

靶向药物载体-磁流体的制备及表面改性

磁流体又称为铁磁流体,是存在于液体载体中一种稳定的亚畴磁性纳米颗粒的胶态悬浮液[1]。稳定性和分散良好的磁流体纳米颗粒具有广泛的应有价值,尤其是在肿瘤化疗中。磁性药物载体是近年来研究的一种新型的靶向给药系统,它可以在足够强的外磁场作用下,磁性载体药物通过血管注入到滋养肿瘤组织中,使药物以受控的方式从载体中释放,然后在肿瘤组织的细胞或亚细胞水平上发挥药效作用,而对正常组织的细胞无太大的影响,从而发挥靶向治疗作用,降低其毒副作用[2][3]。但是,开发特定生物相容性的磁流体的瓶颈在于必须用生物活性分子对磁流体的纳米磁性颗粒进行表面包裹,而纳米颗粒表面化学吸附的生物高分子的物理化学性质将直接影响其化学反应活性和物理及化学稳定性[4];同时,如果对表面包裹生物活性高分子链接带有反应性功能基团的有机物链,将使其与具有相应活性基团的药物分子的结合成为可能,从而实现包载量大、稳定性好的靶向制剂。磁流体的制备方法很多,包括粉碎法[1]、表面修饰法[5]、有机相合成法[6]、化学沉淀法[7][8][9]等,目前应用比较多的是化学共沉淀法。为此,本实验用化学共沉淀法制备以 Fe_3O_4 为母核的磁流体,并用葡聚糖-70对磁流体表面进行改性,且在其表面上的葡聚糖链接具有反应活性基团的有机物已酸链,使带有羟基、胺基等基团的药物如丝裂霉素C等与其活性羧基反应为前体药物成为可能,从而实现磁性前体药物制剂,并重点观察了它们的稳定性。

1 材料和方法

1.1 仪器和试剂

实验用试剂葡聚糖-70(Mr=70 000)(Sigma公司);6-溴己酸(Sigma-Aldrich 公司); $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 、盐酸、NaOH均为分析纯。表征仪器:JEM-2010透射电子显微镜(TEM)(日本株式会社),X'Pert Pro X-射线粉末衍射仪(XRD)(荷兰Philips公司),激光粒度仪(Malvern Instruments Ltd),红外光谱仪(Nicolet)。

1.2 制备

(1)量取适当浓度的NaOH溶液84 ml,加热磁力搅拌下,加入由1 mol/L的 FeCl_3 20 ml和 FeCl_2 10 ml组成的混合溶液,立刻生成黑色沉淀。少许,用盐酸调节pH值至酸性,流水透析过夜,即生成以 Fe_3O_4 为母核的磁流体。(2)将经过碱处理的2 g葡聚糖-70溶于水后与由以上所制备的磁流体混合,搅拌回流1 h。将所得到的产物用甲醇沉淀,活水透析24 h,即得到经过葡聚糖表面改性的磁流体(Dextran modified magnetic fluid,记为DM)。(3)将所得DM加入到20 ml适宜浓度的NaOH溶液中,然后加入适量6-溴己酸,80 °C下搅拌反应一定时间,得到带悬臂的葡聚糖改性的磁流体(Dextran-spacer conjugate magnetic fluid,记为DMS)。(4)作为对照,将同量碱处理的葡聚糖在同样条件下直接与6-溴己酸反应,将反应后所得到的葡聚糖与6-溴己酸的结合物(Dextran-spacer conjugate,记为DS)加入到未经改性的磁流体。(5)同样,将6-溴己酸直接加入未经改性的磁流体,对比观察。

2.1 稳定性

化学共沉淀法制得的高分散的磁流体按照以下化学反应进行： $2\text{Fe}^{3+} + \text{Fe}^{2+} + 8\text{OH}^- \rightarrow \text{Fe}_3\text{O}_4 + 4\text{H}_2\text{O}$ 。 Fe_3O_4 纳米颗粒沉淀的形成需要对混合盐离子进行快速中和，在快速搅拌下，铁盐的混合溶液一次性倾入到过量的碱溶液中，生成大量黑色肉眼可见颗粒。由实验所得到的微小颗粒在酸性条件下重新分散为纳米级，而在碱性条件下将重新聚集，可见磁流体在碱性条件下晶粒的表面能大，容易团聚。所得到经过葡聚糖表面改性的磁流体呈棕黑色均匀液体，放置6个月以上无沉淀、无团聚，分散良好。同样，葡聚糖磁流体表面经过6-溴己酸处理后，外观和稳定性与葡聚糖磁流体无明显区别，而葡聚糖6-溴己酸结合物加入到未经改性的磁流体中，立刻生成棕黑色沉淀，并且分层为两相。对6-溴己酸直接加入未经改性的磁流体中，磁流体也立即分层沉淀，说明磁流体经过葡聚糖改性增加了其稳定性，同时表明磁流体被葡聚糖包裹，从而使在酸碱条件下极不稳定的磁流体能够得以长期稳定存在，而葡聚糖6-溴己酸结合物则未能实现对磁流体的表面改性，而且快速破坏了磁流体的稳定性，所以用于磁流体表面改性的生物高分子具有一定的选择性。改性后的磁流体的稳定性见图1。磁流体母核被葡聚糖链包裹在周围，由于葡聚糖大量羟基的亲水性使磁流体在水介质中能够得到均匀分散，表面葡聚糖长链的存在，使磁流体母核得到屏蔽，所以尽管未经改性的磁流体在6-溴己酸或者碱性条件下极不稳定，但经过改性的葡聚糖磁流体却可以在强碱性条件下与6-溴己酸反应，而稳定性不受影响。可见，经过葡聚糖改性后的磁流体大大增强了其抗酸碱能力，同时，增强了其热力学稳定性。通过在包裹磁流体的葡聚糖表面链接上的较长的有机链及其末端羧基功能基团的存在，降低了大分子葡聚糖与其他有机物反应的的空间位阻，使葡聚糖链接与羧基易于反应的药物如丝裂霉素C等作用成为可能。

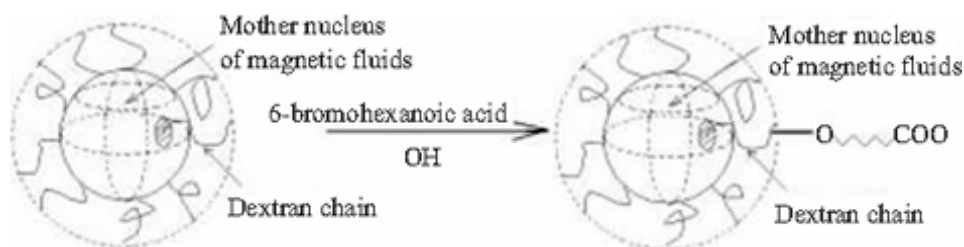


图1 经葡聚糖表面改性的磁流体及与6-溴己酸反应示意图

Fig.1 Schematic chart of dextran-modified magnetic fluid and its reaction with 6-bromohexanoic acid

2.2 FT-IR分析

图2为碱性化处理的葡聚糖的红外光谱图，在 1668 cm^{-1} 和 1392 cm^{-1} 峰，此二峰的存在是羧酸盐由于羧酸成盐而形成了两个C-O基，从而使C=O双键性几乎消失，而看不到典型的 $\nu_{\text{C=O}}$ 。其中 1668 cm^{-1} 为 ν_{as} ， 1392 cm^{-1} 为 ν_{s} 。说明葡聚糖经过碱性化处理生成了羧酸盐，与文献[10]有关描述一致。图3为葡聚糖包裹的磁流体红外光谱，对比图2的红外光谱图可见，在AD上的 $\nu_{\text{as}}\text{C-O}$ 的 1668 cm^{-1} 及 $\nu_{\text{s}}\text{C-O}$ 的 1392 cm^{-1} 分别移至DM的 1641 cm^{-1} 和 1388 cm^{-1} 处，发生了红移，说明葡聚糖和磁流体 Fe_3O_4 纳米粒表面之间发生了化学作用，而不是简单的物理包覆。图4为葡聚糖磁流体链接桥基的FT-IR图，对比图3，DMS的 1574 cm^{-1} 和 1410 cm^{-1} 两个强峰为己酸链末端羧酸盐C-O成盐后的 ν_{as} 及 ν_{s} ，而DM图没有这两个强峰出现， 2934 cm^{-1} 为 CH_2 的 $\nu_{\text{as}}\text{C-H}$ ， 2866 cm^{-1} 为 $\nu_{\text{s}}\text{C-H}$ 。由于小分子游离的6-溴己酸钠盐已经全部被透析出，因而可以认为6-溴己酸与葡聚糖链接成功。

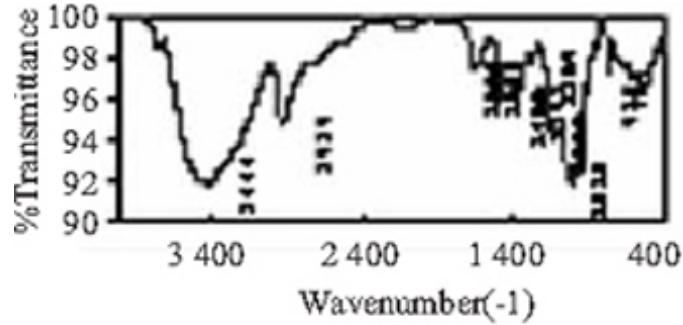


Fig.2

图2 碱性化处理的葡聚糖-70的红外光谱图

Fig.2 Fourier transform infrared spectra of alkali-treated dextran-70

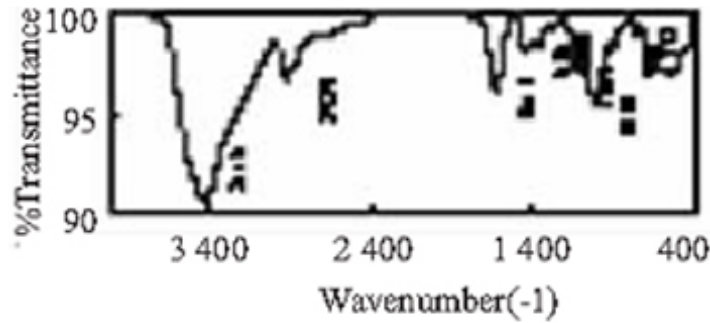


Fig.3

图3 葡聚糖作用磁流体的红外光谱图

Fig.3 Fourier transform infrared spectra of dextran-modified magnetic fluids(DM)

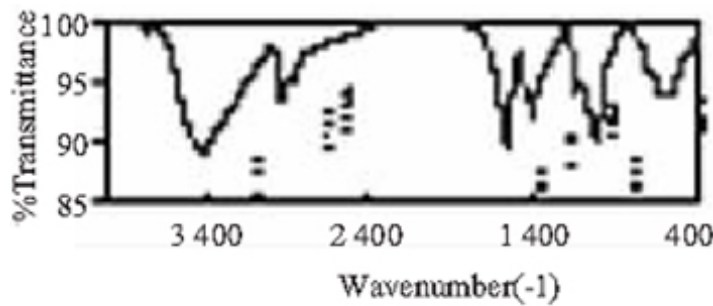


Fig.4

图4 葡聚糖磁流体与有机链链接的红外光谱图

Fig.4 Fourier transform infrared spectra of the DM with organic chain

2.3 XRD分析

为了确证磁流体改性之后没有发生结构上的改变，对它们分别进行了XRD分析。图5为未经改性的磁流体，图6为经过葡聚糖表面处理的磁流体，图7为与6-溴己酸反应后的葡聚糖磁流体。图2中在 $2\theta=30.39^\circ$ 、 35.81° 、 43.53° 、 57.59° 、 63.25° 的宽化的衍射峰分别对应于 Fe_3O_4 标准卡片上(220)、(311)、(400)、(511)、(440)面，说明所生成的产物为 Fe_3O_4 纳米核，且其晶粒细小。图中未见到其他氧化物的峰，说明在反应过程中没有发生明显的其他氧化。

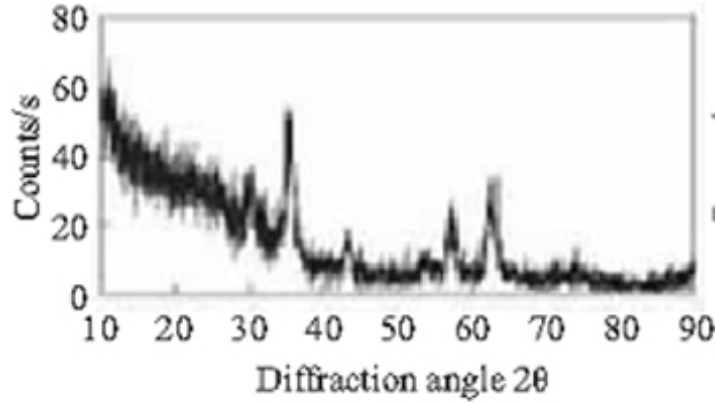


Fig.5

图5 磁流体XRD图

Fig.5 X-ray diffraction analysis of the magnetic fluid

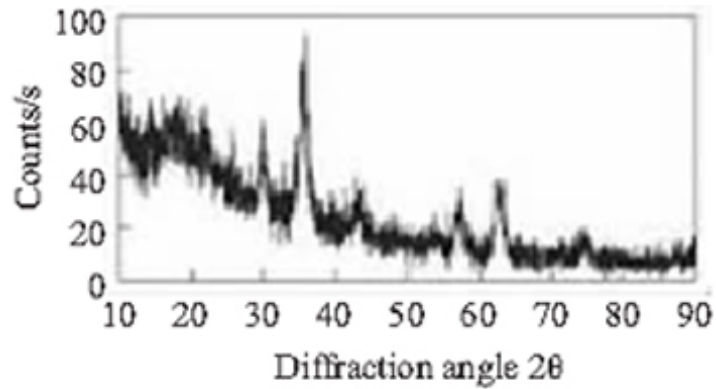


Fig.6

图6 葡聚糖磁流体XRD图

Fig.6 X-ray diffraction analyses of dextran-modified magnetic fluid

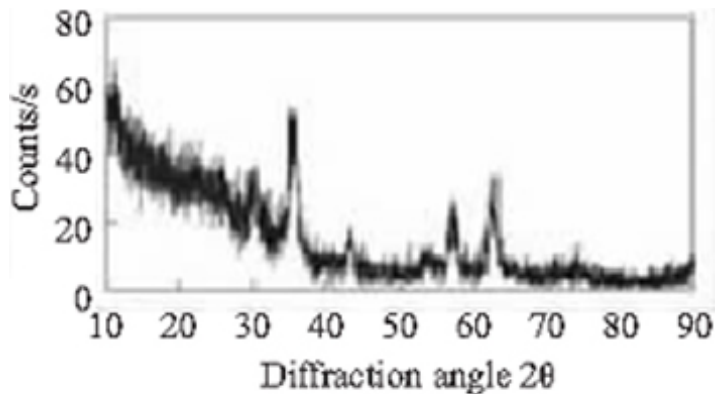


Fig.7

图7 DMS的XRD图

Fig.7 X-ray diffraction analyses of dextran-spacer conjugated magnetic fluid

根据Scherrer公式: $D_{hkl} = K\lambda / B_{1/2} \cos\theta$, 式中 D_{hkl} 为晶粒大小(沿晶面垂直方向), K 系Scherrer常数, 取作0.89, λ =X射线波长, $B_{1/2}$ =半峰宽度, 单位: 弧度, θ =布拉格角, 57.3是将度换算成弧度的换算常数。估算 Fe_3O_4 纳米微晶的粒径大小, 经计算得: $D_{311} = K\lambda / B_{1/2} \cos\theta = 0.89 \times 0.154 \times 57.3 / (0.6 \times \cos(51.59/2)) = 22.3 \text{ nm}$, 即 Fe_3O_4 纳米晶粒的大小约为22.3 nm。

与图3和图4对比可知衍射峰的位置和峰强没有发生变化, 说明在葡聚糖磁流体的表面改性过程中, Fe_3O_4 母核的结构没有发生变化, 只是表面发生了作用, 葡聚糖在磁流体表面形成了保护层, 使表面链接对磁流体稳

定性破坏明显的有机物亦未能对其母核结构产生影响。

2.4 TEM分析及激光粒度仪粒径分布分析

图8、9分别是磁流体放大50万倍、改性之后磁流体放大25万倍的透射电子显微镜图。由图5可见，未经改性磁流体的颗粒大小为20 nm，而图6中磁流体经过改性之后颗粒变为50 nm左右，且粒径分布均匀，无明显的团聚现象，表面圆整，提示磁流体表面有包合物的存在。从激光粒度仪测量结果看，未经改性的磁流体数均粒径22 nm，多分散度为0.36。图10为葡聚糖磁流体纳米粒粒径分布图，经过改性后的磁流体数均粒径大小为48 nm，多分散度为0.35，与TEM结果相吻合。

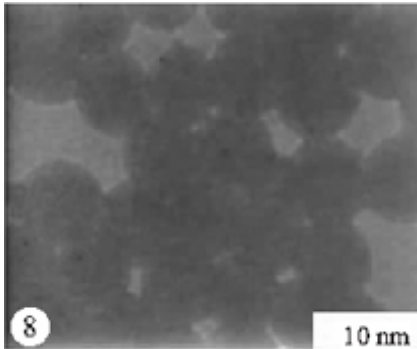


图8 磁流体的TEM图 (原放大倍数: $\times 500\ 000$)

Fig.8 Transmission electron micrograph of the magnetic fluid (Original magnification: $\times 500\ 000$)

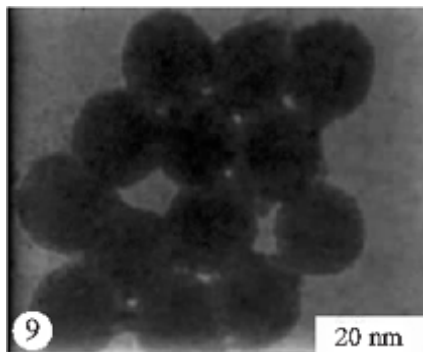


图9 葡聚糖磁流体的TEM图 (原放大倍数: $\times 250\ 000$)

Fig.9 Transmission electron micrograph of dextran-modified magnetic fluid (Original magnification: $\times 250\ 000$)

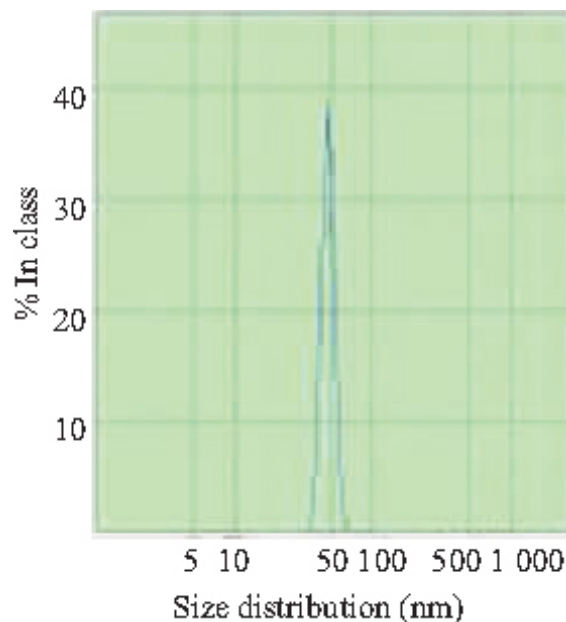


图10 葡聚糖磁流体粒径分布图

3 结论

经过改性后的磁流体有很强的抗酸碱及其他化学试剂的能力, 其母核结构没有发生任何变化, 表面葡聚糖的存在大大增强了磁流体的稳定性, 葡聚糖链接有机物链, 降低了大分子葡聚糖分子空间位阻, 增加了其反应活性, 使其与具有相应活性基团的药物结合从而实现磁性前体药物成为可能或者直接作为药物载体。

参考文献:

- [1] 康鸿业, 王允军. 铁磁流体[J]. 自然杂志, 1990, 13(12): 828-31.
- [2] Galo JM, Gupta PK, Hung CT, et al. Evaluation of drug delivery following the administration of magnetic albumin microspheres containing adriamycin to the rat[J]. J Pharm Sci, 1989, 78(1): 190-5.
- [3] 陈 骐, 孙淑英, 李潮武, 等. 抗癌药物新剂型5-Fu磁性微球载体的研究[J]. 沈阳药学院学报 (J Shenyang Pharm Coll), 1982, 15(1): 27-33
- [4] da Silva SW, Soler MG, Gansau C, et al. Study of the interactions between the surface chemisorbed layer and the surrounding media in magnetite-coated nanoparticles using Raman spectroscopy[J]. J Magn Magn Mater, 2001, (226-230): 1890-2.
- [5] Fauconnier N, Bée A, Roger J, et al. Synthesis of aqueous magnetic liquids by surface completion of maghemite nanoparticles[J]. J Mol Liquids, 1999, 83(1): 233-42.
- [6] Sun SH, Zeng H. Size-controlled synthesis of magnetite nanoparticles[J]. J Am Chem Soc, 2002, 128(28): 8204-5.
- [7] 阳承利, 官月平, 邢建民, 等. 磁性PMMA微球的制备与表面修饰[J]. 中国科学B辑 (Chin Sci: Sect B), 2004, 34 (4): 265-9.
- [8] Zhu YH, Wu QF. Synthesis of magnetite nanoparticles by precipitation with forced mixing[J]. J Nanopart Res, 1999, 1: 393-6.
- [9] Qiu XP, Françoise W. Preparation and characterization of PVA coated magnetic nanoparticles[J]. Chin J Polym Sci, 2000, 18(6): 535-9.
- [10] Hasegawa M, Hanichi T, Shoji H, et al. Biological behavior of dextran-iron oxide magnetic fluid injected intravenously in rats[J]. Jpn J Appl Phys, 1998, 37(3A): 1029-32.

参考文献:

- [1] 康鸿业, 王允军. 铁磁流体[J]. 自然杂志, 1990, 13(12): 828-31.
- [2] Galo JM, Gupta PK, Hung CT, et al. Evaluation of drug delivery following the administration of magnetic albumin microspheres containing adriamycin to the rat[J]. J Pharm Sci, 1989, 78(1): 190-5.
- [3] 陈 骐, 孙淑英, 李潮武, 等. 抗癌药物新剂型5-Fu磁性微球载体的研究[J]. 沈阳药学院学报 (J Shenyang Pharm Coll), 1982, 15(1): 27-33
- [4] da Silva SW, Soler MG, Gansau C, et al. Study of the interactions between the surface chemisorbed layer and the surrounding media in magnetite-coated nanoparticles using Raman spectroscopy[J]. J Magn Magn Mater, 2001, (226-230): 1890-2.

- [5] Fauconnier N, Bée A, Roger J, et al. Synthesis of aqueous magnetic liquids by surface completion of maghemite nanoparticles[J]. *J Mol Liquids*, 1999, 83(1): 233-42.
- [6] Sun SH, Zeng H. Size-controlled synthesis of magnetite nanoparticles[J]. *J Am Chem Soc*, 2002, 128(28): 8204-5.
- [7] 阳承利, 官月平, 邢建民, 等. 磁性PMMA微球的制备与表面修饰[J]. *中国科学B辑 (Chin Sci: Sect B)*, 2004, 34 (4): 265-9.
- [8] Zhu YH, Wu QF. Synthesis of magnetite nanoparticles by precipitation with forced mixing[J]. *J Nanopart Res*, 1999, 1: 393-6.
- [9] Qiu XP, Francoise W. Preparation and characterization of PVA coated magnetic nanoparticles[J]. *Chin J Polym Sci*, 2000, 18(6): 535-9.
- [10] Hasegawa M, Hanichi T, Shoji H, et al. Biological behavior of dextran-iron oxide magnetic fluid injected intravenously in rats[J]. *Jpn J Appl Phys*, 1998, 37(3A): 1029-32.
-

[回结果列表](#)