



**Tézisfüzet**

# **Szilika Nanoanyagok Szintézise Orvosbiológiai és Méréstudományi Felhasználásra**

**Pálmai Marcell**

MAGYAR TUDOMÁNYOS AKADÉMIA, TERMÉSZETTUDOMÁNYI  
KUTATÓKÖZPONT, BIOLÓGIAI NANOKÉMIA KUTATÓCSOPORT

Témavezető: **Dr. Kremmer Tibor**  
Konzulens: **Nagyné Dr. Naszályi Livia**

EÖTVÖS LORÁND TUDOMÁNYEGYETEM, KÉMIA INTÉZET, KÉMIA  
DOKTORI ISKOLA

Iskolavezető: **Dr. Császár Attila**

ANALITIKAI KÉMIA, ANYAGTUDOMÁNY, ELEKTROKÉMIA,  
KOLLOIDKÉMIA ÉS KÖRNYEZETKÉMIA PROGRAM

Programvezető: **Dr. Kiss Éva**

**2017**



## 1. Bevezetés

Az elmúlt két évtizedben jelentősen megnőtt a különféle szilika nanorendszerek kifejlesztésével és vizsgálatával foglalkozó kutatások száma. Ennek egyik legfőbb oka, hogy a szilika egy sokoldalú és rendkívül széles felhasználási körrel rendelkező vegyület (pl. élelmiszeripar, gyógyszeripar, gumigyártás), továbbá olcsó és könnyen előállítható. A nanotechnológia, ill. nanokémia alkalmazásával/adaptálásával a már meglévő termékek, eljárások tökéletesíthetők, ill. fejleszthetők, valamint eddig ismeretlen és különleges felhasználási területek nyerhetők.

A nanoszilikák szintézise során a részecskék mérete és alakja jól szabályozható, felületük pedig a felhasználási céltól függően sokféleképpen módosítható. Az orvosbiológiai és a méréstudományi felhasználásra készült részecskékkel szemben támasztott legfontosabb követelmények az uniformitás (megfelelően szűk méreteloszlás), valamint a felhasználási közegben megőrzött kolloidstabilitás. Orvosbiológiai szempontból további fontos elvárás a részecskék biokompatibilitása és a biodegradabilitás.

Ezek az új alkalmazási területek azonban az eddigiektől eltérő, a speciális elvárásokat figyelembe vevő szintézis módszerek és az elkészült nanoanyagok jellemzésére alkalmas új eljárások kidolgozását igénylik. Doktori munkám célja új szilika alapú nanoanyagok előállítása orvosbiológiai és méréstudományi felhasználásra, nedves kolloid kémiai eljárások felhasználásával, továbbá az elkészült részecskék széleskörű fiziko-kémiai jellemzése.

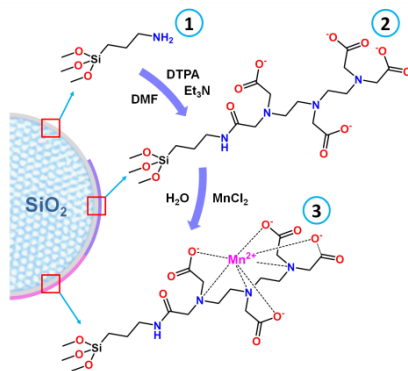
## 2. Kísérleti módszerek

### 2.1 Aminopropil-szilika nanorészecskék előállítása és jellemzése

A 20 nm-es átlagos átmérővel rendelkező szilika nanorészecskék előállítására Stöber módszerét használtam. A natív részecskéket 3-aminopropil-dietoxi-metilszilánnal (APDEMS) felületmódosítottam. Vizsgáltam az ecetsav mennyiségének méreteloszlásra gyakorolt hatását és tanulmányoztam az elreagálatlan felületmódosítószer eltávolítására alkalmas tisztítási eljárásokat. Elvégeztem továbbá a részecskék széleskörű fiziko-kémiai jellemzését.

### 2.2 Mikropórusos szilika alapú MRI kontrasztanyag előállítása és jellemzése

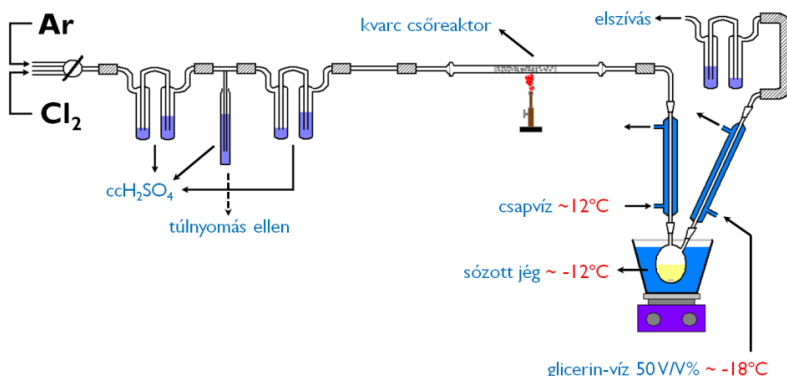
A 84 nm-es átlagos átmérővel rendelkező mikropórusos szilika nanorészecskék előállítására irodalmi módszert használtam. A reakció végén az elreagálatlan szilika prekursor eltávolítása érdekében etanolos-ecetsavval dializáltam a részecskéket. Kalcinálás után első lépésben elvégeztem a natív részecskék amino-felületmódosítását, amit a kelátor (pentaecetsav-anhidrid) felkapcsolása követett (1. ábra). Végül a kelátorokkal borított szilika nanorészecskéket  $Mn^{2+}$ -ionokkal komplexáltam. A széleskörű fiziko-kémiai jellemzés után a részecskék *in vitro* és *in vivo* MRI tulajdonságait vizsgáltam.



1. ábra Mikropórusos szilika nanorészecskék felületmódosítási lépesei.

### 2.3 Si-29 szilika nanorészecskék előállítása és jellemzése

A Si-29 izotópdúsított szilícium-tetrakloridot (<sup>29</sup>SiCl<sub>4</sub>) majd ebből a tetraetil-ortoszilikátot (<sup>29</sup>Si(OEt)<sub>4</sub>, TEOS) irodalmi eljárások módosításával elemi szilícium-29-ből állítottam elő. A jelentős párolgási veszteség csökkentésére három lépcsős intenzív hűtőrendszert alkalmaztam, valamint a szedőlombikba szén-tetrakloridot tettem, ezáltal növelve a <sup>29</sup>SiCl<sub>4</sub> forráspontját és térfogatát (2.ábra).



2. ábra <sup>29</sup>SiCl<sub>4</sub> előállítására használt berendezés sematikus rajza.

A  $^{29}\text{Si}(\text{OEt})_4$  előállítása közben keletkező sósavat az irodalomban leírtaktól eltérően trietilaminnal ( $\text{Et}_3\text{N}$ ) semlegesítettem és a keletkező  $\text{Et}_3\text{N}\cdot\text{HCl}$  sót szűréssel távolítottam el. A Si-29 szilika nanorészecskék előállítására Hartlen módszerét használtam, amellyel kisméretű, szűk méreteloszlású részecskék állíthatók elő. A részecskék fiziko-kémiai jellemzése után FFF/MALS/-ICP-MS előkísérleteket végeztem.

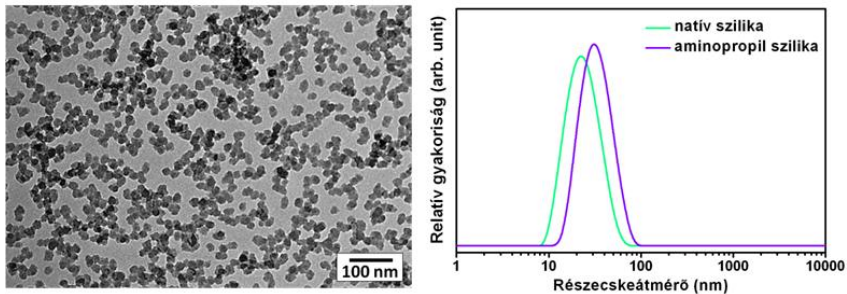
## **2.4 Üreges szilika részecskék előállítása és jellemzése**

A 200 és 400 nm-es névleges átmérővel rendelkező üreges organoszilika részecskéket két irodalmi eljárás ötvözésével állítottam elő. Templátként kereskedelmi forgalomban kapható szilika részecskéket, szilika prekursorként bisz-trietoxiszilil-etánt (BTEE), bázis katalizátorként pedig L-arginint használtam. A szilanizálószer reakciójának lassítását kis mennyiségű ciklohexán hozzáadásával valósítottam meg. A templát részecskéket NaOH felhasználásával távolítottam el. Végül elvégeztem a részecskék fiziko-kémiai jellemzését.

### 3. Eredmények

#### 3.1 Aminopropil-szilika nanorészecskék előállítása és jellemzése

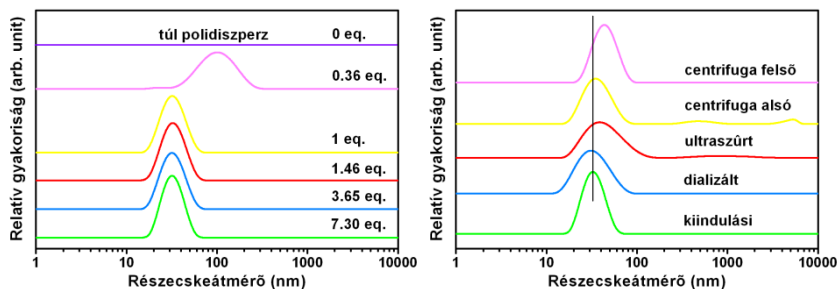
Új eljárást dolgoztam ki 20 nm-es átlagos átmérővel rendelkező Stöber szilika nanorészecskék aminopropil-láncokkal történő kovalens felületmódosítására. Egy kevésbé reaktív és polikondenzációra kevésbé hajlamos szilanizálószer (APDEMS), valamint kis mennyiségű ecetsav felhasználásával sikerült megakadályoznom a részecskék aggregációját. A TEM, DLS (3. ábra) és SAXS mérések eredményei alapján megállapítható, hogy a részecskék megőrizték szűk méreteloszlásukat a felületmódosítás során. A kovalens felületmódosítást az FTIR és a szilárd fázisú NMR mérések igazolták.



3. ábra 20 nm-es aminopropil-szilika nanorészecskék TEM felvétele (balra) és DLS mérésekből kapott méreteloszlás függvények.

Vizsgáltam az ecetsav mennyiségének méreteloszlásra gyakorolt hatását (4. ábra). Kimutattam, hogy a felületmódosítószerekhez képest ekvivalens mennyiségben adott ecetsav elegendő a részecskék szűk méreteloszlásának megőrzéséhez.

Összehasonlítottam az elreagálatlan szilanizációszer eltávolítására alkalmas tisztítási eljárásokat (4. ábra). Azt találtam, hogy a centrifugálás ilyen kisméretű részecskéknél jelentős aggregációt és veszteséget okoz, az ultraszűrés kismértékű aggregációt és veszteséget okoz, míg a dialízis nem okoz sem aggregációt sem veszteséget.

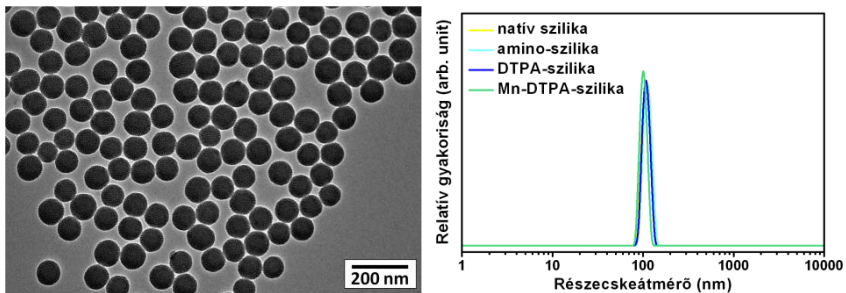


4. ábra Az ecetsav (balra) és az egyes tisztítási eljárások 20 nm-es aminopropil-szilika nanorészecskék méreteloszlására gyakorolt hatása.

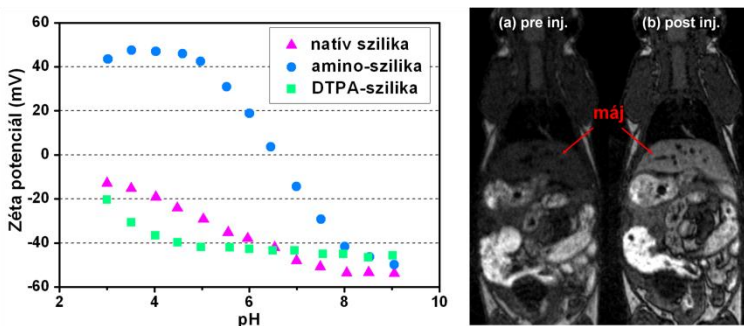
### 3.2 Mikropórusos szilika alapú MRI kontrasztanyag előállítása és jellemzése

Új eljárást dolgoztam ki 84 nm-es átlagos átmérővel rendelkező mikropórusos szilika nanorészecskék (5. ábra)  $Mn^{2+}$ -ionokkal történő felületmódosítására. Az elreagálatlan szilika prekuzort dialízissel távolítottam el, így sikerült mind a fajlagos felületet mind a mikropórusok ösztérfogatát jelentősen megnövelnem. Az egyes felületmódosítási reakciók során a részecskék nem aggregálódtak és sikerült megőrizni szűk méreteloszlásukat (5. ábra). A felületmódosításokat FTIR és zéta-potenciál mérésekkel igazoltam. Az elvégzett *in vitro* és *in vivo* MRI kísérletek igazolták a részecskék máj specifikus MRI kontrasztanyagként való alkalmazhatóságát (6. ábra).





5. ábra 84 nm-es mikropórusos szilika nanorészecskék TEM felvétele (balra) és DLS mérésekből kapott méreteloszlás függvények.

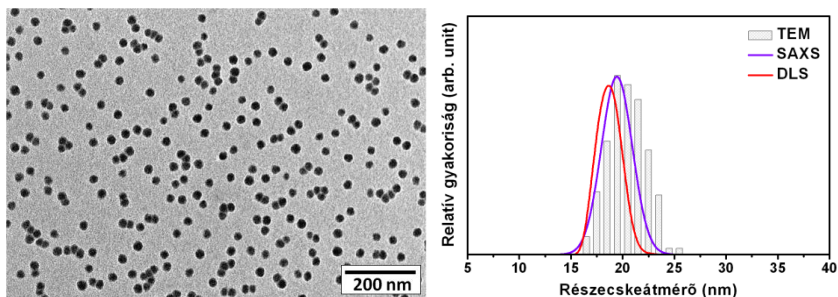


6. ábra Mikropórusos szilika nanorészecskék zéta potenciáljának pH függése (balra) és Mn<sup>2+</sup>-ionokkal felületmódosított részecskék *in vivo* MRI kísérlete.

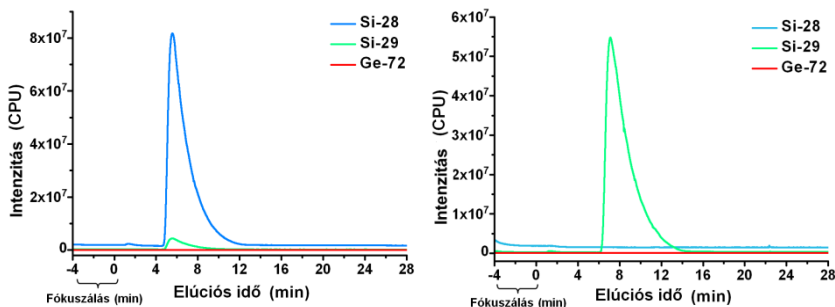
### 3.3 Si-29 szilika nanorészecskék előállítás és jellemzése

Kidolgoztam a <sup>29</sup>SiCl<sub>4</sub> és a <sup>29</sup>Si(OEt)<sub>4</sub> előállítását elemi szilícium-29-ből kiindulva. Három lépcsős intenzív hűtőrendszer alkalmazásával, valamint a szedőlombikba tett szén-tetrakloriddal jelentősen lecsökkentettem a <sup>29</sup>SiCl<sub>4</sub> párolgásából származó veszteséget (2. ábra). A kapott <sup>29</sup>Si(OEt)<sub>4</sub> felhasználásával Hartlen módszerével Si-29 izotópdúsított szilika

nanorészecskéket állítottam elő (7. ábra). A TEM, DLS és SAXS mérések eredményei alapján megállapítható, hogy a részecskék szűk méreteloszlásúak (7. ábra). Az FFF/MALS-ICP-MS mérések igazolták, hogy az előállított részecskék nem tartalmaznak Si-28 izotópokat (8. ábra).



7. ábra Si-29 szilika nanorészecskék TEM felvétele (balra) és TEM, SAXS és DLS mérésekből kapott méreteloszlások.

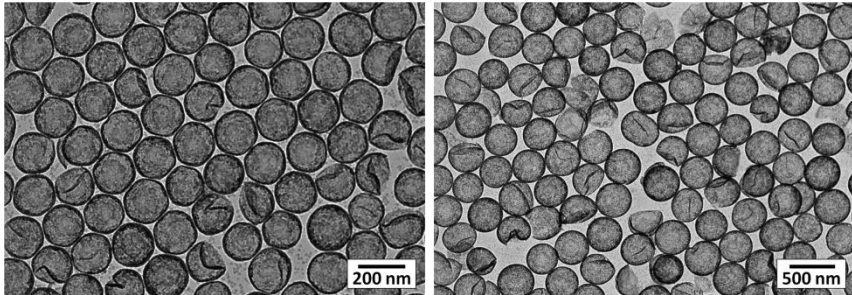


8. ábra FFF/MALS-ICP-MS mérések természetes izotóp eloszlású (balra) és Si-29 izotópdúsított szilika nanorészecskéken.

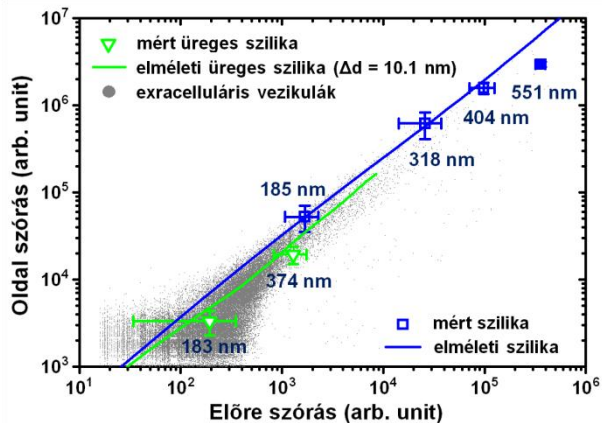
### 3.4 Üreges szilika részecskék előállítása és jellemzése

Új eljárást dolgoztam ki 200 és 400 nm-es névleges átmérővel rendelkező üreges organoszilika részecskék előállítására (9. ábra). A szilanizálószer reakciójának hexánnal történő lassításával egyenletes vastagságú

organoszilika réteget sikerült leválasztanom a templát részecskék felületére. A DLS és a zéta potenciál mérések alapján a kapott üreges organoszilika részecskék szűk méreteloszlásúak és kolloidstabilitásuk kiváló (~ -55 mV; pH 7.4). Az áramlási citometriás mérések igazolták a részecskék méret standardként való alkalmazhatóságát.



9. ábra 200 (balra) és 400 nm-es névleges átmérővel rendelkező üreges organoszilika részecskék TEM felvételei.



10. ábra 200 és 400 nm-es névleges átmérővel rendelkező üreges organoszilika részecskéken végzett áramlási citometriás mérések eredményei.

## Tézisek

1. Új a kolloidstabilitását megőrző eljárást dolgoztam ki szilika nanorészecskék amino-felületmódosítására. A reakció idejének pontos szabályozását illetve a felületmódosított részecskék stabilitását ecetsav injektálásával biztosítottam. Összehasonlítottam az elreagálatlan felületmódosítószer eltávolítására alkalmas elválasztási eljárásokat, és megmutattam, hogy az 50 nm-nél kisebb méretű részecskék esetén a dialízis a legmegfelelőbb. (Pálmai et al., 2013)
2. Új, kétlépéses felületmódosítási eljárást dolgoztam ki mangán(II) ionok mikropórusos szilika nanorészecskéken történő komplexálásának céljából. Első lépésben elvégeztem az amino-felületmódosítást, amit a kelátor (pentaecetsav, DTPA) kapcsolása követett. Elvégeztem a részecskék széles körű fiziko-kémiai jellemzését. (Pálmai et al., 2017)
3. Kidolgoztam a Si-29 TEOS totálszintézisét, aminek felhasználásával 20 nm-es átlagos átmérővel rendelkező izotópdúsított nanorészecskéket állítottam elő. A részecskéket széleskörűen jellemeztem, és demonstráltam a részecskék mérés technikai alkalmazhatóságát FFF-/MALS/ICP-MS mérésekkel. (Pálmai et al., 2015)
4. Új eljárást dolgoztam ki üreges organoszilika részecskék előállítására BTEE prekursor, L-arginin katalizátor és ciklohexán segédoldószer felhasználásával. A részecskéket széleskörűen jellemeztem és demonstráltam, hogy az üreges organoszilika részecskék alkalmasak extracelluláris vezikulák áramlási citometriával történő detektálásához szükséges referencia részecskéként való felhasználásra.

## Publikációk

### Folyóiratcikkek

**M. Pálmai**, A. Pethő, L.N. Nagy, S. Klébert, Z. May, J. Mihály, A. Wacha, K. Jemnitz, Z. Veres, I. Horváth, K. Szigeti, D. Máthé, Z. Varga, Direct immobilization of manganese chelates on silica nanospheres for MRI applications, *J. Colloid Interface Sci.* 498 (2017) 298–305. DOI:10.1016/j.jcis.2017.03.053. IF 3,782

C. Gollwitzer, D. Bartczak, H. Goenaga-Infante, V. Kestens, M. Krumrey, C. Minelli, **M. Pálmai**, Y. Ramaye, G. Roebben, A. Sikora, Z. Varga, A comparison of techniques for size measurement of nanoparticles in cell culture medium, *Anal. Methods.* 8 (2016) 5272–5282. DOI:10.1039/C6AY00419A. IF 1,915

**M. Pálmai**, R. Szalay, D. Bartczak, Z. Varga, L.N. Nagy, C. Gollwitzer, M. Krumrey, H. Goenaga-Infante, Total synthesis of isotopically enriched Si-29 silica NPs as potential spikes for isotope dilution quantification of natural silica NPs, *J. Colloid Interface Sci.* 445 (2015) 161–165. DOI:10.1016/j.jcis.2014.12.085. IF 3,782

A. Sikora, D. Bartczak, D. Geißler, V. Kestens, G. Roebben, Y. Ramaye, Z. Varga, **M. Pálmai**, A.G. Shard, H. Goenaga-Infante, A systematic comparison of different techniques to determine the zeta potential of silica nanoparticles in biological medium, *Anal. Methods.* 7 (2015) 9835–9843. DOI:10.1039/C5AY02014J. IF 1,915

G. Roebben, V. Kestens, Z. Varga, J. Charoud-Got, Y. Ramaye, C. Gollwitzer, D. Bartczak, D. Geißler, J. Noble, S. Mazoua, N. Meeus, P. Corbisier, **M. Pálmai**, J. Mihály, M. Krumrey, J. Davies, U. Resch-Genger, N. Kumarswami, C. Minelli, A. Sikora, H. Goenaga-Infante, Reference materials and representative test materials to develop nanoparticle characterization methods: the NanoChOp project case, *Front. Chem.* 3 (2015). DOI:10.3389/fchem.2015.00056.

**M. Pálmai**, L.N. Nagy, J. Mihály, Z. Varga, G. Tárkányi, R. Mizsei, I.C. Szigyártó, T. Kiss, T. Kremmer, A. Bóta, Preparation, purification, and characterization of aminopropyl-functionalized silica sol, *J. Colloid Interface Sci.* 390 (2013) 34–40. DOI:10.1016/j.jcis.2012.09.025. IF 3,782

## Egyéb folyóiratcikkek

**M. Pálmai**, E.M. Zahran, S. Angaramo, S. Bálint, Z. Pászti, M.R. Knecht, L.G. Bachas, Pd-decorated m-BiVO<sub>4</sub>/BiOBr ternary composite with dual heterojunction for enhanced photocatalytic activity, *J. Mater. Chem. A* 5 (2017) 529–534. DOI:10.1039/c6ta08357a. IF 8,262

J. Mink, L. Hajba, J. Mihály, C. Németh, **M. Pálmai**, M. Sandström, Vibrational Spectroscopic Studies of Molecules with Biochemical Interest: The Cysteine Zwitterion, *Appl. Spectrosc. Rev.* 47 (2012) 415–483. DOI:10.1080/05704928.2012.666774. IF 4,617

## Előadások

**Pálmai M.**, Nagyné Naszályi L., Mihály J., Varga Z., Tárkányi G., Lőrincz A., Szigyártó I., Kiss T., Kremmer T., Bóta A.: Bifunkciós szilika nanorészecskék előállítása és jellemzése, Kémiai Előadói Napok, Szeged 2012

**Pálmai M.**, Nagyné Naszályi L., Mihály J., Varga Z., Tárkányi G., Lőrincz A., Szigyártó I., Kiss T., Kremmer T., Bóta A.: Bifunkciós szilika nanorészecskék előállítása és jellemzése, Kálmán Erika Doktori Konferencia, Mátraháza 2012

**M. Pálmai**, L. Naszályi Nagy, J. Mihály, I. Szigyártó, G. Tárkányi, P. Németh, T. Kremmer: Preparation, purification and characterization of amino-functionalized silica sol, 4th European Conference on Chemistry for Life Sciences (4ECCLS), Budapest 2011

**Pálmai M.**, Naszályi Nagy L., Mihály J., Szigyártó I., Németh P., Kremmer T.: Aminopropil funkcionizált szilika szol előállítása és jellemzése, Kémiai Előadói Napok, Szeged 2010

## Poszterek

**M. Pálmai**, D. Bartczak, R. Szalay, L. Naszályi Nagy, Z. Varga, A. Bóta, H. Goenaga-Infante: Total synthesis of Si-29 isotopically enriched silica NPs to use as spikes for accurate quantification of natural silica NPs in biological matrices, Nanosmat USA, Houston 2014

**M. Pálmai**, L. Naszályi Nagy, J. Mihály, Z. Varga, G. Tárkányi, A. Lőrincz, T. Kiss, I. Szigyártó, A. Bóta, T. Kremmer: Bifunctional silica nanoparticles bearing aminopropyl and squaric acid functional groups, Colloids and Nanomedicine, Amsterdam 2012

**M. Pálmai**, L. Naszályi Nagy, T. Kiss, A. Lőrincz, J. Mihály, I. Szigyártó, G. Tárkányi, Z. Varga, A. Bóta: Bifunctional silica nanoparticles bearing aminopropyl and squaric acid functional groups, 3rd International Congress: Nanotechnology in Medicine and Biology (BioNanoMed 2012), Krems 2012

**M. Pálmai**, T. Kremmer, L. Naszályi Nagy, J. Mihály: Size Exclusion Chromatography of Silica-based Nanoparticles, HPLC 2011, Budapest 2011

**Pálmai M.**, Kremmer T., Naszályi Nagy L., Mihály J., Németh P.: Méret szerinti elválasztású folyadékkromatográfia (SEC) alkalmazása szilika nanorészecskék vizsgálatában, Elválasztástudományi Vándorgyűlés, Tapolca 2010