



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 104338185 B

(45)授权公告日 2019.04.05

(21)申请号 201410618705.X

A61L 31/14(2006.01)

(22)申请日 2014.11.06

A61L 31/16(2006.01)

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 104338185 A

(56)对比文件

CN 102905733 A,2013.01.30,全文.

CN 101401956 A,2009.04.08,全文.

(43)申请公布日 2015.02.11

胡雪等.T型微通道装置制备尺寸均一壳聚糖微球.《过程工程学报》.2008,第8卷(第1期),第130-134页.

(73)专利权人 石家庄亿生堂医用品有限公司

地址 050221 河北省石家庄市鹿泉市装院路6号

审查员 王云涛

(72)发明人 李素哲 贾晓伟 李鹏达 程志

甄苏 刘媿 高亚琪

(74)专利代理机构 石家庄新世纪专利商标事务

所有限公司 13100

代理人 董金国 周淑歌

(51)Int.Cl.

A61L 31/04(2006.01)

权利要求书1页 说明书10页

(54)发明名称

一种羧甲基壳聚糖微球栓塞剂及其制备方法

(57)摘要

本发明涉及一种羧甲基壳聚糖微球栓塞剂,该栓塞剂以羧甲基壳聚糖为原料,经过预处理、乳化、交联、脱水干燥的步骤,制备一种具有三维网状结构的微球。该微球吸水后表面光滑富有弹性,具有良好的生物相容性和可降解性,适用于非永久性血管栓塞。

1. 一种羧甲基壳聚糖微球栓塞剂,其特征在於:由以下方法制备而成,具体步骤为:(1)羧甲基壳聚糖预处理:羧甲基壳聚糖溶于水中,过滤,制得羧甲基壳聚糖质量百分含量为1%~5%的羧甲基壳聚糖溶液;

(2)乳化反应:20~60℃下在油相中加入乳化剂混匀,再加入步骤(1)所得的羧甲基壳聚糖溶液,充分搅拌乳化,得羧甲基壳聚糖乳化体系;

(3)交联反应:步骤(2)所得乳化体系中加入交联剂,搅拌下反应使微球交联固化,反应完毕后静置分层,分离下层微球,先后用有机溶剂和水洗涤,离心或抽滤,得溶胀的交联羧甲基壳聚糖微球;

(4)脱水干燥:步骤(3)所得的交联羧甲基壳聚糖微球用由低到高浓度的乙醇溶液梯度脱水,干燥灭菌即得;

其中,步骤(2)油相与羧甲基壳聚糖的体积质量比为(0.1~0.5):1,单位为L/g,所述油相为液体石蜡和航空煤油体积比(1~4):1的混合物;

所述乳化剂选自司盘80、吐温20,卵磷脂、豆磷脂、月桂醇聚醚硫酸酯、十二烷基苯磺酸钠;

步骤(3)所述交联剂选自戊二醛、京尼平或原花青素,其中,羧甲基壳聚糖与交联剂的质量体积比为(0.5~1.5):1,单位为g/mL。

2. 根据权利要求1所述的羧甲基壳聚糖微球栓塞剂,其特征在於:将步骤(4)的操作替换为:将步骤(3)所得的溶胀的交联羧甲基壳聚糖微球以1g:(1~10mL)的比例置于生理盐水或PBS溶液中保存,即得。

3. 根据权利要求1或2所述的羧甲基壳聚糖微球栓塞剂,其特征在於:步骤(1)中的羧甲基壳聚糖溶液中进一步加入氯化钠、碳酸氢钠或碳酸钠,溶液中氯化钠、碳酸氢钠或碳酸钠的质量百分含量为0.1%~3%。

4. 根据权利要求3所述的羧甲基壳聚糖微球栓塞剂,其特征在於:所述溶液中氯化钠、碳酸氢钠或碳酸钠的质量百分含量为0.5%~1.5%。

5. 根据权利要求1或2所述的羧甲基壳聚糖微球栓塞剂,其特征在於:所述羧甲基壳聚糖溶液的质量分数为1.5%~2.5%。

6. 根据权利要求1所述的羧甲基壳聚糖微球栓塞剂,其特征在於:所述乳化剂与油相的质量体积比为1:20~1:60,单位为g/ml。

7. 根据权利要求6所述的羧甲基壳聚糖微球栓塞剂,其特征在於:所述乳化剂与油相的质量体积比为1:30~1:40。

8. 根据权利要求1或2所述的羧甲基壳聚糖微球栓塞剂,其特征在於:步骤(3)所述交联反应时间为1h~10h。

9. 根据权利要求8所述的羧甲基壳聚糖微球栓塞剂,其特征在於:步骤(3)所述交联反应时间为2h~4h。

一种羧甲基壳聚糖微球栓塞剂及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明属于医药化工领域,涉及高分子材料应用技术,具体涉及一种羧甲基壳聚糖微球栓塞剂及其制备方法。

背景技术

[0002] 随着现代医学的快速发展,在常规的药物治疗和手术治疗之外,一种新的治疗方式,即介入疗法日渐成熟。介入疗法的关键在于,采用适当粒径的微球对病变部位的血管进行栓塞,切断病变组织供血,达到抑制疾病发展的目的,有的微球还包含治疗药物,使药物在局部释放,发挥治疗作用。

[0003] 壳聚糖为一种天然多糖,其衍生物如羧甲基壳聚糖等也表现出低毒、高降解性、高生物相容性等优良效果,近来,壳聚糖及其衍生物已被广泛应用于微球制备的研究。

[0004] 介入疗法中使用微球的目的是对病变部位血管进行栓塞,对微球的粒径均一性要求很高,一般偏差应在15%以下,介入栓塞疗法所需制备的微球粒径一般为50~500 μm ,属于小粒径微球,在这种粒径范围内,相同工艺下粒径差异将进一步增加,普通微球用于介入疗法疗效差,易造成异位栓塞,致死率高,安全性差,为弥补粒径不均一的缺陷需进行精密筛分,不仅费时费力,且造成物料损失,成本高。

[0005] 因此,现有技术中缺少一种适合于介入疗法的羧甲基壳聚糖微球,可满足栓塞技术对于微球应具备的小粒径、高均一性、可降解性和组织相容性的要求,提高介入疗法的安全有效性,降低生产成本。

发明内容

[0006] 本发明的目的在于提供一种羧甲基壳聚糖微球栓塞剂,其用于介入疗法栓塞安全有效,异位栓塞等临床安全事故率低,具有优良的生物降解和组织相容性。

[0007] 本发明所提供的技术方案为:

[0008] 一种羧甲基壳聚糖微球栓塞剂,其由以下方法制备而成,具体步骤为:

[0009] (1) 羧甲基壳聚糖预处理:羧甲基壳聚糖溶于水中,过滤,制得羧甲基壳聚糖质量百分含量为1%~5%的羧甲基壳聚糖溶液;

[0010] (2) 乳化反应:20~60 $^{\circ}\text{C}$ 下在油相中加入乳化剂混匀,再加入步骤(1)所得的羧甲基壳聚糖溶液,充分搅拌乳化,得羧甲基壳聚糖乳化体系;

[0011] (3) 交联反应:步骤(2)所得乳化体系中加入交联剂,搅拌下反应使微球交联固化,反应完毕后静置分层,分离下层微球,先后用有机溶剂和水洗涤,离心或抽滤,得溶胀的交联羧甲基壳聚糖微球;

[0012] (4) 脱水干燥:步骤(3)所得的交联羧甲基壳聚糖微球用由低到高浓度的乙醇溶液梯度脱水,干燥灭菌即得。

[0013] 可选地,本发明所述的羧甲基壳聚糖微球栓塞剂,其中,将步骤(4)的操作替换为将步骤(3)所得的溶胀的交联羧甲基壳聚糖微球以1g:(1~10mL)的比例置于生理盐水或

PBS溶液中保存,即得。

[0014] 进一步地,本发明所述的羧甲基壳聚糖微球栓塞剂,其中,步骤(1)中的羧甲基壳聚糖溶液中进一步加入氯化钠、碳酸氢钠或碳酸钠,溶液中氯化钠、碳酸氢钠或碳酸钠的质量百分含量为0.1%~3%,优选0.5%~1.5%。

[0015] 进一步地,本发明所述的羧甲基壳聚糖微球栓塞剂,其中,所述羧甲基壳聚糖溶液的质量分数为1.5%~2.5%。

[0016] 进一步地,本发明所述的羧甲基壳聚糖微球栓塞剂,其中,步骤(2)的油相选自液体石蜡、石油醚、大豆油、花生油、航空煤油或任意两种油相的混合物,油相与羧甲基壳聚糖的体积质量比(L/g)为(0.1~0.5):1。

[0017] 进一步优选地,本发明所述的羧甲基壳聚糖微球栓塞剂,其中,步骤(2)的油相为液体石蜡和航空煤油体积比(1~4):1的混合物。

[0018] 进一步地,本发明所述的羧甲基壳聚糖微球栓塞剂,其中,所述乳化剂选自司盘80、吐温20、卵磷脂、豆磷脂、月桂醇聚醚硫酸酯、十二烷基苯磺酸钠。

[0019] 进一步优选地,本发明所述的羧甲基壳聚糖微球栓塞剂,其中,所述乳化剂与油相的质量体积比为1:20~1:60(g/ml),优选1:30~1:40。

[0020] 进一步地,本发明所述的羧甲基壳聚糖微球栓塞剂,其中,步骤(3)所述交联剂选自戊二醛、京尼平或原花青素,其中,羧甲基壳聚糖与交联剂的质量体积比(g/mL)为(0.5~1.5):1。

[0021] 进一步地,本发明所述的羧甲基壳聚糖微球栓塞剂,其中,步骤(3)所述交联反应时间为1h~10h,优选2h~4h。

[0022] 进一步地,本发明所述的羧甲基壳聚糖微球栓塞剂,其中,步骤(4)干燥后所得的羧甲基壳聚糖微球栓塞剂的粒径分布在100 μm ~300 μm 、300 μm ~500 μm 、500 μm ~700 μm 、700 μm ~900 μm 、900 μm ~1200 μm 五个范围。

[0023] 进一步地,本发明所述的羧甲基壳聚糖微球栓塞剂,其中,步骤(2)所述羧甲基壳聚糖溶液与油相的体积比为1:2~1:5。

[0024] 进一步地,本发明所述的羧甲基壳聚糖微球栓塞剂,其中,步骤(3)所述的洗涤用的有机溶剂选自石油醚或乙酸乙酯。

[0025] 进一步地,本发明所述的羧甲基壳聚糖微球栓塞剂,其中,步骤(4)中所述的干燥为冷冻干燥或真空低温干燥。

[0026] 本发明中,低温是指45 $^{\circ}\text{C}$ 以下。

[0027] 本发明所述的羧甲基壳聚糖微球中,所述羧甲基壳聚糖重均分子量为40~100万,羧甲基取代度为0.7~1.1,符合羧甲基壳聚糖原料一般标准。

[0028] 进一步地,本发明所述的羧甲基壳聚糖微球栓塞剂,其中,步骤(4)中梯度脱水所采用的乙醇依次为30%、60%、90%、100%的乙醇。

[0029] 本发明还保护所述羧甲基壳聚糖微球栓塞剂的制备方法。

[0030] 具体方案为:

[0031] 制备本发明所述羧甲基壳聚糖微球栓塞剂的方法,其具体步骤为:

[0032] (1)羧甲基壳聚糖预处理:羧甲基壳聚糖溶于水中,过滤,制得羧甲基壳聚糖质量百分含量为1%~5%的羧甲基壳聚糖溶液;

[0033] (2) 乳化反应: 20~60℃下在油相中加入乳化剂混匀, 再加入步骤(1)所得的羧甲基壳聚糖溶液, 充分搅拌乳化, 得羧甲基壳聚糖乳化体系;

[0034] (3) 交联反应: 步骤(2)所得乳化体系中加入交联剂, 搅拌下反应使微球交联固化, 反应完毕后静置分层, 分离下层微球, 先后用有机溶剂和水洗涤, 离心或抽滤, 得溶胀的交联羧甲基壳聚糖微球;

[0035] (4) 脱水干燥: 步骤(3)所得的交联羧甲基壳聚糖微球用由低到高浓度的乙醇溶液梯度脱水, 干燥灭菌即得。

[0036] 可选地, 本发明所述的羧甲基壳聚糖微球栓塞剂的制备方法, 其中, 将步骤(4)的操作替换为将步骤(3)所得的溶胀的交联羧甲基壳聚糖微球以1g:(1~10mL)的比例置于生理盐水或PBS溶液中保存, 即得。

[0037] 进一步地, 本发明所述的制备羧甲基壳聚糖微球栓塞剂的方法, 其中, 步骤(1)中的羧甲基壳聚糖溶液中进一步加入氯化钠、碳酸氢钠或碳酸钠, 溶液中氯化钠、碳酸氢钠或碳酸钠的质量百分含量为0.1%~3%, 优选0.5%~1.5%。

[0038] 进一步地, 本发明所述的制备羧甲基壳聚糖微球栓塞剂的方法, 其中, 所述羧甲基壳聚糖溶液的质量分数为1.5%~2.5%。

[0039] 进一步地, 本发明所述的制备羧甲基壳聚糖微球栓塞剂的方法, 其中, 步骤(2)的油相选自液体石蜡、石油醚、大豆油、花生油、航空煤油或任意两种油相的混合物, 油相与羧甲基壳聚糖的体积质量比(L/g)为(0.1~0.5):1。

[0040] 进一步优选地, 本发明所述的制备羧甲基壳聚糖微球栓塞剂的方法, 其中, 步骤(2)的油相为液体石蜡和航空煤油体积比(1~4):1的混合物。

[0041] 进一步地, 本发明所述的制备羧甲基壳聚糖微球栓塞剂的方法, 其中, 所述乳化剂选自司盘80、吐温20、卵磷脂、豆磷脂、月桂醇聚醚硫酸酯、十二烷基苯磺酸钠。

[0042] 进一步优选地, 本发明所述的制备羧甲基壳聚糖微球栓塞剂的方法, 其中, 所述乳化剂与油相的质量体积比为1:20~1:60(g/ml), 优选1:30~1:40。

[0043] 进一步地, 本发明所述的制备羧甲基壳聚糖微球栓塞剂的方法, 其中, 步骤(3)所述交联剂选自戊二醛、京尼平或原花青素, 其中, 羧甲基壳聚糖与交联剂的质量体积比(g/mL)为(0.5~1.5):1。

[0044] 进一步地, 本发明所述的制备羧甲基壳聚糖微球栓塞剂的方法, 其中, 步骤(3)所述交联反应时间为1h~10h, 优选2h~4h。

[0045] 进一步地, 本发明所述的制备羧甲基壳聚糖微球栓塞剂的方法, 其中, 步骤(4)干燥后所得的羧甲基壳聚糖微球栓塞剂的粒径分布在100μm~300μm、300μm~500μm、500μm~700μm、700μm~900μm、900μm~1200μm五个范围。

[0046] 进一步地, 本发明所述的制备羧甲基壳聚糖微球栓塞剂的方法, 其中, 步骤(2)所述羧甲基壳聚糖溶液与油相的体积比为1:2~1:5。

[0047] 进一步地, 本发明所述的制备羧甲基壳聚糖微球栓塞剂的方法, 其中, 步骤(3)所述的洗涤用的有机溶剂选自石油醚或乙酸乙酯。

[0048] 进一步地, 本发明所述的制备羧甲基壳聚糖微球栓塞剂的方法, 其中, 步骤(4)所述的干燥为冷冻干燥或真空低温干燥。

[0049] 本发明技术方案带来的积极效果为:

[0050] (1) 本发明所得的微球产品圆整度高,表面光滑,更容易到达病变部位,有效率高,临床使用可操作性强,安全系数高,异位栓塞致死率低。

[0051] (2) 本发明对羧甲基壳聚糖溶液浓度进行了选择,当浓度低于1%时,微球膨胀率过高,干燥微球溶胀后体积增大为干燥前的4倍以上,膨胀后产品粒径偏差增大,栓塞时异位栓塞风险率增加50%;浓度高于5%则所得产品弹性下降,形变力差,不容易到达理想栓塞部位,风险亦增加;因此浓度范围优选为1~5%。

[0052] (3) 本发明方法对油相进行了筛选,筛选对象包括液体石蜡、石油醚、二氯甲烷、矿物油、大豆油、花生油、航空煤油等,其中,单独采用石油醚、矿物油制备出合格微球难度较大,单独采用液体石蜡、大豆油、花生油或航空煤油能制备出合格微球,但工艺稳定性非最优,最终,采用液体石蜡和航空煤油配比作为油相流体稳定性最好,所得产品质量稳定均一。

[0053] (4) 交联剂的选择,本发明对比了几种交联剂,最终选择戊二醛、京尼平和原花青素,其中戊二醛效果最佳,另外,乙醛,三偏磷酸钠交联所需时间过长,交联时间短则交联不充分,并且,交联剂加入量过小时,液滴交联较慢,液滴深部交联程度低,成品微球强度差易碎裂,交联剂加入量过高造成浪费,且不易洗涤除去,因此最终确定羧甲基壳聚糖与交联剂的质量体积比(g/mL)为(0.5~1.5):1,能达到理想的交联效果。

[0054] (5) 本发明乳化剂优选了司盘80、吐温20,卵磷脂、豆磷脂、月桂醇聚醚硫酸酯或十二烷基苯磺酸钠,优选的乳化剂可促进交联剂渗透进入微球内部,达到增强微球强度使之不易破碎,缩短交联时间,以及使交联反应过程更加稳定的效果,所得产品强度高,产品收率高,质量均一。

[0055] (6) 在制备过程中意外的发现,在羧甲基壳聚糖溶液中加入适量氯化钠、碳酸氢钠或碳酸钠能够进一步促进交联过程中交联剂渗透进液滴内部,使微球内部交联完全,产品强度高,反应效率提高。

[0056] (7) 本发明采用梯度洗涤的方法进行脱水,脱水完全,保证了干燥产品复溶时的溶胀率均一,产品临床使用安全、性能稳定。

具体实施方式

[0057] 以下采用具体实施例对本发明技术方案进行阐述,但所列举实施例不作为对本发明保护范围的限制。

[0058] 实施例1

[0059] 采用以下方法制备羧甲基壳聚糖微球栓塞剂:

[0060] (1) 羧甲基壳聚糖预处理:称取20g羧甲基壳聚糖,溶解在质量分数为0.9%的氯化钠溶液中,滤出不溶物,得质量分数为2%的羧甲基壳聚糖溶液;

[0061] (2) 乳化反应:调整反应釜温度45℃,将140g司盘80加入到4L液体石蜡中分散,反应釜温度恒定后,将步骤(1)所得的羧甲基壳聚糖溶液加入到液体石蜡中,调整转速搅拌得稳定的乳化体系;

[0062] (3) 交联反应:缓慢滴加60ml浓度为50%的戊二醛水溶液,反应时间为4小时,反应完毕后,停止搅拌,出料,料液分层后,倾出上层油相,用乙酸乙酯洗涤4次,再分别用2L纯化水洗涤4次,离心得溶胀的交联羧甲基壳聚糖微球;

[0063] (4)脱水干燥:用30%、60%、90%、100%的乙醇水溶液梯度洗涤脱水,得到表面光滑的交联羧甲基壳聚糖微球,放入真空干燥箱,室温干燥10小时,包装灭菌即得,按所需粒径过筛后分包装,对微球理化检测结果见表1。

[0064] 表1 实施例1微球理化检测结果

检测指标	标准限度	检测结果
形态及结构	橘黄至橘红色球形,颗粒均匀;扫描电镜下观察外表光滑,圆整,无刮痕。	合格,扫描电镜图见附图1。
pH值	6-8	7.2
戊二醛残留	0.001%以下	合格
悬浮时间 (min)	>20	40分钟
溶胀平衡时间 (min)	20-40	34分钟
溶胀率	220%~280%	250%
细胞增值率	90%以上	100%,一级

[0066] 实施例2

[0067] 采用以下方法制备羧甲基壳聚糖微球栓塞剂:

[0068] (1)羧甲基壳聚糖预处理:称取20g羧甲基壳聚糖,溶解在质量分数为1%的碳酸氢钠溶液中,滤出不溶物,得质量分数为2%的羧甲基壳聚糖溶液;

[0069] (2)乳化反应:调整反应釜温度45℃,将100g司盘80加入到4L液体石蜡中分散,反应釜温度恒定后,将步骤(1)所得的羧甲基壳聚糖溶液加入到液体石蜡中,调整转速搅拌得稳定的乳化体系;

[0070] (3)交联反应:缓慢滴加40ml浓度为50%的戊二醛水溶液,反应时间为2小时,反应完毕后,停止搅拌,出料,料液分层后,倾出上层油相,用乙酸乙酯洗涤4次,再分别用2L纯化水洗涤6次,离心得溶胀的交联羧甲基壳聚糖微球;

[0071] (4)脱水干燥:用30%、60%、90%、100%的乙醇水溶液梯度洗涤脱水,得到表面光滑的交联羧甲基壳聚糖微球,放入真空干燥箱,室温干燥10小时,包装灭菌即得,按所需粒径分包装,对微球理化检测结果见表2。

[0072] 表2 实施例2微球理化检测结果

[0073]

检测指标	标准限度	检测结果
形态及结构	橘黄至橘红色球形，颗粒均匀；扫描电镜下观察外表光滑，圆整，无刮痕。	合格
pH 值	6-8	7.4
戊二醛残留	0.001%以下	合格
悬浮时间 (min)	>20	39分钟
溶胀平衡时间 (min)	20-40	31分钟
溶胀率	220%~280%	260%
细胞增值率	90%以上	95%，一级

[0074] 实施例3

[0075] 采用以下方法制备羧甲基壳聚糖微球栓塞剂：

[0076] (1) 羧甲基壳聚糖预处理：称取20g羧甲基壳聚糖，溶解在质量分数为1%的碳酸钠溶液中，滤出不溶物，得质量分数为2%的羧甲基壳聚糖溶液；

[0077] (2) 乳化反应：调整反应釜温度45℃，将160g司盘80加入到4L液体石蜡中分散，反应釜温度恒定后，将步骤(1)所得的羧甲基壳聚糖溶液加入到液体石蜡中，调整转速搅拌得稳定的乳化体系；

[0078] (3) 交联反应：缓慢滴加50ml浓度为50%的戊二醛水溶液，反应时间为3小时，反应完毕后，停止搅拌，出料，料液分层后，倾出上层油相，用乙酸乙酯洗涤4次，再分别用2L纯化水洗涤2次，离心得溶胀的交联羧甲基壳聚糖微球；

[0079] (4) 脱水干燥：用30%、60%、90%、100%的乙醇水溶液梯度洗涤脱水，得到表面光滑的交联羧甲基壳聚糖微球，放入真空干燥箱，室温干燥10小时，包装灭菌即得，按所需粒径分包装，对微球理化检测结果见表3。

[0080] 表3 实施例3微球理化检测结果

检测指标	标准限度	检测结果
形态及结构	橘黄至橘红色球形, 颗粒均匀; 扫描电镜下观察外表光滑, 圆整; 无刮痕。	合格
pH 值	6-8	7.3
戊二醛残留	0.001%以下	合格
悬浮时间 (min)	>20	37 分钟
溶胀平衡时间 (min)	20-40	28 分钟
溶胀率	220%~280%	245%
细胞增值率	90%以上	95%, 一级

[0082] 实施例4

[0083] 采用以下方法制备羧甲基壳聚糖微球栓塞剂:

[0084] 羧甲基壳聚糖预处理: 称取20g羧甲基壳聚糖, 溶解在质量分数为1%的碳酸氢钠溶液中, 滤出不溶物, 得质量分数为1%的羧甲基壳聚糖溶液; 其他操作同实施例2, 对微球理化检测结果见表4。

[0085] 表4 实施例4微球理化检测结果

检测指标	标准限度	检测结果
形态及结构	橘黄至橘红色球形, 颗粒均匀; 扫描电镜下观察外表光滑, 圆整; 无刮痕。	合格
pH 值	6-8	7.2
戊二醛残留	0.001%以下	合格
悬浮时间 (min)	>20	38 分钟
溶胀平衡时间 (min)	20-40	27 分钟
溶胀率	220%~280%	255%
细胞增值率	90%以上	95%, 一级

[0087] 实施例5

[0088] 采用以下方法制备羧甲基壳聚糖微球栓塞剂:

[0089] 羧甲基壳聚糖预处理: 称取20g羧甲基壳聚糖, 溶解在质量分数为1%的碳酸氢钠溶液中, 滤出不溶物, 得质量分数为5%的羧甲基壳聚糖溶液; 其他操作同实施例2, 对微球理化检测结果见表5。

[0090] 表5 实施例5微球理化检测结果

[0091]

检测指标	标准限度	检测结果
形态及结构	橘黄至橘红色球形，颗粒均匀；扫描电镜下观察外表光滑，圆整，无刮痕。	合格
pH 值	6-8	6.7
戊二醛残留	0.001%以下	合格
悬浮时间 (min)	>20	33 分钟
溶胀平衡时间 (min)	20-40	24 分钟
溶胀率	220%~280%	275%
细胞增值率	90%以上	95%，一级

[0092] 实施例6

[0093] 采用以下方法制备羧甲基壳聚糖微球栓塞剂：

[0094] 油相的配比由液体石蜡改为液体石蜡和航空煤油体积比1:1的混合物，其他操作同实施例2，对微球理化检测结果见表6。

[0095] 表6 实施例6微球理化检测结果

[0096]

检测指标	标准限度	检测结果
形态及结构	橘黄至橘红色球形，颗粒均匀；扫描电镜下观察外表光滑，圆整，无刮痕。	合格
pH 值	6-8	7.4
戊二醛残留	0.001%以下	合格
悬浮时间 (min)	>20	42 分钟
溶胀平衡时间 (min)	20-40	33 分钟
溶胀率	220%~280%	255%
细胞增值率	90%以上	95%，一级

[0097] 实施例7

[0098] 采用以下方法制备羧甲基壳聚糖微球栓塞剂：

[0099] 油相的配比由液体石蜡改为液体石蜡和航空煤油体积比4:1的混合物，其他操作同实施例2，对微球理化检测结果见表6。

[0100] 表7 实施例7微球理化检测结果

检测指标	标准限度	检测结果
形态及结构	橘黄至橘红色球形, 颗粒均匀; 扫描电镜下观察外表光滑, 圆整, 无刮痕。	合格
pH 值	6-8	7.3
戊二醛残留	0.001%以下	合格
悬浮时间 (min)	>20	40 分钟
溶胀平衡时间 (min)	20-40	36 分钟
溶胀率	220%~280%	255%
细胞增值率	90%以上	95%, 一级

[0102] 实施例6、7的制备过程乳化体系稳定性好于实施例1~5, 交联反应快, 所得产品圆整度好于实施例1~5。

[0103] 试验例1猪肾动脉栓塞试验

[0104] (1) 实验动物: 小型猪10头, 体重40~45kg, 雌雄各半;

[0105] (2) 受试产品: 实施例2制得的羧甲基壳聚糖微球(干燥平均粒径: 210 μ m, 生理盐水溶胀后平均粒径: 552.5 μ m) 作为栓塞剂, 由石家庄亿生堂医用品有限公司制备。

[0106] (3) 栓塞及评价方法:

[0107] ①动物麻醉与静脉取血: 动物麻醉前12h禁食, 以氯胺酮0.8g肌肉注射行前期麻醉, 取前腔静脉血作实验室检查, 然后在猪耳缘静脉埋置套管针, 以5%戊巴比妥钠静脉注射维持麻醉。

[0108] ②肾动脉栓塞: 麻醉后的动物注入肝素钠, 在ESAOTE Car isSun彩色多普勒超声引导下以18G穿刺针穿刺股动脉, 置入5F导管鞘。引入5F的Cobra导管对双肾动脉注射碘海醇造影, 选择左侧肾动脉, 在透视下经导管缓慢间断注入实施例3羧甲基壳聚糖微球与碘海醇的混合液对肾动脉进行栓塞, 以透视监视下不产生返流为原则, 直至血流明显减慢或接近停滞, 注入羧甲基壳聚糖微球剂量100~200mg, 注射时间5~10min, 栓塞后再次行左肾动脉造影显示栓塞效果。

[0109] ③影像学(DSA、CT)复查: 10头实验动物分别于栓塞后1、2、4、8周随机抽取2头行DSA、CT复查栓塞情况。

[0110] (4) 栓塞效果评价: 所有动物存活, 无栓塞异位; 术后1~2天有不同程度的精神萎靡、食欲欠佳、活动迟滞, 2天左右后逐渐恢复正常的饮食与活动; 影像学结果显示栓塞前肾动脉主干及分支显影良好、形态自然光滑, 实质染色均匀; 肾动脉栓塞后即刻造影显示肾动脉的中、远端阻断, 呈残根状, 实质不见染色。

[0111] (5) 组织相容性观察

[0112] 上述研究中, 所有实验动物存活, 无严重并发症发生; 栓塞后定期复查的血常规及肝功、肾功指标与栓塞前无显著性差异; 组织学检查显示微球栓塞的小动脉周围出现炎症反应; 2周后逐渐减轻, 7~8周时基本恢复正常, 表明羧甲基壳聚糖微球对动物机体的影响

比较小,生物相容性良好。

[0113] (6) 栓塞后生物降解观察

[0114] 栓塞后定期肾动脉造影复查的结果显示部分被栓塞的动脉出现再通,随着栓塞时间的延长,动脉再通情况逐渐增加;组织学检查显示在栓塞后1周时弓状动脉内可见的栓塞微球形态已经不完整,动脉腔内出现空隙,栓塞后2周时弓状动脉分支内可找到微球,形态进一步缺失碎裂,至栓塞后8周时观察微球消失。上述动态变化反映出羧甲基壳聚糖微球微球在动物体内具有可降解性。

[0115] 结论:本研究动物肾动脉栓塞的体内实验研究表明:羧甲基壳聚糖微球栓塞效果明显,体内可降解,生物相容性良好。