

***In situ* T2-Relaxivitätsmessung magnetischer Eisenoxid-Nanopartikel in kontinuierlichen Syntheseprozessen**

*Jonas Bemetz*¹, *Andreas Wegemann*², *Reinhard Nießner*¹, *Bernhard Gleich*², *Michael Seidel*¹

¹*Institut für Wasserchemie und Chemische Balneologie, Lehrstuhl für Analytische Chemie und Wasserchemie, Technische Universität München, Marchioninistraße 17, 81377 München*

²*Munich School of BioEngineering, Technische Universität München, Boltzmannstraße 11, 85784 Garching*

Kontakt: jonas.bemetz@tum.de

Zusammenfassung

Magnetische Nanopartikel als Kontrastmittel in der Magnet-Resonanzbildgebung benötigen eine hohe Relaxivität. Dadurch kann die verwendete Partikelkonzentration gering gehalten werden. Zahlreiche Partikeleigenschaften wie die Sättigungsmagnetisierung, Beschichtungen und der Aggregierungszustand beeinflussen die Relaxivität. Diese Eigenschaften werden wiederum durch die Synthesebedingungen bestimmt. Zahlreiche Syntheseparameter müssen daher für eine maximale Relaxivität optimiert werden. Es wurde die Relaxivität im Durchfluß in einem miniaturisierten NMR-Gerät mit Permanentmagneten bestimmt. Es zeigte sich ein starker Einfluss der Flussrate auf die Relaxationszeiten. Mit dem Meßaufbau konnte trotz starken Einflusses der Flussrate die Relaxivität im Bereich von 0 ml h⁻¹ bis 50 ml h⁻¹ bestimmt werden. Somit besteht die Möglichkeit, den Messaufbau zur Syntheseoptimierung für Nanopartikel mit maximaler Relaxivität in kontinuierliche Syntheseprozesse einzubinden.

Keywords: Magnetische Sensoren, Magnet-Resonanzbildgebung, Nanopartikel-Synthese-Optimierung, kontinuierliche Syntheseprozesse

Einleitung

Eine der wichtigsten biomedizinischen Anwendungen magnetischer Nanopartikel ist der Einsatz als Kontrastmittel in der Magnet-Resonanzbildgebung (MRI). Die Anwesenheit magnetischer Nanopartikel beeinflusst die Relaxation von ¹H-Spins des sich im Gewebe befindenden Wassers im externen Magnetfeld [1]. Die Abhängigkeit der Partikelkonzentration auf die Relaxationsrate wird als Relaxivität bezeichnet. Um möglichst hohe Kontraste bei geringer Partikelkonzentration zu erhalten, sind Partikel mit hoher Relaxivität von Vorteil [1].

Die eingesetzten magnetischen Nanopartikel und Partikelaggregate sind meist durch Polymere, Silikate oder kleine organische Moleküle beschichtet und kolloidal stabilisiert. Neben der Beschichtung und der Sättigungsmagnetisierung [2] beeinflusst hauptsächlich die Aggregierung die Relaxivität [3]. Theoretisch werden drei Regime zum Einfluss der Aggregierung auf die Relaxivität unter-

schieden, welche sich zuerst durch eine quadratische Zunahme mit der Clustergröße, einem konstanten Bereich und einer quadratischen Abnahme der Relaxivität auszeichnen. Durch ein direktes Beschichten während der Synthese kann ein nachträgliches Aggregieren verringert werden. Andererseits wird durch die Beschichtungssubstanz die primäre Partikelgröße beeinflusst, was sich in einer Änderung der Sättigungsmagnetisierung widerspiegelt [4], was wiederum die Relaxivität beeinflusst.

Deshalb ist ein Optimieren von zahlreichen Syntheseparameter notwendig, um Partikel-Cluster mit maximaler Relaxivität zu erhalten. Kontinuierliche Syntheseverfahren sind für solche Optimierungen von Vorteil. Messungen der Relaxivität werden meist an großen konventionellen MRI-Instrumenten durchgeführt, aber auch kleinere und portable Geräte für Immuno- und Molekular-diagnostische *point-of-care* Anwendungen sind zur Relaxivitätsmessung geeignet [5]. Um den zeitaufwändigen Prozess der statischen

Messung der T2-Relaxivität von einzelnen Syntheseansätzen zu vermeiden, wurde die Möglichkeit einer T2-Relaxationsmessung im Durchfluss untersucht. Dazu wurde die Messung der T2-Relaxation von Citrat-stabilisierten magnetischen Nanopartikel-Cluster bei unterschiedlichen Flussraten durchgeführt und der Einfluss der Flussrate auf T2-Relaxation und T2-Relaxivität bestimmt.

Matherial und Methoden

Die Eisenoxid-Nanopartikel wurden durch Ko-Präzipitation einer Eisensalzlösung in 0,5 M Ammoniumhydroxid mit 0,1 mg mL⁻¹ Citronensäure hergestellt. Die Eisensalz-Stammlösung enthielt 30 mM FeCl₂·4H₂O und 60 mM FeCl₃·6H₂O in 1 M HCl und wurde für die einzelnen Synthesebedingungen mit 1 M HCl verdünnt.

Eine Suspension der magnetischen Nanopartikel-Cluster wurde mit einer Spritzenpumpe (Harvard Apparatus Pump 11, Holliston, USA) in den Aufbau zum Messen der T2-Relaxationszeit gefördert.

Zur Messung der T2-Relaxationszeit wurde ein kommerzieller NMR-Permanentmagnet (Metro-lab, Genf, Schweiz) verwendet. Die Sende- und Empfangsspule wurde über eine Länge von 6 mm direkt um einen PTFE-Schlauch mit einem Außendurchmesser von 2,2 mm und einem Innendurchmesser von 1,4 mm gewickelt. Der Schlauch wurde durch eine 3D-gedruckte Halterung im Magneten stabilisiert. Der PTFE-Schlauch wurde so im Magneten verlegt, dass ein Durchfluss der Messlösung durch den Magneten ermöglicht wurde.

Hydrodynamische Durchmesser wurden mit dynamischer Lichtstreuung mit einem Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments Ltd, Worcestershire, UK) in 1,5 mL Polystyrol-Einmal-Küvetten (Brand, Wertheim) gemessen. Eisenkonzentrationen wurden nach saurem Aufschluss durch ICP-Massenspektrometrie (Nexion 350D, Perkin-Elmer, Rodgau) bestimmt.

Ergebnisse und Diskussion

Um die Messung der Relaxivität im Fluss mit der Partikelsynthese zu koppeln, wurde der Einfluss der Flussrate von 0 mL h⁻¹ bis 50 mL h⁻¹ auf die T2-Relaxationszeit und T2-Relaxationsrate einer wässrigen Lösung von Citrat-stabilisierten magnetischen Nanopartikel-Cluster bestimmt. Durch Verdünnen wurde ein Konzentrationsbereich von 0 mM bis 0,96 mM Eisen eingestellt. Die in Abb. 1

gezeigten T2-Relaxationszeiten nahmen im Bereich einer Flussrate von 0 mL h⁻¹ bis 20 mL h⁻¹ annähernd linear ab. Die T2-Relaxationszeit beschreibt die charakteristische Zeit, in welcher die durch ein 90°-Puls ausgelenkten Protonen in ihren Gleichgewichtszustand zurückkehren. Im Fluss wird in Teil der ausgelenkten Protonen durch Protonen der nachfließenden Flüssigkeit ersetzt. Dadurch sinkt der Einfluss der Anwesenheit der magnetischen Nanopartikel, was sich durch die abnehmenden Unterschiede in den T2-Relaxationszeiten mit zunehmender Flussrate auszeichnet. Bei einer Flussrate von 50 mL h⁻¹ konnte kaum ein Einfluss der magnetischen Nanopartikel-Cluster beobachtet werden, was sich durch eng aneinander liegende Messwerte Relaxationszeit von 422 ms bis 476 ms auszeichnete. Eine Flussrate von 50 mL h⁻¹ ist bei dem verwendeten Messaufbau einer linearen Geschwindigkeit von 9 mm s⁻¹ gleichzusetzen. Somit ist die Verweilzeit der Protonen im Bereich der Spule deutlich geringer als die Relaxationszeiten im stillstehenden Zustand.

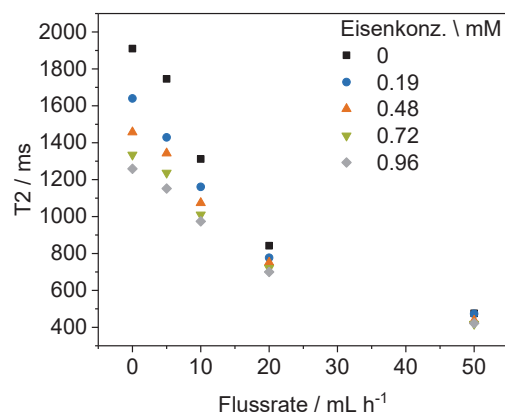


Abb. 1: Bestimmung der Relaxationszeit (T2) in Abhängigkeit der Flussrate einer Suspension von magnetischen Nanopartikel-Clustern bei unterschiedlichen Konzentrationen.

Abb. 2 zeigt die Relaxationsraten bei Flussraten von 0 mL h⁻¹ bis 50 mL h⁻¹. Das Detektionslimit war dabei im stillstehenden Zustand mit 0,01 mM Eisen am geringsten und stieg mit der Flussrate auf 0,32 mM Eisen bei 50 mL h⁻¹ an. Durch lineare Regression wurden Relaxivitäten ermittelt. Im Vergleich zu den Relaxationszeiten und Relaxationsraten wurde die Relaxivität durch die Flussrate wenig beeinflusst. Im stillstehenden Zustand betrug die Relaxivität 0,29 mM⁻¹ s⁻¹, während die größte Abweichung von 22 % bei einer Flussrate von 20 mL h⁻¹ auftrat. Die ermittelten

Relaxivitäten sind somit nicht von der Flussrate abhängig.

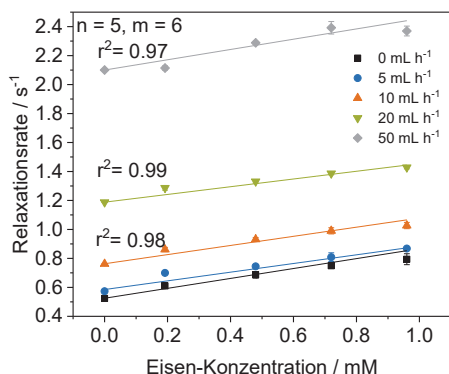


Abb. 2: Bestimmung der Relaxationsrate in Abhängigkeit von der Eisenkonzentration und Flussgeschwindigkeit.

Durch Variation der Eisensalz-Konzentration wurde die Cluster-Größe variiert und mit dynamischer Lichtstreuung (DLS) gemessen. Dabei stiegen die hydrodynamischen Durchmesser von 41 nm bis auf 372 nm an, wenn die Eisensalz-Konzentration von 15 mM Eisen bis auf 90 mM Eisen erhöht wurde. Der Einfluss der Cluster-Größe auf die Relaxivität wurde bestimmt und ist in Abb. 3 gezeigt. Mit Anwachsen der Cluster-Größe von 41 nm auf 247 nm nahm die Relaxivität von $0,11 \text{ mM}^{-1} \text{ s}^{-1}$ auf $0,33 \text{ mM}^{-1} \text{ s}^{-1}$ zu, während die Relaxivität für die Cluster-Größe von 372 nm auf $0,23 \text{ mM}^{-1} \text{ s}^{-1}$ abnahm.

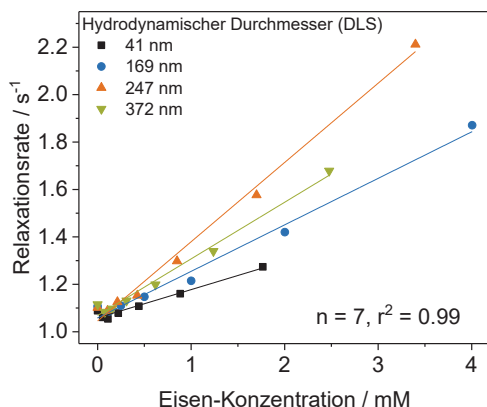


Abb. 3 Bestimmung der Relaxivität in Abhängigkeit von der Partikel-Clustergröße.

Zusammenfassung und Ausblick

T2-Relaxationsmessungen im Durchfluss wurden mit einem NMR-Gerät mit Permanentmagneten durchgeführt. Mit zunehmender Flussrate wurden die Relaxationszeiten sowie

der Einfluss der magnetischen Nanopartikel-Cluster auf die Relaxationszeiten verringert. Die ermittelte Relaxivität wurde durch die Flussrate jedoch nicht maßgeblich beeinflusst. Somit konnte gezeigt werden, dass die Relaxivität im Durchfluss ermittelt werden kann. Der aufgezeigte Messaufbau ermöglicht somit das Einbinden in kontinuierliche Syntheseprozesse magnetischer Nanopartikel und kann sowohl zur Syntheseoptimierung als auch zur Qualitätskontrolle eingesetzt werden.

Literatur

- [1] Vuong, Q. L., J. F. Berret, J. Fresnais, Y. Gossuin and O. Sandre, *Advanced Healthcare Materials* 1, 502-512 (2012). doi: 10.1002/adhm.201200078
- [2] Khalkhali, M., K. Rostamizadeh, S. Sadighian, F. Khoeini, M. Naghibi and M. Hamidi, *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences* 23, (2015). doi: 10.1186/s40199-015-0124-7
- [3] Joos, A., N. Löwa, F. Wiekhorst, B. Gleich and A. Haase, *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* 427, 122-126 (2017). doi: 10.1016/j.jmmm.2016.11.021
- [4] Lee, N. and T. Hyeon, *Chemical Society Reviews* 41, 2575-2589 (2011). doi: 10.1039/C1CS15248C
- [5] Demas, V. and T. J. Lowery, *New Journal of Physics* 13, 25005 (2011). doi: 10.1088/1367-2630/13/2/025005

Danksagung

Diese Arbeit ist im Rahmen des Projekts 9.06-MiCSMaP der International Graduate School of Science and Engineering (IGSSE) der Technischen Universität München gefördert worden.