

磁性热敏聚合物微球的制备及磁感应控制释放行为^{*}

蔡力锋^{1**} 温裕乾² 林志勇^{2**} 钱浩² 邓雄威²

(¹莆田学院环境与生命科学系 莆田 351100) (²华侨大学材料科学与工程学院 厦门 361021)

摘 要 采用种子乳液聚合法在 Fe₃O₄ 纳米粒子表面聚合包覆 *N*-异丙基丙烯酰胺 (NIPAM) 与 α -甲基丙烯酸 (MAA) 的共聚物, 制备了磁性热敏聚合物微球 Fe₃O₄/P(NIPAM-co-MAA). 利用广角 X 射线衍射仪 (WAXD)、透射电子显微镜 (TEM)、zeta 粒度仪 (DLS)、热重分析 (TGA)、振动样品磁力计 (VSM) 及比表面积测试仪 (BET) 等对微球的结构与形貌进行了表征, 通过紫外-可见光分光光度法 (UV-Vis) 研究了微球对水溶性模型药物罗丹明 B (RhB) 的负载和磁感应控制释放行为. 结果表明, 微球粒径为 80 ~ 200 nm, 比表面积约为 30.04 m²/g, 平均孔径约为 24.50 nm; 微球中聚合物含量约为 73 wt%, 磁粒子含量约为 20 wt%, 饱和磁感应强度为 16.49 emu/g, 其体积相转变温度 (VPTT) 约为 37.5°C. RhB 在微球中的装载量可以达到 16.38 mg/g; 在外加交变磁场作用下, RhB 在模拟肠液和胃液中的磁感应释放量分别达到 10.47 和 13.02 mg/g.

关键词 热敏, 聚合物微球, 磁感应, 控制释放

磁靶向给药系统 (magnetic targeting drug delivery system, MTDDS) 是将药物和磁性粒子共同包裹于聚合物载体中, 利用外加磁场的诱导效应, 引导药物在体内定向移动和定位集中, 在磁场区释放药物, 从而起到靶区局部浓集作用或靶区截流作用^[1,2]. MTDDS 因其具有磁性, 可在外加磁场的作用下实现导向、定位和分离, 同时拥有高分子的特性和良好的生物相容性, 因此在生物医药应用领域备受关注^[3,4].

Fe₃O₄ 是一种具有超顺磁性、生物相容性好、且无毒副作用的磁性材料, 可应用于药物控释^[5]; 热敏性聚合物聚 *N*-异丙基丙烯酰胺 (PNIPAM) 是一种具有良好生物相容性和环境敏感性的高分子材料, 其在 32°C 左右的水溶液中有一个体积相转变温度 (volume phase transition temperature, VPTT)^[3,6]. PNIPAM 在其 VPTT 以下能充分被水溶胀, 形成均相体系; 而当温度超过 VPTT 时则表现为疏水性, 并与周围的分散介质产生相分离. 因此, 将 PNIPAM 和 Fe₃O₄ 进行复合, 可以制备具有磁性和热敏性双重响应特性的聚合物微球, 其在靶向给药及药物控制释放领域拥有广阔的应用前景^[7~9].

本工作采用种子乳液聚合法制备了 Fe₃O₄/

P(NIPAM-co-MAA) 磁性热敏聚合物微球, 通过共聚在 PNIPAM 中引入聚 α -甲基丙烯酸 (PMAA) 链段, 以调节微球的亲水/疏水特性, 使微球的 VPTT 达到人体的生理温度 (37°C) 以上. 研究了微球对模型药物 RhB 的装载和磁感应控制释放行为.

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

N-异丙基丙烯酰胺 (NIPAM), 98%, 在甲苯/环己烷 (4/6, V/V) 混合溶剂中重结晶, 除去少量阻聚剂后使用; α -甲基丙烯酸 (MAA), 分析纯, 减压蒸馏后使用; 偶氮二异丁腈 (AIBN), 99%; *N*, *N*-亚甲基双丙烯酰胺 (MBA), 分析纯; 罗丹明 B (RhB), 分析纯; 以上均为阿拉丁有限公司试剂. 醋酸丁酯 (BA); 十二烷基苯磺酸钠 (SDBS); 以上药品均为分析纯, 汕头市西陇化工股份有限公司.

1.2 磁性热敏聚合物微球的制备

通过共沉淀法制备 Fe₃O₄ 磁性纳米粒子, 并用油酸进行改性, 制备油酸表面修饰的 Fe₃O₄ 粉体^[4], 记为 OA-Fe₃O₄. 将 0.4 g AIBN 和 1 g Fe₃O₄ 超声分散到 10 g BA 中, 再滴加到 120 mL 含 SDBS 的水溶液中, 配成种子乳液. 将 1.5 g MAA, 3 g NIPAM, 0.5 g MBA 溶于 80 mL 蒸馏水中. 冰

^{*} 2011-12-01 收稿, 2012-01-13 修稿; 国家自然科学基金 (基金号 50673030)、福建省自然科学基金 (基金号 2009J05131) 和莆田市科技计划项目 (项目号 2009G25) 资助项目.

^{**} 通讯联系人, E-mail: cailf2002@yahoo.com.cn; linzy@hqu.edu.cn
doi: 10.3724/SP.J.1105.2012.11370

浴超声下将单体加入种子乳液中,超声 30 min, 80℃ 水浴中反应 8 h, 转速 400 r/min, 全程氮气保护. 反应完后, 冷却至室温后, 移去氮气. 将咖啡色产物用磁铁分离出来, 反复水洗, 65℃ 真空干燥得到 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{P}(\text{NIPAM-co-MAA})$ 磁性热敏聚合物微球.

1.3 磁性热敏聚合物微球的表征

磁性热敏聚合物微球的晶体结构采用德国 Bruker D8 Advance 粉末 X 射线衍射仪测试; 微球的形态与尺寸用荷兰 Philips-FEI Tecnai F30 场发射透射电镜进行观察; 微球在水溶液中的粒径分布使用英国 Malvern ZEN 3600 型 zeta 粒度仪测定; BET 比表面积及平均孔径采用美国 Micromeritics ASAP 2020M + C 比表面及孔径分布仪测定; 微球的磁含量和热稳定性用 Shimadzu DTG-60H 测定, 以 20 K/min 的升温速度, 从室温加热到 600℃; 采用美国 Lake Shore 7410 振动样品磁强计 (VSM) 测定微球的比饱和磁化强度和矫顽力.

1.4 磁性热敏聚合物微球载药性能研究

在装有 100 mL 不同浓度罗丹明 B (RhB) 溶液的锥形瓶中, 加入 0.1 g 磁性温敏聚合物微球, 调节不同的 pH 值, 密封, 取 3 份做平行样, 室温下振荡 12 h. 用磁铁分离后, 取上层清液, 利用 UV-Vis 测定溶液在波长 554 nm 处的吸光度, 通过 RhB 的标准曲线计算出聚合物微球的载药量及装载率; 载药后的微球用去离子水洗涤 3 次, 烘干以供下一步药物释放研究使用.

聚合物微球对 RhB 的载药量 (Q_e), 装载率 (Q) 由下式计算:

$Q_e = (c_0 - c_e)V/W$, $Q = (c_0 - c_e)/c_0 \times 100\%$
式中 c_0 为 RhB 的初始浓度 (mg/L), c_e 为负载平衡时上层清液 RhB 的浓度 (mg/L), V 为 RhB 溶液的体积 (L), W 为聚合物微球重量 (g), Q_e 为聚合物微球载药量 (mg/g).

1.5 体外药物释放研究

将 0.1 g 载药的微球浸泡于 100.0 mL PBS 缓冲液中 (模拟肠液和胃液), 放入 SP-15 高频感应加热设备中研究微球中模型药物 RhB 的释放行为, 取 3 份做平行样. 定时取 5.0 mL 上层清液, 随后向释放体系中补充 5.0 mL 缓冲溶液, 以维持释放体系保持体积不变, 利用 UV-Vis 法计算出累积药物释放量.

2 结果与讨论

2.1 聚合物微球结构与形貌

图 1 是磁性 Fe_3O_4 微粒和 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{P}(\text{NIPAM-co-MAA})$ 微球的 X 射线衍射图. 图中微球的衍射峰与 Fe_3O_4 粒子衍射峰的峰形和峰宽基本一致, 微球衍射谱峰依次对应于 (220), (311), (400), (422), (511) 和 (440) 晶面的衍射^[9], 与标准 Fe_3O_4 的特征衍射谱峰相吻合, 表明微球中含有 Fe_3O_4 晶粒, 且高分子链未与 Fe_3O_4 发生键合而破坏其晶体结构; 此外, 图中微球的衍射峰宽化, 强度减弱, 这是由 Fe_3O_4 表面包覆的聚合物所致^[8].

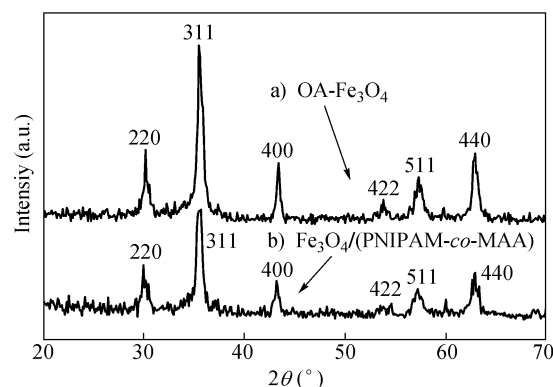


Fig. 1 XRD patterns of (a) OA- Fe_3O_4 and (b) $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{P}(\text{NIPAM-co-MAA})$

图 2(a) 为 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{P}(\text{NIPAM-co-MAA})$ 微球的透射电镜图, 从图中可见, Fe_3O_4 磁性颗粒弥散包裹在 $\text{P}(\text{NIPAM-co-MAA})$ 内部, 形成了粒径约为 80 ~ 200 nm 的聚合物微球, 根据反应机理^[10,11], 复合微球是由微凝胶 $\text{P}(\text{NIPAM-co-MAA})$ 包覆磁性纳米 Fe_3O_4 形成的. 图 2(b) 为微球的粒径分布图, 从图中可以看出微球的粒径分布呈正态分布, 主要在 100 ~ 330 nm 之间, 平均粒径大小约为 220 nm. 对比图 2(a) 和 2(b) 可以看出 DLS 测得的粒径比 TEM 所测的粒径稍大, 这是因为 DLS 是在水溶液中测试得到的流体动力学直径, 微球在水溶液中有一定的溶胀, 而 TEM 分析的是干燥样品的粒径.

图 3 为磁性热敏聚合物微球的 N_2 吸/脱附平衡曲线, $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{P}(\text{NIPAM-co-MAA})$ 磁性热敏聚合物的比表面积为 30.04 m^2/g , 平均孔径为 24.50 nm, 这表明微球具有较大的比表面积和纳米级孔径, 有利于对小分子药物的装载^[11].

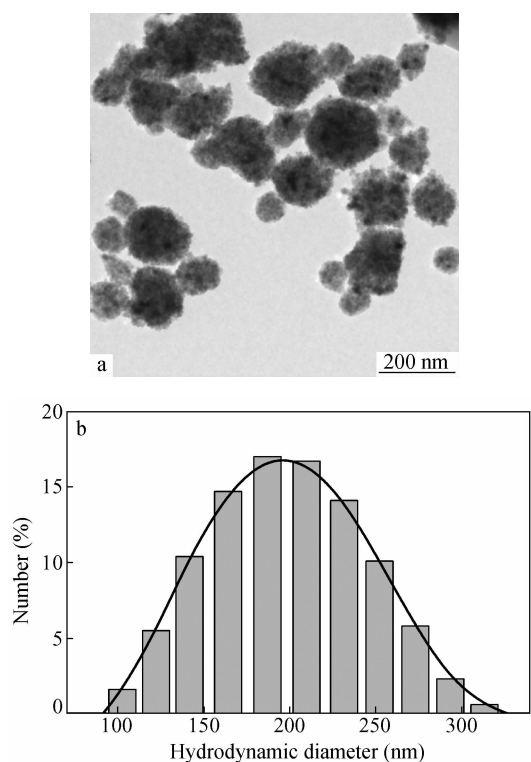


Fig. 2 The TEM images (a) and the size distribution (b) of $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{P}(\text{NIPAM-co-MAA})$

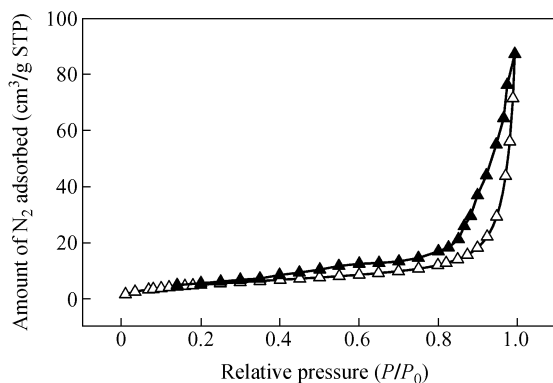


Fig. 3 Nitrogen adsorption and desorption isotherms of $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{P}(\text{NIPAM-co-MAA})$

2.2 聚合物微球磁响应性和热敏性

图 4(a) 为微球的热失重曲线, 其失重主要分为两个阶段. 第一阶段在室温到 250°C 之间, 失重率约为 7 wt%, 这是由样品中残余水分的挥发以及残余小分子的分解所致; 第二阶段在 $250 \sim 450^\circ\text{C}$ 之间, 失重速度明显增快, 是由微球中聚合物的分解所致. 在 $450 \sim 600^\circ\text{C}$ 之间没有明显的重量损失, 表明体系中聚合物已经完全分解, Fe_3O_4 在体系中稳定存在. 从热失重分析结果可知, 微球中聚合物含量约为 73 wt%, 磁粒子含量约为 20

wt%^[12].

用振动磁力计(VSM)对磁性 Fe_3O_4 和复合微球的磁感应强度进行测定, 图 4(b) 是 Fe_3O_4 和复合微球磁滞曲线. 由图可见, Fe_3O_4 和复合微球的剩磁和矫顽力都很小, 几乎观察不到, 表明 Fe_3O_4 和复合微球有良好的超顺磁性^[4], 饱和磁感应强度分别为 78.15 和 16.49 emu/g. 此外, 磁性热敏聚合物微球还具有较好的定向移动性, 如图所示, 在外加磁场下, 稳定分散在水中的微球能够迅速地被磁分离出来, 聚集到磁铁一侧. 而被磁分离的微球聚集体也可以在轻微的晃动下重新分散到水中, 这也表明磁性热敏聚合物微球的矫顽力很小^[2, 12].

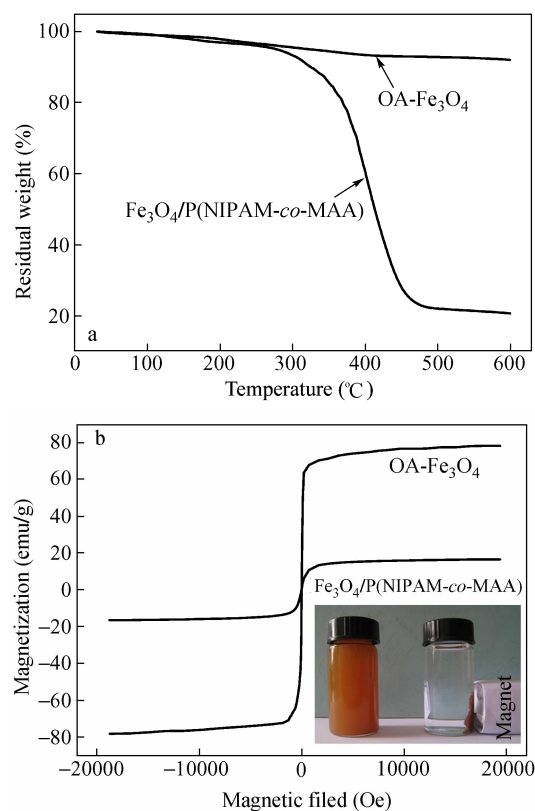


Fig. 4 TGA curves (a), magnetization curve and the separation process (b) of samples

图 5 显示了 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{P}(\text{NIPAM-co-MAA})$ 微球的流体动力学直径随温度升高的变化情况. 从图中可以看出, 随着温度升高, 其粒径均缓慢下降, 且在 37.5°C 的下降趋势最为显著. 这是由于微球中温敏性聚合物由亲水态转变为疏水态, 微球的疏水作用增强, 酰胺基团与水分子之间的氢键被破坏, 微球发生收缩并释放部分水, 温敏聚合物发生相变, 在水中的构象也由疏松的线团结构转变

为紧密的胶粒状结构,从而导致聚合物的体积收缩^[13,14]. 由于在聚合物中引入亲水性基团(MAA),使得聚合物与水分子之间形成的氢键数增加,而破坏这些氢键则需要更强的能量,所以使聚合物的 VPTT 高于 NIPAM 凝胶^[15]. 上述实验结果表明 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{P}(\text{NIPAM-co-MAA})$ 微球具有温度敏感性,其 VPTT 约为 37.5°C ^[6,10], 达到人体的生理温度以上,因此在作为药物控制释放体系的载体领域具有良好的应用前景.

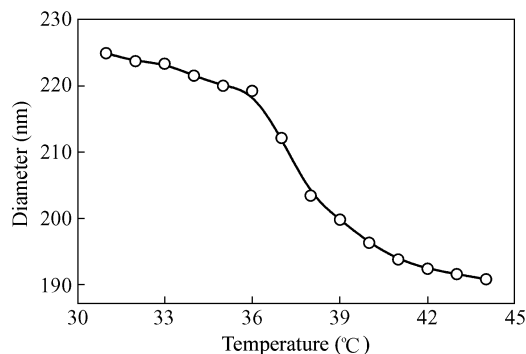


Fig. 5 Hydrodynamic diameter versus temperature dependence of $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{P}(\text{NIPAM-co-MAA})$

2.3 聚合物微球载药性能分析

图 6 显示了磁性热敏聚合物微球对模型药物 RhB 的装载性能,结果表明,对于不同的 pH 值和不同的 RhB 初始浓度,微球的载药量和装载率也不同. 随着溶液中模型药物 RhB 浓度的增加,微球对 RhB 的装载量也随之增加,在较高的初始浓度处,装载量逐渐趋于饱和;装载率呈现先增加然后逐渐降低的趋势. 此外,随着溶液 pH 值的增加,微球对 RhB 的装载量先增加然后逐渐降低,在 pH 为 5.7 时微球对 RhB 的装载效果最佳,当 RhB 溶液浓度为 25 mg/L 时,其在微球中的装载量可以达到 16.38 mg/g. 这可能和溶液的 pH 值变化对 RhB 与 $\text{P}(\text{NIPAM-co-MAA})$ 的结构及电荷形态的影响有关. RhB 带有羧基,在水溶液中羧基 H^+ 容易解离,在酸性条件下容易生成叔胺、季铵离子,在碱性条件下,易与水溶液中的阴离子或 OH^- 发生中和反应,形成不带电的中性分子而沉淀;且 $\text{P}(\text{NIPAM-co-MAA})$ 中的酰胺键 ($-\text{CONH}-$) 在酸性条件下易形成 $-\text{CONH}_2^+$, 因此,在酸性条件下有利于微球对 RhB 的装载^[16,17].

2.4 聚合物微球药物释放性能分析

图 7 是负载 16.38 mg/g RhB 的微球分别在

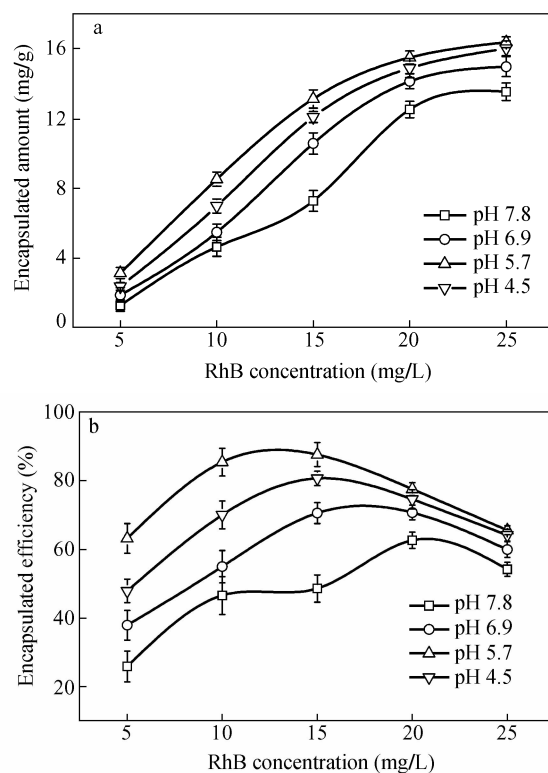


Fig. 6 Drug loading content (a), and encapsulated efficiency (b) of $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{P}(\text{NIPAM-co-MAA})$

模拟肠液和胃液下的释放行为. 分别采用 SP-15 高频感应加热设备和恒温振荡器控制模型药物 RhB 的释放. 由图可见,负载 RhB 的微球在恒温振荡器中,具有一定的释放效果,并且温度为 40°C 下的释放效果明显高于 30°C ,这是因为外界温度高于微球的 VPTT,使得微球发生收缩,从而使 RhB 在微球收缩时被挤压出来. 此外,在恒温振荡器中 40°C 时的释放效果要稍微高于高频感应加热设备下的释放效果,这是由于在恒温摇床中微球能充分的震荡,加剧了微球间撞击,有利于 RhB 的释放;而在交变磁场下,微球只是由于弛豫效应产生热量,没有剧烈的撞击过程,所以释放量略有降低. 负载 RhB 的微球在碱性(模拟胃液)条件下药物总释放量高于酸性(模拟肠液)条件,这是由于碱性条件下 RhB 与微球的相互作用比酸性条件弱. 负载 RhB 的微球在 SP-15 高频感应加热设备中,表现出良好的释放效果,这是因为微球中的磁粒子在交变磁场作用下发生磁热效应,在 9.3 min 使得释放液的温度达到 37.5°C , 15 min 后维持在 40°C 左右. 磁热效应产生热量使微球温度升高(高于其 VPTT),使微球从亲水的溶胀状态转变为疏水的蜷缩状态而发生收缩,将微球内

的药物释放出来. RhB 在模拟肠液和胃液中的磁感应释放量分别达到 63.93% (10.47 mg/g) 和

79.48% (13.02 mg/g), 均大于癌症治疗中转移到癌细胞中所需药物量 (10 mg/g)^[18].

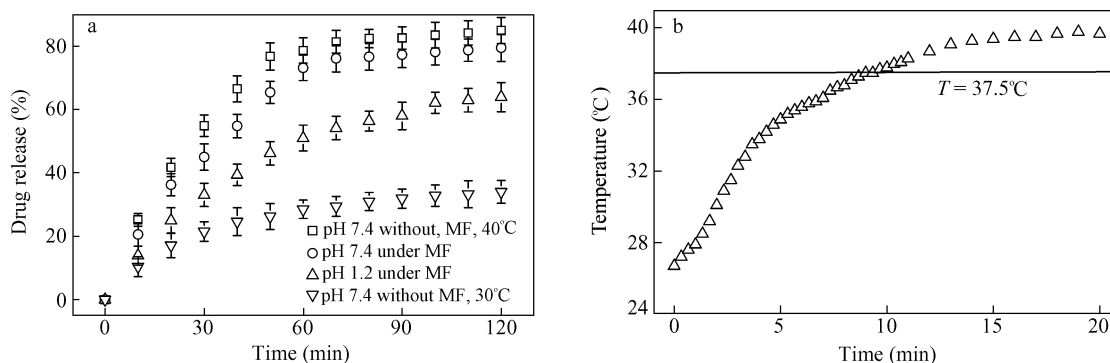


Fig. 7 The *in vitro* RhB release curves (a) and magnetic heating behavior curves (b) of $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{P}(\text{NIPAM-co-MAA})$

Alternating magnetic field (MF) parameters: 15 kV, 100 kHz

3 结论

采用种子乳液聚合法制备了 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{P}(\text{NIPAM-co-MAA})$ 磁性热敏聚合物微球, 微球粒径为 80 ~ 200 nm, 比表面积约为 30.04 m^2/g , 平均孔径约为 24.50 nm; 微球中聚合物含量约为 73 wt%, 磁含量约为 20 wt%, 饱和磁感应强度为 16.49 emu/g, 其体积相转变温度 (VPTT) 约为 37.5°C. 模型药物 RhB 溶液 pH 值及浓度对磁性

热敏聚合物微球的装载量影响较为显著, 当 RhB 溶液 pH 值为 5.7, 浓度为 25 mg/L 时, RhB 在微球中的装载量可以达到 16.38 mg/g; 在外加交变磁场作用下, RhB 在模拟肠液和胃液中的磁感应释放量分别达到 10.47 mg/g 和 13.02 mg/g. 因此, $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{P}(\text{NIPAM-co-MAA})$ 磁性热敏聚合物微球作为药物载体材料在靶向给药及药物控制释放领域具有良好的应用前景.

REFERENCES

- Guo M, Yan Y, Zhang H K, Yan H S, Cao Y J, Liu K L, Wan S R, Huang J S, Yue W. *J Mater Chem*, 2008, 18: 5104 ~ 5112
- Wu Chenlin (武承林), He Huan (贺欢), Gao Hongjun (高红军), Liu Gan (刘赣), Ma Rujiang (马如江), An Yingli (安英丽), Shi Linqi (史林启). *Scienia Sinica Chimica* (中国科学: 化学), 2010, 40(3): 269 ~ 275
- Zheng Xiaoming (郑晓明), Jiang Tao (蒋涛), He Feng (贺枫). *Acta Polymerica Sinica* (高分子学报), 2011, (8): 895 ~ 902
- Chen L B, Zhang F, Wang C C. *Small*, 2009, 5(5): 621 ~ 628
- Wu Huidan (吴慧丹), Qian Hao (钱浩), Yu Zhijun (余智军), Ye Wenhui (叶文虎). *Acta Polymerica Sinica* (高分子学报), 2010, (10): 1238 ~ 1244
- Adelsberger J, Kulkarni A, Jain A, Wang W N, Bivigou K A M, Busch P, Pipic V, Holderer O, Hellweg T, Laschewsky A, Müller B P, Papadakis C M. *Macromolecules*, 2010, 43: 2490 ~ 2501
- Lu Y, Mei Y, Drechsler M, Ballauff M. *Angew Chem Int Ed*, 2006, 45(5): 813 ~ 816
- Chen T Y, Cao Z, Guo X L, Nie J J, Xu J T, Fan Z Q, Du B Y. *Polymer*, 2011, 52(1): 172 ~ 179
- Gong Tao (龚涛), Wang Changchun (汪长春). *Acta Polymerica Sinica* (高分子学报), 2008, (11): 1037 ~ 1042
- Deng Y H, Yang W L, Wang C C, Fu S K. *Adv Mater*, 2003, 15(20): 1729 ~ 1732
- Kim D J, Kang S M, Kong B, Kim W J, Paik H J, Choi H, Choi I S. *Macromol Chem Phys*, 2005, 206(16): 1941 ~ 1946
- Xu Yawen (徐雅雯), Xu Hong (徐宏), Ding Weijie (丁玮洁), Gu Hongchen (古宏晨). *Acta Polymerica Sinica* (高分子学报), 2010, (11): 1340 ~ 1345
- Dimitrov I, Trzebicka B, Müller A H E, Dworak A, Tsvetanov C B. *Prog Polym Sci*, 2007, 32(11): 1275 ~ 1343
- Rong Jianhua (容建华), Duan Taiwei (段泰伟), Wen Hongge (温鸿戈), Qu Xiaozhong (屈小中). *Acta Polymerica Sinica* (高分子学报), 2010, (4): 484 ~ 489
- Kono K. *Adv Drug Delivery Rev*, 2007, 32(11): 1275 ~ 1343
- Lu Jing (陆晶), Huang Li (黄丽), Shao Chunlei (邵春雷), Dong Wenbo (董文博), Hou Huiqi (侯惠奇). *Environmental Chemistry* (环境化

学),2007,26(3):366~370

17 Li Xiaodong(李晓东),Shen Jiacong(沈家骢). Chemical Journal of Chinese Universities(高等学校化学学报),2007,28(10):2000~2005

18 Detlef M S,Thomas S R. J Magn Magn Mater,2006,302:267~271

SYNTHESIS OF MAGNETIC THERMO-SENSITIVE POLYMERIC MICROSPHERES FOR CONTROLLED RELEASE VIA MAGNETIC INDUCTION

Li-feng Cai¹, Yu-qian Wen², Zhi-yong Lin², Hao Qian², Xiong-wei Deng²

(¹ Department of Environment and Life Science, Putian University, Putian 351100)

(² College of Materials Science and Engineering, Huaqiao University, Xiamen 361021)

Abstract Seed emulsion polymerization was carried out to encapsulate Fe_3O_4 nanoparticles with poly(*N*-isopropylacrylamide-*co*-methacrylic acid) for preparing polymeric microspheres($\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{P}(\text{NIPAM-co-MAA})$) possessing magnetic and thermo-sensitive responses. The structure and morphology of microspheres were characterized by wide-angle X-ray diffraction (WAXD), transmission electron microscopy (TEM), dynamic light scattering (DLS), thermogravimetric analysis (TGA), vibrating specimen magnetometry (VSM) and BET specific surface area measurements. Ultraviolet-visible light (UV-Vis) spectroscopy was employed to investigate the drug loading and release behavior of microspheres using rhodamine B (RhB) as a model drug. It is indicated that the diameters of microspheres range from 80 nm to 200 nm, the specific surface area and average pore diameter are about 30.04 m^2/g and 24.50 nm, respectively. The polymer content and Fe_3O_4 content of microspheres are about 73 wt% and 20 wt%, respectively. The saturated magnetization of microspheres reaches 16.49 emu/g, and the volume phase transition temperature (VPTT) is about 37.5°C. The RhB loading amount of microspheres is able to reach 16.38 mg/g. Under alternating magnetic field, the RhB release amount reaches 13.02 mg/g in simulative gastric-juice, and 10.47 mg/g in simulative intestinal-juice, respectively. Therefore, the synthesized polymeric microspheres ($\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{P}(\text{NIPAM-co-MAA})$) can be used as drug-carrier, and demonstrate good prospect in the targeted drug and drug controlled release.

Keywords Thermo-sensitive, Polymeric microspheres, Magnetic induction, Controlled release