

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
имени М.В.ЛОМОНОСОВА

*На правах рукописи*

Черных Иван Николаевич

**Модифицированные альгинатные гидрогели  
как носители иттрия-90 и фосфора-32**

Специальность 1.4.13 Радиохимия

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени

кандидата химических наук

Москва – 2026

Диссертационная работа подготовлена в лаборатории гетерогенных процессов на кафедре радиохимии химического факультета Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

**Научный руководитель**

**Николаев Александр Львович**

кандидат химических наук, доцент

**Официальные оппоненты**

**Игнатьева Наталия Юрьевна**

доктор химических наук, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химический факультет, кафедра физической химии, доцент.

**Казakov Андрей Геннадьевич**

кандидат химических наук, Институт геохимии и аналитической химии имени В.И. Вернадского Российской академии наук, ведущий научный сотрудник лаборатории радиохимии.

**Кудряшева Надежда Степановна**

доктор физико-математических наук, профессор, Федеральный исследовательский центр – «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», Институт биофизики Сибирского отделения Российской академии наук, ведущий научный сотрудник лаборатории фотобиологии.

Защита диссертации состоится 10 июня 2026 г. в 16:00 на заседании диссертационного совета МГУ.014.6 Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова по адресу: 119991, Москва, ГСП-1, Ленинские горы, 1, стр.10, ауд. 308.

E-mail: severin@radio.chem.msu.ru (А.В. Северин, ученый секретарь диссертационного совета МГУ.014.6).

С диссертацией можно ознакомиться в отделе диссертаций научной библиотеки МГУ имени М.В. Ломоносова (Ломоносовский просп., д. 27) и на портале: <https://dissovet.msu.ru/dissertation/3870>

Автореферат разослан « \_\_\_\_ » апреля 2026 г.

Ученый секретарь диссертационного совета, кандидат химических наук

А.В. Северин

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Радионуклиды активно применяются в медицине для диагностики и лечения онкологических заболеваний. Преимуществом использования радионуклидов является направленное воздействие высоких доз излучения на очаг поражения, при допустимом действии на здоровые ткани, что снижает количество побочных эффектов для организма. Существуют различные способы доставки радионуклидов к пораженной области. Можно выделить пассивные способы доставки, включающие отдельные методы брахитерапии, и таргетные способы доставки, связанные с использованием радиофармпрепаратов, избирательно накапливающихся в пораженных органах. Этапы создания радиофармпрепаратов включают выбор радионуклида с подходящими ядерно-физическими характеристиками, поиск молекулы, которая обеспечит целевую доставку радионуклида в опухоль (вектора) и выбор, соединяющего их линкера. Создание новых радиофармпрепаратов осложнено из-за разнообразия видов рака, длительности разработки и экономических причин.

Тем не менее создание радиофармпрепарата может быть несколько упрощено. Речь идет о тех случаях, когда носитель с радионуклидом вводится непосредственно в опухоль или рядом с ней. Так, во время процедуры радиоэмболизации печени, микросферы, нагруженные радионуклидом, вводятся в печеночную артерию и по сосудистому руслу доставляются непосредственно к раку печени. В этом случае из многоэтапной процедуры создания радиофармпрепарата выпадают этапы связанные с выбором вектора и линкера. Схожий принцип используется для создания новых материалов для брахитерапии: биоразлагаемых зерен, которые, после введения непосредственно в опухоль, способны при разложении равномерно распределять дозовую нагрузку по опухоли и со временем удаляться из организма без хирургического вмешательства. При таком подходе основные требования к носителям радионуклидов определяются параметрами, характеризующими их удельную активность, биосовместимость, скорость деградации, удерживание радионуклида и простоту синтеза. В этой связи актуальной становится проблема выбора материала, его модифицирования и создания композита наилучшим образом, соответствующего требованиям конкретной терапии.

Гидрогелевые материалы на основе альгинатов активно применяются в медицине при доставке лекарственных средств и исследуются в качестве материалов для тканевой-инженерии. Свойства данных материалов можно контролировать с помощью различных модификаторов, таких как включения гидроксиапатита, также нашедшего применение в медицине. Существует лишь несколько доклинических исследований их применения в диагностике и терапии онкологических заболеваний, что определяет новизну данной работы. Актуальность работы обусловлена потребностью в новых материалах для доставки радионуклидов в методах брахитерапии и радиоэмболизации. Выбор радионуклидов  $^{90}\text{Y}$  и  $^{32}\text{P}$  основан на их широком

применении в указанных видах терапии онкологических заболеваний.

**Целью работы** является синтез и определение физико-химических особенностей носителей  $^{90}\text{Y}$  и  $^{32}\text{P}$  на основе минерализованных гидроксиапатитом альгинатных гидрогелей.

Для достижения цели работы решались следующие **задачи**:

1. Разработка методик синтеза модифицированных гидроксиапатитом альгинатных гидрогелей носителей для  $^{90}\text{Y}$  и  $^{32}\text{P}$ .
2. Характеризация полученных образцов инструментальными методами анализа.
3. Разработка методик включения  $^{90}\text{Y}$  и  $^{32}\text{P}$  в синтезированные носители на основе процессов сорбции и изотопного обмена в растворе.
4. Сравнительная оценка кинетических параметров связывания целевых радионуклидов синтезированными носителями.
5. Исследование поведения альгинатных сфер в моделях биологической жидкости и определение устойчивости носителей к вымыванию радионуклида.
6. Исследование влияния минерализации гидрогелей на параметры сорбции, изотопного обмена и устойчивости альгинатных сфер.

#### **Объекты исследования**

Для исследования были выбраны радионуклиды  $^{90}\text{Y}$  и  $^{32}\text{P}$ , а в качестве носителя альгинатные гидрогели, сшитые кальцием, иттрием и железом. Для модификации использовали минеральные частицы гидроксиапатита, полученные осаждением в растворе.

$^{90}\text{Y}$  является одним из широко используемых медицинских радионуклидов. Он имеет период полураспада в 64.04 часа, максимальную энергию бета-частицы 2.27 МэВ, а единственным продуктом его распада является нерадиоактивный  $^{90}\text{Zr}$ . Бета-излучение  $^{90}\text{Y}$  проникает в ткани на среднее расстояние около 3 мм, что обеспечивает необходимую терапевтическую дозу при расположении вблизи раковой опухоли. Этот радионуклид уже активно используется в медицине в радиоэмболизации – инвазивном методе лечения рака, которая доказала свою эффективность в борьбе с раковыми опухолями и метастазами в печени.

$^{32}\text{P}$  также является  $\beta$ -излучателем и обладает подходящими для терапии ядерно-физическими характеристиками: периодом полураспада 14.28 суток, максимальной энергией излучения 1.71 МэВ и средним пробегом в тканях порядка 2 мм. Единственный продукт его распада это  $^{32}\text{S}$ . Исторически данный радионуклид был одним из первых, который широко применялся для борьбы с метастазами в костных тканях. В последнее время  $^{32}\text{P}$  часто используется в поверхностной брахитерапии для лечения различных видов рака кожи.

**Альгинаты** представляют собой анионные полимеры природного происхождения из класса полисахаридов. Альгинатные гидрогели часто рассматриваются как перспективные материалы для доставки лекарств за счет своей биосовместимости и легкости инкапсулирования в них различных лекарственных средств. Другой важной характеристикой альгинатов является

их высокая сорбционная способность по отношению к двух или трехвалентным металлам, за счет координации карбоксильных групп альгината. Это дает возможность включать радионуклиды в альгинатную полимерную матрицу. Кроме того, сферы на основе альгинатных гидрогелей могут быть модифицированы минеральными включениями, такими как частицы гидроксиапатита.

**Гидроксиапатит (ГАП)** служит неорганическим матриксом костной ткани человека и животных. В природе он встречается в виде минералов группы апатита. Гидроксиапатит и препараты на его основе находят широкое применение в медицинской и биохимической практике. Гидроксиапатит также обладает высокой сорбционной способностью по отношению к различным катионам металлов, в том числе катионам иттрия.

### **Научная новизна**

1. Впервые синтезированы и охарактеризованы ферментативно модифицированные включениями фосфатов кальция сферы альгината кальция и иттрия, а также, модифицированные суспензией нанокристаллического гидроксиапатита сферы альгината железа.
2. Проведено сравнительное исследование трех способов минерализации альгинатных сфер: включение готового суспензионного гидроксиапатита, осаждение гидроксиапатита внутри сфер и ферментативная минерализация фосфатами кальция.
3. В качестве метода связывания радионуклидов  $^{90}\text{Y}$  и  $^{32}\text{P}$  с альгинатными носителями изотопный обмен в водном растворе был исследован впервые.
4. Исследована кинетика связывания целевых радионуклидов альгинатными сферами и влияние минерализации гидрогеля на данный процесс.
5. Проведено сравнительное исследование устойчивости синтезированных образцов в модельных биологических средах. Выявлена связь устойчивости сфер в биологических жидкостях с природой сшивающего катиона и степенью минерализации гидрогеля.

### **Практическая значимость работы**

Практическая значимость работы определяется перспективой применения исследованных составов в терапии онкологических заболеваний. Получение смешанных составов, как и введение минеральных включений позволят более тонко адаптировать синтезируемые препараты под требования конкретной терапии. Модификация альгинатных сфер за счет минерализации улучшает сорбционные свойства материала, повышает его устойчивость к вымыванию радионуклида в биологических жидкостях и позволяет регулировать скорость набухания сфер и их биодegradацию. После проведения исследований *in vivo* минерализованные альгинатные сферы могут быть использованы в качестве носителя  $^{32}\text{P}$  при конструировании аппликаторов для внешней брахитерапии и в качестве носителя  $^{90}\text{Y}$  для послеоперационной терапии. При условии уменьшения размеров сфер до микрометрового возможно их применение в радиоэмболизации.

### **Положения, выносимые на защиту:**

1. Носители  $^{90}\text{Y}$  и  $^{32}\text{P}$  на основе минерализованных нанокристаллическим гидроксиапатитом альгинатных гидрогелей иттрия и железа перспективны для дальнейших *in vivo* исследований.
2. Минерализация сфер заметно повышает их устойчивость в сыворотке крови и снижает вымывание радионуклида. Наиболее значимый эффект наблюдается при минерализации суспензионным нанокристаллическим гидроксиапатитом.
3. Динамика выхода радионуклида из альгинатных сфер в сыворотке крови коррелирует с их разрушением в сыворотке крови и может быть задана составом микросфер.
4. Для мечения альгинатных сфер в медицинских целях изотопом  $^{90}\text{Y}$  перспективно использовать сорбцию и изотопный обмен  $^{89}\text{Y} - ^{90}\text{Y}$  в водном растворе.
5. Введение  $^{32}\text{P}$  в альгинатные сферы для медицинских целей рекомендуется проводить за счет сорбции фосфат-ионов в водном растворе. Изотопный обмен  $^{31}\text{P} - ^{32}\text{P}$  в альгинате происходит слишком медленно для применения процесса на практике.

### **Соответствие паспорту научной специальности**

Диссертационная работа соответствует паспорту специальности 1.4.13 Радиохимия. Процессы изотопного обмена. Их кинетика и термодинамика. Получение и идентификация меченых соединений. Применение радионуклидов в химии и химической технологии. Метод радиоактивных индикаторов.

### **Степень достоверности**

Достоверность результатов обусловлена использованием современного высокоточного откалиброванного оборудования, включающего рентгеновский дифрактометр, ИК Фурье-спектрометр, сканирующий электронный микроскоп, жидкостной сцинтилляционный спектрометр, спектрофотометр и другие приборы. Воспроизводимость результатов синтеза и свойств полученных образцов была обеспечена использованием реактивов высокой чистоты и статистической обработкой экспериментальных данных.

### **Личный вклад автора**

Основой диссертации являются исследования, проведенные автором или при его участии с 2022 по 2025 г. в лаборатории гетерогенных процессов кафедры радиохимии Химического факультета МГУ. Автор участвовал в постановке задач, планировании экспериментов и анализе литературных данных. Автор разработал методы модификации альгинатных микросфер включениями гидроксиапатита, активно участвовал в характеристике и исследовании свойств полученных образцов, самостоятельно обрабатывал и интерпретировал полученные данные. Под научным руководством автора выполнены 2 дипломные и 5 курсовых работ, связанные с темой диссертации. Автор лично представлял работу на конференциях, писал научные статьи и готовил их к публикации. Личный вклад автора в совместных публикациях основополагающий.

## Апробация работы

Результаты работы были представлены в виде 14 устных и стендовых докладов на следующих всероссийских и международных конференциях: XII Международная научная конференция «Кинетика и механизм кристаллизации. Кристаллизация и материалы нового поколения» (Россия, Иваново, 2023, 1 доклад); 6-ая ежегодная Школа-конференция молодых ученых «ПРОХОРОВСКИЕ НЕДЕЛИ» (Россия, Москва, 2023, 1 доклад); УМНИК в МГУ (Россия, Москва, 2023, 1 доклад); XXXI Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов-2024» (Россия, Москва, 2024, 1 доклад); 6-ая Российская конференция по медицинской химии (Россия, Нижний Новгород, 2024, 2 доклада); 7-ая ежегодная Школа-конференция молодых ученых «Прохоровские недели» (Россия, Москва, 2024, 1 доклад); «Matter and Materials» (Россия, Сколково, 2025, 1 доклад); XXVIII Всероссийская конференция молодых ученых-химиков с международным участием (Россия, Нижний Новгород, 2025, 1 доклад); XXXII Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов-2025» (Россия, Москва, 2025, 2 доклада); XI Российская конференция «Радиохимия-2025» (Россия, Красноярск, 2025, 2 доклада); 8-ая ежегодная Школа-конференция молодых ученых «Прохоровские недели» (Россия, Москва, 2025, 1 доклад).

## Публикации

Основные результаты, положения и выводы изложены в 4 научных статьях общим объемом 2.8 п.л. в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных для защиты в МГУ имени М.В. Ломоносова по специальности и отрасли науки.

## Структура и объем работы

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, результатов и их обсуждения, заключения, выводов и списка литературы. Материал диссертации изложен на 118 страницах, содержит 48 рисунков и 20 таблиц, а список литературы включает 195 наименований.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во **введении** приведено обоснование актуальности работы, сформулирована цель и поставлены задачи, обозначена её научная новизна, практическая значимость и изложены основные положения, выносимые на защиту.

**Первая глава «Обзор литературы»** состоит из восьми разделов. **В первом разделе** приводится краткий обзор применения радионуклидов в терапии онкологических заболеваний. **Второй раздел** посвящен методу брахитерапии и новым разрабатываемым материалам носителей. **Третий раздел** описывает поверхностную брахитерапию для лечения рака кожи и новые разрабатываемые аппликаторы. **В четвертом разделе** приводится описание метода

радиоэмболизации для лечения рака печени. Раздел включает используемые и перспективнее носители, их преимущества и недостатки. **Пятый раздел** содержит информацию о гидрогелях и их применении в качестве носителей препаратов и радионуклидов. **В шестом разделе** содержится информация об альгинатных гидрогелях, их структуре, процессе гелеобразования, сорбционных свойствах и применении в медицине, в том числе в качестве носителей радионуклидов для диагностики и терапии. **Седьмой раздел** посвящен гидроксиапатиту, его свойствам и примерам его использования в качестве носителей радионуклидов. **Восьмой раздел** представляет собой вывод из обзора литературы.

**Во второй главе «Экспериментальная часть»** приводятся сведения об использованных реактивах, методах исследования и оборудовании. **Третья глава «Результаты и их обсуждение»** состоит из семи разделов и охватывает оптимизацию синтеза альгинатных сфер (**первый раздел**); синтез и характеризацию гидроксиапатита (**второй раздел**); исследование различных подходов к минерализации гидроксиапатитом для создания композитных альгинатных сфер (**третий раздел**); синтез, характеризацию и исследование структуры сфер альгината кальция, иттрия и железа и их модифицированных гидроксиапатитом аналогов (**четвертый раздел**); набухание и устойчивость сфер в условиях биологических жидкостей (**пятый раздел**); исследование процессов сорбции, изотопного обмена и устойчивости к вымыванию  $^{90}\text{Y}$  для альгинатных сфер (**шестой раздел**); исследование процессов сорбции, изотопного обмена и устойчивости к вымыванию  $^{32}\text{P}$  для альгинатных сфер (**седьмой раздел**).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

### Кинетика сшивания альгинатных сфер

Соотношение мономера ( $n_{\text{мон}}$ ) и сшивающего катиона ( $n_{\text{мет}}$ ) является одним из важнейших параметров при сшивании альгината. Для оценки  $n_{\text{мон}}/n_{\text{мет}}$  измеряли убыль концентрации  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Y}^{3+}$  и  $\text{Fe}^{3+}$  в процессе синтеза альгинатных сфер (рисунок 1). Были получены следующие значения  $n_{\text{мон}}/n_{\text{мет}}$ :  $2.1 \pm 0.1$  ( $\text{Ca}^{2+}$ );  $3.4 \pm 0.2$  ( $\text{Y}^{3+}$ );  $1.8 \pm 0.1$  ( $\text{Fe}^{3+}$ ). Предположительно механизм сшивания включает быстрое связывание катионов с карбоксильными группами на поверхности капли альгината, диффузию катионов через уплотняющийся слой и процессы координации карбоксильных групп альгината с образованием трехмерной сетки гидрогеля. Лимитирующая стадия процесса меняется со временем, и мгновенная эффективная константа скорости процесса ( $K_{\text{эф}}$ ) имеет временную зависимость. Модель Аврамы позволяет описать подобный процесс:

$$\frac{dq}{dt} = knt^{n-1}(q_e - q) \quad K_{\text{эф}} = knt^{n-1} \quad (1)$$

где  $k$ ,  $\text{мин}^{-n}$  – кинетическая константа Аврамы,  $n$  – константа, связанная с абсорбционным механизмом;  $q$ , М – концентрация иттрия в сферах за время  $t$  и  $q_e$ , М – предельная концентрация иттрия в сферах;  $t$ , мин – время;  $K_{\text{эф}}$  – мгновенная эффективная константа процесса.

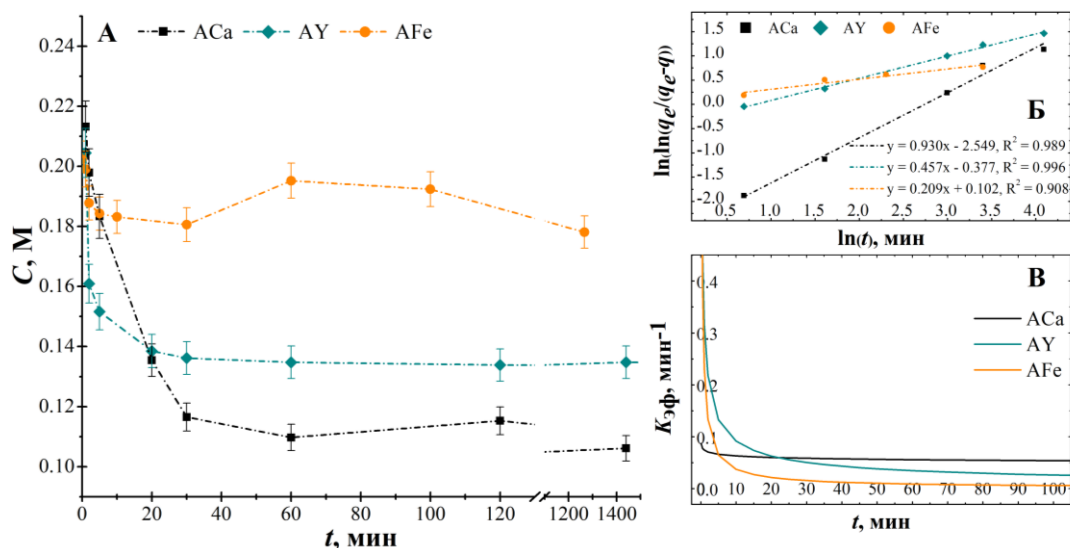


Рисунок 1. А) Динамика изменения концентрации  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Y}^{3+}$  и  $\text{Fe}^{3+}$  в растворе в ходе синтеза сфер. Б) Обработка данных в координатах линеаризованной формы уравнения Аврами. В) Зависимость мгновенной эффективной константы от времени.

Данная модель хорошо описывает экспериментальные данные для катионов  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Y}^{3+}$  и удовлетворительно для катионов  $\text{Fe}^{3+}$ , что, вероятно, связано с более сложным механизмом связывания из-за наличия процессов гидролиза и осаждения гидроксоформ железа при синтезе (рисунок 1 Б). Параметр  $n$  и константу  $k$  (таблица 1) использовали для получения зависимостей  $K_{\text{эф}}$  от времени (рисунок 1 В). Из полученных результатов следует, что при формировании альгинатных сфер со временем нарастают диффузионные затруднения, и уменьшается скорость связывания катионов в ряду  $\text{Ca} - \text{Y} - \text{Fe}$ . В данном ряду будет возрастать и неравномерность сшивки, сопровождаемая появлением макроструктуры с плотной оболочкой и мягким ядром.

Таблица 1. Параметры уравнения Аврами при сшивании альгината катионами  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Y}^{3+}$  и  $\text{Fe}^{3+}$ .

Образец – катион	$n$	$k, \text{мин}^{-n}$	$R^2$
АСа – $\text{Ca}^{2+}$	$0.93 \pm 0.05$	$0.080 \pm 0.005$	0.9885
АУ – $\text{Y}^{3+}$	$0.46 \pm 0.02$	$0.69 \pm 0.06$	0.9959
АFe – $\text{Fe}^{3+}$	$0.21 \pm 0.04$	$1.1 \pm 0.1$	0.9078

### Характеризация гидроксиапатита

В работе для модификации альгинатного гидрогеля используются частицы гидроксиапатита. Для минерализации образцов использовали ГАП, полученный суспензионным способом (ГАПс) и с помощью ферментативного гидролиза глицерофосфата кальция (ГАПф). В первом случае получается хорошо закристаллизованная фаза гидроксиапатита, а во втором более аморфная. Помимо кристаллической фазы  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  наблюдается образование монетита  $\text{CaHPO}_4$  (<5% для ГАПс и  $\approx 49\%$  для ГАПф). Объем элементарной ячейки гидроксиапатита ГАПф ( $532.2(7) \text{ \AA}^3$ ), уточненный методом Ле Бейла, заметно выше, чем в ГАПс ( $529.04(6) \text{ \AA}^3$ ).

По данным спектрофотометрии растворенных образцов соотношение  $\text{Ca}:\text{P}$  для образца ГАПф составляет  $1.4 \pm 0.1$ , что ниже стехиометрического 1.67. Таким образом, при ферментативном синтезе образуется кальцийдефицитный гидроксиапатит, и наличие группы

$\text{HPO}_4^{2-}$  приводит к повышению объема элементарной ячейки. На ИК-спектре ГАПф наблюдаются характерные для гидроксиапатита пики валентных и деформационных колебаний  $\text{PO}_4^{3-}$  групп: 1090, 1034, 960, 604, 566  $\text{cm}^{-1}$ , и -ОН групп: 3570  $\text{cm}^{-1}$  и 632  $\text{cm}^{-1}$ , а также пик  $\text{HPO}_4^{2-}$  при 874  $\text{cm}^{-1}$  характерный для монетита (рисунок 2 А).

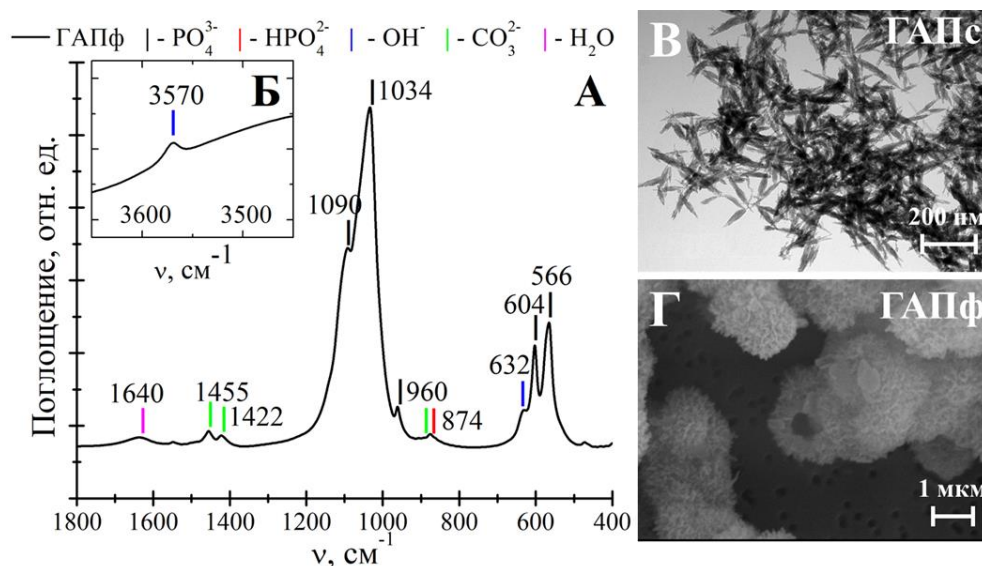


Рисунок 2. ИК-спектр ГАПф в диапазоне 400–1800  $\text{cm}^{-1}$  (А) и 3450–3650  $\text{cm}^{-1}$  (Б). Штрихами отмечены колебательные моды. Трансмиссионная электронная микроскопия ГАПс (В) и растровая электронная микроскопия ГАПф (Г).

При синтезе из суспензии  $\text{CaO}$  и  $\text{H}_3\text{PO}_4$  получаются игольчатые кристаллы длиной порядка 200 нм и шириной около 50 нм (рисунок 2 В). При ферментативном синтезе гидроксиапатита образуются сферические частицы со средним размером около 2.7 мкм, обладающие развитой поверхностью и предположительно полые внутри (рисунок 2 Г). Сложная морфология частиц ГАПф предположительно связана с процессами перекристаллизации аморфных фосфатов кальция в ходе ферментативного синтеза.

Таким образом, в результате суспензионного синтеза получается высококристаллическая фаза  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ , а в ходе ферментативного гидролиза глицерофосфата кальция образуется менее закристаллизованный образец состава  $\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}/\text{CaHPO}_4$ , который должен обладать повышенной биоразлагаемостью.

### Кинетика выхода фосфатазы из сфер

Для ферментативной минерализации сфер сначала происходит сшивание раствора альгината Na и щелочной фосфатазы (ЩФ), катализирующей реакцию образования ГАП. Затем полученные сферы помещают в раствор глицерофосфата кальция. Для оценки количества щелочной фосфатазы в полимерной сетке был исследован выход фермента из кальциевых (АСа-ЩФ) и иттриевых (АУ-ЩФ) сфер радиометрически по тритиевой метке. За трое суток из кальциевых сфер выходит порядка 75% фосфатазы, а из иттриевых 60%, что можно объяснить более плотной структурой гидрогеля альгината У (рисунок 3 А). Каталитическая активность

фермента при выходе из сфер снижается, что, вероятно, связано с ингибированием ЩФ в реакционной среде (рисунок 3 Б), при этом ингибирование более выражено для кальциевых сфер.

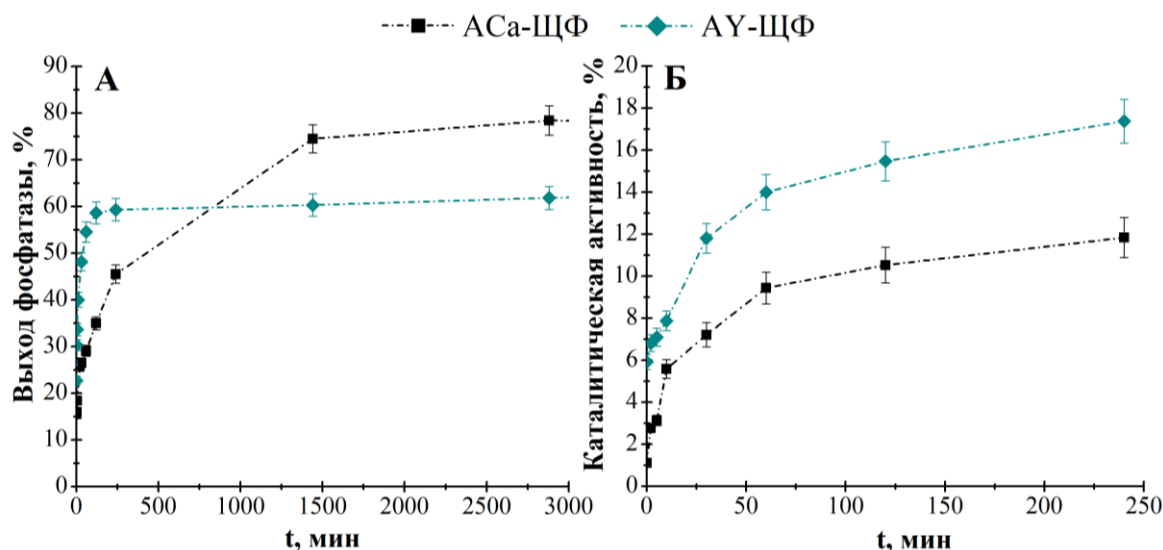


Рисунок 3. А) Кинетика выхода меченой тритием щелочной фосфатазы из сфер АСа-ЩФ и АУ-ЩФ в ходе синтеза в процентах от введенной фосфатазы по данным ЖСС. Б) Изменение каталитической активности фосфатазы в растворе над сферами АСа-ЩФ и АУ-ЩФ в процентах от введенной в сферы каталитической активности.

### Характеризация альгинатных сфер

В результате сшивания альгината катионами  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Y}^{3+}$  и  $\text{Fe}^{3+}$  были получены образцы АСа, АУ и АFe. Форма образцов АСа шарообразная, сферы АУ и АFe более сплюснутые (рисунок 4 А, Б). Радиус сфер АСа, АУ и АFe составляет порядка 1.3 – 1.6 мм во влажном состоянии. Для подавления гидролиза в растворе  $\text{Fe}^{3+}$  использовали сшиватель на основе хлоридного комплекса  $[\text{FeCl}_4]^-$ . В результате были получены сферы АFeCl со сплюснутой формой и радиусом около 1.8 мм (рисунок 4 В и Г). При высушивании всех типов сфер, их радиус уменьшался до 0.4 – 0.6 мм.

При ферментативной минерализации сфер, содержащих Са и У, были получены образцы АСаГАПф и АУГАПф соответственно. Средний радиус ферментативно минерализованных сфер возрастает на 20–30%. При включении в альгинат суспензионного гидроксиапатита ГАПс с последующей сшивкой в растворе  $\text{Y}(\text{NO}_3)_3$  были получены сферы АУГАПс, обладающие на 40% меньшим радиусом, по сравнению с АУГАПф, и низким содержанием воды (74% против 90-95% у других сфер), что свидетельствует об образовании более плотной и жесткой структуры.

В результате синтеза сфер с добавлением ГАПс в водном растворе  $\text{FeCl}_3$  был получен образец АFeГАПс1 (рисунок 4 Д, Е). Форма АFeГАПс1 близка к сферической. Радиус составляет  $1.5 \pm 0.1$  мм. Ввиду низкого  $\text{pH} \approx 1$  для сшивающего раствора  $\text{FeCl}_3$  может происходить частичное растворение гидроксиапатита. Для предотвращения данного процесса  $\text{pH}$  среды повысили до 4.3, используя раствор ацетатного комплекса  $[\text{Fe}_3\text{O}(\text{CH}_3\text{COO})_6(\text{H}_2\text{O})_3]^+$ . При попадании капля альгината с ГАП в такой раствор сферическая форма капли искажалась вследствие более

медленной шивки. В результате были получены чашеобразные гранулы АFeГАПс2 с максимальным радиусом  $1.8 \pm 0.2$  мм и радиусом углубления  $1.4 \pm 0.1$  мм (рисунок 4 Ж, З).

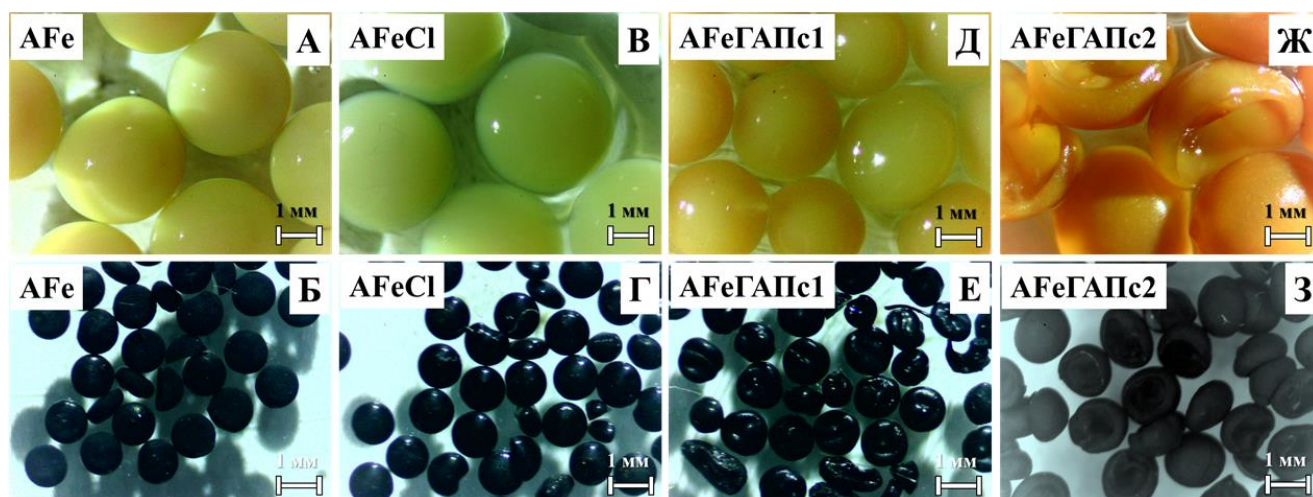


Рисунок 4. Оптические микрофотографии сфер альгината Fe различного состава во влажном (А, В, Д, Ж) и высушенном состоянии (Б, Г, Е, З): А, Б) сферы АFe, полученные в растворе  $\text{FeCl}_3$ ; В, Г) сферы АFeCl, полученные в растворе  $[\text{FeCl}_4]^-$ ; Д, Е) сферы АFeГАПс1, полученные при сшивании альгината с суспензией ГАП в растворе  $\text{FeCl}_3$ ; Ж, З) сферы АFeГАПс2, полученные при сшивании альгината с суспензией ГАП в растворе ацетатного комплекса  $\text{Fe}^{3+}$ .

Поверхность высушенных сфер АСа более гладкая, а поверхность высушенных сфер АУ более развитая. При ферментативной минерализации тенденция сохраняется: поверхность сфер АСаГАПф достаточно гладкая и содержит отдельные скопления частиц минеральной фазы, а поверхность АУГАПф более развитая и равномерно покрытая частицами фосфатов (рисунок 5). Элементное картирование РСМА по фосфору подтверждают неравномерность минерализации АСаГАПф и равномерное распределение минеральной фазы по сферам АУГАПф (рисунок 5 В и Е). Сферы АУГАПс демонстрируют сферическую форму и равномерное покрытие как поверхности, так и среза образца частицами минеральной фазы ГАПс.

Поверхность сфер АFe, АFeCl и АFeГАПс1 более гладкая и плотная, чем поверхность срезов, что свидетельствует о неоднородной макроструктуре (рисунок 5). Наиболее развитую поверхность имеют сферы АFe и АFeГАПс2. РСМА картирование по Са, У и Fe демонстрирует равномерное распределение элементов по поверхности каждого из типов сфер. Согласно РСМА в АFeГАПс1 и АFeГАПс2 наблюдается заметное содержание фосфора на поверхности, а кальций содержится в значительном количестве только на поверхности образца АFeГАПс2. Можно сделать вывод, что в растворе  $\text{FeCl}_3$  ГАП практически полностью растворяется, а в растворе ацетатного комплекса железа с  $\text{pH} = 4.3$  минеральная фаза частично сохраняется.

По данным рентгеновской дифракции минерализованных образцов у АFeГАПс1 полностью аморфная фаза, а в образцах АУГАПс и АFeГАПс2 частично сохраняется кристаллическая фаза гидроксиапатита (рисунок 6). Однако фаза ГАП заметно аморфизирована, по сравнению с исходным образцом ГАПс, что свидетельствует о процессах растворения фазы.

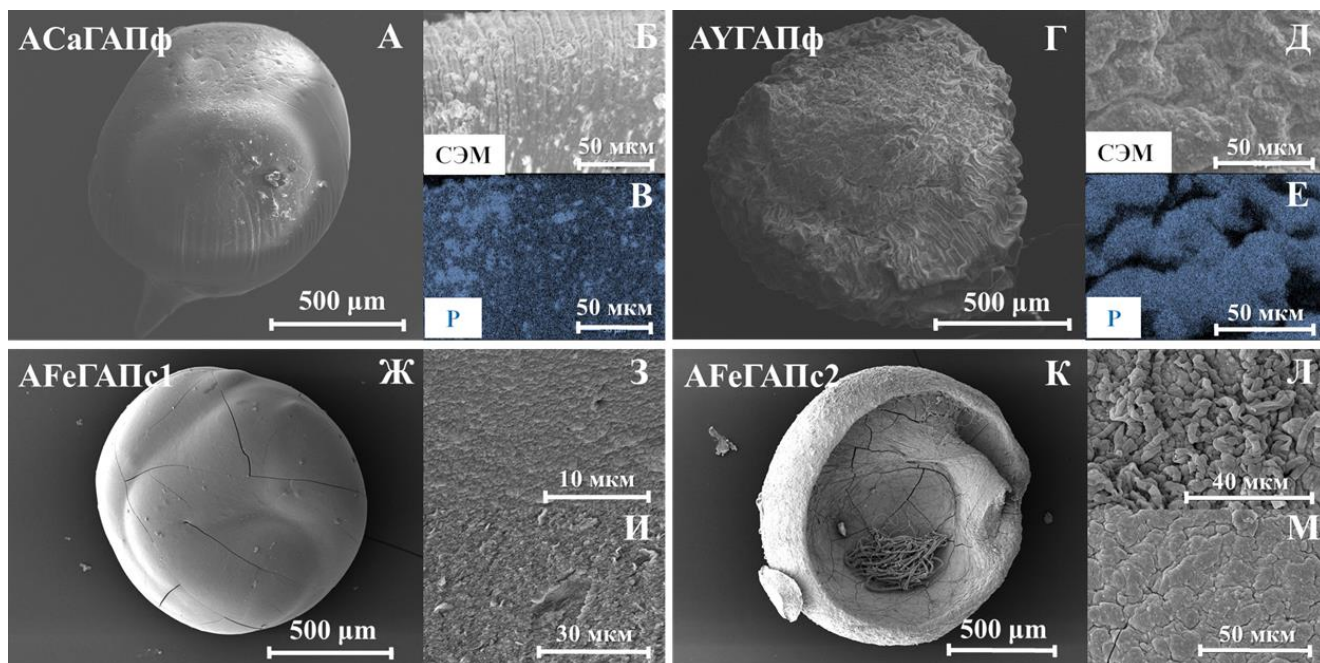


Рисунок 5. Растровая электронная микроскопия и элементное картирование РСМА для альгинатных сфер. Ферментативно минерализованные сферы АСаГАПф (Ж – общий вид, З – поверхность, И – картирование по фосфору) и АУГАПф (К – общий вид, Л – поверхность, М – картирование по фосфору). Минерализованная сфера АFeГАПс1 (Ж – общий вид, З – поверхность, И – срез). Минерализованная сфера АFeГАПс2, полученная в растворе ацетатного комплекса (К – общий вид, поверхность углубления Л и задней стенки М).

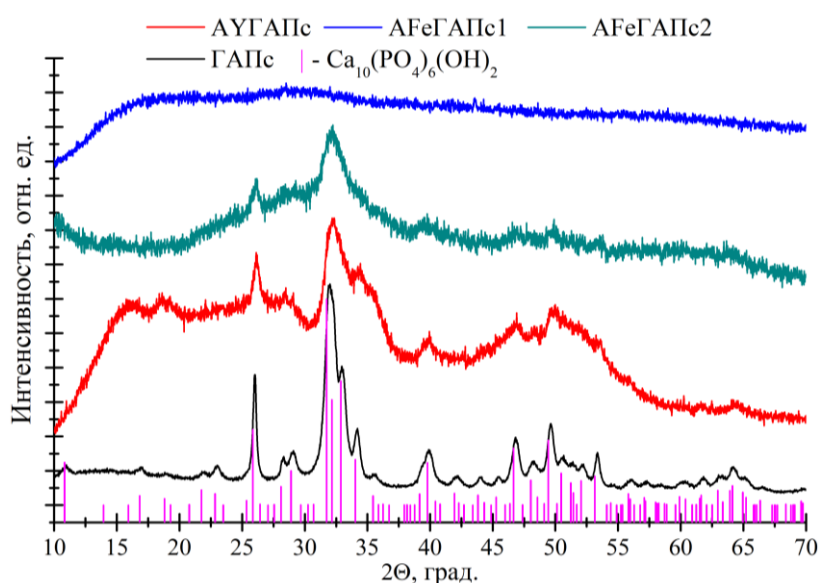


Рисунок 6. Рентгеновская дифракция ГАПс и минерализованных сфер, полученных в растворе  $Y(NO_3)_3$ : АУГАПс,  $FeCl_3$ : АFeГАПс1 и ацетатного комплекса Fe: АFeГАПс2.

присутствует мода колебаний при  $1744\text{ см}^{-1}$  группы  $COO^-$ , протонированной из-за низкого pH раствора сшивателя. ИК-спектры минерализованных альгинатов АСаГАПф, АУГАПф и АFeГАПс1 не демонстрируют наличие новых пиков, которые можно было бы отнести к ГАП, из-за небольшого количества минеральной фазы (рисунок 8). При минерализации ГАПс на спектрах

На ИК спектрах кальциевых (АСа), иттриевых (АУ) и железных (АFe) альгинатных сфер присутствуют все характерные для альгинатов полосы (рисунок 7). Пики в районе  $3400\text{--}3500\text{ см}^{-1}$  обусловлены валентными колебаниями ОН группы. Полосы при  $1603\text{--}1621$  и  $1410\text{--}1422\text{ см}^{-1}$  принадлежат асимметрическим и симметрическим колебаниям  $COO^-$  группы, а моды при  $1029\text{--}1090\text{ см}^{-1}$  относятся к валентным колебаниям С-О и С-С. На спектрах АFe

образцов АУГАПс и АFeГАПс2 наблюдается взаимное наложение полос ГАП и альгината при  $1150 - 1020 \text{ см}^{-1}$  и появление полос при  $640 - 540 \text{ см}^{-1}$ , которые относятся к  $\text{PO}_4^{3-}$  группам.

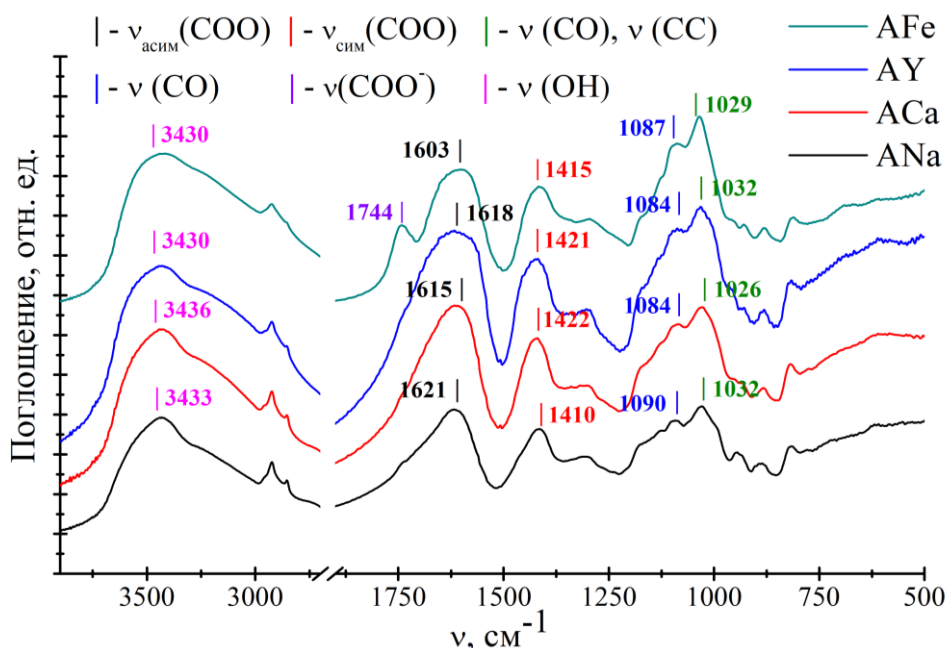


Рисунок 7. ИК спектроскопия альгината натрия ANa и альгинатных сфер ACa, AY и AFe.

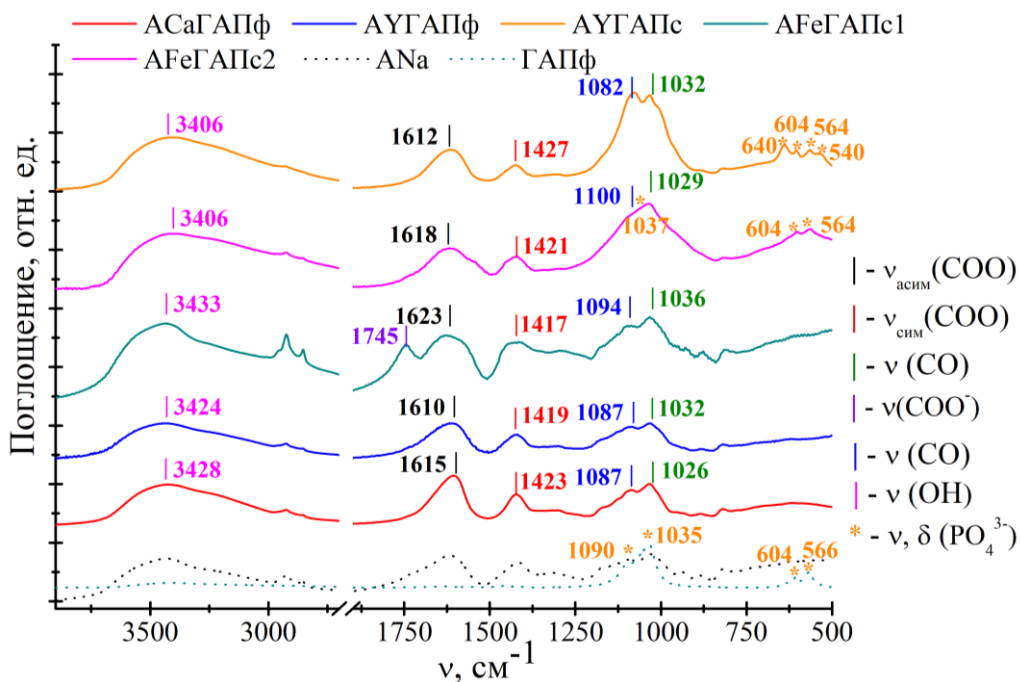


Рисунок 8. ИК-спектры минерализованных сфер альгината ACaГАПф, AYГАПф, AYГАПс, AFeГАПс1 и AFeГАПс2. Пунктиром обозначены спектры альгината Na и ГАП.

### Набухание и устойчивость сфер в биологических жидкостях

Чтобы оценить возможность применения альгинатных сфер в качестве носителей радионуклидов важно определить их поведение в биологических жидкостях. При этом высушенные сферы за счет набухания могут обеспечить эмболический эффект, полезный для терапии. Для оценки использовали степень набухания SR (%) – отношение объема влажной

сферы и объема набухающей после высушивания сферы (рисунок 9). После высушивания и повторного набухания в водной среде сферы достигают 10% от исходного объема, что, вероятно, связано с закупоркой пор при высушивании. Для альгинатов Fe набухание не было обнаружено.

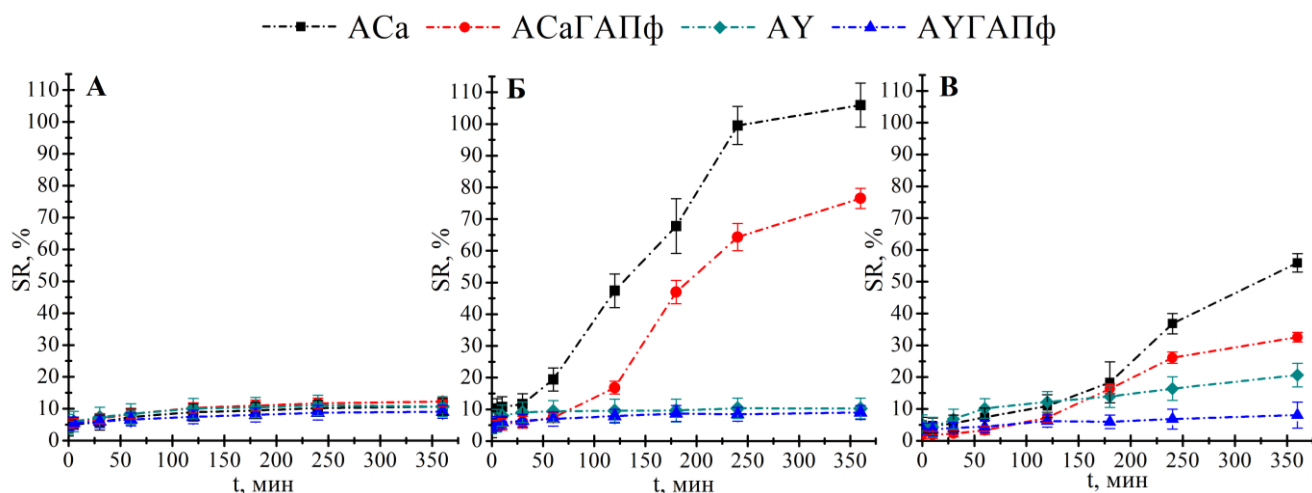


Рисунок 9. Кривые набухания воздушно-сухих сфер АСа, АУ, АСаГАПф, АУГАПф в водной среде (А), в 0.9% водном растворе NaCl (Б) и в сыворотке крови (В) при  $T = 20^\circ\text{C}$ .

Набухаемость кальцийсодержащих сфер в физиологическом растворе заметно отличается от водной среды. Высушенные сферы альгината Са возвращают свои прежние размеры с  $SR \geq 100\%$ , а минерализованные около 80% своего объема. Это объясняется частичным высвобождением  $\text{Ca}^{2+}$  в раствор за счет конкуренции с  $\text{Na}^+$ , из-за чего растет электростатическое отталкивание групп  $\text{COO}^-$  и происходит набухание. Минерализация снижает величину данного эффекта. Иттриевые сферы в физиологическом растворе набухают незначительно ( $SR \approx 10\%$ ), что свидетельствует о более плотной структуре полимерной сетки. В качестве биологической жидкости использовали сыворотку крови крупного рогатого скота. Кальциевые сферы после 6 часов демонстрировали в 2 раза более низкий  $SR$  в сыворотке, чем в физиологическом растворе. Сферы АУ показали  $SR$  около 21%, что объясняется взаимодействием с компонентами сыворотки, а сферы АУГАПф и АУГАПс показали устойчивость к набуханию.

Во всех высушенных альгинатных сферах после нахождения в сыворотке помимо набухания наблюдались процессы постепенной деградации и разрушения, которые наиболее явно проявлялись после 24 ч эксперимента. При этом сферы АСа, АСаГАПф и АУГАПс во влажном состоянии показали хорошую устойчивость к разрушению в сыворотке, а сферы АУ и АУГАПф показали меньшую стабильность, вероятно, вследствие неравномерности их сшивки. АFe и АFeCl начинают разлагаться в сыворотке спустя 10 минут, о чем можно судить по появлению прозрачной области на поверхности сфер (рисунок 10). Через час сферы АFe и АFeCl становятся полностью прозрачными, а через 24 часа наблюдается разрушение сфер. Минерализованные сферы АFeГАПс1 и АFeГАПс2 при этом оказываются устойчивыми, и признаки разрушения сфер начинают наблюдаться только спустя неделю исследований.

## Внедрение $^{90}\text{Y}$ в альгинатные сферы

$^{90}\text{Y}$  может быть введен в альгинатные сферы в растворе во время шивки, сорбцией на уже готовых сферах и с помощью изотопного обмена. Последние два варианта являются

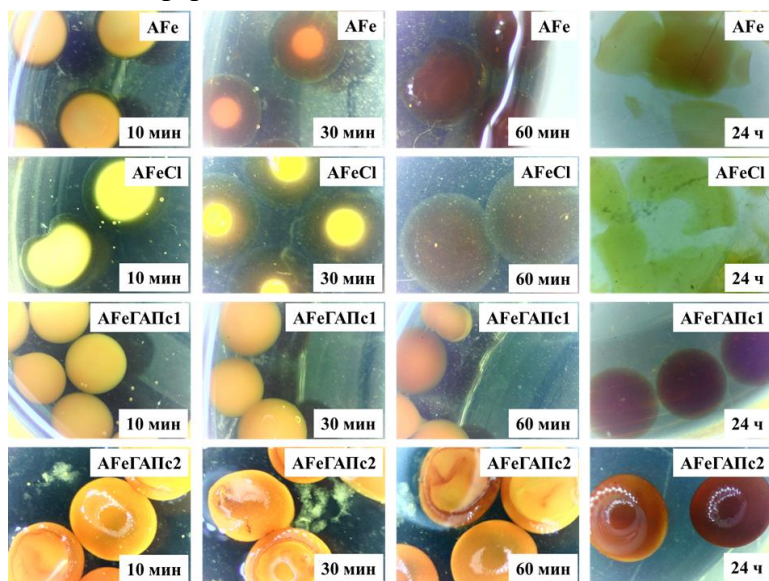


Рисунок 10. Оптические микрофотографии AFe, AFeCl, AFeГАПс1 и AFeГАПс2 в сыворотке крови при  $T = 20\text{ }^\circ\text{C}$  после разного времени выдержки.

предпочтительными поскольку проводятся на завершающей стадии синтеза и предполагают практически полное извлечение  $^{90}\text{Y}$  из раствора. Сорбцию  $\text{Y}$  проводили из раствора нитрата и определяли по убыли катионов  $\text{Y}^{3+}$  спектрофотометрически. Для сфер АСа, АСаГАПф, АУГАПф и AlgYГАПс была определена максимальная сорбционная емкость, которая составила  $30 \pm 1$  мг/г,  $38 \pm 2$  мг/г,  $45 \pm 2$  мг/г и  $90 \pm 4$  мг/г соответственно.

Ферментативная минерализация кальциевых сфер АСаГАПф позволила увеличить сорбционную емкость на 27%, по сравнению со сферами АСа, за счет дополнительной сорбции на ГАП. Более высокая емкость сфер АУГАПф и АУГАПс обусловлена большим содержанием ГАП в материале. Сферы АУ не показали заметной сорбции, поскольку при шивке катионами  $\text{Y}^{3+}$  были заняты практически все сорбционные центры.

Кинетика сорбции иттрия исследовалась в растворе с концентрацией  $\text{Y}^{3+}$  0.7 г/л (рисунок 11 А). За исключением АУ, процесс сорбции на альгинатных сферах приближается к максимальным значениям в течение 5 часов. Для оценки кинетических данных было использовано линейное уравнение псевдо-второго порядка, поскольку оно хорошо описывает экспериментальные данные (рисунок 11 Б) и является классическим для альгинатных сфер:

$$\frac{dq}{dt} = k_2(q_e - q)^2 \quad \frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_2 q_e^2} + \frac{t}{q_e} \quad h = k_2 q_e^2 \quad (2)$$

где  $k_2$ , г/мкг $\times$ мин – константа скорости;  $q_t$ , мкг/г – сорбция иттрия за время  $t$ , мин;  $q_e$ , мкг/г – максимальная сорбция в данных условиях;  $h$ , мкг/г $\times$ мин – начальная скорость сорбции.

У образцов различаются константа скорости  $k_2$  и кинетический параметр  $h$  (таблица 2). Снижение константы скорости  $k_2$  для минерализованных кальциевых сфер АСаГАПф, по сравнению с АСа, вероятно, связано с более медленными процессами сорбции  $\text{Y}$  на гидроксиапатите, по сравнению с процессами ионного обмена в карбоксильных группах альгината. Тем не менее, сферы АСаГАПф характеризуются большим значением параметра  $h$ , что объясняется наличием большего количества мест связывания на начальных этапах процесса.

Наиболее низкие  $k_2$  и  $h$  для минерализованных сфер АУГАПф, поскольку связывание Y с ними обусловлено только взаимодействием с фосфатами кальция. Несмотря на неполное извлечение Y из раствора, сферы АУГАПс характеризуются наибольшей константой  $k_2$  и максимальной начальной скоростью  $h$ , что говорит о сорбции преимущественно на поверхности сфер, которая содержит большое количество сорбционных центров за счет частиц минеральной фазы ГАП.

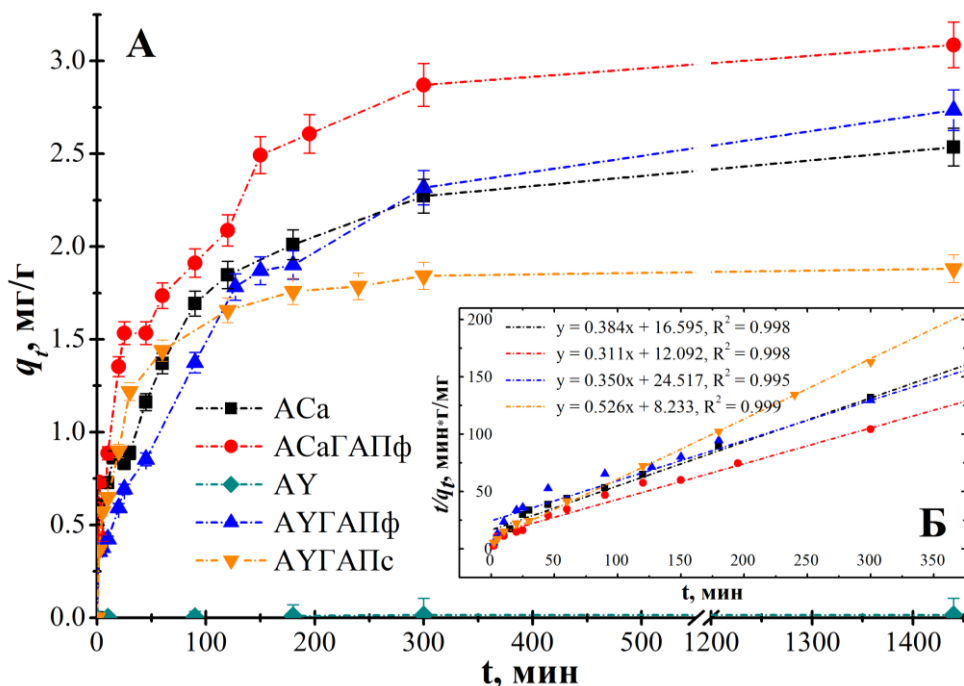


Рисунок 11. А) Кинетика сорбции  $Y^{3+}$  на альгинатных сферах АСа, АУ, АСаГАПф, АУГАПф, АУГАПс из раствора нитрата иттрия концентрацией 0.7 г/л при  $T = 20$  °С. Б) Обработка данных с помощью уравнения псевдо-второго порядка.

Таблица 2. Параметры сорбции иттрия на альгинатных сферах. Расчетные ( $q_e$ ,  $k_2$ ,  $h$ ) по модели псевдо-второго порядка и экспериментальные данные ( $q_{exp}$ ).

Образец	$q_{exp.}$ , мг/г	$q_e$ , мг/г	$k_2$ , г/мг×мин	$h$ , мг/г×мин	$R^2$
АСа	$2.5 \pm 0.1$	$2.61 \pm 0.05$	$0.009 \pm 0.001$	$0.060 \pm 0.009$	0.9984
АСаГАПф	$3.1 \pm 0.1$	$3.21 \pm 0.04$	$0.008 \pm 0.001$	$0.082 \pm 0.008$	0.9982
АУГАПф	$2.7 \pm 0.1$	$2.85 \pm 0.07$	$0.005 \pm 0.001$	$0.04 \pm 0.01$	0.9954
АУГАПс	$1.9 \pm 0.1$	$1.90 \pm 0.02$	$0.034 \pm 0.001$	$0.12 \pm 0.01$	0.9998

Из линейного уравнения (2) можно получить оценку времени необходимого для сорбции 90% от максимальной емкости в данных условиях, что важно для практического применения. Для образцов АСа, АСаГАПф, АУГАПф и АУГАПс это время составило 304, 248, 434 и 125 мин соответственно. Несмотря на диффузионные затруднения у АУГАПс при проникновении катионов иттрия в центр сферы, благодаря высокой скорости сорбции на поверхности сферы на начальном этапе, данный состав является наиболее перспективным для мечения сорбцией  $^{90}Y$ .

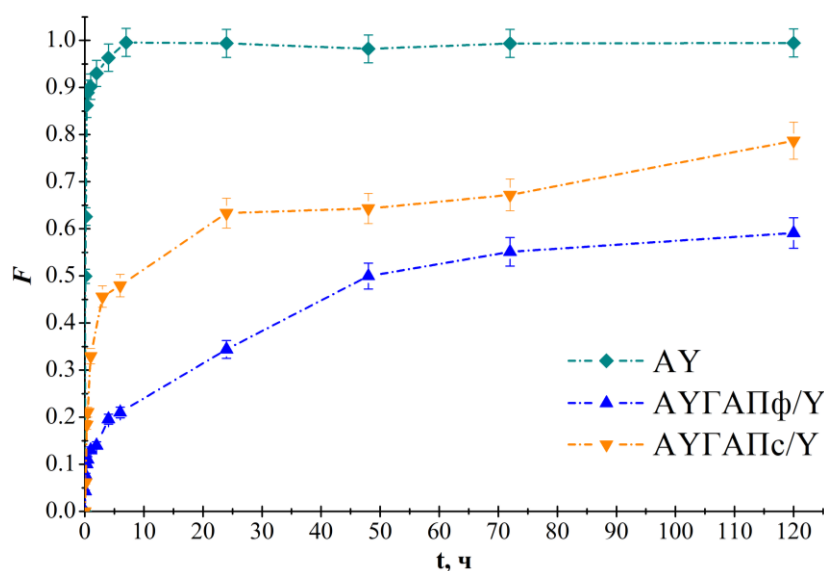
Еще одним из способов мечения является изотопный обмен стабильного изотопа  $^{89}Y$ , введенного в полимерную матрицу, на  $^{90}Y$ , находящийся в растворе вместе с носителем: нитратом иттрия  $^{89}Y(NO_3)_3$ . Изотопный обмен характеризуется степенью обмена  $F$ , которая указывает на близость к равновесному состоянию перераспределения изотопов между двумя

фазами. Так как сферы предварительно выдерживали в растворе нитрата иттрия, то Y в них содержится в поровом пространстве и в сшивке, причем известно, что  $n_{\text{мон}}/n_Y = 3.4 \pm 0.2$ . Зная массы сфер, содержание в них альгината, концентрации растворов и их активности до и после изотопного обмена, можно рассчитать теоретическое значение степени обмена:

$$F = \frac{A_t - A_0}{A_\infty - A_0} \times 100\% \quad (3)$$

где  $A_t$ , Бк — активность раствора в момент времени  $t$ ;  $A_0$ , Бк — активность раствора в начальный момент времени;  $A_\infty$ , Бк — равновесная активность раствора.

На основе данных по активности растворов над сферами после обмена построена зависимость степени обмена  $F$  от времени для иттриевых сфер АУ (рисунок 12). Кинетика обмена быстрая, и равновесие в системе ( $F = 1$ ) достигается за 4 часа. Для изотопного обмена на минерализованных иттриевых сферах АУГАПф/У и АУГАПс/У предварительно сорбировали



$^{89}\text{Y}$  в количестве  $42 \pm 2$  мг/г и  $89 \pm 4$  мг/г. Несмотря на большее число мест для сорбции, процесс изотопного обмена замедлен. Кривую можно разделить на два участка. Первый от 0 до 4 ч является участком быстрого изотопного обмена, напоминающий кривую для иттриевых сфер АУ. Вероятно, на этом участке основной обмен происходит с иттрием, сшивающим альгинат. После 4 ч процесс дальнейшего

Рисунок 12. Кинетика изотопного обмена  $^{89}\text{Y} - ^{90}\text{Y}$  для сфер АУ и минерализованных сфер АУГАПф/У и АУГАПс/У, на которые был сорбирован иттрий.

обмена замедляется, что говорит о диффузионных затруднениях, связанных с наличием частиц фосфатов в гидрогеле. Более медленным является и сам процесс изотопного обмена с иттрием, сорбированным на частицах неорганических фосфатов, за счет его включения в кристаллическую решетку и труднодоступности пор внутри частиц. Равновесие в системе не достигается и  $F$  для сфер АУГАПф/У и АУГАПс/У достигает 0.6 и 0.8 соответственно.

Для медицинского применения альгинатных сфер представляет интерес процесс захвата катиона  $^{90}\text{Y}^{3+}$  из водного раствора без добавления в раствор носителя в виде  $^{89}\text{Y}(\text{NO}_3)_3$ . Сферы АСа, АУ и их минерализованные аналоги АСаГАПф, АУГАПф были протестированы на способность захвата  $^{90}\text{Y}^{3+}$  из раствора с радиоактивностью 200 кБк при перемешивании. Все образцы продемонстрировали эффективность мечения около 90% (таблица 3). Затем раствор над

сферами удаляли и заливали водой или физиологическим раствором. Высвобождение рассчитывали, как  $A_t/A_{sp}$  (4), где  $A_t$  – радиоактивность раствора за время  $t$ ,  $A_{sp}$  – радиоактивность раствора, загруженная в сферы. Учитывались распад  $^{90}\text{Y}$  и значения фона.

Таблица 3. Эффективность мечения  $^{90}\text{Y}^{3+}$  для образцов АСа, АУ, АСаГАПф, АУГАПф в водной среде без носителя (200 кБк) и высвобождение  $^{90}\text{Y}$  в воде и в растворе 0.9% NaCl при 20 °С.

Образец	Эффективность мечения, %	Высвобождение, 24 ч, %		Высвобождение, 48 ч, %	
		H <sub>2</sub> O	0.9% NaCl	H <sub>2</sub> O	0.9% NaCl
АСа	93±3%	0.7±0.1	1.4±0.1	1.0±0.1	1.3±0.1
АСаГАПф	88±2%	0.3±0.1	0.3±0.1	0.7±0.1	0.8±0.1
АУ	93±2%	0.7±0.1	2.7±0.1	0.9±0.1	2.9±0.1
АУГАПф	91±2%	0.7±0.1	1.5±0.1	1.0±0.1	1.3±0.1
АУГАПс	99±1%	0.1±0.1	0.6±0.1	0.3±0.1	0.8±0.1

В водной среде представленные материалы демонстрируют выход радиоактивности в раствор не более 1% в течение 24 ч (таблица 3). После 48 ч выдержки значение радиоактивности раствора перестает меняться, из чего можно сделать вывод о том, что наблюдаемый выход связан с диффузией остатков незахваченного  $^{90}\text{Y}^{3+}$  из порового пространства сфер. В физиологическом растворе наблюдается более заметный выход радиоактивности из сфер, который достигает 3% для образца АУ в течение 48 ч, но дальнейшего выхода радионуклида не происходит. Минерализованные образцы АСаГАПф, АУГАПф и АУГАПс оказываются более устойчивы к высвобождению  $^{90}\text{Y}^{3+}$  в физиологическом растворе, которое составляет не более 1.5% за 48 часов.

Аналогичные исследования были проведены для альгинатных сфер в биологической жидкости: сыворотке крови крупного рогатого скота при температуре 36.6 °С. Как показано на рисунке 13, через 4 суток сферы АСа и АУ продемонстрировали выделение радионуклидов в размере 4.3±0.3% и 7.4±0.5% соответственно. Увеличение высвобождения, вероятно, связано с

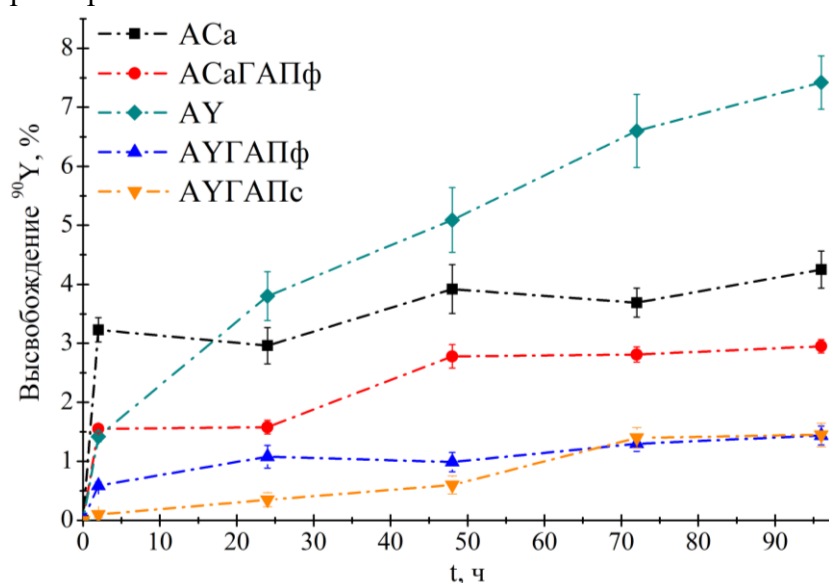


Рисунок 13. Высвобождение  $^{90}\text{Y}$  для сфер АСа, АСаГАПф, АУ, АУГАПф в сыворотке крови при 36.6°С.

конкуренцией между альгинатом и белками за связывание с  $^{90}\text{Y}^{3+}$ , а различия между АСа и АУ обусловлены меньшей устойчивостью последних в сыворотке крови. В то же время минерализованные сферы АСаГАПф, АУГАПф и АУГАПс демонстрируют заметно меньший выход  $^{90}\text{Y}$ : 2.9±0.1%, 1.4±0.2% и 1.5±0.2% соответственно. Таким образом, данные составы потенциально

могут быть применены на практике за счет возможности мечения в водном растворе  $^{90}\text{Y}^{3+}$  без носителя и приемлемых значений высвобождения радионуклида.

### Внедрение $^{32}\text{P}$ в альгинатные сферы

Одним из возможных процессов введения  $^{32}\text{P}$  в альгинатные сферы является сорбция фосфат-ионов на материале. Сорбцию исследовали в растворе  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  и определяли по убыли концентрации дигидрофосфата спектрофотометрически. При высоких концентрациях  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  в растворе pH может быть меньше 4.0, что приводит к растворению фосфатов кальция в сферах. Поэтому в исследовании ограничились сорбцией в растворе  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  с концентрацией 10 г/л и pH =  $4.7 \pm 0.1$ . Максимально достижимая сорбционная емкость в таких условиях была определена для AFe, AFeCl, AFeГАПс1 и AFeГАПс2 и составила при пересчете на ионы  $\text{PO}_4^{3-}$   $25 \pm 1$  мг/г,  $21 \pm 2$  мг/г,  $23 \pm 1$  мг/г и  $45 \pm 2$  мг/г соответственно. Кинетика сорбции исследовалась в растворе с концентрацией 0.5 г/л  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  и pH =  $5.4 \pm 0.1$ . Для всех четырех материалов наблюдается быстрое связывание с фосфат-ионами, и большая часть фосфата сорбируется за первый час эксперимента (рисунок 14 А). Наиболее полное извлечение фосфата из раствора ( $> 85\%$ ) за 24 ч показывают композитные материалы AFeГАПс1 и AFeГАПс2.

На рисунке 14 Б представлено описание кинетики с помощью линейного уравнения псевдо-второго порядка (2). Сферы AFeГАПс2 характеризуются наибольшей константой  $k_2$  и начальной скоростью  $h$  (таблица 4). Константа скорости  $k_2$  сфер AFeCl сравнима с константой  $k_2$  для AFeГАПс2, но сферы AFeCl заметно проигрывают в максимальной емкости  $q_{\text{exp}}$  и  $q_e$ . Помимо сорбции фосфатов на альгинате железа происходит сорбция и на ГАП, что положительно сказывается на емкостных и кинетических характеристиках материала. AFeГАПс1 обладает высокими  $q_{\text{exp}}$  и  $q_e$ , но скорость сорбции оказывается ниже, чем у других сфер, поскольку при синтезе происходит вымывание ГАП, что приводит к снижению сорбционных центров на начальных этапах процесса.

Для сфер альгината железа AFe и композитов с гидроксиапатитом AFeГАПс2 была исследована кинетика изотопного обмена  $^{31}\text{P} - ^{32}\text{P}$  в растворе  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ . Чтобы исключить сорбцию на альгинатные сферы предварительно сорбировали  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  в количестве  $19 \pm 2$  мг/г для AFe/P и  $58 \pm 2$  мг/г для AFeГАПс2/P соответственно. Степень обмена была рассчитана из уравнения (3). В данной системе изотопный обмен может происходить между ионами  $\text{H}_2^{32}\text{PO}_4^-$  в растворе и ионами  $\text{H}_2^{31}\text{PO}_4^-$ , связанными с  $\text{Fe}^{3+}$ , в полимерной сетке гидрогеля. Для минерализованного образца AFeГАПс2/P также большую роль должен играть изотопный обмен с  $^{31}\text{P}$  из кристаллической решетки ГАП. Изотопный обмен  $^{31}\text{P} - ^{32}\text{P}$  в альгинате железа AFe/P (рисунок 15) происходит заметно медленнее, чем обмен  $^{89}\text{Y} - ^{90}\text{Y}$  в альгинате иттрия. Равное распределение изотопов наблюдается только через 7 суток эксперимента, что указывает на более

сложный механизм процесса. Минерализация замедляет изотопный обмен  $^{31}\text{P} - ^{32}\text{P}$  в АFeГАПс2/Р, а  $F$  за время эксперимента достигает значения 0.8. Кинетическая зависимость обмена  $^{31}\text{P} - ^{32}\text{P}$  напоминает кинетику изотопного обмена  $^{89}\text{Y} - ^{90}\text{Y}$  в АУГАПс/У.

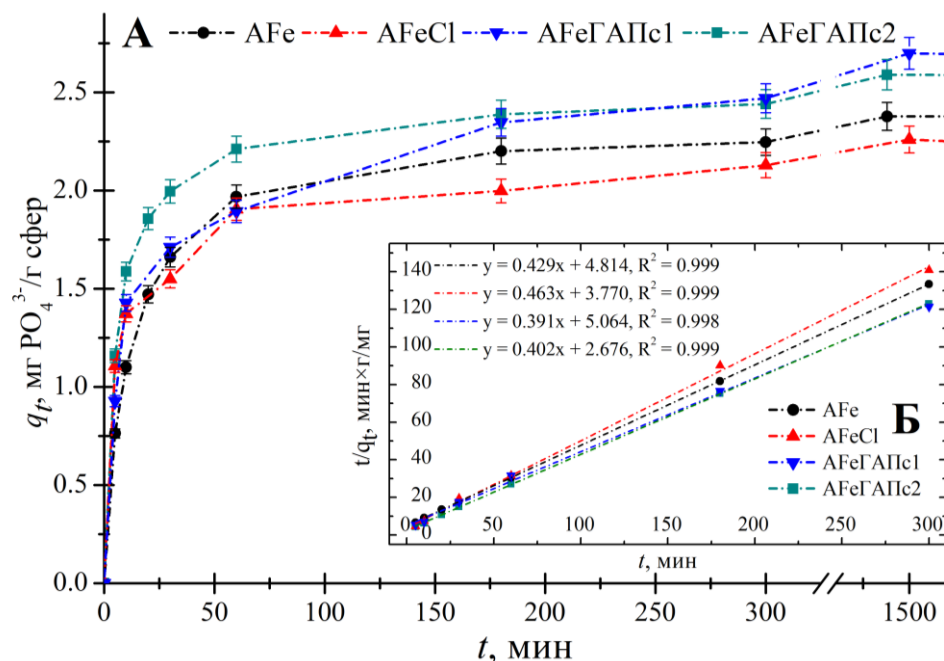


Рисунок 14. А) Кинетика сорбции фосфат-ионов на АFe, АFeCl, АFeГАПс1 и АFeГАПс2 в растворе  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  ( $C = 0.5$  г/л,  $T = 20$  °С). Б) Обработка данных моделью псевдо-второго порядка.

Таблица 4. Параметры сорбции фосфат-ионов на альгинатных сферах, рассчитанные по модели псевдо-второго порядка ( $q_e, k_2, h$ ) и экспериментальные данные ( $q_{exp}$ ).

Образец	$q_{exp}, \text{мг/г}$	$q_e, \text{мг/г}$	$k_2, \text{г/мг} \times \text{мин}$	$h, \text{мг/г} \times \text{мин}$	$R^2$
АFe	$3.4 \pm 0.1$	$3.34 \pm 0.01$	$0.027 \pm 0.002$	$0.30 \pm 0.02$	0.9999
АFeCl	$3.1 \pm 0.1$	$3.09 \pm 0.05$	$0.040 \pm 0.005$	$0.38 \pm 0.05$	0.9985
АFeГАПс1	$3.8 \pm 0.1$	$3.65 \pm 0.07$	$0.021 \pm 0.008$	$0.28 \pm 0.07$	0.9977
АFeГАПс2	$3.7 \pm 0.1$	$3.56 \pm 0.02$	$0.042 \pm 0.003$	$0.54 \pm 0.03$	0.9999

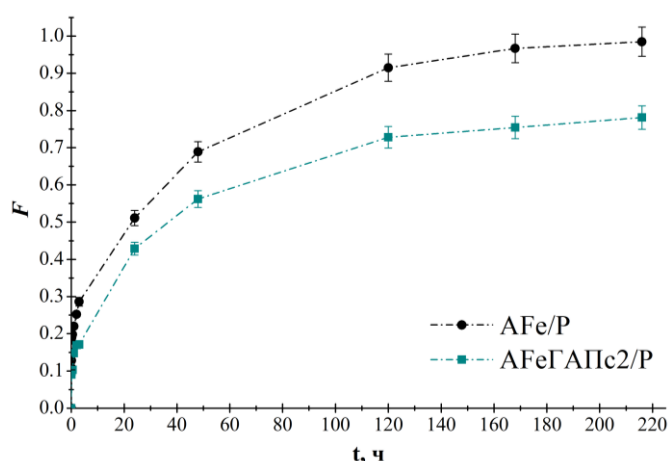


Рисунок 15. Кинетика изотопного обмена  $^{31}\text{P} - ^{32}\text{P}$  для сфер АFe/Р и минерализованных сфер АFeГАПс2/Р.

В воде наблюдался заметный выход радиоактивности из сфер АFe после мечения, и за 7 суток происходил выход около 6% радиоактивности. Сферы АFeCl теряют за это же время около 4%, а сферы АFeГАПс1 порядка 5% радиоактивности. Наибольшую устойчивость демонстрируют сферы АFeГАПс2 с выходом не более 0.5%  $^{32}\text{P}$  в течение недели. В изотоническом растворе все типы сфер альгината железа продемонстрировали устойчивость к вымыванию радионуклида с выходом не более 0.5%  $^{32}\text{P}$ . Для АFe и АFeCl наблюдается заметный выход  $^{32}\text{P}$  в сыворотку крови (рисунок 16 А), сопровождаемый визуальным разрушением

материала, уже через 24 часа эксперимента (рисунок 10). Сферы АFeГАПс1 и АFeГАПс2 оказываются более устойчивыми в сыворотке. Через 2 часа наблюдается «всплеск» с выходом 4-5% радиоактивности в сыворотку, затем высвобождение замедляется, и за 5 суток наблюдается выход 8-10%  $^{32}\text{P}$ . Затем скорость высвобождения вновь повышается в связи с разрушением материала. При высушивании происходит повышение устойчивости материалов в сыворотке крови, что отражается в замедлении процесса выхода  $^{32}\text{P}$  из сфер (рисунок 16 Б). Наилучшими результатами обладают минерализованные сферы АFeГАПс1 и АFeГАПс2: к 5 суткам выход составляет менее 3-5%. Высушенные минерализованные сферы АFeГАПс2, остаются устойчивыми к процессам разрушения и десорбции  $^{32}\text{P}$  длительное время и через месяц показывают выход около 23% радионуклида.

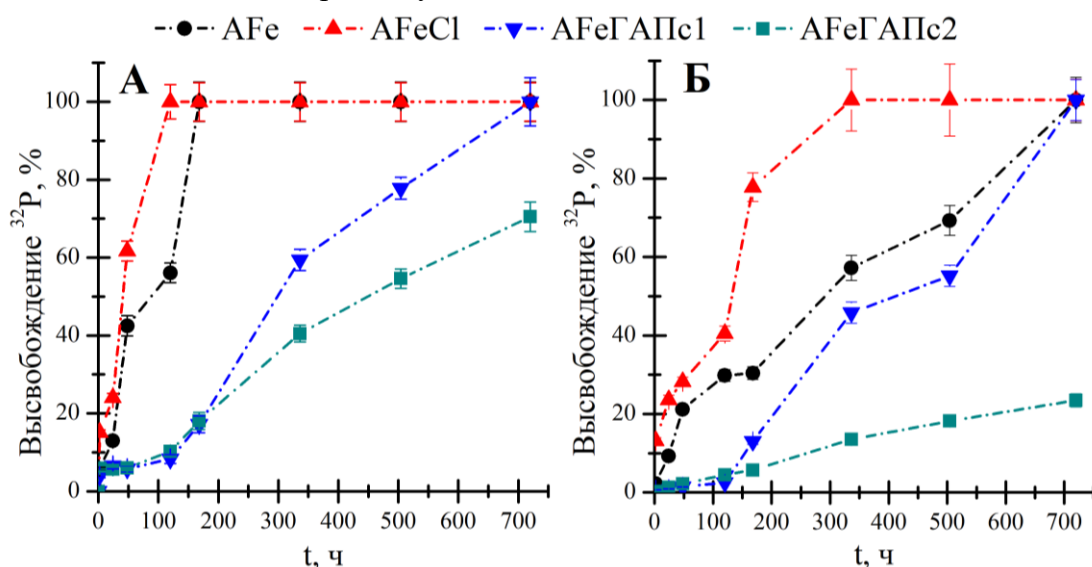


Рисунок 16. Высвобождение  $^{32}\text{P}$  из влажных (А) и высушенных сфер (Б) в сыворотке крови при  $T = 36.6\text{ }^\circ\text{C}$  после предварительной промывки изотоническим раствором.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Минерализация альгинатных сфер улучшает сорбционные свойства, но замедляет изотопный обмен и, как правило, увеличивает размер сфер. Наилучшие кинетические параметры сорбции и эффективность меченая демонстрируют образцы АУГАПс и АFeГАПс2. Стабильность гидрогеля в биологической жидкости оказывает значительное влияние на удерживание радионуклида. Минерализация позволяет заметно повысить устойчивость сфер в сыворотке и снизить десорбцию радионуклида. У носителей  $^{90}\text{Y}$  значения высвобождения приемлемы для применения в интраоперационной терапии и брахитерапии. Носители  $^{32}\text{P}$  демонстрируют заметный выход  $^{32}\text{P}$ , что вместе с долгим периодом полураспада накладывает ограничение на их возможное применение. Сферы альгината Fe с  $^{32}\text{P}$  могут быть полезны как основа аппликаторов для поверхностной брахитерапии, либо для брахитерапии органов с низкой перфузией. Однако необходимы исследования *in vivo* для изучения биораспределения радионуклидов и ответа на вопрос о безопасности подобных материалов.

## ВЫВОДЫ

1. Впервые синтезированы и охарактеризованы инструментальными методами модифицированные ферментативным синтезом фосфатов кальция сферы альгината кальция и иттрия. Различия между ИК- и КР-спектрами минерализованных сфер и их немодифицированных аналогов указывает на разупорядочение структуры альгината типа «яичная коробка». Альгинат иттрия демонстрирует лучшее удерживание и меньшее ингибирование щелочной фосфатазы, что увеличивает равномерность распределения минеральной фазы в сфере при ферментативной минерализации.
2. Была разработана методика включения  $^{90}\text{Y}$  и  $^{32}\text{P}$  в альгинатные сферы на основе процессов сорбции из раствора. Количество сорбированного иттрия и фосфат-ионов достигает 90% от максимального значения за 125 мин и 98 мин соответственно, что определяет перспективность сорбции для меченых альгинатов. Минерализация всех типов сфер значительно увеличивает сорбционную емкость по отношению к катионам иттрия и фосфат-ионам до 90 мг/г и 45 мг/г соответственно и улучшает кинетические параметры связывания за счет дополнительной сорбции на фосфатах.
3. Впервые исследован процесс изотопного обмена  $^{89}\text{Y} - ^{90}\text{Y}$  между иттрийсодержащими альгинатными сферами и раствором  $[\text{}^{90}\text{Y}]\text{YNO}_3$ . Для иттриевых сфер наблюдается быстрое перераспределение изотопов, а степень обмена достигает 1 за 4 ч. Для минерализованных сфер альгината иттрия процесс изотопного обмена кинетически затруднен.
4. Процесс изотопного обмена  $^{31}\text{P} - ^{32}\text{P}$  между фосфорсодержащими альгинатными сферами и раствором  $[\text{}^{32}\text{P}]\text{KH}_2\text{PO}_4$  исследован впервые. Равное распределение изотопов наблюдается по истечении 7 суток для сфер альгината железа. При минерализации альгината железа для изотопного обмена наблюдаются кинетические затруднения.
5. Альгинаты иттрия и железа оказываются менее устойчивыми к разрушению в сыворотке крови, по сравнению с альгинатом кальция, что увеличивает высвобождение радионуклида из сфер. При этом минерализация фосфатами кальция увеличивает устойчивость альгинатных сфер в сыворотке, что можно использовать в качестве инструмента для настройки данного параметра.
6. Минерализация альгинатных сфер заметно увеличивает удерживание радионуклидов в материале при испытаниях в биологической жидкости. Выход  $^{90}\text{Y}$  из минерализованных сфер альгината кальция и иттрия в сыворотку крови крупного рогатого скота при  $36.6\text{ }^\circ\text{C}$  за период полураспада составил 2.8% и 1.3% соответственно. Выход  $^{32}\text{P}$  из минерализованных сфер альгината железа в аналогичных условиях за период полураспада составил около 14%.
7. Выбор двух или трехзарядного катиона ( $\text{Ca}^{2+}$  или  $\text{Y}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ) в качестве основы полимерной сетки оказывает существенное влияние на набухание сфер в физиологическом растворе и сыворотке крови, а следовательно, и на эмболизирующие свойства гидрогелевых сфер. Сферы альгината

иттрия набухают в физиологическом растворе лишь до 10% от своего первоначального объема, а сферы альгината железа не набухают вовсе, в то время как кальциевые сферы набухают в физиологическом растворе практически до 100%. В сыворотке крови эти процессы замедляются, и кальциевые сферы набухают не более чем на 60% от своего первоначального объема.

### Список публикаций по теме диссертации

Статьи, опубликованные в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных для защиты в МГУ имени М.В.Ломоносова по специальности и отрасли наук:

1. Chernykh I.N., Using enzymatic synthesis of hydroxyapatite as a technique to develop materials for biomedical applications / Chernykh I.N., Dolgova V.K., Gopin A.V., Severin A.V., Kharlanov A.N., Nikolaev A.L. // *Ceramics International*. – 2024. – vol. 50. – № 6. – pp. 9149-9158. EDN: QCEBNI (Импакт-фактор 5.6 (JIF); 0.63 п.л. / 60%).
2. Chernykh I.N., Novel yttrium-90 carriers based on enzymatically mineralized calcium and yttrium alginate beads / Chernykh I.N., Gopin A.V., Evdokimov A.A., Kharlanov A.N., Šandalová S., Nikolaev A.L. // *Surfaces and Interfaces*. – 2025. – vol. 69. – article number 106691. EDN: TXRYAR (Импакт-фактор 6.3 (JIF); 0.94 п.л. / 70%).
3. Chernykh I.N., <sup>32</sup>P carriers based on hydroxyapatite-loaded iron alginate beads for nuclear medicine applications / Chernykh I.N., Maltseva K.V., Kiselev I.D., Gopin A.V., Kharlanov A.N., Kuznetsova D.V., Nikolaev A.L. // *International Journal of Biological Macromolecules*. – 2025. – vol. 334. – Part. 2. – article number 149222. EDN: CZTDXN (Импакт-фактор 8.5 (JIF); 0.75 п.л. / 80%).
4. Chernykh I.N., <sup>32</sup>P carriers based on hydroxyapatite-modified alginate beads / Chernykh I.N., Gopin A.V., Kharlanov A.N., Kharisov B.I., Nikolaev A.L. // *Radiochemistry*. – 2025. – vol. 67. – №. 5. – pp. 672-679. EDN: WAEXNE (Импакт-фактор 1.0 (JIF); 0.5 п.л. / 80%).

### Благодарности

Автор диссертации выражает искреннюю благодарность научному руководителю к.х.н. Николаеву Александру Львовичу за всестороннюю поддержку и помощь в постановке целей и задач исследования и подготовке текста диссертации и к.х.н. Гопину Александру Викторовичу за неоценимую помощь в подготовке экспериментов, консультации при обработке и представлении результатов и поддержку при публикации научных работ. Автор глубоко признателен своей супруге Шандаловой Симоне за моральную поддержку и помощь в публикации работ на английском языке. Автор благодарит всех сотрудников, аспирантов и студентов кафедры радиохимии химического факультета МГУ за помощь и содействие на всех этапах работы. Отдельную благодарность автор выражает студентам лаборатории гетерогенных процессов: Евдокимову Артему Анатольевичу, Мальцевой Кристине Викторовне, Киселеву Ивану Дмитриевичу, Кузнецовой Дарье Вадимовне, Гутману Даниилу Викторовичу и Сотниченко Анне Максимовне за помощь в проведении синтезов образцов, их исследовании и интерес к данной работе. Автор признателен к.х.н. Харланову Андрею Николаевичу за проведение ИК- и КР-спектроскопии образцов и помощь в интерпретации результатов. Автор благодарит к.х.н. Бадуна Геннадия Александровича за препарат меченой фосфатазы и д.х.н. Скоблова Юрия Самойловича за препарат фосфора-32. За содействие в проведении электронной микроскопии образцов автор благодарит сотрудников центра коллективного пользования «Электронная микроскопия в науках о жизни» МГУ имени М.В. Ломоносова.