

Tarnkappen-Technologie für leuchtende Nanopartikeln

Stephan, H.; Zarschler, K.;

Originally published:

October 2019

GIT Labor-Fachzeitschrift (2019)8, 55-57

Perma-Link to Publication Repository of HZDR:

<https://www.hzdr.de/publications/Publ-28649>

Release of the secondary publication
on the basis of the German Copyright Law § 38 Section 4.

Tarnkappen-Technologie für leuchtende Nanopartikeln

Auf dem Weg zu verhüllten Nanomaterialien

Aufgrund ihrer außergewöhnlichen Eigenschaften gewinnen Nanomaterialien zunehmend an Bedeutung für medizinische Anwendungen. Insbesondere sehr kleine Nanomaterialien mit einer Größe < 10 nm können als ideale Transportvehikel betrachtet werden, weil sie über den Blutkreislauf im Körper überall hin gelangen können.

Eine spezifische Tumoranreicherung kann durch eine entsprechende Oberflächengestaltung der Nanoteilchen erreicht werden. Ihre intrinsischen Eigenschaften ermöglichen deren Einsatz für die nichtinvasive Bildgebung. In diesem Zusammenhang gewinnen sogenannte Upconverting Nanoparticles (UCNPs), also „aufwärtskonvertierende“ Nanoteilchen, an Bedeutung, weil sie u. a. eine intensive Lumineszenz aufweisen und damit sehr gut in biologischen Systemen detektierbar sind. Bisher ist allerdings nur wenig über das Verhalten derartiger anorganischer Nanoteilchen in einer komplexen biologischen Umgebung bekannt. Ein erfolgreicher Einsatz in der Medizin scheitert gegenwärtig u. a. an einer unzureichenden *In-Vitro*- und *In-Vivo*-Stabilität sowie einer geringen Spezifität der eingesetzten Materialien.

Aufwärtskonvertierende Nanoteilchen

Aufgrund ihrer einzigartigen photophysikalischen Eigenschaften haben aufwärtskonvertierende Nanopartikeln, d. h. Teilchen, die in der Lage sind, Nah-Infrarot-Photonen in sichtbares Licht umzuwandeln, ein großes Potenzial für den Einsatz in verschiedenen biomedizinischen Bereichen wie z. B. Bioimaging, photodynamische Therapie und Bioanalytik [1]. Bei diesen Partikeln handelt es sich um Seltenerden-haltige Materialien, die Mehrphotonen-Anregungsprozesse ermöglichen. Am häufigsten wird NaYF_4 als Matrix verwendet. Seltenerden-Ionen werden in diese Matrix sowohl als Sensibilisatoren zur Anregung im Nah-Infrarot (beispielsweise Yb^{3+} und Nd^{3+}) als auch als Aktivator-Ionen zur Einstellung der Lumineszenz-Eigenschaften (u. a. Er^{3+} , Tm^{3+} und Ho^{3+}) eingebaut. Durch Variation von Art und Konzentration der Seltenerden-Ionen lässt sich dann die Wellenlänge des emittierenden Lichts exakt einstellen (Abb.1) [2].

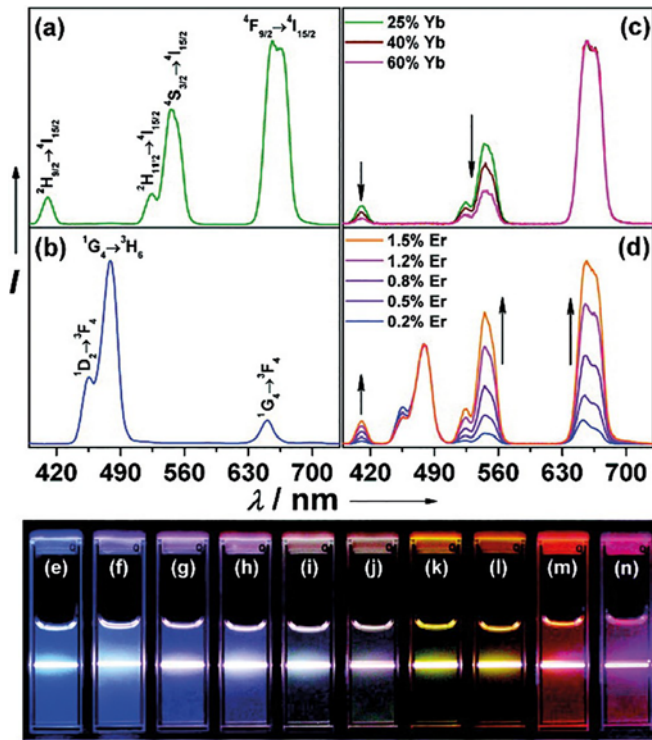


Abb. 1: Emissionsspektren von (a) NaYF₄: Yb/Er (18/2 mol %), (b) NaYF₄: Yb/Tm (20/0.2 mol %), (c) NaYF₄: Yb/Er (25-60/2 mol %), und (d) NaYF₄: Yb/Tm/Er (20/0.2/0.2-1.5 mol %) UCNPs in Ethanol (10 mM) bei Raumtemperatur. Die Spektren in (c) and (d) wurden auf Er³⁺ 650 nm und Tm³⁺ 480 nm Emissionen normiert. Fotos kolloidaler Lösungen von (e) NaYF₄: Yb/Tm (20/0.2 mol %), (f-j) NaYF₄: Yb/Tm/Er (20/0.2/0.2-1.5 mol %), und (k-n) NaYF₄: Yb/Er (18-60/2 mol %). Die Proben wurden bei 980 nm mit einem 600 mW Diodenlaser angeregt. Die Fotos wurden mit Belichtungszeiten von 3,2 s für e-l und 10 s für m und n aufgenommen (Nachdruck mit freundlicher Genehmigung der American Chemical Society [2]).

Diese Materialien weisen eine Reihe vorteilhafter Eigenschaften, wie brillante Lumineszenz, hohe chemische, thermische und Photostabilität, sowie geringe Langzeit-Toxizität auf. Besonders günstig für biomedizinische Anwendungen ist, dass die Anregung im Nah-Infrarot erfolgen kann und damit Gewebe-Eindringtiefen im cm-Bereich möglich sind.

Unlängst wurde ein Syntheseweg entwickelt, der in kurzer Zeit die Herstellung sehr kleiner, phasenreiner UCNPs definierter Morphologie gestattet [3]. Diese Teilchen sind allerdings mittels Ölsäure stabilisiert und damit weder in Wasser noch in Gewebeflüssigkeiten löslich. Für einen Einsatz in der Medizin müssen sie aber in Wasser dispergierbar sein und eine hohe kolloidale Stabilität aufweisen. Hierzu eignen sich beispielsweise hydrophile Liganden mit Bisphosphonat-Struktur wie Alendronsäure [4]. Es ist allerdings bekannt, dass Nanoteilchen mit einer „einfachen“ Hülle *in vivo* innerhalb kurzer Zeit abgebaut werden [5]. Aus diesem Grund ist eine Strategie entwickelt worden, die zu Nanoteilchen mit einer doppelt stabilisierten Schutzhülle führt. Das ermöglicht die Herstellung sehr robuster und biokompatibler Teilchen mit einer nahezu ausgeglichenen Oberflächenladung. Auf diese Weise umgeht man das Problem der Ausbildung einer Proteinkorona auf der Oberfläche der Teilchen.

Proteinkorona

Nanopartikel werden aufgrund ihrer Größe und Oberflächenladung häufig vom körpereigenen Immunsystem als Fremdkörper erkannt und von dessen Fresszellen eliminiert. Eine besondere Rolle spielt dabei die Opsonisierung der Teilchen, d. h. die Oberfläche wird mit speziellen Proteinen umhüllt (Proteinkorona), um danach von phagozytierenden Zellen leichter erkannt und aufgenommen zu werden. Im Wesentlichen gibt es zwei Strategien, um eine Phagozytose zu umgehen. Zum einen ist die Ausbildung einer Proteinkorona bei Nanoteilchen ≤ 2 nm dramatisch reduziert [6] und zum anderen gibt es die Möglichkeit, sogenannte Stealth-Partikel herzustellen, die für das Immunsystem unsichtbar sind. Hier nutzt man häufig das Aufbringen einer zwitterionischen Schutzhülle, die eine Oberflächenbindung von Proteinen minimiert bzw. verhindert (Abb. 2) [7].

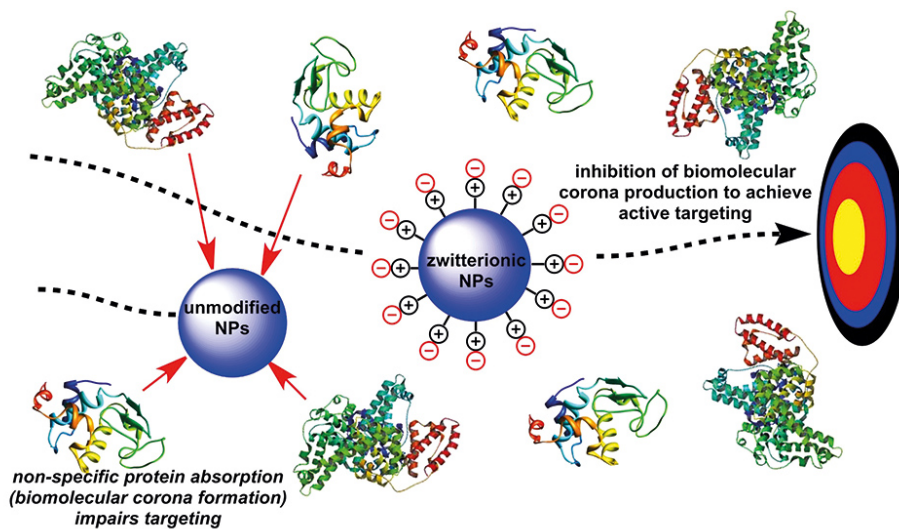


Abb. 2: Schematische Darstellung der Wechselwirkung von Proteinen mit Nanopartikeln.

Dabei bedient man sich unterschiedlicher Strategien, wie z. B. dem Anbringen kleiner zwitterionischer Moleküle auf der Oberfläche von Nanoteilchen oder der Umhüllung mit amphiphilen Polymeren. So können beispielsweise sehr kleine Magnetit-Teilchen (Kerndurchmesser: 5 nm) im wässrigen Milieu stabilisiert werden. Diese superparamagnetischen Teilchen weisen eine hohe kolloidale Stabilität, sehr geringe Proteinbindung sowie hohe Biokompatibilität auf und stellen damit eine vielversprechende Plattform für das multimodale Imaging – basierend auf einer Kombination von Magnet-Resonanz-Tomographie, optischer und nuklearer Bildgebung – dar [8,9]. Es wird allerdings bei dieser Art von Oberflächenfunktionalisierung wiederum nur eine „einfache“ Hülle aufgebracht, die u. U. insbesondere *in vivo* abgelöst werden kann. Aus diesem Grund wurde eine Strategie entwickelt, die zu doppelt stabilisierten Teilchen mit einer nahezu ungeladenen Oberfläche führt.

En-In-vernetzte UCNPs

Am Beispiel aufwärtskonvertierender Nanopartikel konnte demonstriert werden, dass Nanosonden hergestellt werden können, die wochenlang in einer komplexen biologischen Umgebung stabil sind. Dazu werden die UCNPs in einem ersten Schritt mit 10,12-Pentacosadiynoinsäure (PCDA) stabilisiert und nachfolgend mit Diacetylen-Phospholipiden modifiziert. Durch eine anschließende Bestrahlung mit UV-Licht erhält man durch Photopolymerisation von 10,12-Pentacosadiynoinsäure mit den Diacetyl-Phospholipiden eine äußerst widerstandsfähige Schutzhülle auf den UCNPs (Abb. 3).

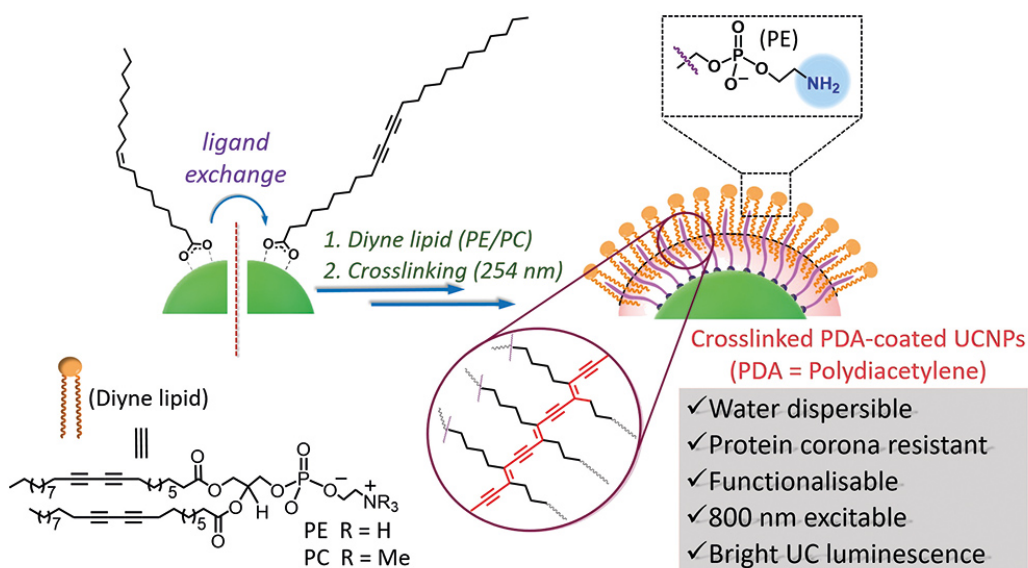


Abb. 3: Schematische Darstellung zur Herstellung von PDA-umhüllten UCNPs (Nachdruck mit freundlicher Genehmigung von Wiley-VCH [10]).

Durch gezielte Einstellung des Verhältnisses der beiden Phospholipid-Bausteine mit Ethanolamin (PE)- bzw. Cholin (PC)-Oberflächengruppen gelangt man zu robusten, in Wasser dispergierbaren UCNPs, die eine ungeladene Oberfläche aufweisen und damit eine minimale Wechselwirkung mit körpereigenen Biomakromolekülen, wie Proteinen und Lipiden, zeigen. Das stellt die Grundlage dafür dar, dass diese Nanosonden im Körper weitestgehend unerkannt von den Zellen des Immunsystems zirkulieren können und sich im erkrankten Gewebe anreichern können. Trotz dieser komplexen Tarnkappe sind diese Teilchen im Nah-Infrarot bei 800 nm anregbar und fluoreszieren im wässrigen Milieu. Die freien Aminogruppen an der Oberfläche können zur Weiterfunktionalisierung genutzt werden, beispielsweise mit zielsuchenden Molekülen zum biologischen Targeting. Weiterhin können radioaktive Einheiten und/oder Krebsmedikamente zur Tumorbehandlung eingeführt werden. Die entwickelte Strategie ist nicht nur auf den Einsatz von UCNPs beschränkt, sondern kann durch angepasste Oberflächen-Liganden auch auf andere Nanomaterialien übertragen werden und weist damit ein großes Potenzial

für unterschiedliche biomedizinische Anwendungen auf. Zukünftige Untersuchungen werden sich auf detaillierte *In-Vitro*- und *In-Vivo*-Studien zur Langzeitstabilität und Toxizität fokussieren.

Autoren

Holger Stephan¹, Kristof Zarschler¹

Zugehörigkeit:

¹Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf, Dresden, Deutschland

Kontakt:

Dr. Holger Stephan

Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf, Dresden, Deutschland

h.stephan@hzdr.de

Literatur:

[1] S. Wilhelm, ACS Nano 2017, 11, 10644-10653. (DOI: 10.1021/acsnano/7b07120)

[2] F. Wang, X. G. Liu, J. Upconversion Multicolor Fine-Tuning: Visible to Near-Infrared Emission from Lanthanide-Doped NaYF₄ Nanoparticles, Am. Chem. Soc. 2008, 130, 5642-5643. (DOI: 10.1021/ja800868a)

[3] J. Hesse, D. T. Klier, M. Sgarzi, A. Nsubuga, C. Bauer, J. Grenzer, R. Hübner, M. Wislicenus, T. Joshi, M. U. Kumke, H. Stephan, Rapid Synthesis of Sub-10 nm Hexagonal NaYF₄-Based Upconverting Nanoparticles using Therminol® 66, ChemistryOpen 2018, 7, 159-168. (DOI:10.1002/open.201700186)

[4] A. Nsubuga, M. Sgarzi, K. Zarschler, M. Kubeil, R. Hübner, R. Steudtner, B. Graham, T. Joshi, H. Stephan, Dalton Trans. 2018, 47, 8595-8604. (DOI: 10.1039/C8DTZ00241J)

[5] W. G. Kreyling, A. M. Abdelmonem, Z. Ali, F. Alves, M. Geiser, N. Haberl, R. Hartmann, S. Hirn, D. Jimenez de Aberasturi, K. Klantner, G. Khadem-Saba, J.-M. Montenegro, J. Rejman, T. Rojo, I. Ruiz de Larramendi, R. Ufartes, A. Wek, W. J.

Parak, In vivo integrity of polymer-coated gold nanoparticles, Nat. Biotechn. 2015, 10, 619-624. (DOI: 10.1038/NNANO.2015.111)

[6] L. Boselli, E. Polo, V. Castagnola, K. A. Dawson, Regimes of Biomolecular Ultrasmall Nanoparticle Interactions, Angew. Chem. 2017, 129, 4279-4282, (DOI: 10.1002/ange.201700343); Angew. Chem. Int. Ed. 2017, 56, 4215-4218. (DOI: 10.1002/anie.201700343)

[7] K. Pombo-García, K. Zarschler, L. Barbaro, J. A. Barreto, W. O' Malley, L. Spiccia, H. Stephan, B. Graham, Zwitterionic-Coated "Stealth" Nanoparticles for Biomedical Applications: Recent Advances in Countering Biomolecular Corona Formation and Uptake by the Mononuclear Phagocyte System, Small 2014, 10, 2516-2529. (DOI: 10.1002/sml.201303540)

[8] K. Pombo-García, S. Weiss, K. Zarschler, C.-S. Ang, R. Hübner, J. Pufe, S. Meister, J. Seidel, J. Pietzsch, L. Spiccia, H. Stephan, B. Graham, Zwitterionic Polymer-Coated Ultrasmall Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles with Low Protein Interaction and High Biocompatibility, ChemNanoMat 2016, 2, 959-971 (DOI: 10.1002/cnma.201600233)

[9] K. Pombo-García, C. L. Rühl, R. Lam, J. A. Barreto, C.-S. Ang, P. J. Scammels, P. Comba, L. Spiccia, B. Graham, T. Joshi, H. Stephan, Zwitterionic Modification of Ultrasmall Iron Oxide Nanoparticles for Reduced Protein Corona Formation, ChemPlusChem 2017, 82, 638-646 (DOI: 10.1002/cplu.201700052)

[10] A. Nsubuga, K. Zarschler, M. Sgarzi, B. Graham, H. Stephan, T. Joshi, Towards Utilising Photocrosslinking of Polydiacetylenes for the Preparation of "Stealth" Upconverting Nanoparticles, Angew. Chem. 2018, 130, 16268-16272. (DOI: 10.1002/ange.201811003); Towards Utilising Photocrosslinking of Polydiacetylenes for the Preparation of "Stealth" Upconverting Nanoparticles, Angew. Chem. Int. Ed. 2018, 57, 16036-16040. (DOI: 10.1002/anie.201811003)