



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 109796979 B

(45) 授权公告日 2021.09.24

(21) 申请号 201910173037.7 *C09K 11/02* (2006.01)

(22) 申请日 2019.03.07 *B82Y 20/00* (2011.01)

(65) 同一申请的已公布的文献号 *B82Y 30/00* (2011.01)

申请公布号 CN 109796979 A *A61K 41/00* (2020.01)

(43) 申请公布日 2019.05.24 *A61K 9/107* (2006.01)

(73) 专利权人 合肥工业大学 *A61K 47/34* (2017.01)

地址 230001 安徽省合肥市包河区屯溪路 *A61P 35/00* (2006.01)

193 *A61K 49/00* (2006.01)

(72) 发明人 陆杨 江坤 宋永红 杨沂 陈胜 *A61K 49/12* (2006.01)

钱坤煜 邢韩野 *A61K 49/18* (2006.01)

(74) 专利代理机构 合肥昊晟德专利代理事务所 *审查员 黄轲轲*

(普通合伙) 34153

代理人 王林

(51) Int. Cl.

C09K 11/70 (2006.01)

权利要求书1页 说明书6页 附图8页

(54) 发明名称

一种超强铁磁性荧光纳米胶束、制备方法及应用

(57) 摘要

本发明公开了一种超强铁磁性荧光纳米胶束、制备方法及应用,包括以下步骤:将磁性纳米颗粒与荧光纳米颗粒混合并分散在氯仿中,然后向其中加入甲醇并离心沉降;沉降后除去上清液得到沉淀物,超声条件下,向沉淀物中加入二甲亚砜,待沉淀物分散均匀后向其中加入聚磷酸脂,连续超声直至完全溶解得到磁性荧光混合液;在超声条件下将磁性荧光混合液滴加于装有去离子水的玻璃瓶中,持续超声得产物;对产物进行提纯得到超强铁磁性荧光纳米胶束;本发明合成方法简单,制备的超强铁磁性荧光纳米胶束分散性好,可长期保持性能稳定;可应用于癌症的磁热疗法中,对肿瘤杀伤有更好的效果。



1. 一种超强铁磁性荧光纳米胶束的制备方法,其特征在于,包括以下步骤:

(1) 将磁性纳米颗粒与荧光纳米颗粒混合并分散在氯仿中后,向混合物中加入甲醇,然后离心沉降;

(2) 沉降后除去上清液得到沉淀物,超声条件下,向沉淀物中加入二甲亚砜,待沉淀物分散均匀后向其中加入聚磷酸酯,继续超声直至完全溶解得到磁性荧光混合液;

(3) 在超声条件下将磁性荧光混合液滴加于去离子水中,持续超声得产物;

(4) 对产物进行提纯得到超强铁磁性荧光纳米胶束;所述的磁性纳米颗粒为四氧化三铁纳米颗粒,所述的荧光纳米颗粒为磷化铟量子点,所述的超强铁磁性荧光纳米胶束的直径为180~220nm。

2. 根据权利要求1所述的一种超强铁磁性荧光纳米胶束的制备方法,其特征在于,所述的磁性纳米颗粒、荧光纳米颗粒、聚磷酸酯的质量比为0.5~2:2~4:15~25,所述的氯仿、甲醇、二甲亚砜、去离子水的体积比为0.5~2:5~15:0.5~2:5~15。

3. 根据权利要求1所述的一种超强铁磁性荧光纳米胶束的制备方法,其特征在于,所述的步骤(1)中离心转速为3000rpm,离心时间为10min,所述的步骤(2)中聚磷酸酯的加入速度为1ml/min,所述的步骤(3)中磁性荧光混合液的滴加速度为0.5ml/min。

4. 根据权利要求1所述的一种超强铁磁性荧光纳米胶束的制备方法,其特征在于,所述的步骤(3)中用移液枪滴加磁性荧光混合液,所述移液枪的量程为200 μ L。

5. 根据权利要求1所述的一种超强铁磁性荧光纳米胶束的制备方法,其特征在于,所述的步骤(3)中,超声时间为20~30min,超声温度为25 $^{\circ}$ C。

6. 根据权利要求1所述的一种超强铁磁性荧光纳米胶束的制备方法,其特征在于,所述的步骤(4)中,产物的提纯工艺包括先用透析袋透析,再用滤膜过滤,所述超强铁磁性荧光纳米胶束的保存温度为2~4 $^{\circ}$ C。

7. 根据权利要求6所述的一种超强铁磁性荧光纳米胶束的制备方法,其特征在于,所述的透析袋的分子量为3000,所述的透析时间为24h,间隔2~3h更换去离子水,所述的滤膜孔径为450nm。

8. 一种使用如权利要求1~7任一项所述的超强铁磁性荧光纳米胶束的制备方法制备得到的荧光胶束。

9. 一种如权利要求8所述的荧光胶束在制备治疗癌症药物中的应用。

一种超强铁磁性荧光纳米胶束、制备方法及应用

技术领域

[0001] 本发明属于荧光纳米材料制备技术领域,尤其涉及一种超强铁磁性荧光纳米胶束、制备方法及应用。

背景技术

[0002] 癌症,是机体在各种因素作用下局部组织的细胞异常增生而形成局部肿块的现象,是影响人类健康的头号杀手。癌症发现晚、治愈难是该病致死的重要原因。随着现代医学的不断发展,人们对癌症这一世界难题有了进一步的认识。但是,癌症的早期诊断和治疗仍然是当前的一大技术瓶颈。

[0003] 磁性纳米荧光技术的出现为癌症的早期诊断和治疗带来了新的希望。临床癌症成像技术目前尚不能提供充足的空间分辨率对癌症进行早期检测。为了根据分子表达谱识别恶性病变,所有的成像技术都要求拥有成像反差对照试剂,这些试剂系由与分子识别和击靶试剂(如抗体)进行结合的信号增强材料组成。磁性荧光材料可以作为一种多功能的,分子的或物理的击靶对照反差试剂的候选物用于所有的临床成像,识别、检测更微小、更早期的肿瘤及其微环境的分子表达情况。

[0004] 磁性荧光材料的合成方法包括物理法、生物法、化学法,如化学键合法是将量子点与磁性纳米粒子连接起来形成磁性荧光复合纳米颗粒,通过选择合适的活化剂,分别对磁性纳米颗粒和量子点表面功能基团进行活化,最终制备出粒径大小可控、磁化强度和荧光强度衰减较小的复合纳米微粒。王伟财等通过分散聚合法制备微米级单分散聚甲基丙烯酸缩水甘油酯微球,并对其进行氨基改性,随后在微球内部原位沉积合成磁性纳米粒子,溶胀渗入量子点,最终制备了氨基化、微米级、单分散、超顺磁、荧光复合多功能聚合物微球。

[0005] 在这些方法中,常用的磁性原料为四氧化三铁纳米颗粒,该纳米颗粒具有很强的铁磁性,容易团聚,在合成过程中很难与其他材料均匀结合,使合成的磁性荧光纳米胶束分散性差,限制了磁性荧光纳米胶束在生物学上的应用。

发明内容

[0006] 本发明所要解决的技术问题在于:现有技术制备的磁性荧光纳米胶束分散性差,提供了一种超强铁磁性荧光纳米胶束、制备方法及应用。

[0007] 本发明是通过以下技术方案解决上述技术问题的,本发明的一种超强铁磁性荧光纳米胶束的制备方法,包括以下步骤:

[0008] (1) 将磁性纳米颗粒与荧光纳米颗粒混合并分散在氯仿中后,向混合物中加入甲醇,然后离心沉降;

[0009] (2) 沉降后除去上清液得到沉淀物,超声条件下,向沉淀物中加入二甲亚砜,待沉淀物分散均匀后向其中加入聚磷酸脂,连续超声直至完全溶解得到磁性荧光混合液;

[0010] (3) 在超声条件下将磁性荧光混合液滴加于装有去离子水的容器中,持续超声得产物;

- [0011] (4)对产物进行提纯得到超强铁磁性荧光纳米胶束。
- [0012] 所述的磁性纳米颗粒为四氧化三铁纳米颗粒,所述的荧光纳米颗粒磷化铟量子点,所述的超强铁磁性荧光纳米胶束的直径为180~220nm。
- [0013] 所述的磁性纳米颗粒、荧光纳米颗粒、聚磷酸脂的质量比为0.5~2:2~4:15~25,所述的氯仿、甲醇、二甲亚砜、去离子水的体积比为0.5~2:5~15:0.5~2:5~15。
- [0014] 所述的步骤(1)中离心转速为3000rpm,离心时间为10min,所述的步骤(2)中聚磷酸酯的加入速度为1ml/min,所述的步骤(3)中磁性荧光混合液的滴加速度为0.5ml/min。
- [0015] 所述磁性荧光混合液的滴加用移液枪进行,所述移液枪的量程为200 μ L。
- [0016] 所述的步骤(3)中,持续超声时间为20~30min,超声温度为25 $^{\circ}$ C。
- [0017] 所述的步骤(4)中,提纯工艺包括先使用透析袋对产物进行透析,然后用滤膜进行过滤得超强铁磁性荧光纳米胶束,所述超强铁磁性荧光纳米胶束在2~4 $^{\circ}$ C下保存。
- [0018] 所述的透析袋的分子量为3000,所述的透析时间为24h,间隔2~3h更换去离子水;所述的滤膜孔径为450nm。
- [0019] 一种使用超强铁磁性荧光纳米胶束的制备方法制备得到的荧光胶束。
- [0020] 一种超强铁磁性荧光纳米胶束在制备治疗癌症的药物中的应用,用于肿瘤细胞的杀伤及生物学成像,包括荧光成像及核磁成像。
- [0021] 本发明公开了一种超强铁磁性荧光纳米胶束的制备方法,四氧化三铁纳米颗粒具有强铁磁性,易团聚,因此很难将四氧化三铁纳米颗粒与磷化铟量子点同时均匀地包封在一起,本发明选择具有较强流动性的聚磷酸脂高分子,在磁性荧光纳米胶束制备过程中,聚磷酸脂高分子的强流动性克服了四氧化三铁纳米颗粒的强铁磁性,从而解决了将四氧化三铁纳米颗粒与磷化铟量子点均匀包封的问题,获得的超强铁磁性荧光纳米胶束分散性好,可长期保持性能稳定;本发明合成方法简单,易于实现,所得产物尺寸易于调控;磷化铟量子点荧光强度高,四氧化三铁纳米颗粒热转化效率高,提升了本发明的超强铁磁性荧光纳米胶束的标记和磁热性能。
- [0022] 本发明的超强铁磁性荧光纳米胶束,不仅生物相容性高,而且可应用于癌症的磁热疗法中,相较于光热疗法,磁热疗法可以在组织的深层次内发热,对肿瘤杀伤有更好的效果。
- [0023] 本发明相比现有技术具有以下优点:本发明合成方法简单,制备的超强铁磁性荧光纳米胶束分散性好,可长期保持性能稳定;可应用于癌症的磁热疗法中,对肿瘤杀伤有更好的效果。

附图说明

- [0024] 图1为本发明的磁性荧光纳米胶束的合成示意图;
- [0025] 图2为实施例1的磷化铟量子点的TEM照片;
- [0026] 图3为实施例1的四氧化三铁纳米颗粒的TEM照片;
- [0027] 图4为实施例2使用聚磷酸脂合成的磁性荧光纳米胶束TEM照片;
- [0028] 图5为实施例3使用磷脂化的聚乙二醇合成的磁性纳米胶束TEM照片;
- [0029] 图6为实施例4的磁性荧光纳米胶束的XRD谱图;
- [0030] 图7为实施例4的磁性荧光纳米胶束的荧光强度及紫外峰谱图;

- [0031] 图8为实施例4的磁性荧光纳米胶束的Size图；
[0032] 图9为实施例5的磁性荧光纳米胶束的磁热升温图；
[0033] 图10为实施例5的磁性荧光纳米胶束的磁热红外成像；
[0034] 图11为实施例6的磁性荧光纳米胶束对细胞存活率的影响；
[0035] 图12为实施例7的磁性荧光纳米胶束对细胞磁热杀伤效果的影响。

具体实施方式

[0036] 下面对本发明的实施例作详细说明,本实施例在以本发明技术方案为前提下进行实施,给出了详细的实施方式和具体的操作过程,但本发明的保护范围不限于下述的实施例。

[0037] 如图1,本发明的磁性荧光纳米胶束是将四氧化三铁纳米颗粒与磷化铟量子点用聚磷酸脂包封而成,形成的磁性荧光纳米胶束分散性好,生物相容性强,功能多样。

[0038] 实施例1

[0039] 制备本发明超强铁磁性荧光纳米胶束需要的原料包括磷化铟量子点、四氧化三铁纳米颗粒,其制备方法分别如下:

[0040] 磷化铟量子点的制备:

[0041] (1) 磷化铟量子点的核合成:氯化铟(Indium chloride)、三(二甲氨基)磷(Tris(dimethylamino) phosphine)为原料,油胺为溶剂,在真空条件下加温到190℃,然后在通氮气下190℃反应30min。

[0042] (2) 磷化铟量子点的壳生长以及合成:氯化锌(Zinc chloride)、十八硫醇(1-Octadecanethiol)为原料,油胺为溶剂,在真空条件下加温到260℃,且在140℃时将步骤(1)中产物用玻璃注射器注射到此反应中,然后在氮气条件下,维持260℃反应30min。然后待反应完成后,用甲醇沉降离心3次,离心转速为3000rpm,每次离心时间为10min,最后在氯仿中保存。

[0043] 图2为磷化铟量子点的透射电镜(H7700透射电子显微镜)照片,从图中可以看出本实施例的磷化铟量子点分散性较好,粒径大小均一,粒径为6nm左右。

[0044] 四氧化三铁纳米颗粒的制备:

[0045] 通过高温油相法来合成四氧化三铁纳米颗粒。

[0046] 图3为四氧化三铁纳米颗粒的透射电镜(H7700透射电子显微镜)照片,从图中可以看出本实施例的四氧化三铁纳米颗粒的形状为立方体,分散性良好,粒径大小均一,粒径约22nm。

[0047] 实施例2

[0048] 本实施例使用实施例1的磷化铟量子点、四氧化三铁纳米颗粒制备本发明的超强铁磁性荧光纳米胶束,过程如下:

[0049] (1) 取1mg四氧化三铁纳米颗粒与3mg磷化铟量子点混合分散在1mL的氯仿中,将混合液超声5min,使其分散均匀,然后加入10mL甲醇进行离心沉降;

[0050] (2) 沉降后除去上清液得到沉淀物,超声条件下,将沉淀物溶于1mL的二甲亚砷中,再向其中加入20mg的聚磷酸脂,聚磷酸酯的加入速度为1ml/min,连续超声直至完全溶解得到磁性荧光混合液;

[0051] (3) 将上述混合液边超声边缓慢滴加于装有10mL去离子水的玻璃瓶中,用量程为200 μ L移液枪滴加磁性荧光混合液,滴加速度为0.5ml/min,滴加完后,温度为25 $^{\circ}$ C持续超声20min得产物;

[0052] (4) 将产物放在分子量为3000的透析袋中,然后将其放入装有去离子水的1L烧杯中进行透析,透析24小时,期间每隔2h更换烧杯中的去离子水;

[0053] (5) 24小时后将透析后的样品用450nm的滤膜进行过滤,将过滤后的磁性荧光纳米胶束保存于4 $^{\circ}$ C冰箱中。

[0054] 图4为磁性荧光纳米胶束的大倍率透射电镜(H7700透射电子显微镜)照片,从图中可以看到胶束外层的聚磷酸脂高分子,将大量的6nm左右的磷化铟量子点与22nm的四氧化三铁纳米颗粒均匀地包封在一起。这是因为在二甲亚砜体系中,加入流动性强的聚磷酸脂高分子,克服了四氧化三铁纳米颗粒的强铁磁性,四氧化三铁纳米颗粒与磷化铟量子点能够自由流动分散,可以更好的自由结合,从而形成结构稳定的磁性荧光纳米胶束。

[0055] 制备的磁性荧光纳米胶束的直径为180nm。

[0056] 实施例3

[0057] 本实施例用磷脂化聚乙二醇高分子替代聚磷酸脂高分子合成磁性纳米胶束,其他工艺同

[0058] 实施例2,制备磁性纳米胶束的透射电镜(TEM)照片如图5。

[0059] 如图5所示,用磷脂化聚乙二醇高分子合成的磁性纳米胶束中,四氧化三铁纳米颗粒仍然团聚在一起,可见磷脂化聚乙二醇高分子并未提高四氧化三铁纳米颗粒与磷化铟量子点自由流动性,无法使四氧化三铁纳米颗粒与磷化铟量子点更好的结合。

[0060] 从图4和图5对比发现,本发明制备的磁性荧光纳米胶束分散性更好,更均匀。

[0061] 实施例4

[0062] 本实施例使用实施例1的磷化铟量子点、四氧化三铁纳米颗粒制备本发明的超强铁磁性荧光纳米胶束,过程如下:

[0063] (1) 取2mg四氧化三铁纳米颗粒与4mg磷化铟量子点混合分散在2mL的氯仿中,将混合液超声5min,使其分散均匀,然后加入15mL甲醇进行离心沉降;

[0064] (2) 沉降后除去上清液得到沉淀物,超声条件下,将沉淀物溶于2mL的二甲亚砜中,再向其中加入25mg的聚磷酸脂,连续超声直至完全溶解得到磁性荧光混合液;

[0065] (3) 将上述混合液边超声边缓慢的滴加于装有15mL去离子水的玻璃瓶中,滴加完后,持续超声30min得产物;

[0066] (4) 将产物放在分子量为3000的透析袋中,然后将其放入装有去离子水的1L烧杯中进行透析,透析24小时,期间每隔3h更换烧杯中的去离子水;

[0067] (5) 24小时后将透析后的样品用450nm的滤膜进行过滤,将过滤后的磁性荧光纳米胶束保存于4 $^{\circ}$ C冰箱中。

[0068] 图6为合成的磁性荧光纳米胶束的XRD图,从图中可以看出本实验例所合成的磁性荧光纳米胶束的XRD出峰处与四氧化三铁纳米颗粒、磷化铟量子点的出峰处相匹配,从而证明了此纳米胶束中含有四氧化三铁纳米粒子与磷化铟量子点。

[0069] 图7为合成的磁性荧光纳米胶束的荧光强度以及紫外峰谱图,可以看到磁性荧光纳米胶束的紫外峰与纯磷化铟量子点的紫外峰相匹配,且荧光发射峰波长与纯磷化铟量子

点的发射波长一致。

[0070] 图8为合成的磁性荧光纳米胶束的Size图,从图中可以看出Size数据与透射电镜拍摄的粒径基本一致。

[0071] 制备的磁性荧光纳米胶束的直径为220nm。

[0072] 实施例5

[0073] 测试实施例4的磁性荧光纳米胶束的磁热升温性能。

[0074] 测试实验步骤如下:

[0075] (1) 测试磁性荧光纳米胶束浓度,以胶束中铁的浓度为变量制备不同样品,铁的浓度分别为0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、800 $\mu\text{g}/\text{mL}$,体积均为500 μL ,分别装在1.5mL的离心管中。

[0076] (2) 搭设红外热像仪(Fluke TI400IR)装置,将磁热装置磁场强度设置为25KA/m。对上述样品分别进行测试,每次测试10min,每30s记录一次温度。

[0077] (3) 对温度数据处理,结果见图9、图10。

[0078] 图9为不同铁浓度的磁性荧光纳米胶束的磁热升温数据图,从图中可以看出,磁性荧光纳米胶束在磁场条件下温度自动升高,且随着胶束浓度升高,样品温度升高的速度越快,温度变化越大。

[0079] 图10为不同铁浓度的磁性荧光纳米胶束的磁热红外成像,从图中看红外热成像图与磁热升温相匹配一致。

[0080] 实施例6

[0081] 实施例4的磁性荧光纳米胶束的生物相容性测试实验,实验过程如下:

[0082] (1) 测试实施例4的磁性荧光纳米胶束浓度,以胶束中铁的浓度为变量制备不同样品,铁的浓度分别为0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、200 $\mu\text{g}/\text{mL}$;

[0083] (2) 先在96孔板培养4T1细胞,分别培养5组细胞(步骤(1)中的4组以及control组),每组培养6个孔,每个孔100 μL 培养基,在培养箱中培养24h后,分别加入用培养基配置的上述浓度的磁性荧光纳米胶束,做好每组标记,继续在培养箱中培养24h;

[0084] (3) 24h后,将用培养基配制的cck8试剂,分别加入到每个孔中,每个孔100 μL ,继续在培养箱中培养2h,然后再用酶标仪进行测试;

[0085] (4) 数据处理,处理结果见图11。

[0086] 图11为磁性荧光纳米胶束对细胞存活率的影响,如图所示,磁性荧光纳米胶束的浓度对细胞的存活率并没有太大影响,说明本发明磁性荧光纳米胶束对4T1没有毒性杀伤性,体现了磁性荧光纳米胶束有良好的生物相容性。

[0087] 实施例7

[0088] 实施例4的磁性荧光纳米胶束的细胞磁热杀伤性测试实验,实验过程如下:

[0089] (1) 对实施例4制备的磁性荧光纳米胶束进行浓度测试,然后以胶束中铁的浓度为变量制备不同样品,铁的浓度分别为0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

[0090] (2) 先在24孔板培养4T1细胞,培养2大组,一组加磁铁,另一组不加磁铁,每一大组分5小组(步骤(1)中的4组以及control组),每小组4个孔,每个孔500 μL 培养基,培养24h后,分别加入用培养基配制好的上述浓度的磁性荧光纳米胶束,做好每组标记,继续在培养箱中培养24h。

[0091] (3) 待24h后,将上述细胞样品分别在磁热装置上进行测试,每次15min,测试完成后,用培养基配制cck8试剂,分别加入到每孔中,继续在培养箱中培养2h,然后用酶标仪进行测试。

[0092] (4) 数据处理,处理结果见图12。

[0093] 图12为磁性荧光纳米胶束的细胞磁热杀伤数据图,从图中可以看出磁性荧光纳米胶束浓度越高,对4T1细胞杀伤效果越好,且加磁铁比不加磁铁对4T1细胞杀伤效果好。

[0094] 以上所述仅为本发明的较佳实施例而已,并不用以限制本发明,凡在本发明的精神和原则之内所作的任何修改、等同替换和改进等,均应包含在本发明的保护范围之内。

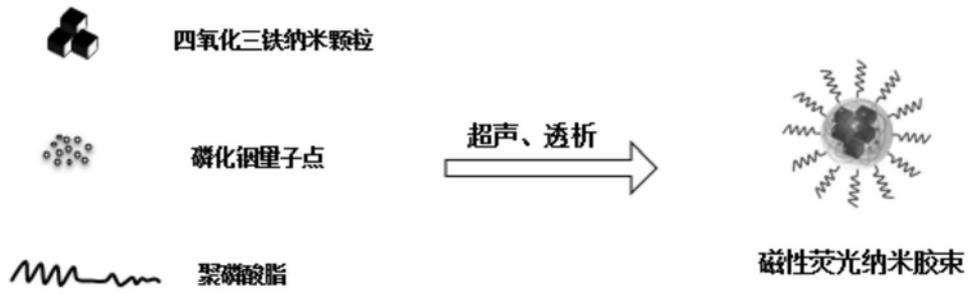


图1

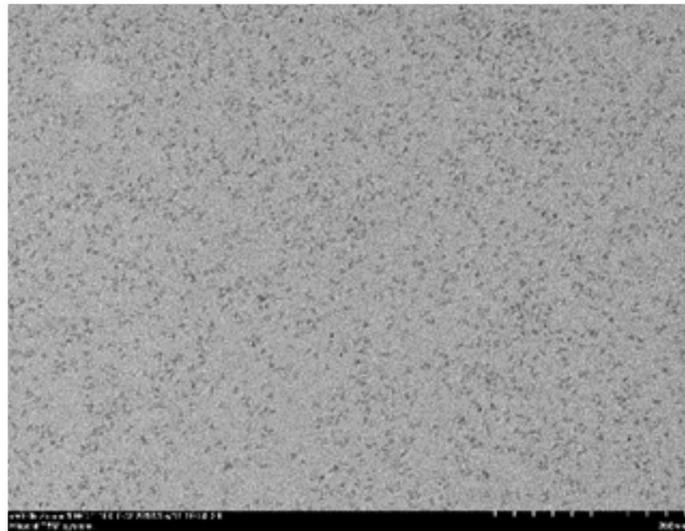


图2

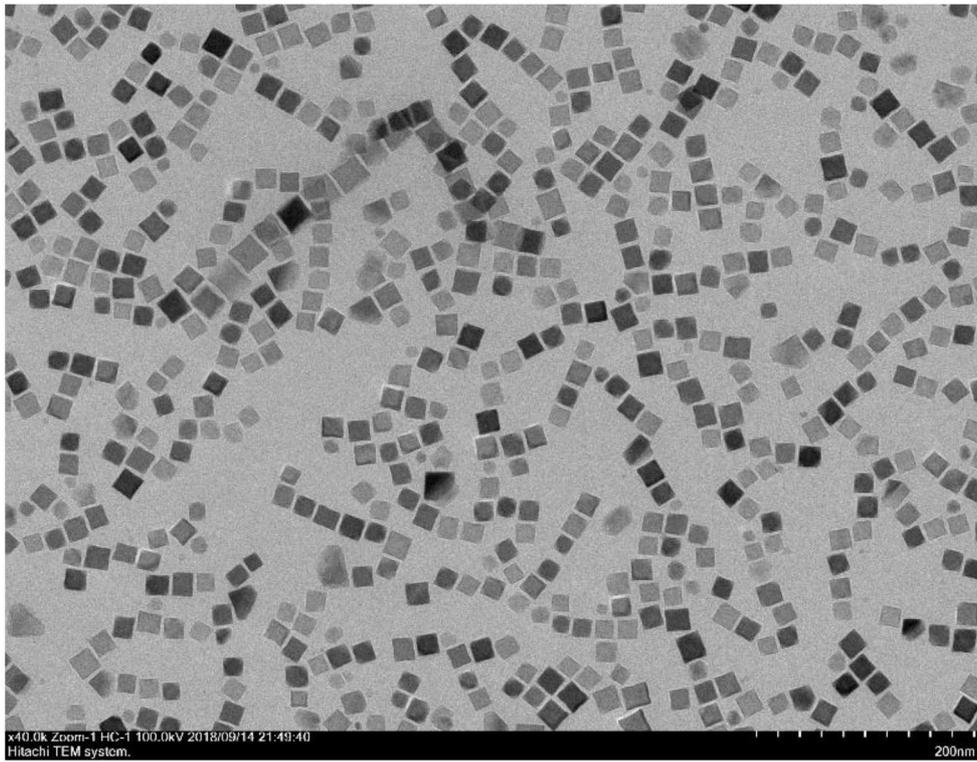


图3

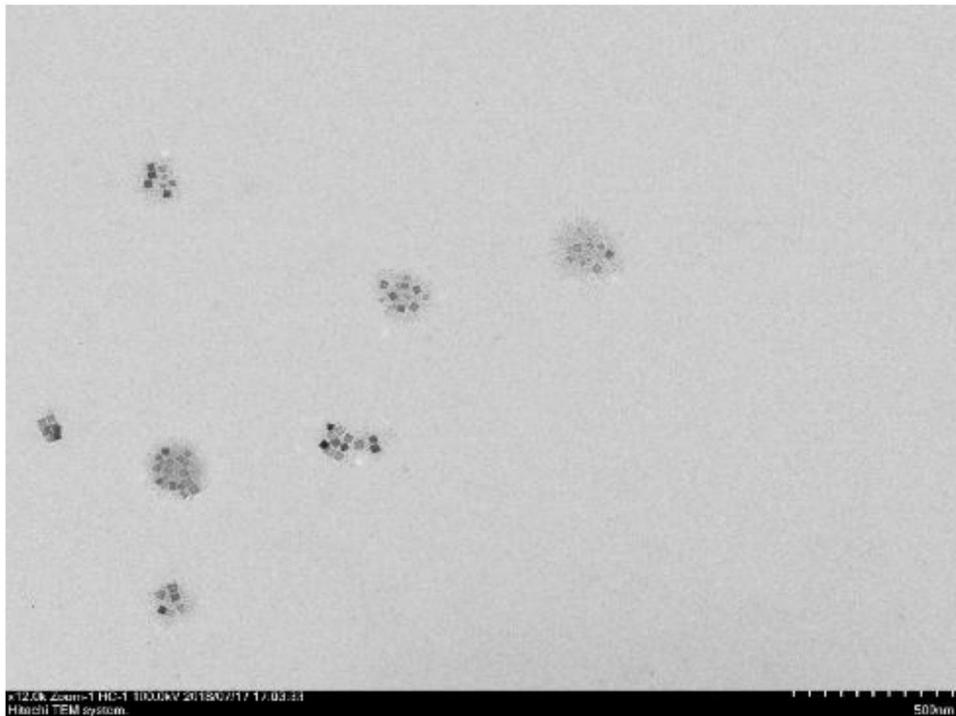


图4

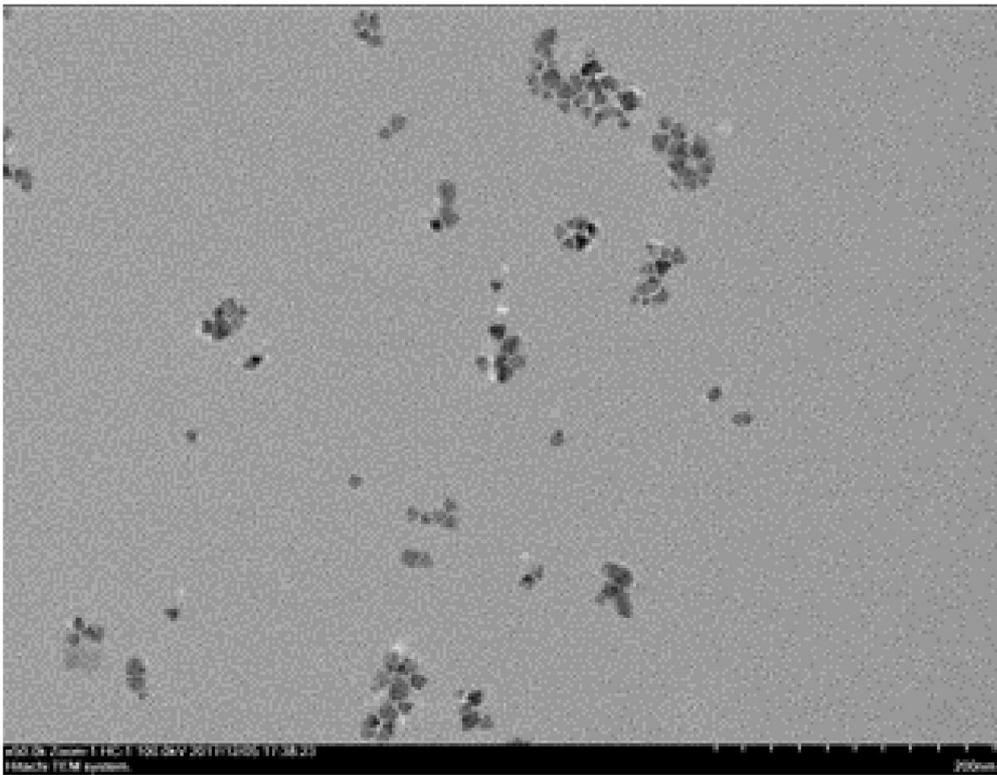


图5

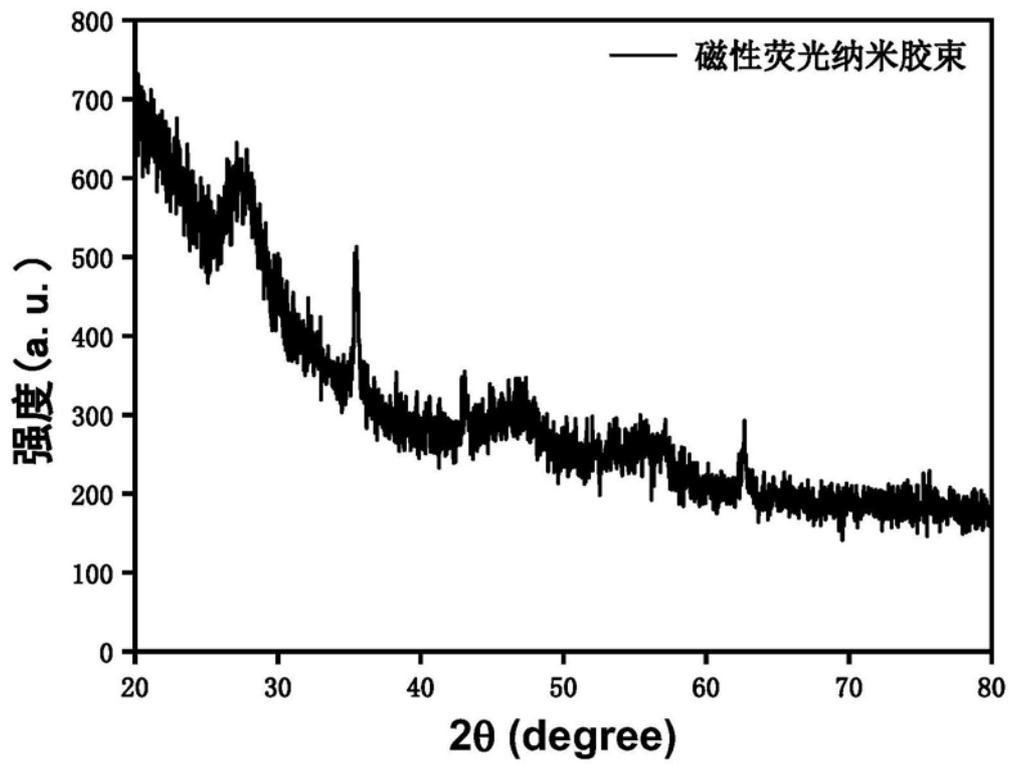


图6

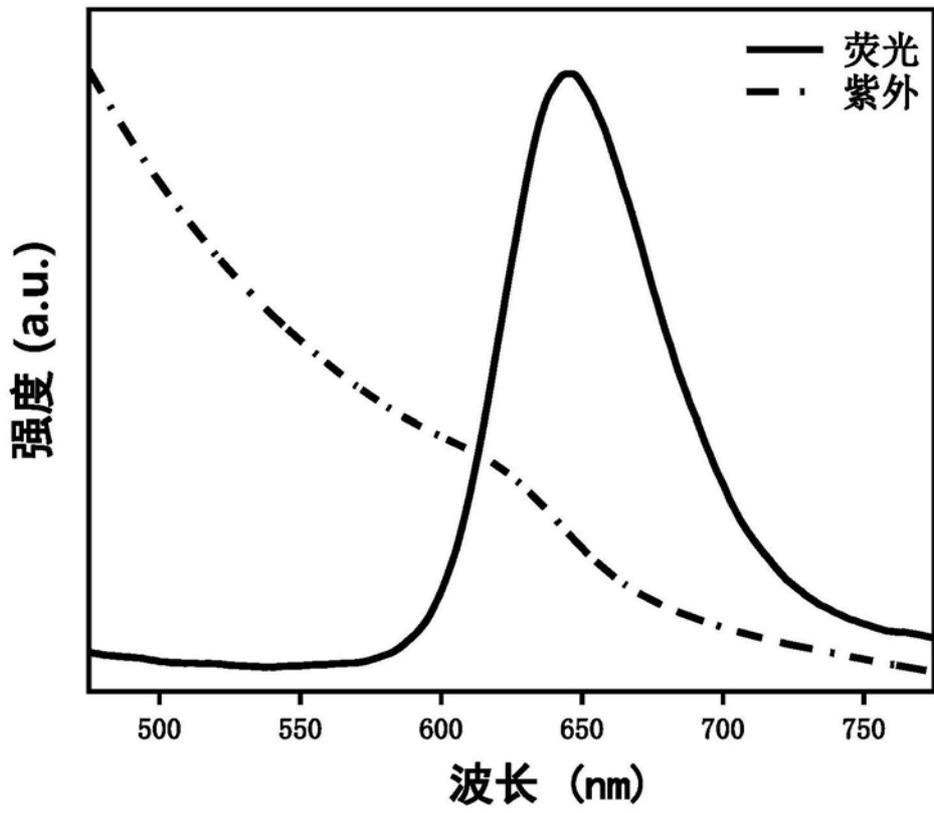


图7

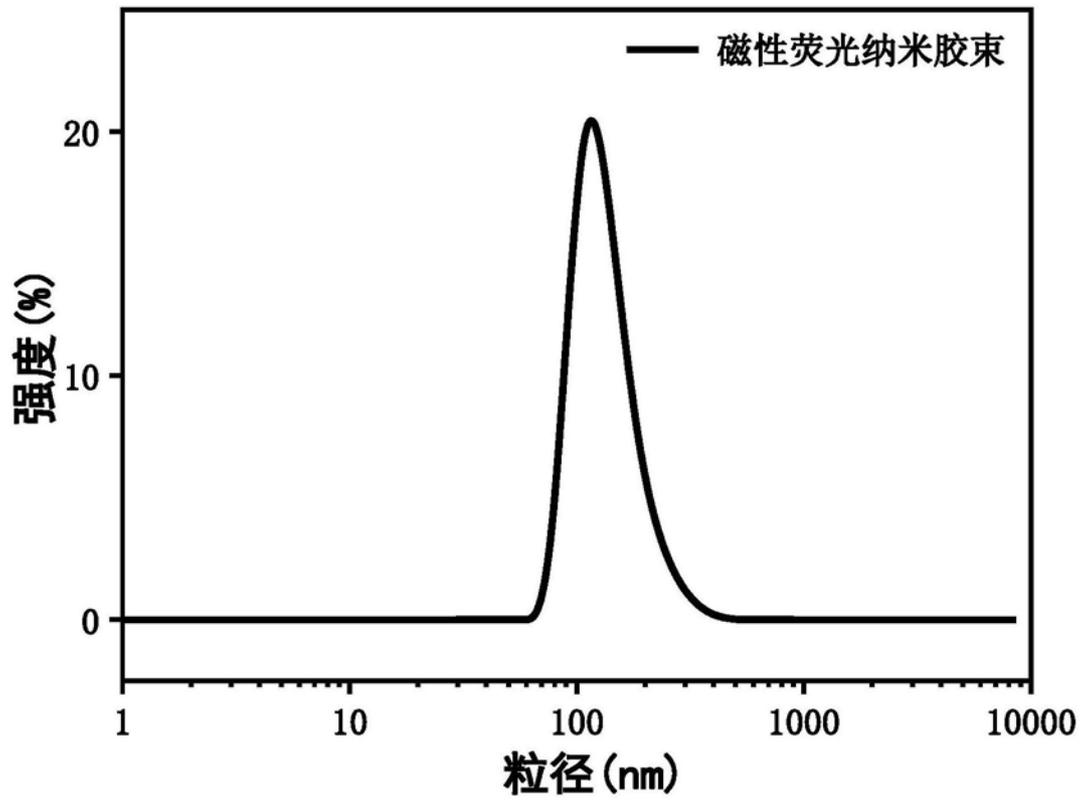


图8

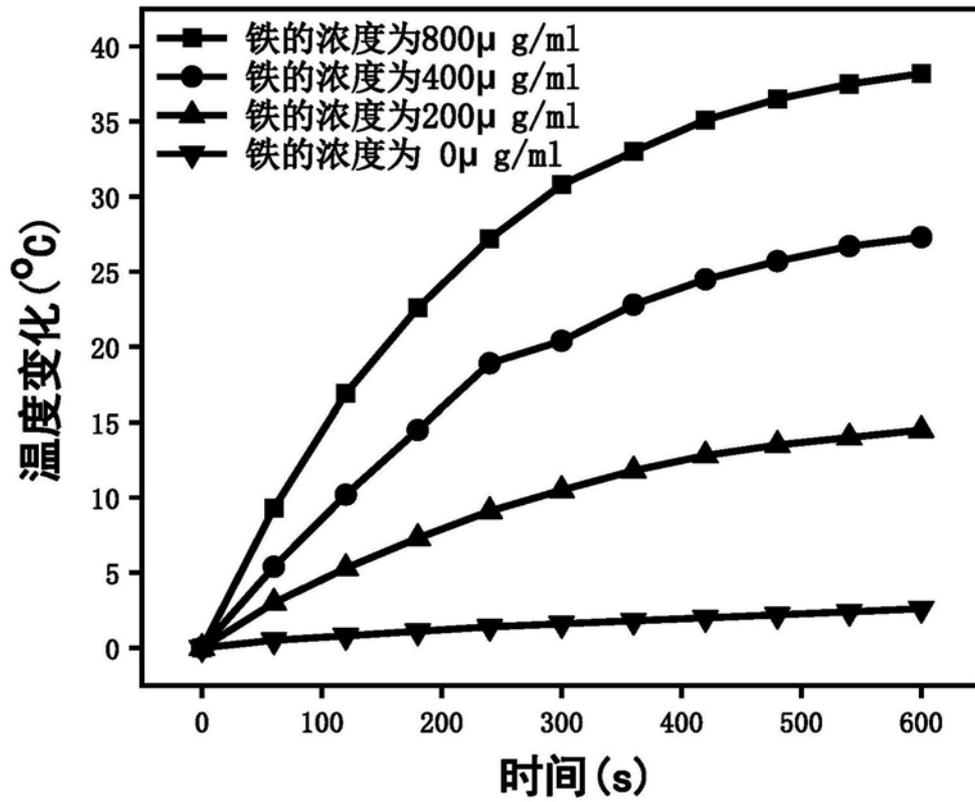


图9

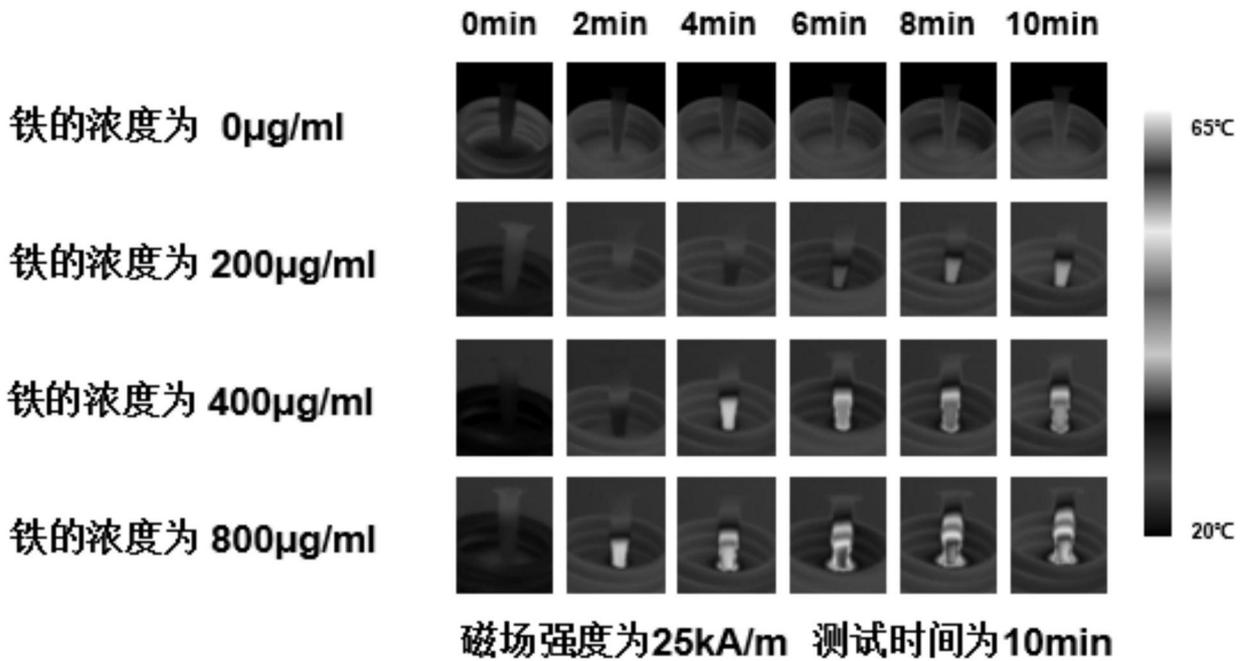


图10

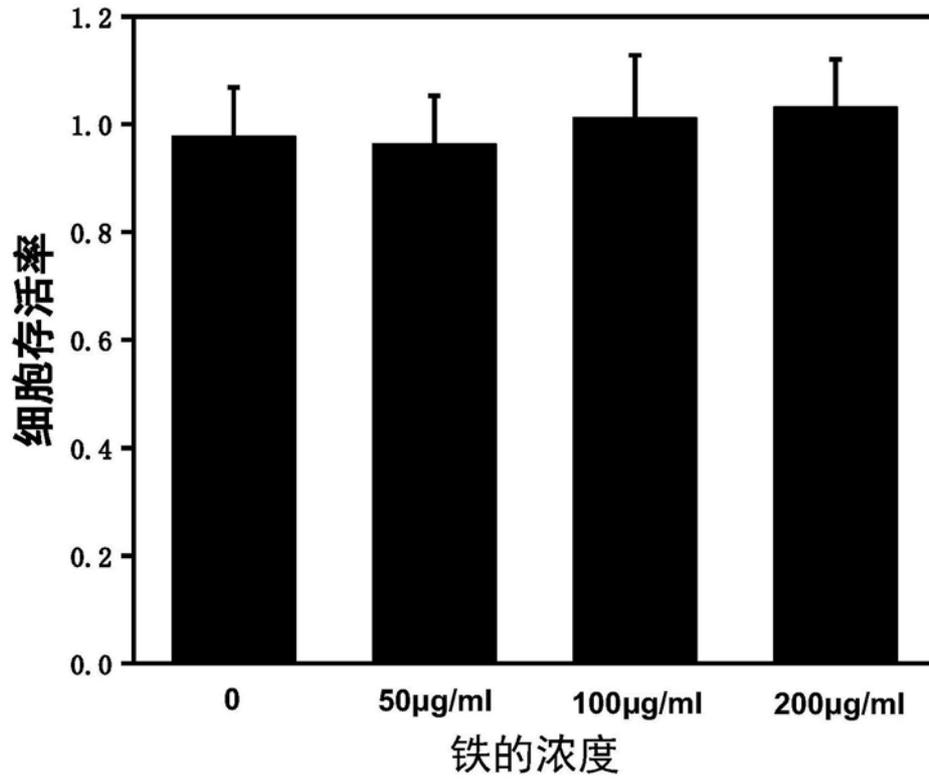


图11

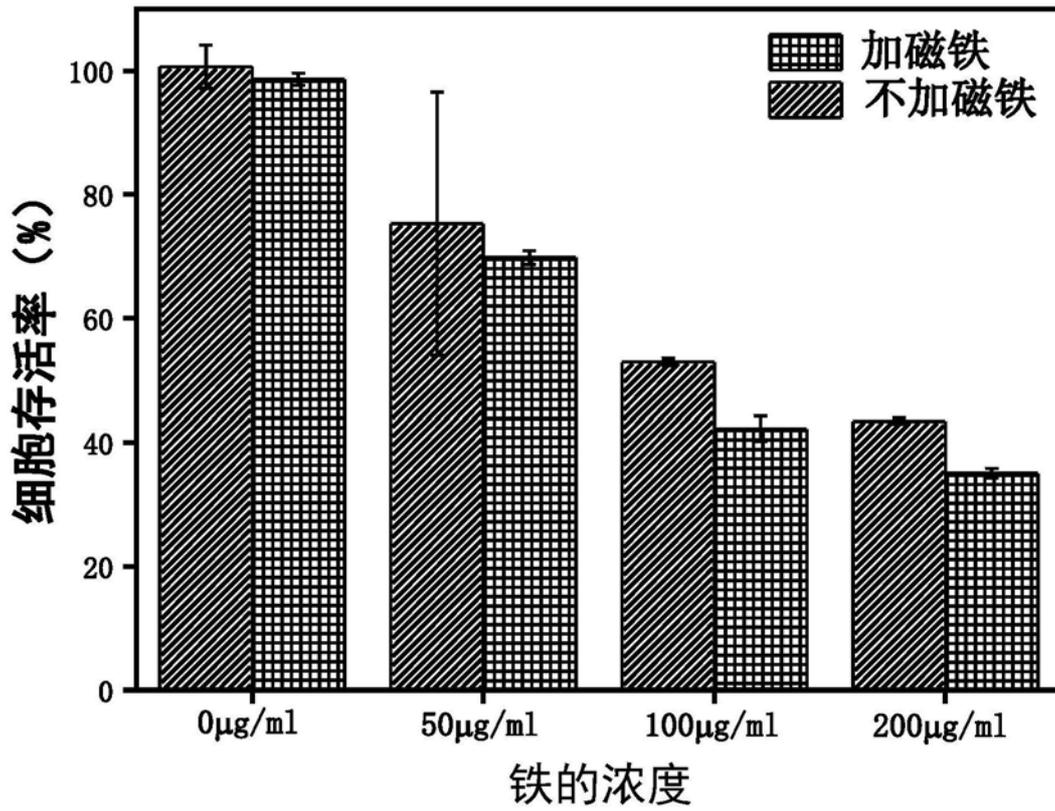


图12