



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103467729 A

(43) 申请公布日 2013. 12. 25

(21) 申请号 201310345062. 1

A61K 31/337 (2006. 01)

(22) 申请日 2013. 08. 09

A61K 33/24 (2006. 01)

(71) 申请人 四川大学

A61K 49/04 (2006. 01)

地址 610065 四川省成都市一环路南一段
24 号

A61K 49/18 (2006. 01)

A61K 49/12 (2006. 01)

A61P 35/00 (2006. 01)

(72) 发明人 艾华 吴昌强 刘林

(74) 专利代理机构 成都科海专利事务有限责任
公司 51202

代理人 邓继轩

(51) Int. Cl.

C08G 63/91 (2006. 01)

C08G 63/685 (2006. 01)

C08G 63/08 (2006. 01)

C08G 69/44 (2006. 01)

C08G 69/40 (2006. 01)

C08G 65/48 (2006. 01)

A61K 47/34 (2006. 01)

A61K 9/107 (2006. 01)

A61K 31/704 (2006. 01)

权利要求书3页 说明书13页 附图6页

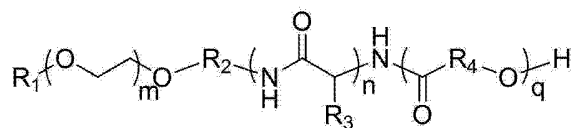
(54) 发明名称

聚乙二醇-聚氨基酸-聚酯三嵌段聚合物及其制备方法和用途

(57) 摘要

本发明公开了一种聚乙二醇-聚氨基酸-聚酯三嵌段聚合物及其制备方法和用途,其特点是用聚乙二醇-聚氨基酸-聚酯三嵌段聚合物的双亲性形成胶束作为基因、药物和造影剂的载体,进一步构建多功能纳米复合粒子。该三嵌段聚合物材料生物相容性好,形成的纳米胶束中间层可以交联,构建的纳米复合粒子结构稳定、能进一步功能化修饰。构建的多功能纳米复合粒子用于动脉粥样硬化斑块显影,肿瘤显影或药物控释。

1. 一种聚乙二醇-聚氨基酸-聚酯三嵌段聚合物,其特征在于该三嵌段聚合物的化学结构式为:



其中,

$\text{R}_1 = -\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2(\text{CH}_2)_{0 \sim 5}\text{COOH}$ 、 $-\text{CH}_2(\text{CH}_2)_{0 \sim 5}\text{OH}$ 、 $-\text{CH}_2(\text{CH}_2)_{0 \sim 5}\text{NH}_2$ 、 $-\text{CH}_2(\text{CH}_2)_{0 \sim 5}\text{SH}$ 、 $-\text{CH}_2(\text{CH}_2)_{0 \sim 5}\text{N}_3$ 、 $-\text{CH}_2(\text{CH}_2)_{0 \sim 5}\text{C} \equiv \text{CH}$;

$\text{R}_2 = -\text{CONHCH}_2\text{CH}_2$ 、 $-(\text{CH}_2)_{1 \sim 5}$ 、 $-\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{CONHCH}_2\text{CH}_2$;

$\text{R}_3 = -\text{CH}_2\text{COOH}$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$;

$\text{R}_4 = -(\text{CH}_2)_{1 \sim 5}$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)$

m 、 n 和 q 相互独立地是 $10 \sim 500$ 。

2. 按照权利要求 1 所述,聚乙二醇-聚氨基酸-聚酯三嵌段聚合物的制备方法,其特征在于该方法包括以下步骤,按重量计为:

(1) 聚乙二醇-聚氨基酸两嵌段聚合物的制备

在惰性气体保护下,称取 0.1 摩尔份干燥的一端为氨基的聚乙二醇于反应瓶中,用 5-100 份无水二氯甲烷溶解,再称取 0.5-10 摩尔份的氨基酸-N-环碳酸酐,用无水 N,N-二甲基甲酰胺 0.5-10 份溶解后一并加入上述反应瓶中,于温度 $20-50^\circ\text{C}$ 反应 12-72 h,蒸发除溶剂,用 5-30 份氯仿溶解产物,在 50-300 份冰乙醚中沉淀,收集沉淀,再溶解于 5-30 份氯仿中,在 50-300 份冰乙醚中沉淀,重复三次,获得聚乙二醇-聚氨基酸两嵌段聚合物;

其中,惰性气体为氩气、氮气或氦气中的任一种;氨基酸为 L-谷氨酸- γ -苄酯、L-天门冬氨酸- β -苄酯、O-苄基-L-酪氨酸或 N-苄氧羰基-L-赖氨酸中的任一种;

(2) 聚乙二醇-聚氨基酸-聚酯三嵌段聚合物的制备

反应瓶中称取 0.1 摩尔份的聚乙二醇-聚氨基酸两嵌段聚合物和 0.5-10 摩尔份的聚酯单体,在惰性气体保护下,加入 5-50 份的无水二氧六环、甲苯或苄醚溶解,再加入 0.0001-0.1 摩尔份的辛酸亚锡,然后将反应瓶置于温度 $105-160^\circ\text{C}$ 反应 12-72h,蒸发除溶剂,用 5-30 份氯仿溶解产物,在 50-300 份冰乙醚中沉淀,收集沉淀,再溶解于 5-30 份氯仿中,在 50-300 份冰乙醚中沉淀,重复三次,获得聚乙二醇-聚氨基酸-聚酯三嵌段聚合物;

其中,惰性气体为氩气、氮气或氦气中的任一种;聚酯单体为己内酯或丙交酯;

(3) 聚乙二醇-聚氨基酸-聚酯三嵌段聚合物去侧基保护

将 0.1 摩尔份的聚乙二醇-聚氨基酸-聚酯三嵌段聚合物加入高压反应釜中,用 100-400 份四氢呋喃溶解后加入 0.8 % 的钨碳,通入 2-10 个大气压的氢气,于温度 $30-50^\circ\text{C}$ 反应 24-72 h,过滤除钨碳,旋转蒸发除四氢呋喃,获得去侧基聚乙二醇-聚氨基酸-聚酯三嵌段聚合物。

3. 按照权利要求 1 所述,聚乙二醇-聚氨基酸-聚酯三嵌段聚合物的用途之一,其特征在于:

(1) 聚乙二醇-聚氨基酸-聚酯三嵌段聚合物纳米胶束的制备

将聚乙二醇-聚氨基酸-聚酯三嵌段聚合物溶解在有机溶剂中,配置浓度为 5-20mg/ml

的溶液,取 0.5-10 份溶液,在温度 25-30℃,超声功率 130W,振幅 65%,滴入到 5-100 份的水相溶剂中,其中水相溶剂为纯水或 pH 值为 4-12 的磷酸缓冲溶液,震荡摇匀;通过减压旋转蒸发方法除去水相溶液中残留的有机溶剂,制得聚乙二醇-聚氨基酸-聚酯三嵌段聚合物纳米胶束;

其中,有机溶剂为氯仿、四氢呋喃或乙醇中的任一种;;

(2) 聚乙二醇-聚氨基酸-聚酯三嵌段聚合物胶束装载纳米晶体

a、将浓度为 2-10 mg/ml 单一分散在有机相的纳米晶体加入试剂瓶中,通过真空干燥或使用惰性气体吹干的方式去除有机溶剂,然后称取纳米晶体 0.001-0.5 份;

b、将 0.005-1 份的三嵌段聚合物溶解在 0.5-10 份有机相溶剂中溶解后加入到上述纳米晶体中,震荡混合均匀;将上述有机溶液在温度 25-30℃,超声功率 130W,振幅 65%,加入到 5-100 份水相溶剂中,其中水相溶剂为纯水或 pH 值为 4-12 的磷酸缓冲溶液,震荡摇匀;通过减压旋转蒸发方法除去上述水相溶液中残留的有机溶剂,制得三嵌段聚合物包裹纳米晶体的纳米胶束;

其中,有机相溶剂为二氯甲烷、三氯甲烷、四氢呋喃或乙醇中的任一种;纳米晶体为 Fe_3O_4 纳米晶体、 $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ 纳米晶体、 ZnFe_2O_4 纳米晶体、 MnFe_2O_4 纳米晶体、 CoFe_2O_4 纳米晶体、FePt 纳米晶体、Au 纳米晶体、Ag 纳米晶体、CdSe 纳米晶体、CdZnS 纳米晶体、CdSe/ZnS 纳米晶体或 CdSe/CdS 纳米晶体中的任一种;

(3) 聚乙二醇-聚氨基酸-聚酯三嵌段聚合物胶束装载疏水性药物

称取疏水性药物 0.001-0.5 份和三嵌段聚合物 0.005-1 份,混合溶解到 0.5-10 份有机相溶剂中,混合均匀后,在温度 25-30℃,超声功率 130W,振幅 65%,加入到 5-100 份水相溶剂中,其中水相溶剂为纯水或 pH 值为 4-12 的磷酸缓冲溶液,震荡摇匀;通过减压旋转蒸发方法除去上述水相溶液中残留的有机溶剂,制得三嵌段聚合物包裹药物的纳米胶束;

其中,有机相溶剂为三氯甲烷、四氢呋喃或乙醇中的任一种;疏水性药物为阿霉素、紫杉醇或顺铂中的任一种。

4. 按照权利要求 3 所述聚乙二醇-聚氨基酸-聚酯三嵌段聚合物的用途之二,其特征在于:

1) 聚乙二醇-聚氨基酸-聚酯三嵌段聚合物胶束的胶束内交联

将浓度为 1-10 mg/ml 的聚乙二醇-聚氨基酸-聚酯类三嵌段聚合物胶束溶液 5 份,加入 0.005-0.05 份的 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐,室温反应 10-30min,再加入 0.001-0.01 份的交联剂搅拌过夜,透析 12-24h 制得氨基酸层交联的聚乙二醇-聚氨基酸-聚酯类三嵌段聚合物胶束;

2) 以聚乙二醇-聚氨基酸-聚酯三嵌段聚合物胶束为平台,构建多功能纳米复合粒子

(1) 三嵌段聚合物制备的胶束粒子表面通过化学共价键修饰引入小分子配体,进一步与金属离子螯合用于磁共振或核素显影;

其中,化学共价键修饰是通过羧基与氨基的缩合反应,羧基与羟基的酯化反应,炔基与叠氮的点击反应,卤代物与氨基的反应,氨基与醛基的反应;

(2) 三嵌段聚合物制备的胶束粒子表面通过化学修饰引入荧光分子用于荧光标记;

其中,化学修饰是通过羧基与氨基的缩合反应,羧基与羟基的酯化反应,炔基与叠氮的点击反应,卤代物与氨基的反应,氨基与醛基的反应;

(3) 三嵌段聚合物制备的胶束粒子表面通过化学修饰引入功能性短肽用于细胞或组织靶向；

其中,化学修饰是通过羧基与氨基的缩合反应,羧基与羟基的酯化反应,炔基与叠氮的点击反应,卤代物与氨基的反应,氨基与醛基的反应;接入的功能性短肽为:精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸或穿膜肽。

5. 按照权利要求4所述聚乙二醇-聚氨基酸-聚酯三嵌段聚合物的用途之二,其特征在于交联剂为乙二胺或1,4-丁二胺。

6. 按照权利要求4所述聚乙二醇-聚氨基酸-聚酯三嵌段聚合物的用途之二,其特征在于小分子配体为1,4,7,10-四氮杂环十二烷1,4,7,10-四乙酸、1,4,7,10-四氮杂环十二烷N,N',N''-三乙酸或二乙基三胺五乙酸中的任一种。

7. 按照权利要求4所述聚乙二醇-聚氨基酸-聚酯三嵌段聚合物的用途之二,其特征在于金属离子为:Mn、Fe、Co、Ni、Cu、Ga、Tc、Gd中的+2价或+3价离子。

聚乙二醇-聚氨基酸-聚酯三嵌段聚合物及其制备方法和用途

技术领域

[0001] 本发明涉及聚乙二醇-聚氨基酸-聚酯 (Polyethylene glycol-Polyamino acid-Polyester) 三嵌段高分子聚合物及其制备方法和用途,属于生物医药材料、药物递送以及分子影像学领域。

背景技术

[0002] 目前多功能复合纳米粒子(如光响应纳米粒子、磁响应纳米粒子和电响应纳米粒子)已经广泛应用于分子影像、药物传输、基因转染、细胞分选等生物学领域。用于构建多功能复合纳米粒子的材料有很多,如树状大分子、无机纳米颗粒、双亲性嵌段聚合物。其中双亲性嵌段聚合物运用最广泛 (Adv Drug Deliv Rev 1996;21(2):107-16),大部分为两嵌段聚合物,如聚乙二醇-聚己内酯 (J Control Release 2004;98(3):415-26)、聚乙二醇-聚丙交酯 (Langmuir 2003;19:8428-8435) 等。双亲性嵌段聚合物在高于临界胶束浓度的时候,在水溶液中通过亲疏水作用形成纳米胶束,胶束的疏水核内包裹疏水性药物、功能性无机纳米颗粒 (Science 2002;298(5599):1759-62),亲水性外壳可复合基因 (Adv Drug Deliv Rev 2002;54(2):203-22),通过共价键引入功能性小分子(如小分子磁共振造影剂、荧光分子、带有放射性标记的小分子或活性多肽) (Angew Chem Int Ed Engl 2004;43(46):6323-7)。增强纳米胶束的稳定性,降低双亲性嵌段聚合物的临界胶束浓度可提高其纳米复合粒子的药物传输、基因转染效率,有助于该类材料的生物医学应用。因此成为双亲性嵌段聚合物的研究热点。

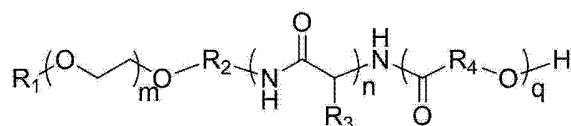
发明内容

[0003] 本发明的目的是针对现有技术的不足而提供一种聚乙二醇-聚氨基酸-聚酯三嵌段聚合物及其制备方法和用途,其特点是用此类双亲性聚合物形成胶束作为基因、药物和造影剂的载体,进一步构建多功能纳米复合粒子。该多功能纳米复合粒子应用于动脉粥样硬化斑块显影,用于肿瘤显影,药物控释。

[0004] 本发明的目的由以下技术措施实现,其中所述原料份数除特殊说明外,均为摩尔份数。

[0005] 聚乙二醇-聚氨基酸-聚酯三嵌段聚合物的化学结构式为:

[0006]



[0007] 其中,

[0008] $\text{R}_1 = -\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2(\text{CH}_2)_{0 \sim 5}\text{COOH}$ 、 $-\text{CH}_2(\text{CH}_2)_{0 \sim 5}\text{OH}$ 、 $-\text{CH}_2(\text{CH}_2)_{0 \sim 5}\text{NH}_2$ 、 $-\text{CH}_2(\text{CH}_2)_{0 \sim 5}\text{SH}$ 、 $-\text{CH}_2(\text{CH}_2)_{0 \sim 5}\text{N}_3$ 、 $-\text{CH}_2(\text{CH}_2)_{0 \sim 5}\text{C} \equiv \text{CH}$;

[0009] $R_2 = -\text{CONHCH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-(\text{CH}_2)_{1\sim 5}$ 、 $-\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{CONHCH}_2\text{CH}_2-$;

[0010] $R_3 = -\text{CH}_2\text{COOH}$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$;

[0011] $R_4 = -(\text{CH}_2)_{1\sim 5}$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)$

[0012] m、n 和 q 相互独立地是 10 ~ 500。

[0013] 聚乙二醇-聚氨基酸-聚酯三嵌段聚合物的制备方法包括以下步骤:

[0014] (1) 聚乙二醇-聚氨基酸两嵌段聚合物的制备

[0015] 在惰性气体保护下,称取 0.1 摩尔份干燥的一端为氨基的聚乙二醇于反应瓶中,用 5-100 份无水二氯甲烷溶解,再称取 0.5-10 摩尔份的氨基酸-N-环碳酸酐,用无水 N,N-二甲基甲酰胺 0.5-10 份溶解后一并加入上述反应瓶中,于温度 20-50℃ 反应 12-72 h,蒸发除溶剂,用 5-30 份氯仿溶解产物,在 50-300 份冰乙醚中沉淀,收集沉淀,再溶解于 5-30 份氯仿中,在 50-300 份冰乙醚中沉淀,重复三次,获得聚乙二醇-聚氨基酸两嵌段聚合物;

[0016] 其中,惰性气体为氩气、氮气或氢气中的任一种;氨基酸为 L-谷氨酸-γ-苄酯、L-天门冬氨酸-β-苄酯、O-苄基-L-酪氨酸或 N-苄氧羰基-L-赖氨酸中的任一种;

[0017] (2) 聚乙二醇-聚氨基酸-聚酯三嵌段聚合物的制备

[0018] 反应瓶中称取 0.1 摩尔份的聚乙二醇-聚氨基酸两嵌段聚合物和 0.5-10 摩尔份的聚酯单体,在惰性气体保护下,加入 5-50 份的无水二氧六环、甲苯或苄醚溶解,再加入 0.0001-0.1 摩尔份的辛酸亚锡,然后将反应瓶置于温度 105-160℃ 反应 12-72h,蒸发除溶剂,用 5-30 份氯仿溶解产物,在 50-300 份冰乙醚中沉淀,收集沉淀,再溶解于 5-30 份氯仿中,在 50-300 份冰乙醚中沉淀,重复三次,获得聚乙二醇-聚氨基酸-聚酯三嵌段聚合物;

[0019] 其中,惰性气体为氩气、氮气或氢气中的任一种;聚酯单体为己内酯或丙交酯;

[0020] (3) 聚乙二醇-聚氨基酸-聚酯三嵌段聚合物去侧基保护

[0021] 将 0.1 摩尔份的聚乙二醇-聚氨基酸-聚酯三嵌段聚合物加入高压反应釜中,用 100-400 份四氢呋喃溶解后加入 0.8 % 的钨碳,通入 2-10 个大气压的氢气,于温度 30-50℃ 反应 24-72 h,过滤除钨碳,旋转蒸发除四氢呋喃,获得去侧基聚乙二醇-聚氨基酸-聚酯三嵌段聚合物。

[0022] 所述,聚乙二醇-聚氨基酸-聚酯三嵌段聚合物的用途之一

[0023] (1) 聚乙二醇-聚氨基酸-聚酯三嵌段聚合物纳米胶束的制备

[0024] 将聚乙二醇-聚氨基酸-聚酯三嵌段聚合物溶解在有机溶剂中,配置浓度为 5-20mg/ml 的溶液,取 0.5-10 份溶液,在温度 25-30℃,超声功率 130W,振幅 65%,滴入到 5-100 份的水相溶剂中,其中水相溶剂为纯水或 pH 值为 4-12 的磷酸缓冲溶液,震荡摇匀;通过减压旋转蒸发方法除去水相溶液中残留的有机溶剂,制得聚乙二醇-聚氨基酸-聚酯三嵌段聚合物纳米胶束;

[0025] 其中,有机溶剂为氯仿、四氢呋喃或乙醇中的任一种;

[0026] (2) 聚乙二醇-聚氨基酸-聚酯三嵌段聚合物胶束装载纳米晶体

[0027] a、将浓度为 2-10 mg/ml 单一分散在有机相的纳米晶体加入试剂瓶中,通过真空干燥或使用惰性气体吹干的方式去除有机溶剂,然后称取纳米晶体 0.001-0.5 份;

[0028] b、将 0.005-1 份的三嵌段聚合物溶解在 0.5-10 份有机相溶剂中溶解后加入到上述纳米晶体中,震荡混合均匀;将上述有机溶液在温度 25-30℃,超声功率 130W,振幅 65%,

加入到 5-100 份水相溶剂中,其中水相溶剂为纯水或 pH 值为 4-12 的磷酸缓冲溶液,震荡摇匀;通过减压旋转蒸发方法除去上述水相溶液中残留的有机溶剂,制得三嵌段聚合物包裹纳米晶体的纳米胶束;

[0029] 其中,有机相溶剂为二氯甲烷、三氯甲烷、四氢呋喃或乙醇中的任一种;纳米晶体为 Fe_3O_4 纳米晶体、 $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ 纳米晶体、 ZnFe_2O_4 纳米晶体、 MnFe_2O_4 纳米晶体、 CoFe_2O_4 纳米晶体、FePt 纳米晶体、Au 纳米晶体、Ag 纳米晶体、CdSe 纳米晶体、CdZnS 纳米晶体、CdSe/ZnS 纳米晶体或 CdSe/CdS 纳米晶体中的任一种;

[0030] (3) 聚乙二醇-聚氨基酸-聚酯三嵌段聚合物胶束装载疏水性药物

[0031] 称取疏水性药物 0.001-0.5 份和三嵌段聚合物 0.005-1 份,混合溶解到 0.5-10 份有机相溶剂中,混合均匀后,在温度 25-30℃,超声功率 130W,振幅 65%,加入到 5-100 份水相溶剂中,其中水相溶剂为纯水或 pH 值为 4-12 的磷酸缓冲溶液,震荡摇匀;通过减压旋转蒸发方法除去上述水相溶液中残留的有机溶剂,制得三嵌段聚合物包裹药物的纳米胶束;

[0032] 其中,有机相溶剂为三氯甲烷、四氢呋喃或乙醇中的任一种;疏水性药物为阿霉素、紫杉醇或顺铂中的任一种;

[0033] 所述聚乙二醇-聚氨基酸-聚酯三嵌段聚合物的用途之二

[0034] 1) 聚乙二醇-聚氨基酸-聚酯三嵌段聚合物胶束的胶束内交联

[0035] 将浓度为 1-10 mg/ml 的聚乙二醇-聚氨基酸-聚酯类三嵌段聚合物胶束溶液 5 份,加入 0.005-0.05 份的 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐,室温反应 10-30min,再加入 0.001-0.01 份的交联剂搅拌过夜,透析 12-24h 制得氨基酸层交联的聚乙二醇-聚氨基酸-聚酯类三嵌段聚合物胶束;

[0036] 2) 以聚乙二醇-聚氨基酸-聚酯三嵌段聚合物胶束为平台,构建多功能纳米复合粒子

[0037] (1) 三嵌段聚合物制备的胶束粒子表面通过化学共价键修饰引入小分子配体,进一步与金属离子螯合用于磁共振或核素显影;

[0038] 其中,化学共价键修饰是通过羧基与氨基的缩合反应,羧基与羟基的酯化反应,炔基与叠氮的点击反应,卤代物与氨基的反应,氨基与醛基的反应;

[0039] (2) 三嵌段聚合物制备的胶束粒子表面通过化学修饰引入荧光分子用于荧光标记;

[0040] 其中,化学修饰是通过羧基与氨基的缩合反应,羧基与羟基的酯化反应,炔基与叠氮的点击反应,卤代物与氨基的反应,氨基与醛基的反应;

[0041] (3) 三嵌段聚合物制备的胶束粒子表面通过化学修饰引入功能性短肽用于细胞或组织靶向;

[0042] 其中,化学修饰是通过羧基与氨基的缩合反应,羧基与羟基的酯化反应,炔基与叠氮的点击反应,卤代物与氨基的反应,氨基与醛基的反应;接入的功能性短肽为:精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸或穿膜肽。

[0043] 所述交联剂为乙二胺或 1,4-丁二胺。

[0044] 所述小分子配体为 1,4,7,10-四氮杂环十二烷 1,4,7,10-四乙酸、1,4,7,10-四氮杂环十二烷 N,N',N''-三乙酸或二乙基三胺五乙酸中的任一种。

[0045] 所述金属离子为:Mn、Fe、Co、Ni、Cu、Ga、Tc、Gd 中的 +2 价或 +3 价离子。

[0046] 性能测试

[0047] 1. 采用氢核磁谱对制备三嵌段聚合物过程中的中间产物及最终产物进行表征 ; 详见图 1-3 和图 6-8 所示, 根据产物分子中不同氢原子与谱图中的峰面积、位移一一对应, 结果表明得到的产物与目标产物一致。

[0048] 2. 采用扫描电镜对形成的三嵌段聚合物纳米胶束内交联进行表征 ; 详见图 4A 和图 4B 所示, 分别将交联前和交联后的胶束冻干后, 在有机溶剂中溶解, 通过扫描电镜观察, 交联前的胶束散开, 而交联后的胶束仍保持球型状态。

[0049] 3. 采用电位粒径测试仪对装载四氧化三铁的三嵌段聚合物纳米胶束进行粒径测试 ; 详见图 5 所示。

[0050] 4. 采用电位粒径测试仪对形成的三嵌段聚合物纳米胶束进行粒径和电位测试 ; 详见图 9 所示。

[0051] 本发明具有如下优点 :

[0052] 1 该三嵌段聚合物由聚氨基酸、聚酯和聚乙二醇组成, 生物相容性好。

[0053] 2 通过两步聚合反应制备了聚乙二醇 - 聚氨基酸 - 聚酯类三嵌段双亲性聚合物。

[0054] 3 该三嵌段双亲性聚合物可对纳米晶体和疏水性药物进行包裹, 实现将纳米晶体和疏水性药物从有机相转移至水相中, 转移到水相后纳米晶体原有的物理学特性不发生改变, 所制备的纳米复合粒子粒径可调。

[0055] 4 该三嵌段聚合物形成的纳米胶束中间层可交联, 构建的纳米复合粒子结构稳定、能进一步功能化修饰。

[0056] 5 该三嵌段双亲性聚合物构建的纳米复合粒子可用于复合基因, 做为基因转染载体。

[0057] 6 该三嵌段双亲性聚合物构建的纳米复合粒子表面可进行多种化学基团修饰, 引入光学、磁共振或核素等影像分子, 可用于标记细胞, 可用于体内多功能显影成像。

附图说明

[0058] 图 1 为制备端甲基醚聚乙二醇 - 聚 -L- 天冬氨酸 - 聚己内酯 ($\text{CH}_3\text{-PEG-PAsp-PCL}$) 中, 中间产物端甲基醚聚乙二醇 - 聚 -L- 天门冬氨酸 - β - 苄酯的氢核磁谱。

[0059] 图 2 为制备端甲基醚聚乙二醇 - 聚 -L- 天冬氨酸 - 聚己内酯 ($\text{CH}_3\text{-PEG-PAsp-PCL}$) 中, 中间产物端甲基醚聚乙二醇 - 聚 -L- 天冬氨酸 - β - 苄基 - 聚己内酯的氢核磁谱。

[0060] 图 3 为制备端甲基醚聚乙二醇 - 聚 -L- 天冬氨酸 - 聚己内酯 ($\text{CH}_3\text{-PEG-PAsp-PCL}$) 中, 最终产物端甲基醚聚乙二醇 - 聚 -L- 天冬氨酸 - 聚己内酯的氢核磁谱。

[0061] 图 4A 端甲基醚聚乙二醇 - 聚 -L- 天冬氨酸 - 聚己内酯 ($\text{CH}_3\text{-PEG-PAsp-PCL}$) 胶束溶解于氯仿中的扫描电镜图片。

[0062] 图 4B 端甲基醚聚乙二醇 - 聚 -L- 天冬氨酸 - 聚己内酯 ($\text{CH}_3\text{-PEG-PAsp-PCL}$) 胶束交联后再溶解于氯仿中的扫描电镜图片。

[0063] 图 5 为聚乙二醇 - 聚 -L- 天冬氨酸 - 聚己内酯包裹 Fe_3O_4 纳米晶体构建的纳米复合粒子的粒度分布 (动态光散射法)。

[0064] 图 6 为制备端氨基聚乙二醇 - 聚 -L- 天冬氨酸 - 聚己内酯 ($\text{NH}_2\text{-PEG-PAsp-PCL}$) 中, 中间产物端氮、氮二苄基聚乙二醇 - 聚 -L- 天门冬氨酸 - β - 苄酯的氢核磁谱。

[0065] 图 7 为制备端氨基聚乙二醇-聚-L-天冬氨酸-聚己内酯 ($\text{NH}_2\text{-PEG-PAsp-PCL}$) 中,中间产物端氮、氮二苄基聚乙二醇-聚-L-天门冬氨酸- β -苄酯-聚己内酯的氢核磁谱。

[0066] 图 8 为制备端氨基聚乙二醇-聚-L-天冬氨酸-聚己内酯 ($\text{NH}_2\text{-PEG-PAsp-PCL}$) 中,终产物端氨基聚乙二醇-聚-L-天门冬氨酸-聚己内酯的氢核磁谱。

[0067] 图 9 为聚乙二醇-聚-L-天冬氨酸-聚己内酯纳米胶束的粒度分布(动态光散射法)。

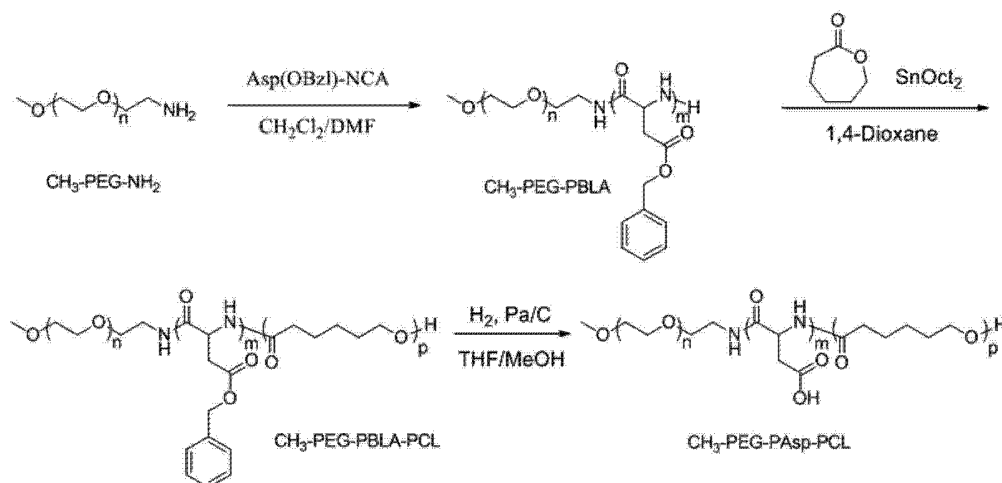
具体实施方式

[0068] 下面通过实施例对本发明进行具体的描述,有必要在此指出的是本实施例只用于对本发明进行进一步说明,不能理解为对本发明保护范围的限制,该领域的技术熟练人员可以根据上述本发明的内容做出一些非本质的改进和调整。

[0069] 实施例 1:端甲基醚聚乙二醇-聚-L-天冬氨酸-聚己内酯 ($\text{CH}_3\text{-PEG-PAsp-PCL}$) 的制备步骤及工艺参数

[0070] 化学反应式为:

[0071]



[0072] 制备步骤及工艺参数如下:

[0073] 1) 端甲基醚聚乙二醇-聚-L-天门冬氨酸- β -苄酯 ($\text{CH}_3\text{-PEG-PBLA}$) 的制备:

[0074] 聚乙二醇-聚 β -苄基-L-天冬氨酸采用以端氨基单甲基醚聚乙二醇 ($\text{CH}_3\text{-PEG-NH}_2$) 为引发剂, L-天门冬氨酸- β -苄酯的 N-羧酸酐 (OBzl-Asp-NCA) 开环聚合的方法制备。首先精确称取 0.1 mmol 干燥的端氨基甲基醚聚乙二醇 ($\text{CH}_3\text{-PEG-NH}_2$, 分子量 5000g/mol) 于反应瓶中,并氩气保护下加入 5 ml 的无水二氯甲烷溶解。再精确称取 0.5 mmol 的 L-天门冬氨酸- β -苄酯的 N-羧酸酐 (OBzl-Asp-NCA), 氩气保护下用 0.5 ml 无水 N,N-二甲基甲酰胺 (DMF) 溶解一并加入到反应瓶中。将反应瓶置于 20℃ 油浴中反应 12 小时。反应结束后,蒸发除溶剂再溶于 5 ml 氯仿中,用 50 ml 冰乙醚沉淀。收集沉淀,再溶解于 5 ml 氯仿中,用 50 ml 冰乙醚沉淀,重复三次。真空干燥沉淀,得到白色固体产物。

[0075] 2) 端甲基醚聚乙二醇-聚-L-天冬氨酸- β -苄基-聚己内酯 ($\text{CH}_3\text{-PEG-PBLA-PCL}$) 的制备:

[0076] 反应瓶中称取 0.1 mmol 聚乙二醇-聚 L-天门冬氨酸-β-苄酯(CH₃-PEG-PBLA) 和 0.5 mmol 己内酯单体,氩气保护下加入 5 ml 的无水甲苯。待全部溶解后,氩气保护下加入 0.0001 mmol 的辛酸亚锡,将反应瓶置于 105℃油浴中反应 12 小时。反应结束后,蒸发除溶剂再溶于 5 ml 氯仿中,用 50 ml 冰乙醚沉淀。收集沉淀,溶解于 5 ml 氯仿中,用 50 ml 冰乙醚沉淀,重复三次。真空干燥沉淀,得到白色固体产物。

[0077] 3)端甲基醚聚乙二醇-聚-L-天冬氨酸-聚己内酯(CH₃-PEG-PAsp-PCL)的制备:

[0078] 将 0.1mmol 聚乙二醇-聚 β-苄基-L-天冬氨酸-聚己内酯溶解在 100ml 四氢呋喃中,加入 8%的钨碳,一并加入到高压反应釜中。通入 2 个大气压的氢气,30℃下反应 24 小时。反应结束后,过滤除钨碳,旋转蒸发除四氢呋喃。

[0079] 如图 1-3 所示,每步反应产物用氢核磁表征。

[0080] 实施例 2:端甲基醚聚乙二醇-聚-L-天冬氨酸-聚己内酯(CH₃-PEG-PAsp-PCL) 胶束的制备及氨基酸层交联:

[0081] 将 3 mg 端甲基醚聚乙二醇-聚-L-天冬氨酸-聚己内酯溶解在 0.5 ml 四氢呋喃中,在温度 25℃,超声功率 130W,振幅 65%,加入到 5 g 纯水中,震荡摇匀 24 小时;通过减压旋转蒸发方法除去上述水相溶液中残留的四氢呋喃溶剂,并浓缩至 3 ml;制得端甲基醚聚乙二醇-聚-L-天冬氨酸-聚己内酯的空心胶束。其动态光散射测得的粒度分布如图 9。

[0082] 称取 3 mg 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐,加入到上述 3ml 胶束溶液中,室温反应 10 分钟。加入 0.6 mg 1,4-丁二胺搅拌过夜;制得氨基酸层交联的端甲基醚聚乙二醇-聚-L-天冬氨酸-聚己内酯(CH₃-PEG-PAsp-PCL)胶束。如图 4B 所示,交联后的胶束冻干后,在有机溶剂中溶解,仍保持球型状态。

[0083] 实施例 3:端甲基醚聚乙二醇-聚-L-天冬氨酸-聚己内酯(CH₃-PEG-PAsp-PCL) 用于包裹四氧化三铁纳米颗粒

[0084] 将浓度为 10 mg/ml,在正己烷中单分散的 Fe₃O₄ 纳米晶体加入试剂瓶中,通过真空干燥方式去除有机溶剂,然后称取 Fe₃O₄ 纳米晶体 1 mg;将 3 mg 端甲基醚聚乙二醇-聚-L-天冬氨酸-聚己内酯溶解在 0.5 ml 四氢呋喃中,与上述干燥的纳米晶体于温度 25℃震荡混合均匀;将上述有机溶液在温度 25℃,超声功率 130W,振幅 65%,加入到 5 g 纯水中,震荡摇匀 24 小时;通过减压旋转蒸发方法除去上述水相溶液中残留的四氢呋喃溶剂;制得端甲基醚聚乙二醇-聚-L-天冬氨酸-聚己内酯包裹 Fe₃O₄ 纳米晶体构建的纳米复合粒子。其动态光散射测得的粒度分布如图 5。

[0085] 实施例 4:端甲基醚聚乙二醇-聚-L-天冬氨酸-聚己内酯(CH₃-PEG-PAsp-PCL) 用于包裹疏水阿霉素

[0086] 将 3 mg 端甲基醚聚乙二醇-聚-L-天冬氨酸-聚己内酯溶解在 0.5 ml 四氢呋喃中,加入到装有 1 mg 疏水阿霉素的试剂瓶中,于温度 25℃震荡混合均匀;将上述有机溶液在温度 25℃,超声功率 130W,振幅 65%,加入到 5 g 纯水中,震荡摇匀 24 小时;通过减压旋转蒸发方法除去上述水相溶液中残留的四氢呋喃溶剂;制得端甲基醚聚乙二醇-聚-L-天冬氨酸-聚己内酯包裹 Fe₃O₄ 纳米晶体构建的纳米复合粒子。

[0087] 实施例 5:端甲基醚聚乙二醇-聚-L-天冬氨酸-聚己内酯(CH₃-PEG-PAsp-PCL) 用于包裹 CdSe/ZnS 纳米晶体

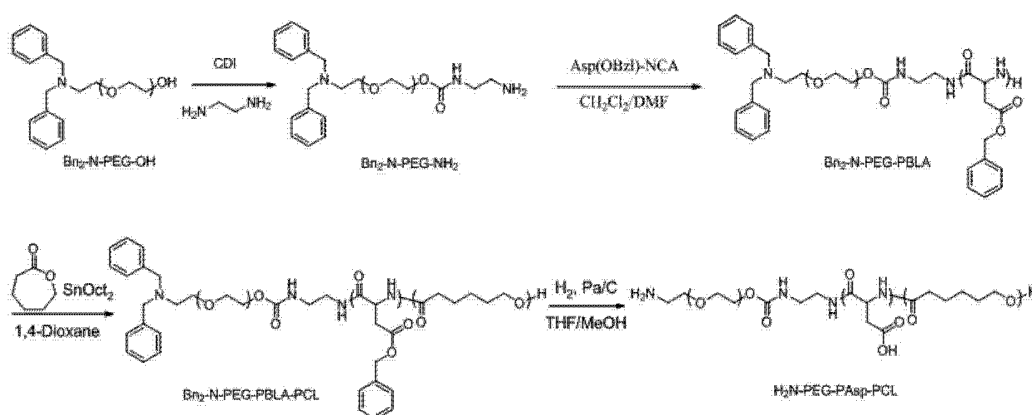
[0088] 将浓度为 4 mg/ml,在三氯甲烷中单分散的 CdSe/ZnS 纳米晶体加入试剂瓶中,

通过真空干燥方式去除有机溶剂,然后称取 CdSe/ZnS 纳米晶体 2 mg;将浓度为 6 mg/ml 端甲基醚聚乙二醇-聚-L-天冬氨酸-聚己内酯的四氢呋喃溶液 1 ml 与上述干燥的纳米晶体于温度 25℃ 震荡混合均匀;将上述有机溶液在温度 25℃,超声功率 130W,振幅 65%,加入到 10 g 纯水中,震荡摇匀 24 小时;通过减压旋转蒸发方法除去上述水相溶液中残留的四氢呋喃溶剂;制得端甲基醚聚乙二醇-聚-L-天冬氨酸-聚己内酯包裹 CdSe/ZnS 纳米晶体构建的纳米复合粒子。

[0089] 实施例 6:端氨基聚乙二醇-聚-L-天冬氨酸-聚己内酯 (NH₂-PEG-PAsp-PCL) 的制备步骤及工艺参数

[0090] 化学反应式为:

[0091]



[0092] 制备步骤及工艺参数如下:

[0093] 1) 端氮、氮二苄基聚乙二醇-聚 L-天门冬氨酸-β-苄酯 (Bn₂-N-PEG-PBLA) 的制备:

[0094] 首先精确称取 0.1mmol 干燥的端氮、氮二苄基聚乙二醇 (Bn₂-N-PEG-NH₂, 分子量 4600g/mol) 于反应瓶中,并氩气保护下加入 100ml 的无水二氯甲烷溶解。再精确称取 10 mmol 的 L-天门冬氨酸-β-苄酯的 N-羧酸酐 (OBzl-Asp-NCA), 氩气保护下用 10 ml 无水 N,N-二甲基甲酰胺 (DMF) 溶解一并加入到反应瓶中, 将反应瓶置于 50℃ 油浴中反应 72 小时, 反应结束后, 蒸发除溶剂再溶于 30 ml 氯仿中, 用 300ml 冰乙醚沉淀。收集沉淀, 溶解于 30 ml 氯仿中, 用 300ml 冰乙醚沉淀, 重复三次。真空干燥沉淀, 得到白色产物。

[0095] 2) 端氮、氮二苄基聚乙二醇-聚 L-天冬氨酸-β-苄基-聚己内酯 (Bn₂-N-PEG-PBLA-PCL) 的制备:

[0096] 反应瓶中称取 0.1mmol 端氮、氮二苄基聚乙二醇-聚-L-天门冬氨酸-β-苄酯 (Bn₂-N-PEG-PBLA) 和 10 mmol 己内酯单体, 氮气保护下加入 50ml 的无水苄醚。待全部溶解后, 氩气保护下加入 0.1mmol 的辛酸亚锡, 将反应瓶置于 160℃ 油浴中反应 72 小时。反应结束后, 蒸发除溶剂再溶于 30 ml 氯仿中, 用 300ml 冰乙醚沉淀。收集沉淀, 溶解于 30 ml 氯仿中, 用 300ml 冰乙醚沉淀, 重复三次。真空干燥沉淀, 得到白色产物。

[0097] 3) 端氨基聚乙二醇-聚-L-天冬氨酸-聚己内酯 (NH₂-PEG-PAsp-PCL) 的制备:

[0098] 将 0.1mmol 端氮、氮二苄基聚乙二醇-聚 β-苄基-L-天冬氨酸-聚己内酯溶解在 400ml 四氢呋喃中, 加入 8% 的钯碳, 一并加入到高压反应釜中。通入 10 个大气压的氢气, 50℃ 下反应 72 小时。反应结束后, 过滤除钯碳, 旋转蒸发除四氢呋喃。

[0099] 如图 6-8 所示,每步反应产物用氢核磁表征。

[0100] 实施例 7:端氨基聚乙二醇-聚-L-天冬氨酸-聚己内酯(NH₂-PEG-PAsp-PCL) 纳米胶束粒子的表面引入 1,4,7,10-四氮杂环十二烷 1,4,7,10-四乙酸,进一步与 Gd³⁺ 螯合用于磁共振显影

[0101] 将 3 mg 端氨基聚乙二醇-聚-L-天冬氨酸-聚己内酯溶解在 0.5 ml 四氢呋喃中,在温度 25℃,超声功率 130W,振幅 65%,加入到 5 g 纯水中,震荡摇匀 24 小时;通过减压旋转蒸发方法除去上述水相溶液中残留的四氢呋喃溶剂;制得端氨基聚乙二醇-聚-L-天冬氨酸-聚己内酯胶束 3ml。

[0102] 1 mg 2-(4-异硫氰基苄基)-1,4,7,10-四氮杂环十二烷 1,4,7,10-四乙酸溶解于 0.5 ml 二甲亚砜中,滴加到端氨基聚乙二醇-聚-L-天冬氨酸-聚己内酯胶束溶液中,室温下搅拌过夜。将溶液用 1 万分子量的透析袋透析 2 天,加入 1 mg GdCl₃ 搅拌过夜,将溶液 PH 调至 6.5。1 万分子量的透析袋透析 2 天,得到具有磁共振 T₁ 显影效果的纳米胶束。

[0103] 实施例 8:端氨基聚乙二醇-聚-L-天冬氨酸-聚己内酯(NH₂-PEG-PAsp-PCL) 纳米胶束粒子的表面引入 1,4,7,10-四氮杂环十二烷 1,4,7,10-四乙酸,进一步与 ⁶⁴Cu 螯合用于核素显影

[0104] 将 3 mg 端氨基聚乙二醇-聚-L-天冬氨酸-聚己内酯溶解在 0.5 ml 四氢呋喃中,在温度 25℃,超声功率 130W,振幅 65%,加入到 5 g 纯水中,震荡摇匀 24 小时;通过减压旋转蒸发方法除去上述水相溶液中残留的四氢呋喃溶剂;制得端氨基聚乙二醇-聚-L-天冬氨酸-聚己内酯胶束 3ml。

[0105] 1 mg 2-(4-异硫氰基苄基)-1,4,7,10-四氮杂环十二烷 1,4,7,10-四乙酸溶解于 0.5 ml 二甲亚砜中,滴加到端氨基聚乙二醇-聚-L-天冬氨酸-聚己内酯胶束溶液中,室温下搅拌过夜。将溶液用 1 万分子量的透析袋透析 2 天。溶液中加入 50 μ l ⁶⁴CuCl₂ 的 10 mM 盐酸溶液(2.35 mCi),调节溶液 PH 到 8。40℃孵育 20 分钟,得到 ⁶⁴Cu 标记的纳米胶束。

[0106] 实施例 9:端氨基聚乙二醇-聚-L-天冬氨酸-聚己内酯(NH₂-PEG-PAsp-PCL) 纳米胶束粒子的表面引入荧光标记

[0107] 将 3 mg 端氨基聚乙二醇-聚-L-天冬氨酸-聚己内酯溶解在 0.5 ml 四氢呋喃中,在温度 25℃,超声功率 130W,振幅 65%,加入到 5 g 纯水中,震荡摇匀 24 小时;通过减压旋转蒸发方法除去上述水相溶液中残留的四氢呋喃溶剂;制得端氨基聚乙二醇-聚-L-天冬氨酸-聚己内酯胶束 3ml。

[0108] 1 mg 异硫氰酸荧光素溶解于 0.5 ml 二甲亚砜中,滴加到端氨基聚乙二醇-聚-L-天冬氨酸-聚己内酯胶束溶液中,室温下搅拌过夜。将溶液用 1 万分子量的透析袋透析 2 天,得到荧光素标记的纳米胶束。

[0109] 实施例 10:端氨基聚乙二醇-聚-L-天冬氨酸-聚己内酯(NH₂-PEG-PAsp-PCL) 纳米胶束粒子的表面引入靶向短肽

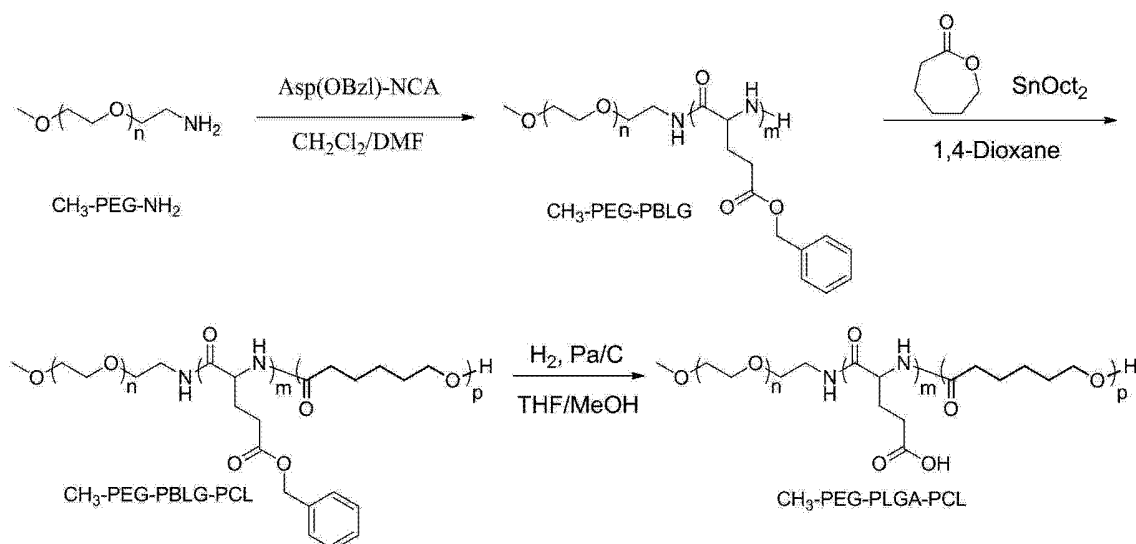
[0110] 将 3 mg 端氨基聚乙二醇-聚-L-天冬氨酸-聚己内酯溶解在 0.5 ml 四氢呋喃中,在温度 25℃,超声功率 130W,振幅 65%,加入到 5 g 纯水中,震荡摇匀 24 小时;通过减压旋转蒸发方法除去上述水相溶液中残留的四氢呋喃溶剂;制得端氨基聚乙二醇-聚-L-天冬氨酸-聚己内酯胶束 3ml。

[0111] 1 mg 羧基活化后精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸溶解于 0.5 ml N,N-二甲基甲酰胺中,滴加到端氨基聚乙二醇-聚-L-天冬氨酸-聚己内酯胶束溶液中,室温下搅拌过夜。将溶液用 1 万分子量的透析袋透析 2 天,得到表面引入精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸的纳米胶束。

[0112] 实施例 11:端甲基醚聚乙二醇-聚-L-谷氨酸-聚己内酯(CH₃-PEG-PLGA-PCL)的制备步骤及工艺参数

[0113] 化学反应式为:

[0114]



[0115] 制备步骤及工艺参数如下:

[0116] 1) 端甲基醚聚乙二醇-聚-L-谷氨酸-γ-苄酯(CH₃-PEG-PBLG)的制备:

[0117] 聚乙二醇-聚β-苄基-L-天冬氨酸采用以端氨基单甲基醚聚乙二醇(CH₃-PEG-NH₂)为引发剂,L-谷氨酸-γ-苄酯的N-羧酸酐开环聚合的方法制备。首先精确称取 0.1mmol 干燥的端氨基甲基醚聚乙二醇(CH₃-PEG-NH₂, 分子量 5000g/mol)于反应瓶中,并氩气保护下加入 20ml 的无水二氯甲烷溶解。再精确称取 3 mmol 的 L-谷氨酸-γ-苄酯的 N-羧酸酐,氩气保护下用 2ml 无水 N,N-二甲基甲酰胺(DMF)溶解一并加入到反应瓶中。将反应瓶置于 35℃油浴中反应 72 小时。反应结束后,蒸发除溶剂再溶于 30ml 氯仿中,用 300ml 冰乙醚沉淀。收集沉淀,溶解于 30ml 氯仿中,用 300ml 冰乙醚沉淀,重复三次。真空干燥沉淀,得到白色产物。

[0118] 2)端甲基醚聚乙二醇-聚-L-谷氨酸-γ-苄酯-聚己内酯(CH₃-PEG-PBLG-PCL)的制备:

[0119] 反应瓶中称取 0.1mmol 聚乙二醇-聚-L-谷氨酸-γ-苄酯(CH₃-PEG-PBLG)和 4 mmol 己内酯单体,氩气保护下加入 20ml 的无水甲苯。待全部溶解后,氩气保护下加入 0.02mmol 的辛酸亚锡,将反应瓶置于 110℃油浴中反应 48 小时。反应结束后,蒸发除溶剂再溶于 30ml 氯仿中,用 300ml 冰乙醚沉淀。收集沉淀,溶解于 30ml 氯仿中,用 300ml 冰乙醚沉淀,重复三次。真空干燥沉淀,得到白色产物。

[0120] 3) 端甲基醚聚乙二醇-聚-L-谷氨酸-聚己内酯(CH₃-PEG-PLGA-PCL)的制备:

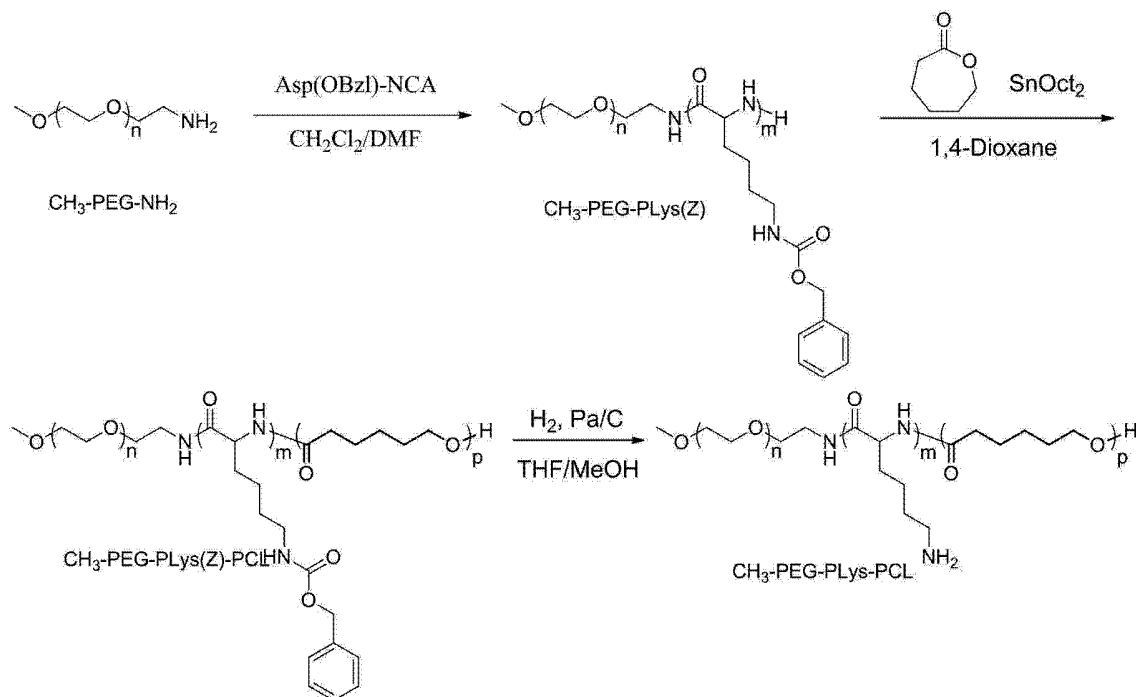
[0121] 将 0.1mmol 聚乙二醇-聚-L-谷氨酸-γ-苄酯-聚己内酯溶解在 350ml 四氢呋喃

喃中,加入 8% 的钨碳,一并加入到高压反应釜中。通入 4 个大气压的氢气,40℃下反应 72 小时。反应结束后,过滤除钨碳,旋转蒸发除四氢呋喃。

[0122] 实施例 12:端甲基醚聚乙二醇-聚-L-赖氨酸-聚己内酯(CH₃-PEG-PLys-PCL)的制备步骤及工艺参数

[0123] 化学反应式为:

[0124]



[0125] 制备步骤及工艺参数如下:

[0126] 1)端甲基醚聚乙二醇-聚(Nε-苄氧羰基-L-赖氨酸)(CH₃-PEG-PLys(Z))的制备:

[0127] 聚乙二醇-聚β-苄基-L-天冬氨酸采用以端氨基单甲基醚聚乙二醇(CH₃-PEG-NH₂)为引发剂,L-谷氨酸-γ-苄酯的N-羧酸酐开环聚合的方法制备。首先精确称取 0.1mmol 干燥的端氨基甲基醚聚乙二醇(CH₃-PEG-NH₂,分子量 5000g/mol)于反应瓶中,并氩气保护下加入 20ml 的无水二氯甲烷溶解。再精确称取 3 mmol 的 Nε-苄氧羰基赖氨酸酸酐(Lys(Z)-NCA),氩气保护下用 2ml 无水 N,N-二甲基甲酰胺(DMF)溶解一并加入到反应瓶中。将反应瓶置于 35℃油浴中反应 72 小时。反应结束后,蒸发除溶剂再溶于 30ml 氯仿中,用 300ml 冰乙醚沉淀。收集沉淀,溶解于 30ml 氯仿中,用 300ml 冰乙醚沉淀,重复三次,重复三次。

[0128] 2)端甲基醚聚乙二醇-聚(Nε-苄氧羰基-L-赖氨酸)-聚己内酯(CH₃-PEG-PLys(Z)-PCL)的制备:

[0129] 反应瓶中称取 0.1mmol 聚乙二醇-聚(Nε-苄氧羰基-L-赖氨酸)(CH₃-PEG-PLys(Z))和 2 mmol 己内酯单体,氩气保护下加入 20ml 的无水二氧六环。待全部溶解后,氩气保护下加入 0.001mol 的辛酸亚锡,将反应瓶置于 110℃油浴中反应 48 小时。反应结束后,蒸发除溶剂再溶于 30ml 氯仿中,用 300ml 冰乙醚沉淀。收集沉淀,溶解于 30ml 氯仿中,用 300ml 冰乙醚沉淀,重复三次,重复三次。真空干燥沉淀,得到白色产物。

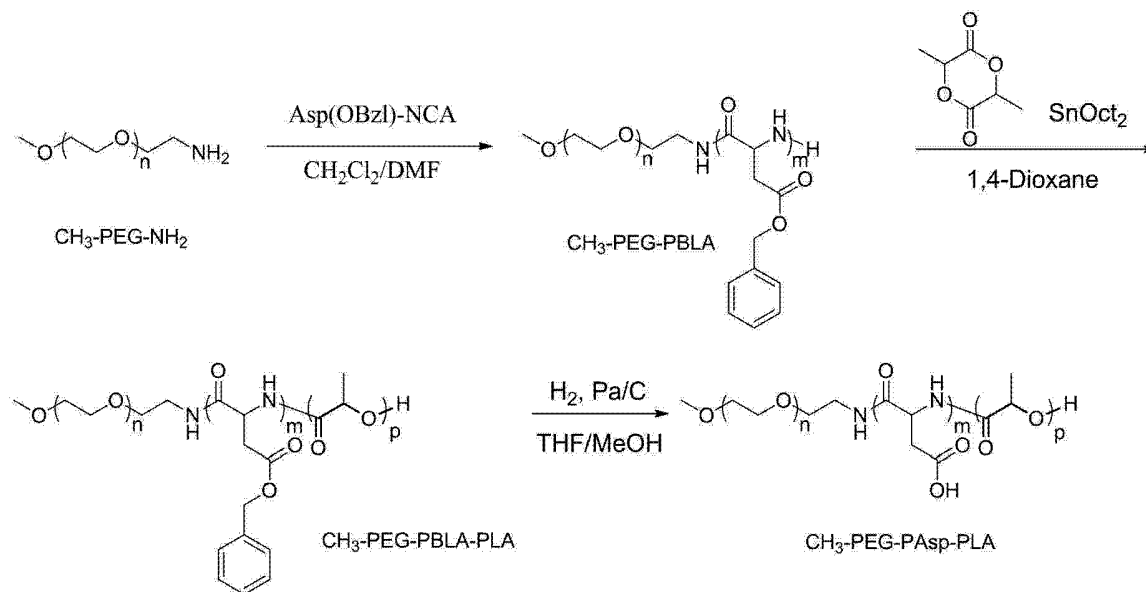
[0130] 3) 端甲基醚聚乙二醇-聚-L-赖氨酸-聚己内酯($\text{CH}_3\text{-PEG-PLys-PCL}$)的制备:

[0131] 将 0.1mmol 聚乙二醇-聚(N ϵ -苄氧羰基-L-赖氨酸)-聚己内酯溶解在 400ml 四氢呋喃中,加入 8% 的钨碳,一并加入到高压反应釜中。通入 4 个大气压的氢气,40℃ 下反应 72 小时。反应结束后,过滤除钨碳,旋转蒸发除四氢呋喃。

[0132] 实施例 13:端甲基醚聚乙二醇-聚-L-天冬氨酸-聚乳酸酯($\text{CH}_3\text{-PEG-PAsp-PLA}$)的制备步骤及工艺参数

[0133] 化学反应式为:

[0134]



[0135] 制备步骤及工艺参数如下:

[0136] 1) 端甲基醚聚乙二醇-聚 L-天门冬氨酸- β -苄酯($\text{CH}_3\text{-PEG-PBLA}$)的制备:

[0137] 聚乙二醇-聚 β -苄基-L-天冬氨酸采用以端氨基单甲基醚聚乙二醇($\text{CH}_3\text{-PEG-NH}_2$)为引发剂,L-天门冬氨酸- β -苄酯的 N-羧酸酐(OBzl-Asp-NCA)开环聚合的方法制备。首先精确称取 0.1mmol 干燥的端氨基甲基醚聚乙二醇($\text{CH}_3\text{-PEG-NH}_2$,分子量 5000g/mol)于反应瓶中,并氩气保护下加入 20ml 的无水二氯甲烷溶解。再精确称取 3 mmol 的 L-天门冬氨酸- β -苄酯的 N-羧酸酐(OBzl-Asp-NCA),氩气保护下用 2ml 无水 N,N-二甲基甲酰胺(DMF)溶解一并加入到反应瓶中。将反应瓶置于 35℃ 油浴中反应 72 小时。反应结束后,蒸发除溶剂再溶于 30ml 氯仿中,用 300ml 冰乙醚沉淀。收集沉淀,溶解于 30ml 氯仿中,用 300ml 冰乙醚沉淀,重复三次。真空干燥沉淀,得到白色产物。

[0138] 2)端甲基醚聚乙二醇-聚 L-天冬氨酸- β -苄基-聚乳酸($\text{CH}_3\text{-PEG-PBLA-PLA}$)的制备:

[0139] 反应瓶中称取 0.1mmol 聚乙二醇-聚 L-天门冬氨酸- β -苄酯($\text{CH}_3\text{-PEG-PBLA}$)和 2mmol 丙交酯单体,氩气保护下加入 20ml 的无水二氧六环。待全部溶解后,氩气保护下加入 0.01 的辛酸亚锡,将反应瓶置于 110℃ 油浴中反应 48 小时。反应结束后,蒸发除溶剂再溶于 30ml 氯仿中,用 300ml 冰乙醚沉淀。收集沉淀,溶解于 30ml 氯仿中,用 300ml 冰乙醚沉淀,重复三次。真空干燥沉淀,得到白色产物。

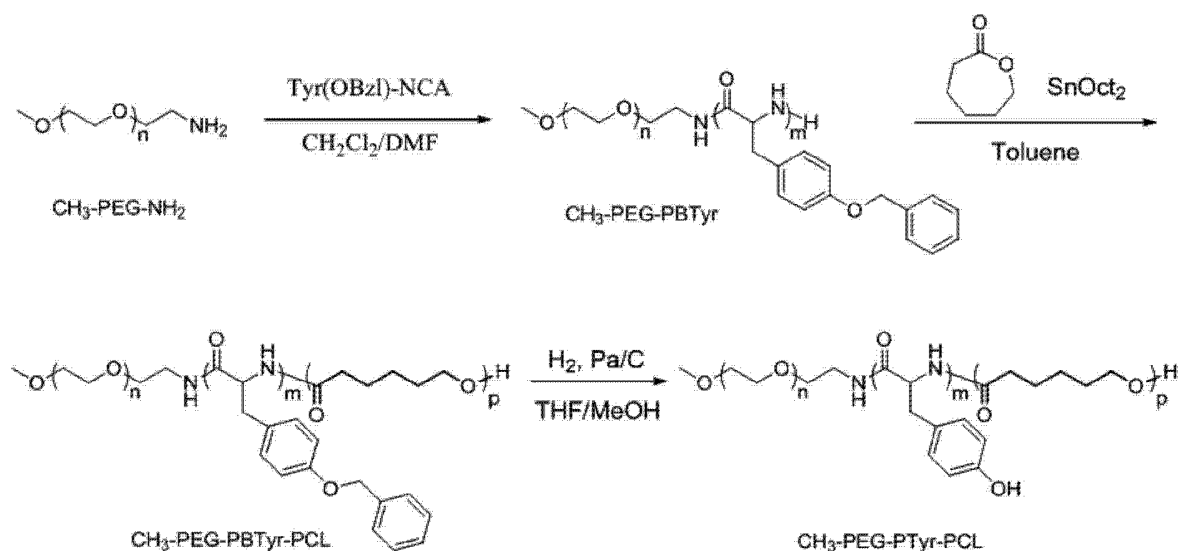
[0140] 3) 端甲基醚聚乙二醇-聚-L-天冬氨酸-聚乳酸($\text{CH}_3\text{-PEG-PAsp-PLA}$)的制备:

[0141] 将 0.1mmol 聚乙二醇-聚 β -苄基-L-天冬氨酸-聚乳酸溶解在 400ml 四氢呋喃中,加入 8% 的钨碳,一并加入到高压反应釜中。通入 4 个大气压的氢气,40℃ 下反应 72 小时。反应结束后,过滤除钨碳,旋转蒸发除四氢呋喃。

[0142] 实施例 14:端甲基醚聚乙二醇-聚-L-酪氨酸-聚己内酯(CH₃-PEG-PTyr-PCL)的制备步骤及工艺参数

[0143] 化学反应式为:

[0144]



[0145] 制备步骤及工艺参数如下:

[0146] 1) 端甲基醚聚乙二醇-聚 O-苄基-L-酪氨酸(CH₃-PEG-PBTyr)的制备:

[0147] 聚乙二醇-聚 O-苄基-L-酪氨酸采用以端氨基单甲基醚聚乙二醇(CH₃-PEG-NH₂)为引发剂,O-苄基-L-酪氨酸的 N-羧酸酐(OBzl-Tyr-NCA)开环聚合的方法制备。首先精确称取 0.1mmol 干燥的端氨基甲基醚聚乙二醇(CH₃-PEG-NH₂,分子量 5000g/mol)于反应瓶中,并氩气保护下加入 20ml 的无水二氯甲烷溶解。再精确称取 3 mmol 的 OBzl-Tyr-NCA,氩气保护下用 2ml 无水 N,N-二甲基甲酰胺(DMF)溶解一并加入到反应瓶中。将反应瓶置于 35℃ 油浴中反应 72 小时。反应结束后,蒸发除溶剂再溶于 30ml 氯仿中,用 300ml 冰乙醚沉淀。收集沉淀,溶解于 30ml 氯仿中,用 300ml 冰乙醚沉淀,重复三次。真空干燥沉淀,得到白色产物。

[0148] 2) 端甲基醚聚乙二醇-聚 O-苄基-L-酪氨酸-聚己内酯(CH₃-PEG-PBTyr-PCL)的制备:

[0149] 反应瓶中称取 0.1mmol 端甲基醚聚乙二醇-聚 O-苄基-L-酪氨酸(CH₃-PEG-PBTyr)和 2.5mmol 己内酯单体,氩气保护下加入 20ml 的无水甲苯中。待全部溶解后,氩气保护下加入催化量的辛酸亚锡,将反应瓶置于 110℃ 油浴中反应 48 小时。反应结束后,蒸发除溶剂再溶于 30ml 氯仿中,用 300ml 冰乙醚沉淀。收集沉淀,溶解于 30ml 氯仿中,用 300ml 冰乙醚沉淀,重复三次。真空干燥沉淀,得到白色产物。

[0150] 3) 端甲基醚聚乙二醇-聚-L-酪氨酸-聚己内酯(CH₃-PEG-PTyr-PCL)的制备:

[0151] 将 0.1mmol 端甲基醚聚乙二醇-聚 O-苄基-L-酪氨酸-聚己内酯溶解在 300ml 四氢呋喃中,加入 8% 的钨碳,一并加入到高压反应釜中。通入 5 个大气压的氢气,40℃ 下反

应 72 小时。反应结束后,过滤除钯碳,旋转蒸发除四氢呋喃。

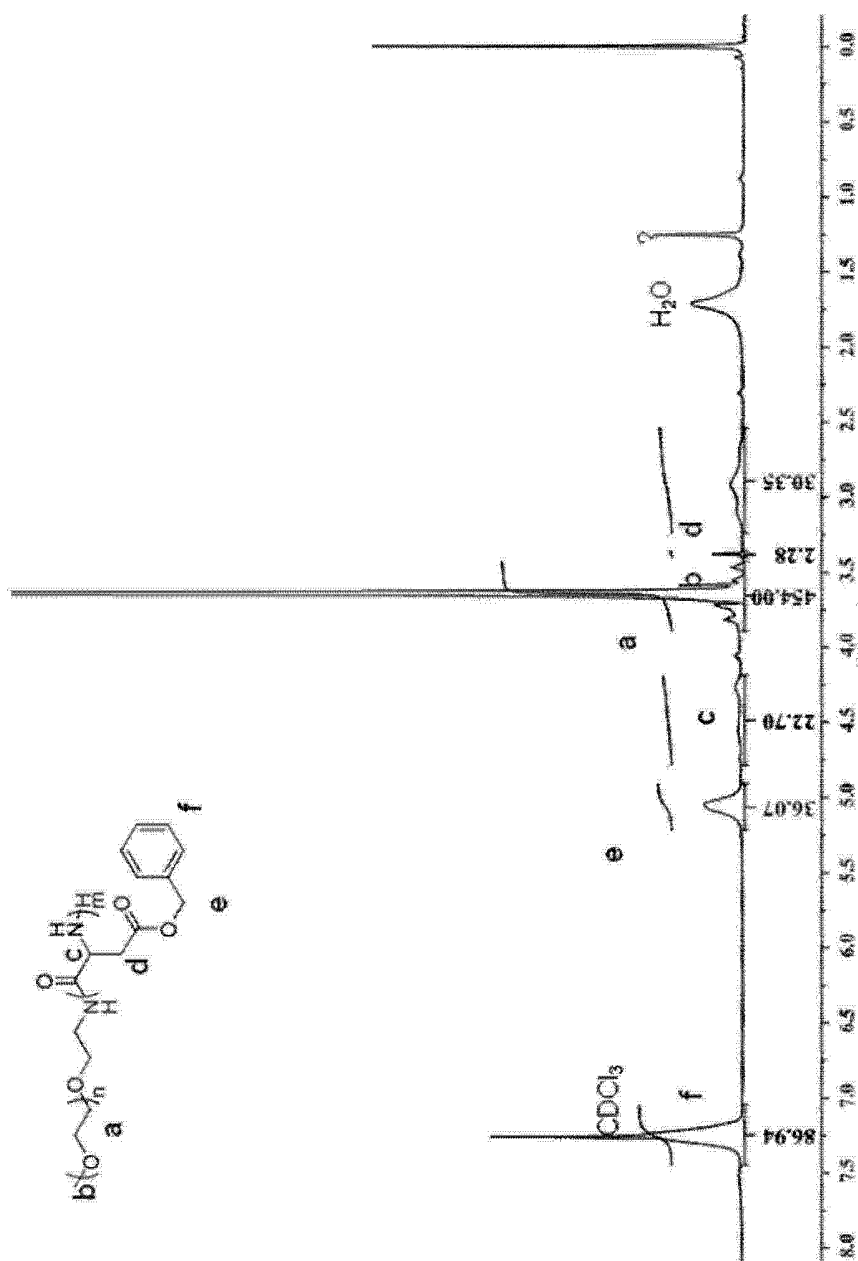


图 1

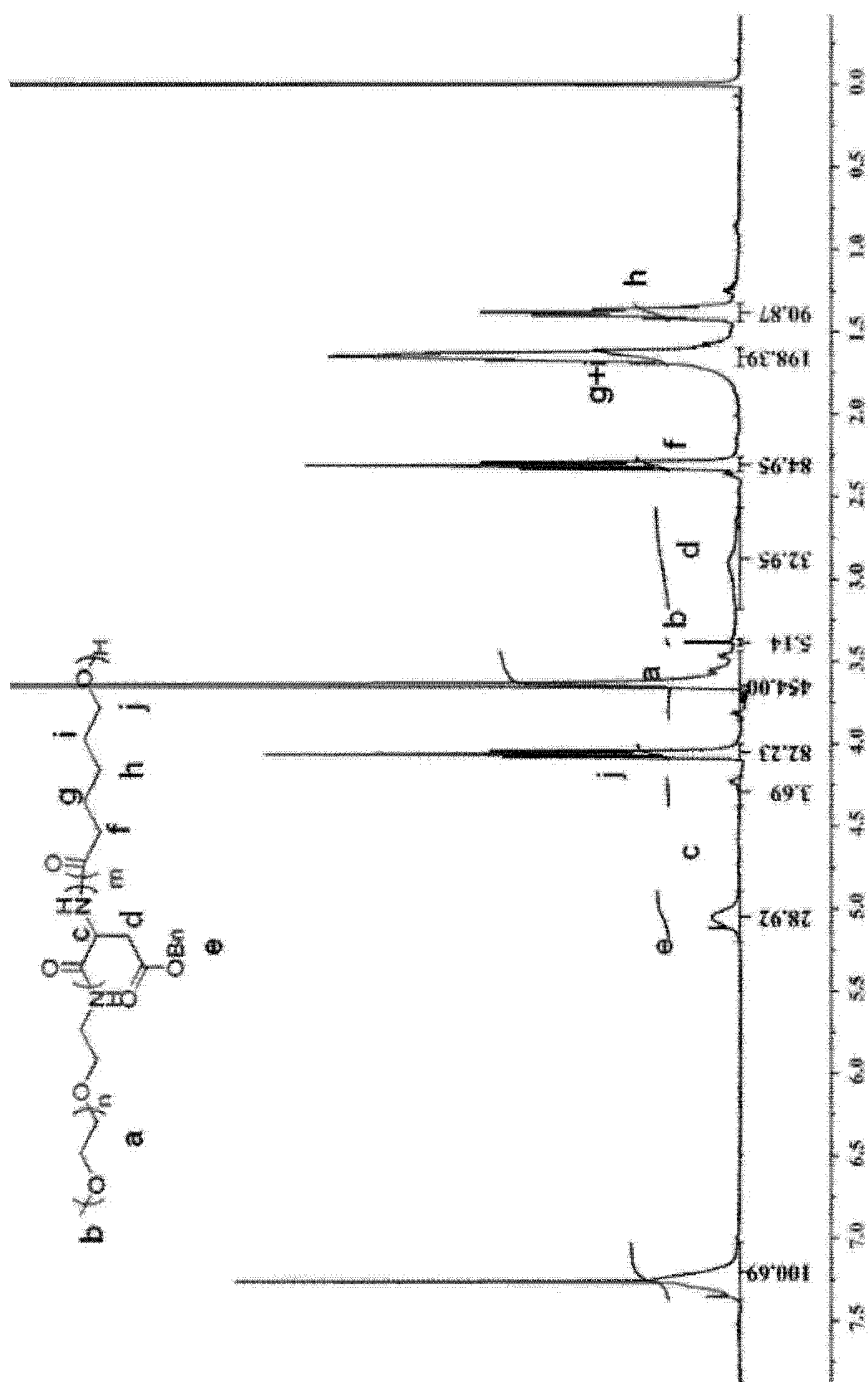


图 2

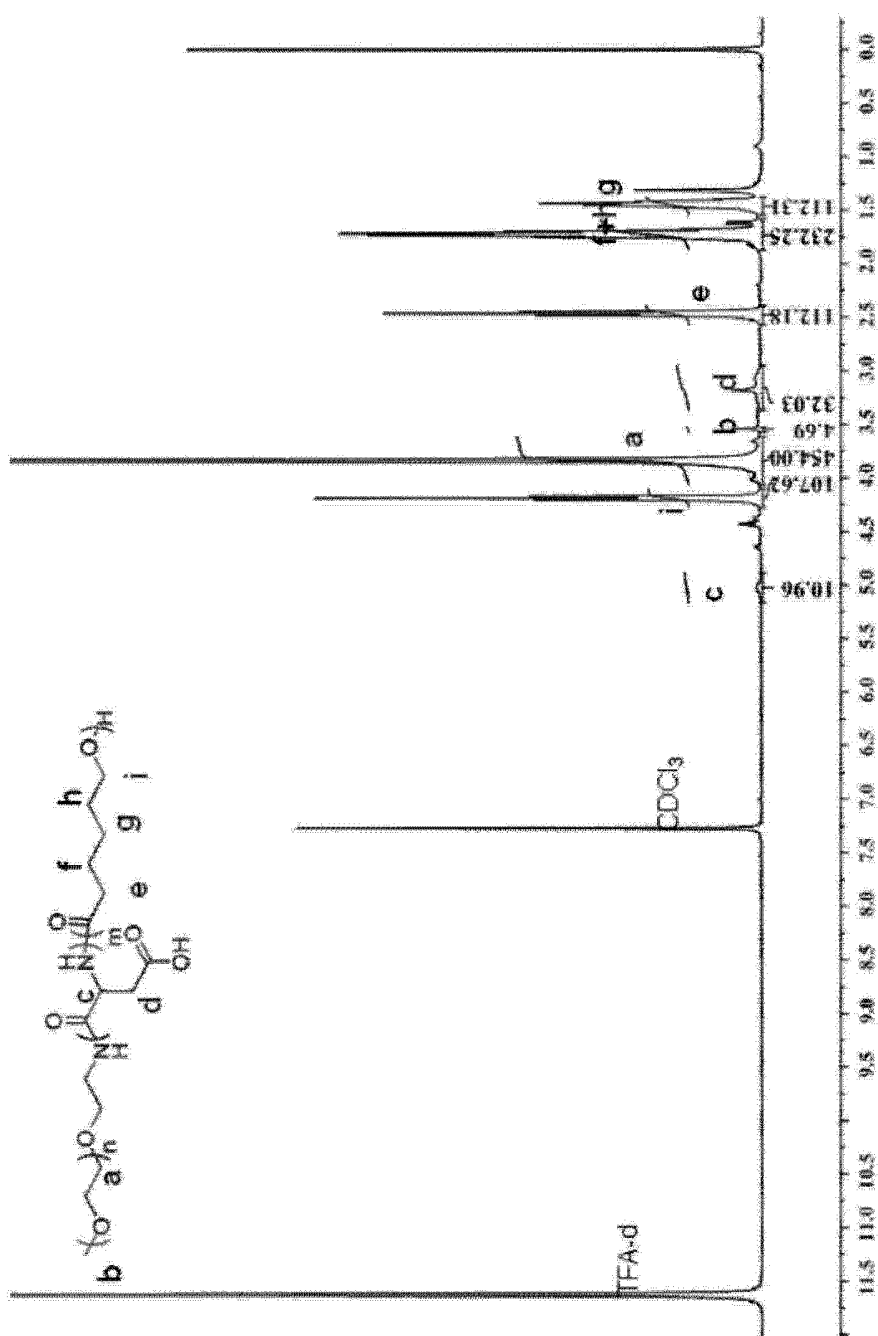


图 3

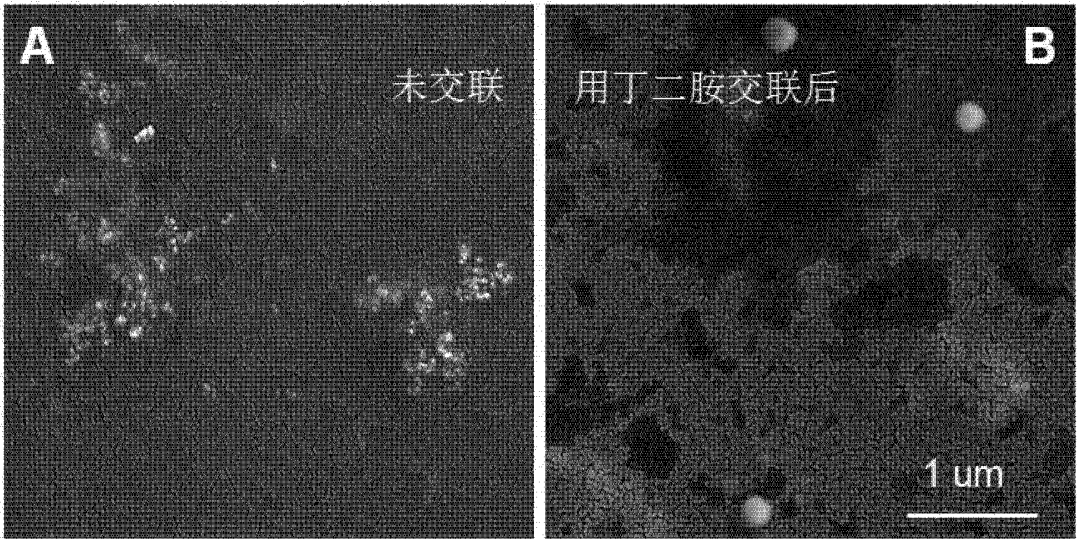


图 4

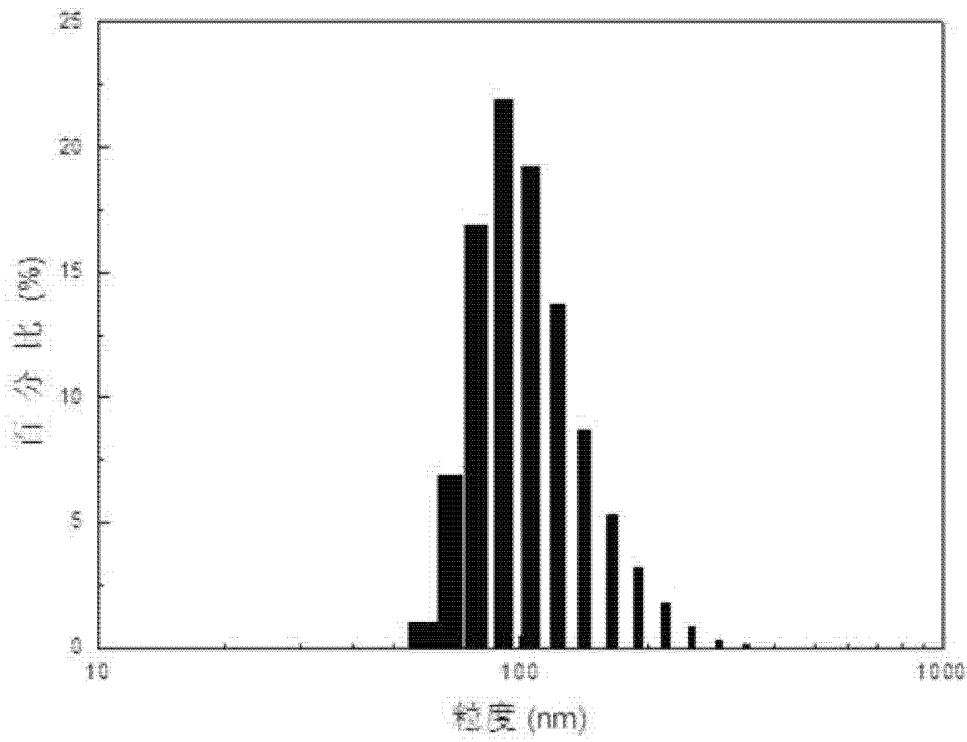


图 5

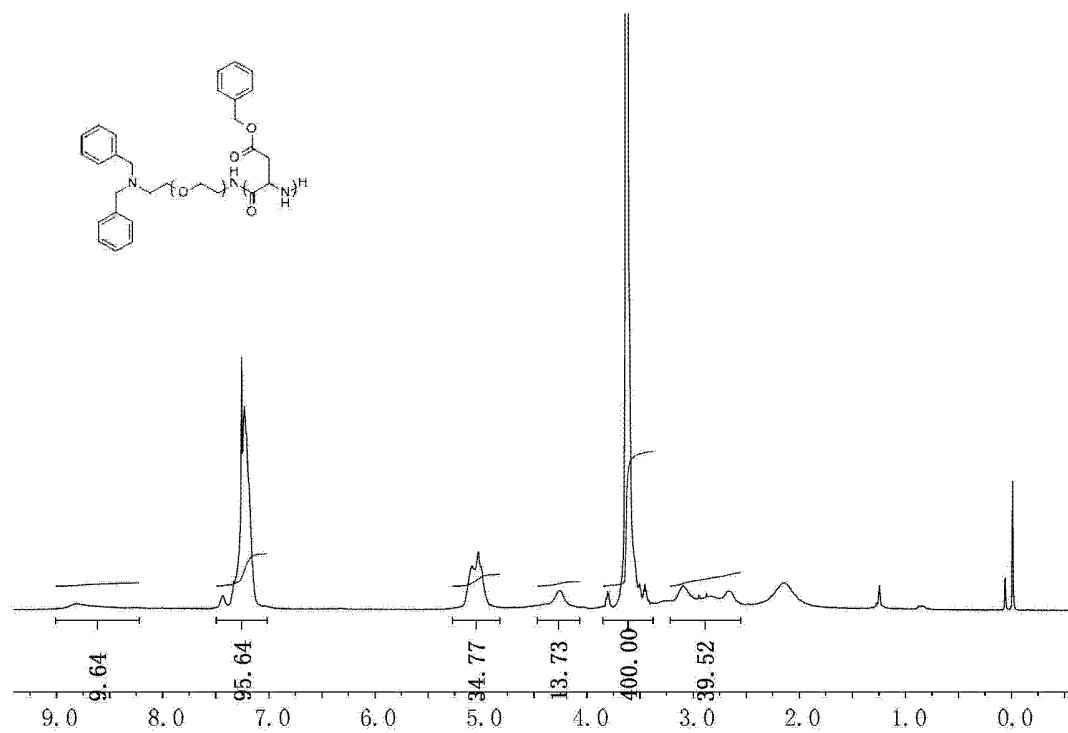


图 6

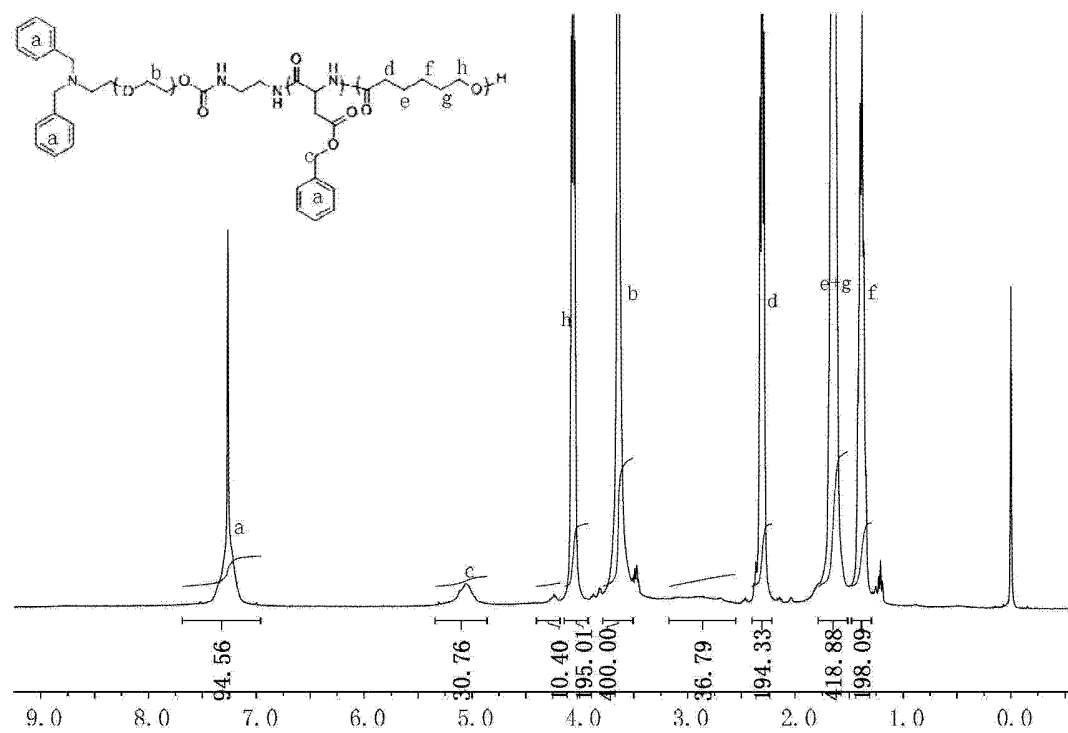


图 7

