

09,14

Монодисперсные частицы со структурой ядро–оболочка из магнетита и функционализированного люминофором мезопористого кремнезема

© Д.А. Еуров^{1,2}, Д.А. Курдюков¹, А.В. Медведев¹,
Д.А. Кириленко¹, D.R. Yakovlev³, В.Г. Голубев¹

¹ Физико-технический институт им. А.Ф. Иоффе РАН, Санкт-Петербург, Россия

² Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, Санкт-Петербург, Россия

³ Experimentelle Physik 2, Technische Universität Dortmund, Dortmund, Germany
E-mail: eurov@gvg.ioffe.ru

Поступило в Редакцию 14 апреля 2017 г.

Получены гибридные частицы со структурой ядро–оболочка, представляющие собой монодисперсные сферические мезопористые частицы кремнезема, заполненные магнетитом и покрытые оболочкой мезопористого кремнезема, функционализированной люминесцентным красителем. Частицы имеют низкое среднеквадратичное отклонение размеров (не более 10%), обладают удельной поверхностью и объемом пор до $250 \text{ m}^2/\text{g}$ и $0.15 \text{ cm}^3/\text{g}$ соответственно и люминесценцией в видимой области спектра с максимумом на длине волны 530 nm. Частицы могут применяться в тераностике онкологических заболеваний, выполняя одновременно терапевтические (магнитная гипертермия и адресная доставка лекарств) и диагностические (контрастное средство для магнитно-резонансной томографии и люминесцентный маркер) функции.

DOI: 10.21883/PJTF.2017.15.44872.16823

В настоящее время магнитные наночастицы вызывают все больший интерес у исследователей благодаря возможности их применения в биомедицине, например в магнитной гипертермии, магнитно-резонансной томографии (МРТ), адресной доставке лекарств [1–3]. Как правило, для

этого используют наночастицы оксида железа, в частности магнетита (Fe_3O_4), которые могут метаболизироваться организмом, обладают низкой токсичностью и уникальными магнитными свойствами, варьируемыми от суперпарамагнитных до ферримагнитных [4–6]. Особое внимание в последние годы уделяют маленьким частицам (размером в единицы-десятки нанометров), которые являются однодоменными. Однодоменные магнитные частицы обладают большим коэффициентом поглощения при физиологически значимых частотах магнитных полей по сравнению с многодоменными частицами, что важно при их использовании в гипертермии [7]. Однако коллоидные наночастицы магнетита являются агрегативно неустойчивыми в водных средах, что ограничивает возможность их применения в биологии и медицине [8]. Для повышения агрегативной стабильности частицы покрывают кремнеземными или полимерными оболочками, а также обрабатывают поверхностно-активными веществами [7,8]. Кроме того, наночастицы Fe_3O_4 , традиционно получаемые методом соосаждения [9,10], имеют произвольную форму и значительный разброс по размерам, что затрудняет контроль их фармакодинамических характеристик.

Задачей данной работы являлось получение монодисперсных сферических гибридных частиц со структурой ядро–оболочка на основе мезопористого кремнезема и магнетита, перспективных для использования в тераностике онкологических заболеваний. Для решения поставленной задачи синтезированы нанокластеры магнетита внутри монодисперсных сферических мезопористых частиц кремнезема (МСМЧК), состоящих из плотноупакованных трубок аморфного SiO_2 одинакового размера. Полученные МСМЧК, заполненные магнетитом ($m\text{SiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$), покрывались оболочкой мезопористого кремнезема. На рис. 1, а схематично представлен процесс получения частиц со структурой ядро–оболочка ($m\text{SiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4@m\text{SiO}_2$). Для придания частицам люминесцентных свойств проведена функционализация внутренней поверхности пористой оболочки флуоресцеин изотиоцианатом (FITC).

МСМЧК синтезированы гидролизом тетраэтоксисилана в спиртоводно-аммиачной среде, содержащей поверхностно-активный структурообразующий агент [11]. Методика синтеза обеспечивает получение монодисперсных сферических частиц с контролируемо варьируемым средним диаметром в диапазоне от 50 до 1500 nm. Внутри частиц имеется система плотноупакованных монодисперсных цилиндрических пор диаметром 3.1 ± 0.2 nm. Объемная доля пор составляет 50 vol.% от объема частиц.

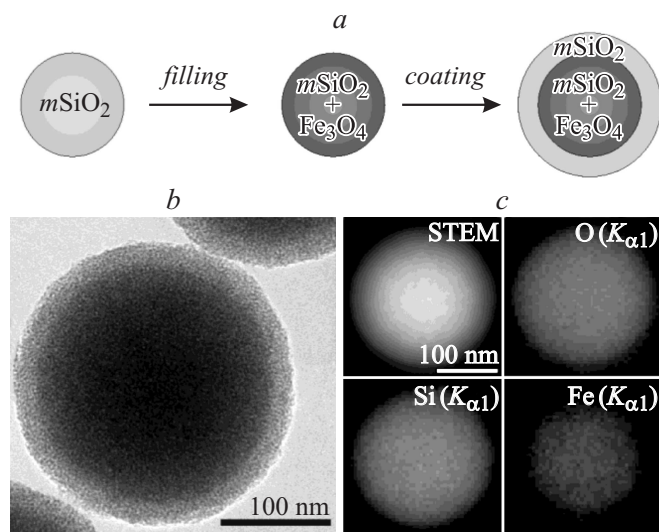


Рис. 1. Схема получения гибридных частиц $m\text{SiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4@m\text{SiO}_2$ (a), ПЭМ-изображение частиц (b) и карты распределения элементов, полученные методом РСМА (c): карты $\text{O}(K_{\alpha 1})$, $\text{Si}(K_{\alpha 1})$, $\text{Fe}(K_{\alpha 1})$, полученные от одной частицы, изображенной на левой верхней панели (STEM).

Получение магнетита в порах МСМЧК проводилось в два этапа. На первом этапе в мезопорах частиц синтезированы нанокластеры гематита ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$). Для этого осуществлялась пропитка МСМЧК расплавом кристаллогидрата нитрата железа (III) и проводился отжиг с целью разложения нитрата до $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$. Для достижения большей степени заполнения частиц при однократной пропитке был выбран именно расплав кристаллогидрата, поскольку в расплаве содержится значительно больше целевого вещества в сравнении с раствором [12,13]. Степень заполнения пор МСМЧК гематитом составила 30 vol.% от объема пор. Используемый подход позволяет добиться равномерного распределения нанокластеров $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ внутри пор МСМЧК и избежать образования массивного $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ на внешней поверхности частиц [13]. На втором этапе МСМЧК, заполненные $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$, отжигались в потоке водорода при 350°C до полного перехода $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ в Fe_3O_4 . Магнитные измерения частиц $m\text{SiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$ выявляют поведение магнитного

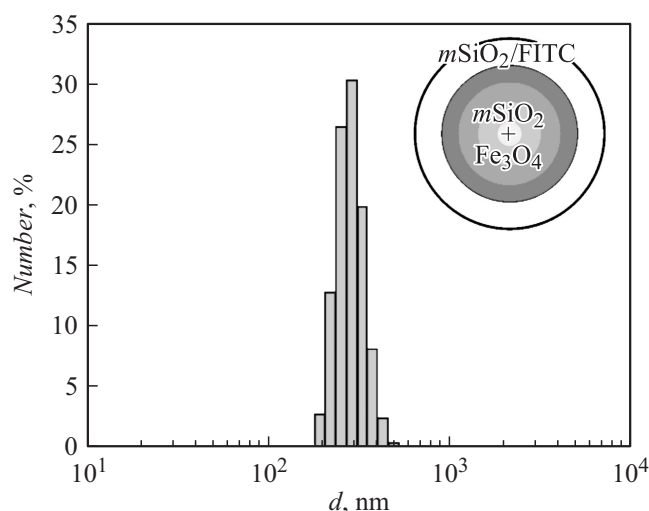


Рис. 2. Распределение гидродинамических диаметров гибридных частиц $m\text{SiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4@m\text{SiO}_2/\text{FITC}$, измеренное методом динамического светорассеяния. На вставке приведена схема, поясняющая строение частиц.

момента образцов в процессе перемагничивания, обусловленное однодоменными состояниями нанокластеров ферритмагнетика Fe_3O_4 [13].

Благодаря тому что магнетит находится внутри мезопор МСМЧК, поверхностные свойства полученных частиц $m\text{SiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$ практически не отличаются от поверхностных свойств исходных МСМЧК. В результате частицы $m\text{SiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$ легко растворяются в воде и образуют агрегативно стабильную суспензию. Такие частицы перспективны для применения в медицине, в частности в магнитной гипертермии, а также в качестве T_2 -контрастного средства для МРТ [14].

Для придания новых функциональных возможностей полученные частицы $m\text{SiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$ покрывались оболочкой мезопористого кремнезема. Частицы $m\text{SiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$ диспергировались в смеси, содержащей структурообразующий агент, деионизованную воду, аммиак и этанол, затем добавлялся тетраэтоксисилан [11,12]. Состав смеси и условия синтеза обеспечивали нанесение на частицы оболочек $m\text{SiO}_2$ одинаковой толщины. Частицы отделялись центрифугированием, сушились и отжигались при температуре 550°C . На рис. 1, *b* представлено изображение

частиц $m\text{SiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4@m\text{SiO}_2$, полученное с использованием просвечивающего электронного микроскопа (ПЭМ) JEM-2100F, Jeol, Япония. Частицы после покрытия оболочкой сохраняют сферическую форму. Толщина оболочки составила 25 nm. Проведен рентгеноспектральный микроанализ (РСМА) частиц $m\text{SiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4@m\text{SiO}_2$ с использованием энергодисперсионного рентгеновского спектрометра Oxford Instruments INCA, встроенного в ПЭМ. Карты распределения основных элементов в частицах, представленные на рис. 1, с, свидетельствуют о равномерности распределения магнетита в ядре частиц.

Полученные частицы $m\text{SiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4@m\text{SiO}_2$ со структурой ядро–оболочка обладают химически активной внутренней поверхностью мезопор в оболочке за счет наличия одиночных силанольных групп [15]. Это позволяет проводить функционализацию поверхности пор частиц, а также вводить в поры оболочки лекарственные препараты и использовать такие частицы, например, в качестве контейнеров для токсичных химиопрепаратов. По данным адсорбционного структурного анализа рассчитаны удельная поверхность и объем пор в частицах $m\text{SiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4@m\text{SiO}_2$, которые составили $250 \text{ m}^2/\text{g}$ и $0.15 \text{ cm}^3/\text{g}$ соответственно.

Функционализация частиц $m\text{SiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4@m\text{SiO}_2$ биологически совместимым люминофором — флуоресцеин изотиоцианатом (FITC) [16] — осуществлялась в два этапа. На первом этапе внутренняя поверхность частиц $m\text{SiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4@m\text{SiO}_2$ функционализировалась NH_2 -группами аналогично процедуре, описанной в [15]. После этого частицы отжигались при температуре 100°C в течение 2 h. На втором этапе проводилась хемосорбция FITC из его спиртового раствора с концентрацией 10 mM в течение двух суток. Затем частицы отделялись центрифугированием и промывались деионизованной водой (с сопротивлением $10 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$) для удаления неспецифически связанного FITC. Оставшиеся внутри частиц молекулы FITC химически связаны с поверхностью пор в оболочке.

На рис. 2 приведено распределение гидродинамических диаметров полученных частиц $m\text{SiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4@m\text{SiO}_2/\text{FITC}$ (схематичное изображение частицы представлено на вставке к рис. 2), измеренное методом динамического светорассеяния (ДСР) на приборе Malvern Zetasizer Nano ZS при температуре 25°C . Средний гидродинамический диаметр частиц по данным ДСР составляет $285 \pm 25 \text{ nm}$. Таким образом, покрытие частиц $m\text{SiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$ оболочкой мезопористого кремнезема и

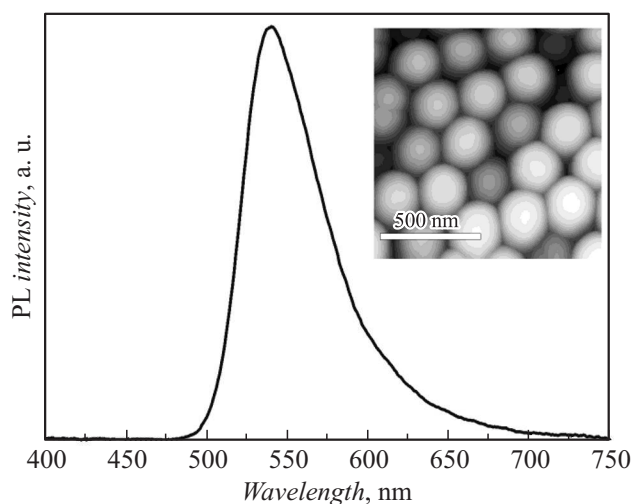


Рис. 3. Спектр фотолюминесценции гибридных частиц $m\text{SiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4@m\text{SiO}_2/\text{FITC}$. На вставке приведено АСМ-изображение частиц.

функционализация внутренней поверхности пористой оболочки люминофором не влияют на монодисперсность частиц (среднеквадратичное отклонение размеров не превышает 10%).

Спектры фотолюминесценции (ФЛ) частиц $m\text{SiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4@m\text{SiO}_2/\text{FITC}$ измерялись при возбуждении He–Cd-лазером с длиной волны 325 nm при комнатной температуре и регистрировались с помощью управляемого компьютером монохроматора МДР-23, оснащенного фотумножителем ФЭУ-79, работающим в режиме счета фотонов. В спектре ФЛ частиц (рис. 3) наблюдается широкая полоса с максимумом на длине волны 530 nm. На вставке к рис. 3 приведено типичное изображение частиц $m\text{SiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4@m\text{SiO}_2/\text{FITC}$, нанесенных на Si-подложку, полученное с помощью атомно-силового микроскопа (АСМ) NT-MDT SMENA в полуконтактном режиме. Наблюдается упорядоченность в расположении частиц, свидетельствующая об их монодисперсности. По результатам обработки АСМ-изображений 50 частиц путем построения гистограммы распределения размеров с последующей аппроксимацией функцией Гаусса определено, что среднеквадратичное отклонение диаметров частиц не превышает 10%.

Люминесцентные свойства частиц $m\text{SiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4@m\text{SiO}_2/\text{FITC}$ обуславливают возможность отслеживания процесса накопления в опухоли при их использовании, например, в качестве контейнеров для токсичных химиотерапевтических препаратов. Химическое связывание молекул люминофора активной поверхностью пор в оболочке предотвратит его выход из частиц и проникновение в организм.

Таким образом, синтезированы гибридные частицы со структурой ядро–оболочка на основе оксидов железа и кремния. Частицы представляют собой монодисперсные сферические мезопористые частицы кремнезема, заполненные Fe_3O_4 и покрытые оболочкой мезопористого кремнезема, внутренняя поверхность которой функционализирована люминофором FITC. Показано, что покрытие частиц, содержащих магнетит, оболочкой мезопористого кремнезема не влияет на форму и монодисперсность частиц. Среднеквадратичное отклонение размеров частиц $m\text{SiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4@m\text{SiO}_2/\text{FITC}$ не превышает 10%. Показано, что магнетит равномерно распределен внутри ядра. Степень заполнения магнетитом составила 30 vol.% от объема ядра. В спектре ФЛ частиц наблюдается широкая полоса в видимой области спектра с максимумом на длине волны 530 nm. Полученные гибридные частицы могут найти применение в качестве лекарственного средства для противоопухолевой терапии (как средство для магнитной гипертермии и как контейнер для токсичных химиопрепаратов в системах адресной доставки лекарств). Вместе с тем такие частицы одновременно могут выступать в качестве многофункционального диагностического средства (как контрастное средство при проведении МРТ и как люминесцентный маркер). Вышеперечисленное обуславливает перспективы применения полученных частиц в тераностике онкологических заболеваний.

Авторы благодарят В.В. Соколова за исследование внутренней структуры частиц методом адсорбционного структурного анализа и Е.Ю. Стовпяга за исследование распределения частиц по размерам методом динамического светорассеяния. В.Г. Голубев, Д.А. Курдюков и D.R. Yakovlev благодарят РФФИ (№ 15-52-12011) и DFG в рамках ICRC TRR 160 за финансовую поддержку разработки метода получения нанокластеров магнетита в порах частиц кремнезема. Д.А. Еуров благодарит РФФИ (№ 16-34-01039 мол_а) за финансовую поддержку разработки метода функционализации внутренней поверхности мезопористого кремнезема. Работа выполнена с использованием оборудования федерального ЦКП „Материаловедение и диагностика в передовых технологиях“ (ФТИ им. А.Ф. Иоффе, Санкт-Петербург).

Список литературы

- [1] Ghazanfari M.R., Kashefi M., Shams S.F., Jaafari M.R. // Biochem. Res. Int. 2016. V. 2016. P. 7840161.
- [2] Wu W., Jiang C.Z., Roy V.A.L. // Nanoscale. 2016. V. 8. P. 19421.
- [3] Dutz S., Hergt R. // Nanotechnology. 2014. V. 25. P. 452001.
- [4] Moise S., Céspedes E., Soukup D., Byrne J.M., El Haj A.J., Telling N.D. // Sci. Rep. 2017. V. 7. P. 39922.
- [5] Lee S.-C., Fu C.-M., Chang F.-H. // Appl. Phys. Lett. 2013. V. 103. P. 163104.
- [6] Wu W., He Q.G., Jiang C.Z. // Nanoscale Res. Lett. 2008. V. 3. P. 397.
- [7] Deatsch A.E., Evans B.A. // J. Magn. Magn. Mater. 2014. V. 354. P. 163.
- [8] Borlido L., Azevedo A.M., Roque A.C.A., Aires-Barros M.R. // Biotechnol. Adv. 2013. V. 31. P. 1374.
- [9] Basuki J.S., Jacquemin A., Esser L., Li Y., Boyer C., Davis T.P. // Polym. Chem. 2014. V. 5. P. 2611.
- [10] Riaz S., Bashir M., Naseem S. // IEEE Trans. Magn. 2014. V. 50. P. 4003304.
- [11] Trofimova E.Yu., Kurdyukov D.A., Yakovlev S.A., Kirilenko D.A., Kukushkina Yu.A., Nashchekin A.V., Sitnikova A.A., Yagovkina M.A., Golubev V.G. // Nanotechnology. 2013. V. 24. P. 155601.
- [12] Eurov D.A., Kurdyukov D.A., Kirilenko D.A., Kukushkina J.A., Nashchekin A.V., Smirnov A.N., Golubev V.G. // J. Nanopart. Res. 2015. V. 17. P. 82.
- [13] Стовяга Е.Ю., Еуров Д.А., Курдюков Д.А., Смирнов А.Н., Яговкина М.А., Григорьев В.Ю., Романов В.В., Яковлев Д.Р., Голубев В.Г. // ФТТ. 2017. Т. 59. В. 8. С. 1598.
- [14] Li L., Jiang W., Luo K., Song H., Lan F., Wu Y., Gu Z. // Theranostics. 2013. V. 3. P. 595.
- [15] Еуров Д.А., Грудинкин С.А., Курдюков Д.А., Медведев А.В., Стовяга Е.Ю., Голубев В.Г. // Письма в ЖТФ. 2015. Т. 41. В. 19. С. 1.
- [16] Hercules D.M., Frankel H. // Science. 1960. V. 131. P. 1611.