



(10) 授权公告号 CN 116218515 B

(45) 授权公告日 2023. 08. 25

(21) 申请号 202310498485.0

(22) 申请日 2023.05.06

(65) 同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 116218515 A

(43) 申请公布日 2023.06.06

(73) 专利权人 广东省大湾区华南理工大学聚集
诱导发光高等研究院

地址 510700 广东省广州市黄埔区开源大
道11号科技企业加速器C3栋401室

(72) 发明人 唐本忠 班新超 林建慧 王志明
刘勇 龚晚君

(74) 专利代理机构 广州粤高专利商标代理有限
公司 44102

专利代理师 江裕强

(51) Int.Cl.

C09K 11/02 (2006.01)

C09K 11/06 (2006.01)

B82Y 20/00 (2011.01)

B82Y 30/00 (2011.01)

A61K 49/00 (2006.01)

(56) 对比文件

CN 109336909 A, 2019.02.15

CN 114057773 A, 2022.02.18

CN 113214293 A, 2021.08.06

CN 114591517 A, 2022.06.07

审查员 吴昊

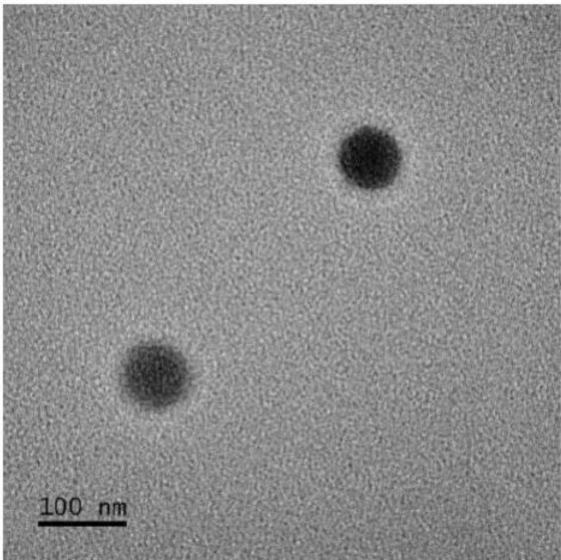
权利要求书3页 说明书15页 附图10页

(54) 发明名称

一种水溶性近红外AIE聚合物纳米粒子的制
备方法和应用

(57) 摘要

本发明公开一种水溶性近红外AIE聚合物纳
米粒子的制备方法和应用。制备方法包括以下步
骤：将AIE分子和水溶性高分子聚合物溶于与水
互溶的挥发性有机溶剂中，得到有机相溶液；在
室温下，将有机相溶液在超声和混合搅拌条件
下加至去离子水溶液中，超声结束后，挥发性有
机溶剂在避光通风条件下除去，得到AIE聚合
物纳米粒子溶液，过滤得到水溶性近红外AIE
聚合物纳米粒子。本发明制备的水溶性近红外
AIE聚合物纳米粒子具有粒径均一、光稳定性
好、重复性好、可规模化生产等优点，在生物
活体荧光成像领域有良好的应用前景。



1. 一种水溶性近红外AIE聚合物纳米粒子的制备方法,其特征在于,所述水溶性近红外AIE聚合物纳米粒子包括水溶性聚合物和聚集诱导发光材料,所述聚集诱导发光材料被包裹在所述水溶性聚合物中形成AIE聚合物纳米粒子;所述水溶性近红外AIE聚合物纳米粒子为具有均一粒径的球形结构,粒径为50-150nm,变异系数小于10%;制备方法包括以下步骤:

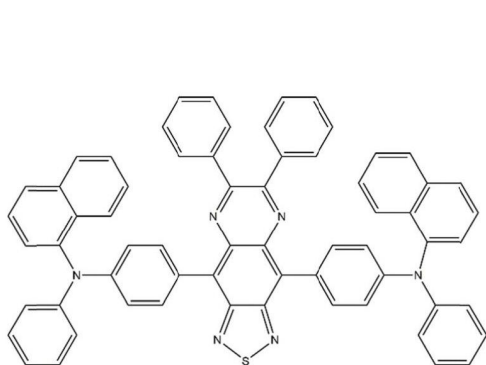
(1) 将AIE分子和水溶性高分子聚合物溶于有机溶剂中,得到有机相溶液;

(2) 在室温下,将有机相溶液在超声和混合搅拌条件下注入去离子水溶液中;超声结束后,在通风处除去有机溶剂,然后使用水相过滤器将含有纳米粒子的溶液过滤,得到所述水溶性近红外AIE聚合物纳米粒子;

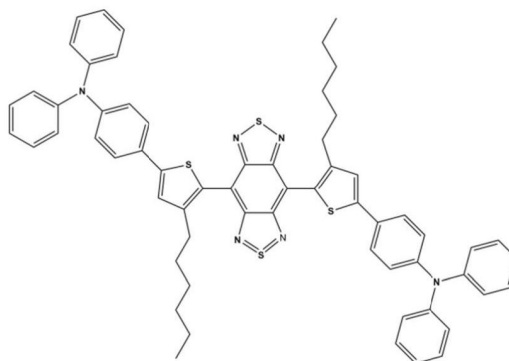
步骤(1)所述AIE分子和水溶性高分子聚合物分别选自下列组合的一种:

AIE-1分子和式I、AIE-1分子和式II、AIE-2分子和式II、AIE-2分子和式I、AIE-7分子和式III、AIE-4分子和式IV、AIE-5分子和式V;

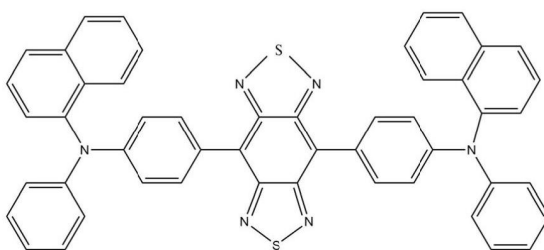
所述AIE-1分子、AIE-2分子、AIE-4分子、AIE-5分子、AIE-7分子的结构式如下:



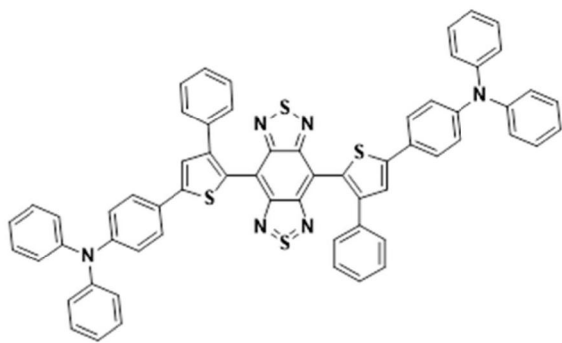
AIE-1 分子



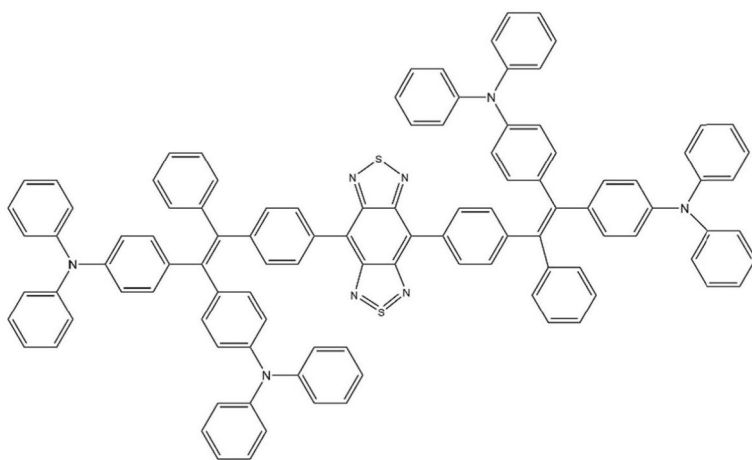
AIE-2 分子



AIE-4 分子

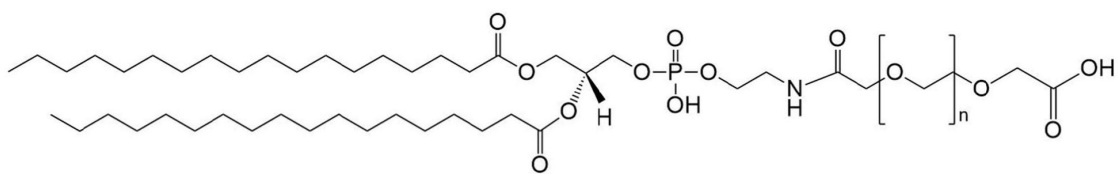


AIE-5 分子

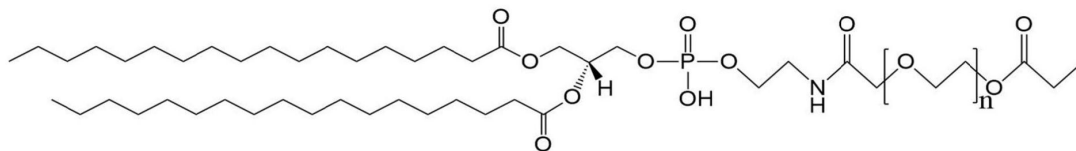


AIE-7 分子

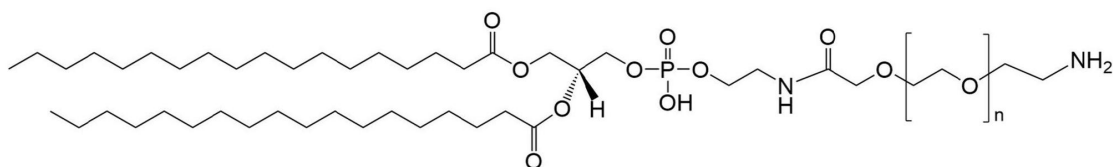
所述水溶性高分子聚合物式I、式II、式III、式IV、式V的结构式如下：



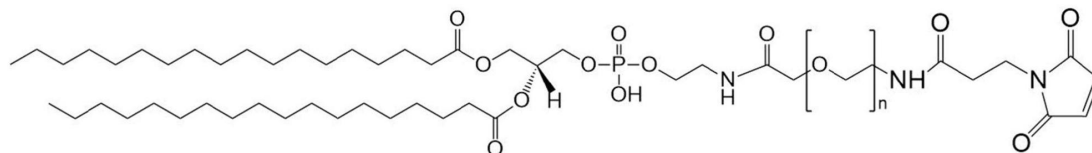
式 I



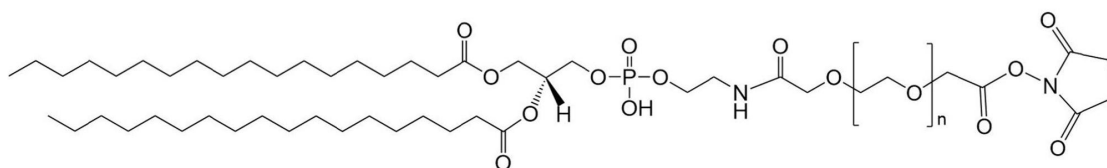
式 II



式III



式IV



式V

式I、式II、式III、式IV、式V中, n 的取值范围均为 $n \geq 45$;

步骤(1)中, AIE分子与水溶性高分子聚合物的质量之比为1:(0.5-2);

步骤(1)所述的有机溶剂为四氢呋喃或二甲基亚砜;

步骤(1)中, 有机溶剂的体积用量为去离子水溶液的2%-9%;

步骤(2)中, 有机相溶液注入去离子水溶液中的时间控制在2.0s-4.0s。

2. 根据权利要求1所述的水溶性近红外AIE聚合物纳米粒子的制备方法, 其特征在于, 步骤(2)中, 超声功率为60W-90W, 超声时间为2min。

3. 根据权利要求1所述的水溶性近红外AIE聚合物纳米粒子的制备方法, 其特征在于, 步骤(2)中, 有机溶剂的去除过程使用磁力搅拌器搅拌, 磁力搅拌器的转速为600rpm-800rpm。

4. 权利要求1-3任一项所述的制备方法得到的水溶性近红外AIE聚合物纳米粒子的应用, 其特征在于, 所述水溶性近红外AIE聚合物纳米粒子应用于制备生物活体荧光成像试剂, 选自小动物活体血管成像和肿瘤成像。

一种水溶性近红外AIE聚合物纳米粒子的制备方法和应用

技术领域

[0001] 本发明涉及荧光成像领域,具体涉及一种水溶性近红外聚集诱导发光(AIE)聚合物纳米粒子的制备方法和应用。

背景技术

[0002] 荧光成像由于其信号强度高、实验成本低,成像过程简单、从活体到离体均可成像等优点,在生物医学和材料化学领域得到了广泛使用。荧光纳米粒子是指负载荧光物质且被高分子包裹的粒径在纳米范围内的粒子,具有表面积大,易于修饰,生物溶性好等优点,被广泛应用于血管成像、消化道成像等领域。传统的聚集导致荧光猝灭(ACQ)分子在高浓度和聚集状态下会导致荧光减弱或者猝灭现象,难以在生物体内长期成像及信号追踪。2001年唐本忠院士课题组提出了AIE概念,突破了ACQ的瓶颈,带来了荧光探针分子材料的变革。AIE材料具有强抗光漂白能力,高发光效率,大的斯托克斯位移和低毒性等优点。将AIE分子用于纳米粒子制备领域,所制备的纳米粒子探针在体内成像效果更好。

[0003] 目前,制备AIE荧光纳米粒子的方法主要是自组装法和微乳液法。自组装法是将带有相反电荷的共轭聚合物分别溶解或者分散在水中,在超声和剧烈搅拌下将二者按照一定的比例混合,经过简单的超速离心得到聚合物纳米粒子(Journal of the American Chemical Society, 2009, 131(36): 13117-13124.),此方法制备效率低且无法满足稳定制备均一粒径的纳米粒子的要求。微乳液法是将AIE分子溶解在有机溶剂中,然后注入到含有表面活性剂的水溶液中,在超声条件下,将有机相分散到水相中形成乳液,随后除去有机溶剂形成纳米粒子(Advanced Materials, 2002, 14(9): 651-655.),此制备方法产率低,表面活性剂和有机溶剂成本高且污染大,对微粒形貌和大小的控制也只适用于特定反应(郭冬梅等. 上海化工, 2012, 37(12): 26-30),同样无法稳定制备均一粒径的纳米粒子。

[0004] 因此,开发一种高效制备稳定性好、粒径均一、重复性好且可工业化生产的AIE荧光纳米粒子的工艺具有重要的实际应用价值。

发明内容

[0005] 针对现有技术存在的上述不足与缺陷,本申请提出一种水溶性近红外AIE聚合物纳米粒子的制备方法和应用,将AIE分子和水溶性高分子聚合物溶解在挥发性有机溶剂中,注入去离子水溶液,并通过超声和溶剂挥发,制备得到水溶性近红外AIE聚合物纳米粒子。

[0006] 本发明基于纳米沉淀技术,提供一种通过改变AIE分子和水溶性高分子聚合物用量以及其他参数制备水溶性近红外AIE聚合物纳米粒子的整套新工艺,所制得的AIE聚合物纳米粒子具有粒径均一、光稳定性好、工艺可重复、可规模化生产等优点,在生物活体荧光成像领域具有良好的应用前景。本发明重在强调制备纳米粒子的整套工艺方法的完整性,需严格按照此工艺制备的纳米粒子才具有粒径均一且稳定的优点。

[0007] 本发明旨在制备一种粒径在50-150nm范围内的水溶性近红外AIE聚合物纳米粒子。

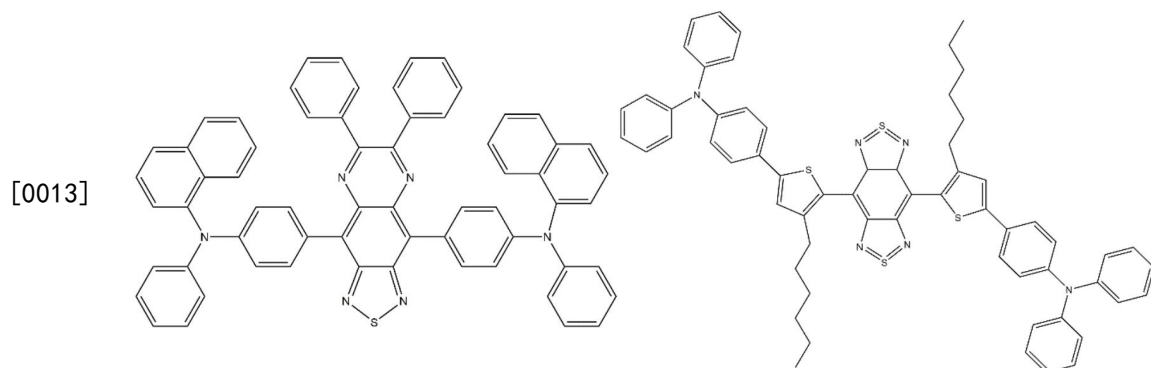
[0008] 本发明制备的一种水溶性近红外AIE聚合物纳米粒子,所述水溶性近红外AIE聚合物纳米粒子包括水溶性聚合物和聚集诱导发光材料,所述聚集诱导发光材料被包裹在所述水溶性聚合物中形成AIE聚合物纳米粒子;所述水溶性近红外AIE聚合物纳米粒子为具有均一粒径的球形结构,粒径为50-150nm,变异系数(CV值)小于10%,优选为8%,最优选为5%。

[0009] 本发明提供一种水溶性近红外AIE聚合物纳米粒子的制备方法,包括以下步骤:

[0010] (1) 将AIE分子和水溶性高分子聚合物溶于与水互溶的挥发性有机溶剂中,得到有机相溶液;

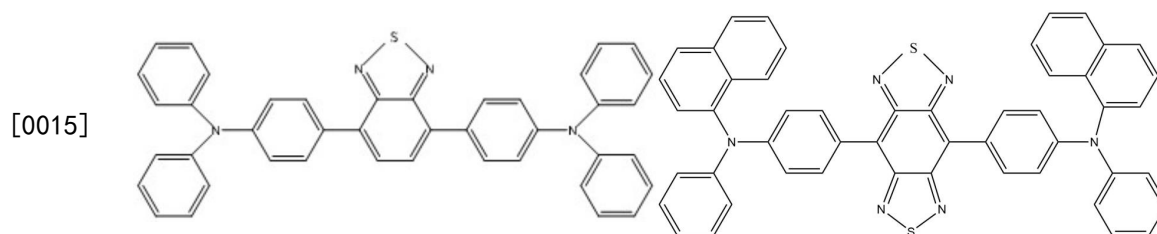
[0011] (2) 在室温下,将有机相溶液在超声和混合搅拌条件下注入去离子水溶液中;超声结束后,在通风处除去挥发性有机溶剂,然后使用水相过滤器将含有纳米粒子的溶液过滤,得到所述水溶性近红外AIE聚合物纳米粒子。

[0012] 进一步地,步骤(1)所述AIE分子选自下列AIE-1分子至AIE-11子中的至少一种:



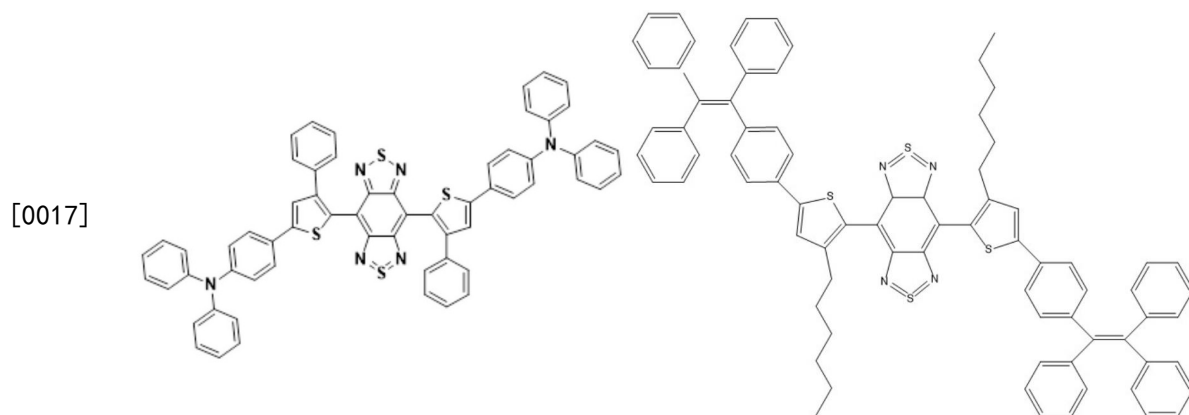
[0014] AIE-1分子

AIE-2分子



[0016] AIE-3分子

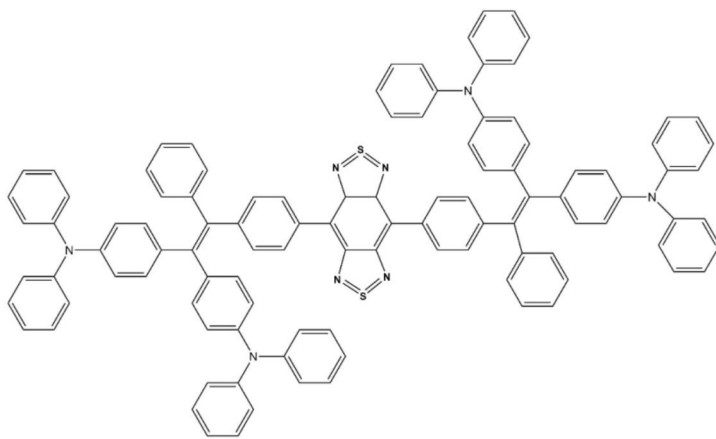
AIE-4分子



[0018] AIE-5分子

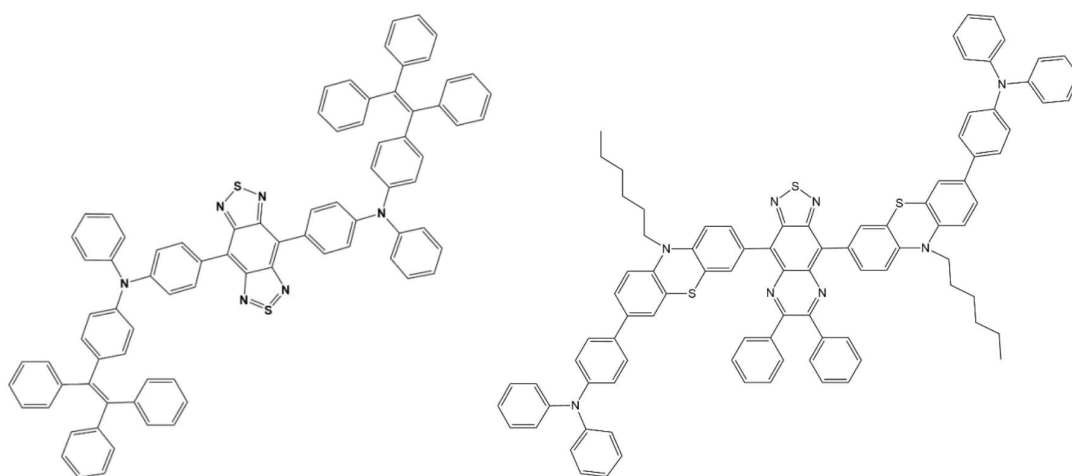
AIE-6分子

[0019]



[0020] AIE-7分子

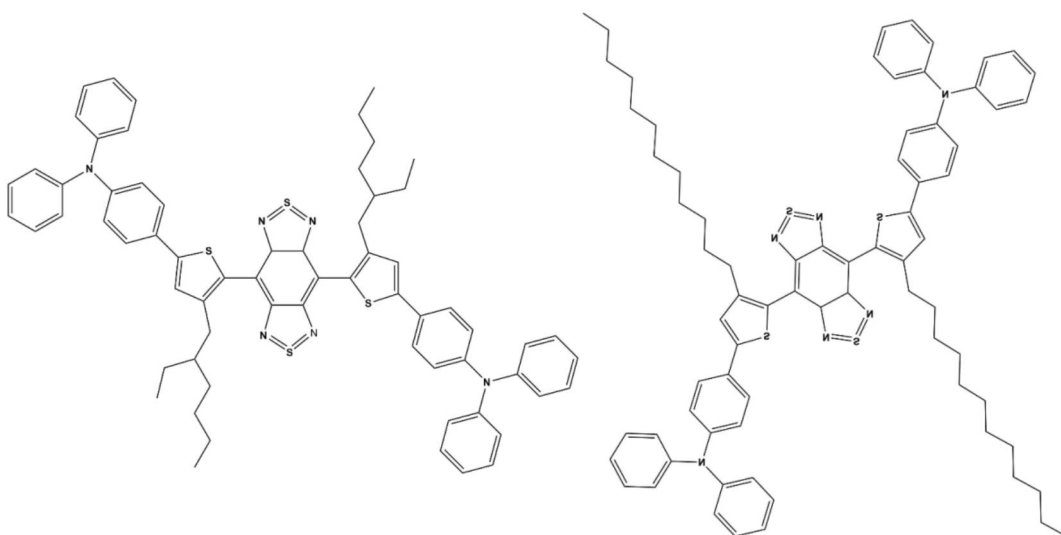
[0021]



[0022] AIE-8分子

AIE-9分子

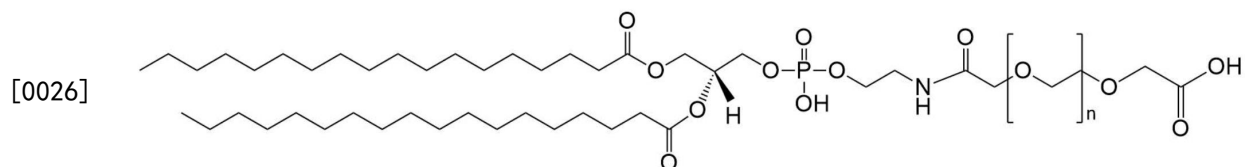
[0023]



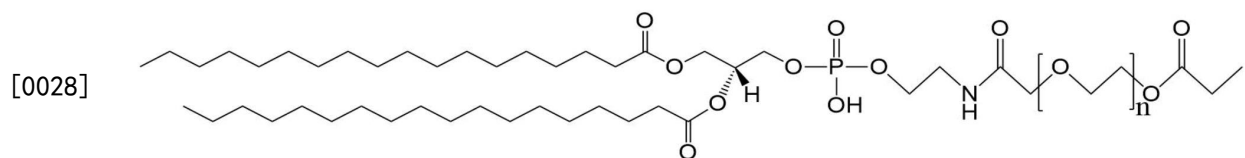
[0024] AIE-10分子

AIE-11分子。

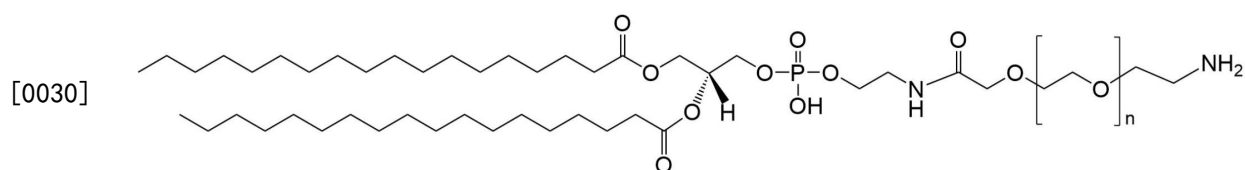
[0025] 进一步地,步骤(1)所述水溶性高分子聚合物具有生物相容性,选自式I、式II、式III、式IV、式V、式VI中的至少一种:



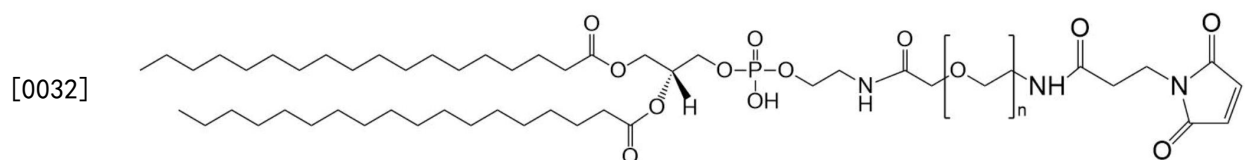
[0027] 式 I



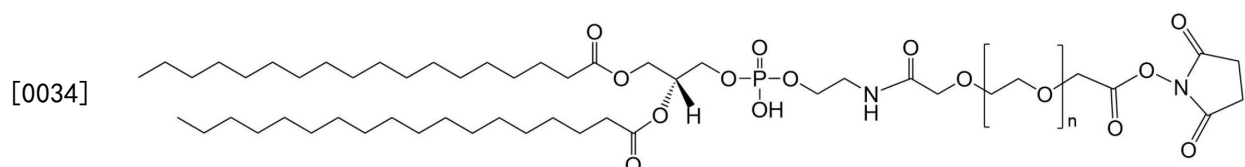
[0029] 式 II



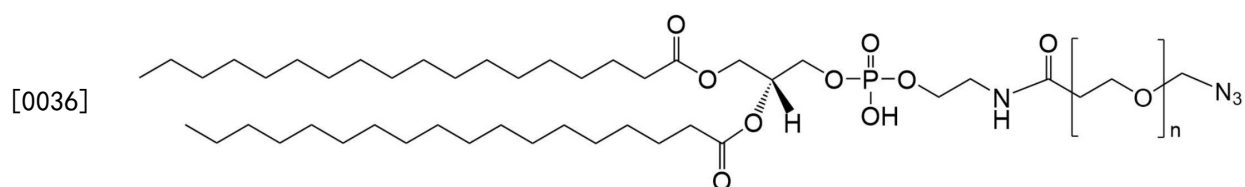
[0031] 式 III



[0033] 式 IV



[0035] 式 V



[0037] 式 VI

[0038] 式 I、式 II、式 III、式 IV、式 V、式 VI 中, n 的取值范围均为 $n \geq 45$ 。

[0039] 更进一步地,考虑到为后续抗体修饰提供足够的反应位点,且保证荧光纳米粒子具有较好的稳定性,水溶性高分子聚合物优选为含羧基官能团聚合物。

[0040] 进一步地,步骤 (1) 中,AIE 分子和水溶性高分子聚合物的质量之比为 1:(0.5-2),优选为 1:0.5。

[0041] 进一步地,步骤 (1) 所述有机溶剂为四氢呋喃 (THF) 或二甲基亚砜 (DMSO)。

[0042] 进一步地,步骤(1)中,有机溶剂的体积用量为去离子水溶液的2%-9%,优选为2%-4%。

[0043] 进一步地,步骤(2)中,为使得粒径符合制备要求,有机相溶液注入去离子水溶液中的时间控制在2.0s-4.0s;超声功率为60W-90W,超声时间为2min。

[0044] 进一步地,步骤(2)中,挥发性有机溶剂的去除过程使用磁力搅拌器搅拌,磁力搅拌器的转速优选为600rpm-800rpm。

[0045] AIE聚合物纳米粒子的均一性和尺寸,会对其体内作用产生较大的影响。研究发现,细胞对粒径较小且均一的纳米粒子摄入会增加,对粒径较大且不均一的纳米粒子摄入较少,且随着粒径的增大,细胞摄入量会逐渐降低。粒径在50-150nm的均一纳米粒子有着更强的细胞内在化能力和渗透作用,更易于在三维肿瘤模型中渗透至肿瘤内部。另外,由于粒径在50-150nm的均一纳米粒子会在肿瘤部位大量地聚集,因此在生物体内肿瘤成像应用时,具有最强的信号增强作用,因此呈现出很好的成像效果。

[0046] 研究还发现,AIE分子、水溶性高分子聚合物以及有机溶剂的用量对AIE聚合物纳米粒子的粒径和稳定性起着重要作用。本发明重点研究了AIE分子与水溶性高分子聚合物用量比以及有机溶剂用量对AIE聚合物纳米粒子的影响。AIE分子与水溶性高分子聚合物用量比可以调控AIE聚合物纳米粒子的粒径,使纳米粒子的尺寸范围在50-150nm内。直径为50-150nm的纳米粒子由于高渗透长滞留(EPR)效应可以在生物体组织中蓄积,若纳米粒子粒径过大或过小,会影响其在生物体组织中的富集,从而影响成像效果。本发明通过调控AIE分子与水溶性高分子聚合物用量比、以及有机溶剂用量可以成功制备出均一粒径50-150nm的AIE聚合物纳米粒子。

[0047] 本发明可以通过控制有机相溶液注入水相溶液中的时间(2.0s-4.0s),进而控制注入有机相溶液的流速(0.50mL/s-1.0mL/s)来实现调控纳米粒子粒径。此方法在“AIE分子与水溶性高分子聚合物用量比”的基础上可以更加精准地实现微调AIE聚合物纳米粒子的粒径,通过此工艺可以制备粒径均一且粒径稳定的AIE聚合物纳米粒子。

[0048] 本发明旨在强调工艺的完整性,需严格按照本发明工艺方法才可制备出粒径均一且稳定的纳米粒子。

[0049] 本发明方法制备的水溶性近红外AIE聚合物纳米粒子在生物活体荧光成像中可起到血管成像和消化道成像等作用,可为AIE分子的生物医学应用提供基础。

[0050] 与现有技术相比,本发明具有如下优点和有益效果:

[0051] (1) 本发明基于纳米沉淀技术,通过改变AIE分子和水溶性高分子聚合物的用量比调控AIE聚合物纳米粒子的粒径;并且通过改变有机溶剂的使用量调控AIE聚合物纳米粒子的分散性指数。

[0052] (2) 本发明制备的水溶性近红外AIE聚合物纳米粒子具有粒径均一、光稳定性好、重复性好、可规模化生产等优点。

[0053] (3) 本发明通过两步法成功制备出粒径均一且稳定的水溶性近红外AIE聚合物纳米粒子。制备方法简单、制备工艺稳定、可规模化生产,有望在小动物活体成像领域大规模商用。

附图说明

- [0054] 图1为实施例1制备的AIE聚合物纳米粒子的透射电镜图。
- [0055] 图2为实施例1制备的AIE聚合物纳米粒子的荧光发射图谱。
- [0056] 图3为实施例3制备的AIE聚合物纳米粒子的透射电镜图。
- [0057] 图4为实施例3制备的AIE聚合物纳米粒子的荧光发射图谱。
- [0058] 图5为实施例5制备的AIE聚合物纳米粒子的透射电镜图。
- [0059] 图6为实施例9中AIE聚合物纳米粒子的血管成像图。
- [0060] 图7为实施例10中AIE聚合物纳米粒子的胃肠道成像图。
- [0061] 图8为实施例4制备的AIE聚合物纳米粒子和ICG在水溶液环境中的光稳定性图。
- [0062] 图9为实施例4制备的AIE聚合物纳米粒子和ICG在pH=1.5环境中的光稳定性图。
- [0063] 图10为实施例4制备的AIE聚合物纳米粒子和ICG在pH=8.5环境中的光稳定性图。
- [0064] 图11为对比例1制备的AIE聚合物纳米粒子的透射电镜图。
- [0065] 图12为对比例2制备的AIE聚合物纳米粒子的扫描电镜图。
- [0066] 图13为对比例3制备的AIE聚合物纳米粒子的透射电镜图。
- [0067] 图14为对比例4制备的AIE聚合物纳米粒子的透射电镜图。

具体实施方式

[0068] 以下结合实例对本发明的具体实施作进一步说明,但本发明的实施和保护不限于此。需指出的是,以下若有未特别详细说明之过程,均是本领域技术人员可参照现有技术实现或理解的。所用试剂或仪器未注明生产厂商者,视为可以通过市售购买得到的常规产品。

[0069] 实施例1:水溶性近红外AIE聚合物纳米粒子的制备

[0070] (1)量取49.0mL去离子水用作不良溶剂,为溶液A;

[0071] (2)称取1.0mg AIE-1分子,1.0mg DSPE-PEG₂₀₀₀-COOH 分子溶解在1.0mL四氢呋喃溶剂中,为溶液B;

[0072] (3)在超声和搅拌条件下将溶液B快速注入溶液A中(注入溶液控制在2.0s内完成),超声功率为90W,超声2min,得到含有AIE聚合物纳米粒子的溶液;

[0073] (4)将含有AIE聚合物纳米粒子的溶液放入通风橱中搅拌24h除去四氢呋喃溶剂,使用0.45μm针头过滤器将含有纳米粒子的溶液过滤,得到所述水溶性近红外AIE聚合物纳米粒子。

[0074] 通过透射电子显微镜观察实施例1制备的水溶性近红外AIE聚合物纳米粒子的形貌,如图1所示,该水溶性近红外AIE聚合物纳米粒子为球形结构,粒径为 85 ± 8 nm。使用荧光光谱仪对所制备的AIE聚合物纳米粒子进行发射光谱表征,可以看出该水溶性近红外AIE聚合物纳米粒子的最大荧光发射波长在780nm(图2)。从下表1结果看出,所得纳米粒子粒径均一,变异系数为4.3%。

[0075] 表1

[0076]

粒径 (nm)	PDI
86.31	0.132
79.92	0.132
87.91	0.148
84.84	0.164
85.17	0.180
87.62	0.209
81.76	0.148
93.90	0.133
85.83	0.153
83.97	0.188
85.63	0.147
82.64	0.160
81.46	0.133
87.89	0.153
91.23	0.180

[0077] 实施例2:水溶性近红外AIE聚合物纳米粒子的制备

[0078] (1) 量取48.50mL去离子水用作不良溶剂,为溶液A;

[0079] (2) 称取1.0mg AIE-1分子,0.50mg DSPE-PEG₂₀₀₀分子溶解在1.50mL四氢呋喃溶剂中,为溶液B;

[0080] (3) 在超声和搅拌条件下将溶液B快速注入溶液A中(注入溶液控制在2.0s内完成),超声功率为90W,超声2min,得到含有AIE聚合物纳米粒子的溶液;

[0081] (4) 将含有AIE聚合物纳米粒子的溶液放入通风橱中搅拌24h除去四氢呋喃溶剂,使用0.45μm针头过滤器将含有纳米粒子的溶液过滤,得到所述水溶性近红外AIE聚合物纳米粒子,所得纳米粒子粒径为90±8nm,粒径均一,变异系数为4.0%(下表2)。

[0082] 表2

[0083]

粒径 (nm)	PDI
97.09	0.167
98.05	0.163
84.13	0.153
96.25	0.147
90.69	0.162
94.16	0.168
91.07	0.184
92.12	0.169
97.05	0.154
91.15	0.174
96.30	0.138
91.22	0.154
97.04	0.143
97.75	0.172
93.61	0.170

[0084] 实施例3:水溶性近红外AIE聚合物纳米粒子的制备

[0085] (1) 量取46.0mL去离子水用作不良溶剂,为溶液A;

[0086] (2) 称取1.0mg AIE-2分子,1.50mg DSPE-PEG₂₀₀₀分子溶解在4.0mL四氢呋喃溶剂

中,为溶液B;

[0087] (3)在超声和搅拌条件下将溶液B快速注入溶液A中(注入溶液控制在3.0s内完成),超声功率为90W,超声2min,得到含有AIE聚合物纳米粒子的溶液;

[0088] (4)将含有AIE聚合物纳米粒子的溶液放入通风橱中搅拌24h除去四氢呋喃溶剂,使用0.45 μ m针头过滤器将含有纳米粒子的溶液过滤,得到所述水溶性近红外AIE聚合物纳米粒子。

[0089] 通过透射电子显微镜观察实施例3制备的水溶性近红外AIE聚合物纳米粒子的形貌,如图3所示,该水溶性近红外AIE聚合物纳米粒子为球形结构,粒径为 55 ± 5 nm,粒径均一,变异系数为4.8%(下表3)。使用荧光光谱仪对所制备的AIE聚合物纳米粒子进行发射光谱表征,可以看出该水溶性近红外AIE聚合物纳米粒子的最大发射波长在1010nm(图4)。

[0090] 表3

[0091]

粒径 (nm)	PDI
58.83	0.172
57.61	0.183
57.31	0.181
56.11	0.185
51.83	0.180
53.71	0.194
54.50	0.208
51.06	0.219
52.76	0.190
53.31	0.214
58.21	0.222
58.42	0.234
51.76	0.211
53.31	0.188
55.74	0.214

[0092] 实施例4:水溶性近红外AIE聚合物纳米粒子的制备

[0093] (1)量取48.0mL去离子水用作不良溶剂,为溶液A;

[0094] (2)称取1.0mg AIE-2分子,0.80mg DSPE-PEG₂₀₀₀-COOH分子溶解在2.0mL二甲基亚砜溶剂中,为溶液B;

[0095] (3)在超声和搅拌条件下将溶液B快速注入溶液A中(注入溶液控制在3.0s内完成),超声功率为90W,超声2min,得到含有AIE聚合物纳米粒子的溶液;

[0096] (4)将含有AIE聚合物纳米粒子的溶液放入通风处,透析24h除去二甲基亚砜溶剂,使用0.45 μ m针头过滤器将含有纳米粒子的溶液过滤,得到所述水溶性近红外AIE聚合物纳米粒子,其粒径为 90 ± 10 nm,粒径均一,变异系数为7.3%(下表4)。

[0097] 表4

[0098]

粒径 (nm)	PDI
92.94	0.178
83.15	0.182
99.52	0.182
78.56	0.204
94.96	0.193
97.37	0.183
92.94	0.178
83.15	0.182
95.47	0.212
86.42	0.229
82.96	0.178
81.28	0.210
86.42	0.229
84.36	0.174
91.60	0.188

[0099] 实施例5:水溶性近红外AIE聚合物纳米粒子的制备

[0100] (1) 量取49.0mL去离子水用作不良溶剂,为溶液A;

[0101] (2) 称取1.0mg AIE-2分子,2.0mg DSPE-PEG₂₀₀₀分子溶解在1.0mL四氢呋喃溶剂中,为溶液B;

[0102] (3) 在超声和搅拌条件下将溶液B快速注入溶液A中(注入溶液控制在4.0s内完成),超声功率为90W,超声2min,得到含有AIE聚合物纳米粒子的溶液;

[0103] (4) 将含有AIE聚合物纳米粒子的溶液放入通风橱中搅拌24h除去四氢呋喃溶剂,使用0.45μm针头过滤器将含有纳米粒子的溶液过滤,得到所述水溶性近红外AIE聚合物纳米粒子,如图5所示,该粒子的粒径为140±10nm,粒径均一,变异系数为3.6%(下表5)。

[0104] 表5

[0105]

粒径 (nm)	PDI
144.2	0.198
146.3	0.189
149.9	0.189
141.4	0.169
145.4	0.188
137.5	0.162
137.7	0.125
134.4	0.116
139.6	0.192
140.0	0.153
145.0	0.134
138.0	0.189
130.6	0.176
135.6	0.184
140.3	0.179

[0106] 实施例6:水溶性近红外AIE聚合物纳米粒子的制备

[0107] (1) 量取49.0mL去离子水用作不良溶剂,为溶液A;

[0108] (2) 称取0.50mg AIE-7分子,1.0mg DSPE-PEG₂₀₀₀-NH₂分子溶解在1.0mL 四氢呋喃

溶剂中,为溶液B;

[0109] (3) 在超声和搅拌条件下将溶液B快速注入溶液A中(注入溶液控制在3.0s内完成),超声功率为90W,超声2min,得到含有AIE聚合物纳米粒子的溶液;

[0110] (4) 将含有AIE聚合物纳米粒子的溶液放入通风橱中搅拌24h除去四氢呋喃溶剂,使用0.45 μ m针头过滤器将含有纳米粒子的溶液过滤,得到所述水溶性近红外AIE聚合物纳米粒子,其粒径为100 \pm 8nm,粒径均一,变异系数为3.4%(下表6)。

[0111] 表6

[0112]	粒径 (nm)	PDI
	101.0	0.181
	101.0	0.226
	103.3	0.193
	92.63	0.199
	99.62	0.202
	93.93	0.201
	101.0	0.194
	104.0	0.196
	96.45	0.170
	99.10	0.160
	100.3	0.181
	99.03	0.194
	100.3	0.153
	93.11	0.148
	98.93	0.161

[0113] 实施例7:水溶性近红外AIE聚合物纳米粒子的制备

[0114] (1) 量取48.0mL去离子水用作不良溶剂,为溶液A;

[0115] (2) 称取1.0mg AIE-4分子,0.50mg DSPE-PEG₂₀₀₀-Mal 分子溶解在2.0mL四氢呋喃溶剂中,为溶液B;

[0116] (3) 在超声和搅拌条件下将溶液B快速注入溶液A中(注入溶液控制在2.0s内完成),超声功率为90W,超声2min,得到含有AIE聚合物纳米粒子的溶液;

[0117] (4) 将含有AIE聚合物纳米粒子的溶液放入通风橱中搅拌24h除去四氢呋喃溶剂,使用0.45 μ m针头过滤器将含有纳米粒子的溶液过滤,得到所述水溶性近红外AIE聚合物纳米粒子。所得纳米粒子粒径为97 \pm 4 nm,粒径均一,变异系数为2.7%(下表7)。

[0118] 表7

[0119]

粒径 (nm)	PDI
96.99	0.176
94.57	0.180
100.8	0.188
95.16	0.169
94.95	0.197
92.93	0.205
99.66	0.179
99.91	0.175
97.57	0.191
99.79	0.203
101.1	0.191
99.39	0.207
101.3	0.220
100.0	0.213
98.43	0.185

[0120] 实施例8:水溶性近红外AIE聚合物纳米粒子的制备

[0121] (1)量取48.0mL去离子水用作不良溶剂,为溶液A;

[0122] (2)称取1.0mg AIE-5分子,0.50mg DSPE-PEG₂₀₀₀-NHS 分子溶解在2.0mL四氢呋喃溶剂中,为溶液B;

[0123] (3)在超声和搅拌条件下将溶液B快速注入溶液A中(注入溶液控制在2.0s内完成),超声功率为90W,超声2min,得到含有AIE聚合物纳米粒子的溶液;

[0124] (4)将含有AIE聚合物纳米粒子的溶液放入通风橱中搅拌24h除去四氢呋喃溶剂,使用0.45μm针头过滤器将含有纳米粒子的溶液过滤,得到所述水溶性近红外AIE聚合物纳米粒子,所得纳米粒子粒径为95±5nm,粒径均一,变异系数为1.9%(下表8)。

[0125] 表8

[0126]

粒径 (nm)	PDI
92.21	0.162
95.25	0.170
95.60	0.161
95.71	0.167
100.4	0.183
96.93	0.156
94.13	0.164
93.96	0.173
93.20	0.152
93.02	0.169
93.28	0.162
94.57	0.148
91.25	0.200
91.31	0.169
95.96	0.164

[0127] 实施例9:水溶性近红外AIE聚合物纳米粒子的体内血管成像应用

[0128] 取100μL(浓度2mg/mL)实施例1制备的AIE聚合物纳米粒子,通过尾静脉注射入小鼠体内进行血管成像,实验中所用小鼠均为5周龄的balb/c nude小鼠,购买自珠海百试通生物科技有限公司(以下实施例与此相同)。用三溴乙醇将小鼠麻醉,使用可见光成像系统进行拍摄,然后获得小鼠血管成像图。如图6所示,尾静脉注射AIE聚合物纳米粒子后分别在5min, 20min, 40min, 60min, 90min,120min, 180min, 240min, 300min, 360min对小鼠

体内血管成像,发现AIE聚合物纳米粒子的成像时间持续360min,小鼠体内的血管仍然清晰可见。

[0129] 实施例10:水溶性近红外AIE聚合物纳米粒子的体内NIR-II荧光成像应用

[0130] 取150 μ L(浓度2mg/mL)实施例4制备的AIE聚合物纳米粒子灌注到小鼠的胃中,用三溴乙醇麻醉小鼠,使用近红外二区荧光成像系统进行拍摄,808nm激光器(2W/cm²)用作荧光成像光源(配有1094nm长通滤光片(1000LP),曝光时间为55ms。使用Phoenix软件来处理信号/背景比,然后获取胃肠道成像图。如图7所示,AIE聚合物纳米粒子从小鼠胃部开始经肠道蠕动,7h左右的时间内实现了整个胃肠道动力监测。说明AIE聚合物纳米粒子使得胃肠道通道的排泄得到了先进的NIR-II荧光成像技术的支持。

[0131] 实施例11:水溶性近红外AIE聚合物纳米粒子光稳定性测试

[0132] 取实施例4制备的AIE聚合物纳米粒子和FDA批准的近红外分子ICG分别测试它们在不同pH条件下的光稳定性。

[0133] 取3.0mL(浓度10 μ g/mL)的实施例4制备的AIE聚合物纳米粒子溶液和3.0mL(浓度10 μ g/mL)的ICG分子溶液,在808nm激光连续照射一小时后,分别在0s, 30s, 1min, 2min, 3min, 4min, 5min, 10min, 20min, 40min, 60min测定其紫外吸收强度,在水溶液和pH=1.5,pH=8.5环境中分别测试其紫外吸收值,结果分别如图8、图9、图10所示,AIE聚合物纳米粒子的紫外吸收值在连续照射1h后未大幅度降低,即在中性、强酸或强碱环境下其紫外吸收值几乎都是保持稳定不变的,而ICG分子的紫外吸收值都出现了大幅度降低。说明了本发明的AIE聚合物纳米粒子与现有ICG相比具有更好的光稳定性。

[0134] 对比例1:

[0135] (1)量取9.0mL去离子水用作不良溶剂,为溶液A;

[0136] (2)称取1.0mg AIE-1分子,1.0mg DSPE-PEG₂₀₀₀-COOH分子溶解在1.0mL四氢呋喃溶剂中,为溶液B;

[0137] (3)在超声和搅拌条件下将溶液B快速注入溶液A中(注入溶液控制在2.0s内完成),超声功率为90W,超声2min,得到含有AIE聚合物纳米粒子的溶液;

[0138] (4)将含有AIE聚合物纳米粒子的溶液放入通风橱中搅拌24h除去四氢呋喃溶剂,使用0.45 μ m针头过滤器将含有纳米粒子的溶液过滤,得到所述水溶性近红外AIE聚合物纳米粒子。如图11所示,所得纳米粒子粒径为~170nm。

[0139] 与实施例1相比,保持AIE分子和高分子聚合物的用量比以及四氢呋喃的用量不变,只改变去离子水的用量为9mL,即有机溶剂用量改变为水溶液的11%,得到的AIE聚合物纳米粒子的粒径为~170nm,而本发明要制备的是50-150nm范围内粒径均一的纳米粒子,对比例1由于工艺不同,无法制备出合适粒径范围的纳米粒子,说明未按照本发明方法制备的AIE纳米粒子不符合本发明的要求。

[0140] 对比例2:

[0141] (1)量取49.5mL去离子水用作不良溶剂,为溶液A;

[0142] (2)称取1.0mg AIE-1分子,0.50mg DSPE-PEG₂₀₀₀分子溶解在0.50mL四氢呋喃溶剂中,为溶液B;

[0143] (3)在超声和搅拌条件下将溶液B快速注入溶液A中(注入溶液控制在3.0s内完成),超声功率为90W,超声2min,得到含有AIE聚合物纳米粒子的溶液;

[0144] (4)将含有AIE聚合物纳米粒子的溶液放入通风橱中搅拌24h除去四氢呋喃溶剂,使用0.45 μ m针头过滤器将含有纳米粒子的溶液过滤,得到所述水溶性近红外AIE聚合物纳米粒子。如图12所示,所得纳米粒子粒径为 \sim 180nm。

[0145] 与实施例2相比,保持AIE分子和高分子聚合物的用量不变,有机溶剂用量改变为去离子水溶液的1%,得到的AIE聚合物纳米粒子的粒径为 \sim 180nm,说明未按照本发明方法制备的AIE纳米粒子不符合本发明纳米粒子粒径50-150nm内均一的要求。

[0146] 对比例3:

[0147] (1)量取49.0mL去离子水用作不良溶剂,为溶液A;

[0148] (2)称取1.0mg AIE-1分子,5.0mg DSPE-PEG₂₀₀₀-COOH分子溶解在1.0mL四氢呋喃溶剂中,为溶液B;

[0149] (3)在超声和搅拌条件下将溶液B快速注入溶液A中(注入溶液控制在2.0s内完成),超声功率为90W,超声2min,得到含有AIE聚合物纳米粒子的溶液;

[0150] (4)将含有AIE聚合物纳米粒子的溶液放入通风橱中搅拌24h除去四氢呋喃溶剂,使用0.45 μ m针头过滤器将含有纳米粒子的溶液过滤,得到所述水溶性近红外AIE聚合物纳米粒子。如图13所示,所得纳米粒子粒径为 \sim 190nm。

[0151] 与实施例1相比,保持去离子水的用量以及四氢呋喃的用量不变,只改变AIE分子和高分子聚合物的用量比为1:5,得到的AIE聚合物纳米粒子的粒径为 \sim 190nm,说明未按照本发明方法制备的AIE纳米粒子不符合粒径50-150nm内均一的要求。

[0152] 对比例4:

[0153] (1)量取49.0mL去离子水用作不良溶剂,为溶液A;

[0154] (2)称取0.80mg AIE-1分子,0.30g DSPE-PEG₂₀₀₀-COOH分子溶解在1.0mL四氢呋喃溶剂中,为溶液B;

[0155] (3)在超声和搅拌条件下将溶液B快速注入溶液A中(注入溶液控制在2.0s内完成),超声功率为90W,超声2min,得到含有AIE聚合物纳米粒子的溶液;

[0156] (4)将含有AIE聚合物纳米粒子的溶液放入通风橱中搅拌24h除去四氢呋喃溶剂,使用0.45 μ m针头过滤器将含有纳米粒子的溶液过滤,得到所述水溶性近红外AIE聚合物纳米粒子。如图14所示,所得纳米粒子粒径为 \sim 30nm。

[0157] 与实施例1相比,保持去离子水的用量以及四氢呋喃的用量不变,只改变AIE分子和高分子聚合物的用量比为1:0.375,得到的AIE聚合物纳米粒子的粒径为 \sim 30nm,说明未按照本发明方法制备的AIE纳米粒子不符合粒径50-150nm内均一的要求。

[0158] 对比例5:

[0159] (1)量取48.0mL去离子水用作不良溶剂,为溶液A;

[0160] (2)称取1.0mg AIE-2分子,0.80mg DSPE-PEG₂₀₀₀-COOH分子溶解在2.0mL 二甲基亚砜溶剂中,为溶液B;

[0161] (3)在超声和搅拌条件下将溶液B注入溶液A中(注入溶液控制在6.0s内完成),超声功率为90W,超声2min,得到含有AIE聚合物纳米粒子的溶液;

[0162] (4)将含有AIE聚合物纳米粒子的溶液放入通风橱中搅拌24h除去二甲基亚砜溶剂,使用0.45 μ m针头过滤器将含有纳米粒子的溶液过滤,得到所述水溶性近红外AIE聚合物纳米粒子,其粒径为 \sim 160nm。

[0163] 与实施例4相比,只改变注入溶液时间为6.0s,其他工艺条件保持不变,得到的AIE聚合物纳米粒子的粒径为~160nm,CV值为3.3%(下表9)。说明未按照本发明方法制备的AIE纳米粒子虽然CV值较小,但是粒径不符合本发明50-150nm的要求。

[0164] 表9

[0165]

粒径 (nm)	PDI
155.0	0.136
157.2	0.096
156.1	0.116
159.6	0.192
158.2	0.152
159.0	0.072
167.3	0.104
166.5	0.113
157.1	0.137
160.7	0.113
170.3	0.102
172.4	0.096
156.9	0.112
162.2	0.184
160.0	0.141

[0166] 对比例6:

[0167] (1)量取46.0mL去离子水用作不良溶剂,为溶液A;

[0168] (2)称取1.0mg AIE-2分子,2.5mg DSPE-PEG₂₀₀₀分子溶解在4.0mL四氢呋喃溶剂中,为溶液B;

[0169] (3)在超声和搅拌条件下将溶液B快速注入溶液A中(注入溶液控制在3.0s内完成),超声功率为90W,超声2min,得到含有AIE聚合物纳米粒子的溶液;

[0170] (4)将含有AIE聚合物纳米粒子的溶液放入通风橱中搅拌24h除去四氢呋喃溶剂,使用0.45μm针头过滤器将含有纳米粒子的溶液过滤,得到所述水溶性近红外AIE聚合物纳米粒子,粒径在50-80nm之间。

[0171] 与实施例3相比,保持去离子水的用量以及四氢呋喃的用量不变,只改变AIE分子和高分子聚合物的用量比为1:2.5得到的AIE聚合物纳米粒子的粒径在50-80nm(下表10),粒径虽符合制备要求,但CV值为16%,说明未严格按照本发明整套工艺制备的纳米粒子粒径不均一,不符合本发明的要求。

[0172] 表10

[0173]

粒径 (nm)	PDI
80.60	0.209
74.45	0.195
70.33	0.250
52.04	0.294
52.90	0.264
53.23	0.252
66.14	0.243
50.99	0.276
50.02	0.257
68.97	0.289
65.90	0.257
67.77	0.169
72.77	0.206
75.13	0.231
76.03	0.213

[0174] 上述实施例为本发明较佳的实施方式,但本发明的实施方式并不受上述实施例的限制,其他的任何未背离本发明的精神实质与原理下所作的改变、修饰、替代、组合、简化,均应为等效的置换方式,都包含在本发明的保护范围之内。

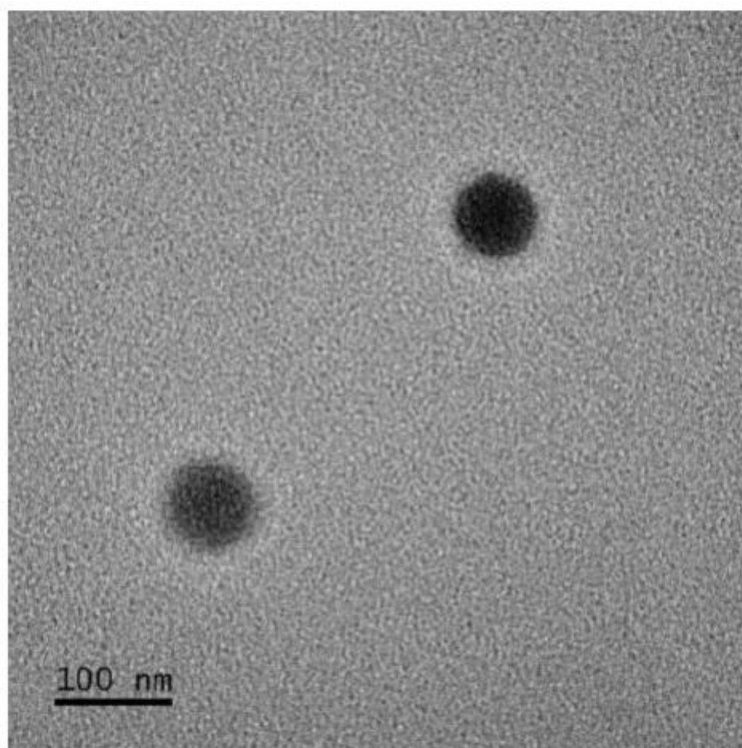


图1

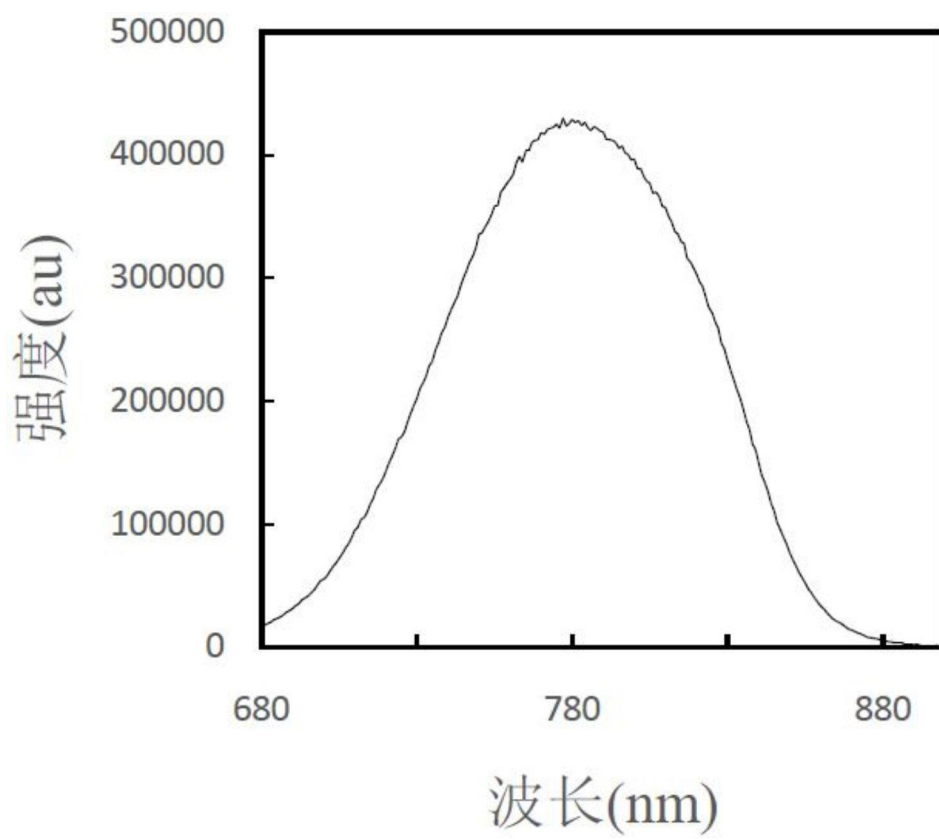


图2

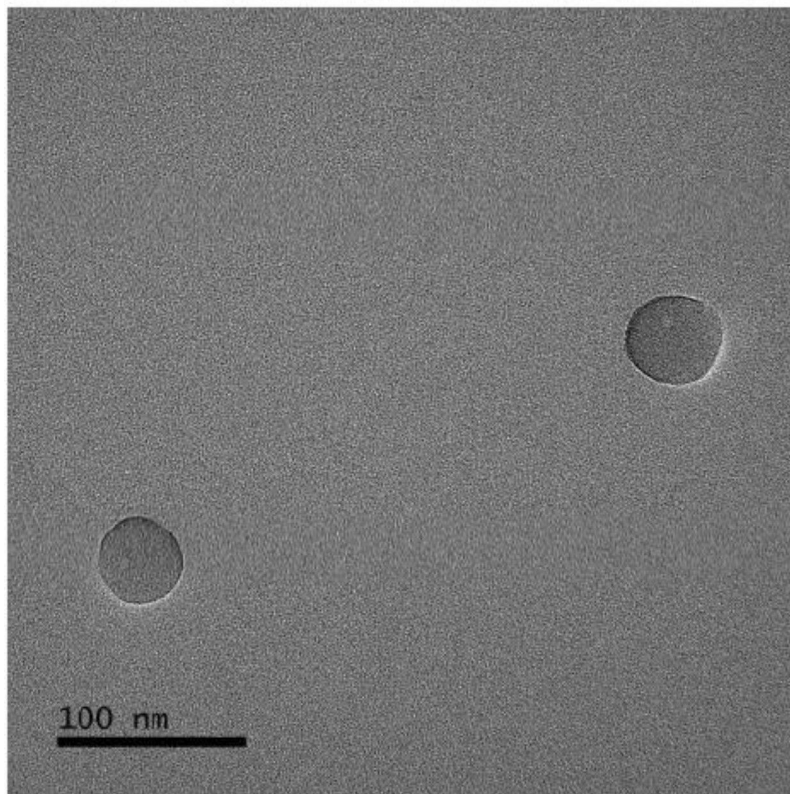


图3

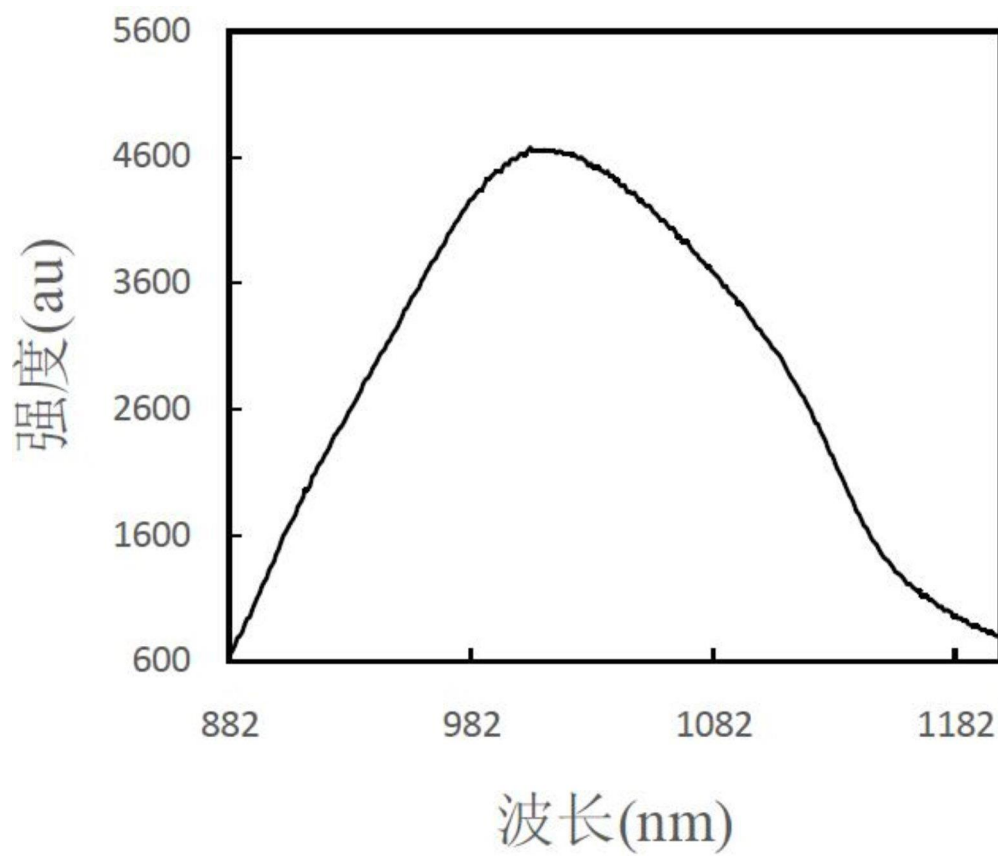


图4

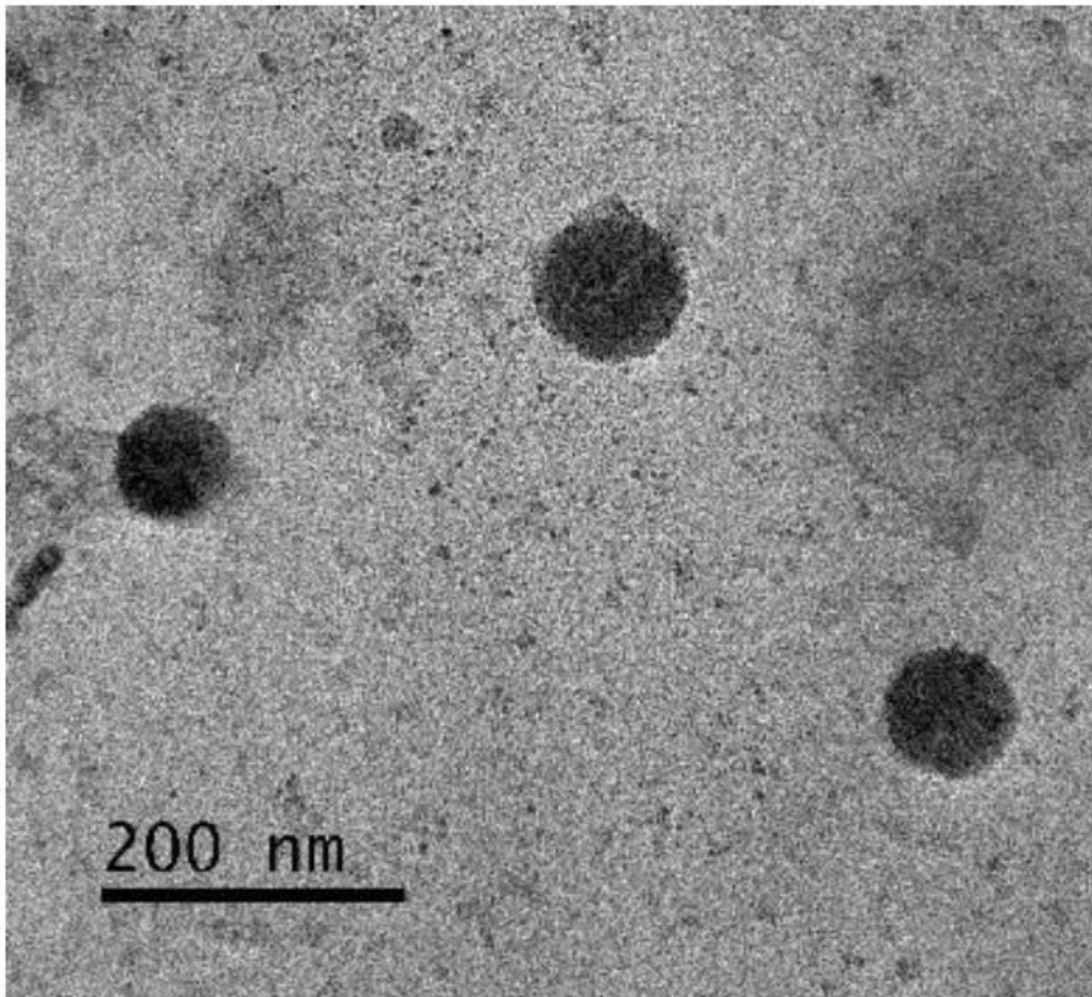


图5

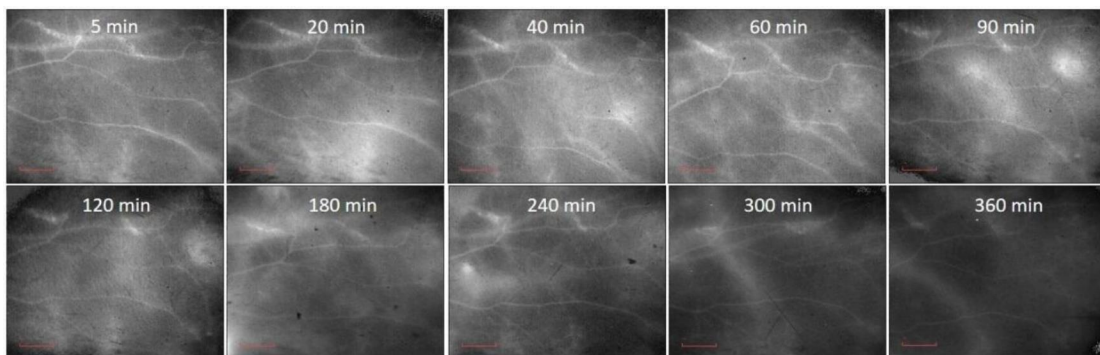


图6

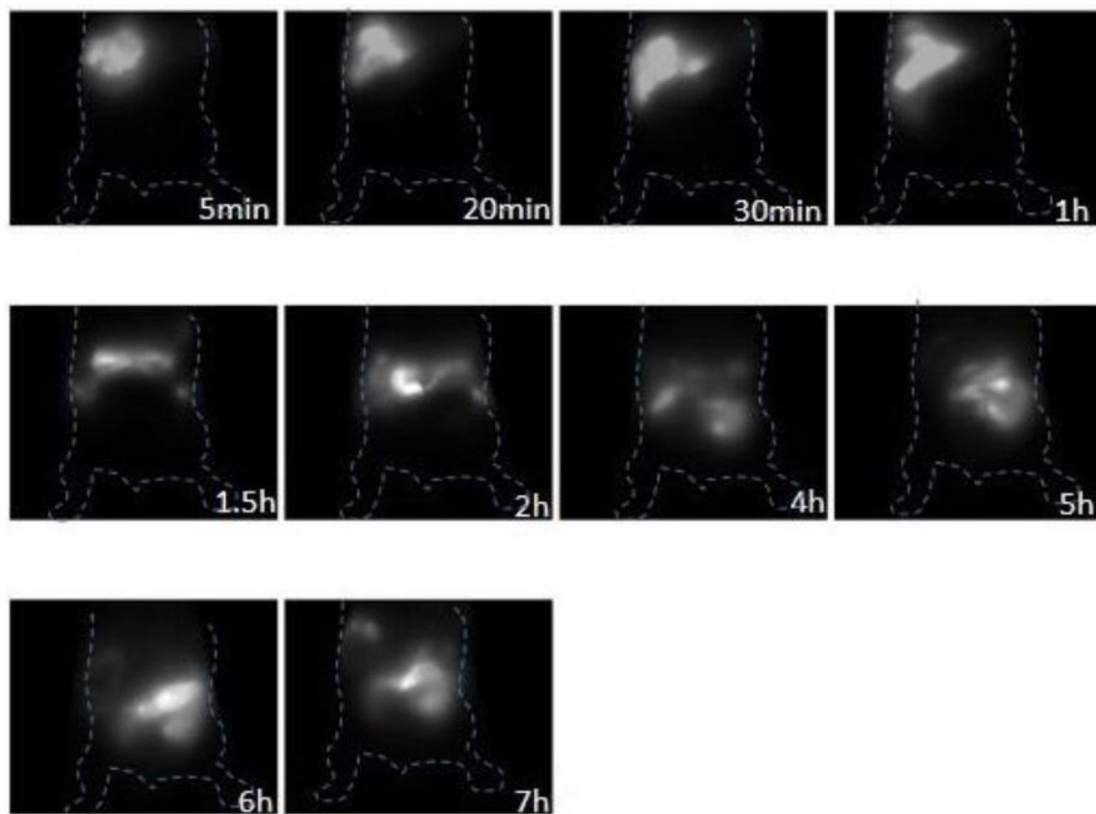


图7

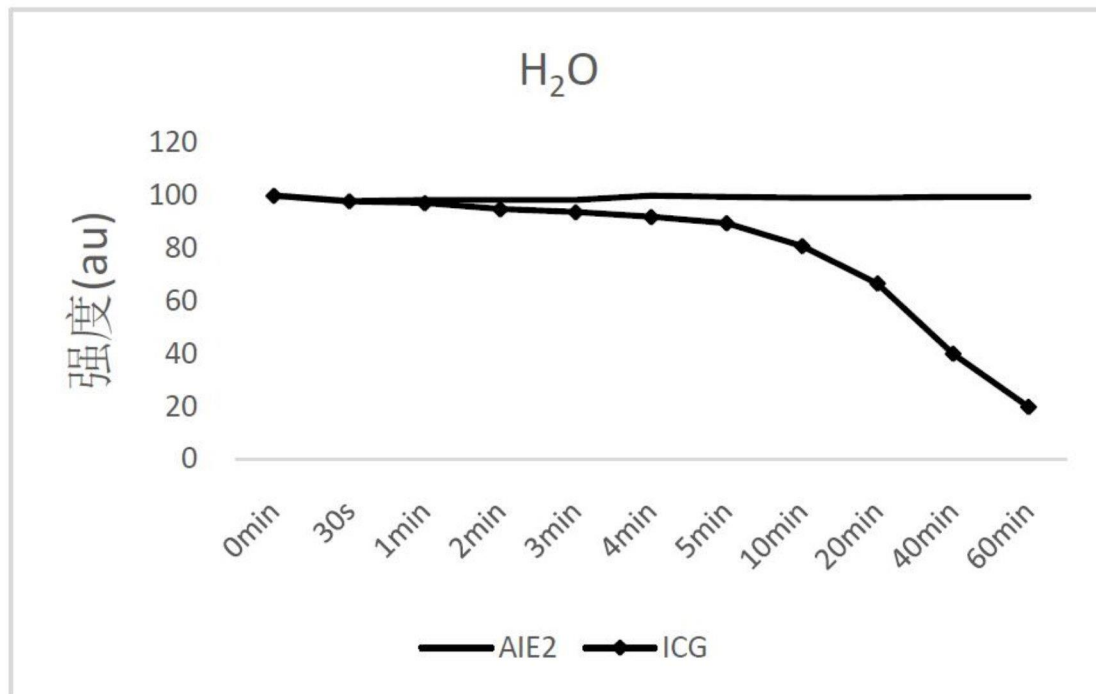


图8

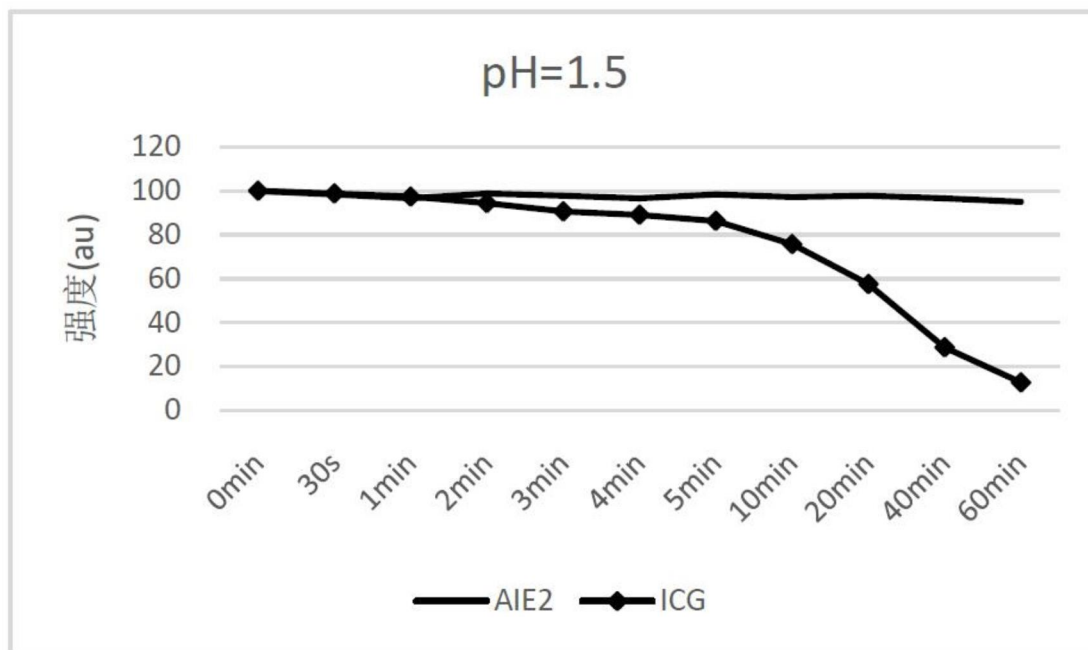


图9

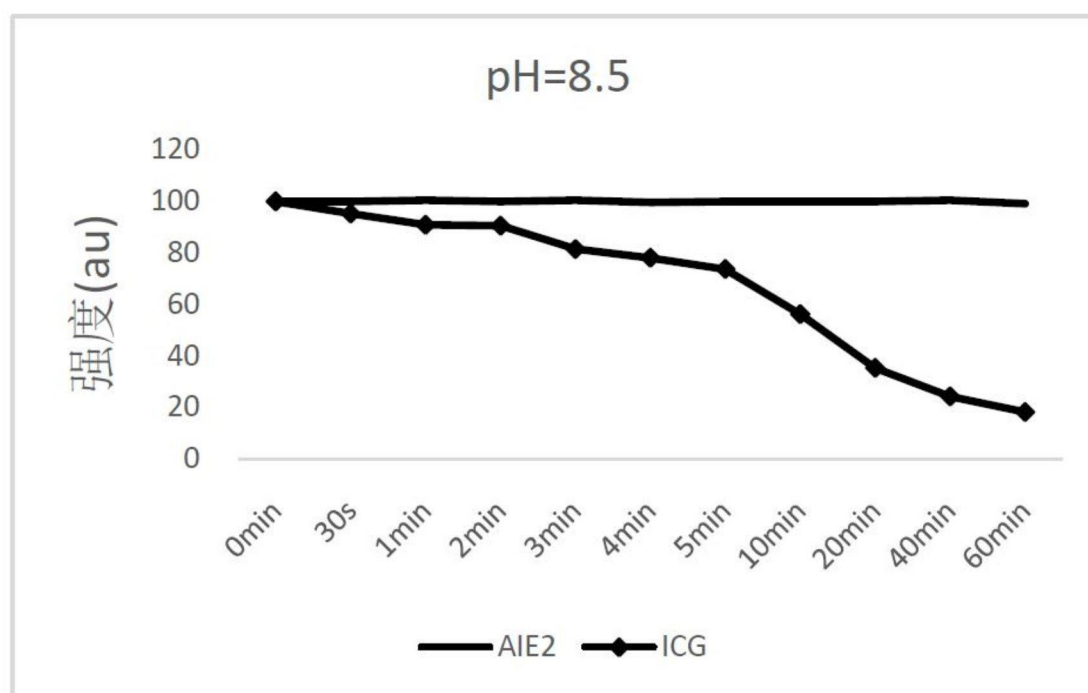


图10

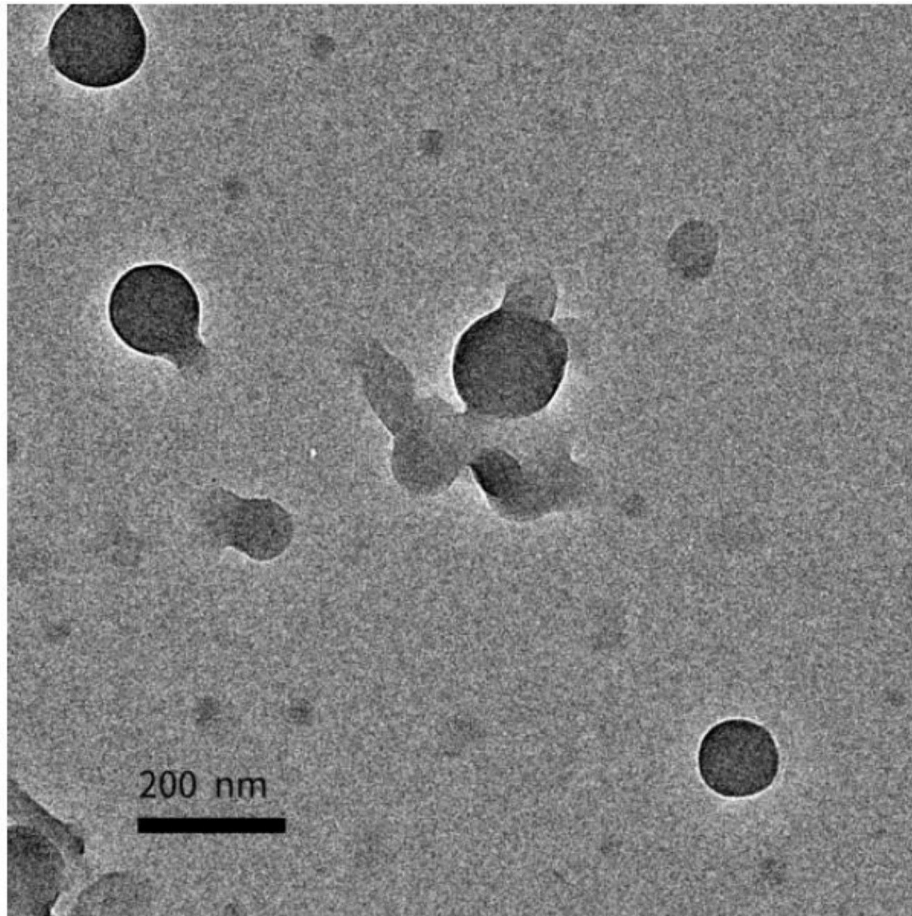


图11

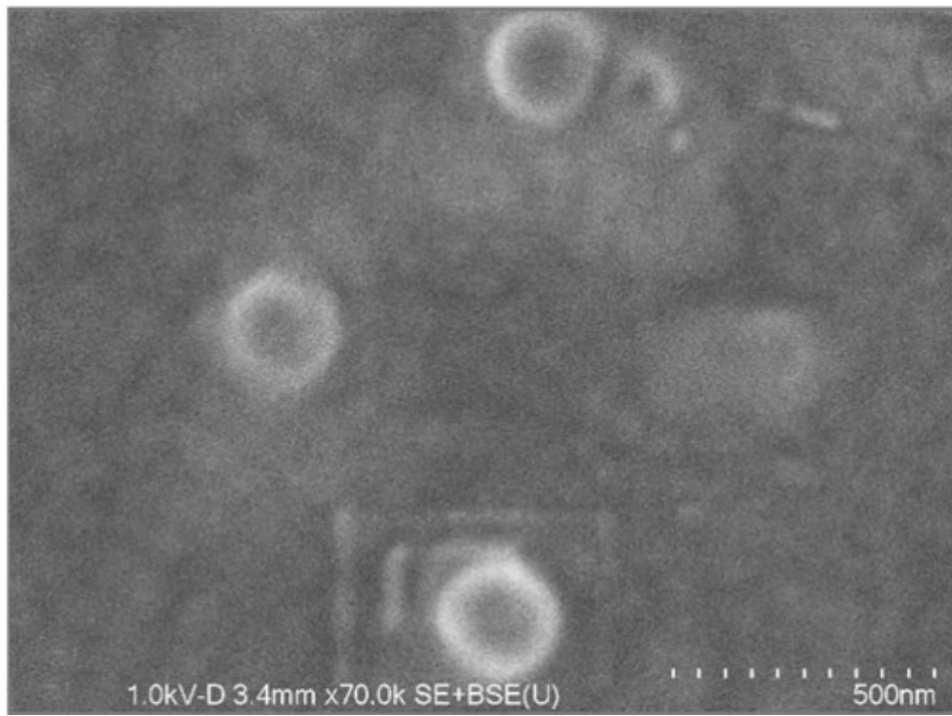


图12

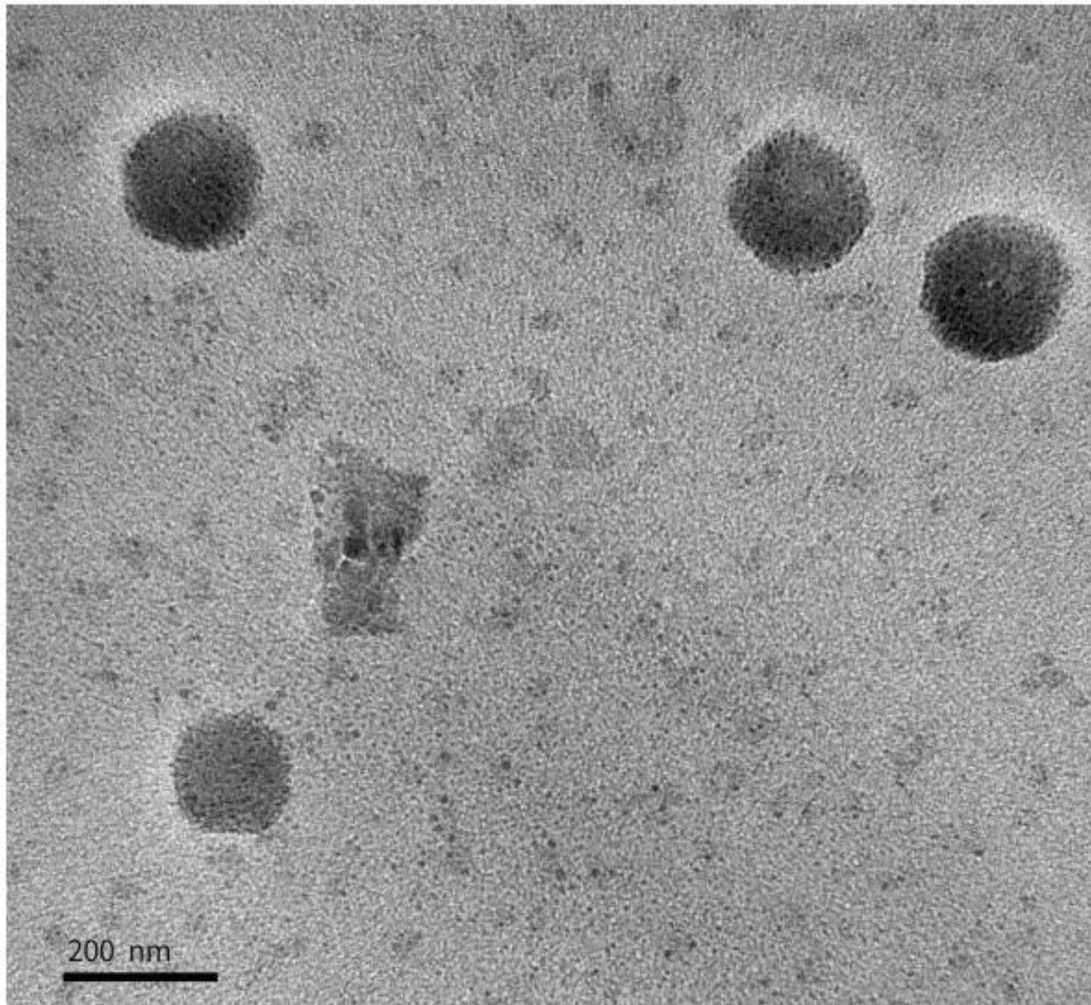


图13

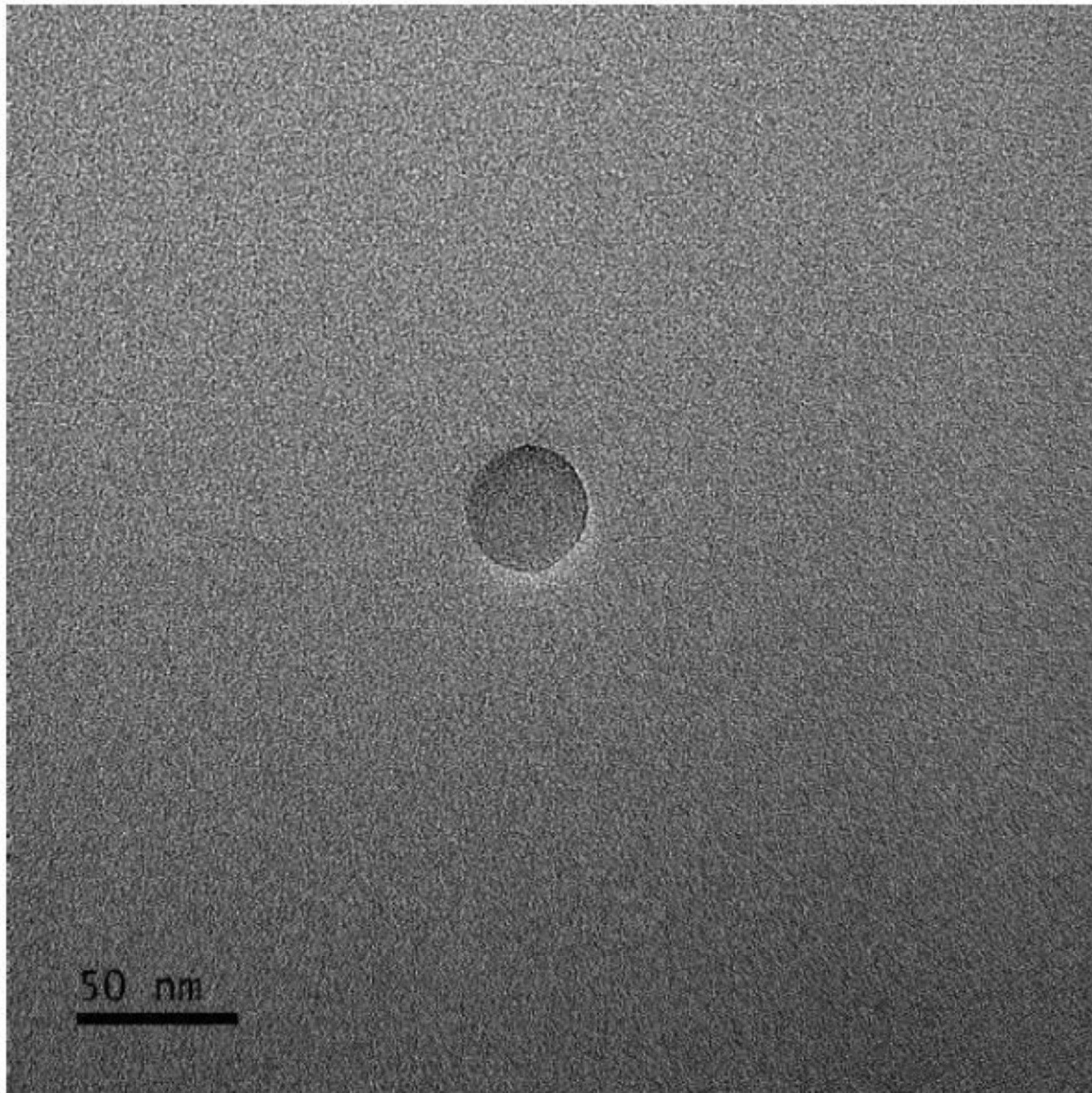


图14