

## 摘 要

磁性靶向药物已成为当前抗癌研究的热点，其中磁性靶向药物载体材料的制备是极其关键的。其性能的优劣直接影响来药物的载药量、包封率及其在体内的靶向性、缓释性能。本文以阿霉素为模型药物， $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 为磁核材料，明胶为载体材料，通过乳化交联法制备了阿霉素磁性明胶微球。并利用 X 射线粉末衍射仪、透射电镜、扫描电镜、傅立叶红外光谱仪、粒度分析仪等对产物的晶型、纯度、形貌、粒度分布等进行了测试和表征。

以  $\text{FeCl}_2$  和  $\text{FeCl}_3$  为原料利用化学共沉淀法制备  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  纳米粒子，以产物得纯度和颗粒尺寸作为评价指标，通过单因素实验确定  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  纳米粒子的最佳制备条件为：以  $\text{NH}_4\text{OH}$  作为碱源；以 PEG4000 作为乳化剂； $\text{Fe}^{2+}$ 、 $\text{Fe}^{3+}$  的摩尔比为 1 : 1.5，pH 值为 10，乳化时间为 30min，反应温度为  $50^\circ\text{C}$ ，转速为 1000r/min。最佳制备条件下产物结晶状态良好，无团聚，粒径主要分布于 5nm-20nm。

利用乳化交联法制备磁性明胶复合微球，采用单因素及正交实验对磁性明胶复合微球的制备条件进行优化，确定其最佳制备条件为：span-80 与 tween-80 以 0.3/0.7 的比例形成复配乳化剂，选择戊二醛作为交联剂，明胶溶液浓度 10%，搅拌速度为 1000r/min，乳化剂用量为 3%，水油相比为 1 : 10，乳化时间为 30min，乳化温度为  $60^\circ\text{C}$ 。最佳条件下制备的产物透射电镜表明  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  粒子已经被明胶复合成球体，粒子成球性好，成球率高，大小较均匀，无粘连；红外测试表明该复合微球是由明胶和  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  共同组成；激光散射粒度分析表明该产物平均粒径为  $18\mu\text{m}$ 。

通过微球的磁吸附率、产率及形态等特性的检测，以及用紫外分光光度法测定药物微球的载药量和包封率确定出阿霉素与明胶的最佳投料比为 1 : 15。最佳投药比下药物微球的载药量 3.42%，包封率为 77.54%，平均回收率为 99.78%。采用透析法测定阿霉素磁性明胶微球的体外释放规律，表明了该药物微球有明显的缓释作用。

关键词：靶向药物；磁性微球；乳液聚合法；制备；表征

## ABSTRACT

Magnetic targeting drug has now become a hot research on anti-cancer, The drug loading, encapsulation efficiency, in targeting the body and sustained-release properties were affected directly by the magnetic targeting drug carrier material which the preparation is crucial. In this paper, the Adriamycin doxorubicin magnetic gelatin microspheres were prepared by the emulsion cross-linked method which the Adriamycin doxorubicin as a model drug, the  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  as nuclear magnetic materials and the gelatin as carrier material. And the configuration, size distribution, composition, encapsulation efficiency, as well as the release of in vitro characterization of the microspheres were taken and tested by SEM、TEM、FTIR、DLS、XRD.

The magnetic material  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  was synthesized by chemical co-precipitation reaction from  $\text{FeCl}_2$  and  $\text{FeCl}_3$ . Took the particle size and the purity of  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  as criteria, the optimal preparation conditions were obtained by single factor test. The optimal preparation condition were determined as follows: the  $\text{NH}_4\text{OH}$  as a base to the alkali source, the PEG4000 as emulsifier, the ratio of  $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$  was 2:3, the pH value was 10, the reaction time was 30min, the reaction temperature was

50°C, and the stirring rate was 1000r/min. The  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanoparticles prepared from the optimal preparation condition were dispersive and have fine scrystal structure and narrow size-distribution mainly in the range of 5nm and 20nm.

The composite magnetic gelatin microspheres were prepared by the emulsion cross-linked method. The optimal preparation conditions were obtained by single factor test. And the optimal preparation conditions were determined as follows: the concentration of gelatin solution was 10%, the stirring rate was 1000r/min, the emulsifier dosage is 3%, the ratio of water-oil is 1:10, the glutaraldehyde as cross-linking agent, the reaction time was 30min, the reaction temperature was 60°C. The composite magnetic gelatin microspheres were prepared from the optimal preparation condition were regular, no adhesions, the dispersivity and fluidity were perfect. The infrared test showed that the  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanoparticles were coated by the

## ABSTRACT

---

gelatin, the DLS test showed that the average size of composite magnetic gelatin microspheres were 18 $\mu$ m.

The optimal ratio of Adriamycin doxorubicin and gelatin were 1:15 which were determined by the absorption rate, the yield characteristics and patterns, as well as the encapsulation efficiency and drug-loaded that tested by the using of UV-MS in preparation of Adriamycin doxorubicin magnetic gelatin composite microspheres. The drug-loading of the optimal ratio was 3.42%, the encapsulation efficiency was 77.54%, and the average recovery was 99.78%. The vitro release of Adriamycin doxorubicin magnetic gelatin composite microspheres was determined by the dialysis, which showed that the slow-release effect of the drug microspheres was significant.

**Key words:** targeting drug; magnetic microspheres; emulsion cross-linked method; preparation; token

## 学位论文独创性声明

本人声明所呈交的学位论文是本人在导师指导下进行的研究工作及取得的研究成果。据我所知，除了文中特别加以标注和致谢的地方外，论文中不包含其他人已经发表或撰写过的研究成果，也不包含为获得 南昌大学 或其他教育机构的学位或证书而使用过的材料。与我一同工作的同志对本研究所做的任何贡献均已在论文中作了明确的说明并表示谢意。

学位论文作者签名(手写): 黄佳英 签字日期: 2008年12月26日

## 学位论文版权使用授权书

本学位论文作者完全了解 南昌大学 有关保留、使用学位论文的规定，有权保留并向国家有关部门或机构送交论文的复印件和磁盘，允许论文被查阅和借阅。本人授权南昌大学可以将学位论文的全部或部分内容编入有关数据库进行检索，可以采用影印、缩印或扫描等复制手段保存、汇编本学位论文。同时授权中国科学技术信息研究所将本学位论文收录到《中国学位论文全文数据库》，并通过网络向社会公众提供信息服务。

(保密的学位论文在解密后适用本授权书)

学位论文作者签名: 黄佳英

导师签名: 邱江波

签字日期: 2008年12月26日

签字日期: 2008年12月26日

## 第 1 章 文献综述

### 1.1 磁性靶向给药系统

#### 1.1.1 磁性靶向药物的定义

磁性靶向药物,是利用天然的或合成的高分子材料将磁性纳米粒子、固体或液体药物包覆而成的具有靶向性的磁性药物,应用于体内后,在外加磁场的作用下,可在体内定向移动、靶向特定的肿瘤细胞或生物分子并缓慢释放药物。从一定意义上讲,磁性靶向药物实现了医疗工作者内科用药外科化的理想,因此,仅从用药方法上讲,磁性靶向药物是一次重大革新。

#### 1.1.2 磁性靶向药物的组成

磁性靶向药物由磁性材料、骨架材料(药物载体)及药物三部分组成。

第一部分:磁性材料。磁性材料为磁性靶向药物提供磁性,同时也起药物载体作用。常用的磁性材料有  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  磁粉、纯铁粉、铁磁流体、羟基铁、正铁盐酸、磁赤铁矿等。作为磁性药物毫微粒所用的磁性材料粒度越小越好,一般直径在 10-30nm。同时要求具有良好的磁响应和灵敏度,在外加磁场作用下能定向移动和集中,固定在肿瘤部位。其中  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  因制备简单,性质稳定,磁响应性强,灵敏度高,整个疗程所用的载体含铁量不超过贫血病人的常规补铁总量,除部分被人体利用外,其余的磁性粒子可通过皮肤、胆汁、肾脏等安全排除体外,获得粒径为纳米级、磁响应性强的  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  磁性粒子是实现药物磁导向的先决条件。

第二部分:药物。磁性靶向药物中的药物也必须具备一定特性:(1)不与骨架材料和磁性材料起化学反应;(2)半衰期短,需频繁给药,如阿霉素<sup>[1,2]</sup>、顺铂<sup>[3,4]</sup>、5-氟尿嘧啶<sup>[5]</sup>、胰岛素<sup>[6,7]</sup>等。半衰期小于 1h 或大于 24h 不宜用于制备磁性靶向药物毫微粒;(3)剂量小,药效平稳,溶解度好,例如米托蒽醌<sup>[8,9]</sup>、平阳霉素<sup>[10]</sup>。剂量大,药效剧烈,溶解度差的药物不宜用于制备磁性毫微粒。(4)药物剂量不需要精密调节,像降压药、抗心率失常药、组胺药、抗精神失常药等需要精密调节药物剂量的药物也不宜用于磁性毫微粒的制备。已与磁性材料制备

成微球的抗肿瘤药物有:阿霉素、丝裂霉素 C、甲氨碟呤、米托蒽醌、顺铂、平阳霉素、氟尿嘧啶等,它们都具有水溶性且不与磁性材料起化学反应,其中以阿霉素应用最广泛。

第三部分:骨架材料。骨架材料是用来支撑磁性材料和药物的,首先应具有良好的生物相容性,不会引起免疫反应,能够在体内逐步降解清除,同时必须具备一定的通透性,能够使被包覆的药物释放出来,骨架材料都是一些高分子材料,氨基酸聚合物类、聚多糖类以及其它高分子材料。氨基酸聚合物类又可分为天然的和合成的两类,天然氨基酸聚合物有各种白蛋白、球蛋白、明胶等;合成类的主要有多肽,例如聚赖氨酸和聚谷氨酸等。聚多糖类有葡聚糖、壳聚糖、阿拉伯胶等。还有一些根据一定要求人工合成的高分子材料,如乙基纤维素、聚乙烯亚胺、聚乙烯醇的共聚物、聚丙烯醇、有机硅高分子、聚苯乙烯类、聚乳酸及其共聚物、聚己内酯及其共聚物等。国内外现在大多采用的是白蛋白、葡聚糖、壳聚糖、聚乳酸以及聚苯乙烯类等。

### 1.1.3 主要载体介绍

磁性药物的载体如表 1-1 所示<sup>[11]</sup>,自美国学者 Widder 报道制备磁性白蛋白微球以来,Devineni 等<sup>[12,13]</sup>不断改进药物和磁性粒子的结合,其中有采用氨基乙醇、聚乙二醇(PEG)、中性葡聚糖或阳离子氨基葡聚糖制备磁性粒子—化疗药物复合物的方法,所携带的药物有氨甲碟呤、阿霉素、丝裂霉素等;Lubbe<sup>[14]</sup>、Aexiou 等<sup>[15]</sup>采用铁磁流体作为药物的载体;Yanase 等<sup>[16]</sup>采用阳离子脂质体等制备磁性脂质体作为化疗药物的载体;Viroonchatapan 等<sup>[17]</sup>首次提出了热敏磁性脂质体,在外磁场作用下将药物输送到靶部位,通过高频电磁场和激光脉冲加热使药物从脂质体中释放;2000 年 FeRx 公司 Rudge 等<sup>[18]</sup>将金属铁和活性碳混合在球磨机中制成磁性微球。

表 1-1 磁性药物载体  
Table 1-1 development of magnetic carriers for drug

药物的载体	时间	作者	生物降解	形状
磁性红血球	1976	Zimmernann U, Pilwat C	可	泡状
磁性白蛋白微球	1978	Widder JK	可	微粒
磁性乙基纤维素微胶囊	1979	Kato T, Nemoto R	不可	微粒
磁性乳胶	1980	Akimoto M, Morimoto Y	可	微粒
磁性淀粉微球	1983	Mosbach K	可	微粒
磁性聚烷基丙烯酸酯纳米粒	1983	Ibrahima A	可	微粒
磁性脂质体	1986	Kiwada H	可	微粒
	1993	Babincova M	可	微粒
	1994	Shinkai M		
	1995	Viroonchatapan E		
	1997	Babincova M, Babinee P		
	1998	Yanase M		
	1999	Bulte JW		
	2000	Kubo T		
	1996	Lubbe As		
铁磁流体	2000	Alexious	可	微粒
	1998	Pulfer SK, Gallo JM		
磁性葡聚糖	2000	Rudge SR, Kurtz TL	可	微粒
铁碳复合物			可	微粒

目前制备的药物的载体主要有：磁性蛋白微球、磁性脂质体和铁磁流体。制备的主要方法：热固化法等制备磁性蛋白微球；逆相蒸发法等制备磁性脂质体；化学吸收绑定法制备铁磁流体复合物。磁性药物注射方式通常采用动脉、静脉注射、口服。

最初的药物载体材料多数是非生物降解材料，如聚苯乙烯、二乙氧乙基纤维素、聚丙烯酰胺、聚丙烯酸酯类等。用这类载体材料制备纳米粒类工艺较简单，但载体毒性较大，其在体内又不能降解，滞留时间长，对人体正常生理功能有一定影响，故已不多用。目前使用较多的是天然或合成的生物降解材料。白蛋白、球蛋白、明胶等氨基酸聚合物作为载体材料因为容易团聚，很难达到纳米级，而且载药量低，从而限制它们在磁性靶向给药系统中的应用，目前研究中较多都是采用聚多糖类高分子材料作为载体材料，壳聚糖和明胶更是现在的研究热点，特别是明胶，不仅具有良好的生物相容性和生物可降解性，且具

有多种生物活性。

## 1.2 磁性微球的主要特性

### 1.2.1 小尺寸效应

相对于普通磁性颗粒材料,磁性微球具有良好的表面效应和体积效应,具体反映在其比表面积激增,微球官能团密度和选择性吸附能力增大,吸附平衡时间大大缩短<sup>[19]</sup>;磁性纳米微球的磁核尺寸一般为 20nm 左右,而磁性纳米微球的粒径一般在 0.1—15 $\mu\text{m}$  之间。根据不同的需要,即可以选择不同的微球粒径。例如 7—12 $\mu\text{m}$  粒径的微球具有明显的肺部靶向效应;而平均直径小于 1 $\mu\text{m}$  的磁性白蛋白纳米微粒,则可以进入组织间隙并被靶细胞(肿瘤细胞)吞噬,从而可以在细胞(亚细胞)水平供药。而在栓塞中,则要求粒径稍大一些。比如 10~30 $\mu\text{m}$  的磁性明胶微球已经被证实对狗的肾动脉栓塞具有良好效果。此外,由于磁性载体具有高的选择吸附能力,所以它们的载药能力也较大,一般随着微球粒径的减小,其载药量和药物的包埋率也都提高。

### 1.2.2 磁响应性

磁性微球具有很好的选择性磁响应性,当磁性四氧化三铁晶体的粒径小于 30nm 时,具有超顺磁性,从而可以避免在使用中粒子之间发生磁性团聚;利用磁性纳米微球的磁响应性,在外加磁场作用下,磁性纳米微球可以方便地进行分离和磁性导向。比如用免疫磁性微球从骨髓中分离癌细胞,用丝裂霉素—聚碳酸酯磁性微球对人裸鼠肝模型进行靶向治疗。磁性微球中磁核的含量是反映微球磁响应性的一个重要参数,磁核含量为微球总重量 20%~50%为最佳。对于载药的磁性纳米微球,应用磁性的靶向过程就是血管内血流对微粒的推力和磁铁产生的磁力的竞争过程,当磁力大于毛细管的推力时,磁性载体则被截留在靶部位。已经证明,在血流速率为 0.55~0.1cm/s 的血管处,在 0.8T 的外磁场下,就足以使含有 20%的磁性载体全部滞留在靶器官中。当作为磁核的金属氧化物粒子的直径小于 30nm 时,具有超顺磁性,即在磁场中有强磁性,没有磁场时磁性很快消失,从而使磁性纳米微球能够在磁场中不被永久磁化,因此在机体内既安全又易于控制<sup>[20]</sup>。



### 1.2.3 生物相容性和生物降解性

在生物工程中,尤其是生物医学领域中,生物相容性和生物降解性是磁性载体在生物及医学中应用的重要方面。磁性纳米微球的结构中的壳层,大都使用生物高分子如多聚糖\蛋白质等具有良好的生物相容性,它们在人体内安全无毒,并且可生物降解。载体与药物或基因片段等定向进入靶细胞之后,表层的载体被生物降解,芯部的药物释放出来发挥疗效。避免了药物在其它组织中释放,从而提高药物疗效。这在靶向药物中尤其重要。磁性纳米微球的磁核,可以很方便的通过人体自然排出,而不会影响人的健康<sup>[20]</sup>。

### 1.2.4 功能基团特性

由于磁性微粒表面包覆有高分子材料,而生物高分子带有多种具有反应活性的功能基团,如 $-CHO$ ,  $-OH$ ,  $-COOH$ ,  $-NH_2$ , 就可连接具有生物活性的物质,如药物 DNA、RNA、免疫蛋白、生物酶等。同时也可在颗粒表面偶联特异性的靶向分子,如特异性配体、单克隆抗体等,通过靶向分子与细胞表面特异性受体结合,在细胞摄粒作用下进入细胞内,实现安全有效的用作靶向性药物基因治疗、细胞表面标记、同位素标记等<sup>[20]</sup>。

### 1.2.5 理化性质

磁性微球的物理化学性质稳定,具备一定的机械强度和化学稳定性,能耐受一定浓度的酸碱溶液和微生物的降解,其内含的磁性物质不易被氧化、磁性能不易下降,并且具有一定的生物相容性,不会对生物体造成明显的伤害;磁性微球表面本身具有或通过表面改性带有多种活性的功能基团(如 $-OH$ 、 $-COOH$ 、 $-NH_2$ 等),可连接生物活性物质(如核酸、酶等),也可以偶联特异性分子(如特异性配体、抗体、抗原等)来专一性的分离生物大分子<sup>[19]</sup>。

## 1.3 磁性微球的制备方法

磁性微球是一种广泛使用的有机固相合成和生物分子固定化的载体,固定化的生物分子通常在生物医学与生物工程的研究和实践中用作亲和分离分析的配基,亦可作为生物反应的催化剂或药物。由于磁性微粒径一般很小,比表面积大,故而偶联容量较高,悬浮稳定性亦较好,便于各种反应高效而方便地进行;又因其具有顺磁性,在外磁场的作用下固液相的分离十分简单,可省去离

心、过滤等繁杂操作，并可在磁场作用下定位<sup>[21]</sup>。Cuyper<sup>[22]</sup>等用磷脂处理纳米级的磁性粒子，制得磁性脂质体微球；Dekker<sup>[23]</sup>将磁性粒子悬浮于聚乙烯亚胺(PEI)溶液中，通过过滤，干燥处理得到外包 PEI 的磁性微球；Hasegama<sup>[24]</sup>等利用葡聚糖制得了葡聚糖磁性微球；Gupta<sup>[25]</sup>等用牛血清清蛋白和棉籽油对磁性粒子进行处理，得到外包牛血清蛋白的磁性微球。磁性无机物微球则主要是通过无机盐类共沉淀法来制备的。Chen Qi<sup>[26]</sup>等通过  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  与  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  在 NaOH 溶液中共沉淀制得具有超顺磁性的  $\text{MgFe}_2\text{O}_4$  的纳米微粒；Kuznetsov<sup>[27]</sup>等制得了超顺磁性的 Fe-C 微球。制备磁性微球的方法很多，主要根据磁性微球的结构来区分，有以下几种：

### 1.3.1 共沉淀法

共沉淀法是在生成磁性物质( $\text{Fe}_3\text{O}_4$  或  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ )的同时产生磁性高分子微球的制备方法，即先将高分子物质溶解，然后依次加入  $\text{Fe}^{2+}$  和  $\text{H}_2\text{O}_2$  或  $\text{Fe}^{2+}$  和  $\text{Fe}^{3+}$ ，搅拌的同时滴加碱性溶液，通过氧化沉淀或共沉淀反应，这样磁性物质一产生就被包裹，形成核-壳磁性微球。国内的孙敏莉等<sup>[28]</sup>利用此法合成平均粒径在 200nm 左右的 DEAE-葡聚糖磁性微球，DEAE-葡聚糖对磁性纳米粒子实现了良好的包覆，并且微球的球形度好。国外的 Lee 等<sup>[29]</sup>通过在聚乙烯醇(PVA)的水溶液中溶解铁盐，然后用共沉淀法，形成稳定分散的 PVA 包裹的磁性纳米颗粒。Honda 等<sup>[30]</sup>先将壳聚糖的溶液和含铁盐与亚铁盐溶液在激烈搅拌下混合均匀，然后加氨水恒温静置，经过反应处理后制得壳聚糖磁性纳米微球。

共沉淀法的优点是制备方法简单，避免了制取磁流体或均匀分散磁粒子的相关处理，制得的磁性微球粒径较小(几 nm 到几百个 nm)，比表面积大。缺点是磁性微球大小不均匀、磁响应性较差，操作时需要较强的外加磁场。

### 1.3.2 喷雾干燥法

在一定压力下把热明胶溶液通过喷嘴喷出，形成的雾状液滴蒸发掉水分而形成微球，调节压力、温度和喷嘴进出口的直径可以得到不同大小的产品。此法制得的微球直径比较均匀。Huang<sup>[31]</sup>等用此法制得了直径为 1~4 $\mu\text{m}$  的明胶-壳聚糖复合微球，发现明胶的比例对产品大小、形状和表面形态有显著影响；Bonferoni<sup>[32]</sup>等则制备了直径小于 10 $\mu\text{m}$  的明胶-卡拉胶复合微球，但产品彼此粘连，球形也较差。王强斌<sup>[33]</sup>等将纳米磁流体分散在聚丙烯腈的 N,N-二甲基甲酰胺

胺(DMF)溶液中,混合均匀后进行喷雾,得到外形规整、粒径分布较窄、磁含量约15%的聚丙烯腈磁性微球,得到的磁性微球可作为固定化酶的载体。

### 1.3.3 包埋法

包埋法制备磁性微球主要是通过范德华力、氢键、配位键和共价键等作用将水溶性高分子物质缠绕在无机磁性颗粒表面,形成聚合物包被的磁性微球。安小宁等<sup>[34]</sup>用壳聚糖直接包埋磁粉制备出高磁性的壳聚糖微球,并研究了包埋磁粉使用的壳聚糖与磁粉用量的比例对磁性壳聚糖微粒磁性的影响,结果表明,磁性壳聚糖微粒的磁性与壳聚糖的用量成反比。采用此法制备磁性微球优点是方法简单,微球表面不需要化学修饰就含有活性功能基团,可以直接偶联所需的配基。缺点是制备的磁性微球大小难以控制,粒度分布宽,形状不规则,不同微球磁性物质的含量相差很大,而且壳层中易混有杂质,因此用于免疫测定和细胞分离时受到很大的限制。如张密林<sup>[35]</sup>等报道了用羟甲基纤维素对磁性微球进行改性,制备羟甲基纤维素的磁性微粒。邱广亮<sup>[36]</sup>等采用乳化复合技术制备出粒径为20~300nm的具有磁核的琼脂糖复合微球。

### 1.3.4 单体聚合法

单体聚合法包括分散聚合、乳液聚合、悬浮液聚合三种。是将磁性粒子用表面改性剂、偶联剂、引发剂等处理后分散到含有聚合物单体的溶剂中进行聚合反应。通常以磁性粒子为活性中心进行单体聚合。该法的特点是制得的高分子微球磁响应性强,形状较规则,大部分成圆球状,且粒度分布较均匀,但是其粒径较大,疏水性单体聚合生成的磁性微球表面一般不含功能活性基团,需要通过表面化学改性才能带上活性基团。

#### 1.3.4.1 乳液聚合法

乳液聚合法是将金属盐和一定的沉淀剂形成微乳状液,在较小的微区内控制胶粒成核和生长,经过热处理后得到纳米粒子。该法的特点是可以调整微乳液的组成和结构,实现对粒子尺寸、形态、结构乃至物性的人为调控,制得的粒子分散性好。另外该方法还具有实验装置简单、操作方便、能耗低、应用领域广等优点<sup>[37]</sup>。刘雪奇<sup>[38]</sup>以苯乙烯(St)和丙烯酸为共聚单体,以氧化苯甲酰(BPO)为引发剂,用分散聚合法制得了含羟基的磁性物质为核、高分子为壳的复合微球,微球粒径大约在1~5 $\mu\text{m}$ ,核心 $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 10nm左右。分散聚合法对于合成大

粒径、单分散的磁性高分子具有较大优势。胡书春<sup>[39]</sup>用聚乙二醇(PEG)处理  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  磁流体,然后加入聚合反应的引发剂过硫酸钾(KPS),充分搅拌后静置、溶胀。然后分散到苯乙烯(St)单体与稳定剂、分散剂的混合溶剂中制成乳化体系,进行乳液聚合制得磁性物质为核高分子为壳的复合微球。乳液聚合可在提高聚合速率的同时提高分子量,聚合产物的粒径小( $0.05\sim 0.2\mu\text{m}$ ),比常见悬浮聚合法制得的产物的粒径( $50\sim 200\mu\text{m}$ )要小得多。

#### 1.3.4.2 悬浮聚合法

悬浮聚合和乳液聚合类似,将磁流体加入到高分子单体中,不加乳化剂的情况下,借助高速搅拌的作用将单体分散成小液滴,单体在小液滴中反应,得到磁性高分子微球。王胜林<sup>[40]</sup>等采用悬浮聚合法制备了聚苯乙烯磁性微球。将  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  磁性粒子用一种复合分散剂进行表面处理后分散到苯乙烯中,从而形成苯乙烯磁流体,在磁流体中加入引发剂单体二乙烯基苯(DVB),然后将磁流体分散在水中,经过高速剪切乳化,形成稳定的微悬浮液,在稳定的温度下发生聚合反应。最后过滤分离,得到包覆良好的磁性微球。

乳液聚合与悬浮聚合法得到的磁性微球的粒径不同,采用乳化交联法可得到纳米级的磁性微球,而悬浮聚合法得到的磁微球一般为微米级。乳液聚合法制备磁性微球过程中需加入乳化剂,因此,需要进行洗涤、热处理等一些后续的处理。采用不同的聚合方法,可制备不同粒径的磁性微球。

#### 1.3.5 界面沉积法

界面沉积法可用于制备核壳型和多层型磁性微球,Furusawa 等<sup>[41]</sup>的方法是预先制备一种表面含有某种功能基团(如 $-\text{SO}_3^-$ 、 $-\text{COO}^-$ )的聚合物乳胶粒,与纳米磁性颗粒均匀混合,通过加入电解质或者调节 pH 值使聚合物胶粒与磁性颗粒表面携带的电荷相反,磁性颗粒借助静电吸引而沉积在聚合物乳胶粒表面形成包覆层,形成 B 型磁性微球;如果以此乳胶粒为种子进行乳液聚合,表面再包覆一层聚合物,就可以形成 D 型结构的磁性聚合物微球。也有些学者则采用先制备磁性颗粒,然后通过静电吸附在磁性颗粒的表面沉积一层物质而形成 A 型磁性微球。界面沉积法制备的微球,磁含量均一、粒度可控、均匀、但是制备过程复杂。

## 1.4 磁性微球的应用

由于磁性高分子微球具有磁性,在磁场作用下可定向运动到特定部位,或迅速从周围介质中分离出来具有磁响应性和不同的表面功能性,因此自70年代中期以来,磁性高分子微球在许多领域的应用研究也日益增多。下面就磁性高分子微球在部分领域的最新应用进展做一简介。

### 1.4.1 固定化酶

固定化酶是指利用物理吸附或化学结合法将自由酶固定到载体上以提高酶的操作稳定性和反复回收利用酶的技术。Munko<sup>[42]</sup>制备了纤维素等三种磁性粒子,用于凝乳蛋白酶固定化,研究了不同壳层、不同磁核及粒径对酶的活性及固定量的影响。Torchilin<sup>[43]</sup>等进行了磁性交联葡聚糖作为固定化载体的研究工作。Bendikiene<sup>[44]</sup>等制备了磁性壳聚糖微球,用作固定化载体。酶被固定在这种载体上之后,可以很容易地用磁性装置从反应的混合液中分离回收。由于生物高分子具有很多官能团,如—NH<sub>2</sub>、—COOH、—OH等,酶分子可通过物理吸附、交联、共价偶合等方式固定在磁性微球表面。磁性生物高分子微球固定化酶有以下优点:易于将酶与底物和产物分离;提高酶的生物相容性和免疫活性;提高酶的稳定性;操作简便,可降低成本。

### 1.4.2 细胞分离

有效的细胞分离是临床和免疫学的基本而重要的步骤。磁性微球在细胞分离中的应用之一是血液中红细胞的分离;另一种应用是在临床进行自身骨髓移植时用于清除骨髓中已转移的癌细胞、异体骨髓移植时清除骨髓中的T细胞等。康继超<sup>[45]</sup>等用物理吸附和化学键共价结合的方法,将抗人膀胱癌单克隆抗体连接到预先制备的聚苯乙烯磁性微球表面,构建了能特异地与靶细胞结合并赋予其磁响应性的免疫磁性微球(Immunomagnetic microspheres IMMS),用于从骨髓中分离癌细胞。实验证明,所构建的IMMS可有效地和靶细胞结合。用IMMS从动物骨髓中分离癌细胞的初步实验表明,IMMS可有效清除癌细胞,而骨髓细胞仅有少量损失。Jhunu Chatterjee<sup>[46]</sup>用血凝素修饰聚苯乙烯磁微球和白蛋白微球,用于红细胞的分离。用血凝素修饰聚苯乙烯微球和白蛋白微球后,其具有良好的结合红细胞的能力。白蛋白微球与合成的聚合物微球相比较更具优势。因为经白蛋白微球分离后的红细胞能重新注射进入病人的体内。

### 1.4.3 免疫测定

免疫测定的目的是确定溶液中免疫活性分子，如抗原、抗体的浓度。研究者利用磁性高分子微球比表面积大，易分离，表面可功能化等优点将其用于免疫测定，例如用于氨甲蝶呤、甲状腺素、催乳激素、地谷新等的放射免疫测定 (RIA)；内质醇(氢化可的松)的荧光免疫测定(FIA)；IgE 的酶免疫测定(EIA)；VB<sub>12</sub> 的非放射免疫测定 (Non-RIA) 等。与传统方法相比，它们具有特异性好，灵敏度高，准确性好的优点，如用抗免 IgG-PS 磁性微球对苯甲酸胺的测定效果增加近 40 倍；将磁性微球用于免疫电化学发光分析，对食品和环境水样中的大肠杆菌和沙门氏伤寒菌进行了快速准确的测定；利用硅烷化正铁盐进行放射性免疫测定<sup>[47]</sup>。

### 1.4.4 磁控栓塞

磁性药物微球是磁性药物制剂的一种类型，是靶向给药系统的新剂型。在磁性纳米粒子表面涂覆高分子，再与蛋白质相结合。以这种磁性纳米粒子作为药物的载体，然后静脉注射到动物体内，在外加磁场下通过纳米微粒的磁性导航，使其移向病变部位，就可达到定向治疗的目的。惠旭辉等<sup>[48]</sup>用自制的聚甲基丙烯酸甲酯 (PMMA) 磁性微球血管内栓塞效果及对血细胞的影响进行研究，术中栓塞观察：注射磁性微球后均有磁栓固位于磁控处股动脉管腔内，形成灰黑色栓塞，栓塞以下动脉搏动消失，颜色苍白。磁栓 15 分钟断磁，磁栓无脱落及移位，股动脉下段血供无再通。Cordula<sup>[49]</sup>等通过实验证明使用多种聚合物基体材料可以提高不同种磁性微球的性能，磁性杂化物如聚糖-聚乳酸、硅-聚苯乙烯、硅-聚糖、聚糖-聚脲基丙烯酸烷基酯、聚糖-聚苯乙烯颗粒。通过动力学研究测试了其固定蛋白质的能力，这些性能的提高导致了磁性微球在药理学、分子生物化学和生物医学的新型应用。

### 1.4.5 有机和生化合成

近几年来，组合化学因能快速合成巨大的化合物库，用以满足生物学测试的要求，因此得以迅猛发展，从而使固相有机合成技术得以复兴。而以磁性微球为载体的固相有机合成技术，不仅可充分发挥固相合成的优势，而且在反应完成后，可迅速地将目标产物从剩余反应物、副产物及溶剂中方便地分离出来，且不影响产物的性质与纯度。Chang<sup>[50]</sup>等合成了一种新型的高分子磁球，利用 IR、

XRD、SEM 测定了其乳化剂的吸收和沉积，证明了此种微球具有良好的热敏性。Sucholeiki<sup>[51]</sup>等分别制备了具有高浓度悬垂功能基和具有亲水性表面的复合磁性微球，并将该复合磁性微球用于核苷酸、多肽、单糖、多糖的合成。该微球外层为低度交联的 PS 壳体，内部为含有 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 磁粒的高度交联 PS 核。由于内外交联度的不同，既保证了在各种有机溶剂（二甲基甲酰胺(DMF)、二甲基亚砷（DMSO）等）中的充分溶胀，又可确保磁粒不损失。

#### 1.4.6 环境 / 食品生物检测

以磁性微球为基础的免疫磁性分离（IMS）技术不但广泛应用于医学、生物学的各个领域，而且在环境和食品卫生检测方面的应用也初见端倪。沙门氏菌是引起食物中毒最常见的菌属之一。曾有报道用免疫磁性分离技术从乳及乳制品、肉类和蔬菜中分离出沙门氏菌，其检测限为每克  $1 \times 10^2$  个细菌。免疫磁分离技术可快速将目标微生物从样品中分离出来，如果和其它检验方法，如酶联免疫吸附分析（ELISA），多聚酶链式反应（PCR），荧光免疫分析（FIA），电子化学发光（ECL）相结合，则可数倍地提高分离效率和检测极限。如用以免疫磁性微球为固相载体的 ECL 技术探测土壤中的 B.anthraxis 孢子；Yang<sup>[52]</sup>等合成了一种表面含酮类的电化学加成磁性高分子微球，其可以与胺反应，随着其表面胺类衍生物的减少其检测性也逐渐降低。张津辉<sup>[53]</sup>等在磁流体存在的条件下，采用 <sup>60</sup>Co γ 射线源，于常温下辐照引发聚合水溶性的丙烯酰胺和烯丙胺，制得了具有良好理化性能的磁性微球，并将其用于固相放射免疫分析及微量蛋白质亲合富集，收到了较好的效果。

#### 1.4.7 靶向药物

目前医药学研究的热点。磁性纳米粒子表面涂覆高分子材料后，外部再与蛋白质结合，将这种载有高分子和蛋白的磁性纳米粒子作为药物的载体，注射到生物体内，在外加磁场的作用下，通过纳米粒子的磁性导向性使药物更方便地移向病变部位，增强其对病变组织的靶向性，有利于提高药效，达到定向治疗的目的，从而改变目前放疗和化疗中正常细胞和癌细胞统统被杀死的状况。动物临床实验证实，Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 磁性纳米粒子是应用于这种技术的最有前途的载体，它在治疗结束后可以通过人体肝脏和脾脏自然排泄。Urs HaK feli<sup>[53]</sup>在磁性微球上标定 β<sub>2</sub> 放射铈(Re)-188,磁性载体是由金属铁和活性炭组成。由于磁性载体

(MTC)能有效靶向到肿瘤部位,所以 Re-MTC 能集中对肿瘤部位辐射治疗,减小了对周围组织和器官的辐射。Muniyandy Saravanan<sup>[54]</sup>制备了用于治疗关节炎的二氯苯二磺酰钠凝胶磁性微球。二氯苯二磺酰钠是一种抗炎和止痛药,能用来治疗关节炎。由于生理半衰期短,需要持续频繁的注射以维持其治疗效果,需要缓释以长期维持其浓度。同时这种药物具有很强的副作用,如胃溃疡、肠胃出血、过敏性反应等。制备凝胶磁性微球靶向药物到需要的部位,实验表明此微球的药物释放超过 18 天,采用超声波能加快药物的释放。

## 1.5 磁性药物微球的表征方法

### 1.5.1 磁性药物微球的形貌表征

磁性靶向药物毫微粒的形貌通常可由透射电镜、环境扫描电镜来表征。

透射电镜(TEM)是以电子束透过样品经过聚焦与放大后所产生的物像,投射到荧光屏上或照相底片上进行观察。透射电镜的分辨率为 0.1~0.2nm,放大倍数为几万~几十万倍。透射电镜照片不但可以直接给出药物毫微粒颗粒大小和形状。而且还可以给出样品内部的超微结构。

扫描电镜(SEM)是用极细的电子束在样品表面扫描,将产生的二次电子用特制的探测器收集,形成电信号运送到显像管,在荧光屏上显示物体。(细胞、组织)表面的立体构像,可摄制成照片。扫描电镜样品用戊二醛等固定,经脱水和临界点干燥后,再于样品表面喷镀薄层金膜,以增加二次电子数。

### 1.5.2 粒径及粒径分布

磁性靶向药物毫微粒粒径及粒径分布通常可用沉淀法、电超声和光散射法进行测试。沉降法粒度分析方法<sup>[55]</sup>是通过颗粒在液体中沉降速度来测量粒度分布的方法。主要有重力沉降式和离心沉降式两种光透沉降粒度分析方式,适合毫微粒粒度分析的主要有离心式分析方法。常用的沉降法存在着检测速度慢、重复性差、对非球形粒子误差大、不适用于混合物料、动态范围窄等缺点。

电超声粒度测量范围为 5~10 $\mu\text{m}$ ,其测试原理为当声波在样品内部传导时,通过测试声波衰减谱,计算衰减值与粒度的关系<sup>[56]</sup>。

激光光散射法<sup>[57,58]</sup>是利用激光遇到粒子时发生散射特性来工作。它通过测定溶液中高分子或胶体质点的平动扩散系数,从而得知其大小或流体力学半径。



测试原理是当分散体系的质点小于光的波长时,将产生散射光。散射光的强度与质点大小和分布 $u$ 、质点形状以及两相的折射率有关。通常颗粒小,散射角大;颗粒大,散射角小。据此,利用光散射技术可测定质点的大小和分布。测定的粒径范围为几个纳米到五个微米之间。激光光散射法能够准确得到粒子的分布及各种平均粒径,是测定纳米粒子大小和粒径分布的理想工具。

### 1.5.3 磁性靶向药物微球的组成

磁性靶向药物微球的化学组成常采用红外光谱法、核磁共振谱法来表征。

红外光谱法<sup>[59]</sup>是利用红外辐射与物质分子振动或转动的相互作用,通过记录试样的红外吸收光谱进行定性、定量和结构分析的方法。物质因受光的作用会引起分子或原子的振动,从而产生对光的吸收。从吸收光谱中对吸收频谱的位置与形状可以判断未知物。利用红外光谱来测量颗粒中的化学键和功能基,从而判断产物组成是红外光谱分析的最直接应用。采用红外光谱(IR)可以对磁性药物微球的基体、功能基及磁性无机物质进行定性分析。

核磁共振谱法<sup>[59]</sup>是一种吸收光谱分析法,与红外吸收光谱等分析方法的不同之处在于分析试样必须置于强磁场中,原子核才会吸收一定波长的电磁辐射。核磁共振波谱采用波长 10~100nm(属于射频区)的电磁辐射作为光源照射有机物分子。在强磁场中,原子核的能量将分裂成两个或两个以上的量子化能级,当用适当波长的电磁辐射照射处于磁场中的原子核时,原子核便在这些磁诱导能级之间发生跃迁,并产生强弱不同的吸收信号。

### 1.5.4 磁性靶向药物微球中药物含量的测定

#### 1.5.4.1 磁性靶向药物检测的标准

载药量和包封率是评价磁性药物毫微粒载药系统质量的两个重要指标:

载药量(drug loading, DL)是指一定量载体所能载带的药物量,是对载体材料载药性能的一个考察,是衡量该制剂在临床应用中是否可行的重要指标。载药量越高,特定剂量药物所需的载体量就越低。

包封率(encapsulation efficiency, EE%) 又称包裹率。是指包封在微球或微粒内的药物量占投入药物总量的百分比。代表了制剂工艺的可行性。包封率越高,体系中游离药物就越少,药物在制备过程中的利用率也就越好。

#### 1.5.4.2 磁性靶向药物含量的测定方法

微球中药物含量的测定方法有多种，一般可分为直接测定和从微球分离出药物再测定。

直接测定又可分为放射性标记法和消解微球后测定。放射性标记法可直接测定微球中药物的含量，但受药物的可标记性和放射性污染所限制；消解微球后测定法是先将微球载体破坏，使包裹其中的药物释放出来再进行测定。常见的裂解微球方法有酶解法和加热法。但这种方法常常使药物受到破坏，提取不彻底，药物含量测定的准确性受到影响，以酶降解包裹材料则会因酶降解引起干扰而对测定结果带来误差。

分离出药物测定法通常是将游离药物与微球进行分离，测定介质及洗涤液中游离的药物量，根据质量守恒原理推算出微球中主要的含量。这种方法目前是常用的药物微球含量测定方法。常见的分离方法有透析法、离心沉降法、凝胶珠分离法和超滤膜过滤法等。其中凝胶过滤法和超过滤法，由于药物以滤膜或填料等相接触使得药物被滤膜、填料吸附，容易造成游离药物的损失，回收率偏低；透析法比较繁琐费时，且多次萃取误差较大。离心法比较简洁、方便，但是对小粒子，超速离心法不会分层。

## 1.6 阿霉素磁性微球研究进展

阿霉素(Adriamycin Doxorubicin)是由链丝菌属(*Streptomyces peucetius* via *caesi*)发酵液分离得到的一种蒽环类的高效广谱抗肿瘤抗生素，其结构式如图 1-1 所示。阿霉素抗癌的作用机制有两种观点：(1) 直接与 DNA 嵌入结合，导致对 DNA 复制及转录过程的抑制；(2) 阿霉素可诱导氧自由基的形成，从而导致对 DNA 的切割。临床上主要用于急、慢性白血病、恶性淋巴瘤以及胃癌、肠癌和肝癌的治疗<sup>[60]</sup>。但阿霉素在静脉注射后会在心肌组织中积累，出现急性心脏中毒，它的毒副作用大大限制了其在临床上的应用。要提高阿霉素抗肿瘤作用，降低其毒副作用，必须改变阿霉素的给药途径。

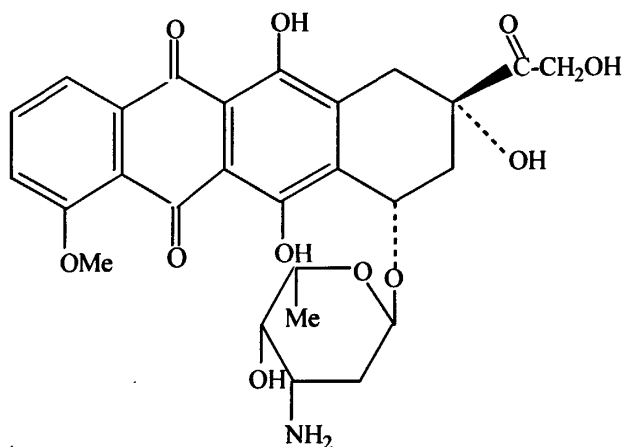


图 1-1 阿霉素结构式图  
Fig1-1 structure of Adriamycin

提高阿霉素抗肿瘤作用，减少阿霉素全身的毒副作用，关键在于改变阿霉素的给药途径。传统的抗肿瘤药物是通过各种途径给药后，达到一定的血药浓度，分布于全身而产生的治疗作用。这种治疗方法最大的缺陷是缺乏选择性，药物在体内行为由其理化性质及解剖生理学特点决定<sup>[61]</sup>。大多数常用抗肿瘤药物分子量低，在体内容易扩散，导致相对平均的组织分布，往往在治疗的同时产生毒副作用，严重影响这些药物的抗肿瘤价值。

磁性药物微球是一种新型的靶向给药系统<sup>[62,63]</sup>。磁性药物微球经过动脉注入人体，在外部磁场作用下，磁性药物微球逐渐富集于肿瘤组织靶部位，并渗透到肿瘤细胞内部，由于高分子材料降解特性的差异和不同的交联程度，药物将以缓释控释的方式从载体中解放出来，从而在细胞或亚细胞水平上发挥药理作用，同时减少药物被机体内网状皮系统清除机会，提高治疗效果。这些性能使其成为给药系统研究的热点和重点。

### 1.6.1 国外研究进展

1978年 Widder<sup>[64, 65]</sup>首先采用白蛋白作为载体材料，用加热固化法制备了阿霉素白蛋白磁性微球，并对阿霉素白蛋白磁性微球做了较全面的研究，将其应用于大鼠进行毒理性实验和靶向性研究。结果表明这种微球无明显的急慢性毒性并具有良好的靶向性，小鼠靶部位阿霉素的含量明显高于非靶部位。

1981年 Senyei<sup>[66]</sup>将自制的磁性阿霉素微球应用于动物体内进行靶向性研究，结果表明在给药 60min 后，磁性阿霉素微球在靶部位的药物浓度比给予 100

倍剂量的游离药物的靶部位的药物浓度约高 2 倍,而且磁场作用时间对磁性阿霉素微球在体内分布也存在一定影响。

1989 年 Gupta 等<sup>[67]</sup>以大鼠尾作为材料,进行磁性白蛋白靶向性的研究。实验分为对照组(不加磁场)和实验组(加磁场)。实验组中,靶部位暴露于 8000 高斯的磁场 30min,结果显示在磁场存在下,靶部位的最大药物浓度提高到 16 倍,药物相对暴露提高 6 倍,药物靶向效率提高 6 倍,实验组相对于对照组来说,药物进入主要的非靶组织明显减少。这表明磁性白蛋白纳米粒在靶向运输所结合的药物的效率主要受磁场的影响,而不单纯受载体特征的影响。

1991 年, Tadahiko 等<sup>[68]</sup>应用逆相蒸发法(reverse-phase evaporation method)制备磁性阿霉素脂质体治疗大鼠骨肉瘤,脂质体平均直径 146nm。在肿瘤内植入磁场的引导下,静脉注射磁性阿霉素脂质体后其肿瘤内阿霉素浓度比静脉注射同剂量的游离阿霉素高出 4 倍,而心脏、肾脏内的阿霉素浓度要比静脉注射同剂量的游离阿霉素低。

1994 年德国的 Lubbe 等<sup>[69]</sup>率先把磁性药物靶向治疗应用于临床试验。试验结果表明,患者对磁性靶向药物的耐受性很好。应用核磁共振 X 线体层照相技术、药代动力学和组织学检测证明,在大约一半的患者中磁性药物可成功地到达肿瘤部位。治疗中药物的器官毒性并未增加,但当阿霉素的剂量大于  $50\text{mg}/\text{m}^2$  时会出现药物相关毒性,如脱发等。

1997 年,借鉴蛋白质微球的交联合成技术,Eliana 等<sup>[70]</sup>用戊二醛交联技术,合成了阿霉素明胶纳米微球,该纳米微球粒径在 100~200nm,药物负载率为 42%。由于交联技术使得部分阿霉素以共价键形式结合于明胶微球中,可能影响阿霉素的药效,通过与空白微球的比较,得到微球中自由阿霉素的含量为 8%,蛋白酶进一步分解后阿霉素的释放率达到 15%。

Alexion 等<sup>[71]</sup>在 1999~2001 年间进行了动物实验。他们应用携带甲氨蝶呤(MTX)的铁流(FF-MTX)磁导向治疗兔子的鳞癌。实验结果表明,在外加磁场作用下,应用 FF-MTX 动脉治疗组获得持久完全缓解,肿瘤大小与对照组和静脉滴注组相比具有显著的统计学意义,且无毒副作用。同时还发现随着磁场强度的提高磁性药物在肿瘤部位的聚集增多。目前应用磁性药物治疗的肿瘤部位大多位于体表或离体表较近,因此外加磁场强度可以较弱,且易于控制,但若治疗深部器官或组织的肿瘤(如颅腔内),则需要进一步优化磁场强度、定位和药物载体颗粒大小。

### 1.6.2 国内研究进展

国内在这方面的研究起步较晚。1983年我国陈骥等<sup>[72]</sup>首次报道了载氟尿嘧啶药物的磁性明胶微球的制作方法及其动物实验。1994年,吴传斌等<sup>[73]</sup>用乳化法制备了阿霉素磁性明胶微球。结果表明,搅拌速度从1400rpm增至1800rpm,平均粒径从60 $\mu\text{m}$ 减小至15 $\mu\text{m}$ ,分布变窄;温度的作用与搅拌速度的作用相似;此外,提高表面活性剂用量,降低明胶浓度,也有利于制备粒径小的微球。随着铁含量的增加和磁性微球粒径增大,磁性微球的饱和磁化强度增大,磁响应性增强。

1998年,张玉等<sup>[74]</sup>将阿霉素与维拉帕米(VPM)制成复方磁性微球制剂以抑制阿霉素耐药性的产生和降低其不良反应。实验采用加热固化法制备复方磁性白蛋白微球,用磁流体法制备磁粉,以紫外和双波长分光光度法分别测定维拉帕米和阿霉素的含量。微球粒径较均匀,收率为78%,制剂中阿霉素VPM含量分别为0.15%,15%。同时发现搅拌速度对磁性微球粒径的影响最大,搅拌速度越快,粒径越小。

2001年,张阳德等<sup>[75]</sup>将阿霉素、人体血清白蛋白按一定比例混合,通过在棉籽油中超声乳化,加热变性,乙醚清洗等工艺,制备出粒径为100~1000nm的阿霉素磁性白蛋白微球,并用荧光方法测定其阿霉素含量为57.5 $\mu\text{g/g}$ 。该微球具有磁性稳定,靶向性强,药物包含率高,释药速率可控制的特点。

2002年北京大学的王华等<sup>[76]</sup>采用常温乳化-化学交联法研制出了适宜于静脉注射的小粒径盐酸阿霉素白蛋白微球,建立HPLC-UV法测量其含量及包封率,用动态透析法研究其释放度,用正交实验筛选出最佳工艺。结果发现用该法制备出的盐酸阿霉素微球粒径小(平均粒径约为2 $\mu\text{m}$ ),而且均匀圆整,体外释放表明其具有明显的缓释功能。

2003年刘海峰等<sup>[77]</sup>采用复合乳液-溶剂挥发法制得明胶-聚乳酸载五氟尿嘧啶(5-Fu)微球,以混合型乳化剂Tween80:Span80=5:1作为初乳乳化剂,O-羧甲基壳聚糖作为复乳乳化剂,考察了明胶-聚乳酸载药微球的制备条件对微球的成球性、药物包封率及体外释药的影响。结果表明乳化剂的选择、内部水相药物浓度和聚乳酸分子量等均对载药微球的结构与性能产生影响,经优化条件得到了成球性和体外释放都比较好的载药微球,而采用高分子量的聚乳酸不仅可使载药微球的包封率提高,而且可使药物的释放时间明显延长。

2004年沈海霞等<sup>[78]</sup>以化学共沉淀法研究了磁性 $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 超细微粒的制备,并

以此磁性超细微粒为核,阿霉素为模型药物,乙烯吡咯烷酮为基质,通过乳液聚合方法制备了磁性高分子抗癌微球,在正交实验的基础上,详细考察了分散剂、交联剂、引发剂、搅拌速度、反应温度、反应时间等对制备磁性高分子微球的影响。结果表明在  $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$  比为 1.8:1, pH 值为 11, 温度在 70℃ 以上可制得单一的  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , 而在微球的制备过程中,分散剂用量和搅拌速度是影响微球大小和形貌的关键因素。

第四军医大学唐都医院介入放射科陈江浩等以  $\alpha$ -聚氰基丙烯酸正丁酯为载体材料,通过界面聚合法制备了阿霉素毫微粒,探讨了 NADM 肝动脉给药后阿霉素的体内分布特征。结果说明 NADM 肝动脉给药后改变了阿霉素的体内分布特征,而血、心、肺、肾中的药物分布减少。

## 1.7 本课题的来源及研究内容

磁性靶向药物微球的制备及其性能研究是江西教育厅资助的项目。鉴于明胶不见具有良好的生物相容性和生物可降解性,且具有多种生物活性,我们选择明胶作为药物载体。本实验首先以  $\text{FeCl}_2$  和  $\text{FeCl}_3$  为原料采用化学共沉淀法制备磁性  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  纳米微粒;然后以明胶为载体材料,戊二醛为交联剂,通过乳化交联法制备磁性明胶微球;最后以阿霉素作为药物材料,制备出阿霉素明胶磁性药物微球,并对微球的性能做了检测及表征。至于如何进一步把载药微球纳米化,把药物应用于临床,导向药物进入生物体后将如何分布、药效如何提高,以及其代谢动力学等尚缺乏深入的研究。因此这只是以明胶为载体制备磁导向纳米药物研究的第一步,以后还有更艰巨的工作要做。

本文的创新之处体现在以下方面:

- 1.通过 X-Ray 衍射表现  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  的晶型和纯度考察投料比 ( $n\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ ) 对产物性能的影响。
- 2.选择戊二醛作为交联剂制备磁性明胶微球。
- 3.在制备磁性明胶微球时选用复配乳化剂。

## 第2章 纳米 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 的制备及其性能表征

Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 纳米微粒通常用作药物毫微粒中的磁性核，其性能的好坏将直接影响到药物微球的性能，进而影响到微球在体内的靶向性、代谢以及在血液中的消除速率。理想的 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 纳米微粒应具备纯度高，颗粒小，晶核完整等特点。它不仅要求在水相或有机相中稳定悬浮，而且在外加磁场作用下，能够迅速地定向移动和集中，并且在体内能够均匀分布并扩散到靶区，不聚集、不堵塞血管。

### 2.1 实验部分

#### 2.1.1 试剂和仪器

实验所用试剂如表 2-1 所示：

表 2-1 试剂  
Table 2-1 reagent

试剂名称	等级	生产厂家
氯化亚铁	AR	天津市福晨化学试剂厂
三氯化铁	AR	汕头市西陇化工厂
土温 80	CP	上海申宇医药化工有限公司
司班-80	CP	中国医药上海化学试剂公司
PEG4000	CP	国药集团化学试剂有限公司
氨水	AR	上海振兴化工二厂
氢氧化钠	AR	上海焱晨化工实业有限公司

实验所用仪器如表 2-2 所示：

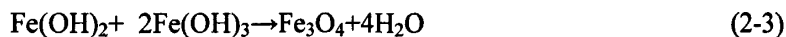
表 2-2 仪器  
Table 2-2 instrument

名称	型号/规格	生产厂家
电热恒温水浴锅	HH-2	国华电器有限公司
超声波清洗器	KQ3200B 型	昆山市超声仪器有限公司
电子分析天平	FA2104 型	上海民桥精密科学仪器有限公司
精密增力电动搅拌器	JJ-1 型	常州国华电器有限公司
数显鼓风干燥箱	GZX-9140 MBE 型	上海博迅实业有限公司医疗设备厂
精密酸度计	PHS-3E 型	上海民桥精密科学仪器有限公司
透射电镜	Hitachi H-600- II	日本 Hitachi
傅立叶红外光谱仪	Nicolet 5700 型	美国热电尼高力公司
X-射线粉末衍射仪	XRD di system	美国 Bede 公司
动态光散射纳米粒度分析仪	Malvern Zetasizer Nano S90	美国马尔文公司
高斯/特斯拉计	SJZP-1	上海实博实业有限公司

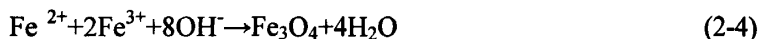
### 2.1.2 实验方法及原理

Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 纳米微粒的制备方法有很多，主要包括化学共沉淀法、氧化沉淀法、乳化法、微乳化法、机械球磨法等。机械球磨法重现性好，操作简单，但生产周期长，粒径细化难以达到纳米级要求；乳化法虽然操作简单，颗粒小，但晶型多样；微乳化法制备纳米材料具有粒子均匀，细小，不易聚结等优点，但体系比较敏感，容易受外界环境影响而导致体系破坏，而且产量低。化学共沉淀法是目前制备 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 纳米微粒普遍使用的方法，具有操作简单、成本低，对设备要求不高等优点。

因此本实验采用化学共沉淀法制备 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 纳米微粒，其化学方程式表示为：



总的离子反应方程式为：



上式称为中和沉淀法：即将可溶的亚铁 (Fe<sup>2+</sup>) 盐和铁 (Fe<sup>3+</sup>) 盐按照一定的比例混合，加入氨水或 NaOH 溶液，在搅拌或伴有超声的作用下合成超微粒



子，然后经过真空干燥、研磨即得到 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 纳米微粒。

### 2.1.3 实验流程

在查阅了大量有关文献的基础上，根据实验室的现有条件，综合实践了多种共沉淀法的制备过程并加以改进与创新，提出了以下的实验流程：

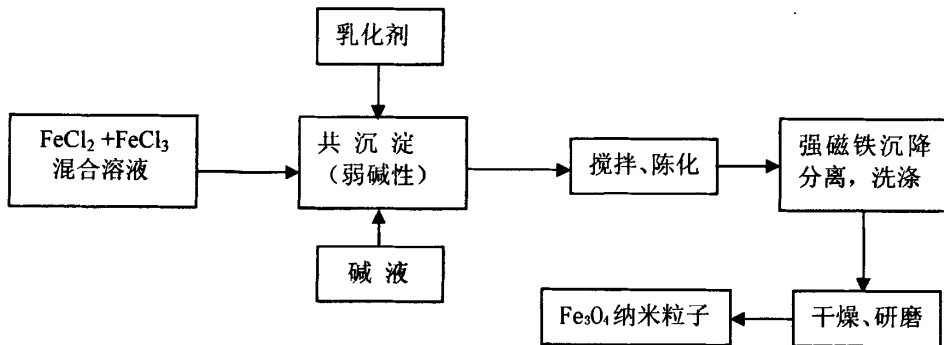


图 2-1 磁性 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 粒子制备工艺流程图

Fig.2-1 preparation technology process for magnetic Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles

#### 2.1.3.1 化学共沉淀法制备纳米 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 磁性粒子

在 N<sub>2</sub> 气保护下，将一定浓度的 FeCl<sub>3</sub> 和 FeCl<sub>2</sub> 溶液分别注入 250mL 三口烧瓶中，在 60℃ 水浴中快速搅拌至溶解，并加入少量乳化剂 PEG4000，然后逐滴滴加 NH<sub>4</sub>OH 直至烧瓶中溶液的 pH 值在 11 左右。滴加完毕之后，继续搅拌反应 30min，再超声分散 30min，并保温熟化 30 min，之后再机械搅拌 30 min，转入大烧杯中，用强磁铁吸住烧杯底部进行强磁分离(如图 2-2 所示)，倾去上层废液，用蒸馏水洗涤数次至 PH 值为 7 左右以除去杂质，后干燥、研磨即得纳米 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 磁性粒子。

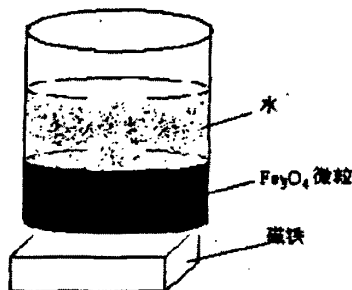


图 2-2 磁分离图

Fig.2-2 ferrofluid separate graph

### 2.1.3.2 电子天平法测量 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 的磁响应性

采用电子天平对 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 纳米粒子的磁性进行测试, 由于电子天平的托盘是铁制的, 为了避免磁铁对托盘的影响, 用一个物块来消除磁铁对托盘的影响。精确称取 0.0500g 磁粉放在物块上的载玻片上, 再用一块载玻片将其盖住并压实, 之后将天平调节平衡。将磁铁固定在升降台上, 然后调整升降台至磁铁和磁粉的距离为 2.0cm, 可以看到天平显示负值, 记录电子天平显示的数据, 其值大小可以定量表示磁性的大小, 数值绝对值越大说明磁性越强, 反之则越弱。

## 2.2 初步实验条件选择

为确定在本实验体系中的影响因素, 采用单因素分析法分别对碱源、Fe 离子溶液浓度、pH 值、乳化剂用量、搅拌速度等因素对纳米四氧化三铁性能的影响进行实验。

### 2.2.1 碱源的选择

碱源作为沉淀剂直接参与反应, 对产物的性能影响很大, 因此对碱源的选择很关键。当用 NaOH 作为碱源时, pH 值初始变化缓慢, 到达 7 左右后, 迅速上升, 产生强烈的突变, 很难控制最终的 pH 值; 当用 NH<sub>4</sub>OH 作为碱源时, pH 值一开始的上升速度较 NaOH 要稍快点, pH 值达到 7 左右后, pH 值缓慢上升, 能精确地控制最终反应的 pH 值, 稳定性优于 NaOH。分别用强碱 NaOH 和弱碱 NH<sub>4</sub>OH 做为沉淀剂, 在乳化剂 PEG4000 质量为 1g, 乳化温度为 60℃, 乳化时间为 30min, Fe<sup>2+</sup>、Fe<sup>3+</sup> 的投料比为 2:3 的条件下进行实验 (给出试验条件), 实验结果见表 2-3。

表 2-3 碱源对产物的影响  
Table2-3 effect of the alkali base

碱源	平均粒径(/nm)	磁响应性(/g)	产物颜色
NaOH	20.5	1.1265	黑色
NH <sub>4</sub> OH	12.6	0.0894	黑色

由表 2-3 中可以看出, 用弱碱所得磁性纳米粒子的平均粒径明显小于用强碱时的。这是因为如果强碱和弱碱的初始浓度相同, 则初始时强碱的 pH 大, 溶液中 OH<sup>-</sup> 浓度大, 会造成体系反应速度过快, 生成的颗粒粒径大; 如果两者初始 pH 相同, 则强碱液中 OH<sup>-</sup> 浓度下降得快, 而弱碱中由于 OH<sup>-</sup> 会不断地解离出来,

故其 OH<sup>-</sup>浓度下降缓慢,更有利于生成粒径小且粒度均匀的粒子。虽然采用弱碱所得磁性纳米粒子的磁响应性不及强碱所制得的,但其稳定性很好。综合考虑粒径大小、稳定性、磁响应性,应选用 NH<sub>4</sub>OH 作为碱源。

### 2.2.2 乳化剂的选择

Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 纳米粒子由于粒径很小,具有很大的比表面积和很高的表面能,因而有强烈的聚集成团倾向,必须借助表面活性剂才能均匀地分散在水相中而稳定存在。因此,欲获得稳定的 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 磁性粒子,必须选择理想的表面活性剂,这是共沉淀法制备 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 磁性粒子的难点。在 NH<sub>4</sub>OH 作为碱源,乳化剂 PEG4000 质量为 1g,乳化温度为 60℃,乳化时间为 30min,Fe<sup>2+</sup>、Fe<sup>3+</sup>的投料比为 2:3,转速为 800r/min 的条件下,分别选用吐温-80、司班-80 和 PEG4000 三种表面活性剂作为乳化剂进行实验(给出试验条件),实验现象和结果见表 2-4。

表 2-4 表面活性剂对产物性能的影响  
Table 2-4 effect of the emulsifier

表面活性剂种类	实验结果
span-80	强磁分离后,分层现象不明显,上层液较浑浊,磁性粒子与司班-80 发生团聚形成黑色的团状物。
tween-80	在磁作用下静置一段时间后,分层现象较明显,上层清液因悬浮有少量 Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> 磁性粒子而呈现深红褐色,底部为黑色的磁性颗粒沉淀。
PEG4000	分层现象比较明显,上清液透明无色,在磁铁作用下静置一段时间后分层更加明显,底部为黑色细颗粒沉淀。

根据表 2-4 的实验现象分析可以看出,PEG4000 的效果最好,tween-80 其次,span-80 效果最差,因此选用 PEG4000 作为实验的乳化剂。

### 2.2.3 投料比 (nFe<sup>2+</sup>/Fe<sup>3+</sup>) 对产物性能的影响

改变 Fe<sup>2+</sup>/Fe<sup>3+</sup>的比例,在以 NH<sub>4</sub>OH 作为碱源,乳化剂 PEG4000 质量为 1g,pH 值为 11,乳化温度为 60℃,乳化时间为 30min,转速为 800r/min 的条件下进行实验(给出试验条件),结果如表 2-5。

表 2-5 投料比 (nFe<sup>2+</sup>/Fe<sup>3+</sup>) 对产物性能的影响  
Table2-5 effect of the ratio of (nFe<sup>2+</sup>/Fe<sup>3+</sup>)

投料比 (nFe <sup>2+</sup> : Fe <sup>3+</sup> )	平均粒径 (nm)	磁响应性 (g)	产物颜色
1 : 2	17.8	0.0674	黑褐色
1 : 1.8	18.8	0.0712	棕黑色
1 : 1.5	19.3	0.0768	深棕色
1 : 1	22.8	0.0853	红棕色

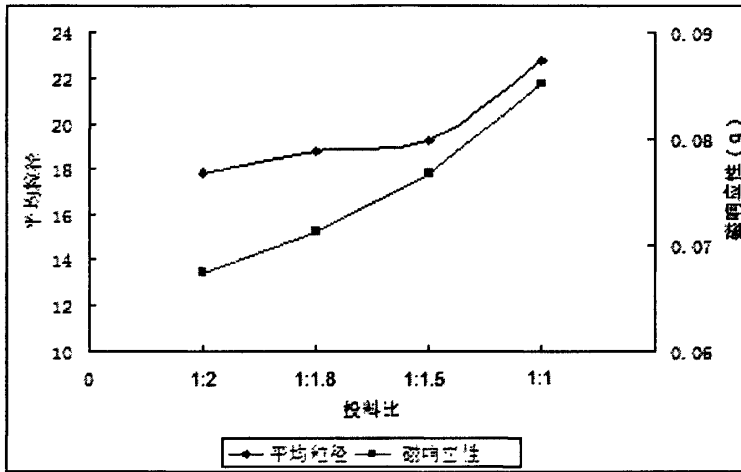


图 2-3 投料比 (nFe<sup>2+</sup>/Fe<sup>3+</sup>) 对产物性能的影响  
Fig.2-3 effect of the ratio of (nFe<sup>2+</sup>/Fe<sup>3+</sup>)

由反应式 (2-4) 可看出, 反应的理论摩尔比应为 Fe<sup>2+</sup> : Fe<sup>3+</sup> = 1 : 2。实际上, 反应液中 Fe<sup>2+</sup> 和 Fe<sup>3+</sup> 比例会影响 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 的纯度, 由于在加热搅拌过程中, 二价铁盐易氧化成三价铁盐, 使化学共沉淀反应无法按化学计量比进行, 从而使得所制备的样品中含有杂质; 而且溶液中的 Fe<sup>2+</sup> 在碱性条件下易被氧化生成 α-FeOOH, 使 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 的纯度下降, 从而影响其性能。所以实际反应过程中, 原料中的 Fe<sup>2+</sup>/Fe<sup>3+</sup> 值应该略高于 1/2。从表 2-4 中可以看出: 随着投料比 (nFe<sup>2+</sup>/Fe<sup>3+</sup>) 的增大, 粒子的磁响应性增强, 而粒子的粒径无太大的变化。但当投料比过大 (1 : 1) 时, 粒子的粒径增大较明显。

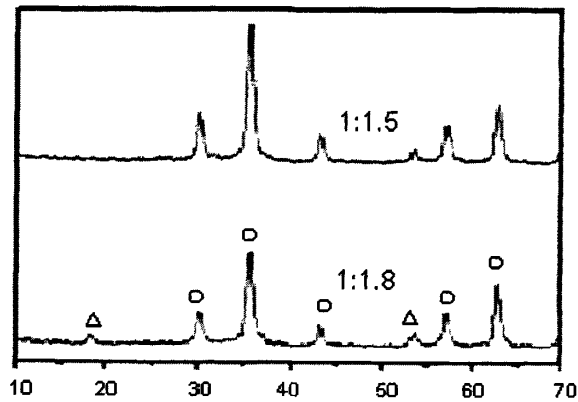


图 2-4 投料比对产物组成的影响 ○: Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> △: α-FeOOH  
Fig.2-4 effect of the ratio

图 2-4 显示了投料比(Fe<sup>2+</sup>/Fe<sup>3+</sup>)为 1 : 1.8 和 1 : 1.5 对 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 晶型和纯度的影响。随着混合反应液中 Fe<sup>3+</sup> 的减少, 从 X-ray 衍射图可以看到 α-FeOOH 的衍射峰逐渐减弱, 而 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 对应的衍射峰则较高、较窄, 表明随着投料比(Fe<sup>2+</sup>/Fe<sup>3+</sup>) 的增大, Fe<sup>2+</sup> 被氧化成 Fe<sup>3+</sup> 而造成溶液中 Fe<sup>3+</sup> 过量的因素变小、样品的结晶程度变好, 缺陷减小、Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 的生成量增多。所以 1 : 1.5 为本实验合适的投料比。

### 2.2.4 pH 值对产物性能的影响

在以 NH<sub>4</sub>OH 作为碱源, 乳化剂 PEG4000 质量为 1g, 乳化温度为 60℃, 乳化时间为 30min, Fe<sup>2+</sup>、Fe<sup>3+</sup> 的摩尔比为 2 : 3, 转速为 800r/min 的条件下进行实验 (给出试验条件), 考察 pH 值对产物性能的影响。

表 2-6 pH 值对产物性能的影响  
Table2-6 effect of the pH value

pH 值	平均粒径 (nm)	磁响应性 (g)	产物颜色
5.0	34.7	0.0316	棕黄色
7.0	22.6	0.0603	黑褐色
9.0	14.8	0.0744	黑色
10.0	13.5	0.0851	黑色
11.0	14.3	0.0852	黑色
12.0	19.2	0.0865	黑色

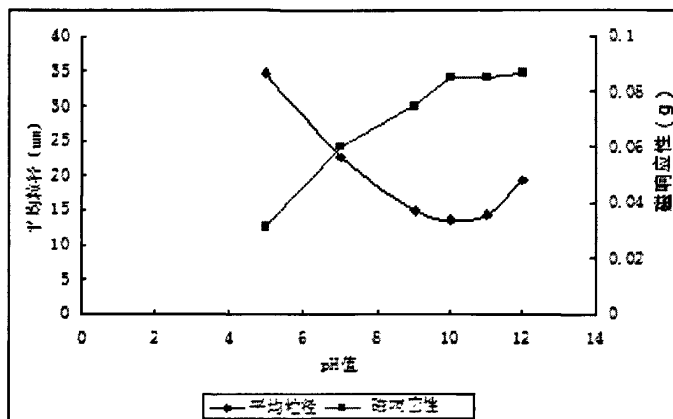


图 2-5 pH 值对产物性能的影响  
Fig.2-5 effect of the pH value

当  $\text{pH} \leq 7.0$  时,  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  磁性粒子易与表面活性剂团聚形成棕黄色的油渣状较大颗粒, 随着 pH 值的增大, 粒子粒径逐渐变小, 粒子的磁响应性增强, 粒子的颜色由红褐色转变为黑褐色, 最终生成大量超细的黑色  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  磁性粒子, 但  $\text{pH} \geq 10.0$  时, 磁响应性的增大趋势不明显, 并且随着 pH 值的继续增大易发生团聚现象, 生成的  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  磁性粒子很快沉降。所以为了制备磁性强且超细的纳米  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  粒子, pH 值应控制在 10.0 左右。

### 2.2.5 乳化剂用量对产物性能的影响

在以  $\text{NH}_4\text{OH}$  作为碱源, PEG4000 作为乳化剂,  $\text{Fe}^{2+}$ 、 $\text{Fe}^{3+}$  的摩尔比为 2 : 3, 乳化温度为  $60^\circ\text{C}$ , 乳化时间为 30min, pH 值为 10.0, 转速为 800r/min 的条件下进行实验的条件下, 考察乳化剂用量对产物性能的影响。

表 2-7 乳化剂用量对产物性能的影响  
Table2-7 effect of the PEG4000 dosage

乳化剂用量 (g)	平均粒径 (nm)	磁响应性 (g)	产物颜色
0.5	14.2	0.0763	黑色
1	12.5	0.0845	黑色
1.5	11.9	0.0788	黑色
2	12.1	0.0712	黑色
2.5	13.2	0.0616	黑褐色

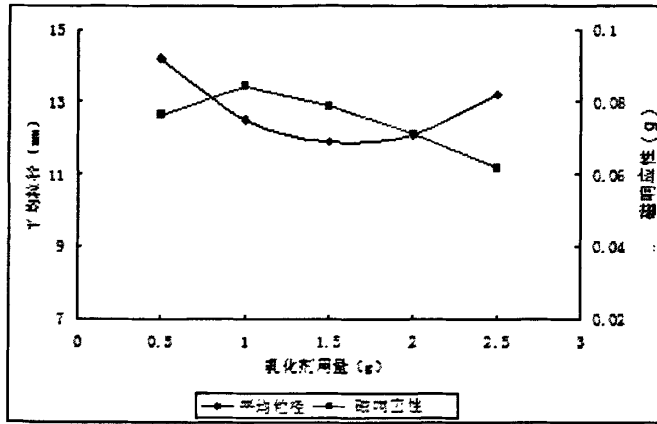


图 2-6 化剂用量对产物性能的影响  
Fig.2-6 effect of the PEG4000 dosage

在实验中发现：乳化剂用量小时，产物粒径分布很宽，一部分粒子不在纳米级，这是由于表面活性剂用量太少，不能形成大量的胶束，对颗粒包覆不完全，此时大部分 Fe<sup>2+</sup>/Fe<sup>3+</sup>水溶液仍以自由离子形式存在于体系中，遇碱立即反应生成 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>，但由于反应不是在 W/O 的胶束水核内进行，其产物的粒径难以控制，因此粒径分布较宽，颗粒较大；但如果用量过大时，体系粘度增大，过厚的表面活性剂包覆层之间会发生粘连，引起絮凝体，难以形成均相体系，产物粒径也会变大，而且由于在颗粒表面容易形成双层包覆，导致磁响应性也变弱。综合考虑平均粒径和磁响应性两个因素，选择表面活性剂加入量为 1g。

### 2.2.6 反应温度对产物性能的影响

在以 NH<sub>4</sub>OH 作为碱源，乳化剂 PEG4000 质量为 1g，Fe<sup>2+</sup>、Fe<sup>3+</sup>的摩尔比为 2:3，pH 值为 10，乳化时间为 30min，转速为 800r/min 的条件下进行实验（给全试验条件）下，考察反应温度对产物性能的影响。

表 2-8 反应温度对产物性能的影响  
Table2-8 effect of the temperature

反应温度(°C)	平均粒径 (nm)	磁响应性 (g)	产物颜色
30	12.1	0.0782	黑色
40	12.5	0.0821	黑色
50	13.2	0.0846	黑色
60	13.9	0.0774	黑褐色
70	14.4	0.0657	黑褐色

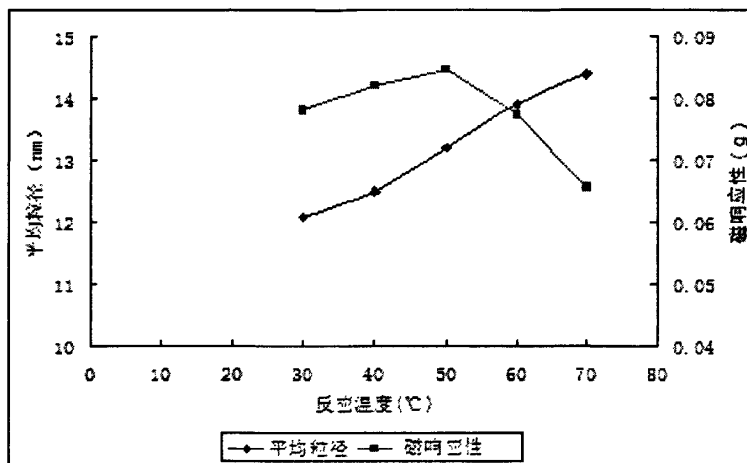


图 2-7 反应温度对产物性能的影响  
Fig.2-7 effect of the temperature

由表 2-8 可知, 随着反应温度升高, 产物粒径有所增大, 但反应温度低于 50°C 时, 粒径的增大并不显著; 粒子的磁响应性则随着反应温度升高先增大后下降, 在 50°C 时达到了最大值。这是由于温度低于 50°C 时, 有利于晶粒生成但不利于晶粒的长大, 所以当反应时间一定时, 生成的磁性粒子的粒径小但磁性弱, 在磁场中沉降速度慢; 当温度升高时, 降低了体系的粘度, 增大了传质系数, 大大加快了晶粒的生长速度, 在相同的时间内, 生成的磁流体的粒径相对较大且磁性较强, 但温度过高会使溶液中的 Fe<sup>2+</sup> 极易氧化成 Fe<sup>3+</sup>, 导致反应产物中的非 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 成分增多而使磁响应性下降, 溶液呈现为黑褐色, 同时, 反应温度过高还会使粒子之间碰撞加剧从而相互碰撞团聚导致粒径的快速增大。所以为了得到粒径相对小且磁性较强的 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 磁性粒子, 宜选择 50°C 作为反应的温度。

### 2.2.7 搅拌速度对反应性能的影响

在以 NH<sub>4</sub>OH 作为碱源, 乳化剂 PEG4000 质量为 1g, Fe<sup>2+</sup>、Fe<sup>3+</sup> 的摩尔比为 2:3, pH 值为 10, 乳化时间为 30min, 反应温度为 50°C, 转速为 800r/min 的条件下进行实验 (给全试验条件) 下, 考察转速对反应的影响。



表 2-9 搅拌速率的影响  
Table 2-9 effect of the stirring rate

搅拌速率 (r/min)	平均粒径 (nm)	磁响应性 (g)	产物颜色
600	30.7	0.0876	棕黄色
800	25.6	0.0843	红棕色
1000	14.7	0.0809	黑褐色
1200	22.9	0.0785	黑褐色
1400	26.4	0.0692	黑色

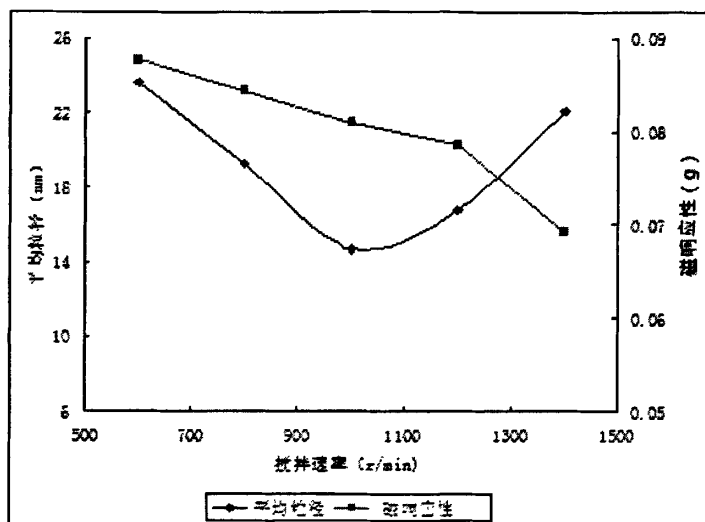


图 2-8 搅拌速率对产物性能的影响  
Fig.2-8 effect of the stirring rate

由表 2-9 和图 2-8 可以看出, 随着搅拌速率的加快, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 纳米粒子的半径先减小后增大, 这可能是由于搅拌速率的加快有利于反应物的充分接触, 能避免搅拌不均而产生的局部浓度过高, 使晶核生成和长大都均匀地进行, 有利于得到粒径小且分布均匀的粒子。但是随着搅拌速率的加快, 微粒的磁响应性却在一直降低, 这可能是由于搅拌速率的加快, 会加速反应体系中 Fe<sup>2+</sup> 氧化而导致的结果。综合考虑各项因素, 选择 1000r/min 的搅拌速率作为实验反应条件。

## 2.3 磁性微粒的性能表征

### 2.3.1 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 纳米磁性粒子 XRD 分析

X-射线衍射法是目前测定晶体结构的重要手段, 应用极为广泛。将 X 射线

按一定的方向射入晶体，将发生衍射。将试样的衍射图谱和已知物质的衍射图谱进行对照，即可确定物质的晶体晶型。

X-射线衍射法还可以用于测量粒子的大小。X-射线衍射方法测定微粒大小是基于 X 射线通过晶态物质后衍射线的宽度与微晶大小成反比。当晶粒小于 200nm 以下，就能够引起衍射峰的加宽，晶粒愈细峰越宽，所以此法也称为 X-射线线宽法。晶粒大小  $d$  与半高宽  $\beta$  存在下面关系：

$$d = K\lambda / \beta \cos\theta$$

式中： $d$ —晶粒大小 (nm)

$\lambda$ —入射的 X-射线波长 (此处为  $\lambda=0.154056\text{nm}$ )

$\beta$ —最强衍射峰的半高宽度 (弧度)

$\theta$ —最强衍射峰的衍射角

$K$ —形状因子，一般情况下取  $K=0.9$

用 X-射线衍射仪对最佳反应条件下制备的 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 纳米微粒进行分析，采用 Cu(K $\alpha$ ,  $\lambda=0.15406\text{nm}$ )靶，石墨单色器，工作电压 40kV，工作电流 30mA，扫描速度 8°/min。结果如图 2-9 所示。

从图 2-9 中可以明显看到 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 的主要几个特征峰，表明用此种方法制得的样品物相较纯，为单相 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 纳米晶体，而尖锐的衍射峰说明 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 磁性纳米粒子的结晶状态很好。从图 2-10 中还可以看出，XRD 衍射峰较宽，这说明粉末颗粒粒径非常细小，根据 Scherre 公式可求得所制样品的平均粒径为 12.6nm。

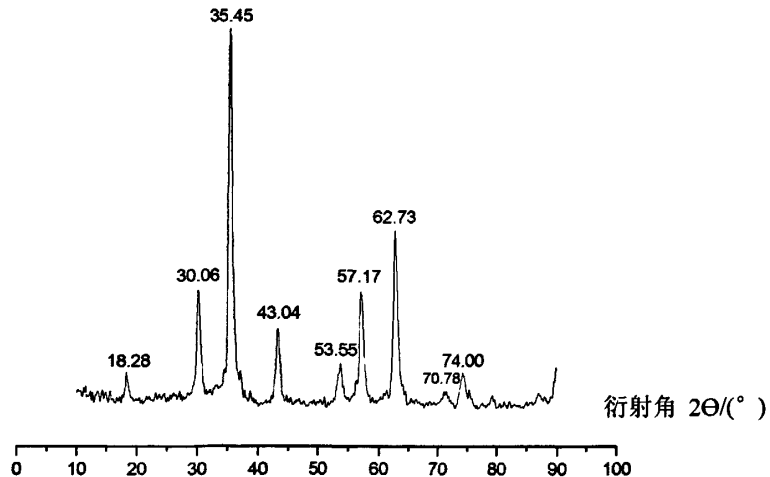


图 2-9 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 纳米粒子的 X 射线衍射图  
Fig.2-9 XRD pattern of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles

### 2.3.2 磁性微粒的尺寸形貌表征

采用透射电子显微镜(TEM)直接观测最佳反应条件下制备的 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 纳米微粒的大小及形态。电子加速电压为 60 kV~100 kV。取出少量自制的 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 磁性纳米粒子,加无水乙醇超声分散 20min,滴在涂碳铜网上挥发至干,制得电镜样品,在 TEM 下观察。结果如图 2-10 所示。

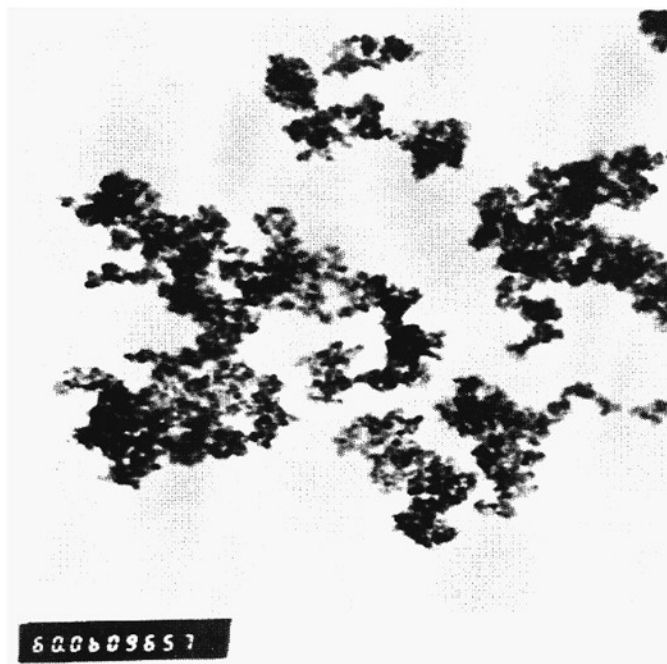


图 2-10 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 纳米粒子的 TEM 图  
Fig.2-10 TEM image of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles

由图 2-10 可以看出,制备的 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 磁性纳米粒子主要为球型结构,粒径细小,约为 8-14nm,这与 XRD 分析中用 Scherrer 公式计算结果相一致,粒度分布窄,粒子大小均匀且分散性较好,局部出现了团聚现象,这主要是因为磁性粒子由于粒径极小,具有很大的比表面积和很高的表面能,粒子相互间的范德华作用力产生的相互作用能远远大于粒子自身的布朗运动能,从而引起粒子的团聚。

### 2.3.3 纳米微粒的粒度分析

用 MS-2000 激光粒度分析仪对最佳反应条件下制备得到的 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 纳米粒子的粒径分布进行测定,结果如图 2-11 所示。

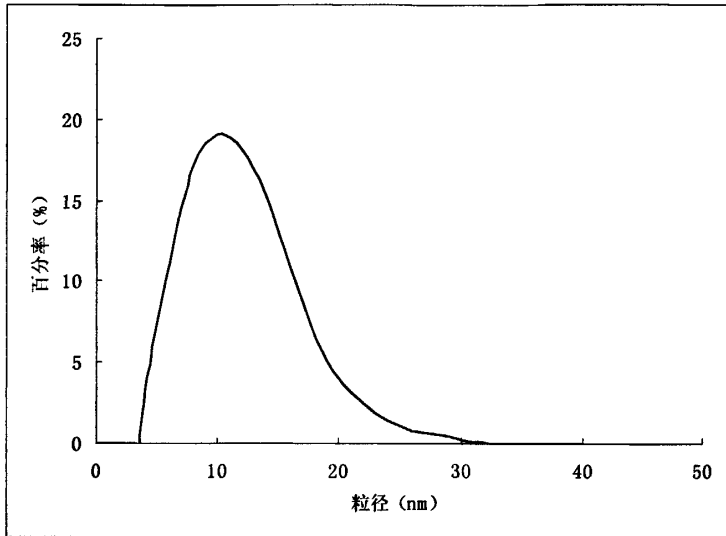


图 2-11 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 纳米粒子的粒径分布图  
Fig.2-11 size distribution of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles

从粒径分布图可得 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 磁性粒子的平均粒径为 11.6nm，这与 XRD 的测量结果一致；粒径分布较窄，主要集中在 5nm-20nm 之间，与 TEM 所观察的结果基本一致。

### 2.3.4 磁性纳米微粒的红外表征

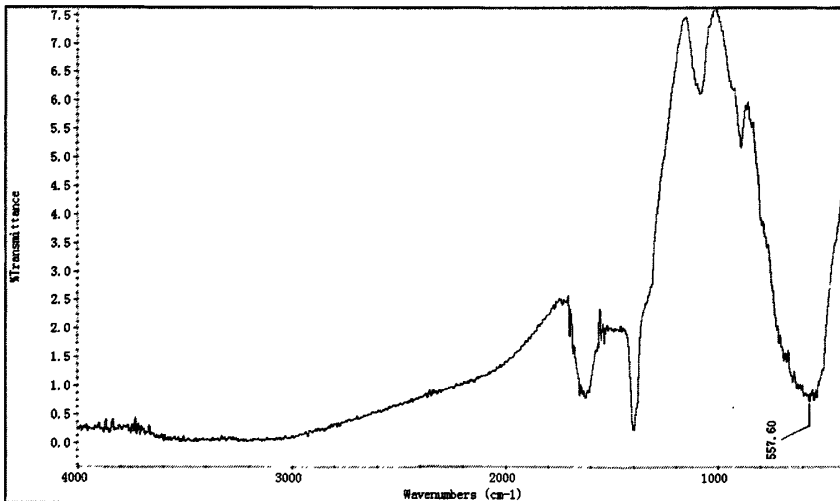


图 2-12 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 纳米粒子的红外表征图  
Fig.2-12 FTIR of the Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticle

图 2-12 是采用 Nicolet 5700 型傅立叶变换红外光谱测定的产物的红外吸收谱图。从图中可以看出, 557.60cm<sup>-1</sup> 是典型的 Fe-O 的伸缩振动峰, 由此证明本实验所制备的粒子是 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 粉末。

## 2.4 小结与讨论

通过单因素实验, 本文对影响纳米 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 粒径和磁性的主要条件进行了考察, 得出最佳的反应条件: Fe<sup>2+</sup>、Fe<sup>3+</sup>的摩尔比为 2:3, pH 值应控制在 10.0 左右, 反应温度为 50℃, 在 1000r/min 的转速下搅拌 30min, 乳化剂 PEG4000 的用量为 1g。并对最佳条件下制备的纳米 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 磁性粒子进行了表征, 结果显示, 制备得到的纳米 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 磁性粒子粒度分布窄, 粒子大小均匀且分散性较好, 局部出现了团聚现象, 平均粒径为 12.6nm, 磁响应性为 0.0837 g/(2cm·0.05g 磁粉)。

## 第3章 明胶磁性复合微球的制备与表征

### 3.1 试验部分

#### 3.1.1 试剂和仪器

实验所用的试剂见表 3-1:

表 3-1 实验试剂  
Table 3-1 reagent

试剂名称	等级	生产厂家
Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	纳米粉末	实验室自制
液体石蜡	AR	江西南昌华南化工试剂厂
石油醚	AR	上海化学试剂公司
司班-80	CP	天津市福晨化学试剂厂
丙酮	AR	上海试剂一厂
无水乙醇	AR	上海振兴化工一厂
无水乙醚	AR	上海焱晨化工实业有限公司
明胶	CP	上海焱晨化工实业有限公司
甲醛	AR	上海青析化工科技有限公司
甲醚	AR	上海焱晨化工实业有限公司
戊二醛	AR	国药集团化学试剂有限公司

实验所用仪器见表 3-2:

表 3-2 实验仪器  
Table 3-2 instrument

名称	型号/规格	生产厂家
电热恒温水浴锅	HH-2	国华电器有限公司
超声波清洗器	KQ3200B 型	昆山市超声仪器有限公司
电子分析天平	FA2104 型	上海民桥精密科学仪器有限公司
精密增力电动搅拌器	JJ-1 型	常州国华电器有限公司
数显鼓风干燥箱	GZX-9140MBE 型	上海博迅实业有限公司医疗设备厂
循环水真空泵	SHZ-D(III)	巩义市英山舒华仪器厂
扫描电镜	Hitachi S-570 型	日本 Hitachi
高倍光学显微镜	4XB	上海光学仪器五厂
傅立叶红外光谱仪	Nicolet 5700 型	美国热电尼高力公司
动态散射纳米粒度分析仪	Malvern Zetasizer Nano S90	美国马尔文公司

### 3.1.2 试验方法及原理

本实验采用乳化交联法制备磁性药物微球。该法是利用带有氨基的高分子材料易和其它化合物相应的活性基团发生反应的特点，交联制得微球。这些高分子材料包括明胶、壳聚糖、蛋白类等，交联剂用戊二醛、甲醛等，由于交联剂中的醛基可以和高分子材料的氨基发生缩合作用使微球固化、药物溶解或者分散在材料溶液中。

该法制备载药磁性药物微球分为三步：首先是乳化，将药物和载体材料一起溶解或分散于水中作为水相，将其加入油相中搅拌使之乳化形成 W/O 型乳状液；第二步是化学的交联固化，在乳状液中加入适量的化学交联剂使乳滴表面发生化学交联反应而固化；第三步是分离微球，使上述形成的微球胶体溶液搅拌冷却至室温，加乙醚溶解油相，离心分离，即得磁性载药微球。

### 3.1.3 实验方案

#### 3.1.3.1 实验流程

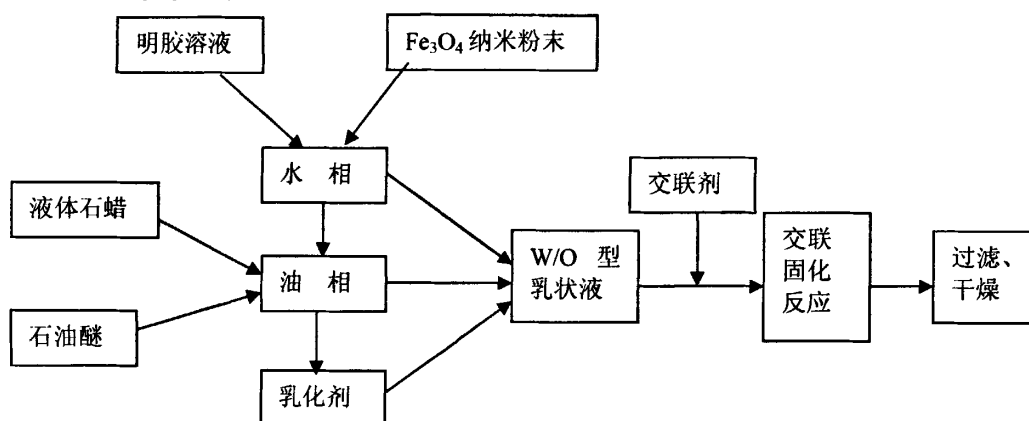


图 3-1 磁性  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  明胶复合微球的制备工艺流程示意图

Fig.3-1 preparation technology process for magnetic gelatin composite microspheres

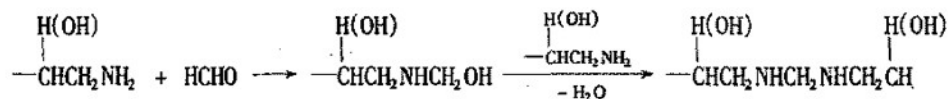
## 3.2 磁性明胶微球的制备

选取一定浓度的明胶水溶液，加入一定量的  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  作为水相；液体石蜡中加入适量的乳化剂作为油相。将油相倒入三口圆底烧瓶，置于水浴中。在不断搅拌下，将水相逐渐滴入到油相中，乳化一定时间后，加入交联剂进行冰浴交联固化，固化一定时间后加入 20ml 异丙醇脱水，然后抽滤、洗涤、干燥即得磁性明胶微球。根据制备过程中的影响因素分别进行单因素考察。实验通过以微球

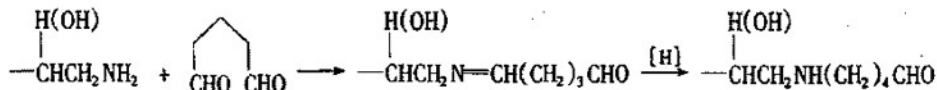
的粒径大小及分布、外观形态、流动性等为指标来考察磁性明胶微球的制备工艺条件，单因素试验初步找出最佳实验条件。

### 3.2.1 交联剂的选择

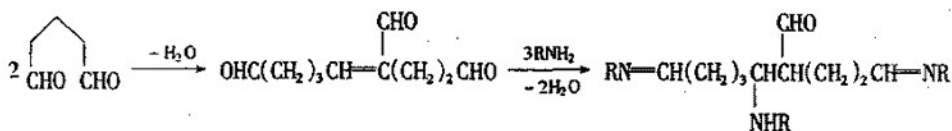
乳化交联法是利用醛类与明胶分子中赖氨酸或羟基赖氨酸残基上的氨基进行反应，使微球表面形成较高密度的交联键而固化，常用的醛类有甲醛、戊二醛等。其中甲醛的交联机制<sup>[79]</sup>是先与氨基反应形成羟甲基，再与另一个氨基反应形成交联结构，其反应式为：



戊二醛的交联机制<sup>[80]</sup>有两种，一种是 Molin 提出 Schiff 碱机制，其反应式为：



另一种是 Richard 提出的 Michael 加成机制，其反应式为：



称取 1g 明胶制备 10% 的明胶溶液，保持 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 的质量为 0.95g，液体石蜡为 50ml，乳化剂用量为 2ml，乳化温度为 60℃，乳化时间为 30min 等条件不变，分别采用甲醛和戊二醛两种交联剂进行实验，以微球的外观作为考察磁性明胶微球制备的工艺指标，结果见图 3-2：

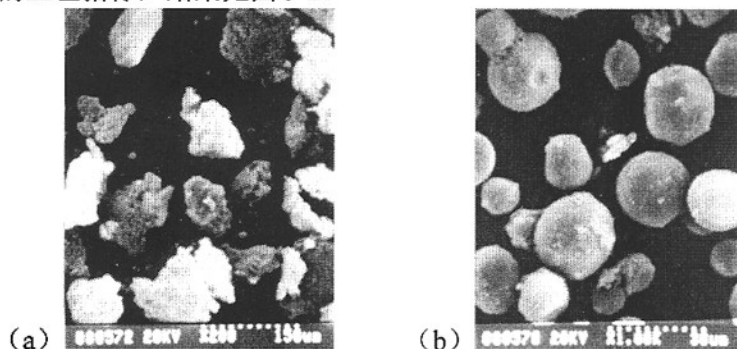


图 3-2 不同交联剂对磁性明胶微球外观的影响 (a) 甲醛 (b) 戊二醛  
Fig.3-2 effect of crosslinking reagent (a) formaldehyde (b) glutaraldehyde



从图 3-2 中可以看出,使用甲醛作为交联剂制备的磁性明胶微球形状不规则,而且有粘连现象存在。而使用戊二醛作为交联剂时的磁性明胶微球成球性好,不存在粘连现象。所以选择戊二醛作为交联剂。

### 3.2.2 乳化剂的选择

乳化剂也称表面活性剂,是乳状液赖以稳定存在的关键。乳化剂的类型不但影响乳化反应的速率,而且还影响聚合物分子量及其分布,乳胶粒浓度、乳胶粒的尺寸及分布、乳液系数是否稳定、聚合过程能否正常进行。乳化剂的选择通常采用 HLB 值法。HLB 值是指表面活性剂的亲油亲水平衡值,是反应表面活性剂亲水或亲油能力大小的值。

基于 HLB 值方法,选用 span-80 (HLB=4.3) 与 tween-80 (HLB=15.0) 按不同比例配置成一系列具有不同 HLB 值的混合乳化剂,以考察同种乳化剂不同 HLB 值对乳液体系的影响。以乳液体系的分层时间长短作为评价指标。实验结果见表 3-2。

表 3-2 HLB 值对乳液稳定性的影响  
Table 3-2 effect of HLB value

质量比 (span-80: tween-80)	HLB 值	外观	乳液稳定时间
0.9 : 0.1	13.93	分层时间较快, 乳液不稳定	静置 10min 后马上分层
0.7 : 0.3	10.5	红色不透明乳液	30min 后开始分层,底部开始分层
0.5 : 0.5	9.65	红褐色不透明乳液	1h 后出现分层,上部开始分层
0.3 : 0.7	7.51	黄褐色不透明乳液	100min 后出现分层,上部开始分层
0.1 : 0.9	5.37	黄褐色不透明乳液	120min 后出现分层

从表 3-2 中可以发现,该乳液体系的最佳 HLB 值为 5 左右,当 HLB 值过大,乳液的稳定性差,稳定时间短,分层快,得不到稳定的乳液体系。而亲油性乳化剂 (span-80) 要溶于油相中发挥作用,插入油相中的疏水基会产生水滴间的排斥力,因此能制得稳定的 W/O 型乳液,但其不溶于水,因此增加了分离提纯微球的难度;而亲水性乳化剂 (tween-80) 则要溶于明胶溶液中,制得的 W/O 型乳液容易分层,需要增加乳化剂用量提高稳定性。因此,本实验选择质量比为 0.3/0.7 的复配乳化剂,该条件下的乳液体系稳定时间较长,而且微球提纯的难度不高。

### 3.2.3 搅拌速度的选择

称取 1g 明胶制备 10% 的明胶溶液，以戊二醛作为交联剂，以 span-80 与 tween-80 的质量比 0.3/0.7 作为复配乳化剂，保持  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  的质量为 0.95g，液体石蜡为 50ml，乳化剂用量为 2ml，乳化温度为  $60^\circ\text{C}$ ，乳化时间为 30min 等条件不变，采取不同的搅拌速度进行实验（给出具体数据）。以微球的粒径及分布、外观形态、流动性等为指标来考察磁性明胶微球的制备工艺条件，结果见表 3-3。

表 3-3 搅拌速度对微球粒径及形态的影响  
Table3-3 effect of stirring rate

搅拌速度 ( $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ )	平均粒径 ( $\mu\text{m}$ )	微球形态
600	35.5	成球性差,不规则球型, 粒径分布广, 颗粒呈深红褐色
800	24.5	成球性一般, 粒径分布集中, 微球呈红褐色
1000	14.6	成球性好, 微球呈黄褐色, 粒径分布集中
1200	12.8	成球性差, 微球呈黄褐色, 粒径分布范围广, 分散性差
1400	11.5	成球性差, 微球成黄褐色, 粒径分布范围广, 分散性差

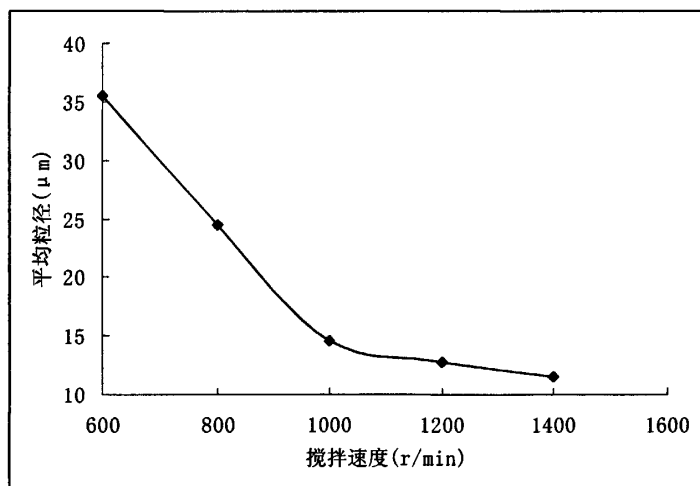


图 3-3 搅拌速度对微球粒径的影响  
Fig3-3 effect of stirring rate

结果表明：搅拌速度对磁性明胶微球制备工艺影响比较大，随着搅拌速度的增大,微球的粒径也随之减小。这是由于搅拌速度越快, 剪切力越大, 乳化时形成的乳滴小, 因而固化后所得的微球粒径较小。但是转速过大时, 粒径的分

布范围广泛；而且反应体系震荡剧烈，微球的球型结构遭到破坏，分散性差，微球相互团聚粘结形成不规则的球块，部分明胶在离心力作用下，甩附于烧瓶内壁上。

综合考虑，本文选择 1000r/min 的搅拌速度。

### 3.2.4 乳化温度的影响

称取 1g 明胶制备 10% 的明胶溶液，以戊二醛作为交联剂，以 span-80 与 tween-80 的质量比 0.3/0.7 作为复配乳化剂保持  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  的质量为 0.95g，液体石蜡为 50ml，乳化剂用量为 2ml，搅拌速度为 1000r/min，乳化时间为 30min 等（给出具体数据）条件不变，改变乳化温度，考察不同温度对明胶微球工艺的影响。实验结果见表 3-4。

表 3-4 不同温度对微球粒径及形态的影响  
Table3-4 effect of temperature

乳化温度 (°C)	粒径 ( $\mu\text{m}$ )	微球形态
40	17.9	呈球性好，分布均匀
50	20.4	微球分散性好，成球性好
60	16.8	微球分布均匀，成球性好
70	17.9	成球性一般，粒径分布范围广
80	18.5	成球性一般，微球分散性一般

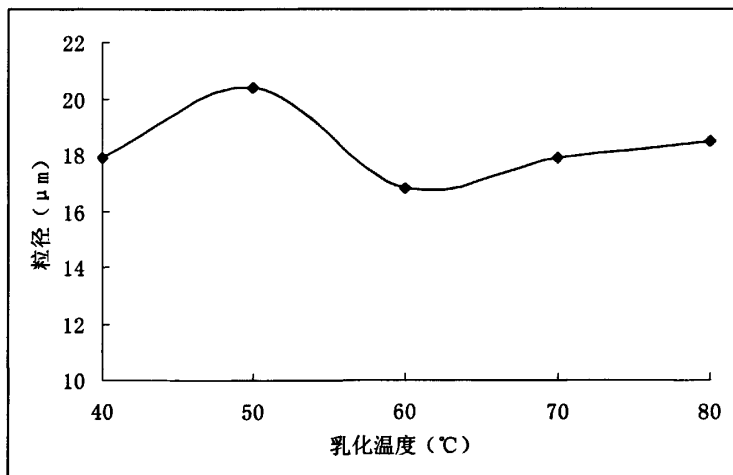


图 3-4 乳化温度对磁性明胶微球粒径的影响  
Fig.3-4 effect of temperature

从图 3-4 中可以看出：乳化温度对磁性明胶微球工艺的影响不大；但温度低于 30℃时会出现凝胶现象，故乳化温度不能过低；而且温度过高时，乳化过程中形成的体系不稳定，不利于微球的成球，所得微球的粒径不均匀，分布范围广，考察结果以 60℃作为乳化温度。

### 3.2.5 乳化时间的影响

称取 1g 明胶制备 10%的明胶溶液，以戊二醛作为交联剂，以 span-80 与 tween-80 的质量比 0.3/0.7 作为复配乳化剂，保持 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 的质量为 0.95g，液体石蜡为 50ml，乳化剂用量为 2ml，搅拌速度为 1000r/min，乳化温度为 60℃等条件不变，考察不同乳化时间对微球工艺的影响。实验结果见表 3-5。

表 3-5 不同乳化时间对微球粒径及形态的影响  
Table 3-5 effect of the time

乳化时间 (min)	粒径 (μm)	微球形态
10	20.4	粒径分布范围广,烧瓶底部有明显沉淀。
20	17.5	分散性好,有分层现象。
30	19.8	圆整度好,成球性好,分散均匀,无分层或沉淀现象。
40	22.6	分散性好,成球性好,无分层或沉淀现象。
50	21.7	分散性好,成球性好,分散均匀,无沉淀现象

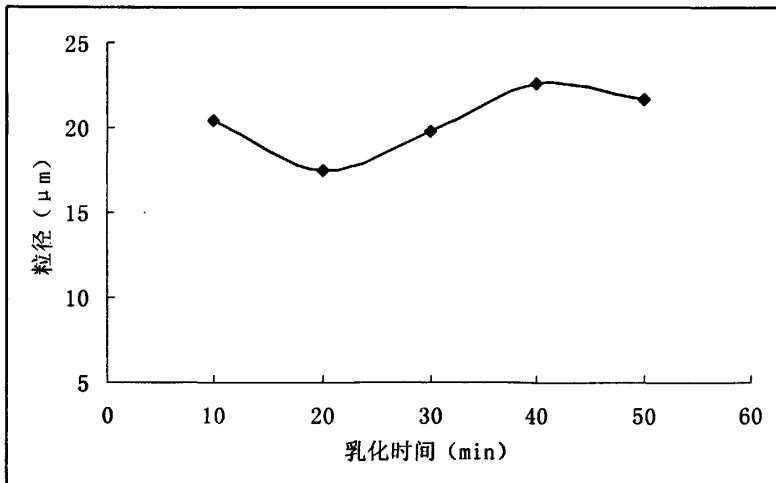


图 3-5 乳化时间对磁性明胶微球粒径的影响  
Fig.3-5 effect of the time

从图 3-5 中可以看出：在磁性明胶微球制备过程中，乳化时间对微球粒径的影响不是很大。但乳化时间过短，乳化不完全，会使微球的粒径分布范围较广，本文选择 30min 作为乳化时间。

### 3.2.6 明胶浓度的影响

保持  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  的质量为 0.95g，以戊二醛作为交联剂，以 span-80 与 tween-80 的质量比 0.3/0.7 作为复配乳化剂，液体石蜡为 50ml，乳化剂用量为 2ml，搅拌速度为 1000r/min，乳化温度为  $60^\circ\text{C}$ ，乳化时间为 30min 等条件不变，改变明胶的浓度，考察不同明胶浓度对微球工艺的影响。实验结果见表 3-6。

表 3-6 不同明胶浓度对微球粒径及形态的影响  
Fig.3-6 effect of concentration of gelatin

明胶浓度 (g/ml)	平均粒径 ( $\mu\text{m}$ )	微球形态
0.05	18.7	微球呈红褐色，微球圆整性差，粒径分布较广。
0.1	14.2	微球呈黄褐色，粒径分布集中，成球性好。
0.2	30.4	成球性好，粒径分布集中，微球呈黄褐色。
0.3	45.3	成球性一般，粒径分布集中，有粘连现象。

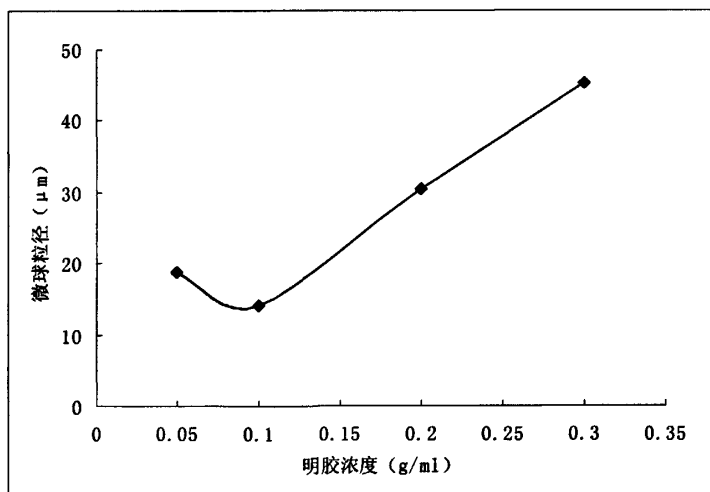


图 3-6 明胶浓度对磁性明胶微球粒径的影响  
Fig.3-6 effect of concentration of gelatin

从图 3-6 中可以看出：明胶浓度对微球粒径的影响比较大。当明胶浓度小于 0.1 g/ml 时，微球粒径分布范围较广，而且制得的微球圆整度差。浓度在 0.10~

0.30 g/ml, 随着明胶浓度的增大, 微球的平均粒径增大, 这是由于粘度增大, 从而产生较大乳滴。但明胶浓度过大时, 微球的流动性受影响, 有粘连现象。综合考虑选取 0.10g/ml 左右的明胶溶液浓度为宜: 此时复合粒子的粒径分布范围较窄, 微球的圆整度较好, 微球的分散性比较好, 没有粘连现象。

### 3.2.7 水油相比的影响

称取 1g 明胶制备 10%的明胶溶液, 以戊二醛作为交联剂, 以 span-80 与 tween-80 的质量比 0.3/0.7 作为复配乳化剂, 保持  $Fe_3O_4$  的质量为 0.95g 乳化剂用量为 2ml, 搅拌速度为 1000r/min, 乳化温度为 60℃, 乳化时间为 30min 等条件不变, 考察不同水油相比对微球工艺的影响。实验结果见表 3-7。

表 3-7 不同水油相比对微球粒径及形态的影响  
Table 3-7 effect of W/O ratio

水油相比	粒径 ( $\mu\text{m}$ )	微球形态
1:1	18.5	微球的流动性差, 粘连现象严重, 成球性好, 分布不均匀。
1:5	16.5	微球分散性好, 粘连性不明显, 成球性一般。
1:10	15.7	微球粘连性不明显, 粒径分布集中, 成球性较好。
1:15	18.2	没有粘连, 成球性差。
1:20	16.8	没有粘连现象存在, 微球成球性差

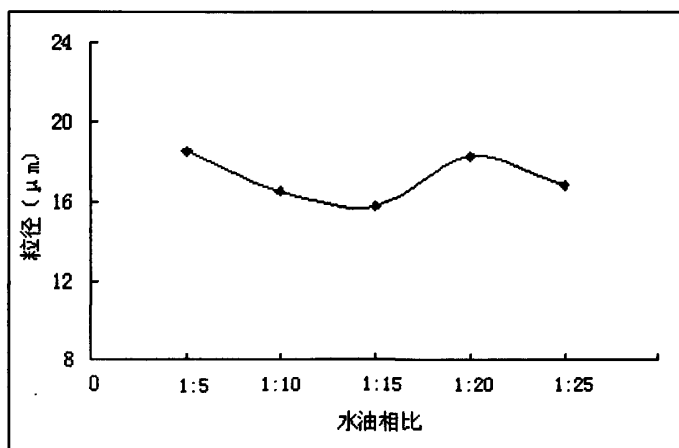


图 3-7 水油相比对磁性明胶微球粒径的影响  
Fig.3-7 effect of W/O ratio

从图 3-7 中可以看出水油相比对微球粒径的影响不大。观察微球的形态后发

现，它主要是影响微球之间的粘连性。随着水相在油相中所占的比例增大，微球的流动性逐渐变差，微球之间的粘连程度逐渐严重；但是随着水相在油相中的比例增大，微球的成球数目较多，产率较高。因此，选择水油相比为 1:10，此时微球的流动性较好，且成球数目较多。

### 3.2.8 乳化剂用量的影响

称取 1g 明胶制备 10%的明胶溶液，以戊二醛作为交联剂，以 span-80 与 tween-80 的质量比 0.3/0.7 作为复配乳化剂，保持  $Fe_3O_4$  的质量为 0.95g，水油相比为 1:10，搅拌速度为 1000r/min，乳化温度为 60℃，乳化时间为 30min 等条件（给出具体数据）不变，考察不同乳化剂的用量对微球粒径及形态的影响。实验结果见表 3-8。

表 3-8 不同乳化剂用量对微球粒径及形态的考察  
Table3-8 effect of emulsifier dosage

乳化剂用量 (%)	粒径 ( $\mu m$ )	微球形态
1	42.8	成球性好，分散均匀
2	27.1	成球性好，无粘连现象，分散均匀
3	18.6	有粘连现象，乳滴增大，但球径较小
4	34.7	粘连现象比较严重，分散不均匀
5	44.5	粘连现象严重

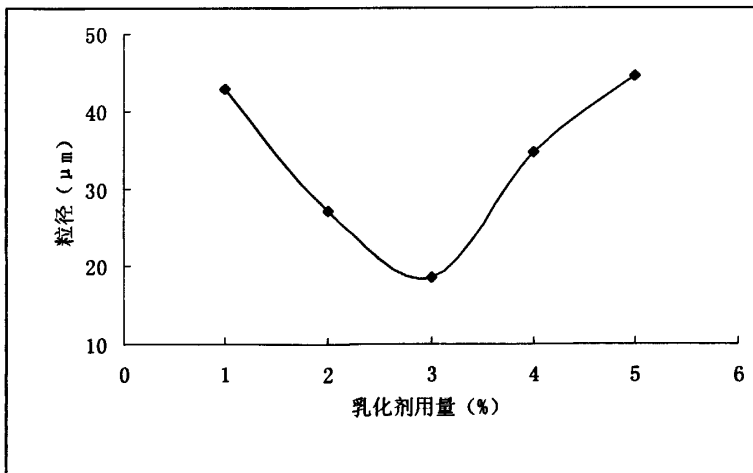


图 3-8 乳化剂用量对磁性明胶微球粒径的影响  
Fig.3-8 effect of emulsifier dosage

从图 3-8 中可以看出：乳化剂用量对微球的制备有较大的影响，乳化剂浓度在 1~3% 时，随着乳化剂浓度的增大，微球的平均粒径变小，粒径分布也较均匀；当乳化剂浓度为在 3~4% 时，随着乳化剂浓度的增大，微球的平均粒径反而增大，这是因为乳化剂浓度过大，系统粘度增大，搅拌过程中形成的乳滴增大，因而微球的平均粒径有所增大。因此选择乳化剂的用量以 3% 为宜。

### 3.3 磁性明胶微球的表征

#### 3.3.1 磁性明胶微球的粒径分布

用纳米粒度分析仪测得磁性  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  明胶复合粒子的粒径分布曲线如图 3-8 所示，从图中可以看出，磁性明胶复合粒子的粒径约为  $18\mu\text{m}$  左右，粒径主要分布于  $5\text{-}30\mu\text{m}$ ，粒径分布范围较窄。

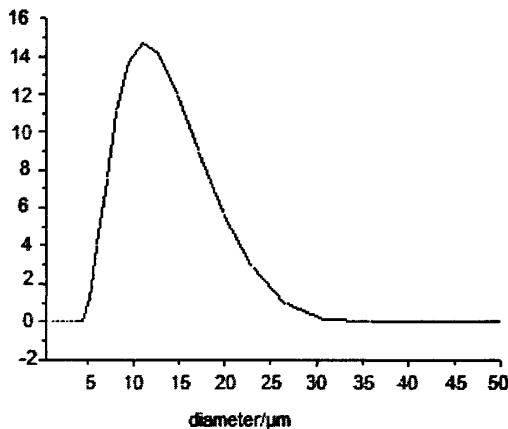


图 3-9 磁性明胶微球的粒径分布曲线图  
Fig.3-9 size distribution of composite microspheres

经过与图 2-10 的比较可以发现：磁性明胶微球的颗粒半径比磁性  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  粒子的粒径大许多， $\text{Fe}_3\text{O}_4$  粒子的粒径大部分在  $20\text{nm}$  以下，这是由于  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  粒子外面包覆有明胶膜，致使明胶微球的粒径增大，而且有可能包覆有许多个磁性  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  纳米粒子。

#### 3.3.2 磁性明胶微球的形态

采用扫描电子显微镜 (SEM, Hitachi S-570) 观察在明胶浓度为 10%， $\text{Fe}_3\text{O}_4$  的质量为 0.95g，水油相比为 1:10，搅拌速度为  $1000\text{r}/\text{min}$ ，乳化剂用量为 3%，



乳化温度为 60℃，乳化时间为 30min，以 span-80 与 tween-80 的质量比 0.3/0.7 作为复配乳化剂，以戊二醛作为交联剂条件下所制得的磁性明胶微球表观形貌，电镜照片示于图 3-10。从图中可以看出  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  粒子已经被明胶复合成球体，粒子成球性好，成球率高，大小较均匀，无粘连。

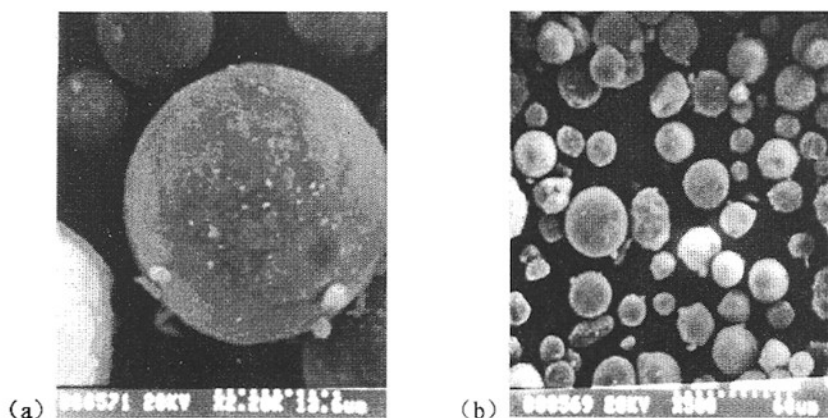


图 3-10 (a) 单个磁性明胶微球的 SEM 照片 (b) 多个磁性明胶微球 SEM 照片  
Fig.3-10 SEM image of composite microspheres (a) single(b)multiple

### 3.3.3 磁性明胶微球的 XRD 分析

用 X-射线衍射仪对最佳反应条件下制备的磁性明胶微球进行分析，采用  $\text{Cu}(\text{K}\alpha, \lambda=0.15406 \text{ nm})$  靶，石墨单色器，工作电压 40 kV，工作电流 30 mA，扫描速度  $8^\circ/\text{min}$ 。并与  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  纳米微粒的 XRD 谱图进行对比。结果如图 3-11 所示。

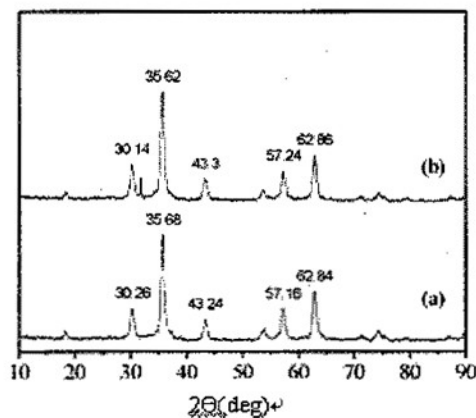


图 3-11  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  纳米粒子和磁性明胶微球的 XRD 谱图  
(a) $\text{Fe}_3\text{O}_4$  纳米粒子 (b) 磁性明胶微球  
Fig.3-11 XRD patterns (a)  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanoparticles (b) composite microspheres

通过  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  纳米粒子和磁性明胶微球的 XRD 对比谱图，我们可以发现，磁性明胶微球在衍射角为 30.14, 35.62, 43.3, 57.24, 62.86 处出现了主要衍射峰，这与  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  纳米粒子的几乎一致，也就是说，明胶对  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  纳米粒子的包覆并没有对  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  的晶体结构产生太大的影响。

### 3.3.4 磁性明胶微球的红外光谱

图 3-12 中 A、B、C 分别为纯明胶、 $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 、磁性明胶微球在  $4000\sim 400\text{cm}^{-1}$  区域的红外光谱。在(C)中  $1700\sim 1000\text{cm}^{-1}$  范围内，出现了明胶蛋白中的羧基和羰基基团的特征谱带： $2962.53\text{ cm}^{-1}$  对应于明胶蛋白中的  $-\text{CH}_3$  伸缩振动， $1626.94\text{cm}^{-1}$  对应于明胶蛋白中的酰胺 I 带(反对称羧基或  $\text{C}-\text{O}$  振动)， $1530.28\text{cm}^{-1}$  归属于明胶蛋白的酰胺 II 带( $\text{CN}$  伸缩或  $\text{NH}$  弯曲振动)， $1462.17\text{cm}^{-1}$  对应于明胶蛋白中的对称羧基或  $\text{C}-\text{O}$  伸缩振动， $1243.26\text{cm}^{-1}$  对应于明胶蛋白中的酰胺 III 带， $590.34\text{cm}^{-1}$  处的谱带与 (B) 中吸收峰为  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  相对应<sup>[81]</sup>，说明磁性明胶复合粒子中，明胶蛋白质与磁性  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  分子发生了键合作用，复合粒子中含有  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  成分。

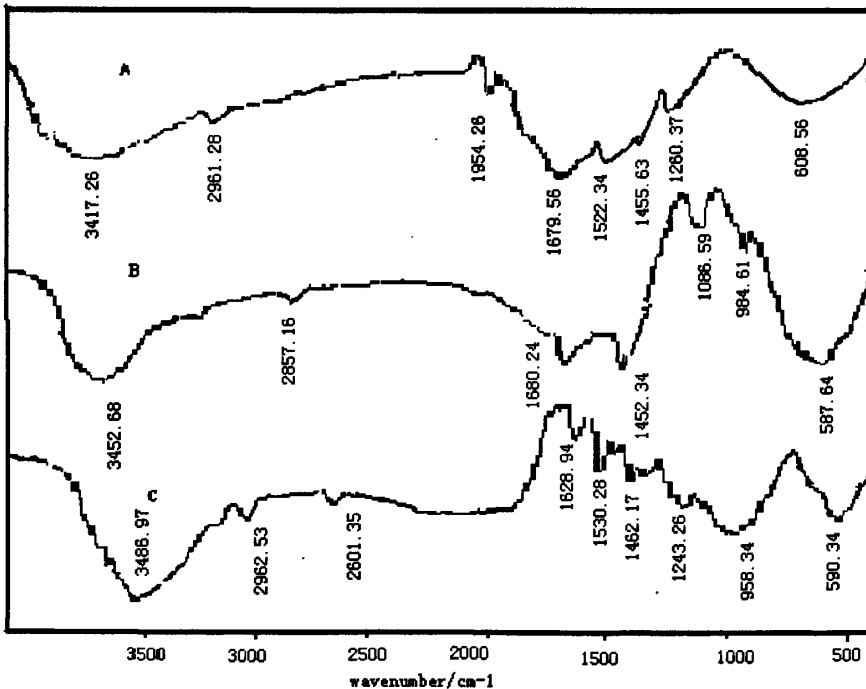


图 3-12 红外光谱图 (A) 明胶、(B)  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 、(C) 磁性明胶微球  
Fig.3-12 infrared spectra (A)gelatin (B)  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  (C) composite microspheres

### 3.4 讨论与小结

本实验首先对影响磁性明胶微球成球性和粒径大小的各种因素进行考察, 得出制备磁性明胶微球的最佳反应条件为: 以戊二醛作为交联剂, 以 span-80 与 tween-80 的质量比 0.3/0.7 作为复配乳化剂, 明胶浓度为 10%,  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  的质量为 0.95g, 水油相比为 1:10, 搅拌速度为 1000r/min, 乳化剂用量为 3%, 乳化温度为 60°C, 乳化时间为 30min。其中明胶溶液的浓度主要影响微球粒径, 明胶浓度大, 制得的微球粒径大, 相反, 制得的微球粒径小。水油相容积比对粒径的影响不大, 主要是影响微球之间的粘连性; 水相在油相中所占的比例越大, 微球的流动性就越差, 微球之间的粘连程就越严重; 乳化剂用量也对微球的粒径有显著影响, 微球的粒径随乳化剂浓度的增大而减小; 成球时搅拌速度对微球粒径也有较大影响, 搅拌速度快, 所制得微球的平均粒径小, 这是由于搅拌速度快, 乳化时所形成的乳滴小, 因而固化后所得微球较小。将在最佳条件下制备的复合微球进行检测, 所制得的微球平均粒径为 16 $\mu\text{m}$ , 5~25 $\mu\text{m}$  的微球占到总数的 82%, 微球形态圆整, 色泽均匀, 流动性好。

## 第4章 阿霉素磁性微球的制备与表征

### 4.1 实验部分

#### 4.1.1 材料与仪器

实验所用试剂见表 4-1:

表 4-1 主要试剂  
Table4-1 reagent

试剂名称	等级	生产厂家
阿霉素		浙江海正药业股份有限公司
Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub>		实验室自制
液体石蜡	AR	江西南昌华南化工试剂厂
石油醚	AR	上海化学试剂公司
Span-80	CP	天津市福晨化学试剂厂
丙酮	AR	上海试剂一厂
无水乙醇	AR	上海振兴化工一厂
无水乙醚	AP	上海焱晨化工实业有限公司
明胶	CP	上海青析化工科技有限公司
戊二醛	BR	国药集团化学试剂有限公司
NaCl	AR	天津市大茂化学试剂厂
醋酸	AR	上海山浦化工有限公司
胃蛋白酶		上海蓝季科技发展有限公司

实验所用仪器见表 4-2:

表 4-2 主要仪器  
Table4-2 instrument

名称	型号/规格	生产厂家
电热恒温水浴锅	HH-2	国华电器有限公司
超声波清洗器	KQ3200B 型	昆山市超声仪器有限公司
电子分析天平	FA2104 型	上海民桥精密科学仪器有限公司
精密增力电动搅拌器	JJ-1 型	常州国华电器有限公司
数显鼓风干燥箱	GZX-9140MBE 型	上海博迅实业有限公司医疗设备厂
循环水真空泵	SHZ-D(III)	巩义市英山舒华仪器厂
紫外分光光度计	TU-1901	北京普析通用仪器有限公司

#### 4.1.2 阿霉素磁性明胶微球的制备

采用乳化交联法制备微球：称取 150mg 明胶与 100mg $\text{Fe}_3\text{O}_4$  溶于蒸馏水中，于 60 °C 水浴中加入一定量阿霉素混匀作为水相；15ml 液体石蜡中加入 0.4ml 复配乳化剂作为油相。将油相倒入三口圆底烧瓶，加热。在搅拌速度为 1000r/min 条件下，将水相逐渐滴入到油相中，乳化 30min 后改为冰浴，同时加入 0.5ml 戊二醛交联固化，固化 1h 后脱水、抽滤、洗涤、干燥即得阿霉素磁性明胶微球。改变阿霉素的用量，通过阿霉素磁性明胶微球的特性来确定阿霉素与明胶的比例。

### 4.2 阿霉素磁性明胶微球的表征

磁性药物微球的包封率、载药量和释放度是评价磁性药物微球质量的重要指标，也是评价磁性药物微球的制备和工艺的重要依据。这些体外性质不但会影响药物稳定性、给药是否方便，而且还直接影响到它的疗效、靶向性和毒性等。本章重点考察制备过程中投药量对磁性磁性药物微球包封率的影响。

#### 4.2.1 微球形态观察

取少量微球，置于载玻片上，用一滴乙醚溶液分散，置 500 倍显微镜下观察并拍照。测定不少于 500 个微球的粒径，求得算术平均值。待测微球粒径 = (镜台测微尺与目镜测微尺重合时的长度) / (镜台测微尺与目镜测微尺重合时所占的格数) × 待测微球占有目镜微尺的格数；结果见图 4-1。

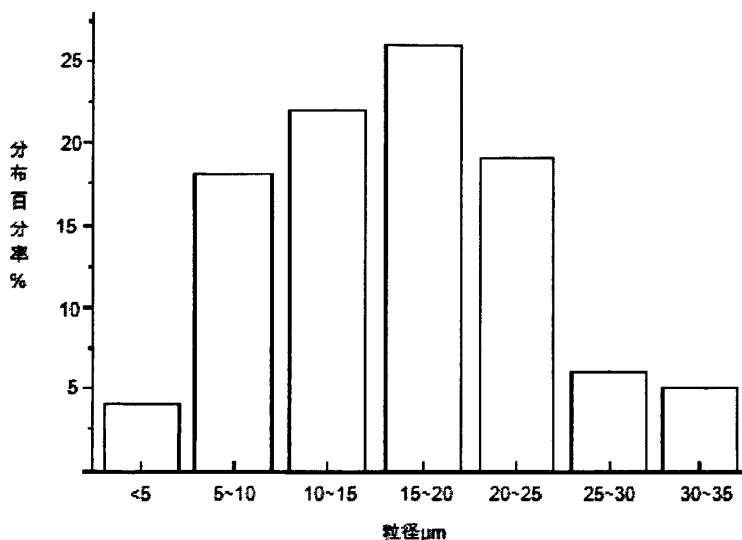


图 4-1 阿霉素磁性明胶微球粒径分布图  
Fig.4-1 size distribution of Adriamycin drug microspheres

#### 4.2.2 产率的测定

产率=制成微球质量/投入所有成分的质量；结果见表 4-2。

#### 4.2.3 磁响应性的测定

取微球 5mg 置 10ml 乙醚溶液的普通培养瓶中，用 200 倍显微镜观察微球在 4000GS 外磁场作用下的分布及运动。取 500GS 场强处的微球，待干燥后，称量微球重量，计算磁吸附率，磁吸附率 (%) = 吸附微球 / (吸附 + 未吸附) × 100%，结果见表 4-3。

表 4-3 不同投药比阿霉素磁性明胶微球的特性比较  
Table4-2 characterisation of ratio

投料比 (阿霉素：明胶)	形态	粒径 ( $\mu\text{m}$ )	产率 (%)	磁吸附率 (%)
1 : 5	不规则，有结晶	18.8	77.6	100
1 : 10	光滑圆整	13.6	79.3	100
1 : 15	光滑圆整	15.7	86.8	100
1 : 20	光滑圆整	17.5	85.7	100
1 : 25	光滑圆整	16.9	88.2	100

#### 4.2.4 阿霉素含量的测定

本文采用紫外分光光度法<sup>[82]</sup>测定含药明胶微球的含量。测定前,首先要采用酶解法对载药微球进行体外消化,将明胶的网状结构破坏后,使微球内药物充分释放出来,再根据检测方法进行含量测定。含量测定时称取一定量的微球,置于容量瓶中,加入适量醋酸胃蛋白酶溶液进行消化,消化完全后,用醋酸胃蛋白酶溶液稀释至刻度制备成为微球消化液。将消化液经微孔滤膜过滤,取滤液于容量瓶中,用醋酸胃酶溶液稀释至刻度,在检测波长处测定吸收度,根据回归方程计算浓度。

##### 4.2.4.1 检测波长的确定

磁性明胶微球消化液的制备:取一定量的磁性明胶微球置于 50mL 容量瓶中,加入适量醋酸胃蛋白酶溶液(0.1g 胃蛋白酶,加入 50 mL 0.5mol·L<sup>-1</sup> 的 HAC 溶液即得)进行消化,消化完全后,用醋酸胃蛋白酶溶液稀释定容,即得磁性明胶微球消化液。取磁性明胶微球消化液,经过 0.45μm 微孔滤膜过滤,取滤液为测定液,水为参比液,用紫外分光光度计于 200~400nm 波长范围内进行扫描,扫描结果见图 4-2。

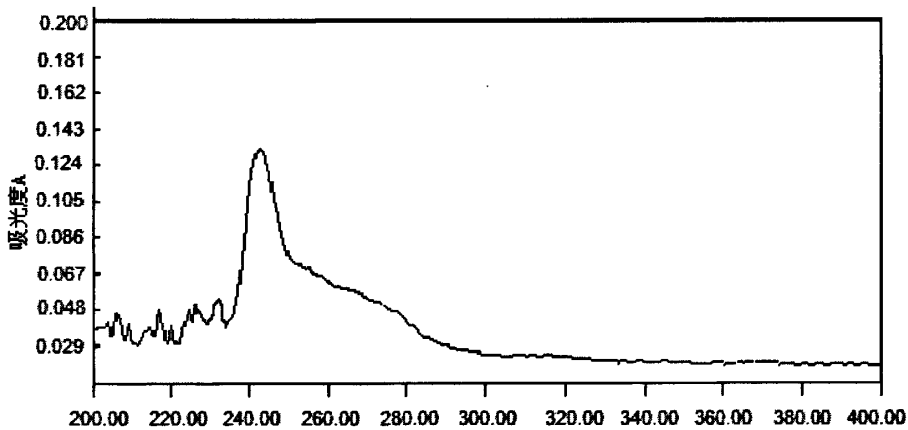


图 4-2 阿霉素溶液的紫外光谱图  
Fig.4-2 ultraviolet spectra of Adriamycin solution

从图 4-2 中可以看出,阿霉素在 242nm 处有较大吸收,可将 242nm 作为药物的检测波长。

##### 4.2.4.2 线性试验

精密称取阿霉素标准品 1mg，置于 100ml 容量瓶中，加生理盐水溶解并定容，即得阿霉素标准储备液。依次精密移取 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0ml 阿霉素标准储备液分别置于 10ml 容量瓶中，用生理盐水分别定容至刻度，摇匀。然后用紫外分光光度法在 242nm 处测定其吸光度，将结果作线性回归方程，最终得出阿霉素的标准曲线。结果见表 4-4，图 4-3。

表 4-4 阿霉素标准溶液测定结果  
Table 4-3 normal outcome of Adriamycin solution

C (μg/ml)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
A	0.042	0.055	0.083	0.1038	0.1255	0.1522	0.1675	0.1882	0.2105

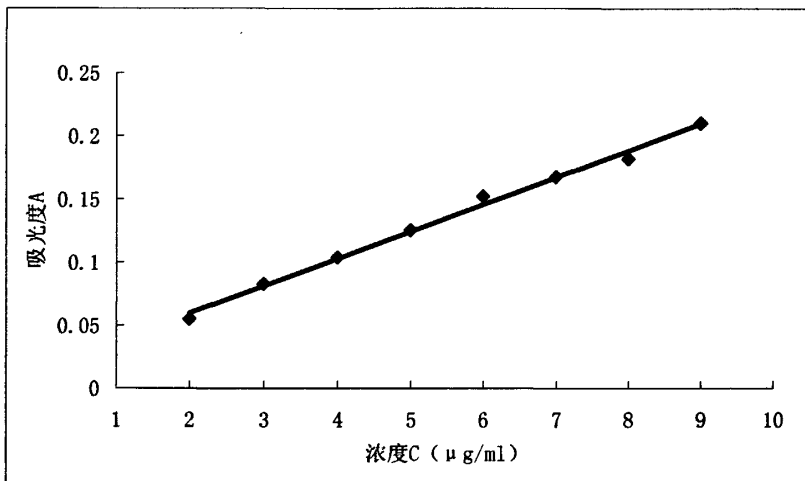


图 4-3 阿霉素标准曲线图  
Fig.4-3 normal curve of Adriamycinsolution

根据检测的结果，以阿霉素的浓度为横坐标，吸光度为纵坐标，绘制标准曲线，如图 4-3。标准曲线方程为： $A=0.0214C+0.0179$   $r=0.9996$ ，表明阿霉素在 1~9μg/ml 的浓度范围内，线性关系良好。

#### 4.2.4.3 阿霉素磁性明胶微球中阿霉素含量的测定

精密称取药物微球 20 mg，置于 50 ml 容量瓶中，加入 0.5mol/L 醋酸胃蛋白酶溶液(胃蛋白酶 0.1g，加入 0.5mol/L 醋酸 50ml) 进行消化，消化完全后定容。以纸包扎避光，在 37℃ 恒温振荡器中以 100r/min 的转速缓缓振荡 72h。取上清液 1 ml 并定容至 10 ml，用紫外分光光度法测定并根据标准曲线方程计算药物含量和封装率：



包封率=已包封药物总量/ 投入药物总量×100%;

载药量=微球中的药物/微球重量×100%; 结果见表 4-5。

表 4-5 阿霉素磁性明胶微球载药量、包封率、药物含量测定结果 (%)  
Table4-5 the measured result of Adriamycin drug microspheres

投料比 (阿霉素 : 明胶)	载药量 ( $\bar{x}$ )	包封率 ( $\bar{x}$ )
1 : 25	1.74	82.15
1 : 20	2.96	79.23
1 : 15	3.42	77.54
1 : 10	4.58	65.26
1 : 5	5.76	56.18

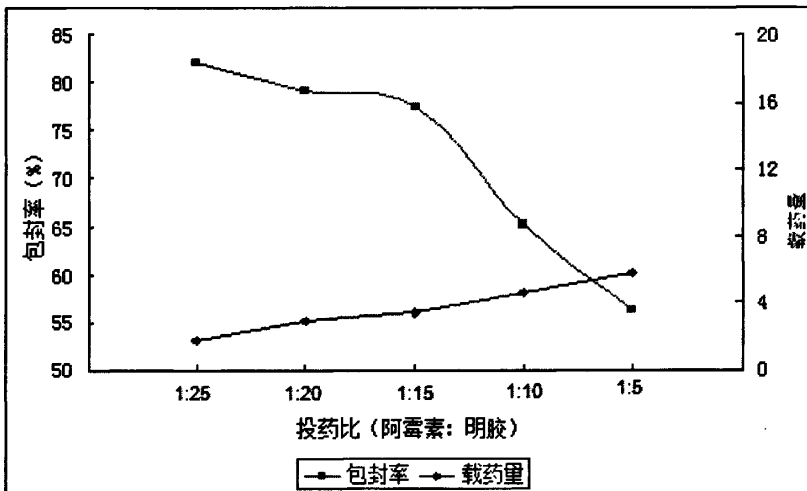


图 4-4 投料量对药物微球载药量与包封率的影响  
Fig.4-4 the measured result of Adriamycin drug microspheres

从表中可以看出, 随着阿霉素投入量的增加, 阿霉素磁性明胶微球的载药量增加不多, 但包封率却明显下降。其原因可能是: 当载药趋于饱和时, 增加的投药量大部分只能留在水溶液中或扩散在油相中, 尽管随着投药量的增大药物磁性微球的载药量仍会提高, 但此时多数药物分子只是留在水溶液中或吸附在微球表面, 极易被洗脱下来, 从而使得包封率下降。因此不能片面追求提高载药量, 应适当兼顾载药量与包封率。

根据以上检测结果, 以及考虑到经济因素, 最后选择投药比 (阿霉素 : 明

胶)为 1:15, 将此种工艺下制备的阿霉素磁性明胶微球用扫描电子显微镜 (SEM, Hitachi S-570) 观察其表观形貌, 电镜照片示于图 4-5。

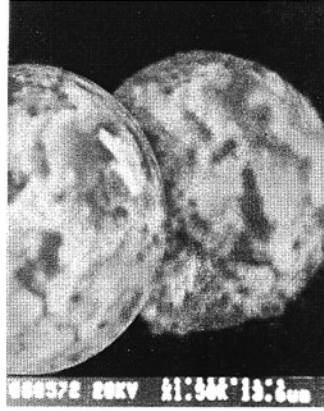


图 4-5 阿霉素磁性明胶微球 SEM 照片

Fig.4-5 SEM image of Adriamycin drug microspheres

从图 4-5 中可以看出, 在最佳条件下制备的阿霉素磁性明胶微球球形度好, 表面光滑, 无缺陷。

#### 4.2.4.4 回收率实验

分别取浓度为 2、4、6、8 $\mu\text{g/ml}$  的阿霉素标准品, 置于 0100mL 容量瓶中, 按照制备比例相应的添加到磁性明胶微球中, 加入生理盐水溶液稀释定容, 过滤, 取滤液 1ml, 置于 10ml 容量瓶中, 用生理盐水稀释至刻度, 摇匀, 在 242nm 处测定其吸收度, 将测得值代入回归方程, 计算回收率。结果见表 4-6, 结果表明, 平均回收率为 99.78%, 表明回收率良好。

表 4-6 阿霉素磁性明胶微球的回收率  
Table4-6 recycle rate of Adriamycin drug microspheres

添加浓度 ( $\mu\text{g/ml}$ )	测定浓度 ( $\mu\text{g/ml}$ )	回收率%	RSD%
2	2.0112	100.56	1.3
4	3.9948	99.87	0.8
6	6.0288	100.48	1.6
8	7.8592	98.24	0.5

### 4.3 阿霉素磁性明胶微球体外释药特性的考察

磁性药物微球的体外释放规律是评价磁性药物微球内在质量的一个重要指

标, 通过体外模拟人体生理环境, 对进行磁性药物微球体外释放实验可以预先得知微球在体外的释放规律, 从而为磁性药物微球在体内释放提供可靠的模拟数据, 该过程是一个综合考察过程, 而非一个简单过程。药物的体外溶出情况受很多因素影响, 除了药物的固有性质外, 主要还包括三大因素: ①制剂处方工艺 (如: 微球的载药量、粒径、交联度); ②溶出度实验方法 (如: 搅拌速度、溶出介质的 pH 值、离子浓度、体积等); ③含量测定方法和仪器。其中制剂处方工艺是最主要的因素, 也是反映制剂内在质量的决定因素。

本文采用透析法测定阿霉素磁性明胶微球的体外释放规律。以阿霉素作为对照, 溶出介质: pH=7.4 磷酸盐缓冲液; 介质温度:  $37^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ ; 搅拌速度: 100rpm; 将阿霉素磁性明胶微球和阿霉素分别置于两个透析袋中, 加入 pH=7.4 磷酸盐缓冲液 3ml, 然后把透析袋放入装有 150ml 磷酸盐缓冲液的烧瓶中, 在 0.5h、1h、2h、4h、8h、12h、48h 时间点, 定时从烧瓶中取 3ml 用于紫外检测, 同时再向烧瓶中再补充 3ml 磷酸盐缓冲液。测定后将结果带入回归方程, 计算累计释药百分率, 得出阿霉素磁性明胶微球的体外释药累计曲线。结果见表 4-7。

表 4-7 阿霉素磁性明胶微球、阿霉素的释药结果

Fig.4-7 the vitro release of Adriamycin and vitro release of Adriamycin drug microspheres

	0.5h	1h	2h	4h	8h	12h	24h	36h	48h
药物微球	27.18	35.82	48.79	62.06	71.54	74.69	75.22	77.35	81.36
阿霉素溶液	60.95	86.54	94.17						

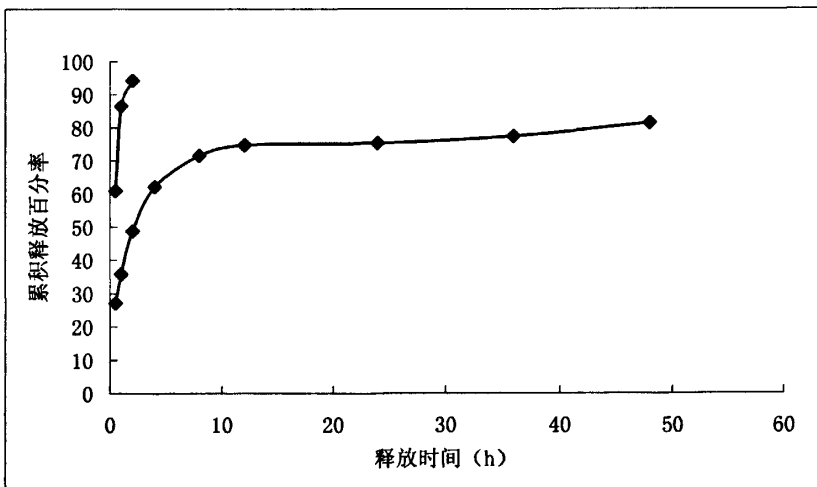


图 4-6 阿霉素体外释药曲线

Fig.4-6 the vitro release curve of Adriamycin

从图 4-6 中可以看出, 试验结果表明阿霉素磁性明胶微球的 48h 释放药量为 81.36%, 阿霉素 60min 释放药量为 86.54%, 阿霉素磁性明胶微球有明显的缓释作用, 药物释放过程为缓释过程。但在微球溶解的初期释药很快, 可能是由于药物由进入微球的溶剂溶解后, 经明胶包裹材料的空隙而扩散到介质中, 而微球表面吸附药物的溶解及扩散则形成释药的突释效应; 或者是由于微球表面残存的阿霉素迅速溶解释放; 微球表面存在细小裂纹, 使表层中的阿霉素溶解迅速释放而后随着明胶材料的降解, 明胶分子缓慢伸展呈纤维状, 长时间维持球形作为  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  和药物的骨架且分子间隙增宽, 使药物均匀缓慢的释放。

## 4.4 小结与讨论

### 4.4.1 磁性药物微球的含量测定方法的选择

微球中药物含量测定一般有几种常用的方法<sup>[83]</sup>。一是酶解法, 白蛋白微球、明胶微球常用, 即用酶(胃酶、胰酶)将载体材料的网状结构破坏后使药物完全释放出来, 然后再进行测定。二是微球溶解法, 用于聚乳酸微球与乙基纤维素微球, 即把含药微球置于对药物溶解度大的溶剂中振荡, 将药物直接提取出来。第三种是研磨提取法, 如丝裂霉素 C 微囊测定时, 先研磨成细粉, 用生理盐水提取完全, 过滤后测定含量。本文采用酶解法测定含药微球, 方法学考察结果良好。

### 4.4.2 磁性药物微球体外释放度测定方法<sup>[84]</sup>的选择

磁性药物微球制剂体外释放度的测定一般根据微球给药途径, 使药物在体外释放尽可能模拟体内, 测定温度一般为  $37^\circ\text{C}$ , 测定介质的体积通常小于常规溶出度测定法, 但是必须满足漏槽条件。目前常用的方法有培养法<sup>[85]</sup>、透析法<sup>[86]</sup>、中国药典的溶出度测定法等。

培养法 (incubation method) 亦称提取法 (extraction method), 将一定量的微球直接置入一定体积的介质中, 在一定频率下振荡, 定时取样, 在取样的同时补充新鲜介质或在测试后再将取出的介质放回去。该法主要缺点是取样过程中很难避免微球的损失。

透析法 (dialysis method) 将药物微球放入透析袋中, 置于相应的介质进行测试。振荡的频率可以是 50、75r/min 和 1 周振摇数次<sup>[87]</sup>等。这是目前应用较多

的一种测定方法。该方法有利于透析膜外介质的交换，可避免样品处理过程中微球的损失和释放介质 pH 的改变。

药典收载的溶出度测定方法包括浆法、转篮法和循环流动池法。

#### 4.4.3 药物微球释放机理

微球释药机制主要有两方面：最初在药物通过微球表面的微孔快速释药的同时，明胶吸水产生溶胀，溶胀越快则释药越快，药物释放行为遵守载体材料的溶胀控制机制；而溶胀达到平衡后，因溶胀后使微孔口径减少甚至消失，因此微孔通道关闭，随后药物释放只能通过骨架缓慢地扩散或通过明胶的降解缓慢地释放，则释药速率将减慢，此时释药行为遵守扩散控制机。

#### 4.4.4 结论

本部分实验通过微球的磁吸附率、产率及形态等特性的检测，以及用紫外分光光度法测定药物微球的载药量和包封率确定出阿霉素与明胶的最佳投料比为 1:15。最佳投药比下药物微球的载药量 3.42%，包封率为 77.54%，平均回收率为 99.78%。采用透析法，以累积释药百分率对时间作药物释放曲线图，测定结果表明阿霉素磁性明胶微球缓释作用良好，其缓释性明显优于阿霉素溶液。

## 第5章 总结和展望

### 5.1 总结

针对阿霉素在肿瘤治疗中的局限性,本文提出了以乳化交联法制备阿霉素磁性明胶微球的研究工作。较系统地研究了阿霉素磁性明胶微球的制备及影响因素、阿霉素磁性明胶微球的性能表征和特性的检测,主要结果如下:

#### 5.1.1 $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 纳米粒子的制备

在以氨水为沉淀剂,  $\text{FeCl}_2$  和  $\text{FeCl}_3$  为原料,通过化学共沉淀法制备磁性  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  纳米粒子的过程中,通过单因素实验对制备工艺进行优化,得出最佳反应条件为:  $n\text{Fe}^{2+}/n\text{Fe}^{3+}$  为 2:3, pH 值应控制在 10 左右,乳化剂的用量为 1g,反应温度为  $50^\circ\text{C}$ ,在 1000r/min 的搅拌速度下反应 30min。

对在最佳反应条件下制得的磁性  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  纳米粒子经透射电镜照片证明为球状得纳米微粒,颗粒大小约 8~12nm;该粒子经 X 射线衍射测试表明其晶型单一,纯度高,由 Scherrer 公式算出  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  纳米粒子得粒径为 12.6nm;激光粒度分析仪测得该粒子平均粒径为 11.6nm,粒径分布窄,主要集中在 5~20nm,分散性较好。

#### 5.1.2 磁性明胶微球的制备

采用乳化交联法制备了磁性明胶微球,通过单因素实验对制备工艺进行优化,确定影响阿霉素磁性明胶微球制备工艺的条件为:选择 span-80 与 tween-80 以 0.3/0.7 的比例形成复配乳化剂,选择戊二醛作为交联剂,明胶溶液浓度为 10%,搅拌速度为 1000r/min,乳化剂用量为 3%,水油相比为 1:10,乳化时间为 30min,乳化温度为  $60^\circ\text{C}$ 。

对在最佳反应条件下制得的磁性明胶微球经激光粒度分析仪测得该粒子平均粒径为  $15.68\mu\text{m}$ ,粒径分布窄,主要集中在 5~ $25\mu\text{m}$ ;经扫描电镜照片观察到  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  粒子已经被明胶复合成球体,粒子成球性好,成球率高,大小较均匀,无粘连;该微球经 X 射线衍射测试图与  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  纳米粒子对比后发现  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  纳米粒子的包覆并没有对  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  的晶体结构产生太大的影响;红外测试结果是:  $590.34\text{cm}^{-1}$  处存在 Fe-O 吸收峰,  $1626.94\text{cm}^{-1}$  处存在明胶蛋白中的 C-O 吸收峰,  $1530.28\text{cm}^{-1}$  处存在明胶蛋白中得 CN 或 CH 吸收峰,由此证明该复合粒子中含有  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  成分。

### 5.1.3 阿霉素磁性明胶微球的制备

采用乳化交联法制备了阿霉素磁性明胶微球。通过微球的载药量、包封率、磁吸附率、产率及形态的观察等特性确定阿霉素与明胶的最佳投料比为 1 : 15。对在最佳投料比条件下制备的阿霉素磁性明胶微球经扫描电镜照片表明：该药物微球球形度好，表面光滑，无缺陷；用紫外分光光度法检测了药物微球中的载药量为 3.42%，包封率为 77.54，平均回收率为 99.78%，表明回收率良好。本文采用透析法测定阿霉素磁性明胶微球的体外释放规律，表明了该药物微球有明显的缓释作用。

## 5.2 展望

随着生物技术、纳米技术、物理化学及高效抗癌药物研究等各项领域多学科的交叉融合飞速发展，磁性靶向药物的研究将进入新的阶段。磁性靶向给药系统对提高药物疗效、降低药物毒性较有意义。但为了使其广泛地应用于临床，还有许多问题有待于我们去解决：1.体外磁场，包括磁场强度、磁场梯度及磁场使用时间等因素对该给药系统的靶向性影响较大，深层部位靶向性较差的问题尤为突出；2.改善载体的表面性质如电荷特性，以增强其主动靶向性，避免由于磁性药物经血管给药后被 RES 系统吞噬；3.增大微粒的粒径可增强磁响应性，但会影响粒子在体内的运送、分布，进一步研究、探索微粒本身的性质如粒径均匀性及其可控性、磁性粒子和药物的含量及稳定性等，以及体内环境如靶区的血管分布和透过性、靶点离给药部位的距离等因素对磁性药物靶向性的影响；4.针对不同的抗肿瘤药物合理选择相应的载体进行包裹，达到优化组合，发挥最佳的疗效；5.降低载体的生产成本，简化生产步骤，以期大规模用于临床。人类正逐步在对上述这些方面问题进行不断改进，相信在不久的将来，随着各个学科的发展，磁性药物靶向治疗将在临床上得到更广泛的应用。

## 致 谢

本文是在导师邱祖民教授的指导下悉心完成的，论文从选题、资料收集、试验设计、实施到撰写、修改，导师始终给予精心的指导和无微不至的关怀，这让我深受感动。

在平时的学习生活中，老师丰富得化学工程方面的设计经验和深厚的理论造诣使我受益匪浅，他以其严谨、求实的治学态度，高度的责任心，崇高得敬业精神，以及稳重的待人处世作风一直鼓舞着我克服困难，不断拼搏进取。研究生学习不仅要学会如何做学问，更要学会做人，恩师的言传身教让我明白了科研工作的真谛，也让我懂得了做人的道理。

感谢我的同门师兄妹在我的学习和论文写作中给予了热情的帮助和关心，同时感谢家人多年来对我学习上的理解、支持和帮助，对生活上的关心和照顾，使自己的学业得以顺利完成。

黄佳英  
2008年11月



## 参考文献

- [1] J. A. Goklberg, N Willmott, D. J. Kerr, et al. An in vivo assessment of adriamycin-loaded albumin microspheres [J]. *Br. J. Cancer*, 1999, 65(2): 393.
- [2] P. K. Gupta, C. T. Hung, F. C. Lam. Albumin Microspheres III: Synthesis and characterization containing adriamycin and magnetite [J]. *Int. J. Pharm*, 2000, 433: 167.
- [3] 谢民强, 陈帅君, 徐雪青等. 两种顺铂磁性纳米颗粒制备及其特性的比较[J]. *科学通报*, 2005, 50(19): 2079-2084.
- [4] K. N. Burger, R. W. Staffhorst, M. J. Velinova, et al. Nanocapsules: lipid-coated aggregates of cisplatin with high cytotoxicity [J]. *Nat. Med*, 2002, 8(1): 81.
- [5] G. Mukherji, R. S. Murthy, B. D. Miglani. Preparation and evaluation of cellulose nanospheres containing 5-fluorouracil [J]. *Int. J. Pharm*, 1990, 65: 1.
- [6] 尹宗宁, 陆彬. 注射胰岛素缓释纳米囊的研究[J]. *中国医药工业杂志*, 2000, 31(8): 349-352.
- [7] 段明星, 乐志操, 马红. 氰基丙烯酸酯包覆胰岛素纳米颗粒的结构[J]. *中国药学杂志*, 1999, 34(1): 23-26.
- [8] 张志荣, 钱文. 肝靶向米托蒽醌白蛋白微球的研究[J]. *药学学报*, 1997, 32(1): 72-78.
- [9] 张良珂, 侯世祥, 毛声俊等. 受体介导米托蒽醌白蛋白纳米粒肿瘤细胞靶向性研究[J]. *四川大学学报(医学版)*, 2006, 37(1): 77-79.
- [10] 彭应旭, 庄燕黎, 廖工铁. 骨髓靶向柔红霉素毫微粒的研究[J]. *中国医药工业杂志*, 2000, 31(2): 57-61.
- [11] 徐华, 宋涛. 磁性药物靶向治疗的进展[J]. *国外医学生物医学工程分册*, 2004, 27(1): 61-64.
- [12] D. Devineni, S. A. Klein, J. M. Gallo. Tissue distribution of method of methotrexate following administration as a solution and as a magnetic microsphere conjugate in rats bearing brain tumors[J]. *J Neurooncol*, 1995, 24(2): 143-152.
- [13] S. K. Pulfer, J. M. Gallo. Enhanced brain tumor selectivity of cationic magnetic polysaccharide microspheres[J]. *J Drug Target*, 1998, 6(3): 215-227.
- [14] A. S. Lubbe, C. Bergemann, H. Riess, et al. Clinical experiences with magnetic drug targeting: a phase I study with 4-epidoxorubicin in 14 patients with advanced solid tumors[J]. *Cancer Res*, 1996, 56: 4686-4693.
- [15] C. H. Aexion, W. Arnold, R. J. Klein, et al. Locoregional cancer treatment with magnetic drug targeting[J]. *Cancer Res*, 2000, 60: 6641-6648.
- [16] M. Yanase, M. Shinkai, H. Honda, et al. Intracellular hyperthermia for cancer using magnetic cationic liposomes: an in vivo study[J]. *Jpn J Cancer Res*, 1998, 89(4): 463-469.
- [17] E. Viroonchatapan, M. Ueno, H. Sato, et al. Preparation and characterization of dextran magnetite incorporated thermosensitive liposomes: an on-line flow system for quantifying

- magnetic responsiveness[J]. *Pharm Res*, 1995, 12: 1176-1183.
- [18] S. R. Rudge, Y. Kurtz, M. T. Peracchia, et al. Biodegradable long-circulating polymeric nanospheres[J]. *Science*, 1994, 263(5153): 1600-1603.
- [19] 廖鹏飞, 夏金兰等. 磁性微球的制备及在生物分离应用中的研究进展. *生物磁学*, 2005, 5(4): 27~28.
- [20] 赵慧君, 王德平等. 磁性纳米微球的特性及其在生物医学中的应用. *同济大学学报(医学版)*, 2003, 24(4): 288-291.
- [21] 张津辉, 蒋中华等. 磁性微球的制备—理化性质及初步应用. *化学通报*, 1997, 9: 55.
- [22] M. D. Cuyper, M. Jonian. *Langmuir*, 1990, (7): 647.
- [23] R. F. M. Dekker. *Appl Biochem Biotech*, 1989, (22): 289.
- [24] M. Hasegama, S. Hokkoku. U P 4 101 435, 1978.
- [25] Gupta P K, Hong C T, Lam C F, et al. *Int J Pharm*, 1988 (43): 167.
- [26] Chen Q i, Rondinone A J, et al. *J M M M*, 1999, (194): 1.
- [27] Kuznetsov A A, Filippov V I, et al. *J M M M*, 1999, (194): 22.
- [28] 孙敏莉, 王强斌, 等. DEAE-磁性纳米粒子提纯质粒的研究. *上海第二医科大学学报*, 2003, 23(6): 512-514.
- [29] J. Lee, T. Isobe, Senna M. preparation of ultrafine  $Fe_3O_4$  particles by precipitation in the presence of PVA at high pH. *J Coll Interf sci*. 1996, (177): 490-494.
- [30] H. Honda, A. Kawabe, M. Shinkal et al. Development of Chitosan-Con-jugated Magnetite for Magnetic Cell Separation. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 1998, 86(2): 191-196.
- [31] Y. C. Huang, Yeh M K & C. H. Chiang. Formulation factors in preparing BTM—chitosan microspheres by spray drying method. *Int. J. pharm*. 2002, 242: 239~242.
- [32] M. C. Bonfeorni, P. Chetoni, P. Giunchedi, et al. Carrageenan—gelatin mucoadhesive systems for ion—exchange based opthalmic delivery: in vitro and preliminary in vivo Studies. *Eur. J. Pharm & Biopharm* 2004 57: 465~472.
- [33] 王强斌, 古宏晨, 等. 喷雾法制备固定化酶载体—磁性聚丙烯腈微球. *华东理工大学学报*, 2002(6): 47~50.
- [34] 安小宁, 苏致兴. 高磁性壳聚糖微粒的制备与应用. *兰州大学学报*, 2001, 37(2): 100-103.
- [35] 张密林等. *应用科技*. 2000, 27(6): 20~21.
- [36] 邱广亮, 邱广明等. *精细化工*, 1999, 16: 38~40.
- [37] 张效岩, 王英等. 磁性纳米粒子的制备及应用. *磁性材料及器件*, 2004, 12: 14~17.
- [39] 刘雪奇, 曾红梅. 含羧基磁性高分子微球的合成与表征. *无机化学学报*, 2005, 4: 490~495.
- [39] 胡书春, 周祚万. 纳米磁性高分子微球的合成及磁学性能研究. *材料科学与工程学报*, 2005, 95(6): 448~450.
- [40] 王胜林, 朱以华, 等. 微悬浮聚合法合成聚苯乙烯磁性微球. *华东理工大学学报*, 2001 (8): 364~367.

- [41] Furusa wa K; Naqashima. K et al. Synthetic process to control the total size and component distribution of multilayer magnetic composite particles. *Colloid&polymer Science*. 1994, 272: 1104-1110.
- [42] P. A. Munko, P. Dunill, M. D. Lilly. [J]. *Biotech Bioeng*, 1977, 19: 101.
- [43] V. P. Torchilin. et al. [J]. *J Bioned Mater Res*, 1985, 19: 461.
- [44] V. Bendikiene, B. Juodka. *Proc Int Symp, 2nd[C]*, 1996: 503~511.
- [45] 康继超, 沙木屯布卡等. 用免疫磁性微球从骨髓中分离癌细胞. *药学学报*, 1998, 33(1): 52~56.
- [46] Jhunu Chatterjee, You sef Haik, Ching-Jen Chen. Modification and characterization of polystyrene-based magnetic microspheres and comparison with album in-based magnetic microspheres. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. 2001, 2(25): 21~29
- [47] 张珊, 游长江等. 磁性高分子微球的制备及其应用. *广州化学*, 2004, 29(2): 45-51.
- [48] 惠旭辉, 高立达等. 聚甲基丙烯酸甲酯磁性微球血管内栓塞实验研究. *四川医学*, 2001 22(10): 928~929.
- [49] Cordula Grütter, Sandra Rudershansen, Joachim Teller. Improved properties of magnetic particles by combination of different polymer materials as particle matrix. *Journal of Magnetism and Magnetic Meterials*, 2001(225): 1~7.
- [50] Yue Chang, Zhixing Su. Preparation and characterization of thermosensitive magnetic particles[J]. *Materials Science and Engineering, A*: 2002(333): 155~159.
- [51] Sucholeiki, Bohuslav Jena Spa, Rittich, nova A. Characterization of deoxyribonuclease immobilized on magnetic hydrophilic polymer particles. *Journal of Chromatography B*: 2002, (774): 25~31.
- [52] Ming Yang, Hulin Li. Dielectric behavior and magnetic properties of poly(styrene-co-acrylic acid) metal Microspheres. *Talanta*, 2001(55) : 479~484.
- [53] Urs HaK feli, Gayle Pauer, Sarah Failing. Radiolabelingofmagnetic particles with rhenium—188 for cancer therapy. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. 2001(225) : 73~78.
- [54] Muniyandy Saravanan, Kesavan Bhaskar, Gomathinayagam, et al. Ultrasonically controlled release and targeted delivery of diclofenac sodium via gelatin magnetic microspheres. *International Journal of Pharmaceutics*. 2004(283) : 71~82.
- [55] 黄惠忠等编著. 纳米材料分析[M]. 化学工业出版社, 2003, 277-295.
- [56] 王世敏. 纳米材料制备技术[M]. 化学工业出版社. 2002.
- [57] 程海斌, 刘桂珍, 李立春. 马尔文激光粒度分析仪粒度检测方法及其优化研究[J]. *武汉理工大学学报*. 2003, 25(3): 7-9.
- [58] 曹茂盛. 超微颗粒制备科学与技术[M]. 哈尔滨工业出版社, 1998, 213.
- [59] 杨根元. 实用仪器分析[M]. 北京大学出版社, 1996, 104-255.
- [60] R. C. Yong, R. F. Ozols, C. E. Myers, et al. The anthracycline neoplastic drugs [J]. *Ne Engl J Med*, 1981, 305(3): 139.
- [61] K. K. Chan, R. T. Chlbowski, M. Ton, et al. Clinical pharmacokinetics of adriamycin in hepatoma patients with cirrhosis[J]. *Cancer Res.* , 1980, 40(4): 1263.

- [62] N. V. Bapat, M. Boroujerdi. Effect of Colloidal Carriers on the Disposition and Tissue Update of Doxorubicin: II Conjugation with Isobutyl-cyanoacrylate Nanoparticles. *Drug Dev Ind. Pharm*, 1993, 19(20): 2667.
- [63] P. Couvreur, B. Kante, L. Grislain, et al. Toxicity of polyalkylcyanoacrylate Nanoparticles II: Doxorubicin-Loaded Nanoparticles, *J. pharm. Sci.* 1982, 71(7): 790.
- [64] Widder K J, Senyei A E, Scarpelli DG, et al. Magnetic microspheres: A model system for site specific drug delivery in vivo[J]. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1978, 58: 141-145.
- [65] Widder K J, Senyei A E, Ranney DF, et al. In vitro release of biologically active adriamycin by magnetically responsive albumin microspheres [J]. *Cancer Res*, 1980, 40: 3512-3517.
- [66] Senyei A E, Reich S D, Goczy C, et al. In vivo kinetics of magnetically targeted low-dose doxorubicin [J]. *J Pharm Sci*, 1981, 70(4): 389-391.
- [67] P K Gupta, C T Hung. Comparative disposition of adriamycin delivered via magnetic albumin microspheres in presence and absence of magnetic field in rats [J]. *Life Sci*, 1990, 46(7): 471~479.
- [68] Tadahiko K, Takashi S, Shoji S, et al. Targeted systemic chemotherapy using magnetic liposomes with incorporated adriamycin for osteosarcoma in hamsters. *Int J Oncology*, 2001, 18(1): 121.
- [69] A. S. Lubbe, C. Bergemann, W. Huhut, et al. Preclinical experiences with magnetic drug targeting: tolerance and efficacy [J]. *Cancer Res.* 1996, 56(20): 4694~4701.
- [70] Eliana L, Maria AVI, Riccardo C, et al. Doxorubicin-loaded gelatin nanoparticles stabilized by glutaraldehyde: involvement of the drug in the cross-linking process. *Int J Pharm*, 1997, 155(1): 75-82.
- [71] C Alexion, W Arnold, R J Klein, et al. Locoregional cancer treatment with magnetic drug targeting [J]. *Cancer Res.* 2000, 60(23): 6641~6648.
- [72] 陈骥, 孙淑英, 顾学裘, 等. 磁性微球载体—抗癌药复脉嘧啶新剂型[J]. *中国药理学报*, 1983, 4(4): 273.
- [73] 吴传斌, 何素梅, 高文伟. 阿霉素磁性明胶微球的制备及特性研究[J]. *中国医药工业杂志*, 1994, 25(2): 63~66.
- [74] 张玉, 王凯平, 陈东生, 等. 复方阿霉素磁性白蛋白微球的制备及含量测定[J]. *中国医院药学杂志*, 2000, 20(1): 53-55.
- [75] 张阳德, 龚连声. 磁性阿霉素白蛋白纳米粒的研制. *中国现代医学杂志*, 2001, 11(3): 1-4.
- [76] 王华, 郑黎, 梁爱君, 等. 小粒径盐酸阿霉素白蛋白微球的研制及其含量测定[J]. *解放军药学学报*, 2002, 18(3): 140~142.
- [77] 刘海峰, 常津, 张爽男, 等. 明胶聚乳酸载药纳米微球的制备及其体外释药研究[J]. *中国生物医学工程学报*, 2003, 22(2): 178~182.
- [78] 沈海霞, 陈晓耕, 刘振华, 等. 阿霉素磁性高分子抗癌微球的制备与表征[J]. *中国新医药*, 2004, 3(4): 15~16.
- [79] 陆扬. 明胶微球的研究进展(二). *明胶科学与技术*, 2006, 36(3): 113-127.

## 参考文献

---

- [80] 李雄伟, 严昌虹, 王丹青, 等. 功能高分子微球研究—— $^{99m}\text{Tc}$  明胶微球的制备及其动物活体显像. 生物医学工程学杂志, 1991, 8(2): 99~103.
- [81] 王彦卿, 张红梅, 张朝平等. 磁性明胶微球的制备及表征[J]. 化学研究与应用, 2005, 17(5): 691-693.
- [82] 何伟. 阿霉素白蛋白微球的研制. 中国药学杂志, 1992, 27(11): 652.
- [83] 陆彬. 药物新剂型与新技术. 北京: 人民卫生出版社, 1998: 522~523.
- [84] 符旭东, 高水良. 缓释微球的释放度试验及体内外相关性研究进展. 中国新药杂志, 2003, 12(8): 608~611.
- [85] Eliana L, Flavio F, Maria TB. Surface drug removal from ibuprofenloaded PLA microspheres [J]. Int J Pharm, 2000, 1996(1): 1~9.
- [86] Park TG, Lu WQ, Crotts G. Importance of in vitro experimental conditions on protein release kinetics, stability and polymer degradation in protein encapsulated poly(D, L-lactic- co-glycolic acid) microspheres[J]. J Controlled Release, 1995, 33(22): 211~222.
- [87] Shameem M, Lee, elucaPP. A short term(accelerated release) approach to evaluate peptide release from plga depot formulations[EB/OL].

## 攻读学位期间的研究成果

- [1] 黄佳英, 邱祖民. 金边瑞香的药理作用研究进展. 2006, 43 (6): 621-622.
- [2] 黄佳英, 邱祖民. 阿霉素磁性靶向药物的研究进展. 2006, 06, 23-25.
- [3] 赵原璧, 邱祖民, 黄佳英. Preparation and analysis of  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  magnetic nanoparticles used as target-drug carriers [J]. 化工学报 (英文版).