

研究简报

赖氨酸修饰壳聚糖磁性超微载体的制备和表征

李双艳, 郝丽娟, 韩 磊, 黄 杰, 常 津*

(天津大学材料学院纳米生物技术研究所, 天津 300072)

摘要: 本文设计并合成了良好水溶性的赖氨酸修饰壳聚糖, 并对制备工艺进行了优化。产物通过红外(FT-IR)和核磁($^1\text{H-NMR}$)进行了表征, 并将其作为壳层材料制备了赖氨酸修饰壳聚糖磁性超微载体。通过光电能谱(XPS)、透射(TEM)、激光粒度仪、X 射线衍射(XRD)、磁性能测试(VSM)对载体进行了表征。结果表明, 制备的赖氨酸修饰壳聚糖磁性超微载体表面带有大量的氨基($-\text{NH}_2$), 粒径分布较为均一(100nm 左右), 形貌较为规则, 并具有良好的超顺磁性, 因而该载体具有更加良好的性能。

关键词: 赖氨酸; 壳聚糖; 磁性微球; 基因载体

引言

基因治疗是一种将外源基因导入目的细胞并有效表达, 从而达到治疗目的的方法, 优良的基因传递系统要能包裹和保护核酸物质, 避免内涵体降解, 并能专一靶向肿瘤部位, 因此开发高效、安全的基因传递系统是癌症基因治疗中最具挑战性的课题之一。载体问题一直是基因治疗研究领域的核心技术之一, 基因载体主要分为病毒载体和非病毒载体两类: (1) 病毒载体有逆转录病毒、腺病毒、疱疹病毒、慢病毒等^[1,2], 其优点是病原性低、转染率高, 但作为一种改造的病毒, 其价格昂贵, 容易引发机体强烈的免疫反应并可能致癌, 其安全性低等缺点在临床应用还较困难; (2) 非病毒载体如阳离子聚合物^[3,4]、阳离子多肽^[5,6]和阳离子脂质体^[7,8]等, 具有价格低、操作简单、安全、有效、无免疫原性等优点^[9,10], 已渐成为病毒类基因载体最有希望的替代者。

磁性靶向基因治疗为近几年迅速发展起来的癌症治疗手段, 在外加磁场下, 磁性载体可携带基因定位于靶部位, 增强基因的转染效率^[11,12]。通常壳聚糖由于其可生物降解性和低细胞毒性及独特的跨细胞膜能力而被作为磁性基因载体壳层材料, 但由于其在中性和生理 pH 值不溶限制了其应用^[13,14]。

本文利用赖氨酸对壳聚糖进行修饰, 合成了生理条件下水溶的赖氨酸修饰壳聚糖, 并讨论了最优化的制备条件, 然后将赖氨酸修饰壳聚糖作为壳层材料用两步共沉淀法制备了磁性超微载体。由于赖氨酸修饰壳聚糖在壳聚糖主链上引入了赖氨酸分子, 增加了分子中氨基($-\text{NH}_2$)含量, 从而很大程度上增强了磁性超微载体的正电性, 便于携带更多的基因, 在基因治疗方面将有很大的应用前景。

1 实验部分

1.1 药品和仪器

壳聚糖(分子量 50000, 脱乙酰度 81%), 浙江玉环澳星甲壳素公司; 赖氨酸(Lys)和碳二亚胺(EDC), 上海吉尔生化生物试剂公司; 冰乙酸、*N,N*-二甲基甲酰胺(DMF)(分析纯), 天津科威化学试剂公司提供;

基金项目: 国家自然科学基金(50373033); 天津市应用基础研究重点基金(No. 05YFJZJC01001);

作者简介: 李双艳, 女, 硕士研究生, 主要从事磁性药物和基因载体纳米微球的研究;

* 联系人: 常津, E-mail: jinchang@tju.edu.cn, Tel: 022-27401821, Fax: 022-27890367。

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

FT/IR 分光光度仪,日本岛津株式会社;荧光分光光度计(F-4500HITACHI),日本日立株式会社;核磁共振仪(Bruker Plus-400),Varian 公司;透射电子显微镜(JEOL-100CXII),日本电子光学公司;激光粒度检测仪(BI-90 Plus),美国 Blook-Heyen 公司;VSM 磁性能测试仪(LDJ9600-1),美国数字仪器公司;XRD 测试仪(LDJ9600-1),日本理学公司;X 射线光电子能谱(XPS)仪(RIGAKU D/MAX 2500V/PC),Perkin-Elmer 公司。

1.2 赖氨酸修饰壳聚糖(CTS-Lys)的合成

将 0.1g 壳聚糖溶于 40mL 0.1M 的醋酸溶液中,用 15mL 0.3M 氢氧化钠沉淀,收集白色沉淀,用水洗至中性,真空烘干后溶于一定 pH 值的乙酸溶液中,同时将 0.2g 赖氨酸与 0.1g EDC 分别溶于 DMF 和水中,逐滴加入到反应体系中,搅拌数小时后收集产物并用无水乙醇洗涤多次,最后将产品透析 48h 冻干保存。本文设计了不同的实验条件,讨论了不同 pH 值、温度、搅拌速度、反应时间及反应体系的油相和水相的比例对实验的影响,并通过荧光分光光度计,表征产物氨基的相对含量^[16~18],从而确定最优化的反应条件。最后将最佳条件下制备的产物结构以傅立叶变换红外光谱(FT-IR,BIO-Rad FTS 6000 型)和核磁共振氢谱(¹H NMR,UNITY Plus-400 型)进行了表征。

1.3 共沉淀法赖氨酸修饰壳聚糖超微载体的制备

用共沉淀法制备 Fe₃O₄ 磁流体^[15]并将其超声分散在去离子水中,在持续机械搅拌下,缓慢滴加一定量的赖氨酸修饰壳聚糖水溶液。通氩气保护,升温至 75℃ 反应 1h 即制得赖氨酸修饰壳聚糖超微磁性载体粒子。载体表面的元素通过 X 射线光电子能谱仪(XPS,RIGAKU D/MAX 2500V/PC)测定;形貌及粒径大小分布分别以透射电子显微镜(TEM,JEM-2000 FX II 型)和 Brookhaven⁹⁰Plus 型激光粒度仪进行测定;其晶型和磁性能通过 XRD 测试仪(LDJ9600-1)及 VSM 磁性分析仪(LDJ9600-1)进行了表征。

2 结果与讨论

2.1 反应各条件对赖氨酸修饰壳聚糖合成的影响

为了获得最优化赖氨酸修饰壳聚糖的制备条件,本文设计了一系列实验,对 pH 值、温度、搅拌速度、反应时间及反应体系的油相和水相的比例分别进行了讨论,并通过荧光分光光度计,利用荧光胺与不同含量的伯氨基相互作用产生荧光的强弱来表征产物氨基的相对含量^[16~18],从而确定最佳反应条件(如表 1 所示)。

表 1 不同实验条件制备赖氨酸修饰壳聚糖

Table 1 The correlation experiments with different coordination conditions

	壳聚糖/g	赖氨酸/g	温度/℃	油相/水相	反应时间/h	转速/rpm
(1)	0.124	0.215	0	1:1	2	1000
(2)	0.123	0.219	20	1:1	2	1000
(3)	0.122	0.218	40	1:1	2	1000
(4)	0.125	0.214	20	1:1	4	1000
(5)	0.121	0.214	20	1:1	6	1000
(6)	0.126	0.216	20	0.5:1	2	1000
(7)	0.127	0.217	20	2:1	2	1000
(8)	0.125	0.215	20	1:1	2	800
(9)	0.124	0.216	20	1:1	2	1200

2.1.1. pH 值的影响 图 1 为体系在不同 pH 值下所制得的赖氨酸修饰壳聚糖与荧光胺相互作用所产生的荧光光谱图。在赖氨酸与壳聚糖反应的过程中,EDC 为该反应的偶联剂,因而其在反应中的活性很大程度上影响了两者的反应程度。从图中可以看出,随着 pH 值的增大,EDC 的活性增大,反应程度加剧,产物氨基含量增高,荧光强度增大,当体系在 pH 值为 5 时,EDC 反应活性达到最大,产物中引入的赖氨酸分子最多,氨基的含量最大,因而其荧光强度也最强。当 pH 值继续增大,壳聚糖在体系中的溶解性变差,限制反应的进行,赖氨酸的接枝率降低,产物氨基含量减少,荧光强度下降,尤其当 pH 值为 7 时,其所得

产物水溶性太差而不能进行荧光强度的测定。

2.1.2 温度的影响 不同温度下所制得的产物与荧光胺相互作用的荧光光谱图见图 2。从图中可以看到随着体系温度的升高,水相与油相之间的接触加速,有利于壳聚糖与赖氨酸分子之间的相互作用,更多的赖氨酸分子接枝于壳聚糖主链,产物氨基含量增加,荧光强度增大。但当温度升高到一定程度后,EDC 的活性降低,限制反应的充分进行,产物荧光强度开始下降。

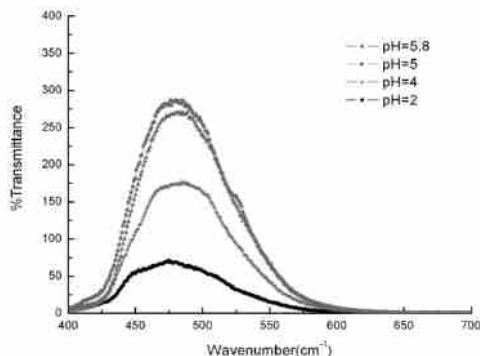


图 1 体系 pH 值对于产物荧光强度的影响

Figure 1 pH influence on fluorescence intensity

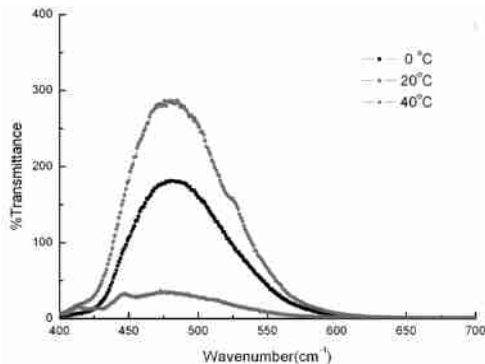


图 2 体系温度对于产物荧光强度的影响

Figure 2 Temperature influence on fluorescence intensity

2.1.3 搅拌速度的影响 考察了不同搅拌速度对于赖氨酸修饰壳聚糖反应的影响。结果如图 3 所示:从图中可以看出随着搅拌速度的增加,分子运动强度增加,两相之间的接触加剧,体系反应程度增大,赖氨酸的接枝率增高,产物氨基含量增加,荧光强度增大。若转速继续增加,引起液滴飞溅使得反应物搅拌不均匀,影响产物的均匀性,故而没有考虑更高转速。

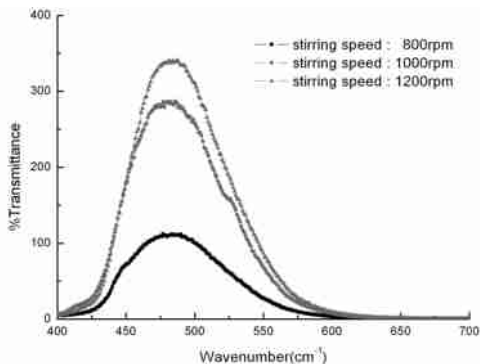


图 3 搅拌速度对产物荧光强度的影响

Figure 3 Stirring speed influence on fluorescence intensity

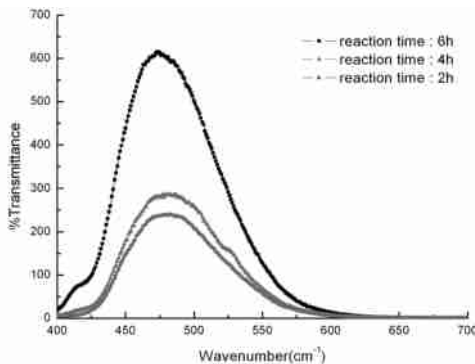


图 4 反应时间对于产物荧光强度的影响

Figure 4 Reaction time influence on fluorescence intensity

2.1.4 反应时间的影响 不同反应时间对产物的影响见图 4。从图中可知,随着反应时间的延长,壳聚糖与赖氨酸分子接触更为充分,反应进行更加完全,赖氨酸取代度提高,产物氨基含量增加,荧光强度增大,但当反应时间增加到一定程度,反应完全进行,延长反应时间已经没有任何意义。

2.1.5 反应油相/水相(DMF/H₂O)体系配比的影响 图 5 为不同 DMF/H₂O 对于产物荧光强度影响的荧光光谱图。从图中可知,反应体系油相/水相比为 1 时,产物的赖氨酸接枝率最大,氨基含量最高,荧光强度最强。油相/水相比分别为 2、1、0.5 时,荧光强度先增后降。这表明,随着油相体积的增加使得反应体系中两种反应物质的接触更加充分,当油相和水相的比例为 1 时两相接触最为充分,分子可以在两相界面充分反应。当低于或高于 1 时,两种分子之间接触受限,使反应进行得不完全,产物赖氨酸接枝率不高,荧光强度减弱。

2.2 (¹H-NMR)赖氨酸修饰壳聚糖结构表征

将最优化条件下制备的赖氨酸修饰壳聚糖分别进行了红外光谱 (FT-IR) 和核磁共振谱图 (¹H-NMR) 表征。

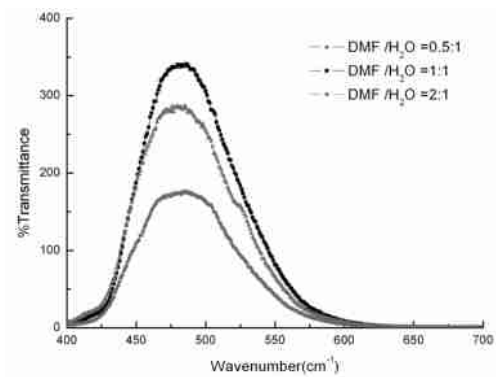


图 5 不同油水相比比例对于产物荧光强度的影响

Figure 5 DMF/H₂O influence on fluorescence intensity

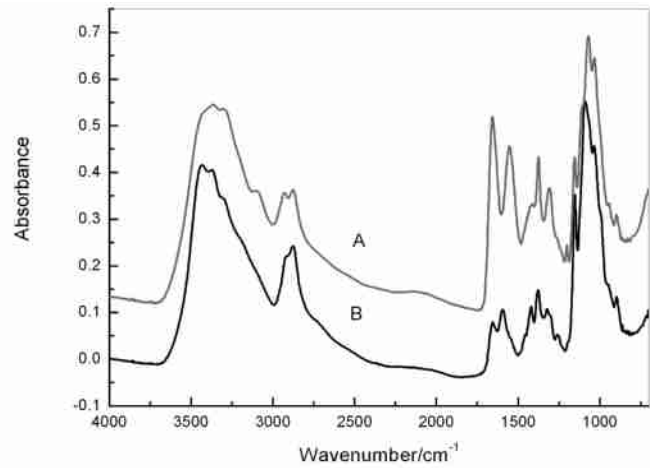


图 6 (A) CTS-Lys 红外谱图(B) CTS 红外谱图

Figure 6 (A) FT-IR spectrum of CTS-Lys(B) FT-IR spectrum of CTS

2.2.1 红外光谱(FT-IR)测定 图 6 为赖氨酸修饰壳聚糖(A)和壳聚糖(B)的红外光谱,从图中可以看出,反应前后在 1654.9cm^{-1} 和 1550.7cm^{-1} 这两处的吸收峰明显增强,重叠面积明显增大,经分析可知, 1654.9cm^{-1} 和 1550.7cm^{-1} 处分别是仲酰胺的酰胺一代和酰胺三代的伸缩振动峰,这说明反应后产物中的伯氨基含量明显增大,赖氨酸成功化学修饰壳聚糖。另外从图中可以看到反应后 3373.4cm^{-1} 处的伸缩振动峰变强,峰形变宽,重叠面积增大,分析可知该处为伯氨基的伸缩振动吸收峰,这也佐证了赖氨酸修饰壳聚糖的成功制备。

2.2.2 核磁共振谱图($^1\text{H-NMR}$)测定 图 7 和图 8 分别为壳聚糖(CTS)和赖氨酸修饰壳聚糖(CTS-Lys)的 $^1\text{H-NMR}$ 谱图,在 CTS 谱图上, $\delta=1.81$ 为壳聚糖上未脱乙酰基团质子吸收峰, $\delta=4.77$ 和 2.93 分别为 C_1 、 C_2 上质子的共振吸收峰, $\delta=3.3\sim 3.7$ 为 C_3 、 C_4 、 C_5 、 C_6 上质子的重叠吸收峰。CTS-Lys 的 $^1\text{H-NMR}$ 除了保持原来的吸收峰外,在 $\delta=1.20$ 和 1.47 出现了亚甲基(C_9 和 C_{10})的重叠振动峰, $\delta=2.78$ 为 C_{11} 上质子的吸收振动峰^[19~21],由此可以判定壳聚糖主链中成功引入赖氨酸分子,赖氨酸修饰壳聚糖制备成功。

另外,由于峰面积和质子氢是成正比例的,根据上列数值便可以准确计算出壳聚糖的脱乙酰度,计算公式如下:

$$DD(\%) = 1 - \frac{\frac{1}{3} \times HAc}{\frac{1}{6} \times H^{26}} \times 100\%$$

(1)

式中 DD ——壳聚糖的脱乙酰度; HAc ——乙酰基的 H; H^{26} ——壳聚糖环上 C 所连的 H。
最后,可得出壳聚糖的脱乙酰度为 81.5% 。这个数值和厂家所提供数值基本一致。同样根据公式:

$$DP(\%) = (1 - DD) \times \frac{H8B \times \frac{1}{2}}{HAc \times \frac{1}{3}} \times 100\%$$

(2)

式中 DP ——赖氨酸取代单元所占的比重; DD ——壳聚糖的脱乙酰度; HAc ——乙酰基的 H; $H8B$ ——赖氨酸 8 位 C 上连接的 H。

将数值带入公式,可以计算出赖氨酸取代的单元所占的比重为 26.79%。则取代度根据下列公式可得出:

$$DA(\%) = DP/DD$$

(3)

将数值带入公式,可以计算出赖氨酸的取代度为 32.78%。

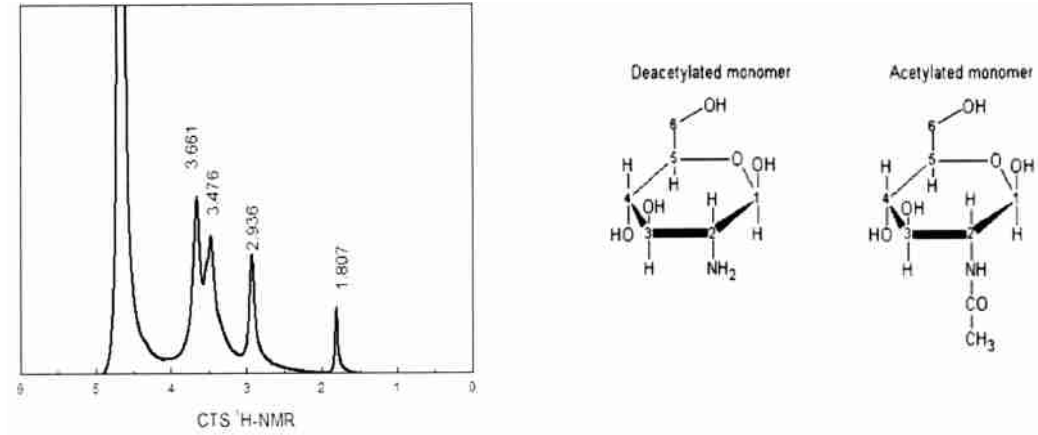


图 7 CTS 核磁共振¹H 谱(D₂O/CD₃COOD 溶剂)
Figure 7 ¹H-NMR curve of CTS

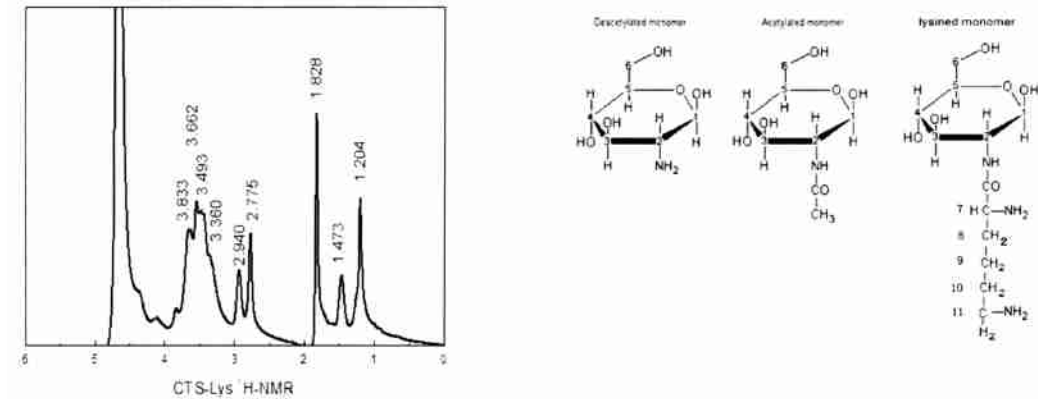


图 8 CTS-Lys 核磁共振¹H 谱(D₂O/CD₃COOD 溶剂)
Figure 8 ¹H-NMR curve of CTS-Lys

2.3 赖氨酸修饰壳聚糖超微载体的形貌和特性表征

2.3.1 X 射线光电子能谱(XPS)分析 图 9 为赖氨酸修饰壳聚糖超微磁性载体粒子的 X 射线光电子能谱图。从谱图(a)中可以看到,赖氨酸修饰壳聚糖超微磁性载体粒子表面含有 C, N, O 元素,说明赖氨酸修饰壳聚糖包裹于磁流体表面,磁性超微载体成功制备。另外根据 XPS 的实验原理,作者还可判断外面的赖氨酸修饰壳聚糖至少有 10nm 厚^[22]; (b)图是对 Fe 元素的窄区谱图的分析,从中可以看到 Fe 元素在 711.0eV 和 724eV 分别显示出尖锐的光电子能谱峰,这与标准 Fe₃O₄ 光电能谱图中 Fe 2p_{3/2} 和 Fe 2p_{1/2} 所出现的能谱图完全吻合。这说明外层高分子的包裹不会影响产物内部的磁核结构; (c)图是为对 N 元素的窄区分析谱图,从图中可以看出 N 1s 的能谱峰位在 399.6eV,这与氨基(—NH₂)的电子结合能完全一致,说

明载体粒子表面的 N 元素大部分以氨基形式存在,载体将具有很强的正电性。

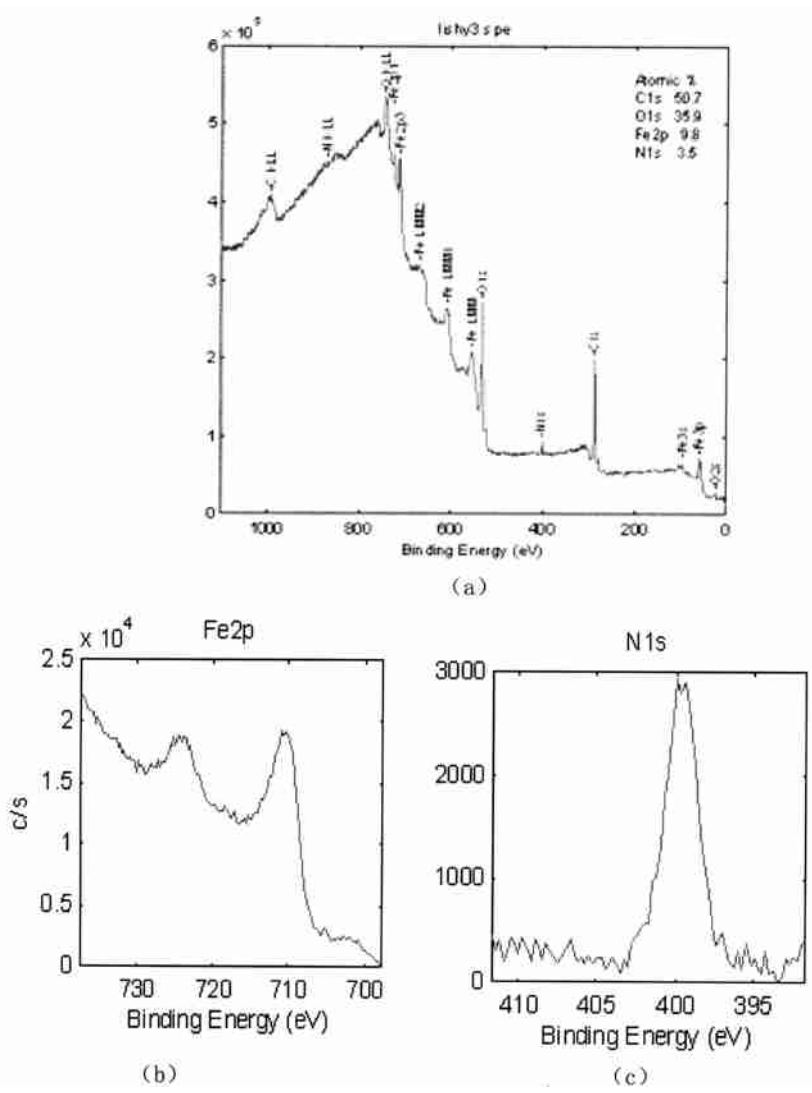


图 9 赖氨酸修饰壳聚糖磁性超微载体 XPS 谱图

Figure 9 XPS of CTS-Lys microspheres

2.3.2 载体粒子的粒径及表观形貌表征 从 TEM 照片(见图 10 和图 11)可以观察到 Fe_3O_4 磁流体和赖氨酸修饰壳聚糖磁球的具体形貌特征和粒径大小。两图相比可以看到, Fe_3O_4 磁流体的粒径大约在 10nm 左右, 与之相比赖氨酸修饰壳聚糖磁球的粒径明显变大, 粒子的平均粒径在 100nm 左右, 这说明赖氨酸修饰壳聚糖成功包附于 Fe_3O_4 磁流体之上, 与 XPS 谱图相互佐证了磁性超微载体制备成功。另外, 从图 11 中可以看到载体粒子具有良好的外观, 表面光滑, 粒径分布均匀, 同时由图 12 的激光粒度检测仪测定谱图可知赖氨酸修饰壳聚糖的超微磁性载体粒子平均粒径较小, 分布均匀, 有大量粒子的粒径在 100nm 左右这与 TEM 照片所显示的粒径基本相同, 两者可以相互印证。

2.3.3 X 射线衍射(XRD)分析 本实验通过 XRD 测试仪测定了 Fe_3O_4 磁流体和赖氨酸修饰壳聚糖磁性超微载体粒子的晶型。从图 13 可以看到, Fe_3O_4 磁流体峰形尖锐, 半峰宽很窄, 而图 14 中出现了不少小馒头峰, 峰形变宽, 这是由于磁性超微载体粒子表面包附了赖氨酸壳聚糖, 影响了晶型的测定所致^[23], 这也从另外一个角度证明了赖氨酸修饰壳聚糖包附于磁流体之上。对比两张谱图可以看出, 其前 6 强峰峰位完全一致, 其衍射峰出现在 $2\theta=30.3^\circ, 35.5^\circ, 43.0^\circ, 53.7^\circ, 57.1^\circ, 62.8^\circ$, 分别对应立方相 Fe_3O_4 的 (220), (311), (400), (422), (511) 和 (440) 晶面。由此可以判断制备的磁流体和磁性超微载体粒子均具备 Fe_3O_4 的晶型结构。另外由 Scherrer 方程 $D=k\lambda/\beta\cos\theta$ ^[24,25], 其中 $k=0.89$, $\lambda=1.542$, β 为半峰宽, $2\theta=35.5^\circ$ 的

最强峰的峰位的半峰宽计算样品的晶粒尺寸为 10.2 nm, 与电镜照片统计的平均粒径相符。

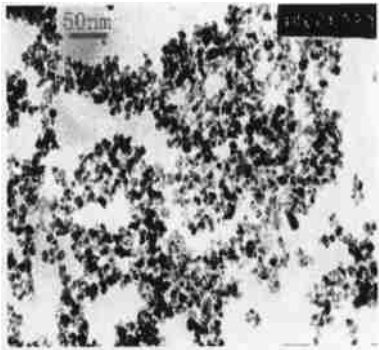


图 10 Fe₃O₄ 磁流体透射电子显微镜照片
Figure 10 TEM image of Fe₃O₄

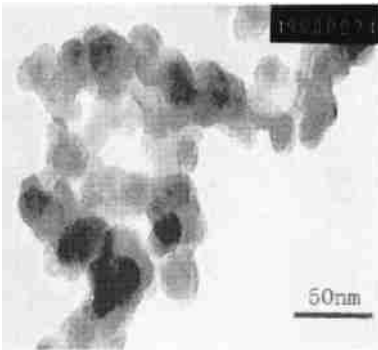


图 11 赖氨酸修饰壳聚糖超微载体透射显微镜照片
Figure 11 TEM image of CTS-Lys microspheres

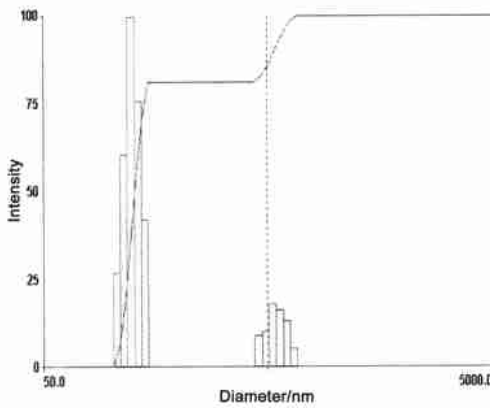


图 12 CTS-Lys 磁性超微载体激光粒度仪粒径分布图
Figure 12 Size distribution of CTS-Lys microspheres

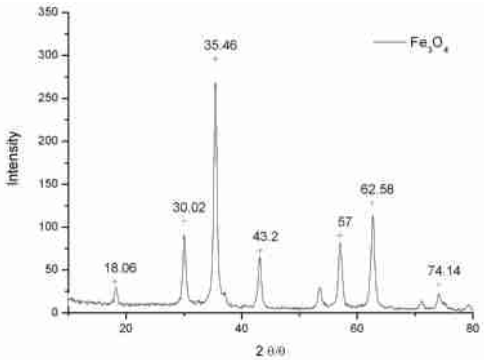


图 13 Fe₃O₄ 磁流体 XRD 谱图
Figure 13 XRD curve of Fe₃O₄

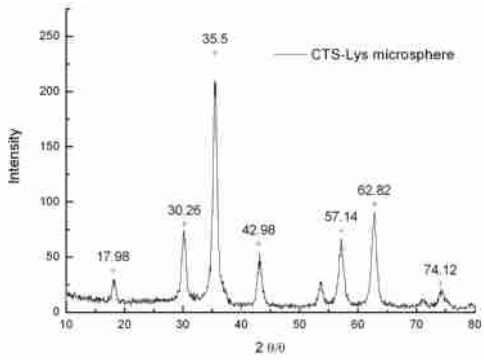


图 14 CTS-Lys 磁性超微载体 XRD 谱图
Figure 14 XRD curve of CTS-Lys microspheres

2.3.4 磁性能(VSM)分析 本实验用 VSM 磁性分析仪测定了磁性 Fe₃O₄ 磁流体(A)和赖氨酸修饰壳聚糖磁性超微载体粒子(B)的在室温下磁性能。图 15 为所测得的两者的磁力回滞曲线 VSM 谱图, VSM 谱图一般是由一条磁化曲线和一条退磁曲线组成的闭合曲线。在退磁曲线上,当反向磁场达到某一数值时,磁感应强度(B)为零,与此相应的磁场强度(H)就叫矫顽力(H_c),具有超顺磁特性的物质,一般我们认为其矫顽力为零(或近似为零),即该磁性物质在撤去外加磁场后剩磁为零(或近似为零)不再具有磁性。从图中可以看出两条曲线都没有出现磁滞现象,均具有闭合的磁滞曲线,且剩磁力和矫顽力在仪器精度允许范围内均为零,而且没有任何磁滞现象出现,显示出良好的超顺磁特性^[24,25]。对比两条曲线

可以看到,在 1T 的磁场强度下,Fe₃O₄ 磁流体的磁化强度没有达到饱和,仍有上升的趋势,而赖氨酸修饰壳聚糖磁性超微粒子的饱和磁化强度测定为 36.3emu/g,这从另外一个角度说明赖氨酸修饰壳聚糖对于 Fe₃O₄ 磁流体的包覆从一定程度上降低了磁性能,同时也佐证了赖氨酸修饰壳聚糖磁性超微载体的制备成功。

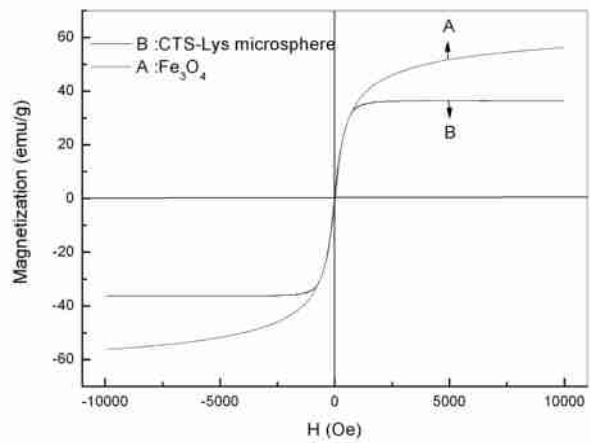


图 15 Fe₃O₄ 磁流体和 CTS-Lys 磁性超微载体磁性能 VSM 谱图
Figure 15 VSM curve of Fe₃O₄ and CTS-Lys microspheres

3 本文结论

本文通过赖氨酸对壳聚糖进行修饰,制备了水溶性好,氨基含量高的赖氨酸修饰壳聚糖,并通过设计不同的实验条件得出优化制备条件:pH 值为 5,温度 20℃,搅拌速度 1200rpm,反应时间 6h,油相/水相 1:1;并将所制得的赖氨酸修饰壳聚糖作为壳层材料制备磁性超微载体,通过光电能谱(XPS)、透射(TEM)、核磁(¹H-NMR)、激光粒度仪、X 射线衍射(XRD)、磁性能测试(VSM)对载体进行了表征。结果表明,赖氨酸修饰壳聚糖磁性超微载体制备成功,其表面带有大量的氨基(-NH₂),粒径分布较为均一(100nm 左右),形貌较为规则,并具有良好的超顺磁性,可望成为一种优良的基因载体。

参考文献:

[1] Bonadio J,Goldstein S A,Levy R J. *Adv Drug Deliver Rev*, 1999, 33(1):53~59.
[2] Will S R, Hu Y H,Sfeirc, et al. *Adv Drug Deliver Rev*, 2000, 42: 121~138.
[3] Parker A L, Oupicky D, Dash P R, et al. *Anal Biochem*, 2002, 302(1): 75~80.
[4] Vijayanathan V, Thomas T, Thomas T. *J Biochem*, 2002, 41(48): 14085~14094.
[5] Mckenzie D L, Kwok K Y, Rice K G. *J Biochem*, 2000, 275(14): 9970~9977.
[6] Scherer F, Anton M, Schillinger U, et al. *Gene Ther*, 2002, 9(2): 102~109.
[7] Brunner S, Saucr T, Carotta S, et al. *Gene Ther*, 2000, 7(5): 401~407.
[8] Sakurai F, Inoue R, Nishino Y, et al. *J Controll Release*, 2000, 66(3): 255~269.
[9] Wagner E. *Adv Drug Deliver Rev*, 1999, 38(3): 279~289.
[10] Fukushima S, Miyata K, Nishiyama N, et al. *J Am Chem Soc*, 2005, 127: 2810~2811.
[11] Kuhn S J, Finch S K, Hallahan D E, et al. *Nano Lett*, 2006, 6(2): 306~312.
[12] Zalich M A, Baranauskas V V, Riffle J S, et al. *Chem Mater*, 2006, 18: 2648~2655.
[13] Renbutsu E, Hirose M, Omura Y, et al. *Biomacromolecules*, 2005, 6: 2385~2388.
[14] Hitoshi S, Norioki K, Atsuyoshi N, et al. *Biomacromolecules*, 2002, 3: 1126~1128.
[15] Qu S C, Yang H B, Ren D W, Kan S H, Zou G T, Li D M, Li M H. *J Colloid Interface Sci*, 1999, 215: 190~192.
[16] Udenfriend S, Stein S, Bohlen P. *Science*, 1972, 24: 871~872.
[17] Martin L R, Thomas E, Karel U, et al. *FEBS Lett*, 1999, 461: 96~100.
[18] Chung L A. *Analy Biochem*, 1997, 248: 195~201.
[19] Lavertu M, Xia Z, Serreqi A N, et al. *J Pharmaceut Biomed*, 2003, 32: 1149~1158.

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

- [20] Liu C G, Desai K G H, Chen X G, et al. J Agr Food Chem, 2005, 53: 437~441.
- [21] Ingrid M W, Renner C, Markus G S, et al. Chem Mater, 2002, 14: 3252~3259.
- [22] Legrand J, Taleb A, Gota S, Guittet M J, et al. Langmuir, 2002, 18: 4131~4137.
- [23] Adam J R, Anna C S, Samiax Z, Zhang J, et al. Phys Chem, 1999, 103: 6876~6880.
- [24] Christy R, Vestal Z, Zhang J. J Am Chem Soc, 2002, 124: 14312~14313.
- [25] Arruebo M, Gala M, Navascue N, et al. Chem Mater, 2006, 18: 1911~1919.

Preparation and Characterization of Lysine Chemically Modified Chitosan Magnetic Microspheres

LI Shuang-yan, HAO Li-juan, HAN Lei, HUANG Jie, CHANG Jin^{*}
(*Institute of Nanobiotechnology, Tianjian University, Tianjin 300072, China*)

Abstract: Lysine chemically modified chitoan with good water solubility was synthesized in this paper, and the optimizing coordination condition was carried out. Its composition and structure was characterized by FT-IR and ¹H-NMR, and it was used as matrix to prepare magnetic microspheres. The microspheres were analysed by XPS, TEM, XRD and VSM. The results showed that the particles were spherical and uniform in dimension with particle diameters of 100nm, and had good supermagnetic characterization, there were also many amidos on their surface. All the investigation indicated lysine modified chitosan magnetic microspheres would be used as a good gene delivery system in future.

Key words: Lysine; Chitosan; Magnetic microspheres; Gene delivery system