



单分散氧化铁-葡聚糖纳米粒子的制备及超顺磁性

杨玉东^{*,1,2} 梁 勇^{*,1}

(¹ 中国科学院金属研究所, 沈阳 110016)

(² 沈阳工业大学, 沈阳 110023)

关键词: 氧化铁-葡聚糖; 单分散; 配体; 超顺磁性

中图分类号: O614.81[†]; O646.8

文献标识码: A

文章编号: 1001-4861(2005)01-0133-04

Monodispersed Fe₃O₄-Dextra Nano-particles: Preparation and Super Paramagnetic Property

YANG Yu-Dong^{*,1,2} LANG Yong^{*,1}

(¹Institute of Metal Research of CAS, Shenyang 110016)

(²Shenyang University of Technology, Shenyang 110023)

Abstract: Monodispersed Fe₃O₄-Dextran nano-particles were prepared by chemical co-deposition with average diameter of 16 nm, and a core of diameter of 5.5 nm for Fe₃O₄ with a shell of thickness 5 nm for Dextran. The results of magnetic property determination show that: they have a good magnetization of 76 emu·g⁻¹ which is increased by a factor of 49%. As compared with 51 emu·g⁻¹ for the material obtained without the addition of coordination compound in the processing.

Key words: Fe₃O₄-dextran; monodisperse; coordination compound; superparamagnetic

0 引言

氧化铁-葡聚糖(Fe₃O₄-Dextran)复合粒子由于具有良好的生物相容性和优异的靶向性能, 被用做药物、细胞、酶的载体广泛应用于生物医学、细胞学、生物工程和工业工程等领域^[1-3]。目前其制备方法主要有一步法和两步法。一步法中氧化铁是在葡聚糖体系下制备的, 葡聚糖在氧化铁成核过程中能隔离和分散磁性粒子, 防止磁性粒子的团聚和沉积^[5]。两步法是首先制备氧化铁, 再加入葡聚糖和分散剂^[4]。核心尺寸在 4~25 nm 的 Fe₃O₄ 具有超顺磁性^[6]。核心尺度在 10 nm 的氧化铁-葡聚糖目前已不难达到, 如洪霞等人^[7]制备出了平均粒径在 8 nm, 室温下饱和磁化强度为 56 emu·g⁻¹ 的氧化铁-葡聚糖复合粒子。我们制备了平均粒径在 5 nm 的氧化铁-葡聚糖粒子^[8]。

Weissleder 提出了磁性氧化铁的“靶向能力”与颗粒的大小成反比^[9]。氧化铁-葡聚糖应用于靶向对比剂中, 其颗粒大小对于网状内皮系统吞噬能力影响很大。一般粒径较大(粒径在 20 nm 以上)的氧化铁-葡聚糖主要为肝、脾的网状内皮系统所摄入; 而粒径较小的(粒径在 20 nm 以下, 铁核在 5 nm 左右)在血管中停留较长时间, 使其可以通过毛细血管壁, 更广泛的分布于组织中, 如淋巴结及骨髓, 具有很好的 T₁W 和 T₂W 强化效果^[10,11]。大粒径的氧化铁-葡聚糖因其在非靶组织上的分布, 而影响其在靶组织的吸收^[12]。应用于靶向药物、磁分离等领域中, 大粒径的氧化铁-葡聚糖复合粒子, 其磁响应性较强, 但其比表面积小, 蛋白质、药物等物质在其表面的吸附量少, 并且在实际操作中易出现沉淀, 限制了其应用。而小粒

收稿日期: 2004-07-20。收修改稿日期: 2004-10-30。

*通讯联系人。E-mail: songzx07@163.com; yliang@imr.ac.cn

第一作者: 杨玉东, 男, 39 岁, 副教授, 研究方向: 磁性纳米靶向药物。

径的磁性复合粒子具有大的比表面积、高的载药量和良好的靶向性能,但磁性较弱。因此,制备单分散小粒径的氧化铁-葡聚糖复合粒子,需要提高它的磁性能,本文针对这个问题进行了研究。利用改性葡聚糖制备了单分散的纳米复合粒子,通过添加配体使铁化合物的沉积点发生移动,用多点沉积来增强氧化铁-葡聚糖复合粒子的磁性。制备的复合粒子核心平均粒径 5.5 nm,最小粒径 4 nm,并且在室温下的饱和磁化强度为 $76 \text{ emu} \cdot \text{g}^{-1}$ 。还对复合粒子的形态和磁性能进行了表征。

1 实验部分

1.1 复合粒子的制备

1.1.1 采用葡聚糖 T-40, 先将葡聚糖改性,得到单羧基的葡聚糖,然后滴加 HCl 溶液中和到 $\text{pH}=8$ 。在苯乙烯型阴阳离子型树脂(比例为 1.5:1)中纯化, 50°C 下,在旋转蒸发器上真空浓缩,然后将其冻干。

1.1.2 将改性葡聚糖 5 g 溶解在二次蒸馏水中,加热到 75°C ,向溶液中通入 N_2 保护。

1.1.3 在试管中制备 5 mL $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 溶液,向 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 溶液中加入 660 mg $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$,与等物质的量的配体,如:二亚乙基三胺五乙酸(DTPA)、乙二氨四乙酸(EDTA)、次氨基三乙酸(NTA)等混合,向溶液中通入 N_2 保护。

1.1.4 将(1.1.3)加入(1.1.2)中,向溶液快速滴加大约 15 mL 的 $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$,彻底搅拌并利用乙酸调节 pH 约为 7,得到黑色的悬浮液,离心分离 5 min,取上层清液,用磁性分离柱进一步提纯上清液,用 $10 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的醋酸钠溶液($\text{pH}=6.5$)洗脱,利用旋转蒸发器将溶液蒸发大约 6 mL,洗脱和净化的氧化铁-葡聚糖化合物已浓缩到 $8.1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。然后用 $0.22 \mu\text{m}$ 的滤纸过滤。

1.2 复合粒子的表征

核心平均粒径用日本 TEM-420 型透射电镜测量(TEM 法);复合粒子平均粒径用英国 Z3000 激光粒度分析仪测定(DLS 法);磁性能采用振动样品磁强计;X 射线衍射用日本 XRD-2000 型 X 射线衍射仪测定。

2 结果与讨论

2.1 改性葡聚糖的 IR 分析

图 1a 为葡聚糖的红外光谱,在 3425 cm^{-1} 左右

为 -OH 的伸缩振动峰, 1640 cm^{-1} 、 930 cm^{-1} 处的特征吸收峰为羧基和羟基的特征峰, 2925 cm^{-1} 左右为 $-\text{CH}_2-$ 的吸收峰。图 1b 为改性葡聚糖的红外光谱,改性以后,在 1640 cm^{-1} 处的特征峰消失,而在波数为 1735 cm^{-1} 位置出现了酸的特征吸收峰。改性之后的葡聚糖,利用阴阳离子型树脂纯化,去除其他有害基团,保证在溶液中有较多的羧基,葡聚糖表面有足够的负电荷与氧化铁相互作用,增强葡聚糖的活性。

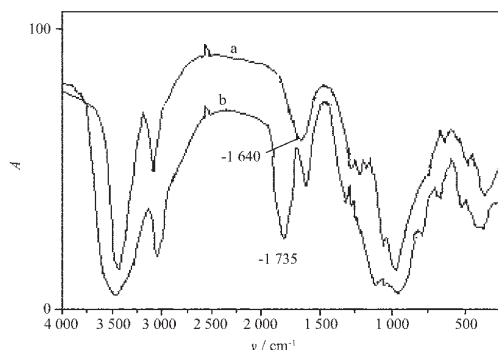


图 1 葡聚糖和改性葡聚糖的红外光谱

Fig.1 IR spectra of dextran (a) and carboxyl-dextran (b)

采用此种方法,我们得到了单分散的复合粒子。我们还利用配体,有利于 Fe_3O_4 的完整结晶,以增强复合粒子的磁性。

2.2 结晶性能和微观结构

图 2 是氧化铁-葡聚糖的 X-射线衍射图。与 Fe_3O_4 结晶相符得很好。证明核心为 Fe_3O_4 。图中其他小的衍射峰为少量的 NH_4Cl 的特征峰。用谢乐公式: $D_{\text{XRD}} = k\lambda / \beta \cos\theta$ 计算粒径,得到核心氧化铁的粒径约为 4 nm。图 3 是透射电子显微镜照片。深色区域就是 Fe_3O_4 粒子,粒子的单分散性很好。 Fe_3O_4 接近于单晶。它们的平均直径为 5.5 nm。值得注意的是,由于氧化铁-葡聚糖的表面包覆的葡聚糖层均匀性很好,所以几乎没有发现团聚的磁性粒子。照片左上角为小角度电子衍射图案,在 hkl 坐标系下,晶面

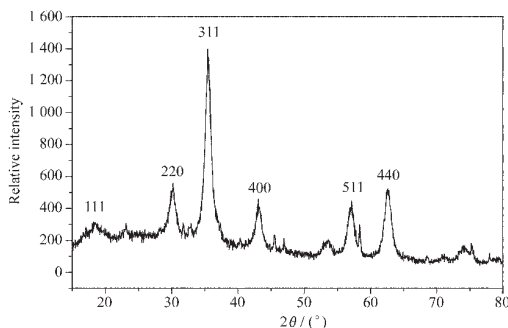


图 2 氧化铁-葡聚糖的 X 射线衍射图

Fig.2 XRD pattern of Fe_3O_4 -dextran

指数为(220)、(311)、(400)和(511)。也证实了粒子为 Fe_3O_4 。

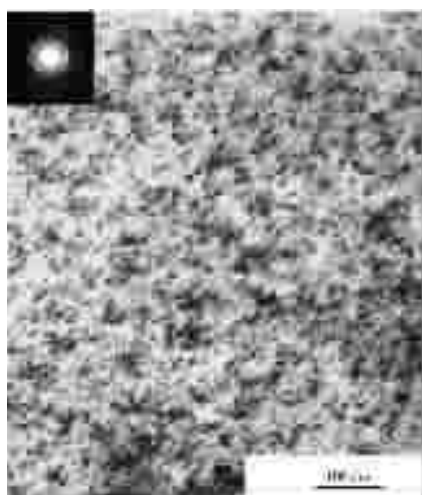


图 3 复合粒子的 TEM 照片

Fig.3 TEM of nanoparticles complex

图 4 为激光散射法测量的复合粒子的粒径分

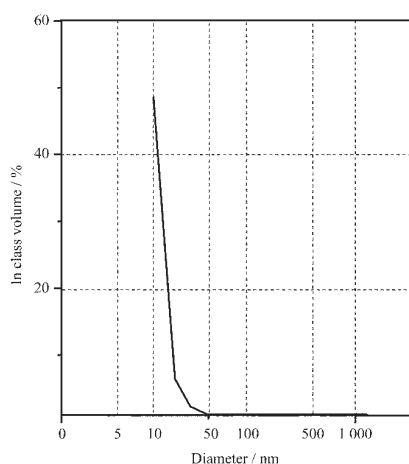


图 4 复合粒子的激光粒度分布

Fig.4 DLS of nanoparticles complex

布,其平均粒径为 16 nm,核心氧化铁为 5.5 nm,可估算出外面包覆葡聚糖层厚度大约在 5 nm。

2.3 磁性能

经过反复实验,调整工艺参数和制备条件,研制出系列的氧化铁-葡聚糖样品,筛选出添加配体的 1# 号样品和没有配体的 2# 样品进行比较,如表 1 所示。从表 1 可以看出,加入配体,虽然使制备的氧化铁-葡聚糖粒径略有增大,但可以明显改变氧化铁-葡聚糖的磁性能。氧化铁成核的过程中 $\text{Fe}(\text{OH})_2$ 和 $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 是中间产物,反应的方程为: $2\text{Fe}^{3+} + \text{Fe}^{2+} + 8\text{OH}^- \rightarrow \text{Fe}_3\text{O}_4 + 4\text{H}_2\text{O}$ 。配体 EDTA 与 Fe^{3+} 和 Fe^{2+} 均能生成配合物,这种配合物可发生电离,但电离常数很小,故呈游离态的铁离子很少,这就减小了自由基和 Fe^{2+} 间进行的链终止反应的速率。使 Fe^{3+} 和 Fe^{2+} 充分结晶为 Fe_3O_4 ,促进 Fe_3O_4 晶体结构的完整。另外,研究发现,加入配体可在很宽的范围内移动氧化铁的沉积点,在氧化铁晶体的不同点阵上同时沉淀和插入,加快 Fe_3O_4 的结晶从而获得结晶更好,更致密的 Fe_3O_4 磁性粒子,得到的 Fe_3O_4 饱和磁化强度较大。表 1 为我们得到的结果和 Hong Xia 等人的比较,其饱和磁化强度明显增大。

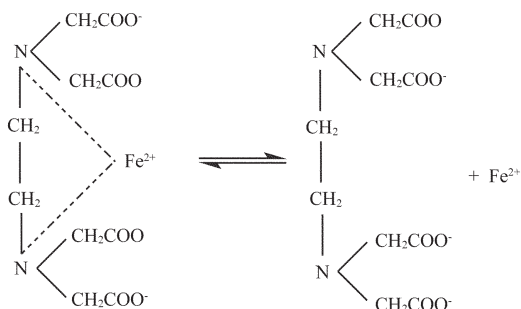


表 1 氧化铁-葡聚糖 300 K 时的磁性能

Table 1 Magnetization of Fe_3O_4 -dextranat at 300 K

Number	Coordination compound	Fe_3O_4 Content / ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)	Magnetization / ($\text{emu} \cdot \text{g}^{-1}$)	Suspending stability	Diameter / nm
Hong Xia ^[7]	No	8.2	56	Good	8
1#	Yes	8.1	76	Good	5.5
2#	No	8.1	51	Good	5

图 5、图 6 分别显示了 2# 样品氧化铁-葡聚糖在 300 K 和 5 K 时的磁化曲线。如图中所示,低温下 (5 K) 在 10 kOe 环境中的饱和磁化强度为 $93 \text{ emu} \cdot \text{g}^{-1}$,比室温(300 K)的饱和磁化强度 $76 \text{ emu} \cdot \text{g}^{-1}$ 高。在室温下氧化铁-葡聚糖具有超顺磁性,无磁滞现象,无剩磁或矫顽力存在。而在低温度下,磁性复合粒子

变成磁冷体,热运动减少,各向异性表现增强,复合粒子的磁矩是固定的,因此,复合粒子的剩磁和矫顽力就作为磁场的函数在磁化区表现了出来,使低温的饱和磁化强度高于室温。在温度是 5 K 时曲线是成中心对称的,显示了它的超顺磁性。

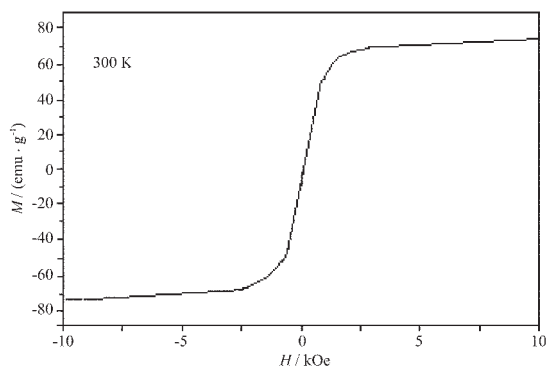


图 5 复合粒子 300 K 时的磁化曲线

Fig.5 Magnetization curve at 300 K for the nanoparticles complex

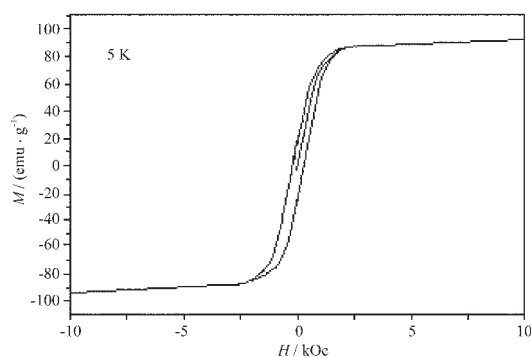


图 6 复合粒子 5 K 时的磁化曲线

Fig.6 Magnetization curve at 5 K for the nanoparticles complex

磁性粒子的粒度可以由磁化曲线和表达式：

$$D_m = \left[\frac{18kT}{\pi} \frac{(dM/dH)_{H=0}}{\rho M_s^2} \right]^{1/3}, \text{计算出。}$$

这里 ρ 是 Fe_3O_4 的浓度 ($5.68 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$), M_s 是饱和磁化强度, $(dM/dH)_{H=0}$ 为原点附近曲线的极限斜率。因此, 在 300 K 时计算得到磁性粒子的粒度 $D_m = 1.21 \text{ nm}$ 。这个数值要远远小于用透射电子显微镜观察所得到的复合粒子的粒度 D_{TEM} 。 D_m 与 D_{TEM} 之间的差别很可能是由于像目前所报道的那样在粒子表面存在一个磁性的“死”层^[13]。

3 结 论

(1) 用铁(II)和铁(III)盐参与的化学共沉积法制备单一分散平均粒径为 16 nm 的氧化铁-葡聚糖纳米复合粒子, 核心氧化铁粒度大约为 5.5 nm。葡聚糖的厚度约为 5 nm。

(2) 制备过程中加入配体可明显提高复合粒子的饱和磁化强度。其室温下的饱和磁化强度由 $51 \text{ emu} \cdot \text{g}^{-1}$ 增加到 $76 \text{ emu} \cdot \text{g}^{-1}$, 提高了 49%。

参考文献:

- [1] Leakakos T, Ji C, Lawson G, et al. *Cancer Chemoteraphy Pharm*, **2003**, *51*:445~450
- [2] Moore A, Marecos E, Bogdanov A, et al. *Radiology*, **2000**, *214*:568~576
- [3] Bucak S, Jones D A, Laibinis P E, et al. *Biotechnol Prog*, **2003**, *19*:477~484
- [4] Palmacci S, Josephson L, Synthesis, *US Patent*:5 262 176, **1993**-11-16, 187~194
- [5] LI Min-Qin(李民勤), XU Hui-Xian(徐慧显), HE Bing-Lin(何炳林). *Gaodeng Xuexiao Huaxue Xuebao(Chemical Journal of Chinese Universities)*, **1996**, *17*(6):147~150
- [6] Fahlvik A K, Klaveness J, Stark D D. *J. Magn. Imaging*, **1993**, *3*(2):187~194
- [7] HONG Xia(洪霞), GUO Wei(郭薇), LI Jun(李军), et al. *Gaodeng Xuexiao Huaxue Xuebao(Chemical Journal of Chinese Universities)*, **2004**, *25*(3):445~447
- [8] YANG Yu-Dong(杨玉东), SONG Zhi-Xia(宋志霞), LIANG Yong(梁勇). *Guocheng Gongcheng Xuebao(The Chinese Journal of Process Engineering)*, **2004**, *4*(Suppl.8):466~471
- [9] Weissleder R, Papisov M I. *Reviews of Magnetic Resonance in Medicine*, **1992**, *4*:1~20
- [10] Yoshitaka Okuhata. *Advanced Drug Reviews*, **1999**, *37*:121~137
- [11] Dessler T S, Rubin D L, Muller H H, et al. *J. Magn. Reson. Imaging*, **1994**, *4*:467~472
- [12] ZHANG Yang-De(张阳德), PENG Jian(彭键). *Zhongguo Xiandai Yixue Zazhi(China Journal of Modern Medicine)*, **2001**, *11*(3):39~42
- [13] Massart R. *IEEE Trans. Magn.*, **1981**, *MAG-17*(2):1247~1248