

三氧化二砷磁性微球的磁性能

汪峰

广州医科大学生物医学工程系, 广东 广州 510182

【摘要】目的:制备包裹三氧化二砷的磁性微球,分别测量磁性微球中三氧化二砷和四氧化三铁的含量,并分析其磁性能。讨论包裹三氧化二砷的磁性微球的磁靶向性效果和临床应用的可能性。**方法:**采用化学共沉淀法制备四氧化三铁纳米铁磁粒子,采用w/o/w复乳法将纳米铁磁粒子和三氧化二砷包裹于聚D,L乳酸-羟基乙酸共聚物(PLGA)高分子材料中制备成磁性微球,利用全谱直读等离子体原子发射光谱仪测量磁性微球的载药量,分别测量纳米铁磁粒子和磁性微球的磁滞回线,并检验磁性微球的磁分离效果。**结果:**纳米铁磁粒子和磁性微球的矫顽力和剩余磁化强度均接近零,但磁性微球的饱和磁化强度大大低于纳米铁磁粒子的饱和磁化强度。磁性微球的磁分离效果明显。**结论:**合成的磁性微球外壳由PLGA高分子材料组成,纳米级四氧化三铁分散于PLGA中,壳内是三氧化二砷水溶液。磁性微球具有超顺磁性和磁靶向性。

【关键词】三氧化二砷;磁性微球;磁滞回线;PLGA

【中图分类号】O645.162

【文献标志码】A

【文章编号】1005-202X(2018)02-0224-04

Magnetic properties of arsenic trioxide magnetic microparticles

WANG Feng

Department of Biomedical Engineering, Guangzhou Medical University, Guangzhou 510182, China

Abstract: Objective To prepare As_2O_3 magnetic microparticles and independently determine the drug loading and analyze the magnetic properties of As_2O_3 and Fe_3O_4 in magnetic microparticles, furthermore, discuss the magnetic targeting and the possible clinical application of As_2O_3 magnetic microparticles. **Methods** Fe_3O_4 nanoparticles were synthesized by chemical precipitation, and PLGA microparticles enwrapping As_2O_3 and Fe_3O_4 nanoparticles were synthesized with w/o/w double emulsion method. The drug loading capacity of the magnetic microparticle was measured by spectrum direct reading plasma atomic emission spectrometer. Magnetic hysteresis loops of Fe_3O_4 nanoparticles and magnetic microparticles were also measured, and the magnetic separation performance of magnetic microparticles was verified. **Results** The coercivity and remanent magnetization of Fe_3O_4 nanoparticles and magnetic microparticles were near to zero, but the saturation magnetization of Fe_3O_4 nanoparticles was consumedly higher than that of magnetic microparticles. The magnetic separation performance of magnetic microparticles was obvious. **Conclusion** The crust of the synthesized magnetic microparticle was made up of PLGA, with Fe_3O_4 nanoparticles scattering in PLGA, and the core was made up of As_2O_3 solution. The prepared magnetic microparticles had superparamagnetism and magnetic targeting.

Keywords: As_2O_3 ; magnetic microparticles; magnetic hysteresis loop; PLGA

前言

三氧化二砷是中药砒霜的主要成分,研究表明三氧化二砷对人体乳腺癌和皮肤癌都有治疗作用^[1-5]。人体静脉注射药物后三氧化二砷随血液循环弥散至全身,而乳腺癌和皮肤癌组织的三氧化二砷

浓度较低,给患者带来严重的不良反应^[6],如果能将其制成一种高效低毒的给药剂型就能更好地满足临床需要。乳腺癌和皮肤癌组织处于人体表层,如能将药物制成具有磁性的微球,用永磁体置于乳腺癌和皮肤癌组织附近,显然可以提高用药效率,降低药物毒性。聚D,L乳酸-羟基乙酸共聚物(PLGA)具有良好的生物适应性,在生物体内可降解,无毒副作用,经美国食品药品监督管理局(FDA)批准可用于临床^[7-8]。本文采用PLGA高分子材料同时包裹纳米铁磁粒子和三氧化二砷来制备三氧化二砷磁性微球,分别测

【收稿日期】2017-07-21

【基金项目】广州市教育局课题(B17004001)

【作者简介】汪峰,副教授,主要研究方向:纳米技术在医学中的应用,

E-mail: wangfengxiaoqi@sina.com

量出磁性微球中三氧化二砷和四氧化三铁含量,并分析磁性微球的磁性能。

1 材料和方法

1.1 主要试剂和仪器

三氧化二砷粉针剂(北京双鹭药业有限公司),聚乳酸/聚羟基乙酸(PLGA, 75:25, 相对分子质量为10 000, 辽宁抚顺天元生物材料有限公司),永磁体(型号:N30, 广州磁性材料厂),RW20.n悬臂式搅拌机(0~1 500 r/min, 广州仪科实验技术有限公司),DZF 真空干燥箱(上海精宏实验设备有限公司),JT92-2D超声细胞粉碎机(0~1 000 W, 宁波新芝生物科技股份有限公司),UV1600紫外可见分光光度计(北京瑞利分析仪器公司),全谱直读等离子体原子发射光谱仪(IRIS, 美国热电佳尔阿许公司),透射电子显微镜(JEM-2010, 日本电子公司),场发射扫描电子显微镜(JSM-6330F, 日本电子公司)。

1.2 纳米铁磁粒子的制备方法

采用化学共沉淀法制备纳米铁磁粒子,反应原理为:



具体步骤:将4.7 g $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 溶于10 mL水中作为1号溶液,将7 g 葡聚糖溶于100 mL水中作为2号溶液,将2.5g $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 溶于10 mL水中作为3号溶液。将1号溶液加入2号溶液中,在氮气保护下与3号溶液混合,再慢慢加入8 mL氨水。控制反应温度75 ℃,搅拌速度500 r/min,在氮气保护下反应2 h,得到的纳米铁磁粒子以胶体形式存在于水溶液中,纳米铁磁粒子的成分为四氧化三铁^[9-10]。

1.3 三氧化二砷磁性微球的制备方法

采用w/o/w复乳法,具体步骤:取1 mL纳米铁磁粒子胶体溶液和20 mg三氧化二砷混合均匀后,加入到20 mL含有100 mg PLGA的二氯甲烷溶液中,超声粉碎100 s得到w/o初乳,然后将其滴入到50 mL含表面活性剂PVA(浓度8%)的水溶液中得到w/o/w复乳,搅拌5 h挥发有机溶剂后,使油相中的有机溶剂完全挥发。用台式离心机离心,去上清液,并用去离子水冲洗沉淀物,再离心,再冲洗,如此反复3次以上,将最后的沉淀物用真空冷冻干燥机干燥,即制得三氧化二砷磁性微球^[11-13]。

1.4 磁性微球载药量的测量方法

称取三氧化二砷磁性微球100 mg,溶于5 mL二氯甲烷中,加入5 mL蒸馏水,将溶液充分混合,然后静止2 h使水油相分离并收集水相和沉淀的氧化铁颗粒。余下的油相照上述方法再处理一次,将两次

分离得到的水相溶液混合在一起,加硝酸并加热以去除有机物,加入5%盐酸定容,用全谱直读等离子体原子发射光谱仪测量其砷离子谱线的光强,并与标准浓度的砷离子溶液的谱线光强比较,测得盐酸溶液中砷离子浓度,并计算出原来磁性微球中三氧化二砷的质量及其占微球质量的百分比。收集的氧化铁颗粒去水干燥并称量质量,用氧化铁的质量除以100 mg,即得氧化铁在微球中的含量^[14]。

1.5 磁性微球的磁分离性能测量方法

称取100 mg磁性微球置入试管中,加入去离子水并定容至10 mL,在试管底部放置一永磁体,沉降一定时间后,取离液面1/2处溶液,用紫外可见分光光度计测其在580 nm处的透光率。为对比磁性微球在磁场中的分离效果,设置自然沉降对照组(在试管底部不放置永磁体)。

2 结果

图1为四氧化三铁纳米铁磁粒子的透射电镜照片,显示绝大多数纳米铁磁粒子的粒径在10 nm左右。图2为三氧化二砷磁性微球的扫描电镜照片,显示绝大多数磁性微球的粒径在2 μm以下。

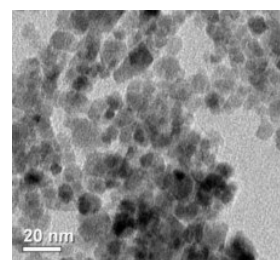


图1 纳米铁磁粒子的透射电镜照片

Fig.1 TEM photo of Fe_3O_4 nanoparticles

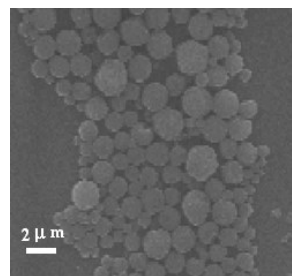


图2 磁性微球的扫描电镜照片

Fig.2 SEM photo of magnetic microparticles

实验中测得磁性微球中三氧化二砷的含量为15.3%,四氧化三铁的含量为21.6%。图3为四氧化三铁纳米铁磁粒子和三氧化二砷磁性微球的磁滞回线图,显示纳米铁磁粒子的饱和磁化强度为68 emu/g,

矫顽力和剩余磁化强度均接近于零。磁性微球的饱和磁化强度为9.7 emu/g,矫顽力和剩余磁化强度也均接近于零。纳米铁磁粒子和磁性微球都具有超顺磁性。

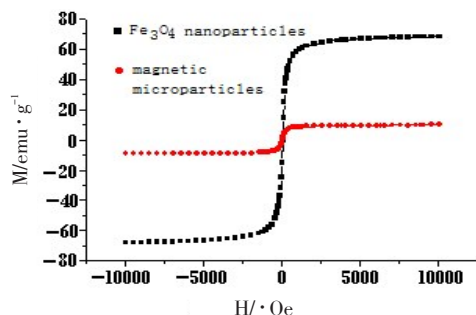


图3 纳米铁磁粒子和磁性微球的磁滞回线

Fig.3 Magnetic hysteresis loops of Fe_3O_4 nanoparticles and magnetic microparticles

图4是根据本文1.5得到的磁性微球分别经磁分离和自然沉降一定时间后的透光率曲线。磁性微球经过10 min的磁分离,透光率可达90%以上,而磁性微球通过自然沉降10 min后,透光率只能达到64%,可见微球的磁分离效果显著。

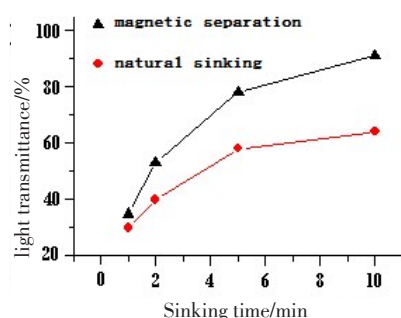


图4 透光率与磁性微球沉降时间的关系

Fig.4 Relationship between light transmittance and sinking time of magnetic microparticles

3 讨论

当铁磁粒子小于30 nm时,会呈现出超顺磁状态^[15-16],即矫顽力为零。在弱磁场中也具有较强的磁性,而外磁场消失后,磁性很快消失,不会被永久磁化。形成超顺磁状态的原因是:随着粒子尺寸减小,各向异性性能也减小。当各向异性性能减小到热运动能的数量级时,磁化方向就不再固定在一个易磁化方向,结果导致超顺磁性,这种超顺磁铁氧体在动物体内是无毒性的^[17]。实验结果发现纳米铁磁粒子经PLGA包裹后不改变其超顺磁性,也就是说尽管磁性

微球的粒径是微米级,但组成磁性微球的3种主要成分中PLGA和三氧化二砷都不具有磁性,四氧化三铁才具有超顺磁性,由它们组成的生物高分子微球其磁性能取决于四氧化三铁的尺寸。这种具有超顺磁性的生物高分子微球在外加磁场作用下能方便地进行分离和磁性导向,在磁场中有较强磁性,没有磁场时磁性很快消失,从而生物高分子磁性微球能够在磁场中不被永久磁化。

磁性微球的饱和磁化强度明显小于纳米铁磁粒子,原因之一是由于组成磁性微球的PLGA和三氧化二砷对磁性无贡献。四氧化三铁在磁性微球中的含量为21.6%,可换算得知磁性微球中每克四氧化三铁对应的饱和磁化强度应为45 emu/g,这比纳米铁磁粒子的饱和磁化强度为68 emu/g还要小得多。磁性微球的饱和磁化强度明显较小的另外一个原因可能是由于PLGA对纳米铁磁粒子的包裹引起的。由磁场高斯定理可知,磁感应线是闭合曲线,在外磁场中任一纳米铁磁粒子顺磁化后引起的附加磁场,其内部的磁感应强度方向与外磁场方向相同,而外侧的磁感应强度方向与外磁场方向相反,也就是说,外磁场减去相邻粒子引起的附加磁场才是纳米铁磁粒子实际的外加磁化磁场。磁性微球中的纳米铁磁粒子处于相对分散的状态,纳米铁磁粒子之间的相互影响非常有限,因此只要较小的外磁场就可以使其达到饱和磁化状态。

三氧化二砷磁性微球采用w/o/w复乳法制备而成。从制备方法上分析,得到的磁性微球是由PLGA高分子材料形成一个壳层,中间包裹液态的水溶液。三氧化二砷易溶于水,应处于磁性微球核心的水溶液中。四氧化三铁不溶于水,在搅拌的过程中易与从油相中析出的有粘性的PLGA高分子材料粘合在一起,因此磁性微球的壳层应是由纳米级的四氧化三铁分散于其中的PLGA高分子材料组成的。磁性微球的饱和磁化强度锐减佐证了这一推测。体外磁分离实验表明分散在液体中的磁性微球在磁场作用下有聚集的趋势,即具有磁靶向性。

【参考文献】

- [1] 李友建,夏俊,赵锐,等. 三氧化二砷对人乳腺癌SKBR-3细胞增殖及Notch1表达的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2012, 32(6): 793-796.
LI Y J, XIA J, ZHAO R, et al. Effects arsenic trioxide on the proliferation of human breast cancer SKBR-3 cell and the expression of Notch1 [J]. Chinese Journal of Integrated Traditional and Western Medicine, 2012, 32(6): 793-796.
- [2] 魏玲,王兴武,左文述,等. 三氧化二砷抑制人乳腺癌细胞生长及其作用机制的初步研究[J]. 中华医学杂志, 2005, 85(17): 1209-1213.

- WEI L, WANG X W, ZUO W S, et al. Primary research on arsenic trioxide inhibiting human breast cancer cells growth and its mechanisms[J]. National Medical Journal of China, 2005, 85(17): 1209-1213.
- [3] 聂林, 张涇. 三氧化二砷对原代恶性淋巴瘤细胞的作用[J]. 暨南大学学报(自然科学与医学版), 2001, 22(2): 27-30.
- NIE L, ZHANG Y. Effect of arsenic trioxide on primary malignant lymphoma cells[J]. Journal of Jinan University (Natural Science and Medicine Edition), 2001, 22(2): 27-30.
- [4] 信卉, 丁波. 三氧化二砷逆转乳腺癌细胞株 MCF_7_ADM 多药耐药的研究[J]. 中国现代医药杂志, 2011, 13(3): 38-40.
- XIN H, DING B. Arsenic trioxide in the mechanism of drug resistance reversal in MCF_7_ADM cell line of human breast cancer[J]. Modern Medicine Journal of China, 2011, 13(3): 38-40.
- [5] 王莹, 王乐秋, 何志鹏, 等. 三氧化二砷诱导乳腺癌细胞凋亡的早期事件: 凋亡性容量下降[J]. 中国现代应用药学, 2015, 32(3): 274-277.
- WANG Y, WANG L Q, HE Z P, et al. Apoptotic volume decrease is the early event in arsenic trioxide induced apoptosis in breast cancer cells [J]. Chinese Journal of Modern Applied Pharmacy, 2015, 32(3): 274-277.
- [6] 张静宜, 孙桂波, 王敏, 等. 三氧化二砷心脏毒性研究进展[J]. 中国药理学通报, 2016, 32(9): 1194-1198.
- ZHANG J Y, SUN G B, WANG M, et al. Research advances on cardiac toxicity of arsenic trioxide [J]. Chinese Pharmacological Bulletin, 2016, 32(9): 1194-1198.
- [7] HERRMANN J, BODMEIER R. Biodegradable somatostatin acetate containing microspheres prepared by various aqueous and non-aqueous solvent evaporation methods [J]. Eur J Pharm Biopharm, 1998, 45(1): 75-80.
- [8] SINGH M, SHIRLEY B, BAJWA K, et al. Controlled release of recombinant insulin-like growth factor from a novel formulation of polylactide-co-glycolide microparticles [J]. J Control Release, 2001, 70(1-2): 21-27.
- [9] 赵晓东, 冯启明, 王维清. 磁性纳米四氧化三铁的制备工艺及其表面改性[J]. 应用化工, 2010, 39(2): 171-175.
- ZHAO X D, FENG Q M, WANG W Q. Preparation and surface modification of magnetic nano Fe_3O_4 [J]. Applied Chemical Industry, 2010, 39(2): 171-175.
- [10] 张也, 张会良, 张会轩, 等. 聚合物基磁性复合微球的研究近况[J]. 高分子通报, 2016, 4(4): 47-60.
- ZHANG Y, ZHANG H L, ZHANG H X, et al. Recent progress in polymer-based magnetic composite microspheres [J]. Polymer Bulletin, 2016, 4(4): 47-60.
- [11] 陈楠楠, 马宁, 车鸿泽, 等. 复方总黄酮聚乳酸-羟基乙酸共聚物微囊的制备及体外释药特性[J]. 吉林大学学报(医学版), 2017, 43(3): 593-599.
- CHEN N N, MA N, CHE H Z, et al. Preparation of compound TF-PLGA microcapsule and its drug release characteristics *in vitro* [J]. Journal of Jilin University (Medicine Edition), 2017, 43(3): 593-599.
- [12] 韩斐, 胡懿邵, 汪龙. 聚乳酸-羟基乙酸载药微球制备工艺研究进展 [J]. 中国医学物理学杂志, 2016, 33(1): 92-97.
- HAN F, HU Y H, WANG L. Preparation technique of drug-loaded microsphere by using poly lactic-co-glycolic acid [J]. Chinese Journal of Medical Physics, 2016, 33(1): 92-97.
- [13] CHAISRI W, HENNINK W E, OKONOGI S. Preparation and characterization of cephalexin loaded PLGA microspheres [J]. Curr Drug Deliv, 2009, 6(1): 69-75.
- [14] 谢美琪, 张卫红, 林少琨, 等. 中成药中杂质元素的测定和样品前处理方法的研究 [J]. 光谱实验室, 2001, 18(1): 124-128.
- XIE M Q, ZHANG W H, LIN S K, et al. Studies on the measurement of impurity elements in Chinese traditional medicine and sample pretreatment [J]. Chinese Journal of Spectroscopy Laboratory, 2001, 18(1): 124-128.
- [15] 柳亚玲, 贾丽, 邢达. 磁性微珠的制备及其在生物样品分离富集中的应用 [J]. 分析化学, 2007, 35(8): 1225-1232.
- LIU Y L, JIA L, XING D. Recent advances in the preparation of magnetic microspheres and its application in bio-separation and concentration fields [J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2007, 35(8): 1225-1232.
- [16] 李慧, 王大新, 顾健, 等. 超顺磁性纳米颗粒治疗肿瘤的应用进展 [J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2009, 13(51): 10133-10136.
- LI H, WANG D X, GU J, et al. Application of superparamagnetic nanoparticles for cancer treatment [J]. Journal of Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research, 2009, 13(51): 10133-10136.
- [17] 成党效. 载药磁性微球: 一种新的靶向给药系统 [J]. 国外医学: 肿瘤学分册, 1995, 22(4): 96-98.
- CHENG D X. Magnetic drug microparticles: a new targeted drug delivery system [J]. Foreign Medical Sciences: Cancer Section, 1995, 22(4): 96-98.

(编辑:黄开颜)