

МИНОБРНАУКИ РОССИИ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ
Н.Г.ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра общей и неорганической химии
наименование кафедры

Синтез люминесцентных наночастиц оксида церия-самария

АВТОРЕФЕРАТ МАГИСТРСКОЙ РАБОТЫ

Студента (ки) 2 курса 251 группы

направления 04.04.01 «Химия»

код и наименование направления

Института химии

наименование факультета

Строкина Павла Дмитриевича

фамилия, имя, отчество

Зав. кафедрой общей и
неорганической химии,

д.х.н., профессор

должность, уч. степень, уч. звание

дата, подпись

И.Ю. Горячева

инициалы, фамилия

Зав. кафедрой:

д.х.н., профессор

должность, уч. степень, уч. звание

дата, подпись

И.Ю. Горячева

инициалы, фамилия

Саратов 2024 г.

Введение

Актуальность работы. Сегодня существует острая необходимость в получении нанозондов и биомаркеров, способных идентифицировать (находить и сообщать о них) характерные признаки конкретных заболеваний и впоследствии лечить их на тканевом и клеточном уровне. Их называют тераностическими препаратами, обладающими комбинированными диагностическими и терапевтическими свойствами. Тераностические нанозонды могут стать важным инструментом для диагностики заболеваний за счет улучшения визуализации и проведения терапии с использованием изображения на мониторе [1, 2].

Одномодовые методы визуализации, такие как фотолюминесцентная визуализация и магнитно-резонансная томография (МРТ) широко используются в качестве диагностических инструментов и для мониторинга биологических процессов в живых организмах. Каждый метод визуализации имеет свои неотъемлемые преимущества и ограничения. Фотолюминесцентная визуализация относительно проста в использовании и обладает высокой чувствительностью, но её разрешение недостаточно для получения трехмерного изображения (3D) анатомической информации [3, 4]. Напротив, МРТ страдает низкой чувствительностью, но позволяет получать 3D-изображения непрозрачных и мягких тканей с высоким пространственным разрешением, а также проникает в глубокие ткани [5, 6].

Таким образом, разработка материалов для бимодальных зондов, сочетающих чувствительность и пространственное разрешение, представляет большой интерес для визуализации всего тела. Наночастицы (НЧ) обладают рядом важных физико-химических свойств, которые делают их пригодными для биомедицинских применений, включая оптимальный размер, большое соотношение площади поверхности к массе, высокую реактивность и способность изменять свои биомедицинские параметры, такие как время циркуляции крови, диффузионность и иммуногенность [7].

Флуоресцентные НЧ на основе оксидов редкоземельных элементов обладают незначительной токсичностью по сравнению с аналогами [8, 9] и антиоксидантными свойствами [10]. Нанокристаллы CeO_2 могут выступать в качестве люминесцентных маркеров, что открывает перспективы для их использования в биоанализе [11], а добавление в их состав таких редкоземельных металлов, как самарий или гадолиний, открывает перспективы для использования полученных наноструктур в МРТ-диагностике [12]. Однако на данный момент свойства люминесцентных НЧ CeO_2 практически не изучены.

Целью данной работы является синтез и характеристика люминесцентных НЧ оксида церия-самария, для дальнейшего создания наноструктурных меток в биоанализе живых организмов.

Практическая значимость. Получение биосовместимых материалов, применимых для двухрежимной визуализации в диагностической медицине и способных заменить токсичные контрастирующие вещества в МРТ.

Научная новизна данной работы заключается в изучении и подборе оптимальных условий для синтеза люминесцентных наночастиц оксида церия-самария с низкой дисперсией по размеру, высокой коллоидной стабильностью и потенциалом для дальнейшей модификации

Структура и объем работы Работа включает в себя введение, 3 основные главы (15 разделов), выводы и заключение, технику безопасности и список используемых источников, состоящий из 84 наименований. Работа изложена на 60 листах, включает 22 рисунка и 4 таблицы

Основное содержание работы

Во введении обоснована актуальность темы работы, изложена научная новизна и практическая значимость, сформулированы цель и задачи.

В первой главе представлен литературный обзор, в котором описаны преимущества и недостатки различных методов, используемых в двухрежимной визуализации. Рассмотрены свойства НЧ оксида церия, их использование в медицине, различные подходы к их синтезу. В дальнейшем описаны варианты использования гадолиния в сочетании с наночастицами для МРТ, и раскрыты проблемы его токсичности для организма. В качестве альтернативы гадолинию рассмотрен самарий. Описано влияние легирования различными элементами на свойства и структуру наночастиц оксида церия (IV)

Во второй главе представлено описание используемого оборудования и реагентов, описаны методы исследования. Представлены методики высокотемпературного металлорганического синтеза наночастиц различного состава и размера.

В третьей главе представлено описание результатов экспериментов, полученных в ходе работы.

Были проанализированы ИК-спектры полученных образцов. На графике выделены интенсивные пики со значениями 1533 и 1425 см⁻¹, отвечающие пикам С=О в карбоксил-анионе СОО⁻, который образуется в результате взаимодействия карбоксильных групп с НЧ оксида церия (IV) или оксида церия-самария (рисунок 1). Полученные данные свидетельствуют о присутствии модификатора на поверхности образца.

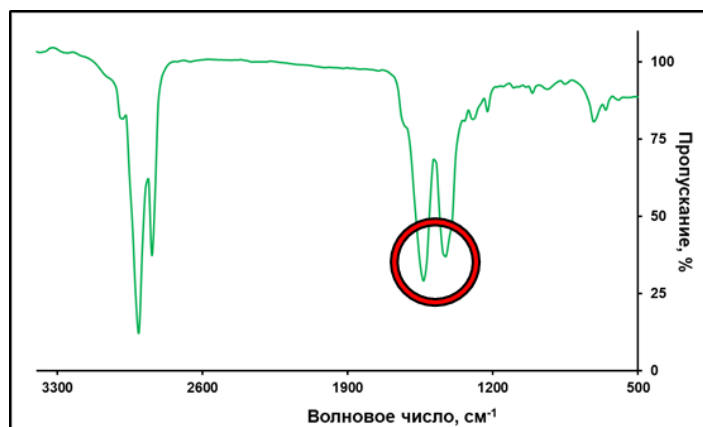


Рисунок 1 – ИК-спектр полученных образцов оксида церия (IV)

После этого для оценки состава нанокристаллов оксида церия-самария проводили рентгенофлуоресцентный анализ (РФЛА) с использованием энергодисперсионного флуоресцентного рентгеновского спектрометра EDX–720.

Для образца НЧ оксида церия-самария в соотношении Ce:Sm 16:1 отмечали наличие характеристических для церия линий $L\alpha$, $L\beta_1$, $L\beta_2$, Lg_1 , Lg_2 . При этом следов самария не обнаружено. Можно предположить, что при низких концентрациях самария его сигнал перекрывают линии $CeL\beta_2$, $CeLg_1$ и $CeLg_2$, что делает невозможным его обнаружение рентгенофлуоресцентным анализом. При соотношении Ce:Sm 2:1 были отмечены харастические линии для самария: $L\alpha$, $L\beta_1$ и $L\beta_2$, что доказывает присутствие самария в полученном образце (рисунок 2).

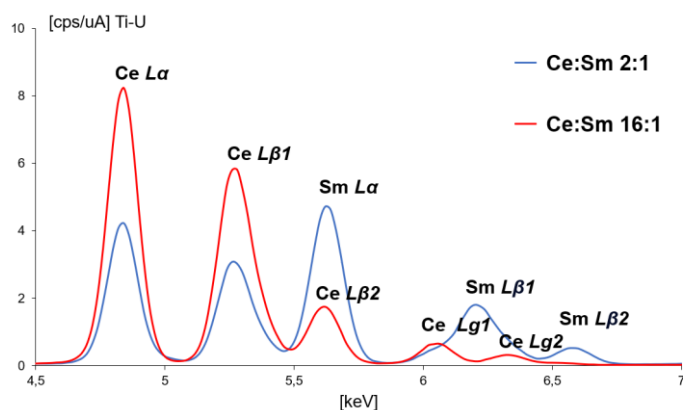


Рисунок 2 – РФЛА-спектр образцов с НЧ оксида церия-самария в соотношениях церий:самарий 2:1 и 16:1

Полученные данные позволили установить присутствие самария в образцах НЧ церий-самарий, однако эти данные не доказывают одновременное присутствие самария и церия в структуре одного нанокристалла. Для этого был проведён рентгенофазовый анализ с применением рентгеновского дифрактометра ДРОН-8Т (АО «ИЦ «Буревестник», Санкт-Петербург, Россия).

Низкая интенсивность сигналов на дифрактограммах полученных образцов не позволяет получить полный набор данных по присутствующим в них фазам. Для получения подробной информации были получены более окристаллизованные, субмикронные частицы оксида церия (IV) и оксида самария-церия в соотношении Ce:Sm 2:1. Их дифрактограммы представлены на рисунке (3)

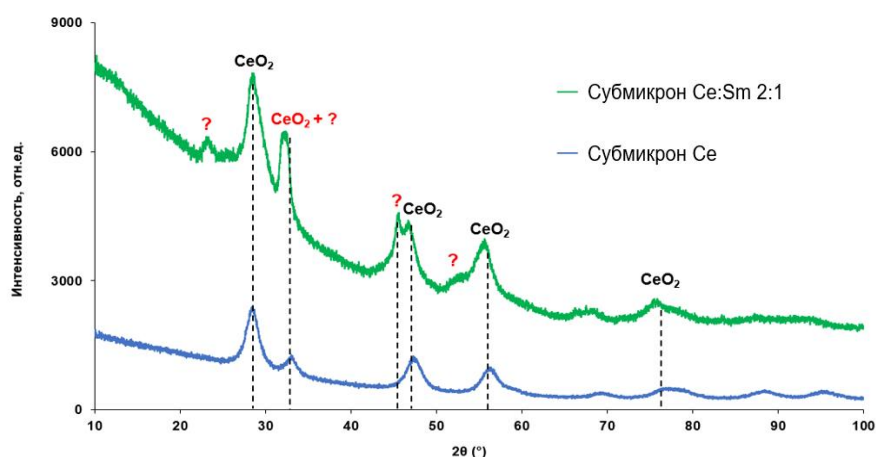


Рисунок 3 – дифрактограммы образцов субмикронных частиц с отнесением пиков по справочным данным

Во всех образцах обнаружены пики кристаллической кубической фазы оксида церия (IV). Помимо этого, в образце оксида самария-церия в соотношении Ce:Sm 2:1 присутствуют сигналы, идентифицировать которые не удаётся, а именно: 23,6°, 45°, гало 52,5°. Каждый из перечисленных сигналов отсутствует в субмикронном образце НЧ оксида церия (IV), что свидетельствует о присутствии посторонней фазы. Однако отнести её к кубической фазе Sm₂O₃ не удаётся. Возможно, самарий находится в данной структуре в другой форме. Отмечено существенное увеличение интенсивности для пика 32°, относящегося

к оксиду церия (IV). Такое увеличение интенсивности могло стать последствием объединения сигналов от фазы CeO_2 и другой фазы неизвестного состава.

Для получения дополнительных сведений из представленных данных было проведено устранение систематической ошибки, вызванной непостоянной формой образца. После этого было проведено индицирование данных. В результате в образце установлено присутствие базоцентрированной ромбической решётки со следующими параметрами ячейки: 3,597, 4,169, 11,555. Ромбическая базоцентрированная фаза может быть сформирована оксидом самария (III), или, что более вероятно, являться результатом внедрения атома самария в кубическую фазу оксида церия (III). Подобные переходы были описаны в литературном обзоре.

Далее были оценены оптические свойства полученных наноструктур.

Снимали спектры поглощения и люминесценции полученных образцов оксида церия (IV) (рисунок 4). Оптимальная длина волны возбуждения для рассматриваемых структур: 420 нм. Оценивали КВ полученных образцов, длину волны максимума эмиссии, ширину пика на полувысоте (FWHM).

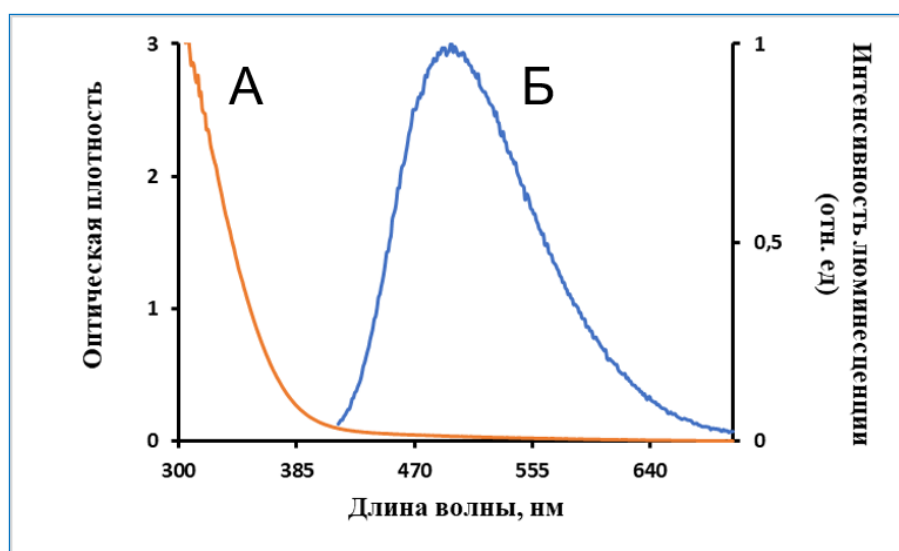


Рисунок 4 – спектры поглощения (А) и люминесценции (Б) полученного образца НЧ CeO_2

Синтезированные НЧ оксида церия имеют длину волны максимума эмиссии приблизительно 481 нм, FWHM 103 нм, КВ до очистки в среднем составляет 6%. Длина волны максимума эмиссии наноструктур в процессе

синтеза/очистки изменяется в пределах 481-486 нм, FWHM изменяется в пределах 96-116 нм, что может быть вызвано образованием дефектов на поверхности нанокристалла и изменением соотношения Ce^{3+}/Ce^{4+} . КВ в процессе очистки уменьшается, что может так же свидетельствовать о появлении дефектов в структуре полученных НЧ, вызванных утратой части стабилизирующего слоя лигандов. Данный эффект негативно сказывается на качестве получаемых образцов, требуется оптимизация очистки для получения нанокристаллов с наилучшими результирующими параметрами.

В дальнейшем были оценены оптические свойства НЧ оксида самария и церия-самария (Рисунок 5). Наночастицы оксида самария практически не люминесцировали (КВ=0,5%, что является слишком низким значением для дальнейшего исследования). В таблице 2 представлены данные оптических свойств полученных фракций НЧ с соотношением Ce:Sm 16:1 и 2:1. Вторую фракцию для соотношения 16:1 выделить не удалось. Возможная причина – исходная низкая стабильность НЧ в растворе, в результате которой практически все нанокристаллы были выделены в 1 фракции.

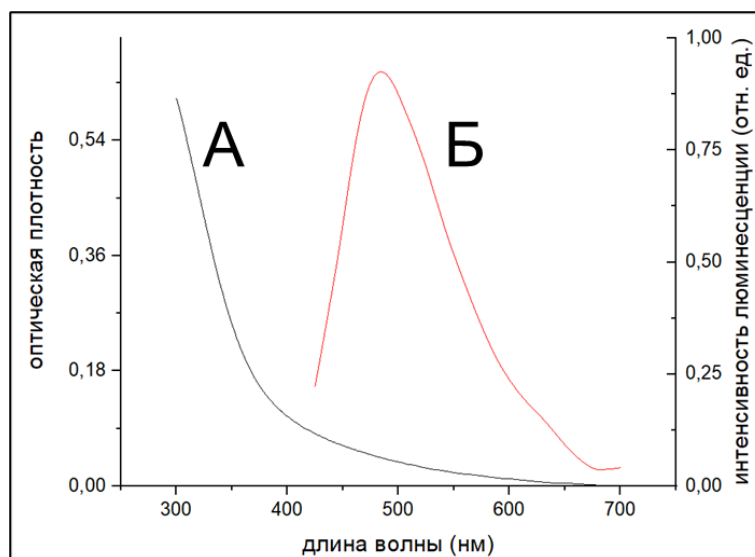


Рисунок 5 – спектр поглощения (А) и люминесценции (Б) полученных НЧ оксида церия-самария

Длина волны максимума эмиссии для всех образцов соответствует таковой в НЧ оксида церия (приблизительно 483 нм). Для НЧ с соотношением Ce:Sm 16:1 был отмечен низкий КВ и более узкий пик эмиссии, в то время как оптические свойства соотношения Ce:Sm 2:1 практически не уступают отмеченным в НЧ оксида церия (IV), что оставляет перспективы для использования полученных структур в качестве люминесцентных меток. Возможной причиной низкого КВ для образца с соотношением Ce:Sm 16:1 может являться образование большого количества дефектов в структуре НЧ в процессе синтеза. Было отмечено снижение квантового выхода после очистки НЧ с использованием осадителя, что так же может свидетельствовать о повреждении слоя стабилизатора и образования дефектов на поверхности нанокристалла.

Проводили оценку размера и формы НЧ оксида церия (IV) на просвечивающем электронном микроскопе (рисунок 6).

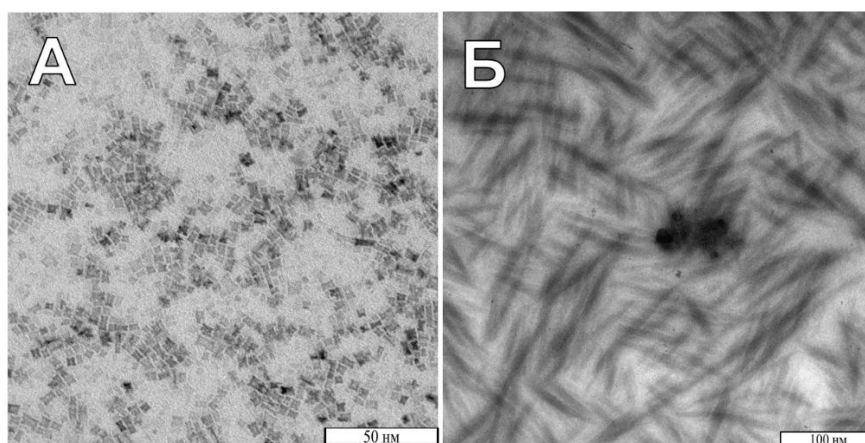


Рисунок 6 – ПЭМ-снимки полученных НЧ оксида церия: нанопластины (А) и наностержни (Б)

В рассматриваемых условиях синтеза оксид церия (IV) может принимать 2 формы: нанопластины и наностержни. Наностержни, в отличие от нанопластин, имеют высокую дисперсию по размерам и практически не поддаются дальнейшей модификации. Поэтому основная задача при подборе условий синтеза – снизить (или полностью убрать) содержание наностержней в продукте. Увеличение количества церия по отношению к стабилизатору позволяет сместить равновесие в сторону образования нанопластин. Так, соотношение

ацетат церия: олеиновая кислота 1:4 (или 1:3) не позволяет получить нанопластины. Поставленная задача была достигнута лишь при соотношении 1:2 (или 3:4). Размер НЧ оксида церия (IV) составил в среднем 4-6 нм.

После этого проводили оценку НЧ оксида церия-самария. Для данных образцов форму нанокристаллов определить трудно, и на микрофотографиях НЧ с соотношением Ce:Sm 16:1 и 2:1 не отличаются (рисунок 7). Приблизительный размер полученных наноструктур составляет 2 нм.

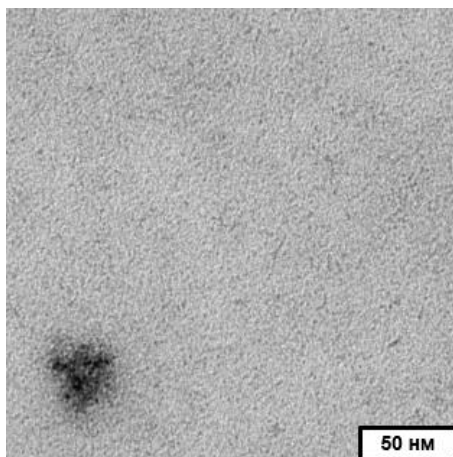


Рисунок 7 – ПЭМ-снимки полученных НЧ оксида церия:самария с соотношением Ce:Sm 2:1 в минимальном масштабе

Дополнительно размер частиц был оценен с помощью анализа динамического рассеяния света на приборе Zetasizer Ultra (MalvernInstruments, Malvern, Великобритания). Для первой фракции гидродинамический радиус составляет в среднем 50 нм. Для последующих фракций разброс по размерам выше. Появление более крупных частиц можно объяснить утратой стабилизирующего слоя олеиновой кислоты и олеиламина с поверхности нанокристаллов и образованием агломератов, что негативно сказывается на качестве получаемых образцов.

После этого проводили оценку гидродинамического радиуса полученных наночастиц оксида самария (III). В процессе очистки образца удалось собрать исключительно первую фракцию, так как на следующем этапе, после добавления всех осадителей и центрифугирования, супернатант оставался неизменным.

Гидродинамический радиус полученных наночастиц составил 19 нм. Столь малый гидродинамический радиус полученных частиц является следствием низкой концентрации источника самария в реакционной среде в процессе синтеза. При этом время синтеза оставалось неизменным с учётом более раннего зарождения нанокристаллов и низкой температуры нуклеации (по сравнению с НЧ оксида церия (IV) и оксида церия-самария). По полученным данным можно сделать следующий вывод: в представленной системе соотношение реагентов и температура реакционной среды являются ключевыми факторами, влияющими на размер и морфологию получаемых частиц. Результаты анализа гидродинамического радиуса для НЧ оксида церия-самария представлены в таблице 4. Для НЧ самария при соотношении Ce:Sm 1:16 был отмечен малый гидродинамический радиус. Можно предположить, что в процессе синтеза зарождение нанокристаллов оксида самария является лимитирующим фактором образования НЧ. При низкой концентрации соли самария процесс нуклеации может быть замедлен, что скажется на размере получаемых НЧ и потребует большего времени выдерживания реакционной среды. Для образцов с соотношением Ce:Sm 2:1 был отмечен гидродинамический радиус сопоставимый с НЧ оксида церия (IV) и увеличение дисперсии по размерам от первой ко второй фракции, что может быть связано в повреждением стабилизирующего слоя и образованием агломератов.

Коллоидную стабильность полученных структур при длительном хранении оценивали прямым наблюдением. Все образцы, вне зависимости от состава кристаллической решётки, при комнатной температуре и без доступа прямых солнечных лучей сохраняют коллоидную стабильность свыше 4 месяцев. Благодаря наличию олеиновой кислоты и олеиламина на поверхности наночастиц, сохраняется и возможность их дальнейшей модификации (в том числе гидрофилизации).

Выводы

На основании полученных данных можно сделать выводы:

1. Среди всех полученных в ходе работы НЧ оксида церия наилучшие результирующие параметры были отмечены для образцов, синтезированных в дифениловом эфире при температуре 260°C с соотношением ацетат церия: олеиновая кислота = 2:1, очищенных без использования осадителя (1 фракция). Полученные таким образом НЧ имеют следующие характеристики: длина волны максимума эмиссии приблизительно 485 нм, FWHM 103 нм, КВ в среднем составляет 4%, размер 4 нм, гидродинамический диаметр приблизительно 51 нм. Условия синтеза данных НЧ были приняты как оптимальные.

2. При оптимальных условиях, были синтезированы НЧ оксида церия-самария при различных соотношениях Ce:Sm. Для соотношения Ce:Sm отмечено низкое значение КВ, что может свидетельствовать об образовании большого количества дефектов в структуре НЧ в процессе синтеза. Наилучшие результирующие параметры были получены при соотношении Ce:Sm 2:1, данные нанокристаллы имеют КВ 3%, длину волны максимума эмиссии 483 нм, FWHM 103 нм, размер приблизительно 2 нм, гидродинамический диаметр приблизительно 69 нм.

3. Было отмечено незначительное изменение длины волны максимума эмиссии и FWHM при варьировании условий синтеза/очистки. При использовании осадителей отмечено существенное снижение КВ, что могло быть вызвано образованием дефектов в кристаллической решётке. Было отмечено увеличение гидродинамического радиуса получаемых НЧ при повышении температуры синтеза, что является ключевым фактором при контроле размера нанокристаллов и позволяет получать субмикронные кристаллы. Так же отмечено влияние соотношения источник церия-самария/стабилизатор на размер получаемых частиц: при увеличении количества стабилизатора в соотношении размер НЧ уменьшается. Данное соотношение влияет на морфологию НЧ оксида церия, позволяя получить нанопластины, либо наностержни.

4. При использовании осадителей было отмечено снижение коллоидной стабильности полученных наноструктур, что могло быть вызвано повреждением слоя стабилизатора на поверхности нанокристалла. Нанокристаллы при очистке без использования осадителя имеют низкую дисперсию по размерам (что раскрывает преимущество высокотемпературного металлоорганического синтеза) и коллоидную стабильность свыше 4 месяцев после синтеза и возможность их дальнейшей модификации для применения в биоанализе.

Список используемых источников

1. Luk B.T., Zhang L. Current advances in polymer-based nanotheranostics for cancer treatment and diagnosis // *ACS Appl. Mater. Interfaces*. – 2014. – Т. 6.– № 24. – С. 21859–21873.
2. Cho H. et al. Multifunctional Nanocarrier System for Cancer Diagnosis and Treatment // *ACS Nano*. – 2010. – Т. 4. – № 9. – С. 5398–5404.
3. Morita Y. et al. Detection of hepatocellular carcinomas with near-infrared fluorescence imaging using indocyanine green: Its usefulness and limitation // *Int. J. Clin. Oncol.* – 2013. – Т. 18. – № 2. – С. 232–241.
4. Vollrath A., Schubert S., Schubert U.S. Fluorescence imaging of cancer tissue based on metal-free polymeric nanoparticles—a review // *J. Mater. Chem. B*. –2013. – Т. 1– № 15. – С. 1994–2007.
5. Damadian R. Spin-lattice (T1) and spin-spin (T2) relaxation times (in seconds) of normal tissues. – 1971. – Т. 162. – № March. – С. 1151–1153.
6. Kim S.G., Richter W., Uğurbil K. Limitations of temporal resolution in functional MRI // *Magn. Reson. Med.* – 1997. Т. 37,– № 4. – С. 631–636.
7. Zhang L. et al. Nanoparticles in medicine: Therapeutic applications and developments // *Clin. Pharmacol. Ther.* – 2008. Т. 83.– № 5. – С. 761–769.
8. Casals G. et al. Cerium oxide nanoparticles: A new therapeutic tool in liver diseases // *Antioxidants*. – 2021. – Т. 10. – № 5. – С. 1–23.
9. Sack M. et al. Combination of conventional chemotherapeutics with redox-active cerium oxide nanoparticles – A novel aspect in cancer therapy // *Mol. Cancer Ther.* – 2014. – Т. 13. – № 7. – С. 1740–1749.
10. Sharpe E., Andreescu D., Andreescu S. Artificial nanoparticle antioxidants // *ACS SymC. Ser.* – 2011– Т. 1083. – С. 235–253.
11. Krishnan A. et al. One-pot synthesis of ultra-small cerium oxide nanodots exhibiting multi-colored fluorescence // *J. Colloid Interface Sci. Elsevier Inc.* – 2013. Т. 389,– № 1. – С. 16–22.

12. Eriksson– C. et al. Cerium oxide nanoparticles with antioxidant capabilities and gadolinium integration for MRI contrast enhancement // Sci. ReC. Springer US. – 2018. T. 8,– № 1. – C. 1–12.