



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110721663 A

(43)申请公布日 2020.01.24

(21)申请号 201911077821.4

(22)申请日 2019.11.06

(71)申请人 广西医科大学

地址 530021 广西壮族自治区南宁市青秀区双拥路22号

(72)发明人 郑立 高明 冯娴婧 胡文文

(74)专利代理机构 广州越华专利代理事务所
(普通合伙) 44523

代理人 杨艳珊

(51) Int. Cl.

B01J 20/26(2006.01)

B01J 20/30(2006.01)

权利要求书1页 说明书4页

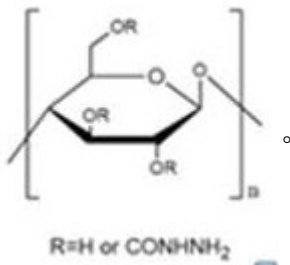
(54)发明名称

一种改性纤维素粒子及其制备方法和应用

(57)摘要

一种改性纤维素粒子,其特征在于,为酰肼基官能化纤维素粒子,制备方法包括如下步骤:将纤维素粒子悬浮于适量二甲基亚砜中,加入纤维素粒子质量0.8~1.5倍量的羧二咪唑,室温搅拌2~4小时后,逐滴加入过量水合肼溶液,继续反应12~24小时。终止反应后,用去离子水稀释反应体系并用透析袋透析2~4日,冷冻干燥后保存。该改性纤维素粒子应用于血液灌流装置,清除羧基化蛋白质,对于衰老性疾病的辅助治疗有较为广阔的应用前景。

1. 一种改性纤维素粒子,其特征在于,为酰肼基官能化纤维素粒子,其结构式为:



2. 根据权利要求1所述的一种改性纤维素粒子,其特征在于,粒子直径为50~70 μm 。

3. 一种改性纤维素粒子的制备方法,其特征在于,包括如下步骤:

将纤维素粒子悬浮于适量二甲基亚砜(DMSO)中,加入纤维素粒子质量的0.8~1.5倍量的羰二咪唑(CDI),室温搅拌2~4小时后,逐滴加入过量水合肼溶液,继续反应12~24小时。终止反应后,用去离子水稀释反应体系并用透析袋透析2~4日,冷冻干燥后保存。

4. 根据权利要求3所述的一种改性纤维素粒子的制备方法,其特征在于,所述水合肼溶液的浓度为78~82%。

5. 根据权利要求3所述的一种改性纤维素粒子的制备方法,其特征在于,所述透析袋的分子量为2000~4000kD。

6. 根据权利要求3所述的一种改性纤维素粒子的制备方法,其特征在于,所述二甲基亚砜的纯度 $\geq 99.9\%$,羰二咪唑的纯度 $\geq 97.0\%$ 。

7. 一种改性纤维素粒子应用于血液灌流装置,清除羰基化蛋白质。

一种改性纤维素粒子及其制备方法和应用

技术领域

[0001] 本发明属于医用材料领域,特别是涉及一种改性纤维素粒子。

背景技术

[0002] 随着老龄化社会的来临,与年龄、衰老相关的疾病发病率日益增加。现有研究表明,活性羰基类物质参与了多种与年龄相关的疾病(如关节炎、肾功能衰竭、心血管疾病、帕金森氏症、阿尔茨海默症、癌症、糖尿病、慢性阻塞性肺病等)和应激的启动以及发展过程,甚至直接参与和启动了衰老过程。因此,羰基应激衰老理论认为羰基应激是生物衰老的核心生化过程之一。羰基应激是指生物体系中活性羰基类物质的产生超过了清除能力,从而导致蛋白质等生物大分子的羰基化修饰,使生物大分子发生结构改变和功能丧失,导致细胞和组织功能紊乱,最终出现机体病理生理改变和加速衰老过程。

[0003] 目前解决这个问题的策略,大多数为清除体内活性羰基类物质或者阻断蛋白质羰基化进程,较少涉及如何解决已经形成的羰基化蛋白。蛋白羰基化是一个不可逆的过程,当羰基化蛋白在体内堆积超过一定量时,将会导致一系列生理、病理改变。

[0004] 纤维素以其优良的特性与安全性,被广泛用于医药领域,可用于药物分离和纯化、蛋白质、肽、凝血因子、酶、病毒和其他生物活性介质以及用作免疫吸附材料,在血液灌流装置填料中也有应用。血液灌流的主要机制是填料的吸附作用,可直接清除患者血液中的病原体或毒素,调节人体的微环境的稳定性,从而达到缓解症状和治疗疾病目的,效果比较明显。

[0005] 申请号为201210334217.7的中国专利公开了一种一种血液灌流用多孔纤维素微球吸附剂及其制备方法,所制备的多孔纤维素微球的粒径在0.1~2mm,纤维素微球内部孔尺寸主要分布在5nm~40nm,比表面积为400~1000m²/g,能耐操作压力7~15bar,其制备的特征在于利用反相悬浮体系得到多孔球形微球,再经过交联得到具备能耐操作压力7~15bar的多孔纤维素微球,可用作生物医用材料的载体使用或者用作血液灌流用吸附剂材料,但是该方法较为复杂。

发明内容

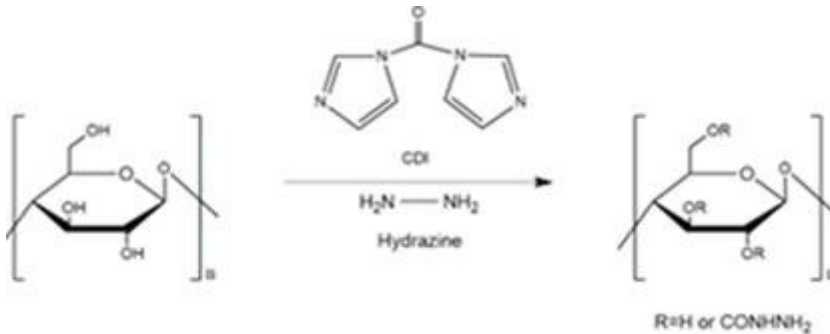
[0006] 本发明要解决的技术问题是提供一种清除羰基化蛋白质的纤维素粒子及其制备方法。

[0007] 为解决上述技术问题,本发明的技术方案是:

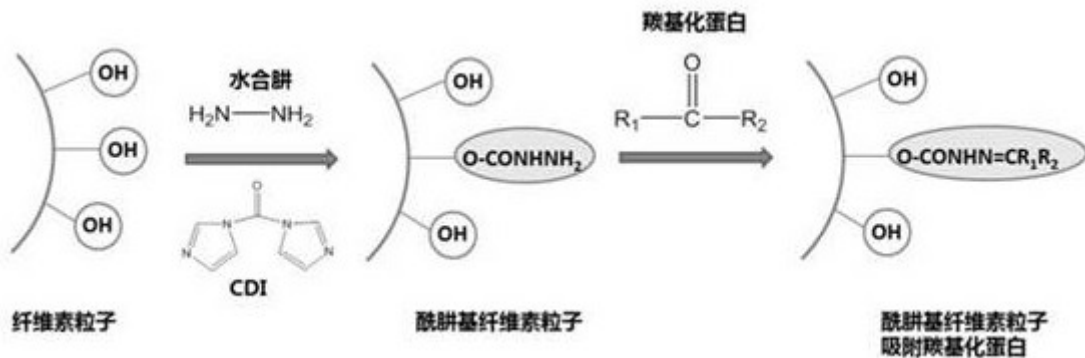
一种改性纤维素粒子,为酰肼基官能化纤维素粒子,其分子示意式为:



一种改性纤维素粒子的合成路线为：



一种改性纤维素粒子改性以及与羰基化蛋白的作用示意如下：



其制备方法包括如下步骤：

取纤维素粒子悬浮于适量二甲基亚砜 (DMSO) 中,加入纤维素粒子质量的0.8~1.5倍量的羰二咪唑 (CDI),室温搅拌2~4小时后,逐滴加入过量水合肼溶液,继续反应12~24小时。终止反应后,用水稀释反应体系并用透析袋透析2~4日,冷冻干燥后保存。

[0008] 进一步地,所述水合肼溶液的浓度为78-82%。

[0009] 优选地,所述透析袋的分子量为2000-4000kD。

[0010] 进一步地,所述二甲基亚砜的纯度 $\geq 99.9\%$,羰二咪唑的纯度 $\geq 97.0\%$ 。

[0011] 一种改性纤维素粒子应用于血液灌流装置,清除羰基化蛋白质。

[0012] 与现有技术相比,本发明具有以下有益效果：

1、本发明利用水合肼与纤维素粒子上的羟基反应,将酰肼基接到纤维素粒子上,得到酰肼基官能化的纤维素粒子,粒子直径为50~70 μm ,圆形,表面粗糙,有均匀孔径,340 $^{\circ}\text{C}$ 左右分解,产物性能较未官能化的纤维素粒子相比,酰肼基官能化纤维素粒子的粒径以及形状均没有明显变化,热稳定性亦没有明显变化。

[0013] 2、纤维素粒子的优良特性得以保留,基于酰肼基可以结合醛基或酮基,而羰基化

蛋白质上有醛基或酮基,并且增加可吸附羰基化蛋白的功能。

[0014] 3、传统纤维素粒子主要用于分离纯化蛋白质、肽、凝血因子、酶、病毒等物质,本发明在传统的纤维素粒子引入酰肼基,获得酰肼基纤维素粒子,并证明了其对羰基化蛋白质具有清除作用,对于衰老性疾病的辅助治疗有较为广阔的应用前景。

[0015] 4、该改性纤维素粒子的制备方法简单,粒径可控。

具体实施方式

[0016] 下面将结合具体实施例来详细说明本发明,在此本发明的示意性实施例以及说明用来解释本发明,但并不作为对本发明的限定。

[0017] 实施例1

将2g 纤维素粒子(CB)悬浮于20ml二甲基亚砜(DMSO)中,加入1.6g羰二咪唑(CDI),室温搅拌2~4小时后,逐滴加入8 ml水合肼溶液,继续反应12小时。终止反应后,用水稀释反应体系并用透析袋(2000-4000kD)透析2~4日。冷冻干燥后保存,得到改性纤维素粒子。

[0018] 实施例2

将4g 纤维素粒子(CB)悬浮于40 ml二甲基亚砜(DMSO)中,加入6g羰二咪唑(CDI),室温搅拌3小时后,逐滴加入15 ml水合肼溶液,继续反应18小时。终止反应后,用水稀释反应体系并用透析袋(2000-4000kD)透析2~4日。冷冻干燥后保存。

[0019] 实施例3

将5g 纤维素粒子(CB)悬浮于50 ml二甲基亚砜(DMSO)中,加入5g羰二咪唑(CDI),室温搅拌4小时后,逐滴加入18 ml水合肼溶液,继续反应24小时。终止反应后,用水稀释反应体系并用透析袋(2000-4000kD)透析2~4日。冷冻干燥后保存。

[0020] 以上实施例中二甲基亚砜的纯度 $\geq 99.9\%$,羰二咪唑的纯度 $\geq 97.0\%$ 。

[0021] 实验例

将实施例1~3中得到的改性纤维素粒子以及未进行改性的纤维素粒子(对照组)进行,取代率是指对纤维素粒子进行肼基改性中肼基的含量。

[0022] (1)取代率测定:

通过TNBS(硝基苯磺酸)法测肼基的量,结果见表一,其中取代率是指对纤维素粒子进行肼基改性中肼基的含量。

[0023] 表一、肼基的含量:

样品	对照组	实施例1	实施例2	实施例3
取代率(%)	0	0.2339	0.3730	1.0697

(2)羰基蛋白清除率的测定:

将牛血清白蛋白(BSA)与丙烯醛混合过夜,得到羰基化的牛血清白蛋白;将对照组以及实施例1~3中的纤维素粒子浸入羰基化蛋白溶液24小时,利用紫外-可见光谱检测羰基化蛋白溶液蛋白质含量,计算纤维素粒子吸附羰基化蛋白的量;

样品	对照组	实施例1	实施例2	实施例3
100mg样品清除羰基蛋白量(mg)	0.002	0.065	0.161	0.264

由表1看出,实施例1~3均能有效地接上肼基,而基于酰肼基可以结合醛基或酮基,而羰基化蛋白质上有醛基或酮基,从而让增加了增加可吸附羰基化蛋白的功能,表2为羰基蛋白

清除率的实验,本发明的技术方案能对羰基蛋白具有一定的清除作用,从而,本改性纤维素粒子可以应用于血液灌流装置,清除羰基化蛋白质。

[0024] 上述实施例仅例示性说明本发明的原理及其功效,而非用于限制本发明。任何熟悉此技术的人士皆可在不违背本发明的精神及范畴下,对上述实施例进行修饰或改变。因此,举凡所属技术领域中具有通常知识者在未脱离本发明所揭示的精神与技术思想下所完成的一切等效修饰或改变,仍应由本发明的权利要求所涵盖。