

06;14

Безактиваторные люминесцентные наноконтейнеры для тераностики раковых опухолей

© Д.А. Еуров, С.А. Грудинкин, Д.А. Курдюков, А.В. Медведев,
Е.Ю. Стовпяга, В.Г. Голубев

Физико-технический институт им. А.Ф. Иоффе РАН, Санкт-Петербург
НИУ информационных технологий, механики и оптики, Санкт-Петербург
E-mail: eurov@gvg.ioffe.ru

Поступило в Редакцию 14 февраля 2015 г.

Одностадийным синтезом получены субмикронные монодисперсные сферические мезопористые частицы кремнезема, обладающие яркой широкополосной люминесценцией в видимой области спектра. Частицы имеют удельную поверхность $550 \text{ m}^2/\text{g}$, объем пор $0.36 \text{ cm}^3/\text{g}$ и средний диаметр пор 3 nm . Технология синтеза обеспечивает формирование активной внутренней поверхности (поверхности мезопор), что позволит осуществить связывание и удержание лекарственных препаратов при их введении внутрь частиц. Частицы перспективны для использования в тераностике раковых опухолей в качестве наноконтейнеров, одновременно являющихся люминесцентными биомаркерами.

В настоящее время активно ведутся работы по созданию систем доставки лекарств в раковые опухоли на основе монодисперсных сферических мезопористых частиц кремнезема (МСМЧК) [1–5]. Частицы обладают упорядоченной мезопористой структурой, большими удельной поверхностью и объемом пор, что обеспечивает значительную удельную массу переносимого лекарственного препарата и его защиту при транспортировке к больному органу, а также позволяет снизить токсичность вводимых химиопрепаратов. Монодисперсность частиц обуславливает

их одинаковые гидродинамические свойства в кровеносной системе, а следовательно, контролируемое время доставки. При использовании таких частиц в системах адресной доставки лекарств важно отслеживать процесс их накопления в опухолевой ткани. С этой целью частицы функционализируются, так, например, им придаются люминесцентные свойства. Для этого, как правило, в частицы вводят органические или неорганические излучающие центры (активаторы), такие как флуоресцентные красители [6–8], редкоземельные элементы [9–11], полупроводниковые квантовые точки [12,13]. Большинство методик позволяют достичь интенсивной люминесценции, однако требуют использования дорогих и токсичных люминофоров, а также дополнительных технологических операций для введения люминофора. Кроме того, введение активаторов люминесценции существенно уменьшает доступный для дальнейшего заполнения объем мезопор и их удельную поверхность, что уменьшает эффективность использования частиц в качестве наноконтейнеров для токсичных химиотерапевтических препаратов.

В настоящем исследовании разработана методика одностадийного синтеза безактиваторных люминесцентных монодисперсных сферических мезопористых частиц кремнезема (Л-МСМЧК). Л-МСМЧК получены гидролизом тетраэтоксисилана (TEOS) в спирто-водно-аммиачной среде, содержащей поверхностно-активный структурообразующий агент [14,15]. Для придания синтезируемым частицам люминесцентных свойств в реакционную смесь добавлялся аминопропилтриэтоксисилан (APTES), соотношение TEOS:APTES составило 9:1. Образование частиц происходит по кластерному механизму, описанному в работе [14]. В результате синтезируемые частицы имеют сферическую форму и низкую дисперсию по размерам [14], сопоставимую с дисперсией „непористых“ частиц кремнезема [16]. При этом на механизм образования МСМЧК не влияет добавление APTES, который схож по структуре с TEOS и, гидролизуясь, встраивается в формирующийся мезопористый SiO₂, не нарушая монодисперсности частиц.

Полученные Л-МСМЧК и синтезированные в тех же условиях без добавления APTES МСМЧК отжигались на воздухе при температуре 550°C в течение 8 ч. Диаметр синтезируемых частиц варьировался в диапазоне 100–500 nm посредством изменения параметров процесса синтеза (концентрация реагентов, температура). В работе представлены результаты для частиц диаметром 500 nm. На вставке рис. 1 приведено изображение частиц, нанесенных на кремниевую подложку, полученное с помощью атомно-силового микроскопа (АСМ). Средний размер

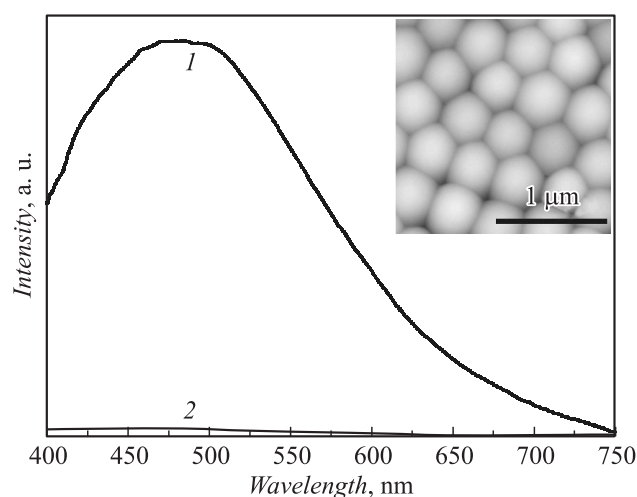


Рис. 1. Спектры фотолюминесценции ($\lambda_{ex} = 325$ nm) Л-МСМЧК (1) и МСМЧК (2), синтезированных соответственно с добавлением и без добавления в реакционную смесь АРТЕС. На вставке приведено АСМ-изображение Л-МСМЧК.

частиц определен по АСМ-изображениям 200 частиц путем построения гистограммы распределения размеров с последующей аппроксимацией функцией Гаусса. Среднеквадратичное отклонение диаметров Л-МСМЧК не превышает 10%. Методом адсорбционного структурного анализа показано, что частицы обладают большой удельной поверхностью ($550 \text{ m}^2/\text{g}$), большим объемом пор ($0.36 \text{ cm}^3/\text{g}$) и средний диаметр пор составил 3 nm.

Для проведения оптических измерений частицы наносились на кремниевую подложку марки КДБ10. Спектры фотолюминесценции (ФЛ) синтезированных Л-МСМЧК (рис. 1, кривая 1) и МСМЧК (рис. 1, кривая 2) измерялись при возбуждении He–Cd-лазером с длиной волны 325 nm при комнатной температуре и регистрировались с помощью управляемого компьютером монохроматора МДР-23, оснащенного фотоумножителем ФЭУ-79, работающим в режиме счета фотонов. В спектре ФЛ Л-МСМЧК (кривая 1 на рис. 1) наблюдается широкая полоса с максимумом на длине волны 480 nm и шириной на полувысоте приблизительно 180 nm. Наблюдаемая ФЛ может быть обусловлена

излучением оксикарбидов кремния [17], формирующихся в результате терморазложения углеродсодержащих полисилоксанов, образованных в процессе совместного гидролиза TEOS и APTES. Квантовый выход люминофоров белого свечения, полученных таким образом, может достигать 35% [17].

Для того чтобы частицы могли использоваться в качестве наноконтейнеров в системах адресной доставки лекарств, они должны иметь химически активную внутреннюю поверхность для связывания и удержания лекарственных препаратов. На поверхности кремнезема активными центрами являются силанольные группы. Вводимые в поры молекулы лекарственного препарата удерживаются внутри частиц либо ковалентным связыванием, либо электростатическим взаимодействием. Так, например, при введении ибупрофена его удержание в порах обусловлено, главным образом, ковалентным взаимодействием карбоксильных групп молекул ибупрофена с силанолами кремнезема [18]. В случае гидрохлорида доксорубина (DOX) его удержание в порах осуществляется за счет электростатического взаимодействия между молекулами лекарства, имеющими в растворе положительный заряд, и отрицательно заряженными Si–O⁻ поверхностными группами кремнезема [19].

Химическая активность поверхности синтезированных частиц анализировалась методом ИК-спектроскопии с использованием Фурье-спектрометра „IFS Bruker 113v“. Спектры пропускания МСМЧК и Л-МСМЧК в области 3000–3800 см⁻¹ (кривые 1 и 2 на рис. 2) состоят из нескольких перекрывающихся полос, обусловленных колебаниями ОН в молекулах физически адсорбированной воды, связанных водородными связями, и цепочками силанольных групп, также связанных между собой водородными связями (содержат более двух попарно связанных ОН групп) [20]. Кроме того, имеется еще две группы полос. К первой относится узкая спектральная полоса 3745 см⁻¹, соответствующая колебаниям ОН в одиночных силанольных группах, ко второй — спектральные полосы в области 3650–3700 см⁻¹ (спектры 1 и 2), соответствующие колебаниям терминальных силанольных групп [20].

С целью подтверждения химической активности свободных силанольных групп проведена функционализация внутренней поверхности Л-МСМЧК за счет взаимодействия поверхностных групп со связывающим агентом, в качестве которого был выбран APTES. Отметим, что APTES применяется для модифицирования поверхности кремнезема с целью обеспечения последующей иммобилизации биологических молекул, например протеинов [21].

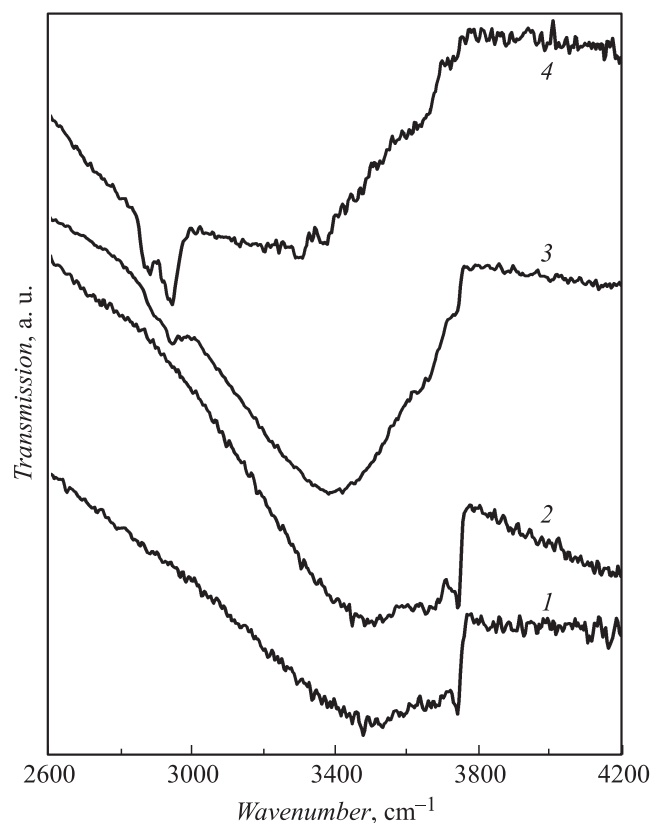


Рис. 2. ИК-спектры пропускания МСМЧК (1) и Л-МСМЧК (2), синтезированных соответственно с добавлением и без добавления в реакционную смесь АРТЕС, а также Л-МСМЧК, поверхность которых функционализована АРТЕС адсорбцией (3) и капиллярной пропиткой (4).

Для функционализации внутренней поверхности Л-МСМЧК было использовано два подхода: адсорбция и капиллярная пропитка АРТЕС. В первом случае навеска Л-МСМЧК заливалась раствором АРТЕС в толуоле (концентрация АРТЕС 3 vol.%). Процесс адсорбции продолжался в течение суток, после чего полученные частицы (Л-МСМЧК-ад) отделялись центрифугированием. Во втором случае для получения частиц

капиллярной пропиткой (Л-МСМЧК-кап) навеска Л-МСМЧК пропитывалась раствором АРТЕС в этаноле (концентрация АРТЕС 33 vol.%). После этого раствор упаривался. В обоих случаях частицы отжигались при температуре 250°C в течение 2 h.

ИК-спектры образцов Л-МСМЧК-ад и Л-МСМЧК-кап представлены на рис. 2 (кривые 3 и 4 соответственно). В области 3000–3800 cm^{-1} происходит перераспределение (по сравнению со спектрами 1 и 2) интенсивностей различных полос, соответствующих колебаниям ОН. Как для Л-МСМЧК-ад, так и для Л-МСМЧК-кап (кривые 3 и 4 на рис. 2) значительно снижается интенсивность узкой полосы на 3745 cm^{-1} (одиночные силанольные группы). Кроме того, появляются полосы в области 2850–3000 cm^{-1} , соответствующие валентным колебаниям –СН пропиловой группы. Это подтверждает, что независимо от метода введения происходит связывание молекул АРТЕС с поверхностными силанольными группами кремнезема, что свидетельствует о высокой химической активности поверхности Л-МСМЧК.

Таким образом, предложенная в работе методика получения Л-МСМЧК позволила в процессе синтеза наделить частицы излучающими свойствами без применения люминесцентного активатора. Среднеквадратичное отклонение размеров частиц не превышает 10%. Частицы обладают высокой удельной поверхностью (550 m^2/g) и большим объемом (0.36 m^3/g) монодисперсных пор со средним диаметром 3 nm. В спектре ФЛ частиц наблюдается полоса с максимумом на длине волны 480 nm и шириной на полувысоте приблизительно 180 nm. Продемонстрирована возможность функционализации внутренней поверхности посредством взаимодействия молекул АРТЕС с поверхностными силанольными группами. Химически активная внутренняя поверхность полученных частиц обеспечивает возможность адсорбции молекул лекарственных препаратов, что позволит в дальнейшем использовать частицы в качестве наноконтейнеров для токсичных химиотерапевтических препаратов в системах адресной доставки лекарств. Данные частицы одновременно смогут выполнять функцию люминесцентных биомаркеров и, таким образом, применяться в тераностике раковых опухолей.

Авторы благодарят Ю.А. Кукушкину и В.В. Соколова за исследование внутренней структуры частиц методом адсорбционного структурного анализа.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке РФФИ (№ 15-52-12011) в рамках проекта DFG (ICRC TRR 160) и РФФИ (№ 14-03-31085 мол_а).

Список литературы

- [1] Tang F., Li L., Chen D. // *Adv. Mater.* 2012. V. 24. P. 1504.
- [2] Vivero-Escoto J.L., Slowing I.I., Trewyn B.G., Lin V.S.-Y. // *Small.* 2010. V. 6. P. 1952.
- [3] Rosenholm J.M., Sahlgren C., Lindén M. // *Nanoscale.* 2010. V. 2. P. 1870.
- [4] Colilla M., González B., Vallet-Regí M. // *Biomater. Sci.* 2013. V. 1. P. 114.
- [5] He Q., Shi J. // *Adv. Mater.* 2014. V. 26. P. 391.
- [6] Cho E.-B., Volkov D.O., Sokolov I. // *Adv. Funct. Mater.* 2011. V. 21. P. 3129.
- [7] Palantavida S., Tang R., Sudlow G.P., Akers W.J., Achilefu S., Sokolov I. // *J. Mater. Chem. B.* 2014. V. 2. P. 3107.
- [8] Трофимова Е.Ю., Грудинкин С.А., Кукушкина Ю.А., Курдюков Д.А., Медведев А.В., Яговкина М.А., Голубев В.Г. // *ФТТ.* 2012. Т. 54. В. 6. С. 1220.
- [9] Feofilov S.P., Kulinkin A.B., Eurov D.A., Kurdyukov D.A., Golubev V.G. // *Mater. Res. Express.* 2014. V. 1. P. 025019.
- [10] Moran C.E., Hale G.D., Halas N.J. // *Langmuir.* 2001. V. 17. P. 8376.
- [11] Xu Z., Li C., Ma P., Hou Z., Yang D., Kang X., Lin J. // *Nanoscale.* 2011. V. 3. P. 661.
- [12] Chan Y., Zimmer J.P., Stroh M., Steckel J.S., Jain R.K., Bawendi M.G. // *Adv. Mater.* 2004. V. 16. P. 2092.
- [13] Jun B.-H., Hwang D.W., Jung H.S., Jang J., Kim H., Kang H., Kang T., Kyeong S., Lee H., Jeong D.H., Kang K.W., Youn H., Lee D.S., Lee Y.-S. // *Adv. Funct. Mater.* 2012. V. 22. P. 1843.
- [14] 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.
- [15] Трофимова Е.Ю., Курдюков Д.А., Кукушкина Ю.А., Яговкина М.А., Голубев В.Г. // *Физ. хим. стекла.* 2011. Т. 37. С. 38.
- [16] Трофимова Е.Ю., Алексенский А.Е., Грудинкин С.А., Коркин И.В., Курдюков Д.А., Голубев В.Г. // *Коллоид. ж.* 2011. Т. 73. В. 4. С. 535.
- [17] Green W.H., Le K.P., Grey J., Au T.T., Sailor M.J. // *Science.* 1997. V. 276. P. 1826.
- [18] Li Z., Barnes J.C., Bosoy A., Stoddart F.J., Zink J.I. // *Chem. Soc. Rev.* 2012. V. 41. P. 2590.
- [19] Chang B., Guo J., Liu C., Qian Ji., Yang W. // *J. Mater. Chem.* 2010. V. 20. P. 9941.
- [20] Innocenzi P. // *J. Non-Cryst. Solids.* 2003. V. 316. P. 309.
- [21] Mansur H., Oréfice R., Pereira M., Lobato Z., Vasconcelos W., Machado L. // *Spectroscopy.* 2002. V. 16. P. 351.