doi:10.11918/j.issn.0367-6234.2015.03.016

Fe_3O_4 -10-HCPT 及 Fe_3O_4 -HCPT@SiO_2 核壳纳米粒子的制备

郭喜明[1], 郭 斌[2], 陈 磊[3], 程树康[3]

(1. 哈尔滨工业大学 生命科学与技术学院,150001 哈尔滨; 2.哈尔滨工业大学 材料科学与工程学院,150001 哈尔滨;
3.哈尔滨工业大学 电气工程及自动化学院,150001 哈尔滨)

摘 要: 为有效控制磁性四氧化三铁纳米粒子在水介质中的分散,防止其聚集.通过控制 NaCl 溶液的物质的量浓度,对比研究磁性四氧化三铁纳米粒子在超声前和超声后在盐中的分散情况. 实验结果表明,磁性四氧化三铁纳米粒子在 0.4 mol/L的氯化钠中分散性最好,聚集度较小;进一步为了制备粒径均匀的复合磁性纳米载药粒子,通过调节 10-羟基喜树碱溶液的 pH,将 10-羟基喜树碱和磁性纳米粒子制备成复合纳米粒子,并将其用二氧化硅包覆制备了复合载药纳米粒子,其复合纳米粒子的粒径大约为 120 nm,结果显示通过该方法成功制备了理想的磁性纳米载药粒子.

关键词: 磁流体; 磁靶向系统; 10-羟基喜树碱(10-HCPT); 药物释放
中图分类号: O6 **文献标志码**: A **文章编号**: 0367-6234(2015)03-0093-04

Preparation of Fe_3O_4-10-HCPT and Fe_3O_4-HCPT@SiO_2 core-shell nanoparticles

GUO Ximing[1], GUO Bin[2], CHEN Lei[3], CHENG Shukang[3]

(1. Shcool of Life of Science and Technology, Harbin Institute of Technology, 150001 Harbin, China;
2. School of Materials Science and Engineering, Harbin Institute of Technology, 150001 Harbin, China;
3. School of Electrical Engineering and Automation, Harbin Institute of Technology, 150001 Harbin, China)

Abstract: To effectively control the dispersion and avoid the aggregate of Fe_3O_4 nanoparticles in the water, the dispersion of Fe_3O_4 nanoparticles was investigated before and after ultrasonic bath in different concentration of NaCl solution. The experimental results showed that the dispersion of Fe_3O_4 nanoparticles was little of aggeregates in the 0.4 mol/L NaCl solution. Furthermore, the magnetic Fe_3O_4-10-Hydroxycamptothecin compounds were prepared by refining pH values of 10-Hydroxycamptothecin system, and then the Fe_3O_4-HCPT@SiO_2 core-shell structural nanoparticles were prepared, of which the diameter of the composite nanoparticle is about 120 nm. The drug release process proves the feasibility of this preparation method.

Keywords: magnetic fluids; magnetic target system; 10-Hydroxycamptothecin; the release of drugs

磁流体(magnetic fluids) 是铁磁性或亚铁磁性的纳米粒子弥散于流体中形成的一种高稳定性的胶体溶液[1].磁流体同时具有固体的磁性和液体的流动性,即使在重力和磁力作用下也不会出现凝聚和沉淀.磁流体中的磁性纳米粒子粒径一般在 10~100 nm 之间,具有自发磁化的特性,呈现超顺磁性[2].由于它具有特殊的物理、化学及流体特性,因而在肿瘤热疗和磁靶向药物缓释方面得到广泛的应用.作为生物医用的磁流体,要求磁性纳米粒子具有良好的生物相容性,而目前为了制备稳定的磁流体,必须使用有机溶剂和表面活性剂,这降低了其生物相容性,限制了磁流体在生

收稿日期: 2013-12-20.
基金项目: 国家自然科学基金(51407046); 中央高校基本科研业务费专项基金(HIT.ICRST.2010012;HIT IBRSEM.2009003); 科技部国际合作项目基金(2012DFR203320).
作者简介: 郭喜明(1976—),男, 副教授,博士生导师;
郭 斌(1963—),男, 教授,博士生导师;
程树康(1946—),男, 教授,博士生导师.
通信作者: 陈 磊, hitchenlei@hit.edu.cn.

命科学中的应用[3].因此探索一种不使用有机溶剂和表面活性剂来制备稳定磁流体的方法,一直是研究者的奋斗目标.本文在不使用任何表面活性剂和有机溶剂的条件下,成功制备了磁性纳米粒子.喜树碱[4-6]是一种天然的、广谱抗肿瘤药物,然而由于它对正常细胞有很强的生物毒性以及其内脂性结构在水中具有贫乏的溶解度,严重限制了它的应用.为了克服喜树碱类药物的缺点,必须对喜树碱进行改性或者设计新的药物靶向系统,使药物准确定位到病变部位,而不损害正常组织.在这方面磁靶向系统是理想的选择,磁靶向系统可以在外磁场作用下,把药物定位到病灶部位.本文成功地将 HCPT 和纳米 Fe_3O_4 粒子的复合物包覆在二氧化硅中,这种复合粒子具有渴望的载药量和磁靶向性.

1　实　验

1.1　试剂与仪器

10-羟基喜树碱,PAH,$FeCl_3 \cdot 6H_2O$(分析纯,中国医药上海化学试剂采购供站),$FeSO_4 \cdot 4H_2O$(分析纯,中国医药上海化学试剂采购供应站),形貌通过原子力显微镜观察,DLS 使用 Brookhaven 粒度仪测量.FTIR 光谱在 varian 3100 光谱仪中测量用 KBr 压片,药物释放在 varian eclipse 上测试,其中装有恒温水池及磁控制装置.测试条件:激发波长为 378 nm;监测的发射波长为 557 nm,激发狭峰宽度为 5 nm,发射狭峰宽度为 5 nm.

1.2　实验过程

1.2.1　Fe_3O_4磁性纳米粒子的制备

将分析纯的 $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 和 $FeSO_4 \cdot 4H_2O$ 分别配制成 0.1 mol/L 的 $FeCl_3$ 和 0.1 mol/L 的 $FeSO_4$ 于烧瓶中,在氮气保护和快速机械搅拌条件下,按 $Fe^{3+}/Fe^{2+}=2:1$ 摩尔比配制 $FeCl_3$ 和 $FeSO_4$ 混合溶液,用 1 mol/L 的盐酸调节适当的 pH,滴加 25% 的 NH_4OH 的溶液,直到出现黑色沉淀,继续搅拌 1 h 停止[7-8].在外加磁场作用下,倾去上层废液,用去离子水反复冲洗生成物,既得到 Fe_3O_4 磁性纳米粒子,将其分散在 0.4 mol/L 的 NaCl 水溶液中备用,此时 Fe_3O_4 磁性纳米粒子带微量的负电,其 zeta 电位为-4.32 mV,其质量浓度约为 7.5 mg/mL,详见文献[9].

1.2.2　10-HCPT 和磁性纳米粒子复合物的制备及其用 SiO_2 纳米粒子包覆

将 36.5 mg10-羟基喜树碱分散在 50 mL 二次蒸馏水中,然后用 1 mol/L 的氢氧化钠溶液调节体系的 pH,直到混浊液变为黄色的澄清溶液,此时溶液的 pH 为 10.8.这时将体积为 4 mL,质量浓度为 7.5mg/mL 的 Fe_3O_4 磁性纳米粒子溶液分散到带正电的聚电解质 PAH 中,并且超声 45 min,Fe_3O_4 磁性纳米粒子表面包覆一层聚电解质 PAH,其 zeta 电位为+38.5 mV.经过磁分离,弃去上层清夜,再用二次蒸馏水洗涤 3 次,将其放入上述配制的 HCPT 溶液中,溶液中出现絮状物,在快速机械搅拌条件下,将 1 mol/L 的盐酸滴加到混合液中,直到絮状物完全消失,停止搅拌.经过磁分离,弃去上层清液,加入 38 mL 二次蒸馏水,快速搅拌 30 min 后,加入溶有 TEOS 的乙醇溶液 38 mL,继续搅拌90 min后,再次通过磁分离弃去上层清夜,将磁性纳米粒子用二次蒸馏水和乙醇(V/V 为1∶1)混合液洗涤 3 次,即得到用 SiO_2 包覆的磁性纳米粒子和 HCPT 的复合纳米粒子.

2　结果与讨论

2.1　NaCl 物质的量浓度对水合 Fe_3O_4 纳米粒子粒径的影响

为了讨论盐的物质的量浓度对水合 Fe_3O_4 纳米粒子粒径的影响,本文分别配制 0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7 mol/L 的 NaCl 溶液,在相同试验条件下,用激光粒度仪(DLS)测试了水合 Fe_3O_4 纳米粒子的粒径,结果发现随着 NaCl 物质的量浓度的增加,磁性纳米粒子的粒径先减小后增大,在 0.4 mol/L 的 NaCl 溶液中,得到了粒径最小的 Fe_3O_4 纳米粒子(图 1).这是因为调节盐的物质的量浓度改变了溶液的离子积浓度,不同离子积浓度的溶液对 Fe_3O_4 纳米粒子的表面带电情况、表面能和水合程度有强烈的影响,只有在适当的盐物质的量浓度下,才能形成稳定的磁流体溶胶体系.本文通过超声波对纳米粒子进行分散,结果发现在 0.4 mol/L 的 NaCl 溶液中,水合 Fe_3O_4 纳米粒子的粒径为 185 nm.

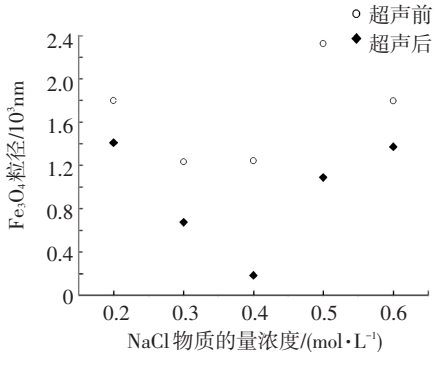
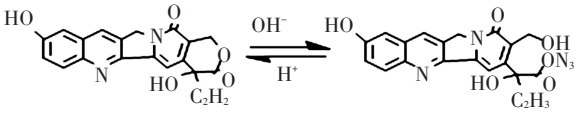


图 1　超声前后不同物质的量浓度的 NaCl 溶液对 Fe_3O_4 粒径的影响

2.2　磁性纳米粒子和 HCPT 形成复合物过程

10-羟基喜树碱在不同的 pH 条件下，有两种存在形式(图 2)，在 pH<5 时，主要以水不溶性的内酯形式存在，这种形式在肿瘤的治疗中是有效成分，且随着 pH 的下降，这种形式的质量分数增加.另一种是在碱性条件下以羧酸盐的形式存在，这种形式对肿瘤治疗的疗效较差.通过调节体系的 pH，两种形式可以实现可逆转化[10].利用这种性质，本文制备了对肿瘤具有活性的内酯形式的 HCPT 和磁性纳米粒子的复合物.而且在制备过程中，在调节 HCPT 的 pH 的同时，在微酸性不断搅拌的条件下，可以对 Fe_3O_4 纳米粒子起一定的刻蚀作用，使 Fe_3O_4 形成规整的球形纳米粒子.这种复合物不仅具有磁靶向性，而且具有理想的药物加载量.



(a) 酮式结构　　(b) 羧酸盐式结构

图 2　10-羟基喜树碱在不同酸碱度条件下的两种存在形式

2.3　纳米粒子的 FTIR 光谱分析

图 3 中显示了纳米粒子复合物和 HCPT 的 FTIR 光谱，从图 3 中可以明显看出，纳米粒子中含有 HCPT.对照羟基喜树碱和复合纳米粒子的红外光谱图，都出现了 HCPT 的特征振动频率.出现在 HCPT 3 421 cm^{-1} 和纳米粒子中的 3 427 cm^{-1} 被归属为羟基喜树碱中羟基的伸缩振动模式，3 100~2 750 cm^{-1} 被归属为 C-H 伸缩振动频率，复合纳米粒子中 1 629 cm^{-1} 的振动频率和 10-HCPT 中 1 604 cm^{-1} 的振动频率可能被归属为芳香环的振动频率，10-HCPT 中 1 403 cm^{-1} 和 1 248 cm^{-1} 被归属为 C-O 或 C-N 的伸缩振动频率.在纳米粒子中观察到了 1 403 cm^{-1} 振动峰，1 248 cm^{-1} 被纳米粒子中出现在 1 097cm^{-1} Si-O-Si 的宽峰掩盖.按照以上红外光谱的结果，可以确认 HCPT 加载到磁性纳米粒子上，并且被包埋在纳米二氧化硅球中.

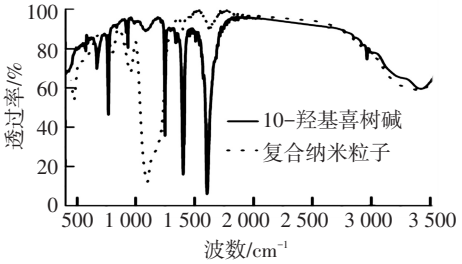


图 3　10-HCPT 和复合纳米粒子的 FTIR 谱

2.4　纳米粒子的形貌及其磁性

由图 4 原子力显微镜照片可见，包裹有药物的纳米粒子具有规整的球形形貌，粒径分布均一，其粒径大约为 120 nm.并且在外加磁场的作用下，可以定向移动而集结，撤去外加磁场后可以重新分散，这说明纳米粒子具有强的超顺磁性，这进一步证明了磁性纳米粒子被包覆在二氧化硅里边.使用动力学光散射测试其粒径，其复合纳米粒子的水合粒径为 80~120 nm[11].

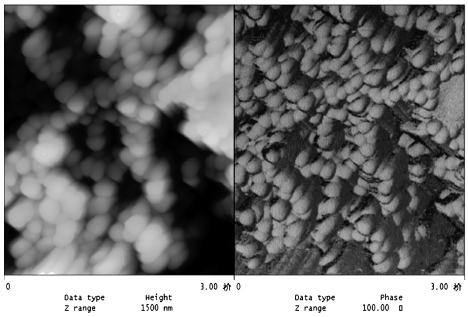


图 4　Fe_3O_4-HCPT@SiO_2 核壳结构的纳米粒子的 AFM

2.5　纳米粒子在磁控条件下的药物释放行为

图 5 显示了 HCPT 在 37 ℃，pH 为 7.4 的 PBS 溶液中，纳米粒子的药物释放行为.从图 5 中可以看出，在大约 200 min 时，纳米粒子中的 HCPT 的释放量大约为 75%，随着时间的推移，其他药物也逐渐被释放，大约在 800 min 时，HCPT 被 100%释放.从这条释放曲线可以看出，磁靶向到达病灶部位时，药物在短时间内被释放，并且按照文献[12]所述，这时羟基喜树碱的内酯形式(有效成分)质量分数大约占 60%.

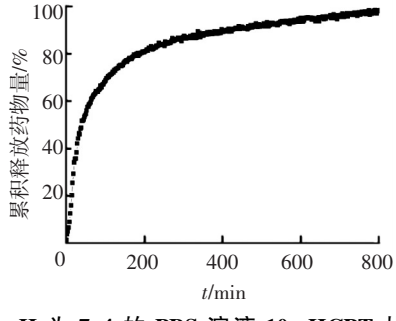


图 5　在 pH 为 7.4 的 PBS 溶液 10-HCPT 从 Fe_3O_4-HCPT@SiO_2 核壳纳米粒子中的释放行为

3　结　语

本文分别对比研究了在超声处理前后磁性四氧化铁纳米粒子在不同氯化钠溶液中的分散情况，磁性四氧化铁纳米粒子在氯化钠溶液物质的量浓度为 0.4 mol/L 时，纳米粒子分散性比较好，聚集度很小.通过调节 pH，成功的制备了 Fe_3O_4-10-羟基喜树碱的复合纳米粒子，并将该纳米粒

子进一步用 SiO_2 包覆,最终制备了二氧化硅包覆的磁性纳米粒子和 HCPT 内酯形式的复合纳米粒子,其粒径大约为 120 nm.

参考文献

[1] FANNIN P C. Wideband measurement and analysis techniques for the determination of the frequency-dependent, complex susceptibility of magnetic fluids [J]. Advances in Chemical Physics, 1998, 104: 181-292.

[2] HIMPSEL F J, ORTEGA J E, MANKEY G J, et al. Magnetic nanostructures [J]. Advances in Physics, 1998,47(4): 511-597.

[3] GARVIE L A J, BUSEC P R. Ratios of ferrous to ferric iron from nanometer-sized areas in minerals [J]. Nature, 1998, 396: 667-670.

[4] JAXEL C, KOHN K W, WANI M C, et al. Structure-activity study of the actions of camptothecin derivatives on mammalian topoisomerase I: avidence for a specific receptor site and a relation to antitumor activity[J]. Cancer Res, 1989,49(6): 1465-1469.

[5] CARBONERO R, SUPKO J. Current perspectives on the clinical experience, pharmacology, and continued development of the camptothecins [J]. Clin Cancer Res, 2002, 8(3): 641-661.

[6] LEARY J O, MUGGIA F M. Camptothecins: a review of their development and schedules of administration[J]. Eur J Cancer,1998,34(10): 1500-1508.

[7] 孙中溪, 郭淑云. 纳米四氧化三铁表面酸碱性质研究[J].高等学校化学学报, 2006, 27 (7): 1351-1354.

[8] 安丽娟, 李兆强, 徐娓, 等. 超顺磁性高分子微球的制备与表征[J]. 高等学校化学学报, 2005, 26 (2): 366-369.

[9] GUO Ximing, GUO Bin, ZHANG Qingyuan, et al. Absorption of 10-hydroxycamptothecin on Fe_3O_4 magnetite nanoparticles with layer-by-layer self-assembly and drug release response [J]. Dalton Transactions, 2011, 40(12): 3039-3046.

[10] WANG S L, LIN S Y, HSIEH T F, et al. Thermal behavior and thermal. decarboxylation of 10-hydroxy camptothecin in the solid sate [J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2007, 43(2): 457-463.

[11] 洪霞, 郭薇, 李军, 等. Fe,O./葡聚糖/抗体磁性纳米生物探针的制备和层析检测[J]. 高等学校化学学报, 2004, 25(3): 445-447.

[12] LALLOO A, ChAO P Y, HU P D, et al. Pharmacokinetic and pharmacodynamic evaluation of a novel in situ forming poly (ethylene glycol)-based hydrogel for the controlled delivery of the camptothecins [J]. Journal of Controlled Release, 2006, 112(3): 333-342.

(编辑 张 红)

(上接第92页)

[7] CAO Y, ZHANG Z, DAI F, et al. Direction of arrival estimation for monostatic multiple-input multiple-output radar with arbitrary array structures [J]. IET Radar, Sonar & Navigation, 2012, 6(7): 679-686.

[8] LI F, LIU H, VACCARO R J. Performance analysis for DOA estimation algorithms: Unification, Simplification, and Observations [J]. IEEE Transactions on Aerospace and Electronic Systems, 1993, 29(4):1170-1184.

[9] MARIUS P, ALEX B G, MARTIN H. Unitary root-MUSIC with a real-valued eigendecomposition: a theoretical and experimental performance study [J]. IEEE Transactions on Signal Processing, 2000, 48(5): 1306-1314.

[10] BELLONI F, RICHTER A, KOIVUNEN V. Extension of root-MUSIC to non-ULA array configurations [C]// International Conference on Acoustics, Speech and Signal Processing (ICASSP). Toulouse, France: IEEE, 2006: 4(5):14-19.

[11] BELLONI F, RICHTER A, KOIVUNEN V. DOA estimation via manifold separation for arbitrary array structures [J]. IEEE Transactions on Signal Processing, 2007, 55(10): 4800-4810.

[12] RUBSAMEN M, GERSHMAN A B. Direction-of-arrival estimation for non-uniform sensor arrays: from manifold separation to Fourier domain MUSIC methods [J]. IEEE Transactions on Signal Processing, 2009, 57(2): 588-599.

[13] ZHUANG J, LI W, MANIKAS A. Fast root-MUSIC for arbitrary arrays [J]. Electronics Letters, 2010, 46(2): 174-176.

[14] HARRY B, MICHAEL L, WENGROVITZ S. Statistical characterization of the MUSIC null spectrum [J]. IEEE Transactions on Signal Processing, 1991, 39 (6): 1911-1921.

[15] BARABELL A J. Improving the resolution performance of eigenstructure based direction finding algorithms [C]//International Conference on Acoustics, Speech and Signal Processing (ICASSP). Boston, America: IEEE, 1983:336-339.

[16] CADZOW J A. Multiple source location-the signal subspace approach [J]. IEEE Transactions on Acoustics, Speech and Signal Processing, 1990, 38(7): 1110-1125.

(编辑 苗秀芝)