



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 107412280 B

(45) 授权公告日 2021.05.18

(21) 申请号 201610086666.2

A61P 35/00 (2006.01)

(22) 申请日 2016.02.16

(56) 对比文件

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 107412280 A

CN 104174008 A, 2014.12.03

(43) 申请公布日 2017.12.01

Huanlian Wu et al. Surface decoration of selenium nanoparticles by mushroom polysaccharides-protein complexes to achieve enhanced cellular uptake and antiproliferative activity. 《Journal of Materials chemistry》. 2012, 第22卷第9602-9610页, 尤其是第9602页摘要, 第9603页左栏第2段, 右栏第2段.

(73) 专利权人 香港理工大学深圳研究院
地址 518000 广东省深圳市南山区高新技术产业园南区粤兴一道18号香港理工大学产学研大楼205室

专利权人 新汇国际企业有限公司
暨南大学

杨明俊等. 云芝糖肽的免疫和抗肿瘤药理活性研究进展. 《食品工业科技》. 2011, 第32卷(第12期), 第565-572页, 尤其是第565页第1段.

(72) 发明人 黄家兴 陈填烽

吴巍. 硒在胃癌防治中有什么作用. 《健康天地》. 2011, (第2期), 第50页, 尤其是左栏第3段, 右栏倒数第1-2段.

(74) 专利代理机构 深圳中一专利商标事务所
44237

代理人 张全文

代向向. 云芝生物转化无机硒生产富硒云芝糖肽的研究. 《中国优秀硕士学位论文全文数据库 农业科技辑》. 2015, (第11期), 全文.

(51) Int. Cl.

A61K 33/04 (2006.01)

A61K 36/07 (2006.01)

A61K 38/02 (2006.01)

A61K 9/10 (2006.01)

A61K 47/42 (2017.01)

审查员 李杉杉

权利要求书1页 说明书7页 附图4页

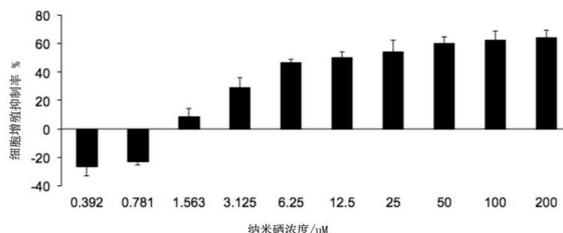
(54) 发明名称

有抗肿瘤活性的纳米硒水溶胶及制备、保存方法和应用

(57) 摘要

本发明涉及纳米硒水溶胶技术领域, 尤其涉及一种有抗肿瘤活性的纳米硒水溶胶及制备、保存方法和应用。该水溶胶至少含有以下浓度的组分: 纳米硒0.5mmol/L~5.0mmol/L; 云芝多糖蛋白100.0mg/L~600.0mg/L。该水溶胶的制备方法至少包括步骤S01. 向云芝多糖蛋白水溶液中加入含硒离子和/或亚硒离子的溶液; 步骤S02. 向步骤S01获得的混合溶液中滴加还原剂溶液, 震荡; 步骤S03. 对步骤S02还原反应得到的产物进行定容、透析处理。该水溶胶在2~10℃下稳定存在。由于云芝多糖蛋白具有亲水性的羟基和氨基

基团, 这两种基团可以增强纳米硒与癌细胞的亲和力, 提高肿瘤细胞对纳米硒的摄取量, 进而达到减少用药剂量、提增疗效、较少毒副作用的整体治疗效果, 为临床上癌症的联合化疗提供了一种更加有效的方案。



1. 一种具有抑制胃癌细胞增殖活性的纳米硒水溶胶,其特征在于:由以下浓度的组分组成:

纳米硒 0.5mmol/L~5.0mmol/L;

云芝多糖蛋白 100.0mg/L~600.0mg/L;

所述云芝多糖蛋白为云芝水溶性多糖蛋白,所述云芝水溶性多糖蛋白中,总糖含量为70%~80%,总蛋白含量为15%~25%。

2. 如权利要求1所述的纳米硒水溶胶,其特征在于:所述多糖包括葡萄糖、甘露糖、阿拉伯糖中的至少一种;所述蛋白的氨基酸包括天门冬氨酸、谷氨酸、苏氨酸、丝氨酸、甘氨酸、谷丙氨酸中的至少一种。

3. 如权利要求1所述的具有抑制胃癌细胞增殖活性的纳米硒水溶胶的制备方法,至少包括以下步骤:

步骤S01. 向云芝多糖蛋白水溶液中加入含硒离子和/或亚硒离子的溶液;

步骤S02. 向步骤S01获得的混合溶液中滴加还原剂溶液,震荡;

步骤S03. 对步骤S02还原反应得到的产物进行定容、透析处理。

4. 如权利要求3所述的制备方法,其特征在于:所述还原反应中,按照所述硒离子和/或亚硒离子与所述还原剂的摩尔比为(0.7~1.3):(3.0~9.0)的比例进行投料。

5. 如权利要求3所述的制备方法,其特征在于:所述含硒离子的溶液为硒酸盐溶液,所述含亚硒离子的溶液为二氧化硒和/或亚硒酸盐溶液;和/或所述还原剂为维生素C。

6. 如权利要求3所述的制备方法,其特征在于:所述含硒离子和/或亚硒离子的溶液的浓度为0.5mmol/L~2.0mmol/L;和/或所述还原剂溶液的浓度为2.0mmol/L~8.0mmol/L。

7. 如权利要求3所述的制备方法,其特征在于:所述透析产物中,所述云芝多糖蛋白的浓度为100.0mg/L~600.0mg/L。

8. 如权利要求1或2所述的具有抑制胃癌细胞增殖活性的纳米硒水溶胶或由权利要求3~7任一所述的具有抑制胃癌细胞增殖活性的纳米硒水溶胶的制备方法制备的具有抑制胃癌细胞增殖活性的纳米硒水溶胶的保存方法,其特征在于:所述纳米硒水溶胶在2℃~10℃中保存。

9. 如权利要求1或2所述的具有抑制胃癌细胞增殖活性的纳米硒水溶胶或由权利要求3~7任一所述的具有抑制胃癌细胞增殖活性的纳米硒水溶胶的制备方法制备的具有抑制胃癌细胞增殖活性的纳米硒水溶胶在制备抑制胃癌细胞增殖药物中的应用。

有抗肿瘤活性的纳米硒水溶胶及制备、保存方法和应用

技术领域

[0001] 本发明涉及纳米硒水溶胶技术领域,尤其涉及一种有抗肿瘤活性的纳米硒水溶胶及制备、保存方法和应用。

背景技术

[0002] 硒是人体必需的十五种微量元素之一,在人体内具有抗肿瘤、抗氧化、抗衰老、提高机体免疫力、保护修复细胞、拮抗降低有害重金属等重要的生物活性。硒与多达40种疾病的发生、发展有着密切的关联,其中包括:艾滋病(AIDS)、肝癌、克山病、大骨节病、心脑血管等疾病。

[0003] 低硒或缺硒的人群,可以通过适量补充硒,即可达到提高机体免疫能力,维护心、肝、肺、胃等重要器官正常功能的效果,同时还可起到预防肿瘤、肝病、心脑血管疾病的作用。

[0004] 目前全球约有40多个国家或地区存在缺硒的问题,我国也有多个省份属于缺硒或低硒地区。而缺硒或低硒地区为肿瘤、肝病、心血管疾病等发病率高的地区,需要进行补硒。然而作为营养补充剂或癌症预防剂,硒的有益剂量范围和毒性剂量范围却极其狭窄,如不注意,十分容易造成硒中毒,这严重的限制了硒在疾病防治,尤其是癌症防治方面的潜力。不过,硒的毒性依赖于其化学形式。研究结果表明,无机硒化合物的毒性强于有机硒化合物的毒性,而硒代半胱氨酸与亚硒酸钠的毒性相类似,毒性均比纳米硒强;相对于前面提到的硒化合物,纳米硒具有生物利用度高、生物活性强和毒性低的优点。

[0005] 目前纳米单质硒的制备方法通常为还原法,具体是利用硒的含氧酸盐或氧化物通过各种还原剂获得单质硒,并同时使用修饰剂或调控剂对粒径和形貌进行修饰调控,最终获得理想的纳米单质硒。但是,现有的各种纳米单质硒的制备方法中,均采用调控剂或修饰剂对形貌进行调控或修饰,并没有考虑其应用需求。此外,这些调控剂或修饰剂均为不具有生物活性的材料,不能有效的提高纳米单质硒的生物活性,尤其是不能提高其抗肿瘤活性,也就是常规方法获得的产物并不是功能化的纳米单质硒。

发明内容

[0006] 本发明的目的在于针对现有纳米单质硒制备方法存在的不能通过修饰剂或者调控剂有效提高纳米单质硒的生物活性的问题,提供一种有抗肿瘤活性的纳米硒水溶胶及其制备方法。

[0007] 本发明的另一个目的在于,提供上述有抗肿瘤活性的纳米硒水溶胶的保存方法。

[0008] 本发明的另外一个目的在于,限定上述有抗肿瘤活性的纳米硒水溶胶的应用领域。

[0009] 为达到上述发明目的,本发明实施例采用了如下的技术方案:

[0010] 一种有抗肿瘤活性的纳米硒水溶胶,至少含有以下浓度的组分:

[0011] 纳米硒 0.5mmol/L~5.0mmol/L;

- [0012] 云芝多糖蛋白 100.0mg/L~600.0mg/L。
- [0013] 上述有抗肿瘤活性的纳米硒水溶胶的制备方法,至少包括以下步骤:
- [0014] 步骤S01.向云芝多糖蛋白水溶液中加入含硒离子和/或亚硒离子的溶液;
- [0015] 步骤S02.向步骤S01获得的混合溶液中滴加还原剂溶液,震荡;
- [0016] 步骤S03.对步骤S02还原反应得到的产物进行定容、透析处理。
- [0017] 以及,相应地,上述有抗肿瘤活性的纳米硒水溶胶在2℃~10℃中保存。
- [0018] 以及,进一步相应地,上述有抗肿瘤活性的纳米硒水溶胶在抗肿瘤领域中的应用。
- [0019] 本发明上述实施例提供的有抗肿瘤活性的纳米硒水溶胶,以药用云芝多糖蛋白作为纳米硒功能化分子,与纳米硒生理功效相互协同促进,共同发挥抗肿瘤活性;具体是借助云芝多糖蛋白中多糖部分的多羟基结构,对纳米硒发挥很强的物理吸附作用,避免纳米硒进一步聚集沉淀,同时有效地对纳米硒表面进行修饰,以实现纳米硒的粒径的调控,并使得纳米硒水溶胶保持稳定。
- [0020] 本发明上述实施例提供的有抗肿瘤活性的纳米硒水溶胶的制备方法,只需常温常压下,以云芝多糖蛋白和含硒离子/亚硒离子的溶液结合还原剂即可成功制备具有生物活性尤其是抗肿瘤活性的纳米硒水溶胶,具体是凭借了云芝多糖蛋白中多糖部分的多羟基结构对纳米硒发挥很强的物理吸附作用,能够很好的调控纳米硒的粒径,并稳定纳米硒,避免纳米硒进一步发生聚集沉淀;同时,此方法不需要添加其他任何模板剂,避免了在实际应用中可能产生的不良效果。因此,本方法具有制备步骤简单、制备条件简易、工艺简便可行、能够进行大规模生产的特点。
- [0021] 本发明上述有抗肿瘤活性的纳米硒水溶胶的保存方法,不需要苛刻的条件,只需要2℃~10℃的保存温度即可获得稳定性好、纳米硒粒径几乎无变化、且生物活性不衰减的纳米硒水溶胶。
- [0022] 本发明上述抗肿瘤活性的纳米硒水溶胶中云芝多糖蛋白与纳米硒的生理功效相互促进,发挥协同抗肿瘤活性,这是由于云芝多糖蛋白具有亲水性羟基(-OH)和氨基(-NH₂)基团,这两种基团可以增强纳米硒水溶胶中纳米硒与癌细胞的亲和力,提高肿瘤细胞对纳米硒的摄取量,进而达到减少用药剂量、提增疗效、较少毒副作用的整体治疗效果,为临床上癌症的联合化疗提供了一种更加行之有效的方案。

附图说明

- [0023] 为了更清楚地说明本发明实施例中的技术方案,下面将对实施例中所需要使用的附图作简单地介绍,显而易见地,下面描述中的附图仅仅是本发明的一些实施例,对于本领域普通技术人员来讲,在不付出创造性劳动的前提下,还可以根据这些附图获得其他的附图。
- [0024] 图1是本发明实施例1一种有抗肿瘤活性的纳米硒水溶胶的粒径分布图;
- [0025] 图2是本发明实施例1一种有抗肿瘤活性的纳米硒水溶胶的颗粒稳定性随时间变化统计图;
- [0026] 图3是本发明实施例1一种有抗肿瘤活性的纳米硒水溶胶的TEM形貌图;
- [0027] 图4是本发明实施例1一种有抗肿瘤活性的纳米硒水溶胶的TEM形貌图;
- [0028] 图5是本发明实施例1一种有抗肿瘤活性的纳米硒水溶胶的TEM形貌图;

- [0029] 图6是本发明实施例1一种有抗肿瘤活性的纳米硒水溶胶的Zeta电位图；
- [0030] 图7是本发明实施例1一种有抗肿瘤活性的纳米硒水溶胶的EDX元素分析图；
- [0031] 图8是本发明实施例1一种有抗肿瘤活性的纳米硒水溶胶与云芝多糖蛋白的主要功能基团比较图；
- [0032] 图9是本发明实施例1一种有抗肿瘤活性的纳米硒水溶胶其抑制EBV感染胃上皮AGS细胞生长情况的统计图。

具体实施方式

[0033] 为了使本发明的目的、技术方案及优点更加清楚明白，以下结合附图及实施例，对本发明进行进一步详细说明。应当理解，此处所描述的具体实施例仅用以解释本发明，并不用于限定本发明。

[0034] 本发明实施例提供一种有抗肿瘤活性的纳米硒水溶胶，至少含有以下浓度的组分：

[0035] 纳米硒 0.5mmol/L~5.0mmol/L；

[0036] 云芝多糖蛋白 100.0mg/L~600.0mg/L。

[0037] 在任一实施例中，云芝多糖蛋白为云芝水溶性多糖蛋白，云芝水溶性多糖蛋白最终以水溶胶的形式存在。

[0038] 在一个优选的实施例中，云芝水溶性多糖蛋白中其总糖含量为70%~80%，总蛋白含量为15%~25%，其中，多糖部分以葡萄糖为主，同时还含有甘露糖、阿拉伯糖；蛋白部分主要的氨基酸包括天门冬氨酸、谷氨酸、苏氨酸、丝氨酸、甘氨酸、丙氨酸等。云芝多糖蛋白中多糖部分含有的多羟基结构，对纳米硒具有很强的物理吸附作用，可以有效避免纳米硒进一步聚集沉淀，以实现纳米硒表面进行修饰，调控纳米硒的粒径，同时能保证水溶胶的稳定性；此外，云芝水溶性多糖蛋白具有亲水性的羟基(-OH)和氨基(-NH)基团，这两种基团可以增强硒与癌细胞的亲和力，提高肿瘤细胞对纳米硒的摄取量，达到减少用药剂量、提增疗效、减少毒副作用的整体治疗效果。

[0039] 本发明实施例提供的有抗肿瘤活性的纳米硒水溶胶，以药用云芝多糖蛋白作为纳米硒功能化分子，采用云芝多糖蛋白的抗肿瘤活性与纳米硒的生理功效相互协调促进，共同发挥协同抗肿瘤效果，为临床上癌症的联合治疗提供了一种很好的方案。

[0040] 相应地，本发明在提供有抗肿瘤活性的纳米硒水溶胶的基础上，进一步提供了该有抗肿瘤活性的纳米硒水溶胶的一种制备方法。在一具体实施例中，该有抗肿瘤活性的纳米硒水溶胶的制备方法，至少包括以下步骤：

[0041] 步骤S01.向云芝多糖蛋白水溶液中加入含硒离子和/或亚硒离子的溶液；

[0042] 步骤S02.向步骤S01获得的混合溶液中滴加还原剂溶液，震荡；

[0043] 步骤S03.对步骤S02还原反应得到的产物进行定容、透析处理。

[0044] 在任一实施例中，云芝多糖蛋白水溶液中的云芝多糖蛋白为云芝水溶性多糖蛋白。

[0045] 作为优选地，本发明实施例中，应确保透析处理后获得的纳米硒水溶胶中，云芝多糖蛋白的浓度为100.0mg/L~600.0mg/L，纳米硒水溶胶中云芝多糖蛋白在该浓度下，纳米硒水溶胶其平均粒径能保持在100nm以下，在一定时间内，粒径变化不大，稳定性好。

[0046] 在一优选实施例中,云芝水溶性多糖蛋白中,其总糖含量为70%~80%,总蛋白含量为15%~25%,其中,多糖部分以葡萄糖为主,同时还含有甘露糖、阿拉伯糖;蛋白部分主要的氨基酸包括天门冬氨酸、谷氨酸、苏氨酸、丝氨酸、甘氨酸、丙氨酸等。云芝多糖蛋白中多糖部分含有的多羟基结构,对纳米硒具有很强的物理吸附作用,可以有效避免纳米硒进一步聚集沉淀,以实现纳米硒表面进行修饰,调控纳米硒的粒径,同时能保证水溶胶的稳定性;此外,云芝水溶性多糖蛋白具有亲水性的羟基(-OH)和氨基(-NH),这两种基团可以增强硒与癌细胞的亲和力,提高肿瘤细胞对纳米硒的摄取量,可以达到减少用药剂量、提增疗效、减少毒副作用的整体治疗效果。

[0047] 在任一实施例中,当添加含硒离子或含亚硒离子的溶液时,硒离子或亚硒离子与还原剂的摩尔比为(0.7~1.3):(3.0~9.0),且应保证还原剂稍微过量;当添加含硒离子与亚硒离子的混合溶液时,硒离子和亚硒离子的总和与还原剂的摩尔比同样为(0.7~1.3):(3.0~9.0),且应保证还原剂稍微过量。该比例下,能确保硒离子和/或亚硒离子全部被还原剂还原。

[0048] 在一优选实施例中,含硒离子的溶液、或含亚硒离子的溶液、或同时含硒离子和亚硒离子的混合溶液的浓度为0.5mmol/L~2.0mmol/L。在该浓度下,制备的纳米硒水溶胶其平均粒径能够保持在100nm以下,在一定时间内粒径变化不大,稳定性好。

[0049] 作为一优选实施例,含硒离子的溶液采用硒酸盐进行配制。

[0050] 作为另一优选实施例,含亚硒离子的溶液采用二氧化硒和/或亚硒酸盐进行配制。进一步地,由于亚硒酸钠是保健食品的成分,安全性比较高,因此采用亚硒酸钠为溶质进行配制。

[0051] 在任一实施例中,还原剂溶液的浓度为2.0mmol/L~8.0mmol/L。作为优选地,由于维生素C是食品工业中常用的还原剂,不仅还原活性高,而且安全性高,因此,可作为还原剂的首选。

[0052] 步骤S03中,定容后,应当等待产物出现的红色不再加深,然后再进行透析,一般透析24h及以上。

[0053] 在一优选实施例中,选择在15℃~35℃,1个标准大气压的环境中制备,这样保证反应的外界环境稳定。此外,制备条件不仅节能环保,而且安全性高,有利于进行大规模生产。

[0054] 本发明实施例提供的有抗肿瘤活性的纳米硒水溶胶的制备方法,只需常温常压,以云芝多糖蛋白和含硒离子/亚离子的溶液结合还原剂即可成功制备具有生物活性尤其是抗肿瘤活性的纳米硒水溶胶。

[0055] 该方法制备的有抗肿瘤活性的纳米硒水溶胶,具体是凭借云芝多糖蛋白中多糖部分的多羟基结构对纳米硒发挥很强的物理吸附作用,很好的调控纳米硒的粒径,并稳定纳米硒,避免纳米硒进一步发生聚集沉淀;同时,此方法不需要添加其他任何模板剂,避免了在实际应用中可能产生的不良效果。因此,本方法具有制备步骤简单、制备条件简易、工艺简便可行、能够进行大规模生产的特点。

[0056] 相应地,本发明实施例在提供该有抗肿瘤活性的纳米硒水溶胶的制备方法的基础上,进一步提供了该有抗肿瘤活性的纳米硒水溶胶的保存方法。

[0057] 在一实施例中,本发明实施例提供的有抗肿瘤活性的纳米硒水溶胶应当在2℃~

10℃中保存。

[0058] 本发明实施例提供的保存方法,不需要苛刻的条件,只需要2℃~10℃的保存温度即可获得稳定性好、纳米硒粒径几乎无变化、生物活性不衰减、且能够长期以溶胶形式存在的纳米硒水溶胶。

[0059] 以及,相应地,本发明实施例在提供该有抗肿瘤活性的纳米硒水溶胶、制备方法 & 保存方法的基础上,还进一步提供了该有抗肿瘤活性的纳米硒水溶胶在抗肿瘤领域中的应用。

[0060] 在一实施例中,本发明实施例提供的有抗肿瘤活性的纳米硒水溶胶,可用于制备抗肿瘤药物。

[0061] 当本发明实施例的水溶胶用于抗肿瘤领域时,云芝多糖蛋白与纳米硒的生理功效相互促进,发挥协同抗肿瘤活性,这是由于云芝多糖蛋白具有亲水性羟基(-OH)和氨基(-NH₂)基团,这两种基团可以增强纳米硒水溶胶中纳米硒与癌细胞的亲和力,提高肿瘤细胞对纳米硒的摄取量,进而达到减少用药剂量、提增疗效、较少毒副作用的整体治疗效果,为临床上癌症的联合化疗提供了一种更加行之有效的方案。

[0062] 为了更好的说明本发明实施例提供的有抗肿瘤活性的纳米硒水溶胶,下面通过实施例做进一步的举例说明。

[0063] 实施例1

[0064] (1) 25℃,101.325kPa下,取质量浓度为2.5g/L的云芝水溶性多糖蛋白0mL、0.5mL、1.0mL、3.0mL、6.0mL分别加入装有10.0mL的双蒸水的5个25mL容量瓶中;

[0065] (2) 分别向上述25mL的容量瓶中加入浓度为0.025mol/L的亚硒酸钠溶液1.0mL,轻轻摇匀,使之充分混合,得到混合溶液;

[0066] (3) 分别向(2)中的混合溶液滴加浓度为0.1mol/L的维生素C溶液各1.0mL,边滴加边轻轻摇匀,滴加完毕,加水定容至25.0mL,静置,待红色不再加深,然后透析(截留分子量8000)24h,即可得到产物。经硝化ICP方法测定硒含量,可知获得的产物中,纳米硒浓度基本约为1.0~1.5mmol/L,云芝水溶性多糖蛋白浓度分别为0.0mg/L、50.0mg/L、100.0mg/L、300.0mg/L、600.0mg/L。

[0067] 将获得的产物置于2℃~10℃环境中,产物以水溶胶的形态存在。

[0068] 采用检测仪器,对实施例1获得的产物进行表征,测试主要包括以下内容:

[0069] 用Nanosight NS3000颗粒跟踪分析仪(Malvern)测定产物中的纳米粒子平均粒径、标准偏差(SD)及产物随时间变化的稳定性,测试结果详见表1,粒径分布详见说明书附图1、稳定性见说明书附图2。

[0070] 用JEM-2010型高解像投射电子显微镜(JEOL)表征实施例1的产物形貌,详见说明书附图3、4、5。

[0071] 用Nano-ZS(Malvern)表征实施例1产物的电位图,结果详见说明书附图6。

[0072] 用JEM-2010型高解像投射电子显微镜(JEOL)和EX-250型光能源扩散分析仪(Horiba)表征实施例1产物的EDX元素分析图,结果详见说明书附图7。

[0073] 用Equinox55型傅里叶变换红外光谱仪(Bruker)表征及比较实施例1产物与云芝多糖蛋白的主要功能基团,结果详见说明书附图8。

[0074] 表1实施例获得的产物中,纳米硒颗粒的平均粒径和SD

[0075]	CV (mg/L)	0	50	100	300	600
	Size (nm)	沉淀	120.67	97.67	96.00	98.00
	SD	--	9.80	3.06	1.00	5.29

[0076] (注释:CV在本发明任何一个实施例中,均为云芝水溶性多糖蛋白的缩写)

[0077] 从表1和图1可知,当对比加入云芝水溶性多糖蛋白(CV)作为稳定剂时,反应生成的纳米硒极不稳定,最后沉淀;而加入云芝水溶性多糖蛋白获得的产物中,粒径为96~120nm,说明云芝多糖蛋白对纳米硒粒径具有很好的调控作用。此外,随着多糖浓度的增大至300.0mg/L,粒径呈浓度效应减小,SD值均较小,表明纳米硒粒径分布较窄;从图2可知,13周内,实施例1产物的粒径范围一直保持在110nm左右,说明产物的稳定性比较好,在一定时间内,颗粒粒径变化不大,不会出现颗粒聚集而发生沉淀;从图3、4、5可知,实施例1产物的分散性好,产物为球形纳米硒;从图6可知,实施例1产物纳米硒水溶胶的电位绝对值为-16.1mV,表明纳米硒水溶胶体系比较稳定;从图7可知,获得的产物,主要元素为硒元素;从图8可知,云芝多糖蛋白中多糖部分含有的多羟基结构,可有效对纳米硒表面进行修饰,调控纳米硒的粒径。

[0078] 综上可知,采用云芝多糖蛋白、亚硒酸钠及维生素C进行反应获得的纳米硒水溶胶,具体是借助了云芝多糖蛋白中多糖部分的多羟基结构,对纳米硒发挥很强的物理吸附作用,避免纳米硒进一步聚集沉淀,同时有效地对纳米硒表面进行修饰,以实现纳米硒粒径的调控,并使得纳米硒水溶胶保持稳定。

[0079] 实施例2

[0080] (1) 20℃,101.325kPa下,取质量浓度为2.5g/L的云芝水溶性多糖蛋白水溶液3.0mL分别加入装4个装有10mL的双蒸水的25mL容量瓶中;

[0081] (2) 分别向上述25mL的容量瓶中加入浓度为0.025mol/L的亚硒酸钠溶液0.1mL、0.5mL、1.0mL、2.0mL,轻轻摇匀,使之充分混合,得到混合溶液;

[0082] (3) 分别向(2)中的混合溶液滴加浓度为0.1mol/L的维生素C(英文简称:Vc)溶液各0.1mL、0.5mL、1.0mL、2.0mL,边滴加边轻轻摇匀,滴加完毕,加水定容至25mL,静置,待红色不再加深,然后透析(截留分子量8000)24h,即可得到产物。经硝化ICP方法测定硒含量,可知获得的产物中,纳米硒浓度基本为1.0~1.5mmol/L。

[0083] 将获得的产物置于2℃~10℃环境中,产物以水溶胶的形态存在。

[0084] 采用检测仪器,对实施例2获得的产物进行表征,测试主要包括以下内容:

[0085] 用Nanosight NS3000颗粒跟踪分析仪(Malvern)测定产物中的纳米粒子平均粒径及标准偏差(SD)情况,测试结果详见表2。

[0086] 表2实施例获得的产物中,纳米硒粒子的平均粒径和SD

[0087]	Se (IV) (mmol/L)	0.1	0.5	1.0	2.0
	Vc (mmol/L)	0.4	2.0	4.0	8.0
	Size (nm)	151.33	98.00	96.00	98.00
	SD	21.22	4.36	1.00	6.08

[0088] 从表2中可知,采用亚硒酸钠溶液及维生素C作为亚硒酸盐溶液及还原剂,获得的纳米硒水溶胶产物其平均粒径粒径为96~151nm。在亚硒酸钠溶液浓度为0.5mmol/L~2.0mmol/L及维生素C溶液浓度为2.0mmol/L~8.0mmol/L下,获得的平均粒径可保持在

100nm以下。此外,随着亚硒酸钠溶液浓度的增大至1.0mmol/L及维生素C溶液浓度的增大至4.0mmol/L,粒径呈浓度效应减小,SD值均较小,表明纳米硒粒径分布较窄。

[0089] 实施例3

[0090] (1) 20℃,101.325kPa下,取质量浓度为2.5g/L的云芝水溶性多糖蛋白水溶液3.0mL加入装有10mL双蒸水的25mL容量瓶中;

[0091] (2) 向上述25mL的容量瓶中加入浓度为0.025mol/L的亚硒酸钠溶液1.0mL,轻轻摇匀,使之充分混合,得到混合溶液;

[0092] (3) 向(2)中的混合溶液滴加浓度为0.1mol/L的维生素C(英文简称:Vc)溶液各1.0mL,边滴加边轻轻摇匀,滴加完毕,加水定容至25mL,静置,待红色不再加深,然后透析(截留分子量8000)24h,即可得到产物,经硝化ICP方法测定硒含量,可知获得的产物中,纳米硒浓度约为1.0~1.5mmol/L。

[0093] 对产物进行抗肿瘤细胞活性实验,用MTS细胞增殖检测法(BMG Labtech, Clariostar)检测云芝多糖蛋白修饰的纳米硒其抑制EBV感染胃上皮AGS细胞生长情况,详见说明书附图9。

[0094] 从图9可知,云芝多糖蛋白修饰的纳米硒可以很好的抑制EBV感染胃上皮AGS细胞增殖活性,细胞增殖抑制率与经过云芝多糖蛋白修饰后的纳米硒的浓度呈现出了剂量效应, IC_{50} 约为5.0 μ M。

[0095] 以上所述仅为本发明的较佳实施例而已,并不用以限制本发明,凡在本发明的精神和原则之内所作的任何修改、等同替换或改进等,均应包含在本发明的保护范围之内。

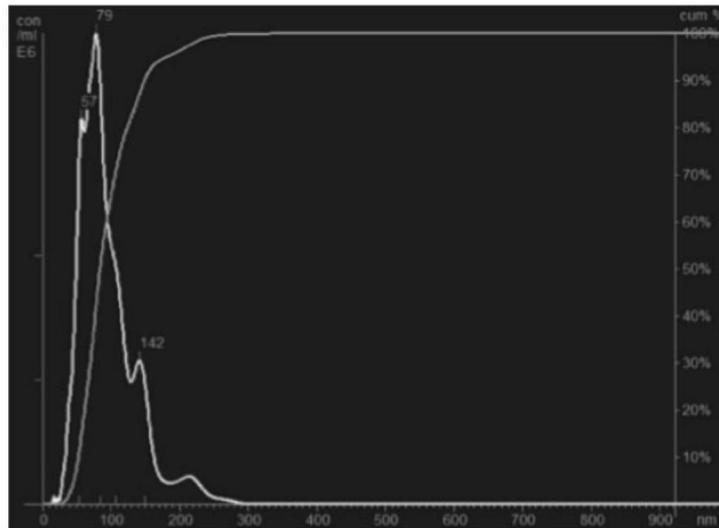


图1

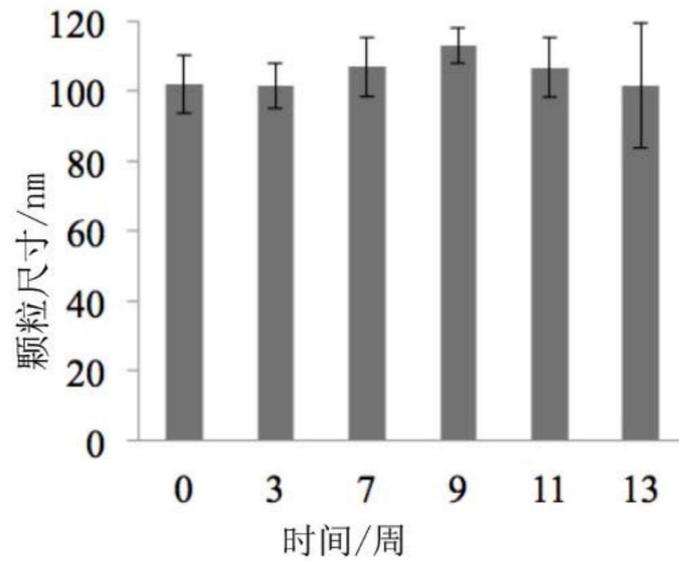


图2

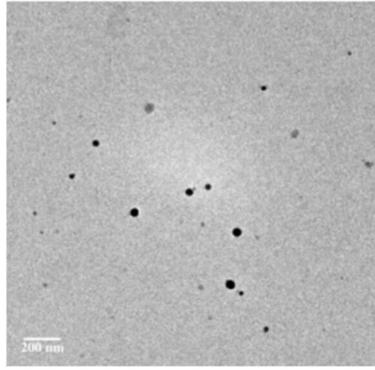


图3

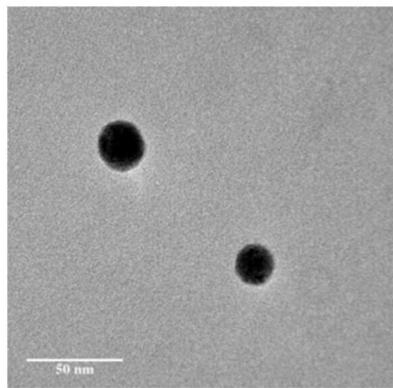


图4

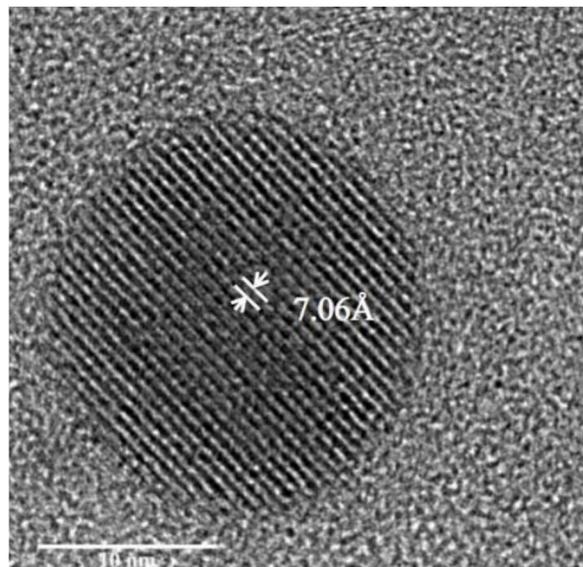


图5

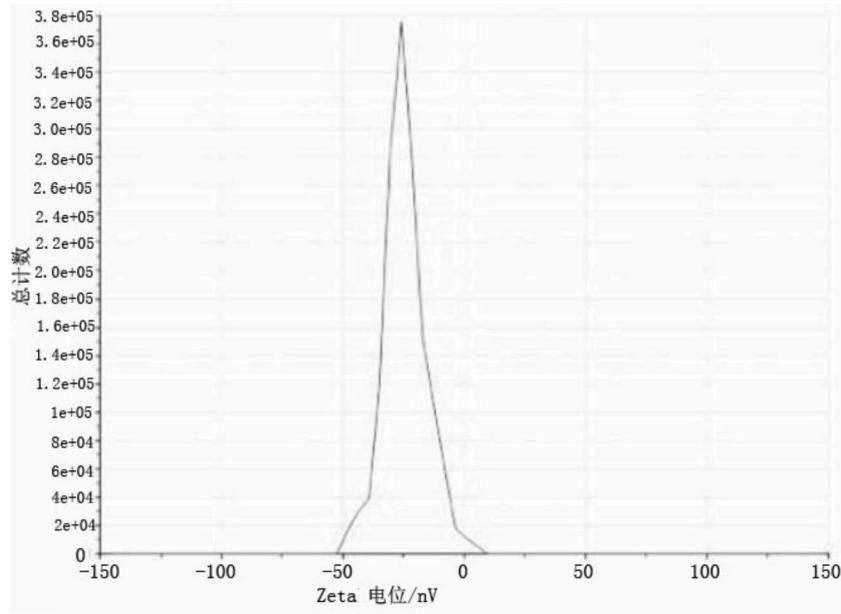


图6

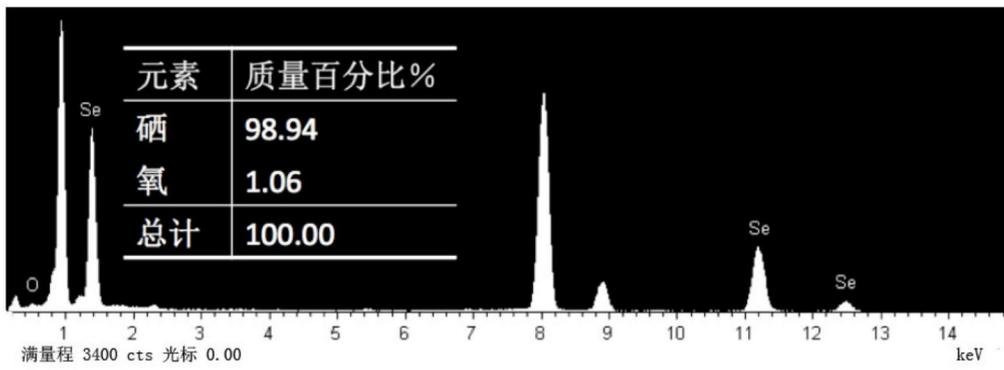


图7

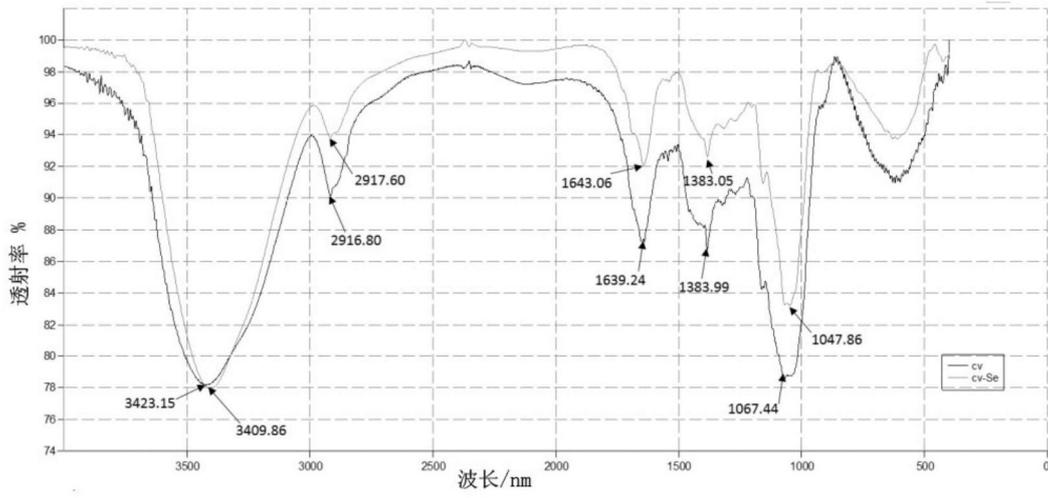


图8

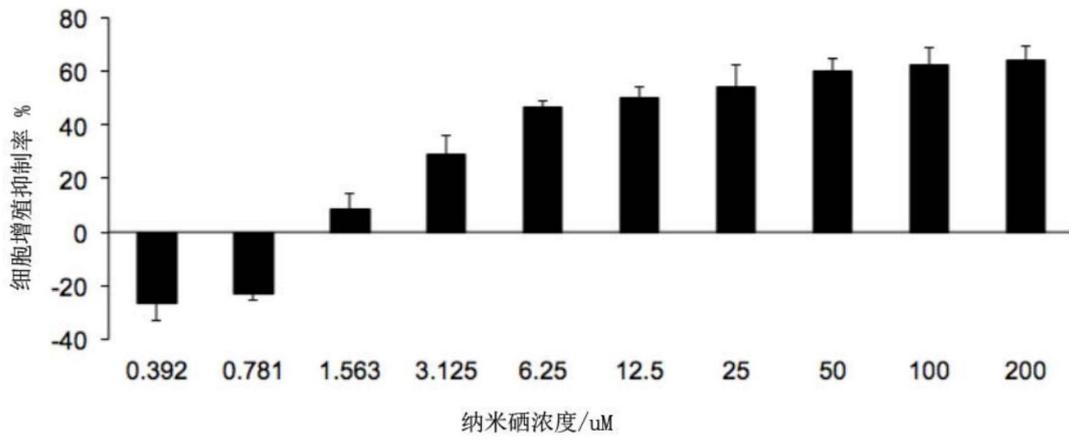


图9