

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.

A61M 1/34 (2006.01)

A61M 1/38 (2006.01)



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 02138419.3

[45] 授权公告日 2008 年 6 月 18 日

[11] 授权公告号 CN 100394990C

[22] 申请日 2002.10.11 [21] 申请号 02138419.3

[73] 专利权人 南京红十字血液中心

地址 210008 江苏省南京市中山路 291 号

共同专利权人 中材科技股份有限公司

[72] 发明人 邹元国 孙启俊 李爱华

[56] 参考文献

CN2505092Y 2002.8.14

US5418061A 1995.5.23

JP6269500A 1994.9.27

审查员 田蕴青

[74] 专利代理机构 南京天翼专利代理有限责任公司

代理人 汤志武

权利要求书 1 页 说明书 4 页

[54] 发明名称

具有很好的经济效益和社会效益。

特异性吸附高脂血浆中低密度脂肪——胆固醇的方法

[57] 摘要

特异性吸附高脂血浆中低密度脂肪—胆固醇的方法，是对肝素体外沉淀法(HELP)的改进。吸附反应中是以水不溶性载体偶联类肝素为吸附剂 I 和以水不溶性载体嫁接二价阳离子为吸附剂 II 共同完成的，其反应步骤如下：1) 在脂质血浆收集器中，以脂质血浆总量为基数，按每 100ml 血浆中加入 5 ~ 10g 吸附剂 I 和 3 ~ 5g 吸附剂 II 的比例添加，在室温下轻轻振摇 10 ~ 15 分钟；2) 将上述血浆置于大容量离心机上，以 2000 ~ 3500rpm 转速，离心 10 ~ 20 分钟，分离沉淀，收集上清脱脂血浆；3) 用脂质过滤器去除上清脱脂血浆中的漂浮脂质悬浮物。4) 将过滤后的上清脱脂血浆，通过吸附脱脂血浆中过量的二价阳离子，调节该血浆中血钙浓度达正常生理浓度。整个脱脂过程简单化，节约了反应时间，

1、特异性吸附高脂血浆中低密度脂肪和胆固醇的方法，包括吸附反应和离心、分离等，其特征在于：吸附反应中是以水不溶性载体偶联类肝素为吸附剂 I 和以水不溶性载体嫁接二价阳离子为吸附剂 II 共同完成的，其中吸附剂 I 每克偶联类肝素 10~50mg，吸附剂 II 每克注入 300 ~600mg 二价阳离子，其反应步骤如下：

1) 在脂质血浆收集器中，以脂质血浆总量为基数，按每 100 ml 血浆中加入 5~10g 吸附剂 I 和 3~5g 吸附剂 II 的比例添加，在室温下轻轻振摇 10~15 分钟；

2) 将上述血浆置于大容量离心机上，以 2000-3500rpm 转速，离心 10-20 分钟，分离沉淀，收集上清脱脂血浆；

3) 用脂质过滤器去除上清脱脂血浆中的漂浮脂质悬浮物。

4) 将过滤后的上清脱脂血浆，通过弱酸性阳离子吸附柱吸附脱脂血浆中过量的二价阳离子，收集经处理后的上清脱脂血浆，调节该血浆中血钙浓度达正常生理浓度。

2、根据权利要求 1 中所述的特异性吸附高脂血浆中低密度脂肪和胆固醇的方法，其特征在于：水不溶性载体为以下二种类型之一：1) 玻璃微珠；2) 纤维素颗粒，水不溶性载体的颗粒度在 200 目-2mm 之间。

3、根据权利要求 1 所述的特异性吸附高脂血浆中低密度脂肪和胆固醇的方法，其特征在于：弱酸性阳离子吸附柱为以下几种类型之一：1) 磷酸型阳离子吸附柱；2) CM 基团高流速阳离子吸附柱。

特异性吸附高脂血浆中低密度脂肪—胆固醇的方法

技术领域：

本发明涉及去除高脂血浆中低密度脂肪—胆固醇（LDL-C）的方法，是对原去除高脂血浆中 LDL-C 方法—肝素体外沉淀法（HELP）的改进。

背景技术：

LDL-C 是高脂血症中的主要致病因素，已有大量资料证明，血液中 LDL-C 的大量增高会引起机体心血管疾病和血液循环障碍。如动脉粥样硬化、脑血管梗阻、头晕目眩和运动障碍疾病等。目前，许多学者已研究出多种去除高脂血浆中 LDL-C 的办法，其中以德国 B.Braun 公司研制的肝素体外沉淀法技术最为成熟，临床应用最广，接受治疗的病人最多。

肝素体外沉淀法虽然是一项成熟的技术，但是由于作为吸附剂使用的肝素本身具有高抗凝活性，会使病人产生出血倾向，存在着不安全隐患。为此，当吸附反应完成后，必须去除过量的肝素。此外，肝素与 LDL-C 结合需在 PH=5.12 的条件下进行。所以反应前，必须用一定浓度的酸来调节血浆 PH 至 5.12，在吸附反应完成后，又必须用碱将 PH 调至生理范围。调酸、调碱的过程中会产生大量的盐和水。在回输脱脂血浆于体内之前，还必须有个脱盐脱水过程，因此，该吸附反应历程长，步骤复杂。

发明内容：

本发明的目的在于：针对肝素体外沉淀法所使用的肝素抗凝血活性高，存在的安全隐患，提出一种类肝素体外沉淀法，它用低抗凝血活性的类肝

素替代高抗凝血活性的肝素作为吸附剂，根除了不安全因素。此外，用二价阳离子作为催化剂，在脱脂过程中无需调节血浆 PH 值，省略了（HELP）方法中脱盐、脱水过程，大大简化脱脂反应过程，节约了反应时间。

本发明的技术解决方案如下：它包括吸附反应和离心、分离技术，其特征在于：吸附反应中是以水不溶性载体偶联类肝素为吸附剂 I 和以水不溶性载体嫁接二价阳离子为吸附剂 II 共同完成的，其中吸附剂 I 每克偶联类肝素 10~50mg，吸附剂 II 每克嫁接 300~600 mg 二价阳离子，其反应步骤如下：

- 1) 在脂质血浆收集器中，以脂质血浆总量为基数，按每 100ml 血浆中加入 5~10g 吸附剂 I 和 3~5g 吸附剂 II 的比例添加，在室温下轻轻振摇 10~15 分钟；
- 2) 将上述血浆置于大容量离心机上，以 2000-3500rpm 转速，离心 10-20 分钟，分离沉淀，收集上清脱脂血浆；
- 3) 用脂质过滤器去除上清脱脂血浆中的漂浮脂质悬浮物。
- 4) 将过滤后的上清脱脂血浆，通过弱酸性阳离子吸附柱吸附脱脂血浆中过量的二价阳离子，收集经处理后的上清脱脂血浆，调节该血浆中血钙浓度达正常生理浓度。

由于水不溶性载体上的配体类肝素，能够对低密度脂蛋白进行特异性吸附，而本身就是一种降脂药物，因此用它作为吸附剂是十分安全可靠的。当反应完成后，也省了去除过量反应物的操作步骤，节省了反应历程。加入吸附剂 II 后，吸附剂 II 上嫁接的二价阳离子，通过离子桥发挥催化剂的作用，使得含有配体类肝素的吸附剂 I 可在瞬间完成与 LDL-C 的结合，形成肉眼可

见的颗粒，大大缩短了反应时间。

上述反应中，水不溶性载体可以为以下二种类型之一：1) 玻璃微珠；2) 纤维素颗粒，载体的颗粒度在 200 目-2mm 之间。

上述反应步骤 4 中所用的弱酸性阳离子吸附柱可为以下几种类型之一：1) 碘酸型阳离子吸附柱；2) CM 基团高流速阳离子吸附柱。

采用本发明方法去除高脂血浆，LDL-C 去除率大于 95%，HDL-C 回收率大于 95%，胆固醇去除率为 40-50%，甘油三酯的去除率大于 50%，与原肝素体外沉淀法相比较，具有相同的脱脂效果，最大的优点是不需要吸附过量的肝素，不需要调酸、调碱、脱盐、脱水等一系列操作步骤，使整个脱脂过程简单化，大大降低了脱脂过程的成本。催化剂的使用，节约了反应时间，具有很好的经济效益和社会效益。

具体实施方式：

在本实施例中吸附剂 I 所用的水不溶性载体偶联类肝素载体为 200 目的玻璃微珠，用乙烯基三乙氧基硅烷 [$\text{CH}_2=\text{CHSi}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3$] 为偶联剂，经加热、脱水生成吸附剂 I（如以纤维素颗粒为载体，则用环氧氯丙烷为偶联剂），每克玻璃微珠上偶联类肝素（碘化葡聚糖）50mg。用大孔树脂 D002（江苏江阴有机化工厂）为载体，注入二价钙离子生成吸附剂 II，每克微球上嫁接 300 mg 二价钙离子待用。

其反应步骤如下：

1) 采集高脂血浆 500ml 置于脂质血浆收集器中，放入 50g 吸附剂 I 和 15g 吸附剂 II，在室温下轻轻振摇 10 分钟；

- 2) 将上述血浆置于大容量离心机上, 以 3000rpm 转速, 离心 15 分钟, 分离沉淀, 收集上清脱脂血浆;
- 3) 用脂质过滤器去除上清脱脂血浆中的漂浮脂质悬浮物。滤器中玻璃膜孔径 $10 \mu\text{m}$;
- 4) 将过滤后的上清脱脂血浆, 通过磺酸型阳离子树脂 732 吸附柱, 吸附脱脂血浆中的二价钙离子, 收集经处理后的上清脱脂血浆, 调节该血浆中血钙浓度达正常生理浓度。
经用该方法处理后, 高脂血浆中 LDL-C 去除率大于 95%, HDL-C 回收率为 95% (脂蛋白电泳法)。总胆固醇下降 $40\% \pm 10$ (酶法)。甘油三酯去除率为 50% (氧化酶法)。取得了理想的效果。