

一种核壳结构聚乙烯醇栓塞微球及其制备方法和应用

技术领域

本申请属于栓塞微球技术领域，具体涉及一种核壳结构聚乙烯醇栓塞微球及其制备方法和应用。

背景技术

目前已上市的栓塞微球主要是以聚乙烯醇作为微球的骨架材料，通过在聚乙烯醇的分子链上接枝带有双键的单体，然后该单体与带有离子官能团的单体进行聚合和交联，形成带电荷的栓塞微球，从而实现可载药功能。这种单一的交联结构制备得到的微球具有一定的力学性能（强度和压缩弹性）及载药性能。这种微球内部电荷间的排斥力对微球的结构有一定的支撑作用，但当微球通过静电相互作用负载具有相反电荷的药物时，因电荷被中和，微球内部的排斥力会消失，这导致微球体积急剧收缩，进而影响药物进一步扩散到微球内部，最终导致载药量比较低。

CN201410232150 公开了一种单一交联的聚乙烯醇栓塞微球的制备方法，该方法是：以聚乙烯醇为骨架材料，先在聚乙烯醇上接枝交联剂丙烯酰胺基二甲氧基乙缩醛，得到改性后的聚乙烯醇；随后再将 2-丙烯酰胺-2-甲基丙磺酸钠单体及引发剂过硫酸钾及改性聚乙烯醇混合得水相，然后以四甲基乙二胺为催化剂，乙酸丁酯为溶剂，醋酸丁酸纤维素为分散剂，通过反相悬浮聚合得到微球。这种微球的压缩弹性可达 50%以上，但是其负载阿霉素达到平衡所需要的时间为 20 min，这意味着医生在临床使用前至少需要等待 20 min。而且载药量只有 50%左右，这会导致治疗效果不佳。

CN201910504935 公开了一种梯度交联的聚乙烯醇栓塞微球的制备方法，该方法是：以聚乙烯醇为骨架材料，直接将聚乙烯醇配置成水溶液，然后加入 2-丙烯酰胺-2-甲基丙磺酸钠单体、交联剂 N,N-亚甲基双丙烯酰胺及引发剂过硫酸钾制成水相；以醋酸丁酸纤维素为分散剂，然后以四甲基乙二胺为催化剂，乙酸丁酯为溶剂，醋酸丁酸纤维素为分散剂，在反相悬浮聚合过程中分批加入戊二醛作为交联剂，从而得到逐步交联的微球。该微球的压缩弹性可达 70%以上，但是其载药量可达 98%，但是达到该载药量需要 30 min，这也意味着医生在临床使用

前至少需要等待 30 min。

因此，在本领域中需要进一步开发能够具有较短载药平衡时间以及具有较高载药量的栓塞微球。

发明内容

本申请提供一种核壳结构聚乙烯醇栓塞微球及其制备方法和应用。

第一方面，本申请提供一种核壳结构聚乙烯醇栓塞微球的制备方法，所述制备方法包括以下步骤：

(1) 聚乙烯醇与占聚乙烯醇质量的 2%-8% (例如 2%、3%、5%、7%或 8%) 的水溶性交联剂反应，得到低接枝度聚乙烯醇水溶液；

(2) 聚乙烯醇与占聚乙烯醇质量的 16%-32% (例如 16%、18%、20%、25%、28%、30%或 32%) 的水溶性交联剂反应，得到高接枝度聚乙烯醇水溶液；

(3) 将带离子官能团的水溶性单体、引发剂与步骤 (1) 得到的低接枝度聚乙烯醇水溶液混合，得到第一水相；

(4) 将引发剂与步骤 (2) 得到的高接枝度聚乙烯醇水溶液混合，得到第二水相；

(5) 将第一水相和第二水相混合，得到混合水相；以及

(6) 将步骤 (5) 得到的混合水相加入至含有油性分散剂的油相中，形成油包水的反相悬浮聚合体系，进行反相悬浮聚合，得到所述核壳结构聚乙烯醇栓塞微球。

在本申请中，步骤 (1) 制备得到的是低接枝度聚乙烯醇水溶液，步骤 (2) 制备得到的是高接枝度聚乙烯醇水溶液，通过这两种接枝度不同的改性聚乙烯醇的水相与油相混合进行反相悬浮聚合得到具有核壳结构的微球。

所述第一水相中低接枝度的改性聚乙烯醇亲水程度更高，在反向悬浮聚合形成液滴的过程中会与带离子官能团的水溶性单体分布在液滴的内部形成内核；而第二水相中高接枝度的改性聚乙烯醇亲水性相对较低，在反向悬浮聚合形成液滴的过程中会倾向于分布在液滴的表面形成外壳，从而形成具有核壳结构的液滴，再经过反应固化成具有核壳结构的微球。

外壳的相对高交联度，一定程度上减小了微球载药后粒径收缩程度，外壳仍然可维持相对畅通的孔道，便于药物从外壳快速进入内核，提高载药速度。

外壳几乎不含带离子官能团的水溶性单体，内核富含带离子官能团的水溶性单体，内外形成电荷差，负电荷药物在内核正电吸引力下，更容易进入内核，提升 2-丙烯酰胺-2-甲基丙磺酸钠利用率，从而进一步提升载药量。

这种特殊的核壳结构可以使得微球具有极快的载药速率和极高的载药量；与常规载药量（80 mg，2 mL 微球）相比，该结构的微球 1 min 载药量可达 95% 以上，最大载药量可达到 150 mg。

在某些实施方案中，步骤（1）所述反应前先将聚乙烯醇加入到水中，升温至 90°C-100°C（例如 90°C、93°C、95°C、98°C 或 100°C）搅拌溶解形成均一的聚乙烯醇溶液。

在某些实施方案中，所述聚乙烯醇溶液中聚乙烯醇的质量百分比浓度为 12%-22%，例如 12%、15%、18%、20% 或 22%。

在某些实施方案中，步骤（1）和步骤（2）所述水溶性交联剂独立地选自 N-(2,2-二甲氧基)-2-甲基丙烯酰胺、N-(1-羟基-2,2-二甲氧基乙基)-2-丙烯酰胺、N-(2,2-二甲氧基)-2-丙烯酰胺、N-(1-羟基-2,2-二甲氧基乙基)-2-甲基丙烯酰胺、N-(2,2-二甲氧基)-2-甲基丙烯酸酯、N-(1-羟基-2,2-二甲氧基乙基)-2-丙烯酸酯、N-(2,2-二甲氧基)-2-丙烯酸酯或 N-(1-羟基-2,2-二甲氧基乙基)-2-甲基丙烯酸酯中的至少一种。

在某些实施方案中，步骤（1）所述反应在酸催化剂存在下进行。

在某些实施方案中，所述酸催化剂为盐酸、硫酸、硝酸或对甲苯磺酸中的至少一种，优选盐酸。

在某些实施方案中，所述酸催化剂在反应体系中的质量百分比浓度为 6%-12%，例如 6%、7%、8%、9%、10%、11% 或 12%。

在某些实施方案中，步骤（1）所述反应的温度为 20°C-30°C（例如 20°C、23°C、25°C、28°C 或 30°C），反应时间为 10 h-15 h（例如 10 h、11 h、12 h、13 h、14 h 或 15 h）。

在某些实施方案中，步骤（2）所述反应前先将聚乙烯醇加入到水中，升温至 90°C-100°C（例如 90°C、93°C、95°C、98°C 或 100°C）搅拌溶解形成均一聚乙烯醇溶液。

在某些实施方案中，所述聚乙烯醇溶液中聚乙烯醇的质量百分比浓度为 12%-22%，例如 12%、15%、18%、20% 或 22%。

在某些实施方案中，步骤（2）所述反应在酸催化剂存在下进行。

在某些实施方案中，所述酸催化剂为盐酸、硫酸、硝酸或对甲苯磺酸中的至少一种，优选盐酸。

在某些实施方案中，步骤（2）所述反应的温度为 20°C-30°C（例如 20°C、23°C、25°C、28°C 或 30°C），反应时间为 10 h-15 h（例如 10 h、11 h、12 h、13 h、14 h 或 15 h）。

在某些实施方案中，步骤（3）所述带离子官能团的水溶性单体选自 2-丙烯酰胺-2-甲基丙磺酸钠、烯丙基磺酸钠或甲基丙烯磺酸钠中的至少一种。

在某些实施方案中，步骤（3）所述带离子官能团的水溶性单体的用量为聚乙烯醇水溶液重量的 5%-20%，例如 5%、8%、10%、12%、15%、18% 或 20%。

在某些实施方案中，步骤（3）所述引发剂为过硫酸铵、过硫酸钠或过硫酸钾中的至少一种。

在某些实施方案中，步骤（3）所述引发剂的用量为聚乙烯醇水溶液重量的 0.3%-0.8%，例如 0.3%、0.4%、0.5%、0.6%、0.7% 或 0.8%。

在某些实施方案中，步骤（4）所述引发剂为过硫酸铵、过硫酸钠或过硫酸钾中的至少一种。

在某些实施方案中，步骤（4）所述引发剂的用量为聚乙烯醇水溶液重量的 0.3%-0.8%，例如 0.3%、0.4%、0.5%、0.6%、0.7% 或 0.8%。

在某些实施方案中，步骤（5）所述第二水相的质量为第一水相质量的 5%-20%，例如 5%、8%、10%、12%、15%、18% 或 20%。

在某些实施方案中，步骤（6）所述油溶性分散剂选自醋酸丁酸纤维素。

在某些实施方案中，步骤（6）所述油相是将油溶性分散剂加入至油性溶剂中在 30-50°C（例如 30°C、33°C、35°C、38°C、40°C、45°C、48°C 或 50°C）下搅拌溶解形成均一溶液而得到。

在某些实施方案中，所述油相中油溶性分散剂的质量百分比浓度为 2%-5%，例如 2%、2.5%、3%、3.5%、4%、4.5% 或 5%。

在某些实施方案中，所述油相中油性溶剂选自乙酸丁酯、乙酸乙酯、乙酸甲酯或乙酸丙酯中的至少一种，优选乙酸丁酯。

在某些实施方案中，步骤（6）所述反相悬浮聚合为将反应体系加热升温到 50°C-80°C（例如 60°C、63°C、65°C、68°C 或 70°C），向体系中加入催化剂，反

应 10 h-20 h, 例如 10 h、13 h、15 h、18 h 或 20 h。

在某些实施方案中, 所述催化剂选自四甲基乙二胺。

在某些实施方案中, 步骤(6)所述反相悬浮聚合在搅拌下进行, 所述搅拌的速率为 200 rpm-800 rpm, 例如 200 rpm、230 rpm、250 rpm、280 rpm、300 rpm、350 rpm、400 rpm、450 rpm、500 rpm、550 rpm、600 rpm、650 rpm、700 rpm、750 rpm 或 800 rpm。

在某些实施方案中, 所述核壳结构聚乙烯醇栓塞微球的粒径为 40-1400 μm 。根据实际使用需要, 可采用不同目数的筛网将微球分别可根据需要使用筛网筛分成不同尺寸的微球, 例如 40 μm -70 μm 、70-100 μm 、100-150 μm 、150-200 μm 、200-300 μm 、350-450 μm 、480-580 μm 、650-750 μm 、825-975 μm 、1025-1175 μm 、1225-1375 μm 等。

第二方面, 本申请提供了如第一方面所述制备方法制备得到的核壳结构聚乙烯醇栓塞微球。

第三方面, 本申请提供一种载药微球, 所述载药微球包括如上所述的核壳结构聚乙烯醇栓塞微球以及负载的药物。

相对于现有技术, 本申请具有以下有益效果:

本申请的核壳结构聚乙烯醇栓塞微球具有极快的载药速率和极高的载药量, 1 min 载药量可达 95%以上, 最大载药量可达到 150 mg。

附图说明

图 1 为实施例 1 制备得到的栓塞微球的显微镜图(视频显示系统, VHX-950F, 基恩士(中国)有限公司)。

图 2 为水相 2 的加入量对于微球载药率影响的测试结果图。

图 3 为不同微球最大载阿霉素量的测试结果图。

图 4 为实施例 1 的微球的粒径分布图。

图 5 为市售品 1 的微球的粒径分布图。

图 6 为市售品 2 的微球的粒径分布图。

图 7 为实施例 1 的微球用于动物体内栓塞效果考察的结果图。

图 8 为实施例 1 的微球在动物栓塞部位的肝脏组织中药物释放情况考察结果图。

具体实施方式

下面通过具体实施方式来进一步说明本申请的技术方案。本领域技术人员应该明了，所述实施例仅仅是帮助理解本申请，不应视为对本申请的具体限制。

实施例 1

在本实施例中，制备一种核壳结构聚乙烯醇栓塞微球，制备方法包括以下步骤：

步骤 1：配置低接枝度聚乙烯醇水溶液

将高分子聚合物（聚乙烯醇，100 g）加入到水（500 mL）中，升温至 95°C 搅拌溶解形成均一溶液；再加入水溶性交联剂（N-(2,2-二甲氧基)-2-甲基丙烯酰胺，4.00g），搅拌均匀后加入酸催化剂（盐酸，30 mL），在 25°C 下持续搅拌反应 10 h，得到聚乙烯醇水溶液。

步骤 2：配置高接枝度聚乙烯醇水溶液

将高分子聚合物（聚乙烯醇，100 g）加入到水（500 mL）中，升温至 95°C 搅拌溶解形成均一溶液；再加入水溶性交联剂（N-(2,2-二甲氧基)-2-甲基丙烯酰胺，16.00 g），搅拌均匀后加入酸催化剂（盐酸，30 mL），在 25°C 下持续搅拌反应 10 h，得到聚乙烯醇水溶液。

步骤 3：配制反向悬浮聚合油相

将分散剂（醋酸丁酸纤维素，20 g）加入到油性溶剂（乙酸丁酯，1000 mL）中，在 35°C 下搅拌溶解形成均一溶液，得到油相。

步骤 4：配制反相悬浮聚合体系水相 1

将带有离子官能团的水溶性单体（2-丙烯酰胺-2-甲基丙磺酸钠，20 g）、引发剂（过硫酸铵，1 g），以及低接枝度聚乙烯醇水溶液（200 g），搅拌均匀到均一溶液，即得水相 1。

步骤 5：配制反相悬浮聚合体系水相 2

将引发剂（过硫酸铵，1g），以及高接枝度聚乙烯醇水溶液（200 g），搅拌均匀到均一溶液，即得水相 2。

步骤 6：配制混合水相

将水相 1（200 g）与水相 2（20 g）混合均匀得混合水相。

步骤 7：反向悬浮聚合

在搅拌条件下，向油相中缓慢滴加混合的水相溶液，形成油包水的反相悬

浮聚合体系，滴加完成后，将反应体系加热升温到 65°C，继续向反应体系中滴加催化剂（四甲基乙二胺，5mL），反相悬浮聚合反应开始，反应 15 h，反应结束后停止搅拌和加热，静置反应体系分层，分离油相，收集微球并反复清洗即得到具有核壳结构的栓塞微球（如图 1 所示），粒径在 40 μm -1400 μm 之间。

实施例 2

本实施例提供一种栓塞微球，其制备方法与实施例 1 的不同之处在于：在步骤 6 中，水相 2 的加入量为 5 g。

实施例 3

本实施例提供一种栓塞微球，其制备方法与实施例 1 的不同之处在于：在步骤 6 中，水相 2 的加入量为 10 g。

实施例 4

本实施例提供一种栓塞微球，其制备方法与实施例 1 的不同之处在于：在步骤 6 中，水相 2 的加入量为 15 g。

实施例 5

本实施例提供一种栓塞微球，其制备方法与实施例 1 的不同之处在于：在步骤 6 中，水相 2 的加入量为 25 g。

实施例 6

本实施例提供一种栓塞微球，其制备方法与实施例 1 的不同之处在于：在步骤 6 中，水相 2 的加入量为 30 g。

实施例 7

本实施例提供一种栓塞微球，其制备方法与实施例 1 的不同之处在于：在步骤 6 中，水相 2 的加入量为 0 g。

实施例 8

本实施例提供一种栓塞微球，其制备方法与实施例 1 的不同之处在于：在步骤 6 中，水相 2 的加入量为 40 g。

实施例 9

本实施例提供一种栓塞微球，其制备方法与实施例 1 的不同之处在于：在步骤 1 中，水溶性交联剂 N-(2,2-二甲氧基)-2-甲基丙烯酰胺的加入量为 2 g；在步骤 2 中，水溶性交联剂 N-(2,2-二甲氧基)-2-甲基丙烯酰胺的加入量为 20 g。

实施例 10

本实施例提供一种栓塞微球，其制备方法与实施例 1 的不同之处在于：在步骤 1 中，水溶性交联剂 N-(2,2-二甲氧基)-2-甲基丙烯酰胺的加入量为 5 g。

实施例 11

本实施例提供一种栓塞微球，其制备方法与实施例 1 的不同之处在于：在步骤 1 中，水溶性交联剂 N-(2,2-二甲氧基)-2-甲基丙烯酰胺的加入量为 6 g；在步骤 2 中，水溶性交联剂 N-(2,2-二甲氧基)-2-甲基丙烯酰胺的加入量为 16 g。

实施例 12

本实施例提供一种栓塞微球，其制备方法与实施例 1 的不同之处在于：在步骤 1 中，水溶性交联剂 N-(2,2-二甲氧基)-2-甲基丙烯酰胺的加入量为 8 g；在步骤 2 中，水溶性交联剂 N-(2,2-二甲氧基)-2-甲基丙烯酰胺的加入量为 32 g。

载药性能测试：

测试栓塞微球的载药速率，测试方法为：微球（100 μm，2 mL）与 4 mL 阿霉素溶液混合（20 mg/mL），每分钟定时取样，用高效液相色谱测试上清液中阿霉素的残留量，再通过换算得出微球的载药量。测试结果如表 1 所示。

表 1 载药微球载药性能

实施 例	水相 1 交 联剂的加 入量/g	水相 2 交 联剂的加 入量/g	水相 2 加 入量/g	载药率/%	载药量达到 95% 所需要的时间 /min
1	4	24	20	99.9	1
2	4	24	5	99.9	21
3	4	24	10	99.9	13
4	4	24	15	99.9	6
5	4	24	25	99.9	1
6	4	24	30	99.9	22
7	4	0	0	98.2	40
8	4	24	40	96.6	30
9	2	20	20	95.2	3
10	5	24	20	96.2	2
11	6	16	20	95.4	3
12	8	32	20	95.0	5
市售 1	N/A	N/A	N/A	96.3	50

市售 2	N/A	N/A	N/A	83.6	N/A
------	-----	-----	-----	------	-----

注：市售产品 1：DC Bead，100 μm-300 μm，Biocompatibles UK Limited；
市售产品 2：Equalsphere，100 μm，苏州恒瑞迦俐生生物医药科技有限公司。
图 2 为水相 2 的加入量对于微球载药率影响的测试结果图。

结论：1) 随着水相 2 加入量的增加，载药速率明显加快，当加入量大于 20 g 时，基本 1 min 就可以负载 95% 的药物。但当加入量大于 40 g 时，载药速率开始降低，壳层太厚会影响药物向核内扩散。2) 当水相 1 的交联剂加入量为低于 2 g 时，因交联度低，内核载药后会急剧收缩，导致载药速率变慢，载药量降低；当水相 1 的交联剂加入量高于 8 g 时，因交联度过高，内核比较致密，影响药物的扩散，导致载药速率变慢，载药量降低；3) 当水相 2 的交联剂加入量低于 16 g 时，因交联度低，载药后外壳收缩导致载药速率变慢，载药量降低；当水相 2 的交联剂用高于 32 g 时，因外壳比较致密，影响药物的扩散，导致载药速率变慢，载药量降低。

微球载药后收缩比测试：

测试栓塞微球的载药粒径，测试方法为：取栓塞微球，铺平于载玻片上，置于视频显示系统（VHX-950F）显微镜下方进行测试，测试 200 个微球的粒径，再取平均值。测试结果如表 2 所示。

表 2 微球载药后收缩比

实施例	载药前平均 直径/μm	载药后平均直 径/μm	载药粒径收缩比 /%	载药后壳层厚度 /μm
1	132.4	112.3	15.2	24
2	130.9	94.6	27.7	8
3	128.5	97.5	24.1	13
4	131.6	105.8	19.6	19
5	120.8	105.2	12.9	30
6	126.1	113.1	10.3	38
7	124.4	80.6	35.2	0
8	122.9	116.4	5.3	47
9	119.4	100.5	15.8	24
10	125.6	107.6	14.3	22

11	127.0	101.2	20.3	15
12	122.2	114.3	6.5	42
市售 1	182.6	121.2	33.6	0
市售 2	123.5	85.5	30.8	0

结论：随着水相 2 加入量的增加，微球壳层明显变厚，而且载药后粒径收缩比明显降低。

最大载药量测试：

测试栓塞微球的最大载药量，测试方法为：微球（100 μm ，2 mL）与 8 mL 阿霉素溶液混合（20 mg/mL），定时取样，待药物溶液无明显颜色变化后，停止取样。用高效液相色谱测试上清液中阿霉素的残留量，再通过换算得出微球的载药量。测试结果如表 3（图 3）所示。

表 3

实施例	水相 1 交联剂的加入量/g	水相 2 交联剂的加入量/g	水相 2 加入量/g	每毫升微球的最大载药量/mg
1	4	24	20	75.2
2	4	24	5	63.3
3	4	24	10	67.4
4	4	24	15	71.8
5	4	24	25	75.6
6	4	24	30	75.7
7	4	0	0	41.2
8	4	24	40	55.0
9	2	20	20	65.7
10	5	24	20	64.9
11	6	16	20	59.8
12	8	32	20	58.3
市售 1	N/A	N/A	N/A	40.5
市售 2	N/A	N/A	N/A	35.5

结论：1）随着水相 2 加入量的增加，微球壳层明显变厚，载药后收缩程度小，核内的 AMPS 利用率高，因此载药量高。2）当水相 1 的交联剂加入量为

2g 时，因交联度低，内核载药后会急剧收缩，导致载药量降低；当水相 1 的交联剂加入量为 8 g 时，因交联度过高，内核比较致密，影响药物的扩散，导致载药量降低；3) 当水相 2 的交联剂加入量为 16 g 时，因交联度低，载药后外壳收缩导致载药速率变慢，载药量降低；当水相 2 的交联剂用来为 32 g 时，因外壳比较致密，影响药物的扩散，导致载药速率变慢，载药量降低。

粒径分布测试：

对比本申请制备的微球与市售品的粒径分布，取栓塞微球（粒径范围 100-150 μm ），铺平于载玻片上，置于视频显示系统（VHX-950F）显微镜下方进行测试，测试 200 个微球的粒径，然后绘制成直方图进行比对。

如图 4 为实施例 1 的微球的粒径分布图，图 5 为市售品 1 的微球的粒径分布图，图 6 为市售品 2 的微球的粒径分布图。

可以看出，本申请制备的微球的统计 200 个微球的粒径的标准差比市售品的标准差小，粒径分布比市售产品的粒径分布更窄。

将实施例 1 的微球（100-150 μm ）与常见蒽环类化疗药物盐酸多柔比星联用（药物浓度 25 mg/mL），模拟其临床使用形式，通过 TACE（经导管动脉化疗栓塞）介入手术操作，对健康家猪的肝动脉左叶进行栓塞。通过考察微球的术中操作性能、即刻及试验周期内的栓塞效果，术后血药浓度及组织药物浓度等，评价球的有效性。通过考察术后动物恢复情况，结合临床病理学、大体解剖观察、组织病理学等，初步评价微球在试验周期内的安全性。设置考察时间点术后 1 天、7 天、28 天，每个时间点至少 3 只动物。

所有动物手术均顺利完成，未发生堵管等不良现象，证明该微球具有良好的操作性和微导管通过性。动物术后状态良好，无意外死亡情况。

与栓塞前相比，栓塞后即刻、术后 1 天、术后 7 天、术后 28 天的 DSA 图像中均可清晰观察到靶向血管被栓塞的效果（染色消失），图 7 展示了部分数据，表明栓塞效果维持很好（箭头所指为栓塞位点）。

术前及术后不同时间点，分别对动物进行血样采集，检测血液学、血清生化、血凝等，除术后 1 周内个别指标因药物毒性作用和栓塞手术影响，有轻微波动外，其余指标均正常。

大体解剖结果显示，除了栓塞位置（肝左外侧叶）有明显的肉眼可见病变，肝脏其他叶均无异常现象，其他脏器（心、脾、肺、肾、脑、胆囊）也均正常，

表明微球具有很好的靶向性，术后未发生非靶向漂移。

取动物栓塞部位的肝脏组织，进行组织匀浆，对组织中的药物浓度进行测试，组织浓度见图 8，可以看到组织中药物浓度随时间逐渐降低，术后 28 天仍然有 9970 ng/mL，说明药物在体内从微球缓慢释放出来，可在较长时间维持有效浓度，具有很好的缓释效果。

病理切片显示，栓塞部位血管损伤较为明显，血管壁出现中膜坏死或透壁性坏死，伴有或不伴有炎性细胞浸润，及血管周围组织坏死，这主要是由栓塞作用和从微球释放的药物毒性共同作用所致，证明了微球在栓塞部位的有效性。

通过上述动物实验，进一步证明了微球的良好操作性能，其在体内具有很好的栓塞效果、药物缓释效果以及良好的安全性，预期其在临床肿瘤治疗中具有良好的效果。

申请人声明，本申请通过上述实施例来说明本申请的工艺方法，但本申请并不局限于上述工艺步骤，即不意味着本申请必须依赖上述工艺步骤才能实施。所属技术领域的技术人员应该明了，对本申请的任何改进，对本申请所选用原料的等效替换及辅助成分的添加、具体方式的选择等，均落在本申请的保护范围和公开范围之内。

权 利 要 求 书

1. 一种核壳结构聚乙烯醇栓塞微球的制备方法，其包括以下步骤：

(1) 聚乙烯醇与占聚乙烯醇质量的 2%-8%的水溶性交联剂反应，得到低接枝度聚乙烯醇水溶液；

(2) 聚乙烯醇与占聚乙烯醇质量的 16%-32%的水溶性交联剂反应，得到高接枝度聚乙烯醇水溶液；

(3) 将带离子官能团的水溶性单体、引发剂与步骤(1)得到的低接枝度聚乙烯醇水溶液混合，得到第一水相；

(4) 将引发剂与步骤(2)得到的高接枝度聚乙烯醇水溶液混合，得到第二水相；

(5) 将第一水相和第二水相混合，得到混合水相；以及

(6) 将步骤(5)得到的混合水相加入至含有油溶性分散剂的油相中，形成油包水的反相悬浮聚合体系，进行反相悬浮聚合，得到所述核壳结构聚乙烯醇栓塞微球。

2. 根据权利要求1所述的核壳结构聚乙烯醇栓塞微球的制备方法，其中，步骤(1)所述反应前先将聚乙烯醇加入到水中，升温至 90°C-100°C搅拌溶解形成均一的聚乙烯醇溶液。

3. 根据权利要求1或2所述的核壳结构聚乙烯醇栓塞微球的制备方法，其中，所述聚乙烯醇溶液中聚乙烯醇的质量百分比浓度为 12%-22%。

4. 根据权利要求1-3中任一项所述的核壳结构聚乙烯醇栓塞微球的制备方法，其中，步骤(1)和步骤(2)所述水溶性交联剂独立地选自 N-(2,2-二甲氧基)-2-甲基丙烯酰胺、N-(1-羟基-2,2-二甲氧基乙基)-2-丙烯酰胺、N-(2,2-二甲氧基)-2-丙烯酰胺、N-(1-羟基-2,2-二甲氧基乙基)-2-甲基丙烯酰胺、N-(2,2-二甲氧基)-2-甲基丙烯酸酯、N-(1-羟基-2,2-二甲氧基乙基)-2-丙烯酸酯、N-(2,2-二甲氧基)-2-丙烯酸酯或 N-(1-羟基-2,2-二甲氧基乙基)-2-甲基丙烯酸酯中的至少一种。

5. 根据权利要求1-4中任一项所述的核壳结构聚乙烯醇栓塞微球的制备方法，其中，步骤(1)所述反应在酸催化剂存在下进行；

优选地，所述酸催化剂为盐酸、硫酸、硝酸或对甲苯磺酸中的至少一种，优选盐酸；

优选地，所述酸催化剂在反应体系中的质量百分比浓度为 6%-12%；

优选地，步骤(1)所述反应的温度为 20°C-30°C，反应时间为 10 h-15 h。

6. 根据权利要求 1-5 中任一项所述的核壳结构聚乙烯醇栓塞微球的制备方法, 其中, 步骤(2)所述反应前先将聚乙烯醇加入到水中, 升温至 90°C-100°C 搅拌溶解形成均一聚乙烯醇溶液;

优选地, 所述聚乙烯醇溶液中聚乙烯醇的质量百分比浓度为 12%-22%;

优选地, 步骤(2)所述反应在酸催化剂存在下进行;

优选地, 所述酸催化剂为盐酸、硫酸、硝酸或对甲苯磺酸中的至少一种, 优选盐酸;

优选地, 步骤(2)所述反应的温度为 20°C-30°C, 反应时间为 10 h-15 h。

7. 根据权利要求 1-6 中任一项所述的核壳结构聚乙烯醇栓塞微球的制备方法, 其中, 步骤(3)所述带离子官能团的水溶性单体选自 2-丙烯酰胺-2-甲基丙磺酸钠、烯丙基磺酸钠或甲基丙烯磺酸钠中的至少一种;

优选地, 步骤(3)所述带离子官能团的水溶性单体的用量为聚乙烯醇水溶液重量的 5%-20%;

优选地, 步骤(3)所述引发剂为过硫酸铵、过硫酸钠或过硫酸钾中的至少一种;

优选地, 步骤(3)所述引发剂的用量为聚乙烯醇水溶液重量的 0.3%-0.8%。

8. 根据权利要求 1-7 中任一项所述的核壳结构聚乙烯醇栓塞微球的制备方法, 其中, 步骤(4)所述引发剂为过硫酸铵、过硫酸钠或过硫酸钾中的至少一种;

优选地, 步骤(4)所述引发剂的用量为聚乙烯醇水溶液重量的 0.3%-0.8%。

9. 根据权利要求 1-8 中任一项所述的核壳结构聚乙烯醇栓塞微球的制备方法, 其中, 步骤(5)所述第二水相的质量为第一水相质量的 5%-20%;

优选地, 步骤(6)所述油溶性分散剂选自醋酸丁酸纤维素;

优选地, 步骤(6)所述油相是将油溶性分散剂加入至油性溶剂中在 30°C-50°C 下搅拌溶解形成均一溶液而得到;

优选地, 所述油相中油溶性分散剂的质量百分比浓度为 2%-5%;

优选地, 所述油相中油性溶剂选自乙酸丁酯、乙酸乙酯、乙酸甲酯或乙酸丙酯中的至少一种, 优选乙酸丁酯;

优选地, 步骤(6)所述反相悬浮聚合为将反应体系加热升温到 50°C-80°C, 向体系中加入催化剂, 反应 10 h-20 h;

优选地，所述催化剂选自四甲基乙二胺；

优选地，步骤（6）所述反相悬浮聚合在搅拌下进行，所述搅拌的速率为 200 rpm-800 rpm；

优选地，所述核壳结构聚乙烯醇栓塞微球的粒径为 40 μm -1400 μm 。

10. 根据权利要求 1-9 中任一项所述制备方法制备得到的核壳结构聚乙烯醇栓塞微球。

11. 一种载药微球，其包括如权利要求 10 所述的核壳结构聚乙烯醇栓塞微球以及负载的药物。