

医用葡聚糖包被超顺磁性纳米氧化铁磁珠的制备和表征

牛婉婷, 张路遥, 杨 昊, 潘 敏, 陈裕泉

浙江大学生物医学工程系, 杭州 310008

摘要 纳米磁性颗粒因其独特的性能, 在基础研究领域和临床诊断上已经得到广泛应用, 比如细胞分离、免疫识别、药物载体以及核磁共振成像阴性对比剂等。本文主要利用化学共沉淀的方法, 制备了一种可以在交变磁场中升温的纳米氧化铁水基磁流体。利用正交实验分析了磁珠粒径与实验条件(氨水、铁盐和葡聚糖用量及反应温度)之间的关系。利用各种方法对粒径大小、磁珠的粒径分布及其形貌进行分析; 确定葡聚糖外壳与氧化铁内核之间的关系; 测定了样品的磁学特性。结果显示, 该方法制备的水基葡聚糖包被氧化铁磁流体在室温下具有很好的稳定性, 状态可以数月内不发生任何改变。

关键词 纳米磁珠; 葡聚糖; 医学应用; 磁流体

中图分类号 R811.3

文献标识码 A

文章编号 1000-7857(2009)21-0067-05

Preparation and Characterization of Dextran Coated Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles for Medical Applications

NIU Wanting, ZHANG Luyao, YANG Hao, PAN Min, CHEN Yuquan

Department of Biomedical Engineering, Zhejiang University, Hangzhou 310008, China

Abstract Nano magnetic particles are extensively used in both clinical diagnostics and basic researches for its distinct features, such as cell separation, immune recognition, contrast reagents in Magnetic Resonance Imaging (MRI). This paper proposes a method of preparing magnetic nanoparticles in the aqueous phase, which can be heated in an alternating magnetic field. Through orthogonal experiments, the relationship between particle diameter and reaction condition (dose of ammonia, iron salt, dextran and temperature) is optimized. The size of magnetic nanoparticles and their distribution, the relationship between dextran shell and iron oxide core, the magnetic characteristics are measured. The dextran coated iron

oxide nanoparticles prepared in this way can be stored in room temperature for several months without any change of properties.

Keywords magnetic nanoparticle; dextran; medical application; magnetic fluid

0 引言

超顺磁性氧化铁作为核磁共振成像 (Nuclear Magnetic Resonance Imaging, MRI) 阴性对比剂在临床上使用已有多年的历史^[1-2], 近年来基于超顺磁性氧化铁的肿瘤热疗^[2-3]方法的面世, 磁控栓塞技术、磁流体热疗的设备^[4]、偶联抗癌药物的肿瘤靶向给药技术也有深入的研究^[5-6]。其中, 在靶向给药技术领域, 用抗体包被的超顺磁性氧化铁, 在细胞分离、识别, 肿瘤的早期诊断等领域也得到了广泛使用^[7]。

由于裸磁珠粒径小, 表面能高, 因此会互相团聚。而当粒径大于 100 nm 时, 易被血管网状内皮系统清除^[8]; 但粒径太小, 也存在着磁响应弱的缺点。因此需要外包一层包被材料。葡聚糖 40000, 也称右旋糖酐, 是人工血浆代用品的主要成分, 因其具有优良的血液相容性而成为包被材料的首选。当裸磁珠包被了抗体、多糖等高分子物质后, 可有效地阻止磁珠相互间的团聚, 得到分散性能较好的磁流体^[9-10]。

1 材料与方法

1.1 试剂和仪器

葡聚糖 40000, 国药集团化学试剂有限公司产品; FeCl₃·

收稿日期: 2009-09-14

基金项目: 浙江省研究生创新科研项目 (YK2008023); 浙江省科技计划项目 (2008C23081); 浙江省教育厅项目 (20070085)

作者简介: 牛婉婷, 博士研究生, 研究方向为生物传感技术, 电子信箱: bmenwt@126.com; 陈裕泉 (通信作者), 教授, 研究方向为生物传感技术, 电子信箱: yqchen@mail.bme.zju.edu.cn

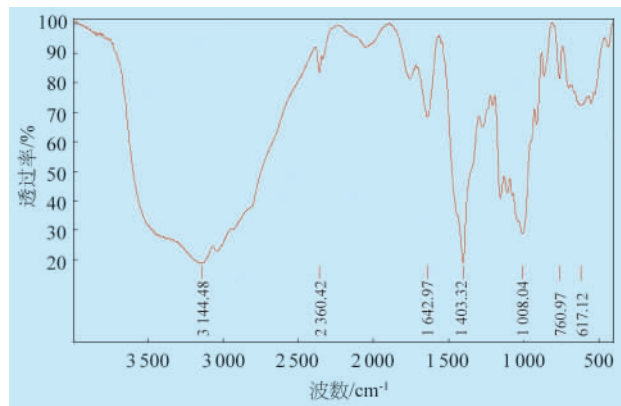


图 2 包被葡聚糖的氧化铁纳米颗粒 FTIR 谱

Fig. 2 FTIR spectrum of dextran coated iron oxide nanoparticles

形成,主要是以氢键、范德华力和静电作用等方式结合。

2.4 XRD 判断纳米磁珠的成分

图 3 中上方的曲线是样品的实测曲线,(a) 图的下方是 $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ 的标准图谱(b)图下方是 Fe_3O_4 的标准图谱,这说明样品中所含的磁性核心是 Fe_3O_4 和 $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ 的混合物。

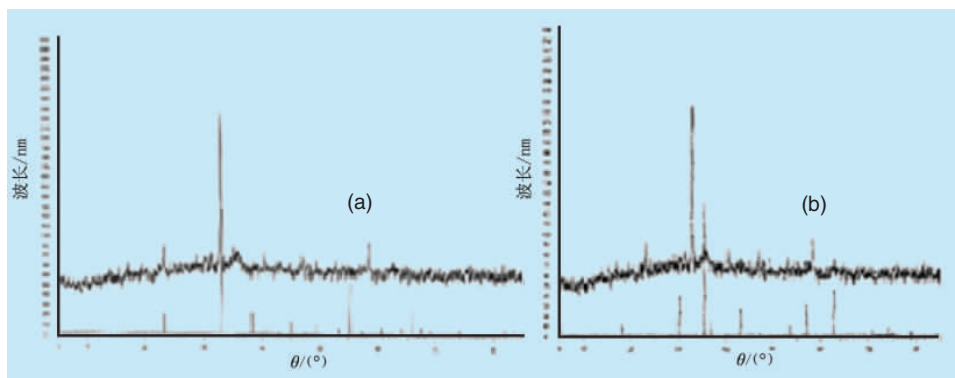


图 3 葡聚糖包被氧化铁纳米磁珠(真空干燥)XRD 图谱

Fig. 3 XRD pattern of magnetic iron oxide coated with dextran (vacuum-dried) (a) the standard spectrum of $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ (b) is the standard spectrum of Fe_3O_4

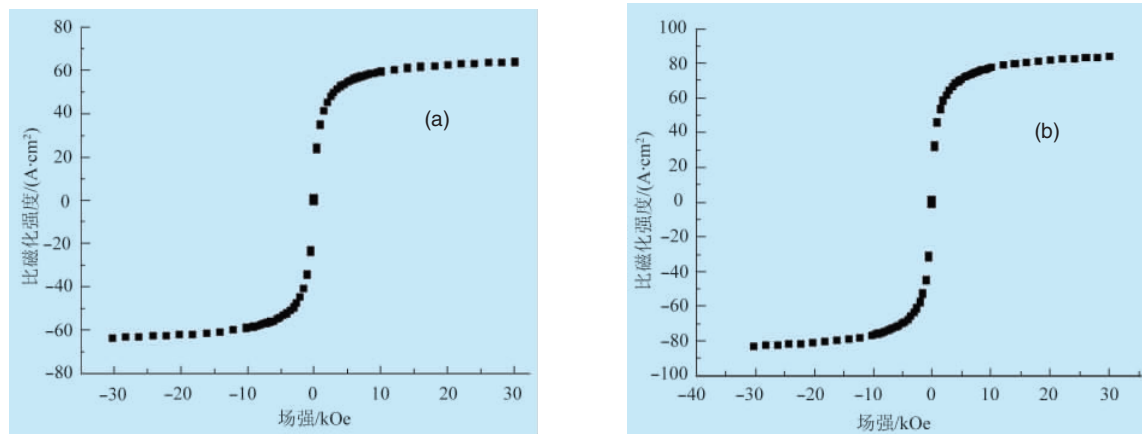


图 4 样品 1 透析前(a)和透析后(b)的葡聚糖包被氧化铁纳米磁珠(真空干燥)磁滞回线

Fig. 4 Magnetization curve of magnetic iron oxide coated with dextran (vacuum-dried) before (a) and after (b) dialysis

2.5 超导量子干涉仪表征葡聚糖包被纳米磁珠的磁学性质

图 4 是室温下由 SQUID 测定的所制备的氧化铁纳米磁珠的磁滞回线。该磁滞回线呈一条曲线,矫顽力趋近于零,几乎没有磁滞,表现出很好的超顺磁性。图 4(a)是实验 1 样品经真空干燥后粉末的磁化曲线,饱和磁化强度为 $63.7 \text{ A}\cdot\text{cm}^2$;图 4(b)是实验 1 样品经透析并真空干燥后粉末的磁化曲线,饱和磁化强度为 $83.125 \text{ A}\cdot\text{cm}^2$ 。对应平均粒径在透析前后分别为 34.3 和 47.3 nm,由此看出,在一定尺度内,饱和磁化强度与粒径呈正相关。磁化强度与升温效果有着直接的关系,这是由于磁化强度弛豫会引起粒子自身的转动,动量通过黏滞摩擦转移到载液,从而引起磁流体的温升。需要指出的是,对于水基磁流体而言,磁化强度不仅是磁珠浓度的函数,也是温度的函数,随着温度的升高,其饱和磁化强度变小^[13]。

2.6 原子吸收光谱测定水基葡聚糖包被氧化铁磁流体中的铁含量

制得的葡聚糖包被纳米磁珠样品中含氧化铁纳米粒子的浓度不仅取决于反应时投入的铁盐的量,而且与产品的粒径密切相关。在离心的过程中,粒径过大的纳米粒子被沉降除去,导致产品中氧化铁的含量降低。氧化铁的含量与医疗应用的效果密切相关,比如热疗时的发热效率、作为 MRI 对比剂时成像的

质量等。表 4 给出了正交实验获得样品中的 Fe 含量。

表 4 正交实验获得样品中 Fe 的含量 Table 4 Fe concentration of samples in orthogonal experiments		
样本	RSD/%	浓度/(mg·mL ⁻¹)
1	0.2	4.961 3
2	0.3	8.131 1
3	1.4	0.010 4
4	0.3	4.087 5
5	1.3	5.945 1
6	0.2	14.436 7
7	1.8	3.785 4
8	0.6	5.357 4
9	0.6	12.773 1

2.7 zeta 电位测量

将实验 1 透析前后的样品以去离子水稀释 50 倍,测试条件为室温,转速 150 r/min,测量 5 次取平均值。测得透析前后样品的 zeta 电位分别为 13.5 mV 和-15.1 mV。由此可见,缓冲液的种类、离子强度在很大程度上影响着纳米磁珠的 zeta 电位。zeta 电位的绝对值越大,表示纳米颗粒表面电荷越多,越是可以长时间的通过静电相互作用保持体系的稳定。另外,细胞膜由于磷脂双分子层以及带负电的蛋白多糖的存在,表面带大量负电荷,肿瘤细胞尤其明显,因此荷有正电的纳米颗粒更容易通过胞吞作用进入细胞。

2.8 交变磁场中纳米磁流体的升温效果

图 5 是实验 2 的样品在交变磁场中的生热曲线,纳米磁珠的粒径为 342.3 nm,Fe 的浓度为 8.131 1 mg/mL,实验时室温为 17℃。图中升温曲线的趋势是随着时间的推延,温度持续上升,但考虑升温速率过慢,用于医疗技术还需进一步改善。

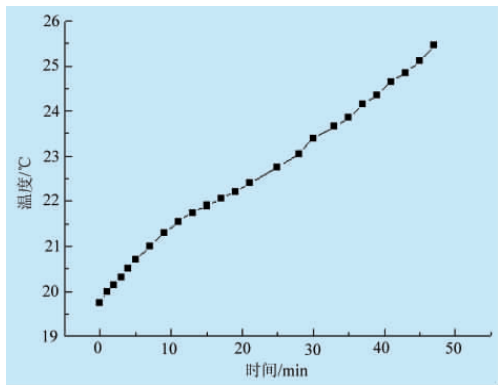


图 5 交变磁场中磁流体的升温曲线
(磁场频率 40 kHz、振幅 18 kA/m)

Fig. 5 Temperature-time curves of magnetic fluids in alternating magnetic filed (with frequency of 40 kHz and amplitude of 18 kA/m)

3 结论

基于化学共沉淀法制备出粒径范围约在 30~300 nm 的

系列水基葡聚糖包被氧化铁纳米磁珠,通过正交实验得出在一定范围内,氨水或者葡聚糖用量一定的情况下,磁珠的粒径随铁盐用量的增加而变大。XRD 谱图表明,其主要成分是 Fe₂O₃ 和 Fe₃O₄ 的混合物。傅里叶变换红外光谱表明葡聚糖与氧化铁磁性内核之间无共价连接,二者结合仅是靠氢键、范德华力、静电吸引等物理相互作用,葡聚糖对于磁珠的团聚提供了空间的位阻。从磁滞回线上可以看出葡聚糖包被纳米氧化铁磁珠具有超顺磁性,剩磁几乎为零,在一定范围内粒径和饱和磁化强度正相关。缓冲液的成分,离子强度以及 pH 值在很大程度上影响着磁珠的 zeta 电位,进而影响着体系的稳定程度。这种方法制备的纳米磁珠,在交变磁场中可以升温,但速率不够理想,需进一步改善。

参考文献 (References)

[1] Lee H S, Kim E H, Shao H, *et al.* Synthesis of SPIO-chitosan microspheres for MRI-detectable embolotherapy [J]. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 2005, 293: 102-105.

[2] Mornet S, Vasseur S, Grasset F. Magnetic nanoparticle design for medical diagnosis and therapy [J]. *Journal of Materials Chemistry*, 2004, 14: 2161-2175.

[3] Jordan A, Scholz R, Wust P, *et al.* Magnetic fluid hyperthermia (MFH): Cancer treatment with AC magnetic field induced excitation of biocompatible superparamagnetic nanoparticles [J]. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 1999, 201: 413-419.

[4] Jordan A, Scholz R, Maier-Hauff K, *et al.* Presentation of a new magnetic field therapy system for the treatment of human solid tumors with magnetic fluid hyperthermia [J]. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 2001, 225: 118-126.

[5] Liu T-Y, Hu S-H, Liu K-H, *et al.* Preparation and characterization of smart magnetic hydrogels and its use for drug release [J]. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 2008, 304: e397-e399.

[6] Zhao Y, Qiu Z, Huang J, *et al.* Preparation and analysis of Fe₃O₄ magnetic nanoparticles used as targeted-drug carriers [J]. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 2008, 16: 451-455.

[7] Udabas S, Sayar F, Guven G, *et al.* Separation of mesenchymal stem cells with magnetic nanosorbents carrying CD105 and CD73 antibodies in flow-through and batch systems [J]. *Journal of Chromatography B*, 2008, 861: 74-81.

[8] Daniel L J, Thorek A K, Chen J C, *et al.* Superparamagnetic iron oxide nanoparticle probes for molecular imaging [J]. *Annals of Biomedical Engineering*, 2006, 34: 23-38.

[9] Berry C C, Wells S, Charles S, *et al.* Cell response to dextran-derivatised iron oxide nanoparticles post internalization [J]. *Biomaterials*, 2004, 25: 5405-5413.

[10] Wilhelm C, Billotey C, Roger J, *et al.* Intracellular uptake of anionic superparamagnetic nanoparticles as a function of their surface coating [J]. *Biomaterials*, 2003, 24: 1001-1011.

[11] 熊隆荣, 文玉华, 易成, 等. 聚乙二醇-4000 包覆 Fe₃O₄ 磁流体的制备及稳定性研究[J]. *材料导报*, 2007, 21: 195-197. Xiong Longrong, Wen Yuhua, Yi Cheng, *et al.* *Materials Review*, 2007, 21: 195-197.

[12] Gupta A K, Gupta M. Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications [J]. *Biomaterials*, 2005, 26: 3995-4021.

[13] 李德才. 磁性液体理论及应用[M]. 北京: 科学出版社, 2003: 138-145. Li Decai. *Theories and applications of magnetic fluids* [M]. Beijing: Science Press, 2003: 138-145.

(责任编辑 王芷)