



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 104998305 B

(45)授权公告日 2017.09.22

(21)申请号 201510466917.5

(22)申请日 2015.08.03

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 104998305 A

(43)申请公布日 2015.10.28

(73)专利权人 江南大学

地址 214122 江苏省无锡市滨湖区蠡湖大道1800号

(72)发明人 张丽萍 倪才华 朱文倩 张文芳

(51)Int.Cl.

A61L 31/16(2006.01)

A61L 31/04(2006.01)

A61L 31/06(2006.01)

C08J 3/24(2006.01)

(56)对比文件

CN 104338185 A,2015.02.11,说明书第

[0007]、[0011]、[0013]、[0032]、[0047]段。

US 2012269729 A1,2012.10.25,说明书第[0015]、[0050]-[0053]、[0065]、[0078]-[0079]、[0090]段。

CN 103536970 A,2014.01.29,说明书第[0116]-[0121]段。

于开涛等.介入栓塞用微球制剂的应用和研究进展.《介入放射学杂志》.2002,第11卷(第2期),132-134.

Jianjun Fang et al.Poly(L-glutamic acid)/chitosan polyelectrolyte complex porous microspheres as cell microcarriers for cartilage regeneration.《Acta Biomaterialia》.2013,第10卷(第1期),276-288.

审查员 扈娟

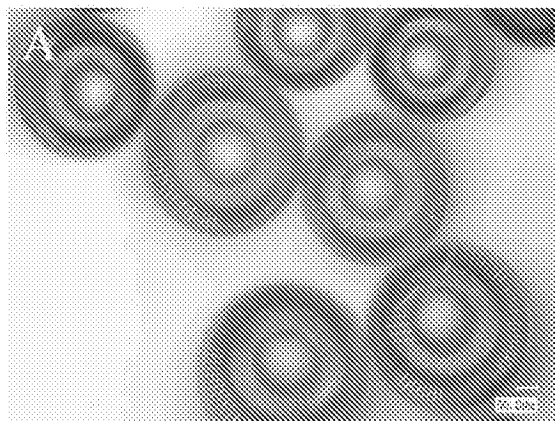
权利要求书1页 说明书4页 附图2页

(54)发明名称

一种复合物微球栓塞剂及其制备方法

(57)摘要

本发明公开了一种复合物微球栓塞剂及其制备方法,分别配制聚谷氨酸钠溶液和羧甲基壳聚糖溶液,将所述的两种溶液混合,室温搅拌混合均匀。将混合溶液加入到一定量的液体石蜡中,经过乳化分散后,将反应物冷却到10℃,再依次缓慢滴加10wt.%的戊二醛水溶液和4wt.%的盐酸溶液,搅拌交联2h后缓慢升温到25℃,持续搅拌反应4h,最后升温至45℃,敞开反应器蒸发水相,使复合微球固化完全。最后得到聚谷氨酸和羧甲基壳聚糖复合物微球,该产物在制备血管栓塞剂方面具有应用前景。



1. 一种复合物微球栓塞剂的制备方法,其特征是制备经历了以下步骤:

(1) 配制聚谷氨酸钠溶液:将聚谷氨酸加到去离子水中形成3Wt%的悬浮液,滴加5Wt%的碳酸钠溶液直至形成均匀透明聚谷氨酸钠溶液;

(2) 配制羧甲基壳聚糖溶液:将羧甲基壳聚糖加入到去离子水中形成4Wt%的羧甲基壳聚糖溶液;

(3) 将上述(1)、(2)中所述的聚谷氨酸钠溶液与羧甲基壳聚糖溶液混合,室温搅拌均匀形成混合溶液,直至溶液中无气泡;

(4) 取一定量的液体石蜡置于100mL的三口烧瓶中,并向其中加入相对于液体石蜡0.2Wt%的司潘80,搅拌30分钟,再按比例量取上述聚谷氨酸钠与羧甲基壳聚糖的混合溶液,添加到液体石蜡中继续搅拌,控制搅拌速度为350rpm,乳化6h后,将反应物冷却到10℃,再依次缓慢滴加10Wt%的戊二醛水溶液和4Wt%的盐酸溶液,搅拌2h后缓慢升温到25℃,持续搅拌反应4h,最后升温至45℃,敞开反应器蒸发水相,使复合微球固化完全,所得聚谷氨酸钠与羧甲基壳聚糖复合微球的直径在100微米至500微米之间,微球形貌规整。

2. 如权利要求1所述的一种复合物微球栓塞剂的制备方法,其中聚谷氨酸钠溶液与羧甲基壳聚糖溶液按照体积比分别为1:1、1:2、1:3、1:4制备混合溶液。

3. 如权利要求1所述的一种复合物微球栓塞剂的制备方法,其中液体石蜡的体积是聚谷氨酸钠与羧甲基壳聚糖混合溶液体积的4倍至8倍。

4. 如权利要求1所述的一种复合物微球栓塞剂的制备方法,其中戊二醛溶液加入之前将反应体系冷却到10℃,待戊二醛溶液加入后搅拌2h,再缓慢升温到25℃,避免微球表面反应过快。

5. 如权利要求1所述的一种复合物微球栓塞剂的制备方法,其中在权利要求1步骤(4)中,10Wt%的戊二醛水溶液的加入量按戊二醛占两种聚合物重量的5.0Wt%~10Wt%计算;4Wt%的盐酸溶液加入量按达到pH测定为5为止。

一种复合物微球栓塞剂及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明公开了一种复合物微球栓塞剂的制备方法,属于医用材料制备技术领域。

背景技术

[0002] 动脉栓塞术是一种介入型治疗技术,目前已经被广泛应用于各种实体瘤的术前栓塞治疗。日本学者于1977年提出TACE(经导管动脉化疗栓塞术),将动脉栓塞与动脉化疗药物灌注相结合,最早应用于治疗肝癌,在X射线透视下插入靶动脉的导管灌注化疗药物,用栓塞剂加以栓塞,既能够阻断肿瘤血供,使得肿瘤缺少必要的营养供应,又增强了药物对肿瘤的杀伤力并降低了药物的系统毒性,栓塞治疗已成为肿瘤介入治疗最重要的技术之一,与传统的化疗技术相比具有明显优势。

[0003] 栓塞微球的制备材料来源多,制备栓塞微球所选用的基质材料一般分为两大类:不可降解型高分子材料和可降解型高分子材料,其中包括天然可降解型高分子材料,如白蛋白、明胶、淀粉、环糊精、甲壳素和壳聚糖等,和合成可降解型聚合物材料,如聚乳酸、聚烷基氰基丙烯酸脂等。生物可降解型高分子载药微球具有良好的生物相容性、生物降解性、理化及生物稳定性、极低毒性,以及较高载药性,因此近年来有关生物可降解型高分子载药微球的研究越来越多。

[0004] 聚谷氨酸是一种氨基酸聚合物,根据不同的聚合方式,可分为 α -聚谷氨酸和 γ -聚谷氨酸。 α -聚谷氨酸主要是通过化学合成法制得,但合成工艺复杂、且副产物多、产率低。 γ -聚谷氨酸的合成方法有很多,其中微生物发酵法生产聚谷氨酸,成本低且生产过程环境污染小,所以目前的研究方向重点集中于 γ -聚谷氨酸(γ -PGA)。

[0005] 聚谷氨酸的分子链上具有较多的侧链羧基(-COOH),在碱性条件下呈负电荷,易于和一些带相反电荷的高聚物或小分子药物结合生成稳定的复合物,是一种理想的可生物降解的医药用高分子材料。

[0006] 盐酸阿霉素是一种广谱抗肿瘤药物,对多种肿瘤细胞均有杀灭作用,适应于乳腺癌、肺癌、软组织肿瘤、骨肉瘤、膀胱癌等的化疗治疗。盐酸阿霉素带正电荷,可与负电荷基团发生复合作用。选用聚谷氨酸作为原料制备栓塞微球,除了具有生物相容性和可降解性等优点外,还有可能通过静电相互作用负载正电荷药物,从而制备载药栓塞剂。

[0007] 聚合物栓塞微球在形成过程中需要交联,但是直接通过聚谷氨酸侧链的羧基产生共价交联的反应条件苛刻,催化剂昂贵,反应条件不易控制。为了制备含聚谷氨酸的聚合物微球,本专利采取离子复合技术首先制备聚合物混合溶液,然后通过反相悬浮分散和化学交联成功制备了栓塞微球。所采取的一些新的技术路线叙述如下。

[0008] 本发明内容:

[0009] 选用 γ -聚谷氨酸作为基本原料,首先制备 γ -聚谷氨酸钠溶液。由于纯聚谷氨酸中的侧链羧基非质子化,在去离子水中的溶解度很低,因此本发明首先将聚谷氨酸加到去离子水中形成3Wt.%的悬浮液(质量百分数),然后滴加5Wt.%的碳酸钠溶液使聚谷氨酸中的羧基脱质子转变成羧基负离子,直至形成均匀透明聚谷氨酸钠溶液;再将羧甲基壳聚糖

加入到去离子水中形成4wt.%的羧甲基壳聚糖溶液。

[0010] 进一步将聚谷氨酸钠溶液与羧甲基壳聚糖溶液混合,室温搅拌均匀形成两种聚合物的混合溶液, γ -聚谷氨酸钠中的羧基与羧甲基壳聚糖中的氨基形成复合物。

[0011] 取一定量的液体石蜡置于三口反应烧瓶中,向其中加入0.2wt.%的司潘80(相对于液体石蜡重量)搅拌30分钟,再按比例量取上述聚谷氨酸钠与羧甲基壳聚糖的混合溶液,添加到液体石蜡中继续搅拌,乳化完成后,将反应物冷却到10℃,再依次缓慢滴加戊二醛水溶液和盐酸溶液,通过戊二醛与氨基的反应使羧甲基壳聚糖交联,而聚谷氨酸钠通过静电复合作用和互穿网络结构与羧甲基壳聚糖融合在一起,搅拌2h后缓慢升温到25℃,持续搅拌反应4h,最后升温至45℃,敞开反应器蒸发水相,使复合微球固化完全。在戊二醛水溶液中添加盐酸溶液,使溶液中的碳酸钠在酸性条件下产生二氧化碳气泡,微球在交联过程中形成孔道,便于提高药物负载率和载药速度。

[0012] 通过改变聚谷氨酸钠溶液与羧甲基壳聚糖溶液按照体积比为1:1、1:2、1:3、1:4制备混合溶液,从而了解组分不同对微球的影响。

[0013] 在复合物微球栓塞剂的制备方法中,液体石蜡的体积是聚谷氨酸钠与羧甲基壳聚糖混合溶液体积的4倍至8倍。

[0014] 在复合物微球栓塞剂的制备方法中,采取逐渐升温的方法,避免微球表面反应过快。戊二醛溶液加入之前将反应体系冷却到10℃,待戊二醛溶液加入后搅拌2h再缓慢升温到25℃。反应完毕,将体系温度升高,挥发掉水分,微球逐渐固化完全。

[0015] 本发明的有益效果:

[0016] (1) 选择聚谷氨酸钠与羧甲基壳聚糖复合,通过静电相互作用使两种聚合物有效融合在一起,将羧甲基壳聚糖用戊二醛交联,得到三维网状聚合物结构,使微球稳定。聚谷氨酸钠与羧甲基壳聚糖通过静电复合作用和形成互穿网络结构融合在一起,两聚合物组分分布均匀。

[0017] (2) 由于聚谷氨酸钠和羧甲基壳聚糖分子中含有大量的羧基,因此可提高对药物阿霉素的负载。

[0018] (3) 本发明的栓塞微球制备过程简单,无毒、环境友好。

[0019] (4) 用本发明所述的方法制备得到复合物微球形貌规整、粒径分布合适、生物相容性好,经过121℃高温灭菌,密封放置24个月仍能保持外观不变,性能稳定,微球制备条件容易控制,在制备抗肿瘤栓塞剂方面具有应用前景。

附图说明

[0020] 图1复合微球的形态,聚谷氨酸钠(PGA)与羧甲基壳聚糖(CMC)按溶液体积比1:4形成的复合物。

[0021] 图2聚谷氨酸钠溶液和羧甲基壳聚糖溶液按不同体积比混合制备的复合微球的粒径分布图

[0022] 图3各物质的红外光谱,(a)聚谷氨酸钠;(b)聚谷氨酸钠与羧甲基壳聚糖复合物(1:1);(c)羧甲基壳聚糖

[0023] 图4 PGA/CMC复合微球在各时间点的载药率,B,C,D,E分别表示微球样品PGA/CMC-4,PGA/CMC-3,PGA/CMC-2和PGA/CMC-1。

具体实施方式：

[0024] 实施例1:复合微球的合成

[0025] 配制聚谷氨酸钠溶液:将3克聚谷氨酸加到97克去离子水中形成3Wt.%的聚谷氨酸悬浮液(质量百分数),滴加5Wt.%的碳酸钠溶液,观察直至形成均匀透明聚谷氨酸钠溶液;

[0026] 配制羧甲基壳聚糖溶液:将4克羧甲基壳聚糖加入到96克去离子水中形成4Wt.%的羧甲基壳聚糖溶液;

[0027] 量取5毫升聚谷氨酸钠溶液和5毫升羧甲基壳聚糖溶液混合,室温搅拌均匀形成混合溶液,直至溶液中无气泡;取40毫升液体石蜡置于100mL的三口烧瓶中,并向其中加入0.8克司潘80(相对于液体石蜡)搅拌30分钟,再按比例量取上述聚谷氨酸钠与羧甲基壳聚糖的混合溶液,添加到液体石蜡中继续搅拌,控制搅拌速度为350rpm,乳化6h后,将反应物冷却到10℃,先缓慢滴加10Wt.%的戊二醛水溶液0.2毫升,再滴加4Wt.%的盐酸溶液直至pH为5,搅拌2h后缓慢升温到25℃,持续搅拌反应4h,最后升温至45℃,敞开反应器蒸发水相,使复合微球固化完全,经过过滤、用乙醇和去离子水反复洗涤后干燥,得到微球产物,标记为PGA/CMC-1。

[0028] 实施例2:复合微球的合成

[0029] 量取3.3毫升聚谷氨酸钠溶液和6.7毫升羧甲基壳聚糖溶液混合,加入到40毫升液体石蜡油中,其他如实施例1,得到微球产物标记为PGA/CMC-2。

[0030] 实施例3:复合微球的合成

[0031] 量取2.5毫升聚谷氨酸钠溶液和7.5毫升羧甲基壳聚糖溶液混合,加入到40毫升液体石蜡油中,其他如实施例1,得到微球产物标记为PGA/CMC-3。

[0032] 实施例4:复合微球的合成

[0033] 量取2.0毫升聚谷氨酸钠溶液和8.0毫升羧甲基壳聚糖溶液混合,加入到40毫升液体石蜡油中,其他如实施例1,得到微球产物标记为PGA/CMC-4。

[0034] 实施例5:复合微球的合成

[0035] 将3克聚谷氨酸加到97克去离子水中形成3Wt.%的聚谷氨酸悬浮液,滴加5Wt.%的碳酸钠溶液,形成均匀透明聚谷氨酸钠溶液;将4克羧甲基壳聚糖加入到96克去离子水中形成4Wt.%的羧甲基壳聚糖溶液。

[0036] 取50毫升液体石蜡置于250mL的三口烧瓶中,并向其中加入1克司潘80搅拌30分钟,量取5毫升聚谷氨酸钠溶液和5毫升羧甲基壳聚糖溶液混合,室温搅拌均匀形成混合溶液,添加到液体石蜡中继续搅拌,控制搅拌速度为350rpm,乳化6h后,将反应物冷却到10℃,再按戊二醛占两种聚合物重量的5.0Wt.%~10Wt.%计算,缓慢滴加10Wt.%的戊二醛水溶液,后续加入4Wt.%的盐酸溶液至pH为5,搅拌2h后缓慢升温到25℃,持续搅拌反应4h,最后升温至45℃,敞开反应器蒸发水相,使复合微球固化完全,经过过滤、用乙醇和去离子水反复洗涤后干燥,得到微球产物,标记为PGA/CMC-5。

[0037] 实施例6:复合微球的合成

[0038] 同实施例5,但是液体石蜡的用量为60毫升,1.2克司潘80,其余配方不变,得到复合微球,标记为PGA/CMC-6。

[0039] 实施例7:复合微球的合成

[0040] 同实施例5,但是液体石蜡的用量为70毫升,1.4克司潘80,其余配方不变,得到复合微球,标记为PGA/CMC-7。

[0041] 实施例8:复合微球的合成

[0042] 同实施例5,但是液体石蜡的用量为80毫升,1.6克司潘80,其余配方不变,得到复合微球,标记为PGA/CMC-8。

[0043] 实施例9:复合微球性能测试及表征

[0044] 取不同混合比例合成的复合微球于载玻片上,通过普通光学显微镜可观察微球的形貌、微球的圆球度、粘连情况及初步推断其粒径的大小,观察其分布情况等,示例见附图1。

[0045] 分别对过筛后粒径区间在 $100\mu\text{m}$ 以下、 $100\sim 300\mu\text{m}$ 、 $300\sim 500\mu\text{m}$ 的微球进行称重,计算每组区间微球占微球总质量的百分比,结果见附图2。

[0046] 使用全反射傅里叶红外光谱仪Nicolet 6700型,分别对聚谷氨酸钠、聚谷氨酸钠与羧甲基壳聚糖复合物(1:1)、羧甲基壳聚糖的结构进行测定,结果见附图3。(a)和(c)分别是PGA和CMC的红外吸收光谱,(b)为PGA/CMC复合微球的红外吸收光谱,从图中可以看出, 3415cm^{-1} 是 $-\text{OH}$ 和 $-\text{NH}_2$ 的伸缩振动峰, 1415cm^{-1} 及 1612cm^{-1} 处吸收峰为 COO^- 的对称及不对称伸缩振动峰, 1650cm^{-1} 和 1538cm^{-1} 处则是酰胺基的吸收峰,主要由羰基伸缩振动、C-N伸缩振动或N-H弯曲振动引起.这表明了CMC中的氨基和戊二醛中的醛基发生了交联作用生成酰胺基团,可知所制得的微球应该是聚谷氨酸/羧甲基壳聚糖复合物。

[0047] 实施例10:复合微球的载药性能

[0048] 称取PGA/CMC复合微球各20mg,分别置于10mL浓度为 1mg/mL 的阿霉素溶液中(含阿霉素10mg),缓慢搅拌一定时间,通过紫外吸收光谱测定阿霉素的吸光度,根据标准曲线得到阿霉素的浓度,计算载药率。

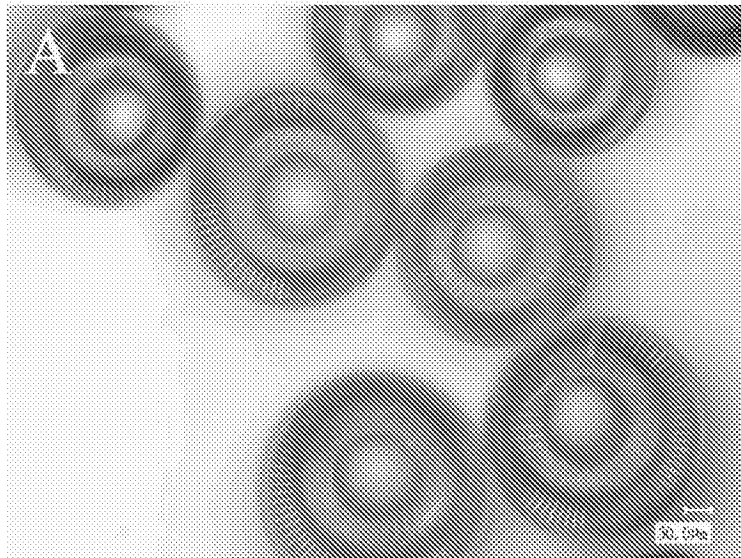


图1

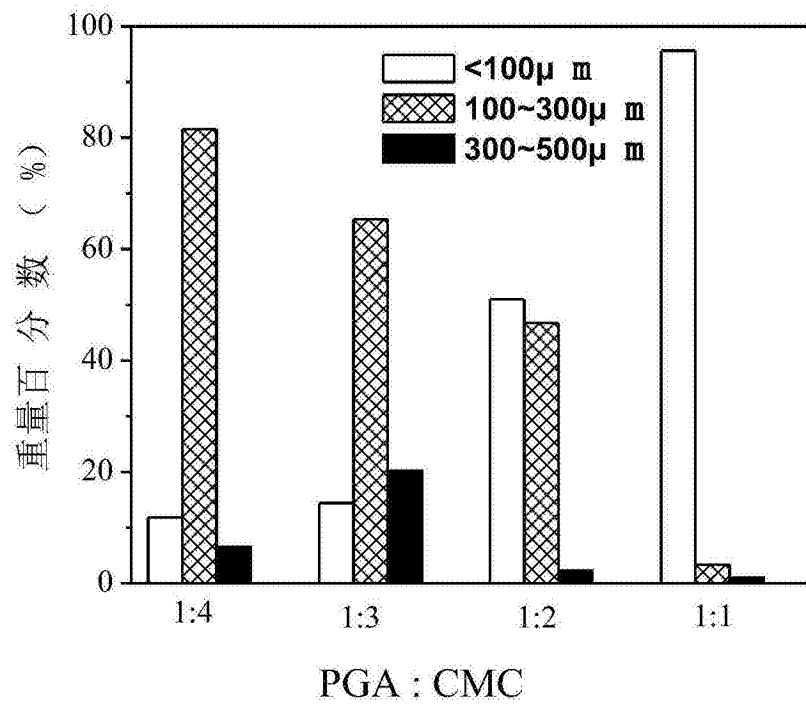


图2

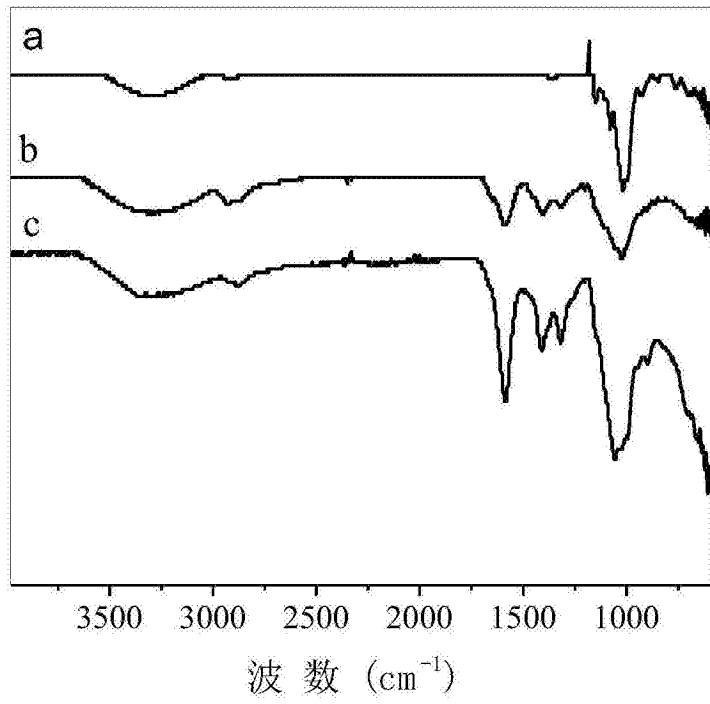


图3

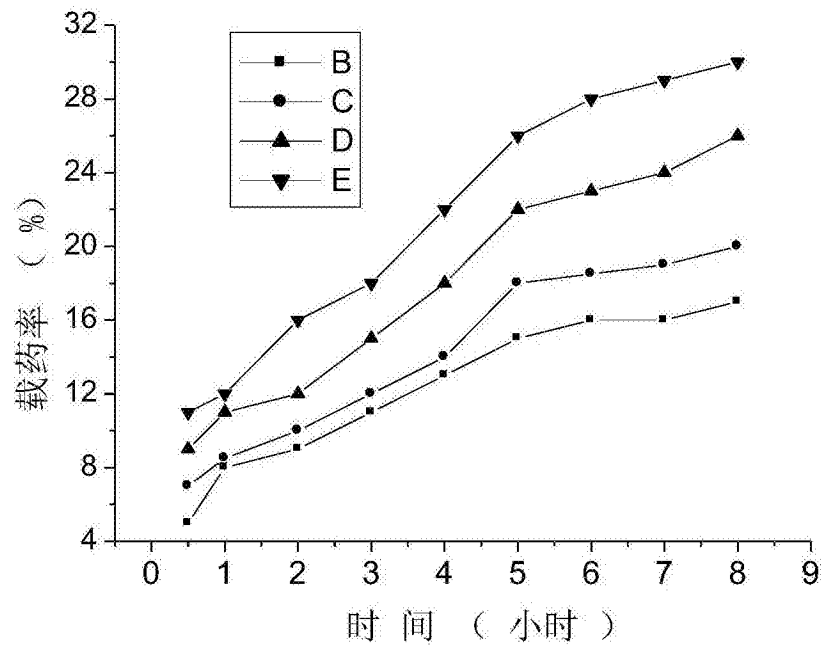


图4