

透析法制备生物素化高分子纳米粒子及粒径控制**

李资玲, 熊向源, 龚妍春, 李玉萍

Preparation and size control of biotinylated polymeric nanoparticles by dialysis method

Li Zi-ling, Xiong Xiang-yuan, Gong Yan-chun, Li Yu-ping

Abstract

BACKGROUND: Few reports about the particle size control by dialysis method have been published in China.

OBJECTIVE: To investigate the effect of preparation method and condition on particle size.

METHODS: Biotinylated polymeric nanoparticles were prepared by a dialysis method. The particle size was compared by one-factor experimental design.

RESULTS AND CONCLUSION: The size of polymeric nanoparticles obtained from the addition of organic phase into water is pretty suitable for their application in drug delivery carriers. In addition, the amount of initial organic solvent plays an important role in the particle size.

Li ZL, Xiong XY, Gong YC, Li YP. Preparation and size control of biotinylated polymeric nanoparticles by dialysis method.

Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2011;15(34): 6379-6381.

[http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

摘要

背景: 国内关于透析法控制粒径大小方面的研究报道较少。

目的: 考察制备方式及制备条件等对生物素化高分子纳米粒子粒径大小的影响。

方法: 采用透析法制备生物素化两亲性共聚物纳米粒子, 通过单因素实验对比纳米粒子粒径的大小。

结果与结论: 采用有机相滴加至水相的制备方法获得的粒径大小较适用于药物载体, 且初始有机溶剂加入量对粒径的影响较大。

关键词: 生物素; 两亲性共聚物; 透析法; 纳米粒子; 粒径

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2011.34.026

李资玲, 熊向源, 龚妍春, 李玉萍. 透析法制备生物素化高分子纳米粒子及粒径控制[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2011, 15(34):6379-6381. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

0 引言

生物素修饰的两亲性共聚物, 可通过生物素与抗生素蛋白之间的非共价键相互作用, 形成靶向型高分子纳米粒子。该纳米粒子通过配体-受体间的识别作用, 可实现对靶细胞的定向输送, 目前已成为靶向抗肿瘤药物载体领域的研究热点之一^[1-4]。生物素化两亲性共聚物可在水中自聚集形成纳米粒子, 目前制备这类纳米粒子的方法主要有3种^[5-7]: 直接溶解法、乳化溶剂挥发法和透析法, 其中直接溶解法只适合于水溶性好的聚合物, 而水溶性差的聚合物可采用透析法或乳化溶剂挥发法。透析法与乳化溶剂挥发法相比具有操作简单, 无需表面活性剂等优点, 因此受到越来越多人的关注, 具有重要的应用前景。

实验采用透析法制备生物素化两亲性共聚物纳米粒子, 通过对比3种制备方法获得的粒径大小, 找出透析制备纳米粒子的最佳方法。并通过考察制备条件, 如初始有机溶剂类型和加

入量、初始水体积等对粒径的影响, 来实现有效的粒径控制。此外, 还考察了超声波对纳米粒子粒径的影响。

1 材料和方法

设计: 单因素实验设计。

时间及地点: 于2009-11/2010-04在生命科学学院医药材料实验室完成。

材料: 生物素-F127-聚乳酸 (Biotin-F127-PLA) 由生命科学学院医药材料实验室合成, 数均分子质量(M_n)为33 000, 分子质量分布(M_w/M_n)为1.2; 其余试剂均为分析纯。NICOMP 380/ZLS 纳米粒度分析仪(美国PSS公司)。

实验方法:

Biotin-F127-PLA纳米粒子的制备方法:

有机相滴加至水相: 取一定量的Biotin-F127-PLA用少量的四氢呋喃溶解, 再将此溶液缓慢滴加至超纯水中, 接着将其装入截留相对分子质量为12 000~14 000的透析袋中

College of Life Science, Jiangxi Science & Technology Normal University, Nanchang 330013, Jiangxi Province, China

Li Zi-ling★, Master, Lecturer, College of Life Science, Jiangxi Science & Technology Normal University, Nanchang 330013, Jiangxi Province, China Lzlowen2010@gmail.com

Correspondence to: Xiong Xiang-yuan, Doctor, Professor, College of Life Science, Jiangxi Science & Technology Normal University, Nanchang 330013, Jiangxi Province, China xyxiong@gmail.com

Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No. 50763003 *

Received: 2011-03-07
Accepted: 2011-05-17

江西科技师范学院生命科学学院, 江西省南昌市330013

李资玲★, 女, 1982年生, 江西省资溪县人, 汉族, 2006年南昌大学生命科学学院毕业, 硕士, 讲师, 主要从事高分子材料的合成研究。Lzlowen2010@gmail.com

通讯作者: 熊向源, 博士, 教授, 江西科技师范学院生命科学学院, 江西省南昌市330013 xyxiong@gmail.com

中图分类号: R318
文献标识码: B
文章编号: 1673-8225 (2011)34-06379-03

收稿日期: 2011-03-07
修回日期: 2011-05-17
(20110307024/M-W)

透析, 得到Biotin-F127-PLA纳米粒子。

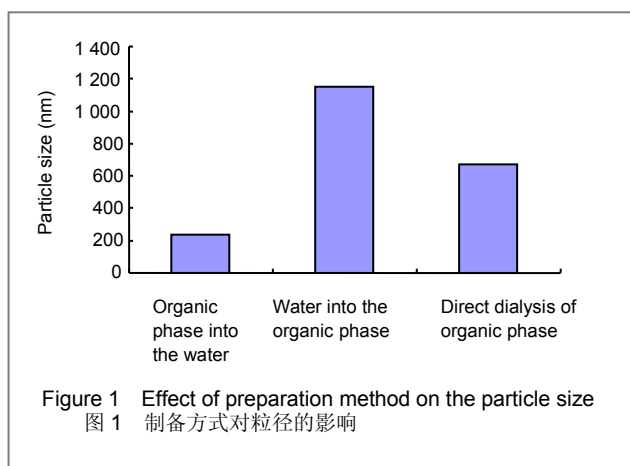
水相滴加至有机相: 取一定量的Biotin-F127-PLA用少量的四氢呋喃溶解, 将水缓慢滴加于溶有共聚物的四氢呋喃溶液中, 接着将其装入透析袋中透析, 得到Biotin-F127-PLA纳米粒子。

有机相直接透析: 取一定量的Biotin-F127-PLA用少量的四氢呋喃溶解, 将其直接装入透析袋中透析, 得到Biotin-F127-PLA纳米粒子。

Biotin-F127-PLA纳米粒子粒径测定: 采用NICOMP 380/ZLS纳米粒度分析仪测定Biotin-F127-PLA纳米粒子的粒径。

2 结果与讨论

2.1 纳米粒子制备方法对粒径的影响 固定初始有机溶剂加入量及初始水体积, 考察3种制备方法对粒径的影响, 结果见图1。

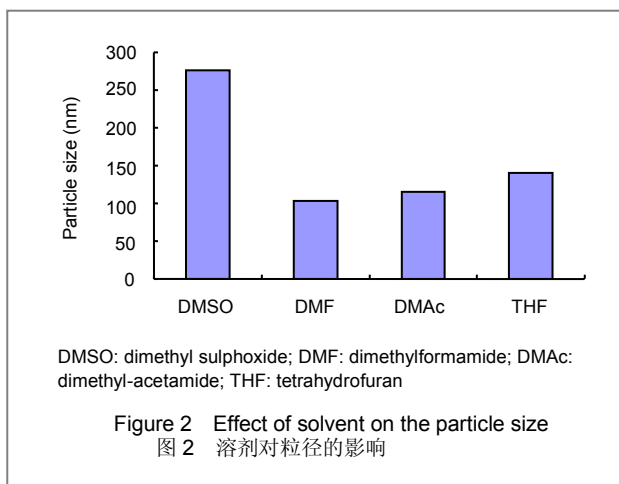


从图1可看出, 采用有机相滴加至水相的制备方法所得粒径最小, 其次是有机相直接透析, 粒径最大的为水相滴加至有机相方法。采用有机相直接透析时, 透析袋放入水中片刻后袋内溶液变成乳化状, 可能透析膜内外有机相与水相交换的速度较快, 但由于有机相与水相接触面有限, 因此形成的粒子粒径较大且溶液乳化现象较明显; 而采用水相滴加至有机相时, 可能由于水相比较少, 增加了大颗粒在水相中的分散难度, 滴加后溶液乳化现象明显, 形成的粒子粒径较大, 因此这两种制备方式均不适宜制备纳米粒子。综合3种纳米粒子制备方法, 采用有机相滴加至水相进行透析的制备方法获得的粒径大小比较适合用于药物载体, 因此以下纳米粒子的制备均采用此法。

2.2 制备条件对粒径的影响

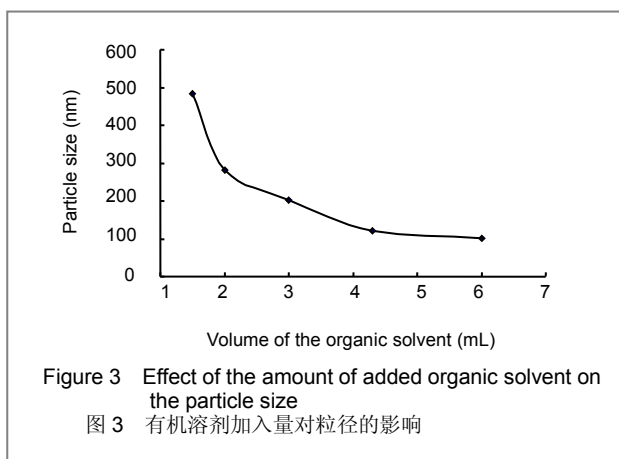
初始溶剂种类对粒径的影响: 固定有机溶剂加入量、初始水体积, 改变有机溶剂的种类, 考察二甲基亚砜(DMSO)、二甲基甲酰胺(DMF)、四氢呋喃(THF)、二甲基

乙酰胺(DMAc)4种溶剂对粒径的影响, 结果见图2。



从图2可看出, 4种溶剂所得粒径大小依次为DMSO>THF>DMAc>DMF, 当选用DMSO作为初始溶剂时, 溶解共聚物较其他溶剂困难, 且分散后产生的溶液乳化现象较明显, 因此透析后的溶液也呈乳化状, 故其粒径最大。采用DMF, DMAc作初始溶剂时, 其透析后所得的乳化液较透明, 不易产生沉淀, 纳米粒子粒径相对较小。而选用THF为初始溶剂时, 溶解速度较快, 且透析后乳化现象较明显, 因此所得粒径也较大。4种溶剂总体粒径大小差别不大, 而THF是常用的溶剂, 因此实验选用THF作为初始溶剂进行纳米粒子制备。

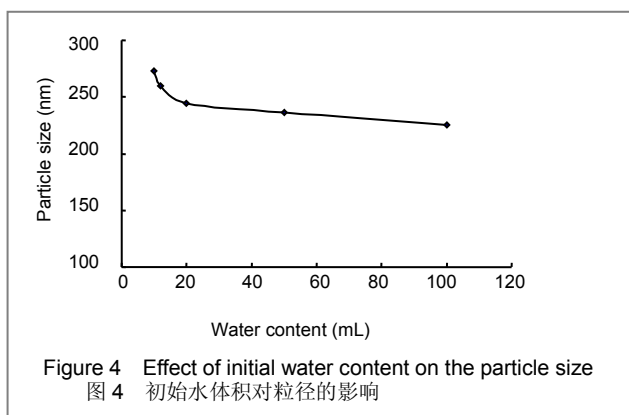
有机溶剂加入量的影响: 固定水体积为10 mL, 聚合物为10 mg, 分别加入0.5, 1, 2, 3.3, 5 mL四氢呋喃制备纳米粒子, 结果见图3。



如图3所示, 随着有机溶剂加入量的增大, 粒径大小呈下降趋势, 其原因可能是因为随着有机溶剂加入量的增大, 其溶液的黏度降低, 当将此溶液均匀分散于水中时, 减小了大颗粒分散成小颗粒的难度。但是在实际配制过程中, 增加有机溶剂加入量, 透析时间也要延长, 因此加入量应控制在适当的范围以内。

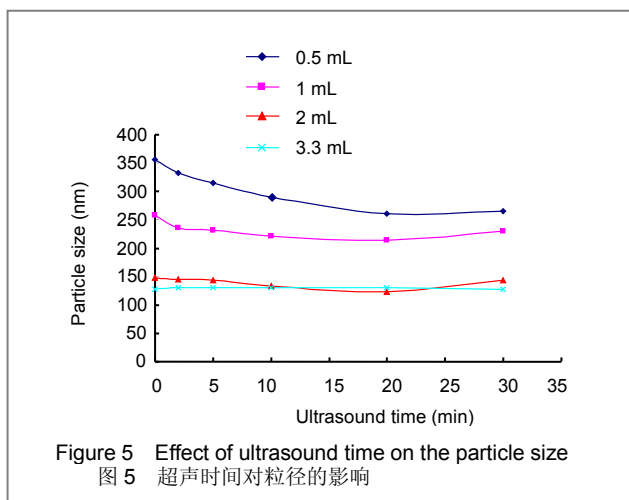
初始水体积的影响: 固定有机溶剂加入量为1 mL, 聚合物为10 mg, 分别滴加至10, 12, 20, 50, 100 mL

水中制备纳米粒子, 结果见图4。



如图4所示, 随着初始水体积的增大, 粒径呈减小趋势, 但总体上粒径大小变化不明显。分析其原因可能是因为采用有机相滴加于水中制备纳米粒子时, 水相体积大于有机相体积, 如继续增大初始水体积, 其体积比虽呈增大的趋势, 但有机相在水相的分散难度无较大改变, 因此出现上述实验结果。

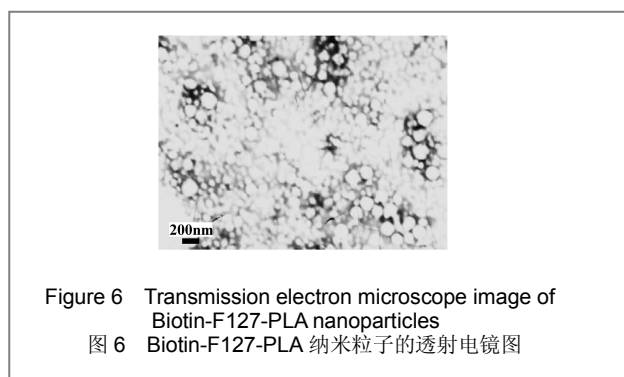
2.3 超声波对粒径的影响 固定聚合物的量为10 mg, 水的量为10 mL, 分别加入0.5, 1, 2, 3.3 mL的有机溶剂制备纳米粒子, 得到不同粒径大小的粒子, 再将其放入超声波清洗机中分别超声2, 5, 10, 20, 30 min考察超声时间对于粒径的影响, 结果见图5。



如图5所示, 有机溶剂加入量为0.5 mL和1 mL时的粒子较大, 超声时间在20 min之内粒径大小呈降低趋势, 超声时间继续延长时粒径有增大的趋势, 分析其原因可能是因为超声过程中伴随着热量的产生, 超声时间越长, 产生的热量越大, 粒子可能发生重新聚集现象; 有机溶剂加入量为2 mL和3.3 mL时的粒子较小, 在整个超声过程中粒径变化不明显, 由此可见, 超声波对于大颗粒的粒子有均匀细化作用, 对于粒径小的粒子作用不明显。

2.4 Biotin-F127-PLA纳米粒子的透射电镜图 综合上述纳米粒子制备条件, 选择聚合物的量为10 mg, 水的量为10 mL, 四氢呋喃加入量为2 mL的条件制备纳米粒

子, 并采用透射电镜进行表征, 结果见图6。



3 结论

采用有机相滴加至水相制备的纳米粒子粒径较小, 其他两种方法获得的粒子粒径均较大。制备工艺中初始有机溶剂加入量对粒径的影响较大, 而初始水体积对粒径的影响不显著, 此外超声波对粒径大的粒子有一定细化作用, 但是超声时间不可太长, 以防止超声过程温度升高对粒子的破坏作用, 总之, 在使用透析法制备纳米粒子的过程中可通过改变其制备条件进行粒径大小的控制。

4 参考文献

- [1] Li ZL, Xiong XY, Li YP, et al. Synthesis and Self-Assembling Behaviors of Biotinylated Pluronic/Poly(lactic acid) Biocompatible Block Copolymers in Aqueous Solutions. *J Appl Polym Sci*. 2010;115: 1573-1580.
- [2] Pulkkinen M, Pikkarainen J, Wirth T, et al. Three-step tumor targeting of paclitaxel using biotinylated PLA-PEG nanoparticles and avidin-biotin technology: Formulation development and in vitro anticancer activity. *Eur J Pharm Biopharm*. 2008;70(1):66-74.
- [3] Gong YC, Xiong XY, Li ZL, et al. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2010;14(34):6374-6376. 龚妍春, 熊向源, 李资玲, 等. 生物素化聚乙二醇/聚乳酸纳米粒子的体外主动靶向行为[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(34): 6374-6376.
- [4] Broz P, Benito SM, Saw C, et al. Cell targeting by a generic receptor-targeted polymer nanocontainer platform. *J Control Release*. 2005;102(2):475-488.
- [5] Letchford K, Burt H. A review of the formation and classification of amphiphilic block copolymer nanoparticulate structures: micelles, nanospheres, nanocapsules and polymersomes. *Eur J Pharm Biopharm*. 2007;65(3):259-269.
- [6] Freitas S, Merkle HP, Gander B. Microencapsulation by solvent extraction/evaporation: reviewing the state of the art of microsphere preparation process technology. *J Control Release*. 2005;102(2): 313-332.
- [7] Vangeyte P, Gautier S, Jerome R. About the methods of preparation of poly(ethylene oxide)-b-poly(ϵ -caprolactone) nanoparticles in water Analysis by dynamic light scattering. *Colloids and Surfaces A: Physicochem Eng Aspects*. 2004;242:203-211.

来自本文课题的更多信息——

基金资助: 国家自然科学基金项目(50763003)。

作者贡献: 实验设计为李资玲、熊向源, 实验实施为李资玲、龚妍春, 实验评估为熊向源、李玉萍, 资料收集为熊向源。李资玲成文, 熊向源审核, 李资玲对文章负责。

利益冲突: 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。