



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 104258421 B

(45)授权公告日 2016.09.21

(21)申请号 201410464382.3

(22)申请日 2014.09.12

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 104258421 A

(43)申请公布日 2015.01.07

(73)专利权人 温州大学
地址 325035 浙江省温州市茶山高教园区

(72)发明人 张伟禄 陈佳燕 刘若望 邵玉蕾
史晓妮 吴波

(74)专利代理机构 杭州天正专利事务所有限公
司 33201

代理人 黄美娟 俞慧

(51)Int.Cl.

A61K 49/04(2006.01)

A61K 49/12(2006.01)

(56)对比文件

CN 104028181 A,2014.09.10,

CN 101620910 A,2010.01.06,

M. F. Ferreira et al..Gold

nanoparticles functionalised with stable,

fast water exchanging Gd³⁺ chelates as

high relaxivity contrast agents for MRI.

《Dalton Trans.》.2012,第41卷

审查员 张丽芳

权利要求书1页 说明书5页 附图2页

(54)发明名称

一种贵金属/顺磁金属复合纳米粒子及其应
用

(57)摘要

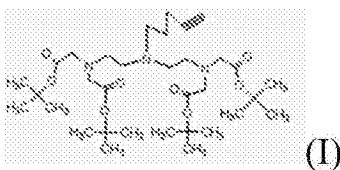
本发明公开了一种贵金属/顺磁金属复合纳
米粒子及其应用,该贵金属/顺磁金属复合纳
米粒子具有化学稳定性好、造影效果和生物相容性
好的特点,可用作MRI和CT增强对比剂。

1. 一种贵金属/顺磁金属复合纳米粒子,由贵金属纳米粒子、有机键合单元以及顺磁金属组成,其制备方法包括以下步骤:

(1)将聚琥珀酰亚胺溶于N,N-二甲基甲酰胺(DMF)中,氮气保护以及搅拌下升温至30~65℃,然后加入化合物A,24-48小时后停止加热,反应混合物经透析、旋蒸、干燥后得到产物I;所述化合物A为1-叠氮烷基胺,其中烷基的碳原子个数在2~6个;

(2)将产物I溶于N,N-二甲基甲酰胺中,氮气保护和搅拌下滴加化合物B和催化剂N,N-二异丙基乙胺,于30~80℃反应24-48小时后停止加热,反应混合物经透析、旋蒸、干燥得到产物II;所述的化合物B为对氨基苯硫酚或L-半胱氨酸盐酸盐或半胱胺盐酸盐;

(3)将产物II与式(I)所示的N²-(4-炔基)-二亚乙基三胺-四叔丁酯溶于四氢呋喃中,再加入新制的抗坏血酸钠和五水硫酸铜的水溶液,于室温下反应2-4小时后萃取分离有机层,再经透析、旋蒸、干燥得到产物III;



(4)将产物III溶于二氯甲烷中,搅拌下缓慢滴加三氟乙酸,加毕室温反应24-48小时后停止,旋蒸除去二氯甲烷和三氟乙酸,加入乙醚超声分散,经分离、洗涤、干燥得到产物IV;

(5)将产物IV溶于超纯水中,滴加化合物C的水溶液,滴毕调节pH值至8-9,然后搅拌1-2小时,反应混合物经透析、干燥得到产物V;所述化合物C选自顺磁镧系金属氯化物;

(6)制备金或银纳米粒子;

(7)将产物V溶于二甲亚砜(DMSO)中,并加入步骤(6)新制备的金或银纳米粒子,室温下反应12-24小时后,反应混合物经透析、旋蒸、干燥得到最终产物贵金属/顺磁金属复合纳米粒子。

2. 如权利要求1所述的贵金属/顺磁金属复合纳米粒子,其特征在于:步骤(1)中,聚琥珀酰亚胺与化合物A的投料摩尔比为1:0.2~0.5。

3. 如权利要求1所述的贵金属/顺磁金属复合纳米粒子,其特征在于:步骤(2)中,产物I、化合物B、N,N-二异丙基乙胺的投料摩尔比为1:0.8~0.5:0.8~0.5。

4. 如权利要求1所述的贵金属/顺磁金属复合纳米粒子,其特征在于:步骤(3)中,产物II与N²-(4-炔基)-二亚乙基三胺-四叔丁酯、抗坏血酸钠、硫酸铜的投料摩尔比为1:0.2~0.5:0.2~0.5:0.2~0.5。

5. 如权利要求1所述的贵金属/顺磁金属复合纳米粒子,其特征在于:步骤(4)中,产物III与三氟乙酸的投料摩尔比为1:4~8。

6. 如权利要求1所述的贵金属/顺磁金属复合纳米粒子,其特征在于:步骤(5)中,产物IV与化合物C的投料摩尔比为1:1~2。

7. 如权利要求1所述的贵金属/顺磁金属复合纳米粒子,其特征在于:步骤(7)中,产物V与纳米贵金属胶体溶液中的纳米贵金属粒子的投料摩尔比为1:8~32。

8. 如权利要求1所述的贵金属/顺磁金属复合纳米粒子在制备MRI增强对比剂中的应用。

9. 如权利要求1所述的贵金属/顺磁金属复合纳米粒子在制备CT增强对比剂中的应用。

一种贵金属/顺磁金属复合纳米粒子及其应用

技术领域

[0001] 本发明涉及一种纳米医学技术领域,具体地说是一种金属有机高分子复合纳米粒子的制备和应用。

技术背景

[0002] 国内、外学者所制备的金/钆复合纳米粒子主要包括:D.P.Cormode等在液相中制备出以金为核,磷脂和含钆配体为壳的高密度脂蛋白纳米粒子,粒径约为9.7nm,可作为荧光、CT和MRI多模造影剂;K.W.Hu等用尿素与 $GdCl_3 \cdot 6H_2O$ 摩尔比为4:1于91℃水溶液中回流4小时制备平均粒径为441nm的 $Gd_2O(CO_3)_2 \cdot H_2O$ 颗粒,再与四乙氧基硅烷聚合生成硅包覆的 $Gd_2O(CO_3)_2 \cdot H_2O/Si$,经硅烷偶联剂修饰表面产生 $-NH_2$ 官能团后与带负电的纳米金以静电作用结合,再引入甲醛还原氯金酸体系促进金壳生长最终制备出以金为壳的 $Gd_2O(CO_3)_2 \cdot H_2O/Si$ 复合粒子;D.Gerion等采用柠檬酸钠法首先制备出粒径为5nm和10nm的金纳米胶,加磷化氢表面活性剂使胶体稳定,然后进行硅烷化反应并经后续处理使其外层包覆二氧化硅,再与Gd-DOTA生成共价键制备成粒径不超过18nm的Gd-DOTA-SiO₂-Au复合粒子;Y.Chen等利用含丰富比表面积的介孔氧化硅将Gd-Si-DTPA嫁接到Au@mSiO₂纳米胶囊的孔隙中制备成Gd-Si-DTPA-Au@mSiO₂核/壳结构的介孔纳米胶囊,可应用于生物双峰成像包括暗视野光散射细胞和T₁加权MR成像;C.Alric等用多层有机质壳包覆纳米金制备出纳米粒子,其MRI增强作用源自于有机壳中的钆离子,而被包覆的金核对X射线有较强的吸收,结果表明该粒子适用于双重形态成像;S.M.Nasiruzzaman等通过钆离子配体(GdL)取代纳米金表面的柠檬酸根离子制备出粒径约12nm的复合粒子GdL@Au,其中一个复合粒子包含 1.4×10^3 个GdL,可用作MRI和CT造影剂;Moriggi等用巯基修饰的小分子配体DTTA(Dt)作为保护剂,制备出Dt包覆的金纳米簇,再与Gd³⁺反应得到金/钆复合纳米粒子用于MRI造影剂。

发明内容

[0003] 本发明的第一个目的在于提供一种化学稳定性好、造影效果和生物相容性好的贵金属/顺磁金属复合纳米粒子。

[0004] 本发明的第二个目的是提供所述贵金属/顺磁金属复合纳米粒子作为MRI和CT增强对比剂的应用。

[0005] 为实现上述发明目的,本发明采用如下技术方案:

[0006] 本发明所涉及的贵金属/顺磁金属复合纳米粒子由贵金属纳米粒子、有机键合单元以及顺磁金属组成,其制备方法包括以下步骤:

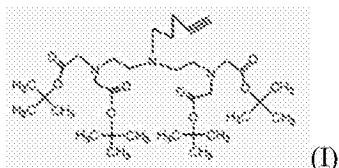
[0007] (1)将聚琥珀酰亚胺溶于N,N-二甲基甲酰胺(DMF)中,氮气保护以及搅拌下升温至30~65℃,然后加入化合物A,24-48小时后停止加热,反应混合物经透析、旋蒸、干燥后得到产物I;所述化合物A为1-叠氮烷基胺,其中烷基的碳原子个数在2~6个;

[0008] (2)将产物I溶于N,N-二甲基甲酰胺中,氮气保护和搅拌下滴加化合物B和催化剂N,N-二异丙基乙胺,于30~80℃反应24-48小时后停止加热,反应混合物经透析、旋蒸、干燥

得到产物II;所述的化合物B为对氨基苯硫酚或L-半胱氨酸盐酸盐或半胱胺盐酸盐;

[0009] (3)将产物II与式(I)所示的 N^2 -(4-炔基)-二亚乙基三胺-四叔丁酯溶于四氢呋喃中,再加入新制的抗坏血酸钠和五水硫酸铜的水溶液,于室温下反应2-4小时后萃取分离有机层,再经透析、旋蒸、干燥得到产物III;

[0010]



[0011] (4)将产物III溶于二氯甲烷中,搅拌下缓慢滴加三氟乙酸,加毕室温反应24-48小时后停止,旋蒸除去二氯甲烷和三氟乙酸,加入乙醚超声分散,经分离、洗涤、干燥得到产物IV;

[0012] (5)将产物IV溶于超纯水中,滴加化合物C的水溶液,滴毕调节pH值至8-9,然后搅拌1-2小时,反应混合物经透析、干燥得到产物V;所述化合物C选自顺磁镧系金属氯化物;

[0013] (6)制备金或银纳米粒子;

[0014] (7)将产物V溶于二甲亚砜(DMSO)中,并加入步骤(6)新制备的金或银纳米粒子,室温下反应12-24小时后,反应混合物经透析、旋蒸、干燥得到最终产物贵金属/顺磁金属复合纳米粒子。

[0015] 进一步,步骤(1)中,聚琥珀酰亚胺与化合物A的投料摩尔比为1:0.2~0.5。

[0016] 进一步,产物I、化合物B、N,N-二异丙基乙胺的投料摩尔比为1:0.8~0.5:0.8~0.5。

[0017] 进一步,步骤(3)中,产物II与 N^2 -(4-炔基)-二亚乙基三胺-四叔丁酯、抗坏血酸钠、硫酸铜的投料摩尔比为1:0.2~0.5:0.2~0.5:0.2~0.5。

[0018] 进一步,步骤(4)中,产物III与三氟乙酸的投料摩尔比为1:4~8。

[0019] 进一步,步骤(5)中,产物IV与化合物C的投料摩尔比为1:1~2。

[0020] 进一步,步骤(6)中,金或银纳米粒子的制备方法为常规还原法,本领域技术人员根据现有技术即可完成制备,例如可采用如下方法制备:将适量贵金属化合物(氯化金、高氯酸金、硝酸银等)溶于超纯水中,加热至沸腾后迅速加入适量柠檬酸钠或硼氢化钠,反应5-10分钟后冷却至室温,继续搅拌0.5-1小时后停止,得贵金属纳米胶体溶液。其中贵金属化合物与柠檬酸钠或硼氢化钠的摩尔比为1:4~8。

[0021] 进一步,步骤(7)中,产物V与纳米贵金属胶体溶液中的纳米贵金属粒子的投料摩尔比为1:8~32。

[0022] 本发明还提供了所述的贵金属/顺磁金属复合纳米粒子作为MRI和CT增强对比剂的应用。

[0023] 本发明中高分子化合物的分子量都是采用凝胶色谱法测得的平均分子量。

[0024] 与现有技术相比,本发明通过化合物A和化合物B先后与聚琥珀酰亚胺反应,得到含有多个叠氮官能团和多个巯基官能团的共聚物,并向该共聚物中引入顺磁金属离子,得到大分子顺磁金属配合物,并利用Au-S键或Ag-S键将该配合物与贵金属金或银纳米粒子链接,从而制备一种化学稳定的贵金属/顺磁金属复合纳米粒子。该复合粒子具有以下优势:(1)以高分子链为键合单元,增加了钆离子螯合的位点数,有助于提高弛豫性能;(2)高分子

链上存在多个巯基,可与贵金属纳米粒子形成稳定的化学键,有助于提高化学稳定性;(3)贵金属纳米粒子不仅可以作为键合单元的组装平台,同时由于其特殊的永磁性也可作为信号放大单元,另外聚琥珀酰亚胺的使用使得该复合粒子具有良好的生物相容性,有望作为对比剂应用于医学成像领域。

附图说明

[0025] 图1是实施例1制得的金/钆复合纳米粒子的结构示意图。

[0026] 图2是实施例1制得的金/钆复合纳米粒子的透射电镜(TEM)图像。

[0027] 图3是实施例1制得的金/钆复合纳米粒子的MRI图像,从左到右依次为金/钆复合纳米粒子、不含金的对照物(即实施例1中的产物V)、钆喷酸葡胺注射液(北京北陆药业股份有限公司),浓度从上至下依次为 1.00 、 0.50 、 0.25 、 0.125 、 0.0625 、 $0.0 \times 10^{-3} \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

[0028] 图4是实施例1制得的金/钆复合纳米粒子的CT图像,1-6浓度依次为 1.00 、 0.50 、 0.25 、 0.125 、 0.0625 、 $0.0 \times 10^{-3} \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

具体实施方式

[0029] 为了进一步阐述本发明特提供以下实例。显然本发明的实施方式并不限于下述实施例。

[0030] 实施例1

[0031] 步骤a,将聚琥珀酰亚胺(分子量20000)1.0g溶于5mL N,N-二甲基甲酰胺(DMF)溶剂中,并投入100mL三口烧瓶中,搅拌,通氮气保护,升温至 60°C 后加入0.4g 1-叠氮丙胺,反应24小时后停止加热。将反应混合物转移至截留分子量为3500的透析袋于DMF中透析48小时,旋转蒸发除掉DMF得深橙色粘稠液体,减压干燥后得产物I。

[0032] 步骤b,将1.25g产物I溶于5mL DMF中,通氮气保护,搅拌并加入1.13g半胱胺盐酸盐、1.32g N,N-二异丙基乙胺, 60°C 反应24小时后停止加热。将反应后混合物转移至截留分子量为3500透析袋中于超纯水中透析48小时,旋转蒸发除掉大部分水后冷冻干燥得淡粉色固体产物II。

[0033] 步骤c,取1.25g产物II与3.90g N^2 -(4-炔基)-二亚乙基三胺-四叔丁酯溶于5mL四氢呋喃中,再加入新鲜配制的 $1 \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 抗坏血酸钠和五水硫酸铜水溶液各1mL,于室温下反应2小时后加入10mL水、10mL二氯甲烷,搅拌2分钟后转移至分液漏斗,保留有机层,于二氯甲烷中透析24小时后旋转蒸发除去二氯甲烷,减压干燥后得产物III。

[0034] 步骤d,将3.0g产物III溶于5mL二氯甲烷中,搅拌,室温下缓慢滴加2mL三氟乙酸,室温反应24小时后停止,旋蒸除去二氯甲烷和三氟乙酸后,加10mL乙醚超声分散10分钟,得白色固体粉末,再用无水乙醚洗涤三次,减压干燥后得产物IV。

[0035] 步骤e,将2.5g产物IV溶于5mL超纯水中,将0.7g GdCl_3 溶于水中,并分三次滴加,每次滴加完后用碳酸氢钠饱和溶液调节pH值为8-9。搅拌1小时后将反应混合物移入透析袋,在水中透析48小时后,冷冻干燥得产物V。

[0036] 步骤f,将0.42g氯金酸溶于20mL超纯水中,加热至沸腾,迅速加入1.00g柠檬酸钠,反应5分钟后冷却至室温,继续搅拌0.5小时后停止,得纳米金溶胶产物VI。

[0037] 步骤g,将0.2g产物V溶于2mL DMSO中,并滴加10mL浓度 0.001mol/L 产物VI,室温

下反应12小时后移至3500Da透析袋中,于超纯水中透析24小时,旋蒸除掉大部分水后于3000转/分转数下离心分离30分钟,取上层溶液浓缩后冷冻干燥得最终产物。

[0038] 将最终产物配置成不同浓度的水溶液(1.00、0.50、0.25、0.125、0.0625、0.0mmol·L⁻¹)。然后置于小试管中,分别于核磁共振成像仪和电子计算机断层扫描仪中测试成像效果。结果表明,实施例1中复合纳米粒子具备MRI增强效果(如图3),和CT成像效果(如图4)。其MRI弛豫率为47.6mM⁻¹·s⁻¹,1mM的CT值为59.5/0.8。

[0039] 实施例2

[0040] 步骤a,将聚琥珀酰亚胺(分子量20000)1.0g溶于5mL N,N-二甲基甲酰胺(DMF)溶剂中,并投入100ml三口烧瓶中,搅拌,通氮气保护,升温至60℃后加入0.4g1-叠氮丙胺,反应24小时后停止加热。将反应混合物转移至截留分子量为3500的透析袋于DMF中透析48小时,旋转蒸发除掉DMF得深橙色粘稠液体,减压干燥后得产物I。

[0041] 步骤b,将1.25g产物I溶于5mL DMF中,通氮气保护,搅拌加入1.13g半胱胺盐酸盐、1.32g N,N-二异丙基乙胺,60℃反应24小时后停止加热。将反应后混合物转移至截留分子量为3500透析袋中于超纯水中透析48小时,旋转蒸发除掉大部分水后冷冻干燥得淡粉色固体产物II。

[0042] 步骤c,取1.25g产物II与3.90g N²-(4-炔基)-二亚乙基三胺-四叔丁酯溶于5mL四氢呋喃中,再加入新鲜配制的1mol·L⁻¹抗坏血酸钠和五水硫酸铜水溶液各1mL,于室温下反应2小时后加入10mL水、10mL二氯甲烷,搅拌2分钟后转移至分液漏斗,保留有机层,于二氯甲烷中透析24小时后旋转蒸发除去二氯甲烷,减压干燥后得产物III。

[0043] 步骤d,将3.0g产物III溶于5mL二氯甲烷中,搅拌,室温下缓慢滴加2mL三氟乙酸,室温反应24小时后停止,旋蒸除去二氯甲烷和三氟乙酸后,加10mL乙醚超声分散10分钟,得白色固体粉末,再用无水乙醚洗涤三次,减压干燥后得产物IV。

[0044] 步骤e,将2.5g产物IV溶于5mL超纯水中,将0.7g GdCl₃溶于水中,并分三次滴加,每次滴加完毕后用碳酸氢钠饱和溶液调节pH值为8-9。搅拌1小时后将反应混合物移入透析袋,在水中透析48小时后,冷冻干燥得产物V。

[0045] 步骤f,在剧烈搅拌下于冰盐浴中将25mL浓度为2×10⁻³mol·L⁻¹硝酸银溶液滴加到25mL浓度为8×10⁻³mol·L⁻¹硼氢化钠水溶液中,反应30分钟后得到银纳米粒子水溶胶产物VI。

[0046] 步骤g,将0.2g产物V溶于2mL DMSO中,并滴加10mL浓度0.001mol/L产物VI,室温下反应12小时后移至3500Da透析袋中,于超纯水中透析24小时,旋蒸除掉大部分水后于3000转/分转数下离心分离30分钟,取上层溶液浓缩后冷冻干燥得最终产物。

[0047] 实施例3

[0048] 步骤a,将聚琥珀酰亚胺1.0g溶于5mLDMF溶剂中,并投入100ml三口烧瓶中,搅拌,通氮气保护,升温至60℃后加入0.4g1-叠氮丙胺,反应24小时后停止加热。将反应混合物转移至截留分子量为3500的透析袋于DMF中透析48小时,旋转蒸发除掉DMF得深橙色粘稠液体,减压干燥后得产物I。

[0049] 步骤b,将1.25g产物I溶于5mL DMF溶剂中,通氮气保护,搅拌加入2.5g对氨基苯硫酚、1.32g N,N-二异丙基乙胺,60℃反应24小时后将反应混合物转移至截留分子量为3500透析袋中于超纯水中透析48小时,旋转蒸发除掉大部分水后冷冻干燥得产物II。

[0050] 步骤c,取1.0g产物II与3.90g N^2 -(4-炔基)-二亚乙基三胺-四叔丁酯溶于5mL四氢呋喃中,再加入新鲜配制的 $1\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 抗坏血酸钠和五水硫酸铜水溶液各1mL,于室温下反应2小时后加入10mL水、10mL二氯甲烷,搅拌2分钟后转移至分液漏斗,保留有机层,于二氯甲烷中透析24小时后旋转蒸发除去二氯甲烷,减压干燥后得产物III。

[0051] 步骤d,将3.0g产物III溶于5mL二氯甲烷中,搅拌,室温下缓慢滴加2mL三氟乙酸,室温反应24小时后停止,旋蒸除去二氯甲烷和三氟乙酸后,加10mL乙醚超声分散10分钟,得白色固体粉末,再用无水乙醚洗涤三次,减压干燥后得产物IV。

[0052] 步骤e,将2.5g产物IV溶于5mL超纯水中,将0.7g GdCl_3 溶于水中,并分三次滴加,每次滴加完后用碳酸氢钠饱和溶液调节pH值为8-9。搅拌1小时后将反应混合物移入透析袋,在水中透析48小时后,冷冻干燥得产物V。

[0053] 步骤f,将0.42g氯金酸溶于20mL超纯水中,加热至沸腾,迅速加入1.00g柠檬酸钠,反应5分钟后冷却至室温,继续搅拌0.5小时后停止,得纳米金溶胶产物VI。

[0054] 步骤g,将0.2g产物V溶于2mL DMSO中,并滴加10mL浓度 0.001mol/L 产物VI,室温下反应12小时后移至3500Da透析袋中,于超纯水中透析24小时,旋蒸除掉大部分水后于3000转/分转数下离心分离30分钟,取上层溶液浓缩后冷冻干燥得最终产物。

[0055] 实施例4

[0056] 步骤a,将聚琥珀酰亚胺1.0g溶于5mL DMF溶剂中,并投入100ml三口烧瓶中,搅拌,通氮气保护,升温至 60°C 后加入0.2g1-叠氮丙胺,反应24小时后停止加热。将反应混合物转移至截留分子量为3500的透析袋于DMF中透析48小时,旋转蒸发除掉DMF得深橙色粘稠液体,减压干燥后得产物I。

[0057] 步骤b,将1.25g产物I溶于5mL DMF溶剂中,通氮气保护,搅拌加入1.25g对氨基苯硫酚、1.32g N,N-二异丙基乙胺, 60°C 反应24小时后将反应混合物转移至截留分子量为3500透析袋中于超纯水中透析48小时,旋转蒸发除掉大部分水后冷冻干燥得产物II。

[0058] 步骤c,取1.0g产物II与3.90g N^2 -(4-炔基)-二亚乙基三胺-四叔丁酯溶于5mL四氢呋喃中,再加入新鲜配制的 $1\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 抗坏血酸钠和五水硫酸铜水溶液各1mL,于室温下反应2小时后加入10mL水、10mL二氯甲烷,搅拌2分钟后转移至分液漏斗,保留有机层,于二氯甲烷中透析24小时后旋转蒸发除去二氯甲烷,减压干燥后得产物III。

[0059] 步骤d,将3.0g产物III溶于5mL二氯甲烷中,搅拌,室温下缓慢滴加2mL三氟乙酸,室温反应24小时后停止,旋蒸除去二氯甲烷和三氟乙酸后,加10mL乙醚超声分散10分钟,得白色固体粉末,再用无水乙醚洗涤三次,减压干燥后得产物IV。

[0060] 步骤e,将2.5g产物IV溶于5mL超纯水中,将0.7g GdCl_3 溶于水中,并分三次滴加,每次滴加完后用碳酸氢钠饱和溶液调节pH值为8-9。搅拌1小时后将反应混合物移入透析袋,在水中透析48小时后,冷冻干燥得产物V。

[0061] 步骤f,在剧烈搅拌下于冰盐浴中将25mL浓度为 $2 \times 10^{-3}\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 硝酸银溶液滴加到25mL浓度为 $8 \times 10^{-3}\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 硼氢化钠水溶液中,反应30分钟后得到银纳米粒子水溶胶产物VI。

[0062] 步骤g,将0.2g产物V溶于2mL DMSO中,并滴加10mL浓度 0.001mol/L 产物VI,室温下反应12小时后移至3500Da透析袋中,于超纯水中透析24小时,旋蒸除掉大部分水后于3000转/分转数下离心分离30分钟,取上层溶液浓缩后冷冻干燥得最终产物。

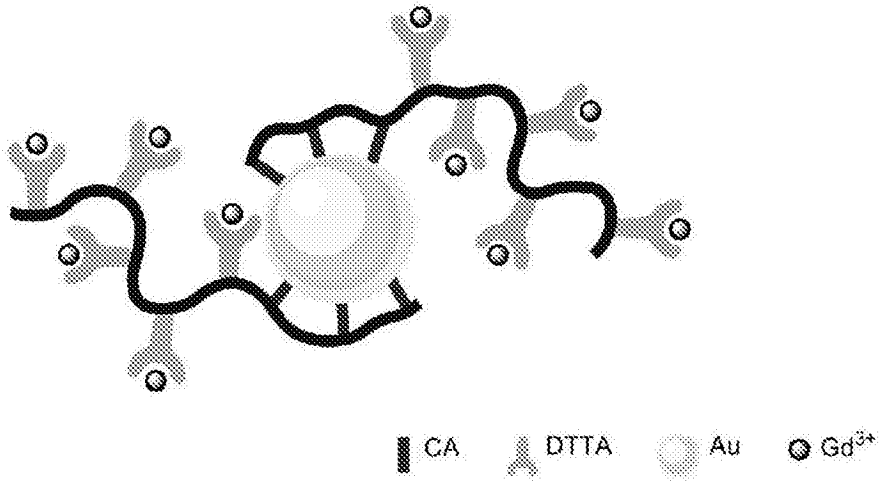


图1

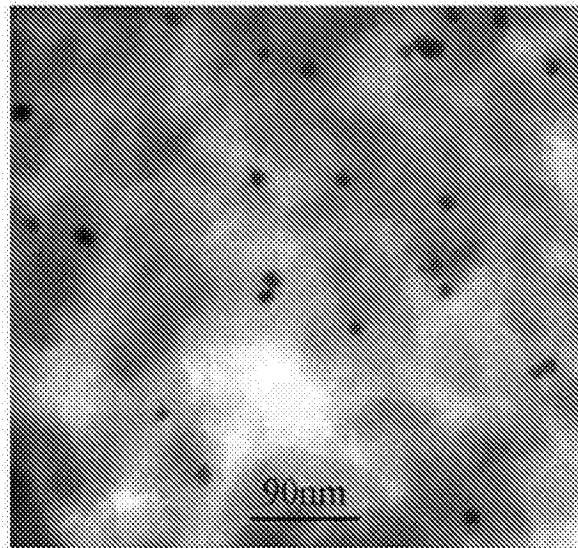


图2

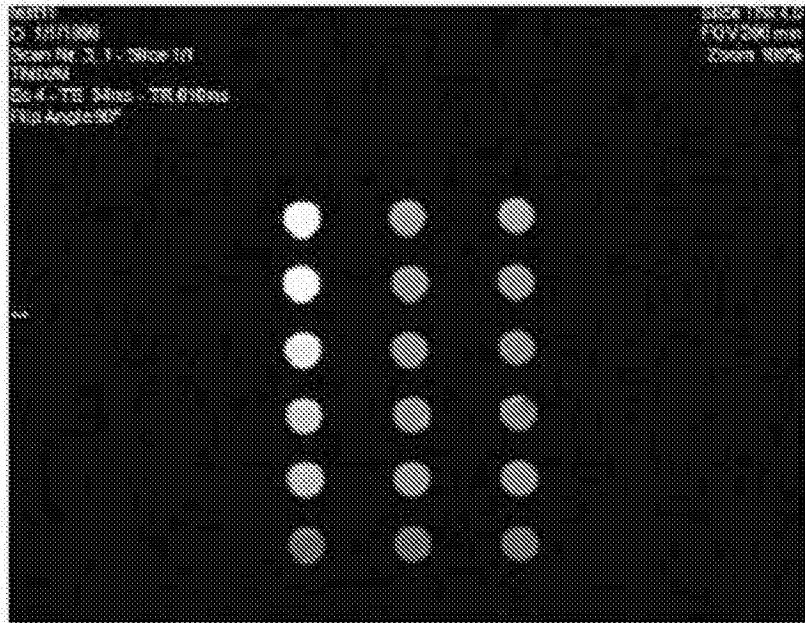


图3

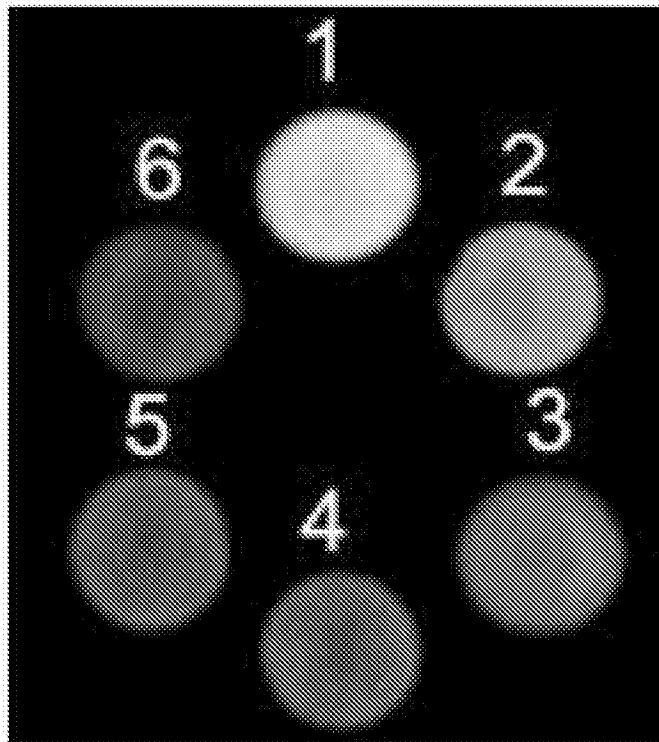


图4