



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК  
*B82B 3/00 (2020.08)*

(21)(22) Заявка: 2020125606, 27.07.2020

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
27.07.2020

Дата регистрации:  
19.02.2021

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 27.07.2020

(45) Опубликовано: 19.02.2021 Бюл. № 5

Адрес для переписки:

660036, г. Красноярск, ул. Академгородок, 50,  
стр. 38, ИФ СО РАН, отдел патентной и  
изобретательской работы

(72) Автор(ы):

Лукьяненко Анна Витальевна (RU),  
Тарасов Антон Сергеевич (RU),  
Волков Никита Валентинович (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное  
научное учреждение "Федеральный  
исследовательский центр "Красноярский  
научный центр Сибирского отделения  
Российской академии наук" (ФИЦ КНЦ СО  
РАН, КНЦ СО РАН) (RU)

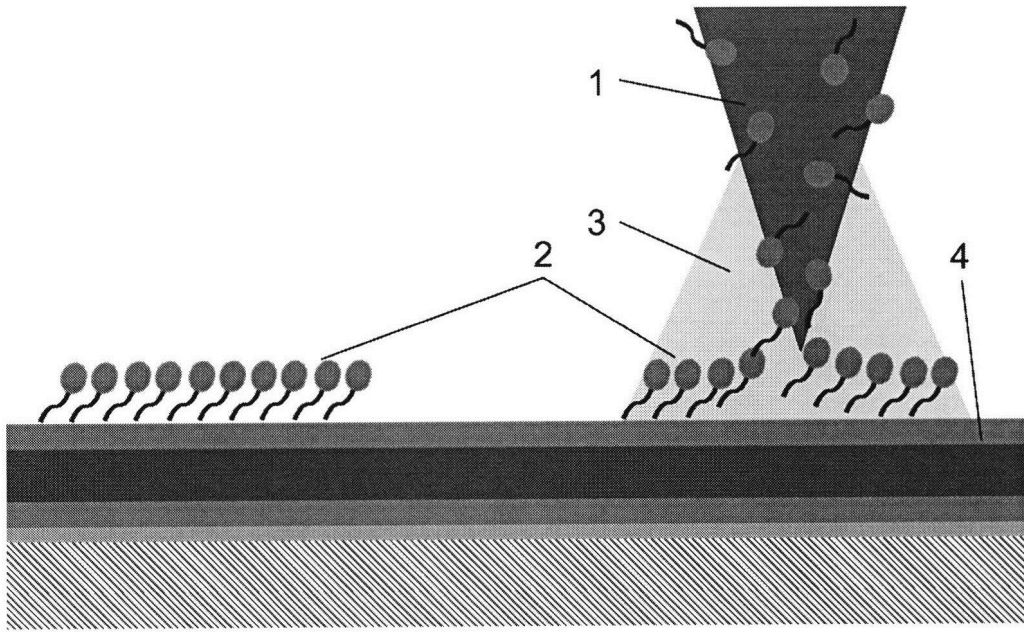
(56) Список документов, цитированных в отчете  
о поиске: Kim P.D. et al., The antitumor effect  
of magnetic nanodisks and DNA aptamer  
conjugates, Doklady Biochemistry and Biophysics,  
Pleiades Publishing, 2016, T. 466, N 1, с. 66-69. US  
2003020025 A1, 30.01.2003. RU 2619811 C1,  
18.05.2017. RU 2435730 C1, 10.12.2011. RU  
2300158 C1, 27.05.2007. WO 2006130914 A1,  
14.12.2006.

(54) Способ получения ферромагнитных наночастиц-дисков с помощью зондовой литографии и жидкого химического травления

(57) Реферат:

Использование: для получения ферромагнитных наночастиц-дисков. Сущность изобретения заключается в том, что выполняют поочередное осаждение на подложку пленок металлов с помощью вакуумных методов напыления, при этом получение частиц происходит по нисходящей технологии, формирование маски для получения необходимой топологии осуществляется с помощью иглы зондового микроскопа путем прямого осаждения слоя молекул, содержащих тиоловую группу, при температуре 22-25°C и относительной влажности 33-36%, удаление незакрытых слоев золота осуществляется в растворе водной смеси 0,1 М Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, 1,0 М КОН, 0,01 М K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> и 0,001 М

K<sub>4</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> в соотношении 1:1:1:1 (V/V/V/V) при постоянном перемешивании и температуре раствора 22°C, отделение наночастиц от подложки путем удаления растворимого подслоя ZnO в 10% водном растворе лимонной кислоты при постоянном перемешивании и температуре раствора 22°C. Технический результат: получение ферромагнитных частиц в виде многослойного диска с ядром из ферромагнитного металла и защитным биосовместимым покрытием из золота при использовании малотоксичных реактивов и исходных материалов, которые позволяют получать частицы с заданными параметрами (размер, форма) и высокой степенью однородности без ограничений на максимальные размеры и геометрию получаемых частиц. 2 ил.



Фиг. 1

RU 2743516 C1

RU 2743516 C1



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC  
*B82B 3/00 (2020.08)*

(21)(22) Application: **2020125606, 27.07.2020**

(24) Effective date for property rights:  
**27.07.2020**

Registration date:  
**19.02.2021**

Priority:

(22) Date of filing: **27.07.2020**

(45) Date of publication: **19.02.2021** Bull. № 5

Mail address:

**660036, g. Krasnoyarsk, ul. Akademgorodok, 50,  
str. 38, IF SO RAN, otdel patentnoj i  
izobretatelskoj raboty**

(72) Inventor(s):

**Lukyanenko Anna Vitalevna (RU),  
Tarasov Anton Sergeevich (RU),  
Volkov Nikita Valentinovich (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Federalnoe gosudarstvennoe byudzhethoe  
nauchnoe uchrezhdenie "Federalnyj  
issledovatel'skij tsentr "Krasnoyarskij nauchnyj  
tsentr Sibirskogo otdeleniya Rossijskoj akademii  
nauk" (FITS KNTS SO RAN, KNTS SO RAN)  
(RU)**

(54) **METHOD OF PRODUCING FERROMAGNETIC NANOPARTICLES-DISCS USING PROBE LITHOGRAPHY AND LIQUID CHEMICAL ETCHING**

(57) Abstract:

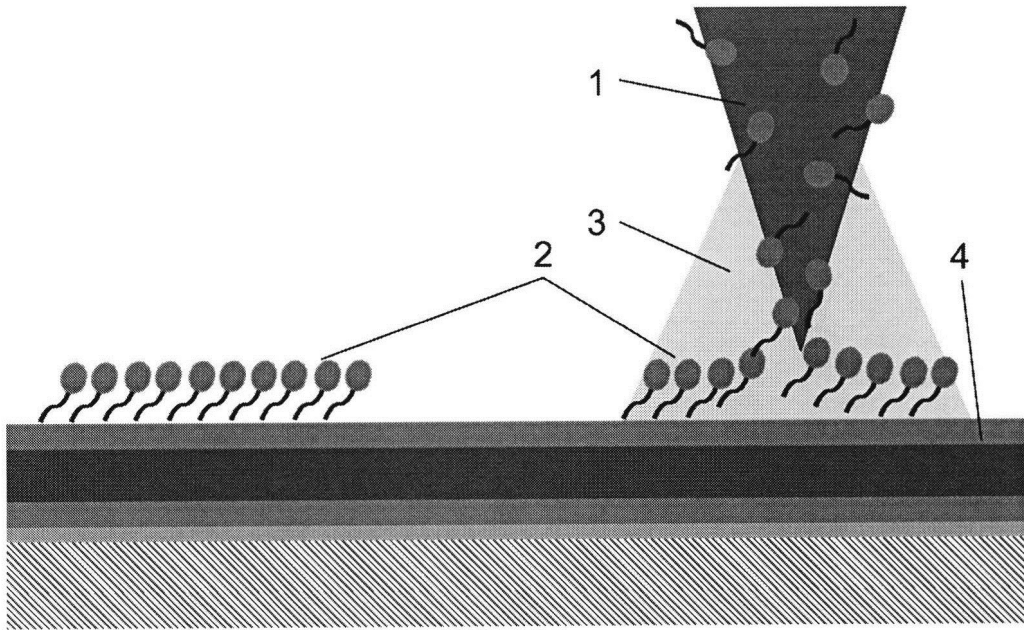
FIELD: technological processes.

SUBSTANCE: invention can be used to produce ferromagnetic nanoparticles-disks. Substance of invention consists in the fact that metal films are alternately deposited on a substrate using vacuum sputtering methods, wherein the particles are obtained according to the descending process, forming the mask to obtain the required topology is carried out using the probe microscope needle by directly depositing a layer of molecules containing a thiol group, at temperature of 22-25°C and relative humidity of 33-36%, removal of uncoated layers of gold is carried out in a solution of aqueous mixture 0.1 M Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, 1.0 M KOH, 0.01 M K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> and 0.001 M K<sub>4</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> in ratio of 1:1:

1:1 (V/V/V/V) with constant stirring and temperature of solution 22°C, separation of nanoparticles from substrate by removing soluble ZnO sublayer in 10% aqueous solution of citric acid with constant stirring and temperature of solution 22°C.

EFFECT: obtaining ferromagnetic particles in form of a multilayer disc with a ferromagnetic metal core and a protective biocompatible gold coating using low-toxic reactants and starting materials, which enable to obtain particles with given parameters (size, shape) and high degree of homogeneity without restrictions on maximum dimensions and geometry of obtained particles.

1 cl, 2 dwg



Фиг. 1

RU 2743516 C1

RU 2743516 C1

Изобретение относится к области нанотехнологий, а именно к процессу создания плоских ферромагнитных наночастиц покрытых золотом, с высокой степенью контроля физических параметров и может быть использовано для производства частиц типа ядро-оболочка, которые находят применение при разработке новых методов диагностики и лечения опухолевых заболеваний, использоваться для производства препаратов биомедицинского назначения, обеспечивающих направленную доставку препарата к клеткам-мишеням.

С развитием технологий и инструментов для анализа наночастицы находят все большее применение в медицине. Они могут выступать как медицинские манипуляторы или диагностические устройства. Благодаря применению наночастиц становится возможным распознать болезнь в самом начале, так как из-за высокой чувствительности метода требуется меньшая концентрация мишеней. Уже сейчас наночастицы нашли свое применение в качестве контрастного вещества в хирургии, радиотерапии и для повышения контраста при томографии и рентгеновских исследованиях.

Для более эффективного применения частиц в медицине предпочтительно использование частиц, идентичных по своим физическим свойствам, это крайне важно при интерпретации результатов экспериментов и гарантируют эффективность терапии. Способ создания наночастиц с применением планарных технологий (процесса литографии) гарантирует получение наночастиц с высокой однородностью и постоянными физическими параметрами, а также обладает большей гибкостью при выборе материала ядра частицы. Благодаря форме диска, наночастица обладает большим соотношением поверхности к объему и может найти применение для производства биологически активных препаратов на основе наночастиц, поверхность которых функционализирована белковыми молекулами.

Золотое покрытие магнитных нанодисков необходимо для снижения их деградации в жидких средах организма, кроме того, такое покрытие делает магнитные частицы совместимыми с широким рядом биомолекул. Целенаправленная доставка магнитных частиц также необходима для повышения эффективности микрохирургии. Это позволит снизить концентрацию препарата и, следовательно, его токсичность, обеспечив целевое воздействие на опухолевые клетки. В качестве таких агентов можно использовать моноклональные антитела [Kim D.H. et al. Biofunctionalized magnetic-vortex microdiscs for targeted cancer-cell destruction // Nature materials. - 2010. - Т. 9. - №. 2. - С. 165-171] или аптамеры [Pala K, A Serwotka, F Jelen, P Jakimowicz and J Otlewski. (2013). Tumor-specific hyperthermia with aptamer-tagged superparamagnetic nanoparticles. Int J Nanomedicine 9:67-76].

Ферромагнитные нанодиски могут быть успешно применены для магнитоиндуцированного запуска апоптоза и механической деструкции клеточных мембран, что было продемонстрировано во многих работах, например, [Vitol E. A., Novosad V. and Rozhkova E.A. Microfabricated magnetic structures for future medicine: from sensors to cell actuators // Nanomedicine. 2012. №7. P. 1611-1624.] и [Rozhkova E.A., Novosad V., Kim D.-H., Pearson J., Divan R., Rajh T. and Bader S.D. Ferromagnetic microdisk as carriers for biomedical applications // J. Appl. Phys. №105. 2009.]. Благодаря геометрии диска, такие частицы являются однодоменными и имеют устойчивое магнитное состояние (вихрь). При приложении переменного магнитного поля происходит смещение вихря магнитных сил внутри диска, создавая колебания, которые передают механическую силу мембране раковой клетки. В результате механического воздействия целостность мембраны клетки нарушается, и клетка опухоли разрушается [Kim D. H. et al. Biofunctionalized magnetic-vortex microdiscs for targeted cancer-cell destruction // Nature materials. - 2010. - Т. 9. - №. 2.

- С. 165-171]. Ферромагнитные нанодиски обеспечивают уникальные свойства и дают возможность управлять их положением при помощи внешнего магнитного поля. Это имеет большое значение для онкологии, поскольку чувствительность раковых клеток по отношению к апоптозу в естественных условиях значительно снижена.

5 Способы синтеза, применяемые в настоящее время для получения частиц ядро-оболочка (например, термический, химический и пиролитический), позволяют получать частицы с широким спектром физических параметров и размеров. Такие способы накладывают ограничения на максимальные размеры и форму получаемых наночастиц, а также требуют последующей сепарации по составу и размерам.

10 Известен способ управления формой синтезируемых частиц и получения материалов и устройств, содержащих ориентированные анизотропные частицы и наноструктуры [патент RU 2160697 С2, МПК В82В 3/00, G11В 5/845, опубл. 20.12.2000]. Предложенный способ заключается в проведении процессов синтеза частиц и формирования наноструктур, отличается тем, что процессы синтеза частиц и формирования  
15 наноструктур проводятся под действием внешнего электрического поля или внешних электрических и магнитных полей.

Недостатком способа является обращение с токсичными и ядовитыми химреактивами, а также этот способ позволяет лишь частично управлять формой частиц.

Известен способ получения нанокompозитного дисперсного магнитного материала  
20 [патент RU 2426188 С1, МПК Н01F 1/42, В82В 1/00, опубл. 10.08.2011]. Нанокompозитный дисперсный магнитный материал имеет структуру ядро-оболочка, где ядром являются наночастицы  $Fe_3O_4$ , содержание которых в материале  $5\div 56\%$  мас., а оболочкой - аморфный полимер N-фенилантраниловой кислоты. Способ получения этого материала включает гидролиз и полимеризацию.

25 Недостатком способа является обращение с токсичными и ядовитыми химреактивами. Способ накладывают ограничения на форму и максимальную скорость получения частиц, а также ограничен в использованных материалах как для ядра, так и для оболочки частиц.

30 Для синтеза наночастиц в форме дисков хорошо подходят планарные технологии, которые обеспечивают высокий контроль параметров получаемых частиц, по сравнению с частицами, получаемыми химическим способом.

Наиболее близким аналогом, принятым за прототип, является способ изготовления с использованием наноимпринт (штампельная) литографии [Kim P. D. et al. The antitumor effect of magnetic nanodisks and DNA aptamer conjugates // Doklady Biochemistry and Biophysics. - Pleiades Publishing, 2016. - Т. 466. - №. 1. - С. 66-69.]. В статье авторы описывают  
35 получение магнитных никелевых нанодисков толщиной 50 нм, покрытых золотом (5 нм) с обеих сторон. Процесс изготовления включает: формирование полимерного слоя толщиной 300 нм на подложке; разделение полимерного слоя на островки диаметром 500 нм с использованием штампа; последовательное распыление слоев Au - Ni - Au на  
40 островках; и освобождение сформированных дисков Au - Ni - Au путем растворения островков полимера и их последующего переноса в ацетон.

Недостатками способа является использование токсичных резистов и проявителей, а также способ накладывают ограничения на размеры и форму получаемых частиц из-за необходимости изготовления штампов. Качество получаемых частиц со временем  
45 снижается, так как из-за механических воздействий штампы быстро выходят из строя. Это приводит к нарушениям формы и размеров получаемых дисков. Описанная технология позволяет получать массивы дисков, который ограничен размерами штампа.

Задачей, на решение которой направлено изобретение, является разработка способа

получения ферромагнитных наночастиц в форме дисков с ядром из ферромагнитного металла и защитным биосовместимым Au покрытием, получаемые нано-объекты представляют собой плоские частицы в виде многослойного диска общей высотой до 240 нм и диаметром от 250 до 1700 нм. Диск может иметь форму плоского многогранника и состоит из трех основных слоев. Центральный слой - это ферромагнитный металл (Fe, Co, Ni) толщиной не менее 200 нм. Два слоя из золота по обеим сторонам, выполняют роль защитного покрытия и имеют толщину не менее 10 нм.

Техническим результатом данного изобретения является способ получения ферромагнитных частиц в виде многослойного диска с ядром из ферромагнитного металла и защитным биосовместимым Au покрытием, в котором используются малотоксичные реактивы и исходные материалы, который позволяет получать частицы с заданными параметрами (размер, форма) и высокой степенью однородности. При этом отсутствуют ограничения на максимальные размеры и геометрию получаемых частиц.

Технический результат достигается тем, что способ получения ферромагнитных наночастиц-дисков с помощью зондовой литографии и жидкого химического травления, включает поочередное осаждение на подложку пленок металлов с помощью вакуумных методов напыления, новым является то, что получение частиц происходит по нисходящей технологии, формирование маски для получения необходимой топологии осуществляется с помощью иглы зондового микроскопа путем прямого осаждения слоя молекул, содержащих тиоловую группу, при температуре 22-25°C и относительной влажности 33-36%, удаление незакрытых слоев золота осуществляется в растворе водной смеси 0,1 М Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, 1,0 М KOH, 0,01 М K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> и 0,001 М K<sub>4</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> в соотношении 1:1:1:1 (V/V/V/V) при постоянном перемешивании и температуре раствора 22°C, отделение наночастиц от подложки путем удаления растворимого подслоя ZnO в 10% водном растворе лимонной кислоты при постоянном перемешивании и температуре раствора 22°C.

Сопоставительный анализ с прототипом позволяет сделать вывод о том, заявленное изобретение отличается от известного тем, что формирование маски происходит по нисходящей технологии и позволяет получать более ровные диски, так как пленки наносятся на ровную подложку, а не на островки резиста. В отличие от штампельной технологии, формирование маски для получения необходимой топологии осуществляется с помощью иглы зондового микроскопа путем прямого осаждения слоя молекул, содержащих тиоловую группу, при температуре 22-25°C и относительной влажности 33-36%, далее происходит удаление материала с незакрытых участков путем жидкого травления в растворе водной смеси 0,1 М Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, 1,0 М KOH, 0,01 М K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> и 0,001 М K<sub>4</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> в соотношении 1:1:1:1 (V/V/V/V) при постоянном перемешивании и температуре раствора 22°C. Снятие частиц с подложки и перенос их в жидкую среду для получения суспензии, происходит путем растворения жертвенного подслоя.

Признаки, отличающие заявленное решение от прототипа, обеспечивают заявленному техническому решению соответствие критерию «новизна».

Признаки, отличающие заявленное решение от прототипа не выявлены при изучении других известных технических решений в данной области техники и, следовательно, обеспечивают ему соответствие критерию «изобретательский уровень».

Изобретение поясняется фигурами. На фиг. 1 показана принципиальная схема процесса формирования маски, используя иглу зондового микроскопа, где: 1 - игла

зондового микроскопа; 2 - защитный молекулярный слой; 3 - мениск жидкости между иглой микроскопа и подложкой; 4 - подложка с тонкими пленками металлов Au/ФМ/Au. На фиг. 2 показано принципиальное устройство отдельной ферромагнитной наночастицы в виде многослойного диска с ядром из ферромагнитного металла и защитным биосовместимым Au покрытием, находящейся на подложке, где: 5 - плоская кремниевая подложка; 6 - ферромагнитное металлическое ядро; 7 - защитное, биосовместимое покрытие из Au.

Сущность изобретения заключается в том, что ферромагнитные частицы в форме диска формируются по планарной технологии из упорядоченной слоистой структуры на поверхности твердой подложки методами зондовой литографии и жидкого химического травления.

#### Пример осуществления

Синтез ферромагнитных наночастиц в форме диска, состоящих из слоев Au/ФМ/Au (где ФМ - ферромагнитный металл) с Au биосовместимой поверхностью, состоит из нескольких этапов. Процесс изготовления дисков включает в себя стандартные технологии осаждения пленок металла, процесс литографии и жидкого химического травления, которые определяют форму и размер получаемых частиц.

На первом этапе, происходит поочередное осаждение слоев металла на ровное основание - кремниевую или стеклянную подложку при помощи магнетронного, электронно-лучевого (EBS) или термического осаждения, которые обеспечивают получение ровных, однородных пленок. Отклонение по толщине каждого слоя на площади  $1 \times 1 \text{ см}^2$  не должно превышать 10%. Толщина слоев: растворимого слоя (ZnO) составляет от 10 до 100 нм; золота - от 5 до 15 нм; ферромагнитного металла (Co, Ni) - от 50 до 200 нм.

На втором этапе происходит формирование маски с помощью иглы зондового микроскопа, путем прямого осаждения слоя молекул, содержащих тиоловую группу (-SH), при температуре 22-25°C и относительной влажности 33-36%.

На этапе формирования маски можно оценить качество маски при помощи атомно-силовой микроскопии (АСМ сканирования) в режиме латеральных сил или фазового контраста.

На третьем этапе происходит удаление материала, незакрытого слоем молекул, используя жидкое химическое травление. Удаление слоев золота осуществляется в растворе водной смеси 0,1 М  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ , 1,0 М KOH, 0,01 М  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  и 0,001 М  $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$  в соотношении 1:1:1:1 (V/V/V/V) при постоянном перемешивании и температуре раствора 22°C.

На заключительном этапе происходит отделение наночастиц от подложки путем удаления растворимого подслоя ZnO в 10% водном растворе лимонной кислоты при постоянном перемешивании и температуре раствора 22°C.

Между этапами синтеза допустимо осуществлять контроль геометрии и морфологии поверхности получаемых частиц при помощи зондовой микроскопии.

Синтезированные ферромагнитные наночастицы в форме диска с биосовместимой поверхностью обладают следующими преимуществами, которые обеспечиваются способом изготовления:

1) Осаждение пленок происходит до того, как будет сформирована маска, это позволяет использовать высокотемпературные методы напыления и производить эффективную очистку поверхности, что улучшает адгезию между составными слоями диска и повышает качество и однородность получаемых наночастиц



2) Точечное осаждение маски с помощью иглы зондового микроскопа позволяет формировать маску нужного размера, контролируя время осаждения молекул.

3) Подход формирования маски путем прямого осаждения позволяет добиваться высокой плотности расположения дисков на подложке и малый расход маскирующих молекул.

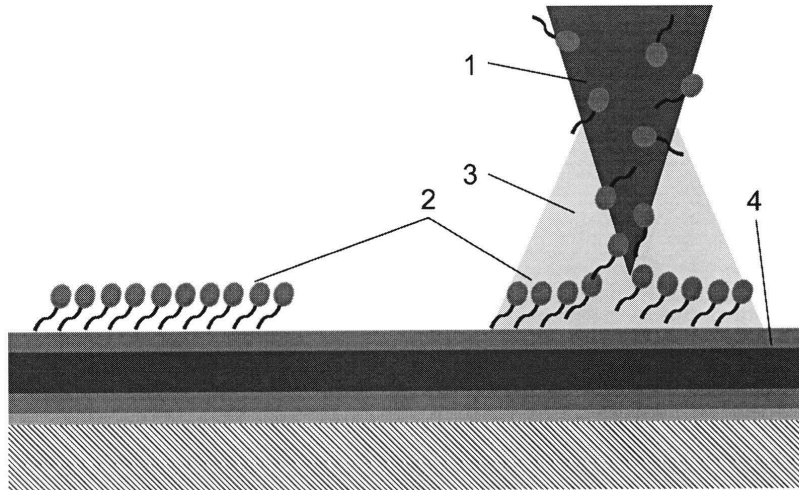
4) Благодаря уникальной форме диска, наночастицы в центре имеют устойчивое вихревое состояние (vortex), что делает их идеальными кандидатами для применения в современных методиках терапии и диагностики

5) Наночастица типа ядро-оболочка в форме диска, имеет биосовместимое Au покрытие и может применяться для производства препаратов магнитомеханической терапии на основе функционализированных аптамерами магнитных наночастиц.

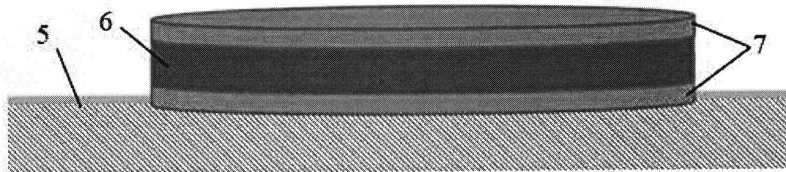
6) Ферромагнитные нанодиски формируются на плоских подложках, они могут быть отделены от нее и находиться в свободном виде (в виде порошков или суспензий) для их внедрения в биологический объект.

#### (57) Формула изобретения

Способ получения ферромагнитных наночастиц-дисков с помощью зондовой литографии и жидкого химического травления, включающий поочередное осаждение на подложку пленок металлов с помощью вакуумных методов напыления, отличающийся тем, что получение частиц происходит по нисходящей технологии, формирование маски для получения необходимой топологии осуществляется с помощью иглы зондового микроскопа путем прямого осаждения слоя молекул, содержащих тиоловую группу, при температуре 22-25°C и относительной влажности 33-36%, удаление незакрытых слоев золота осуществляется в растворе водной смеси 0,1 М Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, 1,0 М КОН, 0,01 М K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> и 0,001 М K<sub>4</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> в соотношении 1:1:1:1 (V/V/V/V) при постоянном перемешивании и температуре раствора 22°C, отделение наночастиц от подложки путем удаления растворимого подслоя ZnO в 10% водном растворе лимонной кислоты при постоянном перемешивании и температуре раствора 22°C.



Фиг. 1



Фиг. 2