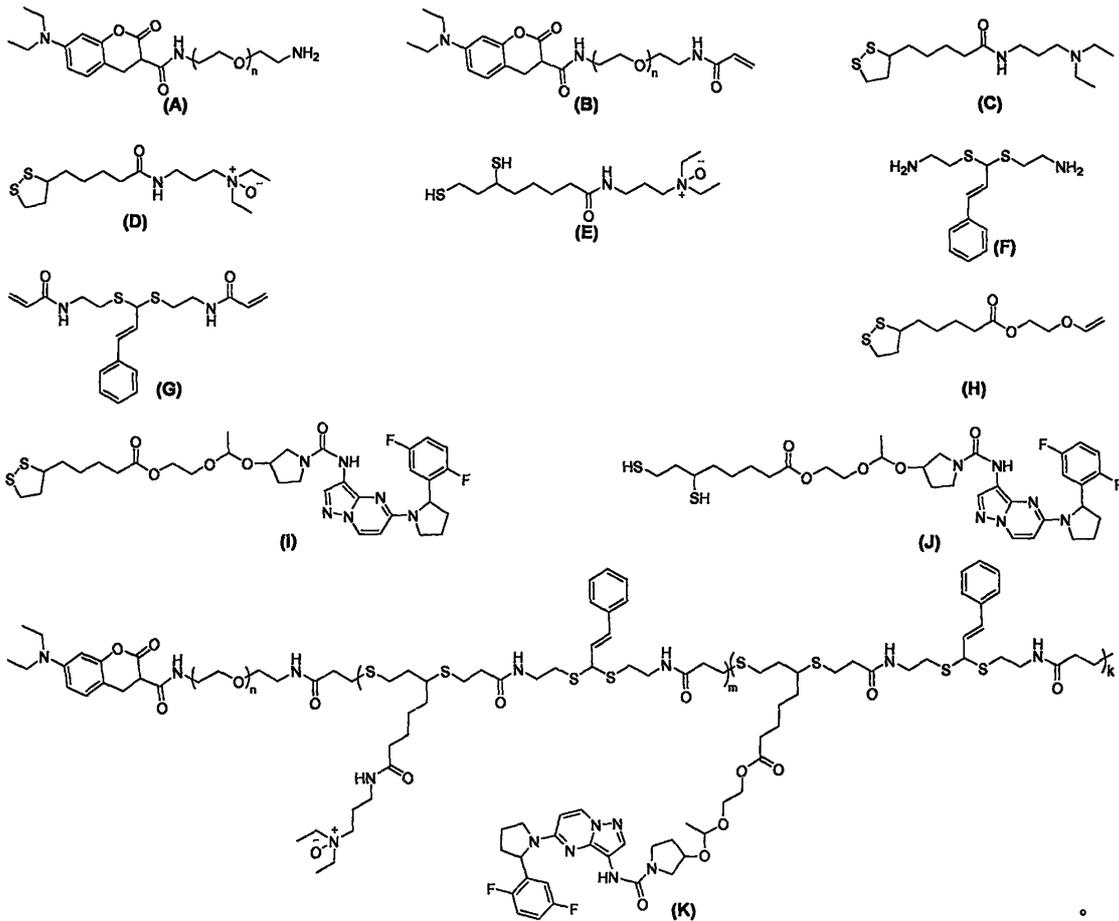
(2)、①往硫辛酸溶液中加入缩合剂活化羧基,再加入N,N'-二乙基丙二胺进行反应,处理反应液得产物(C),所述硫辛酸与缩合剂的物质的量之比为1:1~2,所述硫辛酸与N,N'-二乙基丙二胺的物质的量之比为1:1~2;②往(C)溶液中加入双氧水进行反应,处理反应液得产物(D),所述(C)与双氧水的物质的量之比为1:1~20;③往(D)溶液中加入还原剂进行反应,处理反应液得产物(E),所述(D)与还原剂的物质的量之比为1:1~20;

(3)、①往肉桂醛中加入催化量的酸进行活化,再加入半胱胺盐酸盐进行充分反应,随后再加入碱进行反应,处理反应液得产物(F),所述肉桂醛与半胱胺盐酸盐与碱的物质的量之比为1:2~4:2~4;②往(F)溶液中加入碱,再加入丙烯酰氯进行反应,处理反应液得产物(G),所述(G)与碱和丙烯酰氯的物质的量之比为1:2~4:2~4;

(4)、①往硫辛酸溶液中加入缩合剂活化羧基,再加入2-乙烯氧基乙醇进行反应,处理反应液得产物(H),所述硫辛酸与缩合剂与2-乙烯氧基乙醇的物质的量之比为1:1~2:1~2;②往(H)溶液中加入4-甲基苯磺酸吡啶和拉罗替尼进行反应,处理反应液得产物(I),所述(H)与4-甲基苯磺酸吡啶与拉罗替尼的物质的量之比为1:2~4:1~1.5;③往(I)中加入还原剂进行反应,处理反应液得产物(J),所述(I)与还原剂的物质的量之比为1:1~20;

(5)、往(B)溶液中依次加入(E)、(G)和(J)和催化剂碱在氮气保护下进行反应,处理反应液得聚合物载体(K),所述(B)与(E)与(G)与(J)与碱的物质的量之比为1:5~1000:10~2000:5~1000:15~3000;

上述步骤涉及各结构式如下



3. 根据权利要求2所述的制备方法,其特征在于步骤(1)、(2)和(4)中第一步反应的缩合剂为N,N'-羰基二咪唑(CDI)、二环己基碳二亚胺(DCC)、1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDCI)、2-(1H-苯并三氮唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基脲四氟硼酸酯(TBTU)、2-(7-氮杂苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲四氟硼酸盐(TATU)、0-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯(HATU)或苯并三氮唑-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯(HBTU)中的一种。

4. 根据权利要求2所述的制备方法,其特征在于步骤(2)和步骤(4)中第三步反应所述的还原剂为硼氢化钠、锌粉和冰乙酸、钯碳和氢气中的一种。

5. 根据权利要求2所述的制备方法,其特征在于步骤(5)中所述的催化剂碱为乙醇钠、哌啶、三乙胺、吡啶或1,8-二氮杂二环十一碳-7-烯(DBU)中的至少一种。

6. 一种具有权利要求1所述的聚合物载体,其特征在于以7-(二乙氨基)香豆素-3-甲酸共轭的聚乙二醇(B)为封端试剂,以双端巯基化的叔胺氧化物(E)、双端巯基化pH敏感的拉罗替尼共轭物(J)、双端烯基化的醛缩硫醇(G)为单体,通过麦克加成反应制备。

7. 一种权利要求1所述聚合物载体制备纳米药物的方法,其特征在于包括如下步骤:往聚合物载体(K)和喜树碱(或鲁尼明达、阿霉素、替加环素和白藜芦醇中一种药物)中加入二甲亚砜,超声溶解后,缓慢滴加到去离子水或磷酸缓冲盐溶液溶液中搅拌12h,随后转移至透析袋中透析,待透析干净后,离心,将上层液体冻干得一种深层递送阻断肿瘤神经支配和靶向破坏癌细胞线粒体的纳米药物。

8. 一种具有权利要求8所述的纳米药物,其特征在于该纳米药物同时负载三种药物分

别作用于肿瘤间质和癌细胞内线粒体,以共价键方式在聚合物载体(K)的主链上键合肉桂醛、侧链上键合pH敏感的拉罗替尼和以非共价键的方式自组装负载喜树碱(或鲁尼明达、阿霉素、替加环素和白藜芦醇中一种药物)。

9.一种具有权利要求8所述的纳米药物,其特征在于静脉给药后,该纳米药物可以通过侧链的叔胺氧化物与红细胞膜结合,搭红细胞的便车进行血液传输,提高纳米药物的血液循环时间;待纳米药物到达肿瘤部位后可以从红细胞膜上脱附下来再与癌细胞膜结合启动转胞吞作用进入肿瘤;肿瘤间质的酸性微环境诱使纳米药物pH响应地释放拉罗替尼阻断肿瘤神经支配切断癌细胞营养供给,介导癌细胞饥饿;部分纳米药物转胞吞过程中通过7-(二乙氨基)香豆素-3-甲酸靶向进入线粒体,在线粒体内ROS响应地降解释放出肉桂醛和喜树碱,以喜树碱抑制线粒体的呼吸作用和破坏线粒体的DNA结构,以肉桂醛刺激线粒体再生ROS放大线粒体氧化应激,联合高效地破坏线粒体,诱导线粒体功能紊乱;通过阻断肿瘤神经支配介导的饥饿治疗促进靶向破坏癌细胞线粒体的抗肿瘤效果,高效地杀死癌细胞。

深层递送阻断肿瘤神经支配和靶向破坏癌细胞线粒体的纳米药物

技术领域

[0001] 本发明涉及一种纳米药物及其聚合物载体,尤其涉及一种深层递送阻断肿瘤神经支配和靶向破坏癌细胞线粒体的纳米药物,本发明还涉及该纳米药物及该纳米药物聚合物载体的制备方法。

背景技术

[0002] 化疗是临床上多种癌症最有效的治疗方法,不幸地是化疗药物具有严重的毒副作用。癌症种类多,发病率和死亡率高,迫切需要开发新的高效抗肿瘤药物。构建聚合物载体,负载化疗药物制备纳米药物,利用纳米药物的形式来传输化疗药物是提高化疗药物抗肿瘤效果的有效途径。近来研究表明,体内实施的纳米药物肿瘤富集少和肿瘤渗透性能差是制约纳米药物抗肿瘤效果的关键因素(Nature Reviews Materials,2016,1,16014.)。如何提高纳米药物的肿瘤富集和肿瘤渗透性能是亟待解决的问题。提高纳米药物血液传输稳定性和血液循环时间,赋予纳米药物主动识别进入肿瘤的性能是提高纳米药物肿瘤富集的有效途径。富集到肿瘤的纳米药物只有能够递送到肿瘤内部才能彻底消灭肿瘤和阻止肿瘤复发,如何提高纳米药物的肿瘤渗透性能是需要进一步解决的问题。

[0003] 转胞吞递送是一种主动跨细胞的药物递送方式,通过阳离子介导的电荷吸附或肿瘤渗透肽启动,经小窝蛋白介导的内吞作用进入癌细胞,再由小窝蛋白介导的外泌行为排出癌细胞,可以实现跨细胞传输和在肿瘤内的深层递送(Nature Nanotechnology,2019,14,799-809.)。近来研究发现两性离子结构的聚叔胺氧化物具有与细胞膜可逆结合的性能,在纳米药物表面修饰聚叔胺氧化物可以使纳米药物与红细胞膜结合,进而搭红细胞的便车进行血液传输,实现长血液循环时间,到达肿瘤部位后纳米药物可以从红细胞上脱附下来,继而粘附在癌细胞膜上诱导快速地转胞吞作用进入肿瘤,实现肿瘤富集和深层递送(Biomaterials,2021,277,121128.)。

[0004] 精确递送化疗药物到药物起作用的亚细胞靶点可以进一步提高纳米药物的抗肿瘤效果。线粒体是重要的亚细胞器,是细胞的能量工厂和细胞内活性氧(ROS)的主要产生位点,在细胞分化、信号传导、新陈代谢、凋亡控制、多药耐药性发展和癌细胞转移中起着非常重要的作用(Journal of Nanobiotechnology,2021,19(1),152)。因此,构建纳米药物靶向破坏癌细胞的线粒体,可以有效地杀死癌细胞。然而线粒体致密的双膜结构和高的膜负电位会阻止癌细胞内化疗药物和大分子的进入。传统阳离子型带正电荷的配体,虽然可以靶向进入线粒体,但是血液循环时间短、肿瘤富集差。幸运地是,近来研究发现中性荧光团7-(二乙氨基)香豆素-3-甲酸具有优秀的线粒体靶向和定位能力(European Journal of Medicinal Chemistry,2019,170,45-54.)。

[0005] 然而神经细胞和癌细胞的相互作用促进肿瘤的发生和发展(Nature Reviews Cancer,2020,20,143-157.) ,使单靶向癌细胞的纳米药物无法取得理想的抗肿瘤效果。癌细胞分泌神经生长因子(NGF)促进肿瘤的神经营养形成,导致大多数实体瘤处于神经支配的肿

瘤微环境(BMC Cancer,2014,14,484.)。神经细胞通过分泌神经递质传递神经信号,促进癌细胞的生长、增殖、血管化和侵袭(Biochim Biophys Acta,2011,1816,105-18.)。饥饿的癌细胞上调NGF的分泌,通过NGF与神经细胞表面的原肌球蛋白受体激酶-A(TRK-A)结合传导NGF信号,促进神经细胞生长和肿瘤神经支配,进而饥饿的癌细胞以神经细胞轴突分泌的神经递质作为营养物质实现增殖和存活(Cell,2020,183,1202-1218.)。阻断肿瘤神经支配可以切断神经细胞和癌细胞的相互联系,阻断癌细胞的营养供应。因此,构建深层递送阻断肿瘤神经支配和靶向破坏癌细胞线粒体的纳米药物,通过阻断肿瘤神经支配切断癌细胞的营养供给促进靶向破坏癌细胞线粒体的抗肿瘤效果,实现高效地肿瘤治疗。

发明内容

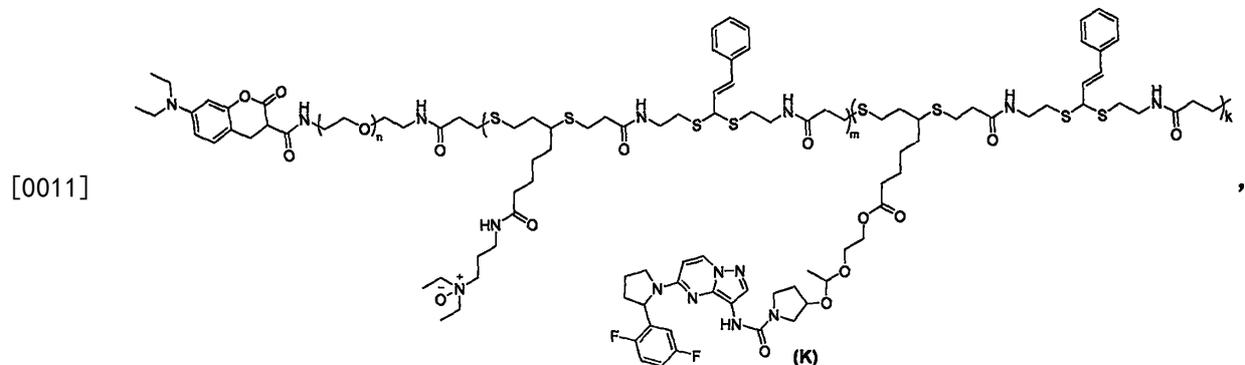
[0006] 本发明所要解决的第一个技术问题是针对上述的技术现状提供一种深层递送阻断肿瘤神经支配和靶向破坏癌细胞线粒体的纳米药物聚合物载体。

[0007] 本发明所要解决的第二个技术问题是针对上述的技术现状提供一种深层递送阻断肿瘤神经支配和靶向破坏癌细胞线粒体的纳米药物聚合物载体的制备方法。

[0008] 本发明所要解决的第三个技术问题是提供一种深层递送阻断肿瘤神经支配和靶向破坏癌细胞线粒体的纳米药物。

[0009] 本发明所要解决的第四个技术问题是提供一种深层递送阻断肿瘤神经支配和靶向破坏癌细胞线粒体的纳米药物的制备方法。

[0010] 本发明解决上述第一个技术问题所采用的技术方案为:设计一种深层递送阻断肿瘤神经支配和靶向破坏癌细胞线粒体的纳米药物聚合物载体(K),该聚合物载体(K)的结构式如下:



[0013] 结构式中的n为5-2272的整数,m和k为5-1000的整数。

[0014] 本发明解决上述第二个技术问题所采用的技术方案为:提供一种深层递送阻断肿瘤神经支配和靶向破坏癌细胞线粒体的纳米药物聚合物载体的制备方法,其特征在于包括如下合成步骤:

[0015] (1)、①将双端氨基化的聚乙二醇进行除水干燥;往7-(二乙氨基)香豆素-3-甲酸中加入缩合剂活化羧基,将活化的溶液加入到干燥的双端氨基化的聚乙二醇中反应,处理反应液得聚合物(A);②往(A)溶液中加入碱,冰浴搅拌下加入丙烯酰氯反应,处理反应液得聚合物(B);

[0016] (2)、①往硫辛酸溶液中加入缩合剂活化羧基,再加入N,N'-二乙基丙二胺进行反应,处理反应液得产物(C);②往(C)溶液中加入双氧水进行反应,处理反应液得产物(D);③

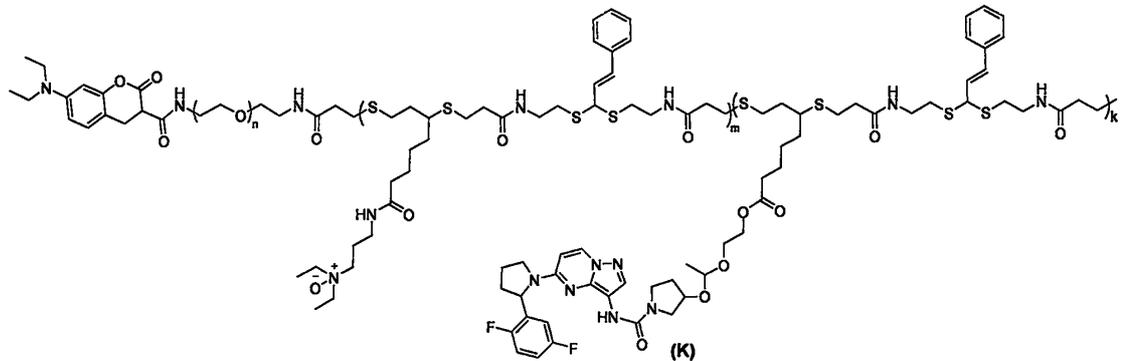
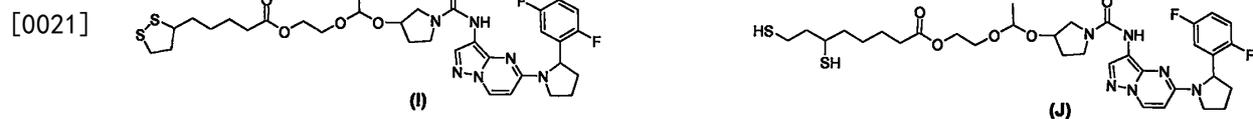
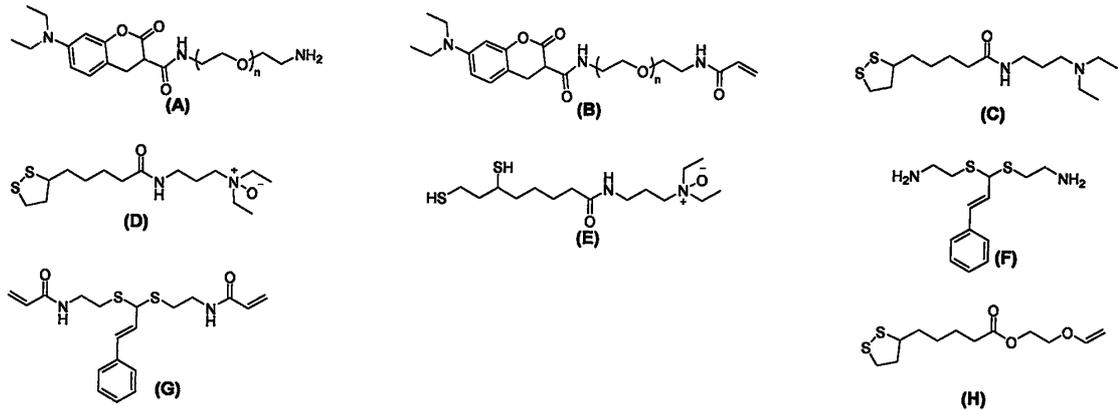
往(D)溶液中加入还原剂进行反应,处理反应液得产物(E);

[0017] (3)、①往肉桂醛中加入催化量的酸进行活化,再加入半胱胺盐酸盐进行充分反应,随后再加入碱反应,处理反应液得产物(F);②往(F)溶液中加入碱,冰浴搅拌下加入丙烯酰氯进行反应,处理反应液得产物(G);

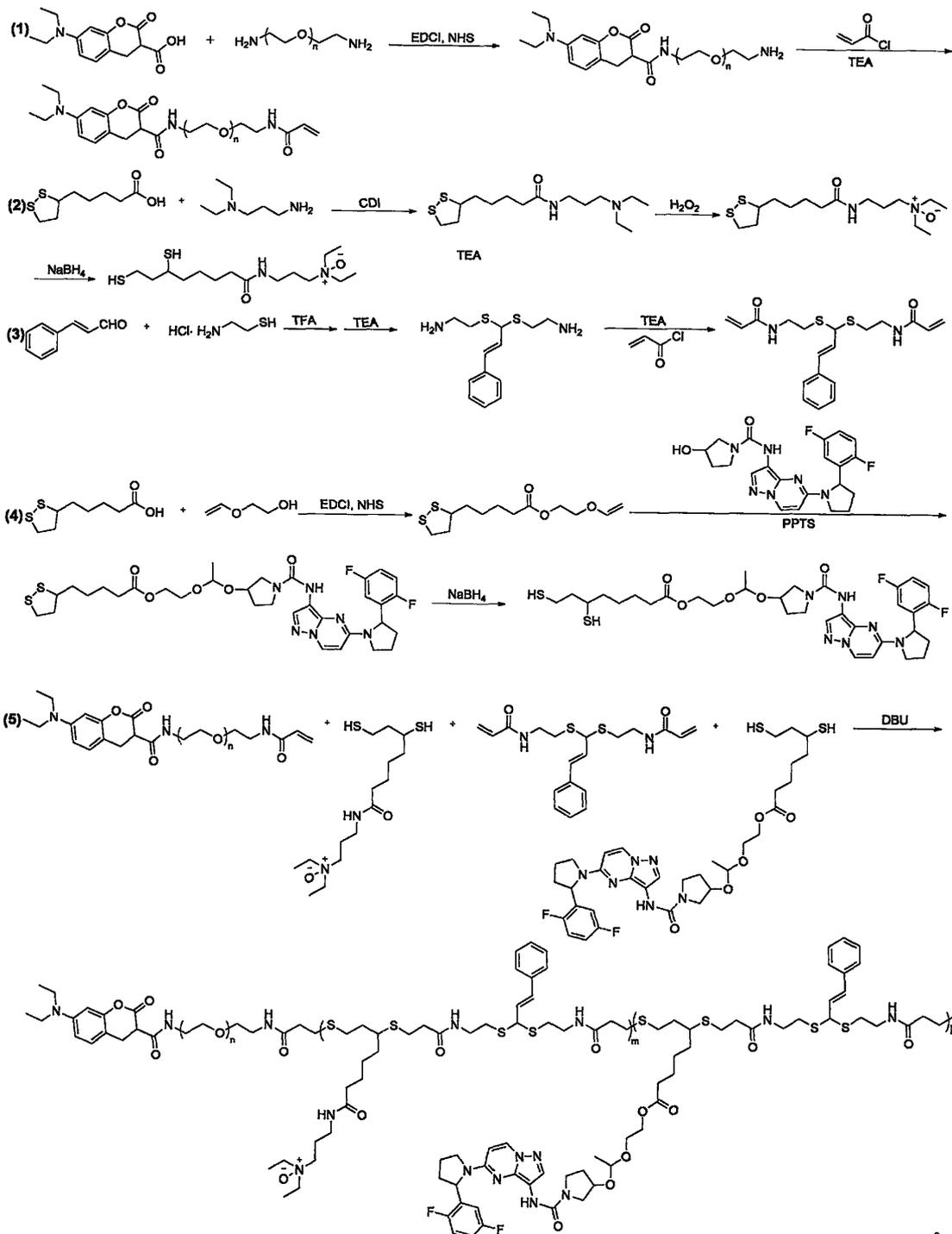
[0018] (4)、①往硫辛酸溶液中加入缩合剂活化羧基,再加入2-乙烯氧基乙醇进行反应,处理反应液得产物(H);②往(H)溶液中加入4-甲基苯磺酸吡啶和拉罗替尼进行反应,处理反应液得产物(I);往(I)中加入还原剂进行反应,处理反应液得产物(J);

[0019] (5)、往(B)溶液中依次加入(E)、(G)和(J)和催化剂碱在氮气保护下进行反应,处理反应液得聚合物载体(K);

[0020] 上述步骤涉及的产物和聚合物结构式如下:



[0022] 上述步骤涉及的反应式如下:



[0024] 作为优选,步骤(1)中第一步反应所述的溶剂为二氯甲烷、氯仿、二甲亚砜、N,N'-二甲基甲酰胺,最优选为N,N'-二甲基甲酰胺;第二步反应的溶剂为二氯甲烷或三氯甲烷的一种。

[0025] 作为优选,步骤(1)中第一步和第二步所述反应液处理方式为浓缩反应后,冰乙醚沉淀,收集固体、干燥得聚合物(A)和(B)。

[0026] 作为优选,步骤(2)中第一步反应所述溶剂为四氢呋喃、氯仿和或N,N'-二甲基甲酰胺中的一种,最优选为氯仿;第二步和第三步反应所述溶剂为甲醇或乙醇中的一种。

[0027] 作为优选,步骤(2)中第一步反应的处理方式为先用饱和碳酸氢钠溶液洗涤,再用

饱和食盐水洗涤,干燥浓缩有机相后,柱层析得产物(C);第二步反应的处理方式为旋掉有机溶剂后,加入氯仿搅拌,再用饱和食盐水洗涤,干燥有机相得产物(D);第三步反应的处理方式为加稀盐酸淬灭反应后,旋掉有机溶剂,加入氯仿搅拌后用饱和食盐水洗涤,干燥有机相得产物(E)。

[0028] 作为优选,步骤(3)中第一步和第二步反应溶剂为无水二氯甲烷或三氯甲烷;第一步中所加的酸为三氟乙酸或浓盐酸;第一步和第二步反应的碱为三乙胺、吡啶、N,N-二异丙基乙氨、氢氧化钾和氢氧化钠中的一种。

[0029] 作为优选,步骤(3)中第一步反应的处理方式为过滤收集固体,用二氯甲烷洗涤固体,真空干燥得产物(F);第二步反应的处理方式为旋干溶剂后,加入四氢呋喃搅拌,过滤除去不溶物,滤液浓缩后,柱层析得产物(G)。

[0030] 作为优选,步骤(4)第一步反应中的溶剂为四氢呋喃、三氯甲烷或N,N-二甲基甲酰胺的一种,第二步和第三步反应中的溶剂为N,N'-二甲基甲酰胺和二甲亚砜的一种;第一步反应缩合剂为N,N'-羰基二咪唑(CDI)、二环己基碳二亚胺(DCC)、1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDCI)、2-(1H-苯并三氮唑-1-基)-1,1,3,3-四甲基脲四氟硼酸酯(TBTU)、2-(7-氮杂苯并三氮唑)-N,N,N',N'-四甲基脲四氟硼酸盐(TATU)、0-(7-氮杂苯并三唑-1-基)-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯(HATU)或苯并三氮唑-N,N,N',N'-四甲基脲六氟磷酸酯(HBTU)中的一种,最优选为N,N'-羰基二咪唑(CDI);第三步反应中的还原剂为硼氢化钠、锌粉和冰乙酸、钯碳和氢气中的一种,最优选为硼氢化钠。

[0031] 作为优选,步骤(4)第一步和第二步反应的处理方式为浓缩反应液后,柱层析得产物(H)和(I);第三步反应的处理方式为加稀盐酸淬灭反应,将反应液转移至透析袋,透析干净后冻干得产物(J)。

[0032] 作为优选,步骤(5)中所用溶剂无水N,N'-二甲基甲酰胺或无水二甲亚砜的一种;所用的碱最优选为1,8-二偶氮杂双螺环[5.4.0]十一-7-烯。

[0033] 作为优选,步骤(5)的后处理方式为浓缩反应液,乙醚沉淀数次,收集固体,将固体溶于二甲亚砜后,滴加到去离子水中自组装12h,随后透析72h,每6h换一次水,透析完后,离心,上层液体冻干得聚合物载体(K)。

[0034] 本发明解决上述第三个技术问题所采用的技术方案为:提供一种深层递送阻断肿瘤神经支配和靶向破坏癌细胞线粒体的纳米药物,其特征在于以权利要求1的聚合物载体(K)通过自组装负载化疗药物喜树碱(或鲁尼明达或阿霉素或替加环素或白藜芦醇)形成纳米药物。

[0035] 本发明解决上述第四个技术问题所采用的技术方案为:提供一种深层递送阻断肿瘤神经支配和靶向破坏癌细胞线粒体纳米药物的制备方法,其特征在于包括如下步骤:往聚合物载体(K)和喜树碱(或鲁尼明达或阿霉素或替加环素或白藜芦醇)中加入二甲亚砜,超声溶解,搅拌下缓慢滴加到去离子水或磷酸缓冲盐溶液溶液中,搅拌12h后转移至透析袋中透析,待透析干净后,离心收集上层液体,将上层液体冻干得深层递送阻断肿瘤神经支配和靶向破坏癌细胞线粒体的纳米药物。

[0036] 与现有技术相比,本发明的优点在于:设计了新型的功能性聚合物载体,构建了一种以搭红细胞便车进行血液传输和转胞吞递送实现深层递送阻断肿瘤神经支配和靶向破坏癌细胞线粒体的纳米药物。侧链上的叔胺氧化物可与红细胞膜结合使纳米药物搭红细胞

便车进行血液传输,达到肿瘤部位后从红细胞上脱附下来,再与癌细胞膜结合启动转胞吞作用进入肿瘤;酸性的肿瘤微环境诱使纳米药物在肿瘤间质pH响应地释放拉罗替尼,阻断肿瘤神经支配切断癌细胞的营养供给,介导饥饿治疗;部分纳米药物在转胞吞渗透的过程中以7-(二乙氨基)香豆素-3-甲酰基靶向进入线粒体,在线粒体内ROS响应地释放出喜树碱和肉桂醛,以肉桂醛诱导的氧化应激联合喜树碱的化疗作用高效地破坏线粒体;通过阻断神经支配介导的饥饿治疗促进破坏癌细胞线粒体的抗肿瘤效果,高效地杀死癌细胞。

[0037] 该纳米药物可以搭红细胞便车进行血液传输,具有血液循环时间长、肿瘤富集和渗透性能好、靶向进入线粒体、通过阻断肿瘤神经支配促进靶向破坏癌细胞线粒体的抗肿瘤效果等优点。经实验证明这种纳米药物具有线粒体靶向能力、ROS响应释放性能、低的临界胶束浓度,在水中自组装可形成稳定的纳米粒子。

附图说明

[0038] 图1为实施例1中产物(C)的¹H NMR谱图。

[0039] 图2为实施例1中产物(F)的¹H NMR谱图。

[0040] 图3为实施例1中产物(G)的¹H NMR谱图。

具体实施方式

[0041] 以下结合附图和实施例对本发明作进一步详细描述。

[0042] 实施例1(聚合物载体(K))

[0043] (1)、①往50mL圆底烧瓶中加入25mL N,N'-二甲基甲酰胺和0.52g (2mmol) 7-(二乙氨基)香豆素-3-甲酸,搅拌溶解后再加入0.46g (2.4mmol) 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳酰二亚胺盐酸盐和0.28g (2.4mmol) N-羟基丁二酰亚胺活化4h;往100mL反应茄瓶中加入4g (2mmol) 双端氨基化的聚乙二醇,于105℃抽真空除水3h,将活化的7-(二乙氨基)香豆素-3-甲酸溶液加入,反应48h,旋干溶剂后,加入二氯甲烷溶解,饱和食盐水洗涤,干燥有机相,浓缩后在冰乙醚沉淀3次,收集固体、干燥得聚合物(A);②往50mL圆底烧瓶中加入2g (1mmol) (A)、25mL干燥的二氯甲烷和0.54mL (4mmol) 三乙胺,冰浴搅拌下滴加0.36g (4mmol) 丙烯酰氯反应48h,浓缩反应液后,用冰乙醚沉淀3次,收集固体干燥得聚合物(B)。

[0044] (2)、①将2.06g (10mmol) 硫辛酸、1.62g (10mmol) N,N'-羰基二咪唑和25mL氯仿加入到100mL反应茄瓶,搅拌至不再产生气泡,再加入1.30g (10mmol) N,N'-二乙基丙二胺,氮气保护下反应24h,浓缩反应液后,柱层析得产物(C);②将3.19g (10mmol) (C)溶于20mL甲醇后,加入20mL 30%双氧水反应24h,浓缩反应后得产物(D)③将3.35g (10mmol) (D)溶于20mL甲醇后,搅拌下加入0.57g (15mmol) 硼氢化钠反应12h,加入20mL (1mM) 稀盐酸淬灭反应后,旋蒸除去有机溶剂后,用氯仿萃取,干燥有机相,浓缩后得产物(E)。

[0045] (3)、①将1.32g (10mmol) 肉桂醛和15mL乙酸乙酯中加入到100mL反应茄瓶,加入3滴三氟乙酸搅拌活化1h,再加入2.27g (20mmol) 半胱胺盐酸盐,抽真空后冰浴反应24h,随后加入4.1mL (30mmol) 三乙胺进行反应,过滤收集固体、真空干燥得产物(F);②将3.41g (10mmol) (F)和6.5mL (48mmol) 三乙胺加入到含30mL氯仿的圆底烧瓶中,冰浴下加入2.17g (24mmol) 丙烯酰氯反应12h,旋干溶剂,往余渣中加入30mL四氢呋喃进行搅拌,过滤除去固体,滤液浓缩后,柱层析得产物(G)。

[0046] (4)、①将2.06g (10mmol) 硫辛酸、1.62g (10mmol) N,N'-羰基二咪唑和25mL氯仿加入到50mL圆底烧瓶,搅拌活化至不再产生气泡,加入0.88g (10mmol) 2-乙烯氧基乙醇,氮气保护下反应24h,浓缩反应液,柱层析得产物(H);②将2.76g (10mmol) (H)、4.28g (10mmol) 拉罗替尼、2.51g (10mmol) 4-甲基苯磺酸吡啶和30mL二甲亚砜加入到50mL圆底烧瓶中搅拌反应24h,浓缩反应液后,柱层析得产物(I);③将3.53g (5mmol) (I)和30mL甲醇加入到50mL圆底烧瓶中,再加入0.38g (10mmol) 硼氢化钠反应12h,加入20mL (1mM) 稀盐酸淬灭反应后,旋蒸除去有机溶剂后,用氯仿萃取,干燥有机相,浓缩后得产物(J)。

[0047] (5)、将0.23g (0.1mmol) (B)、1.0g (3mmol) (E)、1.13g (3mmol) (G)、2.12g (3mmol) (J)和30mL干燥的二甲亚砜加入到100mL反应茄瓶,再加入0.91g (6mmol) 1,8-二偶氮杂双螺环[5.4.0]十一-7-烯,氮气保护下反应72h,浓缩反应液后,冰乙醚沉淀3次,收集固体,溶于30mL二甲亚砜,滴加到200mL去离子水中自组装,随后转移至透析袋中透析,待溶剂透析干净后,离心,将上层液体冻干的聚合物载体(K)。

[0048] 实施例2

[0049] 将100mg聚合物载体(K)和25mg喜树碱超声溶于10mL二甲亚砜,搅拌下逐滴地滴加到70mL去离子水中,室温搅拌12h后转移至透析袋透析,待二甲亚砜透析干净后,离心,过滤收集上层液体。定容至100mL后,涡旋混匀后即制备1mg/mL的载药纳米粒子溶液。

[0050] 实施例3

[0051] 取1滴制备的载药纳米粒子溶液(1mg/mL)置于硅片上,室温静置挥干后,用扫描电子显微镜观察纳米粒子的微观形貌。

[0052] 实施例4

[0053] 将实施例2制备的载药纳米粒子溶液冻干得纳米药物。

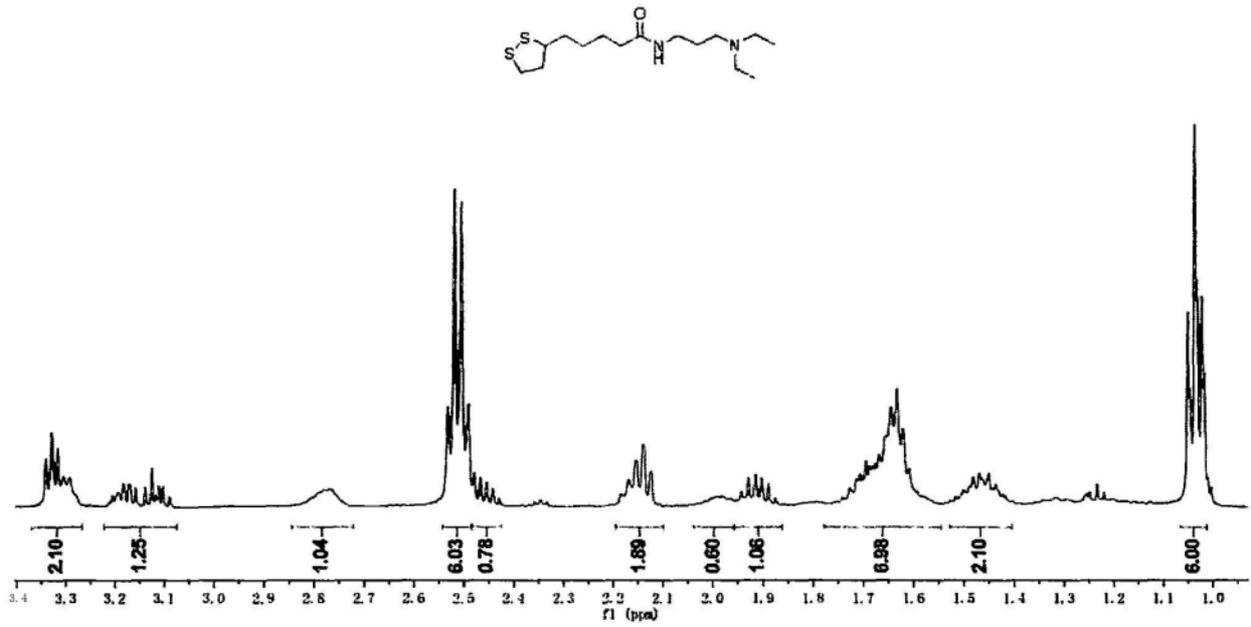


图1

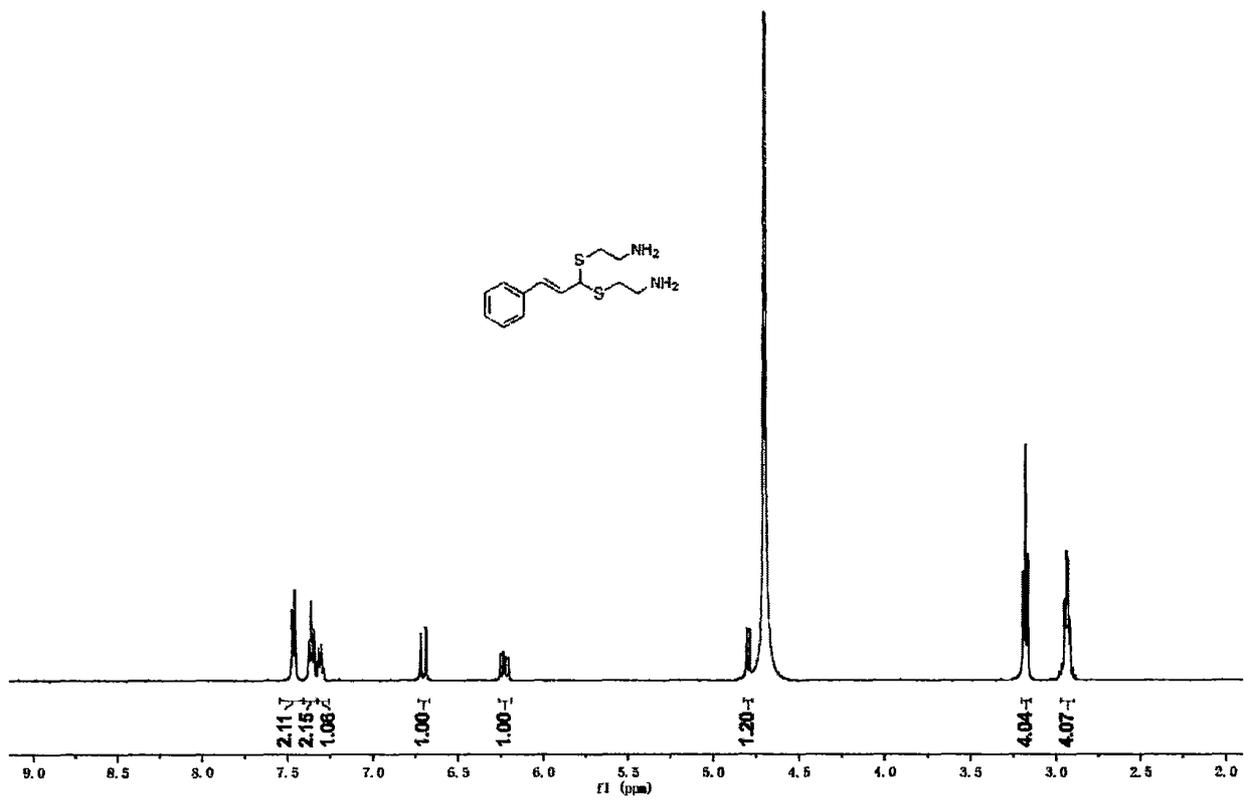


图2

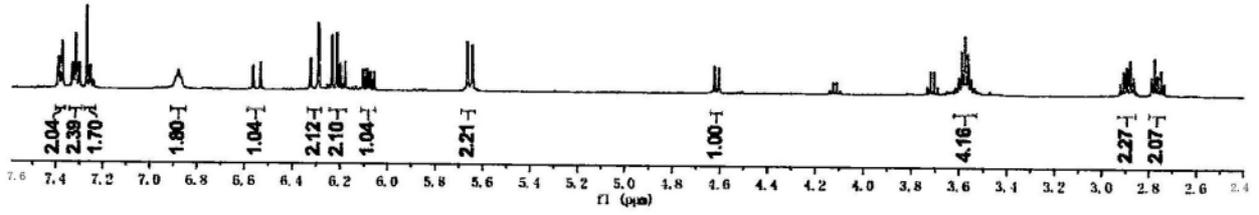
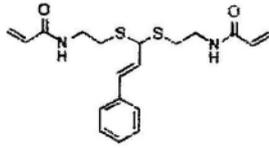


图3