



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102238966 B

(45) 授权公告日 2014. 08. 06

(21) 申请号 200980149152. 5

代理人 吴小明

(22) 申请日 2009. 12. 07

(51) Int. Cl.

(30) 优先权数据

102008060603. 0 2008. 12. 06 DE

102009015085. 4 2009. 03. 31 DE

102009032359. 7 2009. 07. 08 DE

A61K 47/48 (2006. 01)

A61K 49/00 (2006. 01)

审查员 陈玉平

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2011. 06. 07

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2009/008718 2009. 12. 07

(87) PCT国际申请的公布数据

W02010/063491 DE 2010. 06. 10

(73) 专利权人 贝朗医疗有限公司

地址 德国梅尔松根

(72) 发明人 贝恩德·霍斯特·迈耶

艾丽斯·特蕾西娅·扬科维亚克-迈耶

耶

内莱·迈耶 克拉拉·迈耶

(74) 专利代理机构 中科专利商标代理有限责任

公司 11021

权利要求书6页 说明书16页 附图1页

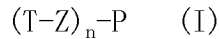
(54) 发明名称

转运介导的胶体药用化合物

(57) 摘要

本发明涉及结合转运介质的胶体,所述胶体包含药物或荧光标记,涉及所述胶体的制备方法,和包含所述化合物的药物制剂。

1. 通式 (I) 化合物,



其中

- T 为转运介质 ;
- P 为胶体 - 活性化合物 ;
- Z 为第一接头, T 和 P 通过所述第一接头共价地连接在一起 ; 和
- n 为至少 1 的整数 ;

并且其中所述转运介质 T 和 / 或所述胶体 - 活性化合物 P 带有 m 个基团 -(L-A), 其中

- A 为药用活性物质或荧光标记 ;

• L 为第二接头, P 通过所述第二接头与 A 共价连接, 和 / 或 T 通过所述第二接头与 A 共价连接 ; 和

- m 为至少 1 的整数,

所述转运介质 T 为选自肝素和硫酸肝素组成的组 ;

所述胶体 - 活性化合物 P 选自由下列组成的组 : 羟烷基淀粉, 羧基烷基淀粉, 羟烷基羧基烷基淀粉, 胺化羟烷基淀粉, 胺化羟烷基羧基烷基淀粉和胺化羧基烷基淀粉 ;

所述接头 Z 为选自羧酸酯、羧酸酰胺、氨基甲酸乙酯、醚和胺基基团的官能团, 或包含所述基团 ;

所述药用活性化合物 A 选自由下列组成的组 : 抗生素, 细胞生长抑制剂, 抗原, 寡核苷酸, 止痛药和细胞毒性物质 ;

所述第二接头 L 为选自羧酸酯、羧酸酰胺、氨基甲酸乙酯、醚和胺基基团的官能团, 或包含所述基团。

2. 根据权利要求 1 所述的化合物, 其特征在于所述转运介质具有至少一个用于与细胞结合结构域缔合的结合位点。

3. 根据权利要求 1 所述的化合物, 其特征在于所述转运介质 T 为具有少于 6 个糖单元的肝素或硫酸肝素。

4. 根据权利要求 1 所述的化合物, 其特征在于所述胶体 - 活性化合物 P 选自羟乙基淀粉或胺化羟乙基淀粉。

5. 根据权利要求 1 所述的化合物, 其特征在于所述胶体 - 活性化合物具有 20,000-800,000 道尔顿的平均分子量。

6. 根据权利要求 1 所述的化合物, 其特征在于所述胶体 - 活性化合物具有 25,000-500,000 道尔顿的平均分子量。

7. 根据权利要求 1 所述的化合物, 其特征在于所述胶体 - 活性化合物具有 30,000-200,000 道尔顿的平均分子量。

8. 根据权利要求 4 所述的化合物, 其特征在于所述羟乙基淀粉的取代度 DS 为 0.2-0.8。

9. 根据权利要求 4 所述的化合物, 其特征在于所述羟乙基淀粉的取代度 DS 为 0.3-0.6。

10. 根据权利要求 1 所述的化合物, 其特征在于所述药用活性化合物 A 选自化疗药。

11. 根据权利要求 1-10 中任一项所述的化合物, 其特征在于所述荧光标记选自由下列

组成的组：异硫氰酸荧光素 (FITC)，藻红蛋白，罗丹明 (rhodamide) 和 2-氨基吡啶。

12. 根据权利要求 1-10 中任一项所述的化合物，所述化合物可通过所述胶体 - 活性化合物 P 的至少一个游离的下述基团：

- 异氰酸酯基 -NCO；
- 羧基 -COOH；
- 卤化甲酰基 -CO-A，其中 A=Cl, Br 或 I；
- 亚烷基羧基 $-(CH_2)_q-COOH$ ，其中 $q=1-10$ ；
- 酯基 -COOR，其中 R= 有机基团；
- 或环氧基；

与所述转运介质 T 的游离羟基 -OH 的反应形成接头 Z 来获得，其中所述胶体 - 活性化合物 P 和 / 或转运介质 T 与 m 个单元 -(L-A) 连接。

13. 根据权利要求 1-10 中任一项所述的化合物，所述化合物可通过所述胶体 - 活性化合物 P 的至少一个游离的

- 羟基 -OH

与所述转运介质 T 的游离的下述基团反应形成接头 Z 来获得：

- 异氰酸酯基 -NCO；
- 羧基 -COOH；
- 卤化甲酰基 -CO-A，其中 A=Cl, Br 或 I；
- 亚烷基羧基 $-(CH_2)_q-COOH$ ，其中 $q=1-10$ ；
- 酯基 -COOR，其中 R= 有机基团；
- 或环氧基；

其中所述胶体 - 活性化合物 P 和 / 或转运介质 T 与 m 个单元 -(L-A) 连接。

14. 根据权利要求 1-10 中任一项所述的化合物，所述化合物可通过所述胶体 - 活性化合物 P 的至少一个游离的

- 氨基 $-NH_2$

与所述转运介质 T 的游离的下述基团反应形成接头 Z 来获得：

- 异氰酸酯基 -NCO；
- 羧基 -COOH；
- 卤化甲酰基 -CO-A，其中 A=Cl, Br 或 I；
- 亚烷基羧基 $-(CH_2)_q-COOH$ ，其中 $q=1-10$ ；
- 酯基 -COOR，其中 R= 有机基团；
- 或环氧基；

其中所述胶体 - 活性化合物 P 和 / 或转运介质 T 与 m 个单元 -(L-A) 连接。

15. 根据权利要求 1-10 中任一项所述的化合物，所述化合物可通过所述胶体 - 活性化合物 P 的至少一个游离的下述基团：

- 异氰酸酯基 -NCO；
- 羧基 -COOH；
- 卤化甲酰基 -CO-A，其中 A=Cl, Br 或 I；
- 亚烷基羧基 $-(CH_2)_q-COOH$ ，其中 $q=1-10$ ；

- 酯基 $-\text{COOR}$, 其中 $R=$ 有机基团 ;
- 或环氧基 ;

与上述转运介质 T 的游离氨基 $-\text{NH}_2$ 的反应形成接头 Z 来获得, 其中所述胶体 - 活性化合物 P 和 / 或转运介质 T 与 m 个单元 $-(\text{L}-\text{A})$ 连接。

16. 根据权利要求 1-10 中任一项所述的化合物, 所述化合物可通过所述胶体 - 活性化合物 P 的至少一个游离的

- 羟基 $-\text{OH}$;或
- 氨基 $-\text{NH}_2$

与上述转运介质 T 的游离的下述基团反应形成接头 Z 来获得 :

- 异氰酸酯基 $-\text{NCO}$;
- 羧基 $-\text{COOH}$;
- 卤化甲酰基 $-\text{CO}-\text{A}$, 其中 $\text{A}=\text{Cl}, \text{Br}$ 或 I ;
- 亚烷基羧基 $-(\text{CH}_2)_q-\text{COOH}$, 其中 $q=1-10$;
- 酯基 $-\text{COOR}$, 其中 $R=$ 有机基团 ;
- 或环氧基 ;

其中所述胶体 - 活性化合物 P 和 / 或转运介质 T 与 m 个单元 $-(\text{L}-\text{A})$ 连接。

17. 根据权利要求 1-10 中任一项所述的化合物, 所述化合物可通过通式 II 的二胺 $\text{R}^1(-\text{NH}_2)_2$ (II)

其中 R^1 选自 :

- 单键 ;
- 直链或支链的、饱和的或不饱和的、脂族或脂环族的具有 1-22 个碳原子的烃基 ;
- 芳基中具有 5-12 个碳原子的芳基、芳基 $-\text{C}_1-\text{C}_4-$ 烷基和芳基 $-\text{C}_2-\text{C}_6-$ 烯基, 它们可以任选地被 C_1-C_6 烷基和 / 或 C_2-C_6 烷氧基取代 ;或

• 杂芳基中具有 3-8 个碳原子且含有一个或两个选自 N、O 和 S 的杂原子的杂芳基、杂芳基 $-\text{C}_1-\text{C}_4-$ 烷基和杂芳基 $-\text{C}_2-\text{C}_6-$ 烯基, 它们可以被 C_1-C_6 烷基和 / 或 C_2-C_6 烷氧基取代 ;

与上述转运介质 T 的游离的官能团和所述胶体 - 活性化合物 P 的至少一个游离的官能团反应形成接头 Z 来获得, 所述官能团独立地选自 :

- 异氰酸酯基 $-\text{NCO}$;
- 羧基 $-\text{COOH}$;
- 卤化甲酰基 $-\text{CO}-\text{A}$, 其中 $\text{A}=\text{Cl}, \text{Br}$ 或 I ;
- 亚烷基羧基 $-(\text{CH}_2)_q-\text{COOH}$, 其中 $q=1-10$;
- 酯基 $-\text{COOR}$, 其中 $R=$ 有机基团 ;
- 或环氧基 ;

其中所述胶体 - 活性化合物 P 和 / 或转运介质 T 与 m 个单元 $-(\text{L}-\text{A})$ 连接。

18. 根据权利要求 1-10 中任一项所述的化合物, 所述化合物可通过通式 III 的二醇 : $\text{R}^2(-\text{OH})_2$ (III),

其中 R^2 选自

- 直链或支链的、饱和的或不饱和的、脂族或脂环族的具有 2-22 个碳原子的烃基 ;
- 芳基中具有 5-12 个碳原子的芳基、芳基 $-\text{C}_1-\text{C}_4-$ 烷基和芳基 $-\text{C}_2-\text{C}_6-$ 烯基, 它们可以

任选地被 C_1-C_6 烷基和 / 或 C_2-C_6 烷氧基取代 ; 或

• 杂芳基中具有 3-8 个碳原子且含有一个或两个选自 N、O 和 S 的杂原子的杂芳基、杂芳基 $-C_1-C_4-$ 烷基和杂芳基 $-C_2-C_6-$ 烯基, 它们可以被 C_1-C_6 烷基和 / 或 C_2-C_6 烷氧基取代 ;

与上述转运介质 T 的游离的官能团和所述胶体 - 活性化合物 P 的至少一个游离的官能团反应形成接头 Z 来获得, 所述官能团独立地选自 :

- 异氰酸酯基 $-NCO$;
- 羧基 $-COOH$;
- 卤化甲酰基 $-CO-A$, 其中 $A=Cl, Br$ 或 I ;
- 亚烷基羧基 $-(CH_2)_q-COOH$, 其中 $q=1-10$;
- 酯基 $-COOR$, 其中 $R=$ 有机基团 ;
- 或环氧基 ;

其中所述胶体 - 活性化合物 P 和 / 或转运介质 T 与 m 个单元 $-(L-A)$ 连接。

19. 根据权利要求 1-10 中任一项所述的化合物, 所述化合物可通过通式 IV 的二羧酸 $R^3(-COOH)_2$ (IV)

其中 R^3 选自

- 单键 ;
- 直链或支链的、饱和的或不饱和的、脂族或脂环族的具有 1-22 个碳原子的烃基 ;
- 芳基中具有 5-12 个碳原子的芳基、芳基 $-C_1-C_4-$ 烷基和芳基 $-C_2-C_6-$ 烯基, 它们可以任选地被 C_1-C_6 烷基和 / 或 C_2-C_6 烷氧基取代 ; 或

• 杂芳基中具有 3-8 个碳原子且含有一个或两个选自 N、O 和 S 的杂原子的杂芳基、杂芳基 $-C_1-C_4-$ 烷基和杂芳基 $-C_2-C_6-$ 烯基, 它们可以被 C_1-C_6 烷基和 / 或 C_2-C_6 烷氧基取代 ;

与上述转运介质 T 的游离的官能团和所述胶体 - 活性化合物 P 的至少一个游离的官能团反应形成接头 Z 来获得, 所述官能团独立地选自 :

- 氨基 $-NH_2$; 或
- 羟基 $-OH$;

其中所述胶体 - 活性化合物 P 和 / 或转运介质 T 与 m 个单元 $-(L-A)$ 连接。

20. 根据权利要求 1-10 中任一项所述的化合物, 所述化合物可通过通式 V 的二 (卤化甲酰)

$R^4(-CO-A)_2$ (V)

其中 $A=Cl, Br$ 或 I , 且 R^4 选自

- 单键 ;
- 直链或支链的、饱和的或不饱和的、脂族或脂环族的具有 1-22 个碳原子的烃基 ;
- 芳基中具有 5-12 个碳原子的芳基、芳基 $-C_1-C_4-$ 烷基和芳基 $-C_2-C_6-$ 烯基, 它们可以任选地被 C_1-C_6 烷基和 / 或 C_2-C_6 烷氧基取代 ; 或

• 杂芳基中具有 3-8 个碳原子且含有一个或两个选自 N、O 和 S 的杂原子的杂芳基、杂芳基 $-C_1-C_4-$ 烷基和杂芳基 $-C_2-C_6-$ 烯基, 它们可以被 C_1-C_6 烷基和 / 或 C_2-C_6 烷氧基取代 ;

与上述转运介质 T 的游离的官能团和所述胶体 - 活性化合物 P 的至少一个游离的官能团反应形成接头 Z 来获得, 所述官能团独立地选自 :

- 氨基 $-NH_2$; 或

- 羟基 -OH ;

其中所述胶体 - 活性化合物 P 和 / 或转运介质 T 与 m 个单元 -(L-A) 连接。

21. 根据权利要求 1-10 中任一项所述的化合物,所述化合物可通过通式 VI 的二酯
 $R^5(-COOR')_2$ (VI)

其中 R' 为 C₁₋₁₀ 烷基且 R⁵ 选自

- 单键 ;
- 直链或支链的、饱和的或不饱和的、脂族或脂环族的具有 1-22 个碳原子的烃基 ;
- 芳基中具有 5-12 个碳原子的芳基、芳基 -C₁-C₄- 烷基和芳基 -C₂-C₆- 烯基,它们可以任选地被 C₁-C₆ 烷基和 / 或 C₂-C₆ 烷氧基取代 ;或

• 杂芳基中具有 3-8 个碳原子且含有一个或两个选自 N、O 和 S 的杂原子的杂芳基、杂芳基 -C₁-C₄- 烷基和杂芳基 -C₂-C₆- 烯基,它们可以被 C₁-C₆ 烷基和 / 或 C₂-C₆ 烷氧基取代 ;

分别与上述转运介质 T 的一个游离的官能团和上述胶体 - 活性化合物 P 的至少一个游离的官能团反应形成接头 Z 来获得,所述官能团独立地选自 :

- 氨基 -NH₂ ;或
- 羟基 -OH ;

其中所述胶体 - 活性化合物 P 和 / 或转运介质 T 与 m 个单元 -(L-A) 连接。

22. 根据权利要求 1-10 中任一项所述的化合物,所述化合物可通过通式 VII 的二异氰酸酯

$R^6(-NCO)_2$ (VII)

其中 R⁶ 选自

- 直链或支链的、饱和的或不饱和的、脂族或脂环族的具有 1-22 个碳原子的烃基 ;
- 芳基中具有 5-12 个碳原子的芳基、芳基 -C₁-C₄- 烷基和芳基 -C₂-C₆- 烯基,它们可以任选地被 C₁-C₆ 烷基和 / 或 C₂-C₆ 烷氧基取代 ;或

• 杂芳基中具有 3-8 个碳原子且含有一个或两个选自 N、O 和 S 的杂原子的杂芳基、杂芳基 -C₁-C₄- 烷基和杂芳基 -C₂-C₆- 烯基,它们可以被 C₁-C₆ 烷基和 / 或 C₂-C₆ 烷氧基取代 ;

分别与上述转运介质 T 的一个游离的官能团和上述胶体 - 活性化合物 P 的至少一个游离的官能团反应形成接头 Z 来获得,所述官能团独立地选自 :

- 氨基 -NH₂ ;或
- 羟基 -OH ;

其中所述胶体 - 活性化合物 P 和 / 或转运介质 T 与 m 个单元 -(L-A) 连接。

23. 根据权利要求 1-10 中任一项所述的化合物,所述化合物可通过二环氧化物分别与上述转运介质 T 的一个游离的官能团和上述胶体 - 活性化合物 P 的至少一个游离的官能团反应形成接头 Z 来获得,所述官能团独立地选自 :

- 氨基 -NH₂ ;或
- 羟基 -OH ;

其中所述胶体 - 活性化合物 P 和 / 或转运介质 T 与 m 个单元 -(L-A) 连接。

24. 根据权利要求 1-10 中任一项所述的化合物,所述化合物可通过具有游离氨基 -NH₂ 的胶体 - 活性化合物 P 与具有至少一个醛基或酮基的转运介质 T 的还原性胺化来获得,并且其中所述胶体 - 活性化合物 P 和 / 或转运介质 T 与 m 个单元 -(L-A) 连接。

25. 根据权利要求 24 所述的化合物,其特征在于所述具有氨基的胶体-活性化合物 P 选自由下列组成的组:胺化羟烷基淀粉,胺化羟烷基羧基烷基淀粉,和胺化羧基烷基淀粉。

26. 根据权利要求 1 所述的化合物,其特征在于所述转运介质 T 为肝素,和所述胶体-活性化合物 P 为羟乙基淀粉,并且所述第一接头 Z 为 -NH 基团。

27. 一种药物制剂,所述药物制剂包含根据权利要求 1-26 中任一项所述的化合物。

28. 根据权利要求 27 所述的药物制剂,其特征在于所述制剂是水性的和可注射的。

29. 一种制备根据权利要求 1-26 中任一项所述的通式 (I) 化合物的方法,所述方法通过将转运介质 T 与胶体-活性化合物 P 连接形成接头 Z;T 和 P 通过所述接头 Z 彼此共价连接,并且其中所述胶体-活性化合物 P 和 / 或所述转运介质 T 与 m 个单元 -(L-A) 连接。

30. 根据权利要求 29 所述的方法,其特征在于所述转运介质 T 和胶体-活性化合物 P 的连接受还原性胺化的影响。

31. 根据权利要求 29 或 30 所述的方法,其特征在于,在第一步骤中,在还原剂的存在下所述胶体-活性化合物 P 与转运介质 T 反应,所述胶体-活性化合物 P 选自由胺化羟烷基淀粉、胺化羟基烷基羧基烷基淀粉和胺化羧基烷基淀粉组成的组。

32. 根据权利要求 31 所述的方法,其特征在于所述还原剂选自由 LiAlH_4 , LiBH_4 , NaBH_4 和 NaBH_3CN 组成的组。

转运介导的胶体药用化合物

[0001] 本发明涉及与转运介质结合的胶体,所述胶体可以包含药用化合物或荧光标记,本发明涉及所述胶体的制备方法,和包含所述化合物的药物制剂。

[0002] 与胶体的共价结合能使物质通过吞噬作用引入至免疫系统的细胞中,在没有所述修饰作用的条件下,该细胞不会摄入所述物质,或即使摄入也仅摄入可忽略量的所述物质。EP 1 230 935 A1 描述了药用活性物质与多糖化学结合以形成接头。对于广泛数量的胶体和粒子,已经证明了物质被网状组织细胞系统的相应特化细胞 (specialized cells) 摄取。然而,将较大分子引入至身体中不擅长吞噬作用的细胞中是存在问题的。另外,被巨噬细胞吞噬的粒子和胶体在被摄取至细胞中后非常迅速地被摄入至溶酶体中,在溶酶体中它们被多种分解酶降解。溶酶体的酶性潜力很高;广泛数量的药用化合物被溶酶体的酶类迅速地相应降解。在沙眼衣原体 (*Chlamydia trachomatis*) 中,已知此细菌被真核生物上皮细胞摄取,但不会在溶酶体中被酶降解。肝素或硫酸肝素的存在可以显著地减少此摄取。Stephens 等 (*Infection and Immunity* (感染和免疫), 2000 年 3 月, 1080-1085 页, 卷 68, No. 3) 显示此作用基于对肝素结合结构域的阻断。

[0003] 相反,作者显示聚苯乙烯微球在被肝素包被后通过胞吞作用被摄取至真核细胞中。肝素本身结合广泛数量的酶。血清中超氧化物歧化酶活性增加的患者经常显示酶的突变变异体 (CHU 等, *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* (动脉硬化、血栓形成和血管生物学), 2006 ; 26 : 1985)。

[0004] 突变变异体 (R213G) 在位置 213 处具有甘氨酸代替氨基酸精氨酸。因此,酶不可能与肝素结合。因此,受累患者具有针对该酶增加的活性,因为该酶主要存在于血清中而非存在于细胞中。对于此遗传缺陷的携带者来说,这意味着缺血性心脏病的发生风险增加了 2.3 倍。EP 083 768 A1 描述了直接肝素-蛋白缀合物,其中肝素的末端醛糖结合于丝氨酸蛋白酶抑制蛋白 (serpin) 的 N-末端氨基从而增强丝氨酸蛋白酶抑制蛋白在凝血和呼吸窘迫综合征中的作用。在与肝素结合后,蛋白和酶非常迅速地从血清中清除。小于 70kDa 的小蛋白在首次经过肾的过程中就几乎完全消失。另外,广泛数量的蛋白已知存在稳定性和溶解性的问题,通过与水溶性多糖的共价结合可以有利地影响所述稳定性和溶解性。

[0005] 肝素属于葡糖胺聚糖类,其由硫酸化二糖单元的直链构成。每个二糖单元由一个己糖醛酸构成,其可变地由葡糖醛酸或艾杜糖醛酸和 2-氨基-2-脱氧-D-葡萄糖或 N-磺基-D-葡糖胺组成。象多糖一样,肝素和葡糖胺聚糖在末端处具有游离的醛基。肝素在细胞内几乎专门在肥大细胞中出现。然而,较高程度硫酸化的肝素,或硫酸肝素几乎存在于高等哺乳动物的细胞膜上的各个地方,无论何种器官。

[0006] 肝素的抗凝作用主要基于其对丝氨酸蛋白酶抑制剂抗凝血酶 III 的亲合性。对 AT III 具有所述作用的最小的肝素单元包括在葡糖胺基团处具有 3-O-硫酸根基团的 5 个糖单元。此五糖可以形成肝素/ATIII 复合物,其抑制凝血因子 Xa。凝血酶也可以通过结合特定的肝素结构而被抑制,但该特定结构不存在于五糖上,其仅具有 5 个糖单元。对于凝血酶的抑制,肝素化合物必需具有至少 18 个糖单元。

[0007] 分子大小和硫酸化 (sulfatation) 的程度不仅在肝素对凝血因子的选择作用中,

而且在与各种各样的内源性细胞因子和生长因子的相互作用中都是至关重要的。肝素与成纤维细胞生长因子 (FGF) 的相互作用需要最小数量的 18 个在 C2 处存在氧原子的特定硫酸化的葡糖胺聚糖单元。来自 8 个糖单元的硫酸化肝素显示对血管发生的抑制性作用。对于这些硫酸化的八糖, 讨论对肿瘤细胞中血管发生的抑制作用。同时, 这些肝素似乎对凝血没有作用。分子大小和化学性质, 诸如硫酸根 (sulfate)、羧基和氨基的数量和定位对肝素的作用具有至关重要的影响。硫酸根基团和重要性稍次的艾杜糖醛酸和葡糖醛酸基团的羧基具有这样的作用, 即肝素是哺乳动物中负电性最强的带电分子之一。分子大小以及硫酸根和羧基的数量和位置产生肝素分子上的比电荷分布图 (charge pattern) 或比电荷分布。比电荷分布在化合物对促凝血蛋白和蛋白酶的亲和性中具有至关重要的作用, 并且在化合物对内皮细胞的肝素结合结构域的亲和性中也具有至关重要的作用。肝素的转运介导功能在细胞膜上展现, 其甚至更强烈地依赖于葡糖胺聚糖的电荷结构。因此, 肝素作为转运介质共价结合至水溶性多糖中与药用活性化合物的结合基本上不同。如果可能的话, 肝素应当以下列的方式与胶体结合: 具有限定数量的二糖单元和电荷的结合位点与细胞的肝素结合结构域立体选择性地相匹配。这意味着肝素的此区段仍然是未被化学键合的, 并且另外, 未被其余的分子位阻。如同肝素对 ATIII 和凝血酶的特异性作用一样, 硫酸化己糖醛酸和从该多糖自由伸出的氨基脱氧葡萄糖单元的链长和数量在此情况下也是非常重要的。另外, 存在一些提示: 与肝素结合结构域相关的肝素分子的区段更合适地存在于肝素分子的中间。分子中用于所述的与结合结构域的缔合的部分由于存在羧基和硫酸根基团而带有强负电性的电荷。如果可能的话, 对于这些位点, 应该防止借助于接头与多糖的共价结合对此立体特异性相关的电荷分布图的阻断或干扰。

[0008] 作为一种绝对直链的葡糖胺聚糖, 肝素具有可以被利用用于与其他分子结合的官能团。在艾杜糖醛酸和葡糖醛酸的区域中, 羧基存在于 C6 处。在第一糖单元的 C2 和 C3 和 C1 处有羟基。每个第二糖基在 C2 原子处带有氨基。此氨基和羧基可以被硫酸化。最后, 肝素在末端处带有醛基。

[0009] 已知在一些编码蛋白的基因中的点突变导致二氨基一元羧酸被其他氨基酸置换。在这些情况的一些中 (超氧化物歧化酶), 氨基酸序列的此变化伴随着结合硫酸肝素的能力丧失, 因此该蛋白不再被转运至细胞中。这些结果也证明肝素作为转运介质结合至大分子中, 即, 为了调节通过细胞膜, 依赖于对一部分大分子的区域选择条件。在此, 不通过肽键连接的氨基的丢失意味着丧失了结合转运介质肝素的能力。在医疗技术中, 常常试图通过与肝素的非特异性共价键合阻止植入物处血凝块的形成。

[0010] 为了将药用活性物质引入至身体的特定器官和细胞系统, 必需满足下列的条件:

[0011] 1. 也在不擅长吞噬作用的细胞中实现对结合的药剂的摄取。

[0012] 2. 在通过外细胞膜后, 结合的药剂应当不被摄入至溶酶体中, 并且应当不被酶降解。

[0013] 3. 由与转运介质和 / 或胶体共价结合的药剂组成的药剂复合物应当是水溶性的并且在血液中循环充分的时间。

[0014] 4. 该药剂复合物应当对凝血没有影响。

[0015] 出人意料地, 现在已经发现转运介质与胶体 (胶体 - 活性化合物) 的键合解决了上述问题并且特别地, 作为用于药剂和 / 或与其共价连接的荧光标记的适当转运系统来起

作用。当胶体和转运介质立体选择性地连接在一起时,这特别地适用。另外,已经出人意料地发现,如果转运介质 / 胶体化合物的立体特异性结构仍然没有与细胞结合结构域缔合和结合,则键合产物可以与膜结合的和细胞内的结合结构域结合。

[0016] 本发明涉及通式 (I) 的化合物

[0017] $(T-Z)_n-P$ (I)

[0018] 其中

[0019] ● T 为转运介质 ;

[0020] ● P 为胶体 - 活性化合物 ;

[0021] ● Z 为第一接头, T 和 P 通过所述第一接头共价地连接在一起 ; 和

[0022] ● n 为至少 1 的整数 ;

[0023] 并且其中所述转运介质 T 和 / 或所述胶体 P 带有 m 个基团 $-(L-A)$, 其中

[0024] ● A 为药用活性物质或荧光标记 ;

[0025] ● L 为第二接头, P 通过所述第二接头与 A 共价连接, 或 T 通过所述第二接头与 A 共价连接 ; 和

[0026] ● m 为 0 或至少 1 的整数。

[0027] 优选转运介质 T 具有至少一个用于与细胞结合结构域缔合的结合位点。

[0028] 根据本发明, 所述转运介质 T 与胶体 P 不同。

[0029] 根据本发明的转运介质 T 有利于摄取至细胞中。

[0030] 所述转运介质 T 为聚糖, 更优选选自由下列组成的组: 唾液酸, 多聚唾液酸, 神经氨酸, N-乙酰神经氨酸, 甘露糖, N-乙酰甘露糖, N-丙醇甘露糖胺, 岩藻糖, N-乙酰岩藻糖, 半乳糖, N-乙酰半乳糖, 葡萄糖, N-乙酰葡萄糖, 己糖, N-乙酰己糖, 神经酰胺, 葡糖-6-磷酸, 甘露糖-6-磷酸, 葡糖基磷脂酰肌醇, 维甲酸, 免疫球蛋白, 甘油单酯, 二酰基甘油酯, 鞘磷脂, 双磷酸盐 (bisphosphonate), 糖蛋白, 和糖胺聚糖。

[0031] 糖胺聚糖或糖胺聚糖衍生物已经证明是特别合适的转运介质 T。

[0032] 因此, 在优选的实施方案中, 转运介质 T 选自肝素和硫酸肝素组成的组, 尤其是具有少于 6 个糖单元的肝素或硫酸肝素。作为转运介质的具有少于 6 个糖单元的肝素具有特别的优点, 即使用这些肝素可以基本上避免可能发生的对自身抗体的诱导。

[0033] 所述胶体 - 活性化合物 P (在下面也简称为“胶体 P”) 优选地选自由下列组成的组: 直链淀粉, 支链淀粉, 芦荟乙酰化甘露聚糖 (acemannan), 阿拉伯半乳聚糖, 半乳甘露聚糖, 半乳葡甘露聚糖, 黄原胶, 角叉菜胶, 淀粉和改性淀粉。

[0034] 改性淀粉已经证明是特别合适的。淀粉可以被改性, 例如, 通过羟烷基化作用或酯化作用。另外, 淀粉也可以被胺化, 例如, 通过还原性胺化作用。

[0035] 出人意料地, 已经发现通过还原性胺化作用对胶体 P 的胺化可以产生胺化的胶体, 尤其是胺化的改性淀粉, 诸如胺化羟乙基淀粉或胺化羧甲基淀粉, 它们可以以下述方式以高立体选择性结合在转运介质中, 即获得的化合物非常类似于体细胞从转运介质复合物中摄取的化合物。

[0036] 在本发明的优选实施方案中, 立体选择性地实现转运介质和胶体的连接。此外, 优选如果药用活性物质或荧光标记与胶体和 / 或转运介质的连接也立体选择性地实现。

[0037] 在优选的实施方案中, 胶体 P 选自由下列组成的组: 羟烷基淀粉, 酯化淀粉, 羧基

烷基淀粉,羟烷基羧基烷基淀粉,胺化羟烷基淀粉,胺化羟烷基羧基烷基淀粉和胺化羧基烷基淀粉。

[0038] 羧基烷基淀粉优选地选自羧甲基淀粉和羧乙基淀粉。

[0039] 有利地,允许药用活性物质或荧光标记或转运介质的化学键合的其他特殊单元,例如,生物素,氨基酸或带有硫醚基的单元,诸如半胱氨酸,也可以结合至胶体中。

[0040] 更优选,根据本发明,胶体 P 为选自自由羟乙基淀粉或胺化羟乙基淀粉组成的组的改性淀粉,尤其是已经通过还原性胺化作用被胺化的羟乙基淀粉。

[0041] 羟乙基淀粉 (HES) 中的羟烷基已经被引入至用于阻止血清中的淀粉被酶降解和用于改善水溶性的分子中。取代度,DS,被定义为取代的单体单元的总数与单体单元的总数的比率。下面,当引入取代基时用取代度 DS 表示。

[0042] 在本发明的另一个实施方案中,胶体-活性化合物具有 20,000-800,000 道尔顿,优选 25,000-500,000 道尔顿,尤其是 30,000-200,000 道尔顿的平均分子量。

[0043] 改性淀粉,尤其是羟乙基淀粉的取代度 DS 优选为 0.2-0.8,尤其是 0.3-0.6。

[0044] 作为药剂 A,可以使用可以通过接头 L 被结合至上述胶体和 / 或转运介质 T 中的所有物质。

[0045] 根据本发明的化合物可以任选地与药用活性化合物或荧光标记连接。优选所述药用活性化合物选自自由下列组成的组:抗生素,化疗药,细胞生长抑制剂,抗原,寡核苷酸,介质,假代谢底物,止痛药和细胞毒性物质。

[0046] 荧光标记优选地选自自由下列组成的组:异硫氰酸荧光素 (FITC),藻红蛋白,罗丹明 (rhodamide) 和 2-氨基吡啶。

[0047] 除了纯药用活性物质以外,荧光标记,例如异硫氰酸荧光素也可以与转运介质 / 胶体复合物相结合进行治疗性地应用。已知一些肿瘤较大量地表达膜结合的结合结构域,例如,为了获得进入血管系统的通道 (FGF 受体)。用荧光标记 (诸如异硫氰酸荧光素) 标记对于所述结合结构域特异的根据本发明的转运介质 / 胶体复合物 (A. N. De Belder, K. Granath: Preparation and Properties of fluorescein-labelled dextrans (荧光素标记的葡聚糖的制备和性质), Carbohydrate Research (糖类研究), 30 (1973) 375-378) 能够使外科医生从视觉上识别注射此化合物后含有较大量的具有所述结合结构域的细胞的器官部分 (近红外线荧光成像, NIRF)。

[0048] 在根据式 (I), $(T-Z)_n-P$ 的化合物中,转运介质 T 与胶体 P 通过第一接头基团 Z 共价连接。在本发明的优选实施方案中,接头 Z 是选自羧酸酯、羧酸酰胺、氨基甲酸乙酯、醚和胺基的官能团,或包含至少一个所述官能团。更优选 T 与 P 通过接头 Z 的共价化学键是可逆的,即,可以毫无困难地被再次切断,例如,通过酶的作用。

[0049] 第二接头 L 在其功能和设计上也与第一接头 Z 对应,通过所述第二接头 L,胶体 P 与药用活性物质或荧光标记共价连接,或通过所述第二接头 L,转运介质与药用活性物质或荧光标记共价连接。对于接头 L,如果其可以毫无困难地被再次切掉,例如,通过酶的作用,从而导致该药用活性物质和 / 或荧光标记被释放,则这是特别有利的。

[0050] 接头 Z 或 L 的形成可以通过现有技术中所述的用于形成羧酸酯、羧酸酰胺、氨基甲酸乙酯、醚和胺的方法来进行。

[0051] 在优选的实施方案中,根据本发明的化合物可通过基础 (underlying) 胶体 P 的至

少一个游离的下述基团：

[0052] ● 异氰酸酯基 (-NCO)；

[0053] ● 羧基 (-COOH)；

[0054] ● 卤化甲酰基 (-CO-A, 其中 A = Cl, Br 或 I)；

[0055] ● 亚烷基羧基 $-(\text{CH}_2)_q\text{-COOH}$, 其中 $q = 1-10$ ；

[0056] ● 酯基 (-COOR, 其中 R = 有机基团)；

[0057] ● 环氧基；

[0058] ● 或亲核离去基团；与基础转运介质 T 的游离羟基 (-OH) 的反应形成接头 Z 来获得, 其中所述胶体 P 和 / 或转运介质 T 与 m 个单元 -(L-A) 连接。

[0059] 在本发明的另一个实施方案中, 根据本发明的化合物可通过基础胶体 P 的至少一个游离的

[0060] ● 羟基 (-OH)

[0061] 与基础转运介质 T 的游离的下述基团反应形成接头 Z 来获得：

[0062] ● 异氰酸酯基 (-NCO)；

[0063] ● 羧基 (-COOH)；

[0064] ● 卤化甲酰基 (-CO-A, 其中 A = Cl, Br 或 I)；

[0065] ● 亚烷基羧基 $-(\text{CH}_2)_q\text{-COOH}$, 其中 $q = 1-10$ ；

[0066] ● 酯基 (-COOR, 其中 R = 有机基团)；

[0067] ● 环氧基；

[0068] ● 或亲核离去基团,

[0069] 其中所述胶体 P 和 / 或转运介质 T 与 m 个单元 -(L-A) 连接。

[0070] 在本发明的另一个实施方案中, 根据本发明的化合物可通过基础胶体 P 的至少一个游离的

[0071] ● 氨基 (-NH₂)

[0072] 与基础转运介质 T 的游离的下述基团反应形成接头 Z 来获得：

[0073] ● 异氰酸酯基 (-NCO)；

[0074] ● 羧基 (-COOH)；

[0075] ● 卤化甲酰基 (-CO-A, 其中 A = Cl, Br 或 I)；

[0076] ● 亚烷基羧基 $-(\text{CH}_2)_q\text{-COOH}$, 其中 $q = 1-10$ ；

[0077] ● 酯基 (-COOR, 其中 R = 有机基团)；

[0078] ● 环氧基；

[0079] ● 或亲核离去基团,

[0080] 其中所述胶体 P 和 / 或转运介质 T 与 m 个单元 -(L-A) 连接。

[0081] 此外, 在优选的实施方案中, 根据本发明的化合物可通过基础胶体 P 的至少一个游离的下述基团：

[0082] ● 异氰酸酯基 (-NCO)；

[0083] ● 羧基 (-COOH)；

[0084] ● 卤化甲酰基 (-CO-A, 其中 A = Cl, Br 或 I)；

[0085] ● 亚烷基羧基 $-(\text{CH}_2)_q\text{-COOH}$, 其中 $q = 1-10$ ；

- [0086] ●酯基 (-COOR, 其中 R = 有机基团) ;
- [0087] ●环氧基 ;
- [0088] ●或亲核离去基团 ;
- [0089] 与基础转运介质 T 的游离氨基 (-NH₂) 的反应形成接头 Z 来获得, 其中所述胶体 P 和 / 或转运介质 T 与 m 个单元 -(L-A) 连接。
- [0090] 更优选, 根据本发明的化合物可通过基础胶体 P 的至少一个游离的
- [0091] ●羟基 (-OH) ;或
- [0092] ●氨基 (-NH₂)
- [0093] 与基础转运介质 T 的游离的下述基团反应形成接头 Z 来获得 :
- [0094] ●异氰酸酯基 (-NCO) ;
- [0095] ●羧基 (-COOH) ;
- [0096] ●卤化甲酰基 (-CO-A, 其中 A = Cl, Br 或 I) ;
- [0097] ●亚烷基羧基 (-CH₂)_q-COOH, 其中 q = 1-10) ;
- [0098] ●酯基 (-COOR, 其中 R = 有机基团) ;
- [0099] ●环氧基 ;
- [0100] ●或亲核离去基团,
- [0101] 其中所述胶体 P 和 / 或转运介质 T 与 m 个单元 -(L-A) 连接。
- [0102] 根据本发明, 亲核离去基团优选地选自由卤化物和甲苯磺酸酯组成的组。
- [0103] 此外, 根据本发明的化合物可通过通式 II 的二胺
- [0104]
$$R^1(-NH_2)_2 \quad (II)$$
- [0105] 其中 R¹ 选自 :
- [0106] ●单键 ;
- [0107] ●直链或支链的、饱和的或不饱和的、脂族或脂环族的具有 1-22 个碳原子的烷基 ;
- [0108] ●芳基中具有 5-12 个碳原子的芳基、芳基 -C₁-C₄- 烷基和芳基 -C₂-C₆- 烯基, 它们可以任选地被 C₁-C₆ 烷基和 / 或 C₂-C₆ 烷氧基取代 ;或
- [0109] ●杂芳基中具有 3-8 个碳原子且含有一个或两个选自 N、O 和 S 的杂原子的杂芳基、杂芳基 -C₁-C₄- 烷基和杂芳基 -C₂-C₆- 烯基, 它们可以被 C₁-C₆ 烷基和 / 或 C₂-C₆ 烷氧基取代 ;
- [0110] 与基础转运介质 T 的游离的官能团和基础胶体 P 的至少一个游离的官能团反应形成接头 Z 来获得, 所述官能团独立地选自 :
- [0111] ●异氰酸酯基 (-NCO) ;
- [0112] ●羧基 (-COOH) ;
- [0113] ●卤化甲酰基 (-CO-A, 其中 A = Cl, Br 或 I) ;
- [0114] ●亚烷基羧基 (-CH₂)_q-COOH, 其中 q = 1-10) ;
- [0115] ●酯基 (-COOR, 其中 R = 有机基团) ;
- [0116] ●环氧基 ;
- [0117] ●或亲核离去基团 ;
- [0118] 其中所述胶体 P 和 / 或转运介质 T 与 m 个单元 -(L-A) 连接。

[0119] 合适的二胺包括,例如,1,2-二氨基乙烷,1,2-或1,3-二氨基丙烷,1,2-,1,3-或1,4-二氨基丁烷,1,5-二氨基戊烷,2,2-二甲基-1,3-二氨基丙烷,六亚甲基二胺,1,7-二氨基庚烷,1,8-二氨基辛烷,三甲基-1,6-二氨基己烷,1,9-二氨基壬烷,1,10-二氨基癸烷,1,12-二氨基十二烷,1,2-二氨基环己烷,1,4-二氨基环己烷,1,3-环己烷双(甲胺),1,2-亚苯基二胺,1,3-亚苯基二胺,1,4-亚苯基二胺,4,4'-亚乙基二苯胺,4,4'-亚甲基二苯胺,4,4'-二氨基均二苯代乙烯,4,4'-二氨基二苯硫醚,4-氨基苯基二硫醚,2,6-二氨基吡啶,2,3-二氨基吡啶,3,4-二氨基吡啶,2,4-二氨基嘧啶,4,5-二氨基嘧啶,4,6-二氨基嘧啶。

[0120] 另外,在本发明的另一个实施方案中,根据本发明的化合物可通过通式 III 的二醇:

[0121] $R^2(-OH)_2$ (III),

[0122] 其中 R^2 选自

[0123] ●直链或支链的、饱和的或不饱和的、脂族或脂环族的具有 2-22 个碳原子的烷基;

[0124] ●芳基中具有 5-12 个碳原子的芳基、芳基- C_1-C_4 -烷基和芳基- C_2-C_6 -烯基,它们可以任选地被 C_1-C_6 烷基和 / 或 C_2-C_6 烷氧基取代;或

[0125] ●杂芳基中具有 3-8 个碳原子且含有一个或两个选自 N、O 和 S 的杂原子的杂芳基、杂芳基- C_1-C_4 -烷基和杂芳基- C_2-C_6 -烯基,它们可以被 C_1-C_6 烷基和 / 或 C_2-C_6 烷氧基取代;

[0126] 与基础转运介质 T 的游离的官能团和基础胶体 P 的至少一个游离的官能团反应形成接头 Z 来获得,所述官能团独立地选自:

[0127] ●异氰酸酯基(-NCO);

[0128] ●羧基(-COOH);

[0129] ●卤化甲酰基(-CO-A,其中 A = Cl, Br 或 I);

[0130] ●亚烷基羧基(- $(CH_2)_q$ -COOH,其中 $q = 1-10$);

[0131] ●酯基(-COOR,其中 R = 有机基团);

[0132] ●环氧基;

[0133] ●或亲核离去基团;

[0134] 其中所述胶体 P 和 / 或转运介质 T 与 m 个单元-(L-A) 连接。

[0135] 合适的二醇包括,例如,乙二醇,丙二醇,丁二醇,和新戊二醇,戊二醇-1,5,3-甲基戊二醇-1,5,双酚 A,1,2-或1,4-环己二醇,己内酯二醇(己内酯和乙二醇的反应产物),羟烷基化双酚,三羟甲基丙烷,三羟甲基乙烷,季戊四醇,己二醇-1,6,庚二醇-1,7,辛二醇-1,8,丁二醇-1,4,2-甲基辛二醇-1,8,壬二醇-1,9,癸二醇-1,10,环己烷二亚甲醇,二-、三-和四甘醇,二-、三-和四丙二醇,平均分子量为 150-15,000 的聚乙二醇和聚丙二醇。

[0136] 在本发明的另一实施方案中,根据本发明的化合物可通过通式 IV 的二羧酸

[0137] $R^3(-COOH)_2$ (IV)

[0138] 其中 R^3 选自

[0139] ●单键;

[0140] ●直链或支链的、饱和的或不饱和的、脂族或脂环族的具有 1-22 个碳原子的烷基；

[0141] ●芳基中具有 5-12 个碳原子的芳基、芳基 -C₁-C₄- 烷基和芳基 -C₂-C₆- 烯基，它们可以任选地被 C₁-C₆ 烷基和 / 或 C₂-C₆ 烷氧基取代；或

[0142] ●杂芳基中具有 3-8 个碳原子且含有一个或两个选自 N、O 和 S 的杂原子的杂芳基、杂芳基 -C₁-C₄- 烷基和杂芳基 -C₂-C₆- 烯基，它们可以被 C₁-C₆ 烷基和 / 或 C₂-C₆ 烷氧基取代；

[0143] 与基础转运介质 T 的游离的官能团和基础胶体 P 的至少一个游离的官能团反应形成接头 Z 来获得，所述官能团独立地选自：

[0144] ●氨基 (-NH₂)；或

[0145] ●羟基 (-OH)；

[0146] 其中所述胶体 P 和 / 或转运介质 T 与 m 个单元 -(L-A) 连接。

[0147] 合适的二羧酸包括，例如，草酸，丙二酸，丁二酸，戊二酸，己二酸，庚二酸，壬二酸，癸二酸，马来酸，富马酸，山梨酸，邻苯二甲酸，对苯二甲酸，间苯二甲酸或松萘酸。

[0148] 特别地，根据本发明的化合物也可以通过通式 V 的二（卤化甲酰基）

[0149] $R^4(-CO-A)_2$ (V)

[0150] 其中 A = Cl, Br 或 I, 且 R⁴ 选自

[0151] ●单键；

[0152] ●直链或支链的、饱和的或不饱和的、脂族或脂环族的具有 1-22 个碳原子的烷基；

[0153] ●芳基中具有 5-12 个碳原子的芳基、芳基 -C₁-C₄- 烷基和芳基 -C₂-C₆- 烯基，它们可以任选地被 C₁-C₆ 烷基和 / 或 C₂-C₆ 烷氧基取代；或

[0154] ●杂芳基中具有 3-8 个碳原子且含有一个或两个选自 N、O 和 S 的杂原子的杂芳基、杂芳基 -C₁-C₄- 烷基和杂芳基 -C₂-C₆- 烯基，它们可以被 C₁-C₆ 烷基和 / 或 C₂-C₆ 烷氧基取代；

[0155] 与基础转运介质 T 的游离的官能团和基础胶体 P 的至少一个游离的官能团反应形成接头 Z 来获得，所述官能团独立地选自：

[0156] ●氨基 (-NH₂)；或

[0157] ●羟基 (-OH)；

[0158] 其中所述胶体 P 和 / 或转运介质 T 与 m 个单元 -(L-A) 连接。

[0159] 另外，根据本发明的化合物也可以通过通式 VI 的二酯

[0160] $R^5(-COOR')_2$ (VI)

[0161] 其中 R' 为 C₁₋₁₀ 烷基且 R⁵ 选自

[0162] ●单键；

[0163] ●直链或支链的、饱和的或不饱和的、脂族或脂环族的具有 1-22 个碳原子的烷基；

[0164] ●芳基中具有 5-12 个碳原子的芳基、芳基 -C₁-C₄- 烷基和芳基 -C₂-C₆- 烯基，它们可以任选地被 C₁-C₆ 烷基和 / 或 C₂-C₆ 烷氧基取代；或

[0165] ●杂芳基中具有 3-8 个碳原子且含有一个或两个选自 N、O 和 S 的杂原子的杂芳

基、杂芳基 $-C_1-C_4-$ 烷基和杂芳基 $-C_2-C_6-$ 烯基,它们可以被 C_1-C_6 烷基和 / 或 C_2-C_6 烷氧基取代;

[0166] 分别与基础转运介质 T 的一个游离的官能团和基础胶体 P 的至少一个游离的官能团反应形成接头 Z 来获得,所述官能团独立地选自:

[0167] ●氨基 $(-NH_2)$;或

[0168] ●羟基 $(-OH)$;

[0169] 其中所述胶体 P 和 / 或转运介质 T 与 m 个单元 $-(L-A)$ 连接。

[0170] 更优选,根据本发明的化合物可通过通式 VII 的二异氰酸酯

[0171] $R^6(-NCO)_2$ (VII)

[0172] 其中 R^6 选自

[0173] ●直链或支链的、饱和的或不饱和的、脂族或脂环族的具有 1-22 个碳原子的烃基;

[0174] ●芳基中具有 5-12 个碳原子的芳基、芳基 $-C_1-C_4-$ 烷基和芳基 $-C_2-C_6-$ 烯基,它们可以任选地被 C_1-C_6 烷基和 / 或 C_2-C_6 烷氧基取代;或

[0175] ●杂芳基中具有 3-8 个碳原子且含有一个或两个选自 N、O 和 S 的杂原子的杂芳基、杂芳基 $-C_1-C_4-$ 烷基和杂芳基 $-C_2-C_6-$ 烯基,它们可以被 C_1-C_6 烷基和 / 或 C_2-C_6 烷氧基取代;

[0176] 分别与基础转运介质 T 的一个游离的官能团和基础胶体 P 的至少一个游离的官能团反应形成接头 Z 来获得,所述官能团独立地选自:

[0177] ●氨基 $(-NH_2)$;或

[0178] ●羟基 $(-OH)$;

[0179] 其中所述胶体 P 和 / 或转运介质 T 与 m 个单元 $-(L-A)$ 连接。

[0180] 合适的二异氰酸酯包括,例如,甲苯二异氰酸酯,二甲苯二异氰酸酯,联甲氧基苯胺二异氰酸酯,四亚甲基二异氰酸酯,六亚甲基二异氰酸酯,间-亚苯基二异氰酸酯,间-亚二甲苯基二异氰酸酯, C_1-C_6 烷基苯二异氰酸酯,1-氯苯 2,4-二异氰酸酯,环己基-甲烷二异氰酸酯,3,3'-二甲氧基二苯基甲烷 4,4'-二异氰酸酯,1-硝基苯 2,4-二异氰酸酯,1-烷氧基苯 2,4-二异氰酸酯,乙烯二异氰酸酯,丙烯二异氰酸酯,环己烯 1,2-二异氰酸酯,3,3'-二氯-4,4'-亚联苯基二异氰酸酯,二亚苯基二异氰酸酯,2-氯三亚甲基二异氰酸酯,丁烯 1,2-二异氰酸酯,亚乙基二异氰酸酯,二苯基甲烷 4,4'-二异氰酸酯,二苯基乙烷二异氰酸酯,1,5-萘二异氰酸酯,环己烷二异氰酸酯和异佛尔酮二异氰酸酯。

[0181] 更优选,根据本发明的化合物可通过二环氧化物分别与基础转运介质 T 的一个游离的官能团和基础胶体 P 的至少一个游离的官能团反应形成接头 Z 来获得,所述官能团独立地选自:

[0182] ●氨基 $(-NH_2)$;或

[0183] ●羟基 $(-OH)$;

[0184] 其中所述胶体 P 和 / 或转运介质 T 与 m 个单元 $-(L-A)$ 连接。

[0185] 特别地,1,2,3,4-二环氧丁烷或 1,2,7,8-二环氧辛烷已经证明是合适的二环氧化物。

[0186] 其中转运介质 T 和胶体 P 的连接通过还原性胺化作用来实现的化合物已经证明是

特别有利的。因此,更优选,根据本发明的化合物可通过具有游离氨基(-NH₂)的胶体P与具有至少一个醛基或酮基的转运介质T的还原性胺化来获得,并且其中所述胶体P和/或转运介质T与m个单元-(L-A)连接。

[0187] 在本文中,具有氨基的胶体P优选地选自由下列组成的组:胺化淀粉,胺化羟烷基淀粉,胺化羟烷基羧基烷基淀粉,和胺化羧基烷基淀粉。特别优选胺化羟烷基淀粉,其本身可以,例如,通过还原性胺化作用来获得。

[0188] 更优选,通过还原性胺化作用与转运介质T连接的胶体P包括选自由肝素或肝素衍生物组成的组的转运介质。

[0189] 在本发明的特别优选的实施方案中,转运介质T为肝素,和胶体P为羟乙基淀粉,并且第一接头Z为-NH基团。

[0190] 如上面所述,第二接头L优选为选自羧酸酯、羧酸酰胺、氨基甲酸乙酯、醚和胺基的官能团,或包含至少一个所述官能团。

[0191] 此外,几个胶体P也可以通过接头分子L和/或Z连接以形成较大的簇。此反应可以竞争A和/或T与胶体P的结合。根据本发明,这些竞争反应的比率可以通过适当地改变所采用的方法来影响。这可以最简单地通过改变采用的试剂和底物的比率和通过改变胶体的分子量来完成。此外,反应条件诸如温度、压力和催化剂也影响所述两个反应的比率。

[0192] 胶体P可以具有一个或多个通过第一接头Z连接的转运介质T。与胶体P连接的转运介质T的数目被定义为参数n。在本发明的优选实施方案中,n为1-10,000,优选2-1000,更优选5-500,尤其是10-100的整数。

[0193] 在本发明进一步优选的实施方案中,转运介质T和/或胶体P通过第二接头L与A共价连接,所述A即,药用活性物质或荧光标记。因此,在本发明的优选实施方案中,参数m为至少1的整数,优选m为1-10,000,更优选2-1000,甚至更优选5-500,尤其是10-100的整数。

[0194] 本发明还涉及包含根据本发明的化合物的药物制剂。

[0195] 根据本发明的药物制剂优选是水性制剂且更优选是可注射制剂。优选,根据本发明的化合物的浓度为0.0001-50重量%,尤其是0.01-10重量%,例如,0.1-5.5重量%,它们分别是基于总组合物。

[0196] 本发明还涉及一种制备根据本发明的化合物的方法,该方法通过将转运介质T与胶体-活性化合物P连接形成接头Z,其中T和P通过所述接头Z彼此共价连接,并且其中所述胶体P和/或所述转运介质T与m个单元-(L-A)连接。T,P,Z,L和A的含义与上面定义的含义相同。

[0197] 在根据本发明的方法的优选实施方案中,转运介质T和胶体P的连接通过还原性胺化作用来实现。

[0198] 在本文中,优选,在第一步骤中,在还原剂的存在下胶体P与转运介质T反应,所述胶体P选自由胺化淀粉,胺化羟烷基淀粉,胺化羟基羧基烷基淀粉和胺化羧基烷基淀粉组成的组,且所述转运介质T选自由肝素或肝素衍生物组成的组。

[0199] 优选地,还原剂选自由LiAlH₄,LiBH₄,NaBH₄和NaBCNH₃组成的组。

[0200] 在根据本发明的制备方法的另一个优选实施方案中,改性淀粉,优选羟烷基淀粉或羧甲基淀粉的还原性胺化首先在预备步骤中实现。还原性胺化有利地使用氨或氢氧化铵

在催化剂的存在下实现。此反应优选地在氢气气氛中在升高的压力（例如，10-300 巴，优选 20-100 巴）和 50-300°C，优选 80-200°C 范围内的温度下实现。阮内镍 (Raney nickel) 或钴 / 镍催化剂用作催化剂。

[0201] 由此可获得的胺化改性淀粉可以随后在另一个还原性胺化反应中与转运介质，例如，葡糖胺聚糖连接。

[0202] 在本发明的方法的另一个实施方案中，转运介质 T，优选葡糖胺聚糖，尤其是肝素或肝素衍生物在第一步骤中涂布在带电载体上。随后，进行与胶体 P 的进一步偶联反应，其中转运介质 T 留在带电载体上。将转运介质涂布在带电载体上已经证明是有利的，因为转运介质 T，尤其是肝素或肝素衍生物的带离子电荷的区域将其自身朝向带电载体定向，并且因此这些区域难以接近来与胶体 P 进行偶联反应。因此，采用此方法可以选择性地获得转运介质的特异性结合结构域。

[0203] 在本发明的具体实施方案中，肝素或肝素衍生物用作转运介质，且羟乙基淀粉或羧甲基淀粉用作胶体。

[0204] 优选，预期用于与肝素结合结构域缔合的肝素分子的一部分与主体 (body) 缔合，优选与纳米结构的主体缔合，更优选与带正电荷的主体缔合，并且被阻止共价键合至羟乙基淀粉和 / 或羧甲基淀粉分子中。例如，为此，铜板可以用绝缘体包覆并且通过使用激光在选择有位点处去除绝缘层。如果肝素结合结构域的电荷结构被扫描电子显微镜检查检测到，且用于固定肝素分子的相应电荷分布图被烧制到绝缘层上，则是特别有利的。而且，扫描电子显微镜检查可以用来将合适的电荷分布图引入至缔合体的绝缘层中。激光技术的相应应用是专业技术人员已知的。转运介质在带电表面上的涂布也可以直接通过涂布于其他带正电荷的分子来实现。特别适合于此目的是在根据本发明的合成法的反应条件下作为聚阳离子以薄膜形式存在的带强正电荷的聚合物。在碱性反应条件下反应的接头中，例如，壳聚糖作为聚阳离子存在，肝素很容易与其缔合。需注意当肝素与胶体 P，尤其是羟乙基淀粉共价键合时，在壳聚糖的官能团和多糖之间不形成键，而仅在羟乙基淀粉和肝素之间形成键。

[0205] 本发明将进一步通过下面的实施例来说明，但不限于这些实施例。

实施例

[0206] 实施例 1a (异硫氰酸荧光素偶联的羟乙基淀粉 (FITC-HES) 与肝素的连接)

[0207] 将 200mg 肝素¹⁾ 溶解在 10ml PBS (磷酸盐缓冲盐水)，pH 7.5 中，并将此溶液吸移至用范德格拉夫发电机 (Van de Graaff generator) 充正电的板上。该板一直充电 1 周直至溶液干燥成薄膜。将 0.2ml 1,2,7,8- 二环氧辛烷 (获自 ALFA-AESAR GmbH & Co. KG, 德国) 吸移至该薄膜上并通过转动使其分布。根据 DeBelder 和 Granath²⁾ 所述的方法，80mg 羟乙基淀粉 (HES) [平均分子量 :50kDa ;DS = 0.4] 与异硫氰酸荧光素单元 (FITC-HES) 共价键合。将 FITC-HES 溶解在 3ml 1N NaOH 和 7ml 丙酮的 10ml 混合物中，并且滴至带电板上并摇动。将该混合物调节至 pH 10 并且在暗室中每 30 分钟摇动一次。12 小时后，取出溶液，针对蒸馏水透析，随后冻干。将试剂浸入至 10ml PBS，pH = 7.5 中。在电泳中，连接的产物明显地比未与肝素连接的 FITC-HES 更快地迁移。

[0208] 实施例 1 b) (根据实施例 1a) 的 FITC-HES- 肝素化合物的有效性)

[0209] 将 100mg 在实施例 1a) 中合成的 FITC-HES- 肝素化合物干物质溶解在 5ml 0.9% NaCl 水溶液中, 将该溶液经腹腔 (i. p.) 注射至 Wistar 大鼠中。6 小时后, 在麻醉下将动物处死, 并取出器官。

[0210] 从脾中, 取大小为 0.6x0.8cm 的组织块并置于福尔马林中过夜。在经过递增的乙醇梯度和苯甲酸甲酯梯度后, 制备厚度为 6-8 μ m 的切片。用荧光显微镜在 450-490nm 的波长下观察标本。

[0211] 图 1 和 2 显示在 20 倍放大倍数下细胞的强荧光。照片中明亮的区域证明荧光标记的 HES- 肝素复合物摄取至脾的组织细胞中。

[0212] 实施例 2 (羧甲基羟乙基淀粉与肝素的连接)

[0213] 将 200mg 肝素¹⁾ 溶解在蒸馏水中并如实施例 1a) 中那样处理。将 10ml 16% 羧甲基羟乙基淀粉 [羧甲基的 DS = 0.06, 且羟乙基的 DS = 0.34] 溶解在 10ml 0.1N HCl 丙酮溶液 (3ml 0.1N HCl 和 7ml 丙酮) 中并与 0.2ml 1,2,7,8- 二环氧辛烷一起加入, 然后摇动。

[0214] 通过加入 HCl/ 丙酮溶液将该混合物调节至 pH 3-4, 并且每 30 分钟摇动一次。12 小时后, 取出溶液, 针对蒸馏水透析, 并随后冻干。

[0215] 实施例 3 (胺化 HES 与肝素的连接)

[0216] 将 200g 羟乙基淀粉 (HES) [平均分子量 $M_w = 50,000$; DS = 0.3] 与 27% 氢氧化铵溶液以及 300g 镍比例为 75%、铜比例为 23% 和铬比例为 2% 的镍 / 铜 / 铬催化剂一起置于高压釜中。在添加氢的条件下, 高压釜加压 12 小时。温度调节至 220°C。随后, 取出混合物, 透析并冻干。将 200mg 肝素¹⁾ 溶解在 5ml PBS, pH = 7.5 中, 并吸移至用范德格拉夫发电机 (Van de Graaff generator) 充正电的培养皿 (Petri dish) 上。将 200mg 还原性胺化的羟乙基淀粉溶解在 10ml 蒸馏水中, 并小心地加入该溶液。此后, 混合 0.025mg 氰基硼氢化钠 NaBH_3CN 。小心地摇动培养皿 (Petri dish)。2 小时后, 再次加入 0.025mg 氰基硼氢化钠, 并小心地摇动该混合物直至不出现水泡。以此方式反复加入氰基硼氢化钠 4 次。之后, 使试剂静置 72 小时; 最后, 将其浸入至过量的 PBS, pH = 7.5 中, 透析并冻干。

[0217] 实施例 4 (胺化 HES 与肝素的连接, 然后与人白蛋白反应)

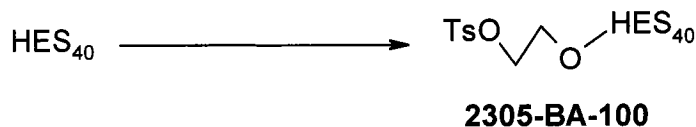
[0218] 将 200g 羟乙基淀粉 (HES) [平均分子量 $M_w = 50,000$; DS = 0.3] 与 27% 氢氧化铵溶液以及 300g 镍比例为 75%、铜比例为 23% 和铬比例为 2% 的镍 / 铜 / 铬催化剂一起置于高压釜中。在添加氢的条件下, 高压釜加压 12 小时。温度调节至 270°C。随后, 取出混合物, 透析并冻干。将 200mg 肝素¹⁾ 溶解在 5ml PBS, pH = 7.5 中, 并吸移至用范德格拉夫发电机 (Van de Graaff generator) 充正电的培养皿 (Petri dish) 上。将 200mg 还原性胺化的羟乙基淀粉溶解在 10ml 蒸馏水中, 并小心地加入该溶液。此后, 混合 0.025mg 氰基硼氢化钠 NaBH_3CN 。小心地摇动培养皿 (Petri dish)。2 小时后, 再次加入 0.025mg 氰基硼氢化钠, 并小心地摇动该混合物直至不出现水泡。以此方式反复加入氰基硼氢化钠 4 次。

[0219] 之后, 使试剂放置 24 小时。重新用范德格拉夫发电机充电后, 加入处于 10ml PBS (pH = 7.5) 中的 10mg 人白蛋白。随后加入 0.025mg 氰基硼氢化钠 NaBH_3CN 。小心地摇动培养皿。在使用范德格拉夫发电机和不使用范德格拉夫发电机的情况下将加入 0.025mg 氰基硼氢化钠 NaBH_3CN 随后摇动的步骤分别重复 4 次。最后将试剂浸入至过量的 PBS (pH 7.5) 中, 透析并冻干。

[0220] 实施例 5 (羟乙基淀粉与肝素通过己烷 -1,6- 二胺的连接)

[0221] a) 羟乙基淀粉的甲苯磺酰化

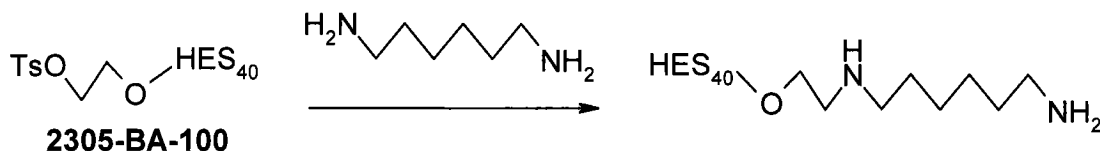
[0222]



[0223] 将 HES_{40} ³⁾ (20g) 悬浮在吡啶 (200ml) 中并在回流下加热直至形成清亮的溶液。此后, 将溶液冷却至 0°C, 并逐份地加入甲苯磺酰氯 (19.4g, 200 当量) 并同时搅拌, 使反应溶液缓慢地升温至室温。在搅拌的同时, 将反应溶液加入至乙腈 (500ml) 中。立即形成白色沉淀物, 将该沉淀物滤出, 并真空干燥。将获得的白色泡沫与乙腈共蒸发三次, 将残渣浸入至蒸馏水中, 并透析 24 小时。通过蒸发去除水后, 获得为无色固体的标题化合物 (2.6g)。与纯 HES_{40} 相比, ¹H-NMR 谱 (400MHz, D₂O) 另外显示典型的对称的芳香族 CH 峰, 其化学位移为 7-8ppm, 指示是甲苯磺酰基。

[0224] b) 用氨基接头取代甲苯磺酰化的 HES

[0225]



[0226] 将 2305-BA-100 (3.3g) 和己二胺 (10.0g, 1000 当量) 在 DMF (5ml) 中的溶液在 50°C 搅拌过夜, 然后倾倒至丙酮 (300ml) 上。滤出沉淀的固体, 并干燥。为进一步纯化, 将粗产物溶解在蒸馏水中, 并透析 24 小时。通过蒸发去除水后, 获得为无色固体的上述反应产物 (1.5g)。与肝素相比, ¹H-NMR 谱 (400MHz, D₂O) 另外显示典型的 CH₂ 峰, 其化学位移为 1-2ppm, 指示是氨基接头。

[0227] c) 步骤 b) 中获得的反应产物与 HEP¹⁾ 的 EDC⁴⁾ 偶联

[0228]

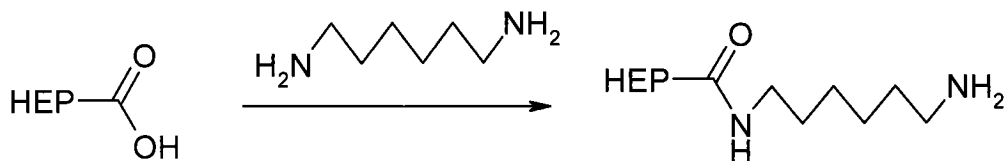


[0229] 向 HEP (60mg) 和步骤 b) 中获得的产物 (200mg) 在蒸馏水 (4ml) 中的溶液加入 EDC⁴⁾ 盐酸盐 (80mg, 100 当量)。将反应溶液在室温下搅拌过夜, 之后倾倒至丙酮 (5ml) 上。滤出沉淀的固体, 并干燥。为进一步纯化, 将粗产物溶解在蒸馏水中, 并透析 24 小时。通过蒸发去除水后, 获得为无色固体的反应图解中所示的 HES 和肝素的连接产物 (0.11g)。

[0230] 实施例 6 (羟乙基淀粉与肝素通过己烷 -1,6- 二胺的连接)

[0231] a) 肝素 (HEP) 与氨基接头的 EDC⁴⁾ 偶联

[0232]

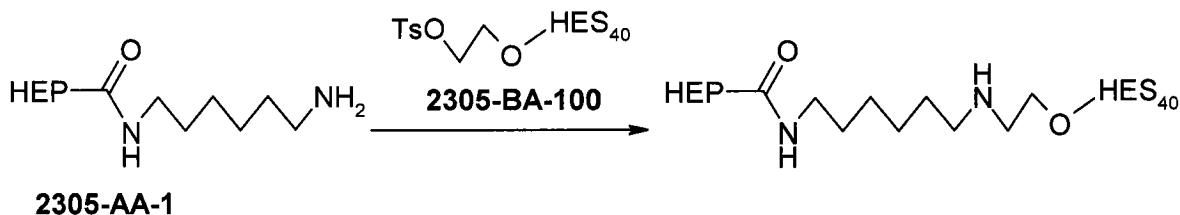


[0233] 向 HEP (1.0g) 和己烷 -1,6- 二胺 (0.8g, 100 当量) 在蒸馏水 (10ml) 中的溶液加

入 EDC⁴ 盐酸盐 (14g, 100 当量)。将反应溶液在 20℃ 下搅拌过夜, 之后倾倒至丙酮 (20ml) 上。滤出沉淀的固体, 并干燥。借助于 LC-MS, 确定在反应产物中含有未反应的己二胺。为进一步纯化, 将粗产物溶解在蒸馏水中, 并透析 24 小时。通过蒸发去除水后, 获得为无色固体的反应图解中所示的偶联产物 (0.8g)。与肝素相比, ¹H-NMR 谱 (400MHz, D₂O) 另外显示典型的 CH₂ 峰, 其化学位移为 1-2ppm。

[0234] b) 用来自实施例 5, 步骤 a) 的甲苯磺酰化的 HES 亲核取代步骤 a) 中获得的偶联产物

[0235]



[0236] 向 2305-AA-1 (30mg) 和 2305-BA100 (100mg, MW :约 50kDa) 在 DMSO (4ml) 中的悬浮液注入 Et₃N (0.003ml, 100 当量), 然后在 80℃ 下加热并同时搅拌。将反应混合物搅拌 6 小时, 之后倾倒至丙酮 (6ml) 上。滤出沉淀的固体, 并干燥。获得为略带淡棕色的固体的标题化合物 (0.1g)。与肝素相比, ¹H-NMR 谱 (400MHz, D₂O) 另外显示典型的 CH₂ 峰, 其化学位移为 1-2ppm。

[0237] 实施例 7 (胺化羟乙基淀粉与肝素通过还原性胺化连接)

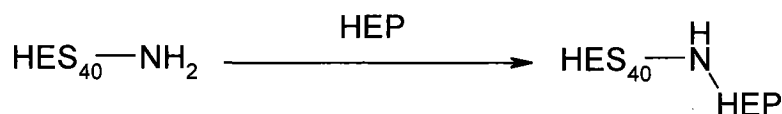
[0238] a) 羟乙基淀粉 (HES) 的胺化

[0239] HES₄₀ → HES₄₀-NH₂

[0240] 将 HES₄₀ (5.1g, MW :40kDa) 溶解在氢氧化铵水溶液 (100ml, 22%) 中。将由镍 (5.6g, 325 目), 铬 (0.15g, 100 目) 和铜 (1.8g, 1 μm) 组成的催化剂加入至溶液中。将该混合物在高压釜中在氢气气氛中在 120℃ 下搅拌 48 小时。冷却至 20℃ 后, 滤出催化剂, 滤液倾倒在乙醇 (20ml) 上。滤出沉淀的固体, 用少量乙醇 / 水洗涤, 并干燥。获得为略带淡蓝色的固体的胺化 HES (1.2g)。

[0241] b) 步骤 a) 中获得的胺化 HES 与肝素的还原性胺化

[0242]

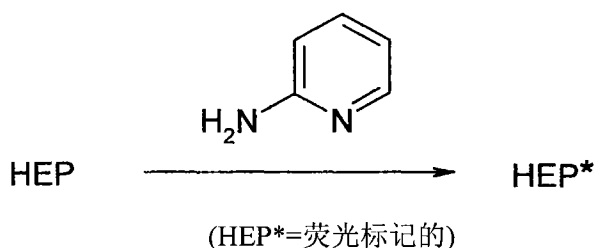


[0243] 将 HEP (200mg) 溶解在磷酸盐缓冲水溶液 (5ml, pH = 7.5) 中, 并逐滴加入来自步骤 a) 的胺化羟乙基淀粉 (200mg) 在蒸馏水 (10ml) 中的溶液。以 2 小时的间隔, 向反应溶液中加入 NaCNBH₃ 6 次 (每次 0.025mg, 来自储备水溶液)。将该反应混合物再次在 20℃ 搅拌 2 小时。为进一步纯化, 将粗产物透析 24 小时。通过蒸发去除水后, 获得为无色固体的如反应图解中所示的肝素和胺化羟乙基淀粉的连接产物 (250mg)。

[0244] 实施例 8 (荧光标记的肝素与胺化羟乙基淀粉 (HES) 通过还原性胺化连接)

[0245] a) 肝素 (HEP) 与荧光标记 2- 氨基吡啶的偶联

[0246]



[0247] 向 2-氨基吡啶 (31.7g, 0.33mol, 1000 当量) 和 NaCNBH_3 (2.1g, 0.033mol, 100 当量) 在甲酰胺 (50ml) 中的溶液中加入肝素 (5.0g)。将获得的悬浮液在 37°C 搅拌过夜, 并且缓慢地形成清亮的溶液。将反应混合物倾倒在 EtOH (50ml) 上。滤出沉淀的固体并干燥。获得为略带淡棕色的固体的反应图解中所示的偶联产物 (HEP*) (1.3g)。在水溶液中和作为固体, 当用 UV 光在 366nm 照射时偶联产物均显示强烈的蓝色 - 紫色荧光。与肝素相比, $^1\text{H-NMR}$ 谱 (400MHz, D_2O) 另外显示典型的芳香族 CH 峰, 其化学位移为 6.6-7.8ppm, 指示是典型的吡啶取代基。

[0248] b) 步骤 a) 中制备的荧光标记的肝素 (HEP*) 与实施例 7, 步骤 a) 中制备的胺化羟乙基淀粉通过还原性胺化连接

[0249]

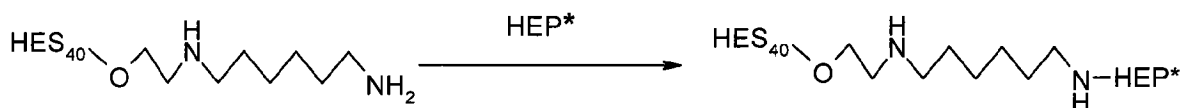


[0250] 将来自步骤 a) 的 HEP* (200mg, 平均分子量: 15kDa) 溶解在磷酸盐缓冲水溶液 (5ml, pH = 7.5) 中, 并逐滴加入来自实施例 7, 步骤 a) 的胺化 HES (200mg) 在蒸馏水 (10ml) 中的溶液。以 2 小时的间隔, 向反应溶液中加入 NaCNBH_3 3 次 (每次 0.025mg, 来自储备水溶液)。将该反应混合物再次在 20°C 搅拌 2 小时。为进一步纯化, 将粗产物透析 24 小时。通过蒸发去除水后, 获得为无色固体的胺化 HES 和荧光标记的肝素的连接产物 (200mg)。

[0251] 在水溶液中和作为固体, 当用 UV 光在 366nm 照射时该化合物均显示强烈的绿色 - 黄色荧光。与肝素相比, $^1\text{H-NMR}$ 谱 (400MHz, D_2O) 另外显示典型的芳香族 CH 峰, 其化学位移为 7.0-7.8ppm, 指示是典型的吡啶取代基。

[0252] 实施例 9 (实施例 5, 步骤 b) 中获得的产物与来自实施例 8, 步骤 a) 的荧光标记的肝素通过使用 EDC⁴⁾ 的偶联进行连接)

[0253]



[0254] 向 HEP* (实施例 8, 步骤 a)) (60mg) 和来自实施例 5, 步骤 b) 的反应产物 (160mg) 在蒸馏水 (4ml) 中的溶液加入 EDC 盐酸盐 (80mg, 100 当量)。将该反应溶液在 20°C 搅拌过夜, 然后倾倒在丙酮 (5ml) 上。滤出沉淀的固体并干燥。为进一步纯化, 将粗产物溶解在蒸馏水中并透析 24 小时。通过蒸发去除水后, 依照上面显示的通式图解的所需连接产物作为无色固体获得 (0.1g)。

[0255] 在水溶液中和作为固体, 当用 UV 光在 366nm 照射时该化合物均显示强烈的绿

色 - 黄色荧光。与肝素相比,¹H-NMR 谱 (400MHz, D₂O) 另外显示典型的芳香族 CH 峰,其化学位移为 7.0-7.8ppm,指示是典型的吡啶取代基。

[0256] ¹) 肝素 (也缩写为 HEP);采用 (猪来源的) 钠盐, pH = 7, 平均 M_w = 12-15kDa, 生产商:常州生化干红制药有限公司 (Changzhou Qianhong Bio-Pharma Co., Ltd.), 江苏省, 中国。

[0257] ²) A. N. De Belder 和 Kirsti Granath; Carbohydrate Research (糖类研究), 30 (1973), 375-378。

[0258] ³) HES₄₀;羟乙基淀粉, 其平均分子量 M_w = 40kDa, 取代度 DS = 0.3;生产商:BBraun, Crissier, 瑞士。

[0259] ⁴) EDC; N-二甲基氨基丙基-N-乙基碳二亚胺盐酸盐

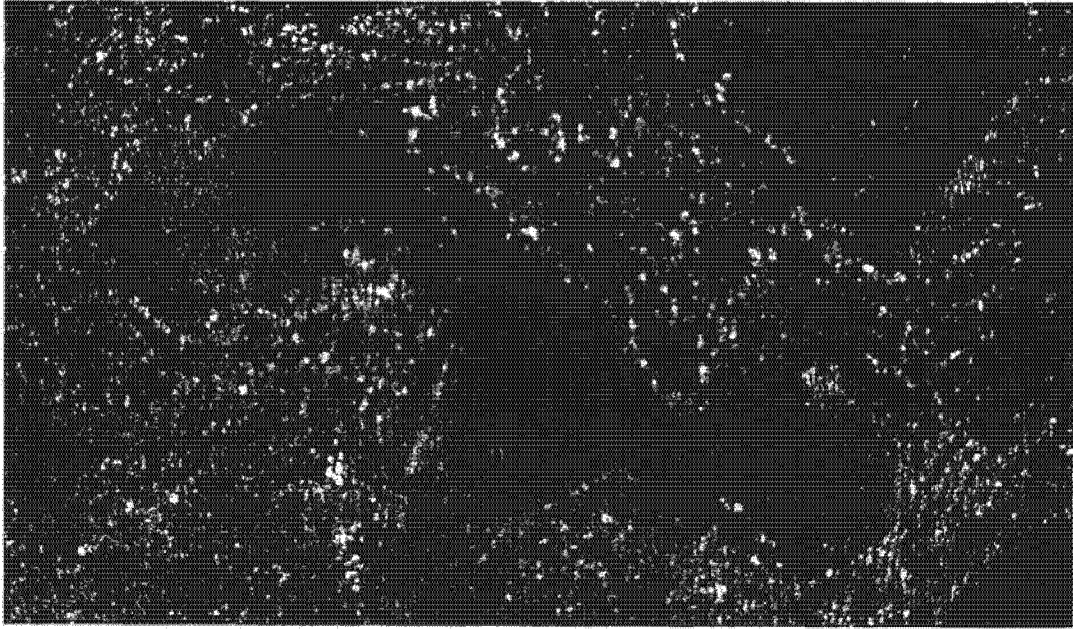


图 1

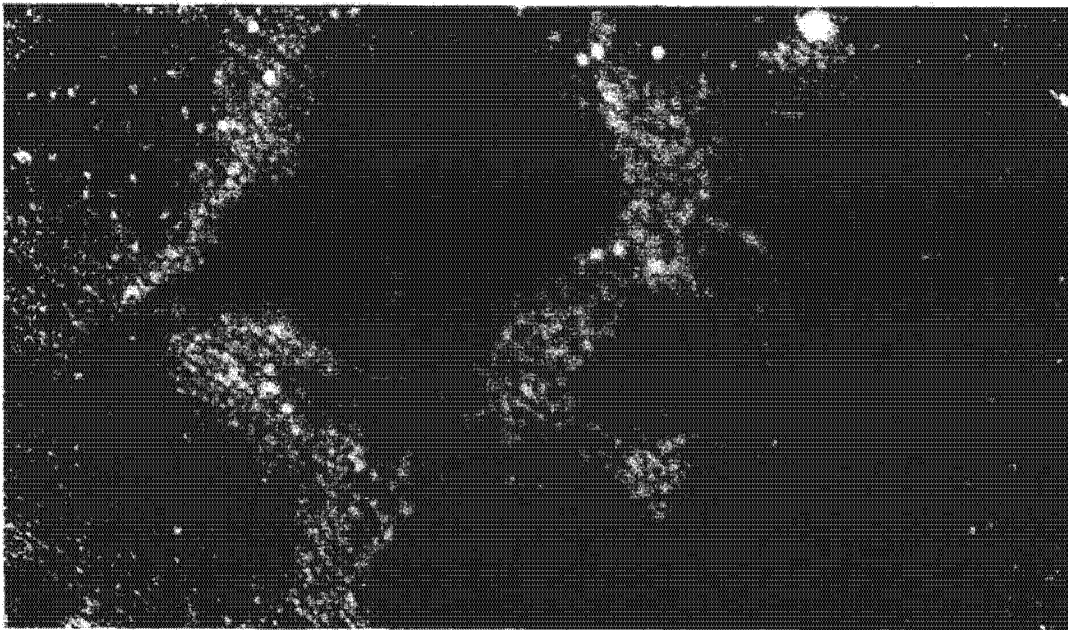


图 2