(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国 际 局

(43) 国际公布日
2020 年 12 月 30 日 (30.12.2020)

WIPO | PCT

(10) 国际公布号
WO 2020/258584 A1

(51) 国际专利分类号:
A61K 9/51 (2006.01) *A61K 45/00* (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01) *A61K 47/34* (2017.01)
A61K 9/14 (2006.01) *A61K 47/36* (2006.01)
A61K 31/454 (2006.01) *A61P 1/00* (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2019/110565

(22) 国际申请日: 2019 年 10 月 11 日 (11.10.2019)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
201910550078.3 2019年6月24日 (24.06.2019) CN

(71) 申请人: 苏州大学(SOOCHOW UNIVERSITY) [CN/CN]; 中国江苏省苏州市工业园区仁爱路199号, Jiangsu 215000 (CN)。

(72) 发明人: 华道本(HUA, Daoben); 中国江苏省苏州市工业园区仁爱路199号, Jiangsu 215000 (CN)。张钰烁 (ZHANG, Yushuo); 中国江苏省苏州市工业园区仁爱路199号, Jiangsu 215000 (CN)。王璐 (WANG, Lu); 中国江苏省苏州市工业园区仁爱路199号, Jiangsu 215000 (CN)。杨森 (YANG, Sen); 中国江苏省苏州市工业园区仁爱路199号, Jiangsu 215000 (CN)。

(74) 代理人: 苏州市中南伟业知识产权代理事务所(普通合伙) (CENTRAL SOUTH WELL INTELLECTUAL PROPERTY OFFICE); 中国江苏省苏州市工业园区金芳路18号B3幢二层214室, Jiangsu 215000 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明，要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU,

(54) **Title:** RADIOPROTECTIVE NANOMEDICINE ACTING ON SMALL INTESTINE AND PREPARATION METHOD THEREFOR

(54) **发明名称:** 作用于小肠的辐射防护纳米药物及其制备方法

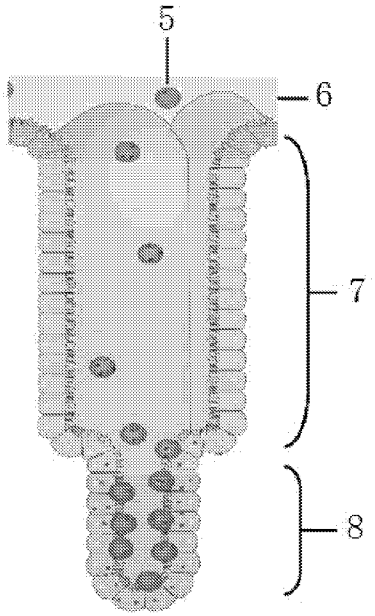


图 7

(57) **Abstract:** Provided is a method for constructing a nanomedicine with an adhesion to the small intestine. The method comprises: activating basic amino acids by means of using a small molecule catalyst, adding a polysaccharide solution therein for a reaction, then obtaining an amphiphilic high-molecular polymer after the reaction; adding a drug solution therein, mixing same well, then obtaining a nanoparticle loaded with the drug, wherein the nanoparticle comprises a hydrophilic portion and a hydrophobic portion, and the drug has a radiation protection property or an inhibitory effect on cell death induced by ionizing radiation; and adding the nanoparticle loaded with the drug to a dopamine solution for a reaction, then obtaining, after the reaction is complete, the nanomedicine on which surface are the basic amino acids and polydopamine. Also provided is an oral nanomedicine with an adhesion to the intestines. The nanomedicine has a high biocompatibility, can tolerate gastrointestinal acid and alkali environments, and has a small intestine adhesion property and the ability to penetrate the intestinal mucus barrier.

(57) **摘要:** 一种具有小肠黏附性的纳米药物构建方法：利用小分子催化剂活化碱性氨基酸，然后向其中加入多糖溶液，反应后得到两亲性高分子聚合物；然后向其中加入药物溶液，混匀后得到包载有药物的纳米颗粒，纳米颗粒包括亲水部分和疏水部分；药物具有辐射防护性能或对电离辐射诱导的细胞死亡有抑制效果；将所得包载有药物的纳米颗粒加入多巴胺溶液中反应，反应完全后得到表面为碱性氨基酸和聚多巴胺的纳米药物。同时提供一种具有肠道黏附性的口服纳米药物，该纳米药物生物相容性高，可耐受胃肠道酸碱环境，具有小肠黏附性能及肠道粘液屏障穿透能力。

WO 2020/258584 A1

[见续页]

CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国(除另有指明，要求每一种可提供的地区保护)：ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

— 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

作用于小肠的辐射防护纳米药物及其制备方法

技术领域

本发明涉及作用于小肠的纳米药物，尤其涉及作用于小肠的辐射防护纳米药物及其制备方法。

背景技术

随着核工业与核技术的发展及广泛应用，核安全的重要性日渐突出，如何有效防治急性辐射损伤已经成为核安全领域的重要研究内容。机体在短时间内受到剂量大于 10 Gy 的电离辐射将引起严重的胃肠道综合征，可使患者出现腹泻、血便、肠道炎症等症状，并在数周内导致患者死亡。虽然现有的辐射防护药物虽能发挥一定的辐射防护效果，然而其较低的靶向性及严重的副作用常导致其肠道辐射损伤救治效果不甚理想。目前针对小肠的辐射防护手段主要为注射类制剂和口服制剂两类，注射类小肠辐射防护药物主要为清除电离辐射产生自由基的抗氧化剂（DOI:10.1016/j.freeradbiomed.2018.10.）及硫醇类制剂（DOI: 10.1634/theoncologist.12-6-738）；抑制辐射诱导肠上皮细胞凋亡的小分子药物（DOI: 10.1053/gast.2002.34209; DOI: 10.1093/jrr/rrs001）及蛋白类制剂（DOI: 10.1126/science.1154986）；以及可促进小肠干细胞再生重建的细胞因子制剂（DOI: 10.1084/jem.173.5.1177; DOI: 10.1097/00002820-200308000-00012）和骨髓来源的分泌型囊泡（DOI: 10.1038/ncomms13096）等。以上药物均旨在通过侵入性操作（如静脉注射，腹腔注射等）使药物分布于全身，以达到小肠辐射防护效果。而口服类制剂如肠道菌群移植（DOI: 10.15252/emmm.201606932）、氨磷汀微胶囊（DOI: 10.1016/j.ijpharm.2013.06.019）及 Ex-RAD®（DOI: 10.1269/jrr.11191）等，需使生物活性制剂（如移植菌群）存活于肠腔内，或使辐射防护药物吸收入血达到全身有效浓度以发挥小肠辐射防护作用。但胃肠道蠕动、消化液的快速流动、胃肠道极端酸碱环境和消化酶，使口服制剂难以长久且有效地停留在胃肠道内，降低了口服制剂的辐射防护效果。目前尚未发明在消化道液体环境下仍可黏附于小肠组织，通过在小肠局部缓慢持久地释放药物以达到辐射防护效果的纳米药物。

由于注射类药物可能引起严重的毒副作用（如蛋白类制剂诱发机体免疫反应等），且静脉给药难以保证药物到达辐射敏感性较高的小肠组织（研究发现药物常倾向于集中在肝脏、脾脏）。而口服类制剂则可能被胃肠道极端的 pH 环境及消化酶分解。最重要的是，多数药物均无法抵抗消化液的快速流动，因此口服药物常难以停留在辐射敏感性较高的小肠组织内，故

无法发挥高效辐射防护作用。

发明内容

为解决上述技术问题，本发明的目的是提供一种作用于小肠的辐射防护纳米药物及其制备方法，本发明提供了一种具有肠道黏附性的纳米药物，该药物可耐受胃肠道酸碱环境，生物相容性高，且具有肠粘液屏障地穿透能力，可将药物有效集中于小肠隐窝干细胞部位。

本发明的第一个目的是提供一种纳米药物的制备方法，包括以下步骤：

（1）在酸性缓冲溶液中，利用小分子催化剂活化亲水性的碱性氨基酸，然后向其中加入多糖溶液，在 pH=4.5-5.5，20-30℃条件下混匀并反应，得到两亲性高分子聚合物；然后向其中加入药物溶液，混匀后，得到包载有药物的纳米颗粒，所述纳米颗粒包括亲水部分和疏水部分，所述亲水部分为碱性氨基酸，疏水部分为多糖和药物；其中，药物具有辐射防护性或具有抑制电离辐射诱导的细胞死亡（如凋亡、焦亡等）效果且药物在胃酸环境中带正电荷；

（2）将步骤（1）所得包载有药物的纳米颗粒加入多巴胺溶液中，在 pH=8.0-10.0 条件下于 25-50℃下反应，反应完全后得到表面为碱性氨基酸和聚多巴胺的纳米药物。

进一步地，在步骤（1）中，酸性缓冲溶液为吗啉乙磺酸溶液、冰醋酸或盐酸溶液。

进一步地，在步骤（1）中，活化时间为 2-6 小时。

进一步地，在步骤（1）中，所述小分子催化剂为 N-羟基琥珀酰亚胺和 1-（3-二甲氨基丙基）-3-乙基碳二亚胺盐酸盐；二者摩尔比为 1:1。

进一步地，在步骤（1）中，碱性氨基酸、N-羟基琥珀酰亚胺和 1-（3-二甲氨基丙基）-3-乙基碳二亚胺盐酸盐的摩尔比为 1：4：4。

进一步地，在步骤（1）中，所述碱性氨基酸为精氨酸、赖氨酸、组氨酸等。

进一步地，在步骤（1）中，所述多糖为疏水性多糖，多糖优选为壳聚糖、葡聚糖、海藻酸、纤维素等；所述碱性氨基酸的羧基与多糖的氨基摩尔比为 1:1。多糖的分子量优选为 20-200kD，其中壳聚糖脱乙酰化程度为 75%-95%。

优选地，在步骤（1）中，多糖溶液的溶剂为吗啉乙磺酸溶液。

进一步地，在步骤（1）中，制备两亲性高分子聚合物时，反应液需持续搅拌反应 24-48 小时，保持缓冲液 pH 4.5-5.5，反应结束后加入碱性溶液终止反应。

进一步地，在步骤（1）中，所制备的两亲性高分子聚合物中，碱性氨基酸与多糖依靠共价键连接，由于多糖分子量远大于碱性氨基酸的分子量，该聚合物依靠多糖形成纳米颗粒内部结构，碱性氨基酸则均布于纳米颗粒外部。

进一步地，在步骤（1）中，所述药物为疏水性药物，优选为沙利度胺、半胱胺硫代硫酸酯、氨磷汀、染料木素、金雀异黄酮、白藜芦醇、3，3-二吲哚基甲烷、Entolimod、Ex-RAD等；所述药物溶液的浓度为1.0 mg/mL；所述药物与所述氨基酸包裹的多糖的质量比为1:100。

进一步地，在步骤（1）中，药物溶液的溶剂为水和有机溶剂的混合溶剂，二者体积比为1:1，有机溶剂优选为乙腈。

进一步地，在步骤（1）中，制备包载有药物的纳米颗粒时，在保护气氛下持续搅拌反应24 小时，反应完全后除去溶剂，离心后冻干。进一步地，在步骤（2）中，所述多巴胺溶液的浓度为2.0 mg/mL；所述纳米粒子与多巴胺的质量比为1:4。

进一步地，在步骤（2）中，搅拌反应3-12 小时。

本发明的第二个目的是提供一种采用上述制备方法所制备的纳米药物，该纳米药物包括纳米颗粒以及修饰于纳米颗粒表面的聚多巴胺，所述纳米颗粒包括疏水性的多糖、亲水性的碱性氨基酸和疏水性的药物，所述多糖和碱性氨基酸通过共价键连接，所述药物位于所述纳米颗粒内部且在胃酸环境中带正电荷，纳米药物的粒径为100-500 nm。

在胃酸中本纳米药物表面带正电（表面的聚多巴胺及碱性氨基酸发生质子化），其内部包载的小分子药物也带正电，由于电荷排斥作用而无法释放。抵达小肠后，由于纳米药物表面接近电中性（多巴胺羟基去质子化的负电与碱性氨基酸正电中和），电荷排斥作用解除，从而使内部药物缓慢释放，保证了多数药物都在辐射敏感性较高的小肠内释放。

本发明所制备的药物具有更适合穿透小肠黏液层网状结构的特点，可快速抵达黏液层下方的小肠隐窝部位，该部位为小肠中最易受到辐射损伤的部位，目前尚未有小肠辐射防护类药物可达到通过口服直接递送至隐窝的效果。

本发明的第三个目的是要求保护本发明的上述纳米药物在制备小肠辐射防护领域中的应用。

进一步地，制剂为口服药物。

进一步地，辐射为X 射线辐射，γ 射线（^{60}Co 源，^{137}Cs 源）。

进一步地，辐射部位为腹部，辐射剂量为2-15Gy。

进一步地，上述防护制剂对小肠隐窝的黏附性较好且辐射防护作用最佳。

本发明的纳米药物的制备原理如下：

活化后的碱性氨基酸与多糖混合后，在缓冲溶液中发生酰胺反应，使得氨基酸的羧基与多糖上的氨基相连，形成两亲性高分子聚合物。由于多糖的分子量远高于氨基酸，多糖形成类似无规线团样结构，氨基酸则分布于多糖形成的无规线团样结构的外部。再向其中缓慢滴

加药物的有机水溶液，由于药物与多糖均为疏水性，根据相似相溶原理，药物将被包封入两亲性高分子聚合物内部，得到纳米颗粒，其内部疏水，表面亲水。在碱性水溶液中，多巴胺可发生氧化自聚合，形成的聚多巴胺在载药纳米颗粒的水环境内倾向于包覆在纳米颗粒表面，形成聚多巴胺涂层结构，进而形成所述纳米药物。

结合口服给药的方式，本发明的可实现药物肠道输送，在通过聚多巴胺的黏附作用提高局部药物有效浓度的同时，降低药物的全身毒副作用。在口服给药后，纳米药物表面修饰的聚多巴胺使其具备肠道黏附性，且在小肠内，纳米药物中的多糖吸水后发生溶胀，可使药物缓慢释放。

借由上述方案，本发明至少具有以下优点：

（1）本发明提供了一种作用于小肠的纳米药物，相似的概念可被用于其他作用于小肠给药方式的优化，有别于传统的静脉及口服给药方式。该纳米药物可耐受胃肠道酸碱环境，药物生物相容性好，纳米药物合适的粒径及表面电荷使其具有肠粘液屏障地穿透能力，并且纳米药物具备小肠液体环境下的黏附能力，可显著提高药物作用于小肠的时间及利用效率。

（2）口服辐射防护纳米药物用于小肠辐射防护，可将辐射防护药物高效、稳定地输送至小肠隐窝区域，保证药物直接作用于辐射敏感性较高的小肠隐窝干细胞。

上述说明仅是本发明技术方案的概述，为了能够更清楚了解本发明的技术手段，并可依照说明书的内容予以实施，以下以本发明的较佳实施例并配合附图详细说明如后。

附图说明

图 1 是所制备的辐射防护纳米药物的 SEM 测试图；

图 2 是辐射防护纳米药物的水合粒径测试结果；

图 3 是所包载药物沙利度胺的紫外吸收值标准曲线及纳米药物的载药率检测结果；

图 4 为该辐射防护纳米药物的结构示意图；

图 5 是辐射防护纳米药物的体外辐射防护效果测试结果；

图 6 是辐射防护纳米药物的肠道黏附性测试结果；

图 7 为使用口服方式递送的辐射防护纳米药物作用方式示意图；

图 8 是辐射防护纳米药物缓解辐射诱导的肠损伤效果；

附图标记说明：

1-壳聚糖；2-精氨酸；3-沙利度胺；4-聚多巴胺；5-辐射防护纳米药物；6-小肠黏液屏障层；7-小肠绒毛；8-小肠隐窝。

具体实施方式

下面结合附图和实施例，对本发明的具体实施方式作进一步详细描述。以下实施例用于说明本发明，但不用来限制本发明的范围。

实施例 1 合成纳米药物

将精氨酸（0.867 g，4.977 mmol）溶解在 40 mL 吗啉乙磺酸溶液（25 mM，pH 5.0）中，然后依次加入 N-羟基琥珀酰亚胺（2.291 g，19.908 mmol）、1-（3-二甲氨基丙基）-3-乙基碳二亚胺盐酸盐（3.816 g，19.908 mmol）进行活化 2 小时，随后将溶解在吗啉乙磺酸中的壳聚糖溶液（1.0 g，4.977 mmol）加入上述混合物中，室温持续搅拌反应 24 小时后，加入氢氧化钠（0.1 M）终止反应。随后将溶解在水和乙腈混合液（v/v = 1/1）中的沙利度胺（1.0 mg/mL，10 mL）缓慢滴入上述聚合物溶液（10 mg/mL，100 mL）内，持续搅拌并通氮气过夜除去乙腈，离心后取上清液冻干。将冻干样品（20.0 mg）移入多巴胺溶液（2 mg/mL，40 mL，pH 8.5）中，室温搅拌 3 小时，用去离子水清洗后离心收集上清液，即得到纳米药物。

图 1 是所制备的辐射防护纳米药物的 SEM 测试图，结果表明，上述纳米药物具有较小的粒径及良好的分散性，纳米药物接近圆形结构，表面相对光滑，可见聚多巴胺是通过形成涂层的形式均匀包覆于纳米颗粒表面。

图 2 是辐射防护纳米药物的水合粒径测试结果，结果表明，上述纳米药物具有较小的水合粒径，约 214 nm 左右，PDI 为 0.584，其粒径大小适于穿透小肠粘液屏障层，有助于纳米药物在小肠隐窝部位发挥辐射防护作用。

图 3 是所包载的沙利度胺的紫外吸收值标准曲线及辐射防护纳米药物的载药率检测结果。通过将超声破碎后的纳米药物溶液紫外吸光度（图 3B）带入标准曲线所得计算公式（图 3A，$y=0.2245x+0.051$，$R^2=0.9975$），可得纳米药物的载药率约为 22.98%左右。

图 4 上述制备的辐射防护纳米药物的结构示意图，包括壳聚糖 1、精氨酸 2、沙利度胺 3 和聚多巴胺 4；壳聚糖 1 形成网状结构，其表面连接精氨酸 2，沙利度胺 3 包载于网状结构中，聚多巴胺 4 位于纳米药物的表面。

实施例 2 体外辐射防护效果测试

将实施例 1 制备的适量纳米药物（11.237 μg/mL）分散在小肠隐窝类器官培养基中，对 C57BL/6J 小鼠小肠隐窝类器官进行离体培养，12 小时后进行 14 Gy 剂量的 X 射线照射，对辐射损伤后分离崩解的小肠隐窝（如图 5A）及保持形状完整、边缘锐利的隐窝（如图 5B）进行计算，图 5C 所示，使用纳米药物的照后隐窝存活率约为 42.67%，较对照组存活率有明显提高（$*p<0.05$），结果表明上述纳米药物具有良好的辐射防护效果。

实施例 3 肠道黏附性测试

利用 Cy5.5 荧光染料标记实施例 1 制备的辐射防护纳米药物，然后重悬于磷酸盐缓冲液中，对 C57BL/6J 小鼠进行 12 小时禁食处理后，将染料标记的纳米药物溶液（4mg/mL, 0.5 mL）使用灌胃法给予各组小鼠。分别于给药后 6 小时及 24 小时将小鼠安乐死后，取其小肠组织进行体外荧光成像，所使用仪器为 Kodak FX Pro 活体荧光成像系统，激发光为 630 纳米，发射光为 700 纳米。

如图 6 所示，给药后 6 小时（图 6A），小鼠小肠表现出较强荧光信号，表明药物已大部分聚集于小肠部位。给药后 24 小时（图 6B），小鼠小肠组织内荧光信号依然维持较强水平，表明纳米药物具有良好的小肠黏附性能。

图 7 为使用口服方式递送的辐射防护纳米药物作用方式示意图。辐射防护纳米药物 5 因其耐受胃肠道酸碱环境，可免于在胃酸作用下分解并吸收入血液，由于其具有小肠液体环境下的黏附能力，使得该纳米药物可穿透小肠黏液屏障层 6 到达小肠绒毛 7，并可深入到达小肠隐窝 8。

实施例 4 缓解辐射诱导的机体肠损伤测试

于照射前 12 小时通过灌胃法给予 C57BL/6J 小鼠（雄性，8 周龄）辐射防护纳米药物（22.98 wt.%, 含 100 mg/kg 沙利度胺，溶剂为 500 μL 磷酸盐缓冲液），单纯照射组则给予同等剂量的磷酸盐缓冲液溶剂。使用 X-RAD 320iX 射线机对小鼠进行腹部照射，照射剂量 14 Gy，剂量率 1 Gy/min。于照后 5 天取小鼠小肠组织制作石蜡切片，进行苏木精-伊红染色。放射性肠损伤的主要评价指标为病理学检测肠道样本中的隐窝数量，且照后肠道的再生修复主要依靠隐窝部位的干细胞，因此辐照后小肠隐窝的存活和完整情况可以反映小肠辐射损伤严重程度。

如图 8 所示，正常的小肠隐窝结构如图 8A 所示，单纯照射组照后 5 天隐窝结构几乎消失（如图 8B），表明电离辐射造成了严重的肠损伤，大量减少的隐窝无法发挥再生修复功能，从而将导致机体死亡。而服用辐射防护纳米药物组（图 8C），照后 5 天仍有部分小肠隐窝维持原有轮廓并进行再生（如图 8C，箭头所指为存活隐窝），表明辐射后小肠组织仍具备修复再生能力，因此辐射防护纳米药物可大大缓解辐射诱导的肠损伤。

以上所述仅是本发明的优选实施方式，并不用于限制本发明，应当指出，对于本技术领域的普通技术人员来说，在不脱离本发明技术原理的前提下，还可以做出若干改进和变型，这些改进和变型也应视为本发明的保护范围。

1、一种作用于小肠的纳米药物的制备方法，其特征在于，包括以下步骤：

（1）在酸性缓冲溶液中，利用小分子催化剂活化亲水性的碱性氨基酸，然后向其中加入多糖溶液，在 pH=4.5-5.5，20-30℃条件下混匀并反应，得到两亲性高分子聚合物；然后向其中加入药物溶液，混匀后，得到包载有药物的纳米颗粒，所述纳米颗粒包括亲水部分和疏水部分，所述亲水部分为碱性氨基酸，疏水部分为多糖和药物；其中，药物具有辐射防护性或具有抑制电离辐射诱导的细胞死亡效果，药物在胃酸环境中带正电荷；

（2）将步骤（1）所得包载有药物的纳米颗粒加入多巴胺溶液中，在 pH=8.0-10.0 条件下于 25-50℃下反应，反应完全后得到表面修饰有聚多巴胺的纳米药物。

2、根据权利要求 1 所述的制备方法，其特征在于：在步骤（1）中，所述小分子催化剂为 N-羟基琥珀酰亚胺和 1-（3-二甲氨基丙基）-3-乙基碳二亚胺盐酸盐。

3、根据权利要求 2 所述的制备方法，其特征在于：在步骤（1）中，所述碱性氨基酸、N-羟基琥珀酰亚胺和 1-（3-二甲氨基丙基）-3-乙基碳二亚胺盐酸盐的摩尔比为 1：4：4。

4、根据权利要求 1 所述的制备方法，其特征在于：在步骤（1）中，所述碱性氨基酸为精氨酸、赖氨酸和组氨酸中的一种或几种。

5、根据权利要求 1 所述的制备方法，其特征在于：在步骤（1）中，多糖为壳聚糖、葡聚糖、海藻酸和纤维素中的一种或几种；所述碱性氨基酸的羧基与多糖的氨基摩尔比为 1:1。

6、根据权利要求 1 所述的制备方法，其特征在于：在步骤（1）中，所述药物为沙利度胺、半胱胺硫代硫酸酯、氨磷汀、染料木素、金雀异黄酮、白藜芦醇、3，3-二吲哚基甲烷、Entolimod 和 Ex-RAD 中的一种或几种；所述药物溶液的浓度为 1.0 mg/mL；所述药物与所述氨基酸包裹的多糖的质量比为 1:100。

7、根据权利要求 1 所述的制备方法，其特征在于：在步骤（2）中，所述多巴胺溶液的浓度为 2.0 mg/mL；所述纳米颗粒与多巴胺的质量比为 1:4。

8、权利要求 1-7 中任一项所述的制备方法所制备的作用于小肠的纳米药物，其特征在于：所述纳米药物包括纳米颗粒以及修饰于纳米颗粒表面的聚多巴胺，所述纳米颗粒包括疏水性的多糖、亲水性的碱性氨基酸和疏水性的药物，所述多糖和碱性氨基酸通过共价键连接，所述药物位于所述纳米颗粒内部且在胃酸环境中带正电荷，所述纳米药物的粒径为 100-500nm。

9、权利要求 8 所述的作用于小肠的纳米药物在制备小肠辐射防护制剂中的应用。

10、根据权利要求 9 所述的应用，其特征在于：所述制剂为口服药物。

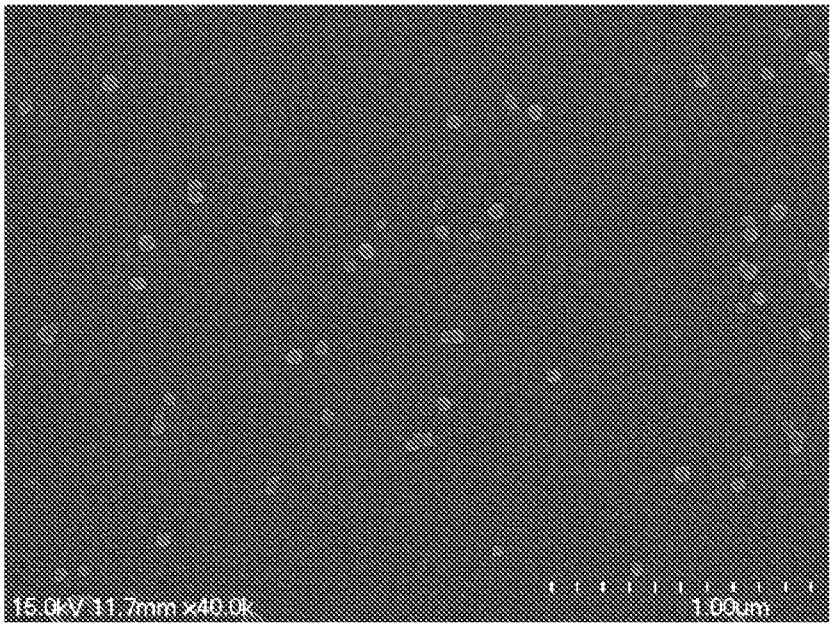

15.0kV 11.7mm x40.0k
1.00um

图 1

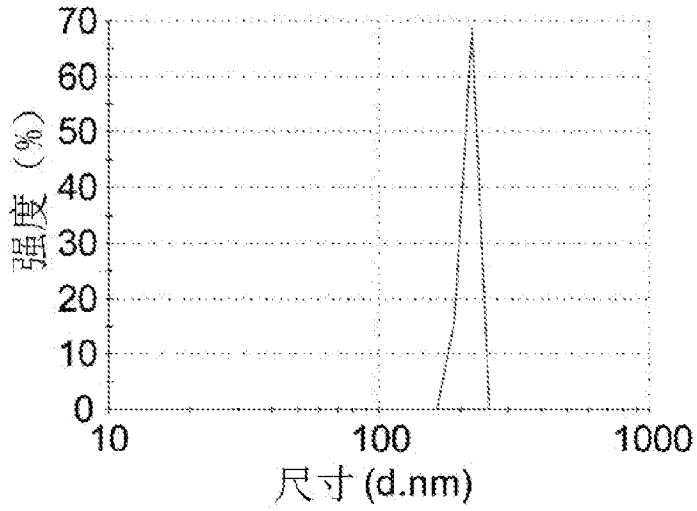

70
60
50
40
30
20
10
0
强度（%）
10
100
1000
尺寸 (d.nm)

图 2

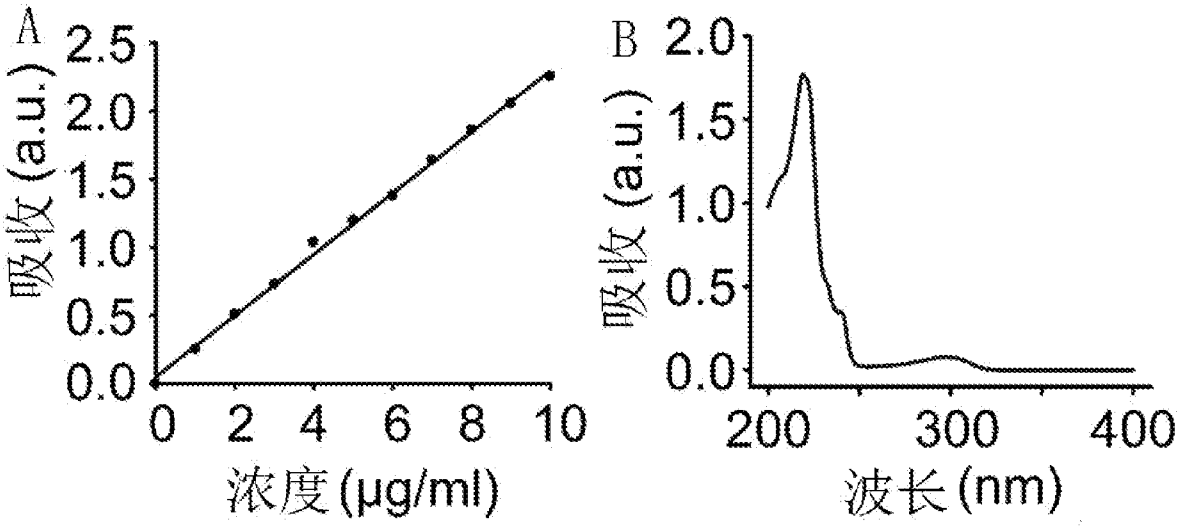

A
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
吸收 (a.u.)
0
2
4
6
8
10
浓度 (μg/ml)
B
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
吸收 (a.u.)
200
300
400
波长 (nm)

图 3

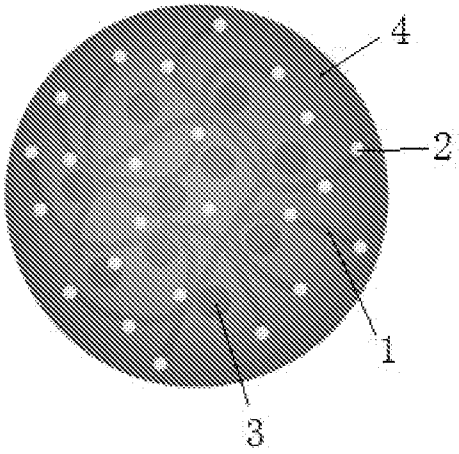

4
2
1
3

图 4

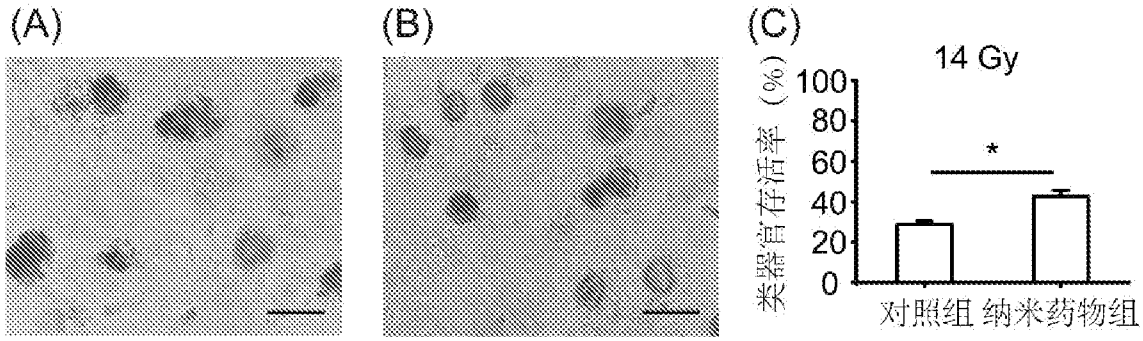

(A)
(B)
(C)
14 Gy
类器官存活率（%）
100
80
60
40
20
0
*
对照组 纳米药物组

图 5

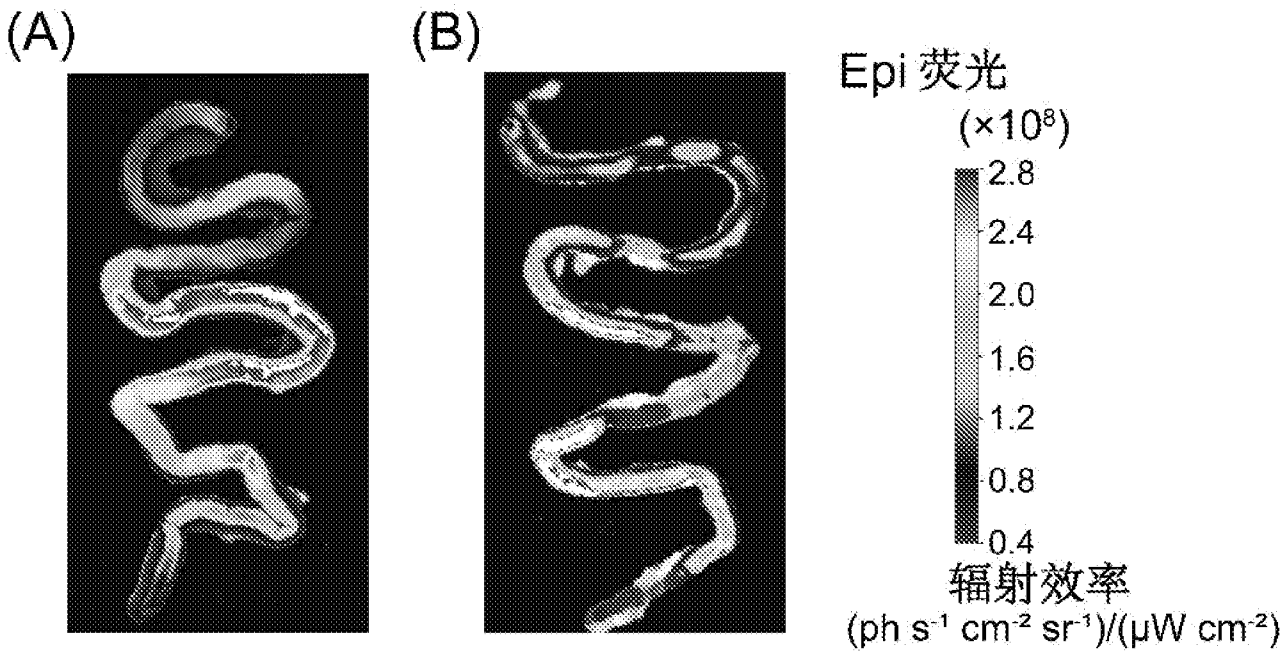

(A)
(B)
Epi 荧光
(×10⁸)
2.8
2.4
2.0
1.6
1.2
0.8
0.4
辐射效率
(ph s⁻¹ cm⁻² sr⁻¹)/(μW cm⁻²)

图 6

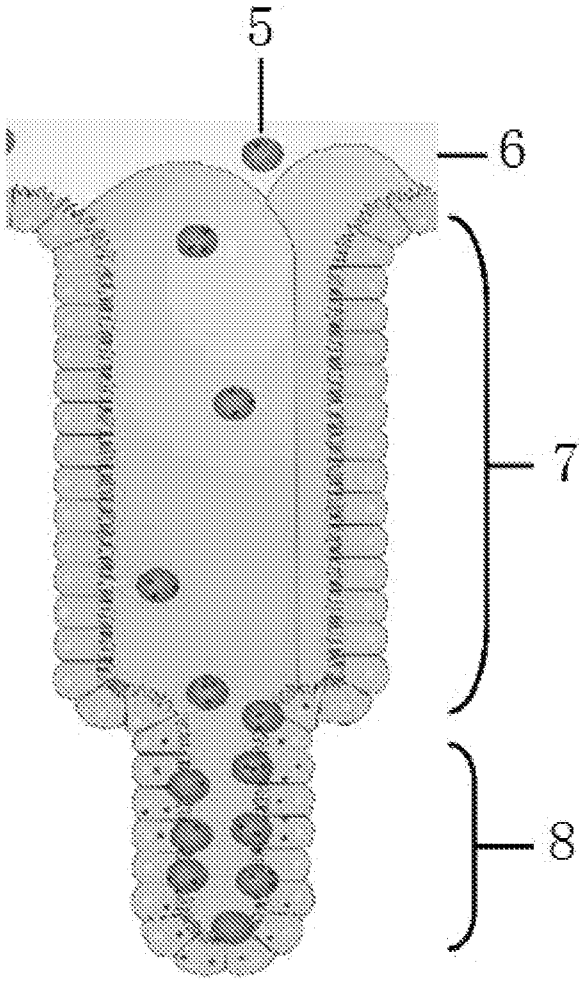


图 7

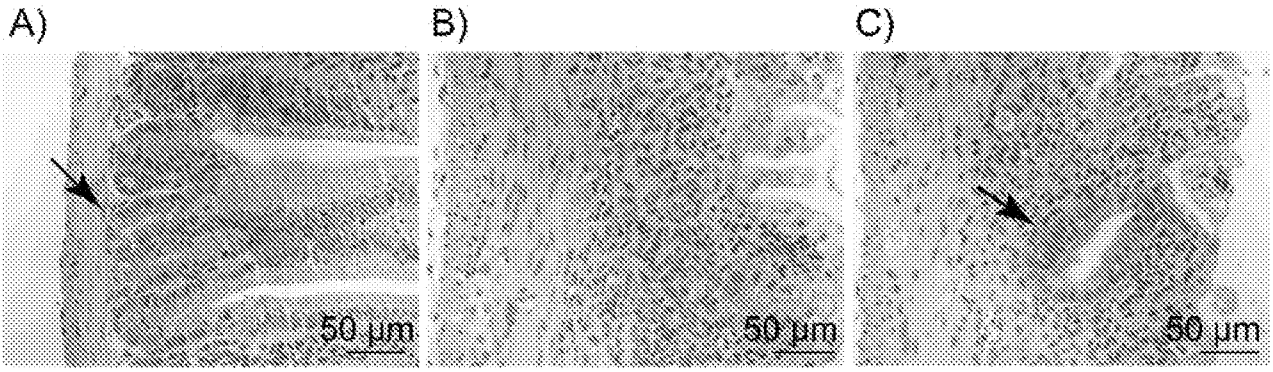


图 8

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2019/110565

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 9/51(2006.01)i; A61K 9/00(2006.01)i; A61K 9/14(2006.01)i; A61K 31/454(2006.01)i; A61K 45/00(2006.01)i; A61K 47/34(2017.01)i; A61K 47/36(2006.01)i; A61P 1/00(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K, A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

VEN, CNKI, CNPAT, PubMed, ISI Web of Knowledge, STN, 苏州大学, 华道本, 张钰烁, 王璐, 杨森, 两亲性聚合物, N-羟基琥珀酰亚胺, 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸, 小肠, 聚多巴胺, 纳米胶束, 沙利度胺, 半胱胺硫代硫酸酯, 氨磷汀, 染料木素, 金雀异黄酮, 白藜芦醇, 3, 3-二吲哚基甲烷, Entolimod, Ex-RAD, 氨基酸, 壳聚糖, 葡聚糖, 壳聚糖, 精氨酸, EDC, nano medicine, small intestine adhesion, amino acid, amphiphilicpolymer, hydrophilic, a hydrophobic, polysaccharide, nano particles, 50-35-1, 20537-88-6, 446-72-0

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	CN 110200941 A (SOOCHOW UNIVERSITY) 06 September 2019 (2019-09-06) claims 1-25	1-10
A	CN 104507458 A (GU, FRANK et al.) 08 April 2015 (2015-04-08) claims 1, 24, abstract	1-10
A	CN 109331184 A (FUDAN UNIVERSITY) 15 February 2019 (2019-02-15) abstract, claim 2, description, paragraph 28	1-10
A	CN 105031656 A (NATIONAL CENTER FOR NANOSCIENCE AND TECHNOLOGY) 11 November 2015 (2015-11-11) claims 1-2, and abstract	1-10
A	US 2018264119 A1 (SHIMADZU CORPORATION) 20 September 2018 (2018-09-20) entire document	1-10
A	US 2015265716 A1 (THE BRIGHAM & WOMENS HOSPITAL et al.) 24 September 2015 (2015-09-24) claims 1-14	1-10

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☑ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
04 March 2020	**23 March 2020**
Name and mailing address of the ISA/CN **China National Intellectual Property Administration (ISA/CN)** **No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing 100088** **China** Facsimile No. **(86-10)62019451**	Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2019/110565

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	110200941	A	06 September 2019	None			
CN	104507458	A	08 April 2015	US	2015320694	A1	12 November 2015
				CN	104507458	B	22 May 2018
				JP	6275707	B2	07 February 2018
				EP	2863892	B1	08 November 2017
				KR	20150023042	A	04 March 2015
				JP	2015520197	A	16 July 2015
				EP	2863892	A4	20 January 2016
				CA	2877051	A1	27 December 2013
				EP	2863892	A1	29 April 2015
				US	9993439	B2	12 June 2018
				ES	2658972	T3	13 March 2018
				WO	2013188979	A1	27 December 2013
				US	2014005379	A1	02 January 2014
CN	109331184	A	15 February 2019	None			
CN	105031656	A	11 November 2015	CN	105031656	B	31 July 2018
US	2018264119	A1	20 September 2018	JP	6519659	B2	29 May 2019
				JP	WO2017047364	A1	05 July 2018
				WO	2017047364	A1	23 March 2017
US	2015265716	A1	24 September 2015	WO	2014059022	A1	17 April 2014
				US	9931410	B2	03 April 2018

国际检索报告

国际申请号
PCT/CN2019/110565

A. 主题的分类

A61K 9/51(2006.01)i; A61K 9/00(2006.01)i; A61K 9/14(2006.01)i; A61K 31/454(2006.01)i; A61K 45/00(2006.01)i; A61K 47/34(2017.01)i; A61K 47/36(2006.01)i; A61P 1/00(2006.01)i

按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

A61K, A61P

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称，和使用的检索词（如使用）)

VEN, CNKI, CNPAT, PubMed, ISI Web of Knowledge, STN, 苏州大学，华道本，张钰烁，王璐，杨森，两亲性聚合物，N-羟基琥珀酰亚胺，1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸，小肠，聚多巴胺，纳米胶束，沙利度胺，半胱胺硫代硫酸酯，氨磷汀，染料木素，金雀异黄酮，白藜芦醇，3，3-二吲哚基甲烷，Entolimod，Ex-RAD，氨基酸， 壳聚糖， 葡聚糖，壳聚糖，精氨酸，EDC，nano medicine， small intestine adhesion，amino acid，amphiphilicpolymer，hydrophilic, a hydrophobic, polysaccharide，nano particles，50-35-1，20537-88-6，446-72-0

C. 相关文件

类 型*	引用文件，必要时，指明相关段落	相关的权利要求
PX	CN 110200941 A (苏州大学) 2019年 9月 6日 (2019-09-06) 权利要求1-25	1-10
A	CN 104507458 A (弗兰克●古 等) 2015年 4月 8日 (2015-04-08) 权利要求1、24，摘要	1-10
A	CN 109331184 A (复旦大学) 2019年 2月 15日 (2019-02-15) 摘要，权利要求2，说明书第28段	1-10
A	CN 105031656 A (国家纳米科学中心) 2015年 11月 11日 (2015-11-11) 权利要求1-2，摘要	1-10
A	US 2018264119 A1 (SHIMADZU CORP.) 2018年 9月 20日 (2018-09-20) 全文	1-10
A	US 2015265716 A1 (THE BRIGHAM & WOMENS HOSPITAL等) 2015年 9月 24日 (2015-09-24) 权利要求1-14	1-10

☐ 其余文件在C栏的续页中列出。

☑ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型：

“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件，或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件（如具体说明的）

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布，与申请不相抵触，但为了理解发明之理论或原理的在后文件

“X” 特别相关的文件，单独考虑该文件，认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

“Y” 特别相关的文件，当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时，要求保护的发明不具有创造性

“&” 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期	国际检索报告邮寄日期
2020年 3月 4日	2020年 3月 23日
ISA/CN的名称和邮寄地址 中国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088 传真号 (86-10)62019451	受权官员 涂海华 电话号码 (86-10)-53962084

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号
PCT/CN2019/110565

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	110200941	A	2019年 9月 6日	无			
CN	104507458	A	2015年 4月 8日	US	2015320694	A1	2015年 11月 12日
				CN	104507458	B	2018年 5月 22日
				JP	6275707	B2	2018年 2月 7日
				EP	2863892	B1	2017年 11月 8日
				KR	20150023042	A	2015年 3月 4日
				JP	2015520197	A	2015年 7月 16日
				EP	2863892	A4	2016年 1月 20日
				CA	2877051	A1	2013年 12月 27日
				EP	2863892	A1	2015年 4月 29日
				US	9993439	B2	2018年 6月 12日
				ES	2658972	T3	2018年 3月 13日
				WO	2013188979	A1	2013年 12月 27日
				US	2014005379	A1	2014年 1月 2日
CN	109331184	A	2019年 2月 15日	无			
CN	105031656	A	2015年 11月 11日	CN	105031656	B	2018年 7月 31日
US	2018264119	A1	2018年 9月 20日	JP	6519659	B2	2019年 5月 29日
				JP	WO2017047364	A1	2018年 7月 5日
				WO	2017047364	A1	2017年 3月 23日
US	2015265716	A1	2015年 9月 24日	WO	2014059022	A1	2014年 4月 17日
				US	9931410	B2	2018年 4月 3日