

(19) 中华人民共和国国家知识产权局



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103861157 A

(43) 申请公布日 2014. 06. 18

---

(21) 申请号 201210547794. 4

(22) 申请日 2012. 12. 17

(71) 申请人 中国科学院大连化学物理研究所  
地址 116023 辽宁省大连市中山路 457 号

(72) 发明人 马小军 谭明乾 王艳妨

(74) 专利代理机构 沈阳科苑专利商标代理有限公司 21002  
代理人 马驰

(51) Int. Cl.

A61L 31/04(2006. 01)

A61L 31/14(2006. 01)

A61K 49/12(2006. 01)

A61K 49/18(2006. 01)

---

权利要求书1页 说明书4页 附图3页

(54) 发明名称

一种基于海藻酸钆的 MRI 显影栓塞微球

(57) 摘要

本发明公开了一种基于海藻酸的磁共振 (Magnatic Resonance Imaging, 简称MRI) 可显影微胶珠的制备及其在肿瘤动脉栓塞治疗中的应用潜力。它以海藻酸钠为原料, 通过静电液滴发生器形成胶珠, 在此基础上引入镧系金属离子如  $Gd^{3+}$  作为显影基团, 用于 MRI 成像, 从而实现栓塞治疗过程的可视化。

1. 基于海藻酸的 MRI 可显影栓塞微球, 其特征在于 : 以海藻酸钠为材料, 于海藻酸上引入镧系金属离子, 通过静电液滴法形成海藻酸镧系金属凝胶珠, 作为 MRI 可视化栓塞剂。

2. 根据权利要求所述的 MRI 可显影海藻酸栓塞微球, 其特征在于 : 其中镧系金属离子为 MRI 可视化基团, 在离子移变作用下镧系金属离子将  $\text{Na}^+$  置换出, 与海藻酸钠 G 片段键合, 使得相邻的海藻酸钠分子链从自然伸展的卷曲状态向整齐有序的带状结构转变, 最终形成海藻酸镧系金属三维网状微胶珠。

3. 根据权利要求 1 或 2 所述的 MRI 可显影海藻酸栓塞微球中的 MRI 显影基团, 其特征在于 : 其所述的镧系金属离子为  $\text{Gd}^{3+}$ 、 $\text{Eu}^{3+}$  或  $\text{Tb}^{3+}$ 。

4. 一种权利要求 1 基于海藻酸的 MRI 可显影栓塞微球的制备方法, 其特征在于 :

将稀土镧系金属离子代替海藻酸钠中的  $\text{Na}^+$ , 形成更稳定的海藻酸镧系金属配合物 ; 具体过程, 将海藻酸钠溶液, 通过静电液滴发生器形成小液滴, 小液滴进入稀土镧系金属离子的氯化物溶液中, 在离子移变作用下, 稀土镧系金属离子将海藻酸钠中的  $\text{Na}^+$  置换出, 形成镧系金属的海藻酸凝胶珠, 从而制备出具有 MRI 显影功能的海藻酸栓塞微球。

5. 按照权利要求 4 基于海藻酸的 MRI 可显影栓塞微球的制备方法, 其特征在于 :

所述海藻酸钠与镧系金属离子的氯化物摩尔比小于 3, 海藻酸钠溶液质量体积比范围为 0.01~50% (w/v), 稀土镧系金属离子摩尔浓度范围为  $1 \times 10^{-6}$ ~100 mol/L。本文示例具体所采用的海藻酸钢单体与镧系金属离子的氯化物摩尔比为 0.0075, 海藻酸钠溶液浓度为 1.5% (w/v), 稀土镧系金属离子的氯化物溶液摩尔浓度为 0.1 mol/L。

6. 一种权利要求 1 基于海藻酸的 MRI 可显影栓塞微球的应用, 其特征在于 : 基于海藻酸的 MRI 可显影栓塞微球可用于栓塞过程的 MRI 可视化显影。

## 一种基于海藻酸钆的 MRI 显影栓塞微球

### 技术领域

[0001] 本发明涉及可显影肿瘤栓塞微球的制备，具体说是在海藻酸栓塞微球的基础上，引入 MRI 可显影成分，实现栓塞治疗的可视化。

### 背景技术

[0002] 1971 年，Folkman 提出肿瘤新生血管学说(文献 1 :Judah Folkman, N Engl J Med 1971; 285:1182–1186)，即肿瘤的生长依赖于新生血管。新生血管不仅为肿瘤的生长提供营养，也是原发肿瘤转移的通道和转移灶增生的前提。动脉栓塞治疗术即是针对肿瘤的这一特征，在医学影像手段的导引下将栓塞材料通过导管选择性地注入到病变器官的供应血管或病变血管内，中断供血，最终达到抑制肿瘤生长的目的。在临幊上，与手术摘除、化学疗法、放射疗法等相互配合，针对肿瘤的情况，起到根治性、姑息性及术前辅助性治疗，是必不可少的肿瘤治疗手段之一。

[0003] 用于肿瘤治疗的栓塞术有两种：选择性动脉栓塞术和化疗栓塞术。其中，化疗栓塞术是将栓塞材料和抗癌药物治疗分子混合注入肿瘤的供血靶动脉，既阻止动脉供血，实现栓塞治疗，又可以释放抗癌药物，实现化学治疗效果。化疗栓塞安全可靠，尤其是在肝出血和肝癌方面，是最优的治疗方法(文献 2 :Zupancic et al. European Journal of Pediatric Surgery; 1995, 5 (2) :88–91)。

[0004] 临幊上需求的理想栓塞剂，应满足以下要求：无毒、无抗原性，具有良好的生物相容性、能迅速按需求闭塞不同口径不同流量的血管、易经导管传送、易得、易消毒、能控制血管闭塞时间的长短。在过去二三十年间，学者研究了不同的化疗栓塞材料，如明胶海绵(文献 3 :(Matsumoto et al. 1986)、胶原(文献 4 :John R. Daniels et al. Cancer Res May 1, 1988;48:2446)、乙基纤维素(文献 5 :Ku et al. 1995)、聚羟基丁酯(文献 6 :A. Ch. Kassab et al. Journal of Bioactive and Compatible Polymers, July 1999, 14(4) :291–303)、氰基丙烯酸盐(文献 7 :Jeffrey S. Pollak, Robert I. White; Journal of Vascular and Interventional Radiology, 2001, 12(8) :907–913) 等，

[0005] 海藻酸钠是从天然藻类提取出的多糖高分子，海藻酸钠由古洛糖醛酸(G) 和甘露糖醛酸(M) 通过 1,4- 糖昔键连接并由不同比例的 GG、GM、MM 片段组成的共聚物(文献 3 :Fischer FG, HoppeSeylers Z Physiol Chem. 1955; 302(4 - 6) :186 – 203)。其中，G 单元对于金属离子如 Ga<sup>2+</sup> 具有良好凝胶性，两个 G 单元与一个 Ca<sup>2+</sup> 离子结合形成蛋壳结构(文献 8 :Smidsrød O, Draget KI. Carbohydr Eur. 1996; 14:6 – 12)，如图 1 所示：海藻酸凝胶结构

[0006] 海藻酸钠良好的生物相容性、安全性及生物可降解性(文献 9 :Haug A, Larsen B, Smidsrød O. Acta Chem Scand. 1963; 17:1466 – 8)，使其在栓塞材料研究方面得到了人们广泛的关注。如作为子宫肌瘤栓塞(文献 10 :Ravina JH, et al. 1995; 346(8976) :671 – 2)、原发性肝癌(文献 11 :J. S. KIM, B. K. KWAK, H. J. SHIM, et al. ; Journal of Microencapsulation, August 2007; 24(5) :408 – 419) 等。在临幊上，海藻酸盐微球也已作为成熟的技术应用于原发性肝癌、子宫肌瘤、脾脏功能亢进等。

[0007] 临床治疗及现今所报道的技术存在的问题包括以下几个方面：

[0008] (1) 对栓塞剂的在体内的分布及作用情况没有直观的检测方法。在临幊上，栓塞疗法是在医学影像手段的指导下，通过导管将栓塞材料选择性的注入到病变器官血管内。通常在导入栓塞材料的同时注入显影剂如碘化油、碘海醇等，通过造影剂的显影，间接显示栓塞材料的导入及栓塞情况。造影剂与栓塞材料的分离，使得观察到的造影剂的结果并不能真实反映栓塞材料的作用情况，且游离的造影剂对身体也会有一定的毒副作用。

[0009] (2) 临幊上先栓塞后治疗，易引起病情延误。栓塞后，所导入的造影剂经体内循环代谢出人体。栓塞材料在体内作用一段时间后，重新导入造影剂，观察栓塞材料的作用情况及治疗效果，根据检测结果确定进一步的治疗方案。治疗过程中，栓塞材料的作用情况并不明确，医生只能根据一定时间后的检测结果来确认该治疗方案是否适合及有效，并根据检测结果调整治疗方案或确定下一步治疗计划。治疗和检测的分离，延长了治疗周期，易使患者错过最佳治疗期，延误病情治疗。

[0010] 针对临幊中所存在的上述问题，若制备一批具有影像功能的栓塞材料，集栓塞治疗与显影于一体，实现栓塞治疗过程的可视化，在海藻酸钙胶珠的基础上，利用 Gd 取代 Ca，制备具有影像功能的海藻酸钆胶珠，作为癌症治疗过程中的栓塞剂

## 发明内容

[0011] 本发明在已有海藻酸钙胶珠制备平台的基础上，分别引入  $Gd^{3+}$  和  $Gd-DTPA$  作为 MRI 显影基团，制备具有影像功能的海藻酸胶珠，作为新一代可视化栓塞材料。

[0012] 本发明的技术方案如下：

[0013] 可视化栓塞微胶珠以海藻酸钠为材料，引入镧系金属离子  $Gd^{3+}$ 、 $Eu^{3+}$  或  $Tb^{3+}$ ，利用静电液滴发生器制备出海藻酸钆微胶珠。

[0014] 具体为：

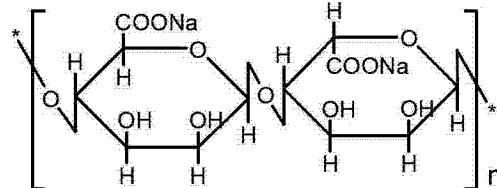
[0015] 水溶液状态下，海藻酸钠溶液通过静电液滴发生器滴入  $GdCl_3$  溶液中，在离子移变作用下  $Gd^{3+}$  将  $Na^+$  置换出，与海藻酸钠 G 片段键合，使得相邻的海藻酸钠分子链从自然伸展的卷曲状态向整齐有序的带状结构转变，最终形成海藻酸钆三维网状微胶珠。

[0016] 钆为镧系金属，原子序数 64，其离子具有 7 个不成对电子，为一顺磁性很强的金属离子，能显著缩短 T1、T2 的驰豫时间，尤以 T1 更为明显，在浓度  $0 \sim 1mmol/L$  的范围内驰豫时间呈直线下降，从而影响 MRI 的信号强度，可作为 MRI 造影剂。

[0017] 本发明具有如下优点：

[0018] (1) 海藻酸钠作为栓塞材料已广泛应用于临幊。海藻酸钠是由  $\alpha-D-$  甘露糖醛酸 ( $\alpha-D-Mannuronic Acid$ , M 单元) 和  $\beta-L-$  古罗糖醛酸 ( $\beta-L-Gluluronic Acid$ , G 单元) 和 M 与 G 混合的序列通过 1-4 糖苷键交联而形成的带负电荷的直链多糖，结构式如图所示：

[0019]



[0020] 由于其良好的生物相容性与生物可降解性，所以被广泛用于生物医用材料的研究

中。

[0021] (2)栓塞材料与造影基团一体化,实现了栓塞过程的可视化。通过条件温和的静电液滴法,制备集栓塞材料与造影检测于一体的海藻酸胶珠,有效避免了临床治疗中栓塞材料与造影剂分离带来的问题,实现了治疗过程的直观可视可控化。在栓塞材料的导入过程,可直观看到材料的实际栓塞情况;栓塞后,医生也可随时检测栓塞材料的作用情况,及时调整治疗方案,使患者得到最好的治疗。

[0022] (3)突破栓塞治疗的传统模式,实现了新一代栓塞剂的研究。

## 附图说明

[0023] 图 1 是海藻酸凝胶结构;

[0024] 图 2 是海藻酸钆凝胶珠的电子显微镜照片;

[0025] 图 3 是海藻酸钆凝胶珠在 MRI 中的显影结果;

[0026] 图 4 是随着海藻酸钆凝胶珠数目的变化,相应 MRI 强度变化曲线;

[0027] 图 5 是海藻酸钙与海藻酸钆胶珠在生理盐水中的粒径变化柱状图。

## 具体实施方式

[0028] 下面通过实施例对本发明做进一步说明。

[0029] 实施例 1

[0030] 含有 MRI 可显影基团的海藻酸钆凝胶珠的制备:

[0031] 1、溶液配制

[0032] 1) 0.1mol/L GdCl<sub>3</sub> 溶液:取 13.18g (0.05mol) 的 GdCl<sub>3</sub>, 溶于 500mL 去离子水中, 完全溶解后, 用 0.22 μm 滤膜过滤, 收集过滤液备用。

[0033] 2) 1.5% (w/v) 海藻酸钠溶液:取 1.5g 海藻酸钠, 溶于 100mL 去离子水中, 搅拌使其完全溶解后, 依次用 0.8 μm、0.45 μm、0.22 μm 滤膜过滤, 收集滤液置于 4° C 冰箱, 过夜脱气。

[0034] 2、胶珠制备

[0035] 1) 1.5% (w/v) 海藻酸钠溶液从冰箱拿出恢复室温, 用 5mL 注射器吸取 2mL 海藻酸钠溶液, 连接标准 5# 针头, 置于静电液滴发生器指定位置, 调节泵速为 12.7mL/h。2) 装有 200mL 0.1mol/L GdCl<sub>3</sub> 溶液的 250mL 烧杯置于针头正下方, 针头下端与液面距离为 1cm。

[0036] 2) 打开微胶囊制备仪, 设定电压为 50V, 频率为 120HZ。微胶囊制备仪正极连接注射器针头, 负极连接置于烧杯中的铁线圈。

[0037] 3) 微胶囊制备仪运行稳定后, 打开静电液滴发生器, 海藻酸钠溶液通过针头在静电场的作用下形成小液滴, 小液滴进入 0.1mol/L GdCl<sub>3</sub> 溶液, 海藻酸钠与 Gd<sup>3+</sup> 凝胶化形成海藻酸钆凝胶珠。

[0038] 4) 反应完成后, 静置 30min 使海藻酸钆充分凝胶化。

[0039] 5) 0.1mol/L GdCl<sub>3</sub> 溶液洗涤凝胶珠 3 次, 去除凝胶碎片, 4° C 冰箱保存。

[0040] 表 1:海藻酸钙与海藻酸钆胶珠在生理盐水中的粒径变化

时间 /h	Alg-Ca 粒径 / $\mu\text{m}$	Alg-Gd 粒径 / $\mu\text{m}$	Alg-Ca 相对粒径变 化	Alg-Gd 相对粒径变 化
	291.7949	351.5973	1	1
[0041]	319.9452	348.1218	1.0965	0.9901
	364.2089	353.1699	1.2482	1.0045
	368.4606	350.4397	1.2627	0.9967
	408.8229	348.7612	1.4011	0.9919
	423.4882	346.4403	1.4513	0.9853
	433.9170	350.3281	1.4871	0.9964
	479.2918	354.9341	1.6426	1.0095
	536.5439	349.7095	1.8388	0.9946

[0042] 含有 MRI 可显影基团的海藻酸钆凝胶珠的性质表征：

[0043] 1、海藻酸钆凝胶珠的形貌及粒径尺寸

[0044] 图 1 是海藻酸钆凝胶珠电子显微镜照片, 结果表明采用静电液滴法制备的海藻酸钆凝胶珠呈圆球形, 表面光滑, 大小均匀, 平均粒径为  $351.6 \mu\text{m}$  ( $n > 300$ )

[0045] 2、海藻酸钆凝胶珠的 MRI 显影性能

[0046] 图 2 是海藻酸钆凝胶珠在 MRI 中的显影结果, 以去离子水作为空白对照, 依次含有胶珠数目为 1、5、20、50、100、N1 ( $N1 \geq 300$ )、N2 ( $N2 \geq 500$ )。海藻酸钆胶珠的 MRI 显影效果显示, 随着胶珠数目的增多, MRI 强度逐渐增强, 其强度相对变化趋势如图 3 所示。说明, 海藻酸钆凝胶珠具有良好的 MRI 显影效果, 且其显影强度能随着含有胶珠数目的增多而增强, 在应用中可以根据需求定量化。

[0047] 3、海藻酸钆凝胶珠在 0.9% (w/v) NaCl 溶液中的稳定性

[0048] 以海藻酸钙凝胶珠作为对照, 将海藻酸钙和海藻酸钆凝胶珠置于 0.9% (w/v) NaCl 溶液, 定时间点拍摄电子显微照片, 观察胶珠的形貌及粒径变化。随着时间的延长, 海藻酸钙胶珠逐渐溶胀, 依旧呈光滑的圆球形, 但粒径逐渐增大, 而海藻酸钆凝胶珠并未发生明显变化。海藻酸钙胶珠与海藻酸钆胶珠在生理盐水中的粒径变化如表 1 所示, 其粒径相对变化趋势如图 4 所示。由图中可以看出, 在生理盐水中, 随着时间的延续, 海藻酸钙胶珠的粒径逐渐增大, 48h 时增大到原来的 1.8 倍, 而海藻酸钆胶珠的粒径并未发生明显变化。由此说明, 与海藻酸钙凝胶珠相比, 在生理盐水中, 海藻酸钆凝胶珠十分稳定。

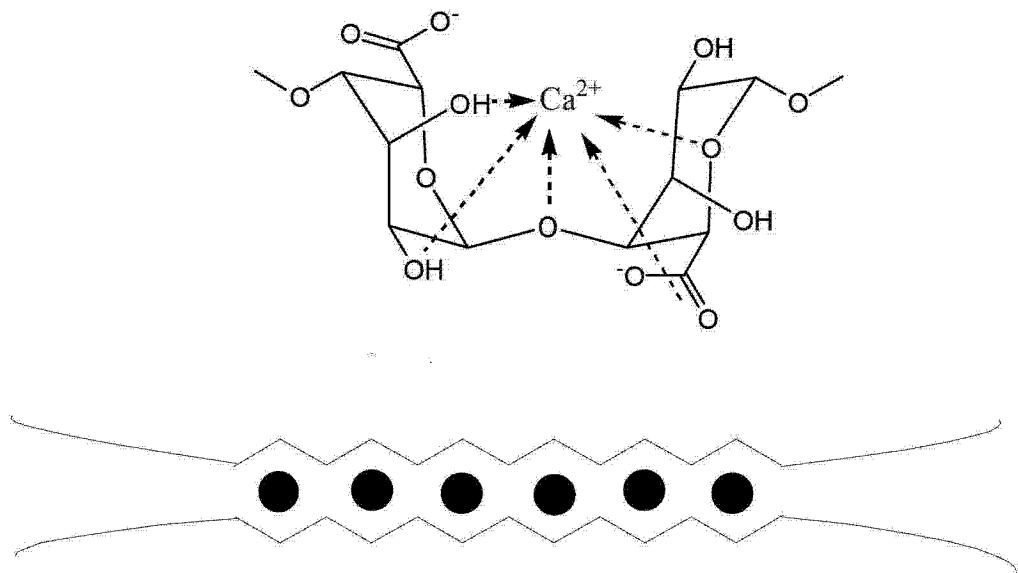


图 1

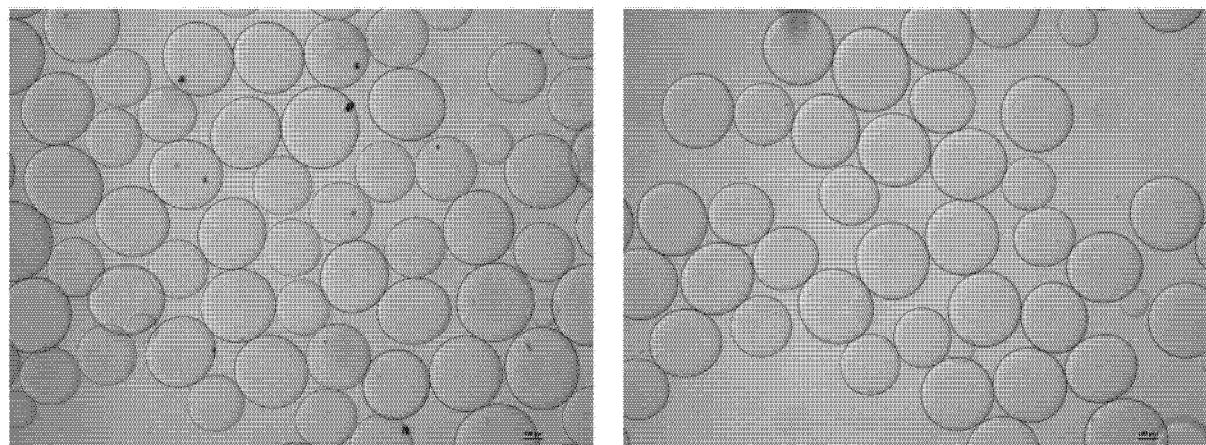


图 2

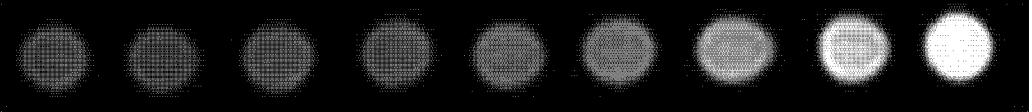
胶珠数 目	0      0      1      5      20      50      100      N1      N2
MRI成 像结果	
MRI强 度	11334    10845    12011    11949    14189    15408    19252    22843    29319

图 3

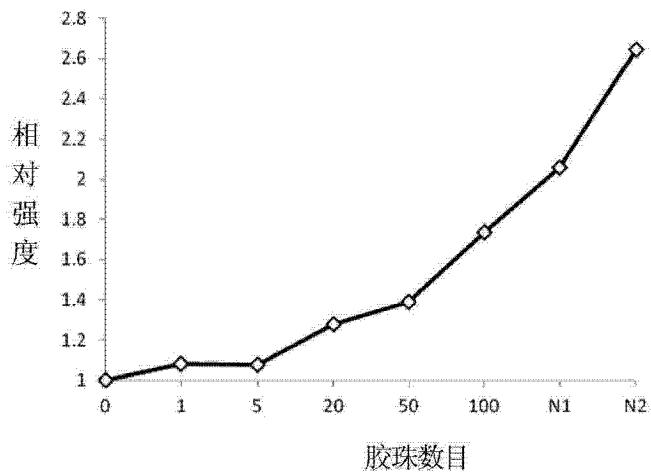


图 4

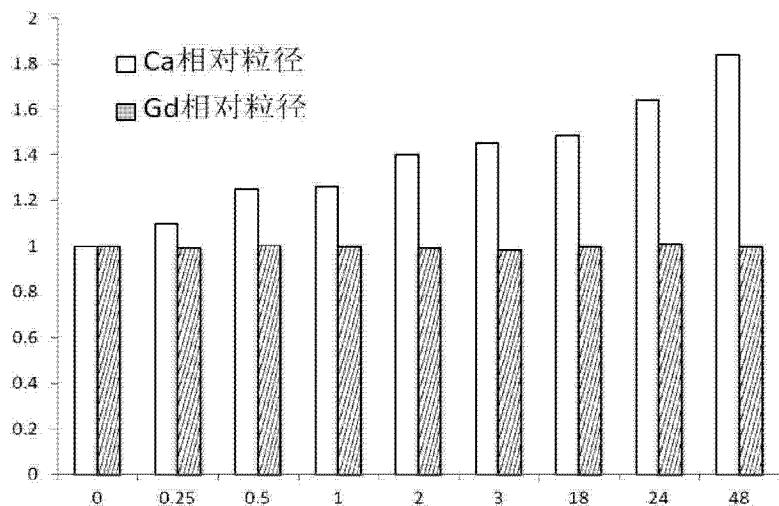


图 5