

磁性聚合物微球研究进展

邓勇辉¹, 汪长春¹, 杨武利¹, 胡建华¹, 金 岚¹, 褚轶雯¹, 府寿宽^{1*}, 沈锡中²

(1. 复旦大学高分子科学系, 教育部聚合物分子工程实验室, 上海 2000433;

2. 复旦大学附属中山医院消化科, 上海 200032)

摘要: 磁性聚合物微球作为一种新型功能材料, 在许多领域尤其是生物医药、生物工程等方面具有广阔的应用前景。本文综述了近年来磁性聚合物微球的制备及应用等方面的最新进展。

关键词: 磁性聚合物微球; 制备; 应用; 研究进展

引 言

磁性聚合物微球是一种由磁性材料和非磁性聚合物材料复合而成的新型功能微球, 其中磁性成分主要是铁、钴、镍, 或者它们的氧化物以及合金等, 非磁性聚合物材料可以是合成聚合物如聚苯乙烯和各种丙烯酸树脂或天然聚合物蛋白质、淀粉、葡聚糖、琼脂糖等, 也可以是无机聚合物如二氧化硅等。以无机聚合物作为非磁性组分的磁性聚合物微球方面的文献报道得不多, 因此本文着重综述有机-无机复合的磁性聚合物微球, 并将这类微球称为磁性聚合物微球。磁性聚合物微球通常由无机磁性材料和有机聚合物材料构成, 一方面, 它具有有机聚合物微球的众多特性, 如可通过共聚、表面改性等途径, 赋予其表面多种反应性官能团(如羟基、羧基、氨基、醛基等), 通过吸附或共价键合的方式与酶、细胞、药物等生物活性物质结合; 另一方面, 由于它具有超顺磁性可以很方便地在外加磁场作用下从介质中分离出来。因此, 磁性聚合物微球被广泛地应用作分离材料和载体, 如免疫分析、固定化酶、靶向给药、细胞分离等。另外磁性聚合物微球也被广泛应用于磁共振成像、磁记录、环境保护以及磁性塑料和磁性橡胶等领域。

1 磁性聚合物微球的分类

磁性聚合物微球按照其结构特点可以大致分为以下几种类型, 第一类, 核壳式, 即内核是无机磁性颗粒, 外壳是聚合物, 这种复合微球中, 无机磁性颗粒完全被聚合物包埋, 形成典型的核壳结构, 如图 1A 所示; 第二类, 反核壳式, 即内核是聚合物, 外壳是无机磁性颗粒, 在这类复合微球中无机颗粒通过静电作用或络合等方式沉积在聚合物微球的表面从而形成无机磁性壳层, 如图 1B 所示; 第三类, 夹心式, 即内外层均为聚合物, 中间为无机磁性颗粒, 这类复合微球往往是通过第二类微球再包裹一层聚合物而制备的, 如图 1C 所示; 第四类, 弥散式, 即无机磁性颗粒遍布在聚合物微球中, 如图 1D 所示, 这类微球最早是由荷兰科学家 Ugelstad 等报道的。

2 磁性纳米颗粒(磁流体)的制备

磁性纳米颗粒可以是金属铁、镍、钴或其合金或其氧化物等, 由于镍、钴等存在毒性, 在生物、医药等领域的应用受到严格限制, 而铁的氧化物(Fe_3O_4 , $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) 因其低毒(LD_{50} 约 2000mg/kg 体重, 远远高于目前临床应用剂量)、易得等特点通常被用作磁性聚合物微球的磁性组分。制备磁性纳米颗粒的方法主要

基金项目: NSFC(No 50173005, 50343019) 和 STCSM(03JC14012) 资助项目;

作者简介: 邓勇辉(1977-), 男, 江西临川人, 复旦大学高分子科学系博士研究生, 研究方向为磁性聚合物微球的制备及其应用。

* 通讯联系人 E-mail: skfu@fudan.edu.cn.

(C)1994-2021 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

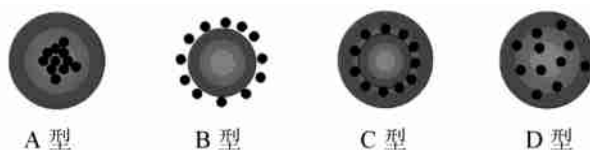


图 1 不同类型的磁性聚合物微球

Figure 1 Different types of magnetic polymer microsphere

包括物理法(即机械研磨法)、化学法(铁盐沉淀法、金属有机物高温热解法以及高温溶液反应等)。

2.1 物理法

机械研磨法是早期制备磁流体的方法, 1965 年 Papell 等^[1]首先报道。Papell 利用油酸作为界面活性剂, 制备了表面吸附表面活性剂的四氧化三铁颗粒, 这种方法制备的颗粒在烃油中具有良好的胶体稳定性, 后来 Rosensweig 等^[2]进一步对这一方法进行了改进, 并首次将所制备的分散液命名为“Ferofluid”。机械研磨法通过长时间对铁氧化物矿物(如四氧化三铁颗粒)进行湿法研磨并加入适当的表面活性剂, 可以制得粒径大约 10nm 的四氧化三铁颗粒, 这些纳米颗粒经过不同方法处理可以稳定分散在烃油(如煤油)或水中。虽然机械研磨法比较简单, 但是由于这种方法非常费时, 现在已很少被使用。

2.2 化学法

化学法制备磁性纳米颗粒主要包括化学沉淀法、氧化法和热解法。

2.2.1 化学沉淀法 化学沉淀法通常是向铁盐溶液加入碱液并适当控制反应条件如温度、搅拌速度等, 或者添加一定的稳定剂制备磁性纳米颗粒。早在 1852 年 Lefort 就首次报道了化学共沉淀法制备水性和油性磁流体^[3], 他通过将氢氧化钠溶液或氨水加到铁盐和亚铁盐的混合溶液中, 经过一定时间的加热和胶溶过程制备了稳定分散在水中的四氧化三铁颗粒, 其反应如下式所示:



所制备的四氧化三铁颗粒可以分散在含有一定的稳定剂的有机溶剂中。Massart 在此基础上, 通过对磁性颗粒进行酸化处理并令其吸附柠檬酸根离子制备了电荷稳定的水性磁流体^[4]。这种方法制备的磁性颗粒小并且在水中能够长时间稳定分散。

此外, 也有人^[5]采用氧化法制备磁流体, 如在向亚铁盐溶液滴加碱液的同时加入一定量的过氧化氢水溶液, 可以制备磁流体, 其反应过程如下所示:



此方法中常常加入一定量的水溶性聚合物做稳定剂如聚乙烯醇、聚乙二醇、聚乙烯吡咯烷酮等。

表面活性剂稳定的磁流体是目前工业上应用最普遍的一类磁流体。过去通常是采用机械研磨法制备, 化学共沉淀法可以高效快速地制备这类磁流体, 同时, 通过简单的调节酸碱度可以很方便改变其亲油和亲水性^[6], 如在合成磁流体过程中加入过量的长链脂肪酸(如油酸, 月桂酸等), 产物经过磁分离可以稳定分散在水中, 形成水性磁流体。此时所得到的磁性纳米颗粒表面由两层表面活性剂分子包围, 其中第一层表面活性剂分子离子头吸附在纳米颗粒的表面, 第二层表面活性剂的尾端与第一层表面活性剂尾端通过疏水作用结合在一起, 而离子端伸向水中, 从而使得纳米颗粒稳定分散在水中。如果向水性磁流体中加入一定的酸液(如盐酸), 通过磁分离收集沉淀下来的磁性纳米颗粒, 然后用丙酮洗去第二层表面活性剂, 剩下的第一层表面活性剂稳定的纳米颗粒可以分散在烃油中, 从而形成油性磁流体, 如图 2 所示。而在生物医药领域的应用中, 常常需要水分散性的可生物相容的磁流体, 通常是在水溶性的(改性的)天然高分子^[7]或者合成高分子^[8]存在下原位合成氧化铁纳米颗粒。

2.2.2 热解法 热解法制备磁性纳米颗粒是最近几年才发展起来, 由于这种方法制备的颗粒不仅粒径均一, 而且晶形完善, 因此逐渐被用来制备各种金属及其合金纳米颗粒和氧化物纳米颗粒等^[9-11]。该法通常以金属络合物如 $\text{Fe}(\text{CO})_5$, $\text{Fe}(\text{Cup})_3$ (Cup: *N*-nitrosophenylhydroxy-amine) 等作前驱体, 通过高温裂解产生金属纳米粒子, 如果再进一步氧化就可以制备金属氧化物纳米颗粒。IBM Watson 研究中心的 Murray 小组在这方面也做了大量富有成效的工作^[12, 13]。他们以联苯醚为反应介质, 使乙酰丙酮铁和长链醇以及油

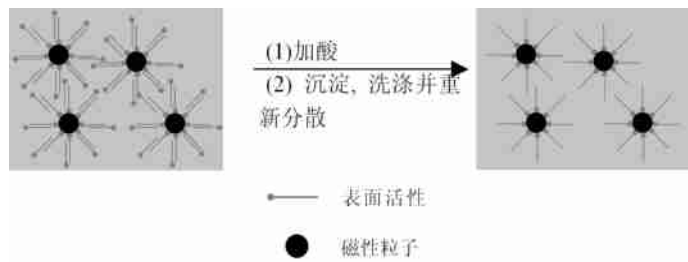


图 2 表面活性剂稳定的磁流体

(a) 在水中; (b) 在煤油中

Figure 2 Surfactant stabilized magnetic fluid using

(a) water (b) kerosene as dispersant

酸、十二氨等在高温(200~300℃)回流,可以制备几纳米到几十纳米的磁性铁氧体纳米颗粒(MFe₂O₄,M是Fe、Co、Mn等)。国内Li等^[14]采用一罐法在吡咯烷酮存在使乙酰丙酮铁高温回流制备了水溶性的四氧化三铁纳米粒。

3 磁性聚合物微球的制备

磁性聚合物微球自其问世以来,由于其特有磁响应性和易功能化特点以及广阔的应用前景,在国际上受到了广泛的关注。制备磁性聚合物微球的方法多种多样,从早期的简单乳化交联法到随后Ugelstad首创的原位合成法再到常规单体聚合(乳液聚合,分散聚合等)以及现在一些先进的方法如活性聚合(如基团转移聚合等)。目前制备磁性聚合物微球的方法越来越趋向以小尺寸、单分散、强磁性以及易功能化和生物相容性为目标。

3.1 包埋法

包埋法是制备磁性聚合物微球最早的一类方法,它是将磁性微粒分散于天然或合成聚合物溶液中,通过雾化、沉积、蒸发等手段得到磁性聚合物微球^[15]。由于其制备过程简单,费用低等特点,至今仍被加以改进并应用。Bahar等^[16]将悬浮有Fe₃O₄的油相倒入水相,搅拌,然后在室温下蒸发油相溶剂氯仿,制得带有反应性醛基的磁性聚苯乙烯微球,并将其用于固定化葡萄糖淀粉酶的研究。Yen等^[17]在FeCl₂和FeCl₃的酸性水溶液中溶解壳聚糖,然后通过控制pH值得到磁性壳聚糖微球。Emir等^[18]将磁粉分散在壳聚糖的醋酸溶液中,然后将其乳化在矿油和石油醚组成的油相中,以戊二醛作交联剂制备了磁性壳聚糖微球。国内中南大学张阳德研究小组等^[19,20]采用类似的方法制备了磁性白蛋白微球并用于抗肿瘤药物阿霉素的载体。Chatterjee等^[21]将人血清蛋白溶解到悬浮有铁氧体粉末的水中,并进一步将其乳化在含有司班的棉籽油中,然后加热使乳化体系升温至130℃,令蛋白固化制备了磁性蛋白微球。Delgado研究小组^[22]采用复乳技术(Double-emulsion),将分散有磁性颗粒的水乳化分散在溶有聚乳酸的二氯甲烷中形成W/O乳化体系,然后再将其乳化分散在含有1%w/v聚乙烯醇水溶液中,得到W/O/W复合乳液,最后在搅拌下将二氯甲烷挥发制备了磁性聚乳酸微球。

包埋法虽然操作简单,但所制备的微球形态不规整,微球平均粒径较大(约500nm以上甚至微米级),且粒径分布宽。此外,包埋法制备磁性聚合物微球通常要使用大量的乳化剂,尽管通过一些后处理可以去除大量乳化剂,但是微球中不可避免会有残余,这样使磁性聚合物微球在生物医药领域的应用受到限制。

3.2 单体聚合

单体聚合是目前研究得最多、并且被广泛采用的制备方法。早在1977年Avramas等^[23]就报道了一种亲水性磁性聚合物微球的制备方法,即在铁氧体纳米粒子存在下引发丙烯酰胺聚合制备了磁性聚丙烯酰胺微球。单体聚合一般是先制备无机磁性颗粒,然后在磁性颗粒存在下加入单体、引发剂、乳化剂或稳定剂进行聚合反应从而制得包含无机磁性颗粒的聚合物微球。其中无机颗粒通常需要进行一定的

表面处理使其易分散在反应体系或者带有特定的表面性质如强亲水性或疏水性。早期的单体聚合法制备的磁性聚合物微球粒径分布较宽,且表面不平整。随着制备方法的逐渐发展和改进,许多种单体聚合法都可以成功地制备磁性聚合物微球。根据文献报道,单体聚合法按照聚合方式主要分为乳液聚合法(包括无皂乳液聚合、种子乳液聚合,细乳液聚合以及反相微乳液聚合等)、分散聚合和(微)悬浮聚合法等。

3.2.1 乳液聚合 乳液聚合是制备聚合物微球特别是功能型聚合物微球的常用方法,是制备有机无机复合微球常用方法之一。最早采用乳液聚合制备磁性聚合物微球的是日本东京大学的 Noguchi 等^[24],他们以十六烷基苯磺酸钠作乳化剂,在磁流体存在下,通过添加少量水溶性单体以过硫酸铵引发苯乙烯和甲基丙烯酸甲酯聚合制得包裹四氧化三铁的聚合物乳胶粒。随着这一制备方法的不断改进和逐渐完善,乳液聚合法可以制备近单分散的磁性聚合物微球,Xu 等采用改进的方法制备了具有超顺磁性的磁性聚苯乙烯微球并用于制备磁控光子晶体^[25]。

反相(微)乳液聚合是制备亲水性聚合物微球的一种有效途径,Dresco 等在反胶束中制备了纳米级的四氧化三铁颗粒并进一步采用反相微乳液聚合制备了粒径窄分布的聚甲基丙烯酸甲酯/甲基丙烯酸羟乙酯包裹四氧化三铁的磁性纳米微球^[26]。作者组采用化学共沉淀法制备了具有超顺磁性的水性磁流体,并在其存在下利用反相微乳聚合制备了磁性聚丙烯酰胺微球^[27, 28]。Gupta 等^[29]利用可聚合的乙二醇衍生物在氧化铁存在下通过反相微乳液聚合制备了粒径窄分布的 40~50nm 的水溶性的磁性聚合物微球。Wormuth 等^[30]制备了 PEO-PAA 稳定的磁流体然后通过反相乳液聚合制备了亲水性磁性聚合物微球。

自从 1973 年 Ugelstad 等首次提出“细乳液”概念以来,细乳液技术由于其兼有常规乳液聚合的大多数优点以及其自身制备粒径均一粒子的聚合机理,常常被用于制备无机-聚合物复合微球,无机组分可以是二氧化硅、氧化钛、铁氧体以及碳酸钙等纳米颗粒^[31]。Landfester 小组采用细乳液聚合制备磁性聚苯乙烯微球,所制备的微球中无机铁氧体含量高达 60%(wt),因此具有很强的磁响应性^[32]。Xu 等^[33]采用反相细乳液制备了亲水性磁性聚丙烯酰胺微球。

无皂乳液聚合由于适于制备单分散的亚微米级的聚合物微球,被广泛用于制备各种聚合物微球包括有机-无机复合微球。在这类方法中最关键的是必须使无机颗粒充分分散在反应介质中,同时反应条件如体系的酸碱度、反应介质的极性、反应温度以及单体的选择等也必须加以控制。Xie 等^[34]在磁流体存在下通过无皂乳液聚合制备了磁性聚苯乙烯-丙烯酸丁酯-甲基丙烯酸微球,研究了通过加入极性溶剂(甲醇、乙醇、丙酮)以及改变引发剂的用量调节微球间的静电排斥作用对产物磁性聚合物微球单分散性的影响,结果表明,加入适当极性溶剂有利于提高微球的单分散性,而过高的用量会降低微球的单分散性。另外,通过对磁性纳米颗粒进行一定的表面改性可以增加其与聚合物间的相容性,这样所制备的复合微球不仅包埋效果好而且微球形态比较规整,同时没有空白聚合物微球产生^[35, 36]。作者课题组通过在四氧化三铁纳米颗粒表面包覆一层无定型二氧化硅并进一步采用硅烷偶联剂进行表面处理,制备了表面带有双键的磁性纳米二氧化硅球,并以此为种子采用无皂乳液聚合制备了近单分散的亚微米磁性聚 *N*-异丙基丙烯酸微球^[37]。

此外也有人利用电荷相互作用导致的异相凝结原理制备了磁性聚合物微球即制备表面带正电荷的聚合物微球然后将表面带负电的 Fe_3O_4 通过电荷相互作用结合到聚合物微球上^[38, 39],或者制备表面带有特定基团的聚合物微球,然后通过基团与无机磁性材料发生络合制备反核壳结构的磁性聚合物微球^[40~42],如果再在其表面包裹聚合物则可以制备夹心磁性聚合物微球^[43, 44]。

3.2.2 分散聚合 分散聚合是指一种由溶于反应介质的单体通过聚合生成不溶于反应介质的聚合物,而且形成胶态稳定的分散体系的聚合方式。Horák 等对于分散聚合制备磁性聚合物微球作了系统研究^[45~48],分别使用商品氧化铁粉末和自制磁流体,考察了单体种类、立体稳定剂以及反应介质等对于所制备的磁性聚合物微球的影响,发现使用商品氧化铁粉末通过分散聚合制备的微球表面含有大量未包裹的氧化铁。国内 Liu 等^[49]首先合成带氨基的亲水性大分子单体(MPEO),然后在四氧化三铁存在下采用分散聚合与苯乙烯共聚制备了两亲性的磁性聚合物微球,微球粒径约 10 μm ,氨基含量为 0.01~0.25。

mmol/g。王艳君等^[50]采用分散聚合法制得了聚(甲基丙烯酸甲酯-甲基丙烯酸)共聚物微球,进而采用磁流体存在下的分散聚合法制得了磁性聚合物微球,分别研究了共聚单体-甲基丙烯酸的用量对微球表面羧基含量、直径与直径分布的影响及磁流体用量对微球磁响应性、直径与径分布的影响。作者认为由于磁性 Fe_3O_4 粒子对单体和引发剂的吸附作用,使得在反应初期粒子表面成为主要的聚合反应场所,磁流体量增加导致成核数目增多,从而使最终微球直径减小;但当磁流体用量过大时,粒子间的相互作用增强,聚凝加重,使得最终直径增大,稳定性也变差。李孝红等^[51]采用分散聚合法,以 Fe_3O_4 粉末为磁核,苯乙烯-甲基丙烯酸羟乙酯共聚物为聚合物壳层,合成了带羟基的磁性复合聚合物微球,由于 Fe_3O_4 与苯乙烯等单体的亲和性差,作者采用聚乙二醇溶液事先处理磁粉从而增强其表面亲水亲油性,控制反应条件可以制得粒径为 $50 \sim 500 \mu\text{m}$, Fe_3O_4 含量为 $0.5 \sim 2.5\%$ 的磁性微球。邱广明等^[52]以磁性氧化铁胶体粒子为种子,采用分散聚合法,制备具有磁响应性的 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PSt-AA}$ 核-壳复合微球,考察了复合微球的形态及结构,研究了分散介质、引发剂、聚合条件和种子粒子等因素对复合微球形成的影响,结果表明适当调节有关反应条件可以使复合微球的粒径达到 $23.0 \mu\text{m}$,磁性氧化铁含量达到 9.0 mg/g 。罗正平等^[53]采用分散聚合法,合成了粒径为 $0.5 \sim 2.0 \mu\text{m}$ 、单分散性好、磁含量可达 10% 的 PSt 、 P(StMAA) 磁性高分子微球。讨论了温度、引发剂、分散介质、稳定剂等因素对反应结果的影响。对所得磁性微球的外观形态、磁响应性进行了表征。研究发现:升高温度磁球粒径增大;增加引发剂用量磁球粒径增大;介质极性增加磁球粒径减小,分散系数减小;稳定剂用量增加粒径减小。偏高或偏低的温度、引发剂及稳定剂浓度都会使分散系数增大。

3.2.3 (微) 悬浮聚合 Rembaum 采用悬浮聚合制备了磁性聚戊二醛微球,其平均粒径约 100 nm ^[54]。Liu 等^[55]采用改进的悬浮聚合通过单体共聚的方法,制备了表面带有环氧基的超顺磁性聚合物微球。Lee 采用悬浮聚合物制备了微米级的磁性聚苯乙烯微球并进一步对其进行改性分别得到磁性阳离子交换树脂和磁性阴离子交换树脂^[56]。国内万惠文等^[57]使用表面活性剂先对 $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ 进行表面处理,使其能够很好地分散在苯乙烯和二乙烯基苯中,然后采用悬浮聚合法结合超声波技术制备了磁性聚苯乙烯微球,所制备的微球具有超顺磁性,粒径约 $1 \mu\text{m}$,大小不均匀,粒径分布较宽。王胜林等^[58]在分散有磁流体的苯乙烯中加入引发剂和交联剂,然后将此磁流体分散在水中,经过高速剪切乳化形成较稳定的微悬浮液,采用微悬浮聚合法进行聚合,合成了 $0.4 \mu\text{m} \sim 6 \mu\text{m}$, 主要分布在 $0.7 \mu\text{m} \sim 2.0 \mu\text{m}$ 的磁性微球。

3.3 化学转化法(原位法)

上世纪 80 年代,挪威科学家 Ugelstad^[59]首次提出了化学转化法合成磁性聚合物微球并成功地实现了商业化,进而开发了一系列的商品化的产品 Dynabeads。该法首先利用乳液聚合或无皂乳液聚合制备单分散的致密的或多孔的聚合物微球,通过在制备过程中加入功能单体或对微球进行后修饰使微球带有大量能与铁盐形成配位键或离子键的基团,如 $-\text{NH}_2$, $-\text{COOH}$, $-\text{SO}_3\text{H}$, $-\text{NO}_2$ 等。然后将一定浓度的 Fe^{2+} 和 Fe^{3+} 渗透到微球的内部与上述基团作用而被固定,并升高 pH 值使 Fe^{2+} 和 Fe^{3+} 在孔中形成 Fe_3O_4 或者通过氧化还原法使结合在微球上的铁离子转化为磁性纳米颗粒,从而制备了单分散的磁性聚合物微球。通过对磁性聚合物微球进行后处理可以使其表面具有不同功能基团以满足磁性聚合物在特点场合的应用。原位法可以制备各种粒径的磁性聚合物微球,其中 500 nm 到 $20 \mu\text{m}$ 最佳。其突出特点是合成的磁性聚合物微球粒径均一;无机磁性磁组分在每个磁性聚合物微球中均匀分布,无空白聚合物微球;磁响应性强,微球中无机磁性组分高达 $30\%(\text{wt})$ 。

采用类似的方法, Lindlar 等制备了单分散的磁性聚丙烯酸酯微球,通过改变反应条件可以制备 $400 \sim 800 \text{ nm}$ 的微球^[60], Zhang 等通过在聚合物凝胶微球中合成纳米氧化铁、硫化铬等颗粒制备了有机/无机复合的微球^[61]。

随着研究的深入,许多新方法、新途径被提出用来制备磁性聚合物微球,如活性自由基聚合-原子转移自由基聚合(ATRP)聚合^[62],也有人采用裂解的方法制备了聚合物磁性微球^[63, 64]。

4 磁性聚合物微球的应用

磁性聚合物微球不仅具有聚合物微球的诸多特性,同时具有磁性。在外加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,因此自上世纪 70 年代中期以来,磁球不但在靶向给药^[65~67]、细胞分离^[68~77]、亲和色谱^[78~83]、核酸研究^[84~87]、固定化酶^[72,79,88,89]等领域得到广泛的研究,而且在有机和生化合成^[90~93]、生物催化^[94~96]、环境/食品微生物检测^[97~100]等方面也具有广泛的应用前景。下文就简要介绍磁性高分子微球在细胞分离、固定化酶、靶向给药以及环境检测等部分领域的应用进展。

4.1 细胞分离

细胞分离无论是在临床还是生物工程以及食品卫生等领域具有重大意义^[101],细胞分离是磁性聚合物微球的典型应用之一^[102]。与传统的细胞分离方法相比,磁性聚合物微球用于细胞分离具有以下优点^[103],可以直接从原样如血样、骨髓、组织匀浆、培养介质等中将目标细胞分离出来,同时这种分离方法简单快捷。不像在电场,使用磁分离,由于在静磁场中样品中的离子或带电溶质中不会受到干扰,最重要的是:和传统的离心或过滤方法分离细胞相比,磁分离细胞的结合和洗提过程很温和不需要很大剪切力,因此对细胞不会产生破坏;此外,当需要分离大量某种活细胞时,磁分离技术更易于放大操作,而传统的流式细胞术难以实现这一目的。

利用聚合物微球进行细胞分离的一般过程是:将细胞表面特异性抗体包覆磁球表面,与细胞原液混合孵育、磁分离,然后用适当方法将目标细胞解离,并将聚合物微球分离出来,得到纯净的细胞。磁性聚合物微球在应用于细胞分离时,通过选择表面特异性抗体的不同,既可以用于分离不需要的细胞(反相分离),也可用于富集所需要的细胞(正相分离),如图 3 所示。

Poynton 等^[104]用含有抗生素蛋白、植物凝集素等配体结合的磁性微球,进行骨髓中 T 细胞的分离,用于白血病的治疗。Josephson^[72]则将戊二醛活化的硅烷化磁性微球用于人血中淋巴细胞的分离;Bjerk^[105]用来分离并纯化人血中嗜碱细胞。Rembaum 等将磁性聚戊二醛微球标记分离人血红细胞,可分离除去超过 95% 的未标记细胞^[106]。Durova^[107]使用磁性微球从体细胞分离并纯化干细胞,可以获得纯度高达 83% 的干细胞。此外,Ugelstad 等就磁性微球用于细胞分离也作了较详尽的综述^[108]。

4.2 固定化酶

酶是一种生物蛋白质,作为一种生物催化剂,因其具有高选择性、催化反应条件温和、无污染等特点,广泛应用于食品加工、医药和精细化工等行业,但天然酶稳定性差、易失活、不能重复使用,并且反应后混入产品,纯化困难,使其难以在工业中更为广泛的应用。因此,酶在大规模生产中,使酶能反复使用,是很有经济价值的课题。固定化酶的使用,推动了酶在生产上的应用。固定化酶,即用固体材料将酶束缚或限制于一定区域内,仍能进行其特有的催化反应,并可回收及重复使用的一类技术。用磁性微球作为固定酶载体有以下优点:(1) 可以很好地保持它的活性和稳定性;(2) 通过磁分离使得体系中酶的回收更加方便,提高了酶的使用效率;(3) 磁性载体固定化酶放入磁场稳定的流动床反应器中,可以减少反应体系中的操作,适合大规模连续化生产;(4) 利用外部磁场可以控制磁性材料固定酶的运动方式和方向,替代传统的机械搅拌,提高固定化酶的催化效率。

Kondo 等采用两步无皂乳液聚合的方法制备了热敏性磁性聚合物微球,并进一步采用碳化二亚胺法将胰蛋白酶固定在微球上,实验结果表明,经过这种微球固定的胰蛋白酶仍具有非常高的活性。国内邱广明等^[109]采用改进的乳液聚合制备了表面带有羧基的磁性聚合物微球,采用碳化二亚胺法在磁性微球表面固定中性蛋白酶,制备活性高达 700U/g;缓冲溶液 pH=6.0、离子强度较高时,固定化酶的活性最高。邱广亮等^[110]研究合成了具有磁响应性聚乙二醇微球,并以此为载体,固定化 α -淀粉酶,在最适条件下,固定化酶的活性达 34000U/g(干胶),并且该固定化酶对酸、碱、热的稳定性大大增强,其操作稳定性也大

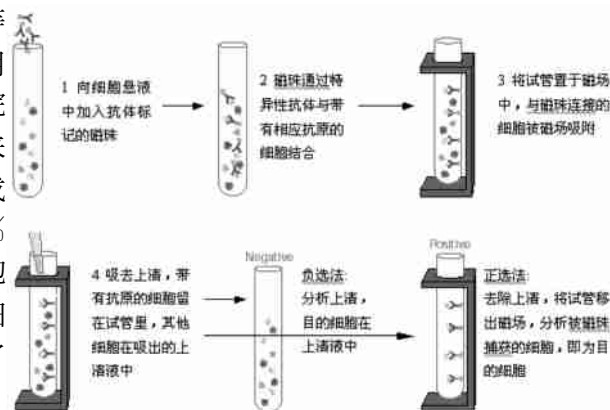


图 3 通过直接或间接法的磁分离细胞

Figure 3 The direct and indirect methods for magnetic separation of cells

大增加。Bilkova 等^[11] 利用将半乳糖氧化酶固定在磁性 P(HEMA-co-EDMA), *D*-半乳糖激活反应结果表明固定后氧化酶具有高活性几乎相当于是其本来活性。

4.3 靶向给药

磁靶向给药系统(Magnetic Targeted Drugs Delivery System, MTDDS)是近年来研究的一种新型靶向给药体, 在一些疾病治疗特别是恶性肿瘤等重大疾病的治疗方面具有诱人的应用前景。采用 MTDDS 可以降低药物的使用剂量和毒副作用, 提高药物的治疗效率。通常磁靶向给药系统由磁性聚合物微球和药物组成, 药物通过物理吸附、包埋、化学键合等方式结合在微球上。大多数载药磁性微球是通过大动脉注射给药的, 然后在外加磁场作用下定位至病灶部位通过微球的聚集时产生的栓塞作用以及药物的缓慢释放, 从而达到治疗目的(如图 4 所示)。因此 MTDDS 在疾病治疗方面可以大大降低药物的使用剂量和毒副作用, 提高药物的治疗效率。

1960 年, Freeman^[112] 首先报道了将 5~100nm 的铁晶导入血管系统, 在外加磁场的帮助下, 磁性铁晶聚集在身体的特定部位。Myas 等^[113] 制备了含吡啶美辛的磁性聚甲基丙烯酸甲酯微球, 经动脉或静脉给药后, 在大鼠尾部施加磁场, 给药 60min 后, 大鼠尾部的药物浓度比对照组高出 60 倍。近年来, 磁性聚合物微球作为药物载体用于肝癌治疗受到许多学者广泛兴趣^[114, 115], 最早将磁性聚合物应用于临床试验的是 Lübbe 等^[116], 他们使用粒径为 100nm 的载有表柔比星(一种抗肿瘤药)的磁性微球应用于 14 例晚期实体瘤病人的治疗, 结果表明这种给药方式大大降低了药物的毒副作用, 同时实现了在外加磁场作用下微球在靶区的大量积

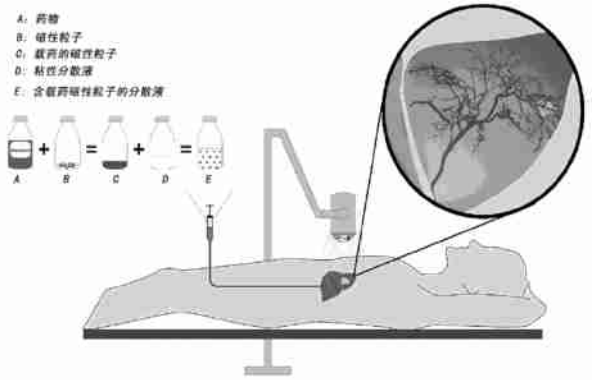


图 4 磁靶向载药微球用于疾病治疗

Figure 4 Administration of magnetic targeted drugs carrier

累, 然而, MRI 观察表明由于粒子尺寸很小以及较弱的顺磁性, 很大一部分微球滞留在肺部。国内张阳德等^[117, 118] 开展了载阿霉素磁性白蛋白微球的用于治疗肝癌的研究, 研究内容包括磁性阿霉素白蛋白纳米粒在正常肝的磁靶向性、在大鼠体内的分布及对大鼠移植性肝癌的治疗效果等。结果表明, 磁性阿霉素白蛋白纳米粒具有高效磁靶向性, 在大鼠移植肝肿瘤中的聚集明显增加, 而且对移植性肿瘤有很好的疗效。

Häfeli 认为, 磁性微球应用于动物体内首先微球必须是水性的, 即必须是分散在水中, 同时必须满足以下条件^[119]: (1) 载体的骨架物质同在体内能代谢, 代谢产物应无毒性, 并在一定时间内排出体外; (2) 微球中所含的不能生物降解的铁磁性粒粒子直径一般应低于 20 μ m, (供注用者的粒径应在 1~3 μ m 以下, 其间保持一定相斥力, 不聚集成堆, 不堵塞血管。在毛细血管能均匀分布并扩散到靶区, 产生疗效); (3) 具有最大的生物相容性和最小的抗原性; (4) 所含铁磁性物质, 在一定强度的体外磁场作用下, 在大血管中不停留, 而在靶区毛细血管中滞留; (5) 具有运转足够量药物能力, 而且有一定的机械强度和生物降解速度。释药速度适宜, 保证在停靶区释放出大量药物。

目前, 尽管国内外在磁性聚合物微球方面开展了大量工作, 但磁性聚合物微球用于靶向给药的大多数研究尚处起步阶段。

5 存在的问题及展望

磁性聚合物微球作为一种新型的功能高分子材料, 在医学、生物学、工业应用等众多领域具有广阔的应用前景, 然而国内外磁性聚合物微球的大多数应用研究尤其是在生物医药领域的应用研究仍处实验室阶段, 今后几年的研究主要集中在以下几个方面: (1) 研究磁性聚合物微球的制备工艺, 制备具有高磁含量, 粒径单分散、表面易于功能化的、表面亲/疏水性能的磁性聚合物微球, 以满足不同领域的使用要求; (2) 研究具有强磁响应性和高比表面的磁性聚合物微球。磁性聚合物微球用于医学、分子生物学、工业应用等领域, 最主要是利用其磁响应性和表面吸附、键合特性。然而, 强磁响应性和高比表面是一对矛

盾。为了得到强磁响应性的微球,往往以提高粒径为代价,而粒径的提高,不仅降低了其在溶液中的悬浮稳定性,而且使其比表面大幅降低。因此,研究强磁响应性和高比表面的磁性高分子微球是今后研究的一个重要方向;(3) 提高磁性高分子微球的稳定性。将目前开发出的磁性微球用作固相载体系统(特别是在有机溶剂存在的化学合成中)存在着两大缺点:(a) 在使用过程中,通常因外层包覆体不够稳定而失去部分磁性;(b) 因磁性微球在不同的溶剂和温度条件下溶胀、收缩或溶解而使反应活性点被包埋或失去。因此,提高磁性微球的稳定性(如耐溶剂性、耐热性等)具有重大的现实意义;(4) 探索多功能的磁性聚合物微球的制备方法,目前虽然制备磁性聚合物微球的方法多种多样,然而这些方法大多数只是停留在制备表面带特定功能基磁性聚合物微球,充其量只是为了利用其磁性和表面功能基团。具有多重功能的磁性聚合物微球报道较少,为了赋予磁性聚合物微球更高的使用价值,有必要探索多功能的磁性聚合物微球的制备方法,比如在赋予聚合物微球磁响应性的基础上,赋予其光响应、温度响应等性能;(5) 深入研究磁靶向给药用磁性聚合物微球的合成及其载药载体上的应用,磁性聚合物微球用于疾病的靶向治疗无疑具有重大意义,然而,就目前的研究现状来看,要同时实现高磁靶向效果、药物在靶区的可控释放以及聚合物材料的生物相容性和降解性等仍有一定难度,与此相关研究工作仍具有相当大的挑战性。只有这三者都实现了,磁性聚合物微球才能真正在疾病治疗方面大规模使用,从而造福人类。

参考文献:

- [1] Papell S S. USP 3, 215, 572, 1965.
- [2] Neuringer J L, Rosensweig R E. Phys Fluids, 1964, 27: 1927.
- [3] Lefort J. Comptes Rendus Acad Sci Paris, 1852, 34: 488.
- [4] Massart R. IEEE Trans Magnetics, 1981, 17(2): 1247.
- [5] 邱广明, 孙宗华. 化学试剂, 1993, 15(4): 234.
- [6] Shen L F, Lailinis P E, Hatton T A. Langmuir, 1999, 15: 447.
- [7] Molday R S, Mackenzie D J. Immunol Methods, 1982, 52: 353.
- [8] Hamis L A, Goff J D, et al. Chem Mater 2003, 15: 1367.
- [9] Rodenberger J, Scher E C, Alivisatos P A. J Am Chem Soc, 1999, 121: 11595.
- [10] Hyeon T, Lee S S, Park J, et al. J Am Chem Soc, 2001, 123: 12798.
- [11] Guo Q, Teng X, Rahman S, et al. J Am Chem Soc, 2003, 125: 630.
- [12] Murray C B, Sun S, Gaschler W, et al. IBM J Res & Dev, 2004, 45: 47.
- [13] Sun S, Murray C B. J Appl Phys, 1999, 85: 4325.
- [14] Li Z, Chen H, Bao H, et al. Chem Mater, 2004, 16(8): 1391.
- [15] 谢钢, 张秋禹, 李铁虎. 高分子通报, 2001, 6: 38.
- [16] Bahar T, Celibi S S. J Appl Polym Sci, 1999, 72: 69.
- [17] Yen S P S, Rembaum A, Landel R F. USP 4, 285, 819, 1981.
- [18] Emir B D, Ebru K, Cengiz B, Eylem O. React Funct Polym, 2002, 50: 225.
- [19] 周少波, 龚连生, 张阳德. 中国现代医学杂志, 2001, 11: 14.
- [20] 龚连生, 张阳德, 刘恕. 中华肝胆外科杂志, 2003, 9: 543.
- [21] Chatterjee J, Haik Y, Chen C J. J Magn Magn Mater, 2001, 225: 21.
- [22] Gomez-Lopera S A, Plaza R C, Delgado A V. Colloid Interface Sci, 2001, 240: 40.
- [23] Guesdon J L, Avraemas S. Immunochemistry, 1977, 14: 443.
- [24] Noguchi H, Yanase N, Uchida Y. J Appl Polym Sci, 1993, 48: 1539.
- [25] Xu X L, Friedman G, Humfeld K D, et al. Chem Mater, 2002, 14: 1249.
- [26] Dresco P A, Zaitsev V S, Gambio R J, et al. Langmuir, 1999, 15: 1945.
- [27] 邓勇辉, 王雷, 杨武利, 等. 高等学校化学学报, 2003, 24(5): 920.
- [28] Deng Y, Wang L, Yang W, et al. J Magn Magn Mater. 2003, 257(1): 69.
- [29] Gupta A K, Wells S, IEEE Transactions on Nanobioscience, 2004, 3(1): 66.
- [30] Womuth K J. Colloid Interface Sci, 2001, 241: 366.
- [31] Ramirez L P, Landfester K. Macromol Chem Phys, 2003, 204: 22.
- [32] Landfester K. Adv Mater, 2001, 13: 765.
- [33] Xu Z Z, Wang C C, Yang W L, et al. J Magn Magn Mater, 2004, 277: 136.

- [34] Xie G, Zhang Q Y, Luo Z P. J App Polym Sc, 2003, 87: 1733.
- [35] Yanase N, Noguchi H, Asakura H, et al. J Appl Poly Sci, 1993, 50: 765.
- [36] Bourgeat Lami E, Espiard P, Guyot A. Polymer, 1995, 36(23): 4385.
- [37] Deng Y H, Yang W L, Wang C C, et al. Adv Mater, 2003, 15: 1729.
- [38] Jin L, Deng Y H, Hu J H, et al. J Polym Sci polym chem, 2004, 42: 6081.
- [39] Sauzedde F, Elaissari A, Pichot C. Colloid Polym Sci, 1999, 277: 846.
- [40] Wang Y M, Wang Y, Feng L X. J Appl Polym Sci, 1997, 64: 1843.
- [41] Wang Y M, Feng L X, Pen C. J Appl Polym Sci, 1998, 70: 2307.
- [42] Moore L R, Zborowski M. J Biochem Biophys Methods, 2000, 44: 115.
- [43] Sauzedde F, Elaissari A, Pichot C. Colloid Polym Sci, 1999, 277: 1041.
- [44] Furusawa K, Nagashima K, Anzai C. Colloid Polym Sci, 1994, 272: 1104.
- [45] Horák D. J Polym Sci, Part A: Poly Chem, 2001, 39: 3707.
- [46] Horák D, Nataliya B, J Polym Sci, Part A: Polym Chem, 2004, 42: 5827.
- [47] Horák D, Semeryuk N, Lednický F. J Polym Sci (Polym Chem Ed), 2003, 41: 1848.
- [48] Horák D, Lednický F, et al. Macromol Mater Eng, 2004, 289: 341.
- [49] Liu X Y, Ding X B, et al. J Appl Polym Sci, 2003, 90: 1879.
- [50] 王艳君, 刘江峰, 姚兆玲, 等. 天津大学学报, 2001, 34(1): 64.
- [51] 李孝红, 丁小斌, 孙宗华. 功能高分子学报, 1995, 8(1): 73.
- [52] 邱广明, 高晓松, 杨春雁, 等. 聚合物乳液通讯, 1995, 15(2): 11.
- [53] 罗正平, 张秋禹, 吴昊, 等. 功能高分子学报, 2002, 15(2): 147.
- [54] Rembaum A. USP 4, 267, 234, 1981.
- [55] Liu X Q, Guan Y P. Chin J Chem Engin, 2003, 11(6): 731.
- [56] Lee Y, Rho J, Jung B. J Appl Poly Sci, 2003, 89(8): 2058.
- [57] 万惠文, 张强, 宋宏涛, 等. 武汉工业大学学报, 1999, 21(1): 22.
- [58] 王胜林, 朱以华, 吴秋芳, 等. 华东理工大学学报, 2000, 27(4): 364.
- [59] Ugelstad J, Ellingsen T, Berge A, et al. USP, 4, 774, 265, 1988.
- [60] Lindlar B, Boldt M, Eiden-Assmann S, Maret G. Adv Mater, 2004, 14: 1656.
- [61] Zhang J, Coombs N, Kumacheva E. J Am Chem Soc, 2004, 126: 7908.
- [62] Christy R V, Zhang Z J. J Am Chem Soc, 2002, 124: 14312.
- [63] Nicholas A D, Burke H, Stover D H, et al. Chem Mater, 2002, 14: 4752.
- [64] Okubo M, Minami H, Komura T. J Appl Polym Sci, 2003, 88: 428.
- [65] Safarik I, Safarikova M. Mon Chem, 2002, 133: 737.
- [66] Fricker J. Drug Discov Today, 2001, 6(8): 387.
- [67] Schutt W, Gnutner C, Teller J, et al. Artif Organs, 1999, 23: 98.
- [68] Moklay R S, Yen S P S, Rembaum A. Nature, 1977, 268: 437.
- [69] Rembaum A, Dreyer W J. Science, 1980, 208: 364.
- [70] Senyei A E, Widder K J. USP 4, 230, 685, 1980.
- [71] Ugelstad J, Stenstad P, Kilaas L, et al. USP 5, 763, 203, 1998.
- [72] Josephson L. USP 4, 672, 040, 1987.
- [73] 吴传斌, 何素梅, 高文伟, 等. 中国医药工业杂志, 1994, 25(2): 63.
- [74] Wilson R J. USP 5, 932, 097, 1999.
- [75] Katharine M P, Eric J J, Graham A. J Immuno Meth, 1999, 223: 195.
- [76] Safarik I, Safarikova M. J Chromatogr B Biomed Sci Appl, 1999, 722: 33.
- [77] Safarik I, Safarikova M: Cells isolation magnetic techniques. In Encyclopedia of Separation Science (Edited by: Wilson ID, Adlard TR, Poole CF, Cool M). London: Academic Press 2000, 2260.
- [78] Mosbach K, Andersson L. Nature, 1977, 270: 259.
- [79] Whitehead R A, Chagnon M S, Groman E V, et al. USP 4, 554, 088, 1985.
- [80] Lochmuller C H, Wigman L S. Separation Sci Technol, 1987, 22(11): 2111.
- [81] Hubbich J J, Thomas Ort. Biotechnol and Bioengin, 2002, 79(3): 301.
- [82] Xu H, Zhang G L, Zhang F B, et al. Chin J Chem Engin, 2003, 11(4): 456.
- [83] Frenzle A, Bergemann C, Kohl G, et al. J Chromatogr B, 2003, 793(2): 325.
- [84] Uhlen M. Nature, 1989, 340: 733.

- [85] Peter R L, Stephen E B. J Chromato A, 1998, 816: 107.
- [86] Bach H J, Hartmann A, Trevors J T, et al. J Microbio Meth, 1999, 37: 187.
- [87] Weizmann Y, Patolsky F, Lioubashevski O, et al. J Am Chem Soc, 2004, 126(4): 1073.
- [88] Horak D, Rittich B, Safar J, et al. Biotechnol Prog, 2001, 17(3): 447.
- [89] Chen J P, Su D R. Biotechnol Prog, 2001, 17(2): 369
- [90] Rans S, White P, Bradley M. Tetrahedron Lett, 1999, 40: 8137.
- [91] Benner S A. EP 113, 452, 1984.
- [92] Sucholeiki I. USP 5, 684, 130, 1997.
- [93] Sucholeiki I. USP 5, 858, 534, 1999.
- [94] Hirsch R, Katz E, Willner I. J Am Chem Soc, 2000, 122(48): 12053.
- [95] Weizmann Y, Patolsky F, Katz E, et al. J Am Chem Soc, 2003 125(12): 3452.
- [96] Katz E, Willner I. J Am Chem Soc, 2002 124(35): 10290.
- [97] Skjerve E, Olsvik O. Int J Food Microbiol, 1991, 14: 11.
- [98] Bruno J G, Yu H. Appl Environ Microbiol, 1996, 62(9): 3474.
- [99] Yu H. Anal Chem Acta, 1998, 376: 77.
- [100] Sylvie H S, Emmanuelle G. FEMS Microbiology Lett, 1999, 176: 285.
- [101] Nakamura M, Decker K, Chosy J, et al. Biotechnol Prog, 2001, 17(6): 1145.
- [102] Andreas T, Alexander S, Andreas R. Immunotechnol, 1998, 4: 89.
- [103] Safarik I, Safarikova M. J Chromatogr B, 1999, 722: 33.
- [104] Poynton C H. USP 4, 920, 061. 1990.
- [105] Bjerke T, Nielsen S, Helgestad J, et al. J Immunol Meth, 1993, 157: 49.
- [106] Rembaum A, Dreyer W J. Science, 1980, 208: 364.
- [107] Durcova G, Tokunaga T, Takahasi S, et al. Theriogenology, 1997, 47: 242.
- [108] Ugelstad J, Berge A, Ellingsen T, et al. Prog Polym Sci, 1992, 17: 87.
- [109] 邱广明, 孙宗华. 生物医学工程杂志, 1995, 12(3): 209.
- [110] 邱广亮, 张艳茹. 内蒙古师范大学学报, 1998, 27(2): 129.
- [111] Zuzana B, Marcela S, et al. J Chromatogr B, 2002, 770: 25.
- [112] Freeman M W, J Appl Phys, 1960, 31(5): 404.
- [113] Myas S P, Sihorkar V. J Microencapsul, 1989, 6(4): 493.
- [114] Wu C B, Wei S L, He S M. J Clin Pharm Sci, 1995, 4: 1.
- [115] Jones S K, Winter J G. Phys Med Biol, 2001, 46: 385.
- [116] Liibbe A S, Bergemann C, Riess H. Cancer Res, 1996, 56: 4686.
- [117] 张阳德, 龚连生. 中国现代医学杂志, 2001, 11: 4.
- [118] 龚连生, 张阳德, 刘恕. 中华肝胆外科杂志, 2003, 9: 543.
- [119] Hifeli U O. Inter J Pharm, 2004, 277: 19.

Research Progress in Magnetic Polymeric Microspheres

DENG Yong-hui¹, WANG Chang-chun¹, YANG Wu-li¹, HU Jian-hua¹, JIN Lan¹,
CHU Yi-wen¹, FU Shou-kuan^{1*}, SHEN Xi-zhong²

(1. *Department of Macromolecular Science and Key Laboratory of Molecular Engineering of Polymers, Ministry of Education, Fudan University, Shanghai 200433, China;*

2. *Department of Gastroenterology, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200032, China)*

Abstract: As a novel functional material, magnetic polymeric microspheres offer high potential application in various field, particularly in biomedical and bioengineering field. In this review, we summarized the more recent development of synthesis and application of magnetic polymeric microspheres as well as prospected future synthesis and application of magnetic polymeric microspheres.

Key words: Magnetic microsphere; Preparation; Application; Research advance