

УДК 620.3

ЛАЗЕРНО-АБЛЯЦИОННЫЙ СИНТЕЗ КОЛЛОИДНЫХ НАНОЧАСТИЦ ZrN В РАЗЛИЧНЫХ ЖИДКОСТЯХ

М. С. Савинов¹, Г. В. Тихоновский¹, А. И. Пастухов², А. А. Фроня^{1,3},
И. Н. Завестовская^{3,4}, С. М. Климентов¹, А. В. Кабашин², А. А. Попов¹

В работе представлены результаты изучения влияния типа жидкой среды на свойства наночастиц (НЧ) нитрида циркония (ZrN), синтезируемых методом импульсной лазерной абляции в жидкости (ИЛАЖ). В результате сравнительного анализа свойств НЧ, синтезированных в 6 различных жидкостях (ацетонитрил, ацетон, этанол, изопропанол, диметилформамид, деионизованная вода), установлено, что наиболее перспективными для биомедицинских применений являются НЧ, полученные в ацетонитриле и ацетоне. Синтезированные НЧ ZrN могут быть использованы в качестве сенсibilizаторов инновационных малоинвазивных методов терапии онкологических заболеваний.

Ключевые слова: нитрид циркония, нитриды переходных металлов, наночастицы, лазерная абляция, лазерная абляция в жидкости.

Введение. Бурное развитие в области нанотехнологий привело к появлению большого количества новых перспективных терапевтических и диагностических методов и материалов. В частности, классические плазмонные наноматериалы, такие как золотые (Au) и серебряные (Ag) НЧ, уже показали свою эффективность в качестве сенсibilizаторов не только в традиционных подходах терапии и диагностики злокачественных новообразований, но и в новых инновационных методах малоинвазивного и неинвазивного лечения – направленной фототермической терапии (ФТТ) и фотоакустической

¹ Инженерно-физический институт биомедицины НИЯУ «МИФИ», 115409 Россия, Москва, Каширское ш., 31; e-mail: MSSavinov@mephi.ru.

² LP3, Aix Marseille University, CNRS, 13288 Marseille, France.

³ ФИАН, 119991 Россия, Москва, Ленинский пр-т, 53.

⁴ Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», 123182 Россия, Москва, пл. Академика Курчатова, 1.

визуализации (ФАВ) [1–3]. Методы ФТТ и ФАВ основаны на селективном нагревании локализованных в опухоли НЧ внешним световым излучением. Для этого используется излучение с длинами волн в ближнем инфракрасном (ИК) диапазоне (650–950 нм), в котором находится так называемое первое окно относительной прозрачности биологических тканей. Однако НЧ классических плазмонных материалов (Au, Ag, Cu), традиционно применяемые для задач сенсбилизации ФТТ и контрастирования в ФАВ, имеют свои плазмонные полосы поглощения за пределами этого диапазона. В связи с чем в реальных применениях их пики поглощения сдвигают в ИК-область с помощью изменения формы наноструктур (наностержни, наночастицы типа ядро-оболочка и др.) [4]. Однако использование подобных подходов все равно имеет ряд серьезных ограничений по применимости.

Более перспективным способом добиться высокого поглощения в окне прозрачности биологических тканей может стать использование альтернативных плазмонных наноматериалов на основе нитридов переходных металлов IV группы (TiN, ZrN, HfN) [5–7]. Существует большое количество экспериментальных работ, подтверждающих высокую эффективность НЧ TiN в задачах ФТТ и ФАВ [5, 8]. В то же время, теоретические работы предсказывают, что НЧ ZrN должны иметь более перспективные оптические свойства, чем НЧ TiN [9]. При этом, НЧ ZrN остаются наименее исследованным материалом в этом классе, и данная работа призвана заполнить этот пробел.

Существующие методы синтеза НЧ ZrN [6, 9] оставляют нерешенными проблемы получения частиц с подходящей геометрией, составом, чистотой, а также хорошей диспергируемостью в водных средах для применений в задачах биомедицины. В этом контексте ИЛАЖ [10] представляет особый интерес. Данный метод синтеза позволяет, с одной стороны, обойти ограничения химических подходов, связанные с загрязнением поверхности НЧ остатками прекурсоров и побочными продуктами реакций и вызванными этим токсическими эффектами, а с другой стороны, предлагает значительную простоту и гибкость синтеза, позволяющие производить стабильные коллоидные растворы чистых НЧ с контролируемыми физико-химическими свойствами практически из любых материалов [8, 11–18].

В данной работе мы приводим результаты исследования зависимости основных характеристик (оптические, размерные, морфологические свойства, а также коллоидная стабильность) лазерно-синтезированных НЧ ZrN от типа используемой жидкой среды.

Материалы и методы. Синтез НЧ на основе ZrN проводился методом ИЛАЖ, разработанным нами в предыдущих работах [19–21]. Спрессованная мишень ZrN

(GoodFellow, США, чистота 99.999%) была расположена вертикально внутри стеклянной кюветы, заполненной 20 мл жидкости. Было использовано 6 различных жидких сред – ацетонитрил, ацетон, этанол, изопропанол, диметилформамид (ДМФ), а также деионизованная вода. Лазерное излучение, источником которого служил Yb:KGW лазер ТЕТА-20 (длина волны 1030 нм, длительность импульса 270 фс, энергия импульса 20 мкДж, частота повторения 200 кГц, Авеста, Россия), через систему зеркал направлялось в гальванометрический сканатор LScan-10 (Атеко-ТМ, Россия), перемещающий излучение по поверхности мишени со скоростью 4 м/с. Излучение фокусировалось на поверхности мишени плоскопольным (Ф-тета) 100 мм объективом. Толщина слоя жидкости по ходу луча составляла 3 мм. Продолжительность одного синтеза для всех типов жидкой среды составляла 10 мин. Полученные коллоидные растворы собирались после синтеза и исследовались без каких-либо дополнительных этапов постобработки.

Спектры оптической экстинкции коллоидных растворов НЧ ZrN были сняты в спектральном диапазоне 330–1100 нм с помощью спектрофотометра ML122 (SOL Instruments, Беларусь). Распределения гидродинамического размера НЧ были измерены методом динамического светорассеяния (ДРС) с помощью прибора Zetasizer ZS (Malvern Instruments, Англия). Для характеристики оптических и гидродинамических свойств полученных НЧ были использованы стеклянные кюветы с 10 мм оптическим путем. Анализ морфологии поверхности НЧ проводился с помощью сканирующего электронного микроскопа (СЭМ) MAIA 3 (Tescan, Чешская Республика) при ускоряющем напряжении 30 кВ. Размерные распределения синтезированных НЧ были построены путем анализа СЭМ-изображений в программной среде ImageJ.

Результаты и их обсуждение. В работе был отработан синтез НЧ ZrN в различных типах жидких сред. Подобный выбор жидкостей для синтеза обусловлен наиболее широкой их распространенностью среди работ, посвященных тематике синтеза наноматериалов методом ИЛАЖ, а также различным содержанием кислорода в химическом составе каждого из используемых растворителей, которое зачастую влияет на свойства формирующихся в процессе лазерной абляции частиц [19]. Критериями оценки НЧ служили оптические, размерные и морфологические свойства, а также коллоидная стабильность полученных растворов. В ходе синтеза раствор постепенно окрашивался в различные оттенки синего цвета, что служило индикацией формирования НЧ ZrN (рис. 1(а)). При синтезе НЧ ZrN в ацетонитриле, ацетоне, этаноле, изопропанолу и ДМФ у коллоидных растворов наблюдается явно выраженный плазмонный пик с максимумом

мом на 634 нм, 606 нм, 592 нм, 614 нм и 622 нм, соответственно (рис. 1(б)). Однако НЧ, полученные в деионизованной воде, не обладают плазмонным пиком, что, скорее всего, свидетельствует об окислении НЧ в процессе синтеза. Окисление НЧ – негативный с точки зрения биомедицинских применений эффект, так как оно влечёт за собой уменьшение эффективности поглощения рентгеновского излучения [25, 26], что делает НЧ ZrN, синтезированные в воде, малоэффективными для поглощения ИК-излучения и использования в ФТТ и ФАВ.

Таким образом, среди всех исследуемых образцов наибольшим перекрытием плазмонного пика с первым окном прозрачности биологических тканей обладают НЧ, полученные в ацетонитриле. Мы связываем этот результат с уменьшением окисления НЧ, вызванным отсутствием атомов кислорода в составе молекул ацетонитрила (химическая формула CH_3CN). Наибольшей оптической плотностью также обладал образец НЧ, полученных в ацетонитриле, что косвенно указывает на наибольшую производительность синтеза НЧ ZrN в этой жидкости.

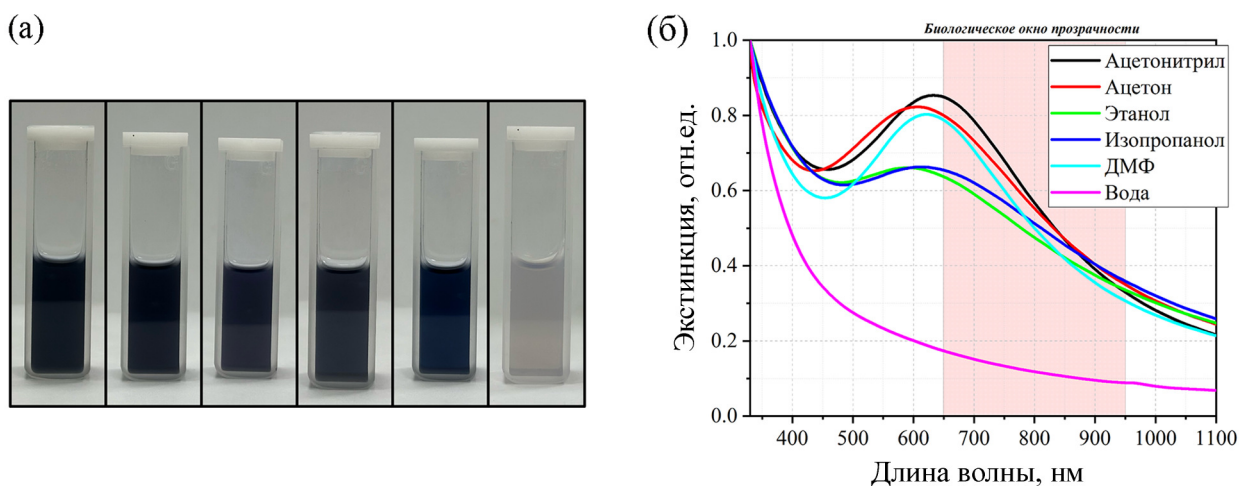


Рис. 1: Оптические свойства НЧ ZrN: (а) фотографии растворов (слева направо – ацетонитрил, ацетон, этанол, изопропанол, ДМФ, вода); (б) спектры экстинкции.

Размеры НЧ обуславливают не только коллоидную стабильность и их оптические свойства, но и сильно влияют на эффективность клеточной интернализации и длительность циркуляции в кровотоке [17]. Оптимальным размером (диаметром) НЧ для *in vivo* применений считается диапазон от 8 до 50–80 нм [24]. Это обусловлено тем, что НЧ меньше 8 нм быстро выводятся из организма через систему почечной клубочковой фильтрации, а эффективность “отлова” НЧ из кровотока системой макрофагов и их

последующее выведение из организма быстро возрастает с увеличением размера [25]. Кроме того, многие механизмы клеточной интернализации становятся неэффективными для НЧ с размерами, приближающимися к 100 нм и более.

Анализ СЭМ-изображений показал, что мода размерного распределения НЧ ZrN, полученных в ацетонитриле, ацетоне, этаноле, изопропаноле, ДМФ и деионизованной воде, составила 29 нм, 29 нм, 29 нм, 32 нм, 32 нм, 30 нм, соответственно (рис. 2). Большинство НЧ обладали сферической формой вне зависимости от типа жидкости, в которой они были синтезированы. Однако синтез в спиртах и воде привел к формированию небольшого (до 10%) количества НЧ неправильной формы. Тем не менее, существенных различий в размере и морфологии среди всех образцов полученных НЧ не наблюдалось.

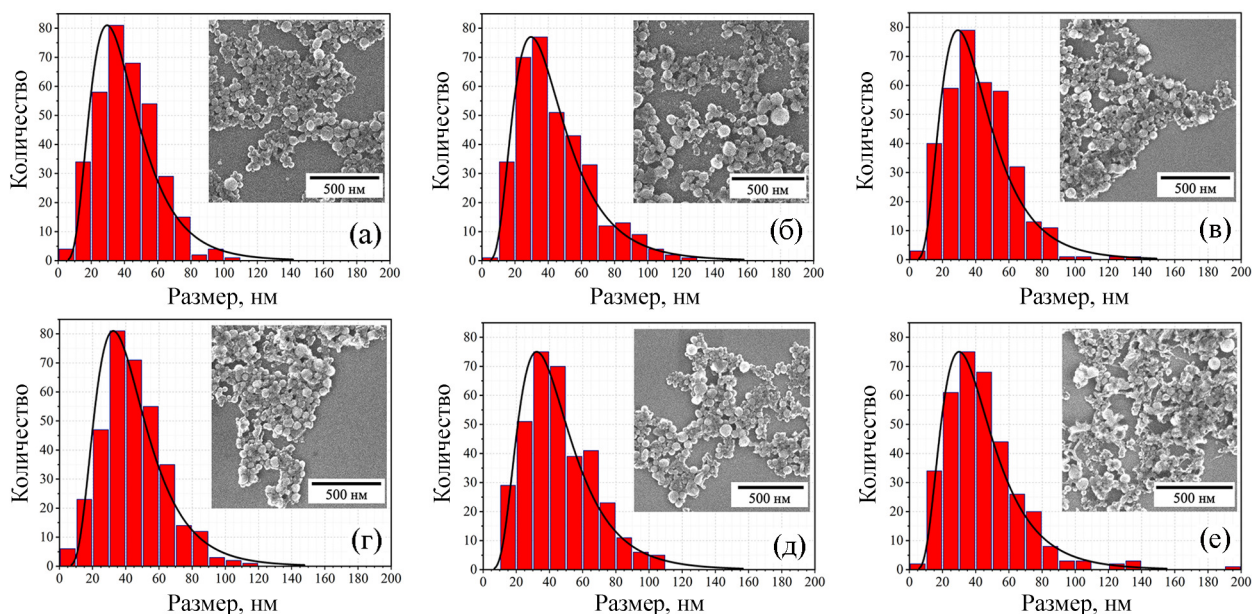


Рис. 2: Размерные распределения и изображения НЧ ZrN, синтезированных в (а) ацетонитриле, (б) ацетоне, (в) этаноле, (г) изопропаноле, (д) ДМФе, (е) воде.

Были измерены распределения гидродинамических размеров НЧ ZrN, полученных методом ИЛАЖ (рис. 3). Пик моды распределения гидродинамического диаметра располагался на 35 нм, 44 нм, 38 нм, 30 нм, 31 нм, 57 нм для НЧ, полученных в ацетонитриле, ацетоне, этаноле, изопропаноле, ДМФ и воде, соответственно. Отличия данных СЭМ и гидродинамического диаметра НЧ обуславливаются спецификой измерения методом ДРС, которая не позволяет учитывать мелкие фракции НЧ на фоне более крупных.

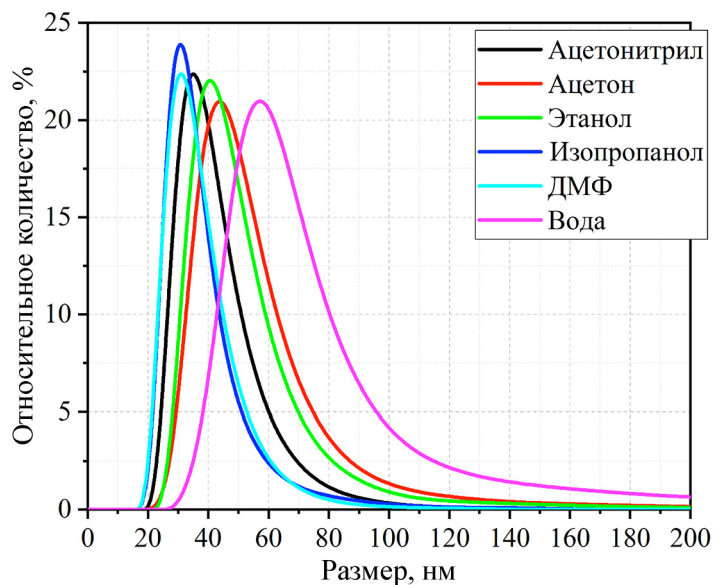


Рис. 3: Распределение гидродинамического размера НЧ ZrN.

Помимо этого, была изучена коллоидная стабильность всех полученных растворов. Наибольшей стабильностью обладали НЧ, синтезированные в ацетонитриле, ацетоне, изопропаноле и деионизованной воде. НЧ, синтезированные в этаноле, в течение 30 мин начинали агломерировать и выпадать в осадок на дно пробирки. НЧ, полученные в ДМФ, выпадали в осадок в течение 4-5 суток после синтеза. Остальные образцы сохраняли коллоидную стабильность в течение, как минимум, нескольких недель.

Таким образом, НЧ ZrN, синтезированные методом ИЛАЖ в ацетонитриле, имеют самое высокое поглощение в окне прозрачности биологических тканей среди всех исследованных образцов. При этом данные НЧ обладали наименьшей модой размерного распределения (29 нм). НЧ, полученные в ацетонитриле и ацетоне, показывают отличную коллоидную стабильность – частицы не агломерируют как минимум в течение 2 месяцев после синтеза, что делает их крайне перспективными для биомедицинских применений в качестве сенсibilизаторов ФТТ и контрастных агентов в ФАВ.

Заключение. В рамках данной работы были исследованы оптические, размерные и морфологические свойства НЧ ZrN, синтезированных в 6 различных типах жидкостей. Проведен сравнительный анализ свойств всех образцов, в результате которого было установлено, что НЧ, полученные в ацетонитриле и ацетоне, обладают наибольшим потенциалом для их дальнейшего использования в качестве сенсibilизаторов ФТТ, а также других неинвазивных методов диагностики и лечения раковых опухолей.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках соглашения № 075-15-2021-1347.

Авторы выражают благодарность за предоставление научной инфраструктуры для проведения исследований в рамках гранта FSWU-2023-0070.

Л И Т Е Р А Т У Р А

- [1] M. Grigalavicius, M. Mastrangelopoulou, K. Berg, et al., *Nat. Commun.* **10**, 3986 (2019). DOI: 10.1038/s41467-019-12042-7.
- [2] Y. Liu, P. Bhattarai, Z. Dai, X. Chen, *Chem. Soc. Rev.* **48**, 2053 (2019). DOI: 10.1039/C8CS00618K.
- [3] P. Wust, B. Hildebrandt, G. Sreenivasa, et al., *Lancet. Oncol.* **3**, 487 (2002). DOI: 10.1016/S1470-2045(02)00818-5.
- [4] J. Pérez-Juste, I. Pastoriza-Santos, L. M. Liz-Marzán, P. Mulvaney, *Coord. Chem. Rev.* **249**, 1870 (2005). DOI: 10.1016/j.ccr.2005.01.030.
- [5] W. He, K. Ai, C. Jiang, et al., *Biomaterials* **132**, 37 (2017). DOI: 10.1016/j.biomaterials.2017.04.007.
- [6] H. Wang, J. Li, K. Li, et al., *Chem. Soc. Rev.* **50**, 1354 (2021). DOI: 10.1039/D0CS00415D.
- [7] K. Biliak, M. Protsak, P. Pleskunov, et al., *ACS Appl. Nano. Mater.* **6**, 21642 (2023). DOI: 10.1021/acsanm.3c03662.
- [8] A. A. Popov, G. Tselikov, N. Dumas, et al., *Sci. Rep.* **9**, 1194 (2019). DOI: 10.1038/s41598-018-37519-1.
- [9] A. Lalissee, G. Tessier, J. Plain, G. Baffou, *Sci. Rep.* **6**, 38647 (2016). DOI: 10.1038/srep38647.
- [10] A. Fojtik, A. Henglein, *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.* **97**, 252 (1993).
- [11] J. C. Bulmahn, G. Tikhonowski, A. A. Popov, et al., *Nanomater.* **10**, 1463 (2020). DOI: 10.3390/nano10081463.
- [12] A. Al-Kattan, G. Tselikov, K. Metwally, et al., *Nanomater.* **11**, 592 (2021). DOI: 10.3390/nano11030592.
- [13] A. I. Pastukhov, I. B. Belyaev, J. C. Bulmahn, et al., *Sci. Rep.* **12**, 9129 (2022). DOI: 10.1038/s41598-022-13066-8.

- [14] O. Yu. Griaznova, I. B. Belyaev, A. S. Sogomonyan, et al., *Pharmaceutics* **14**, 994 (2022). DOI: 10.3390/pharmaceutics14050994.
- [15] A. A. Popov, Z. Swiatkowska-Warkocka, M. Marszalek, et al., *Nanomaterials* **12**, 649 (2022). DOI: 10.3390/nano12040649.
- [16] A.-L. Bailly, F. Correard, A. Popov, et al., *Sci. Rep.* **9**, 12890 (2019). DOI: 10.1038/s41598-019-48748-3.
- [17] I. V. Zelepukin, A. A. Popov, V. O. Shipunova, et al., *Mater. Sci. Eng. C* **120**, 111717 (2021). DOI: 10.1016/j.msec.2020.111717.
- [18] G. I. Tselikov, G. A. Ermolaev, A. A. Popov, et al., *PNAS* **119**, (2022). DOI: 10.1073/pnas.2208830119.
- [19] A. A. Popov, G. V. Tikhonowski, P. V. Shakhov, et al., *Nanomater.* **12**, 1672 (2022). DOI: 10.3390/nano12101672.
- [20] М. С. Савинов, О. Ю. Грязнова, Г. В. Тихоновский и др., *Квантовая электроника* **53**(7), 575 (2023). DOI: 10.3103/S1068335623220141.
- [21] I. N. Zavestovskaya, A. L. Popov, D. D. Kolmanovich, et al., *Nanomater.* **13**, 2167 (2023). DOI: 10.3390/nano13152167.
- [22] G. Song, L. Cheng, Y. Chao, et al., *Advanced Materials* **29**, 1700996 (2017). DOI: 10.1002/adma.201700996.
- [23] J.C. De La Vega, U.O. Häfeli, *Contrast Media Mol. Imaging* **10**, 81 (2015). DOI: 10.1002/cmml.1613.
- [24] N. Hoshyar, S. Gray, H. Han, G. Bao, *Nanomedicine* **11**, 673 (2016). DOI: 10.2217/nnm.16.5.
- [25] R. A. Petros, J. M. DeSimone, *Nat. Rev. Drug. Discov.* **9**, 615 (2010). DOI: 10.1038/nrd2591.

Поступила в редакцию 12 июля 2024 г.

После доработки 2 августа 2024 г.

Принята к публикации 5 августа 2024 г.