



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 114344471 A

(43) 申请公布日 2022. 04. 15

(21) 申请号 202110870848.X

A61K 31/708 (2006.01)

(22) 申请日 2021.07.30

A61K 31/7072 (2006.01)

(30) 优先权数据

A61K 31/7068 (2006.01)

10-2020-0132898 2020.10.14 KR

A61K 31/573 (2006.01)

(71) 申请人 高丽大学校算学协力团

地址 韩国首尔

(72) 发明人 姜熙敏 裴健杰 唐甘·拉曼

(74) 专利代理机构 北京金宏来专利代理事务所

(特殊普通合伙) 11641

代理人 李子光

(51) Int.Cl.

A61K 47/02 (2006.01)

A61K 47/26 (2006.01)

A61K 47/24 (2006.01)

A61K 31/7076 (2006.01)

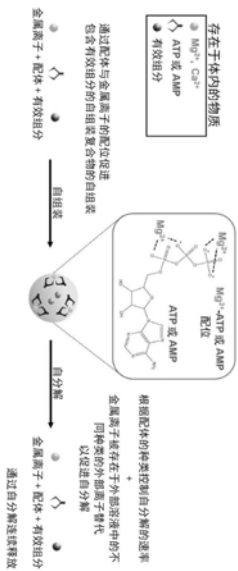
权利要求书1页 说明书6页 附图5页

(54) 发明名称

基于身体物质的自组装复合物以及使用该自组装复合物的有效组分输送系统

(57) 摘要

本发明涉及一种使用自组装复合物的自组装和自分解的有效组分输送系统,该有效组分输送系统使用由存在于体内的物质组成的自组装复合物,从而对人体毒性较小且无害,并且该有效组分输送系统能够通过使用多种金属离子和包括磷酸盐或膦酸盐的配体来控制自分解速率和有效组分释放速率。



1. 一种自组装复合物,其由存在于体内的物质组成,所述自组装复合物包含:
一种或多种金属离子和与所述金属离子离子键合的配体,
其中,所述自组装复合物是可逆自组装或自分解的,以及
通过所述金属离子的浓度和配体的浓度中的任何一种或多种来进行所述自组装,自分解速率通过配体的种类来控制,以及所述金属离子和所述配体中的任何一种或多种在第一释放时间期间被连续释放。
2. 根据权利要求1所述的自组装复合物,其中,所述自组装复合物的自分解速率是通过配体的种类控制的,以及
所述自组装复合物还包含一种或多种有效组分,并且所述有效组分在第一释放时间期间被连续释放。
3. 根据权利要求1所述的自组装复合物,其中,所述第一释放时间为20天以上。
4. 根据权利要求1所述的自组装复合物,其中,所述金属离子包括钙、镁、锶、钡、锰、铁、钴和镍中的任何一种或多种的离子。
5. 根据权利要求1所述的自组装复合物,其中,所述自组装复合物通过包含外部离子的外部溶液而进行自分解,以及所述自分解速率由外部离子的种类来控制。
6. 根据权利要求5所述的自组装复合物,其中,所述外部离子包括钙、钠、钾、磷酸盐、氢和氢氧离子中的任何一种或多种的离子,以使所述自组装复合物进行自分解。
7. 根据权利要求1所述的自组装复合物,其中,所述自组装复合物具有包含一种或多种金属离子和一种或多种配体并凝结的形式。
8. 根据权利要求1所述的自组装复合物,其中,所述配体包括磷酸盐和膦酸盐中的任何一种或多种。
9. 根据权利要求8所述的自组装复合物,其中,所述配体包括一磷酸腺苷、二磷酸腺苷、三磷酸腺苷和2-氨基乙基膦酸中的任何一种或多种。
10. 根据权利要求1所述的自组装复合物,其中,在所述配体包含一种磷酸盐的情况下的自分解速率被控制为在所述配体包含两种或更多种磷酸盐的情况下的自分解速率的2倍至6倍。
11. 根据权利要求1所述的自组装复合物,其中,所述有效组分包括腺苷、鸟苷、尿苷、胞苷和地塞米松中的任何一种或多种。
12. 根据权利要求1所述的自组装复合物,其中,在所述金属离子的浓度为1mM至30mM的情况下,所述自组装复合物进行自组装。
13. 根据权利要求1所述的自组装复合物,其中,在所述配体浓度为10mM至70mM的情况下,所述自组装复合物进行自组装。
14. 一种使用根据权利要求1所述的自组装复合物的有效组分输送系统。
15. 根据权利要求14所述的有效组分输送系统,其中,所述有效组分包括药物、小分子、聚合物和蛋白质中的任何一种或多种。
16. 根据权利要求14所述的有效组分输送系统,其中,存在于所述自组装复合物中的所述金属离子被包含在外部溶液中的外部离子替代,以促进有效组分的释放。

基于身体物质的自组装复合物以及使用该自组装复合物的有效组分输送系统

技术领域

[0001] 本发明涉及一种能够进行可逆的自组装和自分解的自组装复合物,特别地涉及一种自组装复合物,其中基于存在于身体内的物质的包括磷酸盐或膦酸盐的配体和金属离子进行自组装,并且包含多种有效组分,并且其能够通过使用金属离子和配体来控制自分解的速率,以及涉及一种有效组分输送系统,其通过使用自组装复合物的自组装和自分解的特性来输送有效组分。

背景技术

[0002] 药物输送系统(DDS)可以定义为通过最小化现有药物的副作用并优化药物的功效和效果来有效输送疾病治疗所需的最小药物量的制剂。

[0003] DDS领域被认为是下一代生物产业的核心,它能够以低成本和短开发周期开发现有药物的新制剂。在DDS领域,正在积极开展研究以通过使用显示多种功能和性能的生物聚合物和合成聚合物来开发新的药物输送剂。

[0004] 现有的药物输送剂使用利用了不存在于人体内的二膦酸盐和金属离子的自组装复合物。

[0005] 现有的DDS存在毒性问题,因为使用了如体内不存在的物质的纳米颗粒的载体,由于生长因子、蛋白质等的输送,价格竞争力得不到保证,还存在药物缓释不受控制的问题,使药物释放受限于短时间。

[0006] 因此,需要开发一种药物输送系统,其能够通过使用存在于体内的物质来控制药物或分子以及有效组分的持续释放,同时比现有技术毒性更小且无害。

[0007] [现有技术文献]

[0008] [专利文献]

[0009] (专利文献1) 美国专利申请公开第US2018169141号(2018年6月21日公开)

发明内容

[0010] 本发明旨在解决上述问题,并提供一种自组装复合物以及使用该复合物的有效组分输送系统,该自组装复合物能够通过控制自组装复合物的自分解速率来连续输送有效组分,所述自组装复合物包含基于存在于体内的物质的多种有效组分,并且包括金属离子和配体。

[0011] 为了解决该技术问题,本发明提供了一种自组装复合物和使用该自组装复合物输送有效组分的系统。

[0012] 本发明的示例性实施方式提供了一种由存在于体内的物质组成的自组装复合物,所述自组装复合物包含:一种或多种金属离子和与该金属离子离子键合的配体,其中所述自组装复合物可逆地自组装或自分解,并且通过金属离子浓度和配体浓度中的任何一种或多种来进行自组装,自分解速率由配体的种类来控制,并且在第一释放时间期间,金属离

子、配体和有效组分中的任何一种或多种被连续释放。

[0013] 根据本发明的自组装复合物由存在于体内的物质组成,因此对人体毒性较小且无害,并且能够通过使用包括磷酸盐或膦酸盐的配体来控制自分解速率和有效组分释放速率。

附图说明

[0014] 图1为示出根据本发明示例性实施方式的自组装复合物的自组装和自分解机制的示意图。

[0015] 图2和图3为根据本发明示例性实施方式的自组装复合物的扫描电子显微镜 (SEM) 照片。

[0016] 图4和图5为表示根据本发明示例性实施方式的对于具有不同种类和浓度的外部离子的每种溶液,从自组装复合物中释放的累积镁量随时间变化的曲线图。

[0017] 图6和图7为表示根据本发明示例性实施方式的对于具有不同种类和浓度的外部离子的每种溶液,从自组装复合物中释放的累积腺苷量随时间变化的曲线图。

[0018] 图8和图9为根据本发明示例性实施方式的自组装复合物在28天的药物释放之后的扫描电子显微镜 (SEM) 照片。

具体实施方式

[0019] 在下文中,为了更具体地描述本发明,将参照附图详细描述本发明示例性实施方式。然而,本发明不限于本文描述的示例性的实施方式,也可以指定为其它形式。

[0020] 本发明提供了一种由存在于体内的物质组成的自组装复合物,所述自组装复合物包含:一种或多种金属离子和与该金属离子离子键合的配体,其中所述自组装复合物可逆地自组装或自分解,并且该自组装复合物通过金属离子和配体中的任何一种或多种的浓度来进行自组装,自分解速率由配体的种类来控制,并且金属离子、配体和有效组分中的一种或多种被连续释放第一释放时间。

[0021] 图1为示出根据本发明示例性实施方式的自组装复合物的自组装和自分解机制的示意图。参考图1,本发明的自组装复合物具有其中一种或多种配体和一种或多种金属离子离子键合的形式,并且可以进一步包含一种或多种有效组分。此外,存在于本发明的自组装复合物中的金属离子在被交换成存在于外部溶液中的外部离子时自分解,使得自组装复合物可以长时间连续释放金属离子和有效组分。

[0022] 自组装复合物还包括一种或多种有效组分,自分解速率由配体的种类控制,以及一种或多种有效组分可以在第一释放时间内连续释放。

[0023] 在本说明书中,“存在于体内的物质”是指由存在于体内的组成组分组成的物质,而不是人工合成的物质。

[0024] 特别地,在根据本发明的自组装复合物中,可以包括一种或多种金属离子、一种或多种配体和一种或多种有效组分并凝结。更具体地,自组装复合物具有其中一种或多种有效组分包含于一种自组装复合物中并凝结的形式。

[0025] 更具体地,本发明的自组装复合物的平均尺寸可以是 $0.2\mu\text{m}$ 至 $5\mu\text{m}$ 、 $0.5\mu\text{m}$ 至 $3\mu\text{m}$,或 $0.5\mu\text{m}$ 至 $2\mu\text{m}$ 。自组装复合物具有前述尺寸,因此有利于自组装,并且可以长时间释放复合物

中存在的物质。

[0026] 例如,本发明的自组装复合物自分解以连续释放任何一种或多种金属离子和有效组分20天或更长时间、25天或更长时间、或28天或更长时间。

[0027] 本发明的自组装复合物通过金属离子浓度和配体浓度中的任何一种或多种进行自组装,以及自分解速率可以通过外部离子的种类来控制。自组装复合物可以包含腺苷。

[0028] 特别地,当金属离子的浓度为1mM至30mM、1mM至25mM或10mM至25mM时,金属离子、配体和有效组分中的两种或更多种进行自组装以形成自组装复合物。特别地,金属离子和配体可以进行自组装,或者金属离子、配体和有效组分进行自组装,以形成自组装复合物。

[0029] 此外,当配体的浓度为10mM至70mM、20mM至60mM或25mM至55mM时,金属离子、配体和有效组分中的两种或更多种进行自组装以形成自组装复合物。特别地,金属离子和配体可以进行自组装,或者金属离子、配体和有效组分进行自组装,以形成自组装复合物。

[0030] 金属离子可以包括钙离子、镁离子、锶离子、钡离子、锰离子、铁离子、钴离子和镍离子中的任何一种或多种。特别地,金属离子可以包括钙离子或镁离子。该自组装复合物包含金属离子并被吸收至体内,从而提高了生物功能,对人体无害。

[0031] 包含在外部溶液中的外部离子可以包括钙、钠、钾、磷酸盐、氢和氢氧化物中的任何一种或多种的离子。自组装复合物中的金属离子可以通过使用外部离子来释放。包含在外部溶液中的氢离子或氢氧离子(hydroxide ion)可以促进自组装复合物的自分解,并且溶液中存在的不同种类的外部离子是必要条件,但是在自分解期间的酸性或碱性条件的情况下,氢离子或氢氧离子可以进一步促进自分解。

[0032] 特别地,本发明的自组装复合物通过包含外部离子的外部溶液进行自分解,但是释放的金属离子的量可以由外部离子的种类控制。

[0033] 例如,在外部离子是钙、氢或氢氧离子的情况下释放的金属离子的量可以是在外部离子是钠、钾或磷酸盐的离子的情况下释放的金属离子的量的1.5倍至3倍、1.5倍至2倍或2倍至3倍。

[0034] 配体可以包括磷酸盐(phosphate)和膦酸盐(phosphonate)中的任何一种或多种,以及特别地,配体可以包括一磷酸腺苷、二磷酸腺苷、三磷酸腺苷和2-氨基乙基膦酸中的任何一种或多种。特别地,配体可以为一磷酸腺苷、二磷酸腺苷、三磷酸腺苷或2-氨基乙基膦酸。自组装复合物包括配体,从而可以通过外部离子逐渐释放金属离子,并且自组装复合物的自分解速率可以根据配体的种类来控制。自组装复合物可以包括多种配体,以及当自组装复合物包括多种配体时,与金属离子的结合形式根据配体的种类而不同,使得自组装复合物的自分解速率可以根据多个配体的混合比例成比例地表现出来。

[0035] 配体包含一种磷酸盐的情况下的自分解速率可能比配体包含两种或更多种磷酸盐的情况下的自分解速率快2倍至6倍、2倍至4倍或3倍至5倍。

[0036] 有效组分可以包括药物、小分子、聚合物和蛋白质中的任何一种或多种,特别地,有效组分可以包括腺苷、鸟苷、尿苷、胞苷和地塞米松中的任何一种或多种。有效组分是一种将被输送到身体的物质,在自组装复合物的自分解过程中释放,并被供应到身体。

[0037] 此外,本发明提供了一种使用自组装复合物的有效组分输送系统。

[0038] 根据本发明的有效组分输送系统包括基于存在于体内的物质的自组装复合物,并且其比使用现有合成聚合物的技术的毒性更小,从而以对人体无害的状态输送物质。

[0039] 有效组分可以包括药物、小分子、聚合物和蛋白质中的任何一种或多种,特别地,有效组分可以包括腺苷、鸟苷、尿苷、胞苷和地塞米松中的任何一种或多种。

[0040] 具体而言,参考图1,根据本发明的自组装复合物根据配体的种类控制自分解速率,以及自组装复合物的金属离子被存在于外部溶液中的外部离子替代以促进自分解。根据存在于自组装复合物中的金属离子的浓度和配体的浓度进行自组装,以及存在于外部溶液中的外部离子可以控制自分解过程中释放的金属离子的量,以及根据配体的种类和外部离子的种类控制自组装复合物的自分解速率。

[0041] 在本发明的有效组分输送系统中,由于存在于自组装复合物中的金属离子在被存在于外部溶液中的外部离子替代,存在于自组装复合物中的金属离子被释放,以及由于自组装复合物的金属离子被释放而促进配体和有效组分的释放。特别地,从自组装复合物释放的金属离子的量可以根据存在于外部溶液中的外部离子的种类来控制。

[0042] 特别地,在外部离子是钙、氢或氢氧化物的离子的情况下释放的金属离子的量可以是在外部离子是钠、钾和磷酸盐的离子的情况下释放的金属离子的量的1.5倍至3倍、1.5倍至2倍或2倍至3倍。

[0043] 此外,与金属离子的结合形式根据本发明的自组装复合物的配体种类而不同,从而控制自组装复合物的自分解速率和有效组分的释放速率。

[0044] 配体包含一种磷酸盐的情况下的自分解速率可能比配体包含两种或更多种磷酸盐的情况下的自分解速率快2倍至6倍、2倍至4倍或3倍至5倍。

[0045] 在下文中,将描述本发明的实施例。然而,以下实施例仅仅是本发明的优选实施例,并且本发明的范围不受这些实施例的限制。

[0046] 1、制备自组装复合物

[0047] 实施例1 (Mg-ATP-腺苷)

[0048] 为了制备Mg-ATP-腺苷自组装复合物,将三磷酸腺苷(ATP) 25mmol/L (27.6mg ATP在2mL的去离子水中)、氯化镁七水合物($\text{MgCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 25mmol/L (10.1mg Mg^{2+} 在2mL的去离子水中)和腺苷25mmol/L (13.4mg的腺苷在2mL的去离子水中)的溶液混合形成腺苷自组装复合物。简而言之,在室温(25℃)下,将ATP(2mL)与氯化镁七水合物($\text{MgCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)溶液以4:5的比例混合30秒,形成混合物。混合物进一步用腺苷溶液逐滴处理,形成Mg-ATP-腺苷自组装复合物。

[0049] 实施例2 (Mg-AMP-腺苷)

[0050] 为了制备Mg-AMP-腺苷自组装复合物,将一磷酸腺苷(AMP) 10mmol/L (6.9mg AMP在2mL的去离子水中)、氯化镁七水合物($\text{MgCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 10mmol/L (4mg Mg^{2+} 在2mL的去离子水中)和腺苷50mmol/L (26.7mg的腺苷在2mL的去离子水中)的溶液混合形成腺苷自组装复合物。简而言之,在室温(25℃)下,将AMP(2mL)与氯化镁七水合物溶液以4:5的比例混合30秒,形成混合物。混合物进一步用腺苷溶液逐滴处理,形成Mg-AMP-腺苷自组装复合物。

[0051] 实验实施例

[0052] 为了观察根据本发明的自组装复合物,将实施例1和实施例2中制备的Mg-ATP和Mg-AMP的自组装复合物中的每一种500uL与腺苷溶液混合,并在6孔板中尺寸为22×22mm的玻璃基板上制备混合物,并用去离子水反复洗涤。30分钟后,用盐酸(HCl)处理洗涤过的溶液,并在37℃的烘箱中干燥24小时。在制备自组装复合物之前,通过将玻璃基板浸入硫酸

(H_2SO_4) 中1小时来活化基板上的羟基,然后用去离子水洗涤。将玻璃基板浸入混合溶液中,其中盐酸和甲醇以1:1的比例混合,并用去离子水洗涤。在黑暗条件下,通过在含有0.5mM巯基杂氮硅三环(mercaptosilatrane)的甲醇中孵育1小时,将活化的玻璃基板硫代化,然后用甲醇洗涤。通过使用扫描电子显微镜(SEM)观察自组装复合物,以检查制备的自组装复合物的形式。

[0053] 将制备的玻璃基板固定在6孔板中,并将1xPBS溶液和2mL氯化钙溶液(100mmol/L)加入所有孔中的盖玻片中。然后,将玻璃基板放置好,使其不漂浮在加入的溶液上,并用石蜡膜密封6孔板,涂覆,并储存在37℃的培养箱中。

[0054] 此外,在第1天、第3天、第7天、第14天、第21天和第28天从1至6孔中收集样品溶液(200μL)用于释放分析,并填充与提取量一样多的外部溶液。

[0055] 收集的溶液在4℃下存储在1.5mL的微管中。直到第1天、第3天、第7天、第14天、第21天和第28天,在所有溶液提取后,通过光谱法测量释放的镁(Mg^{2+})、ATP/AMP和腺苷(有效组分)的浓度。

[0056] 此外,按照比色测定试剂盒(Biovision)方案来评估镁(Mg^{2+})的释放,并测量腺苷(有效组分)浓度随释放时间的变化。

[0057] 同样地,对于腺苷释放的评估,腺苷测定试剂盒(abcam)用于测量腺苷浓度随时间的变化。

[0058] 通过使用多孔酶标仪,利用Hidex's sense模型(model)测量镁(Mg^{2+})在603和450nm波长处的吸收,以及对于腺苷,使用Ex/Em=535/575nm测量荧光。

[0059] 28天后,玻璃基板在37℃下完全干燥24小时,并用SEM观察。

[0060] 图2和图3为根据本发明示例性实施方式的自组装复合物的SEM照片。图2为实施例1的自组装复合物的照片,图3是实施例2的自组装复合物的照片。参照图2和图3,可以看出自组装复合物以0.5μm至1μm的尺寸形成。

[0061] 图4和图5为表示根据本发明示例性实施方式的对于具有不同种类和浓度的外部离子的每种溶液,从自组装复合物中释放的累积镁量随时间变化的曲线图。图4是表示实施例1的自组装复合物的每种外部溶液随时间释放的累积镁量的曲线图,图5是表示实施例2的自组装复合物的每种外部溶液随时间释放的累积镁量的曲线图。参照图4和图5,测量了从在PBS外部溶液和氯化钙外部溶液中孵育的自组装复合物中释放的镁量,可以看出,在实施例1和实施例2的自组装复合物中的镁连续释放了28天。此外,可以看出,与PBS外部溶液相比,在氯化钙外部溶液中释放了更大量的镁。由此可见,钙离子是由氯化钙提供的,从而释放出镁离子。此外,可以看出,包含AMP的自组装复合物的镁释放量大于包含ATP的自组装复合物的镁释放量。

[0062] 基于此,可以看出在药物输送过程中需要从自组装复合物中释放镁离子。此外,释放的镁离子是组织的重要要素,因此镁离子对身体无害。此外,镁离子在被输送到的区域中的快速吸收可以进一步增加生物功能。

[0063] 图6和图7为表示根据本发明的示例性实施方式的对于自组装复合物的具有不同种类和浓度的外部离子的每种溶液,从自组装复合物中释放的累积腺苷量随时间变化的曲线图。图6是表示实施例1的自组装复合物的每种外部溶液随时间释放的累积腺苷量的曲线图,以及图7是表示实施例2的自组装复合物的每种外部溶液随时间释放的累积腺苷量的曲

线图。

[0064] 参照图6和图7,测量了从在PBS外部溶液和氯化钙外部溶液中孵育的自组装复合物中释放的腺苷(即,有效组分)量,以及可以看出,从实施例1和实施例2的自组装复合物中连续释放了28天的腺苷(即,有效组分)。在PBS下观察到腺苷的最小释放,这代表镁离子损失的增加。与此相反,在氯化钙作用下,镁离子和腺苷从自组装复合物中更快地释放可能是由于缺乏在复合物中发现的离子稳定机制。此外,腺苷通过调节成骨分化来调节对钙依赖性骨代谢的显著影响。考虑到腺苷的这些可能的优点,镁相关的ATP/AMP依赖性自组装复合物在生物医学应用领域中充当功能性载体。

[0065] 图8和图9为根据本发明示例性实施方式的自组装复合物在28天的药物释放之后的SEM照片。图8为实施例1的自组装复合物的照片,以及图9是实施例2的自组装复合物的照片。

[0066] 参考图8和图9,在第28天自组装复合物完全释放后,可以通过扫描电子显微镜检查复合物的解离程度。这显示了自组装复合物以 Mg^{2+} 与ATP或AMP和腺苷的持续逐渐释放的方式的潜在释放。此外,钙离子的局部浓度以及镁离子和钙离子的释放增加可进一步促进腺苷与ATP/AMP从自组装复合物中的释放,以诱导天然分子输送途径,并且自组装复合物对生物医学应用的安全材料无毒,以进一步促进物理和生物功能。

[0067] 总之,根据本发明的自组装复合物是稳定的,并且在释放下显示出明确的结构,并且是合成用于潜在生物医学应用的功能性天然分子输送系统的有力工具。

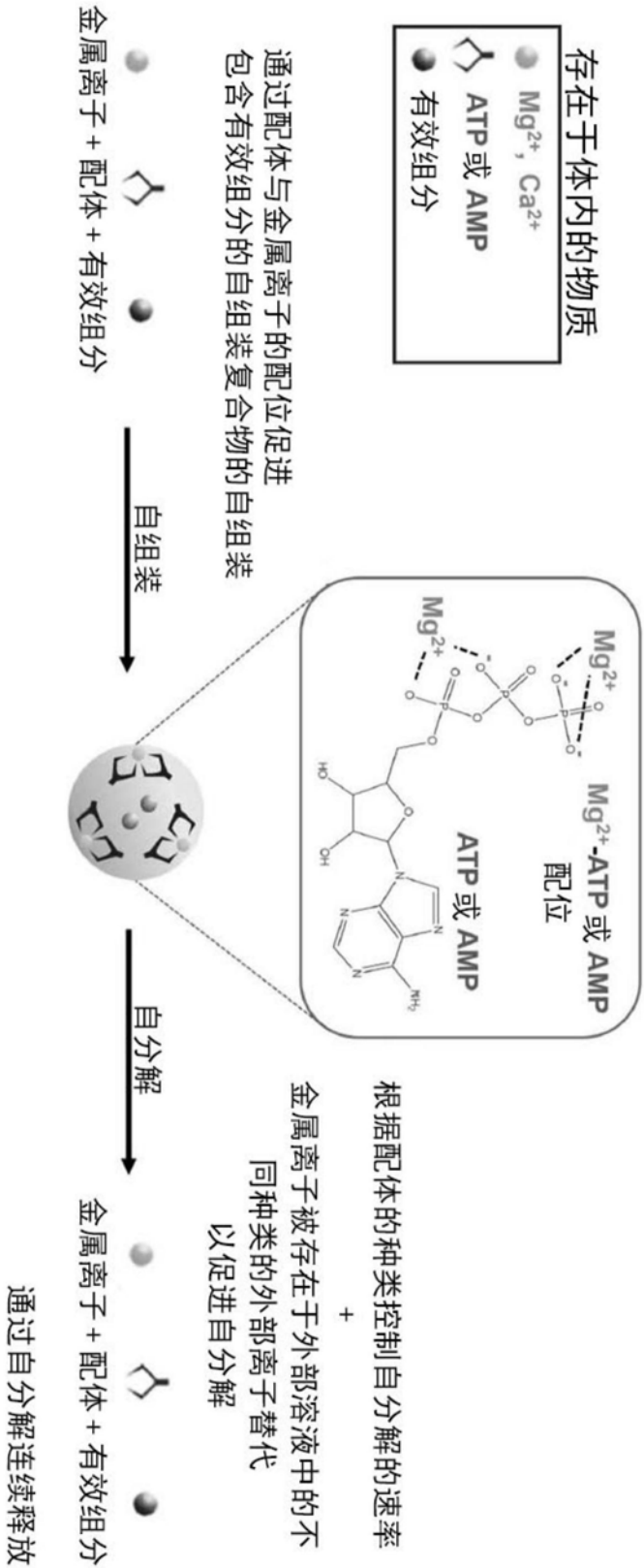


图1

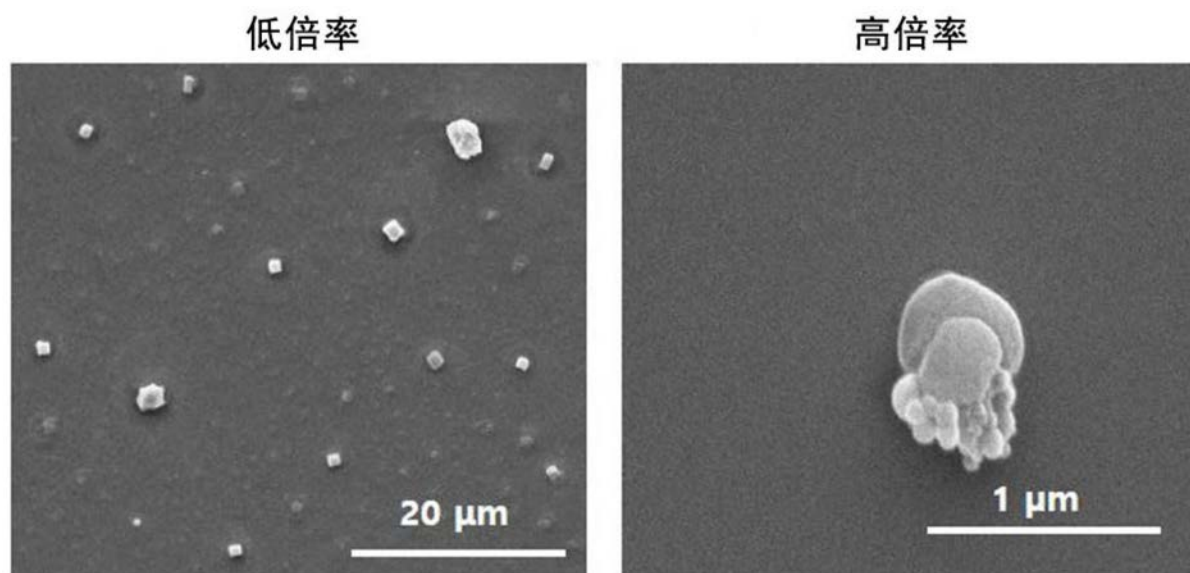


图2

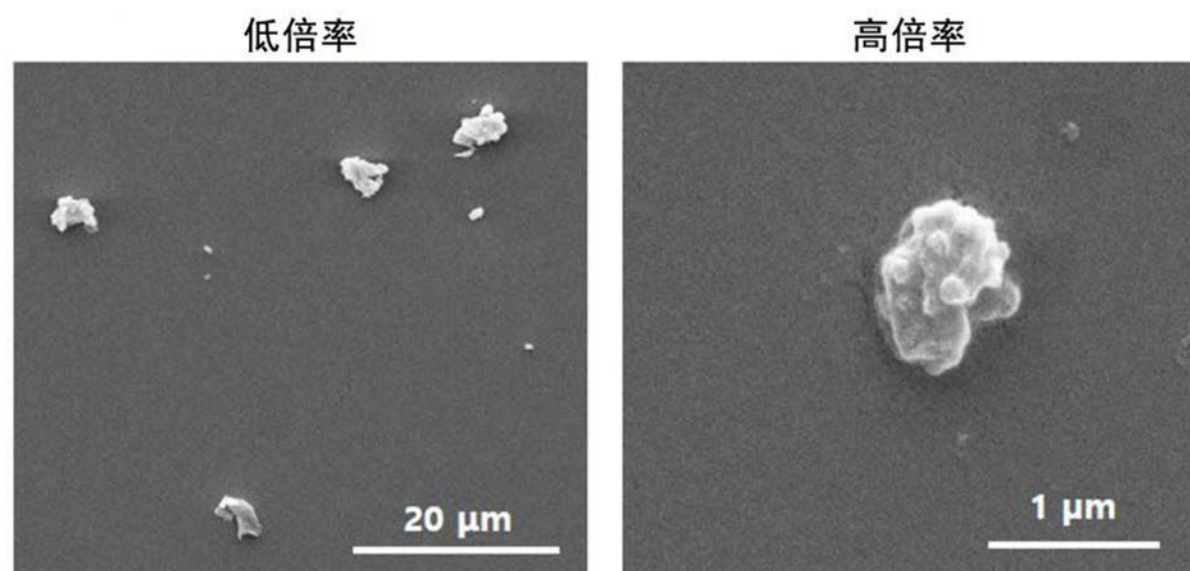


图3

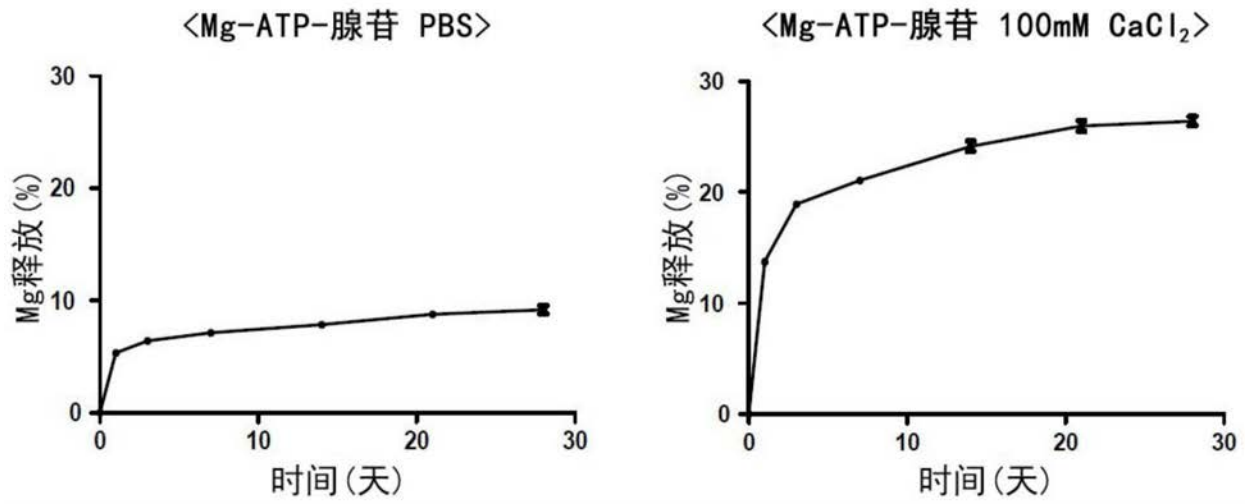


图4

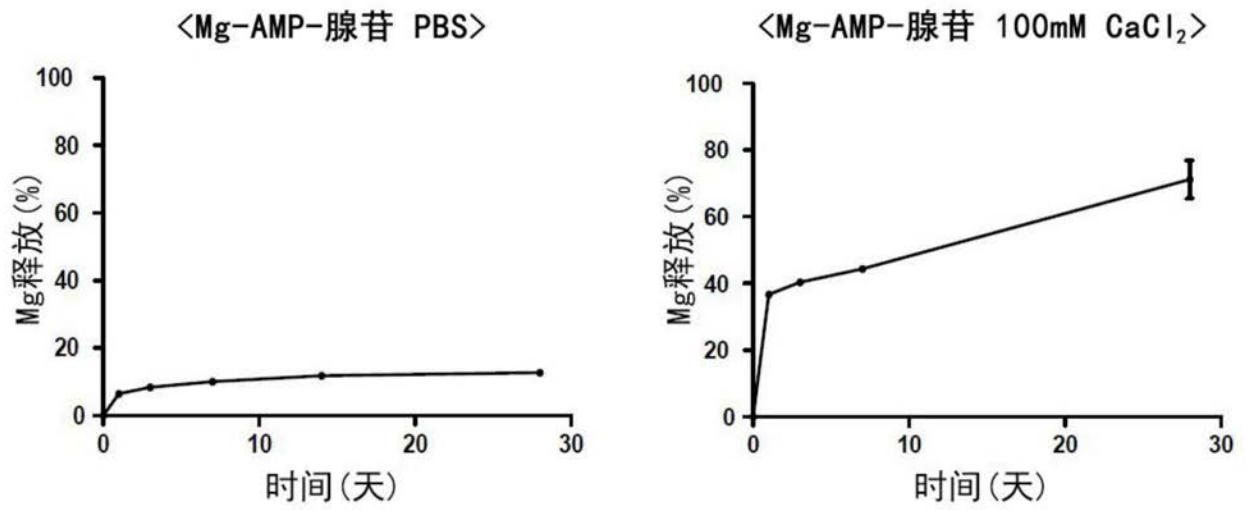


图5

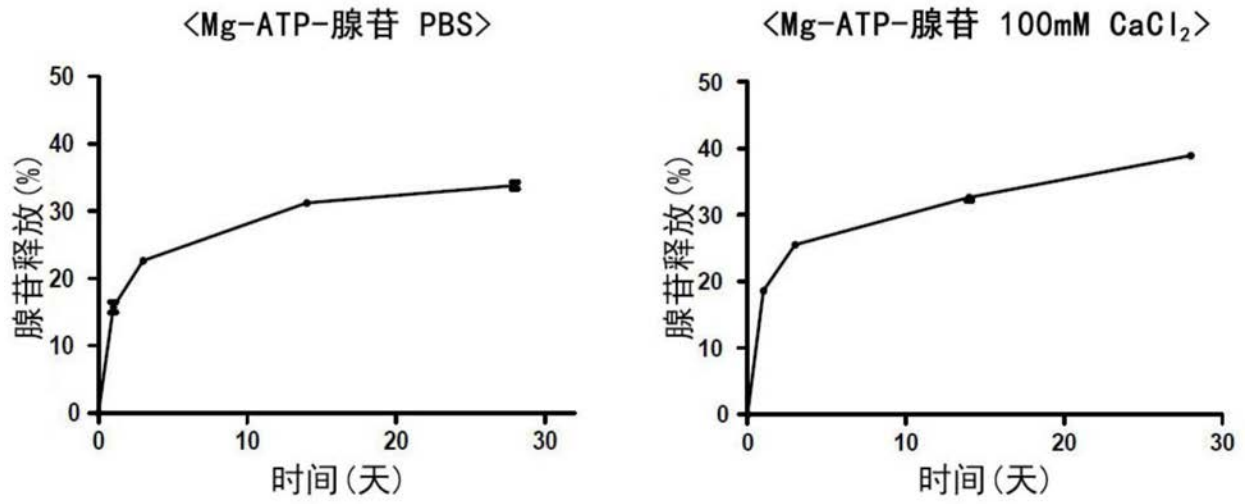


图6

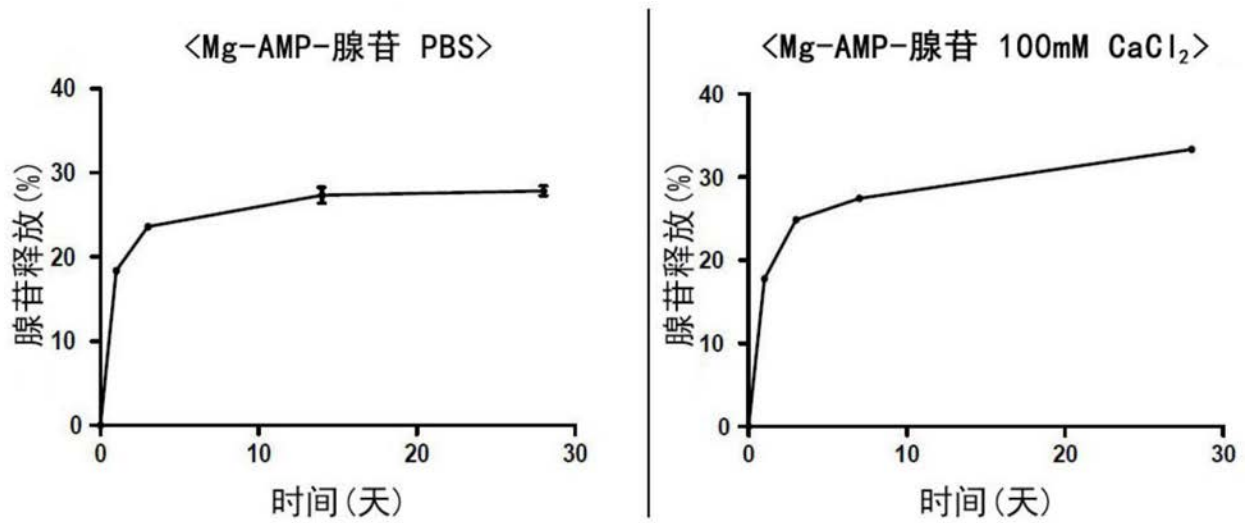


图7

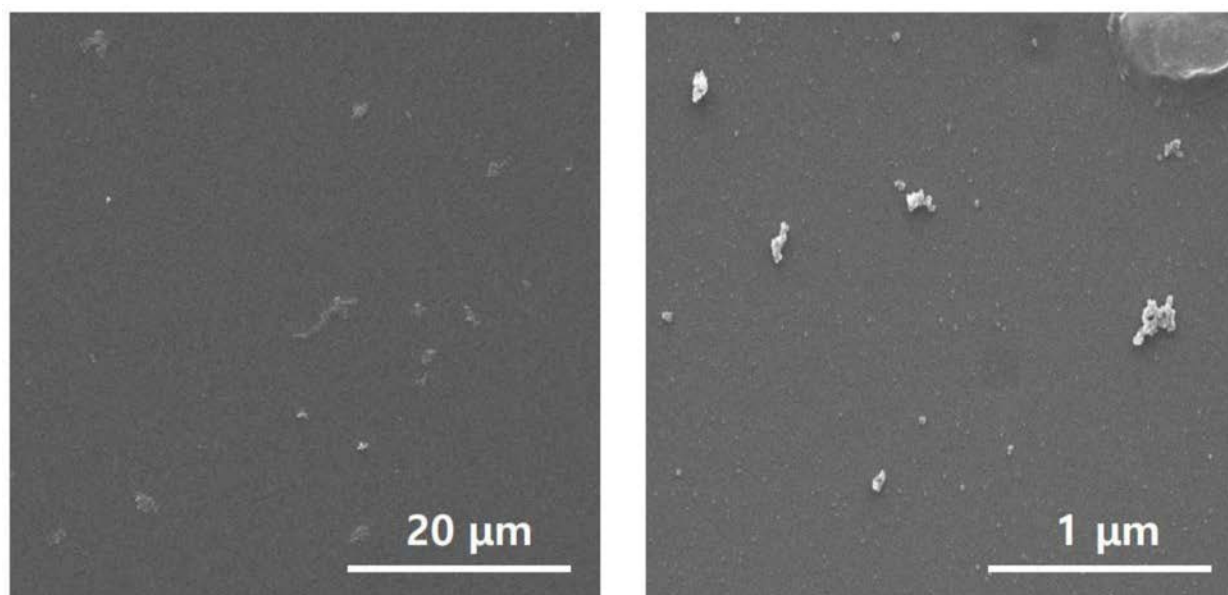


图8

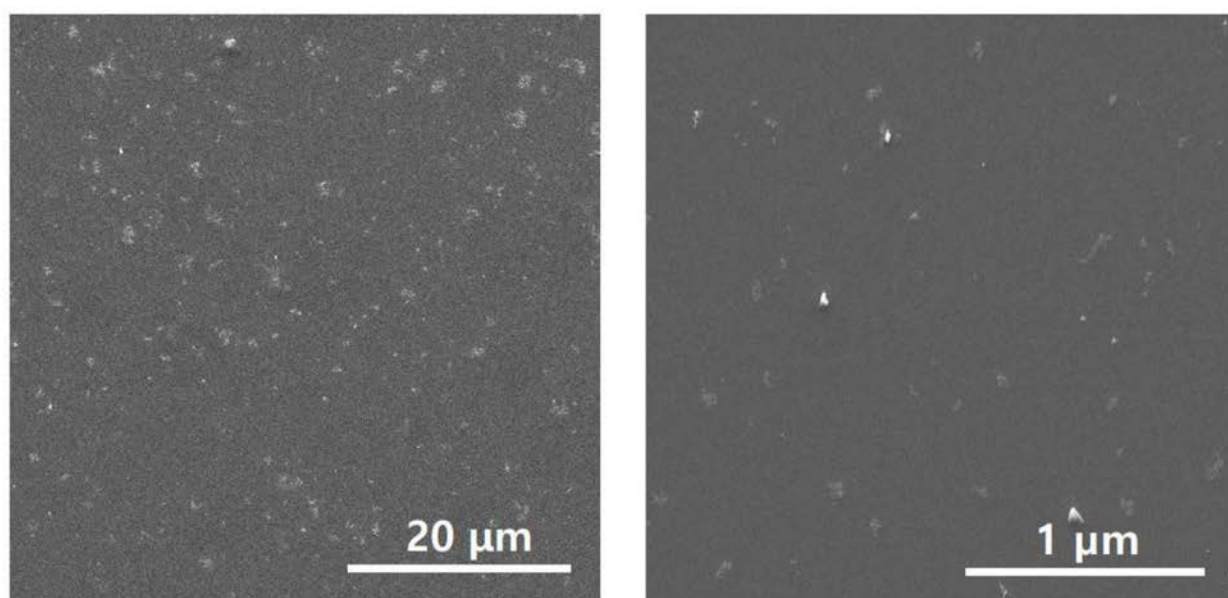


图9