

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.

A61K 9/51 (2006.01)

A61K 9/52 (2006.01)



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200680049543.6

[43] 公开日 2009年1月21日

[11] 公开号 CN 101351197A

[22] 申请日 2006.12.26

[21] 申请号 200680049543.6

[30] 优先权

[32] 2005.12.28 [33] US [31] 11/275,364

[86] 国际申请 PCT/US2006/049300 2006.12.26

[87] 国际公布 WO2007/079083 英 2007.7.12

[85] 进入国家阶段日期 2008.6.27

[71] 申请人 3M 创新有限公司

地址 美国明尼苏达州

[72] 发明人 哈桑·萨霍阿尼 萨纳特·莫汉蒂  
克里斯汀·E·莫兰

[74] 专利代理机构 中原信达知识产权代理有限责  
任公司

代理人 郇春艳 郭国清

权利要求书 6 页 说明书 22 页

[54] 发明名称

封装的发色粒子

[57] 摘要

制备封装的发色纳米粒子的方法包括在水存在下，通过使交联发色纳米粒子暴露于酸以将所述交联发色纳米粒子封装于壳中，所述酸选自由下列物质组成的组：碳酸、磷酸、乳酸、柠檬酸、硼酸、硫酸、以及它们的混合物，所述壳包括含有所述发色材料、所述多价阳离子和所述酸阴离子的络合物。

1. 一种制备封装的发色纳米粒子的方法，包括：
  - (a) 制备水性混合物，所述水性混合物包含(i)水溶性聚合物连续相和(ii)包含发色材料的不连续发色相，以形成发色纳米粒子；
  - (b) 使所得的发色纳米粒子与多价阳离子盐非共价交联；以及
  - (c) 在水存在下，使所得的交联发色纳米粒子暴露于酸，以将所述交联的发色纳米粒子封装于壳中，所述酸选自由下列物质组成的组：碳酸、磷酸、乳酸、柠檬酸、硼酸、硫酸、以及它们的混合物，所述壳包括含有所述发色材料、所述多价阳离子和所述酸阴离子的络合物；其中所述酸的含量不会充分溶解所述交联的发色纳米粒子。
2. 根据权利要求 1 所述的方法，其中所述酸的含量使得在 2 小时期间内，不超过约 25 重量% 的所述交联的发色纳米粒子溶解。
3. 根据权利要求 2 所述的方法，其中所述酸的含量使得在 2 小时期间内，不超过约 10 重量% 的所述交联的发色纳米粒子溶解。
4. 根据权利要求 1 所述的方法，其中使所得的交联发色纳米粒子暴露于碳酸。
5. 根据权利要求 1 所述的方法，其中使所得的交联发色纳米粒子暴露于磷酸。
6. 根据权利要求 5 所述的方法，其中 1N 磷酸:水的重量比介于约 1:10 至约 1:300 之间。
7. 根据权利要求 6 所述的方法，其中 1N 磷酸:水的重量比介于约 1:25 至约 1:100 之间。

8. 根据权利要求 1 所述的方法，其中所得的交联发色纳米粒子在水溶液中。

9. 根据权利要求 8 所述的方法，其中使包含所得的交联发色纳米粒子的所述水溶液暴露于二氧化碳。

10. 根据权利要求 1 所述的方法，其中所述不连续发色相还包含客体化合物。

11. 根据权利要求 10 所述的方法，其中所述客体化合物为生物活性化合物。

12. 根据权利要求 11 所述的方法，其中所述客体化合物选自由下列物质组成的组：药物、除草剂、杀虫剂、信息素和抗微生物剂。

13. 根据权利要求 12 所述的方法，其中所述客体化合物为药物。

14. 根据权利要求 1 所述的方法，还包括将所得的交联发色纳米粒子分散于包含发色材料的组合物中，以形成发色纳米粒子分散体；和制备第二水性混合物，所述第二水性混合物包括(i)含有所述发色纳米粒子分散体的第二不连续发色相和(ii)第二水溶性聚合物连续相，以使所述纳米粒子暴露于酸而将所述纳米粒子封装于包含络合物的所述壳中之前，将所述发色纳米粒子封装于第一壳中。

15. 根据权利要求 14 所述的方法，其中所述第二不连续发色相还包含客体化合物。

16. 根据权利要求 1 所述的方法，所述方法还包括将封装于包含络合物的壳中的所得的发色纳米粒子分散于包含发色材料的组合物中，以形成发色纳米粒子分散体，和制备第二水性混合物，所述第二

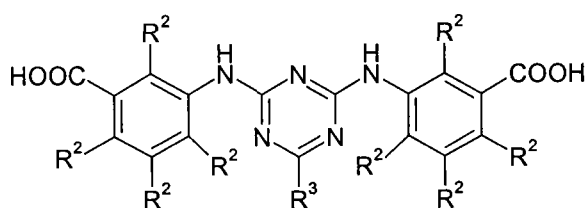
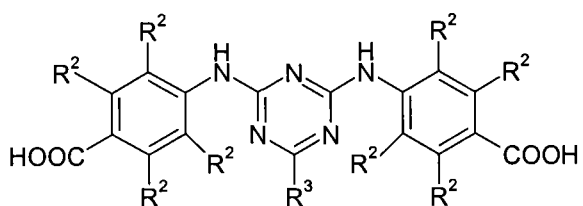
水性混合物包括(i)含有所述发色纳米粒子分散体的第二不连续发色相和(ii)第二水溶性聚合物连续相。

17. 根据权利要求 16 所述的方法, 其中所述第二不连续发色相还包含客体化合物。

18. 根据权利要求 1 所述的方法, 其中所述多价阳离子盐中的多价阳离子选自由下列物质组成的组:  $\text{Ba}^{2+}$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Fe}^{2+}$ 、 $\text{Fe}^{3+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$  和  $\text{Al}^{3+}$ 。

19. 根据权利要求 1 所述的方法, 其中所述水溶性聚合物选自由下列物质组成的组: 乙烯醇聚合物、天冬氨酸聚合物、丙烯酸聚合物、甲基丙烯酸聚合物、丙烯酰胺聚合物、乙烯基吡咯烷酮聚合物、聚(烯化氧)、乙烯基甲基醚聚合物、磺化聚酯、络合碳水化合物、瓜耳胶、阿拉伯树胶、黄蓍胶、松胶、刺梧桐树胶、刺槐豆胶、琼脂、海藻酸盐、角叉菜胶、果胶、纤维素和纤维素衍生物、淀粉和改性淀粉、以及它们的组合。

20. 根据权利要求 1 所述的方法, 其中所述发色材料选自一种或多种以下通式的物质, 以及它们的两性离子、质子互变异构体和盐:

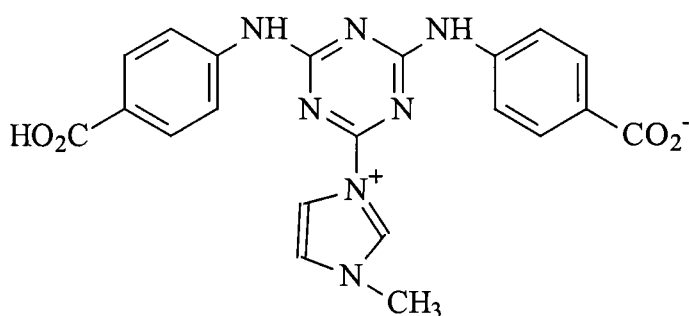


其中

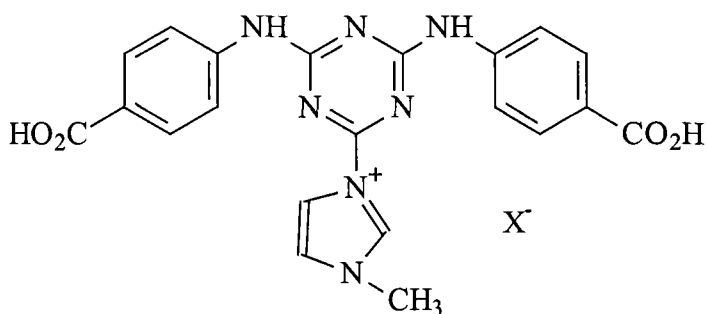
每个  $R^2$  独立地选自供电子基团、吸电子基团和电中性基团，并且

$R^3$  选自取代和未取代的杂芳环、以及取代和未取代的杂环，所述环通过  $R^3$  环中的氮原子与所述三嗪基团连接。

21. 根据权利要求 20 所述的方法，其中所述发色材料选自一种或多种以下通式的物质：



以及



其中  $X^-$  为抗衡离子。

22. 根据权利要求 1 所述的方法，其中所述水性混合物还包含贵金属盐。

23. 根据权利要求 22 所述的方法，还包括还原所述贵金属盐，以制得包含在所述交联发色纳米粒子中的元素性贵金属纳米粒子悬浮

液。

24. 一种制备封装的发色粒子的方法，包括：

(a) 制备包含发色材料的水性混合物；

(b) 使包含发色材料的所述水性混合物暴露于多价阳离子盐，以形成交联的发色粒子；以及

(c) 在水存在下，使所得的交联发色粒子暴露于酸，以将所述交联的粒子封装于壳中，所述酸选自由下列物质组成的组：碳酸、磷酸、乳酸、柠檬酸、硼酸、硫酸、以及它们的混合物，所述壳包括含有所述发色材料、所述多价阳离子和所述酸阴离子的络合物；其中所述酸的含量不会充分溶解所述交联的发色粒子。

25. 根据权利要求 24 所述的方法，其中所述酸的含量使得在 2 小时期间内，不超过约 25 重量% 的所述交联的发色粒子溶解。

26. 根据权利要求 25 所述的方法，其中所述酸的含量使得在 2 小时期间内，不超过约 10 重量% 的所述交联的发色纳米粒子溶解。

27. 根据权利要求 24 所述的方法，其中使所得的交联的发色粒子暴露于碳酸。

28. 根据权利要求 24 所述的方法，其中使所得的交联的发色粒子暴露于磷酸。

29. 根据权利要求 24 所述的方法，其中所述水性混合物还包含客体化合物。

30. 一种封装的发色粒子，所述粒子包含：封装于壳中的发色粒子，所述壳包括含有发色材料、多价阳离子和酸阴离子的络合物，所述酸阴离子选自由下列物质组成的组： $\text{HCO}_3^-$ 、 $\text{PO}_4^{3-}$ 、 $\text{CH}_3\text{CHOHCOO}^-$ 、

---

$\text{C}_3\text{H}_5\text{O}(\text{COO})_3^{3-}$ 、 $\text{BO}_3^{3-}$ 、 $\text{SO}_4^{2-}$ 、以及它们的混合物。

31. 根据权利要求 30 所述的封装的发色粒子，其中所述发色粒子为纳米粒子。

32. 根据权利要求 30 所述的封装的发色粒子，其中所述酸阴离子为  $\text{HCO}_3^-$ 。

33. 根据权利要求 30 所述的封装的发色粒子，其中所述酸阴离子为  $\text{PO}_4^{3-}$ 。

34. 根据权利要求 30 所述的封装的发色粒子，其中所述发色纳米粒子包含客体化合物。

## 封装的发色粒子

### 技术领域

本发明涉及可用于例如可控释放的封装的发色粒子，并且在另一方面，本发明涉及制备封装的发色粒子的方法。

### 背景技术

可经由许多方法实现物质或材料的封装和可控释放。通常，聚合物涂层可用于包封物质或用于与物质形成混合物。另一种常见方法采用宏观结构，所述结构具有能够释放物质的开口或膜。已发现包封和可控释放具有广泛的用途，但是尤其可用于药物递送可控释放技术领域。

PCT 专利公开 WO 2005/012488 描述了在发色基质中封装客体分子（例如药物），以使得它随后可被释放。发色基质将使药物免受某些环境条件的作用，然后在其它环境条件下可控地释放药物。

### 发明内容

简而言之，本发明提供了制备封装的发色纳米粒子的方法。所述方法包括(a)制备水性混合物，所述水性混合物包含(i)水溶性聚合物连续相和(ii)包含发色材料的不连续发色相，以形成发色纳米粒子；(b)使所得的发色纳米粒子与多价阳离子盐非共价交联；和(c)在水存在下，使所得的交联发色纳米粒子暴露于酸，所述酸选自由下列物质组成的组：碳酸、磷酸、乳酸、柠檬酸、硼酸、硫酸、以及它们的混合物。交联纳米粒子因此被封装于壳中，所述壳包括含有所述发色材料、所述多价阳离子和所述酸阴离子的络合物。

如本文所用，“纳米粒子”是指小于约 1,000 纳米的粒子。

如本文所用，“发色材料”（或“发色化合物”）是指大的多环分子，其通常通过存在被多种亲水性基团包围的疏水性核来表征（参见，例如，Attwood, T.K. 和 Lydon, J.E. 的“Molec. Crystals Liq. Crystals” 108, 349 (1984)）。所述疏水性核可包含芳环和/或非芳性环。当在溶液中时，这些发色材料趋于聚集形成向列排序，其通过长程有序来表征。

如本文所用，“分散体”是指分散或悬浮在液体连续相中的固体发色纳米粒子，其在使用期间，例如几分钟、几小时或几天内，不会发生分离。

在另一方面，本发明提供了制备封装的宏观尺寸发色粒子的方法。所述方法包括(a)制备包含发色材料的水性混合物；(b)使包含发色材料的所述水性混合物暴露于多价阳离子盐，以形成交联发色粒子；和(c)在水存在下，使所得的交联发色粒子暴露于酸，所述酸选自由下列物质组成的组：碳酸、磷酸、乳酸、柠檬酸、硼酸、硫酸、以及它们的混合物。交联发色粒子因此被封装于壳中，所述壳包含所述发色材料、所述多价阳离子和所述酸阴离子。

在另一方面，本发明还提供了封装于壳中的发色粒子，所述壳包括含有发色材料、多价阳离子和酸阴离子的络合物，所述酸阴离子选自由下列物质组成的组： $\text{HCO}_3^-$ 、 $\text{PO}_4^{3-}$ 、 $\text{CH}_3\text{CHOHCOO}^-$ 、 $\text{C}_3\text{H}_5\text{O}(\text{COO})_3^{3-}$ 、 $\text{BO}_3^{3-}$  和  $\text{SO}_4^{2-}$ 。

本发明的封装的粒子可用于许多应用中。它们可尤其用于客体化合物（例如药物）的封装和可控释放。例如，可将药物封装于发色纳米粒子中。发色物质将使药物免受某些环境条件的作用，然后在其它环境条件下可控地释放药物。然而，与单独的发色物质相比，所述壳可对某些环境条件提供增强的保护，所述壳包括含有发色材料、多价

阳离子和酸阴离子的络合物，所述酸阴离子选自由下列物质组成的组： $\text{HCO}_3^-$ 、 $\text{PO}_4^{3-}$ 、 $\text{CH}_3\text{CHOHCOO}^-$ 、 $\text{C}_3\text{H}_5\text{O}(\text{COO})_3^{3-}$ 、 $\text{BO}_3^{3-}$  和  $\text{SO}_4^{2-}$ （“复合壳”）。

包含封装于一个或多个发色材料壳层中的发色纳米粒子的多层发色结构在本领域中是已知的（参见例如 2005 年 12 月 19 日提交的美国专利申请 No. 11/275202）。可将药物封装于所述发色纳米粒子中，和/或一个或多个封装纳米粒子的发色壳层中。由本发明提供的复合壳可与一个或多个发色壳层联合使用（例如，复合壳可以是最里面的壳层、中间壳层、最外面的壳层，或它们的任何组合）。因此，由本发明提供的复合壳层可向药物可控释放提供增强的灵活性。

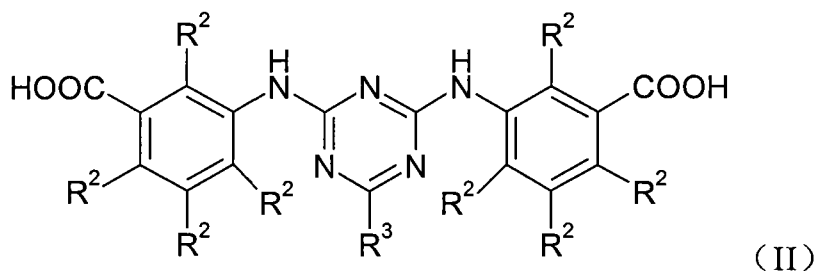
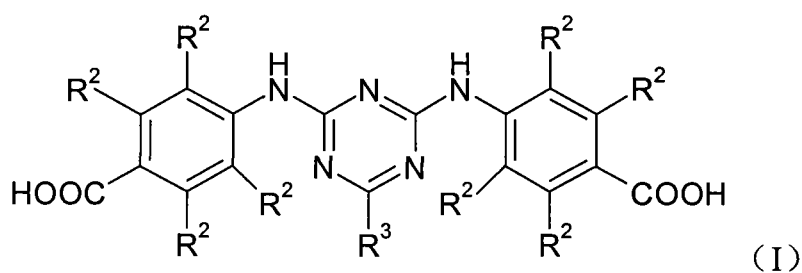
例如，当期望药物即时释放和持续释放组合时（例如，在给药提供最初的爆发性释放以快速缓解具体症状，随后通过持续递送来提供对病症的长期治疗的情况下），可配制外部发色壳层，以提供快速释放，并且配制内部复合壳层，以提供持续递送。

与封装于发色纳米粒子中以及封装于发色壳层中所提供的保护相比，所述复合壳层还可提供增强的保护以免受环境条件的影响。例如，在酸性条件下，所述复合壳层比发色壳层可更长久地保持稳定。

### 具体实施方式

任何发色材料可用于本发明的方法和结构中。形成发色相的化合物是本领域已知的，并且包括例如黄素（例如，偶氮染料和花青染料）和二萘嵌苯（参见例如 Kawasaki 等人的“Langmuir” 16, 5409 (2000)，或 Lydon, J. 的“Colloid and Interface Science” 8, 480 (2004)）。可用的发色材料的代表性实例包括单碳价有机基（organyl）二钿和单碳价有机基一钿、氨磺酰取代的铜酞菁、和六芳基苯并菲。

优选的发色材料包括选自以下一种或多种通式的那些：



其中

每个  $R^2$  独立地选自供电子基团、吸电子基团和电中性基团，并且

$R^3$  选自取代和未取代的杂芳环、以及取代和未取代的杂环，所述环通过  $R^3$  环中的氮原子与三嗪基团连接。

如上所述，发色化合物为中性，但是它可以替代形式存在，诸如两性离子或质子互变异构体（例如，氢原子从一个羧基上脱离，并且与三嗪环中的一个氮原子相连的情况）。所述发色化合物还可以是盐，例如羧酸盐。

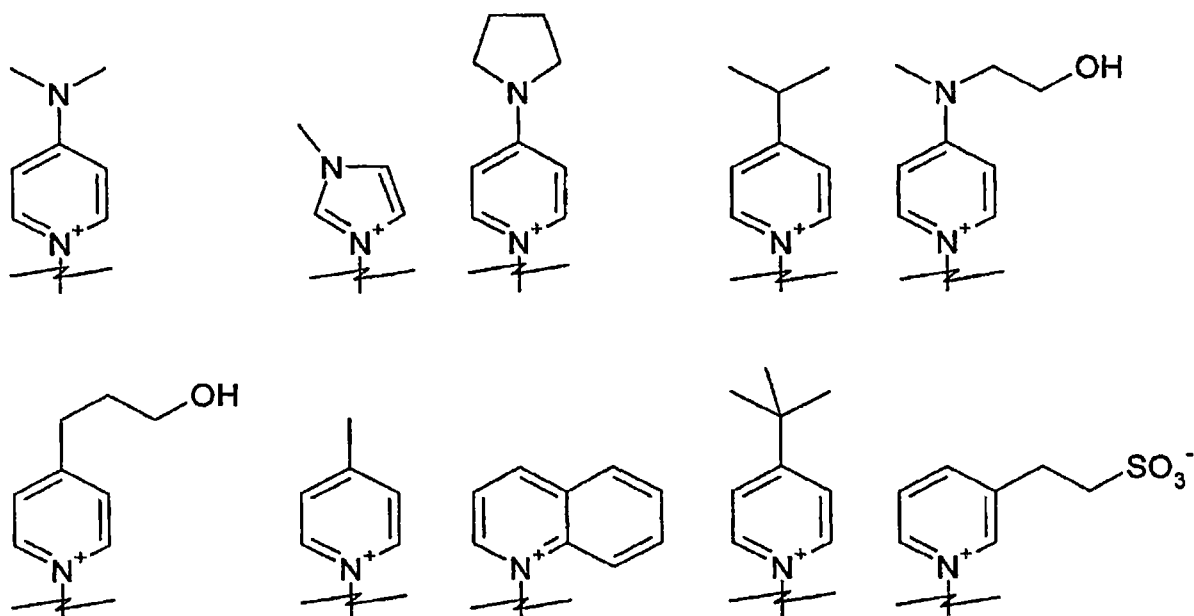
上文通用结构表示了一种取向，其中羧基位于和化合物三嗪主链相连的氨基的对位（化学式 I），以及其中羧基位于和三嗪主链相连的氨基的间位（化学式 II）。所述羧基还可以为对位和间位取向的组合（未示出）。所述取向优选为对位取向。

每个  $R^2$  优选为氢，或取代或未取代的烷基。更优选地， $R^2$  独立地选自氢、未取代的烷基、羟基或卤化物官能团取代的烷基、以及含

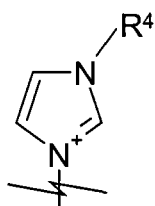
有醚、酯或磺酰基的烷基。最优选地， $R^2$  为氢。

$R^3$  可以是但不限于衍生自吡啶、哒嗪、嘧啶、吡嗪、咪唑、噁唑、异噁唑、噻唑、杂氧二唑、噻二唑、吡唑、三唑、三嗪、喹啉和异喹啉的杂芳环。 $R^3$  优选包括衍生自吡啶或咪唑的杂芳环。杂芳环  $R^3$  的取代基选自但不限于取代和未取代的烷基、羧基、氨基、烷氧基、硫基、氰基、酰胺、磺酰基、羟基、卤化物、全氟烷基、芳基、醚和酯基。优选地， $R^3$  的取代基选自烷基、磺酰基、羧基、卤化物、全氟烷基、芳基、醚，以及羟基、磺酰基、羧基、卤化物、全氟烷基、芳基或醚取代的烷基。当  $R^3$  为取代的吡啶时，所述取代基优选位于 4 位。当  $R^3$  为取代的咪唑时，所述取代基优选位于 3 位。

$R^3$  的代表性实例包括下面所示的 4-(二甲基氨基)吡啶鎓-1-基、3-甲基咪唑鎓-1-基、4-(吡咯烷-1-基)吡啶鎓-1-基、4-异丙基吡啶鎓-1-基、4-[(2-羟乙基)甲基氨基]吡啶鎓-1-基、4-(3-羟丙基)吡啶鎓-1-基、4-甲基吡啶鎓-1-基、喹啉鎓-1-基、4-叔丁基吡啶鎓-1-基、和 4-(2-磺乙基)吡啶鎓-1-基。



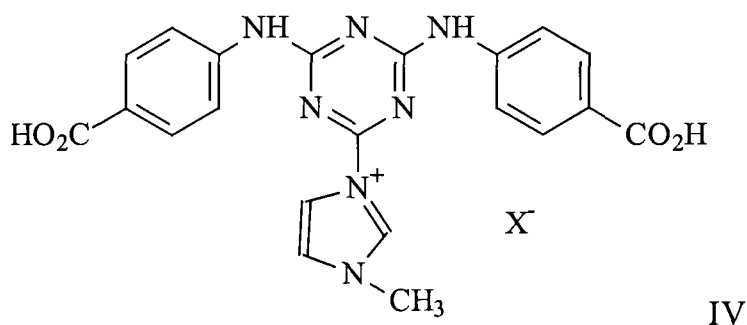
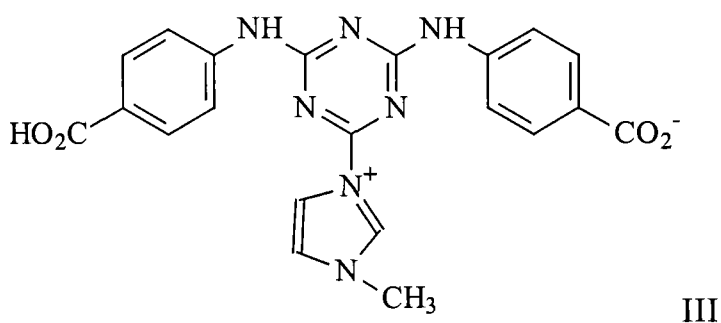
$R^3$  还可由以下通用结构表示：



其中  $R^4$  为氢、或取代或未取代的烷基。更优选地,  $R^4$  选自由氢、未取代的烷基, 以及羟基、醚、酯、磺酸酯或卤化物官能团取代的烷基。最优选地,  $R^4$  选自丙磺酸、甲基和油基。

$R^3$  还可选自杂环, 例如吗啉、吡咯烷、哌啶和哌嗪。

优选用于本发明方法中的发色化合物可由以下化学式中的一种表示:



其中  $X^-$  为抗衡离子。 $X^-$  优选选自:  $HSO_4^-$ 、 $Cl^-$ 、 $CH_3COO^-$ 、和  $CF_3COO^-$ 。

化学式 III 描述了为以两性离子形式存在的化合物。因此，咪唑氮携带正电荷，并且一个羧基官能团携带负电荷（COO<sup>-</sup>）。

所述化合物还可以其它互变异构形式存在，诸如其中两个羧基官能团均携带负电荷，并且其中三嗪基团中的一个氮原子和咪唑基团上的氮携带正电荷。

如美国专利 No.5,948,487(Sahouani 等人)中所述，由化学式 I 表示的三嗪衍生物可作为水溶液配制。上文化学式 I 中所示的三嗪分子的典型合成路线涉及两步工艺。用 4-氨基苯甲酸处理氰尿酸氯，以获得 4-[[4-(4-羧基苯胺基)-6-氯-1,3,5-三嗪-2-基]氨基]苯甲酸。用取代或未取代的含氮杂环处理此中间体。杂环中的氮原子取代三嗪上的氯原子，以形成相应的氯化物盐。两性离子衍生物，诸如上文化学式 III 中所示那些，可通过将所述氯化物盐溶解于氢氧化铵中，使其向下通过阴离子交换柱以用氢氧根离子置换氯离子，然后移除溶剂，来制备。可供选择的结构，诸如上文化学式 II 中所示那些，可通过使用 3-氨基苯甲酸而不是 4-氨基苯甲酸来获得。

当溶解于水溶液（优选碱性水溶液）中时，发色材料能够形成发色相或组分。发色相或组分是本领域中熟知的（参见，例如，Handbook of Liquid Crystals, 第 2B 卷第 XVIII 章“Chromonics”，John Lydon, 第 981 - 1007 页，1998），并且可由平多环芳族分子叠层构成。所述分子构成了由亲水性基团围绕的疏水性核。所述叠层可采取多种形态，但是通常通过趋于形成由叠层产生的柱来表征。所形成的有序分子叠层随着浓度的增加而生长。

优选将所述发色材料放置于含有一种或多种 pH 调节化合物和可选地含有表面活性剂的水溶液中。加入 pH 调节化合物，可使所述发色材料能够更易溶于水溶液中。适宜的 pH 调节化合物包括任何已知的碱，诸如例如氢氧化铵或各种胺。例如可将表面活性剂加入到水溶

液中，以促进药物掺入到发色纳米粒子的发色基质中。如本文所用，“发色基质”是指聚集形成向列排序的发色材料。

适宜的表面活性剂包括离子和非离子表面活性剂（优选非离子）。也可加入可选的添加剂，诸如粘度调节剂（例如聚乙二醇）和/或粘结剂（例如，低分子量水解淀粉）。

通常，所述发色材料可在低于约 40°C（更典型地在室温下）的温度下溶解于水溶液中，并且通过加入碱被中和至 pH 6 至 8。然后将中和的发色材料与水溶性聚合物溶液混合。然而，本领域的技术人员将认识到，所得的纳米粒子的几何形状和大小可在一定程度上通过改变温度来控制。

可使包含发色材料的水性组合物与包含水溶性聚合物的连续相相混合，以形成水性混合物。

所述水溶性聚合物优选具有小于约 20,000 的分子量。可用的水溶性聚合物包括，例如，乙烯醇聚合物、天冬氨酸聚合物、丙烯酸聚合物、甲基丙烯酸聚合物、丙烯酰胺聚合物、乙烯基吡咯烷酮聚合物、聚（烯化氧）、乙烯基甲基醚聚合物、磺化聚酯、络合碳水化合物、瓜耳胶、阿拉伯树胶、黄耆胶、松胶、刺梧桐胶、刺槐豆胶、琼脂、海藻酸盐、红藻胶、果胶、纤维素和纤维素衍生物、淀粉和改性淀粉、以及它们的组合。共聚物，例如嵌段或无规共聚物也是可用的。优选的水溶性聚合物包括例如纤维质、淀粉（包括改性的淀粉，诸如磷酸化或磺化淀粉）、聚乙烯醇、聚乙二醇、聚丙二醇、聚（乙烯乙二醇）-共-（丙二醇）、以及它们的混合物。

具体的水溶性聚合物可影响纳米粒子的形状。在大多数情况下，获得球形纳米粒子。在另一个实施例中，由于使用改性的淀粉，可获得针状（类似于针的）金属纳米粒子。纳米粒子的纵横比典型地在 1:4

至 1:10 的范围内，并且具有的主维度为约 300 纳米至约 10 微米。在本发明的又一个实施例中，可获得椭球形或环形。

所述水性混合物中每种组分的相对浓度将随所得的纳米粒子的期望大小以及它们的预期应用而变化。然而一般来讲，所述发色材料加入到水溶性聚合物溶液中的量将足以使得所述发色相是不连续的，而所述水溶性聚合物相是连续的。一般选择所述水溶性聚合物和发色材料的量，以使得以干重为基准，所述比率为至少约 5:1 且小于约 99:1，并且优选为 3:1 至 15:1。一般来讲，所述水溶性聚合物在所述水性混合物中的含量为约 15 重量% 至约 25 重量%。一般来讲，发色材料在所述水性混合物中的浓度为约 0.25 重量% 至约 7 重量%。

可选地，可加入增加表面张力或促进涂布的表面活性剂和其它添加剂（例如，短链醇诸如乙醇）。

由水性混合物形成的发色纳米粒子被多价阳离子非共价交联。此交联使得所述纳米粒子不溶于水。非共价是指交联不涉及永久形成的共价（或化学）键。也就是说，交联不由致使形成较大新分子的化学反应产生，而是由阳离子与主体分子的静电和/或配位缔合产生，所述缔合足够强以能够不经历化学反应而将它们结合在一起。这些相互作用典型地为离子性的，并且可由主体分子上的形式负电荷与多价阳离子的形式正电荷交互作用而产生。由于所述多价阳离子具有至少两个正电荷，因此其能够与两个或更多个发色分子形成离子键。也就是说，在两个或更多个发色分子间形成交联。优选二价和/或三价阳离子。更优选大多数多价阳离子为二价。适宜的阳离子包括任何二价或三价阳离子，尤其优选钡、钙、镁、锌、铝和铁。

一般来讲，在形成包含水溶性聚合物连续相和发色材料不连续相的分散体之后，发色材料被交连。典型地，将所述分散体加入到含过量多价阳离子盐的溶液中。

非共价交联后，所述纳米粒子表面可被表面改性剂修饰，以使得所述粒子更加亲水、疏水、生物适合或具有更大的生物活性。所述表面基团在粒子表面上的含量足以形成表面改性的发色纳米粒子，所述粒子随后能够分散于连续相中而不会聚集。优选在发色纳米粒子表面上含有足量的表面基团以形成单层，优选连续单层。一般来讲，首先将交联的发色纳米粒子从水溶性聚合物分散体中分离出来，然后再悬浮于表面改性剂溶液中。

表面改性基团可衍生自表面改性剂。表面改性剂可示意性地由化学式 A-B 表示，其中 A 基团能够与发色纳米粒子表面连接，而 B 基团为赋予所期望亲水性、疏水性或生物相容性的增容基团。可选择增容基团，以使得粒子相对极性增强、相对极性减弱、或相对非极性。

适宜的表面改性剂类别包括碳、硫和磷的有机含氧酸，例如，烷基羧酸盐、烷基硫酸盐、烷基磺酸盐、烷基磷酸盐和烷基膦酸盐、配醣膦酸酯，以及它们的组合。以商品名 Tweens™ 和 Spans™ 购得的表面改性剂也是可用的。

具有羧酸官能团的极性表面改性剂的代表性实例包括酸或盐形式的具有化学结构  $\text{CH}_3\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{CH}_2\text{COOH}$  ( $n=2-50$ ) 的聚(乙烯乙二醇)一羧酸，和具有化学结构  $\text{CH}_3\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{COOH}$  的 2-(2-甲氧基乙氧基)乙酸。

具有羧酸官能团的非极性表面改性剂的代表性实例包括酸或盐形式的辛酸、十二酸和油酸。对于包含烯属不饱和度的羧酸(诸如油酸)而言，碳-碳双键可以 Z 或 E 立体异构体形式存在，或者为它们的混合物。

适宜的含磷酸的实例包括酸或盐形式的烷基膦酸，包括例如辛基

磷酸、癸基磷酸、十二烷基磷酸、十八烷基磷酸、油基磷酸和具有化学结构  $\text{CH}_3\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{CH}_2\text{CH}_2\text{PO}_3\text{H}_2$  ( $n=2-50$ ) 的聚(乙烯乙二醇)一磷酸。对于包含烯属不饱和度的磷酸(诸如油基磷酸)而言,碳-碳双键可以 Z 或 E 立体异构体形式存在,或者为它们的混合物。

适宜的含磷酸的其它实例还包括烷基磷酸酯,诸如磷酸一酯和二酯,包括例如磷酸辛酯、磷酸十二烷酯、磷酸油酯、磷酸二油酯、磷酸油基甲酯、和具有化学结构  $\text{CH}_3\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OPO}_3\text{H}_2$  ( $n=2-50$ ) 的聚(乙烯乙二醇)一磷酸。

在一些改性形式中,表面改性剂 A-B 中的 B 基团还可包含额外的特定官能团,以进一步调节发色纳米粒子的亲水性、疏水性或生物相容性。适宜的官能团包括但不限于羟基、羰基、酯、酰胺、醚、氨基和季铵官能团。

其它适宜的表面改性剂是具有聚合物性质的表面活性剂。

如果需要生物相容性,则所述发色纳米粒子可用配糖磷酸酯例如磷酸的葡糖苷、甘露糖苷和半乳糖苷来表面改性。

在一些实施例中,所述水性组合物可与贵金属盐溶液混合,以制得金属发色纳米粒子。随后,可使所述混合物与多价阳离子盐进行接触,以非共价交联发色材料,并掺入贵金属盐。

优选的贵金属盐包括银盐(例如,硝酸银、乙酸银等)、金盐(例如硫代苹果酸钠金、氯化金等)、铂盐(例如硝酸铂、氯化铂等)、以及它们的混合物。还可使用其它过渡金属。具体地讲,可使用一价过渡金属阳离子的盐。

所述金属盐可被还原,以制得包含在交联发色纳米粒子中的元素

性贵金属纳米粒子悬浮液。这可经由本领域中已知的还原方法来实现。例如，通过使用还原剂（例如，三（二甲基氨基）硼烷、硼氢化钠、硼氢化钾或硼氢化铵）、电子束（电子束）处理、或紫外（UV）光来实施还原。

所述金属纳米粒子可例如用于标签。它们可用于众多应用中，诸如医学影像、光学开关装置、光学通讯体系、红外光检测器、红外隐形装置、化学传感器、无源太阳辐射积聚或偏转装置等。

由水性混合物形成的交联发色纳米粒子可在水存在下暴露于酸，以将交联纳米粒子封装于壳中，所述壳包括含有发色材料、多价阳离子（来自多价阳离子盐）和酸阴离子的络合物。适宜的酸包括碳酸、磷酸、乳酸、柠檬酸、硼酸、硫酸、以及它们的混合物。优选的酸是碳酸和磷酸。

酸以一定的量存在，以使得所述交联发色纳米粒子不会充分溶解（例如，其量使得在 2 小时期间内，有不超过约 25 重量%（优选不超过约 10 重量%）的发色纳米粒子溶解）。当所述酸为例如磷酸时，1N 磷酸:水的重量比通常介于约 1:10 至约 1:300 之间（优选介于约 1:25 至约 1:100 之间；更优选约 1:50）。

有多种方式，可在水存在下使交联发色纳米粒子暴露于酸。例如，可将酸加入到含有交联发色纳米粒子的水溶液中，或者使交联发色纳米粒子与稀释的酸溶液混合。当待用的酸为碳酸时，可将包含含有交联发色纳米粒子的水溶液的容器与干冰一起放置于密封容器中，或者可将干冰鼓泡通过含有交联发色纳米粒子的水溶液。

可选地，所述发色纳米粒子除了复合壳以外，还可具有发色壳层。例如，通过在形成复合壳之前，将交联发色纳米粒子分散于包含发色材料的组合物中，然后制备包含分散体和水溶性聚合物连续相的第二

水性混合物，可添加内部发色壳层（也就是说，发色壳层位于发色纳米粒子与复合壳之间）。作为另外一种选择，或除了内部发色壳层以外，还可通过将封装于复合壳中的发色纳米粒子分散于包含发色材料的组合物中，然后制备包含所述分散体和水溶性聚合物连续相的第二水性混合物，来添加外部发色壳层。

上述任何发色材料均可用于包含发色材料的组合物中。包含发色材料的组合物中所用的发色材料可以是与第一水性混合物中所用那些相同的发色材料或不同的发色材料。例如，在一些应用中，使用两种在低 pH 条件下具有不同吸收性或不同稳定性的不同发色材料可以是有利的。

上文所述的任何水溶性聚合物可用于第二水性混合物的水溶性聚合物连续相中。用于第二水性混合物中的水溶性聚合物可以是与用于第一水性混合物中的那些相同的水溶性聚合物或不同的水溶性聚合物。

使用基本上与制备第一水性混合物时的描述相同的步骤，来制备第二水性混合物，不同的是组分的浓度将会变化。

对第二水性混合物而言，所述发色材料可溶解于水溶液中。一般来讲，将所述发色材料加入到所述溶液中，以获得所述溶液的约 0.1 重量% 至约 30 重量%（优选约 2 重量% 至约 20 重量%）范围内的浓度。可将交联发色纳米粒子分散于这种包含发色材料的水溶液中。然后，使此分散体与第二水溶性聚合物连续相混合，以制得第二水性混合物。通常，选择水溶性聚合物和发色材料的量，以使得以干重为基准，所述比率为至少约 1:1，且小于约 10:1。

可选地，可如上所述使用 pH 调节化合物、表面活性剂、和/或贵金属盐。

所述发色纳米粒子将被封装于第二不连续发色相的发色材料中。发色纳米粒子周围的这种发色材料“壳”或层的厚度典型地为从约几个分子厚（例如单层）至约 200 纳米。

所述发色壳层可被多价阳离子非共价交联。一般来讲，在第二水分散体形成后，将所述发色材料交联。通常，将所述分散体加入到含过量多价阳离子盐的溶液中。

在非共价交联后，可如上所述使第二不连续发色相与表面改性剂接触，以使得所述发色纳米粒子周围的发色材料壳层更加亲水、疏水、生物适合或具有更大的生物活性。

如果期望一个或多个附加的发色材料壳层，则可重复上述步骤。

本发明还可用于制备封装的宏观尺寸发色粒子。将上述发色材料放置于含有一种或多种 pH 调节化合物且可选地含有表面活性剂的水溶液中。

使包含发色材料的所得的水性混合物暴露于多价阳离子盐，以形成非共价交联发色粒子。可将粒子制成几乎任何期望的形状。例如，如果期望球形粒子，则可将包含发色材料的水性混合物滴加到包含多价阳离子盐的溶液中。可通过例如将包含发色材料的糊剂状水性混合物模制成所期望的形状，来形成其它成形粒子。

然后，如上所述，在水存在下，使所得的交联发色粒子暴露于酸，以将交联粒子封装于复合壳中，所述酸选自由下列物质组成的组：碳酸、磷酸、乳酸、柠檬酸、硼酸、硫酸、以及它们的混合物。

本发明提供了封装于壳中的发色粒子（纳米尺寸或宏观尺寸），

所述壳包括含有发色材料、多价阳离子和酸阴离子的络合物，所述酸阴离子选自由下列物质组成的组： $\text{HCO}_3^-$ 、 $\text{PO}_4^{3-}$ 、 $\text{CH}_3\text{CHOHCOO}^-$ 、 $\text{C}_3\text{H}_5\text{O}(\text{COO})_3^{3-}$ 、 $\text{BO}_3^{3-}$ 、 $\text{SO}_4^{2-}$ 、以及它们的混合物。所述复合壳可用于，例如，吸附应用（例如用于吸收某些蛋白、阳离子、小分子药物或催化剂）。本发明还可用于一种或多种客体化合物的可控释放。客体化合物可被封装于发色（纳米）粒子和/或任何可选的发色壳层中。

例如，所述复合壳可有效地分离在酸存在下不稳定的客体分子。因此，它们不会在封装于复合壳中时降解。

可用的客体化合物的实例包括染料、化妆品试剂、香料、调味剂和生物活性化合物，诸如药物、除草剂、杀虫剂、信息素和抗微生物剂（例如抗菌剂、杀真菌剂等）。本文中的生物活性化合物定义为旨在用于疾病诊断、治疗、缓解、处理或预防，或旨在用于影响生物活体结构或功能的化合物。旨在对生物体具有治疗功效的药物（也就是说，药物活性成分）是尤其可用的客体分子。作为另外一种选择，除草剂和杀虫剂是旨在对生物活体（诸如植物或害虫）具有不利功效的生物活性化合物实例。虽然任何类型的药物均可用于本发明中，但是尤其适宜的药物包括当配制成固体剂型时较不稳定的那些，受胃的低pH环境不利影响的那些，受胃肠道中酶作用不利影响的那些，以及适于经由持续或可控释放供给患者的那些。

复合壳和发色（纳米）粒子将选择性地使药物免受某些环境条件的作用，然后在其它环境条件下可控地递送药物。例如，当向动物给药时，所述复合壳在胃的酸性环境中是稳定的，而在进入肠的非酸性环境时溶解，这是pH变化的结果。发色材料还可保护药物免受酶降解作用。

通过将客体化合物加入到第一发色材料水溶液中，可将客体化合物含于或夹带于发色纳米粒子中。作为另外一种选择，在与发色材料

或多价阳离子溶液混合之前，可将客体化合物分散或溶解在另一种赋形剂或媒介物中，诸如油或推进剂。（纳米）粒子可通过例如过滤、喷雾、或其它方法来收集，并且干燥以除去含水载体。

在加入发色材料之前，可将客体化合物（诸如药物）溶解于包含分散剂的水溶液中。适宜的分散剂包括烷基磷酸盐、膦酸盐、磺酸盐、硫酸盐或羧酸盐，包括长链饱和脂肪酸或醇以及单或多不饱和脂肪酸或醇。油基膦酸是适宜分散剂的实例。虽然不受任何具体理论的束缚，但是据认为，所述分散剂有助于分散客体化合物，以使得它被更好地封装。

可在加入发色主体分子之前，将碱性化合物加入到客体化合物溶液中。作为另外一种选择，可在客体化合物与发色材料溶液混合之前，将碱性化合物加入到发色材料溶液中。适宜碱性化合物的实例包括乙醇胺、氢氧化钠或氢氧化锂、或胺，诸如一胺、二胺、三胺或多胺。虽然不受理论的束缚，但是据认为，碱性化合物有助于溶解主体化合物，尤其是当主体化合物为三嗪化合物时，诸如上文化学式 I 和 II 所描述的那些。

虽然可制备大粒子（例如，直径大约为若干毫米），但是本发明纳米粒子的质量中值直径尺寸典型地小于 1000 纳米，通常小于 500 纳米，并且在一些情况下小于 100 纳米。在某些实例中，期望粒子具有大于  $1\mu\text{m}$  的尺寸。具体地讲，这些粒度适用于口腔递送由于某些酶的存在而在肠中不稳定的药物。上述药物的实例包括蛋白、肽、抗体，以及其它对主体的酶作用尤其敏感的生物分子。在上述情况下，这些小粒子可被直接吸收到肠壁中，以使得粒子在通过肠道屏障后基本溶解，以致最大程度地降低了暴露于肠内环境的敏感药物的量。

然而在一些情况下，期望更大的粒子。例如，较大尺寸的粒子适于局部施用药物（例如，在糊剂或膏剂中）。

通过将客体化合物加入到发色材料的第二水溶液中，或者如果在沉淀前，不连续发色相为非共价交联多价阳离子溶液，则可使客体化合物含于或夹带于可选的发色壳层中。如上所述，在与发色材料或多价阳离子溶液混合之前，可将客体化合物分散或溶解在另一种赋形剂或媒介物中，诸如油或推进剂。

使发色（纳米）粒子和发色壳层溶解于一价阳离子或其它非离子化合物（诸如表面活性剂）的水溶液中。典型的一价阳离子包括钠和钾。溶解发色（纳米）粒子和发色壳层所需的一价阳离子浓度将取决于纳米粒子和壳层中发色分子的类型和含量。因此，可为纳米粒子和可选的发色壳层选择不同的发色材料，以使得它们以不同的浓度溶解。然而一般来讲，为完全溶解，应使得一价阳离子的摩尔数至少等于基质中羧基的摩尔数。如此，每个羧基至少有一个一价阳离子缔合。

然而，与发色（纳米）粒子和发色壳层相比，本发明的复合壳对一价阳离子和其它非离子化合物的水溶液呈现出增加的抗力。

本发明尤其可用于封装用于口服剂量递送的药物。代表性口服剂型包括固体剂型，诸如片剂和胶囊，但是还可包括其它口服给药的剂型，诸如液态悬浮液和糖浆。本发明的复合壳可在胃的酸性环境下稳定的时间长于 1 小时，有时长于 12 小时，并且可甚至稳定长于 100 小时。

### 实例

下面的实例进一步说明了本发明的目的和优点，但这些实例中列举的特定物质和用量以及其它条件和细节不应当理解为对本发明不适当的限制。

除非另外指明，所有的试剂和化合物均得自或可得自

Sigma-Aldrich Chemical Co. (St. Louis, MO)。如本文所用，“纯化水”是指可以商品名“OMNISOLVE”得自 EMD Chemicals, Inc. (Gibbstown, NJ) 的水。

所用的光学显微镜为可得自 Leica Microsystems, Inc. (Bannockburn, IL)的配备 FC6 低温附件的 UCT 型显微镜，并且在得自 Malvern Company (Worcestershire, UK)的 Malvern Zen 3600 上，使用动态光散射技术来进行测量。

#### 发色混合物（“发色混合物”）的制备

在烧瓶中，将包含具有化学式 IV 结构的发色化合物（30 重量%）在纯化水中的混合物电磁搅拌约 45 分钟，以制得白色糊剂。将新制得的氢氧化钠溶液（在纯化水中 50 重量%）滴加到包含白色糊剂的烧瓶中，直至其外观变为乳脂状液晶溶液。在此加入过程期间，通过控制氢氧化钠溶液的加入，使此混合物的 pH 保持等于或小于 7.5。根据需要使用时所得的到乳脂状液晶溶液。

#### 发色混合物-HPMC 乳状液（“发色物-HPMC”）的制备

通过在室温下搅拌 30 分钟，将一部分发色混合物分散在包含羟丙基甲基纤维素的溶液中（HPMC，在纯化水中 25%；发色混合物与 HPMC 溶液的比率按重量计为 1:20）。

然后将此乳状液(0.6g)加入到包含氯化钙和氯化锌（各为 5 重量%）的水溶液(10mL)中。在室温下将此溶液摇晃 30 分钟，并且以 3500rpm 的速度离心 20 分钟。然后弃去所得的上清液。用纯化水(10mL)洗涤留下的残留物，并且以 3500rpm 的速度再离心 20 分钟。当在光学显微镜下观测并且使用动态光散射技术测量时，发出蓝色荧光的所得的残留物样本表明其包含 500nm 范围内的粒子。

#### 磷酸盐缓冲剂盐水溶液(PBS)的制备

通过使用磁力搅拌器将储备液 A(200mL)与储备液 B(60mL)混合 15 分钟, 并且按需要使用储备液 B 将 pH 调节至 7.5, 来制备所述溶液。储备液 A 在纯化水(200mL)中包含磷酸氢二钠(1g)和氯化钠(1.7g)。储备液 B 在纯化水(200mL)中包含磷酸氢二钠(0.56g)和氯化钠(1.7g)。

### 实例 1 和 2

将发色物-HPMC 的一部分(1.0g)加入到氯化钙(10%)的纯化水溶液中, 并且使其静置 10 分钟, 然后使用分离筛 (Gyrotory Shaker - G2 型, New Brunswick Scientific Co., Inc., Edison, NJ, USA) 在室温下再摇动 30 分钟。然后将敞开容器中的此混合物在包含干冰的密封广口瓶中保持 6 小时。之后, 以 3500rpm 的速度将所述样本离心 20 分钟。然后弃去所得的上清液。用纯化水(10mL)洗涤留下的残留物, 并且以 3500rpm 的速度再离心 20 分钟。当在光学显微镜下观测并且使用动态光散射技术测量时, 发出蓝色荧光的所得的残留物样本表明其包含 500nm 范围内的粒子。

通过加入到 PBS(5mL)中, 并且在室温下搅拌如表 1 中所述的一段时间, 来测试所得的残留物样本(1.0g)。在指定的时段后, 以 3500rpm 的速度将样本离心 20 分钟。然后弃去所得的上清液。将所得的残留物重量与相同样本的起始重量进行对比, 来计算残留量, 将其以残留百分数形式记录于表 1 中。

### 比较例 1 和 2

使用与实例 1 和 2 中所述相同的步骤来制备和分析样本, 不同的是, 在将样本摇动 30 分钟后, 使其保持静置 4 小时, 并且不在干冰的存在下放置。所得的结果同样包括在表 1 中。

表 1

实例	说明	时间 (小时)	残留百分数
C1	无干冰	24	52
1	有干冰	24	74
C2	无干冰	48	30
2	有干冰	48	45

比较实例 3

自 2mL 吸移管中, 在 5 分钟时间内将一部分发色混合物(1.0 g)滴加到 10% 的氯化钙(10mL)纯化水溶液中, 以形成直径约 5mm 的大珠。然后将此混合物按原样在室温下保存 12 小时。弃去上清液, 并且用纯化水(10mL)洗涤留下的残留物。将 PBS(10mL)加入到残留物中, 并且在室温下将所述混合物轻轻摇动如表 2 中所述的一段时间。残留物完全溶解所用的时间(定义为残留物不再可见的时间)列于表 2 中。

实例 3

自 2mL 吸移管中, 在 5 分钟时间内将一部分发色混合物(1.0 g)滴加到 10% 的氯化钙(10mL)纯化水溶液中, 以形成直径约 5mm 的大珠。在使样本从其放置到密封容器时的起始冰冻状态解冻后, 将敞开容器中的此混合物在包含干冰的密封广口瓶中保存 2 小时。弃去上清液, 并且用纯化水(10mL)洗涤留下的残留物。将 PBS(10mL)加入到残留物中, 并且在室温下将所述混合物轻轻摇动如表 2 中所述的一段时间。残留物完全溶解所用的时间(定义为残留物不再可见的时间)列于表 2 中。

实例 4

自 2mL 吸移管中, 在 5 分钟时间内将一部分发色混合物(1.0 g)滴加到 10% 的氯化钙(10mL)纯化水溶液中, 以形成直径约 5mm 的大珠。在使样本从其放置到密封容器时的起始冰冻状态解冻后, 将敞

开容器中的此混合物在包含干冰的密封广口瓶中保存 12 小时。弃去上清液，并且用纯化水(10mL)洗涤留下的残留物。将 PBS(10mL)加入到残留物中，并且在室温下将所述混合物轻轻摇动如表 2 中所述的一段时间。残留物完全溶解所用的时间（定义为残留物不再可见的时间）列于表 2 中。

#### 实例 5

自 2mL 吸移管中，在 5 分钟时间内将一部分发色混合物(1.0 g)滴加到 10% 的氯化钙(10mL)纯化水溶液中，以形成直径约 5mm 的大珠。使此混合物保持静置 5 分钟。之后，弃去上清液。将纯化水(10ml)加入到留下的大珠中，轻轻涡旋 20 秒，并且弃去上清液。然后将包含磷酸(0.1g, 1N)的纯化水(10mL)加入到所得的残留物中，并且使此混合物保持静置 5 分钟。弃去上清液，并且用纯化水(10mL)洗涤留下的残留物。将 PBS(10mL)加入到残留物中，并且在室温下将所述混合物轻轻摇动如表 2 中所述的一段时间。残留物完全溶解所用的时间（定义为残留物不再可见的时间）列于表 2 中。

#### 实例 6

自 2mL 吸移管中，在 5 分钟时间内将一部分发色混合物(1.0 g)滴加到 10% 的氯化钙(10mL)纯化水溶液中，以形成直径约 5mm 的大珠。使此混合物保持静置 5 分钟。之后，弃去上清液。将纯化水(10ml)加入到留下的大珠中，轻轻涡旋 20 秒，并且弃去上清液。然后将包含磷酸(0.1g, 1N)的纯化水(10mL)加入到所得的残留物中，并且使此混合物保持静置 12 小时。弃去上清液，并且用纯化水(10mL)洗涤留下的残留物。将 PBS(10mL)加入到残留物中，并且在室温下将所述混合物轻轻摇动如表 2 中所述的一段时间。残留物完全溶解所用的时间（定义为残留物不再可见的时间）列于表 2 中。

表 2

实例	复合剂	反应时间	在 PBS 中直至溶解的时间
C3	无	12 小时	1
3	二氧化碳	2 小时	2
4	二氧化碳	12 小时	8
5	磷酸	5 分钟	18
6	磷酸	12 小时	大于 150

在不偏离本发明的范围和精神的前提下，对本发明的各种改进和改变对于本领域技术人员将是显而易见的。应该理解，本发明不限于以上提供的示例性实施例和实例，上述实例和实施例仅以举例的方式提出，而且本发明的范围仅受以下所附的权利要求书的限制。