

金雀异黄素靶向明胶微球的制备与表征

梁建友, 王元有

(扬州工业职业技术学院化学工程学院, 江苏 扬州 225127)

摘要:用乳化交联法将四氧化三铁纳米粒子、金雀异黄素包裹在明胶内部制成金雀异黄素的靶向明胶微球。通过正交实验找出了明胶包裹药物靶向微球的最佳制备工艺,并用透射电子显微镜对微粒进行了形貌表征,微球粒径在 $1\ \mu\text{m}$ 左右;用傅里叶红外光谱仪对其进行红外光谱表征,确定粒子中包裹了金雀异黄素和四氧化三铁纳米粒子;用强振动磁力计对其磁性进行测定,证明其具有良好的磁性;利用紫外分光光度法测定药物微粒的包裹率和载药率分别达 4.10% 和 1.53%。

关键词:明胶;靶向微球;制备;表征

中图分类号:O648.12+3

文献标志码:A

文章编号:0253-4320(2014)10-0088-03

Preparation and characterization of targeted gelatin microspheres of genistein

LIANG Jian-you, WANG Yuan-you

(Department of Chemical Engineering, Yangzhou Polytechnic Institute, Yangzhou 225127, China)

Abstract: The emulsification-linkage method is used to prepare targeted gelatin microspheres of genistein with Fe_3O_4 nanoparticles, genistein and gelatin as raw materials. Orthogonal design is used to optimize the preparation conditions for microspheres of genistein. The morphology of the microspheres is observed through transmission electron microscopy. The particle diameter is about $1\ \mu\text{m}$. FT-IR and VSM results show that the microspheres are mixed with genistein and Fe_3O_4 nanoparticles and have good magnetic responsiveness. The entrapment efficiency and drug loading capacity for microspheres are 4.10% and 1.531% respectively.

Key words: gelatin; targeted microspheres; preparation; characterization

金雀异黄素又称染料木素,是大豆异黄酮的主要成分^[1],来源于豆类植物和齿状植物的异黄酮类化合物,其化学名为 4,5,7-三羟异黄酮,金雀异黄素在分子的相对两极带有 2 个酚羟基,结构和相对分子质量与雌二醇类似,溶于常用的有机溶剂,几乎不溶于水,溶于稀碱中呈黄色,化学结构如图 1 所示。

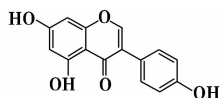


图 1 金雀异黄素结构式

金雀异黄素具有多种生理或药理活性,对多种恶性肿瘤如乳腺癌、胃癌、肝癌、结肠癌、食管癌等具有较强的抑制作用^[2-3]。他本身是一种强力的酪氨酸蛋白激酶和拓扑异构酶抑制剂,可达到对癌基因的调控,从而实现多途径抑制肿瘤的生长转移。

Fe_3O_4 磁性纳米粒子不仅提供靶向药物的磁性,而且还起到了部分药物载体的作用。 Fe_3O_4 磁性纳米粒子具有较高磁导率,对生物体无毒性,在外加磁场的感应下定位集中并且不发生凝聚、沉淀,可

以固定于肿瘤部位,超微粒子可定期安全排出体外,不会引起免疫反应^[4]。 Fe_3O_4 粒径一般为 $10\sim 30\ \text{nm}$,具有超顺磁性,即在磁场中有较强磁性,没有磁场时磁性又能很快消失,从而生物高分子微球能够在磁场中不被永久磁化^[5-6],这能保证一定的磁响应性且不易团聚而导致血栓^[7]。

笔者用生物降解型高分子材料明胶为载体包裹磁性纳米粒子 Fe_3O_4 和抗肿瘤药物金雀异黄素,制备了明胶靶向药物微球。同时,分析了制备金雀异黄素靶向明胶微球的最佳工艺条件,并对其载药率、包裹率、磁性等进行了分析。

1 金雀异黄素靶向明胶微球的制备

1.1 明胶靶向药物微球的制备

称取 50 mg 明胶溶于 5 mL 水,加热搅拌至溶解,加入 200 μL Fe_3O_4 磁流体和 50 mg 金雀异黄素,搅拌均匀,超声混匀;设置水浴温度,取 50 mL 液体石蜡和 1% span80 于 100 mL 三口烧瓶,在搅拌情况下,将混合液缓慢滴加进去,滴加完成后高速搅拌 1 h;搅拌完成后改用 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰水浴冷却 10 min,再加入戊二醛,固化 30 min 后,加入 20 mL 异丙醇脱水

20 min,反应结束。将反应产物用石油醚和无水乙醇交替洗涤3次,抽滤,60℃下真空烘干。

1.2 包裹率测定

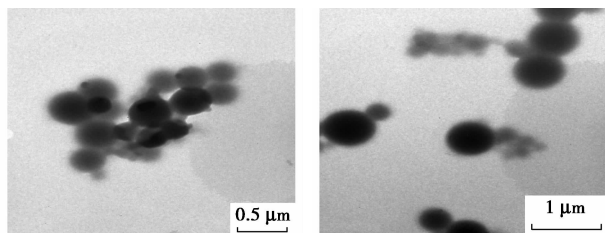
取产物0.01 g置于离心管中,加入9 mL的80%的乙醇,放在50℃水浴中消解60 min,再漩涡震荡15 min,使得药物溶解出来,高速离心10 min,取上层清液1 mL于10 mL的容量瓶中,用80%乙醇定容,混合均匀,用紫外分光光度计测定其在261 nm处的吸光度。

2 结果与讨论

2.1 明胶靶向药物微球的表征

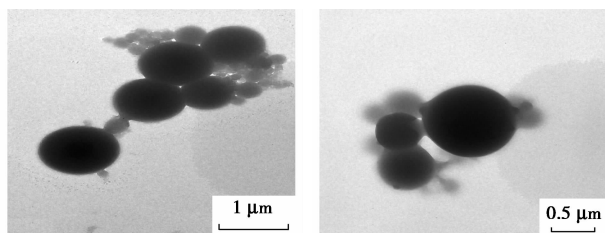
2.1.1 药物微球的形貌表征

药物微球的形貌如图2所示。由图2(a)可以看出,粒子之间边界粘黏、团聚,没有清晰的边界,粒子分散不均匀,产物成型不好,粒径不均匀,粒径在500 nm左右。由图2(b)可以看出,产物界面清



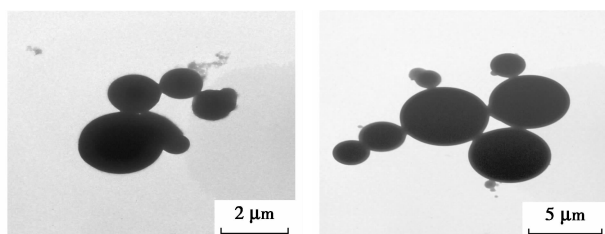
(a) 油水比为10/1、明胶质量分数为10%、水浴温度为50℃、戊二醛1.0 mL的TEM

(b) 油水比为10/1、明胶质量分数为8%、水浴温度为55℃、戊二醛1.5 mL的TEM



(c) 油水比为8/1、明胶质量分数为10%、水浴温度为55℃、戊二醛2.0 mL的TEM

(d) 油水比为8/1、明胶质量分数为8%、水浴温度为60℃、戊二醛1.0 mL的TEM



(e) 油水比为6/1、明胶质量分数为10%、水浴温度为60℃、戊二醛1.5 mL的TEM

(f) 油水比为6/1、明胶质量分数为8%、水浴温度为50℃、戊二醛2.0 mL的TEM

图2 药物微球形貌

晰,呈较规则的球形,有许多小粒子粘黏在微粒之间,粒径约为500 nm。由图2(c)可以看出,粒子边界较为清晰,成型较好,分散较均匀,但仍有粘黏未成型的明胶,粒径约800 nm。由图2(d)可以看出,粒子已基本成型,但界面不是很清晰,粒子间有团聚现象,粒子分布不均匀,粒径约为500 nm左右。由图2(e)可以看出,粒径较大,成型较好,但粒子之间粘黏较多,分散不均匀,粒径大多分布在2 μm左右。由图2(f)可以看出,粒子的成型较好,界面非常清晰,粒子呈规则球形,粒径分散不均,<4 μm。

2.1.2 包裹率测定

金雀异黄素紫外标准曲线如图3所示。

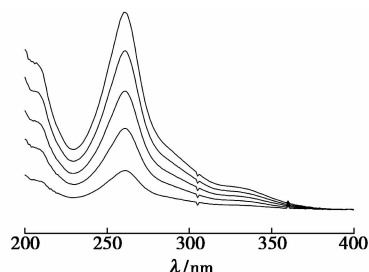


图3 金雀异黄素紫外标准曲线

由图3可知,金雀异黄素的最大吸收波长为261 nm。药物粒子的包裹率和载药率分别为:

$$\text{包裹率} = (\text{实际药物质量} / \text{理论药物质量}) \times 100\% \quad (1)$$

$$\text{载药率} = (\text{药物质量} / \text{药物微粒的质量}) \times 100\% \quad (2)$$

根据式(1)、式(2)计算剩下各样品的包裹率、载药率。由于3、6、9号样未形成良好的药物微球,因此,只对1、2、4、5、7、8号样品作出计算分析,实验数据和计算结果如表1所示。

表1 样品包裹率

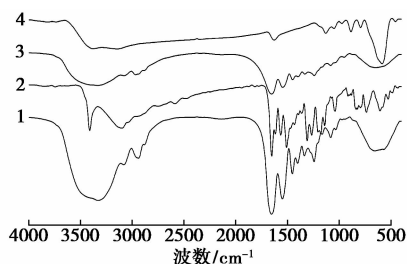
实验序号	1	2	3	4	5	6	7	8	9
包裹率/%	1.64	4.20	0.27	4.10	1.91	0.14	3.07	3.79	0.15
载药率/%	0.68	0.97	0.12	1.53	0.60	0.11	1.03	1.45	0.08

由表1可知,4号样品的载药率最大,2号样的包裹率最大,4号样次之,综合两方面因素,4号样包裹最佳。

2.1.3 药物微球的红外光谱表征

药物微球的红外光谱如图4所示。

由图4可以发现,四氧化三铁在585 cm⁻¹处的特征吸收峰在明胶磁性药物微粒的红外图谱中也体现出来,由于明胶和金雀异黄素在此也有吸收,此处的峰变得较宽,在3 700 cm⁻¹左右明胶磁性药物微粒出现了较大的吸收峰,明胶和金雀异黄素在此处



1—明胶磁性药物微粒;2—金雀异黄素;
3—明胶;4—四氧化三铁

图 4 红外光谱图

也都有吸收,形成了较大的吸收峰的原因是峰的叠加,也有可能是制样过程中吸收空气中的水分;而在 $3\ 100\ \text{cm}^{-1}$ 处出现金雀异黄素的吸收峰,在明胶磁性药物微粒的红外光谱图中被掩盖;在 $1\ 000 \sim 1\ 750\ \text{cm}^{-1}$ 附近出现了较多的峰,如在 $1\ 600\ \text{cm}^{-1}$ 和 $1\ 500\ \text{cm}^{-1}$ 处药物纳米粒子出现了较多金雀异黄素和明胶峰的叠加。总体来说,明胶磁性药物微粒与明胶的红外图谱较为相似,但峰强度又较之强很多,这是因为四氧化三铁和金雀异黄素较少吸附在粒子表面,而被一起包裹在明胶内部,并且相对含量较少,而明胶磁性药物微粒的吸收峰又有较多峰的叠加,因此峰强度较强。

2.1.4 药物微球的磁性的表征

明胶靶向药物微球的 VSM 图如图 5 所示。

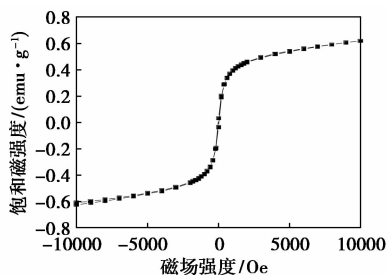


图 5 明胶靶向药物微球的 VSM 图

由图 5 可知,制备的明胶磁性药物微粒的剩磁和矫顽力都为零,这表明明胶磁性药物微粒具有较

好的顺磁性,饱和磁强度为 $0.65\ \text{emu/g}$ 左右,比制备的 Fe_3O_4 纳米粒子小很多,这是由于四氧化三铁的加入量不是很大,还有部分没被包裹进去,因此明胶磁性药物微粒中的四氧化三铁含量相对较低,另外由于四氧化三铁被明胶包裹着,明胶会对四氧化三铁的磁性有屏蔽作用,致使明胶磁性药物微粒的饱和磁强度较低,但此饱和磁强度也可以使磁性靶向药物具有良好的磁响应性。

3 结论

研究了乳化交联法制备明胶靶向药物微粒的最佳工艺条件,即油水比为 $8/1$,明胶质量分数为 10% ,水浴温度为 55°C ,戊二醛用量为 $2.0\ \text{mL}$,所制备的载药微球呈规则的球形,包裹率为 4.10% ,载药率为 1.53% ,饱和磁强度为 $0.65\ \text{emu/g}$,表明该靶向微球具有良好的磁响应性。

参考文献

- [1] 刘素芳,何坚,杨静静,等.金雀异黄素诱导人白血病 Jurkat E6-1 细胞凋亡作用[J].中国公共卫生,2011,27(4):414-415.
- [2] 吕春秀,汪治宇.金雀异黄素诱导肿瘤细胞凋亡的研究进展[J].实用癌症杂志,2011,26(1):102-104.
- [3] Kousidou O C, Mitropoulou T N, Roussidis A E, et al. Genistein suppress the invasive potential of human breast cancer cells through transcriptional regulation of metalloproteinases and their tissue inhibitors[J]. Int J Oncol, 2005, 26(4): 1101-1109.
- [4] Mishima F, Fujimoto S, Takeda S, et al. Development of control system for magnetically targeted drug delivery[J]. Magn Magn Mater, 2007, (310): 2883-2885.
- [5] 魏衍超,杨连生.磁性生物高分子微球的制备方法和研究进展[J].功能材料,1999,31(5):464-465.
- [6] Chin. Fe_3O_4 Nanoparticles as an efficient and magnetically recoverable catalyst for the synthesis of 3,4-dihydropyrimidin-2(1H)-ones under solvent-free conditions[J]. Catal, 2011, 32: 1484-1489.
- [7] 李慧,王大新,顾健.超顺磁性纳米颗粒治疗肿瘤的应用进展[J].中国组织工程研究与临床康复,2009,13(51):10133-10136. ■

世界首个石墨烯橡胶传感器在爱尔兰诞生

据科技部网站消息,2014年8月19日爱尔兰科学基金会网站报道,爱尔兰科学家发明了一种将石墨烯融入橡胶的技术,使橡胶具有导电性,从而制造用于可穿戴设备的橡胶传感器。若将石墨烯橡胶制成的橡皮筋嵌入衣服中,可检测到如呼吸、脉搏、血压等人们最轻微的活动,从而可应用于婴儿猝死症和成人睡眠窒息症等疾病的检测预警,还可用于运动员动作监控及康复治疗。技术发明人乔纳森·

科尔曼教授称,该技术具有制造工艺简单和成本低的优点,为可穿戴设备大规模生产和应用提供了可能,将会对医疗卫生等领域产生深远的变革。

该技术由爱尔兰高级材料及生物工程研究所(Advanced Materials and BioEngineering Research,简称 AMBER)与英国的萨里大学合作研究,由爱尔兰科学基金会资助。有关该技术的论文已在美国化学会学报发表。(张力)